

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**PROBİYOTİK KARAKTERLİ *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12'nin KAŞAR PEYNİRİNDE HAŞLAMA VE KURU TUZLAMA İŞLEMLERİNE KARŞI DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**Yakup Salih UZUN**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2006**

Doç. Dr. Barbaros ÖZER danışmanlığında, Yakup Salih UZUN'un hazırladığı "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" konulu bu çalışma 17/01/2006 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Barbaros ÖZER

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin TÜRKOĞLU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ahmet H. DİNÇOĞLU

**Bu Tezin Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim BOLAT**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No: 604**

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

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	v
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1. Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi.....	6
2.2. Probiyotik Faydanın Temeli ve Etki Mekanizması.....	7
2.3. Probiyotik Bakteriler.....	10
2.3.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i> .....	11
2.3.2. <i>Bifidobacterium bifidum</i> .....	11
2.4. Probiyotik Peynir.....	12
2.5. Probiyotik Bakterilerin Süt Ürünlerine Canlı Kalma Düzeyleri.....	13
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	15
3.1. Materyal.....	15
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Kaşar peyniri üretimi.....	16
3.2.2. Mikrokapsül oluşturma.....	19
3.2.2.1. Ekstrüzyon tekniği.....	19
3.2.2.2. Emülsiyon tekniği.....	21
3.2.3. Süt ve peynire uygulanan analizler.....	22
3.2.3.1. Süte uygulanan analizler.....	22
3.2.3.2. Peynire uygulanan analizler.....	22
3.2.3.2.1. Kimyasal analizler.....	22
3.2.3.2.2. Mikrobiyolojik analizler.....	24
3.2.3.2.2.1. Toplam mezofilik bakteri sayımı.....	24
3.2.3.2.2.2. Probiyotik bakterilerin sayımı.....	24
3.2.3.2.3. Elektroforetik analizler.....	25
3.2.3.2.4. Duyusal analizler.....	26
3.2.3.2.5. İstatistik analizler.....	26
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	28
4.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Nitelikleri.....	28
4.2. Peynirlerde Depolama Süresince Oluşan Değişimler.....	29
4.2.1. Kimyasal değişimler.....	29
4.2.1.1. Kurumadde.....	29
4.2.1.2. Yağ ve kurumaddede yağ.....	30
4.2.1.3. Tuz ve kurumaddede tuz.....	33
4.2.1.4. pH.....	35
4.2.1.5. Titrasyon asitliği.....	36
4.2.1.6. Toplam azot.....	38
4.2.1.7. Suda çözünen azot.....	39
4.2.1.8. Protein olmayan azot.....	41
4.2.1.9. Proteoz-pepton azotu.....	42
4.2.1.10. Olgunlaşma indeksi.....	43
4.2.2. Mikrobiyolojik özellikler.....	45
4.2.2.1. Toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı.....	45
4.2.2.2. <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5 ve <i>Bifidobacterium bifidum</i> BB-12 sayıları.....	46
4.2.3. Elektroforetik özellikler.....	48
4.2.4. Duyusal özellikler.....	51
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	55

KAYNAKLAR.....	58
ÖZGEÇMİŞ.....	64
EKLER.....	65
ÖZET.....	69
SUMMARY.....	71



ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**PROBİYOTİK KARAKTERLİ *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12'nin KAŞAR PEYNİRİNDE HAŞLAMA VE KURU TUZLAMA İŞLEMLERİNE KARŞI DİRENÇLERİNİN BELİRLENMESİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Yakup Salih UZUN

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Barbaros ÖZER  
Yıl: 2006, Sayfa:72

Bu çalışma; iki farklı teknik ile (ekstrüzyon ve emülsiyon) kapsül formunda koruma altına alınan *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*L. acidophilus* LA-5) ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (*B. bifidum* BB-12) probiyotik suşlarının kaşar peynirinde canlı kalma düzeylerinin belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilmiştir. İki tekerrürlü olarak yürütülen bu çalışmada depolamanın 1., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde peynir örneklerinin; kurumadde, yağ, kurumaddede yağ, tuz, kurumaddede tuz, pH, toplam asitlik, toplam azot, suda çözünen azot, protein olmayan azot, proteoz-pepton azotu, olgunlaşma indeksi, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, *Lactobacillus acidophilus* sayısı, *Bifidobacterium bifidum* sayısı, elektroforetik özellikleri ve duysal özelliklerinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, peynir örneklerinin kurumadde, yağ, kurumaddede yağ, tuz ve kurumaddede tuz içerikleri ve azot fraksiyonları mikrokapsülasyon tekniklerinden etkilenmemiştir. Elektroforetik özellikler incelendiğinde depolama süresi boyunca kaşar peyniri örneklerinde proteolizin çok yavaş seyrettiği saptanmıştır. Peynir örneklerine uygulanan haşlama işlemi sonucunda tüm örneklerin bakteri sayılarında azalmalar olmasına karşın, bu azalma mikrokapsüllemiş probiyotik bakteri içeren örneklerde daha sınırlı düzeyde gerçekleşmiştir ve 90 gün sonunda ulaşılan probiyotik bakteri sayısının terapatik etki ( $10^6$  kob/g) için yeterli olduğu saptanmıştır. Mikrokapsülleme yönteminin kaşar peynirinin duysal özellikleri üzerinde olumsuz etkide bulunmadığı ve söz konusu ürünlerin tüketilebilir oldukları belirlenmiştir.

**ANAHTAR KELİMELER :** Kaşar peyniri, Probiyotik, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium bifidum* BB-12, Mikrokapsülasyon.

## ABSTRACT

MSc. Thesis

### A STUDY ON VIABILITY OF *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 AGAINST SCALDING and DRY SALTING DURING KAŞAR CHEESEMAKING.

Yakup Salih UZUN

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Barbaros ÖZER  
Year: 2006, Page: 72

In the present study, the viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*L. acidophilus* LA-5) and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (*B. bifidum* BB12) which were microencapsulated in two different techniques namely extrusion (sample B) and emulsion (sample C) techniques, in kaşar cheese was monitored. The study was repeated twice and the kaşar cheese samples were analyzed for total solids, fat, fat-in-dry matter, salt, salt-in-dry matter, total nitrogen, nitrogenous fractions (WSN, NPN and PPN), ripening index and total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), *L. acidophilus* LA-5 and *B. bifidum* BB-12 counts throughout 90 days storage. Results showed that the levels of total solids, fat-in-dry matter, salt-in-dry matter, total nitrogen and nitrogenous fractions were not affected by microencapsulation techniques. Reau-gel electrophoresis studies revealed that proteolysis developed slowly in all the samples examined. Scalding caused a remarkable decrease in the counts of probiotic bacteria cheeses in question, with more pronounced in the sample A compared with the samples B and C. Microencapsulation technique did not have any adverse effect on the sensory properties of the cheeses and all the samples were found to be acceptable by the panelists.

**KEY WORDS :** Kaşar cheese, Probiotic, *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *Bifidobacterium bifidum* BB-12, Microencapsulation

## TEŞEKKÜR

Hazırlanan bu çalıőmanın planlanması ve yürütülmesinde bana her türlü konuda destek olan, düşünce ve önerilerinden faydalandığım değerli danışmanım Doç. Dr. Barbaros ÖZER'e, ve bu çalıőmanın hazırlanmasında daima yanımda olup desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Arő.Gör. Hüseyin Avni KIRMACI, Arő.Gör. Zuhâl KIRMACI, Arő.Gör. Mehmet KÖTEN ve fikirlerinden faydalandığım tüm bölüm hocalarıma teşekkürü bir borç bilirim.

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 3.1. Kontrol (A) örneği için peynir üretim akış şeması.....	17
Şekil 3.2. Örnek B (ekstrüsiyon) ve Örnek C (Emülsiyon) için peynir üretim akış şeması.....	18
Şekil 3.3. Ekstrüsiyon ve Emülsiyon teknikleri ile mikrokapsül oluşum şeması.....	20
Şekil 4.1. Peynir örneklerinin kurumadde içeriklerinde depolama süresince meydana gelen Değişimler.....	29
Şekil 4.2. Peynir örneklerinin yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen Değişimler.....	31
Şekil 4.3. Peynir örneklerinin kurumadde yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	32
Şekil 4.4. Peynir örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	33
Şekil 4.5. Peynir örneklerinin kurumadde tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	34
Şekil 4.6. Peynir örneklerinin pH içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	36
Şekil 4.7. Peynir örneklerinin titrasyon asitliği içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	37
Şekil 4.8. Peynir örneklerinin toplam azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	38
Şekil 4.9. Peynir örneklerinin suda çözünen azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	40
Şekil 4.10. Peynir örneklerinin NPN içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	41
Şekil 4.11. Peynir örneklerinin PPN içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	43
Şekil 4.12. Peynir örneklerinin Oİ değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler.....	44
Şekil 4.13. Peynir örneklerinin depolama süresince TAMB sayısında meydana gelen değişimler.....	45
Şekil 4.14. Peynir örneklerinin depolama süresince <i>B. bifidum</i> BB-12 sayısında meydana gelen değişimler.....	47
Şekil 4.15. Peynir örneklerinin depolama süresince <i>L. acidophilus</i> LA-5 sayısında meydana gelen değişimler.....	48
Şekil 4.16. Depolama süresince deneme peynirlerinde meydana gelen elektroforetik değişimler.....	50
Şekil 4.17. Peynirlerin görünüşünde depolama süresince belirlenen değişimler.....	51
Şekil 4.18. Peynirlerin tat/kokusunda depolama süresince belirlenen değişimler.....	52
Şekil 4.19. Peynirlerin yapı-tekstüründe depolama süresince belirlenen değişimler.....	53
Şekil 4.20. Peynirlerin genel kabuledilebilirlik puanlarında depolama süresince belirlenen değişimler.....	53

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 3.1. Kaşar peynirine ait duyusal değerlendirme formu.....	27
Çizelge 4.1. Peynir üretiminde kullanılan çiğ sütlerin bazı kimyasal özellikleri.....	28

## 1. GİRİŞ

Sütün beslenme değerinden en üst düzeyde yararlanılabilmesi için olabildiğince düşük seviyede ısı işlem görmesi gerekmektedir. Bu amaçla, pastörize içme sütü, diğer süt ürünlerine oranla daha avantajlı durumdadır. Bununla birlikte, sütün içme sütü olarak tüketimi her zaman mümkün olmamaktadır. Sütün büyük hacim kaplaması, naklinin zor olması ve kısa sürede bozulması gibi sebeplerden dolayı daha dayanıklı ürünlere işlenmesi gerekmektedir ve bu ürünler arasında en önemli yeri peynir tutmaktadır.

Peynir, peynir mayası veya zararsız organik asitlerin etkisi ile pıhtılaştırılan sütün, değişik şekillerde işlenmesi ve süzülmesi, tuzlanması, isteğe göre tüketilebilir nitelikte tat ve aroma maddeleri katılması, çeşitli süre ve derecelerde olgunlaştırılması sonucunda elde edilen, besin değeri yüksek bir süt ürünüdür (Yaşar, 2000).

Yüzyıllardır bütün toplumların beslenmesinde önemli bir yeri olan peynirin, dünyada bugün için birbirinden farklı 4000 çeşidinin bulunduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde en fazla üretimi yapılan çeşitler başta salamura beyaz peynir olmak üzere kaşar, tulum, Mihaliç ve Otlu peynirlerdir (Demirci, 1988).

Peynir çeşitlerimiz arasında önemli bir yeri olan kaşar peyniri, zengin bileşimi ve sevilen lezzeti ile Balkan ülkelerine özgü bir peynir çeşididir. Kaşar peyniri Avrupa ülkelerinde de değişik adlarla tanınmakta ve üretilmektedir. Örneğin, Romanya'da Katschkwaly, İtalya'da Cociocalla, Bulgaristan'da Kashkaval (Kaşkaval), Yunanistan'da Kasserı ve Yugoslavya'da Kachkavalj adlarıyla tanımlanmaktadır (Demirci ve Draman, 1990).

Ülkemizde üretilen kaşar peynirinin yapılış itibariyle Sırbistan, Romanya ve Bulgaristan'da üretilmekte olan Kaşkaval peynirine çok benzediği ancak haşlamayı takiben telemenin tabii tutulduğu işlemde farklılıklar olduğu bildirilmiştir (Eralp, 1974). Türk Standartları Enstitüsü (T.S.E.)'nin T.S. 3272 Kaşar Peyniri Standardı'nda, "*Kaşar peyniri, çiğ süt veya pastörize süt standardına uygun sütlerin imalat tekniğine göre işlenmesi sonucu elde edilen ve olgunlaşmasından sonra kendine has koku, renk, tat ve aroması olan sert yapılı bir peynirdir*" şeklinde tanımlanmıştır. Aynı standartta kaşar peynirinin imal tarihinden itibaren en az 90 gün olgunlaşma süresini tamamladıktan sonra satışa sunulması gerektiği belirtilmektedir. Gıda maddeleri tüzüğü'nde de peynirin belli bir olgunlaşma süresi geçirerek kendine özgü tat, koku, kıvama kavuşacağı bildirilmiştir (Kocabaş, 2001).

İnsanların ve sıcak kanlı hayvanların bağırsak sistemleri 400 farklı mikroorganizma türünün bir arada yaşadığı kompleks bir ekosistemdir. Bu ekosistemde bulunan mikroorganizmalar "doğal flora" olarak tanımlanmakta olup, temelde "yararlı" ve "zararlı" olarak iki gruba ayrılmaktadır. Sağlıklı bir konakçının normal florasında bu mikrobiyolojik gruplar dinamik bir denge halindedir. İntestinal ekosistemin fizyolojik dengesi hastalık, yaşlılık, stres, antibiyotik kullanımı, diyet alışkanlıklarının değiştirilmesi ve iklim koşullarında meydana gelen değişimler nedeniyle zararlı mikroorganizmalar lehine bozulabilmektedir. Bu durumda bozulan dengenin yeniden kurulabilmesi için yararlı mikroorganizmaların herhangi bir yolla vücuda alınması gerekmektedir (Çakır, 2003).

İntestinal sistemde bulunan yararlı mikroorganizmaların, gıdaların sindirimine yardımcı olmak, konakçıyı patojen mikroorganizmalardan korumak ve canlılığın savunma mekanizmasını desteklemek gibi işlevleri bulunmaktadır. Bu bağlamda, bağırsak florasını düzenleyerek konakçı sağlığı üzerinde terapatik etkileri olan mikroorganizmalar "probiyotik" olarak tanımlanmaktadır. Bu mikroorganizmaların en önemlileri *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* cinsine ait türlerdir (Salminen 1999).

Probiyotik özellik taşıyan mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ilk defa 1908 yılında, Nobel ödüllü Rus araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff, Bulgar çiftçilerin fermente süt ürünleri tüketimi sonucu daha sağlıklı ve uzun ömürlü olduklarını, bunun nedeninin ise bu ürünlerde bulunan çubuk şeklindeki bakterilerin (*Lactobacillus* spp.) bağırsaktaki mikroflorayı olumlu yönde etkilenmesi ve toksik mikrobiyel aktiviteyi azaltması olduğunu belirtmiştir (Saxelin ve ark., 1999). Fermente gıdalar ile sağlıklı yaşam arasındaki bu bağlantı bugün de geçerliliğini korumaktadır. Fermente ürünler üzerine yapılan araştırmaların başlangıcı çok eskilere dayanmakla birlikte, probiyotik bakteriler konusunda yapılan çalışmalar ancak son 10-15 yılda hız kazanmıştır (Çakır ve ark., 2001). Son yıllarda fermente süt ürünlerine *Bifidobacterium* türlerinin eklenmesi yönünde yapılan çalışmalarda önemli bir artış gözlenmiştir. Bunun nedeni, bağırsak orijinli bifidobakterilerin, beslenme ve özellikle sağlık üzerindeki yararlarından dolayı süt endüstrisinde kullanılan önemli probiyotik mikroorganizmalar olmasıdır. Probiyotikler; bağırsağın mikrobiyel dengesini iyileştirerek, bireyin bağışıklık sistemini güçlendiren canlı mikrobiyel gıda katkılarıdır (Gibson ve Fuller, 1998).

Probiyotik içerikli ürünler günümüzde özellikle Japonya, Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Lee ve ark., 1999). Günümüzde, probiyotik süt ürünleri, toplam süt ürünleri üretimi içerisinde giderek artan bir paya sahip olmaya başlamıştır. Dünyada *Bifidobacterium* spp. içeren 90'dan fazla gıda maddesi olduğu, bunun 50'den fazlasının süt orijinli olup önemli bir kısmının Japonya'da tüketildiği bildirilmektedir (Dave ve Shah, 1997).

Probiyotik mikroorganizmalar, patojen mikroorganizmaların ürettiği zararlı metabolitlerin vücuttan atılmasını sağlayarak diyareyi önlemekte veya azaltmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların terapatik etki gösterebilmesi için başlıca koşul, bu mikroorganizmaların sindirim sistemi boyunca canlılıklarını korumaları ve bağırsakta tutunarak koloni oluşturmalarıdır (Çakır ve ark., 2001). İnsan ve hayvanların bağırsak mikroflorasının önemli bir kısmını oluşturan bifidobakterlerin sindirim sisteminde yer alan yararlı ve patojenik mikroorganizmalar



arasındaki dengenin korunmasında rol oynayabilmesi için bağırsakta yeterli sayıda bulunmaları gerekmektedir. Terapatik minimum olarak adlandırılan bu sayının  $>10^7$  kob/g olması terapatik etki için ön koşuldur. Ancak, yaşlanma ile birlikte bağırsaklardaki probiyotik sayısı azalmakta ve buna karşın patojen bakterilerin gelişimi hız kazanmaktadır. Yapılan çalışmalarda bağırsak sistemindeki bifidobakteri türlerinin, bağırsak florasını iyileştirme, diyareyi önleme, bağışıklık sistemini güçlendirme, kanda kolesterol seviyesini düşürme, kanser hücrelerini baskı altına alma, mineral absorpsiyonunu güçlendirme ve laktoz kullanımını iyileştirme gibi yararlar sağladığı belirtmektedir (Fenderya, 2002).

Probiyotik ürünlerin üretiminde kullanılan mikroorganizmalar, FDA (Food and Drug Administration, ABD) tarafından GRAS (Generally Recognised as Safe) olarak tanımlanmış mikroorganizmalardır. Laktik asit bakterileri, bu özellikleri nedeniyle fermente süt ürünlerinin üretiminde uzun yıllardan beri güvenle kullanılmaktadır. Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların konakçı sağlığına zarar verecek hiçbir yan etkisi olmamalıdır. Bu nedenle, probiyotik üretiminde kullanılacak mikroorganizmaların kesin tanısının yapılmış olması gerekmektedir (Salminen ve von Wright, 1998). Özellikle bağışıklık sistemi daha zayıf olan yaşlılarda ve çocuklarda kullanımının sakıncalı olmadığı tam olarak kanıtlanmadan, hiçbir mikroorganizmanın probiyotik gıdaların üretiminde kullanılmaması gerektiği vurgulanmaktadır (Rolfe, 2000). Ağız yoluyla alınan probiyotik bakterilerin beklenen yararlı etkiyi gösterebilmeleri için mideden zarar görmeden bağırsak sistemine ulaşmaları gerekmektedir. Bu nedenle kullanılan probiyotik bakteri suşlarının mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmaları önemlidir. Bu özellik, aynı zamanda probiyotik mikroorganizma seçiminin en temel kriterlerinden birisidir. Bunun yanında, patojen mikroorganizmalar ile mücadele açısından probiyotik bakteriler tarafından bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyel bileşiklerin üretimi de önemli bir kriterdir (Murray, 1998).

Probiyotik mikroorganizmaların süt ürünlerinin üretiminde kullanımı giderek yaygınlaşmaktadır. Özellikle, yoğurt ve benzeri fermente süt ürünlerinin üretiminde probiyotik bakterilerden yaygın olarak yararlanılmaktadır. Ülkemizde salamura

beyaz peynir ve kaşar peynir tüketimi oldukça yaygın olduğundan bu süt ürünlerinin, probiyotik mikroorganizmaların vücuda alımı için aracılık yapabileceği düşünülmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar fermente süt ürünlerine katıldıktan sonra herhangi bir teknolojik işlem görmediğinden ve bu ürünlerin raf ömürleri nispeten kısa olduğundan, probiyotik bakterilerin üründe canlılıklarını koruma şansları yüksektir. Buna karşın salamura beyaz üretiminde kullanılan salamuranın tuz konsantrasyonu ve kaşar peynir üretiminde uygulanan haşlama işlemi, probiyotik bakterilerin otolizine neden olabilmektedir. Bu nedenle, probiyotik peynir üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin çevresel koşullara karşı dirençlerinin artırılması gerekmektedir. Bu amaçla en yaygın kullanılan yöntemler kapsülleme, vakum altında paketlenme, tuza dirençli suşların geliştirilmesi ve yüksek oranda inokülasyondur.

Bu çalışmada, probiyotik kaşar peyniri üretimi amaçlanmıştır. Peynir üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin (*Bifidobacterium bifidum* BB-12 ve *Lactobacillus acidophilus* LA-5) çevre koşullarına karşı dirençlerinin artırılması amacıyla mikrokapsül yöntemi ile immobilizasyondan yararlanılmıştır. İki farklı yöntem ile (emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri) mikrokapsüle alınan bakteriler kullanılarak üretilen kaşar peyniri örnekleri 90 gün süre ile depolanmış ve belirlenen özellikler bakımından analize alınmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Probiyotik kelimesi Yunanca kökenli olup “*yaşam için*” anlamına gelmektedir. Probiyotik terimi ilk olarak 1965 yılında, Lilly ve Stillwell adlı araştırmacılar tarafından, diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeleri tanımlamak için kullanılmıştır (Lee ve ark., 1999). Bu tarihten günümüze kadar probiyotik kelimesi, etki mekanizmalarına ve insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerine bağlı olarak çok değişik anlamlarda kullanılmıştır. Başlangıçta, protozoonlar tarafından üretilen ve diğer mikroorganizmaların gelişimini destekleyen maddeler için kullanılmış olan probiyotik teriminin anlamı, 1970’li yılların başlarında, genişletilerek mikrobiyel gelişmeyi destekleyen doku ekstraktları için de kullanılmaya başlamıştır. 1974 yılında Parker, probiyotik kelimesinin tanımını; intestinal sistemin mikrobiyel dengesine katkıda bulunan madde ve organizmalar olarak, bugünkü kullanımına en yakın anlamda geliştirmiştir. Bugün kullandığımız tanım Fuller (1989) tarafından geliştirilmiş olup “...*intestinal sistemin mikrobiyel dengesini geliştirerek konakçı hayvanın sağlığı üzerinde yararlı etkileri olan canlı mikrobiyel yem destekleyicisi...*” anlamında kullanılmıştır. Daha sonra bu tanım gıda ve yemlerde kullanılan tekli ve çoklu kültürleri kapsayacak şekilde genişletilmiştir (Havenaar, 1992). Probiyotik kelimesinin tanımına Avrupalı bilim insanları son şeklini vermiş olup, insan ve hayvan beslemede kullanılan probiyotikleri, vücuda alındığında konakçının gastrointestinal mikroflorasını olumlu etkileyen canlı mikroorganizmalar olarak tanımlamışlardır (Kneifel ve ark., 1999).

“Probiyotik ürün” denildiğinde ise, içerisinde konakçı sağlığı üzerine olumlu etkileri olan mikroorganizmaları içeren, çeşitli enzim, vitamin ve aroma bileşenleri ile desteklenerek direkt kapsül veya tablet haline getirilmiş diyet destekleyiciler anlaşılmaktadır. Bu tablet veya kapsüller “farmasötikaller” olarak da bilinmekte olup

hastalıkların tedavisinde ilaç yerine kesinlikle kullanılamamakta, sadece sağlık destekleyici ürünler olarak satılmaktadır. Bu preparatlar, dondurarak kurutulmuş bakteri kültürlerinin kapsül veya tablet haline getirilmesi ile hazırlanmış olup bazı hepatik hastalıklar, kabızlık ve antibiyotik tedavisi sonucu ortaya çıkan diyare gibi gastrointestinal düzensizliklerin önlenmesinde kullanılmaktadır (Yücecan, 2002)

Ticari bir ürün olarak probiyotiklerin çiftlik hayvanlarının yemlerinde kullanımı, gıdaların bileşiminde veya diyet destekleyici preparatlar olarak kullanımından daha öncelere dayanmaktadır. 1968 yılında domuz yemlerinde büyümeyi teşvik etmek amacıyla *L. acidophilus* kullanılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır (Fuller, 1999).

## 2.2. Probiyotik Faydanın Temeli ve Etki Mekanizması

Deri, ağız boşluğu, gastrointestinal ve ürogenital sistemler başta olmak üzere insan vücudu, yüzlerce mikroorganizmanın yaşadığı dinamik bir ekosistemdir. İnsan vücudundaki toplam bakteriyel popülasyonun yaklaşık  $10^{14}$  düzeyde olduğu tahmin edilmektedir (Yücecan, 2002). Vücudumuzdaki toplam hücre sayısı ile kıyaslandığında, bakteri sayısının 10 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Mikroorganizmalardan arındırılmış (gnotobiotic) denek hayvanları ile yapılan çalışmalar mikrobiyel kolonizasyonun yaşam için zorunlu bir gereksinim olmadığını göstermiştir. Hatta mikrobiyel kolonizasyon, bazı mikrobiyel metabolitlerin toksik, karsinojenik ve mutajenik potansiyelleri nedeni ile olumsuz etkilere bile neden olabilmektedir. Bununla birlikte, gnotobiyotiklerin doğal koşullarda yetiştirilen denek hayvanlarına göre enfeksiyonlara karşı daha duyarlı oldukları da bilinen bir gerçektir. Buradan hareketle, yetersiz bağışıklık sonucu zararlı mikroorganizmaların intestinal sistemde hiçbir direnç olmaksızın kolayca kolonize olabilecekleri düşünülmektedir. Doğal koşullarda yetiştirilmiş denek hayvanları ile gnotobiyotikler arasındaki farklılıklar, mikrobiyel kolonizasyonun konakçı sağlığı açısından çok önemli olduğu fikrinin temelini oluşturmaktadır (Salminen, 1999).

