



**KAŞAR PEYNİRİ ÜRETİMİNDE SONİKASYON  
UYGULANMIŞ BAZI LAKTOBASİLLERİN  
PEYNİRİN OLGUNLAŞMASI VE KALİTESİ  
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Fırat YILMAZ**

**Doktora Tezi**

**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR**

**2019**

**Her hakkı saklıdır**

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**KAŞAR PEYNİRİ ÜRETİMİNDE SONİKASYON UYGULANMIŞ  
BAZI LAKTOBASİLLERİN PEYNİRİN OLGUNLAŞMASI VE  
KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ**

**Fırat YILMAZ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ERZURUM  
2019**

**Her Hakkı Saklıdır**



T.C.  
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü



TEZ ONAY FORMU

**KAŞAR PEYNİRİ ÜRETİMİNDE SONİKASYON UYGULANMIŞ BAZI  
LAKTOBASİLLERİN PEYNİRİN OLGUNLAŞMASI VE KALİTESİ ÜZERİNE  
ETKİLERİ**

Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR danışmanlığında, Fırat YILMAZ tarafından hazırlanan bu çalışma 04/01/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı' nda Doktora tezi olarak **oybirliği / oy çokluğu (5./5.)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR

İmza :

Üye : Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU

İmza :

Üye : Doç. Dr. Enes DERTLİ

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu' nun **31.01./2019** tarih ve **05./.../12** ..... nolu kararı ile onaylanmıştır.

**Prof. Dr. Mehmet KARAKAN**  
Enstitü Müdürü

Bu çalışma TÜBİTAK Başlangıç Ar-Ge Projeleri Destekleme Programı (3001) kapsamında desteklenmiştir.

Proje No: 214O172

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildiriş, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

## ÖZET

Doktora Tezi

### KAŞAR PEYNİRİ ÜRETİMİNDE SONİKASYON UYGULANMIŞ BAZI LAKTOBASİLLERİN PEYNİRİN OLGUNLAŞMASI VE KALİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Fırat YILMAZ

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

Bu çalışmada; *Lactobacillus helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşları primer starter kültüre (*Streptococcus thermophilus* + *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) ilaveten birlikte canlı (C) ve zayıflatılmış yardımcı kültür (D) olarak Kaşar peyniri üretiminde kullanılmıştır. Böylece olgunlaştırma süresinin kısaltılması, seçilmiş suşların kullanımıyla starter olmayan laktik asit bakterilerinin (LAB) kontrol altına alınması ve lezzet bakımından daha zenginleştirilmiş Kaşar peyniri üretiminin sağlanması amaçlanmıştır. *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının zayıflatılmasında ön denemelerle belirlenen sonikasyon koşulları (Pulse:1, Amplitude: 100 µm) 45 d süre ile uygulanmıştır. Bu peynirlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özellikleri 180 günlük olgunlaştırma süresince geleneksel yöntemle (kontrol, A) ve sadece primer starter kültür kullanılarak üretilen Kaşar peyniri (B) örnekleriyle karşılaştırılmıştır. İlaveten, söz konusu uygulamaların olgunlaşma süresi ve derecesi üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla, peynirler üre-poliakrilamid jel elektroforezi (üre-PAGE), peptit profili ve serbest amino asit analizleri ile uçucu bileşikler yönünden de analiz edilmiştir. MRS agarda gelişen en yüksek mezofilik ve termofilik LAB sayıları C örneğinde belirlenmiş, özellikle D örneğinde 60. günden itibaren mezofilik LAB sayısında önemli artış olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde MRS agarda gelişen termofilik LAB sayılarının azaldığı, bu azalmanın özellikle C (2,30 log kob/g) ve D (1,83 log kob/g) örneklerinde daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin kurumadde ve protein miktarları arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak önemli olduğu, bununla birlikte yardımcı kültür kullanımının peynirin kimyasal kompozisyonu üzerinde çok önemli bir etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. Ancak, asitlik ve pH değerleri açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıkların önemli olduğu tespit edilmiştir. Çözünür azot fraksiyonlarının olgunlaşma süresince arttığı, söz konusu parametrelerin C ve D örneklerinde kontrol örneğinden önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Üre-PAGE sonuçlarından, tüm Kaşar peyniri örneklerinde  $\beta$ -kazein fraksiyonunun hidrolize karşı direnç gösterdiği, buna karşın  $\alpha_{s1}$ -kazein fraksiyonunun C ve D örneklerinde daha fazla hidroliz edildiği tespit edilmiştir. Yardımcı kültürlerin canlı/zayıflatılmış olarak kullanımının sekonder proteolizi artırdığı, ancak hidrofobik peptitlerin hidrolizinde ve serbest amino asitlerin oluşumunda *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanımının daha etkili olduğu belirlenmiştir. GC-MS analizi sonucunda, toplam 97 adet uçucu bileşik tayin edilmiş olup, her iki uygulamanın bazı uçucu bileşik gruplarının çeşitliliğini ve miktarlarını artırdığı tespit edilmiştir. Duysal analiz sonuçlarından; yardımcı kültür kullanımının Kaşar peyniri örneklerinin koku, lezzet ve tekstürel puanlarını arttırdığı saptanmıştır.

2019, 164 sayfa

**Anahtar Kelimeler:** Kaşar peyniri, yardımcı kültür, sonikasyon, proteoliz, uçucu bileşikler

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

### THE EFFECTS OF SOME SONICATED LACTOBACILLUS ON CHEESE RIPENING AND QUALITY IN KASHAR CHEESE PRODUCTION

Fırat YILMAZ

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

In this study; *Lactobacillus helveticus* DPC 4571 and *Lb. paracasei* ATCC 334 strains were used as alive (C) and attenuated (D) adjunct culture together with primer starter cultures (*Streptococcus thermophilus* + *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) in Kashar cheese production. Thus, it was intended to ensure the shortening of ripening time, to control of non-starter lactic acid bacteria (LAB) with the use of selected strains and to contribute the development of aroma of Kashar cheese. To produce attenuated adjunct culture, *Lb. helveticus* DPC 4571 and *Lb. paracasei* ATCC 334 strains were subjected to sonication at Pulse:1, Amplitude: 100  $\mu$ m for 45 min period. The properties of physicochemical, microbiological and sensorial of these cheeses were to compared with Kashar cheese produced with conventional method (control, A) and using only primer starter culture (B) during 180-day ripening. In addition, in order to determine the effect of these applications on the ripening time and degree, the cheeses were analyzed in terms of volatile components, urea polyacrylamide gel electrophoresis (urea-PAGE), peptide profile and free amino acid analysis. It was determined that the highest mesophilic and thermophilic LAB counts growth on MRS agar were in sample C and especially an increase in mesophilic LAB count of sample D was determined from 60 day. Thermophilic LAB counts on growth MRS agar were decreased in all samples during ripening. The decrease was higher in samples C (2.30 log cfu/g) and D (1.83 log cfu/g). The differences in the amounts of dry matter and protein of cheese samples were statistically significant, however it was determined that the use of adjunct culture had no very significant effect on the chemical composition of cheese. The differences between cheese samples in terms of acidity and pH values were found to be significant. It was determined that soluble nitrogen fractions increased during ripening period and these parameters were significantly higher in C and D samples than control sample. The results of urea-PAGE showed that the  $\beta$ -casein fraction was resistant to hydrolysis in all samples of Kashar cheese, whereas the  $\alpha$ <sub>s1</sub>-casein fraction was more hydrolyzed in C and D samples. It had been concluded that the alive/attenuated use of adjunct cultures increased secondary proteolysis, but the using as alive of *Lb. helveticus* DPC 4571 and *Lb. paracasei* ATCC 334 strains was more effective in the hydrolysis of hydrophobic peptides and in the formation of free amino acids. In results of GC-MS analysis, a total of 97 volatile compounds were determined and both applications (using of alive or attenuated cultures) increased both diversity and quantities of some volatile components groups. In addition, it was determined that the the using of adjunct culture increased the odor, flavor and texture scores of Kashar cheese samples.

2019, 164 pages

**Keywords:** Kashar cheese, adjunct culture, sonication, proteolysis, volatile compounds

## TEŞEKKÜR

Doktora tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesinde bana yol gösteren, her türlü ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım danışman hocam Sayın Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR'e,

Çalışmalarım esnasında göstermiş olduğu idari kolaylıklardan dolayı Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na, bilgi ve deneyimlerinden son derece faydalandığım değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI'ya ve Sayın Prof. Dr. Hasan ÖZDEMİR'e, tez çalışmamın yürütülmesinde İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümüne ait tüm laboratuvar imkanlarını ve deneyimleri ile her türlü desteğini sunan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na ve laboratuvar çalışmalarım esnasında yardımlarından dolayı Sayın Arş. Gör. Hacer GÜRKAN'a

Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirdiğim laboratuvar çalışmalarım sırasında yardım ve desteklerini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e, Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e ve Sayın Prof. Dr. Fatih ERTUGAY'a, doktora tez çalışmalarım esnasında idari izin ve görevlendirme hususunda sağlamış olduğu kolaylıklardan dolayı Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanlığı'na,

Tez çalışmamı maddi açıdan destekleyen, bilim ve bilim insanının destekçisi olan TÜBİTAK'a (Proje No: 214O172), peynirlerin üretimi sırasında her türlü imkanı sağlayan Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Pilot Süt İşletmesi çalışanlarına, laboratuvar çalışmalarımındaki desteklerinden dolayı Neslihan AYAĞ'a ve Sümeyra IŞIK'a, tez çalışmalarım esnasında sürekli yanımda hissettiğim değerli eşim Gözde YILMAZ'a ve kızım Bahar'a,

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

**Fırat Yılmaz**

**Ocak, 2019**

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                                    |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| ÖZET.....                                                                                          | i   |
| ABSTRACT .....                                                                                     | ii  |
| TEŞEKKÜR.....                                                                                      | iii |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ .....                                                               | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                                               | x   |
| ÇİZELGELER DİZİNİ .....                                                                            | xii |
| 1. GİRİŞ.....                                                                                      | 1   |
| 2. KAYNAK ÖZETLERİ.....                                                                            | 16  |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM.....                                                                         | 28  |
| 3.1. Materyal.....                                                                                 | 28  |
| 3.2. Yöntem .....                                                                                  | 30  |
| 3.2.1. Peynir üretiminde kullanılan yardımcı kültürlerin çoğaltılması.....                         | 30  |
| 3.2.2. Zayıflatılmış yardımcı kültür üretimi için sonikasyon koşullarının<br>belirlenmesi .....    | 30  |
| 3.3. Deneme Kaşar Peynirlerinin Üretimi .....                                                      | 32  |
| 3.4. Peynir Üretiminde Kullanılan Sütte Yapılan Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik<br>Analizler..... | 35  |
| 3.5. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler .....                             | 35  |
| 3.5.1. Örnek hazırlama .....                                                                       | 35  |
| 3.5.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı .....                                               | 36  |
| 3.5.3. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri sayımı .....                                         | 36  |
| 3.5.4. M-17 agarda gelişen laktik asit bakteri sayımı.....                                         | 36  |
| 3.5.5. Koliform grubu bakteri sayımı .....                                                         | 37  |
| 3.5.6. Maya ve küf sayımı .....                                                                    | 37  |
| 3.6. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Fizikokimyasal Analizler.....                              | 37  |
| 3.7. Kaşar Peyniri Örneklerinde Azot Fraksiyonlarının Belirlenmesi .....                           | 38  |
| 3.7.1. pH 4.6'da çözünen azot oranının belirlenmesi .....                                          | 38  |
| 3.7.2. Trikloroasetik asitte çözünen azot oranının belirlenmesi.....                               | 39  |
| 3.7.3. Fosfotungustik asitte çözünen azot oranının belirlenmesi .....                              | 39  |

|                                                                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.8. Kaşar Peyniri Örneklerinde Kazein Fraksiyonlarının üre–PAGE Elektroforezi İle Belirlenmesi .....               | 39        |
| 3.9. Kaşar Peyniri Örneklerinde Peptit Profillerinin Belirlenmesi.....                                              | 41        |
| 3.10. Kaşar Peyniri Örneklerinde Serbest Amino Asit Miktarlarının Belirlenmesi...                                   | 42        |
| 3.11. Kaşar Peyniri Örneklerinde Uçucu Bileşiklerin Belirlenmesi .....                                              | 43        |
| 3.12. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Duyusal Analizler .....                                                    | 44        |
| 3.13. İstatistiksel Analizler .....                                                                                 | 45        |
| <b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....</b>                                                                      | <b>46</b> |
| 4.1. Sonikasyon Uygulamasının Öncesi ve Sonrasında Belirlenen Bakteri Sayıları .                                    | 46        |
| 4.2. Kaşar Peyniri Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Sütün Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları ..... | 47        |
| 4.3. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları .....                                            | 47        |
| 4.3.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı .....                                                                | 49        |
| 4.3.2. MRS agarda gelişen mezofilik laktik asit bakteri sayıları.....                                               | 51        |
| 4.3.3. MRS agarda gelişen termofilik laktik asit bakteri sayıları .....                                             | 54        |
| 4.3.4. M-17 agarda gelişen mezofilik laktik asit bakteri sayıları .....                                             | 57        |
| 4.3.5. M-17 agarda gelişen termofilik laktik asit bakteri sayıları.....                                             | 57        |
| 4.3.6. Maya ve küf sayıları .....                                                                                   | 59        |
| 4.3.7. Koliform grubu bakteri sayısı.....                                                                           | 60        |
| 4.4. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Fizikokimyasal Analiz Sonuçları .....                                            | 61        |
| 4.4.1. Kurumadde miktarı.....                                                                                       | 64        |
| 4.4.2. Yağ miktarı.....                                                                                             | 66        |
| 4.4.3. Kurumaddede yağ oranı .....                                                                                  | 67        |
| 4.4.4. Protein miktarı .....                                                                                        | 68        |
| 4.4.5. Tuz miktarı .....                                                                                            | 70        |
| 4.4.6. Kurumaddede tuz oranı .....                                                                                  | 72        |
| 4.4.7. Titrasyon asitliği.....                                                                                      | 73        |
| 4.4.8. pH .....                                                                                                     | 76        |
| 4.5. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Çözünür Azot Fraksiyonları Analiz Sonuçları                                      | 79        |
| 4.5.1. pH 4.6’da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi .....                                                        | 80        |
| 4.5.2. TCA’da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi .....                                                           | 83        |
| 4.5.3. PTA’da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi .....                                                           | 85        |

|                                                                                                              |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 4.6. Kaşar Peyniri Örneklerinde Kazein Fraksiyonlarına Ait Elektroforez (Üre-<br>PAGE) Analiz Sonuçları..... | 89         |
| 4.7. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Peptid Profili Analiz Sonuçları .....                                     | 96         |
| 4.8. Kaşar Peyniri Örneklerinin Serbest Amino Asit Analiz Sonuçları .....                                    | 101        |
| 4.9. Kaşar Peyniri Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler .....                                            | 108        |
| 4.9.1. Aldehitler.....                                                                                       | 109        |
| 4.9.2. Ketonlar .....                                                                                        | 111        |
| 4.9.3. Esterler.....                                                                                         | 114        |
| 4.9.4. Alkoller.....                                                                                         | 118        |
| 4.9.5. Karboksilik asitler .....                                                                             | 121        |
| 4.9.6. Terpenler .....                                                                                       | 124        |
| 4.9.7. Diğer bileşikler .....                                                                                | 124        |
| 4.10. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Duyusal Analiz Sonuçları.....                                            | 128        |
| 4.10.1. Renk ve görünüş .....                                                                                | 129        |
| 4.10.2. Doku .....                                                                                           | 130        |
| 4.10.3. Koku .....                                                                                           | 131        |
| 4.10.4. Lezzet .....                                                                                         | 132        |
| 4.10.5. Tuzluluk.....                                                                                        | 134        |
| 4.10.6. Acılık .....                                                                                         | 135        |
| 4.10.7. Genel kabul edilebilirlik .....                                                                      | 137        |
| <b>5. SONUÇ .....</b>                                                                                        | <b>140</b> |
| KAYNAKLAR .....                                                                                              | 149        |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                               | 165        |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|          |                      |
|----------|----------------------|
| $\alpha$ | Alfa                 |
| $\beta$  | Beta                 |
| d        | Dakika               |
| °        | Derece               |
| $\gamma$ | Gama                 |
| g        | Gram                 |
| v        | Hacim                |
| kg       | Kilogram             |
| kHz      | Kilohertz            |
| MHz      | Megahertz            |
| MPa      | Megapaskal           |
| ppm      | mg/kg (milyonda bir) |
| $\mu$ L  | Mikrolitre           |
| $\mu$ m  | Mikrometre           |
| mg       | Miligram             |
| mL       | Mililitre            |
| mm       | Milimetre            |
| M        | Molarite             |
| nm       | Nanometre            |
| N        | Normalite            |
| s        | Saniye               |
| cm       | Santimetre           |
| V        | Volt                 |

## Kısaltmalar

|           |                                                      |
|-----------|------------------------------------------------------|
| ATCC      | American Type Culture Collection                     |
| DAD       | Diode-Array Detector                                 |
| DNA       | Deoksiribo Nükleik Asit                              |
| DPC       | Dairy Product Collection                             |
| DVS       | Direct Vat Set                                       |
| EDTA      | Etilendiamintetra Asetik Asit                        |
| GC-MS     | Gas Chromatography-Mass Spectrometer                 |
| Kob       | Koloni Oluşturan Birim                               |
| LAB       | Laktik Asit Bakterisi                                |
| Log       | Logaritma                                            |
| MRS       | De Man Rogosa and Sharpe                             |
| NSLAB     | Starter Olmayan Laktik Asit Bakterisi                |
| PCA       | Plate Count Agar                                     |
| PCA       | Principal Component Analysis                         |
| PCR       | Polymerase Chain Reaction                            |
| PDA       | Potato Dextrose Agar                                 |
| PepI      | Prolin İminopeptidaz                                 |
| PepN      | Genel Aminopeptidaz                                  |
| PepR      | Prolinaz                                             |
| PepX      | X-prolildipeptidil Aminopeptidaz                     |
| PTA       | Fosfotungstik Asit                                   |
| PTA'da-ÇA | Fosfotungstik Asitte Çözünen Azot                    |
| PVC       | Polivinilklorür                                      |
| RI        | Retention Index                                      |
| RNA       | Ribo Nükleik Asit                                    |
| RP-HPLC   | Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography |
| rRNA      | Ribozomal Ribonükleik Asit                           |
| SDS       | Sodyum Dodesil Sülfat                                |
| SLAB      | Starter Laktik Asit Bakterisi                        |

|           |                                    |
|-----------|------------------------------------|
| SPME      | Solid Phase Microextraction        |
| TAMB      | Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri   |
| TCA       | Triklorasetik Asit                 |
| TCA'da-ÇA | Triklor Asetik Asitte Çözünen Azot |
| TFA       | Triflor Asetik Asit                |
| TÜİK      | Türkiye İstatistik Kurumu          |
| VRBA      | Violet Red Bile Agar               |
| Ala       | Alanin                             |
| Arg       | Arginin                            |
| Asn       | Asparagin                          |
| Asp       | Apartik asit                       |
| Cys       | Sistein                            |
| Gln       | Glutamin                           |
| Glu       | Glutamik asit                      |
| Gly       | Glisin                             |
| His       | Histidin                           |
| Ile       | İzolösin                           |
| Leu       | Lösin                              |
| Lys       | Lisin                              |
| Met       | Metiyonin                          |
| Phe       | Fenilalanin                        |
| Pro       | Prolin                             |
| Ser       | Serin                              |
| Thr       | Treonin                            |
| Trp       | Triptofan                          |
| Tyr       | Tirosin                            |
| Val       | Valin                              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 3.1.</b> <i>Lactobacillus helveticus</i> DPC 4571 suşuna ait mikroskopik görüntü<br>(100X).....                                                                             | 29 |
| <b>Şekil 3.2.</b> <i>Lactobacillus paracasei</i> ATCC 334 suşuna ait mikroskopik görüntü<br>(100X).....                                                                              | 29 |
| <b>Şekil 3.3.</b> Sonikasyon işleminde kullanılan Ultrasound cihazı.....                                                                                                             | 31 |
| <b>Şekil 3.4.</b> Deneme Kaşar peynirlerin üretim şeması.....                                                                                                                        | 34 |
| <b>Şekil 3.5.</b> Ön olgunlaştırma işlemi tamamlanmış Kaşar peyniri örnekleri .....                                                                                                  | 35 |
| <b>Şekil 3.6.</b> Peynirlerin kazein fraksiyonlarının belirlenmesinde kullanılan Protean II<br>XI dikey jel elektroforez cihazı .....                                                | 40 |
| <b>Şekil 3.7.</b> Peynir örneklerinin peptit profillerinin belirlenmesinde kullanılan HPLC<br>cihazı.....                                                                            | 42 |
| <b>Şekil 4.1.</b> Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayıları<br>üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi.....                      | 54 |
| <b>Şekil 4.2.</b> Kaşar peyniri örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine peynir<br>örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi.....                                   | 75 |
| <b>Şekil 4.3.</b> Kaşar peyniri örneklerinin pH değerleri üzerine peynir örneği x<br>olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi .....                                                  | 78 |
| <b>Şekil 4.4.</b> Kaşar peyniri örneklerinin PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma<br>indeksi değerleri üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi<br>interaksyonunun etkisi.....      | 88 |
| <b>Şekil 4.5.</b> Kaşar peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen azot fraksiyonlarına ait<br>üre-PAGE elektroforetogramı (NaCN: Standart sodyum-kazeinat) .....                      | 90 |
| <b>Şekil 4.6.</b> Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının<br>elektroforetik analizlerinin aşamalı kümeleme analizi (Hierarchical<br>Cluster Analysis) ..... | 92 |
| <b>Şekil 4.7.</b> Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı $\alpha_1$ -kazein fraksiyonlarının<br>densitometrik alanlarının olgunlaşma süresi boyunca değişimi .....                       | 95 |
| <b>Şekil 4.8.</b> Kaşar peyniri örneklerinde 7. günde belirlenen peptit profiline ait RP-<br>HPLC kromatogramı .....                                                                 | 96 |

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 4.9.</b> Kaşar peyniri örneklerinde 60. günde belirlenen peptit profiline ait RP-<br>HPLC kromatogramı .....   | 97 |
| <b>Şekil 4.10.</b> Kaşar peyniri örneklerinde 120. günde belirlenen peptit profiline ait RP-<br>HPLC kromatogramı ..... | 99 |
| <b>Şekil 4.11.</b> Kaşar peyniri örneklerinde 180. günde belirlenen peptit profiline ait RP-<br>HPLC kromatogramı ..... | 99 |



## ÇİZELGELER DİZİNİ

|                                                                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 3.1. Bakteri suşlarının zayıflatılmasında kullanılan sonikasyon koşulları .....                                                                                                                      | 31 |
| Çizelge 3.2. Deneme Kaşar peyniri örnekleri .....                                                                                                                                                            | 33 |
| Çizelge 3.3. RP-HPLC analizinde hareketli faza ait çözeltilerinin kromatografisi süresi içerisinde kolondan geçiş oranları.....                                                                              | 41 |
| Çizelge 3.4. Kaşar peyniri örneklerinin duyuşal değerdendirilmesinde kullanılan skala örneği .....                                                                                                           | 45 |
| Çizelge 4.1. Kaşar peynirlerinin üretiminde kullanılan <i>Lb. paracasei</i> ATCC 334 ve <i>Lb. helveticus</i> DPC 4571 suşlarına ait sonikasyon öncesi ve sonrası yapılan sayım sonuçları (log kob/mL) ..... | 46 |
| Çizelge 4.2. Kaşar peynir üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütün bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri .....                                                                               | 47 |
| Çizelge 4.3. Kaşar peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g) .....                                                                                                            | 48 |
| Çizelge 4.4. Kaşar peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz değerdlerine ait varyans analiz sonuçları .....                                                                                        | 49 |
| Çizelge 4.5. Kaşar peyniri örneklerine ait TAMB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                                                       | 50 |
| Çizelge 4.6. Kaşar peyniri örneklerine ait MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                           | 51 |
| Çizelge 4.7. Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                    | 53 |
| Çizelge 4.8. Kaşar peyniri örneklerine ait MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                          | 55 |
| Çizelge 4.9. Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                   | 56 |
| Çizelge 4.10. Kaşar peyniri örneklerine ait M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                        | 58 |

|                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 4.11.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ..... | 58 |
| <b>Çizelge 4.12.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait maya ve küf sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                               | 59 |
| <b>Çizelge 4.13.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait maya ve küf sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                        | 60 |
| <b>Çizelge 4.14.</b> Kaşar peyniri örneklerinde yapılan bazı fizikokimyasal analiz sonuçları .....                                                                                  | 61 |
| <b>Çizelge 4.15.</b> Kaşar peyniri örneklerinde yapılan fizikokimyasal analiz değerlerine ait varyans analiz sonuçları .....                                                        | 63 |
| <b>Çizelge 4.16.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait kurumadde ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                        | 64 |
| <b>Çizelge 4.17.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kurumadde ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                 | 65 |
| <b>Çizelge 4.18.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait yağ miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                               | 67 |
| <b>Çizelge 4.19.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait kurumaddede yağ oranları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                         | 68 |
| <b>Çizelge 4.20.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait protein miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                  | 69 |
| <b>Çizelge 4.21.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait protein miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                           | 70 |
| <b>Çizelge 4.22.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait tuz miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                               | 71 |
| <b>Çizelge 4.23.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kurumaddede tuz oranı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                     | 72 |
| <b>Çizelge 4.24.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait titrasyon asitliği ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                               | 73 |
| <b>Çizelge 4.25.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait titrasyon asitliği ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                        | 74 |

|                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 4.26.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait pH değeri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                                              | 77 |
| <b>Çizelge 4.27.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait pH değeri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                       | 77 |
| <b>Çizelge 4.28.</b> Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait analiz sonuçları (%) .....               | 79 |
| <b>Çizelge 4.29.</b> Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları .....                          | 80 |
| <b>Çizelge 4.30.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                        | 81 |
| <b>Çizelge 4.31.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ..... | 82 |
| <b>Çizelge 4.32.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                           | 84 |
| <b>Çizelge 4.33.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....    | 85 |
| <b>Çizelge 4.34.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                           | 86 |
| <b>Çizelge 4.35.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....    | 87 |
| <b>Çizelge 4.36.</b> Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarına ait analiz sonuçları .....                                                       | 93 |
| <b>Çizelge 4.37.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait kalıntı kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarına ait varyans analiz sonuçları .....                                            | 93 |

|                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 4.38.</b> Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen kalıntı $\alpha$ <sub>S1</sub> -kazein ve $\beta$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alan ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                | 94  |
| <b>Çizelge 4.39.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kalıntı $\alpha$ <sub>S1</sub> -kazein ve $\beta$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alan ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ..... | 95  |
| <b>Çizelge 4.40.</b> Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen serbest amino asit konsantrasyonları.....                                                                                                                                    | 102 |
| <b>Çizelge 4.41.</b> Kaşar peyniri örneklerinin serbest amino asit değerlerine ait varyans analiz test sonuçları .....                                                                                                                  | 104 |
| <b>Çizelge 4.42.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait serbest amino asit ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırmalı test sonuçları.....                                                                                                  | 105 |
| <b>Çizelge 4.43.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait serbest amino asit ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırmalı test sonuçları.....                                                                           | 107 |
| <b>Çizelge 4.44.</b> Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen aldehit bileşikleri .....                                                                                                                                | 110 |
| <b>Çizelge 4.45.</b> Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen keton bileşikleri .....                                                                                                                                  | 112 |
| <b>Çizelge 4.46.</b> Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen ester bileşikleri .....                                                                                                                                  | 115 |
| <b>Çizelge 4.47.</b> Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri .....                                                                                                                                  | 119 |
| <b>Çizelge 4.48.</b> Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen karboksilik asit bileşikleri.....                                                                                                                       | 122 |
| <b>Çizelge 4.49.</b> Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen terpen bileşikleri .....                                                                                                                                | 124 |
| <b>Çizelge 4.50.</b> Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler .....                                                                                                                                  | 126 |
| <b>Çizelge 4.51.</b> Kaşar peyniri örneklerinin duyu analizi sonuçları .....                                                                                                                                                            | 128 |
| <b>Çizelge 4.52.</b> Kaşar peyniri örneklerinin duyu analiz sonuçlarına ait varyans analiz test sonuçları .....                                                                                                                         | 129 |

|                                                                                                                                                                              |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Çizelge 4.53.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait doku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                             | 130 |
| <b>Çizelge 4.54.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait koku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                             | 132 |
| <b>Çizelge 4.55.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait lezzet puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                           | 133 |
| <b>Çizelge 4.56.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait tuzluluk puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                  | 134 |
| <b>Çizelge 4.57.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait acılık puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                                           | 136 |
| <b>Çizelge 4.58.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait acılık puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                    | 136 |
| <b>Çizelge 4.59.</b> Kaşar peyniri örneklerine ait genel kabul edilebilirlik puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları .....                        | 137 |
| <b>Çizelge 4.60.</b> Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait genel kabul edilebilirlik puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ..... | 138 |

## 1. GİRİŞ

Beslenme; insanoğlunun büyümesi, yenilenmesi, gelişmesi ve hastalıklardan korunması amacıyla günlük olarak karşılamak zorunda olduğu temel ihtiyaçlarından biridir. Bu ihtiyacın karşılanmasında süt ve ürünleri önemli yer tutmaktadır. Süt; protein, kalsiyum, B<sub>2</sub> (riboflavin) ve B<sub>12</sub> (kobalamin) vitamini başta olmak üzere birçok besin ögesinin önemli kaynağını oluşturmaktadır. Ayrıca içerdiği kaliteli protein her yaş grubunda vücudun çalışması; çocukluk döneminde büyüme, yetişkinlikte ise doku onarımının sağlanması için gereklidir (Anonim 2015a). Ancak süt çabuk bozulması, hacimli olması ve naklinin zor olması gibi nedenlerden dolayı, çeşitli mamüllere işlenmekte, böylece hem dayanıklılığı artmakta hem de lezzet bakımından farklı ürünler elde edilmektedir. Bu ürünler içerisinde peynir önemli yer tutmaktadır.

Peynir, sütün peynir mayası veya zararsız organik asitlerin etkisiyle pıhtılaştırılması, değişik şekillerde işlenmesi, bu arada süzülmesi, şekillendirilmesi, tuzlanması, bazen tat ve koku verici zararsız maddeler katılması ve çeşitli süre ve derecelerde olgunlaştırılması sonucunda elde edilen besin değeri yüksek bir süt ürünüdür (Yetişemiyen 1995). Peynir; proteinler, lipitler, mineral ve vitaminler gibi esansiyel besin elementleri bakımından önemli bir kaynak olup, özellikle yüksek kaliteli protein, yağ, Ca, A ve B<sub>2</sub> vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Peynirin içerdiği esansiyel amino asitler besin değerini zenginleştirmekte, olgunlaşması sırasında proteinlerin parçalanmasıyla da proteinlerin sindirilme oranı artmaktadır. Aynı zamanda olgunlaşma sırasında mikrobiyal faaliyet sonucu oluşan antitrombotik, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antihipertansif özelliğe sahip çeşitli peptit ve amino asitler peynirin sağlık ve beslenme üzerindeki önemini daha da artırmaktadır (Kwak *et al.* 2011). İlaveten düşük laktoz içeriği nedeniyle peynir laktoz intoleransı ve diyabeti olanlar için de son derece uygun bir gıdadır (Demirci 1990; Blazic *et al.* 2017).

Peynir dünyada üzerinde aroma, tekstür ve şekil bakımından en zengin çeşide sahip süt ürünüdür. Çeşitli hammadde, farklı işlem ve olgunlaştırma tekniği, ayrıca değişik istekler bugün yüzlerce peynir çeşidinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Peynirin

4000 yıllık bir tarihi olduğu tahmin edilmekte ve her toplumun kendi örf, bilgi ve adetlerine göre değişik peynirler yaptığı düşünölmektedir. Dünyada lezzet ve tekstür karakteristikleri farklı yaklaşık 2000 peynir çeşidinin bulunduğu, ölkemizde ise 100 den fazla peynir çeşidinin geleneksel olarak farklı yörelerde üretildiği bilinmektedir (Çakmakçı, 2011 ).

Kaşar peyniri ölkemizde Beyaz peyniri takiben ekonomik değere sahip ikinci önemli peynir çeşididir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK 2018) verilerine göre 2017 yılında ölkemizde toplam peynir üretim miktarının 689.908 ton olduğu ve Kaşar peyniri üretiminin önemli yer tuttuğu bilinmektedir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde Kaşar peyniri "hammaddenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemin tekniğine uygun olarak işlenmesi ile üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen ve çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren telemesi haşlanan peynir" olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2015b). Kaşar peyniri inek, koyun veya inek-koyun sütü karışımından starter kültür kullanmaksızın, genel olarak 27-30 cm çapında, 10-13 cm yüksekliğinde, 6-10 kg ağırlığında üretilmekte ve ambalajlanmaksızın 4-10°C'de, %75-90 nispi rutubette 3 ile 10 ay süreyle olgunlaştırılmaktadır. Bu durumda sadece üretimde kullanılan peynir mayası ve doğal enzimler peynirin olgunlaşmasında rol oynamakta ve peynirin karakteristik özelliklerini kazanabilmesi için uzun dönem olgunlaştırılması gerekmektedir (Celik *et al.* 2018).

Kaşar peyniri, Türkiye'de olduğu gibi bazı Balkan ve Avrupa ölkelerinde de değişik adlar altında bilinmekte ve üretilmektedir. Genel olarak pasta filata olarak adlandırılan pıhtısı haşlanan peynirler grubuna dahil olup; Bulgaristan'da Kashkaval, Yunanistan'da Kassari, Yugoslavya'da Kachkawaj, İtalya'da Caciocavallo adlarıyla tanınan peynirler ile benzerlik göstermektedir (Günşen ve Büyükyörük 2003; Sulejmani and Hayaloglu, 2016). Ölkemizde Kaşar peyniri üretimi pek çok bölgede ve farklı büyüklükteki işletmelerde üretilmekte, genellikle ekonomik olmadığı için normal olgunlaşma süresini tamamlamadan pazarlanmaktadır. Her ne kadar günümüzde taze tüketimi yaygın olsa

da; hakiki Kaşar peyniri, olgunlaştırıldıktan sonra eşsiz bir tat ve lezzete sahip olmakta ve tüketici tarafından sevilerek tüketilmektedir.

Biyokimyasal olarak dinamik bir ürün olarak kabul edilen peynirin üretimi için sütün önce pıhtı haline, daha sonra peynir haline dönüşümü kompleks bir işlem olup, başlıca 2 temel aşamayı kapsamaktadır. Bu iki aşama sütün işlenerek peynir haline dönüştüğü üretim aşaması ve peynir çeşidine bağlı olarak iki haftadan iki yıla kadar değişen olgunlaşma aşamasıdır. Sütte gerek doğal olarak var olan gerekse sonradan starter kültür ya da yardımcı kültür olarak ilave edilen mikroorganizmalar fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal olaylara etki ederek, bu iki aşamayı etkileyen ana faktörler olarak kabul edilirler (Piraino *et al.* 2008; Czarán *et al.* 2018).

Her peynir çeşidinin kendine has koku, tat, renk, kıvam, gözenek, kabuk ve benzeri özellikleri kazanabilmesi için belirli koşullar altında ve belirli süre geçirdiği değişikliklerin tümüne birden peynir teknolojisinde olgunlaşma denilmektedir. Glikoliz, proteoliz ve lipoliz olgunlaşma sırasında meydana gelen temel biyokimyasal olaylardır. Olgunlaşmanın başlangıcında kalıntı laktoz hızla metabolize olurken; proteoliz ve lipoliz olgunlaşma süresince devam etmekte, özellikle proteoliz sert ve yarı-sert peynirlerde lezzet ve tekstür oluşumu için olgunlaşma süresince gerçekleşen en önemli biyokimyasal olay olarak kabul edilmektedir (Madkór *et al.* 2000a; Poveda *et al.* 2004). Proteoliz, aynı zamanda deaminasyon, transaminasyon, dekarboksilasyon gibi sekonder değişikliklerin meydana gelmesinde de etkilidir. Proteoliz üzerine peynir mayası (kimozi, pepsin), sütün doğal proteazları (plazmin, katepsin D ve diğer hücre proteinazları), starter olarak kullanılan laktik asit bakterileri (SLAB), starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB) olmak üzere başlıca beş faktör sorumludur. Birçok peynir çeşidinde başlangıçta peynir mayası ve sütün alkali proteinazı olan plazmin etkili olup, kazeini büyük (suda çözünmeyen) ve orta büyüklükteki (suda çözünebilir) peptitlere parçalamakta ve bu durum primer proteoliz olarak adlandırılmaktadır.  $\beta$ -kazeinin plazmin,  $\alpha$ -s<sub>1</sub> kazeinin ise kimozi ile parçalanması sonucu oluşan bu peptitler, starter ve starter olmayan bakterilerin ekstraselüler proteinazları ile düşük molekül ağırlıklı peptitlere hidrolize olmakta, bu da sekonder proteoliz olarak tanımlanmaktadır.

Bakteri hücreleri parçalandıktan sonra serbest hale geçen intraselüler peptidazlar ise oluşan peptitleri serbest amino asitlere parçalarlar (Fox *et al.* 1996). Genellikle Kaşar peyniri gibi pıhtısı yüksek sıcaklıklarda işlem gören peynirlerde peynir mayası olarak kullanılan kimozen enziminin inaktif olduğu, proteoliz üzerinde plazmin, SLAB'leri ve NSLAB'lerinden serbest kalan mikrobiyal enzimlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Upadhyay *et al.* 2004).

Olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen birçok peynir çeşidi için en önemli mikroorganizma grubunun LAB'lerinin olduğu kabul edilmektedir. LAB'leri; Gram (+), katalaz (-), spor oluşturmayan, hareketsiz, fakültatif anaerobik bakteriler olup, karbonhidrat metabolizmaları sonucunda başlıca son ürün olarak laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır. LAB'leri *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Propionibacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinslerinden oluşan geniş bir bakteri grubu olarak kabul edilirler (Kavita et al. 2018).

Peynir üretimi ve olgunlaşma sırasındaki etkileri göz önüne alındığında LAB'lerini 2 grup altında toplamak mümkündür. LAB'lerinin bazı türleri hızlı bir şekilde laktozu fermente ederek yüksek konsantrasyonda laktik asit üretirler ve bu bakteriler starter LAB'leri olarak adlandırılırlar. Bu seçilmiş LAB'leri peynir yapımı sırasında süte bilinçli olarak ilave edilirler. *Lactococcus lactis*, *Lc. cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. helveticus* ve bazı *Leuconostoc* spp. türleri öncelikle peynir olmak üzere süt ürünlerinde başlıca starter olarak kullanılan LAB'leridir (Fox *et al.* 2004). Peynir üretiminde laktozun laktik asite dönüşümü SLAB'lerinin temel fonksiyonu olarak kabul edilmekle birlikte, starter bakterilerin fermente olabilen şekerleri tüketip diğer mikrobiyotayı oluşturan bakterilerin çoğalmasını kontrol ettiği, ortamın oksidasyon-redüksiyon potansiyelini düşürdüğü ve ayrıca proteolitik ve lipolitik aktiviteleriyle aroma bileşikleri sentezleyerek lezzet oluşumuna yardımcı oldukları da bilinmektedir.

Peynir üretimi sırasında özellikle de olgunlaşma aşamasında etkili olan LAB'leri ise NSLAB'leri olarak adlandırılmaktadır. Peynirlerden izole edilen NSLAB'lerinin oldukça heterojen bir grup olduğu, çoğunlukla *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. plantarum*, *Lb. pentosus*, *Lb. curvatus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. fermentum*, *Lb. parabuchneri* ve *Lb. brevis* olmak üzere Laktobasil türlerinden oluştuğu bildirilmiştir (Czaran *et al.* 2018). Aynı zamanda *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Enterococcus durans*, *E. faecalis* ve *E. faecium* suşlarının peynirlerden sıklıkla izole edilen türler arasında yer aldığı belirtilmiştir (Settanni and Moschetti 2010; Czaran *et al.* 2018). NSLAB'leri arasında özellikle mezofilik Laktobasillerin teknolojik önem arzettiği; *Lb. casei*, *Lb. paracasei* ve *Lb. rhamnosus*'a ait suşların 16S rRNA gen dizilimlerinin yüksek oranda benzerlik gösterdiği, bu üç türün yaygın olarak *Lb. casei* grubu olarak adlandırıldığı bildirilmiştir (Gobbetti and Minervini 2014). Süt ve ürünlerinde *Lb. casei*-grubu Laktobasillerin doğal olarak starter olmayan LAB'lerinin bir parçası olarak bulunabildiği ya da teknolojik veya probiyotik amaçlar için bilinçli olarak eklenebileceği bildirilmiştir (Di Lena *et al.* 2015).

Peynir çeşidine, üretim teknolojisine ve çevresel faktörlere bağlı olarak NSLAB'lerinin farklı tür ve suşlarının peynir olgunlaşma sırasında baskın olabileceği ve özellikle fakültatif heterofermentatif Laktobasillerin (*Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. plantarum*) birçok peynir çeşidinin mikroflorasının önemli bir bölümünü oluşturduğu bildirilmiştir (Crow *et al.* 2001; Di Cagno *et al.* 2012). Kaşar peynirinde LAB'lerinin izolasyonu ve tanısı ile ilgili yapılan çalışmalarda da, izole edilen starter olmayan Laktobasillerin *Lb. plantarum*, *Lb. curvatus*, *Lb. fermentum* bakterilerine ait suşlardan oluştuğu belirlenmiştir (Turhan 2012). Aydemir *et al.* (2015) Kaşar peyniri örneklerindeki NSLAB'leri içerisinde Laktobasillerin (*Lb. casei* %41,6; *Lb. plantarum* %13,0) dominant mikroflorayı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Yine Kaşar peynirinin ön olgunlaştırma aşamasında izole edilen NSLAB'lerinin önemli bölümünün *Lb. paracasei* suşlarından oluştuğu bildirilmiştir (Yuvasen *et al.* 2018). Benzer şekilde; pasta filata tip peynirlerden izole edilen Laktobasil türlerinin çoğunluğunun *Lb. paracasei* ve *Lb. helveticus* suşlarından oluştuğu tespit edilmiştir (Piraino *et al.* 2008).

NSLAB'lerinin pastörizasyon sonrası peynire bulaşabildiği gibi çiğ sütün mikrobiyotasının da bir bölümünü oluşturdıkları, pastörizasyon sonrasında canlı kalabildikleri bilinmektedir (De Angelis *et al.* 2004). Olgunlaşma sırasında düşük nem, pH (4,9-5,3), sıcaklık ve besin maddelerinde eksilme ile yüksek tuz konsantrasyonu gibi olumsuz çevre faktörleri starter olarak kullanılan bakterilerin sayısının azalmasına neden olmaktadır. Başlangıçta yüksek sayıda ( $10^8$ - $10^9$  kob/g) bulunan SLAB'leri olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte düzenli olarak azalmakta, buna karşılık NSLAB'lerinin özellikle de Laktobasil türlerinin sayısı artmaya başlamaktadır (Franciosi *et al.* 2008; Settani and Moschetti 2010). Peynirde ikincil mikroflorayı oluşturan NSLAB'leri sayılarının olgunlaşmanın başlangıcında genellikle  $10^1$ - $10^2$  kob/g seviyelerinde olduğu, olgunlaşma süresi boyunca artarak olgun peynirlerde dominant mikroflorayı oluşturduğu bildirilmiştir (Hynes *et al.* 2001; Di Cagno *et al.* 2003; Milesi *et al.* 2008; Randazzo *et al.* 2008). Genel olarak NSLAB'lerinin peynir yapım aşamaları sırasında asit üretimine katkıda bulunmadıkları, ancak peynir olgunlaşma sürecini etkileyerek son ürünün duysal özelliklerinin oluşmasında önemli katkılarının olduğu ifade edilmiştir (Levante *et al.* 2017).

Peynirde düşük konsantrasyonda bulunan laktoz SLAB'leri tarafından kullanılmakta, NSLAB'leri ise enerji kaynağı olarak kazeinden sağlanan glikomakropeptitleri ve yağ globül membranındaki glikoproteinleri kullanmaktadırlar. Ayrıca starter olarak kullanılan bakterilerin otolizi sonucu peynir matriksine bırakılan hücre duvarı parçaları (N-asetilglukozamin ve N-asetil muramik asit içeren peptidoglikanlar) ile riboz ve deoksiriboz içeren nükleik asitleri de enerji kaynağı olarak kullanabildikleri düşünülmektedir (Budinich *et al.* 2011). Tipik bir starter bakteriye ait hücre kompozisyonunun toplam kuru ağırlık üzerinden yaklaşık olarak %45 protein, %12-15 polisakkarit, %10 teyikoik asit, %6-8 RNA, %7 inorganik iyonlar, %5,5 amino şekerler, %4-4,3 lipit ve %3-3,3 DNA içerdiği bildirilmiştir (Czaran *et al.* 2018).

Çiğ süt peynirlerinin daha yoğun ve daha güçlü aromaya sahip olmasında NSLAB'lerinin önemli rol oynadığı bilinmekle birlikte; peynir olgunlaşması sırasında NSLAB'lerinin varlığı çoğu zaman peynir üreticileri tarafından kontrol edilememekte

ve doğal olarak son ürünün karakteristik özelliklerinde dalgalanmalar görülmektedir (Franciosi *et al.* 2008). Olgunlaştırılmış peynirlerin karakteristik aromasının son derece değişken olduğu ve bu durumun büyük ölçüde starter olarak eklenmiş kültürler ile doğal mikroflorada yer alan mikroorganizmalardan büyük ölçüde etkilendiği bildirilmiştir (Guarrasi *et al.* 2017). Yapılan araştırmalarda, aynı fabrikada farklı günlerde üretilen peynirler arasında, hatta aynı günde farklı kazanlarda üretilen peynirler arasında bile kalite farklılıkları olduğu belirtilmiştir (Settani and Moschetti 2010). Briggiler-Marco *et al.* (2007), NSLAB'lerini içermeyen bir peynir yapmanın mümkün olmadığını, laboratuvar koşullarında aseptik şartlarda üretilen peynirlerde bile NSLAB'lerinin gelişiminin tamamıyla kontrol edilemeyeceğini bildirmişlerdir. Son yıllarda peynir üzerine yapılan araştırmalar, standart ve kaliteli peynir üretiminin sürekliliğinin sağlanmasına yönelmiş ve bu amaçla peynirin olgunlaşması sırasında NSLAB'lerinin kontrolünün büyük önem taşıdığı vurgulanmıştır (Budinich *et al.* 2011). NSLAB'lerinin kontrol altına alınması amacıyla düşük sıcaklıkta olgunlaştırma başarılı bir yaklaşım olarak görülmüşse de, olgunlaşma sırasında biyokimyasal reaksiyonların yavaşlamasına ve dolayısıyla olgunlaşma süresinin uzamasına neden olduğu bildirilmiştir (Milesi *et al.* 2008). Bu nedenle, olgunlaşma sırasında mikrobiyal çeşitliliği/değişkenliği minimuma indirebilmek ve son üründe arzu edilen organoleptik özellikleri sağlayabilmek için seçilmiş NSLAB'lerinin peynir sütüne ilavesinin son derece önemli olduğu bildirilmiştir (Peralta *et al.* 2017). Bu düşünceden hareketle birçok araştırmacı NSLAB'lerini tek başlarına ya da SLAB'leri ile birlikte peynir üretiminde lezzet geliştirici olarak kullanmışlardır (Madkor *et al.* 2000a; Tungjaroenchai *et al.* 2004; Poveda *et al.* 2004; Awad *et al.* 2007; Guidone *et al.* 2015; O'Brien *et al.* 2017; McCarthy *et al.* 2017; Baptista *et al.* 2018). Starter olmayan Laktobasil suşlarının uygun bir yardımcı kültür olarak kabul edilebilmesi için olgunlaşma sırasında yüksek hücre yoğunluğuna ulaşması, olgunlaşma süresince gerçekleşen reaksiyonlarda denge sağlaması, kalite kusurlarına neden olmaması, peynirin genel kalitesi ve aroma oluşumunu olumlu yönde etkilemesi gibi kriterlere sahip olması gerektiği bildirilmiştir (Crow *et al.* 2001; Briggiler-Marco *et al.* 2007). Aynı zamanda yardımcı kültür olarak kullanılacak olan NSLAB'lerinin seçiminde suşların proteolitik, peptidolitik, lipolitik ve otolitik özelliklerinin de dikkate alınması gerektiği belirtilmiştir (Nieto-Arribas *et al.* 2009). NSLAB'lerinin yardımcı kültür olarak kullanımının olgunlaşma süresinin kısalmasına,

dolayısıyla ekonomik kayıpların azalmasına katkıda bulunduğu, aynı zamanda peynirin kimyasal, duysal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerinde olumlu sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Sato *et al.* 2012; Piras *et al.* 2013).

Son zamanlarda peynir endüstrisinde ürün çeşitliliğinin artırılmasına yönelik artan bir ilginin olduğu, bu nedenle yeni ve/veya duysal özellikleri geliştirilmiş peynir üretimini sağlamada uygulanabilecek stratejilerden birinin de güçlü lezzet oluşturma yeteneğine sahip bakteri suşlarının yardımcı/destek kültür (adjunct) olarak kullanımı olduğu bildirilmiştir (Hoorde *et al.* 2010). Yardımcı/destek kültür; çoğunlukla Laktobasil türlerinden oluşan, peynirde lezzet oluşumunu hızlandırmak ve/veya artırmak amacıyla starter bakterilere ilave olarak kullanılan ve genellikle ilgili peynirin starter olmayan mikroflorasında da bulunabilen mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır (Madkor *et al.* 2000a; Gürsoy ve Kınık 2005). Peynir üretiminde yardımcı kültür seçiminde LAB'lerinin enzim profilleri ve peynir matriksi içinde otoliz olma oranları olmak üzere 2 temel faktör dikkate alınmaktadır. Yardımcı kültürler peynir üretiminde kullanılacak süte ya canlı kültür halinde ya da zayıflatılmış (attenuated) kültür halinde ilave edilmektedirler. Canlı kültür kullanımı durumunda bakteriyel kökenli metabolitler peynirin tat ve aromasında etkili olurken, zayıflatılmış kültür kullanımında ise peynir matriksi içerisinde serbest hale geçen enzimler arzu edilen modifikasyonları gerçekleştirmektedir (Özer ve Hayaloğlu 2011).

Peynir olgunlaşması sırasında NSLAB'lerinin kontrolü için, seçilmiş suşların yardımcı kültür olarak kullanımı pratik bir yaklaşım olarak görülmekle birlikte, son yıllarda bu işlemin yüksek bakteri sayısı nedeniyle üretim sırasında aşırı asitlik oluşumuna, dolayısıyla duysal ve tekstürel özellikler üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceği ifade edilmiştir (Di Cagno *et al.* 2012). Peynirde lezzet oluşumunu artırmak ve olgunlaşmayı hızlandırmak ya da modifiye edebilmek amacıyla uygulanabilecek en etkili yöntemlerden birinin, peynir matriksinde mikrobiyal kaynaklı enzim içeriğini artırmak olduğu bildirilmiştir (Klein and Lortal 1999; Upadhyay *et al.* 2007). Bu amaçla peynir üretimi sırasında asit üretme yeteneği olmayan, fakat içerdiği aktif enzimler sayesinde lezzet oluşumuna katkıda bulunan bakteri kültürleri üretilmeye başlanmış ve

bunlar zayıflatılmış kültürler olarak adlandırılmıştır. Zayıflatılmış kültürler peynirin olgunlaşması sırasında otolize uğrayarak içerdikleri intraselüler enzimleri peynir matriksine bırakarak lezzet oluşumuna katkıda bulunurlar.

Söz konusu kültürlerin üretiminde kullanılan yöntemlerin fiziksel ve kimyasal yöntemler olmak üzere iki gruba ayrıldığı, ısı uygulaması, dondurma-çözme, dondurarak kurutma, yüksek basınç uygulaması ve mikrofludizasyon tekniklerinin fiziksel uygulamalar arasında yer aldığı bildirilmiştir. Kimyasal yöntemlerde ise bakteri hücrelerinin hekzadesiltrimetilamonyum bromid, etilendiamintetra asetik asit (EDTA), lizozim, isopropil alkol, sodyum dodesil sülfat (SDS), n-butanol gibi maddelerle muamele edilerek zayıflatıldığı ifade edilmiştir (Yarlagadda *et al.* 2014). Özellikle ısı uygulaması, dondurma-çözme, dondurarak kurutma, çözücü kullanımı ile yüksek basınç uygulamasının zayıflatılmış kültür üretiminde sıklıkla kullanılan metotlar arasında yer aldığı görülmektedir (Jonhson *et al.* 1995; Kebary *et al.* 1997; Gursel *et al.* 2003; Upadhyay *et al.* 2007; Gürsoy 2009; Giannoglou *et al.* 2016). Mevcut yöntemlerin bazı avantaj ve dezavantajlarının bulunduğu, özellikle EDTA gibi çelatlayıcı kimyasal ajanların etkisinin suşa spesifik olduğu, SDS'nin daha çok Gram (-) negatif bakteriler üzerinde etkili olduğu ve enzimler başta olmak üzere bazı proteinlerin denatürasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Yarlagadda *et al.* 2014). Benzer şekilde; n-butanol kullanımının Laktokok hücrelerinin permeabilizasyonunu artırdığı, ancak enzimlerin geri dönüşümsüz inaktivasyonuna sebebiyet verdiği belirtilmiştir (Exterkate 2006). Geciova *et al.* (2002), bakteri ve maya hücrelerinin zayıflatılması amacıyla yüksek basınçlı homojenizasyon işleminin kullanılabileceğini, ancak bu yöntemde harici soğutma ekipmanına ihtiyaç duyulmasının önemli dezavantaj olduğunu bildirmişlerdir.

Bu durum bilimsel gelişmelere de paralel olarak araştırmacıların yeni arayışlara yönelmesine ve bakteri hücrelerinin zayıflatılmasında yeni ve etkili yöntemlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Son araştırmalarda, bakterilerin zayıflatılmasında mevcut yöntemlere alternatif olarak, uygulanmasının basit, hızlı ve tekrarlanabilir olması ve intraselüler enzimlerin aktivitelerini değiştirmemesi nedeniyle sonikasyon işleminin de uygulanabileceği bildirilmiştir (Di Cagno *et al.* 2011; Di Cagno *et al.*

2012). Sonikasyon, saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştiren insan kulağının işitme sınırını aşan ses dalgaları ile enerji meydana getirilmesi olarak ifade edilmektedir. Ultrasonik ses dalgaları 20 kHz ve daha yüksek frekansa sahip basınç dalgaları olarak tanımlanmakta, ultrasonik ses dalgası ekipmanlarında 20 kHz ile 10 MHz arasındaki frekanslara sahip ses dalgaları kullanılmaktadır. Uygulanan ses dalgasının büyüklüğü ve kullanılan frekansa bağlı olarak çok çeşitli uygulamalara imkan veren fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal etkiler gerçekleştirebilmektedir. Ses dalgalarının gıda sanayinde, mikroorganizmaların inhibisyonunda, enzimlerin inaktivasyonunda, enzimler ve proteinlerin ekstraksiyonunda, oksidasyon/redüksiyon reaksiyonlarının indüklenmesinde, emülsiyon, kristalizasyon, atomizasyon, temizleme, kurutma, filtrasyon, köpük ve gaz giderme gibi işlemlerde kullanılabildiği bildirilmiştir (Ulusoy ve Karakaya 2011; Charoux *et al.* 2017).

Ultrasonik ses dalgalarının uygulanması sırasında başlıca aktif etki, sıvı içinde kavitasyon kabarcığının üretimi ve ardından çökmesi yoluyla sıvılarda mekanik, kimyasal ve biyokimyasal etkiler yaratması esasına dayanmaktadır (Paniwnyk 2017). Sonikasyon işlemi ile kavitasyon oluşumu sağlanmakta ve gaz kabarcıkları da bu ortamda meydana gelmektedir. Bu ultrason enerjisi gaz kabarcıklarındaki buharı etkin bir şekilde tutamadığı için gaz kabarcığı patlamakta ve böylece ortam yoğunlaşmaktadır. Yoğunlaşan ortamda ani olarak sıcaklık yükselmesi ve basınç bölgesi oluşmakta, bu ortamda bulunan mikroorganizmaların hücre duvarları zarar görmektedir (Sayın ve Tamer 2014). Sonikasyon uygulamasının mikroorganizmalar üzerindeki inaktivasyon mekanizmasının hücre membranlarının incilmesi, bölgesel sıcaklık artışı ve serbest radikal oluşumu ile ilgili olduğu bildirilmiştir (Chemat *et al.* 2011; Mamvura *et al.* 2018). Akustik kavitasyonun neden olduğu basıncın hücrenin fonksiyonel bileşenlerini ve yapısını yıkıp, hücrenin lize olmasına neden olduğu belirtilmiştir (Sayın ve Tamer 2014). Kritik işleme faktörlerinin ultrasonik dalgaların doğasına, mikroorganizmalarla maruz kalma süresine, mikroorganizmaların türüne, işlenen gıdaların hacmine, bileşimine ve sıcaklığa bağlı olarak değişebildiği bildirilmiştir (Chemat *et al.* 2011). Bununla birlikte; sonikasyon işleminin ortamda bulunan tüm mikroorganizmaları inhibe etmek için tek başına yeterli olmadığı, ısı ve

basınç uygulamaları ile birleştğinde etkisinin daha da arttığı belirtilmiştir. Bu uygulamaların termosonikasyon (ısıl işlemle kombine edilmiş ses dalgası), monosonikasyon (yüksek basınç ile kombine edilmiş ses dalgası) ve monotermosonikasyon (hem ısıl işlem hem de yüksek basınç ile kombine edilmiş ses dalgası işlemi) olarak isimlendirildiği ifade edilmiştir (Yüksel 2013).

Ultrasonun tek başına enzim aktivitesi üzerinde etkili olmadığı ve akustik kaviteasyonun enzimi fiziksel ve kimyasal açıdan etkilediği bildirilmiştir (Sayın ve Tamer 2014). Ultrasonun enzimler üzerine etkisinin makromolekülleri depolimerize etmesiyle alakalı olduğu, kullanılan enzime ve işlem parametrelerine göre değiştiği belirtilmiştir (Sayın ve Tamer 2014).

Kaşar peyniri gibi yarı sert ve sert peynirlerin karakteristik özelliklerini kazanması uzun bir süre gerektirmekte, işletme giderlerinin önemli bölümünü olgunlaştırma masrafları oluşturmakta ve olgunlaştırma süresinin uzamasına bağlı olarak peynir fiyatları da yükselmektedir. Aynı zamanda peynir üreticileri ürünü daha kısa sürede kazanca dönüştürmek istemekte ve bu durum olgunlaşma süresini tamamlamamış peynirlerin satışına neden olmaktadır. Çoğu zaman tüketicinin aldığı Kaşar peynirinin kalitesi şansa bağlı kalmakta ve sürekli standart kalitede peynirin temini güçleşmektedir. Bu nedenlerle, peynirin aroma ve tekstürünü olumsuz yönde etkilemeksizin peynirin hızlı olgunlaştırılmasına yönelik yeni uygulamaların geliştirilmesi hem peynir üreticisi hem de tüketici açısından büyük önem taşımaktadır.

Son yıllarda olgunlaşma süresini kısaltmaya yönelik bilimsel ve teknolojik çalışmalar hız kazanmaya başlamıştır. Olgunlaşma sıcaklığının yükseltilmesi, dışarıdan proteolitik ve lipolitik enzimlerin ilavesi, yardımcı ve zayıflatılmış kültürlerin kullanımı, genetiği modifiye edilmiş bakterilerin kullanımı olgunlaştırmayı hızlandırmak amacıyla uygulanan teknolojik işlemler arasında yer almaktadır (Özer ve Hayaloğlu 2011). Bugüne kadar Kaşar peynirinin hızlı olgunlaştırılmasına yönelik çok sayıda çalışma yapılmış ve bu çalışmaların çoğu süte proteolitik ve lipolitik enzimlerin ilavesine odaklanmıştır (Koçak vd 1996; Çağlar ve Çakmakçı 1998; Akin *et al.* 2012). Enzim

ilavesinin peynirde olgunlaşmayı hızlandırdığı, ancak acılaşma gibi istenmeyen tat-aroma ile tekstürel değişikliklerin oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir.

