

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

114150

**BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE *Lactobacillus acidophilus* VE  
*Bifidobacterium bifidum*'dan YARARLANMA OLANAKLARI  
ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

T.C. YÖKSEK ÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANASYON MERKEZİ

MURAT YILMAZTEKİN

114150

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA BİLİMİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**2001  
ŞANLIURFA**

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE *Lactobacillus acidophilus* VE  
*Bifidobacterium bifidum*'dan YARARLANMA OLANAKLARI  
ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

**MURAT YILMAZTEKİN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
GIDA BİLİMİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

Bu tez; 22/06./2001 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından <sup>ve danışman Dr. M. Serdar AKIN  
Eng. danış. M. Yrd.</sup> onaylanarak oybirliği ile kabul edilmiştir.

Barbaros Özer

M. Serdar AKIN

Mutlu AKIN

Doç.Dr.Barbaros ÖZER    Yrd.Doç.Dr.M.Serdar AKIN  
Danışman                      Üye

Yrd.Doç.Dr.Mutlu AKIN  
Üye

Bu tez Harran Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 159).

## **TEŞEKKÜR**

Tez konumum seçiminden araştırmanın yürütülmesi ve değerlendirilmesine kadar, her konuda yardımcı olan değerli danışman hocam Doç. Dr. Barbaros ÖZER'e, araştırmalarıma katkıda bulunan Osman ÖZER'e, sonuçların istatistiksel yorumlanmasında yardımcı olan Dr. Şahin ÇADIRCI'ya ve bugünlere gelmemde büyük emekleri olan aileme teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
<b>ÖZ</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>TABLULAR DİZİNİ</b>	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	viii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI</b>	5
<b>2.1. Probiyotik Tanımı ve Probiyotik Mikroorganizmalar</b>	5
<b>2.1.1. <i>Lactobacillus</i> spp.</b>	9
<b>2.1.2. <i>Bifidobacterium</i> spp.</b>	11
<b>2.2. Probiyotik Peynir Çalışmaları</b>	21
<b>3. MATERİYAL VE METOT</b>	26
<b>3.1 Materyal</b>	26
<b>3.1.1. Beyaz Peynir Yapımında Kullanılan Süt</b>	26
<b>3.1.2. Sıvı Şirden Mayası</b>	26
<b>3.1.3. Starter Kültür</b>	26
<b>3.1.4. Peynir Yapımında Kullanılan Salamura</b>	26
<b>3.2. Metot</b>	26
<b>3.2.1. Peynir Yapımı</b>	26
<b>3.2.2. Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması</b>	28
<b>3.2.2.1. Peynir Sütünden Örnek Alma ve Analize Hazırlama</b>	28
<b>3.2.2.2. Beyaz Peynirden Örnek Alma ve Analize Hazırlama</b>	28
<b>3.2.3. Uygulanan Analizler</b>	28
<b>3.2.3.1. Peynire İşlenen Süte Uygulanan Analizler</b>	28
<b>3.2.3.2. Peynirde Yapılan Analizler</b>	29
<b>3.2.4. İstatistiksel Analizler</b>	32
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b>	34
<b>4.1. Peynir Yapımında Kullanılan Çığ Sütün Nitelikleri</b>	34
<b>4.2. Peynire Uygulanan Analiz Sonuçları</b>	34
<b>4.2.1. Peynirlerin Kurumadde İçeriklerinde Oluşan Değişimler</b>	34

4.2.1. Peynirlerin Kurumadde İçeriklerinde Oluşan Değişimler	34
4.2.2. Peynirlerin Yağ ve Kurumaddede Yağ İçeriklerinde Oluşan Değişimler	37
4.2.3. Peynirlerin Tuz ve Kurumaddede Tuz İçeriklerinde Oluşan Değişimler	41
4.2.4. Peynirlerin Toplam Azot ve Protein İçeriklerinde Oluşan Değişimler	46
4.2.5. Peynirlerin WSN İçeriklerinde Oluşan Değişimler	51
4.2.6. Peynirlerin Olgunlaşma İndeksi Oranlarında Oluşan Değişimler	54
4.2.7. Deneme Peynirlerin NPN İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler	57
4.2.8. Deneme Peynirlerinin PPN İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler	59
4.2.9. Deneme Peynirlerinin Tirozin İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler	62
4.2.10 Deneme Peynirlerinin pH İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler	64
4.2.11. Deneme Peynirlerinin Toplam Titrasyon Asitliği Düzeylerinde Meydana Gelen Değişimler	67
4.2.12. Deneme Peynirlerinin Toplam Canlı Bakteri Sayılarında Meydana Gelen Değişimler	70
4.2.13. Deneme Peynirlerin Toplam Maya-Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler	73
4.2.14. Deneme Peynirlerinin <i>Lactobacillus acidophilus</i> ve <i>Bifidobacterium bifidum</i> Sayılarında Meydana Gelen Değişimler	76
<b>5. SONUÇLAR</b>	83
<b>6. KAYNAKLAR</b>	85
<b>ÖZET</b>	95
<b>SUMMARY</b>	98
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	101



## ÖZ

### Yüksek Lisans Tezi

# BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE *Lactobacillus acidophilus* VE *Bifidobacterium bifidum*' DAN YARARLANMA OLANAKLARI ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA

Murat YILMAZTEKİN

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü  
2001, Sayfa: 102

Bu çalışma 90 gün depolanan salamura beyaz peynirlerde *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* gelişimini izlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla; iki farklı inokülasyon düzeyinde (% 2.5 ve % 5.0) üretilen peynirler kontrol peyniri ile karşılaştırılmıştır. Deneme örneklerinde kurumadde, yağ, yağ/ kurumadde, tuz, tuz/ kurumadde, pH, toplam asitlik, toplam azot, protein, suda çözünen azot, protein olmayan azot, proteoz-pepton azotu, olgunlaşma indeksi, tirozin değerleri ile toplam canlı bakteri, maya-küf ve probiyotik bakteri sayıları belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, deneme örneklerinin toplam kurumadde, yağ, yağ/ kurumadde, tuz ve tuz/ kurumadde değerleri inokülasyon oranlarından etkilenmemiştir. Buna karşın inokülasyon oranındaki artış, proteolizde artışı da beraberinde getirmiştir. Probiyotik bakterilerin ürünlerde toplam maya-küf gelişimini yavaşlatlığı ve 90 gün sonunda probiyotik bakteri sayısının terapeutik etki için gerekli minimum bakteri sayısının üzerinde olduğu belirlenmiştir.

---

**ANAHTAR KELİMELER:** Salamura beyaz peynir, probiyotik, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, kalite, yaşam süreleri.

## **ABSTRACTS**

### **Master Thesis**

#### **A STUDY ON PRODUCTION OF WHITE CHEESE WITH *Lactobacillus acidophilus* AND *Bifidobacterium bifidum***

**Murat YILMAZTEKİN**

**Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Science and Technology  
2001, Page: 102**

This study was designed to study the survival of *Lb. acidophilus* and *B. bifidum* in white brined cheeses stored for 90 days. In this context, the probiotic cheeses manufactured by inoculation with selected probiotic strains at two different rates (% 2.5 and % 5.0) were compared with the control cheese. In the test materials, total solids, fat, fat in total solids, salt, salt in total solids, pH, total titratable acidity, total nitrogen, protein, water soluble nitrogen, non-protein nitrogen, proteose-pepton nitrogen, ripening index, tyrosine values and total viable colony, total yeast and moulds, *Lb. acidophilus* and *B. bifidum* numbers were determined throughout storage for 90 days.

According to the results obtained it was noted that the total solids, fat, fat in total solids, salt and salt in total solids were not affected by the rate of inoculation of probiotic starter. However, the increase in the rate of inoculation led to an increase in the proteolysis. The presence of the probiotic bacteria had detrimental effect on the growth of yeast and mould. The number of the probiotic bacteria at the end of the storage was still high enough for probiotic minimum.

---

**KEY WORDS:** White Brined Cheese, probiotics, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, quality, survival.

## TABLOLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 2.1.</b> Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	8
<b>Tablo 2.2.</b> Probiyotik Bakterilerin Yararlı ve Terapetik Etkileri	14
<b>Tablo 2.3.</b> Dünyada Üretimi Yapılan Probiyotik Fermente Süt Ürünleri, Hakim Mikrofloraları ve Yaygın Üretim Merkezleri	19
<b>Tablo 2.4.</b> Bağırsak Mikroflorasını Etkileyen Abiyotik ve Biyotik Faktörler	21
<b>Tablo 4.1.</b> Peynir yapımında kullanılan çiğ sütlerin kimyasal kompozisyonu	34
<b>Tablo 4.2.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumadde içeriklerinde meydana gelen değişimler	35
<b>Tablo 4.3.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde ortalama yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler	40
<b>Tablo 4.4.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumaddede yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler	41
<b>Tablo 4.5.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde tuz içeriklerinde meydana gelen değişimler	43
<b>Tablo 4.6.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumaddede tuz içeriklerinde meydana gelen değişimler	46
<b>Tablo 4.7.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam azot içeriklerinde meydana gelen değişimler	48
<b>Tablo 4.8.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde protein içeriklerinde meydana gelen değişimler	51
<b>Tablo 4.9.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde suda çözünen azot içeriklerinde (WSN) içeriklerinde meydana gelen değişimler	53
<b>Tablo 4.10.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde olgunlaşma indekslerinde meydana gelen değişimler	55
<b>Tablo 4.11.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde protein olmayan azot İçeriklerinde (NPN) içeriklerinde meydana gelen değişimler	59
<b>Tablo 4.12.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde proteoz-pepton azotu içeriklerinde (PPN) içeriklerinde meydana gelen değişimler	60

<b>Tablo 4.13.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde tirozin içeriklerinde meydana gelen değişimler	64
<b>Tablo 4.14.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde pH değerlerinde meydana gelen değişimler	65
<b>Tablo 4.15.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde titrasyon asitliği değerlerinde meydana gelen değişimler	69
<b>Tablo 4.16.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam canlı bakteri sayısında meydana gelen değişimler	72
<b>Tablo 4.17.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam maya-küf sayısında meydana gelen değişimler	73
<b>Tablo 4.18.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde <i>Bifidobacterium</i> <i>bifidum</i> koloni sayısında meydana gelen değişimler	76
<b>Tablo 4.19.</b> Deneme örneklerinin depolama sürecinde <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> koloni sayısında meydana gelen değişimler	78

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
<b>Şekil 4.2.</b> Deneme peynirlerinin kurumadde içeriklerin depolama süresince meydana gelen değişimler	36
<b>Şekil 4.3.</b> Deneme peynirlerinin yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	38
<b>Şekil 4.4.</b> Deneme peynirlerinin kurumaddede yağ içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	39
<b>Şekil 4.5.</b> Deneme peynirlerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	42
<b>Şekil 4.6.</b> Deneme peynirlerinin kurumaddede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	45
<b>Şekil 4.7.</b> Deneme peynirlerinin toplam azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	47
<b>Şekil 4.8.</b> Deneme peynirlerinin protein içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	50
<b>Şekil 4.9.</b> Deneme peynirlerinin suda çözünen azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	52
<b>Şekil 4.10.</b> Deneme peynirlerinin olgunlaşma indekslerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	56
<b>Şekil 4.11.</b> Deneme peynirlerinin protein olmayan azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	58
<b>Şekil 4.12.</b> Deneme peynirlerinin proteoz-pepton azotu içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	61
<b>Şekil 4.13.</b> Deneme peynirlerinin tirozin içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	63
<b>Şekil 4.14.</b> Deneme peynirlerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	66
<b>Şekil 4.15.</b> Deneme peynirlerinin titrasyon asitliği içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler	68
<b>Şekil 4.16.</b> Deneme peynirlerinde canlı toplam koloni sayısında depolama	

süresince meydana gelen değişimler	71
<b>Şekil 4.17.</b> Deneme peynirlerinde canlı maya ve küf sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler	74
<b>Şekil 4.18.</b> Deneme peynirlerinde canlı <i>Bifidobacterium bifidum</i> koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler	77
<b>Şekil 4.19.</b> Deneme peynirlerinde canlı <i>Lactobacillus acidophilus</i> koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler	79



## 1. GİRİŞ

Bitkisel ve hayvansal kaynaklı çok sayıda gıda maddesi içerisinde süt, özel bir öneme sahiptir. Süt, memeli hayvanlarda ve insanların ilk yaşam periyodu içerisinde gereksinim duyduğu tüm besin elementlerini yapısında barındırmaktadır. Bir gıdanın besin değeri, vücutun normal fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için ihtiyaç duyduğu besin öğelerine sahip olma derecesi ile ölçülmektedir. Süt, bileşiminde 85 dolayında farklı besin etmenini bulundurmaktadır. Bundan dolayı; sütte, yenidoğanın gereksinimi olan besin öğelerinin tamamına yakını yeterli miktarlarda bulunmaktadır.

Yapılan araştırmalara göre, 1 litre süt yetişkinlerin günlük kalsiyum ve fosfor gereksinimlerinin tamamını, 10-12 yaş arası çocuklarda ise tamamına yakın bir kısmını karşılarken, yetişkin ve çocukların günlük riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) ve kobalmin (Vitamin B<sub>1</sub>) gereksinimlerinin tümünü ve protein ihtiyaçlarının da yarısını karşılamaktadır. Süt; bileşimindeki yağ, protein ve laktoza bağlı olarak yaklaşık 690-695 kalorilik bir enerji deposu olarak da değerlendirilmektedir.

Süt, yenidoğanların gereksinim duyduğu besin elementlerini sağlamaının ötesinde yavrunun özel bir mikrobiyel dengeye sahip olmasına da yardımcı olmaktadır. Temel olarak *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. suşlarını içeren bu mikrobiyel denge sayesinde vücutun savunma sistemi gelişmekte ve özellikle patojen mikroorganizmlara karşı direnç hızla artmaktadır (1). Bu mikroorganizmalar anne sütü ile yavruya geçmekte ve bağırsakta lokalize olarak uzun süre canlılıklarını koruyabilmektedirler. İntestinal florayı oluşturan bu mikroorganizmaların yoğunlukları röntgen ışınları, beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı, stres gibi faktörlerden olumsuz etkilenmemektedir (2). Sindirime yardımcı

olan enzimlerin kaynağı olan bu mikrofloranın yeterli konsantrasyona ulaşamaması durumunda vücutta bazı metabolik problemlerin ortaya çıkmasının yanı sıra patojen mikroorganizmalara karşı direnç de azalmaktadır.

1990'lı yılların başlarından bu yana bağırsak kökenli canlı probiyotik bakteri içeren ferment süt ürünlerinin satışında tüm dünyada hızlı artışlar gözlenmektedir. Bu artışa paralel olarak, başta *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* suşları olmak üzere bağırsak kökenli bakterilerin probiyotik etki mekanizmaları üzerinde araştırmalar hız kazanmıştır. Bugün, dünyada çoğu süt kökenli olmak üzere 70'in üzerinde *Bifidobacterium* spp. içeren ürün bulunmaktadır (1). Gıdalarda probiyotik mikroorganizma kullanımı hem ürün kalitesini artırma hem de tüketici sağlığını korumaya yöneliktir.

Probiyotik mikroorganizma kullanımı ile üründe bakteriosinler, organik asitler ve hidrojen peroksit oluşmakta, ayrıca pH'da meydana gelen azalma nedeniyle gıdaları bozan mikroorganizmaların gelişimi inhibe olmakta, buna bağlı olarak da ürünün depolama ömrü uzamaktadır (3). Olumlu özelliklerine karşın probiyotik ferment süt ürünlerin üretiminde kullanılan insan kökenli mikroorganizmaların sütü yavaş ferment etmesi ve depolama sırasında canlılığını yitirme riskinin bulunması bu tip ürünlerin dezavantajları olarak dikkati çekmektedir. Bu olumsuzluğu kısmen de olsa giderebilmek için bazı gelişim faktörlerinin süte katılması alternatif olarak sunulmaktadır. Bu amaçla, *Lactobacillus acidophilus*'un gelişimini teşvik etmek için maya ekstraktı, sistein, arpa mayası; *Bifidobacterium* spp.lerin gelişimini teşvik etmek için laktuloz ve bazı oligosakkaritlerin etkili olduğu belirlenmiştir (4). Anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsaklarında hakim mikroorganizma *Bifidobacterium* spp.'dir. 1906

yılında *Bifidobacterium bifidum*'un ishali engellediğinin bulunmasından beri bu bakterinin bebek maması yapımında kullanımı üzerinde çalışmalar bulunmaktadır. Bu çabalar sonunda bifidojenik faktörler olarak adlandırılan laktuloz ve fruktooligosakkarit içeren mamalar geliştirilmiştir (5). Bunu takiben, canlı *Bifidobacterium bifidum* ve laktuloz içeren Lactana-B® ve *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Pediococcus acidilactici* içeren Femilact® adlı toz bebek mamaları da üretilmiştir (6).

Bugün, probiyotik bakteri içeren bir çok süt ürünü piyasalarda yer almaktadır. Bu ürünler arasında ekşi krema (sour cream), dondurma, yayık altı, yoğurt, süttozu ve dondurulmuş süt tatlıları belli başlı olanlardır. Probiyotik bakteriler, üretim modeline göre fermentasyon öncesi süte katılabildeği gibi fermentasyon sonrası ürüne de katılabilmektedir (2).

Sonuç olarak; probiyotik suşların daha uzun süre canlılığını koruyabilmesi için gerekli genetik ve biyoteknolojik çalışmaların yanı sıra, bu çalışmalar sonunda elde edilen sonuçların daha geniş kitlelere ulaştırılması da önem kazanmaktadır. Bu nedenle; probiyotik bakteri içeren süt ürünlerinin çeşitliliğinin artırılarak geniş bir tüketici kitlesine ulaşmak temel hedeflerden olmalıdır. Bu noktadan hareketle, geleneksel termofilik fermenter ürünlerin yanı sıra peynir gibi yaygın olarak tüketilen produktlere de terapistik nitelik kazandırılmasının yararlı olacağı sanılmaktadır.

Süt endüstrisi gelişmiş ülkelerde terapistik özelliğe sahip bakterilerin saf halde izolasyonu ve bu izolatların fermenter süt ürünlerinin üretiminde kullanımı üzerine çalışmalar son zamanlarda büyük hız kazanmıştır. Oldukça önemli bir pazar payına sahip bu ürünlerin yanı sıra peynir üretiminde de terapistik özelliğe

sahip probiyotik bakterilerin kullanılabileceği düşünülmektedir. Ülkemizde süt tüketimi düşük olmasına karşın geleneksel olarak peynir ve yoğurt tüketimi yüksek değerlerde seyretmektedir. Bu nedenle, planlanan bu çalışmada hem insanlarda aktif savunma sistemine katkıda bulunan hem de sindirimini düzenleyen probiyotik bakterilerin kullanımı ile beyaz peynir üretim olanakları araştırılmıştır.



## **2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI**

### **2.1. Probiyotik Tanımı ve Probiyotik Mikroorganizmalar**

Tıp biliminde son 50 yılda yaşanan gelişmeler sonucunda insanoğlunun yaşam süresi önemli ölçüde artmıştır. Günümüzde beslenme ile insan sağlığı arasındaki direk ilişki çok net olarak tanımlanmaktadır. Buna göre; 21. yüzyılda piyasalarda yer alacak gıdaların öncelikle insan sağlığı açısından olumlu etkiler yapıp yapmadığı göz önünde bulundurulacaktır (7).

İnsan sağlığı üzerinde olumlu etkiler gösteren gıda maddelerinin kompleks yapısında probiyotiklerin önemli rolü bulunmaktadır. Probiyotik kelimesi Yunanca'da “*yaşam için*” anlamına gelmektedir. Probiyotik bakteri, bilimsel olarak ilk kez 1963 yılında Lilly ve Stillwell tarafından tanımlanmış, 1989'da ise Fuller tarafından “bireyin bağırsaklarındaki mikrobiyal dengeyi koruyarak sağlığını iyi yönde etkileyen tek ya da kombine canlı bakteri kültürleri” şeklinde daha geçerli bir tanıma kavuşturulmuştur (8). Gerçekte canlı organizmaların probiyotik özellikleri çok uzun yillardır bilinmektedir. M.Ö. 76 yılında Romali tarihçi Plinio fermentte süt ürünlerinin gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanıldığını belirtmiştir (9). Probiyotik mikroorganizmaların olumlu etkilerine ait ilk bilimsel teorileri ise 1900'lü yılların başında Metchnikoff ortaya atmıştır (10). Bu araştırcıya göre, *Lactobacillus* suslarını içeren ürünleri tüketen kişilerin bağırsak florasında yer alan ve toksik madde sentezleyebilen mikroorganizmalar zamanla inhibisyona uğramakta ve bu kişilerin yaşam süreleri artmaktadır.

Bireylerin genel sağlık durumu mide-bağırsak florası ile direkt ilişkilidir. Vücuttaki tüm hücrelerin %90'ından fazlasının bakteri hücresi olarak kolon (kalın bağırsak)'da yer aldığı bildirilmektedir (11).

Bağırsaktaki mikroflora kompozisyonu, stres, çeşitli hastalıklar, yaşılanma, kötü beslenme ve antimikrobiyel maddelerin varlığı gibi faktörlerin etkisiyle değişmekte ve yararlı bakterilerin sayısında azalma meydana gelmektedir. Disbiyosiz olarak tanımlanan bu durum, bağırsaklardaki bakteriyel floranın dengesizliğini ifade etmektedir. Sonuçta canlıda hizımsızlık, gastrit, ülser, kabızlık, ishal, arterit gibi kronik iltihaplanmalar yanında bağışıklık sisteminin zayıflaması gibi bir takım fonksiyonel rahatsızlıklar da meydana gelmektedir.

Bağırsaklarda bulunan ve önemli fizyolojik fonksiyonlara sahip olan birçok bakteri suşunun aynı ortamda gelişmesi, bunlar için gerekli olan ve çoğu diyetlerle alınan substratların varlığına bağlıdır. Bu durum diyet yoluyla toplumun genel sağlığının iyileşmesine ve metabolik aktivitesinin güçlenmesine olanak sağlamaktadır. Diğer bir anlayışla, bağırsak florاسının doğal üyelerinden seçilen probiyotik canlı bakteri suşları ve bunların gelişmesini teşvik eden prebiyotik olarak adlandırdığımız maddelerin vücuda alınmasıyla, disbiyosisin olumsuz etkileri giderilebilmekte ve birçok hastalığa karşı olumlu etki sağlanabilmektedir (12).

Canlı mikrobiyel gıda katkıları olarak probiyotiklerin en iyi bilinenleri yoğurt ve diğer fermentte 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 (13). Probiyotikler, esas olarak laktik asit bakterileridir. Yoğurt yapımında kullanılan bakteriler (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (*Lactobacillus bulgaricus*) ve *Streptococcus thermophilus*) dışında tüm laktik asit bakterileri, bağırsak florası

elemanlarıdır. Bir probiyotik ürün bu mikroorganizmalardan birini ya da birkaçını içerebilmektedir. Probiyotik etkiye sahip mikroorganizmalar Tablo 2.1' de verilmiştir (8, 14).

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalarda aranan özellikler şunlardır:

- Güvenilir olmalıdır, kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- Stabil olmalıdır, düşük pH ve sofra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.
- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve kolonize olabilmelidir.
- Karsinojenik ve patojenik bakterilere karşı antagonistik etkiye sahip olmalıdır.
- Antimikrobiel maddeler üretmelidir.
- Konakçında hastalıklara karşı direnç artışı gibi yararlı etkiler oluşturma yeteneğinde olmalıdır.
- Antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır
- Minimum etkin dozları bilinmediğinden, canlı hücrelerde büyük miktarlarda bulunabilmelidir.
- Endüstriyel çalışmalara uygun olmalı, saklama koşullarında uzun süre canlı ve stabil kalabilmelidir (15).

Fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılacak olan mikroorganizmaların insan bağırsak sisteminin doğal florasında bulunması onun beslenme değerini artırmaktadır. Ayrıca bu mikroorganizmaların tüketim sonrasında sindirim sisteminde canlı kalarak bağırsaklara ulaşması ve burada

**Tablo 2.1 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar**

Lactobacillus türleri	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus cellobiosus</i> <i>Lactobacillus dellbrueckii</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus johsonii</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> , <i>Lactobacillus gasseri</i>
Bifidobacterium türleri	<i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium thermophilum</i>
Bacillus türleri	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Bacillus coagulans</i>
Pediococcus türleri	<i>Pediococcus cerevisiae</i> , <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Streptococcus türleri	<i>Streptococcus cremoris</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus intermedius</i> , <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus diacetilactis</i>
Bacteroides türleri	<i>Bacteroides capillius</i> , <i>Bacteroides suis</i> <i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>Bacteroides amylophilus</i>
Propionibacterium türleri	<i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
Leuconostoc türleri	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Küfler	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus oryzae</i>
Mayalar	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Candida torulopsis</i>

gelişerek yararlı etkiler göstermesi ve tüketilinceye kadar üründe canlılık ve aktivitesini koruması istenmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların en önemli özelliklerinden birisi bağırsak çeperine tutunarak biyolojik etki gösterebilmeleridir. Probiyotikler, mide bağırsak kanalından geçişleri sırasında canlılıklarını koruyabilmektedir (16,17,18). Bağırsak sisteminde bulunan *Lactobacillus* türlerinden ferment süt ürünlerinde en çok kullanılanları *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*'dur.

### **2.1.1. *Lactobacillus* spp.**

Uluslararası Sütçülük Federasyonu'na (IDF) üye ülkeler *Lactobacillus acidophilus* bakterisini yoğurt ve benzeri ferment süt ürünlerinin üretiminde kullanmaktadır. Bu mikroorganizma, genelde insan sindirim sisteminde, ince bağırsak ile kalın bağırsak arasında kalan bölgede yerleşik olarak yaşamakta ve genellikle ince bağırsakta görülmektedir. *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.

*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 antimikrobiyal bir etkiye sahiptir (19,21,22). *Lactobacillus acidophilus*'un bu özelliği nedeniyle bağırsak enfeksiyonu ve hastalıkları kontrol altına alınıbilmekte ve antibiyotik tedavisi sonrası ortaya çıkabilecek olumsuzluklar giderilebilmektedir (23). *Lactobacillus acidophilus* safra asitlerine

karşı dirençlidir ve fekal *E.coli* suşları ile diğer bağırsak patojenlerine karşı kuvvetli antibiyotik etki göstermektedir (19,20).

*Lactobacillus acidophilus* içeren süt ile beslenen mide-bağırsak hastalarının dışkılardaki laktobasil sayısının 10 kat arttığı ve koliform miktarının düşüğü saptanmıştır. *Lactobacillus acidophilus* bakterisi kullanılarak üretilen ferment süt ürünleri mide bağırsak iltihabı, ishal, çeşitli deri enfeksiyonları, ağızda uçuk ve aft tedavisinde kullanılmıştır (24-26). *Lactobacillus acidophilus*'un büyümeye ve gelişmeyi artırıcı bir etkisi vardır. Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, 4 hafta süreyle *Lactobacillus acidophilus*'lu sütle beslenen farelerde normal sütle beslenenlere oranla vücut ağırlığında önemli ölçüde gelişme olduğu gözlenmiştir (27).

