

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**EKŞİ MAYA VE ENZİM KATKILARININ FERMANTASYON SÜRECİNDE
TARHANANIN GLUTEN İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Seda İÇEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEMMUZ 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**



**EKŞİ MAYA VE ENZİM KATKILARININ FERMANTASYON SÜRECİNDE
TARHANANIN GLUTEN İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Seda İÇEN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS

TEMMUZ 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EKŞİ MAYA VE ENZİM KATKILARININ FERMANTASYON SÜRECİNDE
TARHANANIN GLUTEN İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Seda İÇEN
GIDA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Bu tez 27/07/2018 tarihinde jüri tarafından Oybirliği / ~~Oyçokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Barçın KARAKAŞ BUDAK

Prof. Dr. Muharrem CERTEL

Doç. Dr. Hülya GÜL



ÖZET

EKŞİ MAYA VE ENZİM KATKILARININ FERMANTASYON SÜRECİNDE TARHANANIN GLUTEN İÇERİĞİ ÜZERİNE ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Seda İÇEN

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Barçın KARAKAŞ BUDAK

Temmuz 2018; 37 sayfa

Tarhana geleneksel olarak yöreden yöreye farklı formülasyonlar kullanılarak hazırlanan bir ürün olmakla birlikte bileşiminde mutlaka buğday unu içerir. Fermantasyon süresince hamur içeriğinde gluten degradasyonu olması beklenebilir. Bu çalışmanın temel hedefi tarhananın fermantasyon sürecinde hem doğal mikroflora ve enzimlerin faaliyeti ile hem de, liyofilize ekşi hamur mayası ve/veya (*Aspergillus* kökenli) proteolitik enzim ilavesinin etkisi ile gelişen gluten degradasyonunu incelemektir.

Belirli oranlarda buğday unu, yoğurt, su, nohut unu, domates salçası ve biber salçası içerecek şekilde oluşturulan temel tarhana (TT) formülasyonu ve buna ilaveten aynı temel formülasyona ekşi hamur mayası, enzim ve enzim ile birlikte ekşi hamur mayası ilave edilerek (sırasıyla EM, EN ve EE) hazırlanan tarhana hamurları 22 °C’de 30 günlük fermantasyon sürecine tabi tutulmuştur.

Formülasyonların 0, 5, 10, 20 ve 30. günlerinden alınan örneklerin gluten degradasyonu R5 antikoruna dayalı sandviç ELISA yöntemine göre incelenmiştir. Aynı örneklerin ayrıca pH, kuru madde ve mineral madde analizleri gerçekleştirilmiştir. Fermantasyonun başında ve sonunda alınan örneklerde ise toplam protein miktarı belirlenmiş ve kurutulmuş son ürünlerden standart pşirme yöntemiyle çorba hazırlanarak duyusal analiz gerçekleştirilmiştir. Fermantasyon süresince farklı formülasyonlardaki tarhana hamurlarının gluten miktarında farklı oranlarda azalmalar saptanmıştır, bu azalmalar TT ve EM formülasyonlarında EN ve EE formülasyonlarına göre çok daha az miktarda gerçekleşmiştir. Fermantasyonun son gününde en düşük gluten miktarı sırasıyla EE (3,05 ppm), EN (7,68 ppm), EM (30034,30 ppm) ve TT (31824,75 ppm) elde edilmiştir. Türk Gıda Kodeksine göre gıdanın ‘glutensiz’, ‘gluten içermez’ veya ‘gluten yoktur’ şeklinde ifade edilebilmesi için 20 ppm’den az miktarda gluten içermesi gerekmektedir. Buna dayanarak fermantasyonun 30. gününde elde edilen EN ve EE örnekleri için glutensiz tarhana ifadesi kullanılabilir. Duyusal analiz sonucunda ise istatistiksel açıdan diğer formülasyonlarla arasında fark bulunmaması (ekşilik ve koku dışında) bu ürünün tüketime uygunluğunu desteklemektedir.

ANAHTAR KELİMELER: Ekşi maya fermantasyonu, gluten içeriği, hidrolitik enzim katkıları, proteoliz, tarhana.

JÜRİ: Dr. Öğr. Üyesi Barçın KARAKAŞ BUDAK

Prof. Dr. Muharrem CERTEL

Doç. Dr. Hülya GÜL

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF SOURDOUGH STARTER AND ENZYME ADDITIVES ON THE GLUTEN CONTENT OF TARHANA THROUGHOUT FERMANTATION

Seda İÇEN

MSc Thesis in

Supervisor: Asst. Prof. Barçın KARAKAŞ BUDAK

July 2018; 37 pages

Although tarhana is a traditional product which can be produced with different formulations depending on region, but surely includes wheat flour. Gluten degradation can be anticipated to occur throughout fermentation. The aim of this study is examination of gluten degradation throughout fermentation with natural microflora, as well as the addition of lyophilized sourdough yeast and/or proteolytic enzyme (derived from *Aspergillus* sp.).

Basic tarhana formulation (TT) was prepared with a standard recipe containing wheat flour, instant chickpea flour, yoghurt, tomato paste, pepper paste and water. Addition of commercial dry sourdough culture, food-grade peptidase mixture and a combination of peptidase mix and sourdough culture (in order of EM, EN and EE) were the factors evaluated in the study plan and each fermentation mixture was subjected to fermentation at 22 °C for 30 days.

Gluten degradation in the samples which were taken from day 0, 5, 10, 20 and 30 of fermentation were examined in terms of gluten content with the use of a sandwich ELISA method based of the R5 antibody. The same samples were also analyzed for pH, moisture and ash content. Samples from the first and last day of fermentation were also analyzed to determine the protein content of the dough. After 30 days of fermentation tarhana samples which were cooked in a standard fashion to yield soup were analyzed to determine sensory properties of the final product. During fermentation, the decrease in gluten contents was different for different tarhana formulations. These decreases in the formulations of EN and EE were higher than formulations TT and EM. The lowest gluten content was detected in order of EE (3,05 ppm), EN (7,68 ppm), EM (30034,30 ppm) and TT (31824,75 ppm) at the final day of fermentation. According to Turkish Food Codex, to define a product as ‘gluten free’ it should contain less than 20 ppm gluten. Based on this, 30 day fermentation of the EN and EE formulations results in dough that can be labeled as gluten-free. According to sensory analysis, the products were acceptable for consumption and statistically there was no difference between tarhana formulations except for odor and sourness properties.

KEY WORDS: Gluten content, hydrolytic enzyme sourdough fermentation, supplements, proteolysis, tarhana

COMMITTEE: Assist. Prof. Dr. Barçın KARAKAŞ BUDAK

Prof. Dr. Muharrem CERTEL

Assoc. Prof. Dr. Hülya GÜL

ÖNSÖZ

Glutensiz beslenmeye yönelik giderek artan talep (gerek medikal sebeplerden ötürü gerekse glutensiz beslenmenin bir moda trendine dönüşmesi sebebiyle) marketlerde eskiye nazaran çok daha sıklıkla karşılaşılan ‘glutensiz ürün’ kategorisini ön plana taşımıştır. Tarhana gibi besleyicilik açısından zengin fermante bir gıdanın gluten içeren ürünleri tüketmeyen kişilerce uygun bir hale getirilmesine farklı bir açıdan yaklaşılan bu çalışmada, belirli katkılarla hazırlanan farklı formülasyonlardaki tarhana hamurlarının, 30 günlük bir fermantasyon sonucunda elde edilen tarhana unularından, glutensiz beslenen tüketiciler için çorba olarak tüketime uygunluğu saptanmaya çalışılmıştır. Enzim katkılı tarhana formülasyonlarından elde edilen tarhana unları gluten miktar tayinleri ve duyusal analiz sonuçları ile desteklenerek, geliştirilmiş bu enzim katkılı tarhana çorbasının ‘glutensiz’ beslenen kitlelerce uygun olduğuna kanaat getirilmiştir.

Öncelikle bu çalışmaya farklı pencerelerden bakmamı sağlayan, çalışma boyunca bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren danışman hocam sayın Yrd. Doç. Barçın KARAKAŞ BUDAK’a, istatistik analizlerinde karşılaştığım sorunlarda kendisine danıştığım da ilgisini esirgemeyen Akdeniz İstatistik Danışma Biriminden Uzm. Dr. Ebru KAYA BAŞAR’a, laboratuvardaki yardımlarından ötürü Gürkan YILMAZ’a ve tüm bu süreç içinde yanımda olan meslektaşlarım; Merve HADİMİOĞLU, Erol BÜTÜÇ, Özgül GÜZEL’e teşekkürlerimi iletiyorum. Son olarak da tüm eğitim hayatım boyunca maddi, manevi desteklerini esirgemeyen aileme hürmetlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	v
AKADEMİK BEYAN	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK TARAMASI	3
2.1. Tarhana	3
2.2. Proteazlar	5
2.3. Gluten	5
2.4. Gluten Analiz Yöntemleri	7
2.5. Glutensiz Gıda ile Beslenme: Tercihler ve Zorunluluklar	9
3. MATERYAL VE METOD	12
3.1. Materyal.....	12
3.2. Tarhana Örneklerinin Hazırlanması	12
3.2.1. Tarhana hamurlarının formülasyonu, hazırlanması ve fermantasyon işlemi	12
3.2.2 Kuru tarhana örneklerinin elde edilmesi.....	13
3.3. Tarhana Hamurunda pH Analizi	14
3.4. Tarhanada Kuru Madde Tayini	14
3.5. Tarhana Hamurunda Protein Tayini	15
3.6. Tarhanada Kül Tayini.....	15
3.7. Duyusal Analiz	15
3.8. Unda Yaş ve Kuru Gluten Tayini	16
3.9. Tarhana Öneklerinde Gluten Analizi	16
3.9.1 Örneklerin ekstraksiyonu	16
3.9.2. ELISA testi	17
3.10. İstatiksel Analizler.....	18
4. BULGULAR.....	19

4.1. Hammadde Olarak Kullanılan Unun Gluten Miktarı	19
4.2. Tarhana Analiz Sonuçları	20
4.2.1. Kuru madde miktarı	20
4.2.2. Kül miktar tayini	20
4.2.3. pH değeri.....	21
4.2.4. Protein tayini.....	22
4.2.5. Gluten miktar analizi	22
4.2.6. Duyusal analiz.....	23
5. TARTIŞMA	26
6. SONUÇLAR	30
7. KAYNAKLAR	32
8. EKLER.....	37
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Ekşi maya ve enzim katkılarının fermantasyon sürecinde tarhananın gluten içeriği üzerine etkisinin incelenmesi” adlı bu çalışmanın, akademik kurallar ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

27/07/2018

Seda İÇEN



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C : Santigrat

dev : Devir

dk : Dakika

g : Gram

$\times g$: yerçekimi ivmesi (9.81 m/sn^2), göreceli santrifüj kuvveti (Relative Centrifugal Force, RCF)

M : Kuru madde için tartılan örnek ağırlığı

M_1 : Kuru madde için sabit tartıma getirilmiş kurutma kabının ağırlığı

M_2 : Kuru madde için 48 saat sonra tartılan kuru madde ve örneğin ağırlığı

N : Titrasyonda kullanılan H_2SO_4 çözeltisi normalitesi

ml : Mililitre

nm : Nanometre

ppm : Milyonda bir birim

V_1 : Titrasyonda harcanan H_2SO_4 çözeltisi miktarı, ml

V_2 : Kör deneme titrasyonunda harcanan H_2SO_4 çözeltisi miktarı, ml

X : Kül tayininde tartılan örneğin ağırlığı

X_1 : Kül tayininde sabit tartıma getirilmiş kroze ağırlığı

X_2 : Kül tayininde yakma sonrası kroze ve örneğin ağırlığı

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

ω : Omega

Tezde ondalık yazım ayırıcı olarak virgöl kullanılmıştır (ör: 21,02).

Kısaltmalar

EE	: Enzim preparatları ve ekşi hamur mayası eklenmiş tarhana formülasyonu
EN	: Enzim preparatları eklenmiş tarhana formülasyonu
EM	: Ekşi hamur mayası eklenmiş tarhana formülasyonu
EP	: Enzim preparatları
FDA	: Food drug administration
HMW	: Yüksek molekül ağırlığı (High molecular weight)
KM	: Kuru madde
LAB	: Laktik asit bakterileri
LC ESI-MS	: Sıvı kromatografi elektro spray iyonizasyonu - kütle spektrometresi (Liquid Chromatography Electro Spray Ionization - Mass Spectrometry)
LMW	: Düşük molekül ağırlıklı (Low molecular weight)
MALDI-TOF	: Matris destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon – uçuş zamanı (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight)
MMW	: Orta molekül ağırlıklı (Medium molecular weight)
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi
TGK	: Türk Gıda Kodeksi
TS	: Türk standartları
TT	: Temel tarhana formülasyonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. %70 sıcak alkol çözeltisinde ekstrakte edilmiş farklı buğday çeşitlerinin SDS-PAGE deseni (Gupta and Shepherd 1990).	8
Şekil 2.2. TRIS-HCl tampon çözeltisi (pH 6,8) ile ekstrakte edilmiş farklı buğday çeşitlerinin SDS-PAGE deseni (Gupta and Shepherd 1990).....	8
Şekil 3.1. a) Dört farklı formülasyonda hazırlanmış tarhana hamurları; b) Etüvde kurutulduktan sonra krozede öğütülen tarhana örneği.	14
Şekil 3.2. Yaş glutenin kurutulması ve desikatörde soğutulması ile elde edilen kuru gluten.	16
Şekil 3.3. a) Örneklerin gluten analizi için kokteyl çözeltisi eklendikten sonraki ekstraksiyon aşaması; b) %80 oranında etil alkol içeren su çözeltisinin eklenmesinden sonraki döndürme aşaması.	17
Şekil 3.4. Fermente olan hamurda yapılan gluten analizinde kullanılan malzemeler; a) ELISA test kiti içeriğinde bulunan bileşenler; b) ELISA plaka okuyucu cihaz.	18
Şekil 4.1. Fermantasyonun 30. gününde kurutma işlemi için hazırlanan örneklerden görünüm a) temel tarhana formülasyonu (TT); b) ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EM); c) enzim içeren tarhana formülasyonu (EN); d) enzim ve ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EE)	19
Şekil 4.2. Duyusal analizde panelistlere sunulan tarhana formülasyonları, sırasıyla (a) Temel tarhana formülasyonu (TT), (b) Ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EM), (c) Enzim içeren tarhana formülasyonu (EN), (d) Enzim ve Ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EE).....	23
Şekil 4.3. Panelistlerin duyusal analiz değerlendirme sonucu formülasyonların görünüm, koku, lezzet, ekşilik ve kıvam kriterlerindeki dağılımları	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Siyamoğlu vd. (1961) yaptıkları çalışmadaki tarhananın besin içeriği	3
Çizelge 2.2. Kromatografik yöntemlerle birlikte kullanılan kütle spektroskopisinin gluten analiziyle ilgili yapılan çalışmalar	7
Çizelge 2.3. Çölyak hastalığının Türkiye’de görülme sıklığı (Pehlivan 2016)	10
Çizelge 2 4. Çeşitli ülkelerde Çölyak hastalığının görülme sıklığı (Leonard et. al. 2017)	11
Çizelge 3.1. Tez çalışması için hazırlanan tarhana hamurlarında kullanılan malzemeler ve miktarları	13
Çizelge 4.1. Fermantasyon süresince alınan tarhana örneklerinde tespit edilen kuru madde miktarları (%)	20
Çizelge 4.2. Kuru madde üzerinden kül miktar tayini sonuçları (%)	21
Çizelge 4.3. Farklı formülasyonlarda tarhana hamurlarının fermantasyon süresince tespit edilen pH dereceleri	21
Çizelge 4.4. Fermantasyonun ilk ve son günündeki formülasyonların kuru madde üzerinden protein değerleri (%)	22
Çizelge 4.5. Formülasyonların fermantasyon süresi boyunca kuru madde üzerinden gluten içeriğinde meydana gelen değişim (ppm)	23
Çizelge 4.6. Fermantasyon sonunda tüm formülasyonlar için panelistler tarafından verilen duyusal analiz değerleri	24

1. GİRİŞ

İnsanoğlunun tahıl ürünlerini en az on bin yıldır gıda olarak tükettiği bilinmektedir. İnsan yaşamı açısından bakıldığında bu süreç çok uzun gibi geliyor olsa da insanlığın dünyada varlık gösterdiği sürecin tamamı esas alındığında bu süre küçük bir bölüntüdür. İnsanlık 2 milyon yıllık geçmişinin büyük bir bölümünün de hayatını avcı ve toplayıcı olarak idame etmiş ve bu süreçte doğada bulduğu veya ele geçirdiği maddelerle beslenmiştir. Ancak, tahıl üretimi insanoğlu için yerleşik topluma geçişin ve teknolojik ilerlemelerin önemli bir basamağı olmuş, bundan sonrasında da tahıl ürünleri, dünyanın hangi bölgesinde olursa olsun önemli zirai ürünler ve temel besin ve yem kaynakları olmuştur. Sanayileşen toplumlarda ise zirai ürünler geleneksel ve modern yöntemlerle ıslah edilmiş ve bu şekilde teknolojik süreçler için daha elverişli tahıl ürünleri geliştirilmiştir. Bu sayede ekmeğin sanayinde istenilen kabarma özelliğini karşılayan, makarna sanayinde çatlamayan, dağılmayan ürünlerin elde edilebilmesi için yüksek gluten içerikli buğdaylar geliştirilmiştir. Diğer ülkelerde olduğu gibi, ülkemizde de tüketilen buğday unlarının büyük bölümü ıslah edilmiş tohumlardan elde edilir olmuştur. Ülkemiz gibi, ekmeğin temel gıda maddesi olduğu bilinen ülkelerde, yaygın olarak ve yüksek miktarlarda tüketilen bu ürünlerin toplumun belirli bir kesiminde bağışıklık sisteminde bozukluklara veya alerjik tepkilere neden olduğu olgusu ancak son yüzyıl içinde anlaşılmaya başlanmıştır.