Peynirde olgunlaştırmanın hızlandırılmasına yönelik bugüne kadar yapılan enzimle ilgili çalışmaların iki yaklaşım üzerinde odaklandığı, ilkinin peynirde var olan enzimatik aktivitenin artırılmasına yönelik indirekt uygulama olduğu, ikincisinin ise enzim miktarını ya da enzimin salınımını arttıracak seçilmiş LAB'lerinin, starter suşların ya da ekzojen enzimler gibi mikrobiyal/enzim teknolojisinin kullanılabileceği olduğu bildirilmiştir (Calasso *et al.* 2017). Aynı zamanda peynirin karakteristik tat, aroma ve tekstürünün çeşitli enzimlerin etkileşimi ile oluştuğu, bu nedenle olgunlaşmayı hızlandırmak için tek bir enzimin kullanılmasının, aroma oluşumunda etkili olan bileşiklerin dengesini bozacağı ve lezzet kusurlarına neden olabileceği ifade edilmiştir (Wilkinson and Kilcawley 2005). Son yıllarda peynirin hızlı olgunlaştırmasına yönelik eğilimler maya-küflerin yanı sıra Gram pozitif ve negatif bakterileri de içeren çiğ süt mikrobiyotası üzerine odaklanmış, söz konusu mikroorganizma gruplarının da potansiyel enzim kaynağı olarak kullanılabileceği hipotezi üzerinde durulmaya başlanmıştır (Calasso *et al.* 2015).

Kaşar peyniri gibi uzun süre olgunlaştırılan peynirlerde lezzet tüketici tercihini etkileyen ana faktörlerden biridir. Peynirde lezzet, kısmen süt hayvanının beslenmesinden ve türünden, büyük ölçüde ise peynir mikrobiyotasında yer alan bakteriler ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir. Karakteristik peynir lezzeti peynir üretimi ve depolama sırasında protein, süt yağı, laktoz ve sitrat gibi süt bileşenlerinin enzimatik, kimyasal ve mikrobiyolojik yolla parçalanması ve/veya transformasyonu sonucu oluşan uçucu ve uçucu olmayan bileşiklerin varlığından kaynaklanmaktadır (Fox and Wallace 1997; Avşar vd 2011). Proteoliz peynirde lezzet oluşumunda etkili en önemli biyokimyasal reaksiyon olarak kabul edilmektedir. LAB'leri besinsel olarak çok seçici olup, gelişebilmeleri için çok sayıda amino asidin varlığına ihtiyaç duyarlar. Süt amino asit içeriği bakımından yeterli bir kaynak olmadığından, LAB'leri kompleks proteolitik sistemleri sayesinde kazeini hidrolize ederek ihtiyaç duydukları amino asitleri sağlarlar. Her ne kadar LAB'lerinin proteolitik enzim sistemlerinin biyolojik

rolü kendi gelişimleri için ihtiyaç duydukları amino asitlerin temini ile ilgili olsa da, bu enzimlerin aktiviteleri peynirin duyusal ve fonksiyonel özelliklerinin oluşumunda büyük öneme sahiptir. Proteolizin son ürünü olarak oluşan amino asitlerin çeşitli katabolik reaksiyonlarla uçucu lezzet bileşiklerine dönüştüğü ve böylece peynir aromasının oluşmasında oldukça önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (Settani and Moschetti 2010). Başka bir deyişle amino asitler çeşitli alkoller, aldehitler, esterler ve sülfür bileşikleri gibi lezzet bileşenleri için öncül maddeler olarak kabul edilmektedirler.

LAB'lerinin proteolitik sistemlerinin; kazeinin oligopeptitlere hidrolizini katalizleyen hücre duvarına bağlı proteinazlardan, peptitlerin hücre içine alınımı sağlayan peptit taşıyıcılarından ve peptitleri amino asitlere parçalayan hücre içi pepdidazlarından oluştuğu bilinmektedir. Hücre duvarına bağlı proteinazlar süt proteinlerini 5-30 amino asit ünitesine kadar parçalamakta, bu peptitler hücre içine taşınmakta ve endopeptidazlar tarafından daha kısa peptit ve amino asitlere hidrolize edilmektedir (Liu *et al.* 2017). LAB'lerinin proteolitik sistemleri ile ilgili olarak yapılan çalışmalar daha çok Laktokoklarla ilgili olup, son yıllarda endüstriyel olarak önemli Laktobasil türlerinin proteolitik sistemleri konusundaki çalışmalar da artmıştır. Bu çalışmalarda Laktobasillerin proteolitik aktivitelerinin tür ve suşa bağlı olmak üzere, diğer LAB'lerinden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Liu *et al.* 2010). Yapılan çalışmalarda Laktobasil türlerinin çok sayıda ve çeşitte proteinaz ile dipeptidaz, tripeptidaz ve endopeptidaz aktivitesine sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca genel aminopeptidaz (Pep N, PepC, PepG), oligopeptidaz (PepE, PepG), X prolyldipeptidil aminopeptidaz (PepX), prolin iminopeptidaz (PepI) ve prolinaz (PepR) genlerine de sahip oldukları belirlenmiştir (Hannon *et al.* 2003; Liu *et al.* 2010; Broadbent *et al.* 2011). Yapılan deneysel çalışmalarda genel aminopeptidaz enzimi olarak bilinen PepN'nin çok sayıda kromojenik substrata karşı yüksek aktivite gösterdiği, buna karşılık prolin amino asidi içeren substratlara karşı aktivite göstermediği belirlenmiştir. Kazeinin yüksek oranda prolin amino asidi içerdiği ve bu nedenle peynirin olgunlaşması sırasında kazeinin amino asitlere hidrolizinde PepX ve PepI enzimlerinin önemli etkisinin olduğu belirlenmiştir (Anastasiou *et al.* 2007; Jensen and Ardö 2010). Özellikle sert ve yarı sert peynirlerde sıklıkla bulunan *Lb. helveticus* ve *Lb. paracasei*'nin bazı suşlarında spesifik

aminotransferaz ve aminopeptidaz enzim sistemlerinin bulunduğu, bu enzim sistemlerinin acı tat oluşumunu engellediği ve aroma oluşumunu hızlandırdığı bildirilmiştir. Amino asit üretimi ve peynir aromasının oluşumundan sorumlu olan hücre içi enzimlerin hücreler ölene veya lize olana kadar peynirde etkisiz kaldığı, bu enzimlerin hücre liziziyle açığa çıkmasıyla proteoliz, amino asit dönüşümü ve diğer aroma oluşturuvcu reaksiyonların gerçekleştiği bildirilmiştir (Exterkate 2006).

Son yıllarda NSLAB'lerinin çeşitli peynirlerin üretiminde yardımcı ya da zayıflatılmış kültür olarak kullanımı ile ilgili çok sayıda araştırmaya rastlamak mümkündür. Ancak Kaşar peyniri gibi pıhtısı haşlanan peynirlerde bu bakterilerin kullanımı ile ilgili sınırlı sayıda araştırmaya rastlanılmıştır. Bu tip peynirlerde sıcak su içerisinde pıhtının şekillendirilmesi, ilave edilen yardımcı ya da zayıflatılmış bakterilerin performansını etkileyebilecek teknolojik bir parametre kabul edilmekte ve bu nedenle önem arz etmektedir. Yardımcı kültür olarak ilave edilen NSLAB'lerinin peynir kalitesi üzerindeki etkisinin her peynir çeşidinde aynı olmadığı ve kullanılan bakteri ile peynir üretiminde uygulanan teknolojiye göre değişiklik gösterebildiği bilinmektedir. Ülkemizde konu ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda (Tuncturk and Coskun 2007; Gürsoy 2009) zayıflatılmış kültürlerin Kaşar peynirinin olgunlaşması üzerindeki etkileri temel parametreler (genel bileşim, suda çözünür azot fraksiyonları, elektroforez) düzeyinde araştırılmış, detaylı çalışmalara rastlanmamıştır. Oysa yardımcı kültürlerin canlı olarak ya da zayıflatılmış olarak ilavesinin Kaşar peynirinin bileşimini, mikrobiyolojisini, biyokimyasal özelliklerini, aromasını ve duyuşal özelliklerini, dolayısıyla olgunlaşma seyrini nasıl etkileyeceğine yönelik çok daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bu çalışmada, birçok peynir çeşidinde starter olmayan Laktobasil türleri arasında sıklıkla yer almaları ve sahip oldukları proteolitik enzim çeşitliliği nedeniyle *Lb. helveticus* ve *Lb. paracasei* bakterilerine ait suşların, birlikte canlı/zayıflatılmış yardımcı kültür olarak Kaşar peyniri üretiminde kullanılması ve böylece olgunlaştırma süresinin kısaltılması, seçilmiş suşların kullanımıyla NSLAB'lerinin kontrol altına alınması ve lezzet bakımından daha zengin Kaşar peynirinin üretiminin sağlanması

amaçlanmıştır. Primer starter kültüre (*S. thermophilus* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ilaveten yardımcı kültür kullanılarak üretilen peynirlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik, duyuşsal özellikleri ile proteoliz düzeyleri ve uçucu bileşiklerin profili geleneksel yöntemle (kontrol) ve sadece primer starter kültürle üretilen Kaşar peynirleriyle 180 günlük olgunlaştırma periyodu boyunca karşılaştırılmıştır. Böylece söz konusu suşların canlı ya da zayıflatılmış yardımcı kültür olarak kullanımının Kaşar peynirinin kalite özellikleri, olgunlaşma düzeyi ile aroma oluşumu üzerindeki etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Kaşar peynirinin ülkemizde ekonomik değeri olan ikinci önemli peynir çeşidi olması nedeniyle kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin belirlendiğı çok sayıda çalışmaya rastlamak mümkündür. Ancak, Kaşar peynirinin üretiminde canlı veya zayıflatılmış olarak yardımcı kültür kullanımı ile ilgili az sayıda araştırmaya rastlanılmıştır. Konu ile ilgili Kaşar peyniri başta olmak üzere diğer benzer peynirler üzerinde yapılmış araştırmaların sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

Tuncurk and Coskun (2007), düşük basınçta homojenize edilerek zayıflatılmış LAB'lerinin (*Lc. lactis*, *Lc. cremoris*, *Lb. bulgaricus*, *S. thermophilus* ve *Lb. helveticus*) olgunlaşma süresince Kaşar peynirinde proteoliz üzerine etkisini incelemişler ve peynir örnekleri arasında kimyasal bileşim bakımından farklılığın bulunmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, homojenize edilmiş kültür ilavesinin çözünen azot fraksiyonlarının miktarını artırdığını, özellikle olgunlaşmanın 90. gününde  $\alpha$ -s<sub>1</sub> ve  $\beta$ -kazein parçalanmasının homojenize edilmemiş kültür içeren örneklerle nazaran daha yüksek düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Gürsoy (2009), olgunlaşmayı hızlandırmak, tat ve yapıyı iyileştirmek amacıyla az yağlı (%11) Kaşar peyniri üretiminde dondurularak zayıflatılmış *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* suşlarını kullanmış, bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini 90 gün süreyle tam yağlı (%28) Kaşar peyniri örnekleriyle karşılaştırmıştır. Araştırmacı, zayıflatılmış kültür kullanımının az yağlı peynirin genel bileşimini değıştirmedeğini, serbest yağ asidi oluşumunu önemli düzeyde etkilemediğini, buna karşılık duyuşsal niteliklerini iyileştirdiğini bildirmiştir. Aynı zamanda suda çözünen azot, triklorasetik asit (TCA)'da çözünen azot, fosfotungustik (PTA)'da çözünen azot miktarlarının *Lb. helveticus* içeren örneklerde daha belirgin olmak üzere artış gösterdiğini ve olgunlaşma süresini kısalttığını belirtmiştir.

Akin *et al.* (2012), emülsiyon ve ekstrüzyon tekniklerini kullanarak karragenan, gellan, sodyum alginat ile enkapsüle ettikleri proteaz ve lipaz enzimlerinin Kaşar peynirinin olgunlaşması ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlar, söz konusu hidrokolloidlerin proteaz ve lipaz enzimleri için taşıyıcı sistemler olarak başarıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda özellikle karragenan ile kapsüle edilmiş enzimlerin kullanıldığı Kaşar peyniri örneklerinde hem proteoliz hem de lipolizin daha yüksek oranda gerçekleştiğini ifade etmişlerdir.

Celik *et al.* (2018), Kaşar peyniri üretiminde haşlama işleminin starter bakterilerin canlılığı üzerindeki negatif etkisini ortadan kaldırmak ve olgunlaşma süresini kısaltmak amacıyla haşlama işlemini takiben ürettikleri peynirleri 3 farklı ticari starter (Choozit™ MA 11, BT 0 ve Feta A) kültür solüsyonlarına daldırmışlar ve söz konusu uygulamaların bileşim, duyu özellikleri ile proteoliz üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, en yüksek asitlik gelişimini MA 11 (*Lc. lactis* subsp. *lactis*: *Lc. lactis* subsp. *cremoris*) kültürü ile üretilen peynirlerde, en yüksek çözünür azot fraksiyonları ile duyu özellikleri ise BT 0 (*Lc. lactis* subsp. *lactis*: *Lc. lactis* subsp. *cremoris*: *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*) kültürü ile üretilen peynirlerde belirlemişlerdir. Sonuç olarak daldırma tekniğinin pıhtısı haşlanan peynirlerde potansiyel bir uygulama olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Di Cagno *et al.* (2012), İtalya’da üretilen pıhtısı yüksek sıcaklıkta işlem gören Caciocavallo peynirinden izole edilen NSLAB’lerini (*Lb. plantarum* CC3M8, *Lb. paracasei* CC3M35, *Lb. casei* LC01) aynı peynirin üretiminde canlı ve zayıflatılmış kültür olarak kullanmışlar ve mikrobiyolojik, biyokimyasal ve duyu özelliklerini 60 günlük olgunlaşma süresince kontrol örnekleriyle karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, DNA-PCR yöntemi ve bakteri sayımları sonucunda ilave edilen tüm bakterilerin olgunlaşma süresince canlılıklarını koruduklarını, bakterilerin canlı olarak ilavesinin peynirin pH’sında ve kimyasal kompozisyonunda değişikliğe neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış kültür ilavesi ile yapılan peynirlerde hem enzim aktivitesinin, hem de serbest amino asitlerin konsantrasyonunun diğer örneklere nazaran daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, yapılan

duyusal değerlendirmede zayıflatılmış kültür ilave edilen örneklerin kontrol örnekleriyle benzer puanlar aldığını, sonuç olarak özellikle zayıflatılmış kültürlerinin Caciocavallo peynirinin olgunlaştırılmasının hızlandırılmasında herhangi bir olumsuzluğa yol açmaksızın başarıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Di Cagno *et al.* (2011), *Lb. paracasei* FC2-5, *Lb. casei* LC01, *Lb. curvatus* 2270 suşlarını canlı ve sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış olarak İtalyan Caciotta peynirinin üretiminde kullanmışlar ve 60 günlük olgunlaşma süresince bileşim, mikrobiyolojik, biyokimyasal özellikler ile uçucu bileşikler bakımından kontrol grubu örnekleriyle karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, canlı olarak ilave edilen suşların peynirde asitlik artışına, dolayısıyla kimyasal bileşim ve tekstürel özelliklerde değişikliğe neden olduğunu bildirmişlerdir. Zayıflatılmış suşların ilavesinin ise serbest amino asit oluşumu ile aroma oluşumunda anahtar rol oynayan ketonlar, sekonder alkoller ve sülfür bileşenlerinin oluşumunu artırdığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak özellikle zayıflatılmış kültür ilavesiyle olgunlaşmanın kontrol altına alınabileceğini ve duyusal açıdan daha kabul edilebilir peynir üretiminin mümkün olabileceğini bildirmişlerdir.

Calasso *et al.* (2015), *Lb. casei* LC01, *Weissella cibaria* 1XF5, *Hafnia alvei* Moller ATCC 51815 ve *Debaryomyces hansenii* LCF558 suşlarından 45d (15dx3) sonikasyon uygulamasıyla elde ettikleri hücresiz ekstraktları koyun sütünden ürettikleri peynir pıhtısına direkt olarak ilave etmişler ve hücresiz ekstraktların peynirin kimyasal kompozisyonu ile mikrobiyolojik özelliklerini etkilemediğini bildirmişlerdir. Buna karşılık, peynir üretiminde hücresiz ekstrakt kullanımının; kazein hidrolizini, pH 4.6'da çözünen azot fraksiyonlarını ve serbest amino asit miktarlarını kontrol grubu peynir örneklerine oranla önemli derecede artırdığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar bazı alkol, keton, sülfür, furan gibi uçucu bileşiklerin konsantrasyonlarının kontrol örneğinde en düşük düzeylerde belirlendiğini ifade etmişlerdir.

Calasso *et al.* (2017), Pecorino tipi peynirinin olgunlaştırılmasını hızlandırmak amacıyla sonikasyon uygulamasıyla *Lb. casei*, *H. alvei*, *D. hansenii* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşlarına ait hücresiz ekstraktları hazırlamışlar ve söz konusu ekstrakt karışımlarının mikrobiyal enzim kaynağı olarak peynirin mikrobiyolojik, biyokimyasal, duyuşsal özellikleri ile aroma oluşumu üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. *Lactobacillus* ve *Lactococcus* sayılarının *Lb. casei*+*H. alvei*+*D. hansenii* (LHD-C) ile *Lb. casei*+*H. alvei*+ *S. cerevisiae* (LHS-C) hücresiz ekstraktlarının kullanıldığı peynirlerde olgunlaşma süresince arttığını, kontrol örneği ile karşılaştırıldığında enzim aktivite değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, hücresiz ekstraktlar ile üretilen peynir örneklerinde serbest amino asit içeriği ile uçucu bileşiklerin konsantrasyonlarının önemli düzeyde yüksek olduğunu, sonuç olarak sonikasyon uygulaması ile standart özelliklere sahip ve daha kısa sürede olgunlaşan koyun peyniri üretmenin mümkün olduğunu belirtmişlerdir.

Yarlagadda *et al.* (2014), mikrofludizasyon (yüksek basıncın uygulandığı mekanik işlem) uygulaması ile zayıflatılmış laktokok suşlarını (*Lc. cremoris*, AM2, SK11, WG2, HMM81 ve *Lc. lactis*, Z8) Gouda peynirinde yardımcı kültür olarak kullanmışlar ve peynirlerin kalite özelliklerini yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduğu bilinen ve aynı teknikle zayıflatılmış *Lb. helveticus* (FLAV54, pozitif kontrol) üretilen ve yardımcı kültür içermeyen (kontrol) peynirleriyle karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, zayıflatılmış kültür ilavesinin HMM81+Z8 suşlarıyla yapılan peynirler dışında, peynir kompozisyonunu değiştirmedığını, 12 haftalık olgunlaştırma sonucunda laktokok suşlarının aroma profilini değiştirdiğini ve değişikliliğin boyutunun suşa bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca *Lb. helveticus* (FLAV54, pozitif kontrol) ile üretilen peynirlerin tüm peynirler içerisinde en yüksek toplam serbest amino asit içeriğine sahip olduğunu, bunu *Lc. lactis* (Z8) suşuyla üretilen peynir örneğinin takip ettiğini, aynı peynirin *Lb. helveticus* ile üretilen peynirlerle benzer duyuşsal özelliklere sahip olduğunu ifade etmişlerdir.

Cavanagh *et al.* (2014), farklı kaynaklardan (ot, mısır ve inek rumeni) izole ettikleri laktokok suşlarının (DPC 6854, DPC 6857, DPC 6858, DPC 6859, DPC 6860, DPC

6855, DPC 6853 ve DPC 6856) teknolojik özelliklerini, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan laktokok suşlarıyla karşılaştırmışlar ve süt orijinli olmayan bu suşlardan 5'ini yardımcı kültür olarak, DPC 6853 suşunu ise zayıflatılmış kültür olarak Gouda peyniri üretiminde kullanmışlardır. Araştırmacılar, Laktokok suşlarıyla üretilen peynirlerin fizikokimyasal, mikrobiyal, biyokimyasal, duyuşsal karakteristiklerini *Lb. helveticus*'un yardımcı kültür olarak kullanıldığı ve yardımcı kültür içermeyen (kontrol) örnekleriyle karşılaştırmışlardır. Süt orijinli olmayan suşların canlılıklarının, lize olma oranlarının ve proteolitik aktivitelerinin suşa bağlı olarak değiştiğini, bazı suşların sekonder proteoliz üzerinde *Lb. helveticus*'e eşdeğer performans gösterdiğini, bununla birlikte bazı suşların ise peynirde istenmeyen aroma ve acılaşma oluşumuna neden olduğunu bildirmişlerdir. İlâveten zayıflatılmış DPC 6853 suşunun olgunlaşma süresince acı tat oluşumunu azalttığını, sonuç olarak süt orijinli olmayan laktokokların yarı sert peynirlerin üretiminde aroma geliştirici/zenginleştirici olarak kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Burns *et al.* (2015), yüksek basınçta homojenizasyon işlemi uygulanmış probiyotik *Lb. paracasei* A13 suşunu Caciotta peynirinin üretiminde yardımcı kültür olarak kullanmışlar, bazı mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri ile aroma profillerini geleneksel yöntemle üretilen peynirler ile 21 günlük olgunlaştırma süresince karşılaştırılmışlardır. Araştırmacılar, depolama süresince yüksek basınçta homojenizasyon uygulanmış *Lb. paracasei* A13'nin canlılığını yüksek oranda devam ettirdiğini, aynı zamanda bu suşla yapılan peynirlerde kontrol örneğine oranla olgunlaşmanın daha hızlı gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Yüksek basınçta homojenizasyon işlemi uygulanmış suş ile üretilen peynirlerin duyuşsal açıdan da daha fazla beğenildiğini, olgunlaşma süresini kısalttığını ve böylece olgunlaşma masraflarının azaltılabileceğini bildirmişlerdir.

Garbowska *et al.* (2016), primer starter kültüre (*Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*) ilâveten düşük sıcaklıkta uzun süreli ısı işlem (65°C'de 10 d ve 30 d) uygulanmış XT-312 yardımcı kültürünü (*Lc. lactis* ssp. *cremoris*, *L. mesenteroides* ssp. *cremoris*, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lc. lactis* ssp. *lactis*, *L. pseudomesenteroides*) yağ oranı azaltılmış

Dutch tip peynirinin üretiminde kullanmışlar ve bazı temel parametreler açısından analiz etmişlerdir. Araştırmacılar, hem 10 hem de 30 d süreyle ısıtıl işlem uygulanmış XT-312 yardımcı kültürleriyle üretilen peynirlerde olgunlaşmanın kontrol örneğine oranla hızlandığını, yardımcı kültürlerle uzun süreli ısıtıl uygulamasının analiz edilen yağ oranı azaltılmış peynirlerin dokusal ve organoleptik özelliklerinin geliştirilmesinde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Mikelsone and Ciprova (2011), zayıflatılmış kültür kullanılarak ürettikleri Holandes peynir (Edam tipi peynir) örneklerini iki farklı sıcaklıkta (6°C ve 12°C) 60 gün süreyle olgunlaştırmış ve olgunlaşma süresince bazı fiziksel, mikrobiyolojik özellikleri ile uçucu aroma bileşenlerini kontrol grubu örnekler ile karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, 2-pentanone, acetoin, 2-octanone, 2-nonanone, 2-undecanone, nonanal, 3-methyl butanal ve benzaldehyde bileşiklerinin zayıflatılmış kültür kullanılarak üretilen peynirlerde daha yüksek olduğunu, dolayısıyla zayıflatılmış kültür kullanımının peynirin aromasını artırdığını, proteolizi hızlandırdığını, zayıflatılmış kültür ilavesine rağmen 6°C'de olgunlaşmanın daha yavaş geliştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca zayıflatılmış kültür kullanımı ile NSLAB'lerinin gelişiminin kontrol altına alındığını ifade etmişlerdir.

Madkor *et al.* (2000a), *Lactococcus* suşlarından oluşan primer startere ilaveten *Lb. helveticus* (I, U, M ve L) ve *Lb. casei* (T ve A) bakterilerine ait dondurularak zayıflatılmış 6 suşu yardımcı kültür olarak yağ oranı azaltılmış Cheddar peynirinin üretiminde kullanmışlardır. Yardımcı kültürler kullanılarak üretilen tüm peynirlerde suda çözünür azot ile toplam serbest amino asit değerlerinin kontrol örneğine oranla daha yüksek düzeyde bulunduğunu, özellikle *Lb. helveticus* I ile üretilen peynirde toplam serbest amino asit değerindeki artışın daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda araştırmacılar, *Lb. helveticus* suşlarının ilavesinin acılık oluşumuna sebebiyet vermeden Cheddar peynirinin lezzet ve tekstürünü artırdığını, buna karşılık düşük peptidolitik aktivitesi ve otoliz olma oranı ile *Lb. casei* suşlarının proteoliz ve aroma yoğunluğu üzerinde daha az etkili olduğunu ifade etmişlerdir.

Madkor *et al.* (2000b), *Lactococcus* suşlarından oluşan starter kültüre ilaveten farklı yöntemlerle (ısı şoklama, dondurarak şoklama ve sprey kurutma) zayıflatıkları *Lb. helveticus* ve *Lb. casei* suşları kullanarak ürettikleri Cheddar peynirinde olgunlaşma süresince üre-PAGE elektroforezi ile suda çözünen azot fraksiyonları açısından kontrol örneği ile yardımcı kültürlerin kullanıldığı çoğu peynir örneği arasında minör farklılıkların bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte özellikle dondurarak şoklama ve ısı uygulamasıyla zayıflatılan *Lb. helveticus* suşlarının peynirlerde toplam serbest amino asit içeriğini artırdığını ve bu peynirlerde lezzet puanlarının da daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Johnson *et al.* (1995), farklı yöntemlerle (sprey kurutma, dondurarak kurutma ve dondurma) zayıflatıkları *Lb. helveticus* CNRZ32 suşunu kullanarak ürettikleri yağ oranı azaltılmış Cheddar peynirlerinin mikrobiyolojik özelliklerini, kimyasal kompozisyonu ile suda çözünür azot fraksiyonlarını 6 aylık olgunlaştırma süresince analiz etmişlerdir. Araştırmacılar, zayıflatılmış yardımcı kültür kullanımının peynir örneklerinin lezzet özelliklerini artırdığını, sprey kurutma ile zayıflatılmış yardımcı kültür ile üretilen peynirlerin en düşük istenmeyen tat kusuruna sahip olduğunu, kimyasal özellikler açısından peynir örnekleri arasında istatistiksel olarak farklılıkların bulunduğunu bildirmişlerdir.

Morea *et al.* (2007), İtalya’da üretilen pıhtısı yüksek sıcaklıklarda haşlanan Caciocavallo peynirinden izole edilmiş *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* ve *Lb. parabuchneri* suşlarını aynı peynirin üretiminde yardımcı kültür olarak kullanmışlar ve peynirin biyokimyasal karakteristikleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, yapılan PCR analizi sonucunda *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* suşunun olgunlaşma süresince canlılığını sürdürebildiğini, *Lb. parabuchneri*’nin ise tespit edilemediğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda her iki bakteriyle üretilen peynirlerin geleneksel yöntemle üretilen peynire oranla daha yüksek oranda toplam ve serbest amino asit içeriğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Guidone *et al.* (2015), Scamorza peynirinin (yarı-sert pasta filata tip peynir) üretiminde iki farklı inek ırkına ait sütü ve *S. thermophilus* ile bu şuşa ilaveten peptidolitik aktiviteye sahip *Lc. lactis*, *Lb. helveticus*, *Lb. paracasei* suşlarını yardımcı kültür olarak kullanmışlar, 30 gün süreyle bazı fizikokimyasal, mikrobiyolojik özellikler ile proteoliz düzeylerini incelemişlerdir. Yardımcı kültür kullanımının asit üretimi ile primer starterlerin gelişimini etkilemediğini, bununla birlikte pH değeri, mikrobiyal grupların sayısı, serbest amino asit konsantrasyonu ve uçucu bileşiklerin miktarı üzerindeki etkisinin önemli olduğunu, süt türünün ise tüm bu kriterler üzerinde çok küçük farklılıklara neden olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, Scamorza peynirinin üretiminde peptidolitik aktiviteye sahip yardımcı kültürlerin kullanılmasının peynirin karakteristik özelliklerini geliştirdiğini ve benzer ürünlerle rakabet edebilme şansını artırabileceğini ifade etmişlerdir.

Azambuja *et al.* (2017), mezofilik aromatik kültür (CHN-22 DVS) ve bu kültüre ilaveten *Lb. helveticus* B02 yardımcı kültürünü kullanarak ürettikleri Prato peynirlerinde yardımcı kültür kullanımının duysal özellikleri geliştirdiğini, söz konusu suşun kazein hidrolizi ve toplam serbest amino asit oluşumu açısından önemli rol oynadığını bildirmişlerdir.

Stefanovic *et al.* (2018), Cheddar peynirinin NSLAB florasının çoğunlukla *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. plantarum* gibi mezofilik Laktobasillerden oluştuğunu ve bu bakterilerin Cheddar peynirinin aromasının zenginleştirilmesi amacıyla yardımcı starter olarak kullanılabilineceğini ifade etmişlerdir. Bu amaçla genomik çeşitliliklerine, proteolitik enzim aktivitelerindeki değişkenliklere ve peynir model sistemlerindeki metabolik kapasitelerine göre seçtikleri 3 farklı *Lb. paracasei* (DPC 2071, DPC 4206, DPC 4536) suşunu yardımcı kültür olarak Cheddar peynirinin üretiminde kullanmışlardır. Araştırmacılar, yardımcı kültür kullanımının peynirin bileşimini ve lipoliz seviyesini etkilemediğini, buna karşılık serbest amino asit konsantrasyonunu 28 günlük olgunlaşma süresi sonunda önemli derecede artırdığını, özellikle aldehitler, asitler, ketonlar ve laktonlar gibi uçucu bileşikler bakımından peynir örnekleri arasında farklılıkların bulunduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak, *Lb.*

*paracasei* suşlarının kısa süreli olgunlaştırılan Cheddar peynirinde aroma bileşiklerinin oluşumunda ve çeşitlendirilmesinde katkıda bulunduğunu ifade etmişlerdir.

Sadat-Mekmene *et al.* (2013), 2 farklı *Lb. helveticus* ITGLH77 (tek bir proteinaz genine sahip, PrtH2) ve *Lb. helveticus* ITGLH1 (2 proteinaz genine sahip, PrtH2 ve PrtH) suşunun Emmental peynirindeki proteolitik aktivitelerini incelemişler ve araştırmacılar ITGLH77 suşu kullanılarak üretilen peynirde yüksek molekül ağırlığına sahip peptit oluşumunun arttığını, proteolizin daha yavaş düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Bu durumun ITGLH77 suşunun tek bir proteinaz genine ve daha az intraselüler peptidaz aktivitesine sahip olmasından kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

Briggiler-Marco *et al.* (2007), çeşitli peynirlerden izole ettikleri NSLAB'lerinin teknolojik özelliklerini (sütü asitlendirme yetenekleri ve proteolitik aktivitelerini) incelemişler, belirledikleri 4 adet NSLAB'sini (*Lb. rhamnosus* 173, *Lb. rhamnosus* 177, *Lb. casei* I90, *Lb. plantarum* I91) yumuşak (Cremoso peyniri) ve yarı sert peynir (Pategras peyniri) üretiminde yardımcı kültür olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar, ilave edilen tüm bakterilerin her iki peynir çeşidinde de yüksek sayılarda canlı kalabildiğini, özellikle *Lb. casei* I90, *Lb. plantarum* I91 suşlarının hem yumuşak hem de yarı sert peynirde bileşimi değiştirmediklerini, duyu özellikleri iyileştirdiklerini ve dolayısıyla yardımcı kültür olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca *Lb. rhamnosus*'un ise yumuşak peynirde asitlik artışına neden olarak peynir kompozisyonunu değiştirdiklerini ve bu nedenle yumuşak peynir (Cremoso peyniri) üretimi için uygun olmadığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak belirlenen suşların peynirdeki proteoliz ve aroma oluşumuna katkısı ile ilgili daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiğini ifade etmişlerdir.

Hoorde *et al.* (2010), çiğ süttten yapılmış Gouda peynirlerinden izole ettikleri 2 adet *Lb. paracasei* (R-40926 ve R-40937) suşunu iki farklı konsantrasyonda ( $10^3$ - $10^5$  kob/g) aynı peynirin üretiminde yardımcı kültür olarak kullanmışlar, her iki suşun da peynir ortamına çok iyi adapte olduğunu ve olgunlaşma süresince canlılıklarını sürdürebildiklerini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, yapılan PCA (principal component

analysis) R-40937 suşu ile üretilen peynirlerde uçucu aroma bileşiklerinin kontrol örneği ile benzer olduğunu, R-40926 suşuyla üretilen peynirlerde ise uçucu bileşiklerin miktar ve çeşitliliğinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak belirlenen suşlarla kontrollü şartlar altında aroma açısından zengin bir Gouda peyniri üretilebileceğini ifade etmişlerdir.

Ciocia *et al.* (2013), peynir ya da süttten izole edilmiş Laktobasillerin peynir üretiminde olgunlaştırmayı hızlandırmak veya peynir kalitesini artırmak amacıyla yaygın olarak kullanıldığını, ancak süt orijinli olmayan Laktobasillerin kullanımıyla ilgili çalışmalara rastlanılmadığını belirtmişlerdir. Bu amaçla süt orijinli olan ve olmayan 10 adet *Lb. plantarum*, *Lb. paraplantarum* ve *Lb. pentosus* bakterilerini minyatür Cheddar peynirin üretiminde yardımcı kültür olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar, tüm suşların peynir ortamında gelişebildiğini ve sekonder proteoliz ile toplam serbest amino asit içeriğini etkilediklerini bildirmişlerdir. Sonraki aşamada proteolitik özellikleri dikkate alınarak 3 bakteri suşu ile fabrika koşullarında Cheddar peyniri üretmişler ve 180 gün süreyle olgunlaştırmışlardır. Araştırmacılar, olgunlaşma süresince *Lb. plantarum*'un sekonder proteolizi artırdığını ve özellikle zeytin salamurasından izole edilen *Lb. plantarum* suşunun peynirin duysal özelliklerini geliştirdiğini ve kontrol örneğine nazaran daha yüksek puanlar aldığını ifade etmişlerdir.

Thage *et al.* (2005), yağ oranı azaltılmış peynir üretiminde aromayı zenginleştirmek amacıyla starter kültüre ilaveten yardımcı kültür olarak farklı aminotransferaz aktivitesine sahip *Lb. paracasei* (CHCC 2115, CHCC 4256, CHCC 5583) suşlarını kullanmışlar ve araştırmacılar kullanılan tüm suşların peynirde canlılıklarını devam ettirdiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca aroma bileşikleri bakımında örnekler arasında farklıklar bulunduğunu ve özellikle CHCC 4256 suşunun dallanmış amino asitlerden üretilen aroma bileşenlerini yoğun miktarda içerdiğini ve özel bir aminotransferaz aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Milesi *et al.* (2011), iki farklı *Lb. helveticus* (SF138 ve SF209) suşu ile üretilmiş Reggianito peynirlerinden (pasta filata tip peynir) olgunlaşmanın 3., 90. ve 180.

günlerine ait sulu peynir ekstraktları elde etmişler ve bu ekstraktlarda iki bakterinin proteolitik aktivitelerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, SF138 suşunun serbest amino asit içeriğini önemli derecede artırdığını, buna karşılık SF209 suşunun daha fazla peptit oluşumuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Sonuç olarak araştırmada kullanılan her iki suşun birbirlerini tamamlayıcı etkiye sahip olduğunu ve bir arada kullanılmaları durumunda olgunlaşma süresince proteolizin dengeli bir şekilde devam ettirilebileceğini ifade etmişlerdir.

Hannon *et al.* (2003), üç farklı starter kültür kombinasyonu (*Lc. lactis* 223-227, *Lc. lactis* 223-227+*Lb. helveticus* DPC 4571 ve sadece *Lb. helveticus* DPC 4571) kullanarak üretmiş oldukları Cheddar peynirlerinde *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun hızlıca otoliz olduğunu, 8. haftadan sonra tespit edilemediklerini ve bu suşun kullanıldığı örneklerde proteolizin daha yüksek oranda gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Poveda *et al.* (2015), iki farklı suş kombinasyonu (*Lc. lactis* subsp. *lactis* CECT 7883+ *Lc. lactis* subsp. *lactis* CECT 7884 ve *Lc. lactis* subsp. *lactis* CECT 7883 + *Lc. lactis* subsp. *lactis* CECT 7884 + *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* CECT 7882) kullanarak üretmiş oldukları Manchego peynirinin proteoliz seviyelerini, biyojen amin içerikleri ile duyuşal özelliklerini ticari starter kültür ve starter kültür kullanmaksızın ürettikleri peynirlerle karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar, özellikle *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* CECT 7882 suşu ile üretilen peynirlerde proteolizin daha yüksek derece gerçekleştiğini, biyojen amin içeriğinin daha düşük olduğunu, aynı zamanda panelistler tarafından da daha fazla tercih edildiğini ve söz konusu suşun Manchego peynirinin üretiminde başarı ile kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Demers-Mathieu *et al.* (2016), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lb. paracasei/casei*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. plantarum* suşlarını kullanarak üretmiş oldukları Cheddar peynirinde pişirme (38°C) işlemini takiben *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* sayılarının azaldığını, buna karşılık *Lb. plantarum*, *Lb. paracasei/casei* ve *Lb. rhamnosus* sayılarının kademeli olarak artış gösterdiğini ve 120 günlük olgunlaştırma periyodu süresince canlılıklarını koruduklarını bildirmişlerdir.

Budinich *et al.* (2011), farklı sürelerde olgunlaştırılmış (2, 6 ve 8 ay) Cheddar peynir ekstraktlarından hazırlanan model sistemlerde *Lb. paracasei* ATCC 334 suşunun gelişimini incelemişler, 2, 6 ve 8 ay olgunlaştırılmış peynir ekstraktlarında hücre sayılarının sırasıyla  $5,9 \times 10^8$ ,  $1,2 \times 10^8$  ve  $2,1 \times 10^7$  kob/mL olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, 8 ay olgunlaştırılan peynir ekstraktında *Lb. paracasei* ATCC 334 suşunun gelişimi sırasında uçucu bileşiklerin üretiminin söz konusu suş tarafından kullanılan metabolik yolların değerlendirilmesi açısından izlendiğini, etanol ve asetat olmak üzere 2 uçucu bileşiğin yüksek oranlarda belirlendiğini, geriye kalan uçucu bileşiklerin daha düşük miktarlarda tespit edildiğini ifade etmişlerdir.

Kumar *et al.* (2015), Feta peyniri örneklerinin üretiminde mezofilik starter kültüre ilaveten *Lb. helveticus* ve *Lb. casei* suşlarını kullanmışlar, olgunlaşma süresince deneme peynir örneklerinin duyusal, biyokimyasal ve tekstürel özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmacılar, uzman panelistler tarafından yapılan duyusal değerlendirmede kontrol ve deneme peynirleri arasında önemli farklılıkların bulunduğunu, yardımcı kültür ilave edilen örneklerin pH, titre edilebilir asitlik, çözünür protein ve serbest yağ asiti değerlerinin kontrol örneğine göre istatistiksel olarak farklı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda deneme peynirlerine ait tekstürel parametrelerin (sertlik, yapışkanlık, esneklik ve çiğnenebilirlik) kontrol örneğine göre daha düşük seviyede olduğunu belirlemişlerdir.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

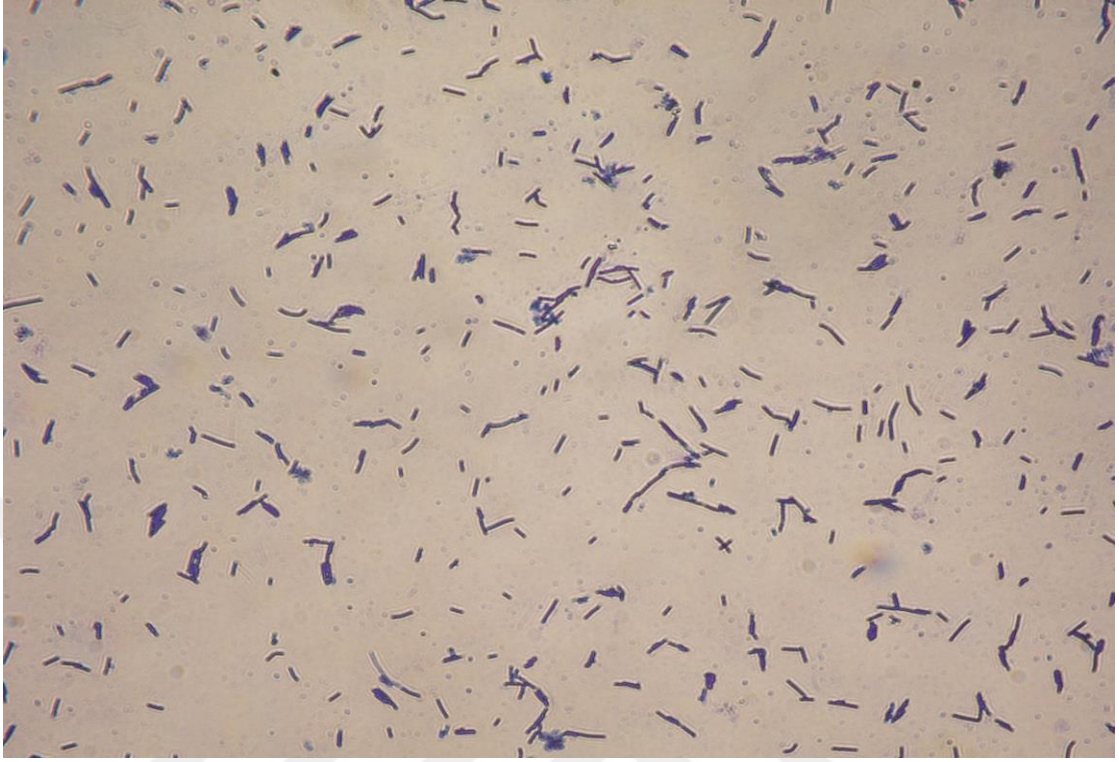
#### 3.1. Materyal

Kaşar peynirlerinin üretiminde, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi İşletme Müdürlüğü'nden temin edilen duyusal, fiziksel, kimyasal ve teknolojik özellikleri peynir yapımına uygun çiğ inek sütü kullanılmıştır. Peynir yapımı sırasında sütün pıhtılaştırılmasında kullanılan 1/16,000 kuvvetindeki sıvı ticari peynir mayası Chr-Hansen'den (Chr-Hansen, İstanbul, Türkiye) sağlanmıştır. Peynir üretimi sırasında kullanılan kalsiyum klörür ( $\text{CaCl}_2$ ) (Sigma Aldrich, food grade) saf suda çözündürüldükten sonra 100 litreye 20 g olacak şekilde peynire işlenecek süte ilave edilmiştir. Peynirlerin tuzlanmasında ticari kaya tuzu kullanılmıştır.

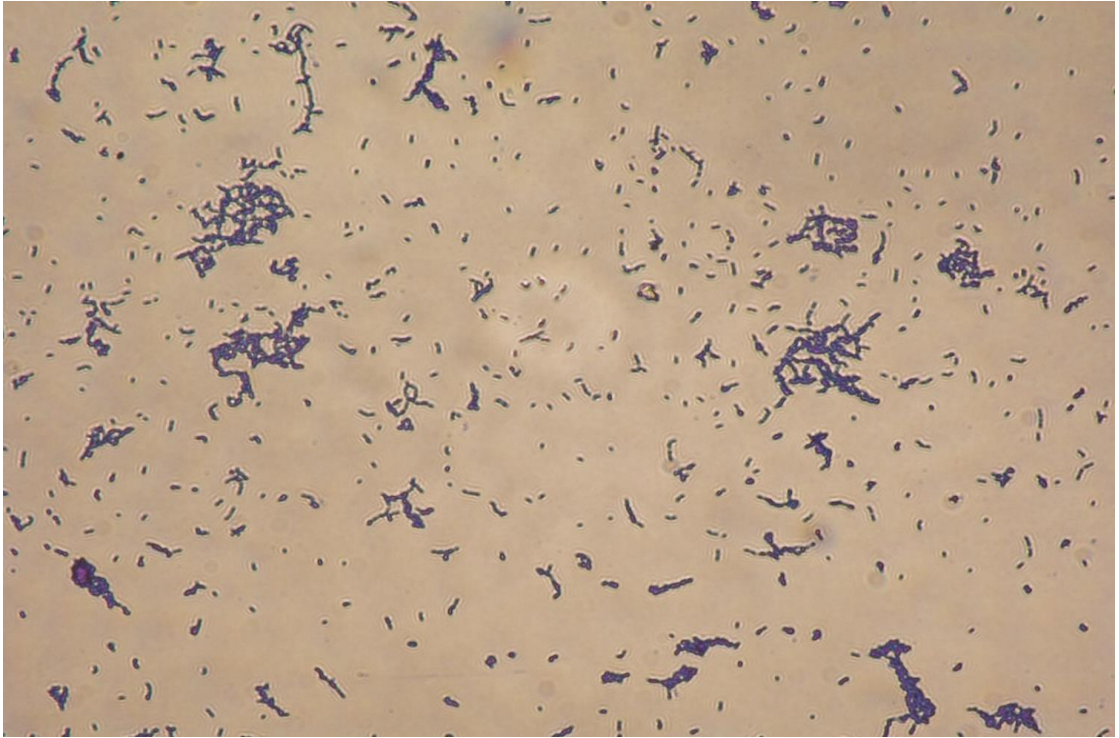
Kaşar peyniri üretiminde primer starter kültür olarak *S. thermophilus* ve *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (FD-DVS TCC-3, Chr-Hansen, İstanbul, Türkiye) içeren direkt inoküle edilen hazır kültür kullanılmıştır.

Kaşar peyniri üretiminde *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşları birlikte canlı ve zayıflatılmış yardımcı kültür olarak kullanılmıştır. *Lb. paracasei* ATCC 334 suşu Amerikan Kültür Koleksiyonu'ndan, *Lb. helveticus* DPC 4571 suşu ise İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Kültür Koleksiyonu'ndan temin edilmiştir. *Lb. helveticus* DPC 4571 ile *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarına ait mikroskopik görüntüler sırasıyla Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de verilmiştir.

Kaşar peynirlerinin vakum ambalajlanmasında kullanılan gıda ambalajlamaya uygun polietilen plastik materyaller ise Ak Sedef Plastik A.Ş. (Kocaeli) plastik sanayinden sağlanmıştır.



**Şekil 3.1.** *Lactobacillus helveticus* DPC 4571 suşuna ait mikroskopik görüntü (100X)



**Şekil 3.2.** *Lactobacillus paracasei* ATCC 334 suşuna ait mikroskopik görüntü (100X)

### 3.2. Yöntem

#### 3.2.1. Peynir üretiminde kullanılan yardımcı kültürlerin çoğaltılması

Kaşar peyniri üretiminde kullanılan yardımcı kültürlerden (*Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571) MRS broth (Merck) besiyerine %1 oranında inoküle edilmiş, anaerobik koşullarda sırasıyla 32°C ve 42°C’lerde 16 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra durgun fazdaki kültürler 4°C’de  $10,000 \times g$  de 20 d santrifüj edilmiştir. Konsantre hale getirilen bakteri hücreleri %0,85’lik fizyolojik tuzlu su ile iki kere yıkanmış ve yeniden süspanse edilerek hücre sayısı yaklaşık olarak  $10^8$  kob/mL olacak şekilde ayarlanmıştır. Bakteri hücrelerinin sayısı, 610 nm’deki optik yoğunluğu ölçülerek belirlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 (1:1) bakteri süspansiyonları %1 oranında peynir yapılacak süte canlı olarak ilave edilmiştir.

#### 3.2.2. Zayıflatılmış yardımcı kültür üretimi için sonikasyon koşullarının belirlenmesi

Kaşar peyniri üretiminde kullanılan *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarının sonikasyon işlemi ile zayıflatılmasında işlem koşulları (ses dalgasının frekansı, şiddeti ve uygulama süresi vb.) ön denemeler yapılarak belirlenmiştir. Elde edilen bakteri süspansiyonları uygun işlem koşullarının belirlenmesi amacıyla Çizelge 3.1’de belirtilen pulse (vurgu) ve amplitude (şiddet) değerleri kullanılarak 30 d ve 45 d olmak üzere iki farklı süreyle sonikasyon işlemine tabii tutulmuştur. Seçilen pulse ve amplitude değerleri cihazın çalışma aralığı, sonikasyon süreleri ise literatür bilgileri dikkate alınarak belirlenmiştir. Sonikasyon işleminde Ultrasound (Hielscher UP400S, Germany) (400 watts, 24 kHz) cihazı kullanılmış ve 22 mm çapındaki titanyumdan prob 250 mL hacmindeki bakteri süspansiyonlarına daldırılarak işlem gerçekleştirilmiştir. İşlem süresince hücre süspansiyonlarının sıcaklığı etanol-buz banyosuyla 0°C’de sabit tutulmaya çalışılmıştır. Her bir uygulamada bakteri süspansiyonlarına sonikasyon işlemi 15 d’lık 2 ya da 3 periyod halinde uygulanmış ve her bir periyodun ardından örnekler 15

d buz banyosunda bekletilmiştir. Sonikasyon işleminin etkinliği, işlem öncesi ve sonrasında MRS agarda sayım yapılarak ve bazı spesifik aminopeptidaz enzim aktiviteleri (PepN, PepX ve PepI) test edilerek belirlenmiştir. Seçilen tüm sonikasyon şartları ayrı ayrı her iki bakteri şuşuna 2 tekrarlı olarak uygulanmıştır. Sonikasyon işleminde kullanılan sonikatör cihazına ait görüntü Şekil 3.3’de verilmiştir.



**Şekil 3.3.** Sonikasyon işleminde kullanılan Ultrasound cihazı

**Çizelge 3.1.** Bakteri şuşlarının zayıflatılmasında kullanılan sonikasyon koşulları

| Uygulama | Cihazın çalışma aralığı                       | Seçilen sonikasyon şartları                                                                                                         |
|----------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 0,5 (kesikli, saniyenin %50’si süresince sonike ederken, %50’sinde sonikasyon uygulanmamıştır). Amplitude: 50 $\mu\text{m}$  |
| 2        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 0,5 (kesikli, saniyenin %50’si süresince sonike ederken, %50’sinde sonikasyon uygulanmamıştır). Amplitude: 75 $\mu\text{m}$  |
| 3        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 0,5 (kesikli, saniyenin %50’si süresince sonike ederken, %50’sinde sonikasyon uygulanmamıştır). Amplitude: 100 $\mu\text{m}$ |
| 4        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 1 (sürekli, saniyenin %100’ü süresince sonikasyon uygulanmıştır). Amplitude: 50 $\mu\text{m}$                                |
| 5        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 1 (sürekli, saniyenin %100’ü süresince sonikasyon uygulanmıştır). Amplitude: 75 $\mu\text{m}$                                |
| 6        | Pulse: 0-1<br>Amplitude: 20-100 $\mu\text{m}$ | Pulse: 1 (sürekli, saniyenin %100’ü süresince sonikasyon uygulanmıştır). Amplitude: 100 $\mu\text{m}$                               |

Ön deneme sonuçları dikkate alındığında; *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarına uygulanacak sonikasyon süresinin 45 d, aminopeptidaz enzim aktivitelerindeki artışa ve bakteri sayılarındaki azalmaya bağlı olarak da her iki suş için de 6 nolu uygulamanın (Pulse:1, Amplitude:100 µm) kullanılmasına karar verilmiştir.

### 3.3. Deneme Kaşar Peynirlerinin Üretimi

Deneme Kaşar peynirlerinin üretimi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Pilot Süt İşletmesi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma kapsamında 4 farklı Kaşar peyniri üretilmiş ve her bir peynirin üretiminde 100 kg taze inek sütü kullanılmıştır. I. grup (A) Kaşar peyniri çiğ süttten herhangi bir kültür kullanmaksızın üretilmiş ve kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. II. grup (B) Kaşar peyniri üretimi için süt, 65°C'de 30 d süreyle pastörize edilmiş ve üretici firmanın talimatları doğrultusunda sadece primer starter kültür (*S. thermophilus* + *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) ilave edilmiştir. III. grup (C) peynirinin üretimi için pastörize süte primer starter kültür ile *Lb. helveticus* DPC 4571 + *Lb. paracasei* ATCC 334 (%1) (1:1) suşları birlikte canlı olarak ilave edilmiştir. Son grup peynir üretimi için pastörize edilmiş ve starter kültür ilave edilmiş süt peynir mayası ile mayalanmış, ardından baskılama işleminden önce ön denemelerle belirlenen sonikasyon koşulları kullanılarak zayıflatılmış (Pulse:1, Amplitude: 100 µm, 45 d) *Lb. helveticus* DPC 4571 + *Lb. paracasei* ATCC 334 (%1) (1:1) suşları pıhtıya ilave edilmiştir (D) (Çizelge 3.2).

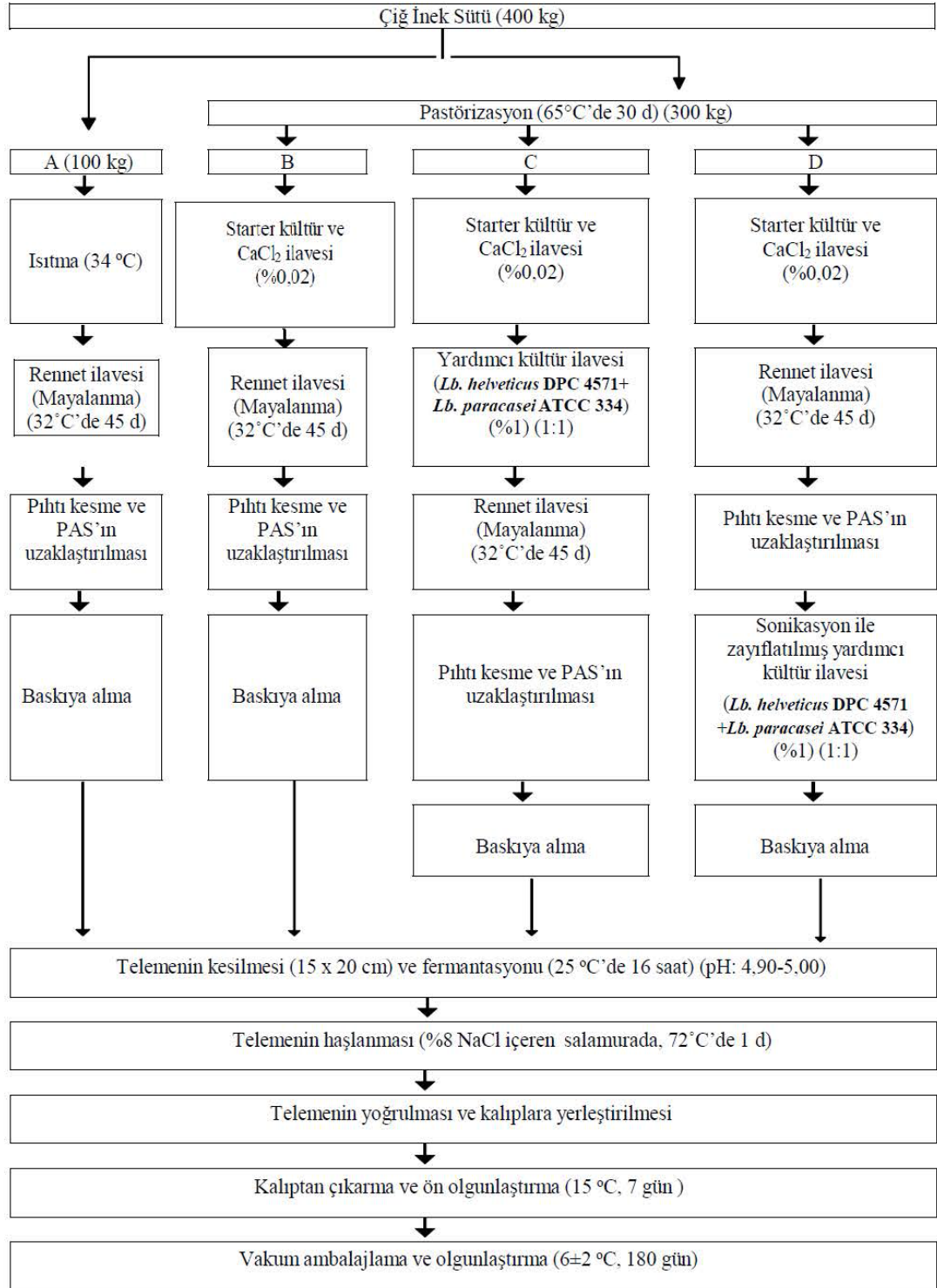
Pıhtı oluşumunu takiben tüm peynir grupları baskıya alınmış ve peynir suyunun sızması duruncaya kadar (2-4 saat) bekletilmiştir. Baskı işleminden sonra, teleme bıçakla 15x20 cm boyutlarında parçalara bölünmüş ve teleme blokları doğrama makinesinde 1-2 cm kalınlığında doğranarak pH 4,90-5,00'e ulaşınca kadar yaklaşık 16-18 saat süreyle fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon işlemini takiben telemenin pH değerine bakılarak haşlama olgunluğuna ulaşp ulaşmadığı belirlenmiştir. Fermente edilen teleme 0,5 cm kalınlığında kesilmiş ve %8 tuz içeren 72°C sıcaklıktaki salamurada yaklaşık 1d haşlanmıştır. Haşlanmış teleme biraz soğuduktan sonra elle içinde hava kalmayacak şekilde yoğrulmuş ve 1 kg'lık kalıplara konulmuştur. Kalıplar oda sıcaklığında 24 saat

bekletilmiştir. Daha sonra kalıplardan çıkarılan Kaşar peynirleri 15°C’de 7 gün süreyle ön olgunlaştırmaya tabii tutulmuş, ön olgunlaştırma işlemini takiben vakum ambalajlanmıştır. Ardından tüm peynirler 6±2°C’de 180 gün boyunca olgunlaştırılmıştır. Deneme Kaşar peynirlerinin üretim şeması detaylı olarak Şekil 3.4’te verilmiştir.

Deneme peynirlerin üretimi 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş, ön olgunlaştırmayı takiben 7. günden itibaren fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikleri ile çözünür azot fraksiyonları aylık periyotlarla analiz edilmiştir. Peynir örneklerinde üre-PAGE elektroforezi, peptit profili analizi ile uçucu bileşiklerin analizleri ise olgunlaşmanın 7., 60., 120. ve 180. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Deneme Kaşar peyniri örnekleri

| Örnek | Muamale                                                                                                                                                                                      |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| A     | Çiğ süttten üretilen kontrol Kaşar peyniri                                                                                                                                                   |
| B     | Pastörize süte primer starter kültür ( <i>S. thermophilus</i> + <i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ) ilavesiyle üretilen Kaşar peyniri                                            |
| C     | Pastörize süte primer starter kültür ve <i>Lb. helveticus</i> DPC 4571+ <i>Lb. paracasei</i> ATCC 334 (1:1) ilavesiyle üretilen Kaşar peyniri                                                |
| D     | Pastörize süte primer starter kültür ve pıhtıya sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış <i>Lb. helveticus</i> DPC 4571+ <i>Lb. paracasei</i> ATCC 334 (1:1) ilavesiyle üretilen Kaşar peyniri |



**Şekil 3.4.** Deneme Kaşar peynirlerin üretim şeması



**Şekil 3.5.** Ön olgunlaştırma işlemi tamamlanmış Kaşar peyniri örnekleri

### **3.4. Peynir Üretiminde Kullanılan Sütte Yapılan Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analizler**

Peynir üretiminde kullanılan sütte kurumadde (gravimetrik yöntemle), yağ (Gerber yöntemiyle), protein (mikro Kjeldahl yöntemiyle), titrasyon asitliği (% laktik asit cinsinden) ve pH (dijital pH-metre, Mettler Toledo Seven Compact S220) Kurt vd (2007) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Peynir yapımında kullanılan sütte toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı, LAB sayımı, koliform grubu bakteri sayımı ve maya-küf sayımı Diliello (1982) tarafından belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır.

### **3.5. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler**

#### **3.5.1. Örnek hazırlama**

Kaşar peyniri örneklerinden aseptik şartlarda 10 g tartılıp Stomacher torbalarının içerisine aktarılmış ve üzerine 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (%0,85 NaCl) ilave

edilmiştir. Daha sonra Stomacher (Interscience bag mixer 400 P range) cihazında 2 dakika homojenize edilmiştir. Böylece  $10^{-1}$ 'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır. Diğer dilüsyonların hazırlanmasında ise steril pipetler kullanılarak ilk dilüsyondan 1 mL alınmış ve içerisinde 9 mL steril dilüsyon sıvısı bulunan tüplere aktarılmıştır. İşleme  $10^{-7}$ 'lik dilüsyona ulaşıncaya kadar devam edilmiştir (Harrigan 1998).

### **3.5.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı**

Peynir örneklerinde TAMB sayımı için, Plate Count agar (PCA) (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına 0,1 mL ilave edilmiş ve yayma yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübe edilmiştir. Koloni içeren petriler sayılmıştır (Harrigan, 1998).

