



EKŞİ HAMUR ÜRETİMİNDE *LACTOBACILLUS BREVIS* ED25 İÇİN OPTİMUM FERMANTASYON KOŞULLARININ BELİRLENMESİ

Latife Betül GÜL¹, Osman GÜL^{2*}, Ahmet Hilmi ÇON¹

¹⁾ Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun
²⁾ Kastamonu Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kastamonu



ÖZET

Bu çalışmada, ekşi hamur üretiminde kullanıma potansiyeli bulunan ve kriyoprotektan formülasyonu ile liyofilize edilen *Lb. brevis* ED25 suşunun fermantasyon koşullarının yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmesi amaçlanmıştır. Fermantasyon simüle edilmiş ekşi hamur ortamında gerçekleştirilmiş ve bağımsız değişkenler olan sıcaklık (22-32 °C) ile sürenin (10-30 saat) bağımlı değişkenler olan hücre gelişimi (kuru hücre ağırlığı), toplam asit üretme yeteneği, laktik ve asetik asit üretme düzeyi üzerine etkileri belirlenmiştir. Farklı sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirilen fermantasyon sonucunda kuru hücre ağırlığı 0.58 - 3.96 g/L, toplam asit %0.38 - 0.76, laktik asit 5.3 - 9.14 g/L ve asetik asit 0.67 - 2.69 g/L aralıklarında tespit edilmiştir. Yapılan varyans analiz (ANOVA) sonucunda, yanıtlar üzerine sıcaklık ve sürenin etkisinin önemli olduğu ($p < 0.05$) belirlenmiş olup sıcaklık ve sürenin artması yanıtların da artışına neden olmuştur. Sonuçlar, tüm değişkenler için elde edilen modellerin önemli olduğunu ortaya koymuştur ($p < 0.05$). Optimum fermantasyon koşulları istenilirlilik fonksiyonu (0.942) baz alınarak belirlenmiş olup her bir yanıtta isteklerin maksimum olduğu optimum koşullar fermantasyon sıcaklığı için 32 °C ve süre için 26.22 saat olarak tespit edilmiştir. Doğrulama deneysel çalışmaları, deneysel ve öngörülen değerler arasında iyi bir uyum olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Lactobacillus brevis* ED25, Optimizasyon, Fermantasyon, Yanıt Yüzey Yöntemi

GİRİŞ

Ekşi hamur ekmeği, yapımında kullanılan ekşi hamur sebebiyle kendine has eşsiz aroması ve ekşiliği ile karakterize edilmektedir. Ekşi hamur ekmeği, hamurun fermantasyonu basamağında laktik asit bakterileri (LAB) tarafından üretilen organik asitlerce zengindir ve ekşi bir tada sahiptir. Ekşi hamur üretiminde son ürünün raf ömrü ile duysal, fiziksel ve tekstürel özellikleri üzerine etkili olan hamur fermantasyonunu etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler arasında hamur mikrobiyotası, zaman ve sıcaklık gibi fermantasyon koşulları ve un bileşimi (özellikle karbonhidrat, protein ve kül içeriği) yer almaktadır. Bahsedilen parametreler arasında fermantasyon sıcaklığı ve süresi ekşi hamurda mikroorganizmanın gelişmesi ve arzu edilen özellikleri sağlaması açısından üzerinde önemle durulan parametrelerdir.

Bu çalışmada %17.28 yağsız süt tozu, %2.12 laktoz ve %10 süroz kullanılarak liyofilize edilen *Lactobacillus brevis* ED25'in ekşi hamur üretiminde beklenen özellikleri sağlayabilmesi amacıyla ekşi hamur üretimi için optimum fermantasyon sıcaklık ve süresinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Lactobacillus brevis ED25

Bu çalışmada; Dertli vd (2016) tarafından izole edilerek tanımlanmış, teknolojik/endüstriyel özelliklerine göre ekşi hamur starteri olarak seçilmiş *Lb. brevis* ED25 suşu kullanılmıştır.