Geleneksel bir ürünümüz olan tarhana buğday unu, yoğurt, domates, biber, tuz, soğan ve bunların bazı koku ve tat verici bitkilerle elde edilen karışımın yoğurulması, fermantasyona bırakılması, kurutulması ve ardından öğütülmesiyle elde edilir. Tarhana yapımında içerik ve fermantasyon süresi yöreden yöreye farklılık göstermektedir. Bu bakımdan her farklı yörede üretilen tarhana ürünü kendine özgü özellikler taşır. Kimi yöreler için tarhana üretiminde fermantasyona bırakma süresi hiç olmayabilirken pek çoğunda ise haftalarca süren fermantasyon uygulanmaktadır. İşlem süreci sonunda elde edilen kuru, öğütülmüş tarhana serin ve kuru bir ortamda bırakıldığı takdirde uzun raf ömrüne sahip olur.

Besleyicilik açısından zengin oluşu, tarhanayı hem çocuklar hem de yaşlılar için oldukça önemli bir gıda haline getirmektedir. Tarhana, protein ve vitaminlerce zengin yağ içeriği yok denebilecek kadar az olan bir üründür. Fermantasyon sürecine bağlı olarak tarhanada prebiyotik maddeler oluşmakta, sindirilebilirlik kolaylaşmakta, tat profili iyileşmektedir. Hatta çığ tüketilen bazı tarhana çeşitlerinde (Maraş tarhanası, çips tarhana) probiyotik etkiden dahi söz edilebilir. İçeriğindeki prebiyotik maddeler ve sindirilemeyen karbonhidratlar tarhananın fonksiyonel bir gıda olarak düşünülmesindeki etken faktörlerdir.

Tarhananın içeriğinde bulunan buğday unu ihtiva ettiği gluten proteini itibarıyla, glutene duyarlı çölyak hastaları ve glutene hassas bireyler tarafından tüketilebilirliğini kısıtlamaktadır. Çölyak hastalığı hem erişkin hem de çocuklarda görülen bir hastalıktır ve hayat boyu devam etmektedir. Dünyada giderek artan bu hastalığın karşılaşma sıklığı %0,05-0,1 olup ülkeden ülkeye değişmektedir. 2010 yılı itibarıyla çölyak hastalığının Türkiye’de karşılaşma sıklığı 1/212 olarak kayıtlara geçmiştir. Çölyak hastalarının içeriğinde gluten proteini olan buğday, arpa ve çavdarı tüketmeleri halinde bağırsaklarındaki villuslar hasara uğrar. Bunun sonucunda vücudun vitamin ve diğer besin maddelerinin emiliminde sorun yaşaması beraberinde oluşacak birçok hastalığı

mümkün hale getirmektedir. Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food Drug and Administration-FDA)'nın glutensiz gıdalar için hazırladığı etiketleme kurallarına göre, bir gıdanın glutensiz olarak etiketlenebilmesi için 20 ppm'den az miktarda gluten içermek zorundadır. Türkiye'de de glutensiz gıdalar için geçerli olan düzenlemeler aynı yönde sınırlamalar getirmektedir. Gluten miktarının belirlenmesine yönelik analizlerin ELISA temelli (immünolojik yöntemler) olması zorunluluğu bulunmaktadır.

Fermantasyon sürecinin buğday unundan kaynaklanan protein içeriğinde degradasyona sebep olduğu teorik olarak bilinen bir olgudur. Zira fermantasyon sürecinde aktif olan mikrobiyal enzimler bu proteinlerin parçalanmasına sebep olur. Şimdiye kadar yapılmış olan çalışmalarda tarhana fermantasyon sürecinde gluten degradasyonu incelenmemiştir. Fermantasyon sürecinde ekşi maya ilavesinin ya da proteolitik enzim katkılarının da bu degradasyon sürecine etkisi değerlendirilmemiştir. Ayrıca, tarhananın fonksiyonel bir gıda olarak, özelliklerini kaybetmeden ancak içeriğindeki gluten proteininin 20 ppm altına indirilmesiyle üretilecek tarhananın çölyak hastaları için tüketilebilir bir gıda olacağı düşünülebilir.

Bu çalışmada uzun süreli fermantasyon süreci uygulanacak tarhana hamurunda (i) spontan gelişimin (ii) ekşi hamur mayası katkısının (iii) proteolitik enzim preparatı ilavesinin ve (iv) hem ekşi hamur mayası hem proteolitik enzim preparatı ilavesinin gluten degradasyonu bakımından etkisinin araştırılması temel hedef olmuştur. Ayrıca, fermantasyon sürecinde kül, kuru madde, toplam protein, pH ve duyuşal özellikler de analiz edilmiştir. Fermantasyon 30 gün boyunca sürdürülmüş ve 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerde belirtilen kimyasal ve bileşim analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen nihai ürün standart bir pişirme işlemi uygulanarak, eğitimli panelistlerce duyuşal olarak değerlendirilmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

2.1. Tarhana

Orta doğu, Asya, Afrika ve Avrupa'nın bazı bölgelerinde yoğurt-tahıl karışımı fermante ürünler insanların beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu ürünler hazırlanma bakımından bölgeden bölgeye farklılık gösterse de tahıl ve yoğurt ana kaynak olarak kalmaya devam etmektedir. Yoğurt ve tahılın fermante edilerek hazırlandığı gıda ürünleri incelediğimizde Yunanistan ve Türkiye için tarhana, Irak ve Mısır'da kishk, Finlandiya ve Gürcistan'dan ise tahonya/talkuna örnek verilebilir (Ibanoglu ve Ibanoglu 1999).

Türk Standartları Enstitüsü tarafından hazırlanan standarda göre; buğday unu, kırmısı, irmik veya bunların karışımı ile yoğurt, biber, tuz, soğan, domates, tat ve koku verici, bitkilerin karıştırılıp yoğurulması, fermante edildikten sonra kurutulması, öğütülmesi ve elenmesi ile elde edilen bir besin maddesidir. Temel olarak tarhana üretiminde 4 ana işlem aşamasından söz edilebilir; hamur yoğurma, fermentasyon, kurutma ve öğütme (Özdemir vd. 2007). Hamur bileşimine giren temel maddeler buğday unu ve yoğurttur. Bunların yanı sıra sebze pulpları, yeşillikler, baharatlar, haşlanmış nohut gibi besinler hem besin değerini artırıcı hem de lezzetlendirici etkileri için kullanılır (Coşkun 2014). Siyamoğlu vd. (1961) yaptıkları çalışmada tarhananın besin içeriğini Çizelge 2.1.'de gösterildiği şekilde özetlemiştir.

Çizelge 2.1. Siyamoğlu vd. (1961) yaptıkları çalışmadaki tarhananın besin içeriği

	En az	En çok	Ortalama
Nem (%)	6,4	13,9	10,2
Protein (N x 6,26)[g/100g]	12,0	29,9	16,0
Karbonhidrat [g/100g]	41,8	77,5	60,0
Yağ [g/100g]	1,6	18,2	5,4
Lif [g/100g]	0,01	3,1	1,0
Tuz [g/100g]	0,56	10,4	3,8
Kül [g/100g]	1,4	14,2	6,2

Fermentasyon spontan (yoğurtta bulunan bakterilerle) gelişebileceği gibi ekmek mayası (*Saccharomyces cerevisiae*) ilave edilerek de başlatılabilir. Fermentasyon süresince hem laktik asit bakterileri (LAB) hem de mayalar gelişir. Kullanılan hamur bileşenlerine ve ortam koşullarına bağlı olarak üreticinin de tercihi doğrultusunda fermentasyon süresi 2-21 gün arasında değişebilmektedir (Coşkun 2014). Tescillenmiş bir ürün olan Uşak tarhanası için belirtilen fermentasyon süresi 21 gündür (Şimşek vd 2012; Anonim 1). Kastamonu tarhanası için internet üzerinden sunulan bir tarife göre 30

gün fermantasyon uygulanmaktadır (Anonim 2). Tarhana fermantasyonu için laktik asit ve alkol fermantasyonunun eş zamanlı olarak başladığını söylemek mümkündür (Durmuş 2015). Bu süreçte hamurda LAB faaliyeti nedeniyle asitlik artar (pH 3.8-4.2 civarına iner) ve patojen organizmaların gelişimini baskılayıcı seçici bir ortam oluşmuş olur (Blandino vd. 2003). Tarhana fermantasyonunda laktik asit bakterileri ve mayalar oldukça önemlidir, ürettikleri etil alkol, karbondioksit ve aromatik bileşiklerle tarhananın karakteristik tadının oluşumuna yardımcı olmaktadır (Sengun vd. 2009). Fermante gıdalarda bu laktik asit bakterilerini kapsayan yoğurt bakterilerinin ve ekmek mayasının birlikte kullanımı fermantasyonun etkinliğini arttırmaktadır (Erbaş vd. 2005). Mayanın kullanılmasıyla fermantasyon süresi kısaltmakta ve farklı aminoasitler oluşmaktadır. Oluşan bu aminoasitler tat ve koku açısından tarhanayı olumlu bir şekilde etkilemektedir (Durmuş 2015).

Erbaş vd. (2003) yaptıkları çalışma göstermektedir ki fermantasyon süreci izlendiğinde başlangıçta hamurun sahip olduğu yüksek pH ve düşük asit içeriğinden ötürü toplam mezofilik aerofilik bakteri sayısında ve laktik asit bakteri sayısında artış olmakta fakat fermantasyonun ilerleyen günlerinde asitliğin yükselmesinden ötürü sayıları azalmaktadır. Bunun yanında maya ve küflerin sayısı ise devamlı olarak azalma göstermektedir.

Fermantasyon sırasında tarhana karışımındaki protein, karbonhidrat ve yağ bileşenleri kısmi olarak sindirime ve hidrolize tabii tutularak, elde edilen ürünün hazmettirici özelliklerini arttırlar (Bilgiçli 2009). Kolaylıkla sindirilebilir olması ve besleyicilik açısından (vitaminler, mineraller, proteinler ve organik asitler) zenginliği; çocuk, yaşlı ve hastaların beslenmesinde tercih edilmesini sağlar (Kumral 2015). Tarhananın bu özelliklere ek olarak, prebiotik ve sindirilemeyen karbonhidratlar gibi yararlı fizyolojik maddelere sahip olması onun fonksiyonel bir gıda olarak kabul edilmesinde rol oynamaktadır.

Fermantasyon sonunda hamur genelde güneş altında kurumaya bırakılır ya da endüstriyel fırınlarda ince bir şekilde serilerek kurutma gerçekleştirilir. Kurutma sonunda tarhananın nem içeriği %6-9 oranına düşer, pH ise 3,8-4,4 gibi bir seviyede kalarak patojen mikroorganizmalar ve bozulma yapan mikroorganizmalar için elverişli bir ortam oluşmasını önler. Tarhananın higroskopik yapısı gereğince hiçbir bozulmaya uğramadan 2-3 yıl boyunca depolanabilir (Değirmencioğlu vd. 2005). Göçmen vd. (2004) tarhanada vakum altında kurutma ve güneş altında kurutmanın aroma aktif uçucu bileşenler üzerindeki etkisini araştırmak üzere gaz kromatografisiyle analizlerini gerçekleştirmiş ve iki kurutma şeklinde de aroma aktif bileşenleri tanımlamışlardır. Ortak ve yaygın olarak tarhanada bulunan aroma aktif bileşenler için; esterler, alkoller, ketonlar, terpenler, furanlar, fenoller, sülfürlü bileşikler ve asitler tanımlanırken, vakum altında kurutmada 41 bileşen tanımlanırken, güneş altında kurutmada 23 bileşen saptanmıştır.

Glutensiz tarhana ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda genellikle tahıl kaynağı olarak buğday unu yerine gluten içermeyen hububat ürünleri kullanılmıştır. Bilgiçli (2009) tarhana yapımında karabuğday unu kullanmış ve fermantasyon sonunda elde ettiği üründe buğday unundan elde edilen tarhanaya göre daha yüksek toplam kül, potasyum, magnezyum ve fosfor içeriği bulunduğunu saptamıştır. Fakat yüksek oranda karabuğday unu içeren örnekler ile düşük oranda karabuğday unu içeren örnekler karşılaştırıldığında yüksek oranda içerenlerde ekşimsiliğin fazla olduğu,

bu yüzden duyusal analizde düşük puanlara sahip olduğunu tespit etmiştir. Düşük oranda karabuğday unu ilave edildiğinde tarhana özelliklerinde kayda değer bir değişim gözlenmemiş besin değerinin arttığı belirlenmiştir. Demir (2014)'ün yaptığı çalışmada ise buğday unu yerine kinoa unu kullanmıştır. Kinoa unuyla beraber düşük oranlarda pirinç unu ve patates nişastası karıştırarak formülasyona eklenen örneklerin kimyasal ve duyusal özelliklerinde aynı zamanda besin değerlerinde artışlar olduğunu belirtmiştir. Durmuş (2015) buğday unu yerine mısır unu kullanarak çölyak hastalarının tüketimine uygun bir şekilde hazırlanan tarhananın fizikokimyasal özelliklerini iyileştirmek adına hidrokolloid katkısı kullanmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar fırınlanmış mısır unu örneklerinde tüm hidrokolloidlerin (guar zımkı, ksantan zımkı, keçiyoynuzu zımkı) su tutma kapasitesini arttırdığını, ancak fırınlanmamış mısır unlarında sadece ksantan zımkının su tutma kapasitesini azalttığını gözlemlemiştir. Araştırma sonunda ise mısır unu kullanılarak yapılan tarhana üretiminde meydana gelen kıvam sorununun hidrokolloid kullanılarak giderilebileceği ve duyusal analiz özellikleri bakımından da kabul edilebilir olduğu saptanmıştır.

2.2. Proteazlar

Bitkisel ve hayvansal proteazların yetersizliği ve artan proteaz ihtiyacı mikrobiyal proteaza olan ilgiyi arttırmıştır. Mikroorganizmalar geniş biyokimyasal çeşitliliğe sahip olmaları ve genetik mutasyona olan duyarlılıkları sebebiyle mükemmel bir proteaz kaynağıdır. Bakteriyel, fungal ve virüs kaynaklı proteazlar bu grupta yer almaktadır.

Fungal Proteazlar bakteriyel proteazlara göre çok daha fazla çeşitlilikte enzim içermektedir. Örneğin *Aspergillus oryzae* asidik, nötr ve bazik enzimler üretmektedir. Fungal proteazlar 4-11 arası geniş bir pH aralığında çalışmaktadır, asidik fungal proteazlar ise optimum olarak 4-4,5 pH değerinde çalışabilmekte olup 2,5-6,0 aralığında stabilitelelerini de korurlar. Asidik fungal proteazlar sınırlı pH aralıkları ve özgül sıcaklık değerlerinde çalışmaları sebebiyle peynir üretim endüstrisinde oldukça sık kullanılırlar. Fungal proteazlar süt endüstrisinde, fırın ürünleri endüstrisinde, soya ürünlerinin üretiminde, protein hidrolizatlarının acılığının giderilmesinde ve aspartam sentezinde kullanılmaktadır. Fırın ürünleri endüstrisinde *Aspergillus oryzae*'den elde edilen endo-ve ekzoproteazlar sınırlı proteolize uğratarak buğday ununu modifiye etmede kullanılmaktadır. Hamurun enzimle muamelesi, kullanımını ve işlenmesini kolaylaştırır. Böylelikle farklı şekilde modifiye edilen unlar kullanılarak ürün çeşitliliği artırılabilir. Ayrıca proteaz eklenmesi hamurun karıştırma süresini azaltır ve somun hacminde artışa neden olur (Rao vd. 1998).