İntestinal ekosistemin fizyolojik dengesi hastalık, yaşlılık, stres, antibiyotik veya ilaç kullanımı, diyet alışkanlıklarının değiştirilmesi, iklim koşullarında meydana gelen değişimler ve toksik maddelerin üretimi gibi faktörlerden direkt veya dolaylı olarak etkilenebilmektedir (Cedgard, 2000). İntestinal sistemin dengesinde meydana gelen bu düzensizlikler “disbiosis” olarak adlandırılmaktadır. Disbiosisin tersi bir durum olarak, intestinal sistemde bulunan faydalı mikroorganizmaların sistemin fizyolojik dengesine olumlu yönde katkıda bulunmasına “probiyosiz”, bu mikroorganizmalara da “probiyotik mikroorganizmalar” denilmektedir. Konakçının yaşantısı esnasında karşılaştığı şartlar ve buna bağlı olarak hormonal sisteminde meydana gelen değişiklikler de disbiosisi meydana getiren en önemli etmenlerden birisidir (Çakır ve ark., 2001).

Probiyotik bakterilerin konakçıyı intestinal sistem bozukluklarına karşı nasıl koruduğunu açıklamaya çalışan birçok mekanizma bulunmaktadır. Bununla birlikte, hangi patojen organizmalara karşı hangi probiyotik bakterilerin etkili olduğunun belirlenmesi için daha çok çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. Probiyotik bakterilerin olası etki mekanizmaları aşağıda maddeler halinde özetlenmiştir (Salminen, 1999, Çakır ve ark., 2002). Bunlar:

**a. İnhibe edici maddeler üreterek:** Probiyotik bakteriler, Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalar üzerinde etkili birçok madde üretmektedir. Bunlardan bazıları organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosin benzeri maddelerdir.

**b. Tutunma bölgelerini bloke ederek:** Probiyotikler, incebağırsak iç yüzeyindeki tutunma bölgeleri için patojenlerle rekabete girerek, bu bakterilerin intestinal sistemde yerleşmelerini engellemektedirler.

**c. Besin maddeleri için rekabet:** Probiyotikler, patojenler için de gerekli olan besin maddelerini tüketerek, onların sistemde uzun süre kalmasını engellemektedir. Ancak, bu mekanizmanın kanıtlanabilmesi için *in vivo* verilere gereksinim duyulmaktadır.

**d. Toksin reseptörlerinin yıkımı:** Bu mekanizma hayvanlarda *S. boulardii*'nin intestinal mukozada bulunan *Clostridium difficile*'nin toksin reseptörlerini parçalayarak konakçıyı koruması nedeniyle ortaya atılmıştır.

**e. Bağışıklık sistemini güçlendirmesi:** Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin spesifik ve spesifik olmayan bağışıklık sistemini güçlendirerek intestinal hastalıklara karşı konakçıyı koruduğunu ortaya koymuştur. Bu mekanizma tam olarak aydınlatılamamış olmasına karşın, spesifik hücre duvarı komponentlerinin veya hücre yüzeylerinin adjuvant (tamamlayıcı) etki gösterdiği ve humoral immün (doğuştan kazanılmış bağışıklık) yanıtı güçlendirdiği düşünülmektedir.

Probiyotik mikroorganizmalar, insan sağlığına yararlı ve terapatik etkilere sahip bağırsak mikroorganizmaları olarak tanımlanmaktadır (Fuller, 1992). Bu grup mikroorganizmaların, insan sağlığına zararlı patojenik mikroorganizmaların bağırsak ortamında inhibisyonu, serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi, laktoz intoleransına sahip kişilerin laktoz metabolizmalarının geliştirilmesi ve antikarsinojenik etkilerin sağlanması gibi olumlu işlevlere sahip olduğu ileri sürülmektedir (Özer ve Akın, 2000).

İnsan bağırsak florasının üyeleri olan probiyotik bakterilerin gıda zehirlenmelerine yol açabilen *Salmonella* ssp., *E.coli* gibi mikroorganizmalara karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir (Huges ve Hoover, 1991). Probiyotik etki, probiyotik bakteriler tarafından üretilen asit (Rasic ve Kurmann, 1983) ve bakteriyosin ile bu organizmaların patojen mikroorganizmalar üzerindeki antagonistik etkileri (Gurr, 1987) ve bağışıklık sistemini güçlendirmelerinden (Fuller, 1992) kaynaklanmaktadır. Ayrıca, probiyotik mikroorganizmalar  $\beta$ -galaktosidaz (laktaz) enzimi sentezleyebilme yeteneğine sahip olduklarından laktoz metabolizmasını hızlandırmaktadır. Klasik yoğurt bakteriler de laktaz enzimini üretebilme yeteneğine sahiptirler, ancak bu bakteriler düşük asidite ve safra tuzları varlığı nedeniyle gastrointestinal bölgede canlılıklarını koruyamamakta ve dolayısıyla, probiyotik etki yaratamamaktadırlar. Buna karşın, *Lactobacillus acidophilus* (*Lb.acidophilus*) ve *Bifidobacterium bifidum* (*B.bifidum*) gibi probiyotik bakteriler gastrointestinal bölgede rahatlıkla canlılıklarını koruyabilmekte ve çoğalabilmektedirler (Noh ve Gilliland, 1993).

Probiyotik mikroorganizmaların antikarsinojenik ve antitumörjenik etkilere sahip oldukları da bildirilmektedir (Krasaekoopt ve ark., 2003). Bu etkinin büyük olasılıkla karsinojen ve/veya prokarsinojen maddelerin inhibisyonu, prokarsinojen maddeleri karsinojen maddelere dönüştürebilme yeteneğine sahip mikroorganizmaların inhibisyonu, immün sisteminin aktivasyonu ya da mikrobiyel aktiviteyi azaltabilmek için bağırsak pH'sının düşürülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Gilliland, 1989; Rasic ve Kurmann, 1983). Buna ek olarak; özellikle *Lb. acidophilus*'un serum kolesterol düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir (Gilliland, 1989).

### 2.3. Probiyotik Bakteriler

Canlı mikrobiyel gıda katkıları olarak probiyotik bakterilerin en iyi bilinenleri yoğurt ve diğer fermente süt ürünlerinde önemli ölçüde yer alan laktik asit bakterileri ve bifidobakterilerdir. Patojen ve toksik olmayan bu mikroorganizmaların depolama sırasında üründe canlılığını koruduğu ve tüketim sonrası insanların metabolizmasında yer aldığı ölçüde yararları artmaktadır (Salji, 1992). Probiyotikler esas olarak laktik asit bakterileridir. Yoğurt yapımında kullanılan bakteriler (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*Lb. bulgaricus*)) ve (*Streptococcus thermophilus*) dışında tüm laktik asit bakterileri, bağırsak florası elemanlarıdır. Bir probiyotik ürün, bu mikroorganizmaların birini ya da birkaçını içerebilmektedir (Fuller, 1989 ; Tannock, 1997).

Günümüzde, süt ürünlerinin üretiminde birçok probiyotik etkili bakteri kullanılmaktadır (Fuller, 1997; Gibson ve Fuller, 1998). Bu bakteriler arasında *Lactobacillus* spp. (*Lb.acidophilus*, *Lb.casei*, *Lb.reuteri*, *Lb.brevis*, *Lb.cellobiosis*, *Lb. helveticus*, *Lb.curvatus*, *Lb.fermentum* ve *Lb.plantarum*), Gr (+) koklar (*Lactococcus lactis* spp. *cremoris*, *Str.thermophilus*, *Enterococcus faecium*, *Str.diacetylactis* ve *Str.intermedius*) ve *Bifidobacterium* spp. (*B.bifidum*, *B.longum*, *B.adolescentis*, *B.animalis*, *B.infantis* ve *B.thermophilum*) yer almaktadır. Bu çalışmada yararlanılan bakteri türleri olan *Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus acidophilus*'un genel özellikleri aşağıda sunulmuştur.

### 2.3.1. *Lactobacillus acidophilus*

*Lactobacillus acidophilus*, Gram (+), çubuk şekilli, anaerob ya da fakültatif anaerob, hareketsiz, katalaz-negatif bir bakteridir. Homofermentatif bir bakteri olup % 0,3-1.9 oranında DL laktik asit üretebilmektedir. Gelişmesi için en uygun sıcaklık 35-38 °C ve optimum pH aralığı ise 5.5-6.0'dır (Yılmaztekin, 2001).

*Lactobacillus acidophilus*, üretmiş olduğu organik asitler (laktik asit, asetik asit vb.), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve antibiyotik maddelerden (Lactocidin, Acidofilin, Acidolin, Lactosin B) dolayı antimikrobiyel bir etkiye sahiptir (Kanbe, 1983; Vakıl ve ark., 1965; Hosono ve ark., 1977). *Lactobacillus acidophilus*'un bu özelliği nedeniyle bağırsak enfeksiyonu ve hastalıkları kontrol altına alınabilmekte ve antibiyotik tedavisi sonrası ortaya çıkabilecek olumsuzluklar giderilebilmektedir. *Lactobacillus acidophilus* safra asitlerine karşı dirençlidir ve fekal *Escherichia coli* suşları ile diğer bağırsak patojenlerine karşı kuvvetli antibiyotik etki göstermektedir (Kanbe, 1983).

### 2.3.2. *Bifidobacterium bifidum*

*Bifidobacterium bifidum*, Gram (+), spor oluşturmeyen, zorunlu anaerobik karakter taşımaktadır. Optimum gelişme sıcaklıkları 37-41 °C'dir, ancak 25-28 °C ve 43-45 °C'de de gelişim gösterebilmektedirler. Optimum çalışma pH'ları 6.5-7.0'dir. pH 4.5-5.0 veya 8.0-8.5'da gelişimi yavaşlamaktadır (Scordovi, 1986). *Bifidobacteria* spp. CO<sub>2</sub>, bütirik asit, propiyonik asit üretme yeteneğine sahip değildir. Ayrıca, kolay metabolize olan L (+) laktik asit izomerini üretmektedir. Bağırsakta kolay lokalize olmaktadır ve mide asitliğinde stabildirler (Yılmaztekin, 2001).

*Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi probiyotik bakterilerin antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda probiyotik bakterilerin *Salmonella typhimurium*, *Clostridium difficile*,



*Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* ve *Shigella* spp. gibi patojen bakteriler üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğu kanıtlanmıştır (Klebanof ve ark., 1991).

*Bifidobacterium* spp.'lerin antimikrobiyal etkisi, üretmiş oldukları asetik asitten kaynaklanmaktadır. Asetik asit, laktik aside oranla Gram (-) bakterilere karşı daha güçlü antagonistik etkiye sahiptir ve bağırsak pH'sını düşürerek zararlı bakterilerin gelişimini engellemektedir (Modler ve ark., 1990).

#### 2.4. Probiyotik Peynir

Probiyotik fermente süt ürünleri –özellikle yoğurt ve asidofiluslu süt- üzerine yapılmış bir çok araştırma bulunmaktadır. Bununla birlikte; probiyotik peynir üretimi üzerine çalışma sayısı oransal olarak sınırlı kalmıştır. Stanton ve ark. (1998) ve Corbo ve ark. (2001) peynirin probiyotik bakteri alımı bakımından fermente süt ürünlerine oranla daha etkin bir araç olduğunu ileri sürmüşlerdir. Literatürlerde Cheddar ve Gouda gibi sert ve yarı-sert peynir çeşitlerinde probiyotik mikroorganizmaların yaşam süreleri ve peynirlerin biyokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerine çalışmalar yer almaktadır (Dinakar ve Mistry, 1994; Gomes ve ark., 1995; Blanchette ve ark. 1996; Gardiner ve ark. 1999; Vinderola ve ark., 2000; Corbo ve ark., 2001; Mc Breatry ve ark. 2001; El Zayatt ve Osman, 2001). Salamura içerisinde olgunlaştırılan Feta, Hellim ve beyaz peynir gibi peynir çeşitlerinde probiyotik bakterilerin yaşam süreleri üzerine çok sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Ghoddusi ve Robinson, 1996; Yılmaztekin ve ark., 2003). Yılmaztekin ve ark (2003) çalışmalarında, %2.5 (1.0-1.3 x10<sup>9</sup> kob/ g) ve %5.0 (2.0-2.1 x10<sup>9</sup> kob/ g) düzeyinde probiyotik bakteri inoküle ederek ürettikleri salamura beyaz peynirlerde (%12, w/v, salamura konsantrasyonu) *Lb. acidophilus* LA-5 ve *B.bifidum* BB-12 sayılarının 90 günlük depolama süresi boyunca hızla azaldığını ve 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> kob/ g düzeylerine indiğini saptamışlardır.

Keçi sütlerinden *B. lactis* ve *Lb. acidophilus* karışık kültürü kullanılarak probiyotik peynir üretimi üzerine gerçekleştirilen çalışmada, *B. lactis* gelişiminin bütünüyle peynirin fizikokimyasal aktivitesine bağlı olduğu ve bu bakterinin sayısal

yoğunluğunun  $3 \times 10^8$  kob/g düzeyine kadar çıkabildiği belirlenmiştir. Buna karşın; *Lactobacillus acidophilus* kolonilerinde bir gelişim gözlenmemiştir ve koloni sayısı  $6 \times 10^7$  kob/g seviyesini aşmamıştır. Deneme örneklerinde depolama boyunca laktik asit ve asetik asit içeriklerinde önemli artışlar tespit edilmiş ve bu organik asitlerin konsantrasyonu ile probiyotik bakteri gelişimi arasında bir ilişkinin bulunmadığı sonucuna varılmıştır. Tüm örneklerde; probiyotik bakteri sayısı minimum probiyotik etkinin sağlandığı  $10^6$  kob/g düzeyinin üzerinde bulunmuştur. Sonuç olarak; keçi sütlerinden probiyotik peynir üretiminde % 0.3 (v/w) süt hidrolizatı katımının yararlı olacağı ve probiyotik bakteri sayısının başlangıçta *B. lactis* ve *Lb. acidophilus* için sırasıyla  $3 \times 10^7$  kob/g ve  $7 \times 10^6$  kob/g düzeyinde olması gerektiği ifade edilmiştir. Ayrıca, tuz içeriğinin en fazla % 3.5 (w/w) ve depolama süresinin maksimum 70 gün olmasının gerektiği bildirilmiştir (Gomes ve ark., 1995).

### 2.5. Probiyotik Bakterilerin Süt Ürünlerinde Canlı Kalma Düzeyleri

Birçok ülkede, probiyotik fermente süt ürünlerinde bulunması gerekli minimum probiyotik bakteri sayısına ilişkin yasal düzenlemeler bulunmaktadır. Örneğin; MERCOSUR ülkeleri olarak adlandırılan Arjantin, Paraguay, Brezilya ve Uruguay'da bir fermente süt ürününde bulunması gereken minimum probiyotik bakteri sayısı  $10^6$  kobg<sup>-1</sup> iken, Japonya'da  $10^7$  kobg<sup>-1</sup> probiyotik minimum seviye olarak yasal düzenlemelerde yer almıştır (Pagano, 1998).

Mikroorganizmaların üründe ya da gastrointestinal bölgede canlı kalabilmeleri ve çoğalabilmeleri probiyotik etki üzerinde belirleyici rol oynamaktadır. Buna göre; probiyotik bakterilerin üründe depolama süresi boyunca canlılığını koruyabilmesi, üst sindirim yollarından geçişi sırasında zarar görmemesi ve bağırsak ortamında kolonize olabilmesi probiyotik etki için gerekli ön koşullar arasında yer almaktadır (Gilliland, 1989). Genel olarak; probiyotik bakterilerin peynir ve fermente süt ürünlerinde canlılıklarını düşük düzeylerde koruyabildikleri ileri sürülmektedir (Gilliland ve Speck, 1977; Anonim, 1992; Iwana ve ark., 1993; Shah ve ark., 1995; Dave ve Shah, 1997; Gardini ve ark., 1999; Schillinger, 1999; Vinderola ve ark., 2000; Yılmaztekin ve ark., 2003).

Probiyotik mikroorganizmaların süt ürünlerinde canlı kalma sürelerinin uzatılabilmesi için bir çok metot geliştirilmiştir. Ortam pH'sının ayarlanması, çözünmüş oksijen içeriğinin azaltılması, uygun paket materyalinin seçimi gibi geleneksel yöntemlere ek olarak modern ve daha etkin yöntemlerin kullanımı son yıllarda yaygınlık kazanmıştır. Bu yöntemler içerisinde mikrokapsül (microencapsulation) yöntemi en yaygın olarak kullanılan teknik olarak tanımlanmaktadır (Rao ve ark., 1989). Süt rnlerinde mikrokapsül yöntemi ile mikroorganizmaların çevresel etmenlerden korunması uygulaması son yıllarda popülarite kazanmaya başlamıştır. Peyniraltı suyu fermantasyonu ile elde edilen ürünlerde (Audet ve ark., 1989) ve yoğurt retiminde (Prevost ve Divies, 1988) mikrokapsül yöntemi başarı ile uygulanmıştır. Ek olarak; mikrokapsül tekniği ile korunan mikroorganizmaların bakteriyofaj ataklarına karşı direnç kazandığı (Stenson ve ark., 1987), liyofilizasyon ve dondurma işlemleri sırasında bakteri canlılığının korunduğu (Kearney ve ark., 1990; Sheu ve Marshall, 1993; Kim ve Yoon, 1995) ve depolama sırasında bakteri gelişiminin stabilitesinin arttığı (Kim ve ark., 1988; Kebary ve ark., 1998) ileri sürülmektedir.

Bakteri hücrelerinin kapsül içerisinde korunması amacıyla geliştirilen bir çok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemler arasında sprey kurutma, liyofilizasyon ve instantizasyon en eski ve bilinen tekniklerdir. Bununla birlikte, bu yöntemler ile korunan bakteri hücrelerinin depolama sırasında serbest hale geçtiği ve ortam koşullarına bağlı olarak stabilitenin kaybolduğu saptanmıştır (Krasaekoopt ve ark., 2003). Bu geleneksel tekniklere alternatif olarak son yıllarda hidrokolloid damlacıklar (beads) içerisinde bakterilerin immobilizasyonu yaklaşımı geliştirilmiş ve probiyotik süt ürünlerinin üretiminde immobilize mikroorganizmaların kullanımı üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Ekstrusiyon (damla metodu) ve emülsiyon (iki fazlı sistem) metodu olmak üzere iki farklı Şekilde gerçekleştirilen immobilizasyon işlemi sonucunda bakteri canlılığını koruma oranının %80-95 oranında arttığı bildirilmektedir (Audet ve ark., 1989; Rao ve ark., 1989; Sheu ve Marshall, 1993, 1993; Sheu ve ark., 1993; Jankoswki ve ark., 1997; Kebary ve ark., 1998).

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Kaşar peyniri üretiminde kullanılan inek sütü Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma-Uygulama Süt İşletmesi'nden sağlanmıştır. Üretimde 1/16.000 kuvvetinde ticari şirden mayası kullanılmıştır. Peynir yapımı sırasında ısı işlem sonrası bozulan iyonik kalsiyum dengesinin yeniden kurulması amacıyla kullanılan kalsiyum klorür ( $\text{CaCl}_2$ ) Sigma-Aldrich Co. (D 82039 Deisenhofen, Almanya)'dan sağlanmıştır. Peynir üretiminde ana kültür olarak *Lactococcus lactis* spp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* (Kod O 113) karışık peynir kültürü kullanılmıştır. Probiyotik kültür olarak ise *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*Lb. acidophilus* LA-5) ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (*B.bifidum* BB-12) kullanılmıştır. Pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültürler Peyma Chr. Hansen's (Gayrettepe/İstanbul) tarafından sağlanmıştır. Tuz olarak piyasadan temin edilen yıkanmış fırınlanmış karıncabaş salamura tuzu kullanılmıştır.

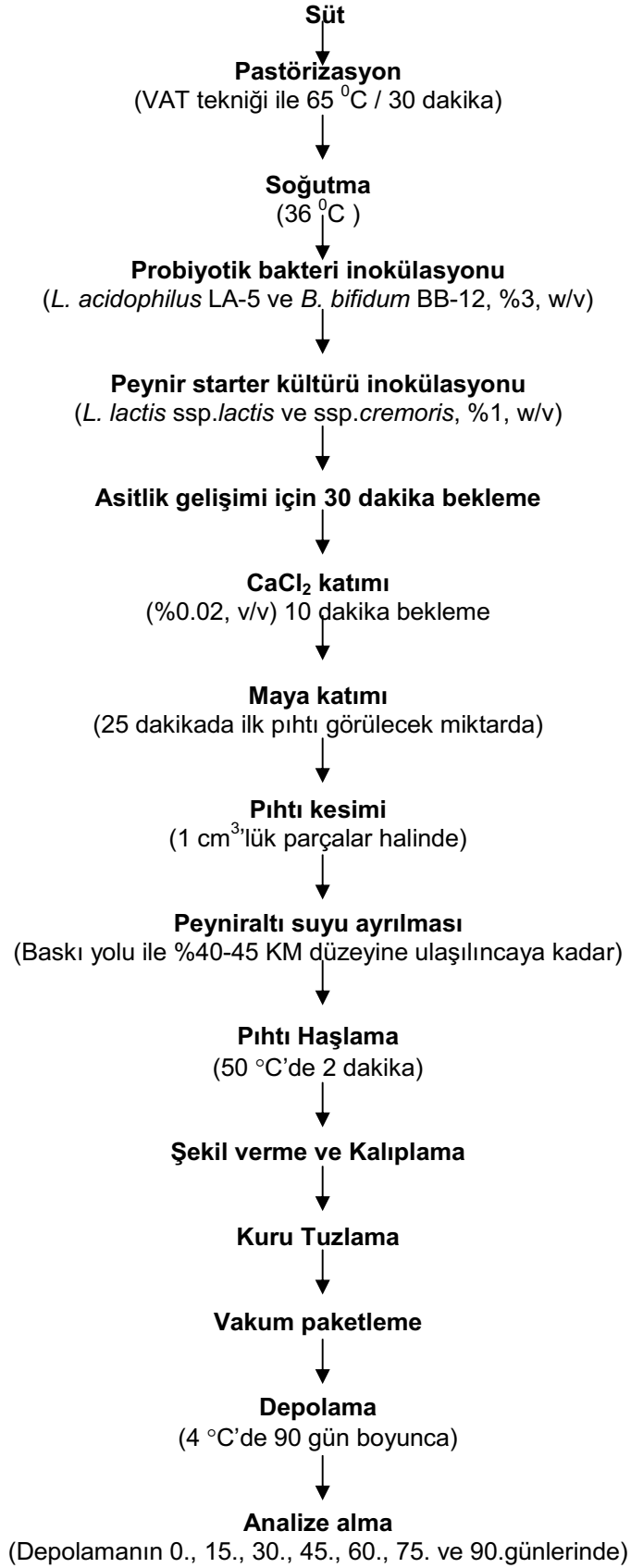
#### 3.2. Yöntem

Peynir üretimi Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Araştırma-Uygulama Süt İşletmesinde gerçekleştirilmiştir. Peynir üretim aşamaları, ilgili parametreleri ile birlikte Şekil 3.1'de verilmiştir. Buna göre; gerekli ön testlerden (kurumadde, yağ, toplam asitlik ve pH) geçirilen 120 litre sabah sağımı taze inek sütü 3 eşit kısma ayrılmıştır. Birinci kısım kontrol örneği olarak peynire dönüştürülmüştür. Kontrol peynirinin (Örnek A) üretiminde kullanılan probiyotik bakteri suşları herhangi bir işleme tabi tutulmadan direkt olarak kullanılmıştır. İkinci kısım süt (örnek B) peynire dönüştürülürken probiyotik bakteri suşları ekstrüzyon yöntemi ile mikrokapsül formuna dönüştürülmüş ve peynir üretiminde klasik peynir kültürleri ile birlikte kullanılmıştır. Ekstrüzyon yöntemi Bölüm 3.2.2.1'de detaylı olarak açıklanmıştır.