*Lactobacillus acidophilus*'un antikarsinojenik etkiye sahip olduğu uzun yillardır bilinmektedir. Fermente süt ürünleri,  $\beta$ -glukoronidaz, nitroreduktaz, azoredüktaz ve  $7\alpha$ -dehidrogenaz gibi bağırsaklarda yer alan fekal enzimlerin inhibe edilmesinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu bakteriyel enzimler kalın bağırsakta kimyasal prokarsinojenik öğeleri karsinojenlere çevirebilme yeteneğine sahiptirler. Bu enzimlerin aktivitelerinden yararlanılarak kalın bağırsakta kanserli hücrelerin gelişimi hakkında bilgi edinilebilmektedir (28,29). Araştırmacılar, bağırsak laktobasillerinin karaciğer kanserini azaltıcı etkisi olduğunu da belirtmişlerdir. Bunun olası nedenleri, patojen karakterli bağırsak bakterilerinin metabolik aktivitelerinin azalması, bu bakterilerin sentezlediği kanserojen maddelerin ortadan kaldırılması ve bu tip zararlı bakterilere karşı bağısıklığın artırılması şeklinde açıklanmaktadır (30).

Bağırsaklarda yaşayan bakteriler çok geniş ve farklı bir populasyon oluşturmaktadır. Bağırsak mikroflorası; ishal, sindirim sisteme yapılan cerrahi müdahaleler, beslenme, stres ve antibiyotik kullanımı gibi nedenlerle bozulabilir. Anne sütüyle beslenen bebeklerin kalın bağırsağında dominant olan *Bifidobacterium* spp.'lerin sayısal yoğunluğu yaşa bağlı olarak değişmekte ve bebeklerde dışkı mikroflorasının % 99'unu, genç ve yetişkinlerde ise % 20'sini oluşturmaktadır (31, 32, 33).

### **2.1.2. *Bifidobacterium* spp.**

*Bifidobacterium* spp., Gram (+), spor oluşturmayan, zorunlu anaerobik karakter taşımaktadırlar. 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'dır. pH 4,5-5,0 veya 8,0-8,5'da gelişimi yavaşlamaktadır (34). *Bifidobacteria* spp. CO<sub>2</sub>, bütirik asit, propiyonik asit üretme yeteneğine sahip değildir (35). Çocuklar tarafından daha kolay metabolize olan L (+) laktik asit üretir (31). Bağırsakta kolay lokalize olmaktadır (36) ve mide asitliğinde stabildirler (37).

*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. Ayrıca *Lactobacillus* spp.'lerin *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides bivius*, *Candida albicans* ve *Chlamydia trachomatis* gibi patojenlerin ürogenital kolonizasyonunu

engellediği bulunmuştur (38). Patojen bakterilerin inhibisyon mekanizması üç şekilde gerçekleşmektedir. Bunlar; a) besin maddesine sahip olabilmek için bir rekabet ortamının yaratılması ve bu rekabetten probiyotik bakterilerin galip çıkması, b) organik asit, hidrojen peroksit, bakteriosinler gibi inhibitörlerin sentezlenmesi, c) aktif savunma sisteminin desteklenmesidir (39). Henüz kanıtlanmamakla birlikte, probiyotik bakterilerin Tablo 2.2' de sunulan terapetik etkilerine ek olarak, düzenli probiyotik ferment süt ürünlerinin tüketimi ile AIDS hastalığının tedavisinin mümkün olabileceği ileri sürülmektedir (40). Bu teorinin temel kaynağı, *Lactobacillus spp.* tarafından sentezlenen hidrojen peroksitin tek başına ya da lökosit veya uterin kaynaklı peroksidaz enzimi ile birlikte AIDS nedeni olan HIV (Human Immunodeficiency Virus)'nın inaktivasyonunu sağlamasıdır.

*Bifidobacterium* spp.'lerin antimikrobiyal etkisi, üretmiş oldukları asetik asitten kaynaklanmaktadır. Asetik asit, laktik aside oranla Gram (-) bakterilere karşı daha güçlü bir antagonistik etkiye sahiptir (41) ve bağırsak pH'sını düşürerek zararlı bakterilerin gelişimini engellemektedir (42, 43). *Bifidobacterium* spp.'lerin *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, *Proteus* spp. ve *Candida albicans* gibi bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir (31,44). *Bifidobacterium bifidum* 1452'den izole edilen Bifidin antibiyotiği *Mycobacterium flavus* ve *Staphylococcus aureus*'un gelişimini hızla inhibe etmektedir (45).

*Bifidobacterium bifidum*'un antikarsinojenik etkisi, tümör oluşumuna neden olan prokarsinojenleri ya da bakteriyel enzimleri indirekt olarak azaltması,

bağıışıklık sistemini aktive etmesi ve bağırsak pH'sını azaltması şeklinde ortaya çıkmaktadır (46).

Karaciğerin fonksiyonlarından en önemli bağırsaklarda sindirimini gerçekleştirmiş olan zehirli maddeleri parçalayıp ayırtırmaktır. Bağırsaklarda patojen bakteri sayısı arttıkça, bu bakterilerce sentezlenen zehirli madde miktarı da artmaktadır. *Bifidobacterium* spp. bu bakteriler üzerinde antagonistik etkiye sahip olduğundan karaciğerin yükünü hafifletmektedir (47). Kronik hepatitli ve karaciğer rahatsızlığı olan kişilerin diyetlerinde bifiduslu süt yer aldığında, kandaki amonyak, fenol gibi maddelerin azaldığı ve dışkıdaki *Bifidobacterium* spp. sayısının arttığı belirtilmektedir. Bunun neticesinde hastalarda iştah ve kilo artışı tespit edilmiştir (31).

Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen denemelerde *Bifidobacterium* spp.'lerin antikor üretiminde artışa neden olduğu belirtilmektedir (31).

Kalın bağırsakta bulunan *Bifidobacterium* spp. vücutta çok yavaş absorbe olan B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> ve B<sub>12</sub> vitaminlerini sentezleyebilmekte (36), ayrıca alanin, valin, aspartik asit ve treonin gibi amino asitleri üretebilmektedir (46).

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. türleri, ince bağırsaktaki mukoz membran tarafından tutulmakta, burada oluşturdukları asit ve diğer metabolik ürünler ile patojen ve diğer mikroorganizmalara karşı direnç göstermektedir. Bu durumda, *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* ile üretilen ürünlerin düzenli olarak tüketilmesi bu bakterilerin, bağırsak sisteme tutunmasını sağlamakta ve sağlık iyileştirici (health promoting) bir özellik göstermesine neden olmaktadır. Bu nedenle, son yıllarda mide bağırsak enfeksiyonları için klasik antibiyotik tedavilerine alternatif olarak probiyotik

ürünler kullanılmaktadır (16, 17, 18, 48). Probiyotik bakterilerin terapetik etkileri Tablo 2.2' de sunulmuştur.

**Tablo 2.2 Probiyotik Bakterilerin Yararlı ve Terapetik Etkileri**

<u>Yararlı Etkileri</u>	<u>Terapetik Etkileri</u>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Normal intestinal ve ürogenital mikrofloranın korunması</li><li>• Laktoz intoleransının azaltılması</li><li>• Serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi</li><li>• Antikarsinojenik etkinin ortaya çıkması</li><li>• İmmün sisteminin teşvik edilmesi</li><li>• Gıdaların besin değerinin artırılması</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ürogenital enfeksiyonların önlenmesi</li><li>• Kabızlığın önlenmesi</li><li>• Antibiyotik kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan ishalin önlenmesi</li><li>• Yüksek kolesterolinin önlenmesi</li><li>• Bağırsak ve prostat kanseri riskinin azaltılması</li><li>• Kemik erimesinin önemli ölçüde engellenmesi</li></ul>

Kalp rahatsızlıklarını ile serum kolesterol seviyesinin artışı arasında pozitif bir ilişkinin varlığı bilinmektedir (49). Yağsız süt ya da fermentel süt ürünlerinin tüketimi ile kolesterol düzeyinin azalması hakkında farklı ve çelişkili araştırma sonuçları bulunmaktadır (50). Bir görüşe göre, fermentel süt ürünlerinin tüketimi ile yoğun olarak vücuda alınan ürik, orotik ve hidroksimetilglutarik asit gibi organik asitler kolesterol sentezini inhibe etmektedir (51). Bu görüşü savunan araştırmacılar probiyotik bakterilerin bağırsak tarafından kolesterol alımını azalttığını ileri sürmektedir. Hayvanlar üzerinde gerçekleştirilen deneylerde probiyotik bakterilerin kolesterolu azalttığı bulunmuştur, ancak yine de probiyotik fermentel süt ürünleri tüketimi ile kolesterol seviyesi arasında bir pozitif ilişkinin varlığından söz edebilmek için daha fazla çalışmaya gereksinim duyulmaktadır.

Birçok ülkede kırmızı et ve yağ tüketimi ile bağırsak kanseri arasında pozitif bir ilişkinin varlığı kanıtlanmıştır. Buna karşın, örneğin Finlandiya'da, yüksek oranda yağ tüketimine karşın kalın bağırsak kanseri oranı oldukça düşük düzeylerdedir. Bu çelişkinin büyük ölçüde Finlilerin oldukça fazla miktarda fermenti süt ürünü tüketmelerinden kaynaklandığı sanılmaktadır (52). Fermente süt ürünü tüketimine bağlı olarak kalın bağırsak kanserinde meydana gelen azalma muhtemelen:

- Kanserojenik maddelerin dönüşümü, degradasyonu ve absorbsiyonundan,
- Azoredüktaz, nitroreduktaz ve  $\beta$ -glukoronidaz gibi fekal bakteri enzimlerinin düzeyinde meydana gelen azalmadan,
- İmmün sisteminin güçlenmesinden kaynaklanmaktadır.

Özellikle, prokarsinojen ürünleri karsinojen produknlere dönüştüren fekal bakteri enzimlerinin aktivitesinin probiyotik bakterilerin varlığında önemli ölçüde azaldığı kanıtlanmıştır (29). Ayrıca, probiyotik laktik asit bakterilerinin, hücre duvarlarında yer alan peptidoglukan ve polisakkartitler aracılığı ile N-nitrozamin gibi mutajenik maddeleri bağlayarak kanserojen etkiyi azaltıkları ileri sürülmektedir (53).

Probiyotik laktik asit bakterileri tarafından immün sisteminin desteklenmesinin denek hayvanlarda tümör oluşumunu engellemesinde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Ancak, bu iddiaların insanlar için de geçerli olduğunu söyleyebilmek için yeterli klinik veriler henüz elde edilmemiştir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda konakçının spesifik ve spesifik olmayan savunma sisteminin güçlendirilmesi ile laktik asit bakterilerinin tümör

gelişimini engellediği bulunmuştur (54). Probiyotik bakteriler tarafından aktif savunma sisteminin güçlendirilmesi, makrofajlar ile lenfositlerin aktivasyonu, immünoglobülün A (Ig A) düzeyinin artması ve  $\gamma$ -interferon üretiminin teşvik edilmesi gibi faktörleri içermektedir (55,56).

Perdigan ve Alvarez laktobasilleri içeren gıdalar ile beslenen farelerde makrofaj ve lenfosit aktivitelerinin arttığını gözlemiştir. Makrofaj konsantrasyonundaki artış ile lisozomal hidrolazlar, plazminojen aktivatörler, kollagenazlar ve lisozomların aktivitesinde de artış meydana gelmektedir (57). Son yıllarda, Tomioka ve ark 13 gün boyunca *Lactobacillus casei* Y1 T003 ile desteklenen farelerde *Listeria monocytogenes* enfeksiyonunun engellendiğini bulmuşlardır. Ancak, aynı araştırmacılar, probiyotiklerin *Streptococcus pyogenes* QK-432'ye karşı etkisiz kaldığını gözlemiştir (58).

Probiyotik ferment süt ürünlerinin besin değerleri üzerinde yapılan çalışmalarla, laktobasillerin kullanıldığı ürünlerin daha düşük laktoz ve daha yüksek serbest aminoasit ve vitamin düzeylerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, *Lactobacillus* spp. ile ferment edilen probiyotik ürünlerde daha kolay metabolize edilebilen L(+) laktik asit düzeyinin arttığı belirlenmiştir (59). *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp.'lerin yüksek oranda nisin, folik asit, tiamin, riboflavin, pridoksin ve vitamik K sentezledikleri bilinmektedir (60). Bununla birlikte, ferment süt ürünlerinin kalsiyum, demir, çinko, manganez, bakır ve fosfor gibi minerallerin biyolojik yarışılılığı üzerindeki etkisi konusu henüz aydınlatılamamıştır. Ancak, yaygın olan görüşe göre, ferment süt ürünlerinin tüketimine bağlı olarak mide pH'sının düşmesi ile konakçı tarafından mineral absorbsiyonu düzeyi artmaktadır (61).

Probiyotik ürünler üç ayrı kategoride sınıflandırılmaktadır. Bunlar; a) bebek mamaları, b) fermenter ürünler, c) eczacılık ürünleridir. Bu ürünlerin üretiminde en yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteri suşları *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Enterococcus faecium* ve *Propionibacterium freudenreichii* ssp *shermanii*'dır. Probiyotik bakterilerin kullanıldığı fermenter süt ürünlerini Tablo 2.3' de sunulmuştur.

Günümüzde çok sayıda probiyotik fermenter süt ürününün piyasalarda yer almamasına karşın bu ürünlerin olumlu etkilerine ilişkin bazı çekinceler bulunmaktadır. Bu çekincelerin başında probiyotik ürünlerin pazar paylarını artırmak amacıyla varolan etkilerini abartılı bir şekilde yansıtmak gelmektedir. Ayrıca, probiyotik ürünlerin olumlu etkileri hakkındaki raporlar genellikle ticari broşürlerde yer almaktır, buna karşın bilimsel çalışmaların sonuçları daha yorum açık bir şekilde sunulmaktadır. Ek olarak, bu ürünlerin üretiminde kullanılan birçok mikroorganizmanın canlı olmadığı ve patojenleri inhibe etme ya da mide asitliğinde canlı kalabilme gibi spesifik özelliklerini gözönüne alınarak seçilmediği ileri sürülmektedir (2). Bu tip ürünlerin üretiminde kullanılan bakterilerin suşlarının ve orijinlerinin bilinmesi bir zorunluluğudur. Ayrıca, probiyotik bakterilerin kesinlikle patojenlerle kontamine olmaması ve patojenik etki göstermemesi gerekmektedir.

Probiyotik mikroorganizmaların bağırsakta canlı kalabilme ve koloni oluşturabilme özelliğinin yanı sıra bağırsak mikroflorası üzerinde etkili olan birçok abiyotik ve biyotik faktörler Tablo 2.4' de sunulmaktadır. Probiyotik suşların uzun süre canlılıklarını koruyabilmeleri ve diğer mikroflora ile rekabet

edebilmeleri için bağırsak iç çeperlerine tutunabilme özelliğine sahip olmaları gerekmektedir. Adhezyon kapasitesi bakteri suşları arasında farklılıklar gösterebilmektedir. Burada önemli olan nokta, probiyotiklerin adhezyon kapasitelerinin insan bünyesinde değil model doku sistemleri üzerinde test edilmesidir. Model sistemlerde oldukça büyük oranlarda dokuya tutunabilme özelliğine sahip probiyotik suşlar insan bünyesinde (*in vivo*'da) aynı özelliği gösteremeyebilmektedir (62).

**Tablo 2.3** Dünyada üretilen probiyotik fermenteli süt ürünlerini, hakim mikrofloralaran ve yaygın üretim merkezleri

ÜRÜN ADI	ÜLKЕ ADI	MİKROORGANİZMALAR
AB®, Diphilus Süt, Cultura® , Biomild ® LA7	Danimarka, Almanya Norveç, Fransa	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifid. bifidum</i>
Acidophilus ve Bifidus, Yoğurt ve Lünebest	Almanya	<i>Lb.delbreuckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Str. thermophilus</i> , <i>Lb.acidophilus</i>
Bioghurt®	Almanya	<i>Bifid.bifidum</i> veya <i>longum</i> <i>Lb.acidophilus</i> , <i>Str. thermophilus</i>
Biokys®	Çek Cumhuriyeti	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifid.bifidum</i> , <i>P. acidilactici</i>
Olfus®	Fransa	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifid.bifidum</i> , <i>Str. thermophilus</i> veya <i>Lac.lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
Progurt®	Şili	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifid.bifidum</i> , <i>Lac.lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> <i>Lac.lactis</i> biovar <i>diacetilactis</i>
Bifidus Active (BA®)	Fransa	<i>Lb.delbreuckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> , <i>Str. thermophilus</i> <i>Bifid. longum</i>
Bifidus Süt	İngiltere Almanya	<i>Bifid. bifidum</i> , <i>Bifid.longum</i> veya <i>Bifid. infantis</i> <i>Birçok Avrupa Marketi</i>
Bifidus Yoğurt veya Biobest®	Almanya	<i>Lb.delbreuckii</i> ssp <i>bulgaricus</i> , <i>Str. thermophilus</i> <i>Bifid.bifidum</i> , <i>Bifid.longum</i> veya <i>Bifid. infantis</i>
Bifighurt®	İngiltere, Danimarka	<i>Str. thermophilus</i> , <i>Bifid.longum</i> (CKL 1969) veya <i>Bifid.longum</i> (DSM 2054)
Bifilact® veya BifiFlakt	Eski Sovyetler Birliği Almanya, İngiltere, Danimarka	<i>Lactobacillus</i> ssp., <i>Bifidobacterium</i> ssp., <i>Lb.acidophilus</i> <i>Bifid.bifidum</i> , <i>Str. thermophilus</i>
Yakult®	Japonya	<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>Paracasei</i> ( <i>Shirota</i> ), <i>Lb.rhamnosus</i>
Mil-Mil	Japonya	Yoğurt Kültürleri, <i>Bifid. bifidum</i> veya <i>Lb.acidophilus</i> <i>Bifid.bifidum</i> , <i>Bifid. breve</i>
Biflus®, Onaka®, Proclut 3 ® veya Bonyour Bifidus	İsviçre, Almanya, Hollanda	<i>Bifid. longum</i> (BB536)

**Tablo 2.3 (devam...) Dünyada üretilmiş probiyotik fermentte süt ürünlerini, hakim mikrofloraları ve yaygın üretim merkezleri**

ÜRÜN ADI	ÜLKЕ ADI	MİKROORGANİZMALAR
Aktifit®	İsviçre	<i>Lb.rhamnosus</i> , <i>Lb.acidophilus</i> , <i>Srr.thermophilus</i> , <i>Bifid. Bifidum</i>
BRA® - Yoğurt	İsveç	<i>Lb.reuteri</i> , <i>Lb.acidophilus</i> , <i>Bifid. infantis</i>
Pro Viva® veya Prima Liv®	Almanya, İsveç, Finlandiya Portekiz, Danimarka	<i>Lb. plantarum</i> (299V)
Vifit®, Taglich LGG® veya Gefilus®	Avusturya, Finlandiya	<i>Lb. rhamnosus</i>
Fyos®	Belçika	<i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>Paracasei</i>
Venum Halsofili®	İsveç	<i>Lb.delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i> (L1A)
Symbolance®	İsviçre	<i>Lb. reuteri</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Bifid. longum</i> (Bb 46 ve 12)
Vita®	Almanya	<i>Bifid. Bifidum</i> (H1), <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> (H2) <i>Lb. acidophilus</i> (H3)
Gaio®	Danimark, İngiltere, Finlandiya Almanya	<i>Srr. thermophilus</i> <i>Ent. Faecium</i> (K77D)
Praghurt®	Danimarka	Yogurt kültürleri ve <i>Ent. faecium</i>
Probioplus® LC1®, Fysig®, Dofilus®	Birçok Avrupa Ülkesi	<i>Lb. acidophilus</i>
ABC® -Ferment veya Miru-Miru®	Almanya, Norveç, Japonya	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Bifid. breve</i>
ACT4®	Avusturya	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Srr.thermophilus</i> , <i>Bifid. bifidum</i>
Yoke®	Japonya	<i>Lb.acidophilus</i> , <i>Lb. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> <i>Srr. Thermophilus</i>

**Kaynak:** Tamime ve Robinson (104); Tamime ve Marsall (96)

**Tablo 2.4 Bağırsak mikroflorasını etkileyen abiyotik ve biyotik faktörler**

Konakçı ile İlgili Faktörler	Mikrobiyal Faktörler	Çevresel Faktörler
Asitler (hidroklorik, laktik, yağ asitleri)	Bakteriyel İnteraksiyonlar (ortak gelişim, sinerjezi)	İlaç alımı
Enzimler (gastrik, pankreatik ve epitelik)	Mikroorganizma özellikleri (gelişim ve adhezyon faktörler)	Yeme alışkanlıkları
Tuzlar		
Peristalsis		
Lokal Savunma Sistemi		
Redoks Potasiyeli		

## 2.2. Probiyotik Peynir Çalışmaları

Probiyotik mikroorganizmalar kullanılarak üretilen peynirler üzerine literatürlerde oldukça sınırlı sayıda araştırma ile karşılaşılmıştır. Bu konu ile ilgili araştırmalar genellikle Cheddar ve Gouda gibi sert ve yarı sert peynirler üzerinde yoğunlaşırken salamura peynirlerde probiyotik organizma gelişimi ile ilgili bir araştırma ile karşılaşmamıştır.

Gardiner ve ark Cheddar peynirinin üretiminde kullanılan *Enterococcus faecium*'un 8 °C'de 15 aylık depolama sırasında  $4 \times 10^8$  kob/ g dolayında canlılığını koruduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, bu probiyotik susun 4 °C'de 21 gün boyunca depolanan yoğurtlarda daha düşük koloni sayılarına sahip olduğunu da belirlemiştir ( $4 \times 10^7$  kob/ g) (63).

Probiyotik mikroorganizmaların mide gastrik pH'sına karşı dirençlerini artırmada Cheddar peynirinin yoğurda oranla daha etkin olduğu belirlenmiştir.

Buna göre, Cheddar peynirinin probiyotik mikroorganizmaların gastrointestinal sisteme taşınmasında daha etkili bir araç olduğu sonucuna varılmıştır (63)

Daigle ve ark., Cheddar benzeri bir probiyotik peynirler üzerinde gerçekleştirdikleri çalışmalarında krema ve fosfokazeinatlarca zenginleştirilmiş mikrofiltre sütten üretilen ve *Bifidobacterium infantis* ile fermente edilen peynirlerde üretim ve depolama sırasında probiyotik organizmaların canlılık düzeylerini incelemiştir. Buna göre; peynir üretimi sırasında *Bifidobacterium* spp. gelişimi gözlenmemiştir. Buna karşın, vakum paketlenen ve 4 °C'de 84 gün boyunca depolanan peynir örneklerinde bu organizmaların  $3 \times 10^6$  kob/ g düzeyinde canlı kaldıkları saptanmıştır. *Bifidobacterium* spp. içeren ve içermeyen peynirler arasında yağ, protein, nem, tuz, kül ya da pH bakımından farklılıklar olmadığı belirlenmiştir. 12 haftalık depolama sonunda probiyotik starter ile inoküle edilen peynirlerde  $\alpha s_1$ -kazein hidrolizasyon oranı % 56'dan yüksek iken bu oran kontrol peynirinde %45 dolayında gerçekleşmiştir. Probiyotik peynirde üretimin hemen ardından laktozun tamamen hidrolize olduğu da saptanmıştır. Bunun nedeni *Bifidobacterium* spp.'lerin yüksek  $\beta$ -galactosidase aktivitesine dayandırılmaktadır (64).

Stanton ve ark. *Bifidobacterium* spp.'lerin Cheddar ve Gouda peynirlerinde herhangi bir probleme karşılaşmadan gelişebildiklerini ve depolama süresince canlılıklarını koruyabildiklerini, buna karşın *Lactobacillus* spp.'lerden yalnızca *Lactobacillus paracasei*'nin iyi bir gelişim gösterdiğini ancak *Lactobacillus salivarius* suşlarının canlılıklarını koruyamadıklarını ifade etmişlerdir. Bu araştırmacılar, probiyotik bakterilerin gastrointestinal sisteme

taşınmasında peynirin yoğurda oranla daha etkin bir aracı olduğunu da belirtmişlerdir (65).

Gomes ve ark., *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* suşlarının yarı sert Gouda peynirindeki gelişimlerini izlemişler ve sonuçları non-lineer regresyon analizleri ile değerlendirmiştir. Buna göre; son ürünün tuz içerikleri %2-4 (w/w) arasında değişen peynirlerde depolamanın ilk üç haftasında bakteri sayısında yavaş bir azalma ile karşılaşılırken, bu noktadan sonra hızlı bir düşüş ile karşılaşmıştır. Probiyotik bakteri, sayısındaki azalma peynirin yüzey kısmında, iç bölgelere oranla daha hızlı bulunmuştur (66).

Gomes ve Malcata, keçi sütlerinde probiyotik peynir üretimi üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında inokülasyonda *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* organizmalarını kullanmışlardır. *Bifidobacterium 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 %0.30 (v/w) süt hidrolizatı katımının yararlı olacağını ve probiyotik bakteri koloni sayısının başlangıçta *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus 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 de maksimum 70 gün olmasının gerektiği bildirilmiştir (67).

Gardiner ve ark., Cheddar peyniri üretiminde *Lactobacillus salivarius* NFBC 310, NFBC 321 ve NFBC 348 ile *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 ve NFBC 364 probiyotik suşlarını denemişlerdir. DNA parmak izi (fingerprint) tekniği ile probiyotik mikroorganizmalar ile sütün doğal laktik florası arasındaki farklılıklar belirlenmiş ve *Lactobacillus paracasei* suşlarının çok iyi geliştiği ve depolama sırasında yüksek koloni sayılarına sahip olduğu, buna karşın; *Lactobacillus salivarius* suşlarının depolama süresi boyunca sürekli bir azalma gösterdiği saptanmıştır. Aynı araştırmacılar, Cheddar peynirinin probiyotik mikroorganizmalar için son derece etkin bir taşıyıcı olduğu sonucuna varmışlardır (68).

Gomes ve ark., Gouda peyniri üretiminde probiyotik bakteri inokülasyon oranının en az %3.5 olması durumunda ürünün probiyotik özellik gösterebilmesi için gerekli olan minimum kriterlerin karşılanabileceğini ifade etmektedirler. Araştırmacılar, *Lactobacillus acidophilus* Ki suyu peynir içerisinde gelişebilme ve asit oluşturabilme özelliğine sahip olduğunu, ancak *Bifidobacterium* spp. Bo'nun aynı koşullar altında gelişim göstermediğini ve  $2-4 \times 10^9$  kob/g dolayında koloni sayısına sahip olduğunu belirlenmişlerdir. Depolama süresi boyunca probiyotik suşların gelişim trendleri incelendiğinde *Lactobacillus acidophilus* Ki'nın  $0.2-5 \times 10^7$  kob/g düzeyine indiği ancak *Bifidobacterium* spp. Bo'daki azalmanın daha az gerçekleştiği gözlenmiştir ( $6-18 \times 10^8$  kob/g). Aynı araştırmacılar, bifidojenik faktörlerin bakteri sayısı üzerinde olumsuz bir etki yaratmadığı ancak bu

maddelerin, peynirde istenmeyen tat/ aroma gelişimine neden olduklarından üretimlerde kullanılamayacağı sonucuna varmışlardır (69).

### **3. MATERİYAL ve METOT**

#### **3.1. Materyal**

##### **3.1.1. Beyaz Peynir Yapımında Kullanılan Süt**

Araştırmada, HR.Ü. Ziraat Fakültesi Döner Sermaye Hayvancılık İşletmesi'nden sağlanan inek sütleri kullanılmıştır.

##### **3.1.2. Sıvı Şirden Mayası**

Araştırmada, peynir mayası olarak ülkemizde üretilen ticari şirden mayasından yararlanılmıştır.

##### **3.1.3. Starter Kültür**

Peynir üretiminde peynir starteri olarak *Lactococcus lactis* subsp.*lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp.*cremoris* karışım kültürü, probiyotik kültür olarak ise *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* karışım kültürü kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan kültürler Chr.Hansen's (Danimarka) firmasından sağlanmıştır.