2.3. Gluten

Buğday tahıl proteinleri genel olarak 3 ana gruptan oluşmaktadır: gluteninler, gliadinler ve albumin/globulinler. Farklı protein fraksiyonlarının hamurun işlenmesi sırasında kalite üzerine önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir, bunlardan en önemlisi glutendir. Gluten, gliadin ve gluteninin birleşiminden oluşan ağsı bir yapıdır (Wang vd. 2016). Gluten, buğday hamurundan nişasta granüllerinin ve suda çözünebilen maddelerin yıkanarak uzaklaştırılmasıyla elde kalan elastik kütle olarak tanımlanabilir. Gluten yapısında yüzlerce farklı protein bileşeni içerir. Bu proteinler monomerik yapıda bulunabileceği gibi disülfid bağlarıyla bağlı olarak, oligomerik ve polimerik yapıda da bulunurlar (Wieser 2006).

Gliadinler aminoasit bileşimleri ve moleküler ağırlıkları göz önüne alındığında ω 5-, ω 1,2-, α - β ve γ gliadin olmak üzere dört farklı gruba ayrılabilir. ω 5 gliadinleri diğer fraksiyonlara göre çok daha büyük moleküler ağırlığa sahip olup, glutamin ve fenilalanin bakımından da çok daha fazla içeriğe sahiptirler. Genel olarak ω 5- gliadini, toplam bileşimin %80'ini oluşturmaktadır (Wieser 1996). Gluteninler birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanmış toplu protein gruplarını kapsar, gluteninlerin moleküler ağırlıkları hamurun özellikleri ve pişirme performansı açısından oldukça önemlidir. Gluteninlerin disülfid bağları indirgendikten sonra gliadinler gibi alkol çözeltilerinde çözünebilmektedirler (Wieser 2006).

Gluten protein bileşenleri HMW (Yüksek moleküler ağırlıklı) MMW (Orta moleküler ağırlıklı) LMW (Düşük moleküler ağırlıklı) olmak üzere üç grupta incelenmektedir. Glutenin %80'i düşük molekül ağırlıklı bileşiklerden oluşmakta olup, bu grubun içinde α -, γ -tipi gliadinler ve düşük moleküler ağırlıklı glutenin alt üniteleri bulunmaktadır (Stern vd. 2001).

Gluten proteinleri ısıya karşı duyarlı olup, ısıtmaya bağlı olarak çapraz bağlardan dolayı gluten viskozitesi sabit kalır ya da artış gösterir. Karıştırma ise protein reaktivitesini destekler ve proteinlerin çözünürlük kaybı için gerekli olan aktivasyon enerjisini düşürür (Lagrain vd. 2005).

Yalçın vd. (2008) buğday, mısır ve pirinç unu kullanarak tarhana formülasyonları oluşturmuş ve bu tarhanaların kimyasal ve fiziksel özelliklerini incelemiştir. Unların ve bu unlardan üretilen tarhanaların viskozite değerleri incelendiğinde buğday unu ve buğday unundan üretilen tarhana en düşük viskozite değerine sahipken, mısır unu ve mısır unundan üretilen tarhana en yüksek viskozite değerine ulaşmıştır. Farklı nişasta karakterlerine sahip olmaları onların su tutma kapasitelerini, topaklaşma özelliklerini etkilemektedir ve böylelikle değerler arasında farklılıklar olmasına sebep olmaktadır. Fakat protein oranları incelendiğinde en yüksek değeri buğday unundan üretilen tarhana alırken (%17,3), en düşük protein oranını mısır tarhanası (%9,5) almıştır. Benzer bir çalışma Köse ve Çağındı (2002) tarafından yapılmış buğday unu, arpa unu, mısır unu ve soya fasulyesi unu kullanılarak üretilen tarhanaların protein oranları karşılaştırılmıştır; en yüksek değeri soya fasulyesinden elde edilen tarhana, daha sonra buğday unundan elde edilen tarhana ve bunları takiben arpa ve mısır unundan elde edilen tarhanalar yer almıştır.

Gluten proteinleri buğday hamurunun fiziksel özelliklerinin ve buğdaydan üretilmiş olan ekmeklerin tekstürünün belirlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Laktik asit bakterileri ve asetik asit bakterileri tarafından asidik hale getirilmiş olan buğday hamurlarında fermantasyon boyunca fiziksel özelliklerde değişimler meydana gelmektedir, bu değişimlerden en önemlisi viskozitede meydana gelen değişimdir (Thiele vd. 2004). pH 3,8-4,1 seviyelerine geldiğinde buğday unundaki proteinazların optimum koşulları sağlanmış olur böylece gliadin ve glutenin proteinlerinin fermantasyon süresince hidrolizleri meydana gelir (Wu ve Hosney 1989).

Nordqvist vd. (2012) glutenin enzimatik hidroliz ya da ısıyla etkileşiminden sonraki özelliklerini incelemiş ve hidrolize uğrama sıklığının artmasıyla viskozitede belirgin şekilde düşüşler gözlemlenmiştir.

2.4. Gluten Analiz Yöntemleri

Buğday proteinlerinden glutenin ve gliadinin tuzlu su ile yıkanması sonucu su alıp şişmesi suretiyle meydana getirdiği elastik yapıdaki maddeye yaş öz denir. Bu özellik yalnız buğday glutenine hastır. Yaş öz miktarı genellikle azotlu madde miktarı ile pozitif korelasyon gösterir. Öz kalitesi düşük bazı buğday çeşitlerinde öz elde edilememekte veya su miktarı çok yüksek yaş öz elde edilmektedir ki, bu da korelasyon menfi tesir etmektedir. Dolayısıyla yaş öz miktarı protein miktarından çok, protein kalitesi hakkında bilgi vermektedir. Genellikle öz miktarı arttıkça unun su absorpsiyonu da artmaktadır (Elgün vd. 2002).

El ile yıkama sonucu elde edilen yaş öz, daha önce kurutulup soğutulan, darası alınmış kurutma kaplarında kurutulup, desikatörde en az 15 dk soğutulduktan sonra tartılır. Sonuçta da örneğin kuru maddesi üzerinden % olarak kuru öz miktarı hesaplanır (Elgün vd. 2002).

Gıdalarda gluten ya da gliadinin belirlenmesine yönelik birçok analitik metot geliştirilmiş ve yayınlanmıştır. Bu metotlarda ya örnekteki proteinlerin ya da bunları kodlayan DNA dizilerinin tespit edilmesi hedeflenmektedir (Stern vd. 2001). Bunlar arasında protein temelli olanlar için kütle spektrometresi ile dedeksiyon imkanı sağlayan kromatografik, elektroforetik ve immünolojik yöntemler sayılabilir. DNA temelli olan yöntemlerde ise Polimeraz Zincir Tepkimesi (PZR) tekniğinden faydalanılır.

Kromatografik yöntemlerde örnek bileşenlerinde bir ayırım sağlandıktan sonra kullanılan dedektör aracılığı ile elde edilen fraksiyonların tanımlanması gerçekleştirilebilir. Proteinlerin birbirinden ayrıştırılması amacıyla kullanılacak dedektör sistemlerinden moleküler ağırlıklarına göre bileşenleri tanımlamada kullanılabilen kütle spektrometresidir. Literatürde, gluten analizi amacıyla geliştirilmiş kütle spektrometresinin kullanıldığı yöntemler bulunmaktadır, bu yöntemlerle ilgili yapılan çalışmalar Çizelge 2.2’de gösterilmektedir.

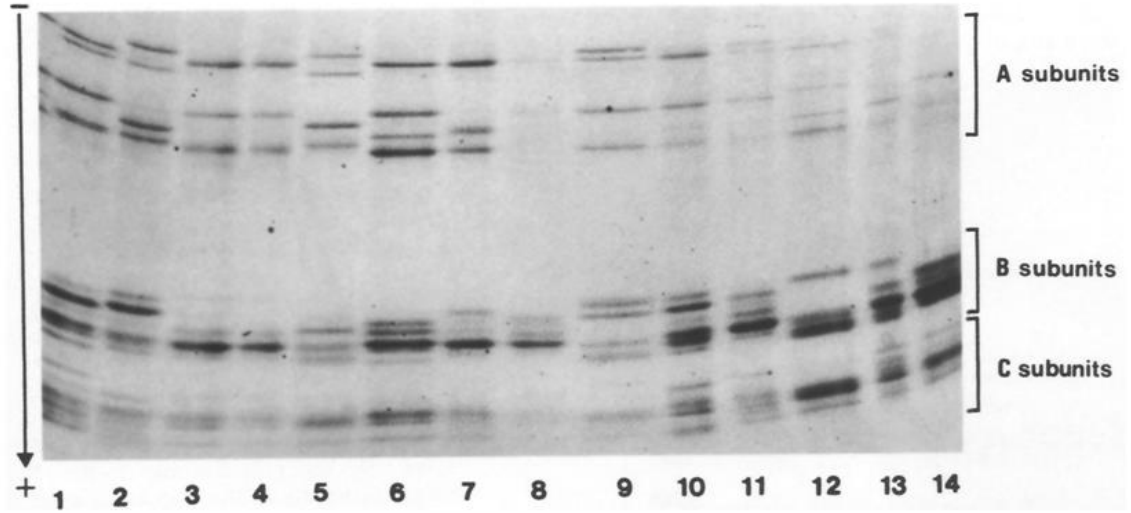
Çizelge 2.2. Kromatografik yöntemlerle birlikte kullanılan kütle spektroskopisinin gluten analiziyle ilgili yapılan çalışmalar

Yöntem	Ürün	Tespit limiti	Referans
LC-MS	Malt sirkesi ve soya sosu	nitel	Li vd. (2018).
LC-MS/MS	Buğday unu	nitel ve nicel	Schalk vd. (2018)
LC-MS	Bira	nitel	Colgrave vd. (2017).
HPLC ES-MS	Buğday unu	nitel ve nicel	Mamone vd. (2000)
MALDI-TOF MS	Buğday, çavdar, arpa, yulaf unu	nitel	Mendez vd. (2000)

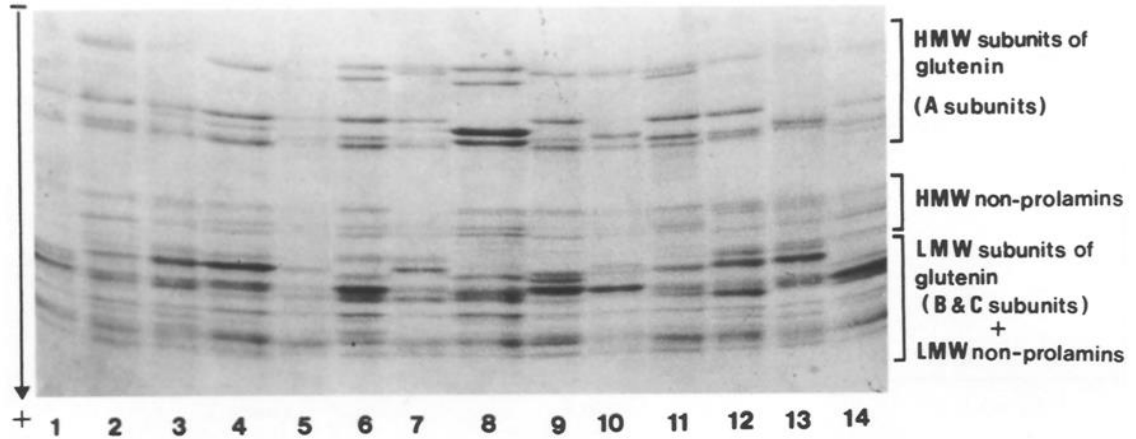
Elektroforetik yöntemler içinden gluten analizi için geliştirilmiş metotlardan biri Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamil Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)’dir. SDS proteinlerin denatüre olmasını ve güçlü bir şekilde negatif yükü yüklenmesini sağlar.

Negatif yüklenen bu proteinler elektriksel alanda pozitif yöne doğru hareket ederek moleküler ağırlıklarına göre birbirlerinden ayrılırlar (Poms vd. 2004).

Gupta ve Shepherd (1990) glutenin molekülünün düşük molekül ağırlıklı alt ünitelerini analiz etmek için iki adımda tek boyutlu SDS-PAGE yöntemini kullanmış ve gliadin ve glutenin alt ünitelerine ait bantları elde etmiştir (Şekil 2.1’de %70 sıcak alkol çözeltisinde ve Şekil 2.2’de TRIS-HCl tampon çözeltisinde ekstrakte edilmiş farklı buğday çeşitlerinin SDS-PAGE desenleri).



Şekil 2.1. %70 sıcak alkol çözeltisinde ekstrakte edilmiş farklı buğday çeşitlerinin SDS-PAGE deseni (Gupta ve Shepherd 1990).



Şekil 2.2. TRIS-HCl tampon çözeltisi (pH 6,8) ile ekstrakte edilmiş farklı buğday çeşitlerinin SDS-PAGE deseni (Gupta ve Shepherd 1990).

İmmünolojik analizler antijen ve selektif bir antikorun antijen-antikor kompleksini oluşturma reaksiyonuna dayanır. Bu reaksiyon, alkalın fosfataz ve yabancu peroksidazı gibi bir enzim yardımıyla son ürünün renk değiştirmesiyle görselleştirilebilir (Van Emon vd. 2006). Enzimle etiketli immünolojik analizlerde iki önemli biyolojik olgu vardır, (i) olağanüstü ayırıcı güce sahip olan antikorlar ve bu antikorlar omurgalıların bağışıklık sisteminde neredeyse sınırsız sayıda protein (antikor)

üretim kabiliyeti ve (ii) enzimlerin sahip olduğu yüksek katalitik güç ve özgüllüktür (Burdon ve Knippenberg 1985).

ELISA testi antikor enzim ile saptayan immünolojik bir analizdir ve süt, fıstık, ceviz, yumurta, gluten gibi gıdalarda bulunan gıda alerjenlerinin tespit edilmesinde kullanılan ana yöntemdir. Bu bakımdan gıda endüstrisinde oldukça önemli bir rol oynamaktadır (Hosseini vd. 2018). Günümüzde glutensiz ürünlerin gluten içeriğinin belirlenmesinde R5 antikoruna dayalı ELISA testi kullanılmaktadır. Bu yöntem Codex Alimentarius komisyonu tarafından gluten analizinde kullanılması için onaylanmış, kalıntı gluten miktarının tespiti için kullanılacak uluslararası kabul görmüş bir yöntemdir. Bu immünolojik yöntemde kullanılan R5 monoklonal antikor çölyak hastaları için gliadin hordein ve sekalinde bulunan ve toksik etki yaratan epitoplara tanıyabilmektedir. Bu teknik kokteyl ekstraksiyon çözeltisiyle birlikte yürütülmektedir. (Mena vd. 2012).

Gluten tespitinde başvurulabilen ve DNA temelli bir yöntem olan gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (PZR), floresan teknikleri kullanılarak DNA amplifikasyonunun eş zamanlı olarak takibine dayalı bir tekniktir. Bu yöntemle hedef moleküllerin (yani DNA'nın) başlangıç miktarı amplifikasyon kurvelerinden elde edilen bilgiye göre yüksek hassasiyetle ve geniş bir konsantrasyon aralığında kantitatif olarak belirlenebilmektedir. Ardından ise erime kurvesi analizi yapılarak, amplifiye olmuş gen sekansları, ürün uzunluğu ve baz bileşim fonksiyonunun oluşturduğu erime derecelerine göre sınıflandırılabilir (Wilhelm ve Pingoud 2003). Sanberg vd. (2003) bu tekniği kullanarak glutensiz gıdalardaki tahıl kontaminasyonunu tespit etmeye yönelik araştırmalar yapmıştır. Söz konusu çalışmada, amplifikasyon için gliadin, sekalin, hordein ve avenin genlerine ait hedef dizileri çoğaltabilecek primerler kullanılmıştır.

Codex Alimentarius komisyonu 20 mg/kg'dan daha az miktarda gluten içeriği olan gıdaları glutensiz olarak nitelendirmiştir. ELISA yöntemi gibi birçok immünolojik prosedür prolamin tespiti ve miktarının saptanması için kullanılmıştır. Ancak prolaminin yapı gereği karmaşıklığı ve gıdadaki diğer bileşenler bu testlerde yanlış sonuçların alınmasına sebebiyet vermektedir. Bunun yanında bu immünolojik yöntemler ısı işlem görmüş gıdalarda yeterli hassasiyeti ya da özgüllüğü yakalayamamaktadır. Hassasiyet açısından kıyaslandığında ise PZR yönteminin hassasiyeti ELISA'yı aşmaktadır (Meral 2016).

2.5. Glutensiz Gıda ile Beslenme: Tercihler ve Zorunluluklar

Glutensiz olarak tanımlanan gıdalara olan en büyük talep çölyak hastalığı tanısı konmuş kişilerden gelmektedir. Bunun yanında dermatitis herpetiformis, gluten ataksisi, çölyak olmayan gluten hassasiyeti ve buğday alerjisine sahip kişiler de glutensiz diyet uygulamaktadır. Yine nöropsikiyatrik hastalıklarda özellikle şizofreni, otizm, periferik nöropatide de çölyak olmayan gluten hassasiyeti oluşmaktadır, bu sebeple bu hastalığa sahip olan insanlar glutensiz gıdalar ile beslenmektedirler (Catassi vd. 2013). Ancak 21. yüzyılın başından beri glutensiz beslenme bir moda trendi olarak tüm ülkelerde rağbet görmüş ve insanlar bu diyeti herhangi bir tıbbi rahatsızlık olmadan uygulamaya başlamıştır. Bunun sebebi basılan birçok kaynakta gluten çok zararlı bir protein olarak gösterilmiş, hatta kilo alma, obezite, diyabet ve otizm nedeni olarak belirtilmiştir. Amerika'da glutensiz gıdaları satın alan insanların yarısından çoğunun glutene karşı

herhangi bir rahatsızlığı bulunmamasına rağmen, glutensiz gıdaların onların kilo vermelerine yardımcı olacağını, daha sağlıklı bir ürün olduğunu düşündükleri için tercih etmektedirler (Reilly 2016).