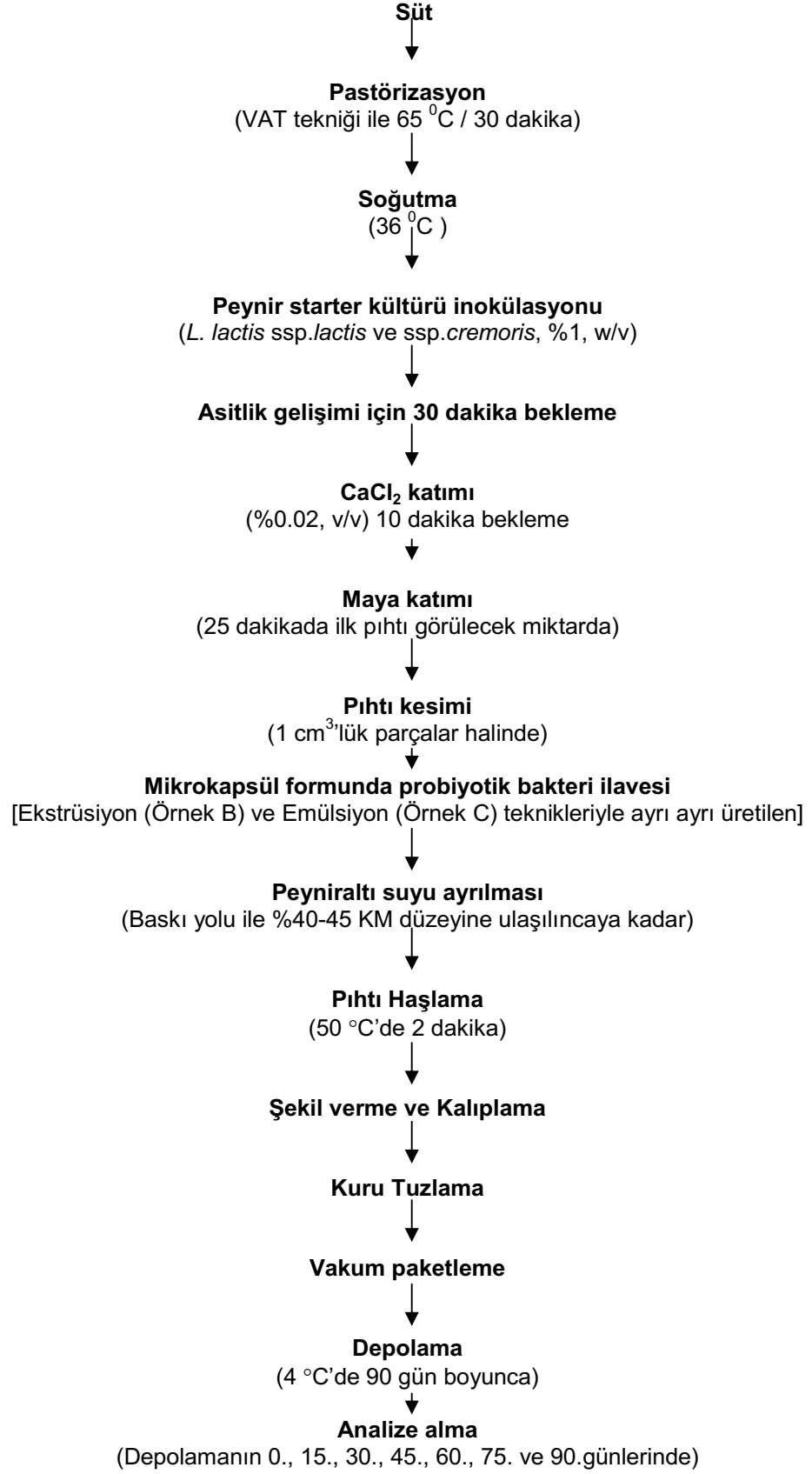
Üçüncü kısım süttten (örnek C) peynir üretiminde kullanılan probiyotik bakteri suşları ise emülsiyon yöntemi ile kapsül formuna dönüştürülerek kullanılmıştır. Emülsiyon yöntemi Bölüm 3.2.2.2’de detaylı şekilde açıklanmıştır.

### 3.2.1. Kaşar peyniri üretimi

Kaşar peyniri üretim akış şeması Şekil 3.1 ve Şekil 3.2’de verilmiştir. Peynire işlenecek sütler 65 °C’de 30 dk. ısıtılıp işleme tabi tutulmuştur. Çift cidarlı kazanda ısıtılıp işlem sırasında 40 devir/dakika hızla sürekli karıştırma yapılmıştır. Isıtılıp işlem sonrası süt, soğuk su sirkülasyonu ile mayalama sıcaklığı olan 36 °C’ye soğutulmuştur. Bu sıcaklıkta süte probiyotik starter kültür ilavesi (% 3, w/v sadece kontrol örneğine) yapıldıktan sonra klasik peynir kültürü (% 1, w/v tüm denemeler için) ve kalsiyum klorür (% 0.02 v/v) eklenmiştir. Asitlik gelişiminin sağlanması amacıyla yaklaşık 30 dakika beklenildikten sonra kazan başı testler ile belirlenen miktarda peynir mayası (1/16.000 kuvvetinde) süte ilave edilmiştir. Maya miktarı hesaplanırken ilk pıhtı görülme süresi 25 dakika, pıhtı kesim olgunluğuna ulaşma süresi de 100 dakika olarak dikkate alınmıştır. Kesim olgunluğuna gelen pıhtı, peynir kesme bıçakları yardımı ile yaklaşık 1 cm<sup>3</sup>’lük parçalar halinde kesildikten sonra 10 dakika kadar kendi haline bırakılmış ve ardından baskı yoluyla serum ayrılması sağlanmıştır. Bu sırada ekstrusiyon (örnek B) ve emülsiyon (örnek C) teknikleriyle elde edilen mikrokapsüller telemeye ilave edilerek homojen dağılım sağlayacak şekilde iyice karıştırılmıştır. Baskıya alınan teleme 2 defa doğranarak içerisindeki suyu atması sağlanmıştır. Baskılama aşamasında 30 dk. aralıklarla pH kontrolleri yapılarak asitlik gelişimleri takip edilmiştir. Haşlama işlemi pH 4.90-5.00 aralığında gerçekleştirilmiştir. Tuz konsantrasyonu % 5 ve sıcaklığı 50-55 °C olan pastörize edilmiş salamurada kapsüllerin geçemeyeceği incelikteki tel süzgeçlerle 2-3 dk. haşlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Telemenin haşlama suyundaki süzgeç içerisinde karıştırılarak birbirine kısmen kaynaşması sağlanmış ve sonrasında elle yoğurularak suyunu dışarı atması ve göbek bağlatma işlemi gerçekleştirilmiş ve 5 cm çapında 7 cm yüksekliğinde daire şeklindeki kalıplara göbek bağlatılan kısım aşağı gelecek şekilde yaklaşık 250 gr. peynir konulmuştur. Ertesi gün peynirler kalıplardan çıkarılarak 18-20 °C’deki depoda 2 gün boyunca alt üst edilip kabuk bağlatılmış ve



Şekil 3.1. Kontrol (A) örneği için peynir üretim akış şeması



Şekil 3.2. Örnek B (Ekstrüsyon) ve Örnek C (Emülsiyon) için peynir üretim akış şeması

vakum paketlenme yöntemiyle ambalajlanarak 6-8 °C'deki soğuk depoda 90 gün muhafaza edilmiştir. Örnekler, depolamanın 0., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde analize tabi tutulmuştur.

### 3.2.2. Mikrokapsül oluşturma

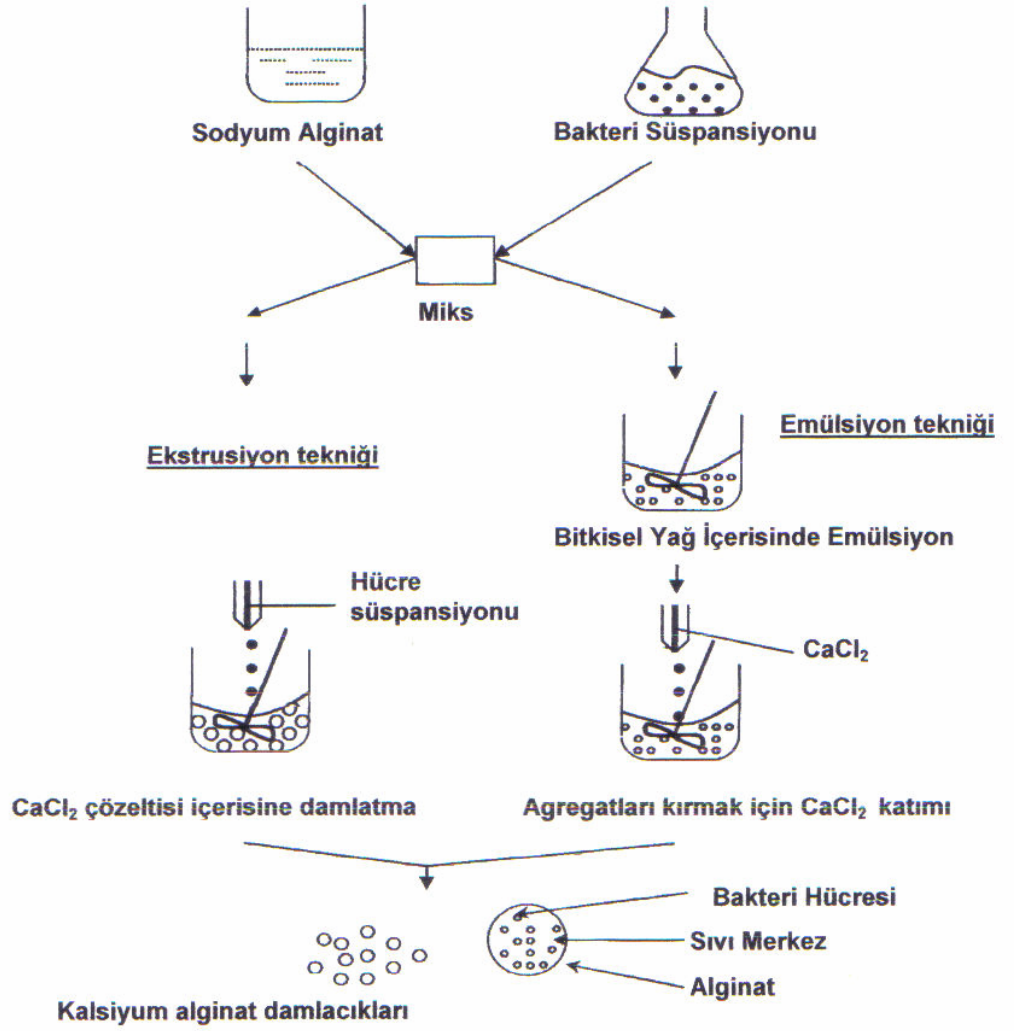
#### 3.2.2.1 Ekstrüzyon tekniği

Ekstrüzyon tekniği, hidrokolloid kapsül üretiminde kullanılan en yaygın tekniklerden birisidir (King, 1995). Bu teknik kısaca mikroorganizmaların bir hidrokolloid çözeltisi içerisine ilave edilmesi ve elde edilen karışımın bir şırınga yardımı ile sertleştirici agar üzerine belirli bir mesafeden aktarılması prensibine dayanmaktadır (Şekil 3.3). Agar üzerinde oluşan damlacıkların boyutu şırınga çapına ve agar üzerine aktarılma mesafesine göre değişkenlik göstermektedir. Bu metot basit, ucuz ve uygulama kolaylığı sağlaması bakımından yaygın olarak tercih edilmektedir.

Bu teknikte ekstrüzyon amacıyla farklı alg türlerinden ekstrakte edilen L-glucuronic asit ve D-mannuronic asitlerin bir heteropolisakkariti olan alginat destek materyali olarak kullanılmaktadır (Smisrod *ve ark.*, 1972). Alginat polimerlerinin birbirlerine bağlanarak bir ağ yapısı oluşturması amacıyla  $Ca^{+2}$  gibi divalent iyonlardan yararlanılmaktadır. Mikroorganizmaların hapsedildiği kapsüllerin oluşumu için mikroorganizma solüsyonu sodyum alginat ile karıştırılmakta ve karışım bir şırınga yardımı ile  $CaCl_2$  sıvısı içerisine aktarılmaktadır. Böylece, mikroorganizma hücreleri, iyonik olarak birbirlerine bağlanan üç boyutlu alginat matrisi içerisinde hapsedilmektedir (Klein *ve ark.*, 1983; Tanaka *ve ark.*, 1989; Martinsen *ve ark.*, 1989).

Ekstrüzyon yöntemi ile kapsül oluşumunda kullanılan alginat konsantrasyonu ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Bu amaçla % 1 ile %2 arasında değişen alginat konsantrasyonlarından %2 oranı ve 0.1 M ile 2.0 M arasında değişen  $CaCl_2$  konsantrasyonundan ise 1 M uygun kombinasyon olarak saptanmıştır. Damlatma





Şekil 3.3. Ekstrusiyon ve Emülsiyon teknikleri ile mikrokapsül oluşum şeması

işleminde 0.25 mm çaplı şırınga kullanılmış ve kapsül boyutu ortalama 2-3 mm olarak belirlenmiştir. Ekstrüzyon tekniği ile mikrokapsülleme koşullarının belirlenmesine yönelik ön deneme sonuçları Ek 3’de ve elde edilen kapsül fotoğrafları Ek 4’de sunulmuştur.

### 3.2.2.2. Emülsiyon tekniği

Bu teknikte, küçük miktarlardaki mikroorganizma-polimer süspansiyonu (kesintili faz) bitkisel yağ (sürekli faz) içerisine aktarılmaktadır (Şekil 3.3). Bitkisel yağ kaynağı olarak genellikle soya yağı, ayçiçek yağı, kanola yağı veya mısır yağı kullanılmaktadır. Bu karışım bir suda-yağ emülsiyonu elde edilmesi amacıyla homojenize edilmektedir. Suda-yağ emülsiyonu oluştuktan sonra suda çözünen polimer yağ fazı içerisinde çözünmez forma dönüştürülmektedir. Çözünmez forma dönüşen mikroorganizma hücreleri filtrasyon yardımı ile ayrılmaktadır. Mikroorganizmaların hapsedildiği kapsüllerin boyutu homojenizasyon hızına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir.

Probiyotik bakteri hücreleri 24 saatlik fermantasyon sonunda (geç logaritmik faz) 80 ml kültürden santrifüj yolu ile ayrılmıştır (santrifüj dönü hızı 5000 x g). Ardından hücreler 20 ml steril tuzlu su ile 5000 x g santrifüj dönü hızında iki kez yıkama işlemine tabi tutulmuştur ve daha sonra 10 ml steril tuzlu su içerisinde yeniden süspansiyon haline getirilmiştir. 20 ml bakteri süspansiyonu 60 ml %2 κ-karragenan çözeltisi içerisine ilave edilmiştir. κ-karragenan’ın dağılımını etkin kılabilmek için %0.9 konsantrasyonunda NaCl kullanılmıştır (Nilsson *ve ark.*, 1983). Daha sonra karışım sıcaklık kontrollü su banyosunda 47-48 °C’de tutulmuştur. Jelleşme yeteneğini azaltmamak için κ-karragenan kaynama sıcaklığında tutulmuş ancak sterilize edilmemiştir. Bitkisel yağ olarak mısır yağı kullanılmıştır. Emülsüfiyer olarak %0.1 (v/v) oranında Tween 80 (Fischer Scientific, Pittsburgh, PA, ABD) ilave edilen bitkisel yağ 40 °C’de 2-3 dakika karıştırılmıştır. Kapsül oluşumunun sağlanması amacıyla bakteri hücresi/κ-karragenan karışımı hızla mısır yağı/Tween 80 karışımına ilave edilmiştir. Oluşan emülsiyonun kırılması amacıyla 150 ml 1 M CaCl<sub>2</sub> karışımının bulunduğu beherin cidarlarından yavaşça

boşaltılmıştır. Bu işlem sonucunda oluşan yağ fazı uzaklaştırılarak bakteri içeren kapsüller  $\text{CaCl}_2$ 'den düşük hızlı santrifüj yardımı ile uzaklaştırılmıştır (süre 10 dakika, santrifüj hızı  $350 \times g$ ). Elde edilen kapsüller 1 M  $\text{CaCl}_2$  yardımı ile iki kez yıkanmıştır. İkinci yıkama sonunda elde edilen bakteri kapsülleri  $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de depolanarak ertesi gün içerisinde peynir üretiminde kullanılmıştır.

### 3.2.3. Süt ve peynire uygulanan analizler

#### 3.2.3.1. Süte uygulanan analizler

**Kurumadde tayini:** Kurumadde miktarı gravimetrik yolla belirlenmiştir. Elde edilen değerler % olarak ifade edilmiştir (Anonim, 1994).

**Yağ tayini:** Sütte yağ miktarı Gerber yöntemi ile tespit edilmiştir (Anonim, 1994).

**pH tayini:** pH değeri bileşik elektrotlu dijital pH metre (Consort C931, Parklaan 36 B2300 Turnhout Belgium) aracılığıyla gerçekleştirilmiştir.

**Titrasyon asitliği tayini:** T.S. 1018'de belirtilen titrasyon yöntemiyle % l.a (laktik asit) cinsinden belirlenmiştir (Anonim, 1994).

**Özgül ağırlık tayini:** Laktodansimetre ile belirlenmiştir.

**Protein tayini:** Sütün protein oranı, mikro Kjeldahl yöntemi ile belirlenen azot miktarlarının 6.38 faktörü ile çarpılmasıyla bulunmuştur (IDF, 1993).

#### 3.2.3.2. Peynire uygulanan analizler

##### 3.2.3.2.1. Kimyasal analizler

Denemelerin kimyasal analizleri depolamanın 1., 15., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır.

**Kurumadde tayini:** Peynir örneklerinde kurumadde miktarı gravimetrik olarak belirlenmiş ve elde edilen değerler % olarak ifade edilmiştir (Anonim, 1995).

**Yağ miktarı tayini:** Peynirde yağ miktarı Gerber yöntemiyle saptanmış ve sonuçlar % olarak tespit edilmiştir (Anonim, 1995).

**Kurumaddede yağ miktarı tayini:** Peynir örneğindeki % yağ miktarının, % kurumadde miktarına bölümünün yüzde olarak ifadesidir (Anonim, 1995).

**pH tayini:** Birleşik elektrotlu dijital pH metre (Consort C931, Parklaan 36 B2300 Turnhout Belgium) aracılığı ile ölçülmüştür.

**Titrasyon asitliği tayini:** Peynir örneğinden 10 g alınarak ezilmiş, üzerine 5ml. saf su eklenerek karıştırılmış ve elde edilen karışımın asitliği 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Sonuçlar % l.a. cinsinden ifade edilmiştir (Anonim, 1995).

**Toplam azot tayini (TN):** 0.5 M trisodyum sitrat çözeltisinde çözündürülen peynir örneğinde, mikro Kjeldahl yöntemiyle tespit edilmiştir (Gripon ve ark., 1975).

**Suda çözünen azotlu madde (WSN):** 0.5 M tri sodyum sitrat çözeltisi içerisinde çözündürülen peynir örneğinin pH'sı HCl ile 4.4'e ayarlanmış, kazein pıhtılaştıktan sonra filtre edilmiş, filtratın azot içeriği mikro Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir (Gripon ve ark., 1975)

**Protein olmayan azot (NPN):** Peynirin suda eriyen azotunu oluşturan çözeltinin % 12'lik trikloroasetikasit (TCA) ile pıhtılaşmayan kısmı filtre edilerek azot içeriği mikro Kjeldahl yöntemiyle saptanmıştır (Gripon ve ark., 1975).

**Proteoz-Pepton azotu (PPN):** Suda çözünen azot (WSN) ile protein olmayan azot (NPN) arasındaki fark alınarak hesaplanmıştır (Gripon ve ark., 1975)

**Olgunlaşma indeksi:** Suda çözünen azotun (WSN) toplam azota ( $\Sigma N$ ) oranının yüzde olarak ifade şeklidir (Alais, 1984).

**Tuz tayini:** TS 591'e göre  $K_2CrO_4$  indikatörlüğü altında 0.1 N  $AgNO_3$  kullanılarak titrimetrik olarak belirlenmiştir.

**Kurumaddede tuz miktarı:** Tuz içeriğinin kurumaddeye bölümünün yüzde olarak ifadesidir.

### 3.2.3.2.2. Mikrobiyolojik analizler

#### 3.2.3.2.2.1. Toplam mezofilik bakteri sayımı

Toplam mezofilik bakteri sayısının belirlenmesinde Standart Plate Count (SPC) metodu uygulanmıştır. 1 litre saf su içerisinde hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur. Besiyeri pH'sı 1 N NaOH ile 7.0'ye ayarlandıktan sonra dökme yöntemiyle ekim yapıp 32 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir.

#### 3.2.3.2.2.2. Probiyotik mikroorganizmaların sayımı

***Lactobacillus acidophilus* sayımı:** *Lactobacillus acidophilus* sayımında MRS-Sorbitol agar besi ortamından yararlanılmıştır. MRS agar, sorbitol katılmadan önce 121 °C'de 15 dakika sterilizasyona tabi tutulmuştur. Ardından döküm sıcaklığına gelen besi yeri üzerine *Lactobacillus acidophilus* dışındaki mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek amacıyla D-Sorbitol ilave edilmiştir. Bu amaçla, % 10'luk (w/v) D-Sorbitol çözeltisinden 10 ml steril membran filtreden (0.22 µm. Milipore steril, Milipore, Carrigt wohill, co. cork, Ireland) geçirilerek 90 ml MRS agar üzerine eklendikten sonra karıştırılmış ve petri plaklarına dökme ekim gerçekleştirilmiştir. Petri plakları anaerobik jarlar içerisinde 37 °C'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda koyu merkezli, 1.0-1.5 mm çaplı ve yeşilimsi kahverengi koloniler *Lactobacillus acidophilus* olarak tanımlanmıştır (Dave ve Shah, 1997).

***Bifidobacterium bifidum* sayımı:** *Bifidobacterium bifidum* sayımında MRS-NNLP agar besiyerinden yararlanılmıştır. NNLP bir antibiyotik karışımı olup *Bifidobacterium bifidum* dışındaki laktik mikroorganizmaların gelişimini inhibe edici özellik taşımaktadır. Kullanılan NNLP karışımı Neomycin sulfat (100 mg L<sup>-1</sup>), Nalidixic acid (50 mg L<sup>-1</sup>), Lithium chloride (3000 mg L<sup>-1</sup>) ve Paramomycin sulfat (200 mg L<sup>-1</sup>) içermektedir. Petri kaplarının anaerobik ortamda inkübasyonu 37 °C'de 72 saat boyunca devam etmiştir (Dave ve Shah, 1997).

Anaerobik ortam, Anaerocult (Merck; Hamburg, Germany) firmasından sağlanan anaerobik kitler aracılığıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir kit üzerine 35 ml. saf su homojen şekilde dağıtılmış ve kitler hemen anaerobik jarlara konulmuştur. Her 8 petri plakası için 1 adet anaerobik kit kullanılmıştır.

### 3.2.3.2.3. Elektroforetik analizler

Peynir örneklerinin 90 günlük olgunlaşma periyotları boyunca oluşan proteolizin izlenmesinde alkali üre-P.A.G.E elektroforezinden yararlanılmıştır (Creamer, 1991). Buna göre, 0.5 g peynir örneği 25 ml örnek tamponu (0.092 g EDTA, 1.08 g Tris, 0.55 g borik asit, 36.0 g üre 100 ml'ye tamamlanmış ve pH 8.4'e ayarlanmıştır) içerisinde eritilmiştir. Örnekler 10.000 g dönüş hızına sahip soğutmalı santrifüjde 10 dakika süre ile santrifüj edildikten sonra tüplerin orta kısımlarından 2 ml sıvı örnek alınmıştır. Santrifüj sonrası ayrılan sıvı kısım (2 ml) üzerine %0.1'lik bromfenol mavisinden ve %0.1'lik 2-merkaptolanol'den %3'er oranında ilave edilmiştir. Yürütücü jel konsantrasyonu %7.5 olarak seçilmiştir. 200 ml hazır jel çözeltisi üzerine 200 µl TEMED ve 200 mg amonyum persülfat kristalleri ilave edilmiştir. Hazırlanan jel çözeltisi hızla cam plakalara dökülmüş ve jelleşme plakalar arasında sağlanmıştır. Jelleşme tamamlandıktan sonra örnek yuvalarına %2'lik peynir örneğinden 50 µl yükleme gerçekleştirilmiştir. Jelin yürütülmesinde Bio-Rad güç kaynağı (Power Pac 300, Bio-Rad Laboratories, Inc. 1000 Alfred Nobel Drive, Hercules, California, USA)'ndan yararlanılmıştır. Örnekler maksimum 300 volt başlangıç voltajı ve 60 mA akım koşullarında yürütülmüştür. Örneklerin boyanmasında 500 ml Coomassie Brilliant Blue R 250 (1.0 g Coomassie Brilliant

Blue 500 ml isopropanol, 200 ml glasiyel asetik asit içerisinde çözüldürülmüş ve hacim 2 litreye tamamlanmıştır) çözeltilisinden yararlanılmıştır. Boyama süresi 15 saat olarak uygulanmıştır. Boya çözücü ise 200 ml isopropanol ve 200 ml asetik asit karışımını içermektedir.

#### **3.2.3.2.4. Duyusal analizler**

Duyusal analizler Bodyfelt ve ark. (1988)'de belirtilen tanımlayıcı değerlendirme şemasına göre yapılmıştır. Duyusal değerlendirme formu Çizelge 3.1'de verilmiştir. Panel grubu 10 deneyimli panelistten oluşmuştur. Örnekler tesadüfi sıra ile panel grubuna sunulmuştur.

#### **3.2.3.2.5. İstatistik analizler**

İki tekrarlamalı olarak gerçekleştirilen denemelerde bulguların değerlendirilmesinde SPSS<sup>®</sup> paket istatistik programından yararlanılmıştır. Basit varyans analizleri ile gruplar arası farklılıklar ve farklı muameleler x depolama süresi interaksyonları paket program aracılığı ile DUNCAN<sup>®</sup> testi uygulanarak belirlenmiştir (Steel ve Torrie, 1980).