### **3.5.3. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri sayımı**

MRS agarda (De Man Rogosa and Sharpe) (Merck) gelişen LAB sayımı için, pH'sı 5,7'ye ayarlanmış steril edilmiş MRS agar kullanılarak uygun dilüsyonlardan 1 mL dökme plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri kutuları termofilik LAB'leri (olası Laktobasiller) için  $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de, mezofil LAB'leri için  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat anaerobik ortamda inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Di Cagno *et al.* 2011).

### **3.5.4. M-17 agarda gelişen laktik asit bakteri sayımı**

M-17 agarda (Merck) gelişen LAB sayımı için, steril edilmiş M-17 agara uygun dilüsyonlardan 1 mL dökme plak yöntemiyle ekim yapılmıştır. Petri kutuları termofilik LAB'leri (olası streptokoklar) için  $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de, mezofil LAB'leri için  $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat aerobik ortamda inkübe edilmiş ve koloni içeren petriler sayılmıştır (Di Cagno *et al.* 2011).

### 3.5.5. Koliform grubu bakteri sayımı

Peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile agar (VRBA) (Merck) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına 1 mL ekim yapılmış, üzerine kaynatılmış 45°C'ye kadar soğutulmuş VRBA'dan ilave edilmiş ve 37±1°C'de 48 saat kadar inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda çapı 0,5 mm'den daha büyük olan koloniler sayılmıştır (Harrigan, 1998).

### 3.5.6. Maya ve küf sayımı

Maya ve küf sayımında Potato Dextrose agar (PDA) (Merck) kullanılmıştır. PDA otoklavda steril edildikten sonra %10'luk steril tartarik asit ile pH'sı 3,5'a ayarlanmış ve yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. Ekim yapılan plaklar 25°C'de 5-7 gün inkübasyona bırakılmış, inkübasyondan sonra maya ve küf kolonileri ayrı ayrı sayılmıştır (Koburger and Marth 1984).

## 3.6. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Fizikokimyasal Analizler

Rendeden geçirilerek homojen hale getirilen Kaşar peyniri örneklerinde kurumadde miktarı 3,000 g peynir örneğinin 102±1°C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak (IDF 1982), yağ miktarı Van Gulik bütirometreleri kullanılarak Gerber yöntemiyle (Ardo and Polychroniadou 1999), toplam protein miktarı ise mikro Kjeldahl yöntemiyle azot miktarlarının saptanması ve 6,38 faktörü ile çarpılmasıyla belirlenmiştir (IDF 1993). Peynir örneklerinde tuz miktarı örneğin ayarlı 0,1 N AgNO<sub>3</sub> ile asitlik değeri ise örneğin ayarlı 0,1 N NaOH ile titre edilmesiyle belirlenmiştir (Kurt vd 2007). Peynir örneklerinde pH ölçümü için ise, 10 g Kaşar peyniri 15 mL saf su içerisinde iyice homojenize edilmiş ve pH-metre (Mettler Toledo Seven Compact S220) kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Kaşar peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranı (%), yağ miktarının kurumadde miktarına bölünmesiyle, kurumaddede tuz oranı (%) ise tuz miktarının kurumadde miktarına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

### 3.7. Kaşar Peyniri Örneklerinde Azot Fraksiyonlarının Belirlenmesi

#### 3.7.1. pH 4.6'da çözünen azot oranının belirlenmesi

Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da çözünen azot oranları Kuchroo and Fox (1982) ve Hayaloğlu vd (2011) tarafından belirtilen metot kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla, 20 g peynir örneği tartılmış, 40°C'de 40 mL saf su ilave edilerek Ultra Turrax homogenizer (IKA T25, Germany) ile 2 d homojenize edilmiştir. Homojenatın pH'sı 1 M HCl ile 4.6'ya getirildikten sonra, karışım 40°C'deki su banyosunda 1 saat tutulmuş, 3000 × g'de 4°C'de 30 d santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki yağ tabakası bir spatülle uzaklaştırılmış ve sıvı kısım Whatman No: 113 numaralı filtre kâğıdından süzölmüştür. Süzölen filtrat saf su ile 100 mL'ye tamamlanmış ve filtrattan 10 mL alınarak standart mikro-Kjeldahl metodu ile pH 4.6'da çözünen azot miktarı belirlenmiştir. Kalan filtrat TCA'da ve PTA'da çözünen azot tayini için muhafaza edilmiştir. pH 4.6'da çözünen azot miktarı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır. Kaşar peynirlerinde pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%) ise pH 4.6'da çözünen azot değerlerinin toplam azot değerlerine oranlanmasıyla hesaplanmıştır. Ayrıca peynir örneklere ait pH 4.6'da çözünen/çözünmeyen azot fraksiyonları peptit profili ve üre-PAGE jel elektroforezi analizlerinde kullanılmak üzere dondurulmuştur.

$$\% \text{ pH 4.6'da çözünen azot} = \frac{[1,4x(V_1-V_0)xNxF]}{m} \times 100$$

$V_1$ : Örnek için harcanan HCl, mL

$V_0$ : Kör denemede harcanan HCl, mL

N: HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi, 0,1 N

F: HCl çözeltisinin faktörü

m: Örnek miktarı, g

### 3.7.2. Trikloroasetik asitte çözünen azot oranının belirlenmesi

pH 4.6'da çözünen azot tayini için hazırlanan filtrattan 25 mL alınmış ve eşit hacimde %24'lük (ağırlık/hacim) TCA ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra karışım Whatman No: 42 numaralı filtre kağıdından süzölmüş, filtrat 50 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır (Polychroniadou *et al.* 1999; Hayaloğlu vd 2011). Filtrattan 10 mL alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile %12'lik TCA'da çözünen azot miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar 3.7.1'de verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

### 3.7.3. Fosfotungustik asitte çözünen azot oranının belirlenmesi

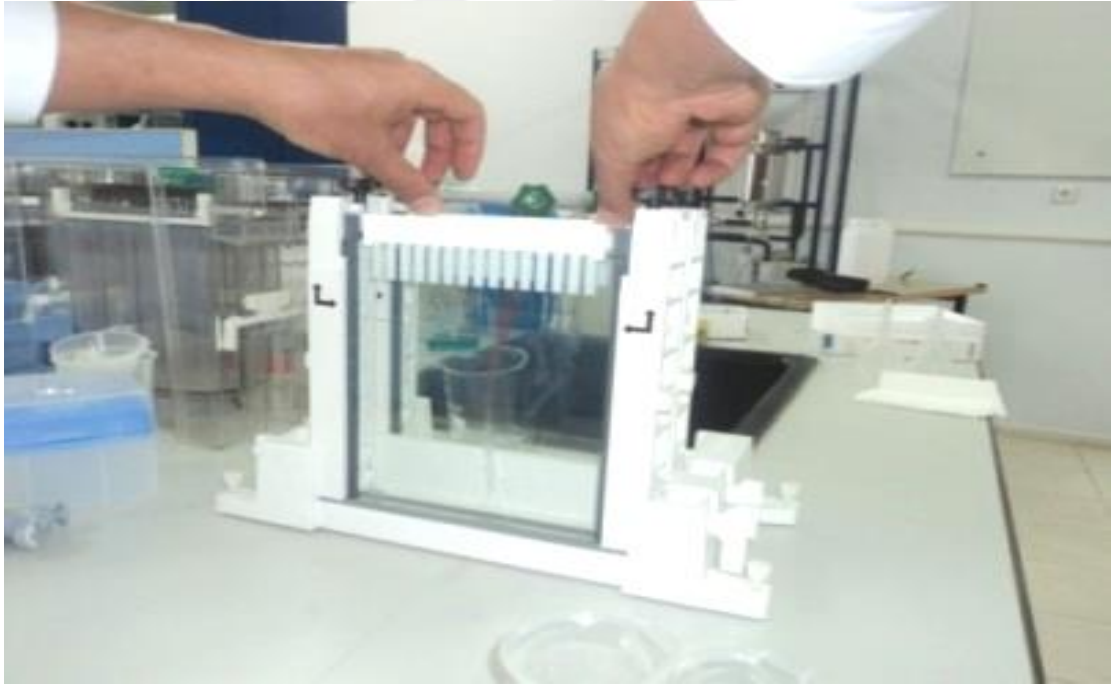
pH 4.6'da çözünen azot tayini için hazırlanan filtrattan 5 mL alınmış ve üzerine 3,5 mL 3,95 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile 1,5 mL %33,3'lük PTA çözeltisinden ilave edilmiştir. Karışım 4°C'de bir gece bekletildikten sonra Whatman No: 542 filtre kağıdından süzölmüştür (Jarrett *et al.* 1982; Hayaloğlu vd 2011). Elde edilen süzöntünün azot içeriği standart mikro-Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir. %5'lik PTA'da çözünen azot miktarı 3.7.1 de verilen eşitlik kullanılarak belirlenmiştir.

TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına göre olgunlaşma indeksi değerleri (%) ise çözünen azot fraksiyonlarına ait değerlerin toplam azot değerlerine bölünmesiyle hesaplanmıştır.

## 3.8. Kaşar Peyniri Örneklerinde Kazein Fraksiyonlarının üre-PAGE Elektroforezi İle Belirlenmesi

Olgunlaşma süresinin 7., 60., 120. ve 180. günlerinde deneme Kaşar peyniri örneklerinde kazein fraksiyonları üre-PAGE elektroforezi kullanılarak belirlenmiştir. Üre-PAGE uygulamasında Elektroforez Protean II XI dikey slab-jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) kullanılmıştır (Şekil 3.6). Bu amaçla dondurularak kurutulmuş pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlardan 10 mg tartılmış ve %49 üre içeren 1 mL örnek tamponu içerisinde çözöndürölmüştür. Hazırlanan örneklerden 7 µL jele

yüklenmiş ve yoğunlaştırıcı jel tamponu boyunca 280 V'da, ayırıcı jel tamponu boyunca 300 V'da yürütülmüştür. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra oluşan jeller bir gece boyunca Comassie brilliant blue G-250 içeren çözeltide bekletilmiştir. Boya giderme işlemi su ile gerçekleştirilmiş, ardından oluşan bantlar HP Scanjet G4010 (Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, USA) kullanılarak taranmıştır. Kazein fraksiyonları ve parçalanma ürünlerinin bant yoğunluğu dansitometrik bir jel analiz programı (Image Master Total 46 Lab Phoretix 1D Pro software, Keel House, Newcastle upon Tyne, UK) kullanılarak kantitatif olarak değerlendirilmiştir (Andrew 1983; Hayaloğlu vd 2011). Elektroforetogramdaki protein bantları sodyum kazeinat standartı referans alınarak isimlendirilmiştir.



**Şekil 3.6.** Peynirlerin kazein fraksiyonlarının belirlenmesinde kullanılan Protean II XI dikey jel elektroforez cihazı

### 3.9. Kaşar Peyniri Örneklerinde Peptit Profillerinin Belirlenmesi

Peynir örneklerinin peptit profili, pH 4.6'da çözünen azot fraksiyonunda ters fazlı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) kullanılarak belirlenmiştir (Hayaloglu *et al.* 2013b). Analizin gerçekleştirilmesinde, Shimadzu LC 20 AD Prominence HPLC sistem cihazı (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) (Şekil 3.7) kullanılmıştır. Ayrım için C18 kolon (Phenomenex Jupiter 250 mm x 4,6 mm x 5 µm, 300 Å por hacmi) (Phenomenex Co, Torrance, CA, USA) kullanılmış ve elüsyon işlemi 214 nm'de DAD (Diod Array Dedector, model SPD-M20A prominence) dedektörde gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak; akış hızı 0,75 mL/d olan hareketli faz solvent A [%0,1 TFA (Trifloroasetikasit; v/v) içeren HPLC-grade deiyonize saf su (Milli-Q system; Waters Corp., Molsheim, France)] ve hareketli faz solvent B [%0,1 TFA içeren asetonitril (v/v) (HPLC grade; Merck KGaA, Darmstadt, Germany)] kullanılmıştır. Peynir örneklerinde peptit profili analizi için dondurularak kurutulmuş pH 4.6'da çözünen azot fraksiyonlardan dikkatle 10 mg tartılmış ve 1 mL solvent A çözeltisi içerisinde çözündürülmüştür. Ardından 0,45 µm selüloz asetat filtreden (Millex) geçirilmiş ve filtrattan 40 µL HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Elüsyon gradiyentli olarak gerçekleştirilmiş ve akış programı Çizelge 3.3'te verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** RP-HPLC analizinde hareketli faza ait çözeltilerinin kromatografi süresi içerisinde kolondan geçiş oranları

| Süre (d) | Hareketli faz A (%) | Hareketli faz B (%) |
|----------|---------------------|---------------------|
| 0        | 0                   | 0                   |
| 5        | 100                 | 0                   |
| 60       | 50                  | 50                  |
| 66       | 50                  | 50                  |
| 70       | 40                  | 60                  |
| 73       | 40                  | 60                  |
| 75       | 5                   | 95                  |
| 80       | 5                   | 95                  |
| 90       | 100                 | 0                   |



**Şekil 3.7.** Peynir örneklerinin peptit profillerinin belirlenmesinde kullanılan HPLC cihazı

### 3.10. Kaşar Peyniri Örneklerinde Serbest Amino Asit Miktarlarının Belirlenmesi

Peynir örneklerinde serbest amino asit tayini için; 5 g peynir örneği falcon tüplerine tartılmış üzerine internal standart olarak 0,1 N HCl çözeltisinde hazırlanmış 10 mL 0,4 mM methionin sülfon çözeltisi ilave edilmiş ve ultratırnakta 5 d boyunca homojenize edilmiştir. Homojenize edilen peynir süspansiyonu, 20 d süreyle ultrasonik su banyosunda bekletilmiş ardından,  $3000 \times g$ 'de  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 d santrifüj işlemine tabii tutulmuştur. Santrifüj sonunda elde edilen süpernatanttan 1 mL alınıp, üzerine 1 mL %40'lık triklor asetik asit ilave edilmiş ve  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 d bekletilmiştir. Ardından  $20.000 \times g$   $4^{\circ}\text{C}$ 'de 10 d santrifüj edilmiş ve deproteinize edilmiş 25  $\mu\text{L}$  supernatant liyofilize edilerek kurutulmuştur. Kurutma işlemini takiben üzerine eşleme tampon (20  $\mu\text{L}$  metanol:1M sodium asetat: trietilenamin) (2:2:1) eklenmiş ve tekrar liyofilize edilmiştir. Daha sonra kurutulmuş örnek üzerine türevlendirme tampon (20  $\mu\text{L}$  metanol: trietilenamin: deiyonize su: fenilzotiyosiyonat) (7:1:1:1) ilave edilmiş, hızlıca çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 20 d bekletilmiştir. Tekrar liyofilize edilmiş ve 1

mL seyreltme tamponu ilave edilerek 0,20  $\mu$ m  $\phi$ ındaki filtreden (Millex) geçirilmiştir. Filtre edilmiş örnekten 80  $\mu$ L alınarak HPLC kolonuna enjekte edilmiştir (Hayaloğlu vd 2011). Sonuçlar mg/100 g peynir olarak belirlenmiştir.

Peynir örneklerinde amino asitlerin ayrımı PicoTag C18 (300 $^{\circ}$ A x 3,9 mm, Waters) kolunu kullanılarak yapılmıştır. Buffer A olarak pH'sı asetik asitle 6,55'e ayarlanmış %2,5 asetonitril içeren solüsyon kullanılmıştır. Buffer B ise asetonitril: deiyonize su: metanolünün 9:8:3 (v/v/v) oranında karıştırılmasıyla hazırlanmış, her iki solvenle 10 mg/L olacak şekilde disodyum etilendiamintetraasetik asit ( $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ) ilave edilmiş ve 254 nm de 45 $^{\circ}$ C'de 1 mL/d akış oranı ile kolona enjekte edilmiştir.

Amino asit standartları 0,1 N HCl içerisinde hazırlanmış ve RP-HPLC (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) sistemine örnek enjeksiyonu yapılmadan önce tek tek cihaza enjekte edilerek alıkonma süreleri tespit edilmiştir. Daha sonra; karışım halindeki serbest amino asit standartları en yüksek konsantrasyondan başlanarak, en düşük konsantrasyona doğru 254 nm'de 45  $^{\circ}$ C'de 1 mL/d akış oranı ile 80  $\mu$ L kolona enjekte edilmiştir. Gerçekleştirilen ayırım sonrasında tüm serbest amino asitler için HPLC sisteminin yazılım programında standart eğri oluşturulmuştur. Aynı koşullarda peynir örneklerinden elde edilen ekstratlar HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

### 3.11. Kaşar Peyniri Örneklerinde Uçucu Bileşiklerin Belirlenmesi

Peynirlerdeki uçucu aroma bileşiklerinin belirlenmesinde Shimadzu GC gaz kromatografisi sistemi ve buna bağlı Shimadzu QP-2010 kütle spektrometresi sisteminden yararlanılmıştır. Peynir örneklerinde uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla, 3 g rendelenmiş peynir örneğinden 15 mL'lik cam viallere tartılmış ve üzerine 10  $\mu$ L metanolde hazırlanmış 81 ppm'lik 2-methyl-3-heptanone içeren internal standart ilave edilmiştir. Örnekler Solid Phase Microinjection (SPME) düzeneğinin ısıtma ünitesinde 40 $^{\circ}$ C'de 30 d bekletilmiştir. Ekstraksiyon işlemi 75  $\mu$ m carboxen-polydimethylsiloxane fiber (Supelco SPME Fiber, 75  $\mu$ m Carboxen-PDMS, Bellefonte, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fiber açık konumda örnek içeren vialin tepe

boşluğunda 40°C’de 30 d süreyle tutulmuştur. Ekstrakte edilecek uçucu bileşiklerin desorpsiyonu için fiber 2 d süre ile GC-MS enjeksiyon portunda bırakılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/d akış oranına sahip helyum gazı kullanılmış ve uçucu bileşikler DB-Wax kolon (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm) kullanılarak ayrılmıştır. Fırın sıcaklığı 40 °C’de 2 dakika tutulmuş (desorpsiyon periyodu), dakikada 5°C olmak üzere sıcaklık 70°C’ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 1 d tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık, dakikada 10°C artışla 240°C’ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 47 dakika tutulmuştur. Uçucu bileşenler örneklerin analiz edildiği çalışma koşullarında sisteme alkan serisi (C10–C26) verilerek RI (retention index) değerlerinin hesaplanmasıyla belirlenmiştir (Hayaloğlu *et al.* 2013a). Örnekte her bir uçucu bileşiğin RI değeri Wiley Registry of Mass Spectral Data (7th edition, [www.wiley.com](http://www.wiley.com)), NIST/EPA/ NIH 02 mass spectral library ([www.nist.gov](http://www.nist.gov)) kütüphaneleri kullanılarak tespit edilmiştir. Peynir örneklerindeki uçucu bileşenlerin miktarları ise internal standardın pik alanıyla karşılaştırılmasıyla µg/100 g olarak belirlenmiştir.

### 3.12. Kaşar Peyniri Örneklerinde Yapılan Duyusal Analizler

Kaşar peyniri örneklerinin duyusal yönden değerlendirilmesinde Bodyfelt *et al.* (1988) tarafından verilen kriterler dikkate alınarak düzenlenen skala kullanılmıştır (Çizelge 3.4). Duyusal analizler Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanlarından oluşan 8 kişilik bir panelist grubu tarafından yapılmıştır. Peynir örnekleri üç haneli farklı rakamlarla kodlanmış olarak plastik tabaklarda ve floresan lamba ışığı altında oda sıcaklığında sunulmuştur.

**Çizelge 3.4.** Kaşar peyniri örneklerinin duyuşal değerdendirilmesinde kullanılan skala örneği (Tam Puan = 9)

|                           |                |                    |                     |                  |
|---------------------------|----------------|--------------------|---------------------|------------------|
| Renk ve görünüş           | Çok iyi<br>9-8 | İyi<br>7-6         | Orta<br>5-4-3       | İyi değil<br>2-1 |
| Doku                      | Çok iyi<br>9-8 | İyi<br>7-6         | Orta<br>5-4-3       | İyi değil<br>2-1 |
| Lezzet                    | Çok iyi<br>9-8 | İyi<br>7-6         | Orta<br>5-4-3       | İyi değil<br>2-1 |
| Koku                      | Çok iyi<br>9-8 | İyi<br>7-6         | Orta<br>5-4-3       | İyi değil<br>2-1 |
| Tuzluluk                  | Normal<br>9-8  | Biraz tuzlu<br>7-6 | Tuzlu<br>5-4-3      | Çok tuzlu<br>2-1 |
| Acılık                    | Yok<br>9-8     | Çok az<br>7-6      | Hissedilir<br>5-4-3 | Çok<br>2-1       |
| Genel kabul edilebilirlik | Çok iyi<br>9-8 | İyi<br>7-6         | Orta<br>5-4-3       | İyi değil<br>2-1 |

### 3.13. İstatistiksel Analizler

Araştırma, 4 farklı peynir örneği (kontrol, sadece starter kültür'lü, *Lb. helveticus* + *Lb. paracasei* ilaveli, sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış *Lb. helveticus* + *Lb. paracasei* ilaveli) x 7 farklı olgunlaşma süresi (7., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. günler) x 3 tekerrürlü olarak yürütölmüştür. Elde edilen sonuçlar SPSS for Windows Release ver. 22. (Armonk, NY, IBM Corp. USA) paket programında varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan ortalamalara Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

##### 4.1. Sonikasyon Uygulamasının Öncesi ve Sonrasında Belirlenen Bakteri Sayıları

*Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarına ön denemeler sonucunda belirlenen sonikasyon koşulları her bir üretim için (Pulse:1, Amplitude:100 µm) 45 dakika süreyle uygulanmış, işlem öncesi ve sonrası belirlenen bakteri sayıları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Kaşar peynirlerinin üretiminde kullanılan *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarına ait sonikasyon öncesi ve sonrası yapılan sayım sonuçları (log kob/mL)

| Tekerrür | Sonikasyon öncesi<br>bakteri sayısı |             | Sonikasyon sonrası<br>bakteri sayısı |             | Logaritmik azalma |             |
|----------|-------------------------------------|-------------|--------------------------------------|-------------|-------------------|-------------|
|          | ATCC 334                            | DPC 4571    | ATCC 334                             | DPC 4571    | ATCC 334          | DPC 4571    |
| I.       | 8,66                                | 8,10        | 6,30                                 | 6,30        | 2,36              | 1,80        |
| II.      | 8,91                                | 8,22        | 6,49                                 | 6,28        | 2,42              | 1,94        |
| III.     | 9,23                                | 8,00        | 7,00                                 | 6,00        | 2,23              | 2,00        |
| Ortalama | <b>8,93</b>                         | <b>8,11</b> | <b>6,60</b>                          | <b>6,19</b> | <b>2,34</b>       | <b>1,91</b> |

Çizelge 4.1’de görüldüğü üzere *Lb. helveticus* DPC 4571 sayısında sonikasyon uygulamasıyla meydana gelen azalma *Lb. paracasei* ATCC 334 suşuna oranla daha az düzeyde gerçekleşmiştir. Bu durumun sonikasyon işlemine gösterilen hassasiyetin bakteri cinsine hatta suşa bağlı olarak farklılık göstermesine bağlanabilir. Nitekim; Ustun-Aytekin *et al.* (2016), ultrason işleminin bakteriler üzerindeki etkisinin suşa bağlı olarak değişebileceğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda Gram (+) pozitif bakterilerinin çok katmanlı peptidoglikan tabakasına sahip olması nedeniyle, Gram (-) bakterilerle karşılaştırıldığında hücre duvarı parçalanmasının daha zor olduğu bildirilmiştir (Ustun-Aytekin *et al.* 2016). Her ne kadar sonikasyon uygulamasıyla bakteri sayısının  $10^4$ - $10^5$  kob/mL düzeyine düşürülmesi ve böylece daha fazla intraselüler enzimin serbest hale geçirilmesi hedeflenmiş ise de yapılan ön denemelerde sonikasyon uygulama süresinin daha fazla artırılmasının (60 d) enzim aktivite değerlerinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu nedenle 45 d’nın üzerindeki uygulama sürelerinin uygun olmayacağı

kanaatine varılmıştır. Bu koşullar belirlenirken seçilen uygulamanın daha fazla sayıda bakteri hücrelerine zarar vereceği ve zarar görmüş bakteri hücrelerinin ise peynir matriksinde daha kolay ve hızlı otoliz olabileceği düşüncesi de dikkate alınmıştır.

#### 4.2. Kaşar Peyniri Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Sütün Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Kaşar peynir örneklerinin üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütün bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Kaşar peynir üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütün bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

| <b>Fizikokimyasal Özellikler</b>                  | <b>Çiğ süt</b> | <b>Pastörize süt</b> |
|---------------------------------------------------|----------------|----------------------|
| <b>Kurumadde (%)</b>                              | 12,08          | 12,33                |
| <b>Yağ (%)</b>                                    | 3,57           | 3,69                 |
| <b>Protein (%)</b>                                | 3,13           | 3,19                 |
| <b>Asitlik (%)</b>                                | 0,17           | 0,17                 |
| <b>pH</b>                                         | 6,69           | 6,67                 |
| <b>Mikrobiyolojik Özellikler<br/>(log kob/mL)</b> | <b>Çiğ süt</b> | <b>Pastörize süt</b> |
| <b>TAMB sayısı</b>                                | 7,32           | 4,65                 |
| <b>MRS agarda gelişen LAB sayısı</b>              | 6,71           | 4,30                 |
| <b>Koliform grubu bakteri sayısı</b>              | 3,72           | <1                   |
| <b>Maya-küf sayısı</b>                            | 2,62           | <2                   |

Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır.

#### 4.3. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.3’te, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.4’te verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Kaşar peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)

| Mikrobiyal Gruplar                                                             | Olgunlaşma Süresi (Gün) | Peynirler |           |           |           |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                                                                                |                         | A         | B         | C         | D         |
| <b>TAMB</b><br>sayısı                                                          | 7                       | 6,83±0,41 | 7,00±0,64 | 7,83±0,50 | 6,87±0,49 |
|                                                                                | 30                      | 7,27±0,24 | 7,29±0,43 | 7,71±0,51 | 6,98±0,42 |
|                                                                                | 60                      | 7,00±0,11 | 6,96±0,39 | 7,42±0,50 | 7,34±0,30 |
|                                                                                | 90                      | 7,14±0,05 | 7,17±0,38 | 7,64±0,13 | 7,38±0,11 |
|                                                                                | 120                     | 7,08±0,13 | 7,15±0,26 | 7,55±0,22 | 7,43±0,26 |
|                                                                                | 150                     | 7,02±0,03 | 6,95±0,24 | 7,56±0,38 | 7,54±0,31 |
|                                                                                | 180                     | 6,77±0,44 | 6,85±0,22 | 7,40±0,25 | 7,52±0,40 |
| <b>MRS agarda</b><br><b>gelişen</b><br><b>mezofilik LAB</b><br>sayısı          | 7                       | 6,59±0,41 | 6,49±0,58 | 7,67±0,47 | 6,69±0,33 |
|                                                                                | 30                      | 6,88±0,60 | 7,09±0,72 | 7,52±0,47 | 6,61±0,29 |
|                                                                                | 60                      | 6,85±0,27 | 6,83±0,33 | 7,49±0,32 | 7,29±0,17 |
|                                                                                | 90                      | 7,02±0,13 | 7,11±0,24 | 7,55±0,08 | 7,31±0,11 |
|                                                                                | 120                     | 6,53±0,36 | 6,52±0,21 | 7,41±0,31 | 7,28±0,14 |
|                                                                                | 150                     | 6,83±0,16 | 6,66±0,35 | 7,46±0,38 | 7,35±0,19 |
|                                                                                | 180                     | 6,22±0,26 | 6,10±0,20 | 7,22±0,17 | 7,43±0,35 |
| <b>MRS agarda</b><br><b>gelişen</b><br><b>termofilik</b><br><b>LAB</b> sayısı  | 7                       | 5,66±0,75 | 6,80±0,64 | 7,47±0,68 | 6,75±0,60 |
|                                                                                | 30                      | 5,59±0,91 | 6,91±0,72 | 7,32±0,48 | 6,44±0,63 |
|                                                                                | 60                      | 5,65±0,83 | 6,55±0,80 | 6,69±0,36 | 6,39±0,72 |
|                                                                                | 90                      | 5,61±0,80 | 6,56±0,69 | 6,34±0,22 | 5,81±0,73 |
|                                                                                | 120                     | 5,30±0,61 | 6,48±0,62 | 6,11±0,41 | 5,51±0,80 |
|                                                                                | 150                     | 5,00±0,45 | 6,29±0,60 | 5,85±0,44 | 5,26±0,77 |
|                                                                                | 180                     | 4,73±0,72 | 5,82±0,71 | 5,17±0,17 | 4,92±0,50 |
| <b>M-17 agarda</b><br><b>gelişen</b><br><b>mezofilik LAB</b><br>sayısı         | 7                       | 6,65±0,57 | 6,67±0,69 | 6,61±0,95 | 6,51±0,70 |
|                                                                                | 30                      | 7,14±0,25 | 6,70±0,67 | 6,77±0,60 | 6,73±0,83 |
|                                                                                | 60                      | 7,08±0,11 | 6,44±0,54 | 6,83±0,72 | 6,54±0,55 |
|                                                                                | 90                      | 6,79±0,49 | 6,73±0,55 | 6,99±0,37 | 6,57±0,37 |
|                                                                                | 120                     | 6,47±0,70 | 6,71±0,35 | 6,87±0,55 | 6,86±0,40 |
|                                                                                | 150                     | 6,28±0,73 | 6,49±0,43 | 6,78±0,80 | 6,83±0,14 |
|                                                                                | 180                     | 6,12±0,73 | 6,42±0,56 | 6,66±0,52 | 6,64±0,56 |
| <b>M-17 agarda</b><br><b>gelişen</b><br><b>termofilik</b><br><b>LAB</b> sayısı | 7                       | 6,17±0,39 | 6,89±0,38 | 6,92±0,11 | 6,57±0,31 |
|                                                                                | 30                      | 6,00±0,70 | 6,99±0,62 | 7,04±0,73 | 6,23±0,21 |
|                                                                                | 60                      | 6,37±0,35 | 6,52±0,43 | 6,91±0,32 | 6,11±0,42 |
|                                                                                | 90                      | 6,12±0,28 | 6,47±0,57 | 6,63±0,36 | 6,02±0,11 |
|                                                                                | 120                     | 5,87±0,79 | 6,46±0,32 | 6,35±0,34 | 6,23±0,58 |
|                                                                                | 150                     | 5,57±0,95 | 6,38±0,14 | 6,53±0,47 | 6,47±0,52 |
|                                                                                | 180                     | 5,49±0,85 | 5,85±0,33 | 6,15±0,42 | 5,94±0,51 |
| <b>Maya sayısı</b>                                                             | 7                       | 3,55±0,33 | 3,07±0,07 | 3,37±0,53 | 3,37±0,16 |
|                                                                                | 30                      | 3,99±0,02 | 3,68±0,32 | 3,57±0,55 | 3,67±0,08 |
|                                                                                | 60                      | 4,36±0,13 | 3,86±0,75 | 3,81±0,09 | 4,03±0,05 |
|                                                                                | 90                      | 4,06±0,19 | 3,84±0,55 | 3,67±0,28 | 4,09±0,17 |
|                                                                                | 120                     | 3,83±0,18 | 4,01±0,47 | 3,76±0,12 | 3,95±0,16 |
|                                                                                | 150                     | 4,00±0,20 | 3,89±0,25 | 3,70±0,44 | 3,90±0,20 |
|                                                                                | 180                     | 3,88±0,39 | 3,91±0,35 | 3,62±0,35 | 3,79±0,29 |

Çizelge 4.3. (devam)

|                                      |     |           |           |           |           |
|--------------------------------------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Küf sayısı</b>                    | 7   | <2±0,00   | <2±0,00   | <2±0,00   | <2±0,00   |
|                                      | 30  | 2,35±0,18 | 2,30±0,61 | 2,52±0,08 | 2,25±0,31 |
|                                      | 60  | 3,00±0,00 | 2,30±0,26 | 2,93±0,12 | 2,52±0,21 |
|                                      | 90  | 2,67±0,58 | 2,52±0,19 | 2,73±0,37 | 2,68±0,14 |
|                                      | 120 | 2,79±0,11 | 2,65±0,26 | 2,61±0,44 | 2,78±0,38 |
|                                      | 150 | 2,94±0,07 | 2,69±0,25 | 2,84±0,19 | 2,74±0,23 |
|                                      | 180 | 2,89±0,14 | 2,74±0,24 | 2,62±0,16 | 2,72±0,33 |
| <b>Koliform grubu bakteri sayısı</b> | 7   | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 30  | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 60  | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 90  | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 120 | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 150 | <1        | <1        | <1        | <1        |
|                                      | 180 | <1        | <1        | <1        | <1        |

Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır.

Çizelge 4.4. Kaşar peyniri örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analiz değerlerine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları         | S  | F değeri    |          |          |             |            |             |            |
|------------------------------|----|-------------|----------|----------|-------------|------------|-------------|------------|
|                              |    | TAMB sayısı | MRS-30°C | MRS-42°C | M-17 - 30°C | M-17- 42°C | Maya sayısı | Küf sayısı |
| <b>Peynir örneği (A)</b>     | 3  | 12,018**    | 25,525** | 13,973** | 0,413       | 8,461**    | 3,386*      | 2,446      |
| <b>Olgunlaşma süresi (B)</b> | 6  | 0,736       | 2,884*   | 8,463**  | 0,571       | 3,393*     | 5,442**     | 17,618**   |
| <b>AxB</b>                   | 18 | 0,974       | 1,881*   | 0,531    | 0,408       | 0,514      | 0,467       | 0,785      |
| <b>Hata</b>                  | 56 |             |          |          |             |            |             |            |
| <b>Genel</b>                 | 84 |             |          |          |             |            |             |            |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli

#### 4.3.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TAMB sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük TAMB sayısı (6,77 log kob/g) çiğ süttten starter kültür kullanmaksızın üretilen kontrol örneğinde olgunlaşma periyodunun 180. gününde, en yüksek TAMB sayısı (7,83 log kob/g) ise starter kültüre ilaveten *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olgunlaşmanın 7. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, TAMB sayıları üzerinde örnekler arasındaki farklılıklar  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur. TAMB sayılarının olgunlaşma süresince değişimi ile söz konusu parametre üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisinin istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Çizelge 4.4). Kaşar peynir örneklerinin TAMB sayıları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir.

**Çizelge 4.5.** Kaşar peyniri örneklerine ait TAMB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | TAMB sayısı (log kob/g)* |
|------------------|----|--------------------------|
| A                | 21 | 7,02±0,26 <sup>c</sup>   |
| B                | 21 | 7,05±0,36 <sup>c</sup>   |
| C                | 21 | 7,59±0,35 <sup>a</sup>   |
| D                | 21 | 7,29±0,38 <sup>b</sup>   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları incelendiğinde; en yüksek ortalama TAMB sayısının (7,59 log kob/g) primer starter kültürlerle *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı olarak kullanıldığı C örneğinde, en düşük ortalama TAMB sayısının (7,02 log kob/g) ise A (kontrol) örneğinde belirlendiği görülmektedir. Olgunlaşma süresince C örneğinde TAMB sayılarının daha yüksek olduğu, D örneğin de ise özellikle 30. günden sonra TAMB sayılarında belirgin düzeyde artış olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu durumun, söz konusu örnekte primer starter kültüre ek olarak *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak ilave edilmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde; Antonsson *et al.* (2002), yardımcı kültür ilave edilen peynir örneklerindeki TAMB sayılarının olgunlaşma süresince kontrol örneğinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde hafif dalgalanmalar görülmekle birlikte, TAMB sayılarının stabil olduğu tespit edilmiştir. Bu araştırmada elde edilen TAMB sayıları Var *et al.* (2006), Şengül vd (2010) ile Cetinkaya and Atasever (2015) tarafından Kaşar peynirlerinde belirlenen değerlerle benzer bulunmuştur.

#### 4.3.2. MRS agarda gelişen mezofilik laktik asit bakteri sayıları

Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait MRS agarda gelişen en düşük mezofilik LAB sayısı (6,10 log kob/g) B örneğinde olgunlaşma periyodunun 180. gününde, en yüksek sayı (7,67 log kob/g) ise C örneğinde olgunlaşmanın başlangıcında belirlenmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, yardımcı kültürlerin canlı ve sonike edilmiş olarak ilavesinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısını önemli düzeyde ( $p<0,01$ ) etkilediği belirlenmiştir. Aynı zamanda olgunlaşma süresi değişkeni ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi de istatistiksel olarak önemli ( $p<0,05$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.4). Kaşar peynir örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayıları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.6'da, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.7'de verilmiştir.

**Çizelge 4.6.** Kaşar peyniri örneklerine ait MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı<br>(log kob/g)* |
|------------------|----|---------------------------------------------------------|
| A                | 21 | 6,70±0,39 <sup>c</sup>                                  |
| B                | 21 | 6,68±0,48 <sup>c</sup>                                  |
| C                | 21 | 7,47±0,32 <sup>a</sup>                                  |
| D                | 21 | 7,14±0,37 <sup>b</sup>                                  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait en düşük ortalama mezofilik LAB sayısı (6,68 log kob/g) pastörize süttten starter kültür kullanılarak üretilen B örneğinde, en yüksek ortalama mezofilik LAB sayısı ise (7,47 log kob/g) C örneğinde tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısının C örneğinde fark edilir düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu durumun, C örneğine *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak ilave edilmiş olmasından

kaynaklandığı düşünülmektedir. Sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış suşların kullanıldığı D örneğinde ise başlangıç MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayılarının düşük olduğu, özellikle 60. günden itibaren mezofilik LAB sayısında önemli artışın görüldüğü ve olgunlaşma periyodunun sonunda C örneği ile benzer değerlere ulaştığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Bu durum sonikasyon uygulamasından etkilenmemiş *Lb. paracasei* bakteri hücrelerinin peynir ortamına adapte olarak çoğalmalarına bağlanabilir. Benzer şekilde; Di Cagno *et al.* (2012), *Lb. casei* LC01, *Lb. plantarum* CC3M8 ve *Lb. paracasei* CC3M35 suşlarına uygulanan sonikasyon işleminin ardından sağlam kalan hücrelerin olgunlaşma sırasında yeniden çoğaldığını ve sayılarını artırdıklarını bildirmişlerdir. Budinich *et al.* (2011) farklı sürelerde olgunlaştırılmış (2, 6 ve 8 ay) Cheddar peynirinden hazırlanan model sistemlerde *Lb. paracasei* ATCC 334 suşunun gelişimini incelemişler, söz konusu suşun diausik benzeri bir gelişme kurvesi gösterdiğini ve bu nedenle 8 ay olgunlaştırılmış peynir modelinde laktoz, galaktoz ve sitrat gibi enerji kaynaklarının azalmasına rağmen *Lb. paracasei* ATCC 334 suşunun gelişiminin sınırlanmadığını bildirmişlerdir. Bilindiği üzere diausik gelişme kurvesinde mikroorganizmalar öncelikle kendileri için en uygun karbon kaynağını (çoğunlukla glukoz) kullanmakta ve başlangıç gelişme kurveleri standart mikroorganizmaların kurvelerine benzerlik göstermektedir. Ancak bu tip mikroorganizmalarda durağan fazı ikinci bir lag fazı olup, bu evrede besiyeri ortamında bulunan farklı bir karbon kaynağını kullanabilmek için gerekli enzimlerin sentezini gerçekleştirmektedirler.

Nitekim; Sgarbi *et al.* (2013), sadece sonikasyon işlemiyle lize edilen *Lb. helveticus* suşlarının bulunduğu besiyeri ortamına inoküle edilen *Lb. casei* ve *Lb. rhamnosus* suşlarının gelişme gösterdiklerini ve söz konusu suşların gelişiminin *Lb. helveticus* suşlarının lize olmasıyla ortaya çıkan parçalanma ürünlerini besin kaynağı olarak kullanılmasıyla ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Demers-Mathieu *et al.* (2016), *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. paracasei/casei* ve *Lb. plantarum* izolatları kullanarak üretmiş oldukları az yağlı Cheddar peynirinde baskılama işleminden itibaren bakteri sayısındaki en yüksek artışın *Lb. paracasei/casei* izolatı ile üretilen peynirlerde sağlandığını ve 120 günlük olgunlaşma süresince de sayının korunduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmada; elde edilen sonuçlar Budinich *et al.* (2011)

ve Demers-Mathieu *et al.* (2016) tarafından belirlenen araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir.

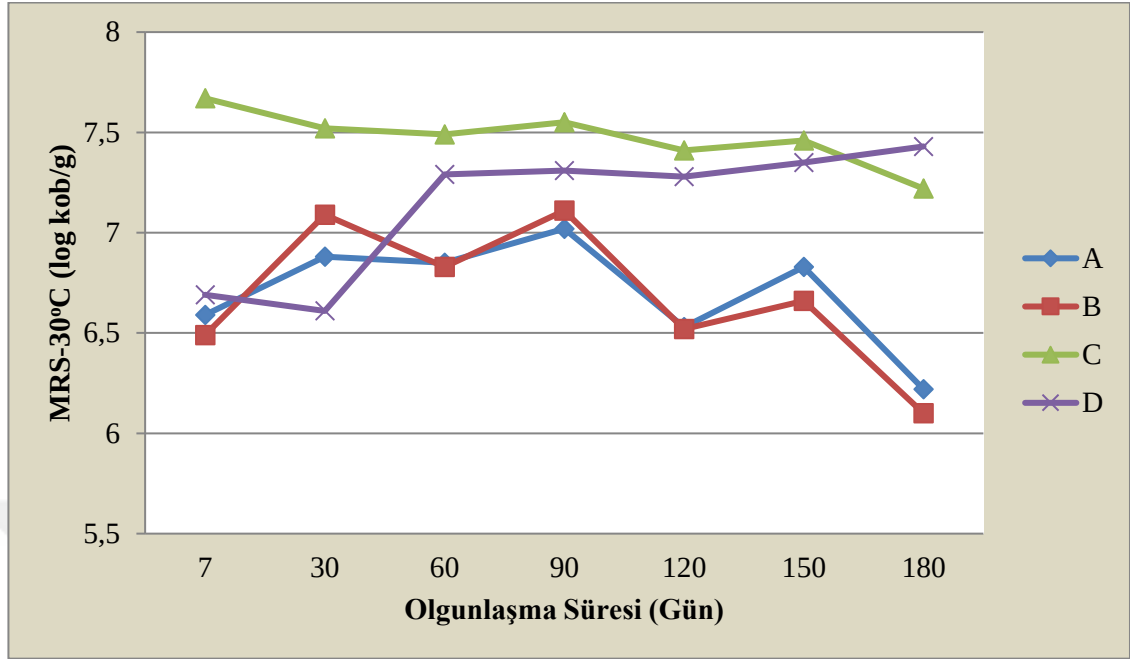
**Çizelge 4.7.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısı (log kob/g)* |
|-------------------------|----|------------------------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 6,86± 0,63 <sup>bc</sup>                             |
| 30                      | 12 | 7,03± 0,58 <sup>abc</sup>                            |
| 60                      | 12 | 7,12±0,38 <sup>ab</sup>                              |
| 90                      | 12 | 7,25±0,25 <sup>a</sup>                               |
| 120                     | 12 | 6,94±0,48 <sup>abc</sup>                             |
| 150                     | 12 | 7,07±0,43 <sup>ab</sup>                              |
| 180                     | 12 | 6,74±0,65 <sup>c</sup>                               |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşma sürelerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, genel olarak peynir örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayılarının olgunlaşma periyodunun 90. gününe kadar arttığı, olgunlaşmanın 120-180. günlerinde ise artış/azalışların olduğu ve bu dalgalanmaların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir.

Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayılarına ait peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.1’de görülmektedir.



**Şekil 4.1.** Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayıları üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Şekil 4.1 incelendiğinde, MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayısının olgunlaşma süresince A ve B örneklerinde benzer bir değişim gösterdiği, C örneğinde sayının 180. günde bir miktar azalma ile birlikte genel olarak sabit kaldığı görülmektedir. D örneğinde ise başlangıçtaki sayının 30. günde belirgin şekilde artış gösterdiği, daha sonra stabil kaldığı belirlenmiştir.

#### 4.3.3. MRS agarda gelişen termofilik laktik asit bakteri sayıları

Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen termofilik LAB sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük termofilik LAB sayısı (4,73 log kob/g) kontrol (A) örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde, en yüksek termofilik LAB sayısı (7,47 log kob/g) ise C örneğine ait taze peynirlerde belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, MRS agarda gelişen termofilik LAB sayıları üzerine peynir örneği ile olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi  $p < 0,01$  düzeyinde önemli, buna karşılık peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisinin istatistiksel

olarak önemli olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.4). Kaşar peyniri örneklerinin MRS agarda gelişen termofilik LAB sayıları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.8’de, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.9’da verilmiştir.

**Çizelge 4.8.** Kaşar peyniri örneklerine ait MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı<br>(log kob/g)* |
|------------------|----|----------------------------------------------------------|
| A                | 21 | 5,36±0,71 <sup>c</sup>                                   |
| B                | 21 | 6,49±0,66 <sup>a</sup>                                   |
| C                | 21 | 6,42±0,85 <sup>a</sup>                                   |
| D                | 21 | 5,87±0,86 <sup>b</sup>                                   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait en yüksek ortalama MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı B ve C örneklerinde, en düşük sayı ise A ve D örneklerinde belirlenmiştir (Çizelge 4.8). Olgunlaşma süresince kontrol örneğine ait termofilik LAB’leri sayısının düşük olduğu görülmekte, bu durumun kontrol örneğine herhangi bir primer veya sekonder (yardımcı starter) kültür katılmamış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Oysa B örneğine primer starter kültür olarak *S. thermophilus*+*Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* bakterileri, C ve D örneklerine ise primer starter kültüre ilaveten *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşları canlı ve zayıflatılmış olarak ilave edilmiştir. *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarının termofilik olması ve bu bakterilerin 42°C’de inkübe edilen MRS agarda sayılmaları özellikle C örneğinde termofilik LAB sayılarının yüksek olmasının nedeni olarak görülebilir. D örneğinde ise *Lb. helveticus* DPC 4571 suşuna sonikasyon uygulanması nedeniyle başlangıç sayısının C örneğine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde; Calasso *et al.* (2015), *Lb. casei* LC01, *W. cibaria* 1XF5, *H. alvei* Moller ATCC 51815 ve *D. hansenii* LCF mikroorganizmalarına ait hücresiz ekstraktlar ile ürettikleri peynirlerde termofilik kok ve basillerin olgunlaşmanın başlangıcından itibaren yüksek sayılarda bulunduğunu, bu durumun peynir üretiminde primer starter olarak *S. thermophilus*+*Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarını kullanılmış olmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.9.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı (log/kob/g)* |
|-------------------------|----|-------------------------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 6,67± 0,89 <sup>a</sup>                               |
| 30                      | 12 | 6,57± 0,90 <sup>ab</sup>                              |
| 60                      | 12 | 6,32±0,73 <sup>abc</sup>                              |
| 90                      | 12 | 6,08±0,68 <sup>bcd</sup>                              |
| 120                     | 12 | 5,85±0,72 <sup>cd</sup>                               |
| 150                     | 12 | 5,60±0,72 <sup>de</sup>                               |
| 180                     | 12 | 5,16±0,65 <sup>e</sup>                                |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, genel olarak peynir örneklerinin MRS agarda gelişen termofilik LAB sayılarının olgunlaşma süresince düzenli olarak azaldığı ve bu azalmanın tüm olgunlaşma periyotlarında istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Olgunlaşma süresince özellikle C ve D örneklerinde MRS agarda gelişen termofilik LAB sayılarındaki azalmanın daha belirgin olduğu, bakteri sayılarının olgunlaşmanın 180. gününde A, B, C ve D örneklerinde sırasıyla 0,93, 0,98, 2,30 ile 1,83 log kob/g düzeyinde azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). Kenny *et al.* (2006), *Lb. helveticus* DPC 5353, *Lb. helveticus* DPC 5364 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 olmak üzere üç farklı *Lb. helveticus* suşunun Cheddar peynirinin olgunlaşması sırasında otoliz olma durumlarını incelemişler ve DPC 5353 suşunun nerdeyse hiç otoliz olmadığını, buna karşılık 60 günlük olgunlaşma periyodu sonunda DPC 5364 suşunun 1-2 logaritmik, DPC 4571 suşunun ise 3-4 logaritmik birim azalma gösterdiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde; Hannon *et al.* (2003), üç farklı starter kültür kombinasyonu (*Lc. lactis* 223-227, *Lc. lactis* 223-227+*Lb. helveticus* DPC 4571 ve sadece *Lb. helveticus* DPC 4571) kullanarak üretmiş oldukları Cheddar peynirlerinde *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun hızlıca otoliz olduğunu tespit etmişlerdir. Mevcut veriler ışığında *Lb. paracasei* ATCC 334 suşunun aksine, *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun sonikasyon işleminin uygulandığı D örneğinde hem de canlı ilave edildiği C örneğinde otoliz olduğu düşünülebilir. Aynı zamanda termofilik LAB sayısındaki azalma üzerinde doğal flora ile primer starter olarak kullanılan bakterilerinde katkıda bulunduğu düşünülmektedir.

#### 4.3.4. M-17 agarda gelişen mezofilik laktik asit bakteri sayıları

Kaşar peyniri örneklerinin M-17 agarda gelişen mezofilik LAB sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait M-17 agarda gelişen en düşük LAB sayısı (6,12 log kob/g) kontrol Kaşar peyniri örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde, en yüksek LAB sayısı ise (7,14 log kob/g) yine kontrol Kaşar peyniri örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi sonucunda, Kaşar peyniri üretiminde uygulanan muamelelerin peynir örneklerine ait M-17 agarda gelişen mezofilik LAB sayısı üzerinde önemli etki oluşturmadığı belirlenmiştir. Aynı zamanda, söz konusu bakteri sayısı üzerine olgunlaşma süresi değişkeni ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Çizelge 4.4). Çizelge 4.3 incelendiğinde, peynir örneklerine ait M-17 agarda gelişen mezofilik LAB sayılarının genel olarak tüm örneklerde benzer olduğu ve olgunlaşma süresince artış/azalışlarla birlikte önemli düzeyde değişiklik göstermediği görülmektedir.

#### 4.3.5. M-17 agarda gelişen termofilik laktik asit bakteri sayıları

Kaşar peyniri örneklerinin M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait M-17 agarda gelişen en düşük termofilik LAB sayısı (5,49 log kob/g) kontrol örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde, en yüksek termofilik LAB sayısı (7,04 log kob/g) ise olgunlaşmanın 30. gününde C örneğinde belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayıları üzerinde peynir örneği değişkeninin etkisi  $p < 0,01$  düzeyinde, olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ise  $p < 0,05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerinin M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayıları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.10'da, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.11'de verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** Kaşar peyniri örneklerine ait M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı<br>(log kob/g)* |
|------------------|----|-----------------------------------------------------------|
| A                | 21 | 5,94±0,63 <sup>c</sup>                                    |
| B                | 21 | 6,51±0,50 <sup>ab</sup>                                   |
| C                | 21 | 6,65±0,47 <sup>a</sup>                                    |
| D                | 21 | 6,23±0,41 <sup>bc</sup>                                   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, M-17 agarda gelişen en düşük ortalama termofilik LAB sayısı (5,94 log kob/g) kontrol (A) örneğinde, en yüksek ortalama LAB sayısı (6,65 log kob/g) ise starter kültürlerle birlikte *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde tespit edilmiştir. Söz konusu durumun diğer örneklerin aksine kontrol örneğine herhangi bir starter kültür ilave edilmemiş olmasından kaynaklandığı ve mevcut LAB'lerinin haşlama işlemi sonrası canlı kalan doğal mikrofloradan oluştuğu düşünülmektedir.

**Çizelge 4.11.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayısı<br>(log kob/g)* |
|-------------------------|----|-----------------------------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 6,64±0,42 <sup>a</sup>                                    |
| 30                      | 12 | 6,57±0,70 <sup>a</sup>                                    |
| 60                      | 12 | 6,48±0,44 <sup>a</sup>                                    |
| 90                      | 12 | 6,31±0,41 <sup>a</sup>                                    |
| 120                     | 12 | 6,22±0,52 <sup>ab</sup>                                   |
| 150                     | 12 | 6,23±0,64 <sup>ab</sup>                                   |
| 180                     | 12 | 5,86±0,54 <sup>b</sup>                                    |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Tüm örneklerde M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayılarının olgunlaşma süresince genel olarak azaldığı ve bu azalmanın olgunlaşma periyodunun 120. gününden itibaren istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

#### 4.3.6. Maya ve küf sayıları

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen maya ve küf sayıları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük maya sayısı (3,07 log kob/g) pastörize süttten sadece primer starter kültür kullanılarak üretilen B örneğinde, en yüksek maya sayısı (4,36 log kob/g) ise kontrol örneğinde belirlenmiştir. Tüm taze peynir örneklerinde küf sayıları tespit edilebilir seviyenin altında ( $< 2$  log kob/g) belirlenmiş olup, olgunlaşma süresince en yüksek küf sayısı (3,00 log kob/g) kontrol örneğinde tespit edilmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, maya sayıları üzerinde peynir örneği değişkeninin etkisi  $p<0,05$  düzeyinde, olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ise  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.4). Küf sayıları üzerinde peynir örnekleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemsiz bulunurken, söz konusu mikrobiyal grubun olgunlaşma süresince değişiminin  $p<0,01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Kaşar peyniri örneklerinin maya ve küf sayıları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.12'de, olgunlaşma süreleri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.13'de verilmiştir.

**Çizelge 4.12.** Kaşar peyniri örneklerine ait maya ve küf sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Maya sayısı<br>(log kob/g)* | Küf sayısı<br>(log kob/g)* |
|------------------|----|-----------------------------|----------------------------|
| A                | 21 | 3,95±0,30 <sup>a</sup>      | 2,65±0,43 <sup>a</sup>     |
| B                | 21 | 3,75±0,48 <sup>ab</sup>     | 2,44±0,38 <sup>a</sup>     |
| C                | 21 | 3,64±0,34 <sup>b</sup>      | 2,59±0,38 <sup>a</sup>     |
| D                | 21 | 3,83±0,28 <sup>ab</sup>     | 2,51±0,37 <sup>a</sup>     |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama maya sayısının (3,95 log kob/g) kontrol (A) örneğinde, en düşük ortalama maya sayısının (3,64 log kob/g) ise yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğinde belirlendiği, B ve D örneklerine ait maya sayılarının ise benzer olduğu görülmektedir. Küf sayıları açısından,

peynir örnekleri arasında istatistiksel olarak farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir ( $p>0,05$ ). Tüm örneklerin vakum ambalajlanmış olması ve dolayısıyla oksijen ile temaslarının kesilmiş olması küf gelişimini önemli ölçüde sınırlandırmıştır. Benzer şekilde; Var *et al.* (2006), farklı ambalaj materyalleri (PVC ve Sperdex-Ref.) ile ambalajlanan Kaşar peyniri örneklerinde, ilk iki aylık olgunlaştırma süresince küf gelişiminin gözlenmediğini, buna karşılık 4. ve 5. aylarda özellikle kontrol (ambalajlanmamış), PVC ve Sperdex-Ref. ile ambalajlanmış örneklerin küf sayılarında artış görüldüğünü, natamisin içeren Sperdex-Ref. ve PVC ile kaplanan örneklerde ise küf gelişiminin görülmeyişini bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.13.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait maya ve küf sayısı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Olgunlaşma Süresi (Gün)</b> | <b>n</b> | <b>Maya sayısı (log kob/g)*</b> | <b>Küf sayısı (log kob/g)*</b> |
|--------------------------------|----------|---------------------------------|--------------------------------|
| <b>Taze (7)</b>                | 12       | 3,34±0,33 <sup>b</sup>          | <2±0,00 <sup>c</sup>           |
| <b>30</b>                      | 12       | 3,73±0,32 <sup>a</sup>          | 2,35±0,32 <sup>b</sup>         |
| <b>60</b>                      | 12       | 4,01±0,40 <sup>a</sup>          | 2,69±0,34 <sup>a</sup>         |
| <b>90</b>                      | 12       | 3,92±0,34 <sup>a</sup>          | 2,65±0,32 <sup>a</sup>         |
| <b>120</b>                     | 12       | 3,89±0,25 <sup>a</sup>          | 2,71±0,29 <sup>a</sup>         |
| <b>150</b>                     | 12       | 3,87±0,27 <sup>a</sup>          | 2,80±0,20 <sup>a</sup>         |
| <b>180</b>                     | 12       | 3,80±0,32 <sup>a</sup>          | 2,74±0,22 <sup>a</sup>         |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşma süresince en düşük maya ve küf sayıları 7. günde belirlenmiş, 90. güne kadar bir miktar artış gözlenmiş, sonraki dönemlerde ise sabit kaldığı önemli bir değişim sergilemediği belirlenmiştir. Maya ve küflerin starter kültürün bir parçası olarak eklenilmemesine rağmen, peynir işleme ortamından veya ekipmanlardan bulaşabileceği bildirilmiştir (Manolopoulou *et al.* 2003).

#### 4.3.7. Koliform grubu bakteri sayısı

Analiz edilen tüm Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince koliform grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin ( $<1$  log kob/g) altında bulunmuştur (Çizelge 4.3). Bu durumun, üretimde kullanılan sütün pastörize edilmesi ve peynir üretimi

sırasında uygulanan haşlama işleminin (72°C’de 1 d) koliform grubu bakteri sayısını azaltmada etkili olmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Nitekim; Var *et al.* (2006), farklı şekilde ambalajladıkları ve geleneksel yöntemle ürettikleri Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince koliform grubu bakteri tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Sert *et al.* (2007), geleneksel yöntemle ve starter kültür kullanarak ürettikleri Kaşar peynirlerinde olgunlaşma süresince *E. coli*’nin saptanamadığını belirtmişlerdir. Şengül vd (2010), çiğ süttten yapılan Kaşar peynir örneklerinde koliform grubu bakteriye rastlanılmadığını bildirmişlerdir.

#### 4.4. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinde yapılan fizikokimyasal analiz sonuçları standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.14’te, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.15’te verilmiştir.