Otoimmün bir rahatsızlık olan bu çölyak hastalığı buğday, arpa ve çavdarın prolamin fraksiyonlarındaki belirli bir diziyeye sahip aminoasit sekanslarına olan hassasiyete dayanmaktadır. Bu prolaminler gliadin, hordein ve sekalindir (Thompson ve Mendez 2008).

Çölyak hastalığı gluten içeren gıdaların alınmasıyla bağırsaklardaki villusun bulunduğu dokunun hasara uğraması sonucu oluşan emilim bozukluğudur. Bu hastalığa sahip bireylerin gluten içeren gıdaları tüketmesi durumunda vitamin ve mineraller başta olmak üzere vücudun gereksinim duyduğu besin maddelerinin yetersiz emilimi ve beraberinde oluşacak birçok hastalık mümkün hale gelecektir (Türksoy ve Özkaya 2006). Çölyak hastalığı tanısı konduktan sonra hastanın vitamin, mineral, folik asit, B₁₂ yağda eriyen vitaminler, demir ve kalsiyum eksikliğinin olup olmadığını değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu hastaların aynı zamanda osteoporoz için düzenli tarama yaptırmaları gerekmektedir, osteoporoz çölyak hastaları içinde oldukça yüksek prevalansa sahiptir (Green ve Cellier 2007). Çölyak hastalığı hem erişkin hem de çocuklarda görülen bir hastalıktır ve hayat boyu devam etmektedir. Dünyada giderek artan bu hastalığın prevalansı %0,05-0,1 olup ülkeden ülkeye değişmektedir (Kuloğlu 2013). Güncel olarak prevalans ile ilgili yapılan çalışmalar Türkiye’de Çizelge 2.3. ve Dünya’da Çizelge 2.4. olmak üzere gösterilmiştir.

Çizelge 2.3. Çölyak hastalığının Türkiye’de görülme sıklığı (Pehlivan 2016)

Ülke/Şehir	Çalışma grubu	İncelenen kişi sayısı	Çölyak hastalığı yaygınlığı (prevalans)	Yıl
Türkiye	Çocuk (6-17 yaş okul çocuklarında)	20190	1/212	2010
Türkiye(Ankara)	Çocuk (2-18 yaş sağlıklı veyahastaneye başvuran çocuk hastalarda)	1000	1/100 (1/111 biyopsiyle)	2008
Türkiye(Erzurum)	Çocuk (6-17 yaş okul çocuklarında)	1263	1/115 (1/158)	2005
Türkiye(Kayseri)	Erişkin (hastaneye başvuran)	906	1/100	2005
Türkiye(Ankara)	Kan vericiler	200	1,3/100	2004
Türkiye(Ankara)	Kan vericiler	5054	1/140	2003

Çizelge 2.4. Çeşitli ülkelerde Çölyak hastalığının görülme sıklığı (Leonard vd. 2017)

Ülkeler	Karşılaşma Sıklığı (%)	Ülkeler	Karşılaşma Sıklığı (%)
Cezayir	5,6	Hollanda	0,5
Arjantin	0,6	Yeni Zelandada	1,2
Avusturalya	0,4	Portekiz	0,7
Brezilya	0,5	Rusya	0,2
Mısır	0,5	İspanya	0,3-1,4
Finlandiya	1,0-2,4	İsveç	0,5-2,9
Almanya	0,2	Tunus	0,6
Hindistan	0,3-1,0	Türkiye	0,6-1,0
İran	0,5-1,0	İngiltere	0,9-1,0
İrlanda	0,8	Amerika	0,3-0,9
İtalya	0,9-1,0	İngiltere	0,9-1,0
Libya	0,8	Amerika	0,3-0,9

Buğday alerjisi durumu tıpkı çölyak hastalığı gibi buğday ve ürünlerinde bulunan proteine karşı tepki gösteren, immün sistemini tetikleyen bir hastalıktır. Ancak çölyak hastalarından farklı olarak da diyetlerinden arpa, çavdar gibi diğer prolamin gruplarını çıkartma zorunlulukları bulunmamaktadır. Bu durum incelendiğinde buğdaysız bir beslenme biçiminin, çölyak hastalığına uygun bir diyetle göre daha serbest olduğu anlaşılmaktadır. Buğday alerjisinin semptomları genelde vücudun; burun, göz, boğaz, deri, solunum sistemi ve mide-bağırsak bölümlerinde ortaya çıkar. Çölyak hastalığının aksine, buğday alerjisi sonucunda bağırsaklarda kalıcı hasar gözlenmez (Pietzak 2012).

Gluten hassasiyeti ise çölyak hastalığı ve buğday alerjisiyle kıyaslandığında immün sistemini tetikleyen bir hastalık değildir. Mide ve bağırsakta meydana gelen şikayetler gluten hassasiyeti (intoleransı), buğday alerjisi ve çölyak hastalığını birbirinden ayırıp teşhis koymayı zorlaştırmaktadır, çünkü gluten hassasiyetinde de bu bölgelerde gaz sıkışması, mide bulantısı, kusma gibi rahatsızlıklar gözlemlenmektedir. Ancak çölyak hastalığından farklı olarak, beslenme eksikliği ya da bağırsakta kalıcı hasar gibi sorunlara neden olmamaktadır (Pietzak 2012).

TGK (2012)'de gıdalarda 'glutensiz', 'gluten içermez' ya da 'gluten yoktur' ifadelerinin kullanılabilmesi için en fazla 20 mg/kg gluten içermesi gerekmektedir. Ayrıca gıdanın 'çok düşük gluten / çok düşük glutenli' olarak nitelendirilebilmesi için ise bu gıdanın en fazla 100 mg/kg gluten içeriğine sahip olması gerekmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Tarhana hamurlarının hazırlanmasında kullanılan ortak malzemeler olan beyaz buğday unu (Söke Degirmencilik Tekstil San. ve Tic. A.Ş., Aydın, Türkiye, %15 protein), yoğurt (Ak Gıda San. ve Tic. A.Ş., İstanbul, Türkiye, %23 protein), önpişirilmiş nohut unu (Kenton Gıda San. A.Ş., İstanbul, Türkiye, %15,5 protein), domates ve biber salçası (Tat Gıda San. A.Ş., Bursa, Türkiye) yerel satıcılardan temin edilmiştir. EM ve EE formülasyonlarında toz formda kuru ekşi maya (Dr. Oetker Gıda San. ve Tic. A.Ş., İzmir, Turkey) kullanılmıştır. EN ve EE formülasyonlarında ilave edilen proteaz karışımları *Aspergillus niger* kökenli fungal asit stabil proteaz (3000 spectrophotometric acid protease units/g) ve *Aspergillus oryzae* kökenli fungal proteaz (500,000 hemoglobin units on the tyrosine basis/g) (Bio-Cat Enzymes, Troy, VA, USA)'den oluşup iki enzim preparatının eşit oranda karıştırılması ile elde edilmiştir. Hamur oluşturmada ve örnek seyreltme işlemlerinde demineralize edildikten sonra MilliQ cihazı (Millipore, Billerica, MA, USA) ile saflaştırılan (0.22 µm por çapına sahip filtreden geçirilmiş) steril saf su kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan kimyasal sarf malzemeler analitik saflıkta tedarik edilmiştir.

Fungal proteaz, *Aspergillus oryzae* kökenli bir enzim olup gıdada kullanılabilme özelliğine sahiptir. Bu enzim endo ve ekzo peptidaz aktivitesine sahiptir ve geniş substrat özgüllüğü sergiler. Çözülen çoğu proteini etkili bir şekilde hidrolize edebilme yeteneğine sahiptir, bu etkinlik hayvansal ve bitkisel proteinleri kapsamaktadır. Çalışma sıcaklığı 25-60 °C'dir ve 2,5- 6,5 pH aralığında etkinlik göstermektedir. Asit stabil proteaz, *Aspergillus niger* kökenli bir enzimdir, gıdada kullanıma uygundur. Asit stabil proteaz, düşük pH'da yüksek aktivite gösteren proteinaz ve peptidazların karışımı bir kompleks enzimdir. Çalışma sıcaklığı 30-65 °C'dir ve 1,0-4,0 pH aralığında etkinlik göstermektedir (Anonim 3).

3.2. Tarhana Örneklerinin Hazırlanması

3.2.1. Tarhana hamurlarının formülasyonu, hazırlanması ve fermantasyon işlemi

Çizelge 3.1'de belirtilen oranlarda buğday unu, nohut unu (endüstriyel olarak ön pişirmeye tabi tutulmuş), yoğurt, domates salçası, biber salçası, su, enzimler ve ekşi hamur mayası karıştırılarak Şekil 3.1. (a)'da görüldüğü üzere hamur haline getirilmiştir. Bu hamurlar 24 saatte bir yaklaşık 1 dk boyunca yoğurularak 30 günlük bir fermantasyona uğratılmıştır. Fermantasyon 22 °C'lik bir etüvde gerçekleşmiştir. Hamurlar iki tekerrürlü hazırlanmış ve herbir analiz için iki paralel örnek test edilmiştir.

Çizelge 3.1. Tez çalışması için hazırlanan tarhana hamurlarında kullanılan malzemeler ve miktarları

Formülasyonda kullanılan bileşen		Formülasyon			
		TT	EM	EN	EE
Buğday unu	g	250	250	250	250
	% (w/w)	43,0	41,7	42,9	41,7
Yoğurt	g	250	250	250	250
	% (w/w)	43,0	41,7	42,9	41,7
Su	g	30	30	30	30
	% (w/w)	5,2	5,0	5,2	5,0
Nohut unu	g	35	35	35	35
	% (w/w)	6,0	5,8	6,0	5,8
Domates salçası	g	8	8	8	8
	% (w/w)	1,4	1,3	1,4	1,3
Biber salçası	g	8	8	8	8
	% (w/w)	1,4	1,3	1,4	1,3
Kuru ekşi hamur mayası	g	-	18	-	18
	% (w/w)	-	3,0	-	3,0
Enzim katkısı	g	-	-	0,5 ¹	0,5 ¹
	% (w/w)	-	-	0,09	0,08

¹ Belirtilen miktar ağırlıkça eşit oranda fungal proteaz ve asit stabil proteaz enzimlerini içermektedir.

3.2.2. Kuru tarhana örneklerinin elde edilmesi

Analizler için gereken tarhana örnekleri fermantasyonun 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerinde 30 g alınarak 55 °C'de 48 saat boyunca etüvde sabit tartım ağırlığına ulaşıncaya kadar kurutulmuştur. Bu aşama sonrası kuruyan tarhana örnekleri Şekil 3.1.'de (b)'deki şekilde porselen havan yardımıyla öğütülmüştür. Toz tarhana örnekleri analizlerde kullanılmak üzere kapaklı kaplarda 22 °C'de muhafaza edilmiştir.



(a)

(b)

Şekil 3.1. a) Dört farklı formülasyonda hazırlanmış tarhana hamurları; **b)** Etüvde kurutulduktan sonra krozede öğütülen tarhana örneği.

3.3. Tarhana Hamurunda pH Analizi

Alınan 5 g tarhana örneği, 45 ml saf su ile seyreltilmiş, daha sonra dijital pH metre (PHM210 Standard pH Meter, USA) ile okuma yapılmıştır (Erbaş vd. 2005). Tayinler fermantasyonun 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerinde ve tüm formülasyonlar için gerçekleştirilmiştir.

3.4. Tarhanada Kuru Madde Tayini

Hamur örneklerinde kuru madde analizi ICC (1976)'daki yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Kuru madde tayini hamur fermantasyonunun 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerinde incelenmiştir. Kuru madde tayini belirtilen günlerde her bir ayrı formülasyon için uygulanmış olup 45-50°C'de etüvde sabit tartıma gelene kadar bir kurutma sağlanmıştır. Kurutma sonunda desikatöre alınan örnekler 30 dk sonra tekrar tartılarak örnek kütlelerine bağlı olarak (3.1)'deki formüle göre hesaplama gerçekleştirilmiştir.

$$\% \text{ KM} = \frac{M_2 - M_1}{M} \cdot 100 \quad (3.1)$$

% KM : Yüzde kuru madde oranı

M_2 : 48 saat sonraki kurutma kabı ve örneğin ağırlığı, g

M_1 : Sabit tartıma getirilmiş kurutma kabının ağırlığı, g

M : Tartılan örnek ağırlığı, g

3.5. Tarhana Hamurunda Protein Tayini

Farklı formülasyonlardaki hamurların fermantasyonlarının 0. ve 30. gününden alınan örneklerle protein miktarları Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezi'nde gerçekleştirilen Kjeldahl analizleri ile saptanmıştır. Kjeldahl yöntemine (AOAC 1990) göre yaş yakma ünitesi (Velp Scientifica Heating Digester, İtalya) ve distilasyon ünitesi (Velp Scientifica UDK 129, İtalya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kjeldahl yönteminde örnekler uygun katalizörler eşliğinde H₂SO₄ çözeltisiyle yüksek sıcaklıkta organik bileşiklerine parçalanır. Bu esnada örneğin içeriğindeki tüm azot (NH₄)₂SO₄'a dönüşür, Açığa çıkan NH₃ damıtılarak belirli bir standart çözelti içerisinde toplanır, bazık bir çözelti elde edilir. Çözelti titrasyona tabi tutulur. Nötürleşmeyen fazla asit miktarı saptanır, buradan örneğin içerdiği azot miktarı spesifik faktörüyle çarpılarak protein miktarının elde edilir.

Azot oranı (3.2)'de verilen formüle göre hesaplanmış ve 6,25 faktörüyle çarpılarak örneklerin içerdiği ham protein miktarı belirlenmiştir (Erbaş vd. 2005).

$$\% \text{Azot} = \frac{(V_1 - V_0) N \cdot 0,014}{M} \cdot 100 \quad (3.2)$$

V₁ : Titrasyonda harcanan H₂SO₄ çözeltisi miktarı, ml

V₂ : Kör deneme titrasyonunda harcanan H₂SO₄ çözeltisi miktarı, ml

N : Titrasyonda kullanılan H₂SO₄ çözeltisi normalitesi

M : Tartılan örneğin ağırlığı, g

3.6. Tarhanada Kül Tayini

Örnekler, sabit tartıma getirilmiş porselen kroze içerisine tartılarak, kül fırınında 550± 5°C'de kalıntı beyaza yakın renk alana ve sabit ağırlığa ulaşınca kadar yakılır. Yakma işlemi sonunda krozelerde kalan örnek kütlesi başlangıçtaki örnek kütlesine oranlanarak örneklerin kül miktarı (3.3)'deki formüle göre hesaplanır (AACC 1999).

$$\% \text{Kül} = \frac{X_2 - X_1}{X} \cdot 100 \quad (3.3)$$

X₂ : Yakma sonrası kroze ve örneğin ağırlığı, g

X₁ : Sabit tartıma getirilmiş kroze ağırlığı, g

X : Tartılan örneğin ağırlığı, g

3.7. Duyusal Analiz

Öğütülmüş tarhanalardan tarhana çorbalarının hazırlanmasında %10 tarhana tozu, %0,5 tuz ve %89,5 su içeren pişirme formülasyonu uygulanmıştır. Örnekler 10 dk boyunca kaynatılmıştır. Tüm çorba formülasyonları için fermantasyonun son gününde elde edilen kurutulmuş tarhana tozu kullanılarak hazırlanan çorba örnekleriyle duyusal analiz gerçekleştirilmiştir. Duyusal analizde, panelistlerden (4 erkek, 7 kadın) örnekleri

renk, koku, kıvam, lezzet ve genel beğeni bakımından 1 ve 5 arasında puanlama yapmaları istenmiştir (EK-1). Tadım sırasında panelistlere örnek geçişlerinde ağızdaki tadı nötrlemek üzere yağsız tuzsuz çubuk kraker ve içme suyu sunulmuştur.