Çizelge 3.1. Kaşar peynirine ait duyuusal değerlendirme formu

	KOD	KOD	KOD	KOD
<i>Görünüş</i>				
Kaşar peynir için tipik (5)				
Hafif beyazımsı/dalgalı renk dağılımı (4)				
Delikli yapı/kirli sarı (3)				
Küflü/yapışkan yüzeyli yapı (2)				
Erimiş/kaygan yapı (1)				
Kabul edilemez görünüm (0)				
<b>GENEL DEĞERLENDİRME (5 en iyi/ 0 en kötü)</b>				
<i>Tat/Koku</i>				
Tipik tat/koku (10)				
Hafif asidik/bazik tat (9)				
Fermente/düz/ (8)				
Isıtılmış süt tadı/kokusu (7)				
Yoğurdumsu tat (6)				
Çok tuzlu (5)				
Yemimsi tat/koku (4)				
Küfümsü tat (3)				
Mayamsı tat (2)				
Acı tat (1)				
Kabul edilemez tat/koku (0)				
<b>GENEL DEĞERLENDİRME (10 en iyi/ 0 en kötü)</b>				
<i>Yapı-Tekstür</i>				
Tipik/kırılgan olmayan/ufalanmayan yapı (5)				
Serum sızıntılı/ Delikli yapı (4)				
Çok sert yapı (3)				
Çok zayıf yapı/tekstür (2)				
Yumuşamış / yapışkan yüzey (1)				
Kabul edilemez tat/koku (0)				
<b>GENEL DEĞERLENDİRME (5 en iyi/ 0 en kötü)</b>				

Lütfen, her örneğin temsil ettiği uygun özelliğin yanına işaret koyunuz ve o özelliğe karşılık gelen rakamı yazmayınız. Örnekleri, sunulan özellikler açısından tek tek değerlendirdikten sonra lütfen genel değerlendirme bölümüne Görünüş ve Yapı/Tekstür için 0-5, Tat/koku için ise 0-10 arasında bir numara veriniz.



#### 4. ARASTIRMA BULGULARI ve TARTISMA

Bu bölümde, kaşar peyniri üretiminde kullanılan çiğ süte ait kimyasal özellikler ile kaşar peyniri örneklerinin kimyasal, mikrobiyolojik, elektroforetik ve duyuşal özelliklerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişimler tartışılmıştır.

##### 4.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün Nitelikleri

Peynir üretiminde kullanılan çiğ inek sütlerinin kurumadde, yağ, titrasyon asitliği, pH ve protein içeriklerine ait ortalama değerler standart hataları ile birlikte Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Bu değerler TS 1018 Çiğ İnek Sütü standardına göre uygunluk göstermektedir.

Çizelge 4.1. Peynir üretiminde kullanılan çiğ sütlerin bazı kimyasal özellikleri

Özellikler	Ortalama değerler	TS. 1018 değerleri
<b>pH</b>	6.68± 0.021	-
<b>Titrasyon asitliği (% l.a.)</b>	0.176±0.049	0.135 – 0.202
<b>Kurumadde (%)</b>	12.62±0.035	10.50 – 12.50
<b>Yağ (%)</b>	3.60±0.141	2.50 – 3.50
<b>Özgül ağırlık (g/cm<sup>3</sup>)</b>	1.032±0.000	1.028 – 1.039
<b>Protein (%)</b>	3.88±0.021	2.80 – 5.00

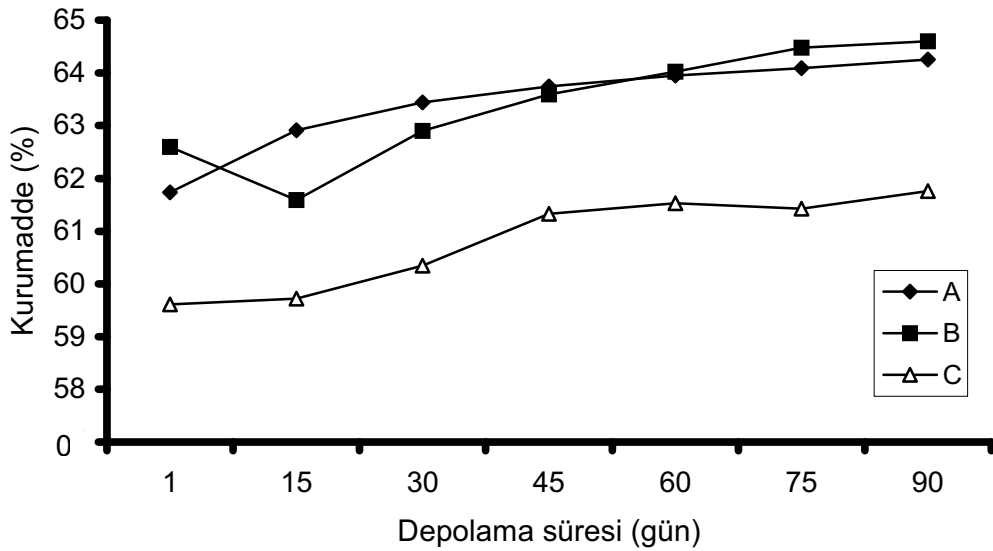
## 4.2. Peynirlerde Depolama Sürecinde Oluşan Değişimler

### 4.2.1. Kimyasal değişimler

#### 4.2.1.1. Kurumadde

Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresi boyunca kurumadde içeriğinde belirlenen değişimler Şekil 4.1.'de sunulmuştur.

Deneme peynirlerinin kurumadde düzeyleri birbirlerine yakın bulunmuş ve depolama süresince tüm örneklerin kurumadde düzeyinde bir miktar artış kaydedilmiştir. Depolamanın başlangıcında % 59.61- %62.60 arasında değişen kurumadde içerikleri, 90. gün sonunda % 61.77- % 64.61 aralığında tespit edilmiştir. Kurumadde içeriğinde en fazla artış A peynirinde gözlenmiş bunu C ve B peynirlerindeki artış takip etmiştir.



Şekil 4.1. Peynir örneklerinin kurumadde içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

Öztek (1983), depolama süresi boyunca kaşar peynirlerinin kurumadde düzeyinde artış meydana geldiğini bildirmiştir.

Kaşar peynirinin kurumadde düzeyi ile haşlama işlemi sırasında teleme pH'sı arasında pozitif bir ilişkinin varlığı düşünülmektedir. Üretim teknolojisi açısından kaşar peyniri ile benzerlik gösteren (Cheddar) Çedar peyniri üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada, teleme pH'sındaki azalma ile birlikte son ürünün kurumadde düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Bu durum, teleme haşlama pH'sının kazeinin izoelektrik noktası olan 4.6'ya yaklaştıkça su bağlama yeteneğinin azalmasıyla açıklanmaktadır (Walstra ve Jennees, 1984).

Deneme örneklerine uygulanan muamelelerin ve depolamanın, peynirlerin kurumadde içerikleri üzerindeki bağımsız etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Benzer biçimde, muamele x depolama interaksiyonun kurumadde düzeyi üzerindeki etkisi de önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Bu durum, ekstrüzyon ve emülsiyon tekniklerinde kullanılan destek materyallerinin (Alginat, Tween 80 gibi) konsantrasyonları arasındaki farklılıktan ileri gelmektedir.

Kaşar peyniri standardı TS 3272'ye göre rutubet miktarının peynirde kütlece en çok % 40 olması yani kurumadde miktarının en az % 60 olması gerektiği belirtilmiştir. Buna göre 90 günlük olgunlaşma süreci sonunda tüm peynir denemelerinin kurumadde içerikleri standarda uygunluk göstermiştir.

Deneme peynirlerinin kurumadde içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 1'de sunulmuştur.

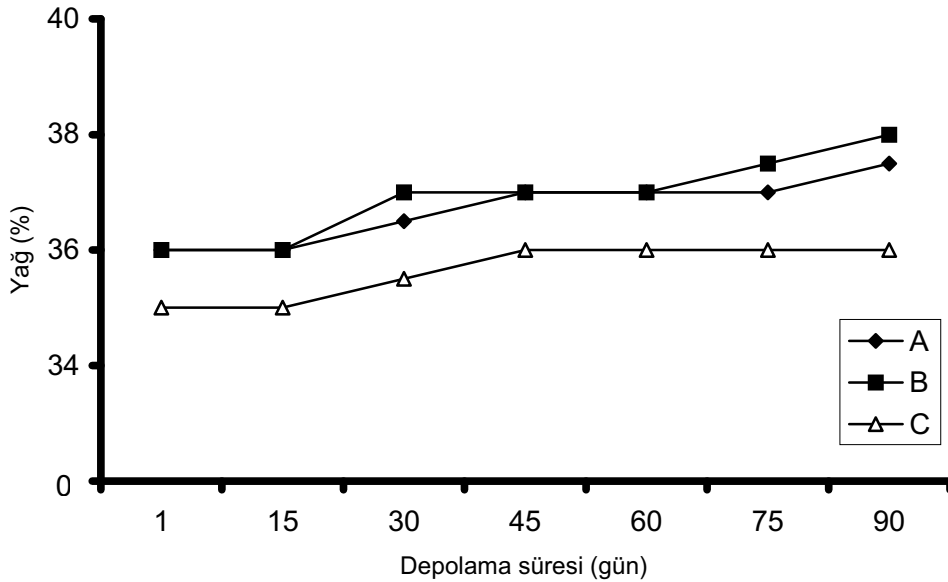
#### **4.2.1.2. Yağ ve kurumadede yağ**

Deneme örneklerinin yağ içeriklerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişimler Şekil 4.2.'de sunulmuştur. Depolama süresi boyunca peynirlerin yağ oranlarında oluşan değişimin aynı süreçte kurumadde oranlarındaki artış ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Depolamanın başlangıcında yağ içerikleri % 35 (Örnek C), % 36 (Örnek A ve B) şeklinde oluşurken, 90 günlük depolama sonucunda A ve B örneklerinde yağ içerikleri ortalama % 38, C örneğinde ise % 36 olarak bulunmuştur. Olgunlaştırma periyodu süresince örneklerin yağ içeriklerinde

meydana gelen değişim istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Muamele x depolama interaksiyonunun yağ içerikleri üzerine etkisi ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

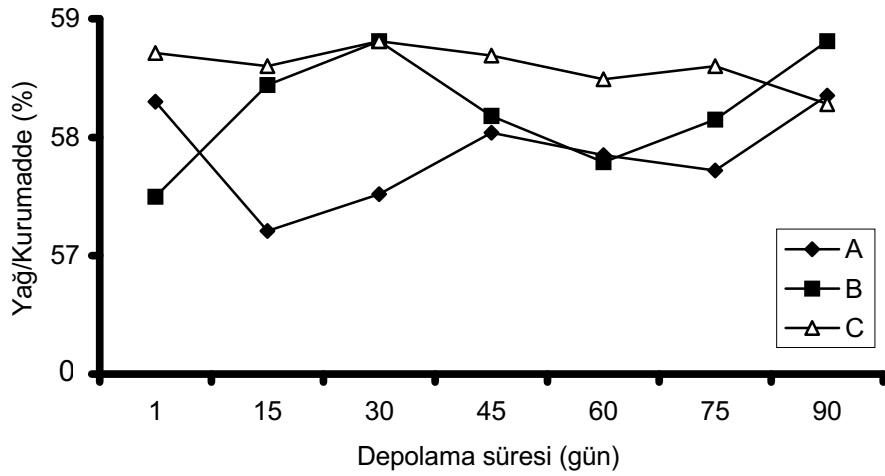
Yaşar (2000), farklı işlem prosesleri uygulayarak ürettiği kaşar peyniri örneklerinde, yağ miktarlarının olgunlaşma periyodu boyunca arttığını belirlemiştir. Farklı haşlama sıcaklıkları uygulanarak elde edilen kaşar peynirlerinde ise, haşlama sıcaklığı arttıkça yağ konsantrasyonu, depolama süresince artış göstermektedir.

Peynir üretiminde kullanılan peynir starter kültürleri ve probiyotik bakterilerin yağ tüketme ya da sentezleme gibi bir mekanizmaları bulunmadığından, yağ içeriklerinde gözlenen değişimler tamamen kurumadde içeriklerindeki dalgalanmalardan kaynaklanmaktadır. Bu nedenle depolama süresince kurumadde içerisindeki yağ miktarındaki değişimin yorumlanması daha doğru bir yaklaşım olarak benimsenmektedir. Deneme örneklerinin kurumaddedeki yağ oranları Şekil 4.3'de sunulmuştur.



Şekil 4.2. Peynir örneklerinin yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

Depolama süresi boyunca, peynir örneklerinin kurumaddede yağ değerleri düzensiz değişimler göstermiştir. Bunun nedeni toplam kurumadde düzeyindeki artış ile birlikte yağ içeriğinin de artmasıdır. İstatistiksel analizlerde farklı uygulamaların kurumaddede yağ miktarları üzerindeki etkilerinin önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Kurumaddede yağ miktarları üzerine muamelelerin ve olgunlaşmanın ortak etkisi ise önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).



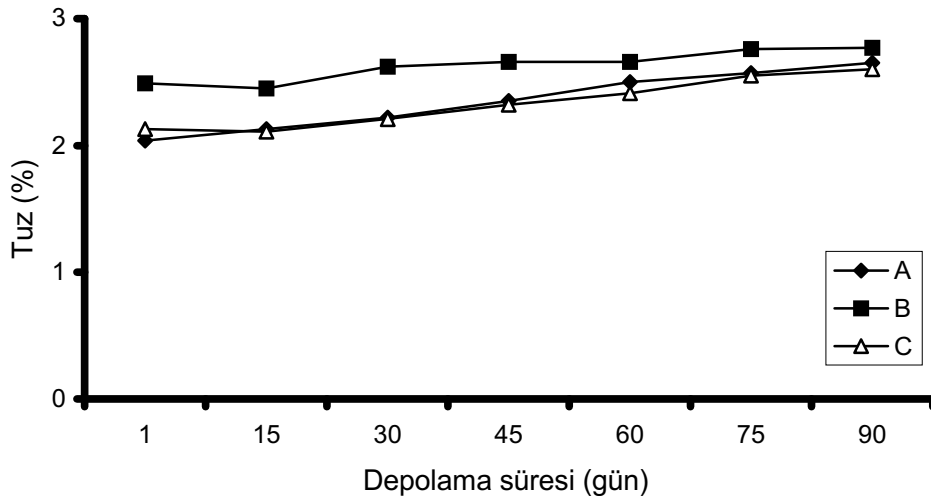
Şekil 4.3. Peynir örneklerinin kurumaddede yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Kaşar peyniri standardı TS 3272'ye göre tam yağlı kaşar peynirinde kurumaddede yağ miktarının en az % 45 (w/w), yağlı kaşar peynirinde kurumaddede yağ miktarının ise en az % 30 (w/w) olması gerekmektedir. Tespit edilen analiz sonuçlarına göre, deneme örneklerinin tamamı, 90 günlük depolama periyodu sonucunda tam yağlı kaşar peyniri standardına uygunluk göstermektedir.

Deneme peynirlerinin yağ ve kurumaddede yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 1'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.3. Tuz ve kurumaddede tuz

Peynir örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.4'de sunulmuştur. Buna göre, depolama süresi boyunca deneme örneklerinin tuz konsantrasyonları % 2.04 ile % 2.49 arasında değişmiştir. Depolamanın ilk gününde en yüksek tuz miktarı % 2.49 ile B örneğinde saptanırken bunu sırasıyla % 2.13 ile C ve % 2.04 ile A örneği izlemiştir. Bu sıralama 90 günlük depolama sonucunda B, A ve C örnekleri şeklinde değişmiştir. Buna göre, 90 gün sonunda B örneğinin tuz içeriği, % 2.77, A örneğinin tuz içeriği % 2.65 ve C örneğinin tuz içeriği % 2.60 düzeyine çıkmıştır. Tuz oranındaki en fazla artış A (kontrol) örneğinde tespit edilmiştir.



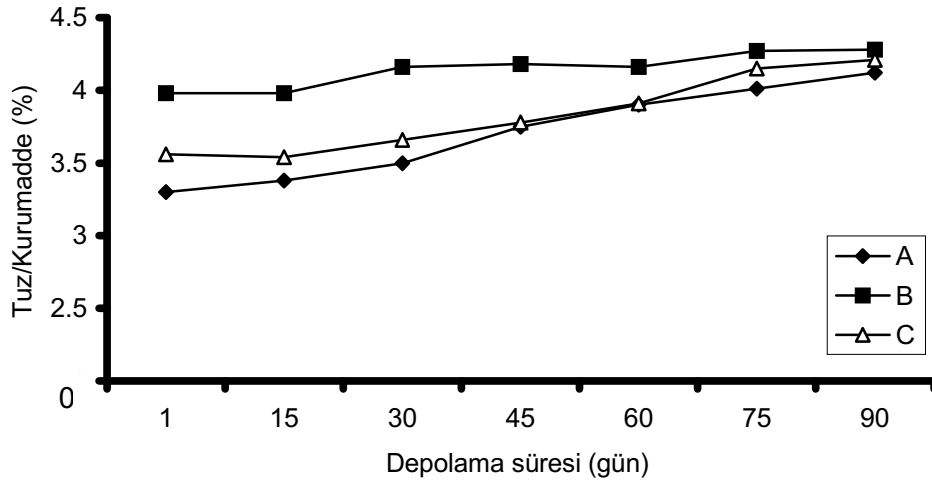
Şekil 4.4. Peynir örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Farklı muamelelerin, peynirlerin tuz içerikleri üzerine etkileri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ) Bu durumun, emülsiyon ve ekstrüsyon yöntemlerinin kurumadde düzeyleri üzerinde yarattığı farklılıktan kaynaklandığı sanılmaktadır.

Peynir kitesinin nem içeriğindeki artışa paralel, tuzun iç bölgelere doğru hareket yeteneğinde de artış meydana gelmektedir. Peynir içerisinde tuzun

penetrasyon derecesi, pıhtının asitliği, peynir kalıbının boyutu ve peynir sıcaklığı gibi faktörlerden etkilenmektedir (Guinee ve Fox, 1987).

Deneme peynirlerinin tuz içeriği ile nem içeriği arasında direkt bir ilişki bulunduğundan, daha sağlıklı bir değerlendirme yapılabilmesi için, tuz içeriğinin kurumadde içeriisindeki oranının yorumlanması gerekmektedir. Peynir örneklerinin kurumadede tuz oranları Şekil 4.5' de sunulmuştur. Şekil 4.5.'de görüldüğü gibi tüm örneklerin kurumadede tuz oranları depolama süreci boyunca önemli düzeyde artışlar göstermiştir.



Şekil 4.5. Peynir örneklerinin kurumadede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

A, B ve C örneklerinin depolamanın başlangıcındaki kurumadede tuz oranları sırasıyla % 3.30, % 3.98 ve % 3.56 iken 90 günlük depolama periyodu sonunda sırasıyla % 4.12, % 4.28 ve % 4.21 şeklinde tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, Oysun ve Çon (1990), Tavacı (1997) ve Yaşar (2000) tarafından da bildirilmektedir. Örneklere uygulanan muamelelerin ve depolama sürecinin kurumadede tuz içerikleri üzerine bağımsız etkilerinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $P < 0.05$ ). Depolama x muamele interaksiyonun kurumadede tuz oranları üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $P < 0.05$ ).

Kaşar peyniri standardı TS 3272'ye göre kaşar peynirinde tuz oranının kurumaddede ağırlıkça % 3-7 (w/w) arasında olması gerekmektedir. Elde edilen analiz sonuçlarına göre, deneme örneklerinin tümü, 90 günlük depolama periyodu sonucunda yürürlükteki kaşar peyniri standardına uygunluk göstermektedir.

Deneme peynirlerinin tuz ve kurumaddede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 1'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.4. pH

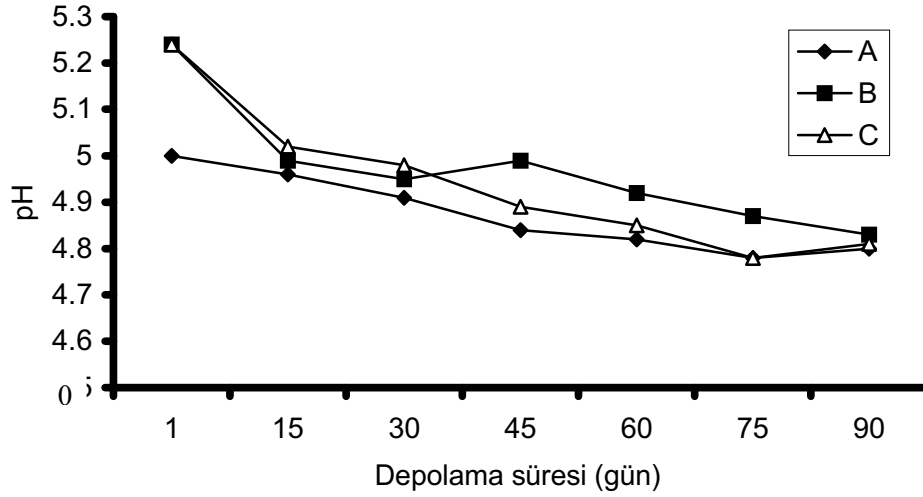
Peynirin olgunlaşma aşamasında etkili olan enzim faaliyetlerini düzenleyici bir role sahip olması bakımından pH, kalite üzerinde etkili bir faktör olarak değerlendirilmektedir. Peynirde pH üzerinde etkili gruplar serbest bazik bileşikler, serbest nötral tampon maddeler, proteine bağlı asidik ve bazik gruplar ile serbest organik asitlerdir (Yaygın ve Kılıç, 1991). Bu maddelerin bir bölümü çiğ süt kökenli bir bölümü ise mikroorganizma aktiviteleri sonucu oluşmaktadır. Süt ve süt ürünlerinde en önemli asitlik kaynağı olan laktoz peynir yapımı sırasında kısmen hidrolize olmakta ve büyük oranda peynir suyu ile birlikte pıhtıdan uzaklaşmaktadır. Laktoz hidrolizasyonuna bağlı olarak peynirde pH azalmaktadır. Ancak, bu azalış hidrolizasyon ile doğrusal değildir. Bunun nedeni, yüksek oranda protein içeriğine sahip ürünün tampon kapasitesinde meydana gelen artıştır (Yılmaztekin, 2001).

Deneme peynirlerine ait pH değerleri Şekil 4.6'da sunulmuştur. Buna göre deneme peynirlerinin pH değerleri 90 günlük depolama periyodu boyunca azalmıştır. Depolamanın başlangıcında, B ve C örneklerinin pH değerleri aynı olurken (pH 5.20), kontrol (A) örneği daha düşük pH değerine sahip olmuştur (pH 5.00). 90 günlük depolama sonunda tüm örneklerde pH değerleri birbirine yakın bulunmuştur.

Depolama süresinin pH değerleri üzerindeki ortak etkisi istatistiksel açıdan önemli bulunurken ( $P < 0.05$ ), muamelelerin etkisi önemsiz düzeyde gerçekleşmiştir ( $P > 0.05$ ). Kaşar peyniri üretiminde kullanılan probiyotik bakterilerin kapsül dışına



$\beta$ -galaktosidaz enzimi sentezlemeleri söz konusu olmadığından, probiyotik suşların asitlik gelişimine katkı yapmaları mümkün olmamaktadır.



Şekil 4.6. Peynir örneklerinin pH içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

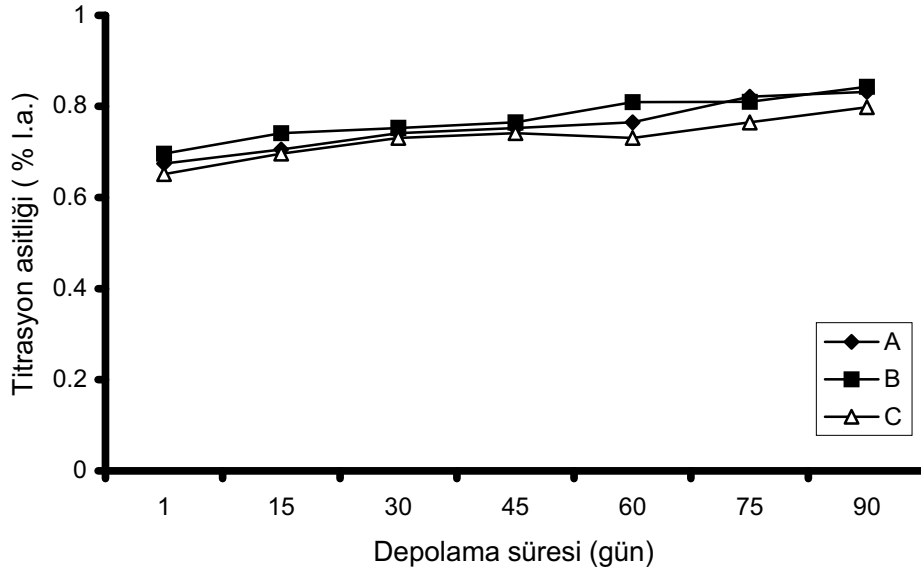
Denemeler sonucunda elde edilen pH değerleri Metin ve Öztürk (1991) tarafından bildirilen değerler ile benzerlik göstermektedir.

Deneme peynirlerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 1'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.5. Titrasyon asitliği (% l.a.)

Peynirde asitlik gelişimi, sütün pıhtılaşması ile başlamakta ve olgunlaşma periyodu boyunca sürmektedir. Peynirde toplam asitlik kaynakları laktozun fermantasyon ürünü olan laktik asit, asetik asit, formik asit, bütirik asit, lipoliz sonucu oluşan serbest yağ asitleri ve proteolizin bir sonucu olarak ortaya çıkan serbest aminoasitlerdir (Yılmaztekin, 2001).