**Çizelge 4.14.** Kaşar peyniri örneklerinde yapılan bazı fizikokimyasal analiz sonuçları

| Fizikokimyasal Özellikler | Olgunlaşma Süresi (Gün) | Peynirler  |            |            |            |
|---------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|------------|
|                           |                         | A          | B          | C          | D          |
| Kurumadde (%)             | 7                       | 62,54±1,30 | 61,61±1,04 | 61,02±1,57 | 60,67±0,75 |
|                           | 30                      | 63,78±0,74 | 62,14±0,84 | 62,01±1,42 | 61,48±0,65 |
|                           | 60                      | 64,49±0,81 | 62,56±0,66 | 62,77±1,13 | 62,32±0,52 |
|                           | 90                      | 64,44±0,31 | 62,65±0,46 | 63,13±0,34 | 62,67±0,40 |
|                           | 120                     | 64,79±0,43 | 63,33±0,30 | 63,54±0,74 | 62,98±0,50 |
|                           | 150                     | 65,22±0,68 | 63,84±0,45 | 63,96±0,71 | 63,53±0,47 |
|                           | 180                     | 65,51±0,51 | 64,12±0,16 | 64,33±0,57 | 63,81±0,37 |
| Yağ (%)                   | 7                       | 29,75±0,43 | 30,00±1,00 | 29,67±1,15 | 30,00±0,50 |
|                           | 30                      | 30,67±0,63 | 30,75±1,09 | 30,17±1,26 | 30,50±0,25 |
|                           | 60                      | 31,08±0,14 | 30,67±0,80 | 30,42±0,72 | 30,50±0,50 |
|                           | 90                      | 31,25±0,25 | 30,92±0,80 | 30,83±0,58 | 30,83±0,29 |
|                           | 120                     | 31,42±0,29 | 31,17±0,58 | 31,17±0,38 | 31,08±0,28 |
|                           | 150                     | 31,67±0,28 | 31,42±0,80 | 31,33±0,38 | 31,33±0,29 |
|                           | 180                     | 31,83±0,29 | 31,50±0,50 | 31,50±0,25 | 31,42±0,14 |
| Protein (%)               | 7                       | 27,15±0,54 | 26,51±0,41 | 25,92±1,07 | 25,59±1,08 |
|                           | 30                      | 27,96±0,81 | 27,17±0,47 | 27,02±1,17 | 26,62±0,54 |
|                           | 60                      | 28,76±0,56 | 27,38±0,52 | 27,77±0,99 | 27,35±0,24 |
|                           | 90                      | 28,66±0,28 | 27,45±0,52 | 27,90±0,73 | 27,41±0,17 |
|                           | 120                     | 28,74±0,25 | 27,76±0,39 | 28,02±0,82 | 27,61±0,15 |
|                           | 150                     | 28,83±0,42 | 27,84±0,53 | 28,20±0,75 | 27,84±0,64 |
|                           | 180                     | 29,05±0,25 | 27,99±0,54 | 28,29±0,76 | 27,80±0,36 |

Çizelge 4.14. (devam)

|                            |     |            |            |            |            |
|----------------------------|-----|------------|------------|------------|------------|
| <b>Tuz (%)</b>             | 7   | 3,00±0,24  | 3,16±0,36  | 3,16±0,51  | 3,06±0,15  |
|                            | 30  | 3,31±0,18  | 3,27±0,24  | 3,47±0,30  | 3,27±0,24  |
|                            | 60  | 3,70±0,29  | 3,47±0,18  | 3,58±0,18  | 3,46±0,06  |
|                            | 90  | 3,72±0,42  | 3,58±0,18  | 3,47±0,18  | 3,63±0,20  |
|                            | 120 | 3,97±0,24  | 3,86±0,20  | 3,78±0,29  | 3,82±0,13  |
|                            | 150 | 4,13±0,36  | 4,05±0,24  | 3,94±0,24  | 3,93±0,18  |
|                            | 180 | 4,25±0,26  | 4,13±0,24  | 4,05±0,29  | 4,03±0,18  |
| <b>Kurumaddede yağ (%)</b> | 7   | 47,57±0,33 | 48,68±0,85 | 48,62±1,54 | 49,45±1,17 |
|                            | 30  | 48,07±0,55 | 49,47±1,14 | 48,64±1,39 | 49,61±0,65 |
|                            | 60  | 48,20±0,52 | 49,01±0,85 | 48,46±1,26 | 48,94±0,40 |
|                            | 90  | 48,49±0,28 | 49,34±1,07 | 48,84±1,17 | 49,19±0,33 |
|                            | 120 | 48,49±0,32 | 49,21±0,73 | 49,05±0,82 | 49,35±0,26 |
|                            | 150 | 48,56±0,45 | 49,21±1,02 | 48,99±0,90 | 49,31±0,36 |
|                            | 180 | 48,59±0,06 | 49,12±0,67 | 48,96±0,65 | 49,23±0,33 |
| <b>Kurumaddede tuz (%)</b> | 7   | 4,78±0,32  | 5,12±0,52  | 5,16±0,71  | 5,03±0,22  |
|                            | 30  | 5,19±0,29  | 5,26±0,40  | 5,58±0,38  | 5,32±0,38  |
|                            | 60  | 5,73±0,39  | 5,54±0,26  | 5,70±0,18  | 5,55±0,15  |
|                            | 90  | 5,77±0,63  | 5,71±0,25  | 5,49±0,28  | 5,79±0,35  |
|                            | 120 | 6,13±0,34  | 6,09±0,29  | 5,94±0,40  | 6,06±0,26  |
|                            | 150 | 6,33±0,49  | 6,34±0,35  | 6,15±0,31  | 6,19±0,33  |
|                            | 180 | 6,48±0,33  | 6,44±0,36  | 6,29±0,43  | 6,32±0,30  |
| <b>Asitlik (%)</b>         | 7   | 0,504±0,04 | 0,453±0,14 | 0,664±0,04 | 0,471±0,07 |
|                            | 30  | 0,573±0,07 | 0,582±0,12 | 0,843±0,03 | 0,642±0,04 |
|                            | 60  | 0,558±0,10 | 0,645±0,08 | 0,762±0,04 | 0,708±0,04 |
|                            | 90  | 0,541±0,04 | 0,716±0,03 | 0,894±0,11 | 0,759±0,10 |
|                            | 120 | 0,473±0,06 | 0,739±0,10 | 0,948±0,06 | 0,882±0,02 |
|                            | 150 | 0,506±0,05 | 0,752±0,14 | 0,896±0,06 | 0,970±0,07 |
|                            | 180 | 0,525±0,21 | 0,822±0,22 | 1,032±0,09 | 0,996±0,15 |
| <b>pH</b>                  | 7   | 5,22±0,05  | 5,23±0,12  | 5,11±0,02  | 5,23±0,05  |
|                            | 30  | 5,19±0,04  | 5,17±0,08  | 5,07±0,02  | 5,14±0,05  |
|                            | 60  | 5,20±0,10  | 5,15±0,06  | 5,12±0,03  | 5,11±0,05  |
|                            | 90  | 5,24±0,06  | 5,17±0,04  | 5,11±0,01  | 5,13±0,04  |
|                            | 120 | 5,31±0,05  | 5,13±0,05  | 5,07±0,06  | 5,11±0,02  |
|                            | 150 | 5,30±0,06  | 5,15±0,05  | 5,06±0,01  | 5,00±0,10  |
|                            | 180 | 5,32±0,04  | 5,13±0,09  | 4,98±0,10  | 4,99±0,10  |

Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır.

**Çizelge 4.15.** Kaşar peyniri örneklerinde yapılan fizikokimyasal analiz değerlerine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları         | SD | F değeri  |         |          |          |                 |                 |          |          |
|------------------------------|----|-----------|---------|----------|----------|-----------------|-----------------|----------|----------|
|                              |    | Kurumadde | Yağ     | Protein  | Tuz      | Kurumaddede yağ | Kurumaddede tuz | Asitlik  | pH       |
| <b>Peynir örneği (A)</b>     | 3  | 25,546**  | 1,409   | 15,858** | 0,897    | 6,494**         | 0,033           | 47,347** | 35,191** |
| <b>Olgunlaşma süresi (B)</b> | 6  | 22,557**  | 11,202* | 14,682** | 24,739** | 0,611           | 20,909**        | 13,945** | 2,500*   |
| <b>AxB</b>                   | 18 | 0,198     | 0,166   | 0,250    | 0,338    | 0,242           | 0,389           | 2,513*   | 2,715*   |
| <b>Hata</b>                  | 56 |           |         |          |          |                 |                 |          |          |
| <b>Genel</b>                 | 84 |           |         |          |          |                 |                 |          |          |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli

#### 4.4.1. Kurumadde miktarı

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumadde miktarları Çizelge 4.14'te, varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.15'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kurumadde miktarı (%60,67) sonike edilmiş yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde olgunlaşmanın başlangıcında, en yüksek kurumadde oranı (%65,51) ise kontrol (A) örneğinde olgunlaşmanın sonunda tespit edilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, peynir örneklerinin kurumadde miktarları üzerinde hem peynir örneği hem de olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ( $p<0,01$ ), buna karşılık peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi önemsiz bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerine ait kurumadde ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.16'da, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.17'de verilmiştir.

**Çizelge 4.16.** Kaşar peyniri örneklerine ait kurumadde ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Kurumadde miktarı (%)*  |
|------------------|----|-------------------------|
| A                | 21 | 64,40±1,13 <sup>a</sup> |
| B                | 21 | 62,89±1,01 <sup>b</sup> |
| C                | 21 | 62,97±1,39 <sup>b</sup> |
| D                | 21 | 62,49±1,15 <sup>b</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Kaşar peyniri örneklerine ait en yüksek ortalama kurumadde miktarı (%64,40) kontrol örneğinde, en düşük ortalama kurumadde miktarı (%62,49) ise sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde belirlenmiştir. Primer/yardımcı kültür kullanılarak üretilen Kaşar peynirlerinin (B, C ve D) kurumadde değerlerinin birbiriyle benzer olduğu, buna karşılık kontrol (A) örneğinde kurumadde miktarının biraz daha yüksek olduğu görülmektedir. Benzer şekilde; Celik *et al.* (2018), farklı ticari starter kültür (kontrol, Choozit <sup>TM</sup> MA 11, BT ve Feta A) solüsyonlarına daldırılan Kaşar peyniri örneklerinde kurumadde değerlerinin %47,50-%51,43 arasında

değiştiğini, BT ve MA kültürlerinin kullanıldığı örnekler arasında farklılığın bulunmadığını bildirmişlerdir. Uzun (2006), primer starter kültüre ilaveten ekstrüzyon ve emülsiyon yöntemleriyle kapsüle edilmiş *Lb. acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidus* probiyotik suşlarını kullanarak ürettiği Kaşar peynirlerinin kurumadde değerlerinin birbirlerine yakın olduğunu ve olgunlaşma süresince bir miktar artış kaydedildiğini bildirmiştir. Guidone *et al.* (2015), *S. thermophilus* ile bu suşa ilaveten *Lc. lactis*+*Lb. helveticus*+*Lb. paracasei* yardımcı kültürlerini kullanarak üretmiş oldukları Scamorza (pasta filata tip peynir) peynirinde pH hariç peynirin bileşiminin önemli derecede etkilenmediğini ifade etmişlerdir. Yarlagadda *et al.* (2014), mikrofludizasyon tekniği ile zayıflatılmış Laktokok suşlarını kullanarak üretmiş oldukları Gouda peynirinde yardımcı kültür ilavesinin nem ve pH değerleri dışında peynirin kimyasal kompozisyonunu değiştirmedeğini bildirmişlerdir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültür kullanımının peynir örneklerinin kurumadde değerleri üzerinde çok önemli bir etkisinin bulunmadığı söylenebilir.

**Çizelge 4.17.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kurumadde ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Olgunlaşma Süresi (Gün)</b> | <b>n</b> | <b>Kurumadde miktarı (%)<sup>*</sup></b> |
|--------------------------------|----------|------------------------------------------|
| <b>Taze (7)</b>                | 12       | 61,46±1,27 <sup>e</sup>                  |
| <b>30</b>                      | 12       | 62,35±1,21 <sup>d</sup>                  |
| <b>60</b>                      | 12       | 63,04±1,13 <sup>c</sup>                  |
| <b>90</b>                      | 12       | 63,22±0,83 <sup>c</sup>                  |
| <b>120</b>                     | 12       | 63,66±0,84 <sup>bc</sup>                 |
| <b>150</b>                     | 12       | 64,14±0,84 <sup>ab</sup>                 |
| <b>180</b>                     | 12       | 64,44±0,76 <sup>a</sup>                  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en düşük ortalama kurumadde miktarının (%61,46) olgunlaşmanın başlangıcında, en yüksek ortalama kurumadde miktarının (%64,44) olgunlaşmanın 180. gününde belirlendiği görülmektedir. Olgunlaşma süresince kurumadde miktarlarının yavaş bir şekilde artış gösterdiği ve bu durumun her ne kadar örnekler vakum ambalajlanmış olsa da bir miktar nem kaybının görülmüş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde; Çetinkaya

(2012), vakum ambalajlanmış Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince kurumadde miktarlarının artış gösterdiğini bildirmiştir. Güven ve Görmez (2004), vakum ambalajlanmış ve herhangi ambalaj materyali kullanılmaksızın olgunlaştırılan Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince nem kaybına bağlı olarak kurumadde değerlerinde artış olduğunu, vakum ambalajlanmış örneklerde bu artışın daha az düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Gemici and Öner (2017), transglutaminaz enzimi ilavesiyle üretilen vakum ambalajlanmış Kaşar peyniri örneklerinde kurumadde değerlerinin olgunlaşma süresince %45,8 ile %61,0 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde olgunlaştırılmış Kaşar peyniri için nem miktarının en çok %40 olabileceği hükmü yer almakta, bu açıdan incelendiğinde olgunlaşma süresince tüm peynir örneklerinin tebliğde belirtilen değerlerle uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen kurumadde değerleri Tarakci and Kucukoner (2006), Uzun (2006), Tuncurk and Coskun (2007), Özer *et al.* (2008)'in Kaşar peynirlerinde belirledikleri kurumadde değerleri ile paralellik arz etmektedir.

#### 4.4.2. Yağ miktarı

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen yağ miktarları Çizelge 4.14'te, varyans analizi sonuçları ise Çizelge 4.15'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük yağ miktarı (%29,67) olgunlaşmanın 7. gününde *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı olarak kullanıldığı C örneğinde, en yüksek yağ miktarı (%31,83) ise kontrol (A) örneğinde olgunlaşmanın başlangıcında tespit edilmiştir. Kaşar peynir örneklerine ait yağ miktarlarının ortalama %30-31 arasında değiştiği, diğer araştırmacılar tarafından Kaşar peynirinde belirlenen değerlerle de benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (Yıldırım *et al.* 2006; Tuncurk and Coskun 2007).

Varyans analizi test sonuçlarından, yağ miktarları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılığın istatistiksel açıdan önemli olmadığı, buna karşılık olgunlaşma süresince yağ miktarlarında görülen değişiminin  $p < 0,01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma sürelerine ait yağ miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir.

**Çizelge 4.18.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait yağ miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Olgunlaşma Süresi (Gün)</b> | <b>n</b> | <b>Yağ miktarı (%)*</b>  |
|--------------------------------|----------|--------------------------|
| <b>Taze (7)</b>                | 12       | 29,85±0,73 <sup>d</sup>  |
| <b>30</b>                      | 12       | 30,52±0,80 <sup>c</sup>  |
| <b>60</b>                      | 12       | 30,67±0,58 <sup>c</sup>  |
| <b>90</b>                      | 12       | 30,96±0,49 <sup>bc</sup> |
| <b>120</b>                     | 12       | 31,20±0,37 <sup>ab</sup> |
| <b>150</b>                     | 12       | 31,44±0,44 <sup>ab</sup> |
| <b>180</b>                     | 12       | 31,56±0,32 <sup>a</sup>  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en düşük ortalama yağ miktarı 7. günde belirlenmiş, olgunlaşma süresince yavaş ancak sürekli bir artış göstermiş, bu artışların istatistiksel olarak önemli ( $p<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, olgunlaşma süresince kurumadde miktarındaki artışa paralel olarak yağ miktarının da nispi olarak artmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde; Uzun (2006), probiyotik bakteri suşları kullanarak ürettiği Kaşar peyniri örneklerinde yağ içeriklerinde olgunlaşma süresince gözlenen değişimlerin kurumadde içeriklerindeki dalgalanmalardan kaynaklandığını bildirmiştir.

#### 4.4.3. Kurumaddede yağ oranı

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen kurumaddede yağ oranları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Buna göre; en düşük kurumaddede yağ oranı (%47,57) kontrol (A) örneğinde olgunlaşma süresinin 7. gününde, en yüksek kurumaddede yağ oranı (%49,61) sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, kurumaddede yağ oranları üzerinde peynir örneği değişkenin etkisi  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunurken, olgunlaşma süresi değişkeni ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz

bulunmuştur (Çizelge 4.15). Kaşar peyniri örneklerine ait kurumaddede yağ oranı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.19’da verilmiştir.

**Çizelge 4.19.** Kaşar peyniri örneklerine ait kurumaddede yağ oranları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Kurumaddede yağ oranı (%)* |
|------------------|----|----------------------------|
| A                | 21 | 48,28±0,48 <sup>b</sup>    |
| B                | 21 | 49,15±0,81 <sup>a</sup>    |
| C                | 21 | 48,79±0,98 <sup>a</sup>    |
| D                | 21 | 49,30±0,53 <sup>a</sup>    |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait kurumaddede yağ oranlarının primer starter ve yardımcı kültürlerin ilave edildiği B, C ve D örneklerinde istatistiksel olarak benzer olduğu, kontrol örneğinden ise farklı olduğu görülmektedir. Bu durumun, kontrol örneğine ait kurumadde ve yağ miktarlarının diğer örneklerden farklı olmasından kaynaklanmış olduğu düşünülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’nde peynirin kurumaddede yağ oranı en az %45 ise tam yağlı, %25-45 arasında ise yarım yağlı, %10-25 arasında ise az yağlı, %10’dan az ise yağsız peynir olarak sınıflandırıldığı bildirilmiştir. Bu durumda tüm peynir örneklerinin tam yağlı peynir sınıfına girdiği görülmektedir.

#### 4.4.4. Protein miktarı

Kaşar peyniri örneklerine ait protein miktarlarının olgunlaşma süresince değişimi Çizelge 4.14’te, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.15’te verilmiştir. Buna göre; peynir örneklerine ait en düşük protein miktarı (%25,59) D örneğinde olgunlaşma süresinin 7. gününde, en yüksek protein miktarı (%29,05) ise kontrol (A) örneğinde olgunlaşma süresinin sonunda belirlenmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, protein miktarları açısından hem peynir örnekleri arasındaki hem de olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak  $p<0,01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Ancak peynir örneği x olgunlaşma

süresi interaksiyonunun etkisi önemsiz ( $p>0,05$ ) bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerinin protein miktarı ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.20’de, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.21’de verilmiştir.

**Çizelge 4.20.** Kaşar peyniri örneklerine ait protein miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Protein miktarı (%) <sup>*</sup> |
|------------------|----|----------------------------------|
| A                | 21 | 28,45±0,75 <sup>a</sup>          |
| B                | 21 | 27,44±0,62 <sup>bc</sup>         |
| C                | 21 | 27,59±1,10 <sup>b</sup>          |
| D                | 21 | 27,18±0,89 <sup>c</sup>          |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarına göre, en yüksek ortalama protein miktarı (%28,45) kontrol (A) örneğinde, en düşük protein miktarı (%27,18) ise sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde belirlenmiştir. Peynir örneklerinin protein miktarı genellikle kurumadde oranı ile paralellik arz ettiğinden, bu durum kurumadde analiz sonuçlarındaki farklılıktan kaynaklanmaktadır (Çizelge 4.14). Kontrol örneğinde kurumadde miktarının yüksek olması, oransal olarak protein miktarının da yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir. Tüm Kaşar peyniri örneklerine ait protein miktarlarının ortalama %27-28 arasında değiştiği, Sert *et al.* (2007) ile Güven ve Görmez (2004) tarafından vakum ambalajlanmış Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen değerler ile paralellik arz ettiği belirlenmiştir.

**Çizelge 4.21.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait protein miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Protein miktarı (%)*    |
|-------------------------|----|-------------------------|
| <b>Taze (7)</b>         | 12 | 26,29±0,94 <sup>c</sup> |
| <b>30</b>               | 12 | 27,19±0,85 <sup>b</sup> |
| <b>60</b>               | 12 | 27,82±0,81 <sup>a</sup> |
| <b>90</b>               | 12 | 27,86±0,66 <sup>a</sup> |
| <b>120</b>              | 12 | 28,03±0,60 <sup>a</sup> |
| <b>150</b>              | 12 | 28,18±0,66 <sup>a</sup> |
| <b>180</b>              | 12 | 28,28±0,66 <sup>a</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma periyodunun başlangıcında %26,29 olan protein miktarı olgunlaşmanın 60. gününde %27,82'ye ulaşmış, 90-180. günlerde de bir miktar artış göstermiş, ancak bu artışların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Söz konusu durum, olgunlaşma süresince nem kaybına bağlı olarak kurumadde miktarlarında meydana gelen artışın protein miktarlarında da nispi artışa neden olmasına bağlanabilir. Nitekim; Calasso *et al.* (2015), *Lb. casei* LC01, *W. cibaria* 1XF5, *H. alvei* Moller ATCC 51815 ve *D. hansenii* LCF mikroorganizmalarına ait hücresiz ekstraktlar ile ürettikleri peynirlerde nem kaybına bağlı olarak olgunlaşma süresince protein ve yağ miktarlarında artış olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde; De Pasquale *et al.* (2014), olgunlaşma boyunca Caciocavallo (pasta filata tip) peynir örneklerindeki nem oranındaki azalışa bağlı olarak protein ve yağ miktarlarının arttığını ifade etmişlerdir.

#### 4.4.5. Tuz miktarı

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuz miktarları Çizelge 4.14'te, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.15'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük tuz miktarı (%3,00) taze kontrol peynirinde, en yüksek tuz miktarı (%4,25) yine kontrol örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde belirlenmiştir.

Yapılan varyans analizi sonuçlarından, tuz miktarları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıkların önemli olmadığı, buna karşılık olgunlaşma süresince tuz miktarlarındaki değişimin istatistiksel açıdan önemli ( $p<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait tuz miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.22’de verilmiştir.

**Çizelge 4.22.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait tuz miktarı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Olgunlaşma Süresi (Gün)</b> | <b>n</b> | <b>Tuz miktarı (%)*</b> |
|--------------------------------|----------|-------------------------|
| <b>Taze (7)</b>                | 12       | 3,09±0,30 <sup>e</sup>  |
| <b>30</b>                      | 12       | 3,33±0,22 <sup>d</sup>  |
| <b>60</b>                      | 12       | 3,55±0,20 <sup>c</sup>  |
| <b>90</b>                      | 12       | 3,60±0,25 <sup>c</sup>  |
| <b>120</b>                     | 12       | 3,86±0,20 <sup>b</sup>  |
| <b>150</b>                     | 12       | 4,01±0,24 <sup>ab</sup> |
| <b>180</b>                     | 12       | 4,12±0,22 <sup>a</sup>  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en düşük ortalama tuz miktarı (%3,09) olgunlaşmanın başlangıcında, en yüksek ortalama tuz miktarı (%4,12) ise olgunlaşma periyodunun 180. gününde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince tuz miktarlarının sürekli artış gösterdiği ve bu artışların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir. Bu durumun olgunlaşma boyunca örneklerdeki nem kaybına bağlı olarak tuz miktarının nispi artışından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim; Sarıoğlu (2005), Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince su kaybına paralel olarak tuz miktarlarının arttığını bildirmiştir. Kaşar peynirinde olgunlaşma süresince tuz miktarlarındaki artış diğer araştırmacılar tarafından da bildirilmiştir (Tarakeci and Kuçukoner 2006; Uzun 2006; Sert *et al.* 2007; Tunçtürk vd 2010; Yılmaz and Dagdemir 2012).

#### 4.4.6. Kurumaddede tuz oranı

Kaşar peyniri örneklerinde kurumaddede tuz oranlarında olgunlaşma süresince görülen değişim Çizelge 4.14'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kurumaddede tuz oranı (%4,78) kontrol (A) örneğinde olgunlaşma süresinin 7. gününde, en yüksek kurumaddede tuz oranı (%6,48) ise yine kontrol örneğinde olgunlaşma süresinin sonunda belirlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarından, kurumaddede tuz oranları üzerine peynir örneği değişkenin etkisi önemsiz, ancak olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.15). Olgunlaşma sürelerine ait kurumaddede tuz oranları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.23'te verilmiştir. Kaşar peyniri örneklerinin tuz ve kurumaddedeki tuz oranları incelendiğinde, primer starter kültüre ilaveten yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının söz konusu parametreleri etkilemediği görülmektedir (Çizelge 4.14).

**Çizelge 4.23.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kurumaddede tuz oranı ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Kurumaddede tuz oranı (%)* |
|-------------------------|----|----------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 5,02±0,43 <sup>e</sup>     |
| 30                      | 12 | 5,34±0,35 <sup>d</sup>     |
| 60                      | 12 | 5,63±0,24 <sup>cd</sup>    |
| 90                      | 12 | 5,69±0,37 <sup>c</sup>     |
| 120                     | 12 | 6,05±0,29 <sup>b</sup>     |
| 150                     | 12 | 6,25±0,33 <sup>ab</sup>    |
| 180                     | 12 | 6,38±0,31 <sup>a</sup>     |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en düşük ortalama kurumaddede tuz oranının (%5,02) olgunlaşmanın başlangıcında, en yüksek ortalama kurumaddede tuz oranının (%6,38) ise olgunlaşma periyodunun 180. gününde olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde; Sert (2004), çiğ süttten üretilen Kaşar peyniri örneklerinde kurumaddedeki tuz oranlarını 1. günde %5,60, olgunlaşmanın 90. gününde %5,80, pastörize süttten üretilen peynirlerde ise olgunlaşmanın başlangıcında %6,10, sonunda

ise %6,20 olarak tespit etmiştir. Gemici and Öner (2017), transglutaminaz enzimi ilaveli/ilavesiz Kaşar peyniri örneklerinde kurumaddede tuz oranlarının olgunlaşma süresince sırasıyla %3,46-%9,25 ile %3,45-%9,74 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde olgunlaştırılmış Kaşar peyniri için tuz miktarının kurumaddede en çok %4 olabileceği belirtilmiştir. Bu açıdan incelendiğinde olgunlaşma süresince tüm peynir örneklerinin tebliğde belirtilen değerden daha yüksek kurumaddede tuz oranlarına sahip olduğu görülmektedir.

#### 4.4.7. Titrasyon asitliği

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.14'te, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.15'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük titrasyon asitliği değeri (%0,453) pastörize edilmiş süttten starter kültür kullanılarak üretilen B örneğinde olgunlaşmanın 7. gününde, en yüksek titrasyon asitliği değeri (%1,032) ise yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, peynir örneği ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin titrasyon asitliği üzerindeki etkileri istatistiksel olarak  $p<0,01$  seviyesinde önemli bulunmuştur. Aynı zamanda peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisinin de  $p<0,05$  seviyesinde önemli olduğu belirlenmiştir. Kaşar peyniri örneklerinin titrasyon asitliği ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.24'de, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.25'de verilmiştir.

**Çizelge 4.24.** Kaşar peyniri örneklerine ait titrasyon asitliği ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Titrasyon asitliği (%)* |
|------------------|----|-------------------------|
| A                | 21 | 0,525±0,09 <sup>d</sup> |
| B                | 21 | 0,672±0,16 <sup>c</sup> |
| C                | 21 | 0,862±0,13 <sup>a</sup> |
| D                | 21 | 0,775±0,19 <sup>b</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama titrasyon asitliği değeri (%0,862) *Lb. helveticus* DPC 4571 + *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı olarak kullanıldığı C örneğinde belirlenmiş olup, bunu sırasıyla D (%0,775), B (%0,672) ve kontrol (A) (%0,525) örnekleri takip etmiştir. Mevcut sonuçlardan; B, C ve D örneklerinin üretiminde primer starter ve yardımcı kültür kullanımının asitlik değerlerinde artışa neden olduğu görülmektedir. C örneğinde, olgunlaşma süresince özellikle MRS agarda gelişen mezofil LAB (muhtemel *Lb. paracasei*) sayılarının yüksek oluşu, benzer şekilde sonike edilmiş yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde de 60. günden itibaren aynı mikroorganizma grubundaki belirgin artış asitlik değerlerinin söz konusu örneklerde daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir (Çizelge 4.3). Nitekim; peynirde asitlik gelişimi peynirin doğal mikroflorasında yer alan bakteriler ile starter olarak kullanılan bakterilerin aktivitesiyle ilişkilendirilmektedir. Di Pierro *et al.* (2011), kitosan/peyniraltı suyu protein filmiyle kapladıkları Ricotta peynirinde titrasyon asitliğindeki artışın LAB sayısı ile doğru orantılı olduğunu, LAB sayısının yüksek olduğu dönemlerde titrasyon asitliğinin de arttığını bildirmişlerdir. Aljewicz *et al.* (2014a), *Lb. rhamnosus* HN001, *Lb. paracasei* LPC 37 ve *Lb. acidophilus* NCFM probiyotik suşlarını kullanarak ürettikleri Dutch tipi peynirlerde asitlik değerlerinin kontrol örneklerinden daha yüksek olduğunu, bu durumun deneme peynirlerinde *Lactobacillus* suşlarının daha yüksek sayılarda bulunmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir.

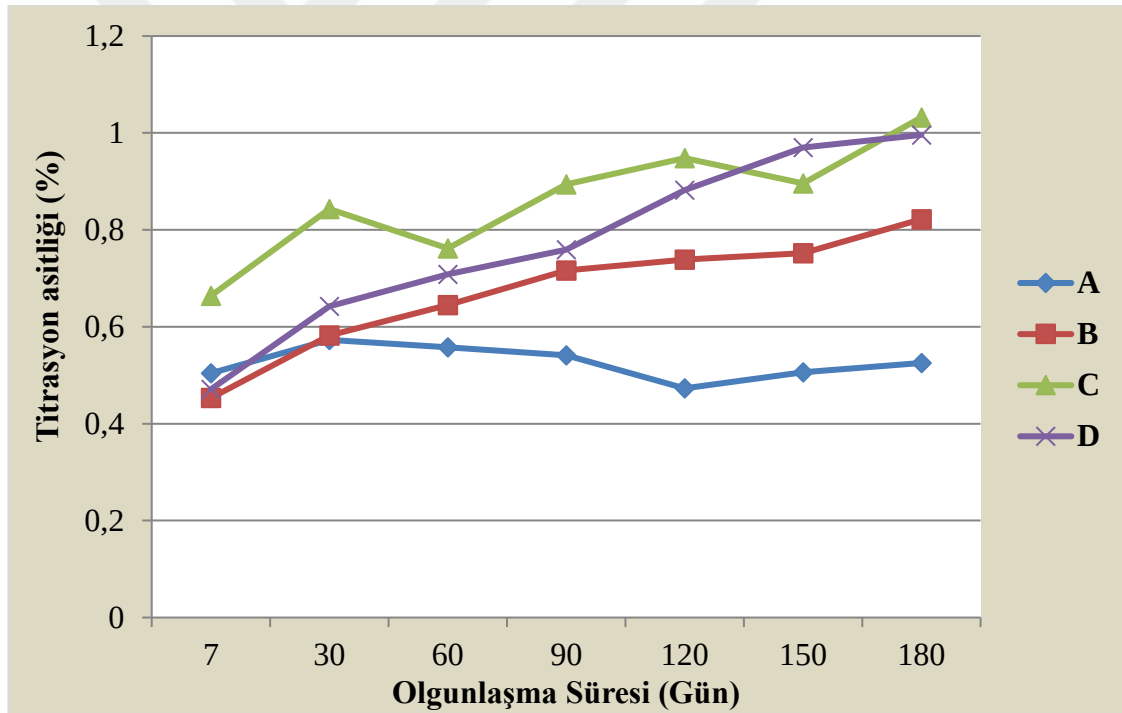
**Çizelge 4.25.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait titrasyon asitliği ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Titrasyon asitliği (%)*  |
|-------------------------|----|--------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 0,523±0,11 <sup>d</sup>  |
| 30                      | 12 | 0,659±0,13 <sup>c</sup>  |
| 60                      | 12 | 0,668±0,09 <sup>c</sup>  |
| 90                      | 12 | 0,727±0,15 <sup>bc</sup> |
| 120                     | 12 | 0,760±0,19 <sup>b</sup>  |
| 150                     | 12 | 0,781±0,20 <sup>ab</sup> |
| 180                     | 12 | 0,843±0,26 <sup>a</sup>  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşmanın başlangıcında %0,523 olan titrasyon asitliğinin olgunlaşma süresince önemli düzeyde arttığı, olgunlaşmanın 180. gününde ise %0,843'e ulaştığı görülmektedir. Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinde titrasyon asitlik değerlerindeki artış diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Sarioğlu 2005; Fırat 2006; Sert *et al.* 2007; Özer *et al.* 2008; Temizkan *et al.* 2014). Bu çalışmada elde edilen % asitlik değerleri Özer *et al.* (2008) ve Hayaloglu (2009) tarafından Kaşar peynirinde belirlenen değerlerle paralellik arz etmektedir.

Kaşar peyniri örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait peynir örneği x olgunlaşma süresi etkisi Şekil 4.2'de verilmiştir.



**Şekil 4.2.** Kaşar peyniri örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi etkisinin etkisi

Şekil 4.2'de görüldüğü üzere, olgunlaşma süresince kontrol (A) örneğinde asitlik değerleri artma/azalmalarla birlikte genel olarak sabit bir değişme eğilimi göstermiş, pastörize sütten starter kültür ilavesiyle yapılan B örneğinde sürekli bir artış belirlenmiştir. Sonike edilmiş suşlar ile üretilen D peynirinde ise başlangıçtaki asitlik

değerleri 30. güne kadar A ve B örneği ile paralellik arz etmiş, 60. günden itibaren hızla artarak 180. günde C örneği ile benzer değerlere ulaşmıştır. Özellikle *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı olarak kullanımının asitlik değerlerini önemli düzeyde etkilediği tespit edilmiştir. Bununla birlikte D örneğinde belirlenen başlangıçtaki asitlik değerlerinin kontrol örneği ile benzer olması sonikasyon uygulamasının söz konusu parametre üzerinde olgunlaşmanın ilk aylarında etkili olmadığını göstermiştir. Nitekim; zayıflatılmış yardımcı kültürlerin önemli düzeylerde asit üretemedikleri, buna karşılık proteoliz üzerinde etkili aktif enzimler içerdikleri bilinmektedir. Ancak olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte özellikle sonikasyon uygulamasından etkilenmemiş muhtemel *Lb. paracasei* bakteri hücrelerinin peynir ortamına adapte olduğu ve asitlik artışına neden olduğu düşünülmektedir. Celik *et al.* (2018), haşlama işlemini takiben 3 farklı ticari starter (Choozit™ MA 11, BT 0 ve Feta A) kültür solüsyonlarına daldırarak ürettikleri Kaşar peynirlerinde titrasyon asitliği değerlerinin kontrol örneğine oranla biraz daha yüksek olduğunu ve kullanılan kültürlerin laktik asit konsantrasyonu üzerinde etkisinin bulunduğunu bildirmişlerdir.

#### 4.4.8. pH

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen pH değerleri Çizelge 4.14'te verilmiştir. Çizelge 4.14'te görüldüğü üzere; peynir örneklerine ait en düşük pH değeri (4,98) C örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde, en yüksek pH değeri ise (5,32) kontrol (A) örneğinde olgunlaşma periyodunun sonunda belirlenmiştir.

Varyans analizi test sonuçlarından, pH değerleri üzerine peynir örneği değişkeninin etkisi  $p<0,01$  düzeyinde, olgunlaşma süresi değişkeni ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi ise  $p<0,05$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.15). Kaşar peyniri örneklerinin pH değeri ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.26'da, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.27'de verilmiştir.

**Çizelge 4.26.** Kaşar peyniri örneklerine ait pH değeri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | pH değeri *            |
|------------------|----|------------------------|
| A                | 21 | 5,25±0,07 <sup>a</sup> |
| B                | 21 | 5,16±0,06 <sup>b</sup> |
| C                | 21 | 5,08±0,05 <sup>c</sup> |
| D                | 21 | 5,10±0,09 <sup>c</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

En düşük ortalama pH değerleri *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde, en yüksek ortalama pH değeri ise kontrol (A) örneğinde tespit edilmiştir. Mevcut durum, daha önce de belirtildiği gibi söz konusu örneklerde başta mezofilik Laktobasil sayıları olmak üzere LAB sayılarının daha yüksek olmasına ve dolayısıyla asitlik oluşumuna katkıda bulunarak pH değerlerini düşürmesine bağlanabilir. Benzer şekilde; kontrol örneğinde starter/yardımcı kültür kullanılmamış olması ve sadece haşlama işlemi sonrası canlı kalan mikrofloranın asitlik gelişimi üzerinde etkili olması pH değerlerinin daha yüksek olmasının nedeni olarak ileri sürülebilir.

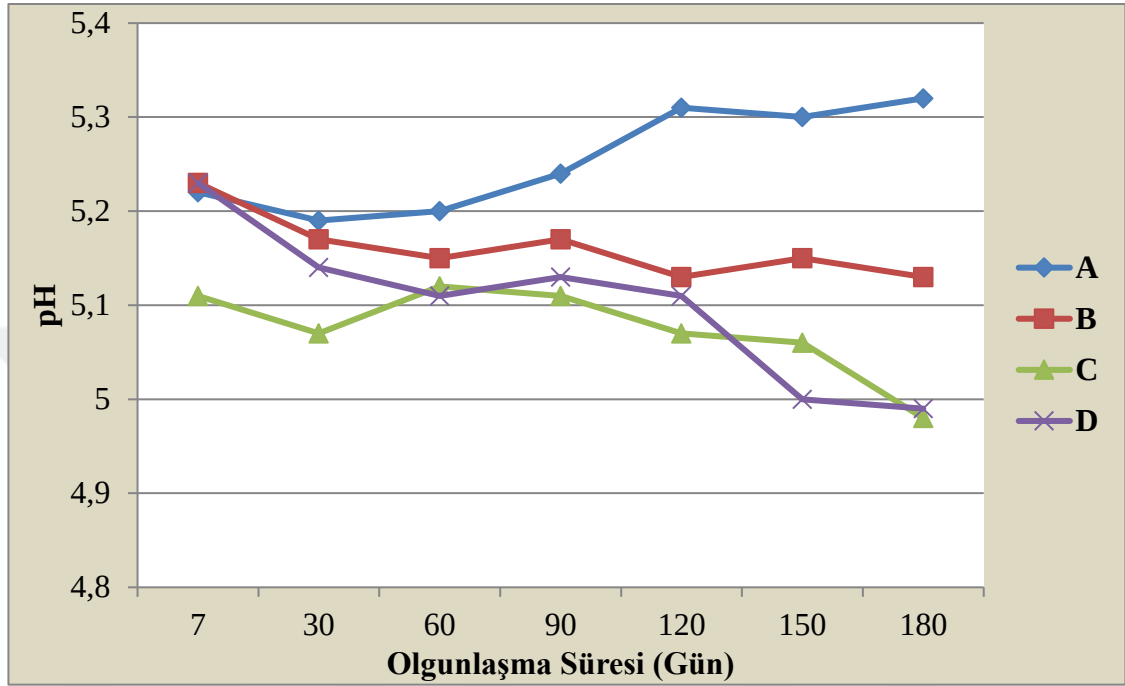
**Çizelge 4.27.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait pH değeri ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | pH değeri *              |
|-------------------------|----|--------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 5,20±0,08 <sup>a</sup>   |
| 30                      | 12 | 5,15±0,06 <sup>abc</sup> |
| 60                      | 12 | 5,14±0,07 <sup>abc</sup> |
| 90                      | 12 | 5,16±0,06 <sup>ab</sup>  |
| 120                     | 12 | 5,16±0,10 <sup>ab</sup>  |
| 150                     | 12 | 5,13±0,13 <sup>bc</sup>  |
| 180                     | 12 | 5,11±0,16 <sup>c</sup>   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma periyodunun başlangıcında 5,20 olan pH değeri, olgunlaşmanın 60. gününde 5,14'e düşmüş, 90. ve 120. günlerde artarak 5,16 ulaşmış, 150. ve 180. günlerde ise tekrar azalmaya başlamıştır. Kaşar

peyniri örneklerinin pH değerlerine ait peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.3’de verilmiştir.



**Şekil 4.3.** Kaşar peyniri örneklerinin pH değerleri üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi

Olgunlaşma süresince pH değerlerinin değişimi incelendiğinde, kontrol (A) örneğinde, 30. güne kadar azaldığı, 90. - 120. günler arasında arttığı, daha sonra sabit seyrettiği görülmektedir. B örneğinde 60. güne kadar bir azalma, olgunlaşmanın daha sonraki dönemlerinde ise hafif dalgalanmaların olduğu belirlenmiştir. Sonike edilmiş *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşları ile üretilen peynir örneğinde (D) başlangıç pH değerlerinin yüksek olduğu, ancak olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte azaldığı ve olgunlaşmanın 180. gününde C örneği ile benzer değerlere ulaştığı tespit edilmiştir (Şekil 4.3). Benzer şekilde; Di Cagno *et al.* (2012), NSLAB’lerini canlı ve zayıflatılmış olarak kullandıkları Caciocavallo Pugliese peynirinde; başlangıç pH değerlerinin kontrol ve zayıflatılmış kültürlerin kullanıldığı örneklerde benzer olduğunu, NSLAB’lerinin canlı olarak ilave edildiği peynirlerde ise pH değerlerinin daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Tuncturk and Coskun (2007), Kaşar peyniri

üretiminde homojenize edilmiş laktik bakteri kültürlerinin kullanımının asitlik ve pH değerlerini etkilediğini bildirmişlerdir.

#### 4.5. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Çözünür Azot Fraksiyonları Analiz Sonuçları

Peynirlerin çözünür azot fraksiyonları içerdikleri toplam azot oranlarından etkilendiğinden, söz konusu fraksiyonlar genellikle toplam azot üzerinden değerlendirilmektedir. Bu nedenle; pH 4.6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına ait değerler toplam azot değerlerine oranlanmış ve olgunlaşma indeksi (%) değerleri olarak standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.28'de sunulmuştur. Varyans analiz sonuçları ise toplu olarak Çizelge 4.29'da verilmiştir.

**Çizelge 4.28.** Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait analiz sonuçları (%)

| Azot Fraksiyonları  | Olgunlaşma Süresi (Gün) | Peynirler |            |            |            |
|---------------------|-------------------------|-----------|------------|------------|------------|
|                     |                         | A         | B          | C          | D          |
| pH 4.6' da<br>ÇA/TA | 7                       | 3,05±0,17 | 3,08±0,72  | 3,89±0,82  | 3,76±0,90  |
|                     | 30                      | 4,16±0,24 | 5,99±0,26  | 6,16±0,15  | 6,59±0,36  |
|                     | 60                      | 5,13±0,16 | 6,28±0,26  | 7,18±0,05  | 8,18±0,80  |
|                     | 90                      | 5,90±0,03 | 6,91±0,18  | 8,46±0,74  | 8,73±0,63  |
|                     | 120                     | 6,49±0,15 | 8,23±0,70  | 9,19±1,09  | 9,68±0,79  |
|                     | 150                     | 7,92±0,31 | 9,08±1,31  | 10,51±1,17 | 11,21±1,69 |
|                     | 180                     | 9,02±0,17 | 10,39±1,03 | 11,94±0,90 | 12,46±1,17 |
| TCA'da<br>ÇA/TA     | 7                       | 1,85±0,29 | 2,38±0,88  | 2,64±0,63  | 2,35±0,43  |
|                     | 30                      | 2,59±0,06 | 4,04±0,80  | 4,84±0,41  | 4,94±0,82  |
|                     | 60                      | 3,93±0,41 | 4,58±0,50  | 5,36±0,36  | 5,62±0,34  |
|                     | 90                      | 4,67±0,04 | 5,45±0,81  | 6,41±0,71  | 6,84±0,82  |
|                     | 120                     | 5,49±0,09 | 6,11±1,19  | 7,46±0,94  | 7,87±0,85  |
|                     | 150                     | 6,06±0,30 | 7,28±0,85  | 8,18±0,56  | 8,57±0,97  |
|                     | 180                     | 6,57±0,37 | 7,96±0,92  | 9,46±0,63  | 9,42±0,92  |
| PTA'da<br>ÇA/TA     | 7                       | 1,06±0,11 | 1,13±0,08  | 1,11±0,25  | 1,21±0,20  |
|                     | 30                      | 1,17±0,04 | 1,35±0,06  | 1,35±0,15  | 1,48±0,06  |
|                     | 60                      | 1,33±0,11 | 1,59±0,12  | 1,72±0,10  | 1,71±0,12  |
|                     | 90                      | 1,69±0,29 | 1,75±0,25  | 1,99±0,17  | 2,26±0,25  |
|                     | 120                     | 1,98±0,46 | 2,14±0,49  | 2,60±0,20  | 2,83±0,26  |
|                     | 150                     | 2,30±0,51 | 2,57±0,47  | 3,22±0,33  | 3,16±0,16  |
|                     | 180                     | 2,61±0,45 | 3,19±0,33  | 4,21±0,32  | 4,07±0,30  |

Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır.

**Çizelge 4.29.** Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları         | SD | F değeri         |               |               |
|------------------------------|----|------------------|---------------|---------------|
|                              |    | pH 4.6'da ÇA /TA | TCA'da ÇA /TA | PTA'da ÇA /TA |
| <b>Peynir örneği (A)</b>     | 3  | 54,590**         | 41,690**      | 26,304**      |
| <b>Olgunlaşma süresi (B)</b> | 6  | 135,316**        | 114,710**     | 118,168**     |
| <b>AxB</b>                   | 18 | 1,129            | 0,962         | 2,601*        |
| <b>Hata</b>                  | 56 |                  |               |               |
| <b>Genel</b>                 | 84 |                  |               |               |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli

#### 4.5.1. pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

Proteoliz düzeyinin belirlenmesinde dikkate alınan parametrelerden biri de suda çözünen azot fraksiyonlarıdır. Olgunlaşmanın göstergesi olarak değerlendirilen suda çözünen azot oranı, kazeinin hidrolizi ile oluşan düşük molekül ağırlıklı azot fraksiyonlarının düzeyini açıklayan bir parametredir. Bu fraksiyonların miktarı ve niteliği peynir çeşidine özgü tat, aroma ve tekstür oluşumunda etkili olmaktadır. Peynirde görülen primer proteoliz üzerinde, sütün doğal proteolitik enzimi plazmin ve peynir mayası (kimozin) gibi enzimler başta olmak üzere, starter ve starter olmayan LAB'lerinin etkili olduğu bilinmektedir (Fox and McSweeney 1996). Peynir teknolojisinde suda çözünen azotlu maddelerin oranı olgunlaşmanın ölçüsü olarak değerlendirilmektedir.

Kaşar peyniri örneklerine ait pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri Çizelge 4.28'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük olgunlaşma indeksi değeri (%3,05) kontrol (A) örneğinde olgunlaşmanın başlangıcında, en yüksek olgunlaşma indeksi değeri (%12,46) ise sonike edilmiş yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde belirlenmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından, pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine hem peynir örneği hem de olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi p<0,01 düzeyinde önemli bulunurken, peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisinin önemsiz (p>0,05) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.29). Peynir örneklerine ait pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

Çizelge 4.30'da, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.31'de verilmiştir.

**Çizelge 4.30.** Kaşar peyniri örneklerine ait pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi (%)* |
|------------------|----|------------------------------------------------------|
| A                | 21 | 5,95±1,97 <sup>d</sup>                               |
| B                | 21 | 7,14±2,35 <sup>c</sup>                               |
| C                | 21 | 8,19±2,66 <sup>b</sup>                               |
| D                | 21 | 8,66±2,87 <sup>a</sup>                               |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait en düşük ortalama pH 4.6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%5,95) kontrol (A) örneğinde, en yüksek değer (%8,66) ise sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının kullanıldığı D örneğinde belirlenmiş, söz konusu kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneği ile de benzer değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. C ve D örneklerinde belirlenen pH 4.6'da çözünen azot cinsinden olgunlaşma indeksi değerlerinin *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının proteolitik aktivitelerinin yanı sıra; söz konusu suşların sonikasyon işlemi ile zayıflatılması sonucu hücre duvarına bağlı proteinaz ve hücre sitoplazmasında bulunan peptidaz enzimlerinin serbest kalmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim; pH 4.6'da çözünen azot fraksiyonu üzerinde kalıntı kimozin ve plazmin enzimlerinin ana etkenler olduğu, bununla birlikte peynirde olgunlaşma sırasında görülen tüm proteolitik ve peptidolitik aktivitelerinin de primer proteoliz üzerinde katkısı olduğu bildirilmiştir (Poveda *et al.* 2015). C ve D örneklerinde olgunlaşma indeksi değerlerinin kontrol örneğine göre daha yüksek olması, yardımcı kültürlerin canlı ve sonike edilmiş olarak kullanımlarının primer proteoliz üzerinde etkili olduğunu düşündürmektedir.

Benzer şekilde; Tuncturk and Coskun (2007), homojenize edilmiş ve edilmemiş LAB kültürleri kullanarak üretmiş oldukları Kaşar peynirlerinde suda çözünen azot/toplam azot değerleri açısından örnekler arasında farklılıkların bulunduğunu, en yüksek değerlerin homojenize edilmiş *Lc. lactis*+*Lc. cremoris* ve *Lb. bulgaricus*+*S. thermophilus*

suşlarıyla üretilen peynirlerde belirlendiğini bildirmişlerdir. Celik *et al.* (2018), farklı ticari starter kültür (kontrol, Choozit <sup>TM</sup> MA 11, BT ve Feta A) solüsyonlarına daldırılarak ürettikleri Kaşar peynir örneklerinde kontrol ve kültür içeren örneklerin olgunlaşma indeksi değerlerinde görülen küçük farklılıkların starter olarak kullanılan bakterilerin proteaz aktivitesiyle ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.31.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait pH 4.6’da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi<br>(Gün) | n  | pH 4.6’da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi<br>(%)* |
|----------------------------|----|---------------------------------------------------------|
| Taze (7)                   | 12 | 3,44±0,73 <sup>g</sup>                                  |
| 30                         | 12 | 5,73±0,99 <sup>f</sup>                                  |
| 60                         | 12 | 6,69±1,23 <sup>e</sup>                                  |
| 90                         | 12 | 7,50±1,28 <sup>d</sup>                                  |
| 120                        | 12 | 8,39±1,43 <sup>c</sup>                                  |
| 150                        | 12 | 9,68±1,70 <sup>b</sup>                                  |
| 180                        | 12 | 10,95±1,60 <sup>a</sup>                                 |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte sürekli artış gösterdiği ve bu artışların istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir. Söz konusu artışların olgunlaşma süresince proteinlerin bir kısmının hidrolize olarak suda çözünür bileşiklere dönüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kaşar peynirinde olgunlaşma süresince olgunlaşma indeksi değerindeki artışlar diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Yaşar 2007; Ürkek 2008; Özer *et al.* 2008; Celik *et al.* 2018).

Aydemir (2010), Kars ilinde faaliyet gösteren farklı işletmelerden temin ettiği Kaşar peynirlerinde 6 aylık olgunlaşma süresince olgunlaşma indeksi değerlerinin %2,77 ile %10,54 arasında değiştiğini bildirmiştir. Güven vd (2003), farklı ambalaj materyalleri kullanarak ambalajladıkları Kaşar peynirlerinde 180 günlük depolama süresince peynirlerin olgunlaşma indeksi değerlerinin %7,36 ile %11,28 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Bu araştırmada, belirlenen olgunlaşma indeksi değerleri söz konusu araştırmacılar tarafından belirlenen değerlerle benzerlik göstermektedir.

Genel olarak değerlendirildiğinde; tüm örneklerde olgunlaşma süresi sonunda ulaşılan olgunlaşma indeksi değerlerinin düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun primer proteoliz üzerinde ana etkenler olarak kabul edilen plazmin ve özellikle de kimozen enzimlerinin haşlama sıcaklığında zarar görmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim; tartışmalı olmakla birlikte kimozen aktivitesinin neredeyse tamamının 80°C inaktive olduğu bildirilmiştir (Di Cagno *et al.* 2012). Aydemir (2010), Kars Kaşarı peynirlerinde olgunlaşma indeksinin beklenen seviyenin altında gerçekleştiğini bildirmiştir. Topçu (2004), farklı starter kombinasyonları ile üretilen Kaşar peynirlerinde proteolizin olgunlaşma süresince yavaş gerçekleştiğini bildirmiştir. Yılmaz and Dagdemir (2012), balmumu ve vakum ambalajla kapladıkları Kaşar peyniri örneklerinde suda çözünen azot ve olgunlaşma indeksi değerlerinin düşük olduğunu bildirmişlerdir.

#### 4.5.2. TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

TCA'da çözünen azot fraksiyonu başlıca, bakterilerin proteolitik aktiviteleri ile rennet aktivitesi sonucu oluşan molekül ağırlığı 3000 Dalton'dan küçük peptitleri ve amino asitleri içermektedir. Bu fraksiyon peynirdeki olgunlaşmanın yorumlanmasında kullanılan önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir.

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TCA'da çözünen azota ait olgunlaşma indeksi değerlerinin değişimi Çizelge 4.28'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri kontrol (A) örneğinde olgunlaşma süresinin 7. gününde, en yüksek değer ise *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olgunlaşma süresinin 180. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, TCA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerleri açısından hem peynir örnekleri hem de olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Buna karşılık, söz konusu parametre üzerinde peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun

etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.29). Peynir örneklerinin TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.32'de, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.33'te verilmiştir.

**Çizelge 4.32.** Kaşar peyniri örneklerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi (%) <sup>*</sup> |
|------------------|----|---------------------------------------------------------------|
| A                | 21 | 4,45±1,69 <sup>c</sup>                                        |
| B                | 21 | 5,40±1,97 <sup>b</sup>                                        |
| C                | 21 | 6,34±2,23 <sup>a</sup>                                        |
| D                | 21 | 6,52±2,39 <sup>a</sup>                                        |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

TCA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinin *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı/zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde diğer örneklerle nazaran daha yüksek olduğu, her iki örneğe ait ortalama değerlerinin de istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir (Çizelge 4.32). TCA'da çözünen azot miktarı üzerinde; özellikle starter olarak kullanılan bakterilerin proteolitik aktiviteleri ile kalıntı peynir mayasının etkili olduğu bilinmektedir. Söz konusu örneklerle ilave edilen starter/yardımcı starter kültürlerle haşlama işlemi sonrasında peynirde kalan mikroflora, C ve D örneklerinde bu parametreye ait değerlerin daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir. Tunceturk and Coskun (2007), homojenize edilmiş LAB kültürlerinin Kaşar peyniri örneklerinde TCA'da çözünen azot değerlerini artırdığını, ancak bu artışın istatistiksel olarak önemli olmadığını bildirmişlerdir. Corsetti *et al.* (1998), *Pseudomonas fluorescens*'a ait sitoplazmik ekstrakt, NSLAB'leri ve peynir bulamacı (slurry) ilavesiyle ürettikleri Pecorino peynirinde TCA'da çözünen azot fraksiyonlarının kontrol örneğinden önemli düzeyde daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir. Aljewicz *et al.* (2014b), *Lb. rhamnosus* HN001 ve *Lb. acidophilus* NCFM suşlarının yardımcı kültür olarak kullanıldığı Edam peyniri örneklerinde TCA'da ÇA/TA oranlarında farklılıkların oluştuğunu ve en yüksek TCA'da ÇA/TA oranının *Lb. rhamnosus* HN001 suşunun kullanıldığı Edam peynirinde tespit edildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde; Jia *et al.*

(2015), *Lb. casei* LC2W suşunun Cheddar peynirinde yardımcı kültür olarak kullanımının kontrol peynirine oranla TCA'da ÇA/TA oranını arttırdığını bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.33.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi (%)* |
|-------------------------|----|---------------------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 2,31±0,59 <sup>g</sup>                            |
| 30                      | 12 | 4,10±1,11 <sup>f</sup>                            |
| 60                      | 12 | 4,87±0,78 <sup>e</sup>                            |
| 90                      | 12 | 5,84±1,05 <sup>d</sup>                            |
| 120                     | 12 | 6,73±1,26 <sup>c</sup>                            |
| 150                     | 12 | 7,52±1,17 <sup>b</sup>                            |
| 180                     | 12 | 8,35±1,40 <sup>a</sup>                            |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşma süresince TCA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinin sürekli artış gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.33). Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince TCA'da çözünen azot ve bu fraksiyona ait olgunlaşma indeksi değerlerindeki artış diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Uzun 2006; Andic *et al.* 2011; Celik *et al.* 2018).

#### 4.5.3. PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

PTA'da çözünen azot fraksiyonlarının olgunlaşma sırasında peynirlerde biriken çok küçük molekül ağırlıklı peptitler ile amino asitlerden oluştuğu, starter ve starter olmayan LAB'lerinin başlıca etken olduğu bildirilmiştir (Fox *et al.* 1993; Andic *et al.* 2011). Kaşar peyniri örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri Çizelge 4.28'de verilmiştir. Olgunlaşma süresince en düşük PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri kontrol (A) örneğinde 7. günde, en yüksek değer ise yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde belirlenmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, PTA'da çözünen azota ait olgunlaşma indeksi değerleri açısından hem peynir örnekleri hem de olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak  $p<0,01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun söz konusu parametre üzerindeki etkisi de önemli bulunmuştur (Çizelge 4.29). Kaşar peyniri örneklerinin PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.34'de, olgunlaşma süresi ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.35'de verilmiştir.

**Çizelge 4.34.** Kaşar peyniri örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi (%)* |
|------------------|----|---------------------------------------------------|
| A                | 21 | 1,73±0,63 <sup>c</sup>                            |
| B                | 21 | 1,96±0,73 <sup>b</sup>                            |
| C                | 21 | 2,31±1,07 <sup>a</sup>                            |
| D                | 21 | 2,39±0,99 <sup>a</sup>                            |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri sonike edilmiş suşların kullanıldığı D örneğinde belirlendiği ve istatistiksel olarak C örneği ile benzer değerlere sahip olduğu görülmektedir. En düşük ortalama değer ise kontrol örneğinde belirlenmiştir. Bu durumun, özellikle C ve D Kaşar peynirlerinin üretiminde kullanılan Laktobasil türlerinin geniş spektrumlu proteolitik/pepdolitik aktiviteye sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Elde edilen sonuçlardan sonike edilmiş ve edilmemiş bakteri suşlarının Kaşar peyniri üretiminde kullanılmasının çözünebilir azot fraksiyonları, dolayısıyla olgunlaşma düzeyleri üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Benzer şekilde; Tunceturk and Coskun (2007), homojenize edilmiş bakteri kültürlerinin kullanıldığı Kaşar peynirlerinde kullanılmayanlara göre PTA'da ÇA/TA değerlerinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Michaelidou *et al.* (2003), yardımcı kültür (*Lb. casei* subsp. *rhannosus* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* + *Lc. lactis* subsp. *lactis*) kullanarak üretmiş oldukları az yağlı Kefalograviera peynir örneklerinde PTA'da çözünen azot miktarının kontrol grubu örneklerden daha yüksek olduğunu ve bu

durumun yardımcı kültür olarak kullanılan suşların aminopeptidaz aktivitesinden kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Celik *et al.* (2018), farklı ticari enzim solüsyonlarına daldırılarak ürettikleri Kaşar peyniri örneklerinde PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin kontrol grubu örneklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

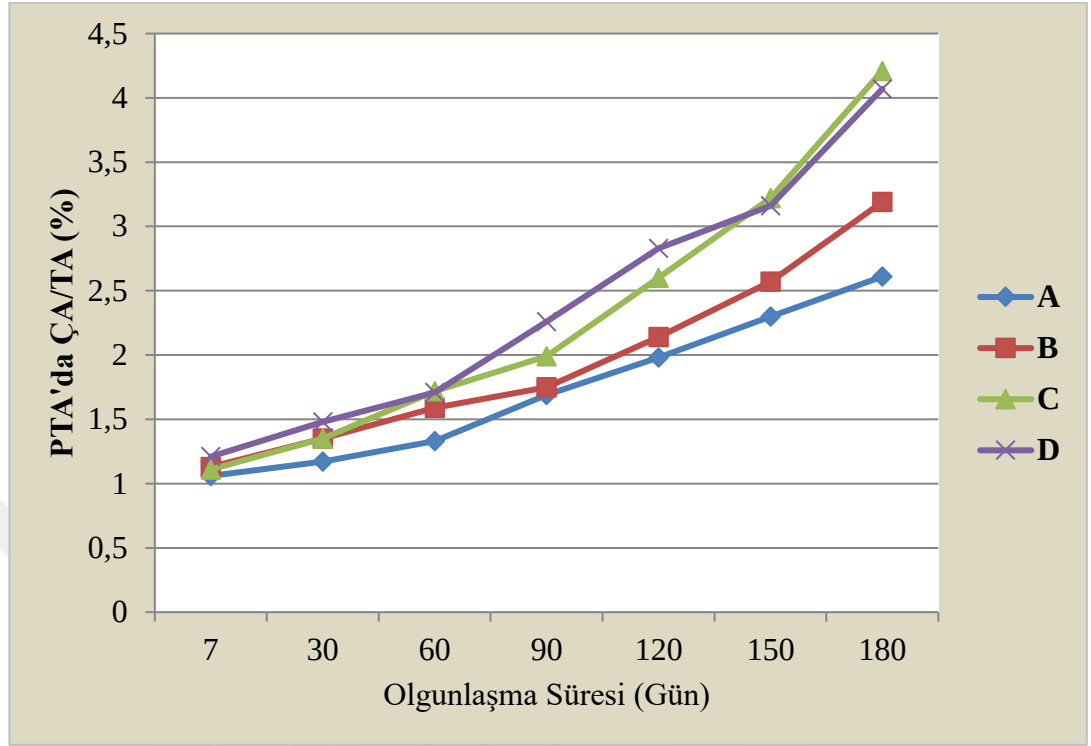
**Çizelge 4.35.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi (%)* |
|-------------------------|----|---------------------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 1,13±0,16 <sup>f</sup>                            |
| 30                      | 12 | 1,34±0,14 <sup>f</sup>                            |
| 60                      | 12 | 1,59±0,19 <sup>e</sup>                            |
| 90                      | 12 | 1,92±0,31 <sup>d</sup>                            |
| 120                     | 12 | 2,39±0,48 <sup>c</sup>                            |
| 150                     | 12 | 2,81±0,53 <sup>b</sup>                            |
| 180                     | 12 | 3,52±0,75 <sup>a</sup>                            |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma süresince PTA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinin sürekli artış gösterdiği, bu artışın 30. günde daha yavaş düzeyde gerçekleştiği görülmektedir. Olgunlaşma süresince PTA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinde artışlar diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Andic *et al.* 2011; Temizkan *et al.* 2014; Celik *et al.* 2018).

Kaşar peyniri örneklerinin PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.4'de verilmiştir.