Deneysel Dizayn

Liyofilize starter kültürün metabolik aktivitesinin modellenmesi için kültür Wheat Sourdough Simulation besiyerine (W-SSM) %5 oranında inoküle edilmiş farklı sıcaklık ve sürelerde inkübasyon gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 1. Central Composite Rotatable Dizayn için kodlar ve gerçek seviyeler

Bağımsız değişkenler	Kod seviyeleri				
	-α	-1	0	+1	+α
Sıcaklık (X ₁ ; °C)	20	22	27	32	34
Süre (X ₂ ; saat)	5.9	10	20	30	34.1

Çalışmada hücre gelişimi, laktik ve asetik asit ile toplam asitlik yanıtları oluşturmaktadır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Modelin oluşturulması

Optimizasyon için deneme planı Central Composite Rotatable Dizayn (CCRD) planı kullanılarak elde edilmiştir. Optimum konsantrasyonlarda (%17.28 yağsız süt tozu, %2.12 laktoz ve %10 süroz) kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen *Lb. brevis* ED25 kültürünün farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyonu sonucu elde edilen yanıtlar sırası ile Çizelge 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. Liyofilize *Lb. brevis* ED25 suşunun farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyon için CCDR deneme planı ve elde edilen sonuçlar

Sıra no	X ₁	X ₂	Hücre kuru ağırlığı (g/L)	Toplam asitlik (%)	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)
1	34.1	20	4.25	0.77	9.14	2.69
2	27	5.9	0.82	0.39	5.61	0.67
3	22	30	3.91	0.71	7.75	1.76
4	32	30	4.21	0.74	8.46	2.55
5	20	20	1.21	0.47	5.41	1.66
6	27	34.1	3.55	0.66	7.95	2.01
7	32	10	1.97	0.56	8.09	2.03
8	27	20	4.04	0.75	8.77	1.02
9	22	10	0.86	0.41	5.30	1.30
10	27	20	4.20	0.74	8.50	1.16

X₁: Sıcaklık (°C); X₂: Süre (saat)

Fermantasyon sonucunda elde edilen hücre gelişimi, toplam asitlik, laktik ve asetik asit değerlerine model olarak quadratik model uygulanması istatistiki olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.05$; Çizelge 3).

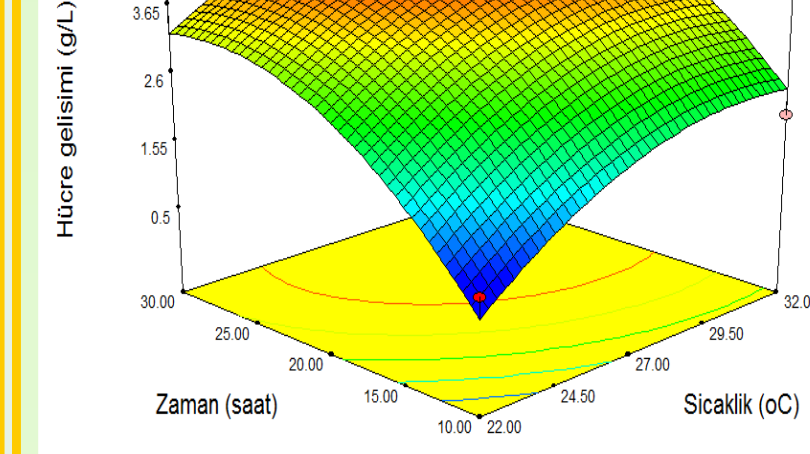
Çizelge 3. Liyofilize *Lb. brevis* ED25 suşunun farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyonu sonucu elde edilen yanıtlar üzerine Lineer, Quadratik ve interaksiyonlarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyans kaynağı	S	Hücre kuru ağırlığı		Toplam asitlik		Laktik asit		Asetik asit	
		Kareler Toplamı	p-değeri	Kareler Toplamı	p-değeri	Kareler Toplamı	p-değeri	Kareler Toplamı	p-değeri
Model	5	18.676	0.0216*	0.179	0.0151*	18.905	0.0059*	3.74	0.0071*
X ₁	1	4.085	0.0289*	0.047	0.0158*	9.622	0.0019*	1.11	0.0062*
X ₂	1	10.439	0.0059*	0.085	0.0056*	4.718	0.0071*	1.03	0.0071*
X ₁ X ₂	1	0.162	0.5424	0.004	0.3272	1.079	0.0722	0.001	0.896
X ₁ ²	1	1.783	0.0922	0.014	0.0960	1.573	0.0428*	1.55	0.0034*
X ₂ ²	1	3.666	0.0342*	0.043	0.0180*	3.195	0.0140*	0.12	0.1539*
Kalıntı	4	1.468		0.012		0.733		0.16	
M. U*	3	1.455	0.1167	0.012	0.0753	0.697	0.2804	0.15	0.2984
Saf Hata	1	0.013		0.001		0.036		0.009	
Toplam	9	20.144		0.191		19.638		2.768	