##### **3.1.4. Peynir Yapımında Kullanılan Salamura**

Araştırma materyali peynirlerin tuzlanması %12 oranında ticari rafine tuz içeren ve 85 °C'de 20 dakika ısıl işleme tabi tutulan salamura kullanılmıştır.

### **3.2. Metot**

#### **3.2.1. Peynir Yapımı**

HR.Ü.Şanlıurfa Meslek Yüksekokulu Gıda Teknolojisi Bölümü’nde yer alan pilot peynir üretim düzeneği kullanılarak gerçekleştirilen peynir yapımı birer hafta ara ile 2 kez tekrarlanmıştır.

Laboratuvara getirilen sütler üç eşit kısma ayrıldıktan sonra bez süzgeçten geçirilerek kaba pisliklerinden arındırılmış ve çiğ süt analizlerinde kullanılmak üzere IDF 2 (70)'ye göre örnek alınmıştır. Daha sonra sütler, 65 °C'de 30 dakika süre ile ısil işleme tabi tutulmuşlar ve ısil işlem sona erdikten sonra hızla mayalama sıcaklığı olan 30 °C'ye soğutulmuşlardır. 30 °C'ye kadar soğutulan sütlere önce %1 (w/v) oranında peynir starter kültürü (*Lactococcus lactis* subsp.*lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp.*cremoris*) ve %2.5 (w/v) ve %5.0 (w/v) oranlarında probiyotik kültür karışımı (*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum*) ilave edilmiş ve homojen bir dağılımin sağlanması için 5 dakika sürekli karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. CaCl<sub>2</sub> (%0.02) ve kültür katımını takiben sütler asitlik gelişimi için 30 dakika kadar bekletilmiş ve daha sonra 25 dakika içerisinde ilk pihti oluşumu gözlenecek ve 100 dakika sonunda pihti kesim olgunluğuna ulaşılacak miktarda ticari şirden mayası sütlere ilave edilmiştir. Maya kuvveti aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{Maya Kuvveti} = (2400 \times V) / (t \times v) \quad V: \text{ alınan süt miktarı, ml.}$$

T: pihtlaşma süresi, sn.

v: kullanılan maya miktarı, ml.

Belirlenen süre sonunda pihti 1 cm<sup>3</sup>'luk parçalar halinde kesilerek cendere bezleri yardımı ile süzmeye bırakılmıştır. İlk 30 dakika kendi halinde süzülen

telemeye daha sonra 4 kg baskı eşliğinde hızlandırılmış süzme uygulanmıştır. Süzme işleminin sonunda 7 cm enindeki mastar ile küpler halinde kesilen küpler %12 (w/v) oranında tuz içeren salamurada 10-12 saat süre ile ön salamuraya bırakılmış ve daha sonra iki peynir kalıbı bir cam kaseye gelecek şekilde yerleştirildikten sonra üzerlerine %12 (w/v)'lik salamuradan 350 ml ilave edilmiştir. Olgunlaşma işlemi 3 °C'de 90 gün boyunca devam etmiş ve 0.haftadan başlamak üzere 4., 8. ve 12. haftalarda tesadüfi olarak seçilen kalıplar analize alınmıştır.

### 3.2.2. Örneklerin Alınması ve Analize Hazırlanması

#### *3.2.2.1. Peynir Sütünden Örnek Alma ve Analize Hazırlama*

Torbalarla laboratuvara getirilen çiğ süt, 30 litrelilik bir tanka alınıp iyice karıştırıldıktan sonra 500'er ml'lik iki örnek şişesine yeterli miktarda konulmuş ve IDF 2 (70)'ye göre analize hazırlanmıştır.

#### *3.2.2.2. Beyaz Peynirden Örnek Alma ve Analize Hazırlama*

Ağzı kapalı cam kavanozlarda ve salamura içerisinde olgunlaştırılan beyaz peynirlerden tesadüfi olarak seçilen örnekler IDF 2 (70) ve IDF 29 (71)'a göre analize hazırlanmıştır.

### 3.2.3. Uygulanan Analizler

#### *3.2.3.1. Peynire İşlenen Süte Uygulanan Analizler*

- a. **Toplam Kurumadde:** Gravimetrik yöntemle saptanmıştır (72)
- b. **Yağ :** Gerber yöntemiyle belirlenmiştir (73).

- c. **Asitlik** : T.S. 1018'de belirtilen titrasyon yöntemiyle Soxhelet-Henkel ( $\text{^{\circ}SH}$ ) cinsinden belirlenmiştir (72).
- d. **pH**: Bileşik elektrodlu dijital pH-metre (Orion 420) ile saptanmıştır.
- e. **Özgül Ağırlık** : Laktodansimetre ile belirlenmiştir (73).
- f. **Maya Miktarı** :  $28 \pm 1$   $^{\circ}\text{C}$ 'deki 50 ml süt içerisinde %10'luk ticari peynir mayası çözeltisinden 1 ml ilave edilerek ilk pihti görüldüğü an tespit edilmiş ve buradan maya miktarı saptanmıştır.

#### *3.2.3.2. Peynirde Yapılan Analizler*

- a. **Toplam Kurumadde** : Gravimetrik yöntemle saptanmıştır (74).
- b. **Yağ** : Gerber bütirometresi kullanılarak 65  $^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir (75)
- c. **Kurumaddede Yağ**: Yağ içeriğinin, kurumadde oranına bölümünün yüzde olarak ifadesidir.
- d. **Toplam Azot ( $\Sigma\text{N}$ )**: 0.5 M trisodyum sitrat çözeltisinde eritilen peynir örneğinde, mikro-Kjeldahl yöntemiyle tespit edilmiştir (76).
- e. **Suda Eriyen Azot (WSN)** : 0.5 M tri sodyum sitrat çözeltisinde eritilen peynir örneğinin pH'sı HCl ile 4.4'e ayarlanmış, kazein pihtlaştıktan sonra filtre edilmiş, filtratta mikro-Kjeldahl yöntemi ile azot belirlenmiştir (76).
- f. **Protein Olmayan Azot (NPN)**: Peynirin suda eriyen azotunu oluşturan çözeltinin %60'luk triklorasetikasit (TCA) ile pihtlaşmayan kısmı filtre edilerek mikro-Kjeldahl yöntemi ile saptanmıştır (76).

- g. **Proteoz-Pepton Azotu (PPN):** Suda çözünen azot (WSN) ile protein olmayan azot (NPN) arasındaki fark alınarak hesaplanmıştır (76).
- h. **Olgunlaşma İndeksi :** Suda çözünen azotun (WSN) toplam azota ( $\Sigma N$ ) oranının yüzde olarak ifade şeklidir (81).
- i. **Tirozin:** Tunail (77) tarafından modifiye edilen Hull metoduna göre yapılmıştır. Bu amaçla, iyice parçalanmış peynir örneğinden kapaklı tüplere 5'er gram alınıp, üzerine 0.72 N TCA çözeltisinden 10 ml ilave edilmiş ve tüpler hızla karıştırılmıştır. Karışım 10 dakika dinlendirildikten sonra Whatman 42 filtre kağıdından süzülmüştür. Buradan ayrılan 5 ml süzüntüye 10ml  $Na_2CO_3 + Na_4P_2O_7$  çözeltisinden (75 g  $Na_2CO_3$  ve 10 g  $Na_4P_2O_7$  500 ml'ye tamamlanmıştır) eklenmiş ve iyice karışmaları sağlanmıştır. Bu karışım üzerine 3 ml fenol çözeltisinden (1 kısım fenol ve 2 kısım saf su karışımı) katılarak, 4500 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edilmiş ve berrak kısımdan örnek alınarak 650 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Hesaplamalar oluşturulan standart kurveye göre gerçekleştirilmiştir  
**(Bkz Ek 1)**
- j. **Protein :** Toplam azotun 6.38 katsayısı ile çarpılması sonucunda elde edilmiştir.
- k. **Titrasyon asitliği :** TS 591 (74)'e göre belirlenmiştir.
- l. **pH :** Birleşik elektrotlu pH-metre aracılığı ile gerçekleştirilmiştir.
- m. **Tuz :** TS 591 (74)'e göre  $K_2CrO_4$  indikatörlüğü altında 01 N  $AgNO_3$  kullanılarak titrimetrik olarak belirlenmiştir.

- n. **Kurumaddede Tuz:** Tuz içeriğinin kurumaddeye bölümünün yüzde olarak ifadesidir.
- o. **Toplam Bakteri Sayımı:** Toplam bakteri sayısının belirlenmesinde Standart Plate Count (SPC) metodu kullanılmıştır. 1 lt. su içerisinde hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dakika ısı sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Besiyeri pH'sı 1 N NaOH ile pH 7.0' ye ayarlandıkten sonra dökme yöntemiyle ekim yapılip 32 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen koloni sayısı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (105).

$$n.x \pm 1.96 (n.x)^{1/2} / n$$

n<sub>x</sub> : Toplam koloni sayısı (tüm plakalarda sayılan)

x : Koloni sayısının aritmetik ortalaması

n : Petri plakası sayısı

- p. **Maya ve Küf Sayımı:** Peynirde toplam maya ve küf sayısının belirlenmesinde Davis' s Yeast Salt Agar kullanılmıştır (105).
- q. **Probiyotik Mikroorganizmaların Sayımı:** *Lactobacillus acidophilus* sayımında MRS-Sorbitol agar besi ortamı kullanılmıştır. MRS agar, önce sorbitol katılmadan 121 °C'de 15 dakika ısı sterilizasyonuna tabi tutulmuştur. Ardından döküm sıcaklığına gelen besiyeri üzerine *Lactobacillus acidophilus* dışındaki mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek amacıyla D-Sorbitol ilave edilmiştir. Bu amaçla, %10'luk (w/v) D-sorbitol çözeltisinden 10 ml membran filtrasyonundan geçirilerek 90 ml MRS agar üzerine eklendikten sonra karıştırılmış ve petri plakalarına dökme ekim gerçekleştirilmiştir. Petri kapları

anaerobik jarlar içerisinde  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda koyu merkezli, 1.0-1.5 mm çaplı ve yeşiliimsi kahverengi koloniler *Lactobacillus acidophilus* olarak tanımlanmıştır (78).

*Bifidobacterium bifidum* saymında MRS-NNLP agar besi ortamından yararlanılmıştır. NNLP bir antibiyotik karışımı olup *Bifidobacterium bifidum* dışındaki laktik mikroorganizmaların gelişimini inhibe edici özellik taşımaktadır. NNLP karışımı, Neomycin sulfate ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), Nalidixic acid ( $50 \text{ mg L}^{-1}$ ), Lithium chloride ( $3000 \text{ mg L}^{-1}$ ) ve Paramomocyn sulfate ( $200 \text{ mg L}^{-1}$ ) içermektedir.  $121^{\circ}\text{C}$ 'de 15 dakika ısı sterilizasyonuna tabi tutulan MRS agar besi ortamı üzerine petri plakalarına dökümden hemen önce membran sterilizasyonu ile hazırlanan NNLP karışımından  $20 \text{ ml L}^{-1}$  düzeyinde ilave edilmiştir. Petri kaplarının anaerobik ortamda inkübasyonu  $37^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat boyunca devam etmiştir (78).

Anaerobik ortam, SIGMA Co., (İngiltere) firmasından sağlanan anaerobik kitler aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla her bir kit üzerine  $35 \text{ ml}$  damitik su homojen bir şekilde yayılmış ve kitler hemen anaerobik jarlara konulmuştur. Her 8 petri plakası için 1 adet anaerobik kit kullanılmıştır.

### 3.2.4. İstatistiksel Analizler

İki tekrarlamalı olarak gerçekleştirilen deneme bulgularının değerlendirilmesinde SPSS<sup>®</sup> paket istatistik programından yararlanılmıştır (106).

Basit varyans analizleri ile gruplar arası farklılıklar ve farklı muameleler x depolama süresi interaksiyonları paket program aracılığı ile DUNCAN<sup>®</sup> testi uygulanarak belirlenmiştir (107).



## **4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA**

### **4.1. Peynir Yapımında Kullanılan Çiğ Sütün Nitelikleri**

Hammadde olarak kullanılan sütlerin kurumadde, yağ, özgül ağırlık, pH ve titrasyon asitliğine ait ortalama değerler standard hataları ile birlikte Tablo 4.1' de sunulmaktadır. Bu değerler, çiğ inek sütü bileşimine benzerlik göstermektedir.

**Tablo 4.1** Peynir yapımında kullanılan çiğ sütlerin bazı kimyasal özellikleri

Nitelikler	Ortalama değerler	Sx
Kurumadde (%)	12.45	0.08
Yağ (%)	3.2	0.01
Özgül Ağırlık (g/ cm <sup>3</sup> )	1.030	0.000
Titrasyon Asitliği (°SH)	6.20	0.03
pH	6.64	0.005

### **4.2. Peynire Uygulanan Analiz Sonuçları**

#### **4.2.1. Peynirlerin Kurumadde İçeriklerinde Oluşan Değişimler**

Deneme peynirlerinin kurumadde içeriklerinde 90 günlük olgunlaşma periyodu boyunca gözlenen değişimler Tablo 4.2 ve Şekil 4.2' de sunulmuştur.

Tablodan da anlaşılabileceği gibi peynirlerin kurumadde içerikleri küçük sınırlar içerisinde değişkenlik göstermiştir. Depolamanın başlangıcında %40.41-%41.19 arasında değişen kurumadde içerikleri 90. gün sonunda %39.86-%41.03 aralığında değişmiştir. Tüm örneklerde kurumadde düzeyleri muamelelerden etkilenmeksızın 30. gün sonunda %1.67 ile %5.10 arasında azalmıştır. Bu azalma, 90. gün sonunda kontrol, %2.5 probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir ve %5.0 probiyotik kültür ile üretilen peynirler için sırasıyla, %1.38, %0.39 ve %1.04

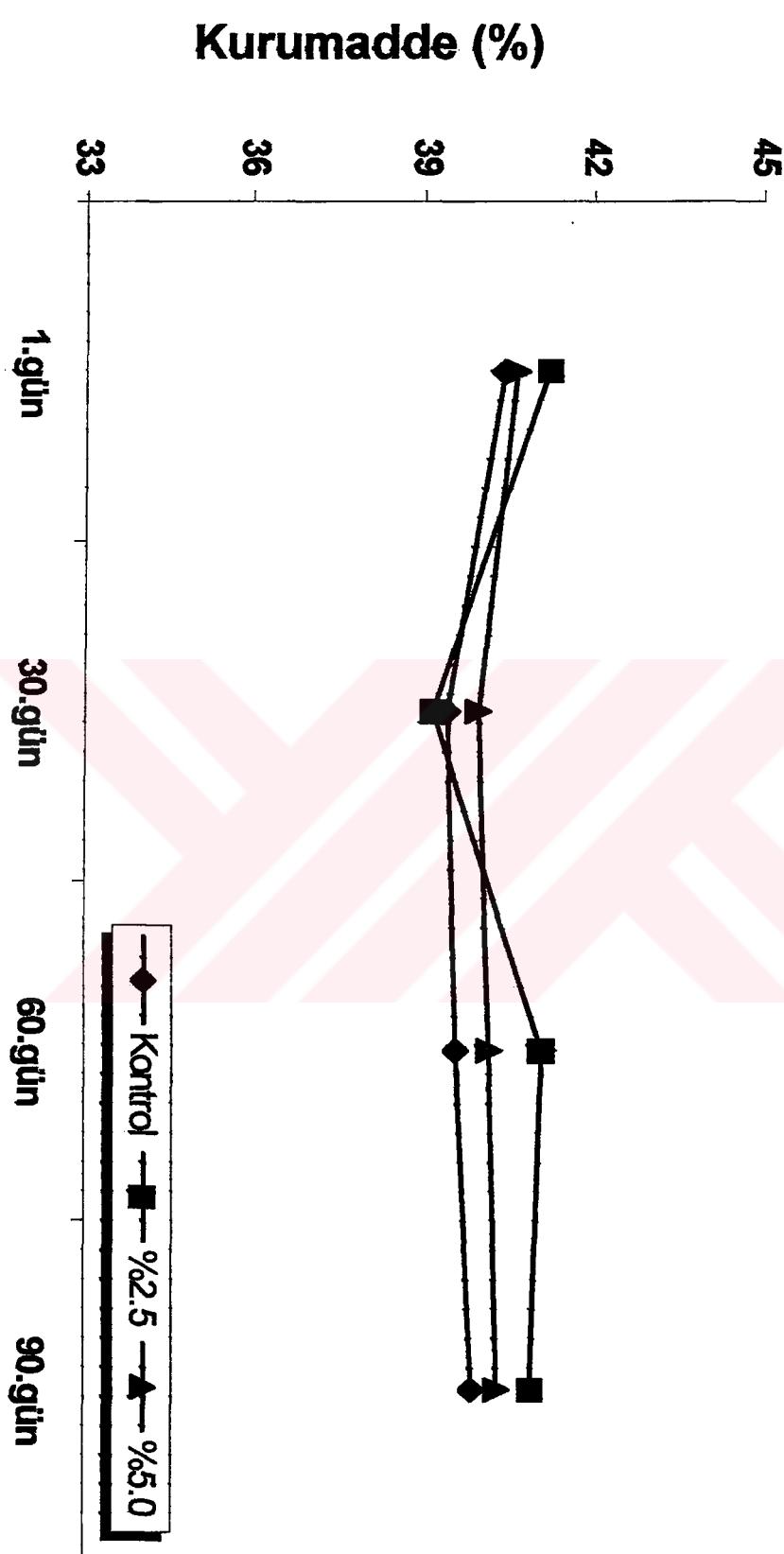
şeklinde gerçekleşmiştir. Her ne kadar teknolojik açıdan önem taşımasa da, farklı muamelelerin ve olgunlaşma sürecinin örneklerin kurumadde düzeyleri üzerinde etkili olduğu ( $P<0.05$ ) belirlenmiştir. Benzer şekilde, muamele x olgunlaşma periyodu interaksiyonunun kurumadde üzerindeki ortak etkileri de önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Normalde, depolama süresi boyunca peynir kurumaddesi ve buna bağlı olarak kurumadde bileşenlerinde bir artış beklenmektedir (79). Ancak, bu çalışmada peynir örnekleri, süzülme ve ön salamura sonunda 12 saat boyunca %12'lik (w/v) salamurada tutulduktan sonra ilk gün analizlerine hazırlanmıştır. Bu nedenle, tuzun bünyeye penetrasyonu ile ilk önce sıkı bir hal alan kitlenin daha sonra bir süngerin serbest bırakılmasında olduğu gibi bünyelerinde daha çok salamura suyunu absorbe ettiği düşünülmektedir. Benzer bir eğilim ile Yetişmeyen ve ark (80)'da geleneksel ve ultrafiltre salamura beyaz peynirlerde karşılaşılmışlardır. Ayrıca, üretim sırasında uygulanan ısıl işlem ile birlikte serum proteini denaturasyonu ve buna bağlı olarak kitlede kalan serum proteinini

**Tablo 4.2** Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumadde içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
Kontrol	40.41 <sup>a,1</sup>	39.42 <sup>b,1</sup>	39.58 <sup>b,c,1</sup>	39.86 <sup>c,1</sup>
Sx	0.132	0.083	0.106	0.071
% 2.5	41.19 <sup>a,2</sup>	39.16 <sup>b,1</sup>	41.08 <sup>a,2</sup>	41.03 <sup>a,2</sup>
Sx	0.014	0.129	0.144	0.217
% 5.0	40.63 <sup>a,1</sup>	39.96 <sup>a,2</sup>	40.16 <sup>a,1</sup>	40.21 <sup>a,1,2</sup>
Sx	0.162	0.117	0.343	0.341

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).



**Sekil 4.2** Deneme peynirlerinin kurumadde içeriklerin depolama süresince meydana gelen değişimler ( $n=2$ )

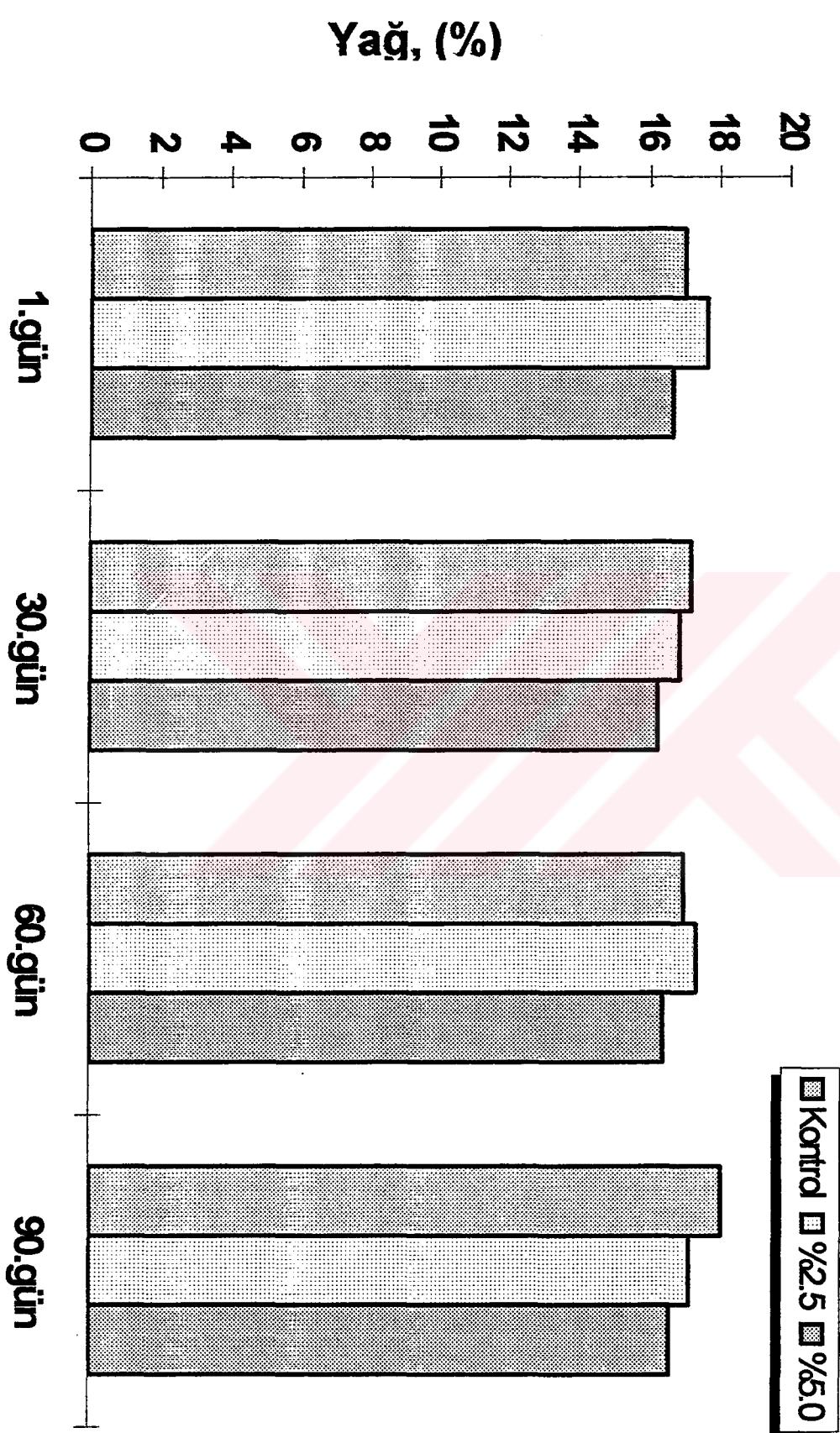
miktarda artış meydana gelmektedir. Serum proteinlerinde gözlenen artış, kitlenin su tutma kapasitesinde artışı da beraberinde getirmektedir.

#### **4.2.2. Peynirlerin Yağ ve Kurumaddede Yağ İçeriklerinde Oluşan Değişimler**

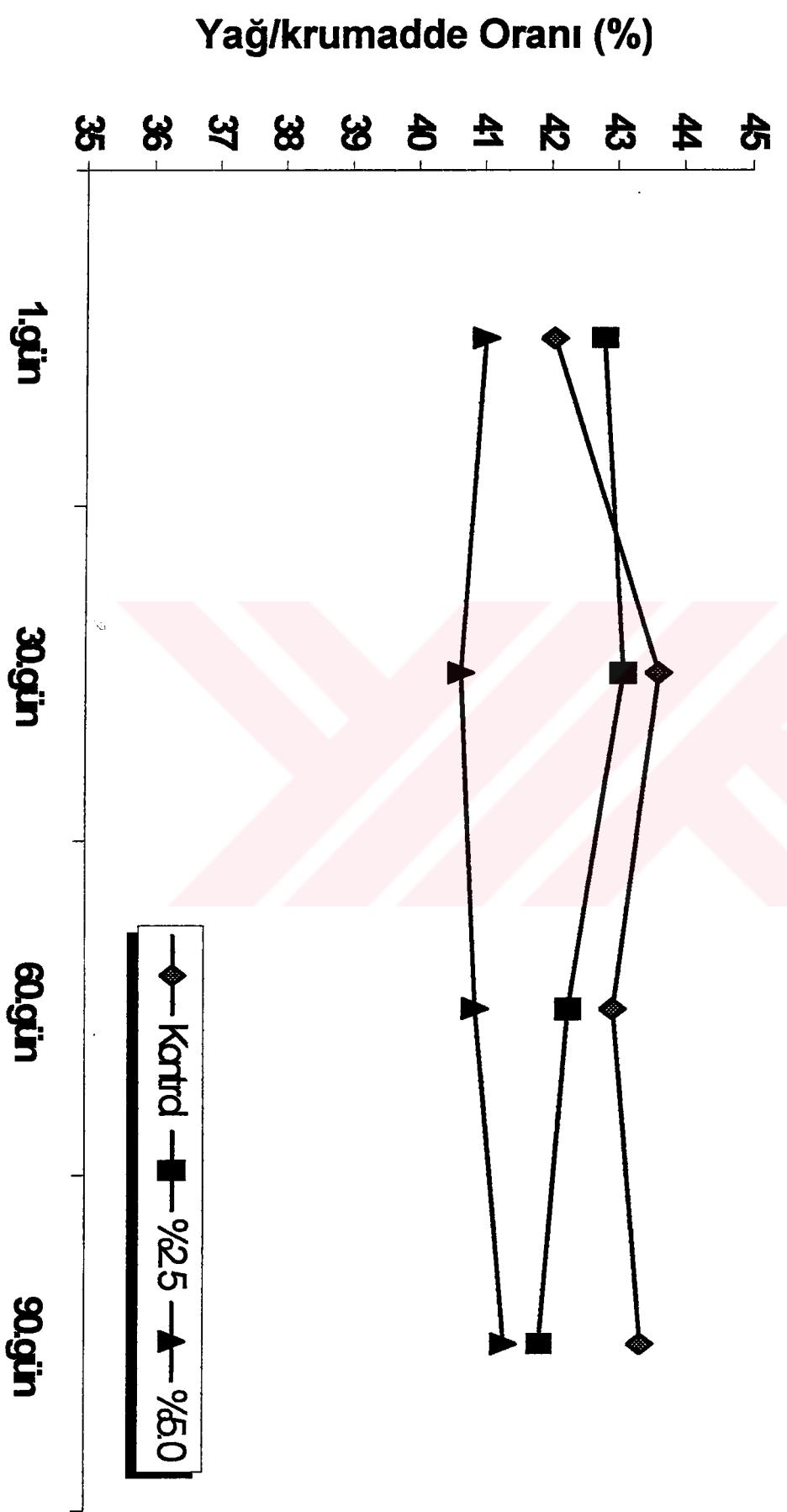
Peynir örneklerinin olgunlaşma boyunca sahip olduğu ortalama yağ oranlarını gösteren Tablo 4.3 ve Şekil 4.3 incelendiğinde, peynirlerin yağ oranlarındaki farklılığın kurumadde oranlarındaki farklılık ile paralellik gösterdiği belirlenmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında yağ içerikleri %16.67 (%5.0 probiyotik kültür içeren peynir), %17.00 (kontrol) ve %17.63 (%2.5 probiyotik kültür içeren peynir) şeklinde oluşurken, 90 günlük depolama sonunda kontrol örneğinin yağ içeriği %6.3 oranında artarak %18.08' e ulaşmıştır. Buna karşın, probiyotik peynir örneklerinde yağ içerikleri %2.68 ile %0.36 arasında azalmıştır. Depolama sürecinde deneme örneklerinin yağ içerikleri arasındaki farklılıklar istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Peynir örneklerinin yağ oranları üzerine uygulanan varyans analizi sonucunda, kurumadde oranlarında olduğu gibi değişik muamelelerin ve olgunlaşma sürecinin yağ içerikleri üzerindeki ortak etkisi (muamele x olgunlaşma interaksiyonu) önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

Bilindiği gibi, peynirlerde (özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde) çok değişken olan su içeriğine bağlı biçimde yağ oranlarında azalma ya da artışlar meydana gelebilmektedir (81). Peynir üretiminde kullanılan peynir starter kültürleri ve probiyotik bakterilerin yağ tüketme ya da sentezleme gibi bir mekanizmaları bulunmadığından, yağ içeriklerinde gözlenen farklılıklar tamamen kurumadde içeriklerindeki dalgalanmalardan kaynaklanmaktadır.