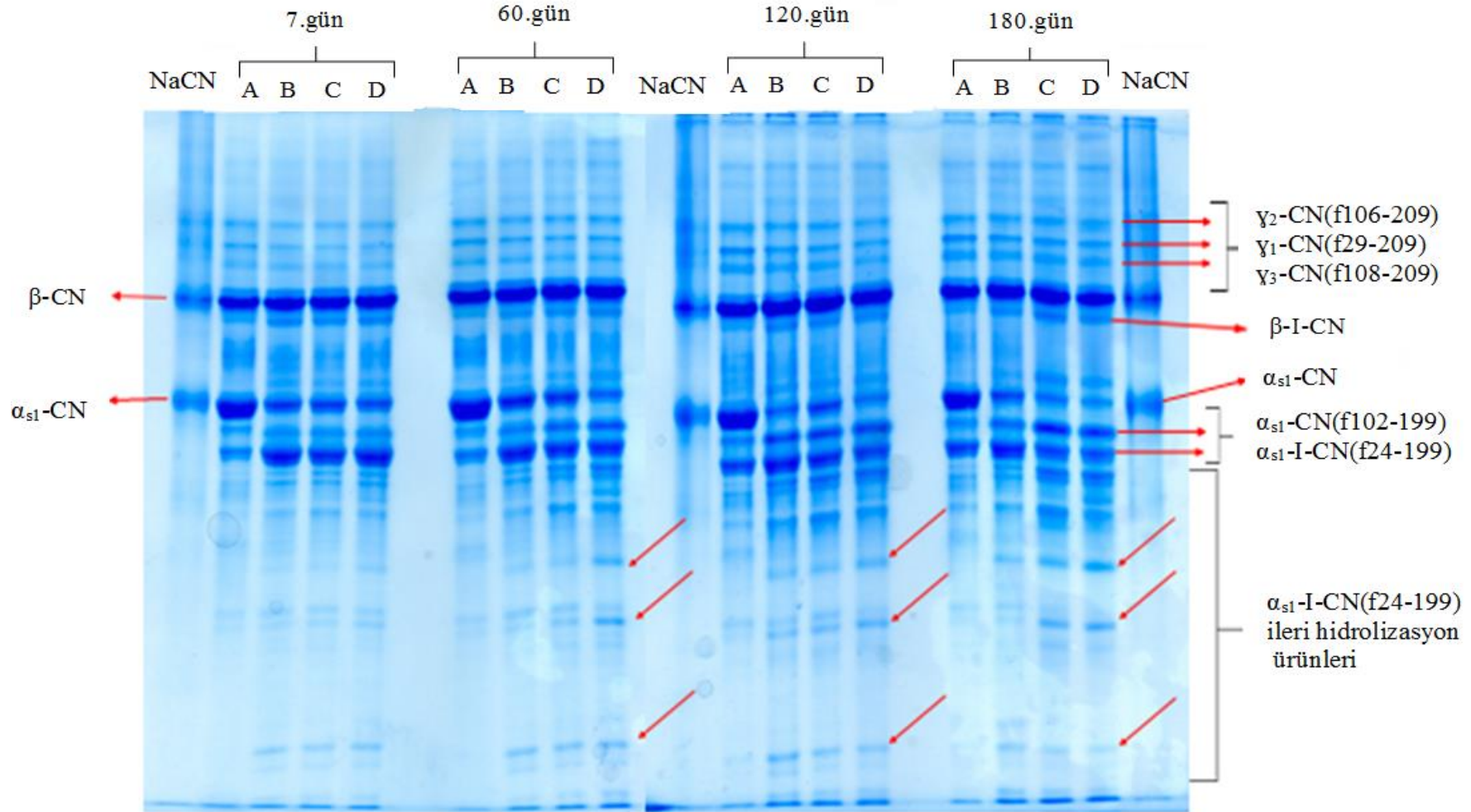
**Şekil 4.4.** Kaşar peyniri örneklerinin PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine peynir örneği x olgunlaşma süresi etkisinin etkisi

Peynir örneklerinin PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi incelendiğinde; başlangıçta tüm örneklerin benzer değerlere sahip olduğu görülmektedir. Olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte, özellikle 60.-150. günler arasında D örneğinde daha fazla artış olduğu, 180. günde ise C örneği ile paralel değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Üre-PAGE elektroforez analizi sonucunda sonike edilmiş suşların kullanıldığı D örneğinde parçalanma ürünlerinin daha fazla olması ve olgunlaşma periyodunun sonunda oluşan bantların *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının ilavesiyle üretilen C örneği ile benzer olması bu sonucu doğrular niteliktedir (Şekil 4.5).

#### 4.6. Kaşar Peyniri Örneklerinde Kazein Fraksiyonlarına Ait Elektroforez (Üre-PAGE) Analiz Sonuçları

Kaşar peyniri örneklerinin üre-PAGE elektroforetik analizleri pH 4.6'da çözünmeyen azot fraksiyonları kullanılarak yapılmış , olgunlaşmanın 7., 60., 120. ve 180. günlerinde elde edilen elektroforetogramlar Şekil 4.5'te verilmiştir.

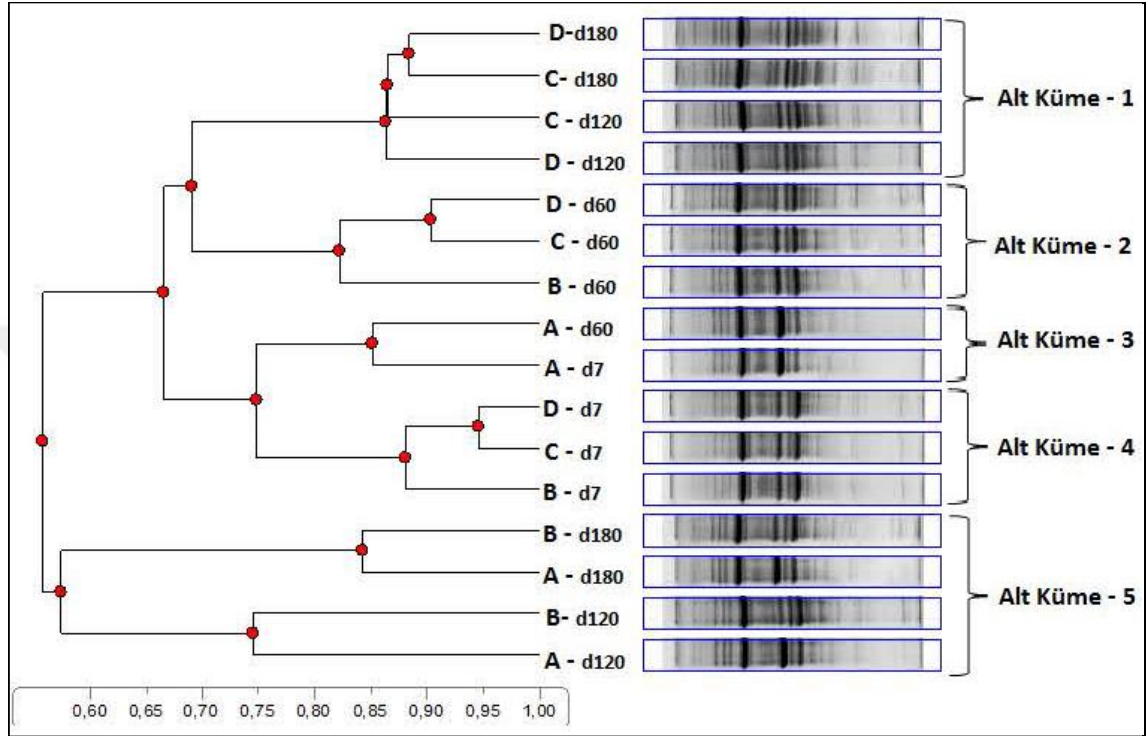
Şekil 4.5'de ilk bant sodyum-kazeinatı, diğer bantlar da sırasıyla peynirlerin kazein fraksiyonlarının farklı olgunlaşma günlerindeki elektroforetik özelliklerini göstermektedir. pH 4.6'da çözünmeyen azot fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforezi sonuçları primer proteoliz açısından örnekler arasında bazı farklılıkların bulunduğunu göstermektedir. Kontrol peynirinde,  $\alpha_1$ -kazeinin tüm olgunlaşma zamanlarında hidrolize karşı direnç gösterdiği, aynı zamanda tüm peynir örneklerinde olgunlaşma periyodunun sonunda yüksek oranda hidrolize edilmemiş  $\beta$ -kazeinin varlığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde;  $\alpha_1$ -kazeinin  $\beta$ -kazeinden daha fazla hidrolize edildiği Kaşar (Tuncturk and Coskun 2007; Temizkan *et al.* 2014), Caciocavallo Pugliese (Di Cagno *et al.* 2012) ve Kashkaval peynirlerinde (Sulejmani and Hayaloglu 2016) farklı araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında; B, C ve D örneklerindeki  $\alpha_1$ -kazeinin hidrolizasyonu sonucu benzer kazein bantlarının oluştuğu, buna karşılık kontrol (A) örneğinde ise  $\alpha_1$ -kazeinin hidrolizasyona direnç gösterdiği görülmektedir (Şekil 4.5). Peynir örnekleri arasındaki esas farklılık özellikle olgunlaşmanın 60. ve 180. günleri arasında  $\alpha_1$ -kazein ve  $\alpha_1$ -kazeinin parçalanma ürünleri üzerinde görülmüştür. Olgunlaşma süresi ilerledikçe  $\alpha_1$ -kazeinin hemen ilerisinde fragment ( $\alpha_1$ -kazein f102-199) miktarında sonikasyon ile zayıflatılmış yardımcı kültürün kullanıldığı D örneğinde daha fazla birikme olduğu ve  $\alpha_1$ -kazeine ait bant yoğunluğunun diğer örneklerle nazaran daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın, özellikle kontrol peyniri ile karşılaştırdığında daha dikkat çekici olduğu görülmektedir. Peynir matriksinde bulunan kalıntı kimozinin,  $\alpha_1$ -kazeinin Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub> peptit bağına hidrolize ederek  $\alpha_1$ -kazein (f102-199) ve  $\alpha_1$ -I-kazein (f24-199) fraksiyonlarının meydana gelmesine neden olduğu bildirilmiştir (Sihufe *et al.* 2003; Milesi *et al.* 2008; Merheb-Dini *et al.* 2012).



**Şekil 4.5.** Kaşar peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen azot fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforetogramı (NaCN: Standart sodyum-kazeinat)

Elektroforetogramda zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde sonikasyon uygulamasıyla açığa çıkan peptidaz enzimlerinin,  $\alpha_1$ -kazeinin primer proteolizi sonucunda oluşan  $\alpha_1$  (f102-199) ve  $\alpha_1$ -I (f24-199) kazein fraksiyonlarını hidrolize ederek sekonder proteolizin göstergesi olan yeni kazein fragmentlerinin oluşmasında etkili olduğu görülmektedir (Şekil 4.5). Aynı zamanda, özellikle olgunlaşma periyodunun 180. gününde *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının ilavesiyle üretilen C örneğinde parçalanma ürünlerinin D örneği ile benzer olduğu da görülmektedir. Elde edilen bu veriler peynir örneklerine ait çözünür azot fraksiyonlarına ait analiz sonuçları ile de uyum göstermektedir (Çizelge 4.28). Primer proteoliz üzerine kimozen ve sütün doğal proteinazı olan plazminin etkili olduğu, ancak pasta filata tip peynirlerin üretiminde kullanılan haşlama sıcaklığı ve süresinin bu enzimlerin (özellikle de kimozen) aktivitelerinin azalmasına yol açtığı bilinmektedir (Topçu 2004). Bu durumun özellikle kontrol örneğinde hidrolizin daha az düzeyde gerçekleşmesine neden olduğu düşünülmektedir. C ve D örneklerine ait bantlar incelendiğinde; *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı/sonike edilmiş olarak ilavesinin proteoliz üzerinde ılımlı bir etkisi olduğu görülmektedir. Benzer şekilde; Tuncturk and Coskun (2007), homojenizasyon uygulamasıyla zayıflatılmış laktik kültürler kullanarak ürettikleri Kaşar peynirlerinde kazein fraksiyonlarındaki parçalanmanın kontrol örneklerinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. Di Cagno *et al.* (2012), *Lb. plantarum* CC3M8, *Lb. paracasei* CC3M35 ve *Lb. casei* LC01 suşlarının canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının Caciocavallo Pugliese peynirinde kazeinin hidrolizini artırdığını tespit etmişlerdir. Hayaloğlu *et al.* (2013b), starter kültür ilavesiyle üretilen keçi peynirlerinde proteolizin kontrol örneğine oranla daha yüksek düzeyde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Madkor *et al.* (2000a) ve Oumer *et al.* (2001) Laktobasillerden açığa çıkan peptidazların, sekonder proteolizi hızlandırarak küçük molekül ağırlıklı peptit ve serbest amino asit miktarını arttırdığını bildirmişlerdir. Erkaya (2014), Beyaz peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımının elektroforetik olarak ölçülen proteolize katkıda bulunduğunu bildirmişlerdir. Sahingil *et al.* (2014a), ticari starter kültüre ilaveten *Lb. helveticus* ve *Lb. casei* yardımcı kültürleri ile üretilen Beyaz peynir örneklerinin elektroforetik hareketlilikleri arasındaki farklılıkların, yardımcı kültürlerin peptidaz/aminopeptidaz enzim sistemindeki farklılıklardan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Kaşar peyniri

örneklerinin elektroforetik analiz sonuçlarının aşamalı kümeleme analizine ait dendrogram Şekil 4.6’da sunulmuştur.



**Şekil 4.6.** Kaşar peyniri örneklerinin pH 4.6’da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik analizlerinin aşamalı kümeleme analizi (Hierarchical Cluster Analysis)

Dendrogram incelendiğinde, kazein hidrolizinin C ve D örneklerinde olgunlaşmanın 120. ve 180. günlerinde benzer olduğu görülmektedir (alt küme-1). Olgunlaşmanın 60. gününde ise; B, C ve D örneklerinde kazeindeki parçalanmanın benzer olduğu, bu nedenle aynı kümede yer aldıkları belirlenmiştir (alt küme-2). Kontrol örneğine ait kazein hidrolizinin olgunlaşmanın 7. ve 60. günlerinde farklı olmadığı (alt küme 3), B, C ve D örneklerine ait kazein hidrolizinin ise olgunlaşmanın 7. gününde birbirleriyle benzer, ancak kontrol (A) örneğinden farklı olduğu tespit edilmiştir (alt küme 4). Alt küme-5 değerlendirildiğinde ise A ve B örneklerine ait kazein hidrolizinin olgunlaşmanın 120. ve 180. günlerinde benzer olduğu belirlenmiştir. Kümeleme analizi sonuçlarından, canlı ve sonikasyonla zayıflatılmış yardımcı kültür kullanımının kazein hidrolizi üzerinde etkili olduğu ve proteolize katkıda bulunduğu görülmektedir.

Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarının olgunlaşma süresince değişimi Çizelge 4.36’da, varyans analiz sonuçları ise Çizelge 4.37’de verilmiştir. Kazein fraksiyonlarına ait densitometrik alanlar incelendiğinde; en yüksek kalıntı  $\alpha_1$ - ve  $\beta$ -kazein alanlarının kontrol örneğinde, en düşük alanların ise sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde olgunlaşma periyodunun 180. gününde belirlendiği görülmektedir. Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı  $\alpha_1$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarının olgunlaşma süresi boyunca değişimi Şekil 4.7’de verilmiştir.

**Çizelge 4.36.** Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarına ait analiz sonuçları

| Kazein Fraksiyonları       | Olgunlaşma Süresi (Gün) | Peynirler   |            |             |             |
|----------------------------|-------------------------|-------------|------------|-------------|-------------|
|                            |                         | A           | B          | C           | D           |
| Kalıntı $\alpha_1$ -kazein | 7                       | 1216±70,71  | 1018±65,05 | 961±15,56   | 943±9,90    |
|                            | 60                      | 1178±32,53  | 941±94,75  | 960±67,88   | 665±26,87   |
|                            | 120                     | 1147±43,84  | 812±73,54  | 810±178,19  | 718±155,56  |
|                            | 180                     | 1129±69,30  | 771±284,26 | 719±103,24  | 654±144,25  |
| Kalıntı $\beta$ -kazein    | 7                       | 1451±473,76 | 1129±69,30 | 1145±60,81  | 1219±57,98  |
|                            | 60                      | 1338±364,87 | 1238±31,11 | 1201±32,53  | 1202±19,80  |
|                            | 120                     | 1503±292,74 | 1275±29,70 | 1204±124,45 | 1130±121,62 |
|                            | 180                     | 1339±417,19 | 1237±83,44 | 1148±96,17  | 1108±39,60  |

**Çizelge 4.37.** Kaşar peyniri örneklerine ait kalıntı kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarına ait varyans analiz sonuçları

| Varyasyon Kaynakları  | SD | F değeri                   |                         |
|-----------------------|----|----------------------------|-------------------------|
|                       |    | Kalıntı $\alpha_1$ -kazein | Kalıntı $\beta$ -kazein |
| Peynir örneği (A)     | 3  | 19,310**                   | 2,413                   |
| Olgunlaşma süresi (B) | 3  | 4,860*                     | 0,156                   |
| AxB                   | 9  | 0,790                      | 0,180                   |
| Hata                  | 32 |                            |                         |
| Genel                 | 48 |                            |                         |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli

Varyans analizi sonuçlarından kalıntı  $\alpha_1$ -kazein oranları üzerinde peynir örnekleri arasındaki farklılıklar p<0,01 düzeyinde, olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıklar ise p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Söz konusu değişkenlerin kalıntı  $\beta$ -kazein oranları üzerindeki etkileri ise istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Peynir örneklerinde belirlenen kalıntı  $\alpha_1$ -kazein ve  $\beta$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.38’de, olgunlaşma sürelerine ait densitometrik alanlarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.39’da verilmiştir.

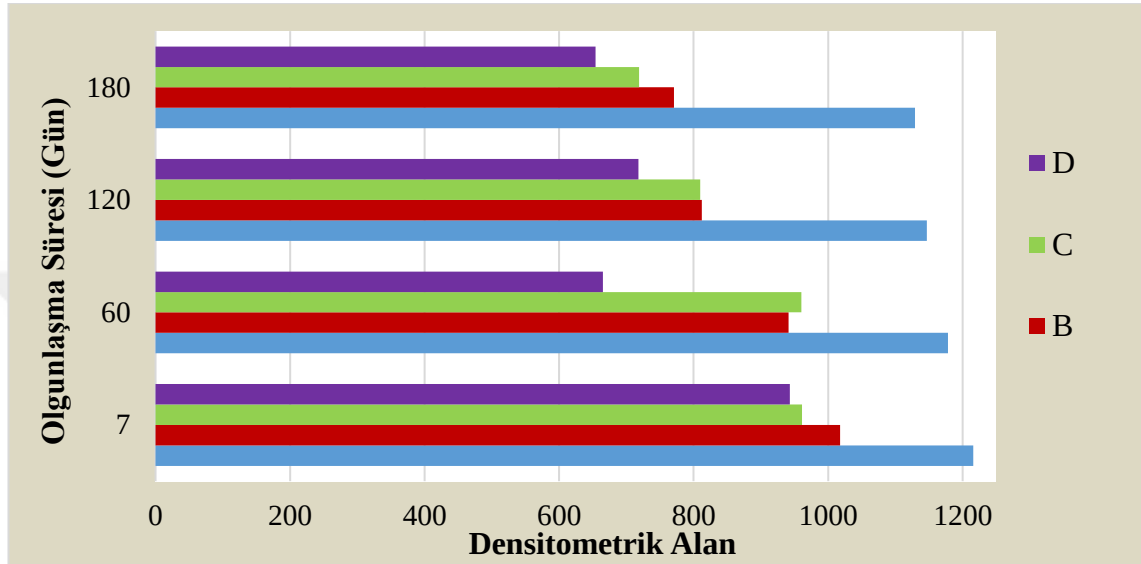
**Çizelge 4.38.** Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen kalıntı  $\alpha_1$ -kazein ve  $\beta$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alan ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Kalıntı $\alpha_1$ -kazein   | Kalıntı $\beta$ -kazein      |
|------------------|----|------------------------------|------------------------------|
| A                | 12 | 1167,50± 51,37 <sup>a</sup>  | 1407,75± 306,69 <sup>a</sup> |
| B                | 12 | 885,50±159,33 <sup>b</sup>   | 1219,75± 73,15 <sup>a</sup>  |
| C                | 12 | 862,50± 137,52 <sup>ab</sup> | 1174,50± 71,50 <sup>a</sup>  |
| D                | 12 | 745,00± 148,83 <sup>c</sup>  | 1164,75± 73,32 <sup>a</sup>  |

Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde  $\alpha_1$ -kazein ve  $\beta$ -kazein fraksiyonlarının daha fazla hidrolize edildiği, bu örnekleri sırasıyla B ve A örneklerinin takip ettiği görülmektedir. Bu durumun, söz konusu örneklerde primer startere ilaveten *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı/sonike edilmiş olarak kullanılmasından ve dolayısıyla proteinaz aktivitesinde artışa neden olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim; peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen primer proteoliz üzerinde kalıntı kimozen ve plazmin enzimlerinin etkili olmasının yanı sıra; starter ve starter olmayan kültürlerin hücre duvarına tutunmuş olan proteinaz enzimlerinin de sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Madkor *et al.* 2000b; Garde *et al.* 2003; Milesi *et al.* 2008; Özer *et al.* 2008; Slattey *et al.* 2010; Navidghasemizad *et al.* 2013). Azambuja *et al.* (2017), mezofilik aromatik kültür (CHN-22 DVS) ve bu kültüre ilaveten *Lb. helveticus* B02 DVS yardımcı kültürünü kullanarak ürettikleri Prato peynirinde  $\alpha_1$ -kazeinin sırasıyla %56 ile %67 oranında hidrolize olduğunu, özellikle yardımcı kültürün kullanıldığı peynirlerde  $\beta$ -kazeinin de daha fazla hidrolize edildiğini bildirmişlerdir. Aydemir (2010) Kars ilinden temin ettiği farklı işletmelere ait Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşmanın 30. gününde %45,02 ile %97,49 aralığında belirlediği parçalanmadan kalan  $\alpha_1$ -kazein oranlarının 180. günde %39,50 ile %87,48 arasında değiştiğini bildirmiştir. Erkaya (2014) probiyotik suşlar kullanarak ürettiği

Beyaz peynir örneklerinde kalıntı  $\alpha_1$ -kazein oranının olgunlaşma süresince azaldığını, olgunlaşma süresi sonunda peynir örneklerine ait kalıntı  $\alpha_1$ -kazein oranının %66,75-76,67 arasında değiştiğini belirlemiştir.



**Şekil 4.7.** Kaşar peyniri örneklerinin kalıntı  $\alpha_1$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alanlarının olgunlaşma süresi boyunca değişimi

**Çizelge 4.39.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait kalıntı  $\alpha_1$ -kazein ve  $\beta$ -kazein fraksiyonlarının densitometrik alan ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Kalıntı $\alpha_1$ -kazein   | Kalıntı $\beta$ -kazein     |
|-------------------------|----|------------------------------|-----------------------------|
| <b>Taze (7)</b>         | 12 | 1034,50± 100,71 <sup>a</sup> | 1236,00±229,53 <sup>a</sup> |
| <b>60</b>               | 12 | 936,00± 208,27 <sup>ab</sup> | 1244,75±151,43 <sup>a</sup> |
| <b>120</b>              | 12 | 871,75± 198,87 <sup>b</sup>  | 1278,00±197,44 <sup>a</sup> |
| <b>180</b>              | 12 | 818,25± 235,53 <sup>b</sup>  | 1208,00±190,88 <sup>a</sup> |

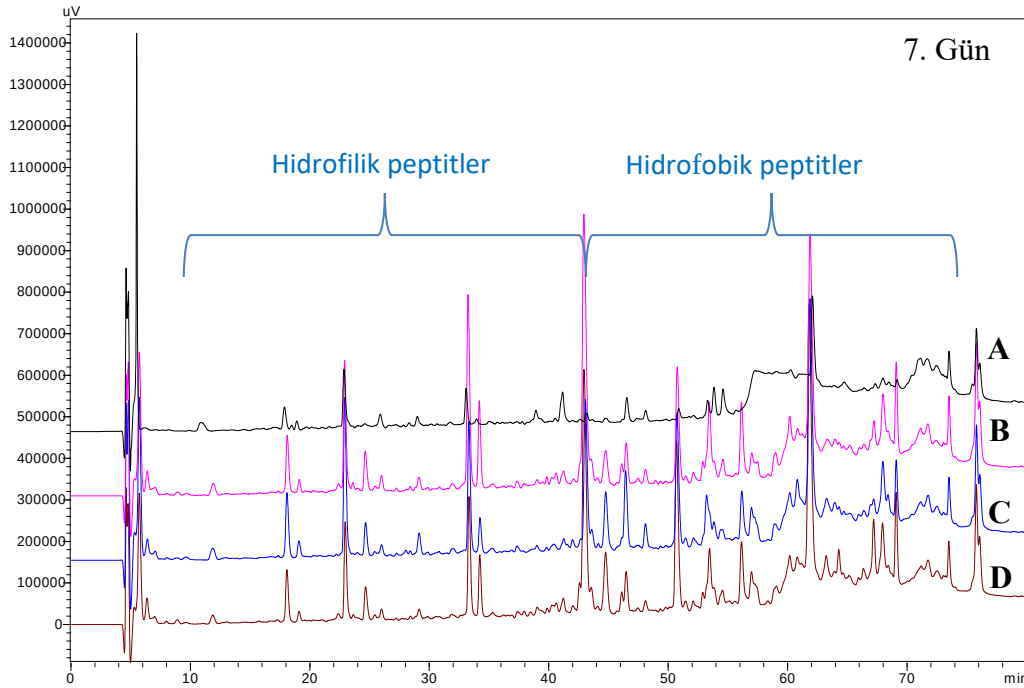
Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşma süresince kalıntı  $\alpha_1$ -kazeine ait alanların sürekli olarak azaldığı, buna karşılık;  $\beta$ -kazeine ait alanların önemli bir değişim sergilemediği belirlenmiştir. Akin *et al.* (2012); karragenan, gellan, sodyum alginat ile enkapsüle ettikleri proteaz enzimlerini kullanarak üretmiş oldukları tüm Kaşar peyniri örneklerinde 180 günlük olgunlaşma süresince  $\alpha_s$ - ve  $\beta$ -kazeindeki parçalanmanın artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Celik *et al.* (2018), haşlama işlemini takiben farklı ticari starter solüsyonlarına daldırdıkları Kaşar peynirlerinde  $\alpha_s$ -kazeinin daha fazla hidroliz edildiğini belirtmişlerdir. Calasso

*et al.* (2017), *Lb. casei*, *H. alvei*, *D. hansenii* ve *S. cerevisiae* ait hüresiz ekstraktlarını kullanarak üretmiş oldukları Pecorino peynirinde  $\alpha_1$ -kazeinin olgunlaşma süresince sürekli hidroliz olduğunu, buna karşılık olgunlaşma süresinin sonunda yüksek oranda parçalanmaya uğramamış  $\beta$ -kazein bulunduğunu bildirmişlerdir.

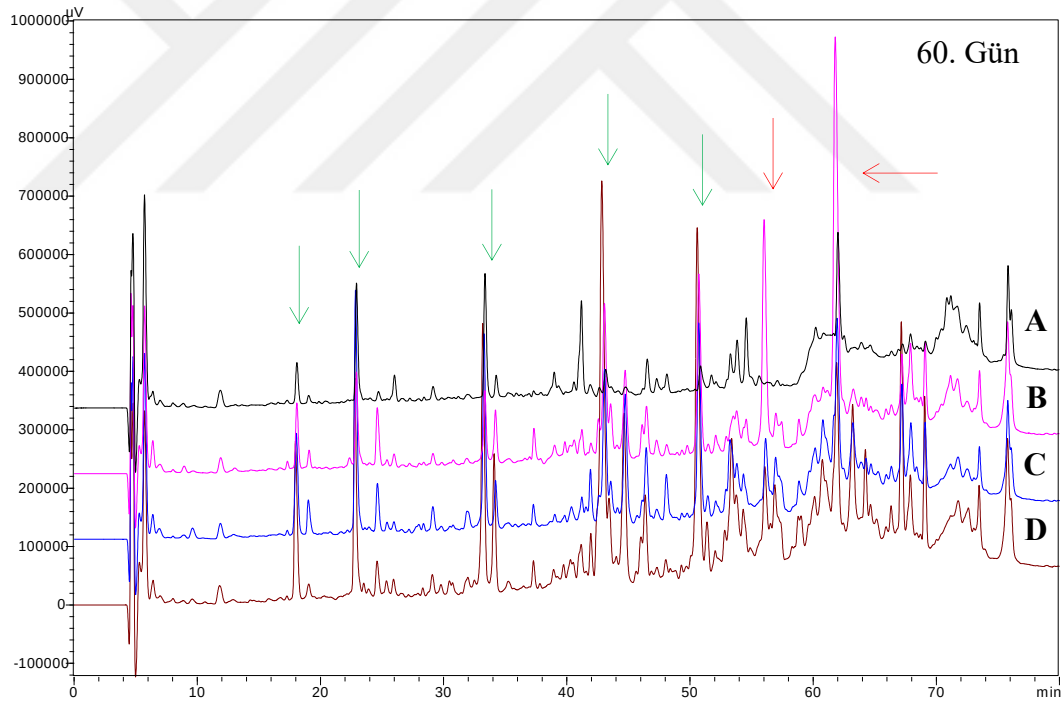
#### 4.7. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Peptid Profili Analiz Sonuçları

Birçok peynir çeşidinde olgunlaşma sürecinde meydana gelen proteolizi belirlemede başvurulmuş en yaygın ve en önemli yöntemlerden biri RP-HPLC tekniği ile peptit profilinin belirlenmesidir. HPLC kromatogramlarında oluşan pik sayısı, yüksekliği ve oluştuğu alan (hidrofilik ve hidrofobik bölge) peynirlerde sekonder proteoliz hakkında önemli bilgiler vermektedir. Kaşar peyniri örneklerinin peptit profili analizi pH 4.6'da çözünmüş azot fraksiyonunda RP-HPLC kullanılarak belirlenmiş ve olgunlaşma periyodunun 7., 60., 120., 180. günlerinde elde edilen kromatogramlar Şekil 4.8-4.11'de verilmiştir.



**Şekil 4.8.** Kaşar peyniri örneklerinde 7. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

Kromatogramda 10-40 d arası hidrofilik peptitler, 40-75 d arası ise hidrofobik peptitler olarak belirtilmiştir (Anastasiou *et al.* 2007; Pavlinic *et al.* 2010; Temizkan *et al.* 2014). Peynir örneklerine ait kromatogramlar incelendiğinde; özellikle primer ve yardımcı kültürlerin kullanıldığı B, C ve D örneklerinde proteoliz ürünlerinin heterojenliğini gösteren çok sayıda pikin var olduğu görülmektedir. Olgunlaşmanın başlangıcında B, C ve D örneklerinin peptit profillerinin birbirleriyle benzer olduğu, buna karşılık; kontrol örneği (A) ile karşılaştırıldığında hem piklerin sayısı hem de yüksekliği bakımından önemli farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Özellikle; B, C ve D örneklerinde 18., 23., 33., 43. ve 51. dakikalarda gelen piklerin yüksekliğinin daha fazla olduğu, 25., 34. ve 45. dakikalarda gelen piklerin ise kontrol örneğinde belirlenemediği görülmektedir.

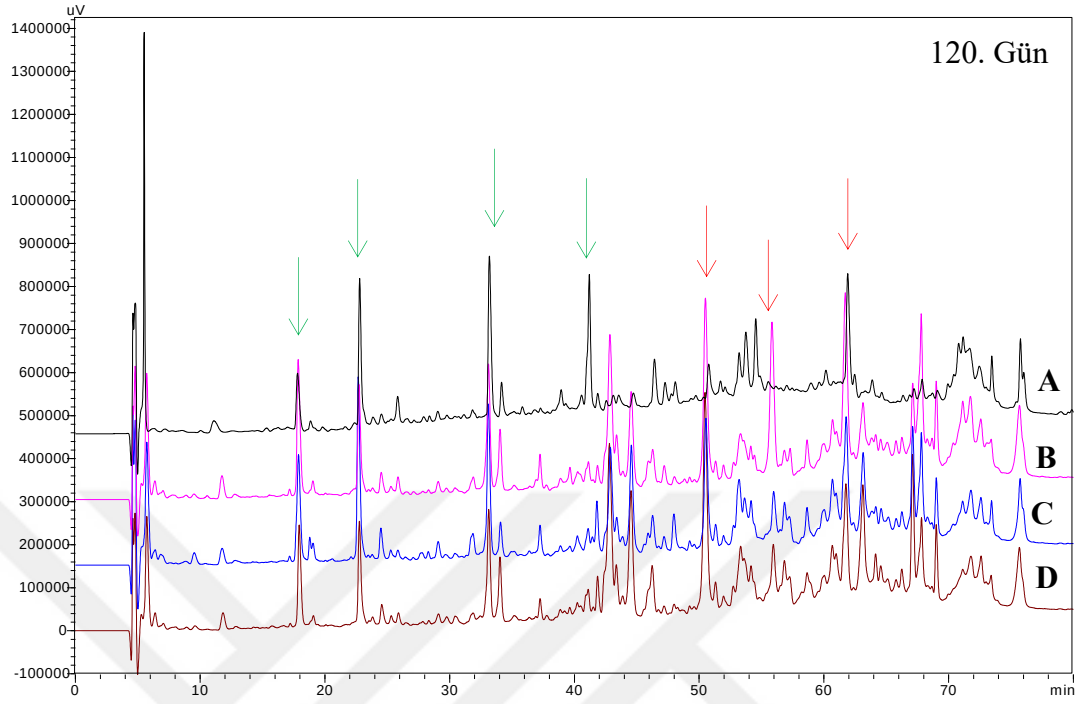


**Şekil 4.9.** Kaşar peyniri örneklerinde 60. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

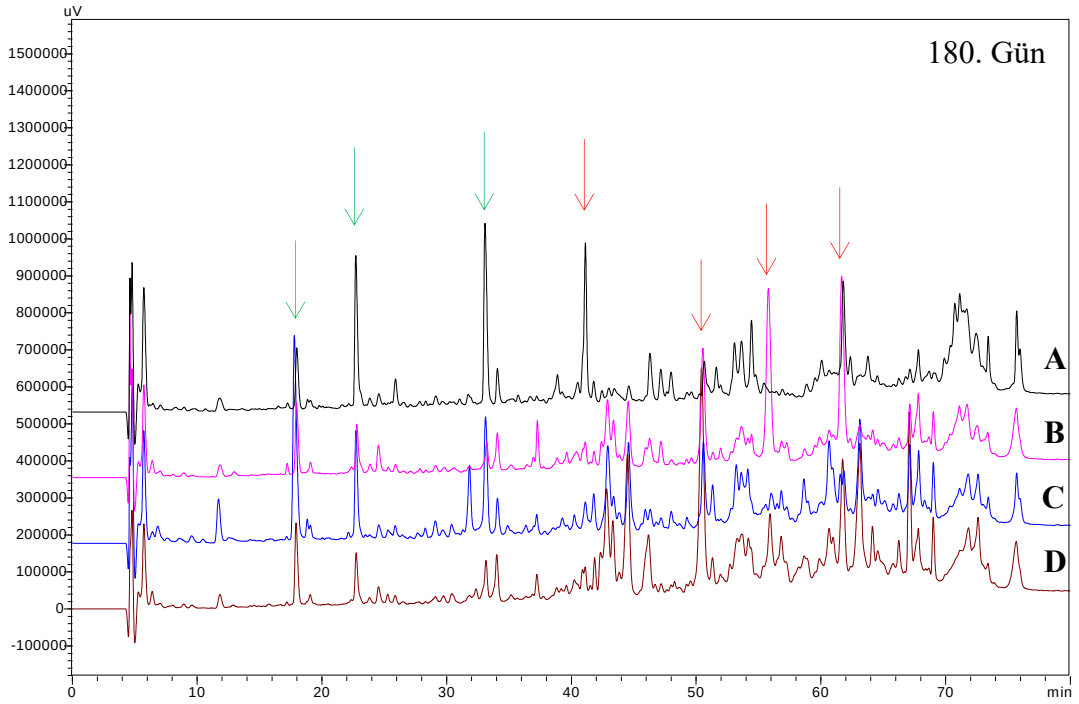
Olgunlaşmanın 60. gününde tüm örneklerde hem hidrofilik / hidrofobik bölgelerdeki piklerin çeşitliğinde hem de pik yüksekliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Pik alanlarındaki artış peynir örneklerinde önemli bir proteolizin gerçekleştiğinin göstergesi

olarak kabul edilmektedir. Özellikle alıkonma zamanlarının 18., 23., 33., 43., 51. dakikalarda gelen piklerin *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı ve sonike edilerek kullanıldığı peynir örneklerinde belirgin derecede yüksek olduğu görülmektedir. Nitekim De Pasquale *et al.* (2014) ve Gobbetti *et al.* (2015), *Lactobacillus sp.* ve *Lb. paracasei* suşlarının oranı ile hidrofilik peptitlerin pik alanları, serbest amino asit ve uçucu bileşiklerin konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ifade etmişlerdir. Calasso *et al.* (2015), *Lb. casei* LC01, *W. cibaria* 1XF5, *H. alvei* Moller ATCC 51815 ve *D. hansenii* LCF mikroorganizmalarına ait hücresiz ekstraktları kullanarak ürettikleri peynirler ile kontrol grubu peynirler arasındaki peptit profilindeki kantitatif ve kalitatif farklılıkların olgunlaşmanın 60. gününden itibaren ortaya çıktığını bildirmişlerdir. Morea *et al.* (2007) hem kontrol hem de *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* ve *Lb. parabuchneri* yardımcı kültürlerini kullanarak üretmiş oldukları Caciocavallo Pugliese peynirlerinin peptit profillerinin olgunlaşmanın başlangıcında benzer olduğunu, ancak pik yüksekliklerinin 60. günden sonra artış gösterdiğini ve bu artışların özellikle yardımcı kültür kullanılarak üretilen peynirlerde daha belirgin olduğunu bildirmişlerdir.

Göze çarpan bir diğer nokta sadece primer starter kültür ile (*Lb. bulgaricus* ve *S. thermophilus*) ile üretilen B örneğinde 51. 56. ve 62. dakikalarda gelen hidrofobik peptitlerin konsantrasyonun yüksek olmasıdır.



**Şekil 4.10.** Kaşar peyniri örneklerinde 120. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı



**Şekil 4.11.** Kaşar peyniri örneklerinde 180. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

Olgunlaşma periyodunun 120. ve 180. günlerinde yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinin bir birleriyle benzer, ancak kontrol örneğinden farklı ve kompleks bir peptit profili sergilediği görülmektedir. Peynir örneklerine ait hidrofilik peptitlerin pik yükseklikleri değerlendirildiğinde, örnekler arasında farklılıkların olduğu, 12. ve 18. dakikalarda belirlenen hidrofilik peptit piklerinin C örneğinde, 23. ve 33. dakikalarda belirlenen hidrofilik peptit piklerinin ise kontrol (A) örneğinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda starter ve/veya yardımcı kültür ilavesiyle üretilen B, C ve D peynirlerinde hidrofobik bölgedeki pik yüksekliklerinin azaldığı, buna karşılık kontrol örneğinde artışların olduğu belirlenmiştir. Özellikle C örneğinde 180. günde pik yüksekliklerindeki azalmanın dikkat çekici olduğu görülmektedir. Bu durumun, olgunlaşma süresince oluşan peptitlerin özellikle yardımcı kültür olarak ilave edilen *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun hem sonikasyon işleminin uygulandığı D örneğinde hem de canlı ilave edildiği C örneğinde otoliz olması ve buna bağlı olarak ortaya çıkan aminopeptidaz aktivitesi sonucunda serbest amino asitlere dönüşümünden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim; peynir örneklerine ait amino asit sonuçları incelendiğinde özellikle olgunlaşmanın 120. ve 180. günlerinde söz konusu örnekte amino asit konsantrasyonlarının daha fazla artış gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.40). Benzer şekilde; Hannon *et al.* (2003), RP-HPLC ile peptit profili analizi sonucunda pik yüksekliklerindeki azalmanın, serbest amino asit miktarındaki artışı yansıttığını ifade etmişlerdir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültürlerin canlı/zayıflatılmış olarak kullanıldığı her iki uygulamanın da sekonder proteoliz üzerinde etkili olduğu, ancak söz konusu suşların canlı olarak kullanımının hidrofobik peptitlerin hidrolizini daha fazla artırdığı söylenebilir. Giannoglou *et al.* (2016), yüksek basınç uygulamasıyla zayıflatılmış laktokok suşları ile üretilen peynirlerde olgunlaşma periyodunun sonunda hidrofobik peptitlerin konsantrasyonunun azaldığını bildirmişlerdir. Calasso *et al.* (2017), mikrobiyal enzim kaynağı olarak çeşitli mikroorganizmalara ait hücresiz ekstraktları kullanarak ürettikleri Pecorino tip peynir örneklerinde en yüksek sayıda pikin *Lb. casei* / *H. alvei* Moller ATCC 51815 ile *Lb. casei* / *D. hansenii* DSM 70590 kombinasyonlarıyla üretilen peynirlerde tespit edildiğini belirtmişlerdir. Hayaloğlu *et al.* (2013b), mezofilik starter kombinasyonları ile ürettikleri keçi peynirlerinde fazla sayıda pik oluşumunun gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Corsetti *et al.* (1998),

*Pseudomonas fluorescens*'a ait sitoplazmik enzim ekstraktı, NSLAB'leri ve peynir bulamacı (slurry) ilavesiyle ürettikleri Pecorino peynirlerinde, özellikle NSLAB'lerinin kullanımının düşük molekül ağırlıklı peptitlerin birikimini artırdığını tespit etmişlerdir. Avila *et al.* (2005), peynir örneklerinde tespit edilen hidrofobik peptitlerin düşük seviyede bulunmasının, otolize olan kültürlerden açığa çıkan intraselüler peptidazlarla ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir. Hannon *et al.* (2003), *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunu yardımcı kültür olarak kullandıkları deneme peynir örneklerinde olgunlaşma süresinin sonunda hidrofobik peptitlerin tamamına yakınının; bunun yanında hidrofilik peptitlerin ise çoğunun hidrolize olduğunu ifade etmişlerdir. Sahingil *et al.* (2014a), ticari starter kültüre (*Lc. lactis* ssp. *lactis* ve *Lc. lactis* ssp. *cremoris*) ilaveten *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* yardımcı kültürleriyle ürettikleri Beyaz peynirlerin peptit profilleri arasındaki farklılıkların yardımcı kültür olarak kullanılan bakterilerin proteolitik enzim sistemlerinin farklılığından kaynaklandığını bildirmişlerdir.

#### 4.8. Kaşar Peyniri Örneklerinin Serbest Amino Asit Analiz Sonuçları

Proteolizin son ürünü olarak oluşan amino asitlerin çeşitli katabolik reaksiyonlarla (dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon) uçucu lezzet bileşenlerine dönüştüğü ve böylece peynir lezzetinin oluşmasında oldukça önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (Settani and Moschetti 2010). Başka bir ifadeyle, amino asitler çeşitli alkoller, aldehitler, esterler ve sülfür bileşikler gibi lezzet bileşenleri için öncül maddeler olarak kabul edilmektedirler. Serbest amino asitlerin tayini aynı zamanda gıdanın besinsel kalitesi hakkında fikir vermesi bakımından da önemlidir. Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma periyodunun 7., 60., 120. ve 180. günlerinde belirlenen serbest amino asit miktarları standart sapmaları ile birlikte Çizelge 4.40'da, varyans analiz sonuçları ise toplu olarak ise Çizelge 4.41'de verilmiştir. Analiz edilen tüm örneklerde toplam 20 amino asit belirlenmiş olup, özellikle Asp, Arg, Ala, Pro, Tyr, Cys, Leu, Phe, Lys amino asitleri hakim amino asitler olarak tespit edilmiştir. Benzer şekilde; Glu, Val, Leu, Phe, Lys ve Pro amino asitleri çeşitli LAB'lerinin zayıflatılmış ya da canlı olarak kullanıldığı Caciocavallo Pugliese peynirinde (Di Cagno *et al.* 2012) ve farklı hayvan sütleri kullanılarak üretilen Kaşar peynirinde (Temizkan *et al.* 2014) major amino asitler olarak

belirlenmiştir. Aynı zamanda Aydemir (2010), Kars ilinde farklı işletmelerden temin ettiği Kaşar peynirlerinde Asp, Leu, Lys ve Phe amino asitlerinin yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu bildirmiştir.

**Çizelge 4.40.** Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen serbest amino asit konsantrasyonları

| Amino Asit<br>(mg/100 g) | Olg. Sür<br>(Gün) | Peynirler   |              |              |             |
|--------------------------|-------------------|-------------|--------------|--------------|-------------|
|                          |                   | A           | B            | C            | D           |
| Asp                      | 7                 | 88,80±7,93  | 97,73±5,41   | 103,17±8,20  | 91,46±3,94  |
|                          | 60                | 87,72±5,98  | 95,71±3,96   | 134,03±8,25  | 106,85±8,55 |
|                          | 120               | 115,01±8,29 | 161,04±10,14 | 124,34±38,18 | 113,40±4,90 |
|                          | 180               | 130,73±8,15 | 95,10±4,67   | 407,66±39,32 | 110,79±6,22 |
| Glu                      | 7                 | 1,04±0,46   | TE           | 1,23±0,07    | TE          |
|                          | 60                | 0,86±0,12   | TE           | 72,05±7,68   | 0,72±0,05   |
|                          | 120               | 1,37±0,09   | 1,84±0,69    | 1,55±0,11    | 1,91±0,08   |
|                          | 180               | 1,84±0,38   | 1,01±0,22    | 1,44±0,09    | 1,15±0,03   |
| Asn                      | 7                 | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 60                | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 120               | 4,47±0,37   | 8,95±0,54    | 3,17±0,92    | 5,30±0,30   |
|                          | 180               | 5,92±0,44   | 6,29±0,34    | 17,46±1,95   | 7,06±0,38   |
| Ser                      | 7                 | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 60                | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 120               | 4,30±0,24   | 19,93±1,13   | 8,96±2,63    | 11,13±0,54  |
|                          | 180               | 5,22±0,24   | 7,61±0,34    | 48,47±5,24   | 13,28±0,75  |
| Gln                      | 7                 | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 60                | TE          | TE           | 0,69±0,05    | 0,38±0,65   |
|                          | 120               | 2,54±0,20   | 7,21±0,40    | 4,26±1,24    | 4,66±0,21   |
|                          | 180               | 3,60±0,27   | 3,35±0,17    | 21,73±2,47   | 5,06±0,28   |
| Gly                      | 7                 | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 60                | TE          | TE           | TE           | TE          |
|                          | 120               | 1,23±0,07   | 7,74±0,45    | 3,32±0,94    | 2,94±0,16   |
|                          | 180               | 1,37±0,03   | 4,37±0,25    | 20,69±2,34   | 4,44±0,26   |
| His                      | 7                 | 1,83±0,55   | 1,55±0,16    | TE           | TE          |
|                          | 60                | 0,90±0,06   | 1,75±0,06    | TE           | TE          |
|                          | 120               | 32,06±1,03  | 18,46±1,02   | 34,22±21,07  | 5,85±0,25   |
|                          | 180               | 34,27±2,15  | 2,03±0,15    | 5,84±0,86    | 4,29±0,14   |
| Arg                      | 7                 | 22,88±1,02  | 22,66±1,13   | 23,35±1,76   | 26,18±1,05  |
|                          | 60                | 18,96±1,10  | 23,60±1,02   | 21,24±1,92   | 25,47±2,16  |
|                          | 120               | 5,93±0,25   | 13,79±0,79   | 15,20±0,89   | 6,84±0,43   |
|                          | 180               | 6,95±0,48   | 8,99±0,60    | 23,18±2,69   | 9,36±0,33   |
| Thr                      | 7                 | TE          | TE           | 0,72±0,10    | TE          |
|                          | 60                | 0,55±0,08   | TE           | 1,03±0,13    | 0,60±0,03   |
|                          | 120               | 9,30±0,50   | 20,71±1,18   | 17,35±1,15   | 13,75±0,82  |
|                          | 180               | 10,39±0,68  | 15,04±0,97   | 36,95±4,29   | 16,27±0,75  |
| Ala                      | 7                 | 1,25±0,42   | 0,91±0,10    | 1,57±0,23    | 0,23±0,41   |
|                          | 60                | 0,68±0,04   | 0,69±0,10    | 2,08±0,22    | 1,40±0,12   |
|                          | 120               | 20,75±1,82  | 16,91±1,17   | 58,03±17,26  | 48,73±4,77  |
|                          | 180               | 21,58±1,21  | 16,22±0,89   | 172,37±19,07 | 65,38±3,85  |

Çizelge 4.40. (devam)

|                                  |     |              |             |              |            |
|----------------------------------|-----|--------------|-------------|--------------|------------|
| <b>Pro</b>                       | 7   | 7,82±0,73    | 6,52±0,46   | 10,08±0,82   | 4,53±0,27  |
|                                  | 60  | 7,53±0,55    | 5,65±0,20   | 11,53±1,22   | 5,93±0,65  |
|                                  | 120 | 15,40±0,97   | 14,48±0,80  | 14,73±4,30   | 9,05±0,43  |
|                                  | 180 | 16,82±0,69   | 9,99±0,52   | 62,10±6,82   | 9,49±0,52  |
| <b>Tyr</b>                       | 7   | 3,70±0,13    | 1,77±0,11   | 1,22±0,49    | 0,27±0,47  |
|                                  | 60  | 1,52±0,15    | 1,18±0,27   | 0,87±0,81    | 1,98±0,29  |
|                                  | 120 | 9,91±0,51    | 26,33±6,46  | 5,15±1,60    | 19,79±0,85 |
|                                  | 180 | 12,17±2,02   | 27,42±1,71  | 81,72±4,69   | 25,34±3,21 |
| <b>Val</b>                       | 7   | TE           | 0,18±0,31   | 0,95±0,14    | 0,60±0,02  |
|                                  | 60  | TE           | TE          | 0,20±0,34    | 0,20±0,34  |
|                                  | 120 | 10,56±0,17   | 19,09±1,19  | 8,75±7,10    | 11,57±0,71 |
|                                  | 180 | 12,53±0,45   | 11,89±0,69  | 58,27±8,71   | 14,51±0,10 |
| <b>Met</b>                       | 7   | TE           | 26,60±1,47  | 1,01±0,11    | TE         |
|                                  | 60  | TE           | 29,36±1,26  | 0,73±0,09    | 1,00±0,06  |
|                                  | 120 | 3,14±0,27    | 5,59±0,32   | 3,15±0,97    | 2,83±0,13  |
|                                  | 180 | 4,64±0,58    | 5,43±0,25   | 21,90±3,01   | 4,89±0,23  |
| <b>Cys</b>                       | 7   | 50,87±1,67   | 51,24±2,89  | 52,03±4,46   | 53,07±2,32 |
|                                  | 60  | 44,71±3,01   | 50,32±2,08  | 47,21±5,13   | 52,78±4,04 |
|                                  | 120 | 10,73±1,67   | 11,03±0,61  | 2,25±0,64    | 10,37±0,70 |
|                                  | 180 | 7,34±1,51    | 8,34±0,32   | 25,01±5,20   | 16,56±1,61 |
| <b>Ile</b>                       | 7   | TE           | TE          | TE           | TE         |
|                                  | 60  | TE           | TE          | TE           | TE         |
|                                  | 120 | 7,05±1,40    | 8,45±0,50   | 7,76±2,72    | 6,70±0,29  |
|                                  | 180 | 8,31±0,21    | 8,35±0,45   | 33,04±3,70   | 9,81±0,88  |
| <b>Leu</b>                       | 7   | 0,81±0,09    | 1,82±0,07   | TE           | 1,38±0,05  |
|                                  | 60  | 0,57±0,02    | 1,28±0,15   | TE           | 0,84±0,74  |
|                                  | 120 | 26,76±3,72   | 76,30±3,29  | 57,11±17,76  | 52,64±3,10 |
|                                  | 180 | 33,29±2,33   | 44,25±1,45  | 234,83±26,12 | 63,49±3,90 |
| <b>Phe</b>                       | 7   | 1,42±0,22    | 3,53±0,20   | TE           | TE         |
|                                  | 60  | 0,99±0,09    | 3,48±0,15   | TE           | TE         |
|                                  | 120 | 38,89±3,45   | 84,34±3,49  | 45,49±13,20  | 58,15±3,26 |
|                                  | 180 | 42,76±3,11   | 61,93±3,11  | 126,45±14,45 | 67,13±4,05 |
| <b>Trp</b>                       | 7   | 5,53±2,22    | TE          | 4,46±0,42    | 3,41±0,10  |
|                                  | 60  | 1,55±0,14    | TE          | 5,01±0,59    | 7,97±0,66  |
|                                  | 120 | 19,40±1,49   | 33,92±2,05  | 2,42±0,49    | 4,88±0,38  |
|                                  | 180 | 32,92±4,16   | 3,35±0,13   | 1,24±0,22    | 1,36±0,32  |
| <b>Lys</b>                       | 7   | 163,41±22,11 | 165,24±8,96 | 12,52±0,80   | 8,21±0,43  |
|                                  | 60  | 152,73±5,58  | 169,46±6,98 | 13,29±0,78   | 8,58±0,38  |
|                                  | 120 | 16,33±1,44   | 51,51±3,10  | 34,75±10,58  | 25,86±1,62 |
|                                  | 180 | 22,28±1,84   | 36,65±1,62  | 163,22±18,22 | 32,68±3,06 |
| <b>Toplam Serbest Amino Asit</b> | 7   | 349,36       | 379,74      | 212,31       | 189,35     |
|                                  | 60  | 319,27       | 382,48      | 309,96       | 214,71     |
|                                  | 120 | 355,13       | 607,61      | 451,95       | 416,34     |
|                                  | 180 | 414,93       | 377,62      | 1563,57      | 482,34     |

Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır. TE: Tespit edilemedi.

**Çizelge 4.41.** Kaşar peyniri örneklerinin serbest amino asit değerlerine ait varyans analiz test sonuçları

| Varyasyon Kaynakları | SD | F değeri |           |          |           |          |           |          |          |           |           |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
|----------------------|----|----------|-----------|----------|-----------|----------|-----------|----------|----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
|                      |    | Asp      | Glu       | Asn      | Ser       | Gln      | Gly       | His      | Arg      | Thr       | Ala       | Pro      | Tyr      | Val      | Met      | Cys      | Ile      | Leu      | Phe      | Trp      | Lys      |
| Peynir örneği (A)    | 3  | 93,18 ** | 262,36**  | 41,98**  | 131,54 ** | 116,38** | 151,52 ** | 17,06 ** | 59,67 ** | 112,72 ** | 143,73 ** | 164,03** | 92,18 ** | 39,92**  | 638,18** | 6,19**   | 74,42**  | 112,51** | 38,61**  | 177,59** | 251,10** |
| Olgun. süresi (B)    | 3  | 85,23**  | 238,11 ** | 684,63** | 434,42**  | 363,15** | 391,30**  | 46,62**  | 336,30** | 803,51**  | 288,04**  | 175,32** | 613,57** | 195,80** | 73,28**  | 760,45** | 399,41** | 371,35** | 608,57** | 200,93** | 114,03** |
| AxB                  | 9  | 68,49**  | 254,45**  | 89,88**  | 151,91**  | 116,99** | 151,96**  | 8,70**   | 32,95**  | 71,00**   | 80,31**   | 92,19**  | 163,12** | 52,38**  | 290,02** | 10,28**  | 71,93**  | 104,89** | 47,57**  | 190,52** | 202,82** |
| Hata                 | 32 |          |           |          |           |          |           |          |          |           |           |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |
| Genel                | 48 |          |           |          |           |          |           |          |          |           |           |          |          |          |          |          |          |          |          |          |          |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli

Varyans analizi test sonuçlarından, tüm serbest amino asit miktarlarının hem peynir örnekleri arasındaki değişiminin hem de söz konusu amino asitlerde olgunlaşma süresince görülen değişimin istatistiksel olarak  $p<0,01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının tüm amino asitler üzerindeki etkisinin de önemli ( $p<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.41). Kaşar peyniri örneklerinin serbest amino asit miktarları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.42’de, olgunlaşma sürelerine ait ortalamaların Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.43’te toplu olarak verilmiştir

**Çizelge 4.42.** Kaşar peyniri örneklerine ait serbest amino asit ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırmalı test sonuçları

| Peynirler | n  | Asp                        | Glu                      | Asn                    | Ser                      | Gln                    |
|-----------|----|----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| A         | 12 | 105,56±20,07 <sup>b</sup>  | 1,28±0,47 <sup>b</sup>   | 2,59±2,77 <sup>c</sup> | 2,37±2,51 <sup>c</sup>   | 1,53±1,65 <sup>c</sup> |
| B         | 12 | 112,39±29,86 <sup>b</sup>  | 0,71±0,86 <sup>b</sup>   | 3,81±4,10 <sup>b</sup> | 6,88±8,52 <sup>b</sup>   | 2,64±3,10 <sup>b</sup> |
| C         | 12 | 192,29±132,56 <sup>a</sup> | 19,06±32,11 <sup>a</sup> | 5,15±7,59 <sup>a</sup> | 14,35±21,70 <sup>a</sup> | 6,67±9,31 <sup>a</sup> |
| D         | 12 | 105,62±0,14 <sup>b</sup>   | 0,94±0,72 <sup>b</sup>   | 3,09±3,29 <sup>c</sup> | 6,10±6,43 <sup>b</sup>   | 2,52±2,46 <sup>b</sup> |

| Peynirler | n  | Gly                    | His                      | Arg                     | Thr                      | Ala                      |
|-----------|----|------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| A         | 12 | 0,64±0,68 <sup>d</sup> | 17,27±16,66 <sup>a</sup> | 13,68±7,73 <sup>c</sup> | 5,06±5,03 <sup>d</sup>   | 11,06±10,59 <sup>c</sup> |
| B         | 12 | 3,02±3,40 <sup>b</sup> | 5,94±7,56 <sup>bc</sup>  | 17,26±6,43 <sup>b</sup> | 8,94±9,58 <sup>b</sup>   | 8,68±8,26 <sup>c</sup>   |
| C         | 12 | 6,00±9,03 <sup>a</sup> | 10,01±17,32 <sup>b</sup> | 20,74±3,82 <sup>a</sup> | 14,01±15,62 <sup>a</sup> | 58,51±73,54 <sup>a</sup> |
| D         | 12 | 1,84±2,00 <sup>c</sup> | 2,54±2,71 <sup>c</sup>   | 16,96±9,36 <sup>b</sup> | 7,65±7,75 <sup>c</sup>   | 28,93±30,12 <sup>b</sup> |

| Peynirler | n  | Pro                      | Tyr                      | Val                      | Met                      | Cys                       |
|-----------|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| A         | 12 | 11,89±4,48 <sup>b</sup>  | 6,82±4,63 <sup>d</sup>   | 5,77±6,07 <sup>b</sup>   | 1,94±2,12 <sup>c</sup>   | 28,41±20,48 <sup>c</sup>  |
| B         | 12 | 9,15±3,65 <sup>c</sup>   | 14,17±13,58 <sup>b</sup> | 7,79±8,49 <sup>b</sup>   | 16,74±11,08 <sup>a</sup> | 30,23±21,54 <sup>bc</sup> |
| C         | 12 | 24,61±22,94 <sup>a</sup> | 22,24±35,98 <sup>a</sup> | 17,04±25,56 <sup>a</sup> | 6,69±9,31 <sup>b</sup>   | 31,62±20,98 <sup>ab</sup> |
| D         | 12 | 7,25±2,21 <sup>d</sup>   | 11,84±11,48 <sup>c</sup> | 6,72±6,71 <sup>b</sup>   | 2,18±1,95 <sup>c</sup>   | 33,19±20,84 <sup>a</sup>  |

| Peynirler | n  | Ile                      | Leu                       | Phe                      | Trp                      | Lys                       |
|-----------|----|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| A         | 12 | 3,83±4,08 <sup>b</sup>   | 15,35±15,62 <sup>c</sup>  | 21,01±20,83 <sup>d</sup> | 14,84±13,07 <sup>a</sup> | 88,68±73,26 <sup>b</sup>  |
| B         | 12 | 4,20±4,39 <sup>b</sup>   | 30,91±32,90 <sup>b</sup>  | 38,32±37,34 <sup>b</sup> | 9,31±14,93 <sup>b</sup>  | 105,71±64,83 <sup>a</sup> |
| C         | 12 | 10,20±14,29 <sup>a</sup> | 72,98±101,48 <sup>a</sup> | 42,98±54,58 <sup>a</sup> | 3,28±1,63 <sup>c</sup>   | 55,94±65,97 <sup>c</sup>  |
| D         | 12 | 4,12±4,47 <sup>b</sup>   | 29,59±30,08 <sup>b</sup>  | 31,31±32,95 <sup>c</sup> | 4,40±2,54 <sup>c</sup>   | 18,83±11,29 <sup>d</sup>  |

Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Serbest amino asit miktarları incelendiğinde; His, Met, Cys, Trp, Lys hariç diğer tüm amino asit miktarlarının C örneğinde istatistiksel olarak önemli düzeyde yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.42). Cys amino asidinin sonike edilmiş *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının kullanıldığı D örneğinde, His, Trp amino asitlerinin kontrol örneğinde, Met ve Lys amino asitlerinin ise sadece primer starter kültürün kullanıldığı B örneğinde daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu belirlenmiştir. Ser, Gln, Arg, Leu amino asitlerinin miktarlarının ise D örneği ile sadece primer starterin kullanıldığı B örneğinde benzer değerlere sahip olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda insan beslenmesinde önem arz eden Thr, Met, Leu, Ile ve Lys esansiyel amino asit miktarlarının özellikle C ve D örneklerinde olgunlaşma boyunca arttığı, B örneğinde ise bu amino asitlerin konsantrasyonlarının azaldığı saptanmıştır (Çizelge 4.40). Calasso *et al.* (2017), Val, Ile, Leu, Phe, Trp, Ala, Lys ve Arg esansiyel amino asit miktarlarının sonikasyon uygulaması ile elde edilen hücresiz ekstraktların kullanıldığı peynir örneklerinde genel olarak daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edildiğini bildirmişlerdir. Mevcut sonuçlardan, Kaşar peyniri üretiminde primer starter kültüre ilave olarak *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının uzun dönem olgunlaştırma periyotlarında peynir örneklerinde hem esansiyel amino asit konsantrasyonunun hem de amino asit çeşitliliğinin artırılmasında etkili olduğu görülmektedir. Serbest amino asit miktarları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıklar starter/yardımcı kültür olarak kullanılan bakterilerin farklı oranlarda lize olmasına ve dolayısıyla peynir matrisinde değişik oran/çeşitte enzimin serbest kalmasına bağlanabilir. Özellikle *Lb. helveticus* DPC 4571 sayılarının hem C hem de D örneğinde olgunlaşma süresince hızlıca azaldığı ve bu azalmanın özellikle C örneğinde daha fazla (2,30 logaritmik birim) olduğu belirlenmiştir. Bu durum, özellikle C örneğinde serbest amino asit miktarlarının daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir. Aydemir (2010), Kars ilinde faaliyet gösteren farklı firmalardan temin ettiği Kaşar peynirlerinin serbest amino asit miktarlarının LAB sayısı ile paralel bir değişim gösterdiğini ve bu durumun serbest amino asitlerinin söz konusu mikroorganizma grubunun peptidaz aktivitesi sonucu ortaya çıkmasıyla ilgili olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde; Hannon *et al.* (2003), en yüksek toplam serbest amino asit içeriğinin *Lb. helveticus* DPC 4571 suşu ile üretilen Cheddar peynirlerinde

belirlendiğini ve hızla otoliz olması nedeniyle peynir bünyesindeki peptidaz aktivitesi üzerinde önemli katkısının olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda starter olarak kullanılan bakterilerin otoliz olma derecesinin suşa bağlı olarak değiştiği ve sekonder proteolizi önemli düzeyde etkilediği bildirilmiştir (Upadhyay *et al.* 2007). Olgunlaşma sırasında proteinlerin parçalanmasının sonucu olarak serbest amino gruplarının oluştuğu, muamele uygulanmış peynirlerde söz konusu amino gruplarındaki artışın kontrol grubundan fazla olmasının olgunlaşmanın hızlandığının bir göstergesi olduğu bildirilmiştir (Fox *et al.* 1993; Akin *et al.* 2012). Her iki uygulama dikkate alındığında serbest amino asit oluşumu üzerine *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanımının daha etkili olduğu, söz konusu uygulamanın etkisinin özellikle olgunlaşmanın 180. gününde dikkat çekici olduğu söylenebilir.