X₁: Sıcaklık (°C); X₂: Süre (saat), *İstatistik değeri açısından önemlidir ($P < 0.05$)

Hücre gelişimi

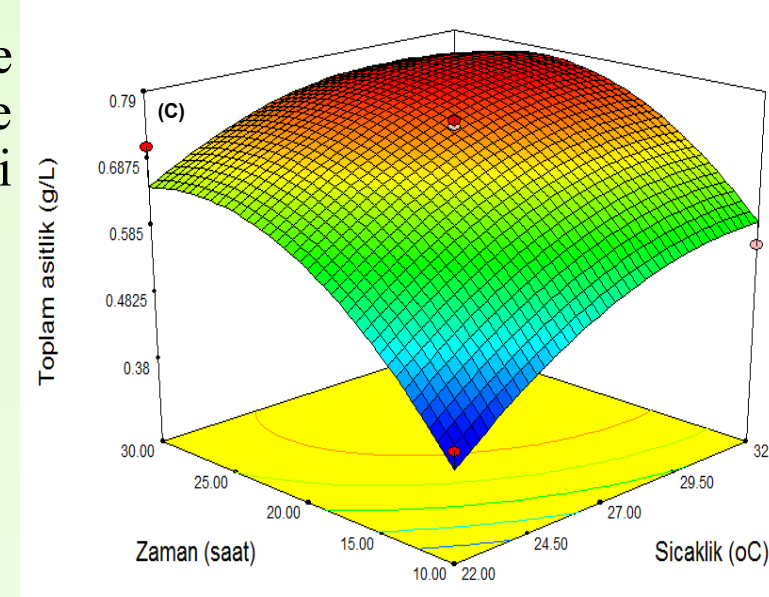
Farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyon sonucu ED25 suşunun en düşük kuru hücre ağırlığı 22 °C'de 10 saat fermantasyon sonucu elde edilirken (0.58 g/L), en yüksek değer 34.1 °C'de 20 saat fermantasyon sonucunda (3.96 g/L) belirlenmiştir. Merkez noktasındaki sıcaklık (27 °C) ve zaman (20 saat) fonksiyonu olarak mikroorganizmanın canlılık düzeyinin değişimini veren yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrisi Şekil 1'de verilmiştir. Suşun kuru hücre ağırlığı fermantasyon sıcaklığının artmasına bağlı olarak önemli düzeyde artış göstermiştir ($P < 0.05$). Zhou vd (2015) tarafından da fermantasyon sıcaklığının artması ile hücre gelişme hızının arttığı, ancak sıcaklığın 35 °C'yi aşması halinde hücrelerin gelişme hızının önemli düzeyde azaldığı belirlenmiştir. Fermantasyon süresinin artmasına bağlı olarak kuru hücre ağırlığında artış gözlenmiş ($P < 0.05$), ancak 25 saatten sonraki fermantasyon süresinde hücre ağırlıklarında çok fazla değişim gözlenmemiştir.