Deneme peynirlerine ait titrasyon asitliği değerleri değişimi % laktik asit (% l.a.) cinsinden Şekil 4.7'de sunulmuştur. Depolama sũresince pH değerlerindeki dũřuře paralel olarak toplam asitlik değerlerinde sũrekli bir artuşla karşılaşılmış ve depolamanın peynir denemelerinin toplam asitlik değerleri ũzerine etkileri ˆnemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ).



Şekil 4.7. Peynir ˆrneklerinin titrasyon asitliği içeriklerinde depolama sũresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrũsion, C: Emũlsion)

Depolama periyodunun başlangıcında, titrasyon asitliği değerleri % 0.652-0.697 l.a. aralığında değişirken, bu değerler 90 gũn sonunda % 0.798-0.843 l.a. olarak tespit edilmiştir. Peynir denemelerine uygulanan farklı muamelelerin titrasyon asitliği ũzerine etkileri ˆnemli bulunurken ( $P<0.01$ ), depolama x muamelelerin interaksiyon etkisinin ˆnemsiz olduğu belirlenmiştir ( $P>0.01$ ).

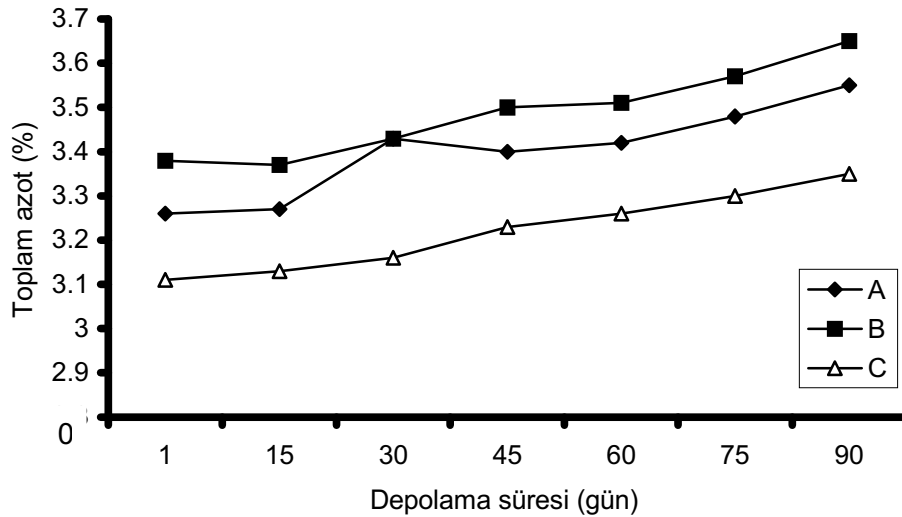
Deneme peynirlerinin titrasyon asitliği değerlerinde depolama sũresince meydana gelen değişimler (% l.a.) Ek 1'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.6. Toplam azot (TN)

Peynirlerde toplam azot (TN) hem protein içeriklerinin hem de proteoliz düzeyinin hesaplanmasında kullanılmaktadır. (Law, 1987).

Peynir örneklerinin toplam azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Şekil 4.8'de sunulmuştur. Depolama periyodu boyunca deneme peynirlerinde toplam azot değişimlerinin istatistiksel açıdan farklı olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Toplam azot miktarında en fazla artış A örneğinde yaşanmış ve bunu sırasıyla B ve C örnekleri izlemiştir.

İstatistiksel olarak depolama periyodunun toplam azot içerikleri üzerinde etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama sürecinin başlangıcında, örneklerin toplam azot içerikleri % 3.11 ile % 3.38 arasında değişmiş ve uygulanan muamelelerin toplam azot miktarı üzerindeki etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama x muamelelerin interaksiyonunun etkisi de önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).



Şekil 4.8. Peynir örneklerinin toplam azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

Yaşar (2000), farklı ısıl işlem prosesleri uygulayarak ürettiği vakum paketlenmiş kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresince toplam azot içeriğinin arttığını belirtmiştir.

Kocabaş (2001), Zonguldak yöresinde üretilen vakum ambalajlı kaşar peynirlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler üzerine yaptığı çalışmada örneklerin depolama süresince toplam azot miktarlarında artışlar olduğunu tespit etmiştir.

Deneme peynirlerinin toplam azot içerikleri standart hataları ile birlikte Ek 2'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.7. Suda çözünen azot (WSN)

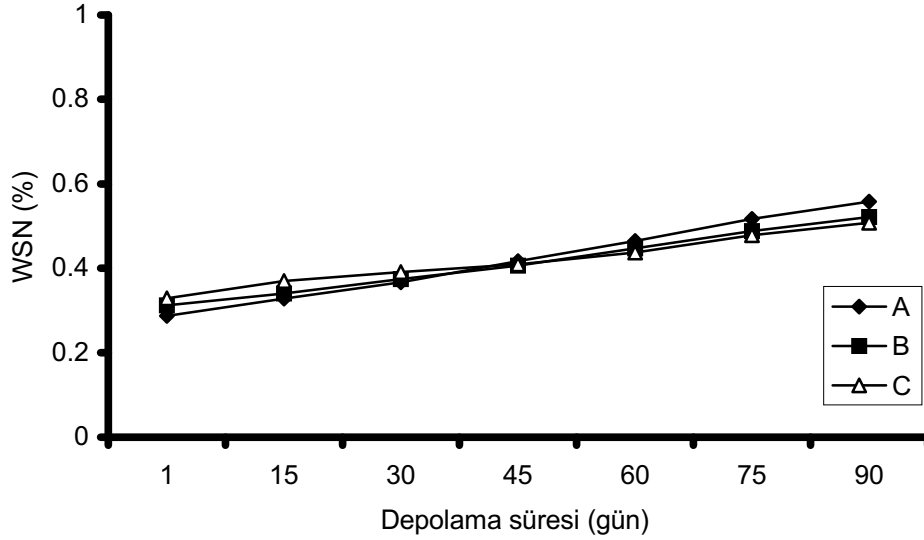
Proteoliz, peynire özgün tat/ aroma ve yapı özelliği kazandıran en önemli biyokimyasal olaydır. Süte starter kültür ve maya ilavesi ile başlayan ve sütün maya ile pıhtılaşmasından sonra belirgin hale gelen proteoliz, mikroorganizma ve enzimlerin etkisiyle olgunlaşma süresince meydana gelen dinamik bir biyokimyasal olaydır. Peynirlerde WSN değişimlerinin izlenmesi, olgunlaşmanın seyri hakkında bilgiler vermektedir (Fox ve ark., 2000).

Farklı muameleler uygulanarak üretilmiş kaşar peyniri örneklerinin 90 günlük depolama periyodu boyunca WSN içeriklerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.9'da sunulmuştur. Beklenildiği gibi tüm peynir örneklerinde, WSN miktarları depolama boyunca artış göstermiştir. Depolama başlangıcına göre en fazla artış A örneğinde tespit edilmiş bunu sırasıyla B ve C örnekleri takip etmiştir.

Literatürlerde, inek sütünden yapılan peynirlerin WSN değerlerinde depolama süresince bir artış meydana geldiği bildirilmektedir. Bunun nedeninin depolama sırasında proteinlerin bir kısmının hidrolize olarak suda eriyen bileşikler haline dönüşmesi olduğu düşünülmektedir. WSN miktarındaki artış pastörize süttten üretilen

peynirlerde çiğ sütten üretilen peynirlere oranla daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, ısı işlem ile birlikte serum proteinlerinin denatüre olması ve pıhtı içerisinde tutulmasına bağlanmaktadır. Proteolitik enzimlerin, denatüre serum proteinlerini daha hızlı ve yoğun bir şekilde hidrolize ettiği bildirilmektedir (Grapin ve Beuvier 1997).

Uygulanan varyans analizi sonucuna göre, depolamanın WSN içeriği üzerine etkisi  $P<0.01$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Peynirlere uygulanan farklı muamelelerin WSN içeriği üzerine etkisi ise  $P>0.01$  düzeyinde önemsiz bulunmuştur. Depolama x muamele interaksiyonlarının WSN içeriği üzerine etkisi de önemli bulunmuştur ( $P<0.01$ ).



Şekil 4.9. Peynir örneklerinin suda çözünen azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

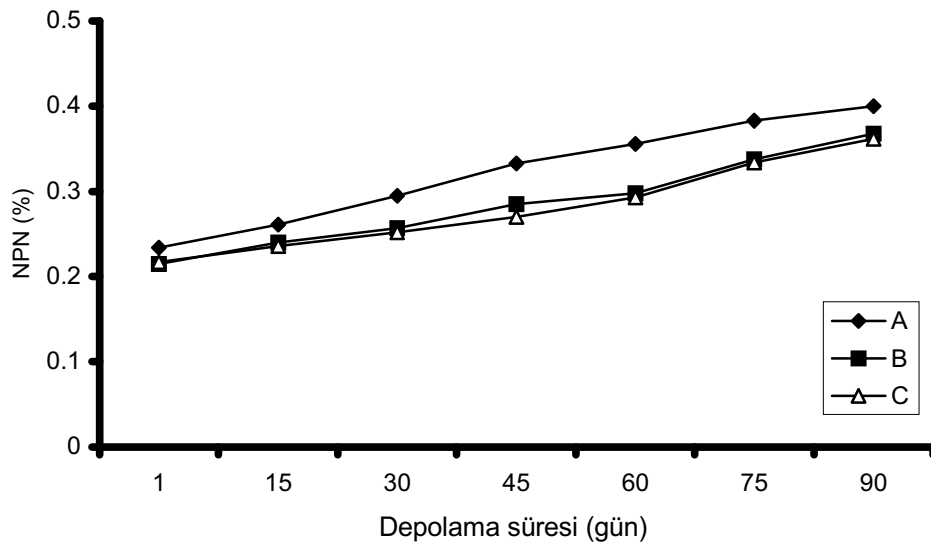
Elde edilen sonuçlar, Yaşar (2000) ve Kocabaş (2001)'in bulguları ile benzerlik göstermektedir.

Deneme peynirlerinin WSN içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 2'de sunulmuştur.

#### 4.2.1.8. Protein olmayan azot (NPN)

% 12'lik triklor asetik asitte (TCA) çözünen azot olarak da bilinen protein olmayan azot (NPN), düşük molekül ağırlıklı proteoliz ürünlerinin konsantrasyonunun belirlenmesi ve peynir olgunlaşmasının yorumlanmasında kullanılan önemli bir azot fraksiyonudur. Azotlu bileşiklerin son parçalanma ürünleri olan, küçük molekül ağırlıklı peptitleri, aminoasitleri ve amonyağı içeren protein olmayan azot düzeyi, proteolizin ileri aşamaları hakkında bilgi veren önemli bir parametredir (Anonim, 1991). Proteoliz sonucu açığa çıkan parçalanma ürünlerinin çeşit ve miktarı, peynirin özgün tat/ aroma ve tekstürel özelliklerinin oluşumunda etkilidir. Protein parçalanması sonucu açığa çıkan protein olmayan azot bileşikler, toplam ve suda eriyen azot bileşikler içerisinde önemli yer tutmaktadır (Yılmaztekin, 2001).

Peynir örneklerinin NPN konsantrasyonunda depolama süresince oluşan değişimler Şekil 4.10'da sunulmuştur. Buna göre deneme peynirlerinde en yüksek NPN değerine A, en düşük değere C örneği sahip iken depolama başlangıcına göre NPN içeriğindeki en fazla artış sıralaması B, A, C örnekleri şeklinde gerçekleşmiştir.



Şekil 4.10. Peynir örneklerinin NPN içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Depolama süresince tüm peynir örneklerinin NPN değerleri artış göstermiştir. Bu artışın, depolama süresince meydana gelen biyokimyasal olaylar ile proteinlerin hidrolizasyonu sonucu protein olmayan azotlu bileşiklerin açığa çıkmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Peynirlere uygulanan muamelelerin NPN içeriği üzerine etkisi  $P<0.01$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama ve depolama x muamele interaksiyonlarının da NPN içeriği üzerine etkilerinin istatistiksel açıdan önemli olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.01$ ).

Yaşar (2000) ve Kocabaş (2001)'de kaşar peynirlerinde depolama boyunca protein olmayan azot miktarlarında artış olduğunu bildirmişlerdir.

Deneme peynirlerinin suda çözünen azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 2'de sunulmuştur.

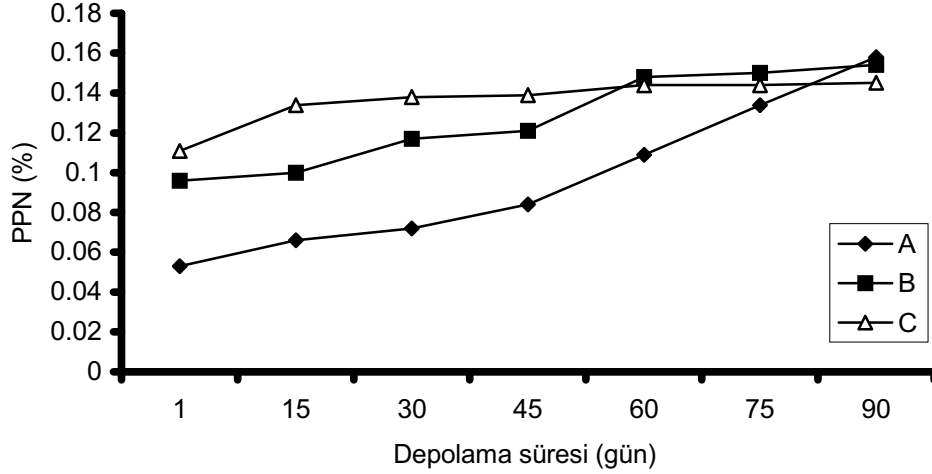
#### 4.2.1.9. Proteoz-pepton azotu (PPN)

Suda çözünen azotun %12'lik triklor asetik asit (TCA) ile pıhtılaşan bölümünü oluşturan proteoz-pepton azotu, peynir olgunlaşmasının saptanmasında kullanılan indikatör azot fraksiyonları arasında yer almaktadır ( Uysal ve ark., 1996).

Proteoz-pepton azotu (PPN), suda çözünür azot (WSN) ile protein olmayan azot (NPN) arasındaki fark olarak ifade edilmektedir. Deneme örneklerinin depolama süresince PPN içeriklerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.11'de sunulmuştur.

Deneme örneklerinden elde edilen sonuçlara göre; depolamanın başlangıcından sonuna kadar A ve B örneklerinin PPN değerlerinde sürekli bir artış görülmektedir. C örneğinde ise depolamanın ilk 15 gününden sonra PPN değerlerinin hemen hemen değişmeden kaldığı görülmüştür.

Farklı muamelelerin PPN içeriği üzerine etkisini incelemek amacıyla uygulanan varyans analizine göre muamelelerin  $P<0.01$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Depolamanın PPN içeriği üzerine etkisi de  $P<0.01$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Depolama x muamele interaksiyonunda PPN üzerine etkisinin önemli olduğu görülmüştür ( $P<0.01$ ).



Şekil 4.11. Peynir örneklerinin PPN içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Deneme peynirlerinin PPN değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler Ek 2’de sunulmuştur.

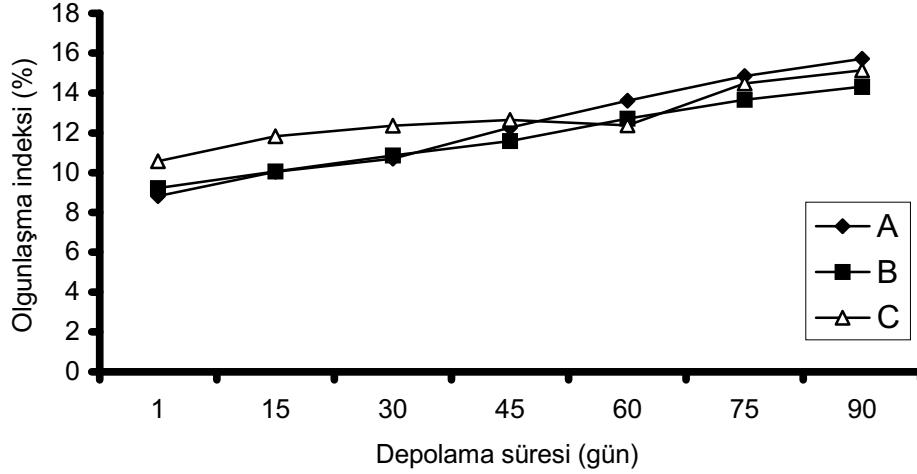
#### 4.2.1.10. Olgunlaşma indeksi (OI)

Peynirlerde olgunlaşmanın bir kriteri olarak kabul edilen WSN, peynirin protein ve su içeriğine göre geniş sınırlar arasında değişebilen bir parametre olduğundan, peynirlerin olgunlaşma düzeylerinin belirlenmesinde WSN’nin toplam azota oranı olarak ifade edilen olgunlaşma indeksinden (OI) yararlanılmaktadır (Yılmaztekin, 2001).

Deneme peynirlerinin depolama boyunca olgunlaşma indeksi değerlerinde meydana gelen değişimler Şekil 4.12’de sunulmuştur. Şekil 4.12 incelendiğinde tüm



örneklerin olgunlaşma indeksi değerlerinin arttığı görülmektedir. Depolamanın başlangıcında en yüksek olgunlaşma indeksi değerine % 10.58 ile C örneği, % 9.22 ile B örneği ve % 8.82 ile A örneği sahip iken 90 günlük depolama sonunda en yüksek olgunlaşma indeksi değerine A örneğinde % 15.72 ile ulaşılmış bunu % 15.14 ile C örneği ve % 14.32 ile B örneği takip etmiştir.



Şekil 4.12. Peynir örneklerinin Oİ değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

Genel olarak, her üç peynir örneği de 90 günlük olgunlaşma evresi sonunda yeterli olgunluk seviyesine ulaşamamıştır. Bu olumsuzluğun giderilebilmesi için yüksek proteolitik kapasiteye sahip starter bakteri suşlarının seçimi veya koagülant maya miktarının artırılması pratikte olumlu sonuç verebilmektedir.

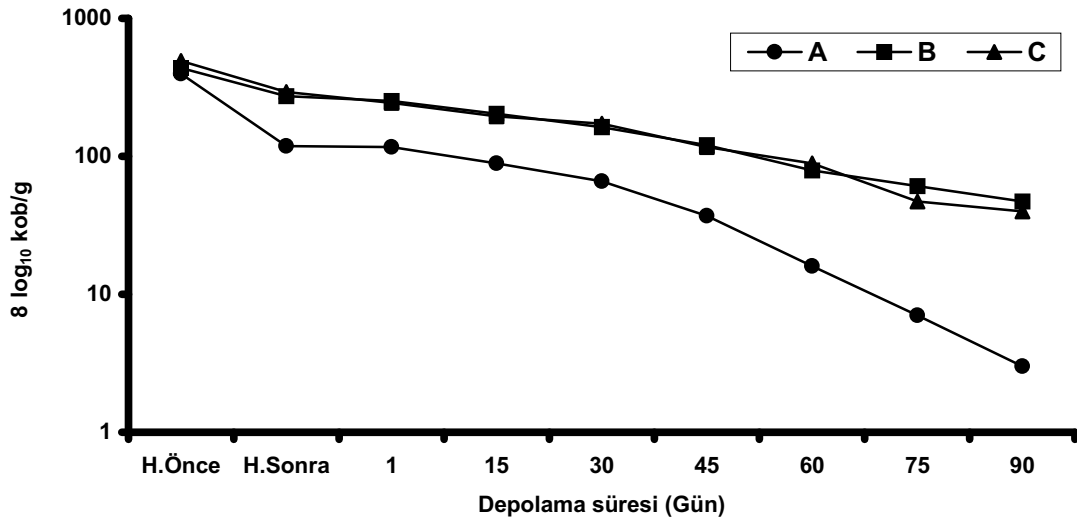
Deneme örneklerine uygulanan muameleler, depolama ve depolama x muamele interaksiyonunun Oİ üzerindeki etkileri önemli bulunmuştur ( $P < 0.01$ ).

Deneme peynirlerinin Oİ değerleri Ek 2'de sunulmuştur.

#### 4.2.2. Mikrobiyolojik özellikler

##### 4.2.2.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Deneme örneklerine ait toplam aerobik mezofilik (TAMB) sayısı Şekil 4.13.'de sunulmuştur.



Şekil 4.13. Peynir örneklerinin depolama süresince TAMB sayısında meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Haşlama işlemi, her üç peynir grubunda da TAMB sayısında önemli düzeyde azalmaya neden olmuştur ( $P < 0.05$ ). Haşlama işlemi öncesi kontrol (A), ekstrüsyon (B) ve emülsiyon (C) teknikleri ile kapsüle alınan probiyotik bakterileri içeren peynirlerin TAMB sayıları sırasıyla  $3.9 \times 10^{10}$  kob/g,  $4.3 \times 10^{10}$  kob/g ve  $4.9 \times 10^{10}$  kob/g iken, bu değerler haşlama işlemi sonunda aynı sıra ile  $1.2 \times 10^{10}$  kob/g,  $2.7 \times 10^{10}$  kob/g ve  $2.9 \times 10^{10}$  kob/g düzeyine düşmüştür. Bu durumda mezofilik bakterilerin sıcaklık stresine karşı dayanıksızlığının yanı sıra haşlama işlemi sırasında ortamın serbest oksijen konsantrasyonundaki azalmanın yol açtığı düşünülmektedir. Depolama süresi boyunca deneme peynirlerinin TAMB sayılarında düzenli bir azalma ile karşılaşmıştır. TAMB sayılarındaki azalmanın mikrokapsül tekniğinden bağımsız olduğu saptanmıştır. Vakum paketlemenin de TAMB sayısının azalmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

Muamelelerin TAMB sayısı üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunurken ( $P>0.05$ ), depolama sürecinin etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Depolama süresi boyunca deneme örneklerinin TAMB sayılarında gözlenen azalmalar, peynir kitlesinin tuz konsantrasyonu ile ilişkilidir. Bilindiği gibi bir çok bakteri suşunun tuza karşı toleransı oldukça düşüktür (Uraz ve Özer, 1999). Genel olarak; peynir kitlesine tuz penetrasyonu eğilimi ile TAMB sayılarındaki azalma eğilimi paralellik göstermektedir.

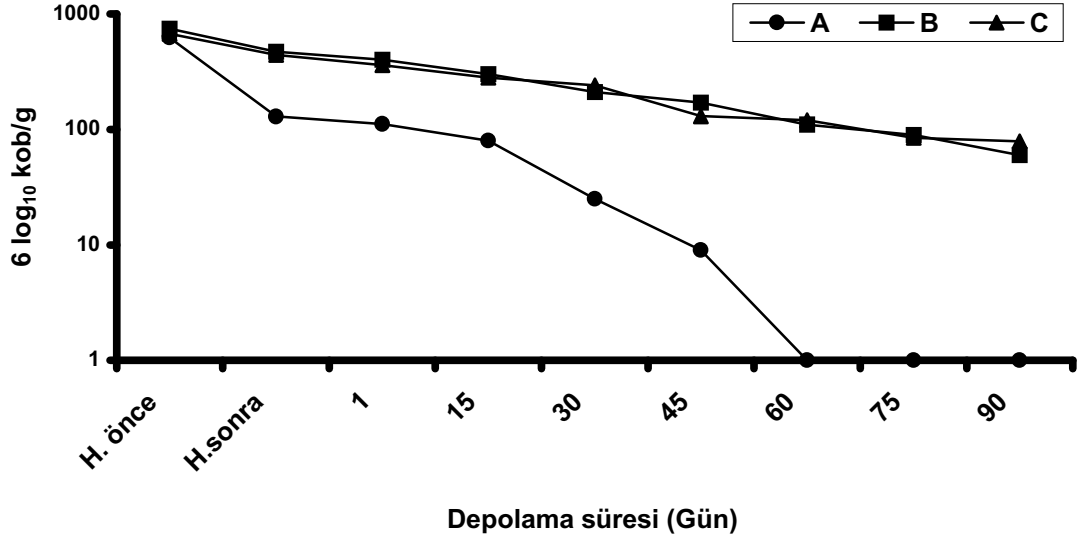
Türk Standartları Enstitüsü Kaşar Peyniri Standardı'nda (TS 3272) toplam canlı koloni sayısı sınırlandırılmamıştır (Anonim, 1989).

#### 4.2.2.2. *L.acidophilus* LA-5 ve *B.bifidum* BB-12 sayıları

Deneme örneklerine ait *B. bifidum* BB-12 canlı koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişimler Şekil 4.14'de verilmiştir. Haşlama öncesi A, B ve C peynirlerinin *B. bifidum* BB-12 sayıları sırasıyla  $3.9 \times 10^8$  kob/g,  $4.4 \times 10^8$  kob/g ve  $4.9 \times 10^8$  düzeyinde yer alırken, haşlama işlemi ile birlikte A (kontrol) örneğinde *B. bifidum* BB-12 canlı koloni sayısı yaklaşık  $1 \log_{10}$ 'luk bir azalma göstermiştir. Buna karşın, emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri ile kapsüle alınan *B. bifidum* BB-12 kolonilerinin sayısında haşlama işlemi sonunda önemsiz bir azalma kaydedilmiştir. Depolama süresi boyunca A örneğinde *B. bifidum* BB-12 koloni sayılarında sürekli bir azalma meydana gelmiştir. Bu azalma depolamanın 15. gününden sonra daha belirginleşmiştir. Bu eğilim, tuz penetrasyon hızı ile uyum içerisindedir. Depolamanın 60. gününde kontrol örneğinde canlı *B. bifidum* BB-12 kolonisi tamamen ortadan kalkmıştır.