Sekil 4.3 Deneme peynirlerinin yağ içeriğlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)



Şekil 4.4 Deneme peyinlerinin kurumaddede yağ içenlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.3** Deneme örneklerinin depolama sürecinde ortalama yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	17.00 <sup>a,1</sup>	17.20 <sup>b,1</sup>	17.00 <sup>a,1</sup>	18.08 <sup>c,1</sup>
<i>Sx</i>	0.000	0.104	0.000	0.044
<b>% 2.5</b>	17.63 <sup>a,2</sup>	16.88 <sup>b,1</sup>	17.37 <sup>a,c,2</sup>	17.17 <sup>c,2</sup>
<i>Sx</i>	0.072	0.072	0.073	0.101
<b>% 5.0</b>	16.67 <sup>a,3</sup>	16.25 <sup>b,2</sup>	16.42 <sup>a,b,3</sup>	16.61 <sup>a,3</sup>
<i>Sx</i>	0.083	0.144	0.083	0.055

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Peynirlerde yağ oranlarının, kurumadde dalgalanmalarına bağlı değişimlerini daha sabit sınırlar içerisine almak amacıyla, genellikle yoğun kurumadde içerisindeki durumuna bakılarak değerlendirmeler yapılmaktadır. Bunun için deneme örneklerinin kurumaddede yağ oranları da hesaplanmış ve sonuçlar Tablo 4.4 ve Şekil 4.4' de sunulmuştur.

Tablo 4.4 incelendiğinde, denemeye alınan peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarının burada da belirli bir değişim ortaya koyduğu anlaşılmaktadır. İstatistiksel kontrollerde (varyans analizi) farklı uygulamaların kurumaddede yağ içerikleri üzerindeki etkilerinin önemli olduğu ( $P<0.05$ ), ancak depolama süreci boyunca kontrol örneği hariç oluşan farklılığın bir önem taşımadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ). Kontrol örneğinde gözlemlenen farklılığın deneysel kökenli olabileceği sanılmaktadır.

Kurumaddede yağ içerikleri üzerine muamelelerin ve olgunlaşmanın ortak etkisi (interaksiyon)  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

**Tablo 4.4.** Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumaddede yağ içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	42.06 <sup>a,1</sup>	43.63 <sup>b,1</sup>	42.95 <sup>c1</sup>	45.37 <sup>d1</sup>
<i>Sx</i>	0.136	0.306	0.115	0.137
<b>% 2.5</b>	42.79 <sup>a,2</sup>	43.10 <sup>a,1</sup>	42.27 <sup>a,b,1</sup>	41.84 <sup>b,2</sup>
<i>Sx</i>	0.191	0.326	0.327	0.092
<b>% 5.0</b>	41.02 <sup>a,3</sup>	40.67 <sup>a,2</sup>	40.88 <sup>a,2</sup>	41.31 <sup>a,2</sup>
<i>Sx</i>	0.112	0.336	0.321	0.226

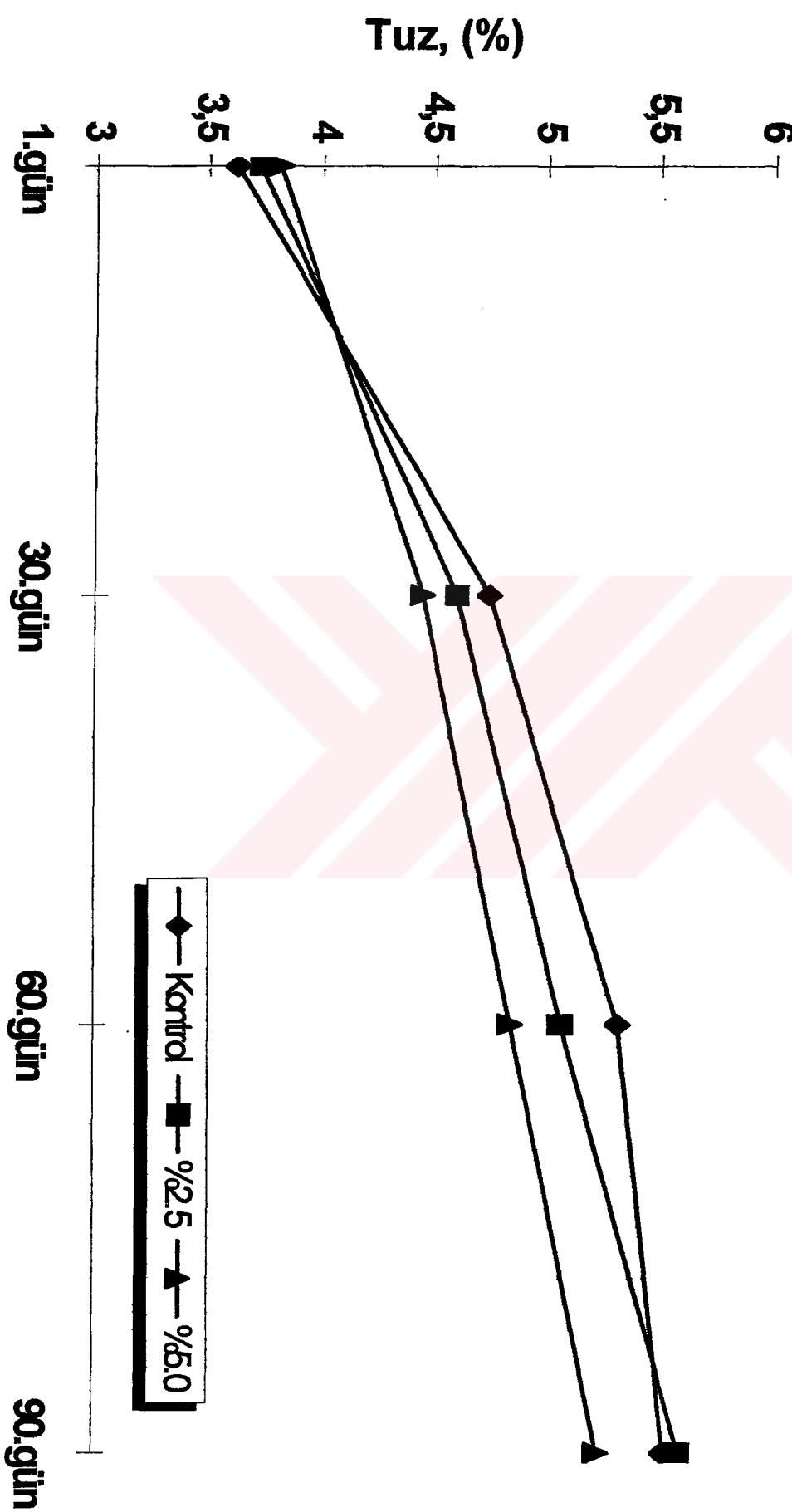
\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Sözkonusu veriler ışığında, deneme örneklerinin nem içeriğinde olgunlaşma sürecinde gözlenen değişimlere paralel olarak örneklerin yağ ve kurumaddede yağ içeriklerinde de farklılıkların olduğu belirlenmiştir.

#### 4.2.3. Peynirlerin Tuz ve Kurumaddede Tuz İçeriklerinde Oluşan Değişimler

Olgunlaşmaya bırakılan deneme peynirlerinde, starter kültür katım oranına göre tuz içeriğinin değişim değerleri Tablo 4.5' de ve Şekil 4.5' de sunulmuştur.

Peynir örneklerinin tuz oranları ile ilgili tablo incelendiğinde tuz geçişinin tüm örneklerde ilk 30 gün içerisinde hızlı olduğu ve tuz geçişinin olgunlaşmanın ileri evrelerinde azalan bir hızla artmaya devam ettiği belirlenmiştir. Kontrol örneğinde, 30. günde tuz konsantrasyonu olgunlaşmanın başlangıcına oranla %31.2 oranında artarak %4.75'e ulaşmıştır. Olgunlaşmanın 60.gününde bu artış %12, 90.gününde ise %3.75 olarak gerçekleşmiştir. Tuz içeriğindeki artış, %2.5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen örnekte sırasıyla %25.2, %8.79 ve %10.2; %5.0 probiyotik kültür katkılı örnekte ise %16.8, %8.76 ve %8.05 olarak gerçekleşmiştir. Olgunlaşma sürecinin deneme örneklerinin tuz içerikleri üzerinde



Şekil 4.5 Deneme peyvirlерinin tuz içeriğinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.5.** Deneme örneklerinin depolama sürecinde tuz içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	3.62 <sup>a,1</sup>	4.75 <sup>b,1</sup>	5.32 <sup>c,1</sup>	5.52 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.038	0.017	0.037	0.027
<b>% 2.5</b>	3.72 <sup>a,1,2</sup>	4.66 <sup>b,1</sup>	5.07 <sup>c,2</sup>	5.59 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.023	0.026	0.020	0.084
<b>% 5.0</b>	3.81 <sup>a,2</sup>	4.45 <sup>b,2</sup>	4.84 <sup>c,3</sup>	5.23 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	0.051	0.047	0.081	0.023

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

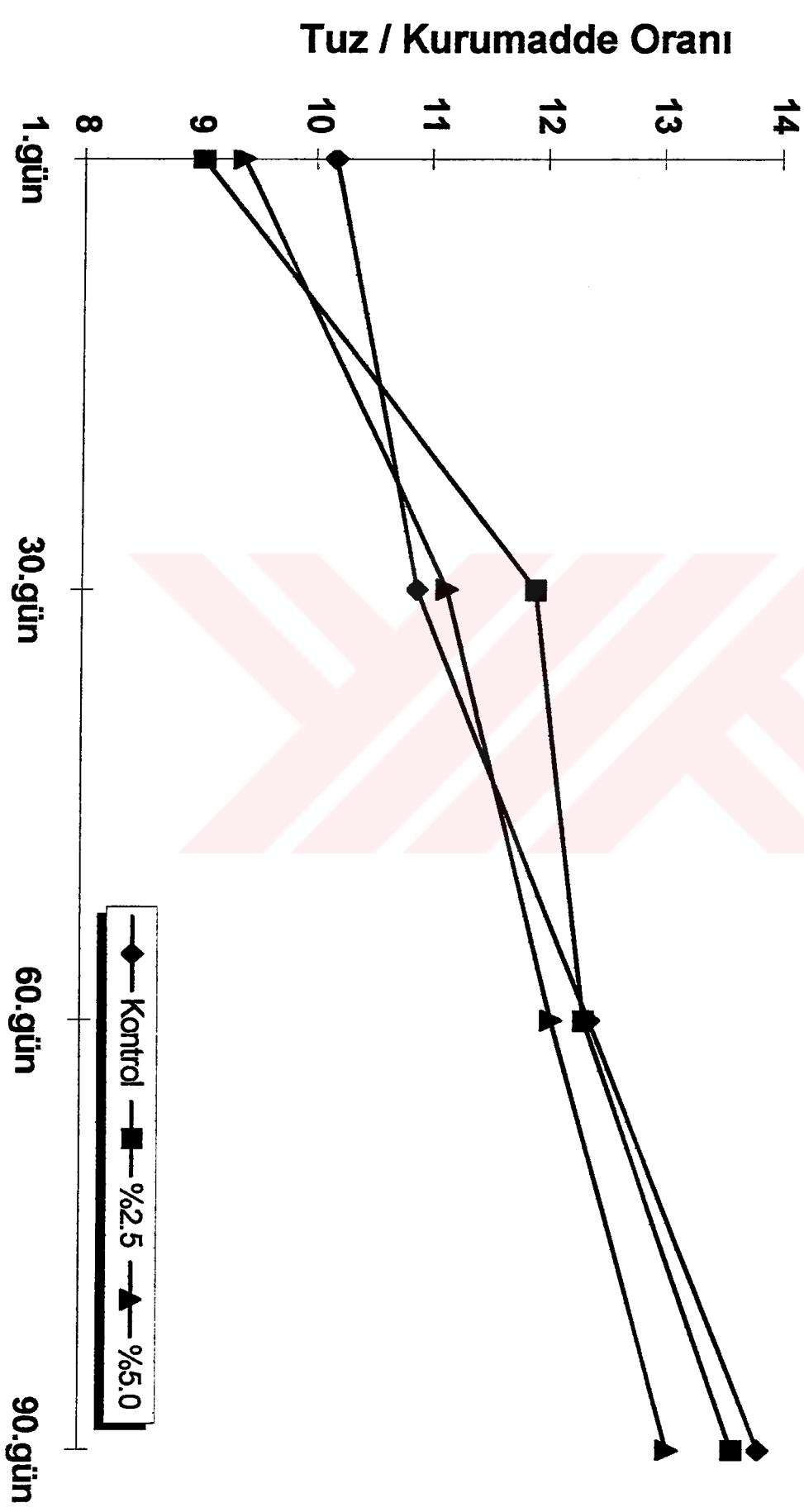
deki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Muamelelerin, peynirlerin tuz içerikleri üzerindeki etkileri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Uygulanan DUNCAN testi sonucunda depolamanın 1., 30. ve 90.günlerinde kontrol örneği ile %2.5 oranında probiyotik kültür katkılı örnek arasında önemsiz farklılıklar gözlenirken ( $P>0.05$ ), olgunlaşmanın 60.gününde tüm örneklerin tuz içerikleri birbirlerinden önemli düzeyde farklılıklar göstermiştir ( $P<0.05$ ).

Bu sonuçlar, Yetişmeyen ve ark (80), Yıldırım (81) ve Özer ve ark (82) tarafından elde edilen sonuçlar ile benzerlikler göstermektedir. Pihtının nem içeriğindeki artışa paralel, tuzun iç bölgelere doğru hareket yeteneğinde de artış meydana gelmektedir. Peynir içerisinde tuzun penetrasyon derecesi; pihtının asitliği, salamura konsantrasyonu, peynir kalibinin boyutu, salamura ve peynir sıcaklığı gibi faktörlerden de etkilenmektedir (83). Denemede, yukarıda sayılan faktörlerin tümü sabit tutulduğundan örnekler arasında önemsiz farklılıklar ile karşılaşılmıştır.

Peynirlerin tuz içeriği, yukarıda anıldığı üzere çok değişken bir nitelik olan nem oranından fazlaca etkilendiğinden, daha istikrarlı bir sonuçla ifade etmek için genellikle kurumaddeye oranlamak suretiyle verilmektedir. Bu amaçla, denemeye alınan örneklerin kurumaddede tuz oranları anıldığı şekilde hesaplanarak Tablo 4.6 ve Şekil 4.6' de sunulmuştur.

Tabloya bakıldığında, peynirlerin kurumaddeye göre olan tuz oranları, tüm kitlede bulunan tuz içeriklerine benzer bir şekilde olgunlaşmanın başlangıcından itibaren 90 gün boyunca her örnekte önemli artışlar göstermiştir ( $P<0.05$ ). Kontrol örneğinin kurumaddede tuz içeriği ilk 30 gün içerisinde %21.4 oranında artarken, 60. ve 90. günlerde bu artış azalan hızla devam etmiş ve sırasıyla %13.7 ve %11.8'lik değerler elde edilmiştir. Benzer durum ile %2.5 ve %5.0 probiyotik kültür ünokülasyonu ile üretilen örneklerde de karşılaşılmıştır. Buna göre; olgunlaşma periyodu boyunca, %2.5 ve %5.0 probiyotik kültür ile inoküle edilen örneklerde kurumaddede tuz oranlarındaki değişim 30., 60, ve 90. günlerde sırasıyla %31.9, %3.5, %10.4 ve %18.9, %8.22, %7.8 olarak bulunmuştur. Denemede uygulanan farklı muamelelerin kurumaddede tuz oranları üzerine etkilerinin  $P<0.05$  düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir. Farklı grupları tespit etmek amacıyla uygulanan DUNCAN testi sonucuna göre, depolamanın 1. ve 90. günlerinde kontrol ve %2.5 probiyotik kültür katkılı örnek, 30. Günde ise kontrol ve %5.0 probiyotik kültür katkılı örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli farklılıklar ile karşılaşılmamıştır. Olgunlaşmanın 60. gününde ise tüm örnekler arasında  $P>0.05$  düzeyinde önemsiz farklılıklar ile karşılaşılmıştır. Muamele x olgunlaşma periyodu interaksiyonu önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).



Şekil 4.6 Deneme peynirlerinin kurumaddede tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.6** Deneme örneklerinin depolama sürecinde kurumaddede tuz içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	8.96 <sup>a,1</sup>	10.88 <sup>b,1</sup>	12.38 <sup>c,1</sup>	13.85 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.079	0.065	0.117	0.089
<b>% 2.5</b>	9.03 <sup>a,1</sup>	11.91 <sup>b,2</sup>	12.33 <sup>c,1</sup>	13.62 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.061	0.029	0.092	0.167
<b>% 5.0</b>	9.37 <sup>a,2</sup>	11.14 <sup>b,1</sup>	12.06 <sup>c,1</sup>	13.01 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	0.104	0.121	0.227	0.111

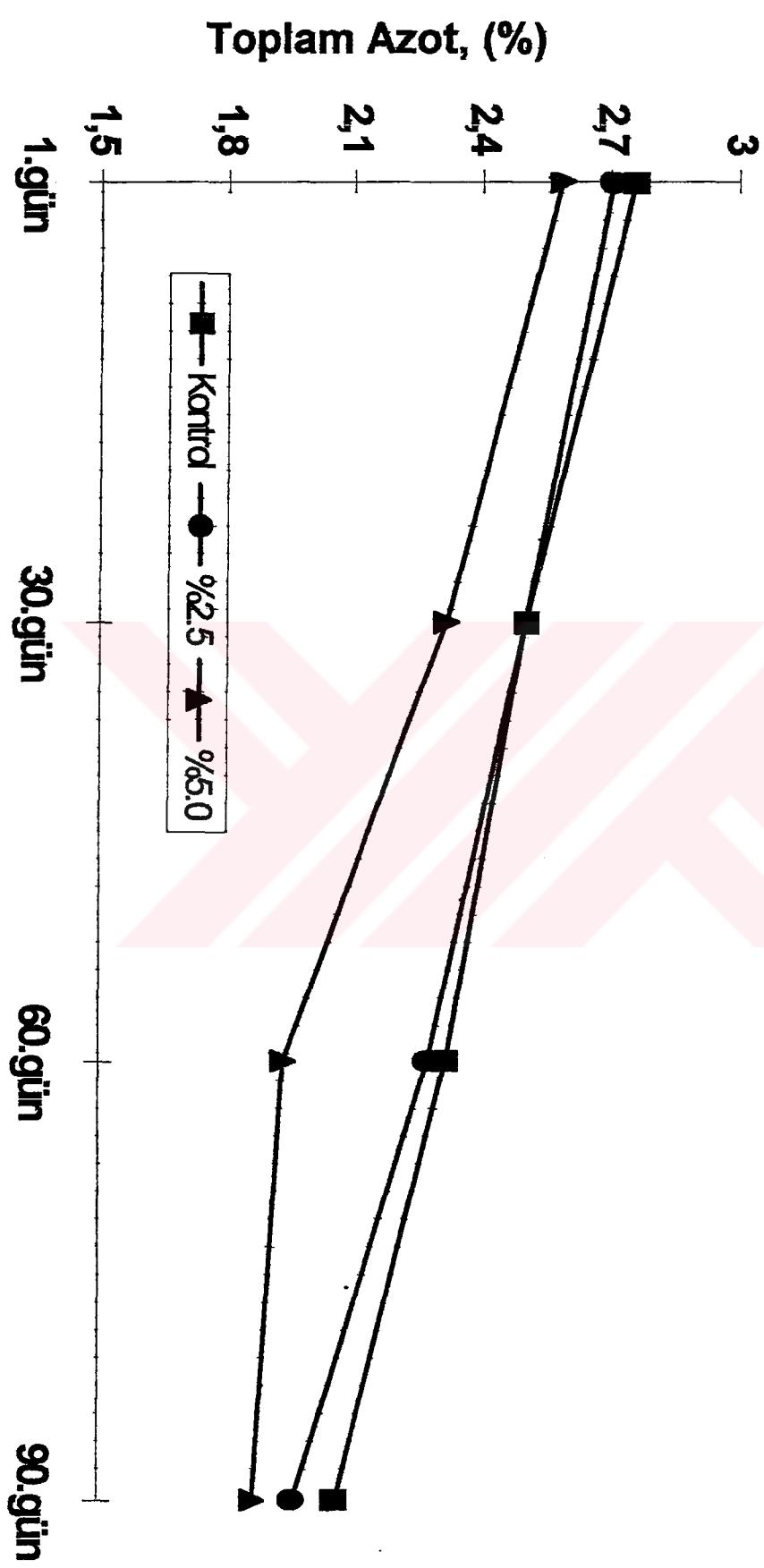
\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

#### 4.2.4. Peynirlerin Toplam Azot ve Protein İçeriklerinde Oluşan Değişimler

Denemeye alınan peynir örneklerine ait toplam azot oranları (toplam protein değerleri de hesaplanarak) standard hataları ile birlikte Tablo 4.7 ve Şekil 4.7' de sunulmuştur.

Sözkonusu tablodan da görülebileceği gibi, incelenen tüm örneklerin toplam azot oranları 90 günlük olgunlaşma boyunca sürekli bir azalma eğilimi göstermiştir. Kontrol örneğinde olgunlaşmanın sonunda, başlangıçtaki toplam azot içeriğine oranla %33.9'luk bir azalma ile karşılaşılmıştır. Bu azalma oranı, %2.5 probiyotik starter kültür ile inoküle edilen örnekte %37.9 ve %5.0 probiyotik kültür ile inoküle edilen örnekte ise %38.0 olarak gerçekleşmiştir.

Deneme örneklerinin toplam azot içeriklerinde olgunlaşma süresi boyunca meydana gelen azalmalar, 30 günlük periyodlar ile incelendiğinde, kontrol ve %2.5 probiyotik kültür katkılı örneklerde, depolamanın 90. gününde toplam azot içeriğinin daha hızlı azaldığını, buna karşın; %5.0 probiyotik kültür katkılı örnekte ise olgunlaşmanın 60. gününde azalmanın hızlı olduğu, 90. gününde ise %3.4'lük düşük bir azalma ile karşılaşılmıştır.



Şekil 4.7 Deneme peymirlerinin toplam azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.7** Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam azot içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	2.758 <sup>a,1</sup>	2.506 <sup>b,1</sup>	2.320 <sup>c,1</sup>	2.060 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.008	0.003	0.005	0.025
<b>% 2.5</b>	2.705 <sup>a,2</sup>	2.505 <sup>b,1</sup>	2.277 <sup>c,1</sup>	1.961 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.003	0.002	0.004	0.004
<b>% 5.0</b>	2.590 <sup>a,3</sup>	2.320 <sup>b,2</sup>	1.941 <sup>c,1</sup>	1.877 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.004	0.003	0.004	0.006

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Depolama süresinin toplam azot içerikleri üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Peynirlerde toplam azot içeriğinde meydana gelen azalma, peynir üretiminde kullanılan maya ve starter kültürlerin proteolitik aktivitelerinden kaynaklanmaktadır. Denememizde tek tip maya eşit oranlarda peynir sütlerine ilave edildiğinden, örnekler arasında toplam azot içeriği bakımından gözlenen farklılıklar büyük olasılıkla kullanılan starter kültürlerin proteolitik aktivitelerindeki farklılıklardan ileri gelmektedir. Starter organizmaların proteolitik aktivitelerine bağlı olarak depolama sırasında proteinlerin bir bölümü hidrolize olarak suda çözünen azotlu bileşikler haline gelmektedir (84, 85).

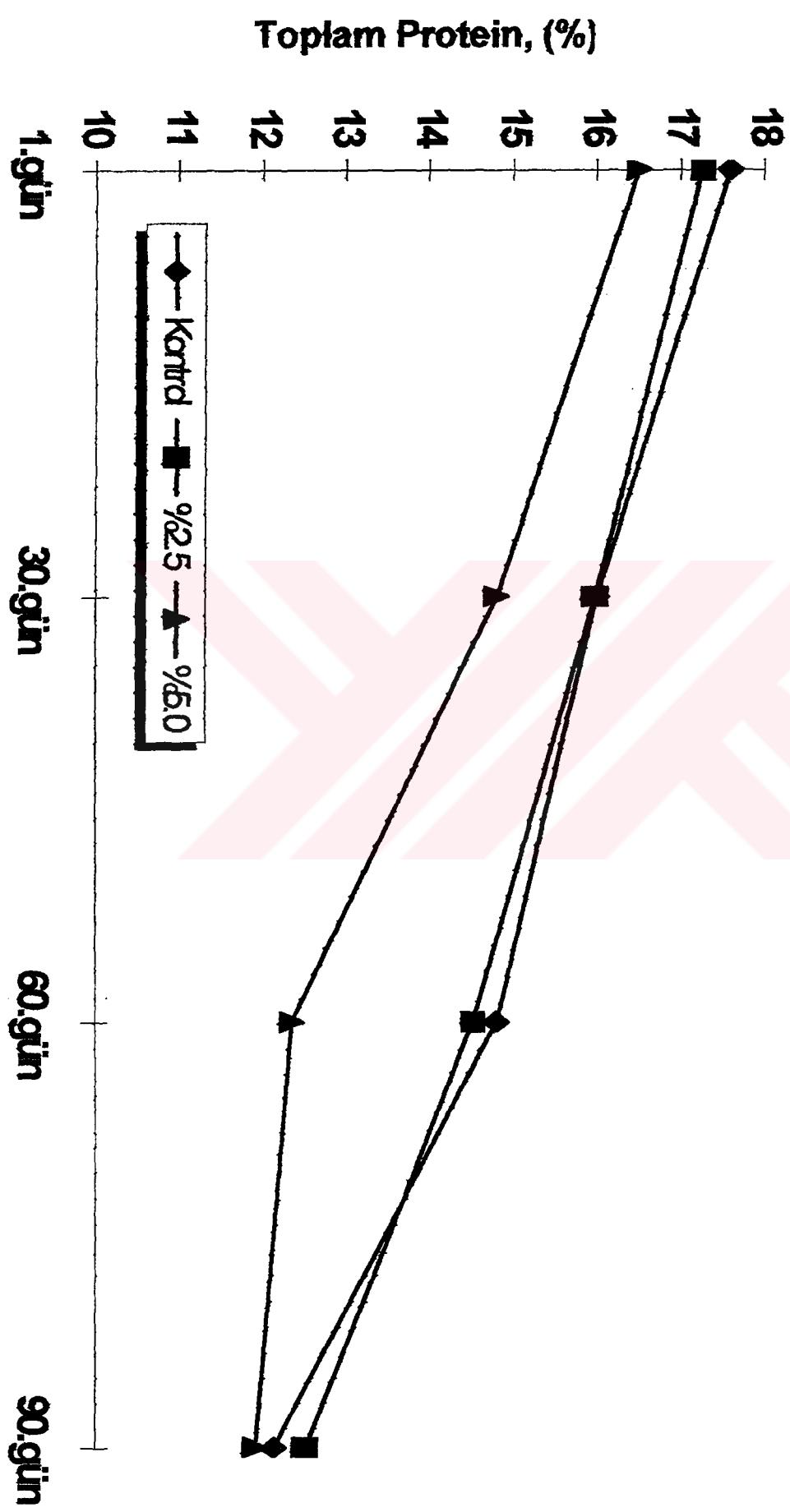
Olgunlaşma sürecinin başlangıcında, örneklerin toplam azot içerikleri %2.590 ile %2.758 arasında değişmiş ve muamelelerin toplam azot üzerindeki etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Olgunlaşmanın 30. gününde kontrol örneği ile %2.5 probiyotik kültür katkılı örnek arasındaki fark önemsiz bulunurken, bu iki örnek ile %5.0 probiyotik kültür ile üretilen peynir arasında  $P<0.05$  düzeyinde önemli fark elde edilmiştir. Depolamanın ileri aşamalarında ise

tüm örnekler arasında önemsiz farklılıklar ile karşılaşılmıştır ( $P>0.05$ ). Muamele x olgunlaşma interaksiyonu  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Benzer sonuçlar Yetişmeyen ve ark. (80) tarafından da elde edilmiştir.