Toplam asitlik

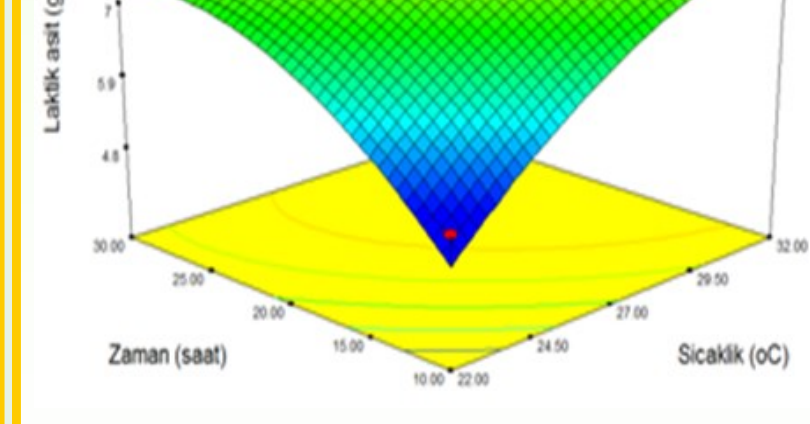
Fermantasyon sonrasında elde edilen toplam asitlik düzeyi %0.38 ile %0.76 arasındadır. En yüksek toplam asit üretme değeri 34.1 °C'de 20 saat inkübasyon sonrasında elde edilmiştir. Her iki değişkenin de artması fermantasyon sonunda üretilen asit değerinin artmasına yol açmıştır (Şekil 2). Benzer şekilde Gebremariam vd (2015) fermantasyon sıcaklık ve süresinin artmasının üretilen laktik asit miktarı üzerine önemli etki gösterdiğini ve fermantasyon sıcaklığının birincil etken olduğunu belirlemişlerdir.

Şekil 2. Farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyon sonucu asit üretme yeteneği (%) için yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrisi



Laktik asit üretimi

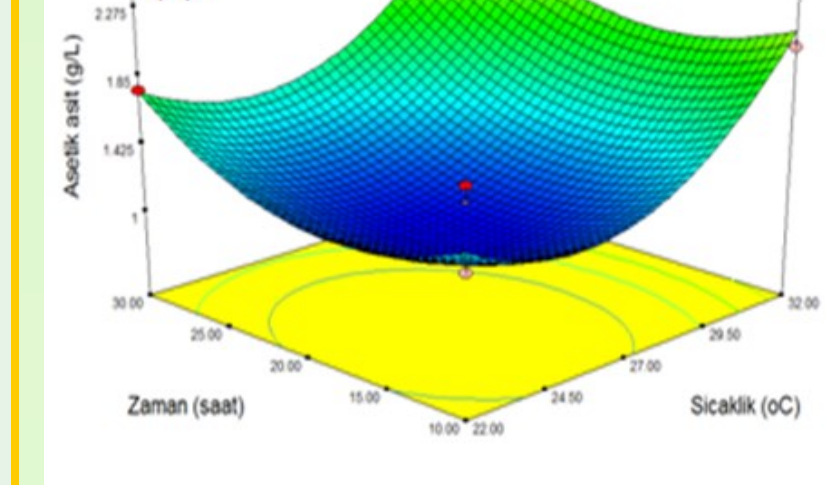
En yüksek laktik asit üretimi 34.1 °C'de 20 saat inkübasyonda 9.14 g/L, en düşük değer ise 22 °C'de 10 saat inkübasyon sonunda 5.3 g/L olarak elde edilmiştir. Her iki değişkenin de artması fermantasyon sonunda üretilen laktik asit değerinin artmasına neden olmuştur (Şekil 3). Gebremariam vd (2015) fermantasyon sıcaklık ve süresinin artışının laktik asit miktarı üzerine önemli etki gösterdiğini ve fermantasyon sıcaklığının birincil etken olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 3. Farklı sıcaklık ve sürelerde fermantasyon sonucu laktik asit üretme yeteneği (g/L) için yanıt yüzey grafiği ve eşyükselti eğrisi