3.8. Unda Yaş ve Kuru Gluten Tayini

Tarhana formülasyonlarında kullanılan unun gluten miktarının belirlenmesinde yaş ve kuru gluten tayini uygulanmıştır. TS EN ISO 21415-4 Buğday ve Buğday Unu Gluten İçeriği Tayini'ne göre örnekten 10 g tartılarak 6 ml %5'lik tuzlu su çözeltisi ile hamur haline getirilmiştir. İyice yoğurulan hamurun 6 dk boyunca saf su altında yıkanması işlemiyle birlikte içerdiği nişastanın uzaklaşması sağlanmıştır. Bu kitle daha sonra tartılarak % gluten yaş ağırlığı (3.4)'teki formüle göre belirlenmiştir (Anonim 4).

$$\text{Yaş gluten miktarı (\%)} = \frac{\text{Yaş gluten miktarı}}{(100 - \% \text{Un rutubeti})} \cdot 100 \quad (3.4)$$

Daha sonra bu hamur etüvde sabit tartıma gelene kadar bekletilmiş ve kurutulan hamur desikatörde soğutulduktan sonra Şekil 3.2'deki gibi oluşan yapının tartımı ile kuru gluten miktarı elde edilmiştir (TS 2008).



Şekil 3.2. Yaş glutenin kurutulması ve desikatörde soğutulması ile elde edilen kuru gluten.

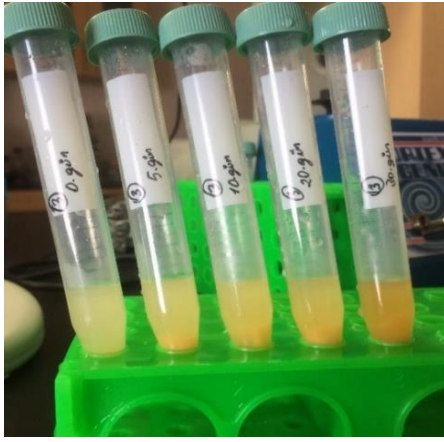
3.9. Tarhana Öneklerinde Gluten Analizi

Tarhana hamurlarından fermantasyonun 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerinde alınan örneklerden elde edilen kurutulmuş toz tarhana örnekleri analiz edilerek gluten miktarı belirlenmiştir. Bu analiz iki aşamada gerçekleştirilmektedir; ilk aşamada ELISA testine uygun bir şekilde örneğin içerdiği glutenin ekstrakte edilmesi sağlanmaktadır, ikinci aşamada ise bu glutenin miktarını saptamak amacıyla ELISA analizi gerçekleştirilmektedir.

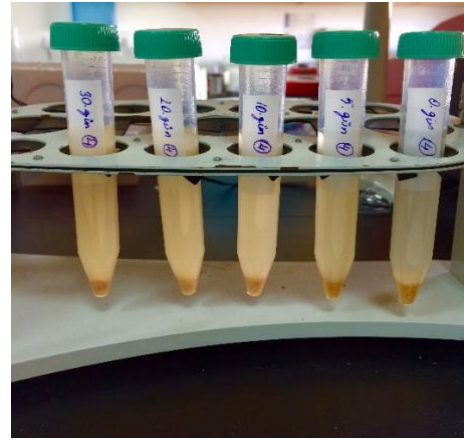
3.9.1 Örneklerin ekstraksiyonu

Örneklerin ekstraksiyonları patentli kokteyl çözeltisiyle (Ridascreen Gliadin R7006, R-Biopharm, Almanya) gerçekleştirilmiştir. Kurutulup öğütülmüş tarhana örneklerinden 0,25 g alınarak 2,5 ml kokteyl çözeltisi içinde süspansiyon edilmiş ve 40 dk

55°C’de çalkalamalı inkübatöre bırakılmıştır. Örnek soğutulduktan sonra %80 oranında etil alkol içeren 7,5 ml su çözeltisiyle 1 saat alt üst olacak şekilde 25 dev/dk’da orbital olarak oda sıcaklığında döndürücüde (Programmable Rotator-Mixer Starlab, Birleşik Krallık) döndürülmüştür. Döndürme sonunda 2500 x g’de 10 dk 22°C’de santrifüj (Allegra 25R Centrifuge, Beckman Coulter, Phoenix USA) edilip üst faz (süpernatant) pipet yardımıyla temiz bir tüpe alınmıştır. Elde edilen ekstrakt analizde kullanılmak üzere 22 °C’de karanlıkta bekletilmiştir. Şekil 3.3.’te (a) örnekler için gluten analizi için ekstrakte etmek üzere kokteyl çözeltisi eklenip, su banyosunda bekledikten sonraki (b)’de ise su banyosu işleminden sonra %80 etil alkol içeren 7,5 ml’lik su çözeltisinin aktarılmasından sonraki görüntüsü bulunmaktadır.



(a)



(b)

Şekil 3.3. a) Örneklerin gluten analizi için kokteyl çözeltisi eklendikten sonraki ekstraksiyon aşaması; b) %80 oranında etil alkol içeren su çözeltisinin eklenmesinden sonraki döndürme aşaması.

3.9.2. ELISA testi

ELISA testi Ridascreen Gliadin Sandviç ELISA test kiti (r-Biopharm, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir. Bu test prolaminler (gliadin, sekalin, hordein) ile kontamine olmuş gıdalarda gluten miktarı tayinini gerçekleştiren immünolojik bir yöntemdir.

Bu test antijen-antikor reaksiyonuna dayanmaktadır. Mikrotiter şeritlerin duvarları gliadine spesifik antikorlarla kaplanmıştır, standart veya örnek eklendiğinde var olan gliadin bu özel antikorlara bağlanır ve sonuçta antikor-antijen kompleksi oluşur. Yıkama işleminde ise bağlanmayan bileşikler uzaklaştırılır. Daha sonra peroksidaza bağlı antikor çözeltisi eklenir ve bu yapı antikor-antijen kompleksine bağlanarak, antikor-antijen-antikor (sandviç) formunu oluşturur. Bağlanmayan maddeler yıkama işlemi ile uzaklaştırılır. Substrat ve kromojen içeren çözelti eklenerek plakalar karanlıkta inkübasyona bırakılır. İkincil antikora bağlı enzim normalde renksiz olan kromojeni mavi bir ürüne dönüştürür. İnkübasyon sonrası eklenen durdurma çözeltisi (stop solution) ile kimyasal reaksiyonlar sonucu maviden sarı renge dönüşüm gerçekleşir. BioTek Lx800 ELISA plaka okuyucu (BioTek, Amerika Birleşik Devletleri) ile, okuma gerçekleştirilerek elde edilen absorpsiyon değeri çözeltinin içerdiği gliadin miktarıyla doğru orantılı olacak şekilde hesaplanır. Standart çözeltiler kullanılarak elde edilen

absorbans değerleri ile alibrasyon eğrisi oluşturulur. Buradan doğrusal regresyon modeli ile elde edilen denklem bilinmeyen bir örnekteki gliadin miktarının hesaplanması için kullanılır.

Kit ile birlikte sunulan standart gliadin çözeltileri ve örnekler aynı koşullarda, yöntemin gerektirdiği şekilde, eş zamanlı olarak kimyasal çözeltilerle muameleye tabi tutulmuştur. Standart çözeltiler kullanılarak gliadin miktarına karşılık BioTek Lx800 ELISA plaka okuyucu (BioTek, Amerika Birleşik Devletleri) cihaz ile 450 nm'de fotometrik okuma sonucu elde edilen absorbans değerlerine göre bir standart curve elde edilmiştir. Standart curve ile elde edilen doğrusal regresyon denklemi kullanılarak örneklerin içerdiği gliadin miktarı tespit edilmiş, bu değerler seyreltme faktörüyle çarpılarak gluten miktarı hesaplanmıştır. Şekil 3.4.'te (a) ELISA test kitinde bulunan; yıkama ve reaksiyonu durdurma çözeltisi, tampon çözelti, standart çözeltiler, kromojen, substrat ve enzim çözeltisi ve (b)'de ise BioTek Lx800 ELISA plaka okuyucu (BioTek, Amerika Birleşik Devletleri)'ya ait görüntüler verilmektedir.



(a)



(b)

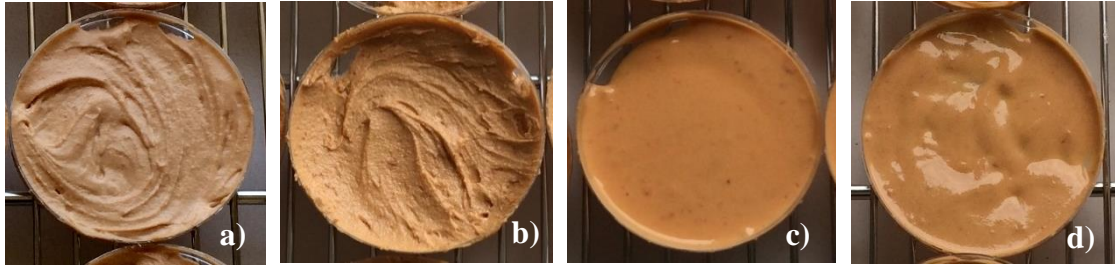
Şekil 3.4. Fermante olan hamurda yapılan gluten analizinde kullanılan malzemeler; a) ELISA test kiti içeriğinde bulunan bileşenler; b) ELISA plaka okuyucu cihaz.

3.10. İstatiksel Analizler

Tanımlayıcı istatistikler ortalama ve standart sapma değerleri ile sunulmuştur. Normallik varsayımı Shapiro Wilk testi ile kontrol edilmiştir. Tarhana çeşitlerinin zamana bağlı oluşturduğu etkilerin araştırılmasında Mixed ANOVA kullanılmıştır. Anlamlı çıkan durumlarda ikili karşılaştırmalar Bonferroni-Dunn Prosedürü ile yapılmıştır. Duyusal analiz için ikiden fazla grubun sayısal verileri arasındaki farkın analizinde non-parametrik Kruskal Wallis Testi kullanılmıştır. Anlamlı çıkan farkın sonucunda ikili karşılaştırmalarda Bonferroni-Dunn prosedürü uygulanmıştır. Analizler SPSS 23.0 programı ile yapılmıştır. İstatistiksel anlam seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Fermantasyon süresi boyunca tarhana örneklerinin bileşiminde bulunan gluten miktarındaki değişim ile ilgilenildiği için kullanılacak istatistiksel kıyaslama yöntemi Mixed ANOVA olarak belirlenmiştir. Bu yönteme göre hem her bir zaman (fermantasyon süresi) noktasında formülasyonları hem de her bir formülasyonu zamana karşı (0. günden 30. güne) karşılaştırması mümkün olmaktadır.

4. BULGULAR

Tez çalışması için uygulanan hamur formülasyonları ile elde edilen hamurlar fermantasyon süresi olan 1 ay boyunca fungal bozunma olmaksızın saklanabilmiştir. Hazırlanan hamurlar ilk gün itibariyle renk, görüntü ve kıvam özellikleri bakımından birbirine benzer özellikte olmuştur. Fermantasyon sürürdükçe, özellikle de fungal proteaz katkılı (EN ve EE) formülasyonlarında hamur kıvamında belirgin azalma (civıklaşma) gözlemlenmiştir. Fermantasyon süresinin bitiminde kurutmak üzere hazırlanan örneklerden alınan görüntülerde (Şekil 4.1) bu civıklaşmanın etkisiyle daha parlak hamur yüzeyi gözlemlenmektedir. Fermante olmuş hamurların birbirine yakın renklerde olduğu söylenebilir.



Şekil 4. 1. Fermantasyonun 30. gününde kurutma işlemi için hazırlanan örneklerden görünüm **a)** temel tarhana formülasyonu (TT); **b)** ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EM); **c)** enzim içeren tarhana formülasyonu (EN); **d)** enzim ve ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EE)

Farklı formülasyonlarda hazırlanan tarhana hamurlarında alınan örneklere uygulanan fizikokimyasal analizlerle fermantasyon süresine bağlı olarak pH değerinde, kuru maddede, kül, protein ve gluten miktarlarındaki değişimler saptanmıştır. Ayrıca fermantasyonun son gününde farklı formülasyondaki tarhana hamurları ile elde edilen tarhana unları ile hazırlanan çorbalar duyuşal değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Elde edilen bulgular aşağıdaki bölümlerde detaylı şekilde verilmektedir.

4.1. Hammade Olarak Kullanılan Unun Gluten Miktarı

Gluten kalitesi buğday ununun ve irimiğinin işleme ve pişme özelliklerinin değerlendirilmesinde kullanılan temel kriterlerin başında gelir. Unda kalite değerlendirilirken yaş gluten üzerinden %20'den az miktarda yaş gluten içeren unlar 'düşük kalite', %20-27 arasında yaş gluten içerenler 'orta kalite', %28-35 arasında yaş gluten içerenler 'iyi kalite' ve %35 üzerinde yaş gluten içeren unlar 'yüksek kalite' unlar olarak sınıflandırılır (Elgün vd. 2002).

Kullanılan unda yaş ve kuru gluten analizleri uygulanmıştır. Yaş gluten miktarı %36,91±0,98 kuru gluten miktarı ise %9,83±0,83 bulunmuştur. Bu verilere göre kullanılan unun yüksek kalitede olduğu söylenebilir.

4.2. Tarhana Analiz Sonuçları

4.2.1. Kuru madde miktarı

Tarhana formülasyonlarının fermantasyonu boyunca 0, 5, 10, 20 ve 30. günlerinde yapılan % kuru madde miktarı analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Yapılan istatistiki çalışmada fermantasyon süresinin kuru madde üzerindeki etkisinin önemli olduğu ($p<0,05$), ancak fermantasyon süresi ve formülasyon interaksyonunun kuru madde üzerinde etkisi bulunmamıştır ($p>0,05$). Formülasyonun kuru madde üzerindeki etkisi ise önemli ($p<0,05$) bulunmuştur.

Fermantasyona istatistiki açıdan aynı kuru madde içeriğine sahip tarhana hamurları ile başlanmıştır. Fermantasyonun 10. gününe kadar tüm formülasyonlarda kuru madde içeriklerinde düşüşler saptanmış ve daha sonra da yine tüm tarhana hamurlarında düşük bir oranda kuru madde içeriğinde yükseliş 30. güne kadar devam etmiştir.

Çizelge 4.1. Fermantasyon süresince alınan tarhana örneklerinde tespit edilen kuru madde miktarları (%)

Fermantasyon süresi ¹	Formülasyon ²			
	TT	EM	EN	EE
0	54,79 ^{aA} ±0,12	54,67 ^{aA} ±0,75	53,59 ^{aA} ±1,25	54,79 ^{aA} ±0,68
5	47,59 ^{abBC} ±0,03	48,57 ^{abC} ±1,04	46,82 ^{bC} ±0,38	48,41 ^{abC} ±0,31
10	46,87 ^{aC} ±0,11	47,24 ^{aD} ±0,25	46,53 ^{aC} ±0,54	46,96 ^{aD} ±0,36
20	47,30 ^{bcBC} ±0,14	48,37 ^{aB} ±0,23	47,01 ^{cC} ±0,34	47,83 ^{abC} ±0,26
30	47,75 ^{cB} ±0,01	48,83 ^{abC} ±0,27	48,41 ^{acB} ±0,35	48,73 ^{abB} ±0,32

¹ Farklı günlerdeki formülasyonlar arası veri karşılaştırması küçük harflerle gösterilmiştir ($p<0,05$)

² Herbir formülasyon için fermantasyon süresine göre ortalamaların kıyaslaması büyük harflerle belirtilmiştir ($p<0,05$)

4.2.2. Kül miktar tayini

Formülasyonların 30 gün boyunca kuru madde üzerinden % kül miktarı analize tabi tutulmuş ve Çizelge 4.2’deki sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan istatistik çalışmasında zamanın kül değeri üzerinde etkisi olduğu ($p<0,05$), ancak zaman ve formülasyon interaksyonunun kül değeri üzerinde önemli bir etkisinin bulunmadığı ($p>0,05$) tespit edilmiştir. Formülasyonun kül miktarı üzerindeki etkisi ise önemli ($p<0,05$) bulunmuştur

Çizelge 4.2. Kuru madde üzerinden kül miktar tayini sonuçları (%)

Fermantasyon süresi ¹	Formülasyon ²			
	TT	EM	EN	EE
0	1,33 ^{bb} ±0,03	1,56 ^{ab} ±0,07	1,35 ^{bc} ±0,03	1,57 ^{ab} ±0,05
5	1,65 ^{aA} ±0,02	1,83 ^{aA} ±0,10	1,65 ^{aAB} ±0,06	1,84 ^{aA} ±0,16
10	1,76 ^{abA} ±0,02	1,86 ^{aA} ±0,07	1,64 ^{bAB} ±0,04	1,84 ^{aA} ±0,05
20	1,74 ^{aA} ±0,01	1,86 ^{aA} ±0,04	1,73 ^{aA} ±0,10	1,89 ^{aA} ±0,06
30	1,78 ^{aA} ±0,01	1,83 ^{aA} ±0,03	1,63 ^{bb} ±0,08	1,85 ^{aA} ±0,03

¹ Farklı günlerdeki formülasyonlar arası veri karşılaştırması küçük harflerle gösterilmiştir (p<0,05)

² Herbir formülasyon için fermantasyon süresine göre ortalamaların kıyaslaması büyük harflerle belirtilmiştir (p<0,05)

Fermantasyonun son gününde formülasyonlar arasında kuru madde üzerinden en yüksek kül miktarına TT, EM, EE (%1,8) formülasyonlarının sahip olduğu ve bunları takiben EN (%1,6) belirlenmiştir.