Toplam azot içeriğindeki değişime benzer şekilde deneme örneklerinin protein içeriklerinde de olgunlaşma sürecinde sürekli bir azalma ile karşılaşılmıştır (Tablo 4.8 ve Şekil 4.8). Kontrol örneğinin protein içeriği %17.60'dan %13.14'e düşerken, %2.5 probiyotik kültür katkılı örnekte %17.26'dan %12.51'e, %5.0 probiyotik kültür katkılı örnekte ise %16.50'den %11.91'e düşmüştür. Olgunlaşmanın başlangıcındaki protein konsantrasyonuna göre 90 gün sonunda kontrol örneğinin protein içeriğinde %31.3; %2.5 oranında probiyotik kültür ile üretilen peynirin toplam protein içeriğinde %37.9 ve %5.0 probiyotik kültür ile inoküle edilen örneğin protein içeriğinde de %38.5'lik azalmalar ile karşılaşılmıştır. Her ne kadar denemedede kullanılan probiyotik susların (*Bifidobacterium bifidum* ve *Lactobacillus acidophilus*) proteolitik aktiviteleri zayıf olsa da (86) probiyotik mikroorganizma konsantrasyonundaki artış ile protein içeriğinde meydana gelen azalma paralellik göstermiştir. Olgunlaşmanın protein içeriği üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Her bir depolama gününde muamelelerin etkisini inceleyebilmek amacıyla gerçekleştirilen varyans analizi sonucunda, olgunlaşmanın 90. günü hariç, diğer zamanlarda muameleler arasında fark olduğu saptanmıştır. Muamele grupları arasındaki farklılıkları saptamakla amacıyla uygulanan DUNCAN testi sonuçlarına göre; olgunlaşmanın 1. ve 60. gününde tüm muamelelerin farklılık arzettiği, 30.

**Şekil 4.8** Deneme peynirlerinin protein içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler ( $n=2$ )



**Tablo 4.8.** Deneme örneklerinin depolama sürecinde protein içeriklerinde meydana gelen değişimler \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
<b>Kontrol</b>	17.60 <sup>a,1</sup>	15.99 <sup>b,1</sup>	14.80 <sup>c,1</sup>	13.14 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.048	0.019	0.029	0.161
<b>% 2.5</b>	17.26 <sup>a,2</sup>	15.98 <sup>b,1</sup>	14.53 <sup>c,2</sup>	12.51 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.020	0.017	0.028	0.022
<b>% 5.0</b>	16.50a,3	14.80b,2	12.35c,3	11.91d,1
<i>Sx</i>	0.026	0.021	0.023	0.035

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

günde ise %5.0 probiyotik kültür kataklı örneğin istatistiksel olarak daha düşük protein içeriğine sahip olduğu saptanmıştır.

Muamele x olgunlaşma interaksiyonunun protein içeriği üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

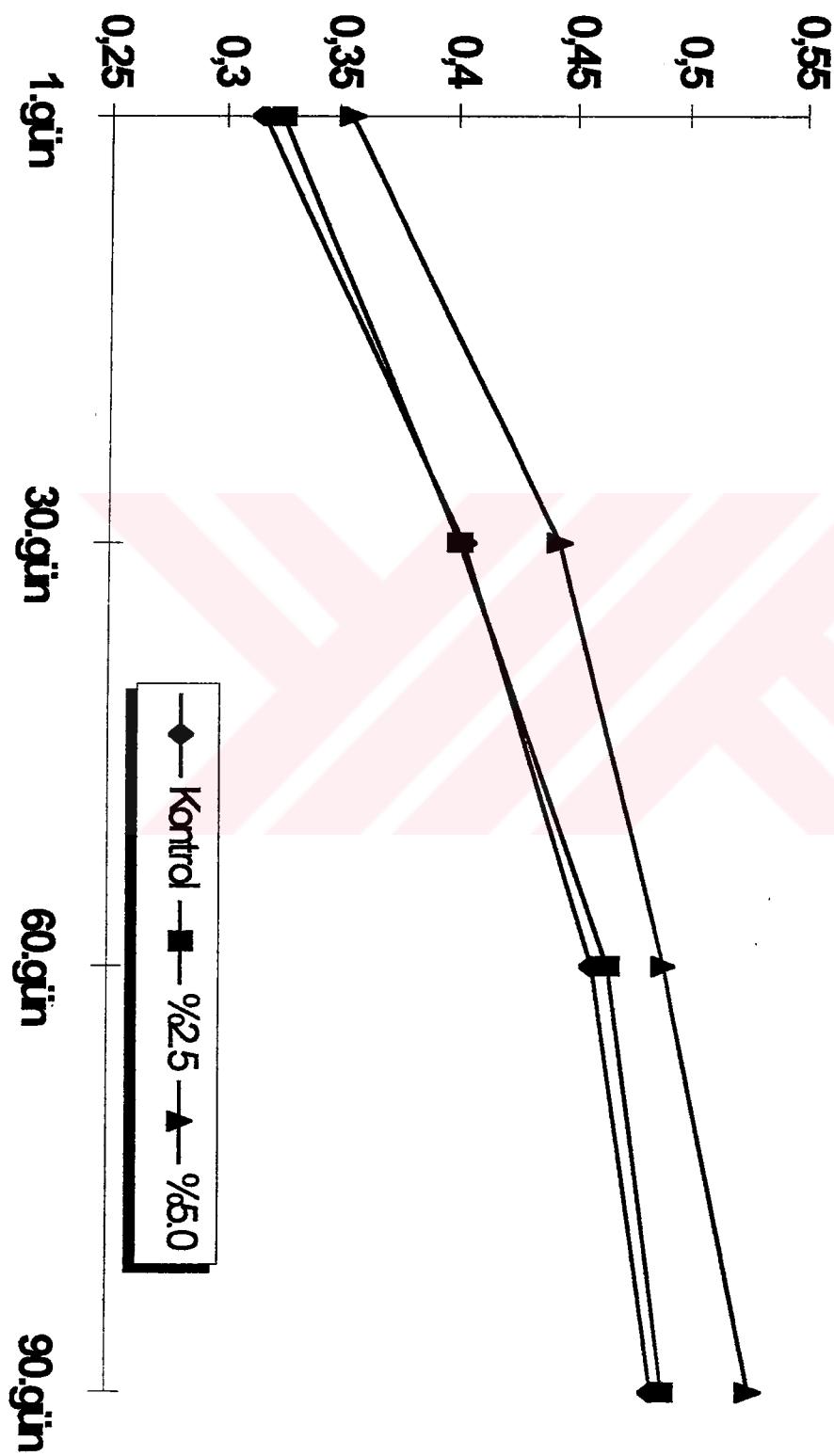
#### 4.2.5. Peynirlerin Suda Çözünen Azot (WSN) İçeriklerinde Oluşan Değişimler

Değişik oranlarda probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir örnekleri ile kontrol örneğine ait sonuçlar, standard hataları ile birlikte Tablo 4.9. ve Şekil 4.9.'de verilmektedir.

Buna göre; kontrol, %2.5 ve %5.0 probiyotik kültür inokülasyonu ile üretilen peynirlerin suda çözünen azotlu madde içerikleri olgunlaşma sürecinde sırasıyla %0.317-%0.485, %0.325-%0.489 ve %0.355-%0.527 arasında değişmiştir.

Depolama süreci boyunca denemeye alınan tüm örneklerin suda çözünen azot içeriklerinde artış meydana gelmiştir. Uygulanan varyans analizine göre, olgunlaşmanın WSN üzerine etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. WSN

### Suda Çözünen Azot (WSN) %



Şekil 4.9 Deneme peynirlerinin suda çözünen azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.9** Deneme örneklerinin depolama sürecinde suda çözünen azot içeriklerinde (WSN) içeriklerinde meydana gelen değişimler\*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
<b>Kontrol</b>	0.317 <sup>a,1</sup>	0.403 <sup>b,1</sup>	0.459 <sup>c,1</sup>	0.485 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.005	0.004	0.004	0.002
<b>% 2.5</b>	0.325 <sup>a,1</sup>	0.402 <sup>b,1</sup>	0.465 <sup>c,1</sup>	0.489 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.003	0.004	0.003	0.002
<b>% 5.0</b>	0.355 <sup>a,2</sup>	0.444 <sup>b,2</sup>	0.489 <sup>c,2</sup>	0.527 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	0.002	0.001	0.002	0.004

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

İçeriğindeki artış, olgunlaşmanın ilk 30 günü içerisinde hızlı olmuş, depolamanın geri kalan dönemlerinde ise azalan bir hızla artmaya devam etmiştir.

İlk 30 gün içerisinde, kontrol örneğinin suda çözünen azot (WSN) içeriğinde %27'lik bir artış gözlenirken, olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde bu artış sırasıyla %13.9 ve %5.6 olarak gerçekleşmiştir. Aynı durum probiyotik peynir örnekleri için de geçerlidir. %2.5 oranında probiyotik katılarak üretilen peynirde olgunlaşmanın ilk 30 günü içerisinde WSN içeriği %23.7 oranında artarken, 60. günde %15.6 ve 90. günde ise %5.2 oranında artışlar ile karşılaşılmıştır. %5.0 oranında probiyotik kültür inoküle edilen örnekte ise bu değerler sırasıyla %25.0, %10.0 ve %7.7 olarak gerçekleşmiştir.

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 pihtilaşmasından sonra belirgin hale gelen proteoliz, mikroorganizma ve enzimlerin etkisiyle olgunlaşma süresince süregiden dinamik bir biyokimyasal olaydır. Peynirlerde WSN değişimlerinin izlenmesi, olgunlaşmanın seyri hakkında sağlıklı bilgiler vermektedir (87, 88).

Denememizde, olgunlaşma sürecinin ilk 30 günü içerisinde hızlı bir WSN artışı olmasının ve olgunlaşmanın ilerleyen aşamalarında WSN oluşumunun yavaşlamasının en önemli nedeninin salamuradan tuz geçişinin ilk 30 gün içerisinde hızlı artıyor olması, daha sonra ise giderek azalan bir hızla artması olduğu sanılmaktadır. Tuzun peynirlerde olgunlaşmayı hızlandırdığı ve WSN oluşumunu teşvik ettiği birçok araştırcı tarafından ileri sürülmektedir (82,84,89).

Muamelelerin, örneklerin WSN içerikleri üzerindeki etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Peynir örnekleri arasındaki farkların belirlenmesi amacıyla uygulanan DUNCAN testine göre, kontrol örneği ile %2.5 oranında probiyotik kültür ilave edilen örnek arasında her bir depolama günü ayrı ayrı değerlendirildiğinde önemli farklılıkların olmadığı, buna karşın probiyotik kültür katı oranındaki artış ile WSN içerisinde  $P<0.05$  düzeyinde önemli artışlar meydana geldiği saptanmıştır. Bununla birlikte; olgunlaşma ve muamelelerin WSN değerleri üzerindeki ortak etkileri önemli bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

Bu sonuçlar; Yalçın (90), Gündüz ve Dağlıoğlu (91) ve Şimşek (92) tarafından salamura beyaz peynirlerde saptanan ortalama WSN içerikleri ile benzerlikler göstermektedir.

#### **4.2.6. Peynirlerin Olgunlaşma İndeksinde Oranlarında Oluşan Değişimler**

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 yararlanılmaktadır.

Deneme peynirlerine ait olgunlaşma indeksi değerleri Tablo 4.10 ve Şekil 4.10'da sunulmaktadır.

Buna göre; beklenildiği gibi olgunlaşma süresi boyunca tüm test örneklerinde olgunlaşma indekslerinde artış gözlenmiştir. Depolamanın 1. gününde en yüksek olgunlaşma indeksine sahip örnek %5.0 probiyotik kültür katkılı peynir olurken (%13.73), bunu sırasıyla %2.5 probiyotik kültür katkılı örnek (%12.01) ve kontrol örneği izlemiştir (%11.49). Bu eğilim depolama süresi boyunca devam etmiştir. Depolama sürecinin, olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

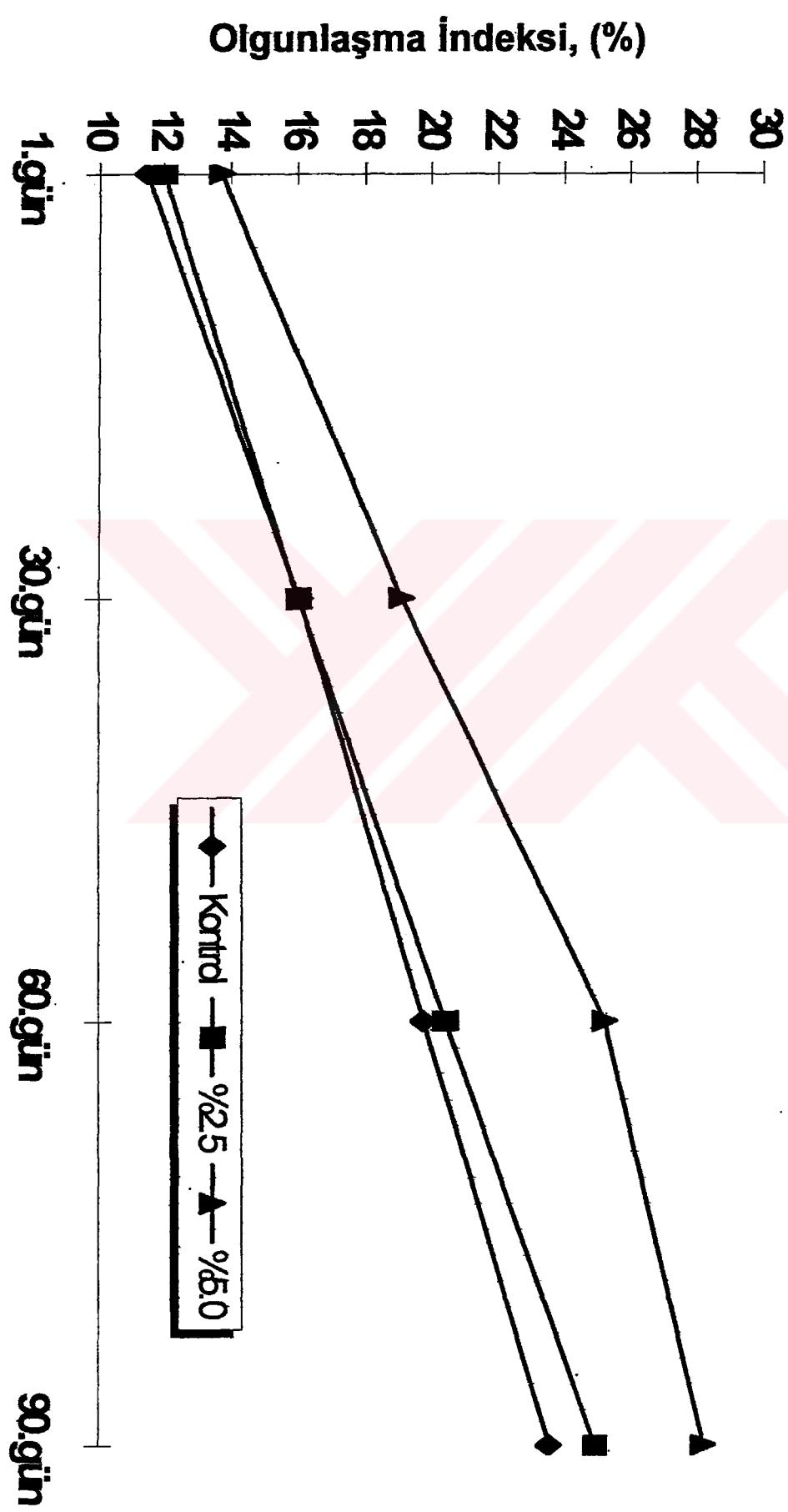
90 günlük olgunlaşma döneminin sonunda, örneklerin olgunlaşma indeksleri %23.55 ile %28.23 arasında değişmiştir. Buna göre; deneme peynirlerinin olgunlaşma indeksleri %33'ün altında olduğundan peynirler az olgun peynir sınıfına girmektedir. Bu durum, hem seçilen peynir starter organizmalarının hem de probiyotik suşların orta/ zayıf proteolitik karakter göstergelerinden kaynaklanmaktadır.

Muamele x olgunlaşma interaksiyonunun olgunlaşma indeksi üzerindeki etkileri önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

**Tablo 4.10** Deneme örneklerinin depolama sürecinde olgunlaşma indekslerinde meydana gelen değişimler\*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
Kontrol	11.49 <sup>a,1</sup>	16.08 <sup>b,1</sup>	19.78 <sup>c,1</sup>	23.55 <sup>d,1</sup>
Sx	0.198	0.148	0.152	0.212
% 2.5	12.01 <sup>a,2</sup>	16.05 <sup>b,1</sup>	20.32 <sup>c,1</sup>	24.94 <sup>d,2</sup>
Sx	0.110	0.161	0.000	0.006
% 5.0	13.73 <sup>a,3</sup>	19.14 <sup>b,2</sup>	25.26 <sup>c,2</sup>	28.23 <sup>d,3</sup>
Sx	0.095	0.153	0.228	0.304

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).



Şekil 4.10 Deneme peynirlerinin olgunlaşma indekslerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

Denememizde elde edilen olgunlaşma katsayısı değerleri Gündüz ve Dağlıoğlu (91) ve Şimşek (92)'in elde ettiği değerlerden yüksek, Yalçın (90) tarafından elde edilen değerlere ise yakın bulunmuştur.

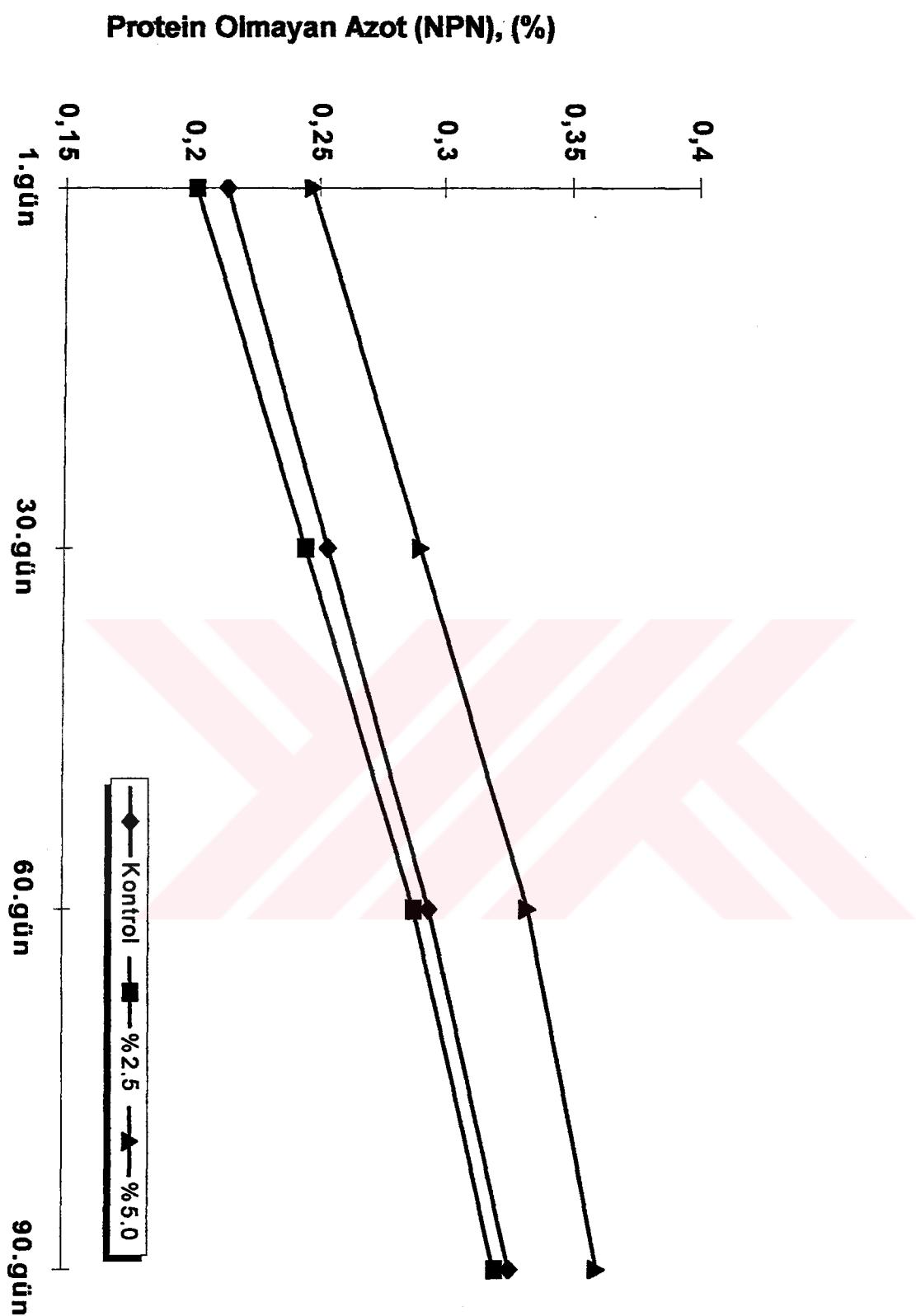
#### **4.2.7. Deneme Peynirlerinin Protein Olmayan Azot (NPN) İçeriklerinde**

##### **Meydana Gelen Değişimler**

Peynir proteinlerinin parçalanma ürünlerinin belirlenmesi, proteolizin şiddeti hakkında bilgi edinilmesi bakımından önemlidir. 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 azotlu bileşikler, toplam ve suda eriyen azotlu bileşikler içerisinde önemli yer tutmaktadır.

Deneme örneklerine ait NPN değerleri ve NPN'de olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimleri gösteren grafik sırasıyla Tablo 4.11 ve Şekil 4.11'de verilemektedir.

Toplam azot, WSN ve olgunlaşma katsayısı verilerinde karşılaşılan eğilime benzer değişimlere NPN değerlerinde de rastlanılmıştır. Olgunlaşmanın 1. ve 90. günlerinde kontrol örneği, %2.5 probiyotik kültür ilave edilen peynir ve %5.0 probiyotik kültür katılarak üretilen peynir örneklerinde NPN değerleri sırasıyla %0.213-%0.327, %0.201-%0.321 ve %0.247-%0.361 arasında değişmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında örnekler arasında önemli farklılıklar saptanırken ( $P<0.05$ ), depolamının ileri aşamalarında kontrol örneği ile %2.5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir örneği arasındaki fark ortadan kalkmıştır.



Şekil 4.11 Deneme peynirlerinin protein olmayan azot içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.11** Deneme örneklerinin depolama sürecinde protein olmayan azot içeriklerinde (NPN) içeriklerinde meydana gelen değişimler\*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	0.213 <sup>a,1</sup>	0.254 <sup>b,1</sup>	0.295 <sup>c,1</sup>	0.327 <sup>d,1</sup>
Sx	0.002	0.015	0.003	0.002
% 2.5	0.201 <sup>a,2</sup>	0.245 <sup>b,1</sup>	0.287 <sup>c,1</sup>	0.321 <sup>d,1</sup>
Sx	0.003	0.006	0.007	0.004
% 5.0	0.247 <sup>a,3</sup>	0.291 <sup>b,2</sup>	0.334 <sup>c,2</sup>	0.361 <sup>d,2</sup>
Sx	0.003	0.004	0.003	0.003

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Olgunlaşma süresi boyunca tüm örneklerde NPN oranlarındaki artış hızı azalmıştır.

Hem muamelelerin hem de olgunlaşma sürecinin NPN değerleri üzerindeki bağımsız etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunurken, bu iki parametrenin ortak etkilerinin istatistiksel açıdan öneksiz olduğu bulunmuştur ( $P>0.05$ ).

Çalışmada elde edilen NPN değerleri Şimşek (92) tarafından saptanan değerlerin biraz üzerinde çıkmıştır.

#### 4.2.7. Deneme Peynirlerinin Proteoz-Pepton Azotu (PPN) İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler

Suda çözünen azotun %12'lik triklorasetikasit (TCA) ile pihtlaşan bölümü PPN olarak adlandırılmaktadır. PPN, peynir olgunlaşmasında indikatör olarak değerlendirilmektedir (93).

Deneme örneklerine ait PPN değerleri Tablo 4.12 ve Şekil 4.12'de sunulmaktadır.