**Çizelge 4.43.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait serbest amino asit ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırmalı test sonuçları

| Olgunlaşma süresi (Gün) | n  | Asp                        | Glu                      | Asn                    | Ser                      | Gln                    |
|-------------------------|----|----------------------------|--------------------------|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 7                       | 12 | 95,29±8,11 <sup>c</sup>    | 0,56±0,63 <sup>b</sup>   | 0,00±0,00 <sup>c</sup> | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   | 0,00±0,00 <sup>c</sup> |
| 60                      | 12 | 106,08±19,22 <sup>c</sup>  | 18,40±32,51 <sup>a</sup> | 0,00±0,00 <sup>c</sup> | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   | 0,26±0,41 <sup>c</sup> |
| 120                     | 12 | 128,45±26,56 <sup>b</sup>  | 1,67±0,37 <sup>b</sup>   | 5,48±2,29 <sup>b</sup> | 11,08±6,05 <sup>b</sup>  | 4,67±1,83 <sup>b</sup> |
| 180                     | 12 | 186,07±135,40 <sup>a</sup> | 1,36±0,38 <sup>b</sup>   | 9,19±5,08 <sup>a</sup> | 18,64±18,38 <sup>a</sup> | 8,44±8,11 <sup>a</sup> |

| Olgunlaşma süresi (Gün) | n  | Gly                    | His                      | Arg                     | Thr                      | Ala                      |
|-------------------------|----|------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7                       | 12 | 0,00±0,00 <sup>c</sup> | 0,84±0,92 <sup>c</sup>   | 23,76±1,83 <sup>a</sup> | 0,17±0,32 <sup>c</sup>   | 0,98±0,58 <sup>c</sup>   |
| 60                      | 12 | 0,00±0,00 <sup>c</sup> | 0,66±0,75 <sup>c</sup>   | 22,31±2,91 <sup>b</sup> | 0,54±0,38 <sup>c</sup>   | 1,21±0,61 <sup>c</sup>   |
| 120                     | 12 | 3,80±2,55 <sup>b</sup> | 22,64±14,94 <sup>a</sup> | 10,44±4,31 <sup>d</sup> | 15,27±4,50 <sup>b</sup>  | 36,10±19,96 <sup>b</sup> |
| 180                     | 12 | 7,71±7,99 <sup>a</sup> | 11,60±13,77 <sup>b</sup> | 12,12±6,84 <sup>c</sup> | 19,66±10,84 <sup>a</sup> | 68,88±66,02 <sup>a</sup> |

| Olgunlaşma süresi (Gün) | n  | Pro                      | Tyr                      | Val                      | Met                     | Cys                     |
|-------------------------|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 7                       | 12 | 7,23±2,16 <sup>c</sup>   | 1,73±1,33 <sup>c</sup>   | 0,43±0,41 <sup>c</sup>   | 6,90±11,90 <sup>c</sup> | 51,80±2,72 <sup>a</sup> |
| 60                      | 12 | 7,66±2,53 <sup>c</sup>   | 1,38±0,57 <sup>c</sup>   | 0,10±0,23 <sup>c</sup>   | 7,77±13,03 <sup>b</sup> | 48,75±4,51 <sup>b</sup> |
| 120                     | 12 | 13,41±3,27 <sup>b</sup>  | 15,29±9,10 <sup>b</sup>  | 12,49±5,14 <sup>b</sup>  | 3,67±1,24 <sup>d</sup>  | 8,59±3,92 <sup>d</sup>  |
| 180                     | 12 | 24,60±23,00 <sup>a</sup> | 36,65±27,98 <sup>a</sup> | 24,30±20,84 <sup>a</sup> | 9,21±7,76 <sup>a</sup>  | 14,31±7,83 <sup>c</sup> |

| Olgunlaşma süresi (Gün) | n  | Ile                      | Leu                      | Phe                      | Trp                      | Lys                      |
|-------------------------|----|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 7                       | 12 | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   | 1,00±0,71 <sup>c</sup>   | 1,23±1,51 <sup>c</sup>   | 3,34±2,37 <sup>c</sup>   | 87,34±81,06 <sup>a</sup> |
| 60                      | 12 | 0,00±0,00 <sup>c</sup>   | 0,67±0,58 <sup>c</sup>   | 1,11±1,48 <sup>c</sup>   | 3,63±3,25 <sup>c</sup>   | 86,01±78,77 <sup>a</sup> |
| 120                     | 12 | 7,48±1,50 <sup>b</sup>   | 53,20±20,10 <sup>b</sup> | 56,71±19,17 <sup>b</sup> | 15,15±13,23 <sup>a</sup> | 32,11±14,35 <sup>c</sup> |
| 180                     | 12 | 14,87±11,08 <sup>a</sup> | 93,96±86,43 <sup>a</sup> | 74,56±33,36 <sup>a</sup> | 9,71±14,13 <sup>b</sup>  | 63,70±60,78 <sup>b</sup> |

Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma süresince çoğu amino asit konsantrasyonlarının arttığı (Asp, Asn, Ser, Gln, Gly, Thr, Ala, Pro, Tyr, Val, Ile ve Leu, Phe) ve bu artışların özellikle 60. günden sonra belirgin düzeyde olduğu görülmektedir. Özellikle Asn, Ser, Gly ve Ile amino asitleri tüm örneklerde olgunlaşma periyodunun 120. gününden itibaren belirlenebilmiştir. Bu durum özellikle 120. ve 180. günlerde sekonder proteolizin daha hızlı düzeyde gerçekleşmesine ve dolayısıyla primer proteoliz sırasında oluşan peptitlerin amino asitlere hidroliz olmasıyla açıklanabilir. Olgunlaşmanın 120-180 günlerine ait RP-HPLC kromatogramı incelendiğinde peynir örneklerinin peptit profiline ait pik yüksekliklerinin azaldığı, mevcut peptitlerin amino asitlere dönüştüğü görülmektedir (Şekil 4.10 ve 4.11). Aynı zamanda olgunlaşma süresince Arg, His, Glu, Met, Cys, Trp ve Lys amino asitlerinin miktarlarında artma/azalmaların olduğu belirlenmiştir. Genel olarak tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit miktarında artış olduğu, en yüksek artışın *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde belirlendiği görülmektedir. Söz konusu örnekte olgunlaşma süresinin 180. gününde ulaşılan toplam amino asit miktarının (1563,57 mg/100 g) kontrol örneğinden (414,93 mg/100 g) yaklaşık 3,5 kat fazla olduğu belirlenmiş, sırasıyla D, B ve A örnekleri takip etmiştir (Çizelge 4.40). Benzer şekilde; Calasso *et al.* (2015), sonikasyon uygulamasıyla elde ettikleri maya ve bakteri hücrelerine ait hücresiz ekstraktları kullanarak ürettikleri Pecorino tip peynirlerin tümünde toplam serbest amino asit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince artış gösterdiğini, olgunlaşma süresi sonunda en yüksek artışın *Lb. casei* suşuna ait hücresiz enzim ekstraktı ile üretilen peynirde belirlendiğini bildirmişlerdir.

#### 4.9. Kaşar Peyniri Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler

Kaşar peynirlerinde olgunlaşma periyodunun 7., 60., 120. ve 180. günlerinde belirlenen uçucu bileşikler kimyasal olarak gruplandırılmış ve varyans analiz sonuçları ile birlikte ayrı tablolar halinde verilmiştir (Çizelge 4.44-4.50). Çizelgelerden görülebileceği gibi, peynirlerde 21'i alkol, 17'si ester, 16'sı keton, 8'i aldehit, 8'i

karboksilik asit, 3'ü terpen ve 24'ü diğer bileşikler olmak üzere toplam 97 adet uçucu bileşik tayin edilmiştir.

#### 4.9.1. Aldehitler

Aldehitler, çoğunlukla serbest amino asitlerin dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon ile strecker reaksiyonları sonucunda oluşmakta, aynı zamanda düz zincirli aldehitlerde olduğu gibi doymamış yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu ile de meydana gelmektedir (Fox and Wallace 1997; Massouras *et al.* 2006). Düz zincirli aldehit bileşiklerinin (1- hexenal, 1-octanal, 1-nonanal, 1-decanal) peynirin olgunlaşması esnasında hızlı bir şekilde alkol ve asitlere dönüştüğü ve bu nedenle algılanabilir peynir aromasına düşük katkı sağladıkları bildirilmektedir (Irigoyen *et al.* 2007; Akalin and Karaman 2011; Atasoy *et al.* 2013; Ocak *et al.* 2015; Mei *et al.* 2015). Dallanmış aldehit bileşiklerinin (2- methyl- butanal, 3- methyl-butanal) ise mikroorganizmaların enzimatik aktiviteleri sonucunda serbest amino asitlerden oluştuğu ve yeşil çimen/otsu aroma ile karakterize edildiği bildirilmiştir (Ortigosa *et al.* 2005; Hayaloglu 2009; Akalin and Karaman 2011; Oluk *et al.* 2014; Cakir *et al.* 2016). Olgunlaşma süresince peynir örneklerinde belirlenen aldehit bileşikleri ANOVA testi sonuçları ile birlikte Çizelge 4.44'de verilmiştir. Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, nonanal dışındaki tüm aldehitlerin hem örnekler arasındaki hem de olgunlaşma süresindeki değişimi önemli ( $p<0,01$ ) bulunmuştur. Tüm peynir örneklerinde 3-methyl-butanal, hexenal, nonanal, benzaldehyde yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir.

Peynir örneklerine ait aldehit bileşikleri incelendiğinde; genel olarak 2-methyl-butanal ve 3-methyl-butanal gibi çoğu aldehidin kontrol örneğinde yardımcı kültür kullanılarak üretilen peynir örneklerine nazaran önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan C ve D örneklerine ait söz konusu aldehit bileşiklerinin peynirde birikmediği ve diğer uçucu bileşiklere (alkol veya asit bileşiklerine) dönüştüğü düşünülmektedir. Nitekim; aldehitlerin stabil olmayan bileşikler olduğu, peynirin olgunlaşması sırasında alkollere/asitlere dönüştüğü ve bu

nedenle konsantrasyonlarında dalgalanmaların görülebileceği bildirilmiştir (Carbonell *et al.* 2002; De Pasquale *et al.* 2014). Benzer şekilde; Calasso *et al.* (2015), enzim kaynağı olarak çeşitli mikroorganizmaların hücresiz ekstraktlarını kullanarak ürettikleri peynirlerde aldehitlerin konsantrasyonlarının kontrol örneğinde daha yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda bu bileşiklerin yüksek konsantrasyonlarda bulunmasının istenmeyen aroma oluşumuna neden olabilecek optimum düzeyde veya tam olarak gerçekleşmeyen peynir olgunlaşmasının bir indeksi olarak düşünülebileceğini ifade etmişlerdir (Moio and Addeo 1998; Calasso *et al.* 2015).

Özellikle 3-methyl butanal ile benzaldehyde konsantrasyonlarının *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olgunlaşmanın 180. gününde önemli düzeyde artış gösterdiği görülmektedir. Benzaldehyde'in fenilalanin amino asidinin enzimatik dönüşümü ile oluştuğu ve bu dönüşümde stoplazmik enzimlerin rolünün olduğu bildirilmiştir (Lazzi *et al.* 2016).

**Çizelge 4.44.** Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen aldehit bileşikleri

| Bileşik<br>(µg /100 g) | RI   | Olg.Sür.<br>(Gün) | Peynirler    |               |              |              | ANOVA            |              |
|------------------------|------|-------------------|--------------|---------------|--------------|--------------|------------------|--------------|
|                        |      |                   | A            | B             | C            | D            | Peynir<br>örneği | Olg.<br>Sür. |
| 2-Methyl-<br>butanal   | 666  | 7                 | 48,97±8,88   | TE            | TE           | 10,39±0,56   | **               | **           |
|                        |      | 60                | 69,37±3,47   | 14,81±0,42    | 13,52±0,21   | TE           |                  |              |
|                        |      | 120               | 19,24±8,84   | 7,68±0,53     | TE           | 4,97±0,27    |                  |              |
|                        |      | 180               | 14,62±0,88   | 38,00±3,61    | 15,08±4,89   | TE           |                  |              |
| 3-Methyl-<br>butanal   | 808  | 7                 | 457,12±79,80 | 29,53±1,35    | 47,31±11,50  | 36,14±7,72   | **               | **           |
|                        |      | 60                | 608,85±57,12 | 33,73±8,95    | 62,63±24,08  | 42,14±6,62   |                  |              |
|                        |      | 120               | 143,13±11,38 | 34,07±8,58    | 71,37±14,24  | 39,46±7,20   |                  |              |
|                        |      | 180               | 148,80±21,14 | 253,52±138,10 | 166,51±68,36 | 31,04±4,14   |                  |              |
| Octanal                | 979  | 7                 | 10,18±0,55   | 11,58±0,63    | 9,01±0,25    | 7,36±0,39    | **               | **           |
|                        |      | 60                | TE           | 17,94±0,50    | TE           | 21,72±1,17   |                  |              |
|                        |      | 120               | 15,58±1,23   | 13,62±8,62    | 10,92±0,31   | 13,83±0,75   |                  |              |
|                        |      | 180               | 17,79±1,28   | TE            | TE           | TE           |                  |              |
| Hexenal                | 1079 | 7                 | 72,81±10,75  | 121,45±17,46  | 150,20±82,96 | 109,87±33,51 | **               | **           |
|                        |      | 60                | 264,41±44,99 | 94,37±58,59   | 139,15±22,09 | 106,75±9,59  |                  |              |
|                        |      | 120               | TE           | 190,92±5,33   | 138,57±3,87  | 116,37±6,29  |                  |              |
|                        |      | 180               | TE           | 64,04±1,78    | TE           | TE           |                  |              |

Çizelge 4.44 (devam)

|              |      |     |            |             |             |             |    |    |
|--------------|------|-----|------------|-------------|-------------|-------------|----|----|
| Nonanal      | 1374 | 7   | 45,58±3,88 | 54,35±2,07  | 44,21±13,31 | 35,05±1,91  | NS | NS |
|              |      | 60  | 59,46±3,82 | 24,46±16,33 | 45,63±1,27  | 63,26±40,27 |    |    |
|              |      | 120 | 40,43±3,23 | 46,22±22,38 | 50,10±14,91 | 50,54±3,73  |    |    |
|              |      | 180 | 43,87±2,25 | 49,21±1,37  | 32,69±11,64 | 76,64±23,94 |    |    |
| Decanal      | 1496 | 7   | 17,21±0,95 | 16,93±0,47  | TE          | TE          | ** | ** |
|              |      | 60  | 20,83±0,58 | 14,69±0,41  | TE          | TE          |    |    |
|              |      | 120 | TE         | 18,93±0,52  | 15,52±0,43  | 16,69±0,90  |    |    |
|              |      | 180 | TE         | 17,25±0,48  | 10,85±0,30  | 24,56±1,32  |    |    |
| Benzaldehyde | 1540 | 7   | 15,94±0,86 | 22,91±12,10 | 55,17±26,16 | 24,04±6,66  | ** | ** |
|              |      | 60  | 30,75±6,81 | 19,25±3,82  | 30,17±13,84 | 32,28±20,16 |    |    |
|              |      | 120 | 22,65±1,78 | 18,69±11,58 | 19,95±5,02  | 15,87±3,09  |    |    |
|              |      | 180 | 23,51±2,96 | 14,19±2,11  | 69,69±1,94  | 35,61±2,27  |    |    |
| 2-Hexenal    | 1850 | 7   | TE         | 12,99±0,36  | 15,90±0,45  | 11,28±0,61  | ** | ** |
|              |      | 60  | 13,98±2,19 | 7,79±0,21   | 8,14±0,23   | TE          |    |    |
|              |      | 120 | TE         | TE          | TE          | TE          |    |    |
|              |      | 180 | TE         | TE          | TE          | TE          |    |    |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

Nitekim; Hannon *et al.* (2007), *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun yardımcı kültür olarak kullandıkları Cheddar peyniri örneğine ait benzaldehyde miktarının, sadece starter kültür ile üretilen kontrol peynir örneğine göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde; Calasso *et al.* (2017), *Lactobacillus* ve bazı maya suşlarından sonikasyon ile elde ettikleri hücresiz ekstraktların kullanıldığı peynir örneklerine ait benzaldehyde konsantrasyonunun, kontrol örneğine oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinde belirlenen aldehit bileşiklerinin konsantrasyonlarında dalgalanmaların olduğu ve bu dalgalanmaların istatistiksel olarak önemli (p<0,01) olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.9.2. Ketonlar

Ketonlar; serbest yağ asitlerinin enzimatik oksidasyonu ile  $\beta$ - ketoasitlerine, ardından söz konusu bileşiklerin dekarboksilasyonu ile metil ketonlara dönüşmekte ve düşük konsantrasyonlarda bile peynir aroması üzerinde etkili olmaktadır. Diasetil ve asetoin gibi ketonların oluşumu ise laktoz ve sitrat parçalanması sonucu oluşan pirüvatın yıkılmasıyla gerçekleşmektedir. Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen keton bileşikleri ANOVA testi sonuçlarıyla birlikte Çizelge

4.45'te verilmiştir. 2- propanone, 3-hydroxy-2-butanone, 2-nonanone, 8-nonene-2-one bileşikleri dışında diğer ketonlar açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Aynı zamanda peynirlerde belirlenen keton bileşiklerinin olgunlaşma süresinceki değişiminin de önemli olduğu tespit edilmiştir. 2-Propanone (acetone), 2,3-butanedione (diacetyl), 2-pentanone, 2-heptanone ve 3-hydroxy- 2-butanone (asetoin), 2-nonanone tüm örneklerde major keton bileşikler olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.45). Temizkan *et al.* (2014) farklı tür hayvan sütlerinden ürettikleri Kaşar peynirlerinde toplam 10 adet keton bileşiği tespit etmişler, 2-butanone, 2-pentanone, 2-heptanone ve 3-hydroxy-2-butanone bileşiklerinin hakim keton bileşikler olduğunu bildirmişlerdir.

Özellikle, *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde 180. günde yüksek konsantrasyonda 2-propanone (acetone) ve 2,3-butanedione (diacetyl) (tereyağımsı aroma) tespit edilmiştir. Benzer şekilde; Lazzi *et al.* (2016), Grano Padano peynirinde *Lb. rhamnosus/Lb. casei* suşlarının olgunlaşma süresince dominant florayı oluşturduğunu, acetone'nun *Lb. casei*'de var olana asetil-CoA metabolik yolu ile üretildiğini ve bu nedenle acetone konsantrasyonunun söz konusu örnekte daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

**Çizelge 4.45.** Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen keton bileşikler

| Bileşik<br>(µg / 100 g)           | RI  | Olg.<br>Sür<br>(Gün) | Peynirler    |               |               |              | ANOVA            |              |
|-----------------------------------|-----|----------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|------------------|--------------|
|                                   |     |                      | A            | B             | C             | D            | Peynir<br>örneği | Olg.<br>Sür. |
| 3-Methyl-<br>nonane               | 837 | 7                    | 38,70±2,09   | TE            | 21,97±0,61    | TE           | **               | **           |
|                                   |     | 60                   | 237,80±45,35 | 53,42±13,08   | 59,03±26,60   | 106,12±69,88 |                  |              |
|                                   |     | 120                  | TE           | 7,14±0,19     | 17,88±0,49    | TE           |                  |              |
|                                   |     | 180                  | TE           | 39,28±1,09    | 22,65±0,63    | TE           |                  |              |
| 2-Propanone<br>(Acetone)          | 858 | 7                    | 156,58±26,42 | 152,33±7,95   | 115,95±26,86  | 183,52±22,37 | NS               | **           |
|                                   |     | 60                   | 197,52±8,16  | 201,26±9,51   | 238,06±70,99  | 154,57±18,46 |                  |              |
|                                   |     | 120                  | 211,79±25,62 | 434,22±233,33 | 221,84±6,77   | 238,89±38,01 |                  |              |
|                                   |     | 180                  | 191,56±11,55 | 234,90±40,61  | 604,71±269,59 | 318,97±37,58 |                  |              |
| 2,3-<br>Butanedione<br>(Diacetyl) | 972 | 7                    | 474,11±75,07 | 256,39±7,16   | 194,85±117,61 | 176,32±19,45 | **               | **           |
|                                   |     | 60                   | 325,08±14,35 | 94,82±14,54   | 153,84±50,19  | TE           |                  |              |
|                                   |     | 120                  | 142,69±25,52 | TE            | 132,88±25,31  | TE           |                  |              |
|                                   |     | 180                  | 187,29±12,78 | 411,74±11,50  | 355,94±9,94   | TE           |                  |              |

**Çizelge 4.45. (devam)**

|                                  |      |     |                |                 |                 |                 |    |    |
|----------------------------------|------|-----|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----|----|
| 2-Pentanone                      | 982  | 7   | 369,24±19,98   | 387,16±13,71    | 679,87±136,07   | 373,11±43,33    | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 1343,99±215,59 | 1028,37±195,42  | 1357,95±381,27  | 2110,84±400,61  |    |    |
|                                  |      | 120 | 3053,11±385,27 | 2100,20±119,41  | 3226,27±550,27  | 5130,69±1012,08 |    |    |
|                                  |      | 180 | 3263,53±196,91 | 5431,98±151,74  | 4818,18±688,09  | 5363,62±645,20  |    |    |
| 4- Methyl-2-pentanone            | 1003 | 7   | TE             | TE              | TE              | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | 141,94±18,23   | TE              | TE              | 231,38±12,52    |    |    |
|                                  |      | 180 | 147,95±8,92    | 205,05±5,72     | 94,55±2,64      | 313,77±16,98    |    |    |
| 5-methyl-5-propyl-nonane         | 1061 | 7   | 18,07±4,06     | 24,25±2,71      | 31,90±0,89      | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 36,91±4,75     | 11,31±0,31      | 19,34±0,54      | 26,59±2,62      |    |    |
|                                  |      | 120 | 23,29±1,83     | 12,92±4,17      | 20,19±7,86      | 18,50±3,75      |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 14,46±0,40      | 24,09±5,18      | 13,72±0,74      |    |    |
| Cyclopentanone (Dumasin)         | 1173 | 7   | TE             | 10,54±0,29      | 15,86±0,44      | 11,95±8,12      | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | TE             | 25,15±13,48     | 35,93±21,44     | 41,16±21,98     |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 29,05±0,81      | 31,97±21,76     | 12,66±6,67      |    |    |
| 2-Heptanone                      | 1186 | 7   | 160,43±8,68    | 368,01±13,07    | 380,43±47,53    | 319,26±17,34    | *  | ** |
|                                  |      | 60  | 463,11±459,86  | 1081,92±466,05  | 1427,42±124,52  | 1549,35±129,64  |    |    |
|                                  |      | 120 | 3649,90±858,82 | 2193,84±485,21  | 3120,03±974,63  | 2966,73±733,37  |    |    |
|                                  |      | 180 | 2011,05±121,34 | 3637,95±1620,64 | 4489,78±1271,10 | 6561,43±2905,31 |    |    |
| 4-Octanone                       | 1188 | 7   | TE             | 14,05±2,11      | TE              | 10,28±3,28      | *  | *  |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | 13,33±0,37      | 19,94±13,56     |    |    |
|                                  |      | 120 | 11,90±0,93     | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 180 | 18,67±9,54     | TE              | TE              | TE              |    |    |
| 2-Octanone                       | 1299 | 7   | TE             | TE              | TE              | TE              | *  | ** |
|                                  |      | 60  | 18,33±0,51     | 7,69±5,48       | 21,16±0,59      | 22,09±1,39      |    |    |
|                                  |      | 120 | 27,90±9,68     | 18,31±0,51      | 46,91±24,31     | 21,62±6,20      |    |    |
|                                  |      | 180 | 12,10±0,73     | 65,34±1,77      | 78,29±19,80     | 131,50±92,69    |    |    |
| 3-Hydroxy-2-butanone - (Asetoin) | 1304 | 7   | 1193,09±260,91 | 1096,62±114,33  | 1730,84±242,48  | 1368,82±76,16   | NS | ** |
|                                  |      | 60  | 2047,71±203,26 | 729,75±305,71   | 1646,25±305,60  | 1620,04±87,68   |    |    |
|                                  |      | 120 | 2256,56±469,86 | 560,19±273,29   | 1224,87±334,54  | 1013,86±243,88  |    |    |
|                                  |      | 180 | 1395,51±84,20  | 836,88±129,32   | 750,22±81,36    | 462,32±56,25    |    |    |
| 6-Methyl-5-hepten-2-one          | 1341 | 7   | 12,29±1,20     | TE              | 9,00±1,62       | 6,94±0,37       | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | 9,96±0,27       | 15,24±8,07      |    |    |
|                                  |      | 120 | 11,69±1,28     | TE              | TE              | 22,04±1,19      |    |    |
|                                  |      | 180 | 17,60±6,49     | TE              | 9,73±4,41       | 23,33±1,26      |    |    |
| 2-Nonanone                       | 1406 | 7   | 33,06±2,66     | 71,25±6,75      | 76,27±16,01     | 57,12±8,01      | NS | ** |
|                                  |      | 60  | 246,43±80,77   | 137,47±74,60    | 250,59±7,71     | 283,91±31,94    |    |    |
|                                  |      | 120 | 432,86±194,56  | 290,42±90,01    | 430,92±137,90   | 290,53±48,12    |    |    |
|                                  |      | 180 | 131,67±7,94    | 504,23±219,08   | 651,62±107,39   | 1160,95±850,95  |    |    |
| 8-Nonen-2-one                    | 1463 | 7   | TE             | TE              | TE              | TE              | NS | ** |
|                                  |      | 60  | 36,87±9,86     | 26,37±14,07     | 36,43±3,41      | 51,63±4,65      |    |    |
|                                  |      | 120 | 73,95±58,66    | 56,62±17,29     | 97,75±48,75     | 64,63±11,32     |    |    |
|                                  |      | 180 | 28,86±1,74     | 171,36±4,78     | 147,38±16,64    | 408,42±359,55   |    |    |
| 3-Hydroxy-2-pentanone            | 1468 | 7   | TE             | TE              | 94,84±2,64      | 108,56±14,02    | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | TE             | TE              | TE              | 4,97±0,26       |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
| 2-Undecanone                     | 1608 | 7   | TE             | 5,99±0,16       | TE              | 5,92±0,89       | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | 10,99±0,30      | 48,48±1,35      | 25,54±1,39      |    |    |
|                                  |      | 120 | 32,70±2,57     | 13,10±0,36      | 35,65±8,38      | 32,40±15,12     |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 11,75±0,32      | 36,32±1,49      | 53,79±2,91      |    |    |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

2-Pentanone, 2-heptanone, 2-octanone, 2-nonanone, 8-nonen-2-one, 2-undecanone bileşiklerinin starter kültür ile starter kültür/yardımcı kültürlerin birlikte kullanıldığı B, C ve D peynirlerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu görülmektedir (Çizelge 4.45). 2-Pentanone'nun peynire portakal kabuğu aroması verdiği, 2-heptanone'nun ise küfle olgunlaştırılan peynirlerde aroma oluşumundan sorumlu olduğu bildirilmiştir (Di Cagno *et al.* 2011). Nitekim; Di Cagno *et al.* (2011), *Lb. paracasei* FC2-5, *Lb. casei* LC01 ve *Lb. curvatus* 2770 suşlarını canlı ve zayıflatılmış olarak kullandıkları Caciotta peynirinde 2-pentanone ve 2-heptanone bileşiklerinin kontrol örneğine nazaran önemli düzeyde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. 4-Methyl-2-pentanone, 6-methyl-5-hepten-2-one, 2-octanone ve 8-nonen-2-one keton bileşiklerinin *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının sonikasyon ile zayıflatılmış yardımcı kültür olarak kullanıldığı D örneğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir. 3-Hydroxy-2-butanone'nun (asetoin) kontrol örneğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu, buna karşılık aynı örnekte 2-undecanone bileşiğinin sadece 120. günde var olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda cyclopentanone kontrol örneğinde, 3-hydroxy-2-pentanone bileşiği ise hem kontrol hem de sadece primer starter kültürün kullanıldığı B örneğinde olgunlaşma süresince belirlenememiştir. Uçucu aroma bileşenlerindeki bu farklılıkların peynir florasında yer alan bakteriler ile starter/yardımcı kültür olarak kullanılan bakterilerin enzimatik ve metabolik aktiviteleriyle ilgili olduğu, aktif bakteri hücreleri ile otoliz olmuş bakteri hücreleri arasındaki oranın aroma oluşumunu etkileyen kritik parametre olduğu düşünülmektedir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının metil ketonların miktar ve çeşitliliğini artırdığı sonucu çıkarılabilir.

#### 4.9.3. Esterler

Esterler; diğer aroma bileşiklerine göre daha kompleks reaksiyonlar ile oluşmakta, genel olarak alkolizis ile ya da alkol ve karboksilik asitlerin esterifikasyon reaksiyonları sonucunda meydana gelmektedirler. Söz konusu bileşikler çiçeğimsi ve meyvemsi aroma ile karakterize edilmekte, peynirin olgunlaşması sırasında yağ asitleri

ve aminlerden kaynaklanan keskin/acı tat gibi arzu edilmeyen aromaların baskılanmasına katkıda bulunmaktadır (Majcher *et al.* 2011; Evert-Arriagada *et al.* 2013). Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen ester bileşikler ANOVA testi sonuçlarıyla birlikte Çizelge 4.46’da verilmiştir.

**Çizelge 4.46.** Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen ester bileşikler

| Bileşik<br>(µg /100 g)                                   | RI   | Olg.<br>Sür.<br>(Gün) | Peynirler      |                |                |                | ANOVA            |              |
|----------------------------------------------------------|------|-----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|------------------|--------------|
|                                                          |      |                       | A              | B              | C              | D              | Peynir<br>örneği | Olg.<br>Sür. |
|                                                          |      |                       | Metil esterler |                |                |                |                  |              |
| Acetic acid<br>methyl ester                              | 832  | 7                     | 78,88±8,07     | 25,33±0,71     | 46,58±1,30     | 90,01±12,06    | NS               | **           |
|                                                          |      | 60                    | 100,35±13,30   | 93,31±2,72     | 150,44±37,27   | 98,54±23,05    |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 186,66±68,06   | 148,12±44,43   | 61,06±7,46     | 102,11±18,30   |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 76,55±4,61     | 80,87±8,28     | 93,33±5,44     | 67,87±14,31    |                  |              |
| Propanoic<br>acid methyl<br>ester                        | 909  | 7                     | 94,70±5,13     | 122,17±12,29   | 251,81±7,04    | 95,83±5,18     | **               | **           |
|                                                          |      | 60                    | 80,47±18,54    | 205,76±5,74    | 231,06±6,46    | 87,78±4,75     |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 205,10±16,14   | 98,97±6,02     | 88,52±14,65    | 219,04±11,86   |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 59,19±23,53    | 96,11±2,68     | 225,85±6,30    | 110,88±6,00    |                  |              |
| Propanoic<br>acid-2-methyl<br>methyl ester               | 921  | 7                     | TE             | 37,35±1,72     | TE             | 28,73±9,24     | **               | **           |
|                                                          |      | 60                    | TE             | 19,34±0,54     | TE             | TE             |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 34,13±2,69     | TE             | 23,35±0,65     | 20,07±1,08     |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | TE             | TE             | 17,44±0,48     | TE             |                  |              |
| Butanoic acid<br>methyl ester                            | 983  | 7                     | 841,26±64,86   | 812,96±184,97  | 860,25±37,53   | 766,05±251,45  | **               | **           |
|                                                          |      | 60                    | 928,31±58,39   | 529,78±108,91  | 1096,84±300,62 | 1035,42±218,22 |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 2915,46±240,75 | 1052,00±312,19 | 1683,02±602,74 | 1654,93±631,09 |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 864,93±52,19   | 760,10±53,39   | 547,39±260,53  | 223,83±24,90   |                  |              |
| Pentanoicacid-<br>2-hydroxy-4-<br>methyl methyl<br>ester | 1481 | 7                     | TE             | 123,43±3,44    | 139,79±3,90    | TE             | **               | **           |
|                                                          |      | 60                    | TE             | 156,69±4,37    | 153,23±4,28    | 103,25±5,59    |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | TE             | 134,54±21,89   | 142,68±4,57    | 141,41±7,65    |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | TE             | TE             | 80,12±2,24     | TE             |                  |              |
| Etil esterler                                            |      |                       |                |                |                |                |                  |              |
| Acetic acid<br>ethyl ester                               | 881  | 7                     | 721,63±116,20  | 581,75±16,80   | 749,09±213,25  | 468,24±60,52   | **               | NS           |
|                                                          |      | 60                    | 650,27±23,00   | 312,70±72,05   | 860,19±164,33  | 722,10±139,82  |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 668,38±134,11  | 507,60±37,62   | 646,09±48,35   | 620,76±63,44   |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 587,52±35,45   | 839,25±219,30  | 949,12±180,68  | 564,79±150,37  |                  |              |
| Butanoic acid<br>ethyl ester                             | 1056 | 7                     | 566,15±111,36  | 178,68±70,78   | 144,38±6,49    | 553,52±60,93   | **               | **           |
|                                                          |      | 60                    | 670,75±35,25   | 343,09±100,95  | 416,41±17,32   | 1113,82±275,78 |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 1280,73±210,24 | 489,56±16,46   | 1256,75±539,22 | 1478,03±192,44 |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 1181,76±71,30  | 929,21±468,13  | 1833,92±660,00 | TE             |                  |              |
| Hexanoic acid<br>ethyl ester                             | 1100 | 7                     | 718,98±41,77   | 71,52±6,26     | TE             | 149,47±10,52   | **               | NS           |
|                                                          |      | 60                    | TE             | 76,81±28,79    | 204,12±17,23   | 379,22±20,79   |                  |              |
|                                                          |      | 120                   | 1298,47±349,88 | 155,81±4,49    | 482,29±38,38   | 351,66±36,52   |                  |              |
|                                                          |      | 180                   | 2033,82±122,71 | 639,06±151,02  | 407,84±11,39   | 593,47±210,86  |                  |              |

Çizelge 4.46. (devam)

|                                               |      |     |              |             |              |              |    |    |
|-----------------------------------------------|------|-----|--------------|-------------|--------------|--------------|----|----|
| Acetic acid-2-ethyl-hexyl ester               | 1296 | 7   | 23,18±1,25   | 27,92±3,52  | TE           | TE           | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | TE          | 44,16±1,23   | 34,18±5,15   |    |    |
|                                               |      | 120 | 47,19±3,72   | TE          | 42,64±1,19   | 24,94±1,35   |    |    |
|                                               |      | 180 | 57,74±9,93   | 23,52±0,65  | TE           | 30,17±1,63   |    |    |
| Octanoic acid ethyl ester                     | 1379 | 7   | 78,97±20,22  | TE          | TE           | TE           | ** | ** |
|                                               |      | 60  | 84,71±16,46  | TE          | TE           | 69,78±11,84  |    |    |
|                                               |      | 120 | 168,70±69,80 | TE          | 43,52±20,35  | 35,83±2,23   |    |    |
|                                               |      | 180 | 239,12±14,42 | 99,59±2,78  | 89,04±2,48   | 142,89±26,06 |    |    |
| Butiric acid-3-hydroxy ethyl ester            | 1490 | 7   | 73,77±18,94  | TE          | 126,67±83,32 | 57,23±3,09   | *  | NS |
|                                               |      | 60  | TE           | 103,18±7,80 | 87,48±18,76  | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | 97,89±7,71   | 74,78±34,72 | TE           | 108,05±5,84  |    |    |
|                                               |      | 180 | 120,08±21,12 | 93,09±2,60  | 35,98±1,01   | TE           |    |    |
| Butil Esterler                                |      |     |              |             |              |              |    |    |
| Butanoic acid-3-methyl butyl ester            | 1059 | 7   | 47,79±2,59   | TE          | TE           | TE           | ** | ** |
|                                               |      | 60  | 46,77±1,31   | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | 121,41±9,55  | TE          | 55,05±1,53   | TE           |    |    |
|                                               |      | 180 | 112,75±37,95 | 48,49±1,36  | 49,22±1,37   | TE           |    |    |
| Propil Esterler                               |      |     |              |             |              |              |    |    |
| Butanoic acid-2-methyl propyl ester           | 959  | 7   | 48,48±2,62   | TE          | TE           | 23,54±1,28   | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | 37,02±12,65  | TE          | 27,46±0,76   | TE           |    |    |
|                                               |      | 180 | 58,04±3,50   | 49,20±1,37  | TE           | TE           |    |    |
| Propanoic acid propyl ester                   | 1043 | 7   | TE           | TE          | TE           | 277,16±45,50 | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | TE           | TE          | TE           | 253,90±54,34 |    |    |
|                                               |      | 180 | TE           | TE          | TE           | 215,48±11,66 |    |    |
| Propanoic acid-2-methyl-2-methyl propyl ester | 1155 | 7   | TE           | 27,56±0,77  | 20,79±0,58   | 41,10±3,20   | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | 30,72±2,41   | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 180 | 35,37±2,94   | TE          | TE           | 37,65±2,03   |    |    |
| Hexanoic acid-1,1-dimethyl propyl ester       | 1273 | 7   | 67,60±3,66   | 30,26±0,85  | 57,77±24,65  | 24,82±1,34   | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | TE          | 69,19±26,43  | 50,18±2,71   |    |    |
|                                               |      | 120 | TE           | TE          | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 180 | TE           | 68,61±1,92  | 31,93±0,89   | 68,02±3,68   |    |    |
| Oktil Esterler                                |      |     |              |             |              |              |    |    |
| Acetic acid oktyl ester                       | 1383 | 7   | TE           | TE          | TE           | 28,82±1,84   | ** | ** |
|                                               |      | 60  | TE           | 30,63±0,86  | 29,17±0,82   | TE           |    |    |
|                                               |      | 120 | TE           | 42,72±1,19  | TE           | TE           |    |    |
|                                               |      | 180 | TE           | TE          | TE           | TE           |    |    |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinde 6'sı etil ester, 5'i metil ester, 4'ü propil ester, 1'i butil ester ve 1'i oktil ester olmak üzere toplam 17 adet ester bileşiği belirlenmiştir. Acetic acid methyl ester dışında tüm ester bileşikleri açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Aynı

zamanda, acetic acid ethyl ester, hexanoic acid ethyl ester, butiric acid-3-hydroxy ethyl ester dışında kalan esterlerde olgunlaşma süresince görülen değişiminde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Acetic acid ethyl ester, butanoic acid ethyl ester, hexanoic acid ethyl ester başta olmak üzere etil esterler ile butanoic acid-methyl ester Kaşar peyniri örneklerinde dominant ester bileşikleri olarak belirlenmiştir. Etil esterlerin Kaşar peynirinde hakim esterleri oluşturduğu, aroma üzerinde önemli etkiye sahip uçucu bileşikler olduğu bildirilmiştir (Hayaloglu 2009). Esterlerin uzun dönem olgunlaştırılan İtalyan ve İspanyol peynirleri için de başlıca uçucu bileşenler olduğu ifade edilmiştir (Calasso *et al.* 2017).

Butanoic acid-methyl ester, hexanoic acid-ethyl ester, octanoic acid-ethyl ester, butanoic acid-3-methyl butyl ester bileşiklerinin çiğ süttten üretilen kontrol örneğinde, acetic acid-ethyl ester, propanoic acid-methyl ester, pentanoic acid-2-hydroxy-4 methyl methyl ester, hexanoic acid-1,1-dimethyl propyl ester bileşiklerinin ise yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir. Propanoic acid-2-methyl-2-methyl propyl ester bileşiğinin zayıflatılmış yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda propanoic acid propyl ester bileşiği olgunlaşma süresince sadece D örneğinde belirlenmiştir. Acetic acid oktyl ester bileşiği çiğ süttten üretilen kontrol örneğinde belirlenemezken, primer starter kültürün kullanıldığı B örneğinde en yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan primer/yardımcı kültür kullanımının bazı esterlerin miktarlarını artırdığı, özellikle de *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanımının daha etkili olduğu söylenebilir. Calasso *et al.* (2017), sonikasyon uygulamasıyla elde ettikleri çeşitli mikroorganizmalara ait hücresiz ekstraktlar ile üretilen Pecorino tip peynirlerde esterler başta olmak üzere en yüksek uçucu bileşik konsantrasyonlarının *Lb. casei/H.alvei* kombinasyonu ile üretilen örneklerde belirlendiğini bildirmişlerdir. Kaşar peyniri örneklerinde saptanan çoğu ester bileşiğinin konsantrasyonlarında olgunlaşma süresince artma/azalmaların var olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.9.4. Alkoller

Primer alkollerin aldehitlerin parçalanmasının bir sonucu olduğu ve peynirde alkollü, tatlımsı, meyvemsi ve keskin/sert aroma oluşumuna neden olduğu bildirilmiştir (Evert-Arriagada *et al.* 2013; Pogacic *et al.* 2016; Reale *et al.* 2016; Cavallo *et al.* 2017). Sekonder alkollerin kısa zincirli serbest yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu veya LAB'lerinin (alkol dehidrojenaz) redüktaz aktiviteleriyle metil ketonların indirgenmesi sonucunda olduğu, aynı zamanda laktoz metabolizması ve amino asit katabolizması gibi diğer metabolik yollardan da oluşabileceği belirtilmiştir (Karali *et al.* 2013; Kaminarides *et al.* 2013; De Pasquale *et al.* 2014; Gallegos *et al.* 2015). Dallanmış alkollerin ise serbest amino asitlerin Strecker reaksiyonu yoluyla meydana gelen aldehitlerin indirgenmesiyle oluşabildiği ifade edilmiştir (Di Cagno *et al.* 2007; De Pasquale *et al.* 2014). Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri ANOVA testi sonuçlarıyla birlikte Çizelge 4.47'de verilmiştir. Kaşar peynir örneklerinde 10'u primer alkol, 5'i sekonder alkol, 6'sı da dallanmış alkol olmak üzere toplam 21 adet alkol bileşiği belirlenmiş, ethanol, 2-ethyl-1-hexanol, 2-pentanol, 3-methyl 1-butanol, 1 nonanol, 1-hexanol en yüksek konsantrasyonlarda saptanan alkoller olmuştur. 1- Hexanol dışında tüm alkol bileşiklerinin konsantrasyonları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Aynı zamanda 1-propanol dışında kalan alkol bileşiklerinin konsantrasyonlarında olgunlaşma süresince görülen değişiminde önemli olduğu tespit edilmiştir. Ethanol, 1-propanol, 1-heptanol ve 1-decanol primer alkol bileşiklerinin D örneğinde daha yüksek konsantrasyonlarda belirlendiği görülmektedir (Çizelge 4.47). Ethanol özellikle C ve D örneklerinde en yüksek konsantrasyonda belirlenen alkol olup, LAB'leri tarafından laktozun fermentasyonu sonucu olduğu düşünülmektedir. Nitekim Gomez-Torres *et al.* (2016), ethanol'ün acetaldehide'in indirgenmesi sonucu oluştuğunu, bununla birlikte peynirde belirlenen ethanol'ün büyük bölümünün laktozun LAB'leri tarafından fermentasyonu ile meydana geldiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, ethanol Kaşar peyniri başta olmak üzere (Temizkan *et al.* 2014; Eroglu *et al.* 2016), Beyaz (Sahingil *et al.* 2014b), Tulum (Hayaloglu *et al.* 2007), Malatya (Hayaloglu and Brechany 2007) peynirleri gibi birçok yerli peynir

çeşidinde önemli miktarlarda tespit edilmiştir. Aynı örneklerde (C ve D) 1-butanol bileşiğinin diğer örneklerle nazaran daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir.

**Çizelge 4.47.** Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri

| Bileşik<br>(µg /100 g) | RI   | Olg.<br>Sür.<br>(Gün) | Peynirler     |                |                |                | ANOVA            |              |
|------------------------|------|-----------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|------------------|--------------|
|                        |      |                       | A             | B              | C              | D              | Peynir<br>örneği | Olg.<br>sür. |
| Primer Alkoller        |      |                       |               |                |                |                |                  |              |
| Ethanol                | 936  | 7                     | 860,63±122,75 | 444,60±49,11   | 371,13±97,69   | 1134,36±79,95  | **               | **           |
|                        |      | 60                    | 893,46±61,18  | 571,01±35,97   | 760,09±152,96  | 1640,24±526,74 |                  |              |
|                        |      | 120                   | 927,06±121,97 | 670,22±211,98  | 1006,46±138,66 | 1183,18±197,72 |                  |              |
|                        |      | 180                   | 937,57±53,24  | 1356,12±605,23 | 1420,86±107,91 | 1797,34±158,47 |                  |              |
| 1-Propanol             | 1045 | 7                     | TE            | TE             | TE             | 127,16±6,88    | **               | NS           |
|                        |      | 60                    | TE            | TE             | TE             | TE             |                  |              |
|                        |      | 120                   | TE            | TE             | TE             | 334,21±100,26  |                  |              |
|                        |      | 180                   | TE            | TE             | TE             | 107,90±23,65   |                  |              |
| 1-Tridecanol           | 1068 | 7                     | TE            | 17,21±0,48     | 7,08±0,20      | TE             | **               | **           |
|                        |      | 60                    | TE            | TE             | TE             | TE             |                  |              |
|                        |      | 120                   | TE            | TE             | TE             | TE             |                  |              |
|                        |      | 180                   | TE            | TE             | 11,45±0,32     | 6,06±0,32      |                  |              |
| 1-Butanol              | 1147 | 7                     | 15,00±0,81    | 16,80±2,84     | 24,27±0,67     | 14,40±7,90     | **               | **           |
|                        |      | 60                    | TE            | 22,49±1,11     | 45,93±4,07     | 25,99±1,40     |                  |              |
|                        |      | 120                   | 21,53±7,87    | 21,01±6,66     | 30,61±13,44    | 43,99±15,36    |                  |              |
|                        |      | 180                   | 15,91±0,96    | TE             | 44,96±10,29    | 33,48±10,09    |                  |              |
| 1-Decanol              | 1242 | 7                     | TE            | TE             | TE             | TE             | **               | **           |
|                        |      | 60                    | TE            | TE             | TE             | TE             |                  |              |
|                        |      | 120                   | TE            | TE             | TE             | TE             |                  |              |
|                        |      | 180                   | TE            | TE             | 12,71±0,36     | 211,82±11,46   |                  |              |
| 1-Pentanol             | 1256 | 7                     | 115,54±6,25   | 57,04±4,40     | 73,78±15,91    | 40,78±2,21     | **               | **           |
|                        |      | 60                    | 83,01±9,76    | 50,67±1,41     | 81,44±4,96     | 109,47±5,92    |                  |              |
|                        |      | 120                   | 46,42±5,77    | 38,17±1,74     | 72,84±7,49     | 50,63±9,05     |                  |              |
|                        |      | 180                   | 48,53±4,02    | 54,41±1,52     | 80,18±2,24     | 55,98±9,31     |                  |              |
| 1-Hexanol              | 1358 | 7                     | 39,99±4,22    | TE             | TE             | TE             | NS               | **           |
|                        |      | 60                    | 70,74±13,57   | 63,99±34,43    | 154,35±4,31    | 260,75±171,28  |                  |              |
|                        |      | 120                   | 52,84±22,19   | 109,39±20,86   | 99,75±2,78     | 136,72±33,70   |                  |              |
|                        |      | 180                   | 44,79±2,70    | 396,78±365,74  | 207,68±5,80    | 219,52±41,73   |                  |              |
| 1-Heptanol             | 1453 | 7                     | TE            | 16,58±0,46     | 13,04±2,62     | 12,45±0,67     | **               | **           |
|                        |      | 60                    | TE            | 17,98±0,50     | 12,87±1,72     | 16,41±0,88     |                  |              |
|                        |      | 120                   | TE            | 12,72±4,78     | 14,56±1,09     | 15,26±0,82     |                  |              |
|                        |      | 180                   | TE            | 7,91±0,22      | 15,43±0,43     | 26,80±1,45     |                  |              |
| 1-Octanol              | 1560 | 7                     | 7,63±0,41     | 9,23±1,29      | 9,48±1,15      | 9,21±0,50      | **               | **           |
|                        |      | 60                    | TE            | 10,69±0,29     | 12,21±0,34     | 12,78±1,41     |                  |              |
|                        |      | 120                   | TE            | 9,38±3,66      | 11,27±1,35     | 10,19±1,80     |                  |              |
|                        |      | 180                   | TE            | 26,41±8,92     | 10,41±3,62     | 17,67±4,48     |                  |              |

Çizelge 4.47. (devam)

|                         |      |     |                |                |               |               |    |    |
|-------------------------|------|-----|----------------|----------------|---------------|---------------|----|----|
| 1-Nonanol               | 1645 | 7   | 197,70±10,70   | 69,93±29,84    | 104,31±2,91   | 96,38±5,22    | *  | ** |
|                         |      | 60  | TE             | 249,01±6,96    | 159,00±4,44   | 141,99±8,13   |    |    |
|                         |      | 120 | 212,34±16,72   | 220,97±6,17    | 138,28±48,83  | 163,45±41,90  |    |    |
|                         |      | 180 | 231,40±13,22   | TE             | 178,81±4,99   | 171,44±9,28   |    |    |
| Sekonder Alkoller       |      |     |                |                |               |               |    |    |
| 2-Propanol              | 927  | 7   | 37,72±13,94    | TE             | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 30,28±0,84     | TE             | 33,62±0,93    | 28,51±1,54    |    |    |
|                         |      | 120 | 29,03±13,27    | TE             | 23,91±0,67    | 42,24±2,28    |    |    |
|                         |      | 180 | 25,34±12,26    | 24,72±0,69     | 130,63±66,46  | 47,08±2,55    |    |    |
| 2-isopropanol           | 949  | 7   | TE             | TE             | 47,36±1,32    | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | TE             | TE             | 27,88±0,78    | TE            |    |    |
|                         |      | 120 | TE             | TE             | TE            | TE            |    |    |
|                         |      | 180 | TE             | TE             | TE            | 52,09±2,81    |    |    |
| 2-Butanol               | 1036 | 7   | 263,21±17,89   | 10,55±0,30     | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 54,31±3,06     | 12,01±0,33     | TE            | 27,05±1,46    |    |    |
|                         |      | 120 | 61,84±10,99    | 49,78±1,39     | TE            | 32,63±1,76    |    |    |
|                         |      | 180 | 49,44±15,05    | 256,47±7,17    | TE            | 23,72±1,28    |    |    |
| 2-Pentanol              | 1129 | 7   | 17,89±0,96     | TE             | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | TE             | TE             | 69,77±1,94    | 58,23±3,15    |    |    |
|                         |      | 120 | 152,86±12,03   | 163,22±31,01   | 164,60±4,59   | 241,63±13,07  |    |    |
|                         |      | 180 | TE             | TE             | 1360,95±38,02 | 577,57±31,26  |    |    |
| 2-Heptanol              | 1319 | 7   | 16,23±2,48     | TE             | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 10,84±0,30     | TE             | TE            | 36,12±1,95    |    |    |
|                         |      | 120 | 30,96±19,90    | TE             | 12,42±6,23    | 39,22±2,12    |    |    |
|                         |      | 180 | 14,77±0,89     | TE             | 87,17±55,70   | 169,92±105,89 |    |    |
| Dallanmış Alkoller      |      |     |                |                |               |               |    |    |
| 3,3-Dimethyl-2-butanol  | 542  | 7   | TE             | TE             | 160,49±4,48   | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 152,59±9,88    | TE             | 165,02±4,61   | TE            |    |    |
|                         |      | 120 | 63,59±5,01     | TE             | TE            | 199,38±10,79  |    |    |
|                         |      | 180 | 72,97±5,73     | 47,99±1,34     | 142,47±42,16  | TE            |    |    |
| 4,4-Dimethyl-2-pentanol | 574  | 7   | TE             | 63,27±1,76     | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | TE             | TE             | TE            | TE            |    |    |
|                         |      | 120 | TE             | TE             | 145,84±4,07   | 52,01±2,81    |    |    |
|                         |      | 180 | TE             | TE             | TE            | TE            |    |    |
| 2-Methyl-1-propanol     | 1093 | 7   | 174,26±13,66   | TE             | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 172,57±6,81    | 6,23±0,17      | 24,70±12,32   | 32,17±1,74    |    |    |
|                         |      | 120 | 191,28±49,47   | 18,97±0,53     | 17,35±4,06    | 35,53±1,92    |    |    |
|                         |      | 180 | 100,89±6,09    | 139,88±43,05   | 56,00±9,14    | 16,37±2,26    |    |    |
| 3-Methyl-1-butanol      | 1209 | 7   | 3050,11±393,26 | 41,15±5,16     | 70,79±3,51    | 51,11±5,94    | ** | ** |
|                         |      | 60  | 2312,04±67,90  | 50,08±19,32    | 189,94±98,00  | 493,44±100,75 |    |    |
|                         |      | 120 | 2410,56±431,20 | 105,58±29,56   | 353,06±88,36  | 122,47±37,42  |    |    |
|                         |      | 180 | 2564,29±543,94 | 1916,08±755,53 | 853,25±161,39 | 381,36±94,11  |    |    |
| 2-Ethyl-1-hexanol       | 1485 | 7   | 140,77±12,67   | 142,14±10,33   | 116,39±18,87  | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | 238,16±7,83    | 109,15±42,78   | 189,67±27,06  | 271,49±15,16  |    |    |
|                         |      | 120 | 103,28±12,35   | 114,29±39,43   | 213,84±11,48  | 113,12±37,92  |    |    |
|                         |      | 180 | 137,45±8,29    | 99,16±54,60    | 154,46±8,27   | 128,88±21,22  |    |    |
| 2,3-Dimethylpentanol    | 1769 | 7   | TE             | TE             | TE            | TE            | ** | ** |
|                         |      | 60  | TE             | TE             | TE            | TE            |    |    |
|                         |      | 120 | TE             | TE             | TE            | 13,41±0,72    |    |    |
|                         |      | 180 | TE             | TE             | TE            | 14,96±0,81    |    |    |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

2-Pentanol, 2-heptanol sekonder alkol konsantrasyonlarının yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Nitekim; Gomez–Ruiz *et al.* (2008) ve Hoorde *et al.* (2010) *Lb. paracasei* suşunu yardımcı kültür olarak kullandıkları peynir örneklerinde 2-heptanol ve 2-pentanol alkol bileşikleri konsantrasyonlarının, kontrol örneğinden daha fazla olduğunu bildirmişlerdir. 3-Methyl-1-butanol, 2-methyl-1-propanol dallanmış alkol bileşiklerinin geleneksel yöntemle üretilen kontrol örneğinde, 3,3-dimethyl-2-butanol ve 4,4-dimethyl-2-pentanol alkol bileşikleri konsantrasyonlarının ise yardımcı kültür kullanılarak üretilen C örneğinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. 4,4-dimethyl-2-pentanol, 1-tridecanol, 1-heptanol, 1-decanol, 2-isopropanol bileşikleri kontrol örneğinde tespit edilemezken, 1-propanol ile 2,3-dimethyl-pentanol ise sadece D örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.47). 1-Octanol bileşiği ise sadece primer/yardımcı kültürlerin kullanıldığı B, C ve D örneklerinde daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Kaşar peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri incelendiğinde; primer starter kültür kullanımına ilaveten yardımcı kültürlerin canlı/zayıflatılmış olarak kullanımının alkollere ait uçucu bileşiklerin konsantrasyonlarını artırdığı söylenebilir.

Genel olarak; 1-nonanol, 2-heptanol, 2-propanol ve 2-pentanol sekonder alkol bileşiklerinin konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince artış gösterdiği, diğer alkol bileşiklerinin konsantrasyonlarında ise dalgalanmaların olduğu görülmüştür.