4.2.3. pH değeri

Tarhana hamurlarının fermantasyon süresi boyunca belirli aralıklarla ölçümle tespit edilen pH değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. İstatistiksel inceleme sonucunda fermantasyon süresinin ve formülasyonun pH değeri üzerinde önemli derecede (p<0,05) etkisinin olduğu saptanmıştır. Ayrıca iki faktörün birbiriyle etkileşiminin de önemli düzeyde (p<0,05) olduğu belirtilebilir.

Çizelge 4.3. Farklı formülasyonlarda tarhana hamurlarının fermantasyon süresince tespit edilen pH dereceleri

Fermantasyon süresi ¹	Formülasyon ²			
	TT	EM	EN	EE
0	4,95 ^{aA} ±0,01	4,67 ^{bA} ±0,04	4,99 ^{aA} ±0,09	4,69 ^{bAC} ±0,04
5	4,32 ^{cCD} ±0,02	4,45 ^{bBC} ±0,05	4,43 ^{bB} ±0,01	4,55 ^{aB} ±0,04
10	4,23 ^{cD} ±0,01	4,41 ^{abB} ±0,09	4,34 ^{bcC} ±0,04	4,53 ^{aB} ±0,05
20	4,44 ^{abCB} ±0,01	4,47 ^{abC} ±0,09	4,42 ^{bD} ±0,09	4,57 ^{aBC} ±0,03
30	4,51 ^{bB} ±0,01	4,50 ^{bCD} ±0,01	4,48 ^{bD} ±0,06	4,61 ^{aBC} ±0,03

¹ Farklı günlerdeki formülasyonlar arası veri karşılaştırması küçük harflerle gösterilmiştir (p<0,05)

² Herbir formülasyon için fermantasyon süresine göre ortalamaların kıyaslaması büyük harflerle belirtilmiştir (p<0,05)

Fermantasyonun ilk gününde EM ve EE, tüm formülasyonlar arasında en düşük pH'ya sahip olmuşlardır. Fermantasyonun 10. gününe kadar tüm formülasyonların pH değerlerinde düşüş saptanmıştır, 10. günden 20. güne kadar ise pH değerinde artış görülüp 20. ve 30. günde ölçülen pH değerleri arasında ise bir fark tespit edilememiştir.

4.2.4. Protein tayini

Fermantasyonun ilk ve son günlerinde tüm formülasyonlar için kuru madde üzerinden yapılan protein tayini sonuçları % olarak Çizelge 4.4'te verilmiştir. İstatistik analiz sonucuna göre fermantasyon süresinin protein miktarı üzerinde etkisinin önemli ($p<0,05$) olduğu, formülasyonun ve formülasyonun zamanla interaksiyonunun protein miktarı açısından etkisi olmadığı ($p>0,05$) sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.4. Fermantasyonun ilk ve son günündeki formülasyonların kuru madde üzerinden protein değerleri (%)

Fermantasyon süresi ¹	Formülasyon ²			
	TT	EM	EN	EE
0	15,43 ^{aB} ±0,13	15,65 ^{aB} ±0,11	15,39 ^{aB} ±0,28	15,33 ^{aB} ±0,32
30	19,96 ^{aA} ±0,20	20,91 ^{aA} ±1,42	21,34 ^{aA} ±0,40	22,5 ^{aA} ±0,5

¹ Farklı günlerdeki formülasyonlar arası veri karşılaştırması küçük harflerle gösterilmiştir ($p<0,05$)

² Herbir formülasyon için fermantasyon süresine göre ortalamaların kıyaslaması büyük harflerle belirtilmiştir ($p<0,05$)

Fermantasyonun ilk gününde farklı formülasyonda üretilen tarhana hamurlarında protein seviyesinde önemli bir fark olmadığı gözlemlenmiştir. Fermantasyon süreci sonunda ise bütün formülasyonlarda son günü kıyaslandığında tüm formülasyonlar için kuru madde üzerinden protein değerlerinde yaklaşık %28 seviyesinde artış olduğu tespit edilmiştir.

4.2.5. Gluten miktar analizi

Formülasyonların fermantasyon boyunca gluten içeriği istatistiki açıdan değerlendirilmiş ve günlerin, formülasyonların ve formülasyonların günlerle interaksiyonlarının etkilerinin önemli olduğu ($p<0,05$) anlaşılmıştır.

Fermantasyon süresi boyunca kuru madde üzerinden Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere gluten miktarlarında düşüşler olmuştur. Bu gluten miktarındaki değişimler TT ve EM formülasyonlarında EN ve EE formülasyonlarına göre çok daha az gerçekleşmiştir. Fermantasyonun son gününde en düşük gluten miktarı EE (3,05 ppm), takiben EN (7,68 ppm), EM (30034,3 ppm) ve TT (31824 ppm) elde edilmiştir.

Çizelge 4.5. Formülasyonların fermantasyon süresi boyunca kuru madde üzerinden gluten içeriğinde meydana gelen değişim (ppm)

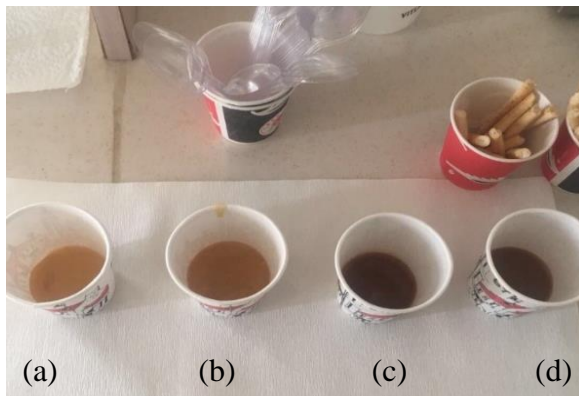
Fermantasyon süresi ¹	Formülasyon ²			
	TT	EM	EN	EE
0	37659,3 ^{aAB} ±454,2	37515,8 ^{aAB} ±2428,3	30397,1 ^{aA} ±6519	29031,8 ^{aA} ±4435,7
5	34936,6 ^{aB} ±383,8	34849,7 ^{aA} ±1308,8	297,3 ^{bB} ±58,0	440,9 ^{bB} ±27,9
10	34588,7 ^{aBC} ±436,6	33059,9 ^{bB} ± 702,3	36,1 ^{cB} ±12,9	64,2 ^{cB} ±18,1
20	32535,9 ^{aAC} ±848,76	32286,7 ^{aB} ±1892,5	13,9 ^{bB} ±17,4	16,1 ^{bB} ±14,1
30	31824,8 ^{aA} ±367,58	30034,3 ^{bC} ±1128,9	7,7 ^{cB} ±6,4	3,1 ^{cB} ±0,7

¹ Farklı günlerdeki formülasyonlar arası veri karşılaştırması küçük harflerle gösterilmiştir (p<0,05)

² Herbir formülasyon için fermantasyon süresine göre ortalamaların kıyaslaması büyük harflerle belirtilmiştir (p<0,05)

4.2.6. Duyusal analiz

Farklı tarhana formülasyonları ile hazırlanan çorbalar görünüm, koku, lezzet, ekşilik, kıvam ve genel beğeni kriterlerinde panelistlerin puanlamalarına Şekil 4.2’de gösterildiği şekilde sunulmuş ve elde edilen ortalama değerler standart sapmaları ile Çizelge 4.6’da verilmiştir. Bu değerler incelendiğinde koku ve ekşilik kriterlerinin dışında; görünüm, lezzet ve kıvam bakımından formülasyonlar arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmamıştır. Formülasyonlar arası koku ve ekşilik bakımından ise istatistiki açıdan fark önemli (p>0,05) bulunup bu değerler için ikili karşılaştırma testi Bonferroni-Dunn prosedürü uygulanmıştır.

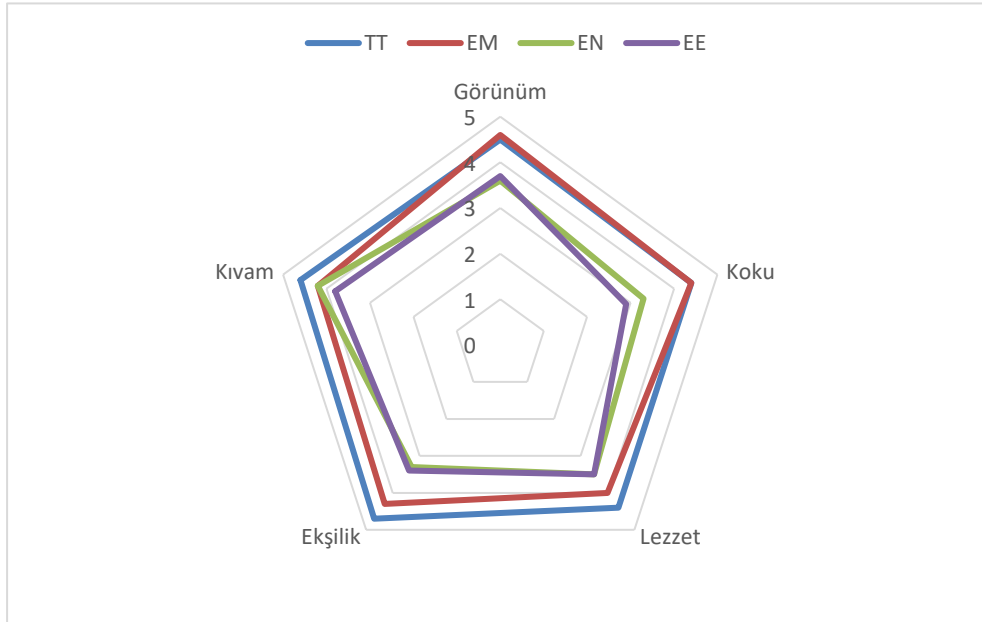


Şekil 4.2. Duyusal analizde panelistlere sunulan tarhana formülasyonları, sırasıyla (a) Temel tarhana formülasyonu (TT), (b) Ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EM), (c) Enzim içeren tarhana formülasyonu (EN), (d) Enzim ve Ekşi hamur mayası içeren tarhana formülasyonu (EE)

Çizelge 4.6. Fermantasyon sonunda tüm formülasyonlar için panelistler tarafından verilen duyu analizi değerleri

Analiz edilen parametre	TT	EM	EN	EE
Görünüm	4,5±0,9	4,6±0,9	3,6±0,8	3,7±0,8
Koku	4,4 ^a ±0,8	4,4 ^a ±1,3	3,3 ^{ab} ±0,9	2,9 ^b ±0,9
Lezzet	4,4±0,8	4,0±1,3	3,5±1,3	3,5±1,4
Ekşilik	4,7 ^a ±0,8	4,3 ^{ab} ±1,3	3,3 ^b ±0,8	3,4 ^b ±1,1
Kıvam	4,6±1,1	4,2±1,3	4,2±1,6	3,8±1,2
Genel beğeni	4,4±0,8	4,3±1,3	3,6±0,9	3,3±0,8

Bunun dışında fermantasyonun son gününde enzim katkılı formülasyonlarla (EN, EE) hazırlanmış olan tarhana çorbalarının pişirme sonucu kontrol grubuna göre biraz daha koyu bir renk aldığı Şekil 4.2.'de verilmiş olan duyu analizi örneği sunumunda gözlemlenebilmektedir. Koku ve ekşilik kriterinde ise hem Çizelge 4.6'da hem de Şekil 4.3'te görüldüğü üzere; EE ve EN formülasyonları arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmuyor, TT ve EM formülasyonlarına göre panelistler tarafından daha düşük puanlarla değerlendirilmişlerdir. Koku kriterinde puanlar verilmesi çorbanın kötü/itici bir koku almasından ziyade, beklenen tarhana kokusundan farklı olmasından kaynaklandığı yine panelistler tarafından bildirilmiştir.



Şekil 4. 3. Panelistlerin duyu analizi değerlendirme sonucu formülasyonların görünüm, koku, lezzet, ekşilik ve kıvam kriterlerindeki dağılımları

Ekşilik kriterinde düşük puanlama yapılmış olan enzim katkılı tarhana grupları için panelistlerin bazıları umami tadının ağır bastığına dair ifadeler kullanmış, bu örneklerin et suyu benzeri tatta olduğunu belirtmişlerdir. Protein hidrolizi ile açığa çıkan serbest amino asitlerin (özellikle de glutamatların) tat profilinde bu etkiye sebep olmuş olabileceği düşünülmektedir. Görünüm, ekşilik ve koku kriterleri açısından yapılan diğer değerlendirmeler tartışma bölümünde yer verilmiştir.

5. TARTIŞMA

Genel olarak yoğurt ve buğday unu tarhana hamurunun olmazsa olmazlarıdır. Bu girdilerin dışında tarhana formülasyonları farklı olabilir, fermantasyon ve kurutma işlemleri çok farklı şekillerde gerçekleştirilebilir. Yine pek çok formülasyonda kullanılan hamur bileşenleri arasında pulp haline getirilmiş domates, biber gibi sebzeler, nohut vb bakliyat ezmeleri ve pek çok baharat bulunabilmektedir. Bu tür malzemeler elbette hamurda mevcut olan mikroflora üzerinde çeşit ve sayı bazında artışlara sebep olabilecektir. Bu tez kapsamında hazırlanan tarhana karışımları için sadeleştirilmiş ve daha standart bir formülasyon sağlanabilmesi açısından taze sebzeler yerine salçalar ve nohut ezmesi yerine de pişmiş nohut unu kullanılmıştır. Bu maddelerin kullanım ile besin bileşimi ve duyuşal özellikler açısından asgari farklılık temin edilirken mikroflora bakımından nispeten düşük oranda katkı sağlandığı düşünülebilir. Diğer yandan, formülasyonda kullanılan yoğurt da ticari olarak üretilmiş bir yoğurt olduğu için barındırdığı bakteriyel yükün çoğunluğunun büyük olasılıkla ticari yoğurt kültürlerinde kullanılan iki tür bakteri, *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* sp. bulgaricus, olduğu söylenebilir (Guarner vd. 2005). Dolayısıyla, spontan olarak geliştiği belirtilen temel tarhana fermantasyonunda başlıca gelişecek suşların bunlar olabileceği söylenebilir. Yoğurt, ev tipi fermantasyon ile karışık kültürleri barındıracak şekilde (yabani kültür ile) üretilmiş olsaydı daha çeşitli mikrobiyal türlerin tarhana hamuruna dahil edilmesi de söz konusu olabilirdi, ancak yine de formülasyona ilave edilen su, un gibi bileşenlerden ve hatta kullanılan kaptan ve çevreden de az da olsa mikrobiyal katkı olabileceği unutulmamalıdır. Ekşi maya ilavesi yapılan hamurlarda ise bu katkıda bulunan laktik asit bakterilerinin starter etkisi yapar. Ticari satışı olan bu katkının etiketinde içerdiği suşlar ve sayıları ile ilgili bir belirtme yapılmamıştır. Bu katkının bileşiminde bulunan malt unu da efektif olarak, özellikle amilazlarca zengin bir enzim katkısı işlevi görecektir ve hem ekşi maya katkısında hem de doğal florda bulunan canlı mikroorganizma için besin maddelerine erişimi kolaylaştıracaktır. İlave edilen proteolitik enzimler de karışımda bulunan doğal mikroflora besin öğeleri açısından zenginlik kazandırır. Formülasyona ilave edilen ve etkisi araştırılan fungal proteazlar daha önceki çalışmalarda ekşi maya hamurunda gluten seviyesinin 20 ppm altına indirilmesinde etkili olduğu belirtilen enzim preparatlarıdır (Nionelli ve Rizzello 2016; Rizzello vd. 2016; Rizzello vd. 2007). Bu çalışmada kullanılan fungal proteazlar temel tarhana (TT) formülasyonuna hem ekşi maya starteri ile birlikte (EE formülasyonunda) hem de tek başına (EN formülasyonunda) ilave edilmiştir.