Asetik asit üretimi

En yüksek asetik asit üretimi (2.69 g/L) 34.1 °C'de 20 saat inkübasyon sonunda elde edilmiştir. En düşük asetik asit üretimi, laktik asit değerlerinde de gözlendiği gibi 27 °C'de 5 saat inkübasyon sonunda 0.67 g/L olarak tespit edilmiştir. Kültürün asetik asit üretme yeteneği üzerine fermantasyon sıcaklığı ve süresi önemli etki göstermiş ($P < 0.05$); bunlardaki artış üretilen asetik asit miktarının da artmasına neden olmuştur (Şekil 4).



Fermantasyon sonrası hücre kuru ağırlığı (g/L), toplam asitlik (%), laktik ve asetik asit (g/L) üzerine sıcaklık ve süre önemli düzeyde etkili bulunurken ($P < 0.05$) sıcaklık-süre interaksiyonu etkili bulunmamıştır ($P > 0.05$). Liyofilize ED25 suşunun farklı sıcaklık (X₁) ve sürelerde (X₂) fermantasyonu sonucu hücre konsantrasyonu (Y₁), toplam asitlik (Y₂), laktik (Y₃) ve asetik (Y₄) asit üretim miktarına ilişkin eşitlikler sırasıyla aşağıda verilmiştir.

$$Y_1 = 4.12 + 0.71X_1 + 1.14X_2 - 0.2X_1X_2 - 0.62X_1^2 - 0.9X_2^2$$

$$Y_2 = 0.74 + 0.077X_1 + 0.1X_2 - 0.03X_1X_2 - 0.055X_1^2 - 0.097X_2^2$$

$$Y_3 = 8.64 + 1.1X_1 + 0.77X_2 - 0.52X_1X_2 - 0.59X_1^2 - 0.84X_2^2$$

$$Y_4 = 1.09 + 0.37X_1 + 0.36X_2 + 0.014X_1X_2 + 0.58X_1^2 + 0.16X_2^2$$

Optimum noktanın belirlenmesi ve validasyon

Optimum fermantasyon koşulları istenilirlilik fonksiyonu (0.942) baz alınarak belirlenmiş olup sıcaklık için 32 °C ve süre için 26.22 saat olarak tespit edilmiştir. Doğrulama deneysel çalışmaları, deneysel ve öngörülen değerler arasında iyi bir uyum olduğunu göstermiştir (Çizelge 4).

Çizelge 4. Optimum koşullarda fermente edilen *Lb. brevis* ED25 için tahmin edilen ve deneysel değerler

	Hücre kuru ağırlığı (g/L)	Toplam asitlik (%)	Laktik asit (g/L)	Asetik asit (g/L)
Tahmin edilen	4.48	0.77	8.97	2.34
Deneysel	4.21±0.21	0.79±0.06	8.16±0.19	2.39±0.26

SONUÇ

- Ekşi hamur üretimi için optimum fermantasyon koşullarının belirlenmesinde yanıt yüzey yöntemi uygun bir tekniktir.
- Kriyoprotektan kullanılarak liyofilize edilen *Lb. brevis* ED25'in ekşi hamur üretiminde kullanılması için gerekli sıcaklık 32 °C ve süre 26.22 saattir.
- Optimum parametrelerde ED25 suşu maksimuma yakın asit oluşturma özelliği göstermiştir.

Teşekkür

Bu çalışma Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TOVAG 1170159) tarafından desteklenmiştir.