#### 4.9.5. Karboksilik asitler

Yağ asitleri trigliseritlerin lipaz ya da esteraz aktivitesi sonucu birçok peynir çeşidinde oluşmakta ve olgunluk kriteri olarak kabul edilmektedir (Kirmaci *et al.* 2011; Şahingil 2012). Karboksilik asitler aromaya doğrudan katkı sağladıkları gibi, aynı zamanda ester, metil keton, alkol ve laktonların oluşumunda öncül maddeler olarak rol alabilmektedirler (Hayaloglu *et al.* 2013a). Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen karboksilik asit bileşikleri ANOVA testi sonuçlarıyla birlikte Çizelge 4.48’de verilmiştir. Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen tüm asit bileşikleri

açısından örnekler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Aynı zamanda 2-ethyl-hexanoic acid dışında tüm asitlerin konsantrasyonlarında olgunlaşma süresince görülen değişikliklerinde önemli olduğu tespit edilmiştir. Acetic acid, butanoic acid, hexanoic acid, 2-ethyl-hexanoic acid, octanoic acid tüm örneklerde hakim yağ asitleri olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.48.** Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen karboksilik asit bileşikleri

| Bileşik<br>( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) | RI   | Olg.<br>Sür.<br>(Gün) | Peynirler            |                      |                     |                      | ANOVA  |                     |
|-------------------------------------------|------|-----------------------|----------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------|---------------------|
|                                           |      |                       | A                    | B                    | C                   | D                    | Peynir | Olg.<br>Örneği Sür. |
| Acetic acid                               | 1463 | 7                     | 663,98 $\pm$ 144,47  | 109,37 $\pm$ 3,06    | 280,90 $\pm$ 7,85   | 75,02 $\pm$ 4,06     |        |                     |
|                                           |      | 60                    | 1080,10 $\pm$ 347,53 | 114,64 $\pm$ 42,61   | 217,22 $\pm$ 62,53  | 353,56 $\pm$ 19,14   | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | 607,45 $\pm$ 147,22  | 203,48 $\pm$ 6,05    | 208,30 $\pm$ 59,94  | 280,18 $\pm$ 15,16   |        |                     |
|                                           |      | 180                   | 604,99 $\pm$ 141,56  | 811,57 $\pm$ 22,67   | 232,70 $\pm$ 6,50   | 191,43 $\pm$ 10,36   |        |                     |
| 2-Methyl-propanoic acid                   | 1588 | 7                     | TE                   | TE                   | TE                  | 3,48 $\pm$ 0,18      |        |                     |
|                                           |      | 60                    | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   |        |                     |
|                                           |      | 180                   | TE                   | TE                   | TE                  | 562,62 $\pm$ 30,45   |        |                     |
| Butanoic acid                             | 1656 | 7                     | 327,79 $\pm$ 121,86  | 231,24 $\pm$ 6,46    | 348,52 $\pm$ 18,53  | 218,66 $\pm$ 11,83   |        |                     |
|                                           |      | 60                    | 858,33 $\pm$ 205,82  | 1248,70 $\pm$ 34,88  | 843,45 $\pm$ 103,57 | 725,49 $\pm$ 168,04  | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | 593,31 $\pm$ 305,06  | 1617,47 $\pm$ 340,69 | 1353,32 $\pm$ 68,10 | 1370,63 $\pm$ 373,19 |        |                     |
|                                           |      | 180                   | 472,87 $\pm$ 28,53   | 597,08 $\pm$ 149,06  | 1833,57 $\pm$ 96,10 | 1626,27 $\pm$ 425,59 |        |                     |
| Pentanoic acid                            | 1761 | 7                     | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   |        |                     |
|                                           |      | 60                    | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | TE                   | TE                   | TE                  | 633,37 $\pm$ 34,28   |        |                     |
|                                           |      | 180                   | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   |        |                     |
| Hexanoic acid                             | 1848 | 7                     | 492,39 $\pm$ 27,09   | 162,58 $\pm$ 66,96   | 233,46 $\pm$ 56,74  | 213,90 $\pm$ 39,44   |        |                     |
|                                           |      | 60                    | 1474,30 $\pm$ 74,36  | 383,30 $\pm$ 10,71   | 464,01 $\pm$ 54,71  | 621,38 $\pm$ 85,36   | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | 1083,14 $\pm$ 85,28  | 1098,23 $\pm$ 650,49 | 722,95 $\pm$ 92,64  | 475,81 $\pm$ 38,39   |        |                     |
|                                           |      | 180                   | 1178,83 $\pm$ 69,21  | 430,83 $\pm$ 75,81   | 1137,32 $\pm$ 40,81 | 697,42 $\pm$ 112,19  |        |                     |
| 2-Ethyl-hexanoic acid                     | 1973 | 7                     | 457,25 $\pm$ 111,00  | 467,85 $\pm$ 23,82   | 637,09 $\pm$ 236,99 | 748,29 $\pm$ 239,56  |        |                     |
|                                           |      | 60                    | 650,80 $\pm$ 280,21  | 978,48 $\pm$ 352,21  | 499,30 $\pm$ 237,85 | 1008,92 $\pm$ 119,50 | *      | NS                  |
|                                           |      | 120                   | 412,42 $\pm$ 163,84  | 776,90 $\pm$ 256,27  | 736,27 $\pm$ 333,05 | 894,14 $\pm$ 185,62  |        |                     |
|                                           |      | 180                   | 1014,19 $\pm$ 57,41  | 570,54 $\pm$ 15,94   | 755,26 $\pm$ 21,09  | 782,72 $\pm$ 191,07  |        |                     |
| Octanoic acid                             | 2110 | 7                     | 175,83 $\pm$ 73,52   | 82,19 $\pm$ 2,29     | 71,05 $\pm$ 16,55   | TE                   |        |                     |
|                                           |      | 60                    | 255,03 $\pm$ 68,89   | 166,27 $\pm$ 71,20   | 184,06 $\pm$ 5,14   | 152,12 $\pm$ 8,23    | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | 263,75 $\pm$ 80,65   | 271,40 $\pm$ 191,12  | 211,52 $\pm$ 51,23  | 374,66 $\pm$ 20,27   |        |                     |
|                                           |      | 180                   | 365,47 $\pm$ 24,11   | 250,19 $\pm$ 6,99    | 341,29 $\pm$ 11,90  | 157,05 $\pm$ 26,68   |        |                     |
| Decanoic acid                             | 2345 | 7                     | TE                   | TE                   | TE                  | TE                   |        |                     |
|                                           |      | 60                    | TE                   | 93,78 $\pm$ 2,62     | 52,51 $\pm$ 1,47    | TE                   | **     | **                  |
|                                           |      | 120                   | TE                   | 5,62 $\pm$ 0,16      | 26,73 $\pm$ 0,75    | 51,27 $\pm$ 2,77     |        |                     |
|                                           |      | 180                   | TE                   | TE                   | 86,49 $\pm$ 2,41    | TE                   |        |                     |

\*( $p<0,05$ ) düzeyinde önemli; \*\* ( $p<0,01$ ) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

Acımsı, keskin ve peynirimsi tat oluşumu ile karakterize edilen butanoic asit konsantrasyonunun yardımcı kültürlerin canlı/zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde diğer örneklerle nazaran önemli derece yüksek olduğu ve olgunlaşma süresince artış gösterdiği görülmektedir. Butanoic acid, Hayaloglu (2009) tarafından da Kaşar peynirinde major yağ asidi olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde; Poveda *et al.* (2014) ve Ruysen *et al.* (2013), *Lb. paracasei* suşunu yardımcı kültür olarak kullandıkları peynir örneklerine ait butanoic asit konsantrasyonunun, kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Olgunlaşma süresi sonunda sirkemsi tat oluşumuna sebebiyet veren acetic acid konsantrasyonunun, kontrol örneği ile sadece primer starterin kullanıldığı B örneğinde önemli derece yüksek olduğu belirlenmiştir. Hexanoic acid konsantrasyonu ise en fazla kontrol örneğinde saptanmış olup, bunu sırasıyla C, B ve D örnekleri izlemiştir. Ortigosa *et al.* (2005), çiğ süttten ürettikleri peynir örneklerine ait hexanoic acid konsantrasyonunun, yardımcı starter kültür ile (*Lb. paracasei*+*Lb.plantarum*) üretilen peynir örneklerinden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Sonike edilmiş yardımcı kültürlerin kullanıldığı D örneğinde önemli sayılabilecek miktarlarda 2-methyl-propanoic acid ve pentanoic acid (valeric) tespit edilmiştir. Bu durumun, hem sonikasyon işlemi hem de olgunlaşma sırasında LAB'lerin otolize olması sonucu serbest hale geçen esteraz enzimlerinin aktivitesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim; trigliseritlerden 10 karbon atomuna sahip yağ asitlerinin hidrolizini sağlayan LAB'lerine ait çoğu esteraz enzimlerinin intraselüler olduğu bildirilmiştir (Lazzi *et al.* 2016). Calasso *et al.* (2015), serbest yağ asitleri konsantrasyonlarının sonikasyon uygulamasıyla elde ettikleri *Lb. casei*'ye ait hücresiz ekstrakt ile üretilen peynirlerde önemli düzeyde yüksek olduğunu ve bu durumun söz konusu ekstraktın yüksek oranda esteraz enzimi içermesiyle ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Calasso *et al.* (2017), mikrobiyal enzim kaynağı olarak bakteri ve maya hücrelerine ait hücresiz ekstraktlar ile üretilen peynirlerde toplam 7 adet serbest yağ asidi belirlendiğini, propionic ve isobutyric acid dışındaki diğer yağ asitlerinin kontrol örneğine göre yüksek konsantrasyonlarda bulunduğunu bildirmişlerdir.

#### 4.9.6. Terpenler

Terpen bileşikler bitki kaynaklı uçucu bileşikler olup, hayvanların otlatılmasıyla süte, süttten de peynire geçebilmektedir. Olgunlaşma sırasında gerçekleşen metabolik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan bileşikler olmadığı, bu bileşiklerin varlığının peynirin yapıldığı coğrafik bölgeyle alakalı olduğu bildirilmiştir (Bezerra *et al.* 2017). Kaşar peyniri örneklerinde belirlenen terpen bileşikler Çizelge 4.49’da verilmiştir. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde farklı konsantrasyonlarda  $\alpha$ -pinene, L-limonen ve linalool bileşikler izole edilmiştir.  $\alpha$ -Pinene peynirlerde en fazla rastlanan terpen bileşiği olarak kabul edilmektedir.

**Çizelge 4.49.** Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen terpen bileşikler

| Bileşik<br>( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ ) | RI   | Olg. Sür.<br>(Gün) | Peynirler         |                  |                   |                   | ANOVA                        |    |
|-------------------------------------------|------|--------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------------------|----|
|                                           |      |                    | A                 | B                | C                 | D                 | Peynir Olg.<br>örneği süresi |    |
| $\alpha$ -Pinene                          | 1035 | 7                  | TE                | 10,19 $\pm$ 0,28 | 48,45 $\pm$ 1,36  | TE                | **                           | ** |
|                                           |      | 60                 | 45,07 $\pm$ 8,89  | TE               | TE                | TE                |                              |    |
|                                           |      | 120                | TE                | TE               | TE                | 18,25 $\pm$ 0,98  |                              |    |
|                                           |      | 180                | TE                | TE               | TE                | 9,41 $\pm$ 0,50   |                              |    |
| L-Limonene                                | 1199 | 7                  | 69,23 $\pm$ 3,75  | 36,51 $\pm$ 1,02 | 28,47 $\pm$ 6,16  | 39,40 $\pm$ 13,26 | **                           | ** |
|                                           |      | 60                 | 36,94 $\pm$ 3,13  | 35,76 $\pm$ 3,96 | 25,06 $\pm$ 8,15  | 71,56 $\pm$ 3,87  |                              |    |
|                                           |      | 120                | 38,90 $\pm$ 3,06  | 14,78 $\pm$ 0,42 | 17,38 $\pm$ 0,49  | TE                |                              |    |
|                                           |      | 180                | 59,22 $\pm$ 28,12 | 70,26 $\pm$ 1,96 | 26,74 $\pm$ 11,38 | 37,79 $\pm$ 19,94 |                              |    |
| Linalool                                  | 1546 | 7                  | 29,78 $\pm$ 1,61  | TE               | TE                | 10,20 $\pm$ 2,68  | **                           | ** |
|                                           |      | 60                 | 42,52 $\pm$ 1,18  | TE               | TE                | TE                |                              |    |
|                                           |      | 120                | 22,91 $\pm$ 1,80  | TE               | TE                | TE                |                              |    |
|                                           |      | 180                | TE                | TE               | TE                | 13,38 $\pm$ 0,72  |                              |    |

\*( $p<0,05$ ) düzeyinde önemli; \*\* ( $p<0,01$ ) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

#### 4.9.7. Diğer bileşikler

Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler ANOVA testi sonuçlarıyla birlikte Çizelge 4.50’de verilmiştir. Pentane, carbon bisülfide, carbon dioxide, heptane, pentane, hexane, octane, 2-octen, 2,2,4,6,6-penta-methyl heptane, 2,2-dimethyl-decane, decane, toluene, xylene, 3,6-dimethyl-undecane en yüksek konsantrasyonlarda belirlenen uçucu bileşikler arasında yer almıştır.

Peynir örneklerinde olgunlaşma süresince 2,3-dimethyl-butane, pentane, heptane, hexane, 2,5-dimethyl-heptane, 2-methyl-pentane, octane, 2,4-dimethyl-pentane, 4-octene, 2-octene, 2,2,4,6,6-pentamethyl-heptane, 2,2-dimethyl-decane, decane, 2,2,4,4,6,8,8-heptamethyl-nonane, undecane, 3,6-dimethyl-undecane olmak üzere çok sayıda hidrokarbon bileşiği tespit edilmiştir. Hidrokarbonların peynir olgunlaşması esnasında lipid oksidasyonu sonucunda olgun peynirlerde sıklıkla tespit edilen bileşikler olduğu, bu bileşiklerin peynir aromasına direkt etkide bulunmadığı, ancak aromatik bileşenlerin oluşumunda öncül maddeler oldukları ifade edilmiştir (Ferreira *et al.* 2009; Karali *et al.* 2013; Calzada *et al.* 2014). Hidrokarbon bileşikleri içerisinde 2-methyl-pentane, 2,2-dimethyl-decane konsantrasyonlarının *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının yardımcı kültür olarak kullanıldığı C örneğinde, pentane, heptane, octane, 4-octene, 2-octene, 2,2,4,4,6,8,8-heptamethyl-nonane ve 2,2,4,6,6-pentamethyl-heptane konsantrasyonlarının ise aynı suşların zayıflatılmış olarak kullanıldığı D örneğinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Ethylbenzene, toluene (methylbenzene) ve xylene bileşikleri peynir örneklerinde belirlenen aromatik hidrokarbon bileşikleri olup, yardımcı kültürlerin kullanıldığı C ve D örneklerinde yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Aromatik hidrokarbonların karotenin parçalanması ya da solvent kontaminasyonu sonucunda oluştukları bildirilmiştir (Barron *et al.* 2007; Cakmakci and Hayaloglu 2011). Dimethyl sulfide tüm peynir örneklerinde tespit edilen sülfür bileşiği olup, bu bileşiğin sistein ve metionin gibi serbest radikal gruplarında sülfür bulunduran amino asitlerin parçalanması sonucunda meydana geldiği belirtilmektedir (Cholet *et al.* 2008; Castada *et al.* 2014; Fuchsmann *et al.* 2015). Sülfürlü bileşiklerin sarımsak içeren ve olgun peynir kokuları ile karakterize edildiği, düşük konsantrasyonlarda bile peynire belirgin duyusal özellik kazandırdığı, dolayısıyla konsantrasyonlarındaki küçük bir değişimin bile peynir aromasında önemli bir farklılığa neden olabileceği bildirilmiştir (Stelios *et al.* 2009; Fuchsmann *et al.* 2015).

**Çizelge 4.50.** Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler

| Bileşik<br>(µg /100 g) | RI  | Olg.<br>Sür. | Peynirler     |               |               |               | ANOVA                      |    |
|------------------------|-----|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|----------------------------|----|
|                        |     |              | A             | B             | C             | D             | Peynir Olg.<br>örneği Sür. |    |
| 2,3-dimethyl-butane    | 519 | 7            | TE            | 95,73±2,67    | TE            | 102,21±5,53   | **                         | ** |
|                        |     | 60           | TE            | 81,98±2,90    | TE            | TE            |                            |    |
|                        |     | 120          | 91,60±7,21    | TE            | TE            | TE            |                            |    |
|                        |     | 180          | TE            | TE            | TE            | TE            |                            |    |
| Pentane                | 597 | 7            | 107,77±7,97   | 76,87±20,30   | 115,96±3,24   | 122,88±18,06  | NS                         | ** |
|                        |     | 60           | 98,00±2,73    | 131,89±18,74  | 156,12±45,55  | 72,53±4,16    |                            |    |
|                        |     | 120          | 179,96±14,17  | 178,15±39,25  | 129,94±6,61   | 191,26±54,17  |                            |    |
|                        |     | 180          | 125,16±7,55   | 57,00±47,81   | 105,98±29,53  | 141,34±31,27  |                            |    |
| Carbon bisulfide       | 600 | 7            | 177,99±30,85  | 114,69±77,27  | 108,07±60,82  | 79,16±16,67   | *                          | ** |
|                        |     | 60           | 89,30±10,61   | 83,43±23,19   | 106,74±25,21  | 76,63±21,49   |                            |    |
|                        |     | 120          | 137,92±56,44  | 131,76±34,24  | 176,23±30,29  | 161,14±14,84  |                            |    |
|                        |     | 180          | 221,25±20,37  | 218,08±67,64  | 122,18±25,96  | 106,89±17,06  |                            |    |
| Carbon dioxide         | 690 | 7            | TE            | 168,24±18,10  | 152,53±4,26   | 157,36±8,51   | NS                         | ** |
|                        |     | 60           | 211,94±5,92   | 175,29±4,89   | 182,19±29,98  | 252,24±13,65  |                            |    |
|                        |     | 120          | 168,44±29,09  | 238,25±6,65   | 161,27±36,47  | TE            |                            |    |
|                        |     | 180          | 225,78±23,44  | 99,59±2,78    | 195,41±53,52  | 222,10±12,02  |                            |    |
| Heptane                | 728 | 7            | 151,24±20,06  | 159,67±17,24  | 162,68±13,36  | 155,13±37,19  | **                         | *  |
|                        |     | 60           | 171,94±15,18  | 206,38±89,81  | 197,90±12,35  | 203,54±19,73  |                            |    |
|                        |     | 120          | 237,35±20,84  | 221,40±33,90  | 203,05±42,64  | 238,72±24,81  |                            |    |
|                        |     | 180          | 253,95±15,32  | 90,73±45,53   | 106,56±63,32  | 320,17±116,67 |                            |    |
| Hexane                 | 732 | 7            | 234,94±198,99 | 492,82±133,26 | 426,23±55,03  | 485,54±127,96 | NS                         | NS |
|                        |     | 60           | 405,16±11,47  | 723,00±285,63 | 394,83±59,07  | 362,37±84,40  |                            |    |
|                        |     | 120          | 502,12±71,03  | 340,69±48,20  | 405,56±69,13  | 398,18±64,49  |                            |    |
|                        |     | 180          | 394,76±23,81  | 376,10±13,27  | 391,03±34,84  | 355,76±75,08  |                            |    |
| 2,5-Dimethyl-heptane   | 735 | 7            | TE            | TE            | 20,20±0,56    | TE            | **                         | ** |
|                        |     | 60           | TE            | 16,14±0,45    | TE            | TE            |                            |    |
|                        |     | 120          | 51,17±4,02    | 21,75±0,60    | 32,15±0,89    | 33,30±1,80    |                            |    |
|                        |     | 180          | TE            | 53,46±1,49    | 28,06±0,78    | TE            |                            |    |
| Dimethyl sulfide       | 753 | 7            | 38,38±5,73    | TE            | 35,73±0,99    | 50,26±2,72    | *                          | ** |
|                        |     | 60           | 34,19±9,89    | 21,95±4,00    | 27,01±12,25   | 23,97±1,29    |                            |    |
|                        |     | 120          | 43,86±25,99   | 40,52±4,23    | 51,30±19,51   | 44,08±9,76    |                            |    |
|                        |     | 180          | 28,04±4,57    | 41,70±8,21    | 29,66±0,91    | 27,74±5,21    |                            |    |
| 2-Methyl-pentane       | 767 | 7            | TE            | TE            | 48,15±1,34    | TE            | **                         | ** |
|                        |     | 60           | TE            | TE            | TE            | 37,60±2,04    |                            |    |
|                        |     | 120          | TE            | TE            | 42,25±1,18    | 49,52±2,68    |                            |    |
|                        |     | 180          | TE            | 5,51±0,15     | 5,30±0,14     | TE            |                            |    |
| Octane                 | 794 | 7            | 188,10±34,25  | 140,53±6,46   | 112,71±25,98  | 137,01±13,26  | NS                         | ** |
|                        |     | 60           | 242,10±22,89  | 339,72±9,49   | 251,54±53,58  | 179,77±19,27  |                            |    |
|                        |     | 120          | 119,05±26,80  | 141,87±86,89  | 147,41±49,49  | 254,60±123,62 |                            |    |
|                        |     | 180          | 241,18±14,55  | 142,13±17,31  | 231,61±63,89  | 494,90±306,02 |                            |    |
| 2,4-Dimethyl pentane   | 816 | 7            | 29,94±1,62    | TE            | TE            | TE            | **                         | ** |
|                        |     | 60           | 96,84±2,71    | TE            | TE            | TE            |                            |    |
|                        |     | 120          | TE            | 121,26±3,39   | TE            | 117,94±6,38   |                            |    |
|                        |     | 180          | TE            | 30,38±0,84    | 181,55±5,07   | TE            |                            |    |
| 4-Octene               | 842 | 7            | 17,01±0,92    | 18,61±8,49    | 16,82±0,47    | 27,55±1,49    | **                         | ** |
|                        |     | 60           | TE            | TE            | 14,87±0,42    | 10,50±0,56    |                            |    |
|                        |     | 120          | TE            | TE            | TE            | 15,72±0,85    |                            |    |
|                        |     | 180          | TE            | 15,47±1,87    | 19,65±0,54    | TE            |                            |    |
| 2-Octene               | 871 | 7            | 131,77±28,25  | 464,69±231,54 | 404,56±96,57  | 415,62±252,81 | *                          | ** |
|                        |     | 60           | 132,54±29,41  | 55,49±39,18   | 76,95±7,99    | 77,69±9,70    |                            |    |
|                        |     | 120          | 191,71±87,78  | 191,58±43,44  | 245,30±68,01  | 388,80±181,88 |                            |    |
|                        |     | 180          | 134,81±25,37  | 242,59±138,12 | 389,27±154,18 | 249,31±49,48  |                            |    |

Çizelge 4.50. (devam)

|                                  |      |     |                |                 |                 |                 |    |    |
|----------------------------------|------|-----|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----|----|
| 2,2,4,6,6-Pentamethyl heptane    | 977  | 7   | 3591,27±860,87 | 5075,43±141,79  | 2084,98±681,70  | 3169,62±203,56  | *  | ** |
|                                  |      | 60  | 5128,12±143,26 | 2245,25±81,21   | 4037,82±1154,32 | 4810,68±345,88  |    |    |
|                                  |      | 120 | 898,04±739,15  | 4347,57±257,26  | 1670,08±1615,15 | 4494,64±243,28  |    |    |
|                                  |      | 180 | 2874,04±173,41 | 1432,05±1410,28 | 5059,64±281,78  | 3335,67±789,64  |    |    |
| 2,2-Dimethyl-decane              | 986  | 7   | TE             | 5403,35±150,95  | 5794,73±161,88  | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 6016,94±168,09 | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | 7248,46±570,67 | 32,45±0,91      | 8520,90±238,04  | 3628,13±3631,12 |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 7586,77±211,94  | 34,42±0,96      | TE              |    |    |
| Decane                           | 1004 | 7   | 162,84±19,70   | 203,23±5,67     | 160,88±59,48    | 197,20±34,65    | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 1167,37±59,59  | 390,72±50,01    | 604,88±18,62    | 1206,80±148,40  |    |    |
|                                  |      | 120 | 150,12±11,82   | 128,95±3,60     | 149,55±16,72    | 107,68±25,33    |    |    |
|                                  |      | 180 | 155,62±19,93   | 152,19±31,19    | 63,55±1,79      | 90,05±5,26      |    |    |
| Cloroform                        | 1016 | 7   | 73,44±3,97     | 66,22±1,85      | 33,19±0,92      | 40,61±2,19      | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | 95,98±2,68      | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | 113,76±54,26   | 71,03±1,98      | 50,36±1,41      | 98,14±5,31      |    |    |
|                                  |      | 180 | 71,58±5,35     | TE              | TE              | TE              |    |    |
| Toluene                          | 1041 | 7   | 247,73±50,27   | 409,92±11,45    | 399,16±76,53    | 230,71±53,31    | NS | *  |
|                                  |      | 60  | 179,34±9,71    | 92,45±64,59     | 173,05±24,05    | 705,92±38,20    |    |    |
|                                  |      | 120 | 356,56±168,54  | 179,0348±98,96  | 406,35±157,95   | TE              |    |    |
|                                  |      | 180 | 230,27±13,89   | 409,59±11,44    | 183,93±17,21    | 144,83±15,47    |    |    |
| 2,2,4,4,6,8,8-heptamethyl-nonane | 1099 | 7   | TE             | 6,94±0,19       | 8,72±0,24       | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 19,42±2,24     | 50,73±1,41      | TE              | 11,88±1,08      |    |    |
|                                  |      | 120 | 22,47±14,80    | 9,61±0,26       | TE              | 10,21±0,55      |    |    |
|                                  |      | 180 | 82,27±4,96     | TE              | 8,74±0,24       | 111,81±6,05     |    |    |
| Undecane                         | 1108 | 7   | 22,99±1,25     | TE              | TE              | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | 9,36±0,26       | 14,53±0,40      | 29,10±1,57      |    |    |
|                                  |      | 120 | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 23,34±0,65      | TE              | TE              |    |    |
| Ethyl benzene                    | 1123 | 7   | 19,31±1,84     | 38,31±1,07      | 55,23±1,54      | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | TE              | TE              | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | 16,34±1,28     | TE              | 51,12±1,42      | 32,73±1,77      |    |    |
|                                  |      | 180 | 16,06±3,62     | 18,10±0,51      | 49,70±1,39      | 42,99±2,32      |    |    |
| Xylene                           | 1138 | 7   | TE             | 61,11±17,64     | 83,54±2,33      | 64,88±3,51      | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | 20,92±0,58      | 41,72±1,16      | 48,98±2,65      |    |    |
|                                  |      | 120 | TE             | 131,89±3,69     | 174,66±4,87     | 205,36±12,94    |    |    |
|                                  |      | 180 | TE             | 83,09±18,73     | 217,27±6,07     | 82,19±11,01     |    |    |
| 3,6-Dimethyl-undecane            | 1166 | 7   | 233,66±75,40   | 347,17±14,35    | 407,84±11,39    | 192,61±25,55    | ** | ** |
|                                  |      | 60  | 401,84±11,22   | 140,15±20,83    | 215,95±6,03     | TE              |    |    |
|                                  |      | 120 | 179,17±14,10   | 281,34±7,86     | 197,30±5,51     | 345,65±116,03   |    |    |
|                                  |      | 180 | 211,22±24,60   | 329,78±168,73   | 278,91±7,79     | 156,18±43,05    |    |    |
| Delta Decalactone                | 2212 | 7   | 11,77±2,70     | 15,03±0,42      | TE              | TE              | ** | ** |
|                                  |      | 60  | TE             | 20,34±0,56      | TE              | 16,25±0,87      |    |    |
|                                  |      | 120 | 10,71±0,84     | 22,67±0,63      | 19,45±0,54      | 27,13±1,46      |    |    |
|                                  |      | 180 | 12,14±0,77     | 14,53±0,40      | 16,87±0,47      | 15,91±2,41      |    |    |

\*(p<0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p<0,01) düzeyinde önemli; TE: Tespit edilemedi.

Delta decalactone bileşiği peynir örneklerinde tespit edilen tek lakton bileşiğidir. Laktonların hidroksil yağ asitlerinin su kaybetmesi sonucunda molekül içi esterifikasyon reaksiyonu ile meydana geldiği, olgun peynirlerde düşük koku eşiklerinde bile güçlü aroma kaynağı oldukları bildirilmiştir (Bertolino *et al.* 2011; Amores *et al.* 2013).

#### 4.10. Kaşar Peyniri Örneklerine Ait Duyusal Analiz Sonuçları

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinin duyusal özelliklerinde meydana gelen değişimler panelistler tarafından değerlendirilmiş, duyusal değerlendirme sonucunda yapılan puanlama Çizelge 4.51’de, duyusal analiz parametrelerine ait varyans analizi test sonuçları ise Çizelge 4.52’te verilmiştir. Panelistler tarafından Kaşar peyniri örneklerinin renk-görünüş, doku, lezzet, koku, tuzluluk, acılık ve genel kabul edilebilirlik özellikleri değerlendirilmiştir.

**Çizelge 4.51.** Kaşar peyniri örneklerinin duyusal analiz sonuçları

| Duyusal parametreler | Olgunlaşma Süresi (Gün) | Peynirler |           |           |           |
|----------------------|-------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                      |                         | A         | B         | C         | D         |
| Renk ve görünüş      | 7                       | 7,52±0,09 | 7,60±0,34 | 7,58±0,07 | 7,43±0,16 |
|                      | 30                      | 7,46±0,19 | 7,85±0,24 | 7,67±0,14 | 7,62±0,13 |
|                      | 60                      | 7,50±0,00 | 7,83±0,07 | 7,71±0,08 | 7,81±0,06 |
|                      | 90                      | 7,79±0,19 | 7,99±0,13 | 7,85±0,13 | 7,85±0,22 |
|                      | 120                     | 7,79±0,25 | 7,67±0,51 | 7,88±0,45 | 7,44±0,44 |
|                      | 150                     | 7,64±0,32 | 7,67±0,19 | 7,90±0,04 | 7,88±0,13 |
|                      | 180                     | 7,71±0,26 | 7,79±0,19 | 7,74±0,13 | 7,50±0,45 |
| Doku                 | 7                       | 7,46±0,19 | 7,85±0,22 | 7,75±0,22 | 7,87±0,13 |
|                      | 30                      | 7,48±0,17 | 7,50±0,21 | 7,87±0,13 | 7,77±0,25 |
|                      | 60                      | 7,60±0,03 | 7,75±0,25 | 7,81±0,17 | 7,68±0,16 |
|                      | 90                      | 6,81±0,64 | 7,83±0,40 | 7,52±0,05 | 7,76±0,25 |
|                      | 120                     | 7,17±0,76 | 7,69±0,51 | 7,69±0,17 | 7,33±0,64 |
|                      | 150                     | 7,29±0,61 | 7,54±0,07 | 7,50±0,33 | 7,63±0,22 |
|                      | 180                     | 7,08±0,38 | 7,70±0,19 | 7,35±0,32 | 7,63±0,70 |
| Koku                 | 7                       | 7,83±0,29 | 7,50±0,22 | 7,52±0,10 | 7,73±0,25 |
|                      | 30                      | 7,58±0,07 | 7,67±0,07 | 7,67±0,14 | 7,58±0,07 |
|                      | 60                      | 7,75±0,06 | 7,66±0,23 | 7,58±0,14 | 7,75±0,10 |
|                      | 90                      | 7,27±0,20 | 7,71±0,29 | 7,73±0,22 | 7,83±0,18 |
|                      | 120                     | 7,33±0,32 | 7,75±0,33 | 7,71±0,51 | 7,79±0,19 |
|                      | 150                     | 7,13±0,33 | 7,33±0,07 | 7,50±0,22 | 7,63±0,13 |
|                      | 180                     | 7,13±0,70 | 7,67±0,29 | 7,52±0,59 | 7,75±0,33 |
| Lezzet               | 7                       | 7,54±0,06 | 7,52±0,03 | 7,64±0,16 | 7,62±0,13 |
|                      | 30                      | 7,46±0,31 | 7,56±0,19 | 7,73±0,14 | 7,46±0,08 |
|                      | 60                      | 7,50±0,12 | 7,56±0,39 | 7,77±0,16 | 7,62±0,10 |
|                      | 90                      | 6,99±0,33 | 7,49±0,13 | 7,74±0,11 | 7,81±0,06 |
|                      | 120                     | 7,25±0,33 | 7,58±0,19 | 7,71±0,15 | 7,54±0,26 |
|                      | 150                     | 7,02±0,52 | 7,46±0,19 | 7,63±0,22 | 7,67±0,19 |
|                      | 180                     | 6,92±0,44 | 7,42±0,29 | 7,50±0,11 | 7,54±0,31 |

Çizelge 4.51. (devam)

|                                  |     |           |           |           |           |
|----------------------------------|-----|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <b>Tuzluluk</b>                  | 7   | 7,87±0,21 | 8,00±0,00 | 7,87±0,13 | 7,92±0,14 |
|                                  | 30  | 7,79±0,06 | 7,96±0,08 | 7,64±0,03 | 7,88±0,13 |
|                                  | 60  | 7,58±0,07 | 7,62±0,00 | 7,58±0,14 | 7,71±0,31 |
|                                  | 90  | 7,56±0,06 | 7,79±0,31 | 7,79±0,07 | 7,88±0,38 |
|                                  | 120 | 7,70±0,32 | 7,88±0,22 | 7,79±0,19 | 7,47±0,63 |
|                                  | 150 | 7,63±0,33 | 7,58±0,14 | 7,50±0,25 | 7,70±0,07 |
|                                  | 180 | 7,70±0,07 | 7,64±0,32 | 7,92±0,26 | 7,75±0,22 |
| <b>Acılık</b>                    | 7   | 7,98±0,23 | 7,94±0,19 | 7,96±0,08 | 7,96±0,08 |
|                                  | 30  | 7,75±0,43 | 7,92±0,07 | 7,79±0,08 | 7,83±0,31 |
|                                  | 60  | 7,81±0,34 | 7,83±0,19 | 7,79±0,07 | 7,85±0,04 |
|                                  | 90  | 7,53±0,12 | 7,54±0,16 | 8,02±0,18 | 8,06±0,18 |
|                                  | 120 | 7,70±0,29 | 7,24±0,13 | 7,67±0,47 | 7,58±0,40 |
|                                  | 150 | 7,44±0,11 | 7,46±0,14 | 7,72±0,13 | 7,75±0,13 |
|                                  | 180 | 7,54±0,14 | 7,31±0,22 | 7,79±0,19 | 7,49±0,45 |
| <b>Genel kabul edilebilirlik</b> | 7   | 7,60±0,03 | 7,58±0,10 | 7,75±0,22 | 7,68±0,19 |
|                                  | 30  | 7,54±0,18 | 7,79±0,22 | 7,81±0,11 | 7,64±0,03 |
|                                  | 60  | 7,66±0,19 | 7,73±0,25 | 7,77±0,08 | 7,75±0,22 |
|                                  | 90  | 7,24±0,29 | 7,83±0,36 | 7,90±0,30 | 7,90±0,16 |
|                                  | 120 | 7,17±0,44 | 7,60±0,30 | 7,77±0,22 | 7,50±0,29 |
|                                  | 150 | 7,15±0,46 | 7,50±0,12 | 7,64±0,26 | 7,77±0,10 |
|                                  | 180 | 7,20±0,38 | 7,51±0,20 | 7,64±0,13 | 7,20±0,26 |

\*Verilen değerler üç tekerrür ortalamasıdır.

Çizelge 4.52. Kaşar peyniri örneklerinin duyu analizi sonuçlarına ait varyans analiz test sonuçları

| Varyasyon Kaynakları     | SD | Renk ve görünüş | Doku    | Koku   | Lezzet   | Tuzluluk | Acılık  | Genel kabul edilebilirlik |
|--------------------------|----|-----------------|---------|--------|----------|----------|---------|---------------------------|
| <b>Peynir örneği (A)</b> | 3  | 2,032           | 6,475** | 3,804* | 13,665** | 0,595    | 3,815*  | 9,665**                   |
| <b>Olgun. süresi (B)</b> | 6  | 2,246           | 1,437   | 1,536  | 1,784    | 2,630*   | 5,911** | 3,365**                   |
| <b>AxB</b>               | 18 | 0,814           | 0,719   | 1,022  | 1,105    | 0,786    | 1,229   | 1,012                     |
| <b>Hata</b>              | 56 |                 |         |        |          |          |         |                           |
| <b>Genel</b>             | 84 |                 |         |        |          |          |         |                           |

\*(p&lt;0,05) düzeyinde önemli; \*\* (p&lt;0,01) düzeyinde önemli

#### 4.10.1. Renk ve görünüş

Kaşar peyniri örneklerinin renk ve görünüş puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. Buna göre, en yüksek renk ve görünüş puanı (7,99) olgunlaşmanın 90. gününde primer starter kültür kullanılarak üretilen B örneğinde, en düşük puan (7,43) ise olgunlaşmanın başlangıcında sonikasyon ile zayıflatılmış yardımcı kültür kullanılarak üretilen D örneğinde belirlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarından, yardımcı

kültürlerin canlı ya da zayıflatılmış olarak ilavesinin Kaşar peyniri örneklerinin renk ve görünüş puanlarını etkilemediği belirlenmiştir. Benzer şekilde; Kumar *et al.* (2015), *Lb. helveticus* ve *Lb. casei* yardımcı kültürlerini kullanarak üretmiş oldukları Feta peyniri örneklerine ait renk puanlarının kontrol örneği ile istatistiksel olarak benzer olduğunu ifade etmişlerdir. Azambuja *et al.* (2017), mezofilik aromatik kültür (CHN-22 DVS) ve bu kültüre ilaveten *Lb. helveticus* B02 DVS suşunu kullanarak ürettikleri Prato peynirlerinde görünüş puanları açısından farklılıkların bulunmadığını bildirmişlerdir. Aynı zamanda olgunlaşma süresi değişkeninin Kaşar peyniri örneklerinin renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisinin önemli olmadığı, olgunlaşma süresince renk ve görünüş puanlarında dalgalanmaların olduğu, ancak bu değişimlerin istatistiksel olarak önemsiz olduğu belirlenmiştir.

#### 4.10.2. Doku

Kaşar peynir örneklerine olgunlaşma süresince panelistler tarafından verilen doku puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en yüksek doku puanı yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerine, söz konusu parametreye ait en düşük puan ise kontrol örneğine verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarından, doku puanları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıkların istatistiksel olarak  $p < 0,01$  düzeyinde önemli olduğu, buna karşılık doku puanlarında olgunlaşma süresince görülen değişimin önemsiz ( $p > 0,05$ ) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.52). Kaşar peyniri örneklerine ait doku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.53’te verilmiştir.

**Çizelge 4.53.** Kaşar peyniri örneklerine ait doku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Doku puanları *        |
|------------------|----|------------------------|
| A                | 21 | 7,27±0,47 <sup>b</sup> |
| B                | 21 | 7,69±0,28 <sup>a</sup> |
| C                | 21 | 7,64±0,25 <sup>a</sup> |
| D                | 21 | 7,66±0,37 <sup>a</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, peynir örnekleri arasında en yüksek ortalama doku puanının B örneğinde belirlendiği, primer/yardımcı kültürlerin bir arada kullanıldığı C ve D örneklerinin doku puanları ile istatistiksel olarak benzer olduğu tespit edilmiştir. Buna karşılık A (kontrol) örneğine ait doku puanlarının diğer peynir örneklerine nazaran daha düşük olduğu belirlenmiştir. Benech *et al.* (2003), proteoliz ile peynirin yapı ve tekstürü arasında bir ilişki olduğunu, serbest su moleküllerini bağlama yeteneğine sahip küçük peptitler ile serbest amino asitlerin peynirin kırılabilirliğini ve sertliğini azalttığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde; Kumar *et al.* (2013), *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* yardımcı kültürlerinin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı peynirlerde yapı ve tekstür puanlarının kontrol örneğine göre daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin doku puanlarında artma/azalmalar görülmekle birlikte, önemli sayılabilecek bir değişim kaydedilmemiştir.

#### 4.10.3. Koku

Kaşar peyniri örneklerine olgunlaşma süresince panelistler tarafından verilen koku puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. En yüksek koku puanları (7,83) olgunlaşmanın 7. gününde kontrol örneği ile 90. günde D örneğinde, en düşük puan (7,13) ise yine kontrol örneğinde olgunlaşmanın 150. ve 180. günlerinde belirlenmiştir. Varyans analizi sonuçlarından, koku puanları üzerine peynir örneği değişkenin etkisi  $p<0,05$  düzeyinde önemli, buna karşılık olgunlaşma süresi ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi önemsiz ( $p>0,05$ ) bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerine ait koku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.54’de verilmiştir.

**Çizelge 4.54.** Kaşar peyniri örneklerine ait koku puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Peynir Örnekleri</b> | <b>n</b> | <b>Koku puanları *</b>  |
|-------------------------|----------|-------------------------|
| <b>A</b>                | 21       | 7,43±0,39 <sup>b</sup>  |
| <b>B</b>                | 21       | 7,61±0,24 <sup>ab</sup> |
| <b>C</b>                | 21       | 7,60±0,29 <sup>ab</sup> |
| <b>D</b>                | 21       | 7,72±0,18 <sup>a</sup>  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama koku puanı sonikasyon uygulamasıyla zayıflatılmış yardımcı kültürün kullanıldığı D örneğinde, en düşük koku puanı ise çiğ süt kullanılarak üretilen A örneğinde tespit edilmiştir. B ve C örneklerine ait koku puanlarının ise istatistiksel olarak benzer olduğu saptanmıştır. Gomez-Ruiz *et al.* (2008), çiğ süttten izole ettikleri LAB'lerinin Manchego peynirinde yardımcı kültür olarak kullanımının peynire ait koku puanlarını arttırdığını ifade etmişlerdir. Peynir örneklerine ait koku puanlarında olgunlaşma süresince artma/azalmalar görülmekle birlikte, genel olarak sabit bir değişim sergilediği belirlenmiştir.

#### 4.10.4. Lezzet

Peynir lezzeti; ürünün kalitesi ve tüketici kabul edilebilirliği açısından en önemli kalite kriterlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Kaşar peyniri örneklerine olgunlaşma süresince panelistler tarafından verilen lezzet puanları Çizelge 4.51'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en yüksek lezzet puanı (7,81) olgunlaşmanın 90. gününde D örneğinde, en düşük puan (6,92) ise olgunlaşmanın sonunda kontrol (A) örneğinde belirlenmiştir. Yapılan varyans analizi test sonuçlarından, Kaşar peyniri örneklerinin lezzet puanları üzerinde peynir örneği değişkeninin etkisi  $p<0,01$  seviyesinde önemli, olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ile peynir örneği x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Lezzet puanları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.55'te verilmiştir.

**Çizelge 4.55.** Kaşar peyniri örneklerine ait lezzet puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Peynir Örnekleri</b> | <b>n</b> | <b>Lezzet puanları *</b> |
|-------------------------|----------|--------------------------|
| <b>A</b>                | 21       | 7,24±0,39 <sup>c</sup>   |
| <b>B</b>                | 21       | 7,51±0,24 <sup>b</sup>   |
| <b>C</b>                | 21       | 7,67±0,29 <sup>a</sup>   |
| <b>D</b>                | 21       | 7,60±0,18 <sup>ab</sup>  |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p < 0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama lezzet puanı C örneğinde belirlenmiş olup, bunu sırasıyla D, B ve A örnekleri takip etmiştir. Bu durumun, yardımcı kültür olarak kullanılan *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının sahip oldukları yüksek proteolitik/peptidolitik aktiviteleri nedeniyle amino asit ve uçucu aroma bileşiklerinin oluşumunu artırmasına, böylece peynir lezzetine katkı sağlamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Özellikle söz konusu suşların canlı olarak kullanıldığı C örneğinde amino asit ve bazı uçucu bileşiklerin konsantrasyonlarının diğer örneklerle nazaran daha yüksek olması da mevcut sonucu doğrular niteliktedir (Çizelge 4.40). Nitekim; peynirde amino azot içeriği ile lezzet arasında bir ilişkinin olduğu başka araştırmacılar tarafından da ortaya konulmuştur (Muir *et al.* 1996; Kumar *et al.* 2013). Tungjaroenchai *et al.* (2001), yüksek aminopeptidaz aktivitesinin serbest amino asitlerden lezzet bileşiklerinin sentezlenmesinde etkin bir rol oynadığını bildirmişlerdir. Avila *et al.* (2017), koyun sütünden yapılan peynire uygulanan 500 MPa yüksek basınç uygulamasının lezzet puanlarında bir azalmaya sebebiyet verdiğini, bu durumun söz konusu peynirde aroma bileşenlerinin oluşumunda katkısı bulunan serbest amino asitlerin daha düşük konsantrasyonlarda bulunmasıyla alakalı olduğunu bildirmişlerdir. Kumar *et al.* (2015), yardımcı kültür olarak *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* suşlarını kullanarak üretmiş oldukları Feta peynirlerinde tat ve aroma puanlarının kontrol örneğinden önemli derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Uzun (2006), emülsiyon ve ekstrüzyon tekniği ile mikroenkapsüle edilmiş probiyotik bakteri suşlarını kullanarak üretmiş olduğu Kaşar peynirlerinde lezzet puanlarındaki dalgalanmaların depolama sırasında görülen biyokimyasal değişikliklerin tat ve aroma üzerindeki etkisinden kaynaklandığını bildirmiştir.

Peynir örneklerine ait lezzet puanlarının olgunlaşma periyodunun 120. gününe kadar önemli bir değişiklik göstermediği, buna karşılık daha sonraki periyotlarda bir miktar azalmanın olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde; Gürsoy (2009), zayıflatılmış *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* suşlarını kullanarak üretmiş olduğu Kaşar peyniri örneklerine ait lezzet puanlarının olgunlaşma süresince azaldığını bildirmiştir.

#### 4.10.5. Tuzluluk

Kaşar peyniri örneklerine ait tuzluluk puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en yüksek tuzluluk puanı (8,00) olgunlaşmanın başlangıcında B örneğinde, en düşük puan (7,47) ise olgunlaşmanın 120. gününde D örneğinde tespit edilmiştir. Yapılan varyans analiz sonucunda, tuzluluk puanları açısından peynir örnekleri arasındaki farklılıkların önemli olmadığı, buna karşılık tuzluluk puanlarında olgunlaşma süresince görülen değişimin  $p<0,05$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Kaşar peyniri üretiminde yardımcı kültür kullanımının tuzluluk puanlarının önemli düzeyde etkilemediği görülmektedir (Çizelge 4.51-4.52). Benzer şekilde; Domingos-Lopes *et al.* (2017), *Leu. mesenteroides*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* bakterilerine ait seçilmiş suşları kullanarak üretmiş oldukları peynirlerin duysal değerlendirilmesinde tuzluluk açısından örnekler arasında belirgin bir farklılığın bulunmadığını bildirmişlerdir. Kaşar peyniri örneklerinin tuzluluk puanları açısından olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla yapılan Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.56’da verilmiştir.

**Çizelge 4.56.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait tuzluluk puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Tuzluluk puanları *     |
|-------------------------|----|-------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 7,91±0,13 <sup>a</sup>  |
| 30                      | 12 | 7,81±0,14 <sup>ab</sup> |
| 60                      | 12 | 7,62±0,15 <sup>b</sup>  |
| 90                      | 12 | 7,75±0,24 <sup>ab</sup> |
| 120                     | 12 | 7,71±0,36 <sup>ab</sup> |
| 150                     | 12 | 7,60±0,20 <sup>b</sup>  |
| 180                     | 12 | 7,75±0,22 <sup>ab</sup> |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Genel olarak olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinin tuzluluk puanlarının azaldığı, olgunlaşmanın sonunda panelistlerce verilen tuzluluk puanlarının başlangıçta verilen puanlardan istatistiksel olarak farklı olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Bu durumun olgunlaşma süresi boyunca nispi olarak artan kurumadde değerlerine paralel olarak tuz konsantrasyonlarındaki artış ile ilişkili olduğu ve söz konusu artışların duysal olarak da hissedilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim peynir örneklerinin hem tuz miktarı hem de kurumaddedeki tuz miktarının olgunlaşma süresince arttığı kimyasal analiz sonuçlarıyla da doğrulanmıştır.

#### 4.10.6. Acılık

Kaşar peyniri örneklerinin duysal değerlendirilmesinde kullanılan skalada yüksek puanlar (9-8 ile 7-6) peynirde acılığın olmadığını ya da çok az hissedildiğini, düşük puanlar (5-4-3 ile 2-1) ise peynirde belirgin derecede ya da çok fazla acılık olduğunu ifade etmektedir. Kaşar peyniri örneklerine olgunlaşma süresince panelistler tarafından verilen acılık puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en yüksek acılık puanı (8,06) olgunlaşmanın 90. gününde D örneğinde, en düşük acılık puanı (7,24) ise olgunlaşmanın 120. gününde B örneğinde belirlenmiştir. Varyans analizi testi sonuçlarından, acılık puanları üzerine peynir örneği değişkeninin etkisi  $p<0,05$  düzeyinde, olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ise  $p<0,01$  düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.52). Buna karşılık; peynir örneği x olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonunun acılık puanları üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir. Kaşar peyniri örneklerinin acılık puanları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.57’de, olgunlaşma sürelerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.58’de verilmiştir.

**Çizelge 4.57.** Kaşar peyniri örneklerine ait acılık puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Peynir Örnekleri</b> | <b>n</b> | <b>Acılık puanları *</b> |
|-------------------------|----------|--------------------------|
| <b>A</b>                | 21       | 7,68±0,28 <sup>ab</sup>  |
| <b>B</b>                | 21       | 7,61±0,30 <sup>b</sup>   |
| <b>C</b>                | 21       | 7,82±0,21 <sup>a</sup>   |
| <b>D</b>                | 21       | 7,79±0,29 <sup>a</sup>   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama acılık puanlarının *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerine, en düşük puanların ise kontrol (A) ve sadece primer starter kültürün kullanıldığı B örneğine verildiği belirlenmiştir. Peynir örneklerine ait peptit profili ve serbest amino asit sonuçları incelendiğinde; A ve B örneklerinde hidrofobik peptitlerin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu, buna karşılık özellikle C örneğinde yardımcı kültür olarak kullanılan suşların pepdidaz aktiviteleri neticesinde söz konusu peptitlerin amino asitlere hidroliz olduğu görülmektedir. Bu durum; acılık puanlarının C ve D örneklerinde daha yüksek olması dolayısıyla daha az düzeyde acılık hissedilmesinin nedeni olarak düşünülebilir. Kumar *et al.* (2013), *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* yardımcı kültürlerinin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı peynirlerin aksine kontrol örneklerinde hidrofobik peptitlerin birikimine bağlı olarak acılık puanlarının arttığını ve olgunlaşma süresince bakteri hücrelerinin düşük oranda lize olmasının söz konusu peptitlerin konsantrasyonlarında artışa sebebiyet verebileceğini bildirilmişlerdir.

**Çizelge 4.58.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait acılık puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| <b>Olgunlaşma Süresi (Gün)</b> | <b>n</b> | <b>Acılık puanları *</b> |
|--------------------------------|----------|--------------------------|
| <b>Taze (7)</b>                | 12       | 7,95±0,13 <sup>a</sup>   |
| <b>30</b>                      | 12       | 7,82±0,24 <sup>a</sup>   |
| <b>60</b>                      | 12       | 7,81±0,17 <sup>a</sup>   |
| <b>90</b>                      | 12       | 7,79±0,29 <sup>a</sup>   |
| <b>120</b>                     | 12       | 7,55±0,33 <sup>b</sup>   |
| <b>150</b>                     | 12       | 7,59±0,19 <sup>b</sup>   |
| <b>180</b>                     | 12       | 7,53±0,30 <sup>b</sup>   |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait acılık puanlarının olgunlaşma süresince azaldığı, ancak bu azalmaların 120. güne kadar istatistiksel olarak önemli olmadığı görülmektedir. Acılık puanlarında olgunlaşma süresinin 120., 150. ve 180. günlerinde görülen azalmaların ise önemli olduğu belirlenmiştir.

#### 4.10.7. Genel kabul edilebilirlik

Genel kabul edilebilirlik; tat, koku, yapı ve tekstür gibi özelliklerin tümünü kapsamakta ve peynirlerin duysal değerlendirilmesinde önem arz etmektedir. Kaşar peynir örneklerine olgunlaşma süresince panelistler tarafından verilen genel kabul edilebilirlik puanları Çizelge 4.51’de verilmiştir. Kaşar peyniri örneklerine ait en yüksek genel kabul edilebilirlik puanı (7,90) olgunlaşmanın 90. gününde C ve D örneklerinde, en düşük değer (7,15) ise olgunlaşmanın 150. gününde A (kontrol) örneğinde tespit edilmiştir.

Varyans analizi sonuçlarından, genel kabul edilebilirlik puanları üzerinde hem peynir örnekleri hem de olgunlaşma süreleri arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli ( $p<0,01$ ) bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları ortalamalarına ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları Çizelge 4.59’da, olgunlaşma sürelerine ait Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları ise Çizelge 4.60’ta verilmiştir.

**Çizelge 4.59.** Kaşar peyniri örneklerine ait genel kabul edilebilirlik puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Peynir Örnekleri | n  | Genel kabul edilebilirlik puanları * |
|------------------|----|--------------------------------------|
| A                | 21 | 7,36±0,34 <sup>b</sup>               |
| B                | 21 | 7,65±0,24 <sup>a</sup>               |
| C                | 21 | 7,75±0,18 <sup>a</sup>               |
| D                | 21 | 7,64±0,27 <sup>a</sup>               |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden  $p<0,05$  düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, en yüksek ortalama genel kabul edilebilirlik puanının yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğine verildiği, B ve D örnekleriyle de istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir. Buna karşılık; kontrol örneğinin ortalama genel kabul edilebilirlik puanının diğer örneklerle nazaran daha düşük olduğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan hem primer hem de yardımcı kültürlerin kullanımının Kaşar peynirlerinin duyuşal açıdan kabul edilebilirliğini artırdığı görülmektedir. Özellikle C örneğinde daha belirgin olmak üzere C ve D örneklerinin üretiminde kullanılan *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının proteolitik/peptidolitik aktivitesi sonucu lezzet ve tekstür üzerine olumlu etkide bulunması söz konusu örneklerde genel kabul edilebilirlik puanlarının daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir. Calasso *et al.* (2017), çeşitli mikroorganizma gruplarına ait hücresiz ekstraktları kullanarak ürettikleri Pecorino tip peynirlerde *Lb. casei*/*H. alvei* kombinasyonu içeren örneklerin paneslistlerce daha fazla beğenildiğini ve bu durumun söz konusu peynirin daha yüksek oranda uçucu bileşikler içermesinden kaynaklandığını bildirmişlerdir. Domingos-Lopes *et al.* (2017), *Leu. mesenteroides*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* bakterilerinin seçilmiş suşlarıyla üretmiş oldukları peynirlerin duyuşal değerlendirilmesinde yüksek ekstraselüler enzim aktivitesi ve güçlü aroma yeteneğine sahip olması ile *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* L3C21M6 suşu ile üretilen peynirin panelistlerce en fazla beğenilen peynir olduğunu bildirmişlerdir. Kumar *et al.* (2013), *Lb. helveticus* suşunu yardımcı kültür ve zayıflatılmış yardımcı kültür olarak kullandıkları peynir örneklerinde genel kabul edilebilirlik puanlarının kontrol örneğinden daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

**Çizelge 4.60.** Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma sürelerine ait genel kabul edilebilirlik puanları ortalamalarının Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçları

| Olgunlaşma Süresi (Gün) | n  | Genel kabul edilebilirlik puanları * |
|-------------------------|----|--------------------------------------|
| Taze (7)                | 12 | 7,65±0,14 <sup>a</sup>               |
| 30                      | 12 | 7,69±0,18 <sup>a</sup>               |
| 60                      | 12 | 7,72±0,17 <sup>a</sup>               |
| 90                      | 12 | 7,71±0,37 <sup>a</sup>               |
| 120                     | 12 | 7,51±0,36 <sup>ab</sup>              |
| 150                     | 12 | 7,51±0,34 <sup>ab</sup>              |
| 180                     | 12 | 7,39±0,29 <sup>b</sup>               |

\* Farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Duncan çoklu karşılaştırma test sonuçlarından, olgunlaşma periyodunun 120. gününe kadar peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarında önemli bir değişikliğin olmadığı, buna karşılık 120.-180. günlerde azalmanın olduğu ve bu azalmaların istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir (Çizelge 4.60). Benzer şekilde; Gürsoy (2009), dondurma işlemi ile zayıflatılmış *Lb. casei* ve *Lb. helveticus* suşlarını kullanarak üretmiş olduğu tam ve yarım yağlı Kaşar peynirlerinde genel kabul edilebilirlik puanlarının olgunlaşma süresince azaldığını bildirmiştir.



## 5. SONUÇ

Bu çalışmada; birçok peynir çeşidinde starter olmayan Laktobasil türleri arasında sıklıkla yer almaları ve sahip oldukları proteolitik enzim çeşitliliği nedeniyle *Lb. helveticus* ve *Lb. paracasei* bakterilerine ait suşların, birlikte canlı/zayıflatılmış yardımcı kültür olarak Kaşar peyniri üretiminde kullanılması, böylece olgunlaştırma süresinin kısaltılması, seçilmiş suşların kullanımıyla NSLAB'lerinin kontrol altına alınması ve lezzet bakımından daha zenginleştirilmiş Kaşar peynirinin üretiminin sağlanması amaçlanmıştır. Bu amaçla; öncelikle Kaşar peyniri üretiminde kullanılan *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarının sonikasyon işlemi ile zayıflatılmasında işlem koşullarının (ses dalgasının frekansı, şiddeti ve uygulama süresi vb) belirlenmesine yönelik ön denemeler yapılmıştır. Ön deneme sonuçları dikkate alındığında, *Lb. paracasei* ATCC 334 ve *Lb. helveticus* DPC 4571 suşlarına uygulanan sonikasyon süresinin 45 d, her iki suş için de sonikasyon koşullarının Pulse:1, Amplitude:100 µm olmasına karar verilmiştir. Ardından Kaşar peynirlerinin üretimine geçilmiştir. I. grup (**A**) Kaşar peyniri çiğ süttten herhangi bir kültür kullanmaksızın üretilmiş ve kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. II. grup (**B**) Kaşar peyniri üretimi için süt 65°C'de 30 dakika pastörize edilmiş ve sadece starter kültür (*S. thermophilus* + *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*) ilave edilmiştir. Diğer grup (**C**) peynirinin üretimi için pastörize süte starter kültür ile *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 (%1) (1:1) suşları birlikte canlı olarak ilave edilmiştir. Son olarak pastörize edilmiş ve starter kültür ilave edilmiş süt peynir mayası ile mayalanmış, ardından baskılama işleminden önce ön denemelerle belirlenen sonikasyon koşulları kullanılarak zayıflatılmış *Lb. helveticus* DPC 4571 +*Lb. paracasei* ATCC 334 (%1) (1:1) suşları pıhtıya ilave edilmiştir (**D**). Deneme Kaşar peynirlerinin üretimi 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve tüm örnekler vakum ambalajlanarak 6±2°C'de 180 gün süreyle olgunlaştırmaya bırakılmıştır. Olgunlaşma süresince peynirlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri analiz edilmiştir. İlaveten *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 bakterilerinin canlı ve zayıflatılmış olarak iki farklı formda kullanımının olgunlaşma süresi ve derecesine etkisinin belirlenmesi amacıyla; peynir örnekleri ile pH 4.6'da

çözünen/çözünmeyen azot fraksiyonlarında üre-PAGE jel elektroforezi, peptit profili ve serbest amino asit analizleri ile uçucu bileşiklerin analizi yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiş ve öneriler yapılmıştır.

1. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda, en yüksek ortalama TAMB sayısının (7,59 log kob/g) primer starter kültürlerle *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı olarak kullanıldığı C örneğinde, en düşük ortalama TAMB sayısı (7,02 log kob/g) ise A (kontrol) örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince C örneğinde TAMB sayılarının daha yüksek olduğu, D örneğin de ise özellikle 30. günden sonra TAMB sayılarında belirgin düzeyde artış olduğu tespit edilmiştir.

MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayıları incelendiğinde, C örneğinde söz konusu bakterilerin fark edilir düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Sonikasyon işleminin uygulandığı D örneğinde ise başlangıç MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayılarının düşük olduğu, özellikle 60. gününden itibaren mezofilik LAB sayısında önemli artışın görüldüğü ve olgunlaşma periyodunun sonunda C örneği ile benzer değerlere ulaştığı tespit edilmiştir. Sonikasyon uygulamasından etkilenmemiş *Lb. paracasei* ATCC 334 bakteri hücrelerinin olgunlaşma süresince peynir ortamına adapte olduğu ve çoğalmaya başladığı tespit edilmiştir. MRS agarda gelişen mezofilik LAB sayılarının olgunlaşma periyodunun 90. gününe kadar arttığı, olgunlaşmanın 120-180. günlerinde ise artış/azalışların olduğu belirlenmiştir.

Peynir örneklerine ait ortalama en yüksek MRS agarda gelişen termofilik LAB sayısı B ve C örneklerinde, en düşük sayı ise A (kontrol) ve D örneklerinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince kontrol örneğine ait termofilik LAB sayısının düşük olduğu, bu durumun kontrol örneğine herhangi bir primer veya sekonder (yardımcı starter) kültür katılmamış olmasından kaynaklandığı belirlenmiştir. D örneğinde ise *Lb. helveticus* DPC 4571 suşuna sonikasyon uygulanması nedeniyle başlangıç sayısının C örneğine göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince özellikle C ve D örneklerinde daha belirgin olmak üzere; tüm örneklerde MRS agarda gelişen

termofilik LAB sayılarının azaldığı tespit edilmiştir. Söz konusu bakteri sayılarının olgunlaşmanın 180. gününde C ve D örneklerinde sırasıyla 2,30 ile 1,83 log kob/g düzeyinde azaldığı tespit edilmiştir. Özetle, yardımcı kültür olarak kullanılan *Lb. paracasei* ATCC 334'ün tersine, *Lb. helveticus* DPC 4571 suşunun daha hızlı ve daha fazla otoliz olduğu sonucuna varılmıştır.

Kaşar peyniri üretiminde primer starter kültürlerle ilaveten yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının, M-17 agarda gelişen mezofilik LAB sayısı üzerinde etkili olmadığı belirlenmiştir. Buna karşılık M-17 agarda gelişen termofilik LAB sayılarının B, C ve D örneklerinde istatistiksel olarak farklı olmakla birlikte; yakın değerlere sahip olduğu, en düşük sayının kontrol örneğinde belirlendiği ve söz konusu mikroorganizma grubunun olgunlaşma süresince genel olarak azaldığı tespit edilmiştir.