Hazırlanan tüm hamur örneklerinde formülasyona katılan yoğurt, laktik asit bakterisi açısından starter görevi görmüştür. Bununla birlikte temel tarhana formülasyonunda bulunan doğal mikrofloranın da gelişmesi ile hızla ortama adapte olan laktik asit bakterilerinin baskın gelişen bakteri türleri olacağı düşünülebilir. Ayrıca ilk başta daha çeşitli olan maya türlerinin de fermantasyon ilerledikçe düşük pH'da gelişme kapasitesi daha yüksek olan *Saccharomyces cerevisiae* gibi türler olması beklenebilir (Heard ve Fleet 1988). Nitekim Akinola ve Osundahunsi (2017) mısır ununu spontan fermantasyona tabi tuttıkları bir araştırmada baskın türlerin *Lb. plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lb. pentosus* gibi LAB ve *Saccharomyces cerevisiae* türünden maya olduğunu tespit etmiştir. Şimşek vd. (2017) ise tarhanada, hem ev tipi üretimde, hem de endüstriyel tarhana ürünlerinde sayılan LAB türlerinin ve daha da fazlasının 15 günlük fermantasyon süresince bulunduğunu gerçekleştirdikleri PZR temelli analizlerle

göstermişlerdir. Erbaş vd. (2004) hazırladıkları tarhana hamurunda pastörize edilmiş bazı bileşenlere un, yoğurt ve ekmekek mayası ilavesi yaparak 3 günlük fermantasyon sürecini takip etmiştir. Bu çalışmada pH değeri ilk günkü değer olan 4,5 civarından 4 dolaylarına inmiştir. Dolayısıyla, bu tez çalışmasında da hem TT formülasyonunda, hem de diğer formülasyonlarda (EM, EN ve EE) pH'nın fermantasyonun ilk haftalarında (10. güne kadar) düşmesi ortamda gelişen laktik asit bakterilerinin faaliyeti ile açıklanabilir. Oluşan ve biriken laktik asit ve heterofermantatif olan bazı suşların ürettiği diğer organik asitler bu aşamada ortamın hidrojen asidi potansiyelini yükseltmiştir. Diğer tüm fermante gıdalarda olduğu gibi, ortamda gelişen mikrobiyal suşlar için adaptasyon, logaritmik çoğalma evresi, durağan faz ve ölüm fazı aşamalarını kapsayan yaşam döngüsü söz konusudur. Mikrobiyal gelişim için rekabetin artması, sindirilebilir kaynakların azalması kültürlerin yaşam döngülerinin tamamlanmasına sebep olur. Gerçekte karışık kültür fermantasyonlarında bu olağan bir süreçtir ve bu durumda yeni (değişen) ortama adapte olabilen mikroorganizmalar canlılıklarını sürdürür. Vuyst vd. (2017) ekşi maya hamurunda mikrobiyal ekolojiyi değerlendirirken metabolik etkiyi üç yönde değerlendirmiştir; LAB kaynaklı asitleşme, LAB ve maya kaynaklı lezzet bileşikleri oluşumu ve heterofermantatif LAB ve maya kaynaklı CO₂ oluşumu (kabarma). Serbest şeker içeriğinin azaldığı koşullarda heterofermantatif LAB organik asitleri karbon kaynağı olarak değerlendirebilmektedir ve sonuçta pH artar (asitlik azalır), toplam kuru madde azalır ve hamur kabarrır (CO₂ oluşur). Şarabın üretim sürecinde opsiyonel olarak gerçekleşmesine imkan sağlanan malolaktik fermantasyon da malolaktik bakteriler tarafından malik asidin indirgenmesi neticesinde şarabın pH'sının yükselmesine neden olan bir ikincil fermantasyon olayıdır (Geredeli ve Anılı 2005).

Kuru madde değerleri (%) incelendiğinde ilk gün tüm formülasyonların aynı kuru maddeye sahip olması, gerçekleşecek olan fermantasyonda mikroorganizma metabolizması açısından her bir formülasyon için benzer ortam koşullarının oluştuğunun göstergesidir. Kuru madde miktarında tüm formülasyonlarda, fermantasyonun 10. gününe kadar gerçekleşen bir azalış ve 10. günden 30. güne kadar süren bir artıştan söz edilebilir. İlk 10 gün boyunca gerçekleşen kuru madde miktarındaki azalışın sebebi olarak mikroorganizmaların fermantasyon sürecinde organik bileşenleri parçalamaları bununla beraber su, CO₂ ve laktik asit oluşturmaları söylenebilir. Kuru madde miktarının artmaya başladığı dönem için ise (10.-30. gün) mikrobiyal faaliyetlerin yavaşlamasına bağlı olarak hidroliz tepkimelerinde azalma (hidroliz ile açığa çıkan suda ve CO₂ de azalma) ve uzun süreli bekleme ve aralıklı yoğurma işlemlerinde suyun buharlaşması olaylarının etkili olduğu düşünülmektedir.

Protein tayini sonucunda farklı katkılarla hazırlanan formülasyonun toplam protein miktarı üzerinde etkisinin olmadığı, ancak fermantasyon süresinin bu açıdan önemli olduğu saptanmıştır. Analiz sonuçlarına göre, fermantasyonun ilk gününde %15-16 protein miktarına sahip olan örnekler, fermantasyonun son gününde %20-22 değerlerine ulaşmıştır. Fermantasyon sırasında mikroorganizma sayısındaki artış ve bu mikroorganizmaların ürettiği proteinler, bu değerlerdeki artışın sebebi olarak düşünülebilir. Ancak, proteolitik enzim ilavesinin olduğu üretimlerde de yüksek protein içeriğinin tespit ediliyor olması protein analizinde serbest aminoasitlerin de azot değerine katkıda bulunarak protein miktarının olduğundan yüksek görünmesine sebep olduğunu düşündürmüştür. Uçar ve Çakıroğlu (2011), Ankara'da piyasa taraması yaparak tarhana bileşimlerini araştırmış, tarhanalarda protein içeriğinin %12 civarında olduğunu

bildirmiştir. Ekşi maya, enzim ve hem ekşi maya hem enzim katkılarının olduğu uygulamalarda gluten içeriği kontrol grubuna göre daha düşüktür. TT ve EM formülasyonunda 30 günlük fermantasyon sonunda gluten içeriğinde %0,6'lık bir düşüş saptanmıştır. Enzim preparatlarının eklenmesiyle ise oldukça yüksek gluten degradasyonu saptanmış olup gluten içeriğinde %3'lük bir azalma elde edilmiştir. Tarhana fermantasyonunda bu degradasyonu geçirmesi 30 günü alırken Rizzello vd. (2007)'nin 48 saat içinde bu degradasyonu sağlaması enzimlerle beraberinde kullandıkları laktik asit preparatları ile doğrudan ilgilidir. Enzim preparatlarının eklendiği formülasyonlar için fermantasyonun son gününde gluten içeriğinin 20 ppm altında olması tarhananın 'glutensiz' olarak nitelendirilebilmesini mümkün kılmaktadır. Yine EN ve EE formülasyonlarında fermantasyonun 10. gününde gluten içeriği 100 ppm altına düşmüştür. Bu ürünler 'düşük glutenli' olarak nitelendirilebilmektedir.

Wieser vd. (2007) bazı laktobasil ve enterokok cinsi bakterileri hamura ekleyerek fermantasyonun 0, 5 ve 24. saatlerinde gerçekleşen gluten degradasyonunu incelemiştir ve kimyasal olarak asitleşmiş olan hamur örneğini ise kontrol grubu olarak kullanmıştır. Ekşi hamur mayasındaki protein degradasyonunun temelinde unda bulunan asidik proteaz sebebiyle gerçekleştiği ve *Lactobacillus sakei*, *L. plantarum*, *L. sanfranciscensis* bakterilerinin proteolitik etkisinin bulunmamasına rağmen, *Enterococcus faecalis*'in açıkça gluten degradasyonuna katkıda bulunduğu sonucuna varmıştır. Rizzello vd. (2007) yaptıkları çalışmada proteaz aktivitesi yüksek olan iki farklı fungal enzim ve gliadini hidrolize etme gücüne sahip olan, peptidaz üretme potansiyellerine göre seçilmiş laktik asit bakterileri ile ekşi hamur mayalanmasında gluten içeriğini incelemiştir. Bu katkılar farklı formülasyonlar halinde hamura eklemiştir. Fermantasyon aşamasından sonra (37 °C'de 48 saat) hamurlarda ELISA testi ile gluten içerikleri incelenmiştir. Aktivitesine göre seçilip ilave edilen laktik asit bakterilerinin ve bu bakterilerin fungal proteazlarla birleştirilip formülasyona eklenmesiyle fermantasyon sonunda örneklerinin gluten içeriği 20 ppm altına inmiş olup, glutensiz olarak tanımlanabilmiştir. Bu çalışmada proteolitik aktivite bakımından seçilen proteazlar Rizzello vd. (2007)'nin yaptıkları çalışmada kullanılan proteazlarla aynıdır.

Farklı formülasyonların hamur örneklerindeki gluten miktarları 0. günde istatistiki açıdan birbirlerinden farklı bulunmamıştır. ELISA analiz yönteminde gluten içeriği fazla olan örneklerde, yüksek seyretleme oranlarına çıkıldığından hata payı artmakta olup gluten içeriği azaldıkça seyreltme oranı da azaldığından daha düşük standart sapmalarla çok daha doğru sonuçlar elde edilebilmektedir. TT ve EM'ye ait bulgular incelendiğinde bunların yüksek standart sapmalara sahip olduğu görülmektedir, çünkü gluten içeriğinde büyük değişimler olmadığı için yüksek oranda seyreltmeler, bununla beraber yüksek standart sapmalar fermantasyonun 30. gününe kadar devam etmiştir.

Kullanılan undaki gluten miktarı saptanırken ELISA yöntemi değil de TS EN ISO 21415-4'deki tayin yönteminin kullanılmasındaki amaç ise unun gluten içeriğinin ELISA analiz testinin kapasitesine göre oldukça yüksek olmasından kaynaklanmaktadır.

Kuru madde üzerinden incelenen % kül değerinde 0. gün örnekleri incelendiğinde EM ve EE formülasyonlarının TT ve EN formülasyonlarından yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu yüksek değer EM ve EE'nin içeriğindeki ekşi maya hamurundan kaynaklanabilmektedir. Ekşi maya hamuru içinde barındırdığı mikroorganizmalar itibarıyla % kül değerinde yani mineral madde miktarında artışa sebep olmuştur. Cagno

vd. (2002) ekşi hamur mayasının pişmiş ürünlerde, özellikle ekmekte besin değerini etkilediğini ve mineral madde miktarını arttırdığını bildirmiştir. Fermantasyon sonunda ise TT, EM ve EE kül miktarında %1,8'e ulaşırken, EN %1,6 değeriyle daha düşük kalmıştır. Siyamoğlu vd. (1961) yaptıkları çalışmada tarhanada bulunan en az ve en çok kül miktarlarını %1,4 ve %14,2 olarak saptamışlardır. Bu çalışmaya göre bizim elde ettiğimiz % kül miktarları oldukça düşüktür, bunun sebebi çalışmamızda kullanılan formülasyondaki ana materyallerin çok çeşitli olmaması, tarhana üretimindeki temel maddelerin baz alınarak fermantasyonun kurulmasıdır.

Fermantasyonun son gününden elde edilen hamurlarda ve toz haldeki tarhanalarda her ne kadar belirgin renk farkı gözlemlenirse de duyu analizi sırasında uygulanan pişirme işlemi sonrasında enzim preparatı ilave edilmiş olan EN ve EE örneklerinde kontrol örneğine göre gözle görünür şekilde renkte koyulaşma olmuştur. Her iki formülasyonun da ilave edilen enzimin etkisiyle bu değişimin gerçekleştiğini belirtmek mümkündür. Renk değişiminin hamur ve kuru tozda belirgin bir şekilde oluşmaması ancak pişirmeyle birlikte örnekler arasında bu yönde bir farklılığın oluşması, amino asitler ve indirgen şekerlerin arasında genellikle yüksek sıcaklarda gerçekleşen, kompleks bir reaksiyon serisi olan Maillard tepkimesi ile açıklanabilir. Erbaş vd. (2004) kuru ve yaş tarhana üzerinde mikrobiyal, kimyasal ve duyu değişimleri fermantasyon süreci içerisinde incelemiş ve duyu analizi sırasında kurutulmuş tarhanada yaş tarhanaya göre meydana gelen koyu renk sebebi olarak Maillard tepkimesini göstermiştir. Martinez vd. (2014) yaptıkları çalışmayla, tarhananın kurutma aşamasında da Maillard tepkimesine bağlı olarak renginde ve duyu özelliklerinde değişimlerin meydana gelebileceği kanısına varmışlardır. Özellikle enzim katkılı hamurda serbest halde bulunan amino asitler ve yine mayalanma süresince mikrobiyal ve az miktarda da olsa unun özünde bulunan amilolitik enzimlerin etkisi ile nişastanın hidrolize uğraması neticesinde açığı çıkan şekerler Maillard tepkimelerinin gerçekleşmesini sağlayacak gerekli öncü bileşiklerdir. Maillard tepkimeleri bu öncü bileşiklerin varlığında, özellikle de yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen karmaşık tepkimeler bütünü olarak tarif edilebilir ve bu tepkimeler neticesinde hem renkte hem de lezzet profilinde değişimler olur (Nursten 2015). Nitekim, bu çalışmada üretilen enzim katkılı örneklerde koyu rengin yanı sıra yoğun bir umami tadının da algılanabildiği belirtilebilir. Maillard tepkimelerinin gıdaların duyu özelliklerine, besin değerine ve kalitesine olumlu etkileri vardır, ancak bu tepkimeler neticesinde sağlık açısından olumsuzluklara neden olan heterosiklik aminler, akrilamid gibi bileşiklerin de oluştuğu bilinmektedir (Rannou vd. 2016; Newton vd. 2012; Somoza 2005). Tarhana pişirme işleminin (denemelerde 100 °C civarında sıcaklıklar uygulandığı düşünülürse) nispeten ılımlı bir sıcaklıkta yapılması olumlu değişimlerin olumsuz değişimlerin önünde olabileceği değerlendirilebilir. Elbette, bu çalışmada uzun bir fermantasyon sürecinin sonunda ve tek bir enzim konsantrasyonu kullanılarak çalışmaların yürütülmesi söz konusu olmuştur. Dolayısıyla bu hususta daha kesin yorumlar yapılabilmesi için bu çalışma ile kazanılan bilgiler ışığında tarhana fermantasyon sürecinin, enzim katkılarının ve pişirme koşullarının tarhana bileşiminde, özellikle belirli Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşumuna etkisi açısından, aydınlatılması için bu alanda daha fazla araştırma yürütülmesi gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

Tarhana yöreden yöreye farklı formülasyonlar kullanılarak hazırlanan geleneksel bir üründür ve içeriğinde buğday unu bulunur. Buğday ununun ihtiva ettiği gluten dolayısıyla glutenli gıdaları tüketemeyen insanlar için tarhana tüketimi sorun teşkil etmektedir. Tarhana ve benzeri fermante gıdaların formülasyonları gereği içerdiği laktik asit bakterilerinin bir miktar gluten degradasyonuna sebep olabileceği düşünülebilir ancak halihazırda literatürde bu konuda bir kaynak bulunmamaktadır. Bu çalışmada temel tarhana (TT), liyofilize ekşi hamur mayası eklenmiş tarhana (EM), proteolitik enzim eklenmiş (*Aspergillus* sp. kökenli) tarhana (EN) ve hem proteolitik enzim hem de ekşi hamur mayası eklenmiş tarhana (EE) formülasyonları 30 günlük fermantasyona bırakılmıştır. Bu hamurlardan 0., 5., 10., 20. ve 30. günlerde R5 antikoruna dayalı ELISA analiz yöntemi ile gluten degradasyonu incelenmiştir.

Fermantasyonun ilk gününde farklı formülasyonlarla hazırlanmış olan tarhana hamuru örneklerinin gluten miktarları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Gluten miktarındaki en yüksek düşüş fermantasyonu 5. gününde, EN ve EE formülasyonları için gerçekleşmiştir. Bu düşüşlerde TT ve EM formülasyonları arasında ve EN ve EE formülasyonları arasında istatistiki açıdan bir fark bulunmamıştır. Fermantasyonun son gününde TT formülasyonda yaklaşık %15, EM formülasyonda %20 ve EN ve EE formülasyonlarında ise %100'e yakın gluten degradasyonu saptanmıştır. EM ve EE formülasyonları karşılaştırıldığında gluten degradasyonunda ana rol oynayan faktörün kullanılan enzim olduğu belirlenmiştir. EN ve EE formülasyonları ile 10. günden sonra 'düşük glutenli' 30. günden sonra ise 'glutensiz' olarak etiklenebilecek gluten içeriklerine sahip ürünler elde edilebilmiştir.

Bu süre zarfında pH değerleri incelendiğinde, fermantasyonun başında EM ve EE formülasyonlarında diğerlerine kıyasla daha düşük pH değeri saptanmıştır. Fermantasyonun 10. gününe kadar ise mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri (organik maddelerin parçalanması) sonucu tüm formülasyonlar için pH değerlerinde düşüşler belirlenmiştir. Fermantasyonun devam eden sürecinde ise (10 - 30. gün) yine mikroorganizmaların metabolik faaliyetleri (organik asitlerin parçalanması) sonucunda pH değerlerinde yükselmeler meydana gelmiştir.

Formülasyonlar arasında başlangıç protein miktarları bakımından istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır ($p < 0,05$). Fermantasyonun sonunda ise tüm formülasyonlar için % protein miktarları artmış ancak değerler arasında önemli bir fark bulunmamıştır. Azot oranının tespitine dayalı bu analizde gözlemlenen bu durum fermante gıdalar için literatürde tespit edilmiş bir fenomendir.