**Tablo 4.12 Deneme örneklerinin depolama sürecinde proteoz-pepton azotu içeriklerinde (PPN) içeriklerinde meydana gelen değişimler\***

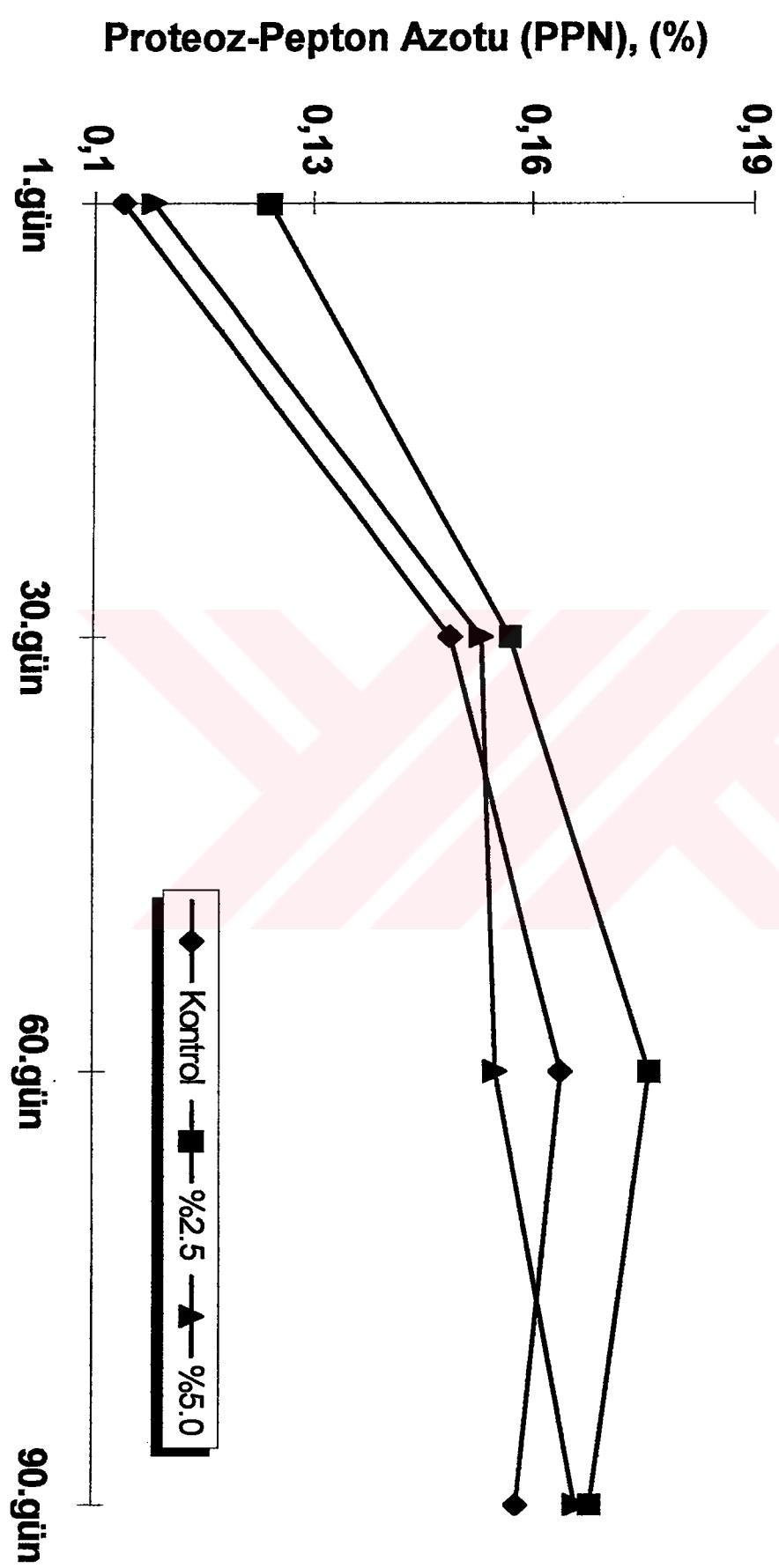
Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	0.104a, <sup>1</sup>	0.149b, <sup>1</sup>	0.164b, <sup>1</sup>	0.158b, <sup>1</sup>
Sx	0.004	0.004	0.007	0.004
% 2.5	0.124 <sup>a,2</sup>	0.157 <sup>b,1</sup>	0.178 <sup>c,1</sup>	0.168 <sup>b,c,1</sup>
Sx	0.003	0.001	0.007	0.001
% 5.0	0.108 <sup>a,1</sup>	0.153 <sup>b,1</sup>	0.155 <sup>b,c,1</sup>	0.166 <sup>c,2</sup>
Sx	0.002	0.001	0.007	0.002

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Elde edilen sonuçlara göre; kontrol, %2.5 ve %5.0 probiyotik kültür ilave edilen peynirlerde olgunlaşmanın başlangıcı ve sonunda PPN değerleri sırasıyla %0.104-%0.158, %0.124-%0.168 ve %0.108-0.166 arasında değişmiştir. Kontrol örneğinde olgunlaşmanın ilk 30 gününden sonra PPN değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişim ile karşılaşılmıştır ( $P>0.05$ ). Buna karşın; probiyotik peynirlerde olgunlaşma boyunca PPN içeriklerinde önemli düzeyde değişim ile karşılaşılmıştır ( $P<0.05$ ).

Olgunlaşmanın PPN üzerindeki etkisi  $P<0.05$  düzeyinde önemli olmuştur.

Farklı muamelelerin PPN düzeyleri üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla uygulanan varyans analizine göre muamelelerin  $P<0.05$  seviyesinde PPN'yi etkilediği bulunmuştur. Farklılık gösteren muamele gruplarını tespit etmek için uygulanan DUNCAN testi sonuçlarına göre olgunlaşmanın 30. ve 60. günlerinde muameleler arasındaki farkın önemsiz olduğu ( $P>0.05$ ), buna karşın olgunlaşmanın başlangıcında %2.5 probiyotik kültür içeren örneğin, sonunda (90. gün) ise %5.0 probiyotik kültür katımı ile üretilen peynir örneğin diğer örneklerden farklılık gösterdiği belirlenmiştir.



Şekil 4.12 Deneme peynirlerinin proteoz-pepton azotu içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

Bu sonuçlar ışığında, probiyotik kültür katkısının PPN seviyeleri üzerindeki etkilerinin inokülasyon oranından bağımsız olduğu söylenebilmektedir

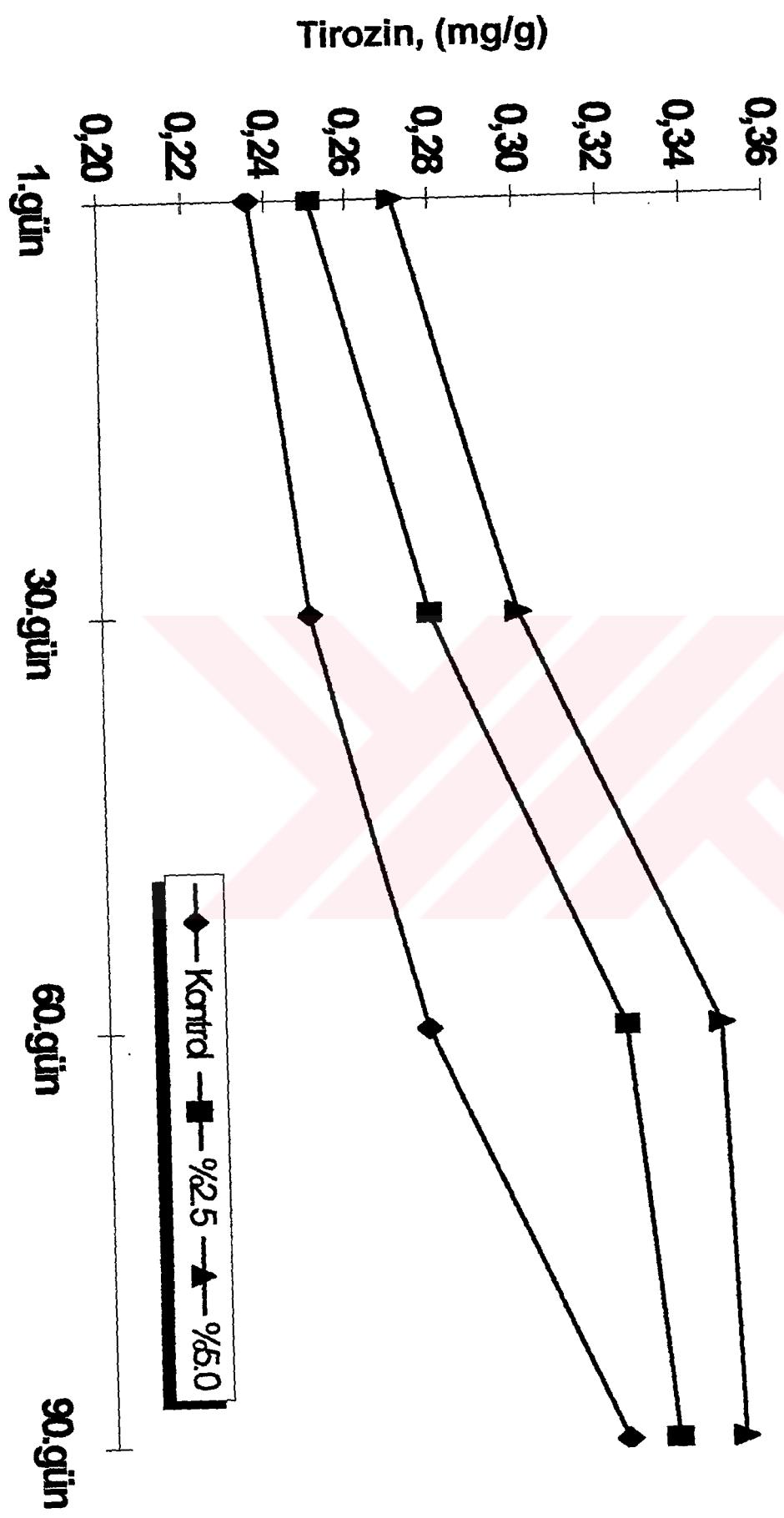
Benzer şekilde, muamelelerin ve olgunlaşmanın PPN değerleri üzerindeki ortak tesirleri de  $P>0.05$  düzeyinde önemsiz bulunmuştur.

#### 4.2.9. Deneme Peynirlerinin Tirozin İçeriklerinde Meydana Gelen Değişimler

Yoğurt bakterilerinin proteolitik aktiviteleri sonucunda, gerek inkübasyon gerekse depolama sırasında proteinlerden peptidler ve aminoasitler açığa çıkmaktadır. Açıga çıkan aminoasit düzeyine bağlı olarak peynirlerde “*acılılaşma*” olarak adlandırılan tat bozukluğu meydana gelmektedir. Anılan bozukluğun belirlenmesinde proteoliz sonucu açığa çıkan toplam aminoasit miktarlarının tirozin eşdeğeri esas alınmaktadır.

Deneme peynirlerinin tirozin içerikleri Tablo 4.13 ve Şekil 4.13' de sunulmuştur.

Sözkonusu tablo ve şekil incelendiğinde, tirozin konsantrasyonunun depolama süresi boyunca düzenli olarak arttığı ve bu artışın kontrolörneğinde en az, %5.0 probiyotik kültür ilavesi ile üretilen peynirlerde ise en yüksek olduğu görülmektedir. Ancak, olgunlaşmanın başlangıcındaki tirozin değerleri baz alındığında, 90 gün sonunda kontrolörneğinin tirozin içeriğide  $0.087 \text{ mg.g}^{-1}$  düzeyinde artış olurken, bunu sırasıyla %2.5 probiyotik kültür katılan örnek ( $0.084 \text{ mg.g}^{-1}$ ) ve %5.0 oranında probiyotik kültür katılan örnek ( $0.080 \text{ mg.g}^{-1}$ ) izlemiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında ise %5.0 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen örnek  $0.271 \text{ mg.g}^{-1}$  tirozin içeriğine sahipken bunu diğer probiyotik peynir ( $0.251 \text{ mg.g}^{-1}$ ) ve kontrol peyniri izlemiştir ( $0.236 \text{ mg.g}^{-1}$ ). Bu durum, probiyotik



Sekil 4.13 Deneme peynirlerinin tirozin içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.13 Deneme örneklerinin depolama sürecinde tirozin içeriklerinde meydana gelen değişimler\***

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
<b>Kontrol</b>	0.236 <sup>a,1</sup>	0.250 <sup>b,1</sup>	0.277 <sup>c,1</sup>	0.323 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.003	0.009	0.005	0.007
<b>% 2.5</b>	0.251 <sup>a,2</sup>	0.277 <sup>b,2</sup>	0.324 <sup>c,2</sup>	0.335 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	0.004	0.003	0.006	0.009
<b>% 5.0</b>	0.271 <sup>a,3</sup>	0.300 <sup>b,3</sup>	0.347 <sup>c,3</sup>	0.351 <sup>d,3</sup>
<i>Sx</i>	0.006	0.004	0.009	0.004

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

kültür katım oranının artması ile birlikte açığa çıkan tirozin miktarının arttığını ve tirozin oluşumunun, büyük oranda pihtilaşma ve ön salamura aşamalarında hızla devam ettiği ve ardından yavaşladığı sonucunu doğurmaktadır. %5.0 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir örneği, olgunlaşmanın başlangıcında kontrol örneğinden %14.80 ve diğer probiyotik peynirden ise %7.89 oranında daha fazla tirozin konsantrasyonuna sahip olmuştur.

Muamelelerin, olgunlaşmanın ve muamele  $\times$  olgunlaşma interaksiyonun tirozin üzerindeki ortak etkileri önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).

#### **4.2.10. Deneme Peynirlerinin pH İçeriklerinde Meydانا Gelen Değişimler**

Peynirlerin 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. Bu maddelerin bir bölümü doğal halde sütten

**Tablo 4.14** Deneme örneklerinin depolama sürecinde pH değerlerinde meydana gelen değişimler\*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	5.26 <sup>a,1</sup>	5.11 <sup>b,1</sup>	5.03 <sup>c,1</sup>	5.06 <sup>c,1</sup>
<i>Sx</i>	0.020	0.017	0.023	0.017
<b>% 2.5</b>	5.34 <sup>a,2</sup>	5.20 <sup>b,2</sup>	5.08 <sup>c,1</sup>	5.01 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	0.014	0.021	0.005	0.015
<b>% 5.0</b>	5.36 <sup>a,2</sup>	5.13 <sup>b,1</sup>	5.03 <sup>c,1</sup>	4.91 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	0.020	0.021	0.031	0.012

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

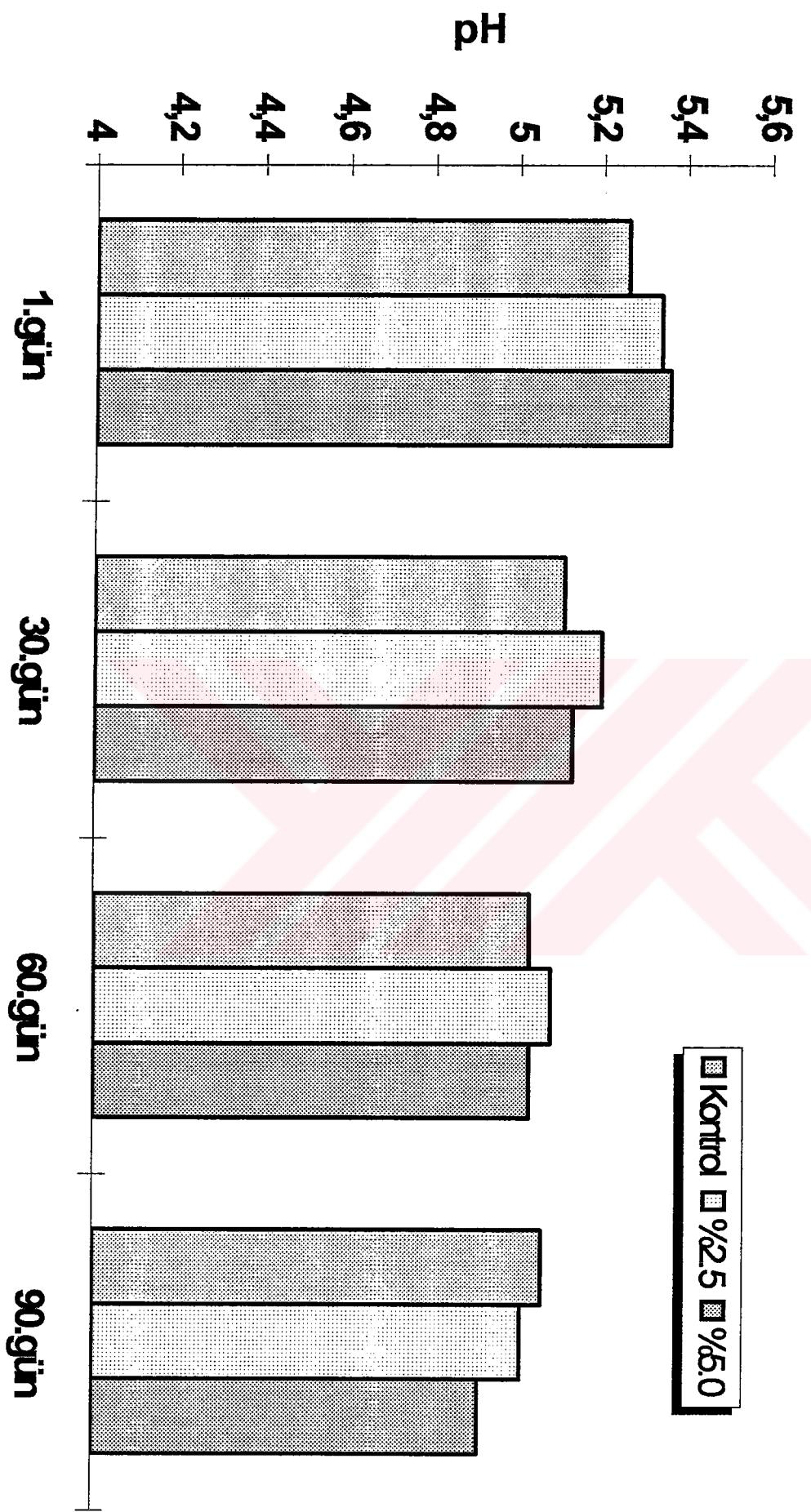
kaynaklanmaktadır, bir bölümü ise mikroorganizma aktiviteleri sonucu oluşmaktadır.

Süt ve süt ürünlerinde en önemli asitlik kaynağı olan laktوز peynir yapımı sırasında kısmen hidrolize olmaktadır büyük oranda da peynir suyu ile birlikte piştiden uzaklaşmaktadır. Hidrolizasyona bağlı olarak peynirde pH düşüşü gözlenmektedir; ancak, bu düşüş, hidrolizasyon ile doğrusal değildir. Bunun nedeni, yüksek oranda protein içeriğine sahip ürünün tampon kapasitesinde meydana gelen artışıtır.

Deneme peynirlerine ait pH değerleri Tablo 4.14 ve Şekil 4.14' de sunulmuştur.

Buna göre; tüm örneklerde depolama süreci boyunca pH değerlerinde azalma kaydedilmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcında pH değerleri 5.26-5.36 arasında değişmiş ve probiyotik peynirler arasında bir farklılık ile karşılaşmazken ( $P>0.05$ ), bu iki örneğin kontrol örneğine göre daha yüksek pH değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bir anlamda; *Lb.acidophilus* ve *B.bifidum* ile inoküle edilen peynirlerde pH düşüşü yavaşlamış ve pH değerlerinin inokülasyon oranlarından bağımsız olduğu saptanmıştır.

**Sekil 4.14** Deneme peynirlerinin pH değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişimler ( $n=2$ )



90 günlük olgunlaşma periyodu sonunda deneme örneklerinin pH değerleri 4.91 ile 5.06 aralığında değişmiştir. Olgunlaşmanın başlangıcındaki pH değerleri ile sonundaki pH değerleri karşılaştırıldığında, kontrolörneğinde 0.2 pH, %2.5 oranında probiyotik kültür ilave edilen örnekte 0.33 pH ve %5.0 oranında probiyotik kültür katılarak üretilen peynirde ise 0.45 pH'lik azalmalar kaydedilmiştir.

Muamelelerin, olgunlaşma süresinin ve muamele x olgunlaşma interaksiyonunun pH üzerindeki ortak etkileri istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur.

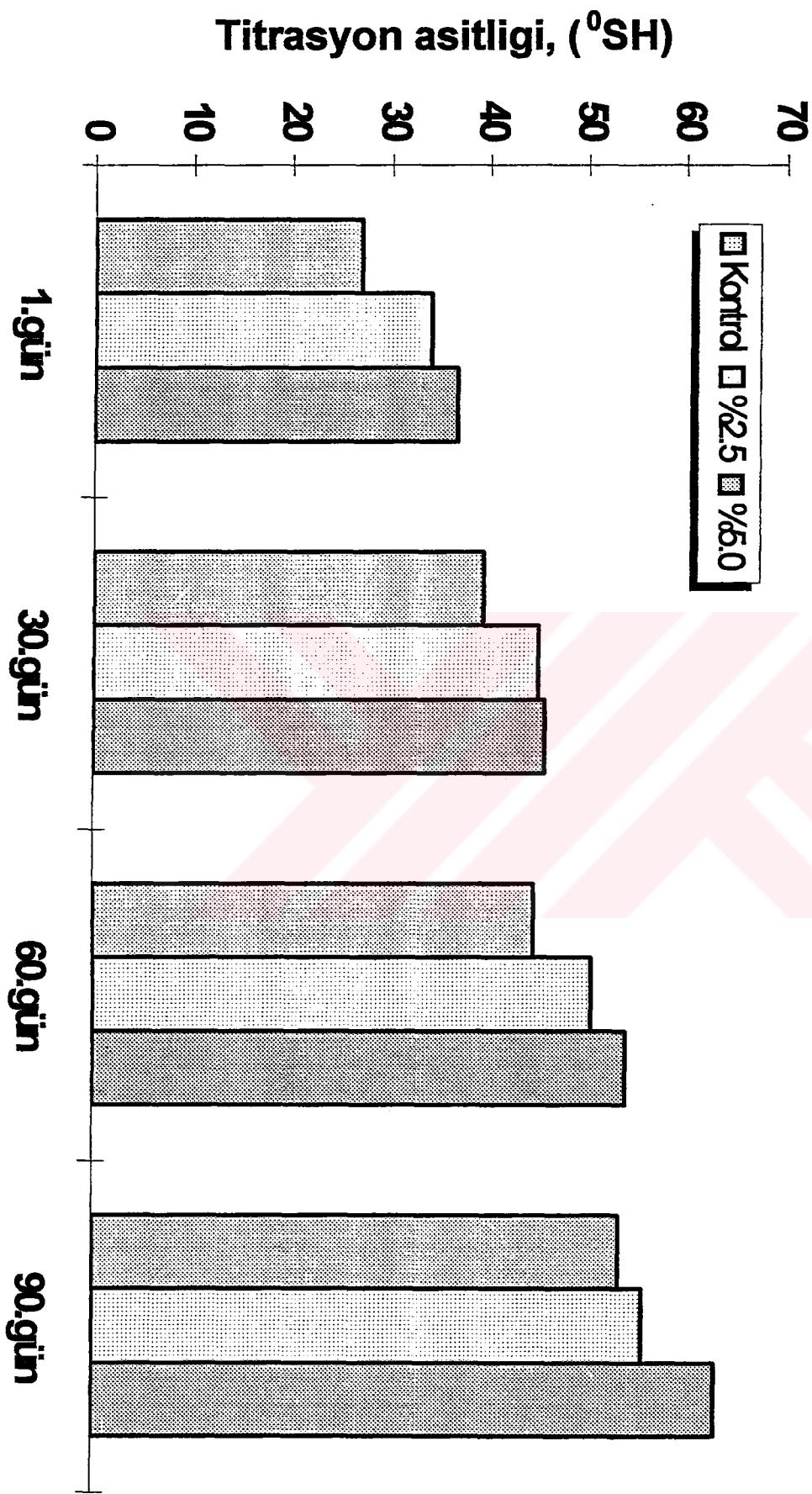
Bu denemedede elde edilen pH değerleri Yalçın (90) ile Gündüz ve Dağlıoğlu (91) tarafından saptanan değerlere yakın bulunmuştur.

#### **4.2.11. Deneme Peynirlerinin Toplam Titrasyon Asitliği Düzeylerinde Meydana Gelen Değişimler**

Asitlik gelişimi, peynir sütünün pihtlaşması ile başlamakta ve olgunlaşma boyunca sürdürmektedir. Peynirde toplam asitlik kaynakları laktozun fermentasyon ürünü olan laktik asit, asetik asit, formik asit, bütirik asit, lipoliz sonucu oluşan oluşan serbest yağ asitleri ve proteolizin bir sonucu olarak ortaya çıkan serbest aminoasitlerdir (84, 94).

Deneme peynirlerine ait titrasyon asitliği değerleri standard hataları ile birlikte Tablo 4.15 ve Şekil 4.15' de sunulmuştur.

pH değerlerine paralel olarak, depolama süresince toplam asitlik sürekli bir artış göstermiş ve olgunlaşmanın toplam asitlik üzerindeki etkileri önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ).



Şekil 4.15 Deneme peynirlerinin titrasyon asitliği içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

**Tablo 4.15 Deneme örneklerinin depolama sürecinde titrasyon asitliği değerlerinde meydana gelen değişimler\***

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	27.00 <sup>a,1</sup>	39.50 <sup>b,1</sup>	44.63 <sup>c,1</sup>	53.33 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	1.154	0.866	0.376	0.143
<b>% 2.5</b>	34.00 <sup>a,2</sup>	45.00 <sup>b,1</sup>	50.50 <sup>c,2</sup>	55.67 <sup>d,1</sup>
<i>Sx</i>	1.154	2.309	1.443	0.333
<b>% 5.0</b>	36.67 <sup>a,2</sup>	45.67 <sup>b,1</sup>	54.00 <sup>c,2</sup>	63.00 <sup>d,2</sup>
<i>Sx</i>	1.202	2.404	1.732	0.577

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

Olgunlaşmanın başlangıcında, toplam asitlik değerleri °SH cinsinden 20.00-36.67 arasında değişirken 90 gün sonunda 53.33-60.00 °SH aralığında bir varyasyon ile karşılaşılmıştır. Buna karşın; pH değerleri incelendiğinde (Tablo 4.14) %5.0 probiyotik kültür inokülasyonu ile üretilen peynirin en yüksek pH değerine sahip olduğu, ancak, bu örneğin toplam titrasyon asitliği değerlerinin de en yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum muhtemelen pihtının oluşumu, süzülmesi ve 12 saat boyunca ön salamurada tutulması sırasında probiyotik mikroorganizmaların aktiviteleri sonucu açığa çıkan tampon maddelerin konsantrasyonunun yüksek oluşundan kaynaklanmaktadır.

Beyaz peynirin toplam titre edilebilir asit içeriği hem Gıda Kodeksi hem de T.S.E. Beyaz Peynir Standardı'nda sınırlanmıştır (71,95). Buna göre; beyaz peynirin toplam asitliğinin en fazla %3 laktik asit (~133-134 °SH) olması öngörmektedir.

Denememizde, peynirlerimizin titrasyon asitliği değerleri, öngörülen üst sınırın altında kalmıştır.

Elde ettiğimiz değerler İzmen (96) ve Eralp (97) tarafından bildirilen değerlerin altında kalırken, Şimşek (92), Nizamlioğlu *ve ark.* (98) ve Çelik *ve ark.* (99) tarafından saptanan değerlere yakınlık göstermiştir.