Kontrol örneğinin (A) aksine, B ve C örneklerinde depolama süresince *B. bifidum* BB-12 koloni sayısında gözlenen azalma sınırlı düzeyde kalmıştır. Emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri arasında, *B. bifidum* BB-12 kolonilerinin canlılıkları üzerindeki etkileri bakımından bir farklılık kaydedilmemiştir. 90 günlük

depolama sonunda B ve C örneklerinin *B. bifidum* BB-12 koloni sayıları sırasıyla  $2.1 \times 10^7$  kob/g ve  $1.5 \times 10^7$  kob/g olarak bulunmuştur.



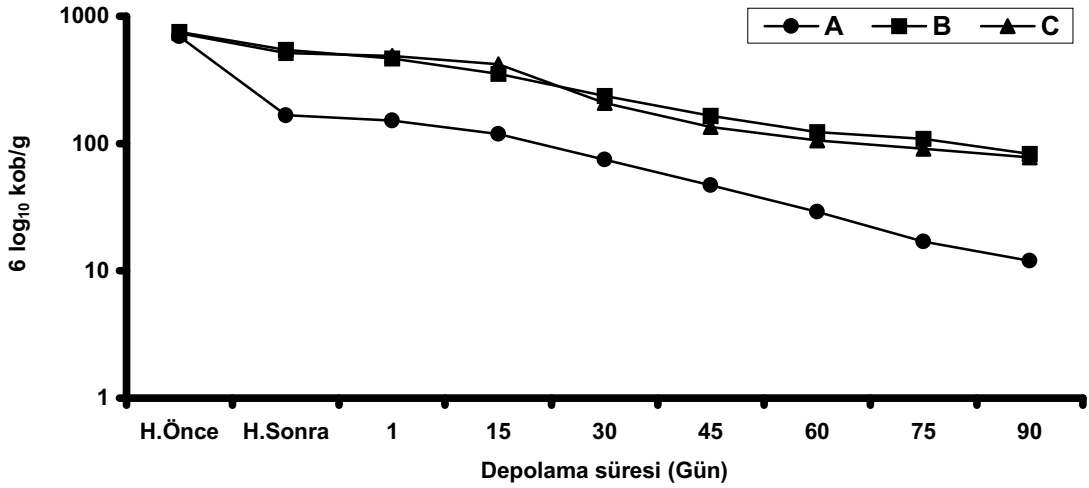
Şekil 4.14. Peynir örneklerinin depolama süresince *B. bifidum* BB-12 sayısında meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsiyon, C: Emülsiyon)

Probiyotik bakterilerin kaşar peynirinde canlı kalma düzeyleri üzerine literatürlerde bir çalışma yer almamaktadır. Ancak, üretim teknolojisi açısından kaşar peyniri ile benzerlik gösteren çedar (cheddar) peyniri üzerinde gerçekleştirilen araştırmalarda probiyotik suşların kısmen canlılıklarının korundukları bildirilmiştir (Gardiner ve ark., 1999; Daigle ve ark., 1999; Stanton ve ark., 1998).

*B. bifidum*'un peynirde gelişimini sınırlayan en önemli faktörler çözünmüş oksijen ve tuz konsantrasyonudur. Peynir üretiminde oksijen içeriği ilk 2-3 hafta içerisinde tamamen ortadan kalkmaktadır. Dolayısıyla anaerob karakter taşıyan *B. bifidum*'un depolamanın ileri evrelerinde peynirde hızla çoğalmaları beklenmektedir. Ancak, tuz penetrasyonuna bağlı olarak *B. bifidum* BB-12'de gözlenen lize olma nedeniyle sonradan ortamın bu organizmanın gelişimi için uygun hale gelmesi fazla bir etki göstermemiştir.

Denemede kullanılan bir diğer probiyotik bakteri olan *L. acidophilus* LA-5, kontrol örneğinde depolama süresi boyunca canlılığını kısmen korumuştur.

*B. bifidum* BB-12’de olduğu gibi haşlama işlemi kontrol örneğinin *L. acidophilus* LA-5 koloni sayısında 1 log<sub>10</sub>’luk bir azalmaya yol açmıştır. Buna karşın, bu örnekte *L. acidophilus* LA-5 koloni sayısının 90 gün boyunca sınırlı ancak sürekli bir azalma göstererek 1.1 x 10<sup>7</sup> kob/g düzeyine inmiştir. Deneme örneklerine ait *L. acidophilus* LA-5 canlı koloni sayılarında depolama süresi boyunca meydana gelen değişimler Şekil 4.15’de verilmiştir. Haşlama işleminin, emülsiyon ve ekstrsiyon teknikleri ile mikrokapsüle alınan *L. acidophilus* LA-5 sayısı üzerindeki etkisinin önemsiz olduğu belirlenmiştir. Genel olarak; her iki kapsülleme tekniği arasında bakteri korunumu açısından fark olmadığı ve kapsüle alınan probiyotik bakterilerin 90 günlük depolama sonunda ulaştığı düzeyin terapatik etki için yeterli olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.15. Peynir rneklerinin depolama süresince *L. acidophilus* LA-5 sayısında meydana gelen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsiyon, C: Emülsiyon)

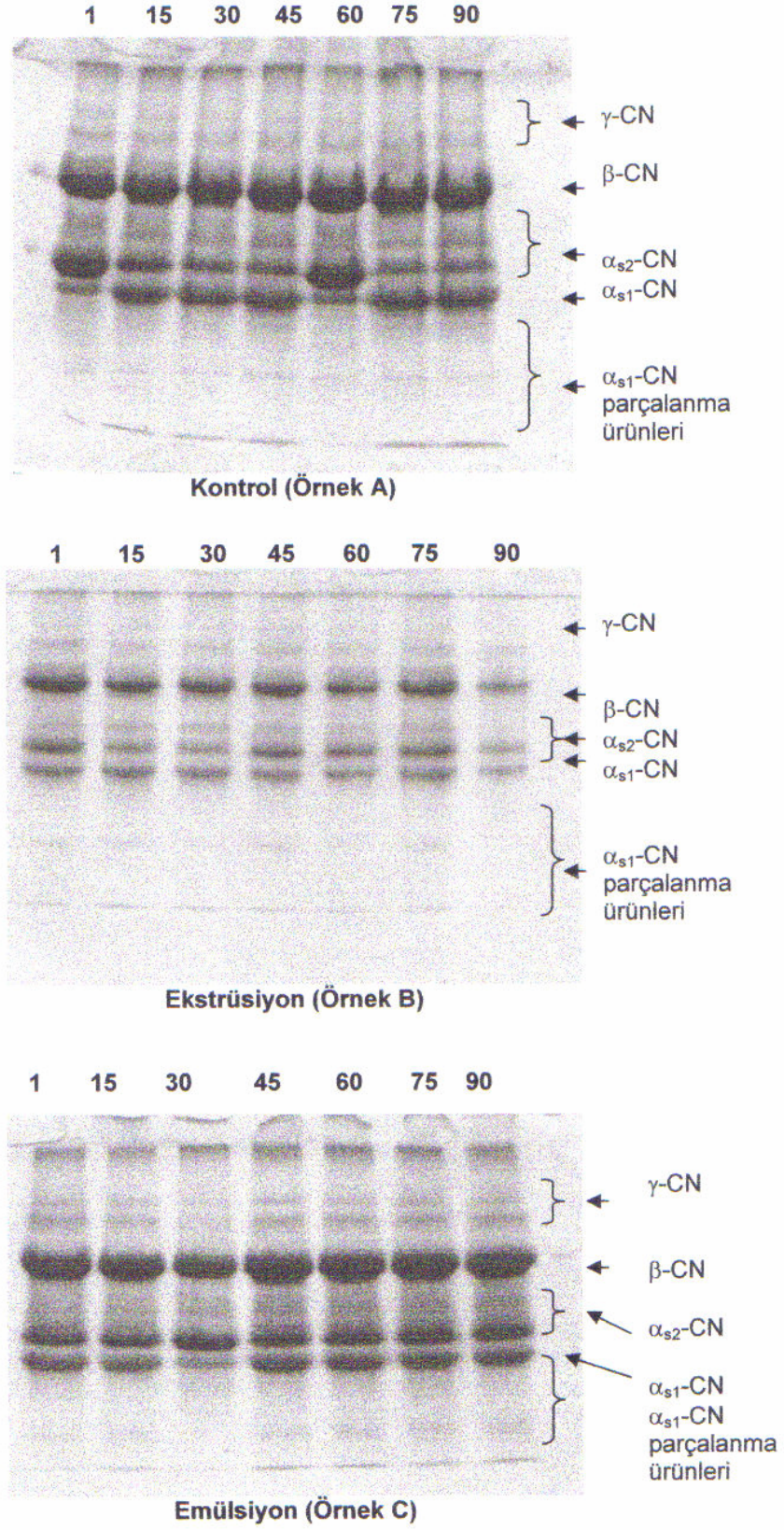
#### 4.2.3. Elektroforetik zellikler

Deneme peynirlerinin elektroforetik zellikleri Şekil 4.16’da sunulmuştur. Genel olarak depolama süresi boyunca kaşar peyniri örneklerinde proteolizin çok yavaş seyrettiği saptanmıştır. Özellikle  $\beta$ -kazein ( $\beta$ -CN) fraksiyonunda meydana gelen proteoliz sınırlı olmuştur. Yalnızca, ekstrsiyon tekniği ile üretilen peynir rneğinde (B rneği) depolamanın 90. gününde  $\beta$ -CN fraksiyonunu temsil eden bant

yoğunluğunda azalma belirlenmiştir. Benzer şekilde  $\alpha_{s1}$ -CN ve  $\alpha_{s2}$ -CN fraksiyonlarında da proteolitik hidrolizasyon düzeyinin sınırlı olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, özellikle depolamanın ileri evrelerinde (60.-90. günler arası)  $\alpha_{s2}$ -CN'i temsil eden bant yoğunluğunun kısmen azaldığı görülmüştür. Her üç örnekte de,  $\gamma$ -CN ile  $\alpha_{s1}$ -CN degradasyon ürünlerini temsil eden bantların varlığı tespit edilmiştir.

Elde edilen bu sonuçlar, azot fraksiyonlarındaki (WSN, NPN, PPN ve Oİ) değişimler ile uyumlu bulunmuştur. Beklenildiği gibi, mikrokapsülleme işleminin kaşar peynirinde proteoliz üzerindeki etkileri sınırlı olmuştur. Bunun nedeni, proteolitik enzimlerin kapsülü oluşturan matriksin dışına sentezlenememesidir. Kapsülü oluşturan matriksin mikroskopik ölçekte gözenek boyudur, proteolitik enzimlerin molekül büyüklüklerinden daha küçük olmasıdır. Ek olarak, probiyotik bakterilerin proteolitik yetenekleri oldukça sınırlıdır (Tamime ve ark., 1995). Ayrıca, kaşar peyniri gibi pıhtısı haşlanan peynirlerde proteoliz, klasik yarı-sert ve/veya yumuşak peynirlere oranla daha yavaş gelişmektedir (Fox ve ark., 2000).

Probiyotik kaşar peynirinde yeterli proteolitik kapasitenin yakalanabilmesi için proteoliz kapasitesi yüksek termofilik suşların seçimi ya da koagülant maya miktarının artırılması pratikte yarar sağlamaktadır.

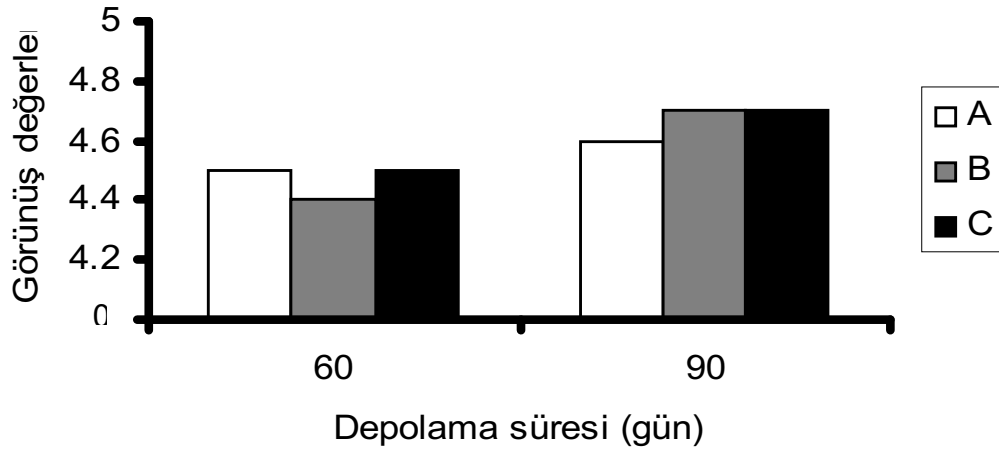


Şekil 4.16. Depolama süresince deneme peynirlerinde meydana gelen elektroforetik değişimler

#### 4.2.4. Duyusal özellikler

Deneme peynirlerinin duysal özellikleri depolama periyodunun 60. ve 90. günlerinde hedonik değerlendirme modeline göre tespit edilmiştir. Tesadüfi sıra ile 10 deneyimli panelist grubuna sunulan peynir örnekleri Bölüm 3'te Çizelge 3.1'de sunulan duysal analiz formunda belirtilen parametrelere göre değerlendirilmiştir.

Depolama periyodunun 60. gününde A ve C örneklerinin görünüş skorları birbirine çok yakın, B örneğinin ise bu iki örneğe oranla kısmen daha düşük olduğu bulunmuştur. Depolamanın 90. gününde tüm örneklerin görünüş puanlarında artış tespit edilmiştir. Bu depolama gününde B ve C örnekleri aynı değerlere sahip iken, A örneğine daha düşük puan verilmiştir. Depolamanın 60. ve 90. günlerinde peynirlerin görünüş skorlarındaki değişim Şekil 4.17'de sunulmuştur. B ve C örneğinde kullanılan probiyotik mikrokapsüller panelistler tarafından tespit edilmemiş ve genel görünüş üzerine olumsuz etki yapmamıştır.

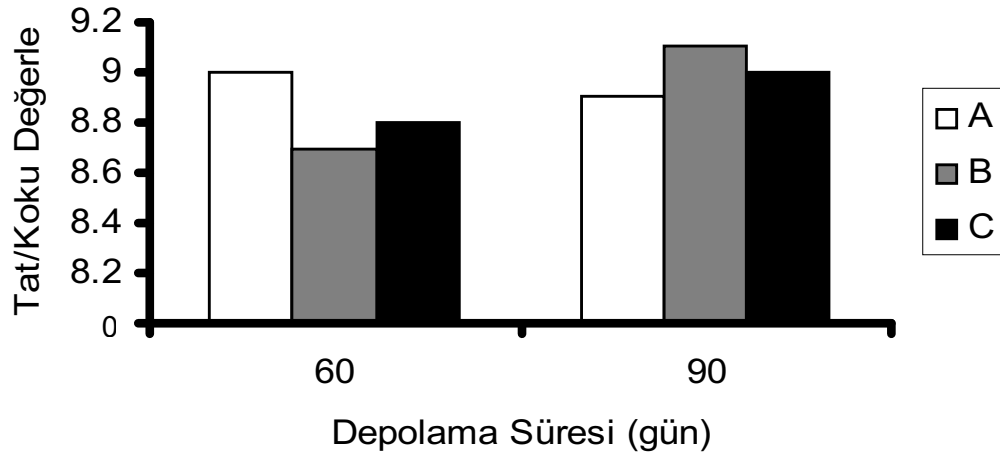


Şekil 4.17. Peynirlerin görünüşünde depolama süresince belirlenen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüzyon, C: Emülsiyon)

Deneme örneklerinin tat/koku parametresine göre duysal değerlendirilmesinde depolamanın 60. gününde en yüksek değeri A örneği almış, bunu sırasıyla C ve B örnekleri takip etmiştir. Depolamanın 90. gününde ise tat/koku

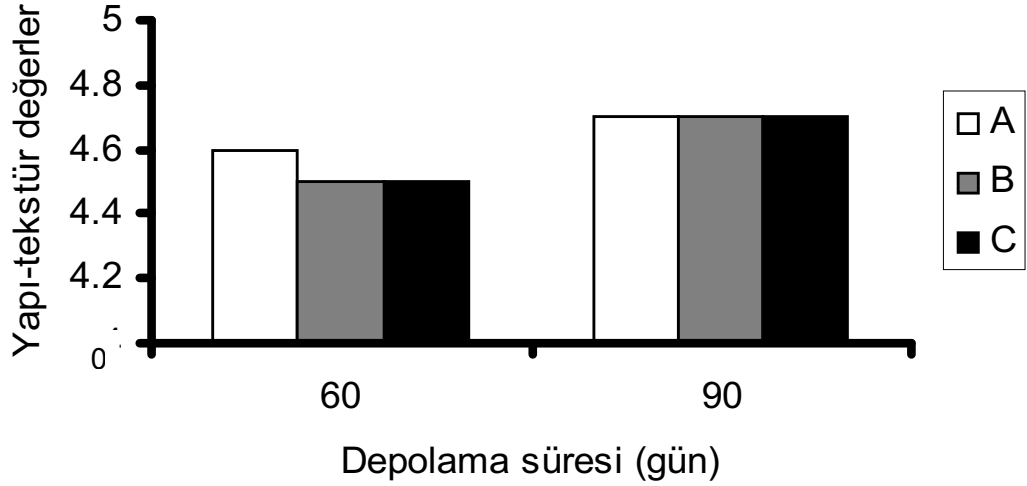


özellikleri açısından deneme örneklerinin sıralaması B, C ve A şeklinde değişmiştir. B ve C örneklerinin 90. gün tat/koku değerlendirmeleri 60. güne göre belirgin bir artış gösterirken, A örneğinde bir miktar azalma ile karşılaşılmıştır. Bu dalgalanmanın peynirlere ilave edilen tuz, depolama sürecinde görülen biyokimyasal olayların, pH veya laktik asitin, protein parçalanmasının, serbest yağ asitlerinin, esterlerin, ketonların, aldehitlerin ve diğer parçalanma ürünlerinin tat ve koku üzerindeki etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Akbulut ve Kımık, 1996). Panelistler depolamanın 60. gününde tat/koku özellikleri üzerinde bir yorumda bulunmazken 90. günde arzu edilen tipik tat/koku'nun varlığı vurgulanmıştır. Peynirlerin 60. ve 90. günlere ait tat/koku özelliğindeki değişim Şekil 4.18'de sunulmuştur.



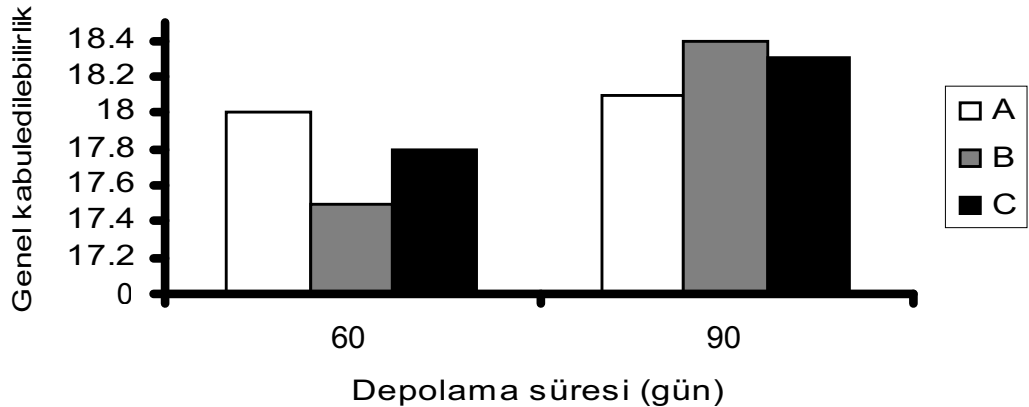
Şekil 4.18. Peynirlerin tat/kokusunda depolama süresince belirlenen değişimler (A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Yapı ve tekstür, sert ve yarı sert peynirleri karakterize eden duyu kalite kriterlerinden birisidir. Bu bakımdan denemesi yapılan kaşar peyniri örnekleri yapı ve tekstür bakımından panelistlerce değerlendirilmiş ve depolamanın 60. günü için en yüksek yapı/tekstür puanını A örneği almıştır. Bu örneği B ve C örnekleri izlemiştir. Depolamanın 90. gününde ise tüm örneklerin yapı/tekstür puanlarında artış görülmüş ve örnekler panelistlerden aynı ortalama puanı almışlardır. Örneklerin yapı ve tekstür özelliğinin 60. ve 90. günlerdeki değişimleri Şekil 4.19'da sunulmuştur.



Şekil 4.19. Peynirlerin yapı-tekstüründe depolama süresince belirlenen değişimler  
(A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Panelistlerce verilen yapı/tekstür, tat/koku ve görünüş skorları her bir peynir örneği için ayrı ayrı toplanmış ve 20 tam puan üzerinden değerlendirilmesi yapılmıştır. Buna göre depolamanın 60. gününde en yüksek genel kabuledilebilirlik puanını A örneği almış, bunu sırasıyla C ve B örnekleri takip etmiştir. Depolamanın 90. gününde B ve C örneklerinin toplam genel kabuledilebilirlik puanlarında belirgin bir artış yaşanmış ve sıralama sırasıyla B, C ve A örneği şeklinde gerçekleşmiştir. Peynir örneklerinin toplam genel kabuledilebilirlik puanlarındaki değişim Şekil 4.20'de sunulmuştur.



Şekil 4.20. Peynirlerin genel kabuledilebilirlik puanlarında depolama süresince belirlenen değişimler  
(A: Kontrol, B: Ekstrüsyon, C: Emülsiyon)

Sonuç olarak; probiyotik kültür ilavesi ve/veya mikrokapsülleme yönteminin kaşar peynirinin duysal özellikleri üzerinde olumsuz etkide bulunmadığı ve söz konusu ürünlerin tüketilebilir oldukları belirlenmiştir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, iki farklı yöntem ile (ekstrüzyon ve emülsiyon teknikleri) immobilize edilen *Bifidobacterium bifidum* BB-12 ve *Lactobacillus acidophilus* LA-5 probiyotik adjuvant kültürleri kullanılarak üretilen probiyotik kaşar peynirlerinin bazı nitelikleri araştırılmıştır. 90 gün süre ile depolanan probiyotik kaşar peynirlerinin kimyasal, mikrobiyolojik, elektroforetik ve duyuşal özelliklerinde depolama süresi boyunca meydana gelen değişimler izlenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir:

Deneme peynirlerinin üretiminde kullanılan sütlerin kurumadde, yağ, titrasyon asitliği, özgül ağırlık ve protein değerleri bakımından TS 1018 Çiğ İnek Sütü standardına uygunluk gösterdiği ve 1. sınıf inek sütü kalitesinde olduğu belirlenmiştir.

Gerek ekstrüzyon gerekse emülsiyon yönteminin probiyotik peynirlerde kurumadde, yağ, kurumaddede yağ, tuz ve kurumaddede tuz içerikleri üzerine etkisi olmadığı, ancak depolama süresinin anılan özellikler üzerindeki etkisinin  $P < 0.05$  düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Ekstrüzyon (B örneği) ve emülsiyon (C örneği) teknikleri ile immobilize edilen peynir örneklerinde toplam azot içerikleri birbirine yakın bulunurken kontrol (A) örneği bunlardan farklı bir değişim göstermiştir. Buradan mikrokapsül içerisine alınan probiyotik bakterilerin dış ortamdaki proteolitik faaliyetlere etkisinin olmadığı sonucuna varılmaktadır.

Deneme peynirlerin WSN, NPN, PPN ve Oİ gibi proteolitik aktivite parametrelerinde depolama süresi boyunca artışlar gözlenmiştir. Ancak, proteoliz her üç peynir grubunda da çok yavaş ilerlemiştir. Proteolizin yeterli düzeyde gelişebilmesi için depolama süresinin uzatılması, koagülant maya miktarının

artırılması veya yüksek proteolitik kapasiteye sahip starter bakteri suşlarının seçiminin pratikte olumlu sonuçlar vereceği düşünülmektedir.

Proteolizin derinliğinin belirlenmesinde kullanılan üre-alkali jel elektroforez elektroforetogramlarında özellikle  $\beta$ -kazein ( $\beta$ -CN) fraksiyonunda meydana gelen proteolizin sınırlı olduğu görülmüştür. Sadece, ekstrüzyon tekniği ile üretilen peynir örneğinde (B örneği) depolamanın 90. gününde  $\beta$ -CN fraksiyonunu temsil eden bant yoğunluğunda azalma belirlenmiştir. Benzer şekilde,  $\alpha_{s1}$ -CN ve  $\alpha_{s2}$ -CN fraksiyonlarında da proteolitik hidrolizasyon düzeyinin sınırlı olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte, özellikle depolamanın ileri evrelerinde (60.-90. günler arası) tüm örneklerde  $\alpha_{s2}$ -CN'i temsil eden bant yoğunluğunun kısmen azaldığı görülmüştür. Her üç örnekte de,  $\gamma$ -CN ile  $\alpha_{s1}$ -CN degradasyon ürünlerini temsil eden bantların varlığı tespit edilmiştir.