Küf sayıları incelendiğinde; örnekler arasında istatistiksel olarak fark olmadığı, buna karşılık en yüksek ortalama maya sayısının (3,95 log kob/g) kontrol örneğinde belirlendiği tespit edilmiştir. Tüm örneklerin vakum ambalajlanmış olması ve dolayısıyla oksijen ile temaslarının kesilmiş olması; küf gelişimini önemli ölçüde sınırlandırmıştır. Aynı zamanda analiz edilen tüm örneklerde olgunlaşma süresince koliform grubu bakteri sayısı tespit edilebilir seviyenin (<1 log kob/g) altında bulunmuştur. Kaşar peynirinin üretimi sırasında uygulanan haşlama işleminin (72 °C'de 1 d) koliform grubu bakteri sayısını azaltmada etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

2. Kaşar peyniri örneklerine ait kurumadde değerleri incelendiğinde; primer/yardımcı kültür kullanılarak üretilen peynirlerinin (B, C ve D) kurumadde değerlerinin birbiriyle benzer olduğu, buna karşılık A (kontrol) örneğinde kurumadde miktarının biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda olgunlaşma süresince tüm örneklerde kurumadde miktarlarının yavaş bir şekilde artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Yağ miktarları açısından peynir örnekleri arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı, buna karşılık kurumaddede yağ oranlarının primer starter ve yardımcı kültürlerin ilave edildiği B, C ve D örneklerinde kontrol örneğine nazaran daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde yağ miktarlarında bir miktar artışın görüldüğü, kurumaddede yağ oranlarının ise önemli bir değişim sergilemediği tespit edilmiştir.

Kaşar peyniri örneklerine ait en yüksek protein miktarı kontrol örneğinde belirlenmiş olup, söz konusu örnekte kurumadde miktarının yüksek olması oransal olarak protein miktarında da artışa neden olmuştur. Olgunlaşma süresince protein miktarlarında bir miktar artış görüldüğü, 60. günden itibaren bu artışların istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.

Tuz ve kurumaddede tuz oranları açısından Kaşar peyniri örnekleri arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı ve olgunlaşma süresince artış gösterdiği tespit edilmiştir.

Özetle; Kaşar peynir örnekleri genel bileşim açısından değerlendirildiğinde, örnekler arasında analiz edilen bazı parametreler (kurumadde ve protein gibi) bakımından istatistiksel olarak farklılık görünmekle birlikte, yardımcı kültür/zayıflatılmış yardımcı kültür ilavesinin peynirin kimyasal kompozisyonu üzerinde çok önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Bununla birlikte; özellikle *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının birlikte canlı/zayıflatılmış olarak kullanımının asitlik ve pH değerlerini önemli düzeyde etkilediği tespit edilmiştir. Özellikle pH değerlerinin; yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanıldığı C ve D örneklerinde daha düşük olduğu, bu örnekleri sırasıyla B ve kontrol (A) örneklerinin izlediği belirlenmiştir. Sonikasyon uygulamasının asitlik/pH değerleri üzerinde olgunlaşmanın ilk aylarında etkili olmadığı; ancak olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte özellikle sonikasyon uygulamasından etkilenmemiş muhtemel *Lb. paracasei* bakteri hücrelerinin peynir ortamına adapte olduğu ve asitlik artışına neden olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak

olgunlaşma süresince asitlik değerlerinin arttığı, pH değerlerinin ise hafif dalgalanmalarla birlikte azaldığı belirlenmiştir.

3. Peynir örneklerine ait çözünür azot fraksiyonları incelendiğinde; en yüksek ortalama pH 4.6'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinin *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının sonike edilmiş olarak kullanıldığı (D) örneğinde belirlendiği, bu örnekleri sırasıyla C, B ve A (kontrol) örneklerinin takip ettiği tespit edilmiştir. C ve D örneklerinde; bu parametrenin kontrol örneğine göre daha yüksek olması, yardımcı kültürlerin canlı ve sonike edilmiş olarak kullanımlarının primer proteoliz üzerinde etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına ait olgunlaşma indeksi değerlerinin yardımcı kültürlerin kullanıldığı C ve D örneklerinde diğer örneklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun özellikle söz konusu Kaşar peynirlerinin üretiminde kullanılan Laktobasillerin proteolitik/peptidolitik aktivitesinden kaynaklandığı ve sekonder proteoliz üzerinde önemli etkilerinin olduğu kanaatine varılmıştır. Aynı zamanda tüm çözünür azot fraksiyonlarına ait olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince düzenli olarak arttığı tespit edilmiştir.

4. pH 4.6'da çözünmeyen azot fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforezi sonuçları incelendiğinde; tüm Kaşar peyniri örneklerinde  $\beta$ -kazein fraksiyonunun hidrolize karşı direnç gösterdiği, buna karşın  $\alpha_{s1}$ -kazein fraksiyonunun Kaşar peyniri örneklerinde belirli oranlarda hidrolize olduğu ve daha düşük molekül ağırlıklı farklı peptitlerin oluşmasına yol açtığı belirlenmiştir. Genel olarak sonikasyon ile zayıflatılmış yardımcı kültürün kullanıldığı D örneği ile yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanıldığı C örneğinde parçalanma ürünlerinin benzer olduğu, aynı zamanda hem  $\alpha_{s1}$ -kazeinin hem de  $\beta$ -kazeinin söz konusu örneklerde daha fazla hidroliz edildiği tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı/sonike edilmiş olarak ilavesinin proteoliz üzerinde ılımlı bir etkisinin olduğu sonucuna varılmıştır. Olgunlaşma süresi boyunca  $\beta$ -kazein fraksiyonunun hidrolizasyonunda önemli bir değişikliğin meydana gelmediği,  $\alpha_{s1}$ -kazein

fraksiyonunun hidrolizi üzerinde olgunlaşma süresinin etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu ve özellikle olgunlaşma periyodunun 60. gününden sonra  $\alpha_{S1}$ -kazein fraksiyonunun hidrolizinde dikkate değer bir artışın olduğu saptanmıştır.

5. Peynir örneklerine ait RP-HPLC kromatogramları incelendiğinde, yardımcı kültür kullanımının olgunlaşma süresince peynir örneklerinde peptit profili açısından farklılıklara neden olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında primer starter/yardımcı kültür kullanılarak üretilen B, C ve D örneklerinin peptit profillerinin benzer olduğu, buna karşılık kontrol örneği ile karşılaştırıldığında hem piklerin sayısı hem de yükseklikleri bakımından önemli farklılıkların olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşmanın 60. gününde; tüm örneklerde hidrofilik/hidrofobik bölgelerdeki piklerin hem sayısı hem de yüksekliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma periyodunun 120. ve 180. günlerinde ise B, C ve D peynirlerinde hidrofobik bölgedeki pik yüksekliklerinin azaldığı, buna karşılık kontrol örneğinde artışların olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşmanın sonunda hidrofobik peptit konsantrasyonlarındaki en fazla azalmanın C örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültürlerin canlı/zayıflatılmış olarak kullanıldığı her iki uygulamanın sekonder proteoliz üzerinde etkili olduğu, ancak söz konusu suşların canlı olarak kullanımının hidrofobik peptitlerin hidrolizini daha fazla artırdığı sonucuna varılmıştır.

6. Analiz edilen tüm örneklerde olgunlaşma süresince toplam 20 amino asit belirlenmiş olup, özellikle Asp, Arg, Ala, Pro, Tyr, Cys, Leu, Phe, Lys hakim amino asitler olarak saptanmıştır. Genel olarak; tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit miktarında artış görüldüğü, en yüksek artışın *Lb. helveticus* DPC 4571 ve *Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde olduğu tespit edilmiştir. Serbest amino asit miktarları incelendiğinde; Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, Gly, Arg, Thr, Ala, Pro, Tyr, Val, Ile, Leu, Phe amino asitlerinin C örneğinde; Cys amino asidinin sonike edilmiş *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının kullanıldığı D örneğinde; Met ve Lys amino asitlerinin sadece primer kültürün kullanıldığı B örneğinde; His, Trp amino asitlerinin ise kontrol örneğinde önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Her iki uygulama

dikkate alındığında serbest amino asit oluşumu üzerine yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanımının daha etkili olduğu, söz konusu uygulamanın etkisinin özellikle olgunlaşmanın 180. gününde daha belirgin olduğu sonucuna varılmıştır.

7. Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince 21'i alkol, 17'si ester, 16'sı keton, 8'i aldehit, 8'i karboksilik asit, 3'ü terpen ve 24'ü diğer bileşikler olmak üzere toplam 97 adet uçucu bileşik tayin edilmiştir. 2-methyl butanal, 3-methyl butanal aldehit bileşiklerinin kontrol örneğinde, asetone ve diacetyl keton bileşikleri ise *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC suşlarının canlı olarak kullanıldığı C örneğinde yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Benzer şekilde; 2-pentanone, 2-heptanone, 2-nonanone, 8-nonen-2-one, 2-octanone, 2-undecanone ketonlarının starter kültür ile starter kültür/yardımcı kültürlerin birlikte kullanıldığı B, C ve D peynirlerinde yüksek düzeyde oluştuğu belirlenmiştir. Acetic acid-ethyl ester, propanoic acid-methyl ester, pentanoic acid-2-hydroxy-4 methyl methyl ester, hexanoic acid-1,1-dimethyl propyl ester bileşikleri C örneğinde, butanoic acid-methyl ester, hexanoic acid-ethyl ester, octanoic acid-ethyl ester, butanoic acid-3-methyl butyl ester bileşikleri ise kontrol örneğinde daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir. Ethanol, 2-pentanol, 2-heptanol gibi alkol bileşikleri ile butanoic acid C ve D örneklerinde, acetic acid ile hexanoic acid ise kontrol örneğinde fazla miktarlarda belirlenmiştir. Cyclopentanone, 3-hydroxy-2-pentanone, pentanoic acid 2-hydroxy-4-methyl methyl ester, acetic acid oktyl ester, 1-tridecanol, 1-decanol, 1-heptanol, 2-isopropanol, 4,4-dimethyl 2-pentanol ve decanoic acid bileşikleri kontrol örneğinde belirlenemezken, propanoic acid propyl ester, 1-propanol, 2,3-dimethyl-1-pentanol, 2-methyl propanoic acid, pentanoic acid sadece D örneğinde tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültürlerin canlı ve zayıflatılmış olarak kullanımının bazı uçucu aroma bileşenlerinin hem miktar ve hem de çeşitliliğini artırdığı sonucuna varılmıştır.

8. Kaşar peyniri üretiminde yardımcı kültürlerin canlı veya zayıflatılmış olarak kullanımının renk ve görünüş puanları ile tuzluluk puanlarını etkilemediği, buna karşılık lezzet, koku, doku, acılık, genel kabul edilebilirlik puanları üzerinde önemli etkisinin olduğu belirlenmiştir. En yüksek lezzet puanları C ve D örneğinde belirlenmiş, bu örnekleri sırasıyla B ve A (kontrol) örnekleri takip etmiştir. Kaşar peyniri örnekleri arasında en yüksek koku puanı ise sonikasyonla zayıflatılmış yardımcı kültürün kullanıldığı D örneğinde belirlenmiştir. Uzun dönem olgunlaştırılan peynir örneklerinde önemli bir duysal parametre olarak kabul edilen acılık açısından değerlendirme yapıldığında, acılığın C ve D örneklerinde daha az düzeyde, buna karşılık kontrol (A) ve B örneklerinde daha yoğun hissedildiği belirlenmiştir. Genel kabul edilebilirlik açısından, panelistlerce en az beğenilen örneğin kontrol (A) örneği olduğu tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde; primer starter kültüre ilaveten *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının yardımcı kültür olarak kullanılmasının Kaşar peyniri örneklerinin koku, lezzet, tekstürel özelliklerini geliştirdiği sonucuna varılmıştır.

Elde edilen veriler genel olarak değerlendirildiğinde; *Lb. helveticus* DPC 4571+*Lb. paracasei* ATCC 334 suşlarının canlı ya da zayıflatılmış olarak kullanımının Kaşar peynirinin kalite özelliklerini artırdığı sonucuna varılmıştır. Zayıflatılmış yardımcı kültür kullanımının daha çok çözünür azot fraksiyonları ile kazein hidrolizinde etkili olduğu, buna karşılık sekonder proteoliz üzerindeki etkisinin daha az düzeyde olduğu belirlenmiştir. Yardımcı kültürlerin canlı olarak kullanımının ise özellikle peptit profili, serbest amino asit oluşumu ile uçucu aroma bileşiklerinin miktar ve çeşitliliği açısından daha etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Özellikle kontrol örneği ile karşılaştırıldığında her iki uygulamanın (canlı/sonike edilmiş yardımcı kültür) olgunlaşma derecesini artırdığı ve süresini kısalttığı söylenebilir. Bu durumda, söz konusu suşlarla kontrollü şartlar altında aroma açısından zengin bir Kaşar peyniri üretilbileceği ve peynir üreticileri için tavsiye edilebileceği kanaatine varılmıştır. Son yıllarda LAB'lerinin hücresiz ekstraktlarının içerdikleri enzimlerin miktar/çeşitliliği nedeniyle peynir üretiminde kullanılması yeni ve dikkat çekici bir uygulama olarak ortaya çıkmaktadır. Bu amaçla mikroorganizmalardan hücresiz enzim ekstraktları

eldesinde sonikasyon uygulamasının da kullanılabileceği, etkisinin suşa bağımlı olması sebebiyle farklı bakterilerin zayıflatılmasında daha etkili olabileceği ve farklı peynir çeşitlerinde de kullanılabileceği düşünölmektedir.



## KAYNAKLAR

- Akalin, A.S. and Karaman, A.D., 2011. Influence of packaging systems on the biochemical characteristics and volatile compounds of industrially produced Turkish White Cheese. *Journal of Food Biochemistry*, 35 (2), 663-680.
- Akin, M.S., Guler-Akin, M.B., Kirmaci, H.A., Atasoy, A.F. and Turkoglu, H., 2012. The effects of lipase-encapsulating carriers on the accelerated ripening of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (2), 243-249.
- Aljewicz, M., Siemianowska, E., Cichosz, G. and Tonska, E., 2014a. The effect of probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37, *Lactobacillus acidophilus* NCFM) on the availability of minerals from Dutch-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 97 (8), 4824-4831.
- Aljewicz, M., Cichosz, G., Nalepa, B. and Kowalska, M., 2014b. Influence of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 on proteolysis patterns of Edam cheese. *Food Technology and Biotechnology*, 52 (4), 439-447.
- Amores, G., Valdivielso, I., Virto, M., Salazar, A., Vera, R., Aguilar, C., De Renobales, M. and Barron, L.J.R., 2013. Lipid and volatile fractions of hard and semi-hard farmhouse sheep milk cheeses from Chile. *Dairy Science and Technology*, 93 (1), 83-98.
- Anastasiou, R., Georgalaki, M., Manolopoulou, E., Kandarakis, I., De Vuyst, L. and Tsakalidou, E., 2007. The performance of *Streptococcus macedonicus* ACA-DC 198 as starter culture in Kasseri cheese production. *International Dairy Journal*, 17 (3), 208-217.
- Andrews, A.T., 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal Dairy Research*, 50-55.
- Andic, S., Tuncur, Y. and Genccelep, H., 2011. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. *Journal of Dairy Science* 94(4):1668-1678.
- Anonim, 2015a. Türkiye'ye Özgü Besin ve Beslenme Rehberi. Hacettepe Üniversitesi. Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Ankara.
- Anonim, 2015b. Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı, Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği. Tebliğ No: 2015/6. <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2015/02/20150208-16.htm>.
- Antonsson, M., Ardo, Y., Nilsson, B.F. and Molin, G., 2002. Screening and selection of *Lactobacillus* strains for use as adjunct cultures in production of semi-hard cheese. *Journal of Dairy Research*, 69(3), 457-472.
- Ardo, Y. and Polychroniadou, A. 1999. *Laboratory Manual For Chemical Analysis of Cheese*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities.
- Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Hayaloglu, A. A. 2011. Peynirde Aroma. *Peynir Biliminin Temelleri*. Editörler: Özer, B., Hayaloğlu, A.A. İzmir: Sidas Yayıncılık.
- Atasoy, A. F., Hayaloglu, A.A., Kirmaci, H.A., Leyent, O. and Turkoglu, H., 2013. Effects of partial substitution of caprine for ovine milk on the volatile

- compounds of fresh and mature Urfa cheeses. *Small Ruminant Research*, 115 (1-3), 113-123.
- Avila, M., Garde, S., Medina, M. and Nunez, M., 2005. Effect of milk inoculation with bacteriocin-producing lactic acid bacteria on a *Lactobacillus helveticus* adjunct cheese culture. *Journal of Food Protection*, 68 (5), 1026-1033.
- Avila, M., Gomez-Torres, N., Delgado, D., Gaya, P. and Garde, S., 2017. Effect of high-pressure treatments on proteolysis, volatile compounds, texture, colour, and sensory characteristics of semi-hard raw ewe milk cheese. *Food Research International*, 100, 595-602.
- Awad, S., Ahmed, N. and Soda, M.E., 2007. Evaluation of isolated starter lactic acid bacteria in Ras cheese ripening and flavour development. *Food Chemistry*, 104 (3), 1192-1199.
- Aydemir, O., 2010. Kars Kaşar Peynirinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.
- Aydemir, O., Harth, H., Weckx, S., Dervişoğlu, M. and De Vuyst, L., 2015. Microbial communities involved in Kaşar cheese ripening. *Food Microbiology*, 46, 587-595.
- Azambuja, N.C., Moreno, I., Gallina, D.A., Spadoti, L.M., Motta, E.M.P., Pacheco, M.T.B., Queiroz, A.L.M. and Antunes, A.E.C., 2017. Effect of adjunct culture *Lactobacillus helveticus* (B02) on the composition, proteolysis, free amino acids release and sensory characteristics of prato Cheese. *Food and Nutrition Sciences*, 8, 512-525.
- Baptista, D.P., Galli, B.D., Cavalheiro, F.G., Negrao, F., Eberlin, M.N. and Gigante, M.L., 2018. *Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptide during Prato cheese ripening. *International Dairy Journal* 87:75-83.
- Barron, L.J.R., Redondo, Y., Aramburu, M., Gil, P., Perez-Elortondo, F.J., Albisu, M. and Fernandez-Garcia, E., 2007. Volatile composition and sensory properties of industrially produced Idiazabal cheese. *International Dairy Journal*, 17 (12), 1401-1414.
- Benech, E.E.K., Lacroix, C. and Fliss, I., 2003. Impact of Nisin Producing Culture and Liposome-encapsulated Nisin on Ripening of *Lactobacillus* added-Cheddar Cheese. *Journal Dairy Science*, 86, 1895-1909.
- Bertolino, M., Dolci, P., Giordano, M., Rolle, L. and Zeppa, G., 2011. Evolution of chemico-physical characteristics during manufacture and ripening of Castelmagno PDO cheese in wintertime. *Food Chemistry*, 129 (3), 1001-1011.
- Bezerra, T.K.A., Arcanjo, N.M.O., Araújo, A.R.R., Queiroz, A.L.M., Oliveira, M.E.G., Gomes, A.M.P. and Madruga, M.S., 2017. Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. *LWT - Food Science and Technology*, 76, Part B, 209-215.
- Blazic, M., Pavic, K., Zavadlav, S. and Marcac, N., 2017. The impact of traditional cheeses and whey on health. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 9 (2), 198 – 203.
- Bodyfelt, F.W., Tobias, J. and Trout, G.M., 1988. The sensory evaluation of dairy products, London: Van Nostrand Reinhold, 598.
- Briggiler-Marco, M., Capra, M.L., Quiberoni, A., Vinderola, G., Reinheimer, J.A. and Hynes, E., 2007. Nonstarter *Lactobacillus* strains as adjunct cultures for cheese

- making: in vitro characterization and performance in two model cheeses. *Journal Dairy Science*, 90 (10), 4532-4542.
- Broadbent, J. R., Larsen, H. C., Hughes, J. E., Welker, D. L., De Carvalho, V. G. and Tompkins, T. A., 2011. Genetic diversity in proteolytic enzymes and amino acid metabolism among *Lactobacillus helveticus* strains. *Journal Dairy Science*, 94, 4313-4328.
- Budinich, M.F., Perez-Díaz, I., Cai, H., Rankin, S.A., Broadbent, J.R. and Steele, J.L., 2011. Growth of *Lactobacillus paracasei* ATCC 334 in a cheese model system: a biochemical approach, *Journal Dairy Science*, 94 (11), 5263-5277.
- Burns, P.G., Patrignani, F., Tabanelli, G., Vinderola, G.C., Siroli, L., Reinheimer, J.A., Gardini, F. and Lanciotti, R., 2015. Potential of high pressure homogenisation on probiotic Caciotta cheese quality and functionality. *Journal of Functional Foods*, 13, 126-136.
- Cakir, Y., Cakmakci, S. and Hayaloglu, A.A., 2016. The effect of addition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and ripening period on proteolysis, sensory properties and volatile profiles of Erzincan Tulum (Savak) cheese made from raw Akkaraman sheep's milk. *Small Ruminant Research*, 134, 65-73.
- Cakmakci, S. and Hayaloglu, A.A., 2011. Evaluation of the chemical, microbiological and volatile aroma characteristics of Ispir Kaymak, a traditional Turkish dairy product. *International Journal of Dairy Technology*, 64 (3), 444-450.
- Calasso, M., Mancini, L., Di Cagno, R., Cardinali, G. and Gobbetti, M., 2015. Microbial cell-free extracts as sources of enzyme activities to be used for enhancement flavor development of ewe milk cheese. *Journal of Dairy Science*, 98 (9), 5874-5889.
- Calasso M., Mancini L., De Angelis M., Conte A., Costa C., Del Nobile, M.A. and Gobbetti, M., 2017. Multiple microbial cell-free extracts improve the microbiological, biochemical and sensory features of ewes' milk cheese. *Food Microbiology*, 66, 129-140.
- Calzada, J., del Olmo, A., Picon, A., Gaya, P. and Nuñez, M., 2014. Effect of High-Pressure Processing on the Microbiology, Proteolysis, Biogenic Amines and Flavour of Cheese Made from Unpasteurized Milk. *Food and Bioprocess Technology*, 8 (2), 319-332.
- Carbonell, M., Nunez, M. and Fernandez-Garcia, E., 2002. Evolution of the volatile components of ewe raw milk La Serena cheese during ripening. Correlation with flavour characteristics. *Lait* 82 (6), 683-698.
- Castada, H.Z., Wick, C., Taylor, K. and Harper, W.J., 2014. Analysis of Selected Volatile Organic Compounds in Split and Nonsplit Swiss Cheese Samples Using Selected-Ion Flow Tube Mass Spectrometry (SIFT-MS). *Journal of Food Science*, 79 (4), 489-498.
- Cavallo, N., De Angelis, M., Calasso, M., Quinto, M., Mentana, A., Minervini, F. and Gobbetti, M., 2017. Microbial cell-free extracts affect the biochemical characteristics and sensorial quality of sourdough bread. *Food Chemistry*, 237, 159-168.
- Cavanagh, D., Kilcawley, K.N., O'Sullivan, M.G., Fitzgerald, G.F. and McAuliffe, O., 2014. Assessment of wild non-dairy lactococcal strains for flavour diversification in a mini-Gouda type cheese model. *Food Research International*, 62, 432-440.

- Celik, O.F., Kurt, S., Tufenk, B. and Tarakci, Z., 2018. Efficacy of starter culture application using immersion technique on the characteristics of cooked-curd cheeses: Kashar cheese sample. *Lwt-Food Science and Technology*, 96, 222-227.
- Cetinkaya, A. and Atasever, M., 2015. The effects of different salting and preservation techniques of kasar cheese on cheese quality. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 39 (5), 621-628.
- Charoux, C.M.G., Ojha, K.S., O'Donnell, C.P., Cardoni, A. and Tiwari, B.K., 2017. Applications of airborne ultrasonic technology in the food industry. *Journal of Food Engineering* 208, 28-36.
- Chemat, F., Zille, H. and Khan, M.K., 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4), 813-835.
- Cholet, O., Henaut, A., Hebert, A. and Bonnarne, P., 2008. Transcriptional analysis of L-methionine catabolism in the cheese-ripening yeast *Yarrowia lipolytica* in relation to volatile sulfur compound biosynthesis. *Applied and Environmental Microbiology* 74 (11), 3356-3367.
- Ciocia, F., McSweeney, P.L.H., Piraino, P. and Parente, E., 2013. Use of dairy and non-dairy *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paraplantarum* and *Lactobacillus pentosus* strains as adjuncts in cheddar cheese. *Dairy Science and Technology*, 93 (6), 623-640.
- Corsetti, A., Gobbetti, M., Smacchi, E., De Angelis, M. and Rossi, J., 1998. Accelerated ripening of Pecorino Umbro cheese. *Journal of Dairy Research*, 65 (4), 631-642.
- Crow, V., Curry, B. and Hayes, M., 2001. The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. *International Dairy Journal*, 11 (4), 275-283.
- Czaran, T., Rattray, F.P., Moller, C.O.D. and Christensen, B.B., 2018. Modelling the influence of metabolite diffusion on non-starter lactic acid bacteria growth in ripening Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 80, 35-45.
- Çağlar, A. ve Çakmakçı, S., 1998. Kaşar peynirinin hızlı olgunlaştırılmasında proteaz ve lipaz enzimlerinin farklı metotlarla kullanımı I: Peynirlerin fiziksel ve kimyasal özellikleri. *Gıda*, 23 (4), 291-301.
- Çakmakçı, S., 2011. Türkiye Peynirleri. *Peynir Biliminin Temelleri*. Ed: Özer, B., Hayaloğlu, A.A. Sidas Yayıncılık, İzmir, 585-608.
- Çetinkaya A., 2012. Kaşar Peynirinde Farklı Tuzlama Ve Muhafaza Yöntemlerinin Peynirin Kalitesi Üzerine Etkisi. *Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum*.
- De Angelis, M., Di Cagno, R., Huet, C., Crecchio, C., Fox, P.F. and Gobbetti, M., 2004. Heat shock response in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (3), 1336-1346.
- De Pasquale, I., Di Cagno, R., Buchin, S., De Angelis, M. and Gobbetti, M., 2014. Microbial ecology dynamics reveal a succession in the core microbiota involved in the ripening of pasta filata Caciocavallo Pugliese cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 80 (19), 6243-6255.
- Demers-Mathieu, V., St-Gelais, D., Audy, J., Laurin, E. and Fliss, I., 2016. Effect of the low-fat Cheddar cheese manufacturing process on the viability of

- Bifidobacterium animalis subsp lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei/casei* and *Lactobacillus plantarum* isolates. Journal of Functional Foods, 24, 327-337.
- Demirci, M., 1990. Peynirin beslenmedeki yeri ve önemi. Gıda, 15 (5), 285-289.
- Di Cagno, R., Banks, J., Sheehan, L., Fox, P.F., Brechany, E.Y., Corsetti, A. and Gobbetti, M., 2003. Comparison of the microbiological, compositional, biochemical, volatile profile and sensory characteristics of three Italian PDO ewes' milk cheeses. International Dairy Journal, 13 (12), 961-972.
- Di Cagno, R., Buchin, S., De Candia, S., De Angelis, M., Fox, P.F. and Gobbetti, M., 2007. Characterization of Italian Cheeses ripened under nonconventional conditions. Journal of Dairy Science, 90 (6), 2689-2704.
- Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M., Buchin, S., Calasso, M., Fox, P. F. and Gobbetti, M., 2011. Manufacture of Italian Caciotta-type cheeses with adjuncts and attenuated adjuncts of selected non-starter lactobacilli. International Dairy Journal, 21 (4), 254-260.
- Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M. and Gobbetti, M., 2012. Accelerated ripening of Caciocavallo Pugliese cheese with attenuated adjuncts of selected nonstarter lactobacilli. Journal Dairy Science, 95(9), 4784-4795.
- Di Lena, M., Quero, G.M., Santovito, E., Verran, J., De Angelis, M. and Fusco, V., 2015. A selective medium for isolation and accurate enumeration of *Lactobacillus casei*-group members in probiotic milks and dairy products. International Dairy Journal, 47, 27-36.
- Diliello, L.R., 1982. Methods In Food And Dairy Microbiology. Avi. Publishing Company Inc., USA, p 142.
- Di Pierro, P., Sorrentino, A., Mariniello, L., Giosafatto, C.V.L. and Porta, R., 2011. Chitosan/whey protein film as active coating to extend Ricotta cheese shelf-life. Lwt-Food Science and Technology, 44 (10), 2324-2327.
- Domingos-Lopes, M.F.P., Stanton, C., Ross, P.R., Dapkevicius, M.L.E. and Silva, C.C.G., 2017. Genetic diversity, safety and technological characterization of lactic acid bacteria isolated from artisanal Pico cheese. Food Microbiology, 63, 178-190.
- Erkaya, T., 2014. Probiyotik Kültürlerle Üretilen Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma Süresince Bazı Kalite Özellikleri Oluşan Peptitlerin Biyoaktivitesinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Erzurum.
- Eroglu, A., Toker, O.S. and Dogan, M., 2016. Changes in the texture, physicochemical properties and volatile compound profiles of fresh Kashar cheese (< 90 days) during ripening. International Journal of Dairy Technology, 69 (2), 243-253.
- Evert-Arriagada, K., Hernandez-Herrero, M.M., Gallardo-Chacon, J.J., Juan, B. and Trujillo, A.J. 2013. Effect of high pressure processing on volatile compound profile of a starter-free fresh cheese. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 19, 73-78.
- Exterkate, F.A., 2006. Controlled permeabilization of *Lactococcus lactis* cells as a means to study and influence cheese ripening processes. International Dairy Journal, 16 (7), 788-796.
- Ferreira, I., Pinho, O. and Sa Mpaio, P., 2009. Volatile fraction of DOP "Castelo Branco" cheese: Influence of breed. Food Chemistry, 112 (4), 1053-1059.

- Fırat, N., 2006. Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Fox P.F., Law J., McSweeney, P.L.H. and Wallace, J., 1993. Biochemistry of Cheese Ripening. In: P.F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, Physics And Microbiology*. London, Chapman & Hall. 389-438.
- Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H., 1996. Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*, 12 (4), 457–509.
- Fox, P.F., Connor T.P., McSweeney P.L.H., Guinee T.P. and Brien N.M. 1996. Cheese: Physical, chemical, biochemical and nutritional aspects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 39, 163–328.
- Fox, P.F. and Wallace, J.M. 1997. Formation of Flavour Compounds In Cheese, *Advances in Applied Microbiology*, 45, 17-85.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M. and Guinee, T.P., 2004. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Elsevier Applied Science, 1, 3, 617.
- Franciosi, E., Settanni, L., Carlin, S., Cavazza, A. and Poznanski, E., 2008. A factory-scale application of secondary adjunct cultures selected from lactic acid bacteria during Puzzone di Moena cheese ripening. *Journal Dairy Science*, 91 (8), 2981-2991.
- Fuchsmann, P., Stern, M.T., Brugger, Y.A. and Breme, K., 2015. Olfactometry Profiles and Quantitation of Volatile Sulfur Compounds of Swiss Tilsit Cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (34), 7511-7521.
- Gallegos, J., Garrido-Delgado, R., Arce, L. and Medina, L.M., 2015. Volatile Metabolites of Goat Cheeses Determined by Ion Mobility Spectrometry. Potential Applications in Quality Control. *Food Analytical Methods*, 8 (7), 1699-1709.
- Garbowska, M., Pluta, A. and Berthold-Pluta, A., 2016. Changes during ripening of reduced-fat Dutch-type cheeses produced with low temperature and long time (LTLT) heat-treated adjunct starter culture. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 287-294.
- Garde, S., Gaya, P., Fernández-García, E., Medina, M. and Nuñez, M., 2003. Proteolysis, volatile compounds, and sensory evaluation in hispanic cheese manufactured with the addition of a thermophilic adjunct culture, nisin, and calcium alginate-nisin microparticles. *Journal of Dairy Science*, 86 (10), 3038-3047.
- Geciova, J., Bury, D. and Jelen, P., 2002. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry - a review. *International Dairy Journal*, 12 (6), 541-553.
- Gemici, R. and Öner, Z., 2017. Physical Properties of Half-Fat Kashar Cheese Manufactured with / without Transglutaminase. *The Journal of Graduate School of Natural & Applied Sciences of Mehmet Akif Ersoy University*, 8 (2), 166-171.
- Giannoglou, M., Karra, Z., Platakou, E., Katsaros, G., Moatsou, G. and Taoukis, P., 2016. Effect of high pressure treatment applied on starter culture or on semi-ripened cheese in the quality and ripening of cheese in brine. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 38, 312-320.

- Gobbetti, M. and Minervini, F., 2014. Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food Microbiology (Second Edition), Lactobacillus, Lactobacillus casei, 432- 438.
- Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Mancini, L. and Fox, P.F., 2015. Pros and cons for using non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) as secondary/adjunct starters for cheese ripening. Trends in Food Science and Technology, 45 (2), 167-178.
- Gomez-Ruiz, J.A., Cabezas, L., Martinez-Castro, I., Gonzalez-Vinas, M.A. and Poveda, J.M., 2008. Influence of a defined-strain starter and *Lactobacillus plantarum* as adjunct culture on volatile compounds and sensory characteristics of Manchego cheese. European Food Research and Technology, 227 (1), 181-190.
- Gomez-Torres, N., Avila, M., Delgado, D. and Garde, S., 2016. Effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* coupled with glycerol on the volatile fraction, odour and aroma of semi-hard ewe milk cheese. International Journal of Food Microbiology, 232, 103-110.
- Guarrasi, V., Sannino, C., Moschetti, M., Bonanno, A., Di Grigoli, A. and Settanni, L., 2017. The individual contribution of starter and non-starter lactic acid bacteria to the volatile organic compound composition of Caciocavallo Palermitano cheese. International Journal of Food Microbiology, 259, 35-42.
- Guidone, A., Braghieri, A., Cioffi, S., Claps, S., Genovese, F., Morone, G. and Parente, E., 2015. Effect of adjuncts on microbiological and chemical properties of Scamorza cheese. Journal of Dairy Science, 98 (3), 1467-1478.
- Günşen, U. ve Büyükyörük, İ., 2003. Piyasadan temin edilen taze Kaşar peynirlerinin bakteriyolojik kaliteleri ile aflatoksin M<sub>1</sub> düzeylerinin belirlenmesi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 27, 821-825.
- Gursel, A., Gursoy, A., Enel, E., Deveci, O. and Karademir, E., 2003. The use of freeze- shocked lactic starters in low fat White pickled cheese. Milchwissenschaft, 58, (5/6), 279-282.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö., 2005. Laktobasiller ve probiyotik peynir üretiminde kullanım potansiyelleri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 11 (3), 361-371.
- Gürsoy, A. 2009. Effect of using attenuated lactic starter cultures on lipolysis and proteolysis in low fat Kaşar cheese. Ankara Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi, 15 (3), 285-292.
- Güven, M., Karaca, O.B., Kaçar, A., Hayaloğlu, A.A. ve Çürük, M., 2003. Kaşar peynirlerinin proteoliz düzeyleri üzerine farklı ambalaj materyali ve olgunlaşma süresinin etkileri. GAP III. Tarım Kongresi, Şanlıurfa.
- Güven, M. ve Görmez, P., 2004. Antimikrobiyal madde kullanımı ve paketlenme materyalinin kaşar peynirinin bazı özellikleri üzerine etkileri. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi, 5 (3), 11.
- Hannon, J.A., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M., Wallace, J.M., Morrissey, P.A. and Beresford, T.P., 2003. Use of autolytic starter systems to accelerate the ripening of Cheddar cheese. International Dairy Journal, 13 (4), 313-323.
- Hannon, J.A., Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Delahunty, C.M. and Beresford, T.P., 2007. Flavour precursor development in Cheddar cheese due to

- lactococcal starters and the presence and lysis of *Lactobacillus helveticus*. International Dairy Journal, 17 (4), 316-327.
- Harrigan, W.F., 1998. Laboratory Methods In Food Microbiology. San Diego: Academic Press.
- Hayaloglu, A.A. and Brechany, E.Y., 2007. Influence of milk pasteurization and scalding temperature on the volatile compounds of Malatya, a farmhouse Halloumi-type cheese. Lait, 87 (1), 39-57.
- Hayaloglu, A.A., Cakmakci, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C. and McSweeney, P.L.H., 2007. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags. Journal of Dairy Science, 90 (3), 1102-1121.
- Hayaloglu, A.A., 2009. Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. International Journal of Food Science and Technology, 44, 1388-1394.
- Hayaloglu, A.A., Topcu, A. and Koca, N. 2011. Peynir Analizleri. Peynir Biliminin Temelleri. Ed: Özer, B., Hayaloğlu, A.A. Sidas Yayıncılık, İzmir, 489-558.
- Hayaloglu, A.A., Tolu, C., Yasar, K. and Sahingil, D., 2013a. Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. Journal Dairy Science, 96, 2765–2780.
- Hayaloglu, A.A., Tolu, C. and Yasar, K., 2013b. Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. Small Ruminant Research 113, 231–238.
- Hoorde, K., Van Leuven, I., Dirinck, P., Heyndrickx, M., Coudijzer, K., Vandamme, P. and Huys, G., 2010. Selection, application and monitoring of *Lactobacillus paracasei* strains as adjunct cultures in the production of Gouda-type cheeses. International Journal Food Microbiology, 144 (2), 226-235.
- Hynes, E., Ogier, J.C. and Delacroix-Buchet, A., 2001. Proteolysis during ripening of miniature washed-curd cheeses manufactured with different strains of starter bacteria and a *Lactobacillus plantarum* adjunct culture. International Dairy Journal, 11 (8), 587-597.
- IDF (International Dairy Federation), 1982. Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard 4A, Brussels, Belgium: International. Dairy Federation.
- IDF (International Dairy Federation), 1993. Standard Method 20B: Milk. Determination of Nitrogen Content. IDF, Brussels, Belgium.
- Irigoyen, A., Ortigosa, M., Juansaras, I., Oneca, M. and Torre, P., 2007. Influence of an adjunct culture of *Lactobacillus* on the free amino acids and volatile compounds in a Roncal-type ewe's-milk cheese. Food Chemistry, 100 (1), 71-80.
- Jarrett, W.D., Anston, W. and Dulley, J.R., 1982. A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 37, 55-58.
- Jensen, M.P. and Ardö, Y., 2010. Variation in aminopeptidase and aminotransferase activities of six cheese related *Lactobacillus helveticus* strains. International Dairy Journal, 20 (3), 149-155.

- Jia, H.X., Su, M.Y. and Gong, G.Y., 2015. Influence of *Lactobacillus casei* LC2W on the proteolysis and aroma compounds of Cheddar cheese during ripening period. *Cyta-Journal of Food*, 13 (3), 464-471.
- Johnson, J.A.C., Etzel, M.R., Chen, C.M. and Johnson, M.E., 1995. Accelerated Ripening of Reduced-Fat Cheddar Cheese Using Four Attenuated *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 Adjuncts. *Journal of Dairy Science*, 78 (4), 769-776.
- Kaminarides, S., Nestoratos, K. and Massouras, T., 2013. Effect of added milk and cream on the physicochemical, rheological and volatile compounds of Greek whey cheeses. *Small Ruminant Research*, 113 (2-3), 446-453.
- Karali, F., Georgala, A., Massouras, T. and Kaminarides, S., 2013. Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti, a traditional Greek raw milk cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93 (8), 1845-1851.
- Kavitakea, D., Kandasamy, S., Devib, P.B. and Shetty, P.H., 2018. Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – A review. *Food Bioscience*, 21, 33-44.
- Keব্য, K.M.K., Salem, O.M., Hamed, A.I. and El-Sisi, A.S., 1997. Flavour enhancement of direct acidified Kareish cheese using attenuated lactic acid bacteria. *Food Research International*, 30 (3-4), 265-272.
- Kenny, O., FitzGerald, R. J., O’Cuinn, G., Beresford, T. and Jordan, K., 2006. Autolysis of selected *Lactobacillus helveticus* adjunct strains during Cheddar cheese ripening. *International Dairy Journal*, 16 (7), 797-804.
- Kirmaci, H.A., Hayaloglu, A.A., Özer, B., Akcelik, M. and Akkoc, N., 2011. Proteolytic properties of Turkish white-brined cheese (Beyaz peynir) made by using wild-type Lactococcal strains. *International Journal of Dairy Technology*, 64 (3), 394-401.
- Klein, N. and Lortal, S., 1999. Attenuated starters: An efficient means to influence cheese ripening. *International Dairy Journal*, 9, 751-762.
- Koburger, J.A. and Marth E.H., 1984. Yeast and moulds. *Compendium of methods for the microbiological examination of food*. Editor: Speck, M.L. Washington: American Public Health Association, 197-201.
- Kocak, C., Bitils, A., Gursel, A. and Avsar, Y., 1996. Effect of added fungal lipase on the ripening of Kasar cheese. *Milchwissenschaft*, 51, 13–16.
- Kuchroo, C.N. and Fox, P.F., 1982. Soluble nitrogen in cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331–335.
- Kumar, S., Jha Y.K. and Singh, P., 2013. Influence of Adjuncts as Debitting Aids on the Sensory and Biochemical Properties of Enzyme Modified Cheese-Base. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B-Biological Sciences*, 83 (3), 347-355.
- Kumar, S. Kanawjia, S.K. and Kumar, S., 2015. Incorporation of *Lactobacillus* adjuncts culture to improve the quality of Feta-type cheese made using buffalo milk. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52 (8), 5021-5029.
- Kurt, A., Çakmakçı, S. ve Çağlar A. 2007. Süt ve Mamülleri Muayene Analiz Metotları Rehberi. Erzurum: Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No: 257, 398 s.

- Kwak, H.S., Ganesan, P. and Hong, Y.H., 2011. Nutritional Benefits in Cheese In: Cheese: Types, Nutrition and Consumption. Editors: Richard D. Foster, 269-289.
- Lazzi, C., Povolo, M., Locci, F., Bernini, V., Neviani, E. and Gatti, M., 2016. Can the development and autolysis of lactic acid bacteria influence the cheese volatile fraction? The case of Grana Padano. *International Journal of Food Microbiology*, 233, 20-28.
- Levante, A., De Filippis, F., La Stora, A., Gatti, M., Neviani, E., Ercolini, D. and Lazzi, C., 2017. Metabolic gene-targeted monitoring of non-starter lactic acid bacteria during cheese ripening. *International Journal of Food Microbiology*, 257, 276-284.
- Liu, M., Bayjanov, J.R., Renckens, B., Nauta, A. and Siezen, R.J., 2010. The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *Bmc Genomics*, 11 (1) 36.
- Liu, Z.M., Gao, X.X., Zhou, L., Cui, W.J., Tian, Y.P. and Zhou, Z.M., 2017. An extracellular aminopeptidase encoded by the *ywaD* gene plays an important role in supplying nitrogen nutrition for the growth of *Bacillus subtilis* 168. *Can Journal Microbiol*, 63 (6), 516-524.
- Madkor, S.A., Tong, P.S. and El Soda, M., 2000a. Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening: 5. Effect of added freeze-shocked adjunct lactobacilli on proteolysis and sensory quality of reduced fat Cheddar cheese. *Milchwissenschaft*, 55 (7), 382-386.
- Madkor, S.A., Tong, P.S. and El Soda, M., 2000b. Ripening of cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, 83 (8), 1684-1691.
- Majcher, M.A., Goderska, K., Pikul, J. and Jelen, H.H., 2011. Changes in volatile, sensory and microbial profiles during preparation of smoked ewe cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(8), 1416-1423.
- Mamvura, T.A., Iyuke, S.E. and Paterson, A.E., 2018. Energy changes during use of high-power ultrasound on food grade surfaces. *South African Journal of Chemical Engineering*, 25, 62-73.
- Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., Kandarakis, I.G. and Anifantakis, E.M., 2003. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *International Journal Food Microbiology*, 82, 153-161.
- Massouras, T., Pappa, E.C. and Mallatou, H., 2006. Headspace analysis of volatile flavour compounds of teleme cheese made from sheep and goat milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59 (4), 250-256.
- McCarthy, C.M., Wilkinson, M.G. and Guinee, T.P., 2017. Effect of coagulant type and level on the properties of half-salt, half-fat Cheddar cheese made with or without adjunct starter: Improving texture and functionality. *International Dairy Journal*, 75, 30-40.
- Mei, J., Guo, Q. Z., Wu, Y., Li, Y.F. and Yu, H.N., 2015. Study of proteolysis, lipolysis, and volatile compounds of a Camembert-type cheese manufactured using a freeze-dried Tibetan kefir co-culture during ripening. *Food Science and Biotechnology*, 24 (2), 393-402.

- Merheb-Dini, C., Chiuchi Garcia, G.A., Barretto Penna, A.L., Gomes, E. and Da Silva, R., 2012. Use of a new milk-clotting protease from *Thermomucor indicacae-seudaticae* N31 as coagulant and changes during ripening of Prato cheese. *Food Chemistry*, 130 (4), 859-865.
- Michaelidou, A., Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E. and Alichanidis, E., 2003. Effect of commercial adjunct cultures on proteolysis in low-fat Kefalograviera-type cheese. *International Dairy Journal*, 13 (9), 743-753.
- Mikelsone, A. and Ciprovica, I., 2011. The study of attenuated starters in holandes cheese ripening. *Foodbalt*, 148-152.
- Milesi, M.M., McSweeney, P.L.H. and Hynes, E., 2008. Impact of chymosin- and plasmin-mediated primary proteolysis on the growth and biochemical activities of *Lactobacilli* in miniature Cheddar-type cheeses. *Journal of Dairy Science*, 91 (9), 3277-3290.
- Milesi, M.M., Bergamini, C.V. and Hynes, E., 2011. Production of peptides and free amino acids in a sterile extract describes peptidolysis in hard-cooked cheeses. *Food Research International*, 44 (3), 765-773.
- Moio, L. and Addeo, F., 1998. Grana Padano cheese aroma. *Journal of Dairy Research*, 65 (2), 317-333.
- Morea, M., Matarante, A., Di Cagno, R., Baruzzi, F. and Minervini, F., 2007. Contribution of autochthonous non-starter lactobacilli to proteolysis in Caciocavallo Pugliese cheese. *International Dairy Journal*, 17 (5), 525-534.
- Muir D.D., Banks, J.M. and Hunter, E.A., 1996. Sensory properties of cheddar cheese: Effect of starter type and adjunct. *International Dairy Journal*, 6 (4), 407-423.
- Navidghasemizad, S., Takala, T.M., Alatossava, T. and Saris, P.E., 2013. Proline iminopeptidase *PepI* overexpressing *Lactobacillus casei* as an adjunct starter in Edam cheese. *Bioengineered*, 4 (6) 408-412.
- Nieto-Arribas, P., Poveda, J.M., Seseña, S., Palop, L. and Cabezas, L., 2009. Technological characterization of *Lactobacillus* isolates from traditional Manchego cheese for potential use as adjunct starter cultures. *Food Control*, 20 (12), 1092-1098.
- O'Brien, E., Mills, S., Dobson, A., Serrano, L.M., Hannon, J., Ryan, S.P., Kilcawley, K.N., Brandsma, J.B., Meijer, W.C., Hill, C. and Ross, R.P., 2017. Contribution of the novel sulfur-producing adjunct *Lactobacillus nodensis* to flavor development in Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 100 (6) 4322-4334.
- Ocak, E., Javidipour, I. and Tuncturk, Y., 2015. Volatile compounds of Van Herby cheeses produced with raw and pasteurized milks from different species. *Journal of Food Science and Technology-Mysore*, 52(7), 4324-4332.
- Oluk, A.C., Guven, M. and Hayaloglu, A.A., 2014. Influence of exopolysaccharide-producing cultures on the volatile profile and sensory quality of low-fat Tulum cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 67 (2), 265-276.
- Ortigosa, M., Arizcun, C., Torre, P. and Izco, J.M., 2005. Use of wild *Lactobacillus* strains in an adjunct culture for a Roncal-type cheese. *Journal of Dairy Research*, 72 (2), 168-178.
- Oumer, A., Gaya, P., Fernandez-Garcia, E., Mariaca, R., Garde, S., Medina, M. and Nunez, M., 2001. Proteolysis and formation of volatile compounds in cheese

- manufactured with a bacteriocin-producing adjunct culture. *Journal of Dairy Research*, 68 (1), 117-129.
- Özer, B., Uzun, Y.S. and Kırmacı, H.A., 2008. Effect of microencapsulation on viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 during Kasar cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 61 (3), 237-244.
- Özer, B. ve Hayaloğlu, A.A., 2011. Peynirde Olgunlaşmayı Hızlandırma Yöntemleri. *Peynir Biliminin Temelleri*. Editörler: Özer, B., Hayaloğlu, A.A. İzmir: Sidas Yayıncılık.
- Paniwnyk, L., 2017. Applications of ultrasound in processing of liquid foods: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 38, 794-806.
- Pavlinic, I., Mikulec, N., Kalit, S., Jakasa, I., Havranek, J., Tudor, M. and Antunac, N., 2010. Influence of starter culture on peptide profiles of Krk cheese. *Milchwissenschaft*, 65 (3), 262-266.
- Peralta, G.H., Bergamini, C.V., Audero, G., Pérez, R., Perotti M.C. and Hynes, E.R., 2017. Spray-dried adjunct cultures of autochthonous non-starter lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 255, 17-24.
- Piraino, P., Zotta, T., Ricciardi, A., McSweeney, P.L.H. and Parente, E., 2008. Acid production, proteolysis, autolytic and inhibitory properties of lactic acid bacteria isolated from pasta filata cheeses: A multivariate screening study. *International Dairy Journal*, 18 (1), 81-92.
- Piras, C., Cesare Marincola, F., Savorani, F., Engelsen, S.B., Cosentino, S., Viale, S. and Pisano, M.B., 2013. A NMR metabolomics study of the ripening process of the Fiore Sardo cheese produced with autochthonous adjunct cultures. *Food Chemistry*, 141(3), 2137-2147.
- Pogacic, T., Maillard, M.B., Leclerc, A., Herve, C., Chuat, V., Valence, F. and Thierry, A., 2016. *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(5), 2335-2346.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A. and Paschaloudis, N., 1999. Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *International Dairy Journal*, 9, 559-568.
- Poveda, J.M., Cabezas, L. and McSweeney, P.L.H., 2004. Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening. *Food Chemistry*, 84(2), 213-218.
- Poveda, J.M., Nieto-Arribas, P., Sesena, S., Chicon, R., Castro, L., Palop, L. and Cabezas, L., 2014. Volatile composition and improvement of the aroma of industrial Manchego cheese by using *Lactobacillus paracasei subsp paracasei* as adjunct and other autochthonous strains as starters. *European Food Research and Technology*, 238(3), 485-494.
- Poveda, J.M., Chicón, R. and Cabezas, L., 2015. Biogenic amine content and proteolysis in Manchego cheese manufactured with *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* as adjunct and other autochthonous strains as starters. *International Dairy Journal*, 47, 94-101.
- Randazzo, C.L., Pitino, I., De Luca, S., Scifo, G.O. and Caggia, C., 2008. Effect of wild strains used as starter cultures and adjunct cultures on the volatile compounds of the Pecorino Siciliano cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 122(3), 269-278.

- Reale, A., Ianniello, R. G., Ciocia, F., Di Renzo, T., Boscaino, F., Ricciardi, A. and McSweeney, P.L.H., 2016. Effect of respirative and catalase-positive *Lactobacillus casei* adjuncts on the production and quality of Cheddar-type cheese. *International Dairy Journal*, 63, 78-87.
- Ruyssen, T., Janssens, M., Van Gasse, B., Van Laere, D., Van der Eecken, N., De Meerleer, M. and De Vuyst, L., 2013. Characterisation of Gouda cheeses based on sensory, analytical and high-field H-1 nuclear magnetic resonance spectroscopy determinations: Effect of adjunct cultures and brine composition on sodium-reduced Gouda cheese. *International Dairy Journal*, 33(2), 142-152.
- Sadat-Mekmene, L., Richoux, R., Aubert-Frogerais, L., Madec, M.N., Corre, C., Piot, M., Jardin, J., Le Feunteun, S., Lortal, S. and Gagnaire, V., 2013. *Lactobacillus helveticus* as a tool to change proteolysis and functionality in Swiss-type cheeses. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1455-1470.
- Şahingil, D., 2012. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Proteoliz, ACE-İnhibisyon Aktivitesi ve Aroma Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Tekirdağ.
- Sahingil, D., Hayaloglu, A. A., Kirmaci, H. A., Ozer, B. and Simsek, O., 2014a. Changes of proteolysis and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activity in white-brined cheese as affected by adjunct culture and ripening temperature. *Journal of Dairy Research*, 81, 394-402.
- Sahingil, D., Hayaloglu, A. A., Ozer, B. and Simsek, O., 2014b. Changes in volatiles, proteolysis, textural and sensory properties of white-brined cheese: Effects of ripening temperature and adjunct culture. *Dairy Science and Technology*, 94, 603-623.
- Sarioğlu, T., 2005. Yenilebilir Filmlerin Kaşar Peynirinin Kaplanması Kullanılma Olanakları ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Sato, R.T., Vieira, A.T.B., Camisa, J., Vianna, P.C.B. and Rensis, C.M.V.B., 2012. Assessment of proteolysis and sensory characteristics of prato cheese with adjunct culture. *Semina: Ciências Agrárias*, 33, 3143-3152.
- Sayın, L. ve Tamer, C.E., 2014. Yüksek hidrostatik basınç ve ultrasonun gıda koruma yöntemi olarak kullanımı. *Uludağ üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 28 (1), 83-94.
- Şengül, M., Erkaya, T. ve Fırat, N., 2010. Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik Özelliklerinin Karşılaştırılması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 41(2), 149-156.
- Sert, D., 2004. Pastörize ve Çiğ Sütten İşlenen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Sırasında Oluşan Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- Sert, D., Ayar, A. and Akin, N. 2007. The effects of starter culture on chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Turkish Kasar cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 60(4), 245-252.
- Settanni, L. and Moschetti, G., 2010. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiology*, 27, 691-697.

- Sgarbi, E., Lazzi, C., Tabanelli, G., Gatti, M., Neviani, E. and Gardini, F., 2013. Nonstarter lactic acid bacteria volatiles produced using cheese components. *Journal Dairy Science*, 96, 4223-4234.
- Sihufe, G.A., Zorrilla, S.E., Rubiolo, A.C., 2003. Casein degradation of Fynbo cheese salted with NaCl/KCl brine and ripened at various temperatures. *Journal of Food Science*, 68 (1), 117-123.
- Slattery, L., O'Callaghan, J., Fitzgerald, G.F., Beresford, T. and Ross, R.P., 2010. Invited review: *Lactobacillus helveticus*: A thermophilic dairy starter related to gut bacteria. *Journal of Dairy Science*, 93 (10), 4435-4454.
- Stelios, K., Paraskevi, S., Theofilos, M. and Aikaterini, G., 2009. Study of organic acids, volatile fraction and caseins of a new Halloumi-type cheese during ripening in whey brine. *International Journal Food Science Technology*, 44 (2), 297-304.
- Stefanovic, E., Kilcawley, K.N., Rocas, C., Rea, M.C., O'Sullivan, M., Sheehan, J.J. and McAuliffe, O., 2018. Evaluation of the potential of *Lactobacillus paracasei* adjuncts for flavor compounds development and diversification in short-aged Cheddar cheese. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1-12.
- Sulejmani, E. and Hayaloglu, A.A., 2016. Influence of curd heating on proteolysis and volatiles of Kashkaval cheese. *Food Chemistry*, 211, 160-170.
- Tarakci, Z. and Kucukoner, E., 2006. Changes on physicochemical, lipolysis and proteolysis of vacuum packed Turkish Kashar cheese during ripening. *Journal of Central European Agriculture*, 7 (3), 459-464.
- Temizkan, R., Yasar, K. and Hayaloglu, A.A., 2014. Changes during ripening in chemical composition, proteolysis, volatile composition and texture in Kashar cheese made using raw bovine, ovine or caprine milk. *International Journal of Food Science and Technology*, 49 (12), 2643-2649.
- Thage, B.V., Broe, M.L., Petersen, M.H., Petersen, M.A., Bennedsen, M., Ardö, Y., 2005. Aroma development in semi-hard reduced-fat cheese inoculated with *Lactobacillus paracasei* strains with different aminotransferase profiles. *International Dairy Journal* 15 (6-9), 795-805.
- Topçu, A., 2004. Kaşar ve Beyaz Peynirde Acılaşmaya Yol Açan Peptidlerin Saptanması ve Acılaşmada Depolama Koşulları ile Starter Kültürlerinin Etkisinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Ankara.
- Tuncturk, Y. and Coskun, H., 2007. The effect of homogenized lactic cultures on the development of proteolysis in Kashar cheese. *Food Science and Technology Research*, 13 (4), 356-361.
- Tunçtürk, Y., Ocak, E. ve Zorba, Ö., 2010. Farklı homojenizasyon basıncı derecelerinin Kaşar peynirinin kimyasal, biyokimyasal, mikrobiyolojik ve duysal özelliklerine etkisi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilgileri Dergisi*, 20 (2), 88-89.
- Tungjaroenchai, W., Drake, M.A. and White, C.H., 2001. Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheeses. *Journal of Dairy Science*, 84 (10), 2117-2124.
- Tungjaroenchai, W., White, C.H., Holmes, W.E. and Drake, M.A., 2004. Influence of adjunct cultures on volatile free fatty acids in reduced-fat Edam cheeses. *Journal of Dairy Science*, 87 (10), 3224-3234.

- Turhan, İ., 2012. Kaşar Peyniri Üretimi İçin Starter Kültür İzolasyonu Ve İzolatların FTIR Spektroskopisi İle Tanısının Yapılması. Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Isparta.
- Ulusoy, K. ve Karakaya, M. 2011. Gıda endüstrisinde ultrasonik ses dalgalarının kullanımı. Gıda Dergisi, 36 (2), 113-120.
- Upadhyay, V.K., McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A.A. and Fox, P.F. 2004. Proteolysis In Cheese During Ripening. Cheese: Chemistry, Physics And Microbiology, London: Elsevier, 1(3), 391-433.
- Upadhyay, V.K., Huppertz, T., Kelly, A.L. and McSweeney, P.L.H., 2007. Use of high pressure treatment to attenuate starter bacteria for use as adjuncts for Cheddar cheese manufacture. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 8 (4), 485-492.
- Ustun-Aytekin, O., Arisoy, S., Aytekin, A.O. and Yildiz, E., 2016. Statistical optimization of cell disruption techniques for releasing intracellular X-prolyl dipeptidyl aminopeptidase from *Lactococcus lactis* spp. *lactis*. Ultrason Sonochemistry, 29, 163-71.
- Uzun, Y.S., 2006. Probiyotik Karakterli *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12'nin Kaşar Peynirinde Haşlama ve Kuru Tuzlama İşlemlerine Karşı Dirençlerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Ürkek, B., 2008. Homojenizasyon ve Ambalajlama İşleminin Kaşar Peynirinin Bazı Kimyasal, Biyokimyasal, Elektroforetik, Duyusal ve Mikrobiyolojik Özelliklerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncüyıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Van.
- Var, I., Erginkaya, Z., Güven, M. and Kabak, B., 2006. Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period. Food Control, 17 (2), 132-136.
- Wilkinson, M.G. and Kilcawley, K.N., 2005. Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. International Dairy Journal, 15 (6-9), 817-830.
- Yarlagadda, A.B., Wilkinson, M.G., O'Sullivan, M.G. and Kilcawley, K. N., 2014. Utilisation of microfluidisation to enhance enzymatic and metabolic potential of lactococcal strains as adjuncts in Gouda type cheese. International Dairy Journal, 38 (2), 124-132.
- Yaşar, K., 2007. Farklı Pıhtılaştırıcı Enzim Kullanımının ve Olgunlaşma Süresinin Kaşar Peynirinin Özellikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Yetişemiyen, A. 1995. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1420, 229 s, Ankara.
- Yıldırım, M., Güleç, F., Bayram, M. and Yıldırım, Z., 2006. Properties of Kashar cheese coated with casein as a carrier of natamycin. Italian Journal Food Science, 18 (2), 127-138.
- Yilmaz, F. and Dagdemir, E., 2012. The effects of beeswax coating on quality of Kashar cheese during ripening. International Journal of Food Science and Technology, 47 (12), 2582-2589.

- Yüksel, F., 2013. Gıda teknolojisinde ultrases uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi Cilt: 8 (2), 29-38.
- Yuvasen, A., Macit, E. and Dertli, E., 2018. Microbial species playing roles for the production of traditional Kasar cheese during pre-maturation period. LWT-Food Science and Technology, 91, 406-413.



## ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Akçaabat/Trabzon’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Akçaabat/Trabzon’da tamamladı. 2003 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2007 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda yüksek lisans öğrenimine başladı. İngilizce hazırlık, yüksek lisans ders ve tez aşamasından sonra 2011 yılında yüksek lisans öğrenimini tamamladı. Aynı yıl doktora öğrenimine başladı. 2012 yılından beri Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.