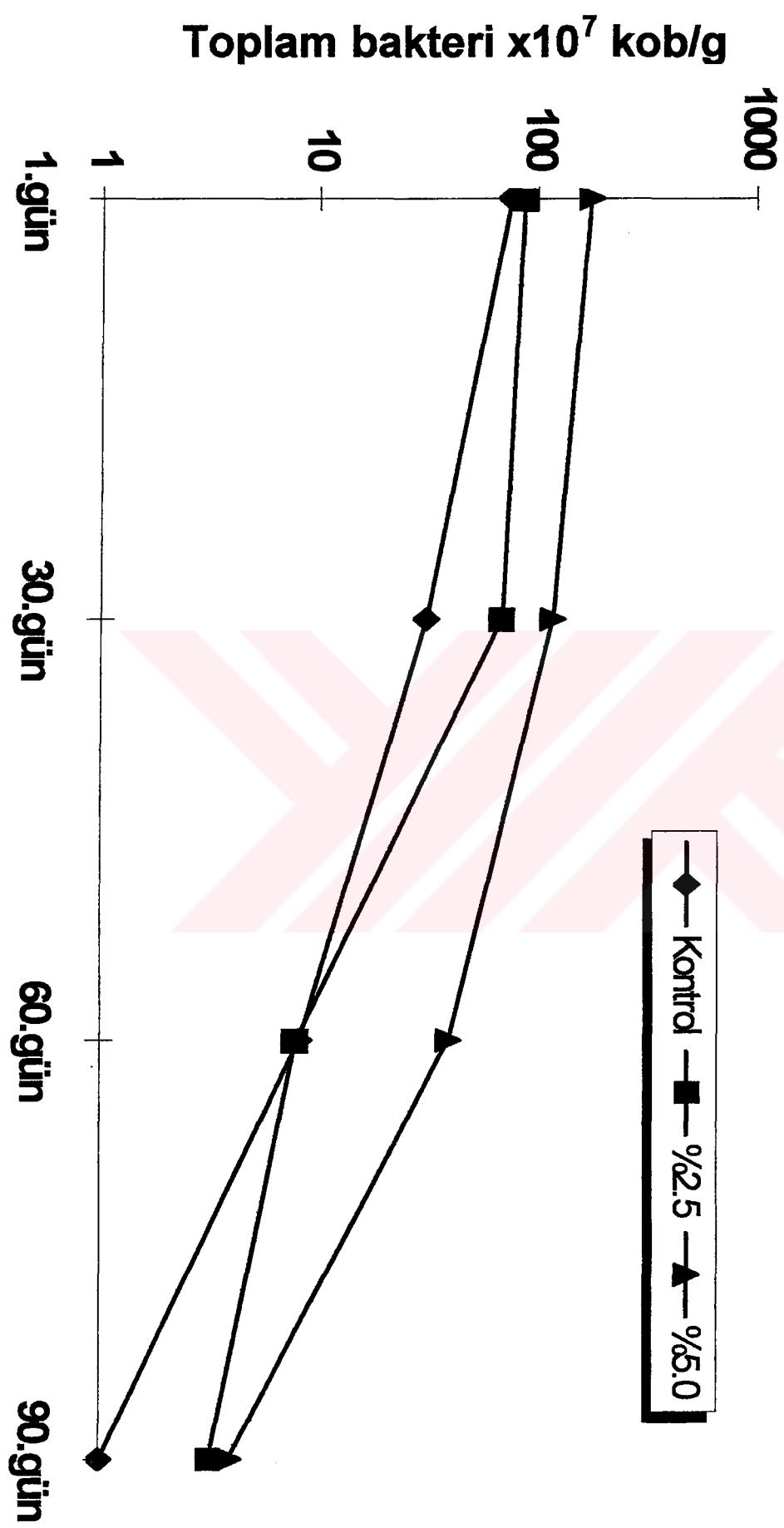
Farklı muamelelerin titrasyona asitliği üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunurken, olgunlaşma ve muamelelerin interaksiyon etkisinin önemsiz olduğu saptanmıştır ( $P>0.05$ ).

#### **4.2.12. Deneme Peynirlerinin Toplam Canlı Bakteri Sayılarında Meydana**

##### **Gelen Değişimler**

Deneme örneklerine ait toplam canlı bakteri sayıları Tablo 4.16 ve Şekil 4.16' de standart hataları ile birlikte verilmektedir.

Depolama süresi boyunca, deneme örneklerinin koloni oluşturan toplam bakteri sayılarında önemli azalmalar saptanmıştır ( $P<0.05$ ). Olgunlaşmanın başlangıcında kontrol, %2.5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir ve %5.0 oranında probiyotik kültür ile üretilen peynirde toplam canlı koloni sayısı sırasıyla  $74.5 \times 10^7$ ,  $87.0 \times 10^7$  ve  $177.3 \times 10^7$  kob/ g peynir olarak bulunmuştur. Buna karşın; 90 günlük depolama sırasında aynı örneklerde sırasıyla 74.5, 27.1 ve 42.2. kathık azalmalar ile  $1.0 \times 10^7$ ,  $3.2 \times 10^7$  ve  $4.2 \times 10^7$  kob/ g peynir düzeylerine inmiştir. %5.0 oranında probiyotik kültür katılan örnek hariç, diğer deneme örneklerinde koloni oluşturan toplam mezofilik bakteri sayılarında saptanan düşüş 30.günden sonra önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Benzer şekilde; depolamanın ilk gününde örnekler arasında saptanan istatistiksel farklılıklar diğer depolama günlerinde kısmen ortadan kalkmıştır. Tablo 4.16'da görüleceği üzere,



Şekil 4.16 Deneme peyirlerinde canlı toplam koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

DUNCAN testi uyarınca belirlenen örnekler arası farklılıklar teknolojik anlamda çok fazla bir değer taşımamaktadır.

Depolama süresi boyunca deneme örneklerinin toplam aerob (koloni oluştran) mezofilik bakteri sayılarında gözlenen azalmalar, peynir kitlesinin tuz konsantrasyonu ile ilişkilidir. Bilindiği gibi birçok bakteri suyunun tuza karşı toleransı oldukça düşüktür (100). Deneme örneklerinin tuz konsantrasyonlarında meydana gelen artışları gösteren Şekil 4.5 ile toplam koloni oluşturabilen bakteri sayılarındaki değişimini gösteren Şekil 4.16 karşılaştırıldığında, tuz geçişinin hızlı olduğu ilk 30 gün içerisinde toplam bakteri sayılarındaki azalmanın da hızlı gerçekleştiği ve daha sonraki dönemlerde nispeten yavaşladığı görülmektedir.

Türk Standardları Enstitüsü Beyaz Peynir Standardı'nda (TS 591) toplam canlı koloni sayısı sınırlanılmamıştır (74). Bununla birlikte; Özer ve ark. (82), koyun sütünden üretilen salamura Urfa peynirlerinde 90 günlük depolamanın başlangıcında ve sonundaki toplam bakteri sayılarının  $34.6 \times 10^8$ - $10.8 \times 10^7$  kob/g

**Tablo 4.16** Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam canlı bakteri sayısında meydana gelen değişimler ( $\times 10^7$ ) kob/g \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30. Gün	60. Gün	90. Gün
<b>Kontrol</b>	74.50 <sup>a,1</sup>	11.00 <sup>b,1</sup>	8.33 <sup>b,c,1</sup>	1.03 <sup>c,1</sup>
<i>Sx</i>	4.91	0.58	0.33	0.03
<b>% 2.5</b>	87.00 <sup>a,1</sup>	68.50 <sup>b,1</sup>	8.00 <sup>c,1</sup>	3.23 <sup>c,2</sup>
<i>Sx</i>	3.46	4.90	2.31	0.08
<b>% 5.0</b>	177.33 <sup>a,2</sup>	119.33 <sup>b,1</sup>	39.67 <sup>c,2</sup>	4.27 <sup>d,3</sup>
<i>Sx</i>	15.30	10.97	4.63	0.37

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).

peynir arasında değiştigini, bu değerlerin inek sütünden üretilen peynirlerde ise  $61.3 \times 10^8$ - $13.3 \times 10^7$  kob/g peynir arasında yer aldığı bildirmiştir. Benzer sonuçlar, Şahan ve ark (101, 102) tarafından da elde edilmiştir.

Muameleler ile olgunlaşmanın toplam bakteri sayısı üzerindeki ortak etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

#### **4.2.13. Deneme Peynirlerinin Toplam Maya-Küf Sayılarında Meydana Gelen Değişimler**

##### **Değişimler**

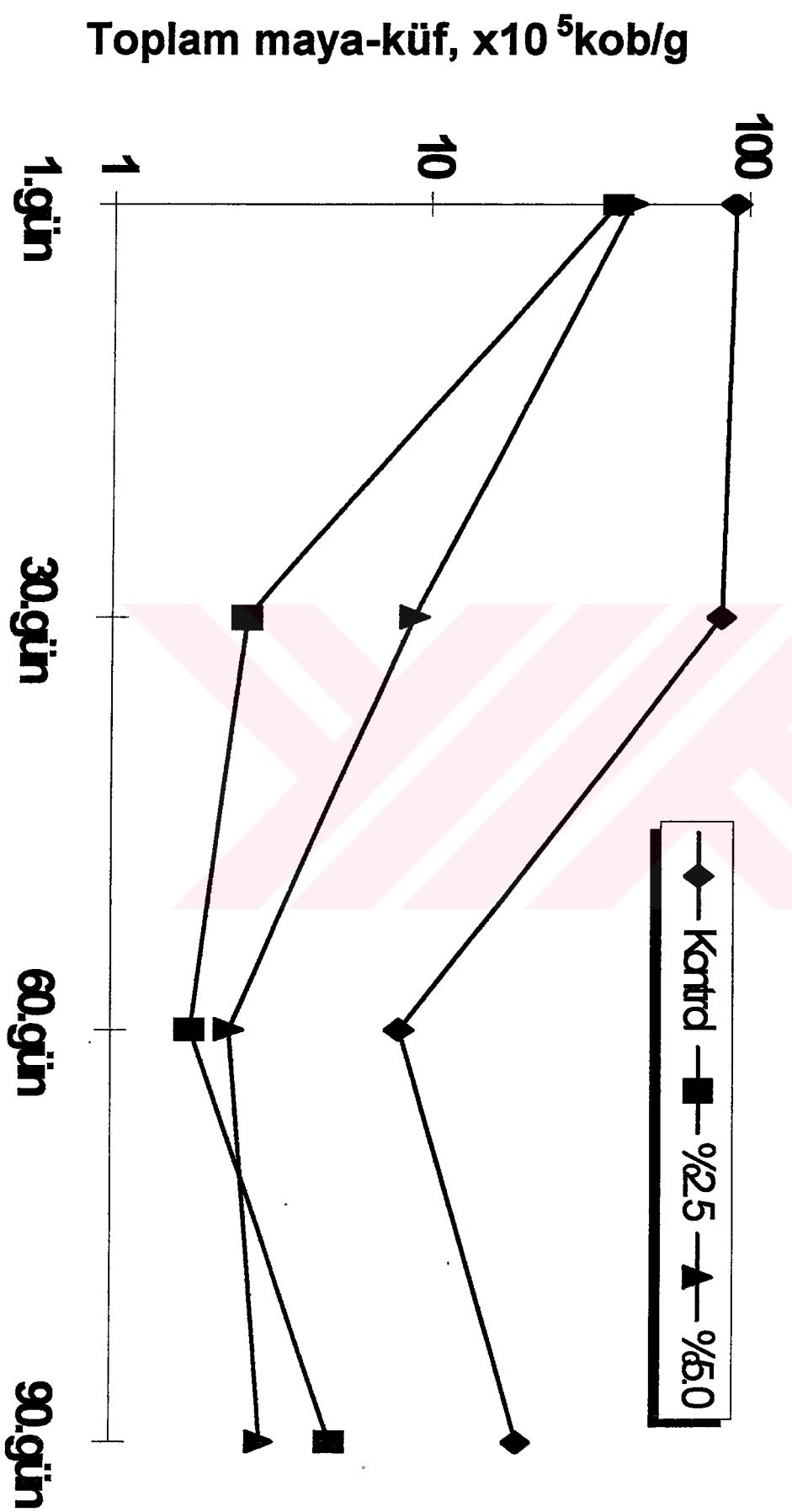
Deneme peynirlerine ait toplam maya-küf sayıları Tablo 4.17 ve Şekil 4.17' de sunulmuştur.

Olgunlaşma periyodunun ilk 30 günü sonunda probiyotik peynir örneklerinde maya-küf sayılarında gözlenen düşüşler istatistiksel olarak önemli bulunurken ( $P<0.05$ ), kontrolörneğinde 60. depolama gününden sonra meydana gelen azalmalar birbirinden farksız bulunmaktadır ( $P>0.05$ ). 90 günlük depolama süresi boyunca, kontrol, %2.5 ve %5.0 oranlarında probiyotik kültür katımı ile

**Tablo 4.17** Deneme örneklerinin depolama sürecinde toplam maya-küf sayısında meydana gelen değişimler ( $\times 10^5$ ) kob/g \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	91.00 <sup>a,1</sup>	83.50 <sup>a,1</sup>	8.17 <sup>b,1</sup>	18.67 <sup>b,1</sup>
<i>Sx</i>	5.196	7.749	0.166	0.667
<b>% 2.5</b>	38.00 <sup>a,2</sup>	2.70 <sup>b,2</sup>	1.80 <sup>b,2</sup>	5.00 <sup>b,2</sup>
<i>Sx</i>	4.620	0.115	0.173	0.577
<b>% 5.0</b>	42.00 <sup>a,2</sup>	8.97 <sup>b,2</sup>	2.37 <sup>b,2</sup>	3.03 <sup>b,3</sup>
<i>Sx</i>	4.041	1.155	0.328	0.120

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).



Şekil 4.17 Deneme peynirlerinde canlı maya ve küf sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

üretilen peynirlerin toplam maya-küf sayıları sırasıyla  $91 \times 10^5$ - $18.6 \times 10^5$ ,  $38.0 \times 10^5$ - $5.0 \times 10^5$  ve  $42.0 \times 10^5$ - $3.03 \times 10^5$  kob/g peynir arasında değişmiştir.

Depolamanın ilk 30 günü boyunca probiyotik peynir örneklerinin maya-küf sayılarında gözlemlenen azalmalar, bu süreçte oldukça hızlı gerçekleşen tuz penetrasyonu (Şekil 4.5) ile uyum içerisinde bulunmuştur. Bilindiği gibi bir çok maya ve küf türü yüksek tuz konsantrasyonlarına karşı canlılıklarını uzun süre koruyabilme yeteneğinde değildirler (100).

Olgunlaşma sürecinin başlangıcında, %2.5 oranında probiyotik starter ile inoküle edilen örnek kontrol örnekinden 2.39 kat daha az maya-küf sayısına sahip olurken %5.0 oranında probiyotik kültür katılan örnekten ise 2.17 kat daha az maya-küf sayısına sahip bulunmuştur.

Farklı muamelelerin peynir örneklerinin toplam maya-küf sayıları üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur. Probiyotik peynirlerin kontrol örneğine oranla daha düşük maya-küf sayılarına sahip olması muhtemelen üretimde kullanılan *Lb.acidophilus* ve *B.bifidum*'un maya ve küf türleri üzerindeki antagonistik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Probiyotik etkili mikroorganizmalar, patojen mikroorganizmalar olduğu gibi bazı maya ve küf türleri üzerinde de inhibisyon etkisi yaratabilmektedir (103). Bununla birlikte; maya-küf sayılarındaki azalmanın probiyotik kültür katım oranından bağımsız olduğu saptanmıştır ( $P>0.05$ ).

Farklı muamelelerin ve depolamanın maya-küf sayıları üzerindeki ortak etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

#### **4.2.14. Deneme Peynirlerinin *Lb.acidophilus* ve *B.bifidum* Sayılarında**

##### **Meydana Gelen Değişimler**

Probiyotik mikroorganizmalar kullanılarak üretilen peynirler üzerine literatürlerde oldukça sınırlı sayıda araştırma ile karşılaşılmıştır. Bu konu ile ilgili araştırmalar genellikle Cheddar ve Gouda gibi sert ve yarı sert peynirler üzerinde yoğunlaşıırken, salamura peynirlerde probiyotik organizma gelişimi ile ilgili bir araştırma ile karşılaşılmamıştır.

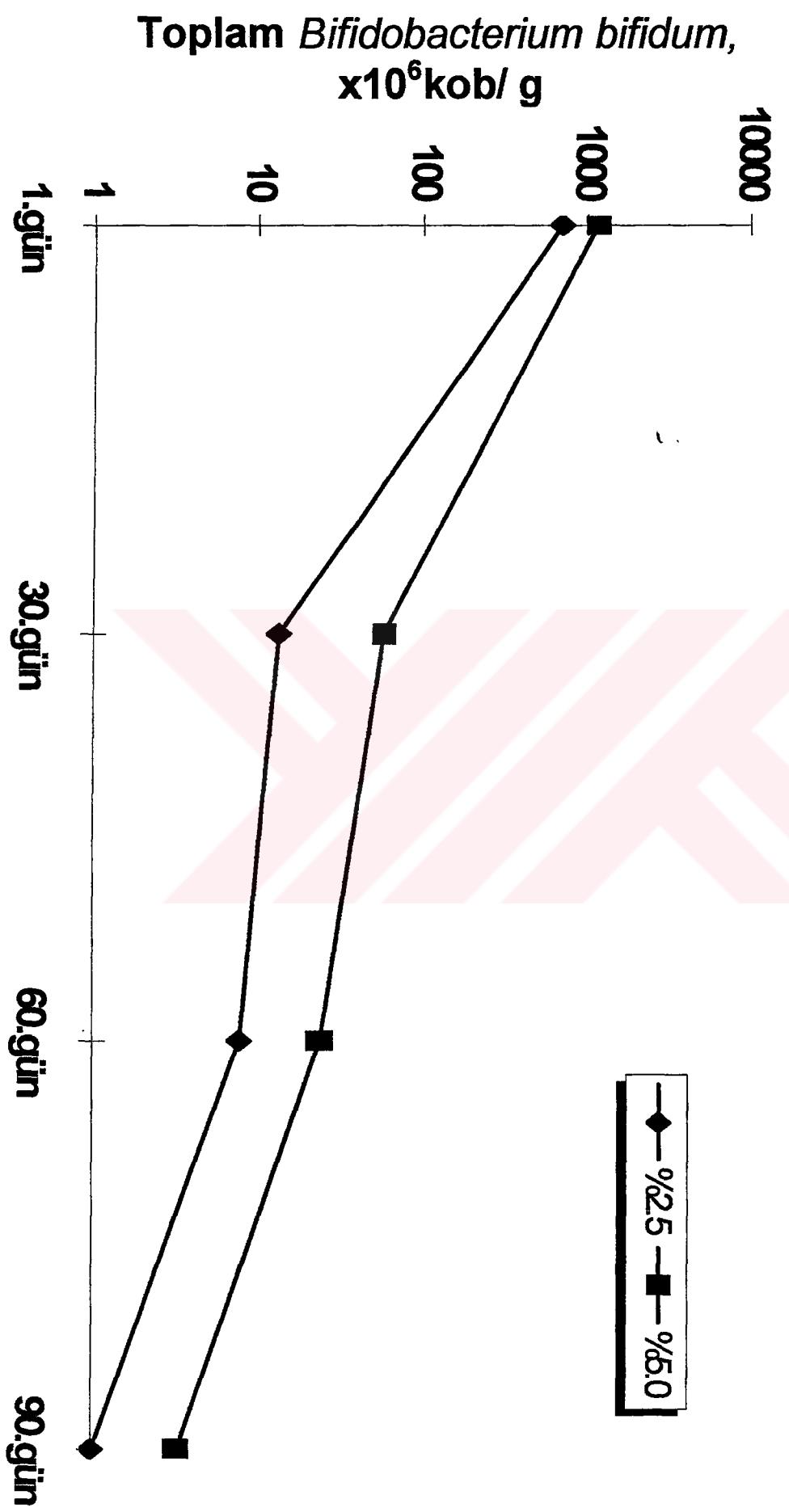
Deneme örneklerine ait *B.bifidum* koloni sayılarında meydana gelen değişimler Tablo 4.18 ve Şekil 4.18' de sunulmuştur.

Doğal olarak beklenildiği gibi probiyotik bakterilerin inokülasyon oranı arttıkça depolamanın başlangıcındaki *B.bifidum* koloni sayılarında da önemli farklılıklar elde edilmiştir ( $P<0.05$ ). Depolama periyodunun başlangıcında %2.5 oranında probiyotik kültür karışımı ile inoküle edilen örnekte *B.bifidum* kolonisi sayısı  $7 \times 10^8$  kob/ g peynir olarak bulunurken, %5.0 oranında probiyotik kültür ilave edilen örnekte bu değer  $1.2 \times 10^9$  kob/ g peynir olarak bulunmuştur.

**Tablo 4.18** Deneme örneklerinin depolama sürecinde *Bifidobacterium bifidum* koloni sayısında meydana gelen değişimler ( $\times 10^6$ ) kob/g \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	-	-	-	-
<i>Sx</i>	-	-	-	-
<b>% 2.5</b>	700.00a,1	13.50b,1	7.95b,1	1.00b,1
<i>Sx</i>	40.41	2.02	0.15	0.00
<b>% 5.0</b>	$1,156.67^{a,2}$	$57.67^{b,2}$	$24.33^{b,2}$	$3.40^{b,2}$
<i>Sx</i>	101.71	5.61	2.19	0.12

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).



Şekil 4.18 Deneme peymirlerinde canlı *Bifidobacterium bifidum* koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

Probiyotik kültür katı oranındaki farklılık 2 kat olmasına rağmen, ön salamura sonunda elde edilen *B.bifidum* sayısında 1.6 katlık bir farklılık kaydedilmiştir.

Farklı muamelelerin *B.bifidum* koloni sayıları üzerindeki etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

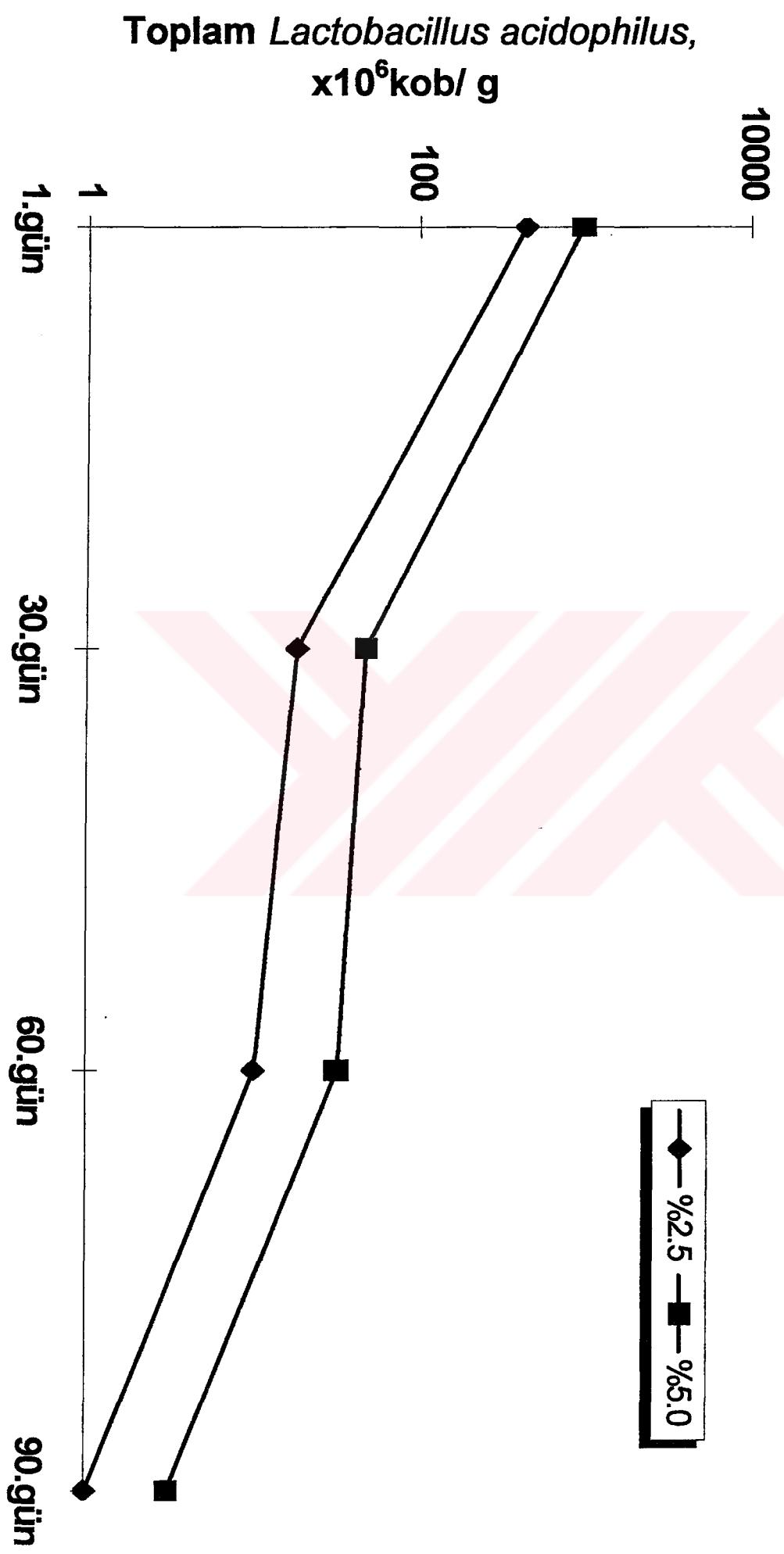
Depolamanın ilk 30 günlük bölümünde *B.bifidum* koloni sayısında önemli azalmalar gözlenirken ( $P<0.05$ ), daha sonraki dönemlerde bu azalma önemsiz düzeylerde gerçekleşmiştir ( $P>0.05$ ). Depolamanın başlangıcında oldukça hızlı seyreden *B.bifidum* koloni sayısındaki azalmanın daha sonra durağanlaşmasının temel nedeni, peynirlerin tuz konsantrasyonlarındaki artışın ilk 30 gün içerisinde hızlı gerçekleşmesidir.

Benzer bir durum *Lb.acidophilus* için de geçerlidir (Tablo 4.19, Şekil 4.19). Bu probiyotik suş da depolamanın ilk 30 gününde hızla sayısal yoğunluğunu yitirirken daha sonra meydana gelen azalmalara önemsiz düzeylerde seyretmiştir ( $P>0.05$ ). Depolamanın başlangıcında *Lb.acidophilus* koloni sayıları her iki peynir için sırasıyla  $4.4 \times 10^8$  kob/g peynir ve  $9.8 \times 10^8$  kob/g peynir

**Tablo 4.19** Deneme örneklerinin depolama sürecinde *Lactobacillus acidophilus* koloni sayısında meydana gelen değişimler ( $\times 10^6$ ) kob/g \*

Örnek/ Depolama	1. Gün	30.Gün	60.Gün	90.Gün
<b>Kontrol</b>	-	-	-	-
<i>Sx</i>	-	-	-	-
<b>% 2.5</b>	$440.00^{a,1}$	$18.50^{b,1}$	$10.20^{b,1}$	$1.03^{b,1}$
<i>Sx</i>	28.86	0.86	0.35	0.04
<b>% 5.0</b>	$975.00^{a,2}$	$47.33^{b,2}$	$32.67^{b,c,2}$	$3.00^{c,2}$
<i>Sx</i>	21.79	5.78	2.03	0.06

\* Aynı harfler, depolama sırasında incelenen karakter bakımından örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadığını ( $P>0.05$ ), aynı rakamlar ise muameleler arasında önemli fark bulunmadığını göstermektedir ( $P>0.05$ ).



Şekil 4.19 Deneme peynirlerinde canlı *Lactobacillus acidophilus* koloni sayısında depolama süresince meydana gelen değişimler (n=2)

olarak gerçekleşmiştir. 90 günlük depolama sonunda ise bu değerler sırasıyla  $1.0 \times 10^6$  kob/ g peynir ve  $3.00 \times 10^6$  kob/ g peynir düzeylerine gerilemiştir.

Hem *B.bifidum* hem de *Lb.acidophilus* için muamelelerin, depolamanın ve muamele x depolama interaksiyonlarının etkileri  $P<0.05$  düzeyinde önemli bulunmuştur.

Her ne kadar depolama sürecinde her iki probiyotik mikroorganizmada da marginal azalmalar meydana gelmişse de, 90 günlük depolama sürecinin sonunda elde edilen değerler, deneme peynirlerinin, probiyotik etki için gerekli olan en az canlı probiyotik koloni sayısının ( $10^6$  kob/ g) üzerinde mikroorganizma yüküne sahip oldukları belirlenmiştir. Probiyotik mikroorganizmaların gelişimlerini sınırlayan en önemli faktörler çözünmüş oksijen ve tuz konsantrasyonudur. Peynir üretiminde oksijen içeriği ilk 2-3 hafta içerisinde hemen hemen tamamen ortadan kalkmakta ve anaerob mikroorganizmalar için elverişli bir ortam oluşturmaktadır. Ancak, denemedede, tuz geçişine bağlı olarak probiyotik organizmalarda gözlenen lize olayı nedeniyle, sonradan ortamın bu organizmaların gelişimi için uygun hale gelmesi fazla bir etki göstermemiştir.