Depolama süresi boyunca deneme örneklerinin Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) sayılarında azalmalar olduğu ve azalmaların mikrokapsül tekniğinden bağımsız olduğu saptanmıştır. TAMB sayısında depolama süresince gözlenen azalmanın peynir kitlesinin tuz konsantrasyonu ile ilişkili olduğu görülmüştür. Peynir kitlesine tuz penetrasyonu eğilimi ile TAMB sayılarındaki azalma eğiliminin paralellik gösterdiği saptanmıştır.

Probiyotik kaşar peyniri haşlama işlemi sonucunda tüm örneklerin bakteri popülasyonunda belirgin azalmalar olmasına karşın bu azalma mikrokapsüllenmiş probiyotik bakteri içeren B ve C örneklerinde, A (kontrol) örneğine göre daha düşük düzeylerde gerçekleşmiştir.

Kontrol örneğinin (A) aksine, B ve C örneklerinde depolama süresince *B. bifidum* BB-12 koloni sayısında gözlenen azalma sınırlı düzeyde kalmıştır. Emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri arasında, *B. bifidum* BB-12 kolonilerinin canlılıkları üzerindeki etkileri bakımından bir farklılık kaydedilmemiştir.

Denemede kullanılan bir diğer probiyotik bakteri olan *L. acidophilus* LA-5, kontrol örneğinde depolama süresi boyunca canlılığını kısmen korumuştur. *B. bifidum* BB-12'de olduğu gibi haşlama işlemi kontrol örneğinin *L. acidophilus* LA-5 koloni sayısında yaklaşık 1 log<sub>10</sub>'luk bir azalmaya yol açmıştır.

Peynir örneklerine uygulanan (B ve C) her iki immobilizasyon tekniği arasında bakteri korunumu açısından fark olmadığı ve kapsüle alınan probiyotik bakterilerin 90 günlük depolama sonunda ulaştığı düzeyin terapötik etki (10<sup>6</sup> kob/g) için yeterli olduğu saptanmıştır.

Peynir örneklerinin duyuşal özellikleri yapı/tekstür, tat/koku ve görünüş özellikleri bakımından panelistlerce değerlendirilmiş ve deneme peynirleri arasında çok belirgin farklılıklar olmadığı tespit edilmiştir. Genel kabuledilebilirlik değerleri bakımından ise depolamanın 60. gününde en yüksek puanı A örneği almış, bunu sırasıyla C ve B örnekleri takip etmiştir. Depolamanın 90. gününde B ve C örneklerinin toplam genel kabuledilebilirlik puanlarında belirgin bir artış yaşanmış ve sıralama sırasıyla B, C ve A örneği şeklinde gerçekleşmiştir. Peynir örneklerine probiyotik kültür ilavesi ve/veya mikrokapsülleme yönteminin kaşar peynirinin duyuşal özellikleri üzerinde olumsuz etkide bulunmadığı ve söz konusu ürünlerin tüketilebilir oldukları belirlenmiştir.

Probiyotik bakterilerin farklı yöntemler ile immobilizasyonu sonucunda, kaşar peyniri üretimi sırasında uygulanan haşlama işlemine karşı dirençlerinin artırılabilirdiği görülmüştür. Ülkemizde yaygın bir tüketici kitlesi bulunan kaşar peynirinin probiyotik mikroorganizmaların alımında etkin bir araç olabileceği ve besleyici değeri yüksek bir ürün olan kaşar peynirinin terapötik kapasitesinin artırılabilirdiği saptanmıştır. İleri araştırmalar ile kaşar peyniri üretim parametreleri ve mikrokapsül boyutunun standardizasyonunun sağlanmasında yarar görülmektedir.

## KAYNAKLAR

- AKBULUT, N. ve KINIK, Ö.,1996. Peynirlerde Duyusal Değerlendirme, Her Yönüyle Peynir, 3. Baskı, Hasad Yayıncılık, İstanbul.
- ALAIS, C., 1984. Science Du Lait. 4. Edition, Edition Sepaic, Paris, 814p.
- ANONİM, 1989. TS 3272 Kaşar Peynir Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- ANONİM, 1991. Chemical Methods for Evaluating Proteolysis in Cheese Maturation. IDF Standart, Bulletin No: 261, Brussels, Belgium.
- ANONİM, 1992. Yoghurt and Probiotics. Choice, 32(11):32-35.
- ANONİM, 1994. TS 1018 Çiğ İnek Sütü Standardı., Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- ANONİM, 1995. TS 591 Beyaz Peynir Standardı., Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- AUDET, P., PAQUIN, C. and LACROIX, C., 1989. Sugar Utilization and Acid Production by Free and Entrapped Cells of *Streptococcus salivarius* spp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus* and *Lactococcus lactis* spp. *lactis* in a Whey Permeate Medium. Applied and Environmental Microbiology, 55(1):185-189.
- BLANCHETTE, L., ROY, D., BELANGER, G. and GAUTHIER, G.F., 1996. Production Cottage Cheese Using Dressing Fermented by Bifidobacteria. Journal of Dairy Science, 79:8-15.
- BODYFELT, F. W., TOBIAS, J and TROUT, G. M., 1988. The Sensory Evaluation of Dairy Products. An AVI Book, 598p, New York, USA.
- CEDGARD, L., 2000. Probiotics: The Link Between Health and Disease. [http://www.positivehealth.com/permit/Articles/ Environment/probiot.htm](http://www.positivehealth.com/permit/Articles/Environment/probiot.htm).
- CORBO, M.R., ALBENZIO, M., DE ANGELIS, M., SEVI, A. and GOBBETTI, M., 2001. Microbiological and Biochemical Properties of Canestrato Pugliese Hard Cheese Supplemented with Bifidobacteria. Journal of Dairy Science, 84: 551-561.
- CREAMER, L.K., 1991. Electrophoresis of Cheese. Bulletin of the IDF, Chapter 4, No:261.
- ÇAKIR, İ., KARAHAN, A. G. and ÇAKMAKÇI, M. L., 2001. Probiotic and Functional Properties of Some Traditional Turkish Foods. In:Proceedings of The 1<sup>st</sup> Euroasian Congresson Molecular Biotechnology. Editor: Z. Demirbağ, Vol. 1, KTU Publishing Section, pp.89-93, Trabzon.
- ÇAKIR, İ., KARAHAN, A. G. ve ÇAKMAKÇI, M. L., 2002. Probiyotikler ve Etki Mekanizmaları. Gıda Mühendisliği dergisi, 6 (12):15-19.
- ÇAKIR, İ., 2003. Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara, 84s.
- DAIGLE, A., ROY, D., BELANGER, G. and VUILLEMARD, J. C., 1999. Production of Probiotic Cheese (Cheddar-like Cheese) Using Enriched Cream Fermented by *Bifidobacterium infantis*. Journal of Dairy Science, 82,: 1081-1091.

- DAVE, R.I. and SHAH, N.P., 1997. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurt Made From Commercial Starter Cultures. *International Dairy Journal*, 7 (1):31-41.
- DEMİRCİ, M., 1988. Ülkemizde Önemli Peynir Çeşitlerinin Mineral Madde Düzeyi ve Kalori Değerleri. *Gıda* 13 (1):17-21.
- DEMİRCİ, M. ve DIRAMAN, H., 1990. Trakya Bölgesinde Üretilen Vakum Paketlenmiş Taze Kaşar Peynirlerinin Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri ve Enerji Değerleri Üzerine Bir Araştırma. *Gıda* 15 (2):83-85.
- DINAKAR, P. and MISTRY, V.V., 1994. Growth and Viability of *Bifidobacterium Bifidum* in Cheddar Cheese. *Journal Of Dairy Science*, 73:1478-1484.
- EL-ZAYATT, A.I. and OSMNA, M.M., 2001. The Use of Probiotics in Tallaga Cheese. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 29 (1):99-106.
- ERALP, M., 1974. Peynir Teknolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 533, Ders Kitabı, 178s.
- FENDERYA, S., 2002. Bazı Probiyotik Yoğurtlarda Bifidobakterlerin Canlılığı Üzerine Bir Araştırma. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 102s.
- FOX, F. P., GUINEE, T. P., COGAN T. M. and MCSWEENEY, P.L.H., 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. Wolters Kluwer Company, 587p, USA.
- FULLER, R., 1989. Probiotics in Man and Animal. *J. Appl. Bacteriol.*, 66:365-378.
- FULLER, R., 1992. *Probiotics: The Scientific Basis*. London: Chapman & Hall.
- FULLER, R. 1997. *Probiotics 2: Applications and Practical Aspects*. London: Chapman&Hall.
- FULLER, R., 1999. *Probiotics for Farm Animals*:15-22. Wymondham, UK.
- GARDINER, G., STANTON, C., LYNCH, P.B., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G. and ROSS, R.P., 1999. Evaluation of Cheddar Cheese as a Food Carrier for Delivery of a Probiotic Strain to the Gastrointestinal Tract. *Journal of Dairy Science*, 82(7):1379-1387.
- GARDINI, F., LANCIOTTI, R., GUERZONI, M.E. and TORRIANI, S., 1999. Evaluation of Aroma Production and Survival of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* in Fermented Milks. *International Dairy Journal*, 9(2):125-134.
- GHODDUSI, H.B. and ROBINSON, R.K., 1996. The Test of Time. *Dairy Industries International*, 61(7):25-28.
- GIBSON, G.R. and FULLER, R., 1998. The Role of Probiotics and Prebiotics in the Functional Food Concept. *Functional Foods: The Consumer, The Products and the Evidence*, M.J.Sadler ve M. Saltmarsh (Ed), Cambridge: Royal Society of Chemistry, 3-14.
- GILLILAND, S.E. and SPECK, M.L. 1977. Instability of *Lactobacillus acidophilus* in Yoghurt. *Journal of Dairy Science*, 60(9):1394-1398.
- GILLILAND, S.E., 1989. Acidophilus Milk Products: A Review of Potential Benefits to Consumers. *Journal of Dairy Science*, 72(10):2483-2494.
- GOMES, A.M.P., VIEIRIA, M.M. and MALCATA, F.X., 1995. Survival of Probiotic Microbial Strains in a Cheese Matrix During Ripening: Simulation of Rates of Salt Diffusion and Microorganism Survival. *Journal of Food Engineering*, 36(3): 281-301.



- GRAPIN, R. and BEUVIER, E., 1997. Possible Implications of Milk Pasteurization on the Manufacture and Sensory Quality of Ripened Cheese. *International Dairy Journal*, (7):751-761.
- GRIPON, J.C., DESMAZEAUD, M.J., BARS, D. and BERGERE, J.L., 1975. Etude Du Roles Des Microorganismes Et Des Enzymes Au Cours De La Maturation Des Fromages. *Le Lait* 55(48):502-516.
- GUINEE, T.P. and FOX, P.F., 1987. Salt in Cheese: Physical, Chemical and Biological Aspects. "In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. P.F. FOX (ed.). Elsevier Applied Science, 251-297".
- GURR, M.I., 1987. Nutritional Aspects of Fermented Milk Products. *Milk: The Vital Force Proceedings of the XXII. International Dairy Congress*. Dordrecht, Netherlands, September 29- October 3.
- HAVENAAR, R., 1992. Probiotic: A General View. Vol. 1:151-170. In: *The Lactic Acid Bacteria*. Editor: B.J.B., Wood, Elsevier, London.
- HUGHES, D.B. and HOOVER, D.G., 1991. Bifidobacteria: Their Potential for Use in American Dairy Products. *Food Technology*, 45(4):74-83.
- IDF, 1993. Milk, Determination of Nitrogen Content, FIL-IDF 20B, Brussels, Belgium.
- IWANA, H., MASUDA, H., FUJISAWA, T., SUZUKI, H. and MITSUOKA, T. 1993. Isolation and Identification of *Bifidobacterium* spp. in Commercial Yoghurt Sold in Europe. *Bifidobacteria Microflora*, 12(1):39-45.
- JANKOWSKI, T., ZIELINSKA, M. and WYSAKOWSKA, A., 1997. Encapsulation of Lactic Acid Bacteria with Alginate/Starch Capsules. *Biotechnology Techniques*, 11(1):31-34.
- KEARNEY, L., UPTON, M. and LOUGHLIN, A., 1990. Enhancing the Viability of *Lactobacillus plantarum* inoculum by Immobilizing the Cells in Calcium-Alginate Beads. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(10):3112-3116.
- KEBARY, K.M.K., HUSSEIN, S.A. and BADAWI, R.M., 1998. Improving Viability of Bifidobacteria and their Effect on Frozen Ice Milk. *Egyptian Journal of Dairy Science*, 26(2):319-337.
- KIM, H.S., KAMARA, B.J., GOOD, I.C. and ENDERS, G.L., 1988. Method for the Preparation of Stable Microencapsulated Lactic Acid Bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 3 (4): 253-257.
- KIM, K.I. and YOON, Y.H., 1995. A Study on the Preparation of Direct Vat Lactic Acid Bacterial Starter. *Korean Journal of Dairy Science*, 17(2):129-134.
- KING, A.H., 1995. Encapsulation of Food Ingredients: A Review of Available Technology, Focusing on Hydrocolloids. (In: S.J.Risch ve G.A.Reineccius (Ed), *Encapsulation and Controlled Release of Food Ingredients*. p:213-220, Washington DC: American Chemical Society).
- KLEBANOF, S.J., HILLIER, S.L., ASCHENBACCH, D.A. and WALLERSDORP, A.M., *Journal of Infectious Diseases*, 164: 94-100.
- KLEIN, J., STOCK, J. and VORLOP, K.D., 1983. Pore Size and Properties of Spherical Ca-Alginate Biocatalysts. *European Journal Applied Microbiology Biotechnology*, 18(1):86-91.
- KNEIFEL, W. MATTILA-SANDHOLM, T. and WRIGHT, A., 1999. Probiotic Bacteria-Detection and Estimation in Fermented and Non-Fermented Dairy Products. Vol.3, p:1783-1789. In: *Encyclopedia of Food Microbiology*.

- KOCABAŞ, E., 2001. Zonguldak Yöresinde Üretilen Vakum Ambalajlı Kaşar Peynirlerinde Depolama Süresince Meydana Gelen Değişimler. Karaelmas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 67s.
- KRASAEKOOPT, W., BHANDARI, B. and DEETH, H. 2003., Evaluation of Encapsulation Techniques of Probiotics for Yoghurt. *International Dairy Journal*, 13:3-13.
- LAW, B. A., 1987. Proteolysis in Relation to Normal and Accelerated Cheese Ripening. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, (Edited by P.F. Fox), Elsevier Applied Science, Volume I Chapter 10, p:365-393.
- LEE, Y. K., NOMOTO, K., SALMINEN, S. and GORBACH, S. L., 1999. *Handbook of Probiotics*. A Wiley- Interscience Publication. p:211. Canada.
- MARTINSEN, A., SKJAK-BRAEK, C. and SMIDSROD, O., 1989. Alginate as Immobilization Material. I. Correlation Between Chemical and Physical Properties of Alginate Gel Beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 33(1):79-89.
- MATTILA, T., 1999. The Technology of Probiotics. *Trends Food Sci. Technology*., 10:387-392.
- MCBREARTY, S., ROSS, P.R., FITZGERALD, G., COLLINS, J.K., AUTY, M.A.E., WALLACE, J.M. and STANTON, C., 2001. Influence of Two Commercially Available Bifidobacteria Cultures on Cheddar Cheese Quality. *International Dairy Journal*, 11(8):599-610.
- METİN, M. ve ÖZTÜRK, G.F., 1991. “Türkiye’de Vakum Paketlenmiş Taze Kaşar Peynirlerinin Yapımı ve Düşündürdükleri” II. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Her Yönüyle Peynir 12-13 Haziran, Tekirdağ.
- MODLER, H.W., MCKELLAR, R.C. and YAGUCHI, M., 1990. Bifidobacteria and Bifidogenic Factors, *J. Inst. Can. Sci. Tech. Aliment.*, 23(1):29-41.
- MURRAY, F., 1998. *Acidophilus and your Health: The Beneficial Microorganisms That Aid Digestion and Fight Disease*. Keats Publishing, Inc., p:46, New Canan, Connecticut.
- NILSSON, K., BIRNBAUM, S., FLAYGARE, S., LINSE, L., SCHRODER, U., JEPPSSON, U., LARSSON, P.O., MOSBACH, K. and BRODELUS, P., 1983. A General Method for the Immobilization of Cells with Preserved Viability. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 17, p:319-326.
- NOH, D.O. and GILLILAND, S.E., 1993. Influence of Bile on Cellular Integrity and Beta-galactosidase of *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Dairy Science*, 76(5):1253-1259.
- OYSUN, G. ve ÇON, H., 1990. Vakum Paketlenmiş Kaşar Peynirlerinin TS 3272’ye Uygunluğunun Araştırılması, *Standart, Ekonomik ve Teknik Dergi*, 29 s:28-29 Ankara.
- ÖZER, D. ve AKIN, M.S., 2000. Probiyotik Fermente Süt Ürünleri ve Prebiyotikler. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri*, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, s: 273-278 Trakya Üniversitesi, Tekirdağ.
- ÖZTEK, L., 1983. Kars İlinde Yapılan Kaşar Peynirlerinin Yapılışları, Bileşimleri ve Olgunlaştırılmaları Üzerine Araştırmalarla Bunların Diğer Peynir Çeşitleriyle Kıyaslanması. Atatürk Üniversitesi Yayınları No:528, Erzurum.
- PAGANO, J. C., 1998. Nueva legislacion del Mercosur Para Leches Fermantades. *Industria Lechera*, 713, p:8-13.

- PREVOST, H. and DIVIES, C., 1988. Continuous Pre-Fermentation of Milk by Entrapped Yoghurt Bacteria. I. Development of the Process. *Milchwissenschaft*, 43(10):621-625.
- RAO, A.V., SHIWNARAIN, N. and MAHARAJ, I., 1989. Survival of Microencapsulated *Bifidobacterium Pseudolongum* in Simulated Gastric and Intestinal Juice. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 22 (4):345-349.
- RASIC, J.L. and KURMANN, J.A., 1983. *Bifidobacteria and their role*. Basel: Birkhauser.
- ROLFE, R.D., 2000. The Role of Probiotics Cultures in the Control of Gastrointestinal Health. *J.Nutr.*,(Supplement), 130:396-402.
- SALJI, J.P., 1992. Foods for the Future. *Food Science and Technology Today*, 8(3):139-143.
- SALMINEN, S., 1999. Probiotics: Scientific Support For Use. *Food Technology.*, 53; p:66.
- SAXELIN, M., GRENOV, B., SVENSSON, U., FONDEN, R., RENEIRO, R. and SALMINEN, S., von WRIGHT, A., 1998. Current probiotics-safety assured? *Microbial. Ecol. Health Dis.*, 10, p:68-77.
- SCHILLINGER, U., 1999. Isolation and Identification of Lactobacilli From Novel-Type Probiotic and Mild Yoghurts and Their Stability During Refrigerated Storage. *International Journal of Food Microbiology*, 47 (1/2):79-87.
- SHAH, N.P., LANKAPUTHRA, W.E.V., BRITZ, M. and KYLE, W.S.A., 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Commercial Yoghurt During Refrigerated Storage. *International Dairy Journal*, 5 (5):515-521.
- SHEU, T.Y. and MARSHALL, R.T., 1993. Microencapsulation of Lactobacilli Calcium-Alginate Gels. *Journal of Food Science*, 54 (3): 557-561.
- SMIDSDOD, O., HAUG, A. and LIAN, B. 1972. Properties of Poly (1,4-Heuronates) in the Gel State. I. Evaluation of A Method for the Determination of Stiffness. *Acta Chemica Scandinavica*, 26(1):71-78.
- STANTON, C., GARDINER, G., LYNCH, P.B., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G. and ROSS, R.P. 1998. Probiotic Cheese. *International Dairy Journal*, 8(5-6):491-496.
- STEEL, R.G.D. and TORRIES, J.H.1980. *Principles and Procedures of Statistics*. S 650, New York: Mc-Graw Hill.
- STEENSON, L.R., KLAENHAMMER, T.R. and SWAISGOOD, H.E. 1987. Calcium Alginate-Immobilized Cultures of Lactic Streptococci are Protected From Bacteriophages. *Journal of Dairy Science*, 70(6):1121-1127
- TAMIME, A. Y., MARSHALL, V. M. E. ve ROBINSON, R. K., 1995. Microbiological and Technical Aspects of Milks Fermented by Bifidobacteria. *Journal of Dairy Research*, 62:151-187.
- TANAKA, H., IRIE, S. and OCHI, E., 1989. A Novel Immobilization Method for Prevention of Cell Leakage from the Gel Matrix. *Journal of Fermentation Biotechnology*, 68(3):216-219.
- TANNOCK, G.V., 1997. Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria: Plenty of Scapefor Fundamental, R&D, Tibtech., 15:270.
- TAVACI, M.Ç., 1997. Çeşitli Baharatların İlavesi ile Yapılan Vakum Paketlenmiş Kaşar Peynirleri Üzerine Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Trakya

- Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,  
Tekirdağ.
- URAZ, T. ve ÖZER, B.H., 1999. Moulds Employed in Food Processing. Encyclopedia of Food Microbiology. (Eds. Robinson, R. K., Batt, C. ve Patel, P. Academic Pres Publ.).
- UYSAI, H., GÖNÇ, S., OYSUN, G. ve KARAGÖZLÜ, C., 1996. Peynir Olgunlaşmasında Proteolizin Belirlenmesi İçin Kimyasal Metodlar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No:519, s: 87, İzmir.
- VINDEROLA, C.G., BAİLO, N. and REINHEIMER, J.A., 2000. Survival Of Probiotic Microflora in Argentinian Yoghurts During Refrigerated Storage. Food Research International, 33(2):97-102.
- WALSTRA, P. and JENNEES, R., 1984. Dairy Chemistry and Physics. A ion, Wiley-Interscience Publicat, New york.
- YAŞAR, K., 2000. Vakum Paketlenmiş Kaşar Peyniri Yapımında Uygulanan Farklı İşlem Proseslerinin Kaşar Peynirinin Çeşitli Özelliklerine Etkisi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 76s.
- YILMAZTEKİN, M., 2001. Beyaz Peynir Üretiminde *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*'dan Yararlanma Olanakları Üzerine Bir Araştırma. Yüksek Lisans Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Şanlıurfa, 102s.
- YILMAZTEKİN, M., ÖZER, B.H. and ATASOY, A.F., 2003. Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 in White- Brined Cheese. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 55(1):53-60.
- YÜCECAN, S., 2002. Probiyotikler ve Sağlık Üzerine Etkileri. Türkiye Diyetisyenler Derneği Bülteni, 2:1-13.

## ÖZGEÇMİŞ

1977 yılında Malatya'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Malatya'da tamamladı. 1996 yılında Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne girdi. 2001 yılında aynı bölümden Gıda Mühendisi ünvanıyla mezun oldu. Öğrenimini sürdürürken Un-tek Un ve Ekmek Katkı Maddeleri Ltd. Şti'de 18 ay çalıştı. 2002 yılında 3 yıl süreyle Şanlıurfa ARI Süt ve Süt Ürünleri A.Ş.'de üretim müdürü olarak çalıştı. 2003 yılında Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek lisans öğrenimine başladı. 2005 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ar-Ge Süt İşletmesinde Sorumlu Yönetici olarak başladığı görevine halen devam etmektedir.