Duyusal analiz değerlendirmesi gerçekleştirilmiş ve görünüm, lezzet, kıvam ve genel beğeni puanlamalarında formülasyonlar arası önemli fark bulunmamıştır. Ancak koku ve ekşilik değerlendirmesinde fark bulunmuş olup, koku bazında TT, EM ve EN formülasyonları ve EN ile EE formülasyonları arasında istatistiki açıdan önemli bir fark bulunmamıştır. Ekşilik açısından ise; TT formülasyonu sadece EM formülasyonu ile istatistiki açıdan farklı bulunmamıştır. Görünüm kuru tarhanada farklı olmazken, pişirme sonrası Maillard tepkimesine bağlı olarak enzim katkılı formülasyon örneklerinde koyu renk almıştır.

Glutensiz ibaresi ile etiketlenecek gıdalar için R5 antikoruna dayalı ELISA yöntemi yasal açıdan uygulanması zorunluluğu olan ve güvenilir sonuçlar veren bir analitik yöntemdir. Glutene karşı özel bir duyarlılık taşımayan bireyler için bu ürünlerin tüketilmesinde bir sakınca olmayacağı düşünülebilir. Ancak, glutensiz beslenmek zorunda olan bireyler için bu ve benzeri çalışmalarda gluten degradasyonu sonucu glutensiz içeriğe kavuşturulan ürünler için LC-MS vb. alternatif gluten analiz yöntemlerinin uygulanması ve ürünlerin duyarlı bireylerde reaksiyona sebep olup olmadığı serolojik veya klinik deneylerle kanıtlanarak tüketim önerilerinde bulunulması yerinde olacaktır. İleride yapılacak çalışmalarda farklı konsantrasyonda proteolitik enzim ilavesi, farklı fomülasyonda hamurlar ve farklı fermantasyon koşullarının gluten degradasyonuna etkisinin incelenmesi yanı sıra enzim ilavesine bağlı olarak gözlemlenen kimyasal bileşimdeki ve tarhana kalitesindeki değişimler ele alınabilecektir. Bu bağlamda gerçekleştirilen bu tez çalışmasıyla ileride yapılacak bu türden araştırmalara ışık tutacak sonuçlar elde edilmiştir.

7. KAYNAKLAR

- Anonim 1 : <http://www.hurriyet.com.tr> [Son erişim tarihi: 24.05.2018].
- Anonim 2 : <http://www.nursevincelezzetler.com> [Son erişim tarihi: 24.05.2018].
- Anonim 3 : <http://www.bio-cat.com> [Son erişim tarihi: 26.06.2018].
- Anonim 4 : <http://megep.gov.tr> [Son erişim tarihi: 26.06.2018].
- AACC, 1999. Approved methods of analysis. St. Paul, Minnesota: The American Association of Cereal Chemists (AACC). Total Ash 08-21.01.
- Akinola, S.A. and Osundahunsi, O.F. 2017. Lactic acid bacteria and yeast diversities in spontaneously fermented millet sourdoughs. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 6(4): 1030-1035.
- AOAC, 1990. Official Methods of Analysis, (15th ed.). Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC, 2: 777-796.
- Bilgicli, N. 2009. Effect of buckwheat flour on chemical and functional properties of tarhana. *LWT Food Science and Technology*, 42: 514–518.
- Blandino, A., Al-Aseeri, M.E., Pandiella, S.S., Cantero, D. and Webb, C. 2003. Cereal-based fermented foods and beverages. *Food Research International*, 36: 527-543.
- Burdon, R.H. and Knippenberg, P.H. 1985. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology. Elsevier, Kanada, 549p.
- Cagno, R.D., Angelis, M.D., Lavermicocca, P., Vincenzi, M.D., 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.
- Catassi, C., Bai, J.C., Bonaz, B., Bouma, G., Calabrò, A., Carroccio, A., Castillejo, G., Ciacci, C., Cristofori, F. and Dolinsek, J. 2013. Non-celiac gluten sensitivity: the new frontier of gluten related disorders. *Nutrients*, 10(5): 3839-3853.
- Colgrave, M.L., Bryne, K. and Howitt, C.A. 2017. Liquid chromatography-mass spectrometry analysis reveals hydrolyzed gluten in beers crafted to remove gluten, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 65(44): 9715–9725.
- Coşkun, F. 2014. Tarhananın tarihi ve Türkiye’de tarhana çeşitleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 9: 69-79.
- Değirmencioğlu, N., Göçmen, D., Dağdelen, A. and Dağdelen, F. 2005. Influence of tarhana herb (*Echinophora sibthorpiana*) on fermentation of tarhana, turkish traditional fermented food. *Food Technology and Biotechnol* 43: 175–179.
- Demir, M.K. 2014. Use of quinoa flour in the production of gluten-free tarhana. *Food Science and Technology Research*, 20(5): 1087-1092.
- Durmuş, Y. 2015. Glutensiz tarhana üretimine hidrokolloid kullanımının kalite üzerinde etkisi. Yüksek Lisans tezi, Ordu Üniversitesi, Ordu, 105s.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M. ve Kotancılar, G. 2002. Tahıl ürünlerinde analitik kalite kontrolü ve laboratuvar uygulama kılavuzu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 867, Erzurum, 245s.

- Erbaş, M. 2003. Yaş tarhananın üretim ve farklı saklama koşullarında bileşimindeki değişimler, Doktora tezi, Antalya, 160s.
- Erbaş, M., Certel, M. ve Uslu, M.K. 2003. Yaş ve kuru tarhananın şeker içeriğine fermantasyon ve depolamanın etkisi. *Gıda*, 4: 299-305.
- Erbaş, M., Certel, M. and Uslu, M.K. 2005. Microbiological and chemical properties of tarhana during fermentation and storage as wet—sensorial properties of tarhana soup. *LWT – Food Science and Technology*, 38: 409–416.
- Geredeli, S. ve Anlı, E. 2005. Şaraptaki laktik asit bakterilerinin malolaktik fermantasyondaki önemleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(1): 1-14.
- Gocmen, D., Gurbuz, O., Russell, R., Smooth, J. and Dagdelen, F. 2004. Gas chromatographic-olfactometric characterization of aroma active compounds in sun dried and vacuum-dried tarhana. *European Food Research and Technology*, 218: 573-578.
- Green, P.H.R. and Cellier, C. 2007. Celiac disease. *The New England Journal of Medicine*, 357(17): 1731-1743.
- Guarner, F. Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B. and Morelli, L. 2005. Should yoghurt cultures be considered probiotic?. *British Journal of Nutrition*, 93(1): 783-786.
- Gupta, R.B. and Shepherd, K.W. 1990. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutelin. *Theoretical and Applied Genetics*, 80(1): 65-74.
- Heard, G.M. and Fleet, G.M. 1988. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. *Journal of Applied Microbiology*, 65(1): 23–28.
- Hosseini, S., Villegas, P.V., Palomares, M.R. and Chapa, S.O.M. 2018. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) from A to Z. Springer, Mexico, 115p.
- Ibanoğlu, E. and Ibanoğlu, Ş. 1999. Foaming properties of white wheat flour-yoghurt mixture as affected by fermentation. *Journal of Cereal Science*, 30(1): 71-77.
- ICC. 1976. Determination of the moisture content of cereals and cereal products, ICC Standard Methods 109/1.
- Işık, F. 2013. Salça üretim atıklarının tarhana üretiminde kullanımı, Doktora Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Denizli, 159s.
- Köse, E. and Çağındı, Ö.S. 2002. An investigation into the use of different flours in tarhana. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(1): 219–222.
- Kuloğlu, Z. 2013. Çölyak hastalığı. *Türkiye Çocuk Hastalıkları Dergisi*, 2(1): 105-111.
- Lagrain, B., Brijs, K., Veraverbeke, W.S. and Delcour, J.A. 2005. The impact of heating and cooling on the physico-chemical properties of wheat gluten-water 5 suspensions. *Journal of Cereal Science*, 42(1): 327-333.
- Leonard, M., Sapone, A., Catassi, C. and Fasano, A. 2017. Celiac disease and nonceliac gluten sensitivity a review, *Clinical Review & Education*, 318 (7): 647-656.
- Li, H., Byrne, K., Galiamov, R., Mendoza-Porras, O., Bose, U., Howitt, C.A. and Colgrave, M.L. 2018. Using LC-MS to examine the fermented food products

- vinegar and soy sauce for the presence of gluten. *Food Chemistry*, 254(1): 302-308.
- Mamone, G., Ferranti, P., Chianese, L., Scafuri, L. and Addeo, F. 2000. Qualitative and quantitative analysis of wheat gluten proteins by liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 14(1): 897-904.
- Martinez, M.O., Daglioglu, O., Guner, K.G., Gecgel, U. and Simsek, S. 2014. Analysis of the fatty acids and phenolic compounds in a cereal-based fermented food (tarhana). *Food and Nutrition Sciences*, 5(1): 1177-1184.
- Mena, M.C., Lombardia, M., Hernando, A., Mendez, E. and Albar, J.P. 2011. Comprehensive analysis of gluten in processed foods using a new extraction method and a competitive ELISA based on the R5 antibody. *Talanta*, 91: 33–40.
- Méndez E., Valdes I. and Camafeita, E. 2000. Analysis of gluten in foods by MALDI-TOFMS. In: Chapman J.R. (Ed), *Mass Spectrometry of Proteins and Peptides. Methods in Molecular Biology*, Humana press, 146, pp. 355-367.
- Meral, R. 2016. Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of gluten, *Journal of Biotechnology*, 231: 4-109.
- Newton, A.E., Fairbanks, A., Golding, M., Andrewes, P. and Gerrard, A. 2012. The role of the Maillard reaction in the formation of flavour compounds in dairy products- not only a deleterious but also a rich source of flavour compounds. *Food Function*, 3(1): 1231-1234.
- Nionelli, L. and Rizzello, G.C. 2016. Sourdough-based biotechnologies for the production of gluten-free foods. *Foods*, 5(3): 1-14.
- Nordqvist, P., Lawther, M., Malmström, E. and Khabbaz, F. 2012. Adhesive properties of wheat gluten after enzymatic hydrolysis or heat treatment – A comparative study. *Industrial Crops and Products*, 38: 139–145.
- Nursten, H. 2015. *The maillard reaction: chemistry, biochemistry and implications*, Royal society of chemistry, Cambridge, 214p.
- Özdemir, S. Göçmen, D. and Kumral, A.Y. 2007. Traditional turkish fermented cereal food: Tarhana. *Food Reviews International*, 23: 107-121.
- Pietzak, M. 2012. Celiac disease, wheat allergy, and gluten sensitivity: when gluten free is not a fad. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 36(1): 68-75.
- Poms, R.E., Klein, C.L. and Anklam, E. 2004. Methods for allergen analysis in food: a review. *Food Additives and Contaminants*, 21(1): 1-3.
- Rannou, C., Laroque, D., Renault, E., Prost, C. and Serot, T. 2016. Mitigation strategies of acrylamide, furans, heterocyclic amines and browning during the Maillard reaction in foods. *Food Research International*, 90(1): 154–176.
- Rao, M.B., Tanksale, A.M., Ghatge, M.S. and Deshpande, V.V. 1998. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 597-635.
- Reilly, N.R. 2016. The gluten-free diet: recognizing fact, fiction, and fad. *The Journal of Pediatrics*, 175: 206-210.

- Rizzello, C.G., Angelis M.D., Cagno, R.D., Camarca, A., Silano, M., Losito, I., Vincenzi, M.D., Bari, M.D.D., Palmisano, F., Maurano, F., Gianfrani, C. and Gobetti, M. 2007. Highly efficient gluten degradation by lactobacilli and fungal proteases during Food Processing: new perspectives for celiac disease. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14): 4499-4507.
- Rizzello, C.G., Lorusso, A., Montemurro, M. and Gobetti, 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.
- Sandberg, M., Lundberg, L., Ferm, M. and Yman, I.M. 2003. Real Time PCR for the detection and discrimination of cereal contamination in gluten free foods. *European Food Research and Technology*, 217: 344–349.
- Schalk, K., Koehler, P. and Scherf, K.A. 2018. Targeted liquid chromatography tandem mass spectrometry to quantitate wheat gluten using well-defined reference proteins. *Plos One*,13(2): 1-21.
- Sengun, I., Nielsen, D., Karapinar, M. and Jakobsen, M. 2009. Identification of lactic acid bacteria isolated from Tarhana, a traditional Turkish fermented food. *International Journal of Food Microbiology*, 135: 105–111.
- Siyamoglu, B. 1961. Türk Tarhanalarının Yapılışı ve Terkibi Üzerinde Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: 44, İzmir, 77 s.
- Somoza, V. 2005. Five years of research on health risks and benefits of Maillard reaction products: An update. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49(1): 663-672.
- Stern, M., Ciclitira, P.J., Eckert, R.V., Feighery, C., Janssen, F.W., Mendez, E. Mothes, T., Troncone, R. and Wieser, H. 2001. Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *European Journal of Gastroenterology & Hepatology*, 13: 741-747.
- Şimşek, Ö., Özel, S. and Çon, A.H. 2017. Comparison of lactic acid bacteria diversity during the fermentation of Tarhana produced at home and on a commercial scale. *Food Science Biotechnology*, 26(1): 181-187.
- Şimşek, Ö., Özel, S. ve Çon, A.H. 2012. Ev ve işletme tipi Uşak tarhanası hamurlarında fermantasyon sürecine ait mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerinin karşılaştırılması. *Gıda*, 37(6): 341-348.
- Pehlivan, C. 2016. Çölyak hastaları için ekmek yapımında gölevez (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) yumrusunun kullanımı. Yüksek lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 47s.
- TGK. 2012. Türk Gıda Kodeksi Gıda Etiketleme ve Tüketicileri Bilgilendirme Yönetmeliği. 2012/4.
- Thiele, C., Grassl, S. and Ganzle, M. 2004. Gluten Hydrolysis and Depolymerization during Sourdough Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 1307-1314.
- Thompson, T. and Mendez, E. 2008. Commercial assays to assess gluten content of gluten-free foods: why they are not created equal. *Journal of the American Dietetic Association*, 108: 1682-1687.

- TS, 2008. Buğday ve Buğday Unu Gluten İçeriği. Türk Standardı, 21415-3. Ankara, Türkiye.
- TS, 2004. Tarhana. Türk Standardı, 2282. Ankara Türkiye.
- Türksoy, S. ve Özkaya, B. 2006. Gluten ve Çölyak Hastalığı. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, Bolu.
- Uçar, A. ve Çakıroğlu, F.P. 2011. Comparison of some chemical and microbiological quality of homemade tarhana in Ankara, Turkey. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 9: 34-37.
- Van Emon, J.M., Chuang, J.C., Trejo, R.M. and Dunford, J. 2006. Integrating bioanalytical capability in an environmental analytical laboratory. In: Van Emon, J.M. (Ed.), *Immunoassay and Other Bioanalytical Techniques*. US, pp. 1-45.
- Vuyst, L.D., Kerrebroeck, S.V. and Leroy, F. 2017. Chapter two- microbial ecology and process technology of sourdough fermentation. *Advances in Applied Microbiology*, 100: 49-160.
- Wang, X., Appels, R., Zhang, X., Bekes, F., Torok, K., Tomos, S., Diepeveen, D., Ma, W. and Islam, S. 2016. Protein-transitions in and out of the dough matrix in wheat flour mixing. *Food Chemistry*, 217: 542–551.
- Wieser, H. 1996. Relation between gliadin structure and celiac toxicity. *Acta Pediatr Supplementum*, 412: 3-9.
- Wieser, H. 2006. Chemistry of gluten proteins. *Food Microbiology*, 24: 115–119.
- Wieser, H., Vermeulen, N., Gaertner, F. and Vogel, R. 2007. Effects of different lactobacillus and enterococcus strains and chemical acidification regarding degradation of gluten proteins during sourdough fermentation. *European Food Research and Technology*, 226: 1495–1502.
- Wilhelm, J. and Pingoud, A. 2003. Real-time polymerase chain reaction. *Chembiochem*, 4: 1120-1128.
- Wu, J.Y. and Hosney, R.C. 1989. Rheological Changes in Cracker Sponges During an 18-Hour Fermentation. *Cereal Chemistry*, 66: 182-185.
- Yalcin, E., Çelik, S. and Köksel, H. 2008. Chemical and sensory properties of new gluten-free food products: rice and corn tarhana. *Food Science and Biotechnology*, 4: 728- 733.

8. EKLER**EK-1. Örneklerin duyuşal analizinde kullanılan panelist formu**

Panelist Adı Soyadı:	Tarih:			
	Örnek Kodu			
	857	349	873	671
Genel görünüm /Renk-Homojenlik-kıvam				
Koku				
Lezzet				
Ekşilik				
Kıvam / Ağızda bıraktığı his				
Genel Beğeni				

Puanlama; 5: çok iyi, 4: iyi, 3: orta, 2: kötü, 1: çok kötü

ÖZGEÇMİŞ

SEDA İÇEN

sedaisen1@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans 2016-2018	Akdeniz Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya
Lisans 2011-2016	Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

İŞ TECRÜBESİ

ARGE ve Dış Ticaret Sorumlusu 2018-	Kutluer Gıda ve Makine Sanayi Dış Tic. Ltd. Şti.
--	--