Çizelge Ek.1. Deneme peynirlerinin depolama süresince kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler

Özellik	Peynir *	Depolama Süresi **						
		1. Gün	15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	75. Gün	90. Gün
KM (%)	A	61.74±0.077 <sup>1l</sup>	62.91±0.162 <sup>h1</sup>	63.44±0.120 <sup>g2</sup>	63.74±0.063 <sup>ef3</sup>	63.95±0.169 <sup>de4</sup>	64.09±0.077 <sup>cd5</sup>	64.25±0.021 <sup>bc5</sup>
	B	62.60±0.205 <sup>1l</sup>	61.59±0.113 <sup>jk1</sup>	62.90±0.127 <sup>h2</sup>	63.59±0.091 <sup>fg3</sup>	64.02±0.028 <sup>cd4</sup>	64.48±0.155 <sup>ab5</sup>	64.61±0.091 <sup>ab6</sup>
	C	59.61±0.169 <sup>m1</sup>	59.72±0.226 <sup>m1</sup>	60.36±0.134 <sup>l2</sup>	61.33±0.183 <sup>k3</sup>	61.54±0.035 <sup>jk4</sup>	61.43±0.056 <sup>k5</sup>	61.77±0.063 <sup>l6</sup>
YAĞ (%)	A	36.00±0.000 <sup>de1</sup>	36.00±0.000 <sup>de1</sup>	36.50±0.707 <sup>cd2</sup>	37.00±0.000 <sup>bc3</sup>	37.00±0.000 <sup>bc3</sup>	37.00±0.000 <sup>bc4</sup>	37.50±0.707 <sup>ab5</sup>
	B	36.00±0.000 <sup>de1</sup>	36.00±0.000 <sup>de1</sup>	37.00±0.000 <sup>bc2</sup>	37.00±0.000 <sup>bc3</sup>	37.00±0.000 <sup>bc3</sup>	37.50±0.707 <sup>ab4</sup>	38.00±0.000 <sup>a5</sup>
	C	35.00±0.000 <sup>fl</sup>	35.00±0.000 <sup>fl</sup>	35.50±0.000 <sup>ef2</sup>	36.00±0.000 <sup>de3</sup>	36.00±0.000 <sup>de3</sup>	36.00±0.000 <sup>de4</sup>	36.00±0.000 <sup>de5</sup>
KMY (%)	A	58.30±0.070 <sup>ab1</sup>	57.21±0.148 <sup>c1</sup>	57.52±1.011 <sup>bc1</sup>	58.04±0.049 <sup>ab1</sup>	57.85±0.155 <sup>ab1</sup>	57.72±0.070 <sup>ab1</sup>	58.35±1.081 <sup>ab1</sup>
	B	57.50±0.183 <sup>bc1</sup>	58.44±0.106 <sup>ab1</sup>	58.81±0.120 <sup>a1</sup>	58.18±0.084 <sup>ab1</sup>	57.79±0.028 <sup>ab1</sup>	58.15±1.237 <sup>ab1</sup>	58.81±0.084 <sup>a1</sup>
	C	58.71±0.169 <sup>ab1</sup>	58.60±0.219 <sup>ab1</sup>	58.81±1.308 <sup>a1</sup>	58.69±0.176 <sup>ab1</sup>	58.49±0.035 <sup>ab1</sup>	58.60±0.056 <sup>ab1</sup>	58.28±0.056 <sup>ab1</sup>
TUZ (%)	A	2.04±0.035 <sup>1l</sup>	2.13±0.056 <sup>k1</sup>	2.22±0.042 <sup>j2</sup>	2.35±0.049 <sup>l3</sup>	2.50±0.042 <sup>l4</sup>	2.57±0.035 <sup>d5</sup>	2.65±0.028 <sup>b5</sup>
	B	2.49±0.049 <sup>fl</sup>	2.45±0.049 <sup>g1</sup>	2.62±0.042 <sup>c2</sup>	2.66±0.049 <sup>b3</sup>	2.66±0.077 <sup>b4</sup>	2.76±0.028 <sup>a5</sup>	2.77±0.028 <sup>b5</sup>
	C	2.13±0.028 <sup>k1</sup>	2.11±0.035 <sup>k1</sup>	2.21±0.063 <sup>j2</sup>	2.32±0.035 <sup>l3</sup>	2.41±0.028 <sup>h4</sup>	2.55±0.063 <sup>e5</sup>	2.60±0.049 <sup>c5</sup>
KMT (%)	A	3.30±0.049 <sup>k1</sup>	3.38±0.077 <sup>jk1</sup>	3.50±0.056 <sup>ij2</sup>	3.75±0.021 <sup>fg3</sup>	3.90±0.077 <sup>ef3</sup>	4.01±0.049 <sup>cd4</sup>	4.12±0.042 <sup>bc4</sup>
	B	3.98±0.091 <sup>de1</sup>	3.98±0.084 <sup>de1</sup>	4.16±0.070 <sup>ab2</sup>	4.18±0.077 <sup>ab3</sup>	4.16±0.120 <sup>ab3</sup>	4.27±0.049 <sup>ab4</sup>	4.28±0.035 <sup>a4</sup>
	C	3.56±0.035 <sup>h1l</sup>	3.54±0.070 <sup>h1l</sup>	3.66±0.091 <sup>gh2</sup>	3.78±0.063 <sup>fg3</sup>	3.91±0.042 <sup>ef3</sup>	4.15±0.098 <sup>ab4</sup>	4.21±0.084 <sup>ab3</sup>
pH	A	5.00±0.028 <sup>abc1</sup>	4.96±0.014 <sup>ab2</sup>	4.91±0.007 <sup>ab3</sup>	4.84±0.049 <sup>ab4</sup>	4.82±0.056 <sup>ab5</sup>	4.78±0.028 <sup>c6</sup>	4.80±0.028 <sup>c7</sup>
	B	5.24±0.028 <sup>ab1</sup>	4.99±0.042 <sup>ab2</sup>	4.95±0.042 <sup>ab3</sup>	4.99±0.028 <sup>ab4</sup>	4.92±0.028 <sup>ab5</sup>	4.87±0.077 <sup>c6</sup>	4.83±0.042 <sup>bc7</sup>
	C	5.24±0.021 <sup>a1</sup>	5.02±0.049 <sup>ab2</sup>	4.98±0.028 <sup>ab3</sup>	4.89±0.035 <sup>ab4</sup>	4.85±0.049 <sup>ab5</sup>	4.78±0.035 <sup>c4</sup>	4.81±0.035 <sup>b5</sup>

**A: Kontrol B: Ekstrüsyon tekniği C: Emülsiyon tekniği**

\*Peynirlere uygulanan muamelelere göre; her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P>0.05).

\*\* Depolama süresine göre; her bir özellik için satırlar soldan sağa doğru incelendiğinde aynı rakamlarla gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P>0.05).

Çizelge Ek.2. Deneme peynirlerinin depolama süresince kimyasal özelliklerinde meydana gelen değişimler

Özellik	Peynir*	Depolama Süresi**						
		1. Gün	15. Gün	30. Gün	45. Gün	60. Gün	75. Gün	90. Gün
LA (%)	A	0.675±0.00 <sup>h1</sup>	0.708±0.016 <sup>fg2</sup>	0.742±0.00 <sup>de3</sup>	0.753±0.016 <sup>de3</sup>	0.765±0.00 <sup>ab4</sup>	0.821±0.015 <sup>ab5</sup>	0.832±0.00 <sup>ab6</sup>
	B	0.697±0.00 <sup>g1</sup>	0.742±0.00 <sup>de2</sup>	0.753±0.016 <sup>de3</sup>	0.765±0.00 <sup>cd3</sup>	0.809±0.031 <sup>ab4</sup>	0.810±0.00 <sup>ab5</sup>	0.843±0.016 <sup>ab6</sup>
	C	0.652±0.00 <sup>h1</sup>	0.697±0.00 <sup>g2</sup>	0.731±0.015 <sup>ef3</sup>	0.742±0.00 <sup>de3</sup>	0.731±0.015 <sup>ef4</sup>	0.765±0.00 <sup>d5</sup>	0.798±0.016 <sup>bc6</sup>
TA (%)	A	3.26±0.014 <sup>k1</sup>	3.26±0.007 <sup>k1</sup>	3.43±0.007 <sup>e2</sup>	3.40±0.035 <sup>fg3</sup>	3.42±0.028 <sup>ef4</sup>	3.48±0.021 <sup>d5</sup>	3.55±0.014 <sup>b6</sup>
	B	3.38±0.007 <sup>gh1</sup>	3.37±0.007 <sup>hi1</sup>	3.43±0.007 <sup>e2</sup>	3.50±0.021 <sup>cd3</sup>	3.51±0.021 <sup>c4</sup>	3.57±0.021 <sup>b5</sup>	3.65±0.028 <sup>a6</sup>
	C	3.11±0.000 <sup>m1</sup>	3.125±0.007 <sup>m1</sup>	3.16±0.014 <sup>l2</sup>	3.23±0.007 <sup>k3</sup>	3.26±0.007 <sup>k4</sup>	3.30±0.007 <sup>j5</sup>	3.35±0.007 <sup>i6</sup>
SÇA (%)	A	0.28±0.002 <sup>k1</sup>	0.32±0.008 <sup>2</sup>	0.36±0.003 <sup>hi3</sup>	0.41±0.006 <sup>fg3</sup>	0.46±0.002 <sup>cd5</sup>	0.51±0.007 <sup>b6</sup>	0.55±0.006 <sup>a7</sup>
	B	0.31±0.015 <sup>jk1</sup>	0.34±0.002 <sup>ij2</sup>	0.37±0.011 <sup>hi3</sup>	0.40±0.006 <sup>g3</sup>	0.44±0.008 <sup>de5</sup>	0.48±0.002 <sup>bc6</sup>	0.52±0.004 <sup>b7</sup>
	C	0.32±0.005 <sup>j1</sup>	0.37±0.008 <sup>hi2</sup>	0.39±0.006 <sup>gh3</sup>	0.40±0.007 <sup>fg3</sup>	0.43±0.007 <sup>ef5</sup>	0.47±0.003 <sup>c6</sup>	0.50±0.008 <sup>b7</sup>
POA (%)	A	0.23±0.004 <sup>ij1</sup>	0.26±0.007 <sup>gh2</sup>	0.29±0.005 <sup>ef3</sup>	0.33±0.003 <sup>de4</sup>	0.35±0.006 <sup>bc5</sup>	0.38±0.008 <sup>ab6</sup>	0.40±0.003 <sup>a7</sup>
	B	0.21±0.013 <sup>j1</sup>	0.24±0.008 <sup>hi2</sup>	0.25±0.005 <sup>gh3</sup>	0.28±0.008 <sup>fg4</sup>	0.29±0.003 <sup>fs</sup>	0.33±0.004 <sup>cd6</sup>	0.36±0.007 <sup>bc7</sup>
	C	0.21±0.007 <sup>j1</sup>	0.23±0.005 <sup>hi2</sup>	0.25±0.004 <sup>ij3</sup>	0.27±0.004 <sup>gh4</sup>	0.29±0.005 <sup>fg5</sup>	0.33±0.007 <sup>de6</sup>	0.36±0.012 <sup>cd7</sup>
PPA (%)	A	0.053±0.007 <sup>g1</sup>	0.066±0.000 <sup>fg2</sup>	0.072±0.002 <sup>fg3</sup>	0.084±0.002 <sup>ef3</sup>	0.109±0.008 <sup>cd4</sup>	0.134±0.016 <sup>ab4</sup>	0.158±0.009 <sup>ab6</sup>
	B	0.096±0.002 <sup>ef1</sup>	0.100±0.005 <sup>ef2</sup>	0.117±0.005 <sup>bc3</sup>	0.121±0.002 <sup>bc3</sup>	0.148±0.004 <sup>ab4</sup>	0.150±0.006 <sup>ab5</sup>	0.154±0.002 <sup>ab6</sup>
	C	0.111±0.002 <sup>de1</sup>	0.134±0.002 <sup>cd2</sup>	0.138±0.001 <sup>bc3</sup>	0.139±0.002 <sup>bc3</sup>	0.144±0.001 <sup>bc4</sup>	0.144±0.004 <sup>bc5</sup>	0.145±0.003 <sup>ab6</sup>
Oİ (%)	A	8.82±0.098 <sup>11</sup>	10.05±0.247 <sup>j1</sup>	10.70±0.127 <sup>i3</sup>	12.27±0.070 <sup>g4</sup>	13.62±0.035 <sup>e5</sup>	14.85±0.127 <sup>bc6</sup>	15.72±0.127 <sup>a7</sup>
	B	9.22±0.438 <sup>k1</sup>	10.07±0.056 <sup>j2</sup>	10.87±0.304 <sup>i3</sup>	11.60±0.127 <sup>h4</sup>	12.72±0.169 <sup>f5</sup>	13.67±0.021 <sup>e6</sup>	14.32±0.021 <sup>d7</sup>
	C	10.58±0.176 <sup>11</sup>	11.83±0.233 <sup>h2</sup>	12.37±0.141 <sup>fg3</sup>	12.65±0.212 <sup>fg4</sup>	12.38±0.197 <sup>fg5</sup>	14.48±0.070 <sup>cd6</sup>	15.14±0.226 <sup>b7</sup>

A: Kontrol B: Ekstrüsyon tekniği C: Emülsiyon tekniği

\*Peynirlere uygulanan muamelelere göre; her bir özellik için sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P>0.05).

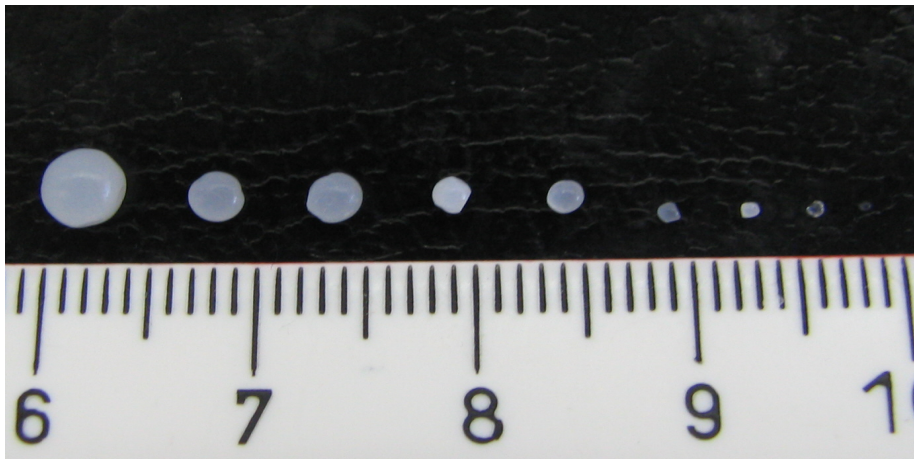
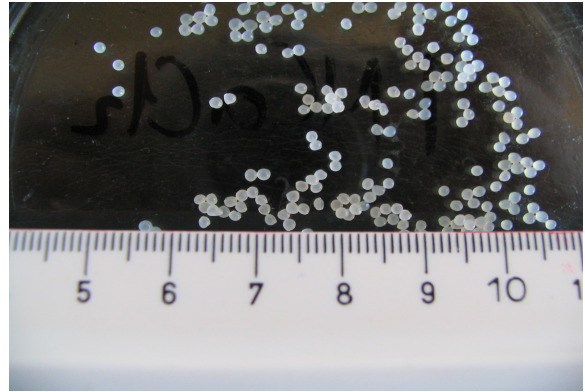
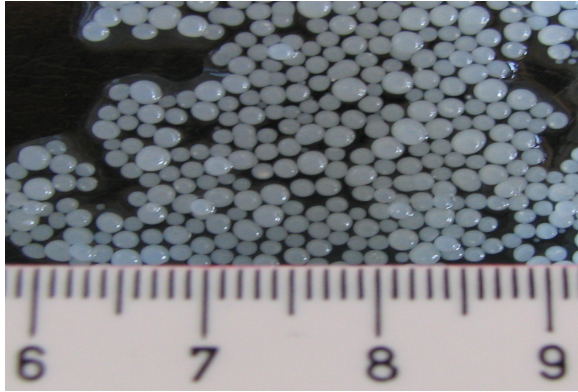
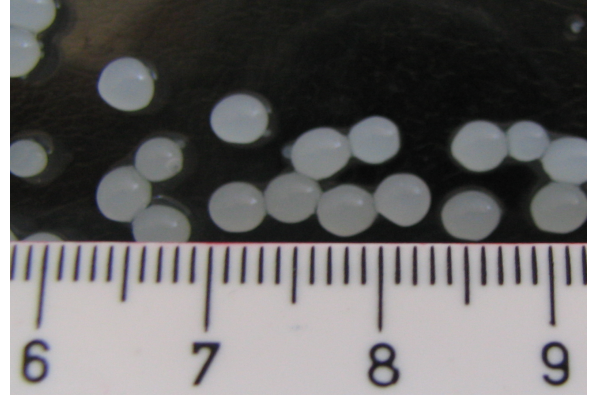
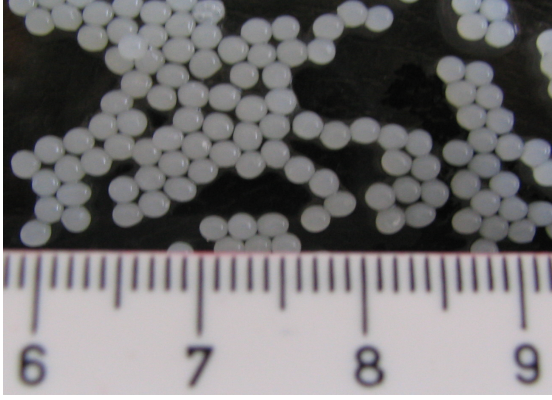
\*\* Depolama süresine göre; her bir özellik için satırlar soldan sağa doğru incelendiğinde aynı rakamlarla gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (P>0.05).

Çizelge Ek. 3 Ekstrüzyon tekniği ile mikrokapsülleme koşullarının belirlenmesine yönelik ön deneme sonuçları

Örnek	CaCl <sub>2</sub> Konsantrasyonu	Aljinat Konsantrasyonu	Şırınga çapı	Damlatma hızı	Damlatma yüksekliği
1	2.0 M	%2.0 (40 ml)	2.0 mm	Yavaş	10 cm
2	2.0 M	%2.0 (40 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
3	1.0 M	%2.0 (20 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
4	0.1 M	%2.0 (20 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
5	2.0 M	%2.0 (10 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
6	0.1 M	%2.0 (40 ml) + %2.0 nişasta (10 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
7	2.0 M	%2.0 (40 ml) + %2.0 nişasta (10 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
8	2.0 M	%2.0 (40 ml)	0.8 mm	Hızlı	10 cm
9	2.0 M	%2.0 (20 ml)	0.8 mm	Yavaş	10 cm
<b>10</b>	<b>1.0 M</b>	<b>%2.0 (30 ml)</b>	<b>0.8 mm</b>	<b>Hızlı</b>	<b>5 cm</b>
11	2.0 M	%2.0 (20 ml)	0.8 mm	Hızlı	5 cm
12	1.0 M	%1.0 (10 ml)	0.8 mm	Hızlı	10 cm
13	1.5 M	%1.5 (10 ml)	0.8 mm	Hızlı	10 cm
14	0.1 M	%1.0 (10 ml)	0.8 mm	Hızlı	10 cm
15	0.1 M	%2.0 (20 ml)	0.8 mm	Hızlı	5 cm
16	2.0 M	%2.0 (40 ml) + %2.0 nişasta (10 ml)	0.8 mm	Hızlı	5 cm
17	2.0 M	%1.875	0.8 mm	Hızlı	10 cm
18	2.0 M	%2 (20 ml)	0.33 mm	Hızlı	10 cm



Çizelge Ek. 4 Ekstrüzyon tekniğiyle farklı  $\text{CaCl}_2$  konsantrasyonu ve damlatma hızı/mesafesi kullanılarak elde edilen farklı boyutlardaki mikrokapsül örnekleri



## ÖZET

Bu çalışma; farklı teknikler (Ekstrüsiyon ve Emülsiyon) ile koruma altına alınan *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-12 probiyotik suşlarının kaşar peynirinde canlı kalma düzeylerini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. İki tekrarlamalı olarak yürütülen bu çalışmada depolamanın 1., 15., 30., 45., 60., 75. ve 90. günlerinde peynir örneklerinin; kurumadde, yağ, kurumaddede yağ, tuz, kurumaddede tuz, pH, toplam asitlik, toplam azot, suda çözünen azot, protein olmayan azot, proteoz-pepton azotu, olgunlaşma indeksi, toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı, *Lactobacillus acidophilus* sayısı, *Bifidobacterium bifidum* sayısı ile elektroforetik ve duyuşal özelliklerinde meydana gelen değişimler araştırılmıştır. Sonuçlar, SPSS<sup>®</sup> paket istatistik programı aracılığı ile analiz edilmiş ve gruplararası farklılıklar ile muamele x depolama süresi interaksyonları sırasıyla basit varyans analizi ve DUNCAN testi ile belirlenmiştir.

Elde edilen bilgiler ışığında, kurumadde, yağ, kurumaddede yağ, tuz, kurumaddede tuz içerikleri üzerine, mikrokapsül tekniklerinin etkili olmadığı, ancak depolama süresinin bu özellikler üzerinde etkisinin  $P<0.05$  düzeyinde önemli olduğu tespit edilmiştir.

Deneme peynirlerinin depolamanın başlangıcından sonuna kadar pH değerlerinde uygulamalardan bağımsız sürekli bir azalış yaşanırken, toplam asitlik değerlerinde artışlar olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, tüm örneklerde tuz penetrasyonu depolama süresi boyunca devam etmiştir ve mikrokapsülleme yönteminin tuz penetrasyon hızı üzerinde etkisinin bulunmadığı saptanmıştır. Peynir kitlesine tuz penetrasyonu ile bakteri gelişimi arasında negatif bir korelasyon gözlenmiştir.

Deneme peynirlerinde, toplam azot (TN) ile azot fraksiyonları (WSN, NPN, PPN) ve olgunlaşma indeksi değerleri uygulanan kapsülleme yönteminden etkilenmezken, bu değerler 90 günlük depolama periyodu boyunca istatistiksel olarak önemli düzeyde artış göstermiştir ( $P<0.05$ ). Elektroforetik özellikler incelendiğinde, depolama süresi boyunca kaşar peyniri örneklerinde proteolizin çok yavaş seyrettiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, azot fraksiyonlarındaki (WSN, NPN, PPN ve Oİ) değişimler ile uyumlu bulunmuştur. Mikrokapsülleme işleminin kaşar peynirinde proteoliz düzeyi üzerindeki etkileri ise sınırlı olmuştur.

Depolama süresi boyunca deneme örneklerinin toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB), *B. bifidum* BB-12 ve *L. acidophilus* LA-5 sayılarında mikrokapsülasyon yönteminden bağımsız azalmalar olduğu saptanmıştır. Bu azalmalar peynir kitlesinin tuz konsantrasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Kaşar peyniri üretimi sırasında uygulanan haşlama işlemi sonucunda tüm örneklerin bakteri sayılarında azalmalar olmasına karşın, bu düşüş mikrokapsüllenmiş probiyotik bakteri içeren örneklerde (C ve B örnekleri) kontrol örneğine (A örneği) oranla daha sınırlı olmuştur.

A örneğinin aksine, B ve C örneklerinde depolama süresince *B. bifidum* BB-12 koloni sayısında gözlenen azalma sınırlı düzeyde kalmıştır. Emülsiyon ve ekstrüzyon teknikleri arasında, *B. bifidum* BB-12 kolonilerinin canlılıkları üzerindeki etkileri bakımından bir farklılık kaydedilmemiştir.

Denemede kullanılan bir diğer probiyotik bakteri olan *L. acidophilus* LA-5, A örneğinde depolama süresi boyunca canlılığını kısmen korumuştur. *B. bifidum* BB-12'de olduğu gibi haşlama işlemi, A örneğinin *L. acidophilus* LA-5 canlı koloni sayısında azalmaya yol açmıştır. B ve C örnekleri arasında bakteri canlılığının, korunması açısından fark bulunmadığı ve kapsüle alınan probiyotik bakterilerin 90 günlük depolama sonunda ulaştığı düzeyin terapatik etki ( $10^6$  kob/g) için yeterli olduğu saptanmıştır.

Duyusal değerlendirmeler sonucunda, yapı/tekstür, tat/koku ve görünüş özellikleri bakımından deneme peynirleri arasında belirgin farklılıklar tespit edilememiştir. Mikrokapsülleme yönteminin kaşar peynirinin duyusal özellikleri üzerinde olumsuz etkisinin bulunmadığı ve söz konusu ürünlerin tüketilebilir oldukları belirlenmiştir.

## SUMMARY

In the present study, the viability of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 (*L. acidophilus* LA-5) and *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (*B. bifidum* BB12) which were microencapsulated in two different techniques namely extrusion (sample B) and emulsion (sample C) techniques, in kaşar cheese was monitored. The study was repeated twice and the kaşar cheese samples were analyzed for total solids, fat, fat-in-dry matter, salt, salt-in-dry matter, total nitrogen, nitrogenous fractions (WSN, NPN and PPN), ripening index and total aerobic mesophilic bacteria (TAMB), *L. acidophilus* LA-5 and *B. bifidum* BB12 counts throughout 90 days storage. Results obtained were statistically processed using SPSS<sup>®</sup> package software. Different groups were determined according to DUNCAN's Multiple Range test.

Results showed that microencapsulation techniques did no effect on basic chemical profile of the cheeses examined. The total solids, fat-in-dry matter and salt-in-dry matter contents were not affected by microencapsulation techniques. On the contrary, storage period was found to be strongly effective on these components ( $P < 0.05$ ).

The pH values of the cheese samples decreased continuously throughout storage and this was independent from the microencapsulation techniques employed. Accordingly, the total acidity of the samples increased during the same period. Similarly, salt penetration continued during 90-day storage and microencapsulation had no effect on salt penetration rate into the cheese blocks. A negative correlation was observed between salt penetration rate and viability of starter bacteria.

The total nitrogen and nitrogenous fractions (WSN, NPN and PPN) contents, and ripening indices (RI) of the cheeses were not changed as a function of microencapsulation technique; however, the effect of storage period on these parameters was statistically significant at  $P < 0.05$  level. Urea-poliacrylamide gel electrophoresis results revealed that throughout storage period, the proteolysis developed rather slowly in all the samples analyzed. These results were in good agreement with WSN, NPN, PPN and RI values.

During storage period, total mesophilic aerobic bacteria (TAMB), *L. acidophilus* LA-5 and *B.bifidum* BB12 counts decreased in all the samples. These decreases were found to be strongly related with salt levels in the samples. Also, scalding caused a drastic decrease in the number of TAMB and probiotic bacteria, with more pronounced in the control sample (sample A) compared with the samples B (extrusion) and C (emulsion).

Unlike sample A, the decrease in the counts of *B.bifidum* BB12 in the samples B and C was rather limited. No difference was noted between the microencapsulation techniques with regard to the viabilities of *B.bifidum* BB12 colonies.

*L. acidophilus* LA-5 was able to keep -to some extent- its viability during storage in the sample A (control). As with *B.bifidum* BB-12 colonies, *L. acidophilus* LA-5 colonies were adversely affected by scalding. No marginal difference was observed between the samples B and C regarding *B.bifidum* BB-12 counts. After 90 days storage, the counts of probiotic bacteria was just above the therapeutic minimum level (<10<sup>6</sup> cfu/g).

Sensory evaluations results showed that no remarkable difference between the samples regarding body/texture, appearance /colour and aroma/flavour properties. Microencapsulation techniques did not affect the sensory quality of the cheese samples and these cheeses were rated as organoleptically acceptable by the panel group.