Cheddar peynirinde probiyotik karakterli *Enterococcus faecium* inokülasyonu elde edilen probiyotik Cheddar peynirinde bu organizmanın  $8^{\circ}\text{C}$ 'de 15 ay depolama sonunda  $4 \times 10^8$  kob/ g düzeyinde canlılığını koruyabildiği bildirilmiştir (63).

Daigle ve ark. Cheddar benzeri bir probiyotik peynirde *Bifidobacterium* türlerinin  $4^{\circ}\text{C}$ 'de 84 gün sonunda  $3 \times 10^6$  kob/ g düzeyinde canlı kalabildiklerini saptamışlardır (64).

Stanton ve ark ise Cheddar ve Gouda peynirlerinde *Bifidobacterium* spp.'lerin herhangi bir problem ile karşılaşmadan gelişebildiklerini buna karşın *Lactobacillus* türlerinden yalnızca *Lb.paracasei*'nin gelişebildiğini diğer türlerin ise inhibisyonu uğradığını tespit etmişlerdir. Bu araştırmacılar, Cheddar ve Gouda peynirlerinin yoğurda oranla probiyotik bakterilerin gastrointestinal kanala taşınmasında daha etkin bir rol oynadığını da ifade etmişlerdir (65).

Gomes ve ark., *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* suşlarının yarı-sert Gouda peynirindeki gelişimlerini izlemişler ve sonuçları non-lineer regresyon analizleri ile değerlendirmiştir. Buna göre; son ürünün tuz içeriği%2-4 (w/w) arasında değişen peynirlerde depolamanın ilk üç haftasında bakteri sayısında yavaş bir azalma ile karşılaşılırken, bu noktadan sonra hızlı bir düşüş ile karşılaşmıştır. Aynı araştırmacılar, probiyotik bakteri sayısındaki azalmanın, peynirin yüzey kısmında, iç bölgelere oranla daha hızlı olduğunu bulmuşlardır (66).

Gomes ve Malcata, keçi sütlerinden probiyotik peynir yapımı üzerine gerçekleştirdikleri çalışmalarında *Bifidobacterium lactis*'in gelişiminin bütünüyle peynirin fizikokimyasal özelliğine bağlı olduğunu ve bu bakterinin sayısal yoğunluğunun  $3 \times 10^8$  kob/ g düzeylerine kadar çıkabildiğini, buna karşın, *Lactobacillus acidophilus* kolonilerinde bir gelişim olmadığını bildirmiştir. Bu araştırmacılar sonuç olarak, keçi sütünden probiyotik peynir üretiminde süte %0.30 (w/v) süt hidrolizati katımının yararlı olacağını, tuz içeriğinin en fazla %3.5 ve depolama süresinin de en fazla 70 gün olması gerektiğini ifade etmişlerdir (68).

Gomes ve ark ise, *probiyotik minimum* olarak adlandırılan ve bir ürünün probiyotik karakter taşıyabilesi için sahip olması gereken en düşük probiyotik

bakteri konsantrasyonu ( $10^6$  kob/ g) olarak tanımlanan alt sınıra erişilebilmesi için bakteri inokülasyon oranının en az %3.5 olması gerektiğini bildirmiştir. Bu araştırmalar, bifidojenik faktörlerin bakteri gelişimi üzerinde olumlu etkiler yapmalarına karşın son üründe karakteristik tat/aroma özelliklerinin kaybolduğunu belirlemiştir (69).

## 5. SONUÇLAR

Probiyotik nitelik taşıyan *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* salamura beyaz peynirlerde canlı kalma sürelerini ve 90 günlük depolama boyunca, peynirlerin kalite özellikleri üzerinde yaratabilecekleri etkileri incelemek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre;

- Örneklerin kurumadde, tuz, kurumaddede tuz, yağ, kurumaddede yağ içerikleri üzerine probiyotik mikroorganizmaların etkili olmadığı ancak depolamanın, bu parametrelerde meydana gelen değişimler bakımından son derece önemli bir faktör olduğu belirlenmiştir. 90 günlük depolama sonunda yukarıda sayılan parametreler bakımından test örneklerinin T.S.E. Beyaz Peynir Standardı (TS 591) ile uyum içerisinde olduğu belirlenmiştir,
- Probiyotik mikroorganizmaların varlığı sonucunda peynir örneklerinin proteolitik kapasitelerinin arttığı ve buna bağlı olarak da olgunlaşmanın hızlandığı saptanmıştır. Bu durum özellikle yüksek inokülasyon oranına sahip probiyotik peynir için geçerlidir. Peynir teknolojisi açısından konu irdelendiğinde, aynı kalite özelliklerine sahip bir ürüne depolamanın daha erken safhalarında ulaşmak önemli bir avantajdır. Bu bakımından, nispeten hızlı proteoliz bir avantaj olarak değerlendirilmektedir,
- Deneme peynirlerinin toplam azot içeriklerinde probiyotik kültür inokülasyon oranına bağlı olarak gözlenen artış, WSN, NPN, PPN, tirozin gibi diğer proteoliz parametreleri için de geçerlidir. Bu noktada; depolama sürecini biraz daha kısaltabilmek amacıyla süte proteolitik enzimlerin katılması, depolama sıcaklığının bir miktar yükseltilmesi gibi tedbirler de önerilebilmektedir,
- Depolama süresince tüm deneme peynirlerinde gözlenen toplam canlı bakteri sayısında azalma, tuz geçişine bağlı olarak meydana gelen ve kaçınılmaz olan bir gelişme olarak değerlendirilmiştir,
- Probiyotik mikroorganizmaların patojenler üzerindeki inhibisyon etkisinin maya-küf gelişimi üzerinde de görülmesi depolama sırasında kontaminasyonlara bağlı olarak oluşabilecek maya-küf gelişiminin

engellenmesi ve dolayısıyla ürünün tat / aroma özelliklerinin daha uzun süre korunabilmesi bakımından olumludur,

- Depolama süresince toplam bakteri sayısında gözlenen düşüş toplam probiyotik starter mikroorganizma sayılarında da kendini göstermiştir. 90 günlük depolama sonunda başlangıç değerlerinin çok altına düşen toplam probiyotik bakteri sayısı yine de probiyotik etkinin görülebilmesi için Uluslar arası Sütçülük Fedarasyonu (IDF) tarafından şart koşulan  $10^6$  kob/g düzeyinin bir miktar üzerinde kalmıştır. Depolama boyunca probiyotik mikroorganizma sayısının istenilen seviyelerde tutulabilmesi için, salamura tuz konsantrasyonunun olabildiğince (peynirlerde erimeye yol açmayacak düzeylerde) düşük tutulması, süte probiyotik mikroorganizmaların gelişim faktörlerinin (tat / aromayı etkilememek koşulu ile) ilave edilmesi ve inokülasyon oranının yüksek tutulması gibi önlemlerin alınmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Sonuç olarak; içme sütü ve fonksiyonel süt ürünlerinin tüketiminin son derece düşük olduğu ülkemizde, probiyotik nitelikli süt ürünlerinin tüketimine bağlı açığın, geleneksel olarak yoğun bir şekilde tükettiğimiz beyaz peynir aracılığı ile kapatılabilmesi olası görülmektedir.

## **6. KAYNAKLAR**

- 1) HUGHES, D.B., HOOVER, D.G. *Food Technology*, **4**, 74-83, 1991.
- 2) O'SULLIVAN, M.C., THOMTON, G., O'SULLIVAN, G.C., COLLINS, J.K. *Trends In Food Science and Technology*, **3**, 309-314, 1992.
- 3) HULL, R.R., CONWAY, P.L., EVANS, A.J. Probiotic foods-a new aportunity. *Food Australia*, **44 (3)**, 112-113, 1992.
- 4) MARSHALL, V.M. Gut-derived organisms for milk fermentations. *J. Chem. Tech. Biotech.*, **51 (4)**, 548-553, 1991.
- 5) MODLER, H.W., Mc KELLAR, R.C., YAGUCHI, M. *Can. Inst. Food Science and Tech.*, **23**, 29-41, 1990.
- 6) SEDDEN, S. (Alınmıştır: Fermented Milks and Health. *Proceedings of Workshop*, 3-12, N 120, 1989.
- 7) HARLENDER, S. Foods for the 21<sup>st</sup> century. *Bulletin of the IDF*, No:336, 4-7, 1998.
- 8) FULLER, R. Probiotics in man and animals. *J. Applied Bacteriology*, **66**, 365-378, 1989.
- 9) BOTTAZI, V. In:Biotechnology, Vol. 5, Food and Feed Production with mikroorganisms, (Reed, 6.ed.), 315-316, *Verlag Chemie.*, 1983.
- 10) METCHNIKOFF, E. The prolongation of Life, *Heinemann*, 1907.
- 11) FULLER, R., GIBSON, G.R. Probiotics and prebiotics-microbes on the menu. *Carbohydrates*, **9(3)**, October, 1998.
- 12) HUIS IN'T VELD, J.H.J., BOSSCHAERT, M.A.R., SHORTT, C. Health aspects of probiotics. *Food Science and Technology Today*, **12(1)**, 46-50, 1998.
- 13) SALJI, J.P. Foods for the future. *Food Science and Technology Today*, **8(3)**, 139-143, 1992.
- 14) TANNOCK, G.V. Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria: Plenty of Scapefor Fundamental, R&D, *Tibtech*, **15**, 270, 1997.
- 15) KARAHAN, Z.C., GÜVENER, E. Probiyotikler. Flora. *Journal of infections, Diseases and Clinical Microbiology*, **4(3)**, 156-162, 1999.

- 16) BRASSERT, D., SCHIFFRIN, E.J. The Use of Probiotics to Reinforce Mucosal Defence Mechanisms, *Trends In Food Science and Technology*, **8**, 321-326, 1997.
- 17) BERNET, M.F., BRASSERT, D., NEESER, J.D., SERVIN, A.L. *Lactobacillus acidophilus* LA1 Binds to Intestinal Cell Lines and Inhibits Cell Attachment and Cell Invasion by Enterovirulant Bacteria, *Gut*, **35**, 483-493, 1994.
- 18) AKALIN, A.S., GÖNÇ, S. Yoğurt Benzeri Dietetik Süt Mamüllerinden Biyoyoğurt, Bifiyoğurt, Biyoğarde Üretim Teknolojisi, *Yoğurt: III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu*, 264-269, 1995.
- 19) KANBE, M. Uses of intestinal lactic acid bacteria and health. In: Functions of Fermented Milk. *Challenge for the Health Sciences*. Elsevier Applied Science, London, 289-304, 1983.
- 20) MARSHALL, V.M., COLE, W.M. Threonin Aldolase and Alcohol Dehydrogenase Activities. (Alınmıştır: *L. bulgaricus* and *L. acidophilus* and their Contribution To Favour Production In Fermented Milk. *Journal of Dairy Research*, **50**, 375, 1983.)
- 21) VAKIL, J.R., SHAHANI, K.M. Partial Purification of Antibacterial Activity of *Lb. acidophilus*. *Dairy Science Abstract*, **27(7)**, 2175, 1965.
- 22) HOSONO, A., YATSUKI, K., TOKITA, F. Isolation and Characterization of Inhibitory Substance Against E.Coli Produced by *Lb. Acidophilus*. *Milchwissenschaft*, **32**, 727, 1977.
- 23) GILLILAND, S.E. Health and Nutritional Benefits From Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, **87**, 175-188, 1990.
- 24) GILLILAND, S., SPECK, M.L., NAUYOK, G.F., GIESBRECH, F.G. *J. Dairy Science*, **61(1)**, 1, 1978.
- 25) GANDHI, D.N., NAMBUDRIPAD, V.K.N. Implantation of *Lb. acidophilus* (Alınmıştır: The Intestines of Adults Suffering From Gastrointestinal Disorders. *XX. International Dairy Congress E.*, 972, 1978.)

- 26)** SHAHNI, K.M., CHANDAN, R.C. Nutritional and Healthful Aspects of Cultured and Culture Containing Dairy Foods. *J. Dairy Science*, **62**(10), 1685-1694, 1979.
- 27)** GRUNEWALD, K.K, MITCHELL, L.K. Growth of Mice Fed Milk Fermented With Lb. Acidophilus. *J. Food Protection*, **46**(4), 315, 1983.
- 28)** FRIEND, B.A., SHAHANI, N.M. Antitumor Properties of Lactobacilli And Dairy Products Fermented By Lactobacilli. *J. Food Protection*, **47**, 717-738, 1984.
- 29)** GOLDIN, B.R., GORBACH, S.L. The Effect of Milk And Lactobacillus Feeding on Human Intestinal Bacterial Enzyme Activity. *Am. J. Clin. Nutr.*, **39**, 756-761, 1984.
- 30)** AYEBO, A.D., ANGELO, I.A., SHAHANI, K.M. Effect of Ingesting *Lactobacillus acidophilus* Upon Fecal Flora And Enzyme Activity In Humans. *Milchwissenschaft*. **35**(12), 730-733, 1980.
- 31)** KURMANN, J.A., RASIC, J.A. Health potential of products containing bifidobacteria, *In: Therapeutic Properties Of Fermented Milks*, Elsevier Applied Science, London, **Chapter 6**, 117-157, 1991.
- 32)** MITSUOKA, T. Taxonomy and ecology of bifidobacteria, *Bifidobacteria Microflora*, **3**(1), 11-28, 1984.
- 33)** ROBINSON, R.K. Therapeutic Properties Of Fermented Milks. *Elsevier Applied Science, London*, 117-157, 1991.
- 34)** SCORDOVI, V. *In: Bergery's Manual Systematic Bacteriology*, Vol. **2**, 1418-1434, Baltimore, 1986.
- 35)** KURMANN, J.A. The Development and Significance Of New Cultures With Bifidobacteria As An Example. *N. Eur. Dairy Journal*, **48**, 65, 1983.
- 36)** HOOVER, D.G. Bifidobacteria: Activity and potential benefits, *Food Technology*-June, 120-124, 1993.
- 37)** KANBE, M. Benefical effects and uses of bifidobacteria, *In: Functions Fermented Milks*, Applied Science, 297-306, 1991.

- 38) KLEBANOF, S.J., HILLIER, S.L., ESCHENBACH, D.A., WALLERSDOPH, A.M. *Journal of Infectious Diseases*, **164**, 94-100, 1991.
- 39) JUVEN, B.J., MEINERSMANN, R.J., STERN, N.J., *Journal of Applied Bacteriology*, **70**, 95-103, 1991.
- 40) KLEBANOF, S.J., COOMBS, R.W. *Journal of Experimental Medicine*, **174**, 289-292, 1991.
- 41) CHUNG, K., GOEPFERT, J.M. *Journal Food Science*, **35**, 326-328, 1970.
- 42) MODLER, H.W., MCKELLAR, R.C., YAGUCHI, M. Bifidobacteria and Bifidogenic Factors, *J. Inst. Can. Sci. Tech. Aliment.*, **23(1)**, 29-41, 1990.
- 43) MITSUOKA, T. Recent trends in research on intestinal flora, *Bifidobacteria Microflora 1*, **3**, 1982.
- 44) TAMURTA, Z. *Bifidobacteria Microflora 2*, 3-16, 1983.
- 45) ANAND, S.K., SRINIVASAN, R.A., RAO, K.L. Antibacterial Activity Associated With Bifidobacterium Bifidum, *D.S.A.*, **47 (2834)**: 320, 1985.
- 46) BALONGUE, J. Bifidobacteria and probiotic Action. In 'Lactic Acid Bacteria', Chapter **13**, 357-427, 1989.
- 47) MIZOTA, T., *Bulletin IDF*, N: **313**, 31-35, 1988.
- 48) HANSEN, R. Bifidobacteria Have Come To Stay, *N. Eur. Dairy Journal*, **3**, 2-6, 1985.
- 49) LRCP. LIPID RESEARCH CLINIC PROGRAM, *Journal of American Medical Association*, **251**, 351-363, 1984.
- 50) IDF. INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION BULLETIN, *IDF*, **255**, 2-24, 1991.
- 51) GILLILAND, S.E., NELSON, C.R., MAXWELL, C., *Applied Environmental Microbiology*, **49**, 377-381.1985.
- 52) ARMSTRONG, B., DOLL, R., *Journal of Food Science*, **47**, 2078-2079, 1982.
- 53) ZHANG, X.B., OHIA, Y., *Journal of Dairy Science*, **74**, 1477-1481, 1990.

- 54)** KAO, I., KOBAYASHI, S., YOKOKURA, T. VE MURIAI, M., *Garn*, **72**, 517-523, 1981.
- 55)** PERDGON, G., ALVAREZ, S., NADER DE MADAS, M.E., ROUR, M.E., DE RUIZ, HOLGADB,A.P. *Journal of Food Protection*, **53**, 404-410, 1990.
- 56)** de SIMON, C. *International Journal Of Immuncher. Supplement II*, 19-23, 1986.
- 57)** PERDIGAN, G., ALVAREZ, S. *Probiotics: The Scientific Basis*, Chapman and Hall, London, 145-180, 1992.
- 58)** TOMIOKA, H., SATO, K., SAITO, H. *Journal of Medical Microbiology*, **36**, 112-116, 1992.
- 59)** ISHIBASHI, N., SHIMAMURA, S. Bifidobacteria: research and devolopment in Japan. *Food Technol.* June, 126-135. 1993.
- 60)** SALMINEN, S., VON WRIGHT, A., *Lactic Acid Bacteria*, Eds. Marcel Decker Press, New York, Chapter 13, 629. 1993.
- 61)** RENNER, E., SALDAMLI, I., Beslenme Açısından Fermente Süt Ürünleri, Gıda 8 (6),297-309. 1983.
- 62)** COCONNIER, M.H., KLAENHAMMER, T.R., KERNEIS, S., BERNET, M.F., SERVIN, A.L. *Applied Environmental Microbiology*, **58**, 2034-2039, 1992.
- 63)** GARDINER, G., STANTON, C., LYNCH, P.B., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G., ROSS, R.P. Evaluation of Cheddar cheese as a food carrier for delivery of a probiotic strain to the gastrointestinal tract. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1379-1387, 1999.
- 64)** DAIGLE, A., ROY, D., BELANGER, G., VUILLEMARD, J.C. Production of probiotic cheese (Cheddar-like cheese) using enriched cream fermented by *Bifidobacterium infantis*. *Journal of Dairy Science*, **82**, 1081-1091, 1999.
- 65)** STANTON, C., GARDINER, G., LYNCH, P.B., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G., ROSS, R.P., Probiotic Cheese, *International Dairy Journal*, **8**, 491-496. 1998.

- 66) GOMES, A.M.P., VIEIRA, M.M., MALCATA, F.X., 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**, 281-301, 1998.
- 67) GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X., Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: Response surface analysis via technological manipulation, *Journal of Dairy Science*, **81**, 1492-1507. 1998.
- 68) GARDINER, G., ROSS, R.P., COLLINS, J.K., FITZGERALD, G., STANTON, C., Development of a probiotic cheddar cheese containing humanderived Lactobacillus paracasei strains, *Applied and Environmental Microbiology*, **64**, 2192-2199. 1998.
- 69) GOMES, A.M.P., MALCATA, F.X., KLAVER, F.A.M., GRANDE, H.J., Incorporation and survival of Bifidobacterium sp strain Bo and Lactobacillus acidophilus strain Ki in a cheese product, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, **49**, 71-95. 1995.
- 70) I.D.F. (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION), Methods of Sampling milk and milk products, International Standard, IDF 2.1958.
- 71) I.D.F. (INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION), Milk and milk products guide to sampling techniques, *International Standard, IDF 29*. 1980.
- 72) T.S.E. (Türk Standartları Enstitüsü), *Çiğ İnek Sütü Standardı, T.S.1018*, Ankara. 1994.
- 73) ATHERTON, H.V., NEWLANDER, J.A. *Chemistry and Testing of Dairy Products*, Fourth Edition, Av. Publishing Company Inc., Westport, Connecticut, 396 s. 1981.
- 74) T.S.E. (Türk Standartları Enstitüsü), Beyaz Peynir, *T.S. 591*, Ankara, 9 s. 1983.
- 75) T.S.E. (Türk Standartları Enstitüsü), *Peynirde Yağ Miktarı Tayini (Van Gulik Metodu)*, *T.S. 3046*, Ankara, 4 s. 1978.

- 76) GRIPON, J.C., DESMADEZAUD, M.J., ET. LE BAES, D., BERGERE, J.H., Role des micro-organismes et des enzymes du cours de la maturation, *Le Lait*, 55 (548): 502-516, 1975.
- 77) TUNAİL, N., Starter olarak kullanılan laktik asit bakterileri ile Beyaz peynirlerimizden izole edilen bazı bakterilerin önemli fizyolojik özellikleri üzerine araştırmalar, *Doçentlik Tezi*, Ankara Üniversitesi. 1978.
- 78) DAVE, R.I., SHAH, N.P., Viability of yogurt and bacteria in yogurts made from commercial starter cultures, *Int. Dairy J.*, 7, 31-41. 1997.
- 79) GÜVEN, M., İnek, koyun ve keçi sütlerinden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinin özellikleri üzerinde karşılaştırmalı bir araştırma, Ç.Ü. Fen Bilimleri Ens., *Doktora Tezi*, 204 sayfa, 1993.
- 80) YETİŞMEYEN, A., ÇİMER, A., ÖZER, M., ODABAŞI, S., DEVECİ, O., Ultra filtrasyon tekniği ile salamura Beyaz peynir üretiminde kalite üzerinde değişik maya enzimlerinin etkisi, 23 (1), 3-9. 1998.
- 81) YILDIRIM, M., Hidrojen peroksit ilavesi ile korunmuş sütlerden yapılan Beyaz peynirlerin bazı fiziksel ve kimyasal nitelikleri üzerinde araştırmalar, Yüksek Lisans Tezi (basılmamıştır), A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara. 1991.
- 82) ÖZER, H.B., ATASOY, A.F., AKIN, M.S., İnek ve koyun sütlerinden geleneksel yöntemle üretilen Urfa peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma, *Gıda Dergisi* (basımda). Kasım 2001.
- 83) GUINEE, T.P., FOX, P.F., Salt in cheese: Physical, chemical and biological aspects. "Alınmıştır: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. P.F. FOX (ed.). Elsevier Applied Science, Vol. 1., 251-297". 1987.
- 84) ÇAĞLAR, A., KURT, A., CEYLAN, G., HURŞIT, S., Civil peynirinin farklı şekillerde muhafazası üzerinde araştırmalar, " Alınmıştır: V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, (Ed) M. Demirci, 21-22 Mayıs, Tekirdağ, sayfa 65-68". 1998.
- 85) KILIÇ, S., UYSAL, H., KARAGÖZLÜ, C., Geleneksel yöntemlerle ve kültür kullanılarak yapılan İzmir tulum peynirinin olgunlaşma sürecinde

meydana gelen değişikliklerin kıyaslanması, " Alınmıştır: V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, (Ed) M. Demirci, 21-22 Mayıs, Tekirdağ, sayfa 43-64". 1998.

- 86) TAMIME, A.Y., MARSHALL, V., *Biochemistry of Fermented DairyProducts and Cheese*, Academic Press, Londra. 1997.
- 87) URAZ, T., Peynirlerde acı tadın oluşumu, A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları: 730, Ankara, 13. 1979.
- 88) AYDINOĞLU, G., Ankara piyasasında satılan dil peynirlerin proteoliz düzeyi üzerinde bir araştırma, A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 66. 1996.
- 89) ÖZER, B.H., Tübitak TOGTAG 2536 No'lu Proje 2. Ara raporu, 2001.
- 90) YALÇIN, S., Ankara ve yöresinde tüketime sunulan salamura Beyaz peynirlerin mikrobiyal ve kimyasal içerikleri ile duyusal nitelikleri arasındaki ilişki, *Doğa Tu. Vet. ve Hay. D.*, 189-198. 1987.
- 91) GÜNDÜZ, H.H., DAĞLIOĞLU, O., Tekirdağ ilinde tüketime sunulan Beyaz peynirlerin duyusal, fiziksel, k, myasal, mikrobiyolojik özellikleri ve nitrat, nitrit aranması üzerinde çalışmalar. Bursa I. Uluslar arası Gıda Sempozyumu, 4-6 Nisan 1989, Bursa, 314-320. 1989.
- 92) ŞİMŞEK, B., Ankara piyasasında satılan Beyaz peynirlerin proteoliz düzeyi üzerinde bir araştırma, A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü *Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 70. 1995.
- 93) UYSAL, H.R., GÖNÇ, S., OYSUN, G., KARAGÖZLÜ, G., Peynir olgunlaşmasında proteolizin belirlenmesi için kimyasal metodlar, E. Ü. Ziraat Fak. Yayınları, İzmir, No: 519, 87. 1996.
- 94) ÖZTEK, L., Peynirlerde olgunlaşma ve buna etkili olan faktörler . Her Yönüyle Peynir, T. Ü. Ziraat Fak. Yay., Yayım No: 125, Tekirdağ, 121-137. 1994.
- 95) ANONİM, Gıda Maddelerinin ve Umumi Sağlığı İlgilendiren Eşya ve Levazımın Hususi Vasıflarını Gösteren Tüzük'ün Bazı Maddelerinin Değiştirilmesi Hakkındaki Tüzük, Resmi Gazete, 10.4.1980, Sayı: 16956, 2-14. 1980.

- 96) İZMEN, E. R., Türkiye Mihaliç, Tulum ve Beyaz peynirlerin terkipleri, T.C. Yüksek Ziraat Enstitüsü Çalışmalarından, No: 86, Ankara, 112. 1939.
- 97) ERALP, M., Beyaz peynirlerimiz üzerinde ekonomik, teknik ve kimyasal araştırmalarla bunların diğer peynir nevileri ile kıyaslandırılmalari, A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları, No: 109, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 108. 1956.
- 98) NİZAMLIOĞLU, M., YALÇIN, S., TEKİNSİN, O.C., Konya ve yöresindeki salamura Beyaz peynirin kalitesi, *Doğa Tu Vet. ve Hay. D.*, 136-142. 1989.
- 99) ÇELİK, Ş., ÖZDEMİR, C., ÖZDEMİR, S., SERT, S., Diyarbakır yöresinde tüketime sunulan salamura Beyaz peynir örneklerinin mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal özellikleri, “Alınmıştır: V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Geleneksel Süt Ürünleri, Milli Produktivite Merkezi Yayınları, No: 621, Tekirdağ, 274-281. 21-22 Mayıs 1998”.
- 100) URAZ, T., ÖZER, B.H. Moulds Employed in Food Processing. *Encyclopedia of Food Microbiology*. (Eds. Robinson, R.K., Batt, C. ve Patel, P. Academic Press Publ.), 1999.
- 101) ŞAHAN, N., VAR, I., AKIN, M.S., Taze Urfa peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri ve bazı patojen bakterilerin aranması, “Alınmıştır: V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, (Ed) M. Demirci, 21-22 Mayıs, Tekirdağ, sayfa 315-327”. 1998.
- 102) ŞAHAN, N., VAR, I., AKIN, M.S., Olgunlaştırılmış Urfa peynirlerinde mikrobiyolojik bir çalışma, *Gıda Mühendisliği Kongresi*, 16-18 Eylül, Gaziantep, 337-346. 1998.
- 103) RYBKA, S., FLEET, G., Populations of *L.delbbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *St. thermophilus*, *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* species in Australian yoghurt. *Food Austr.*, 49, 471-475, 1997.
- 104) TAMIME, A.Y. ROBINSON, R.K., Fermented milks and their future trends. Part II. Technological aspects. *Journal of Dairy Research*. 55, 281-307. 1988.
- 105) HARRIGAN, W.F., Mc CANCE, M.E., Laboratory Methods in Food and

Dairy Microbiology, Nineeth Edition, Academic Press Ltd., p. 452, 1993.

106) DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O., GÜRBÜZ, F., İstatistik

Metodları, İkinci Baskı, A.Ü.Z.F. Yayımları, 1993.

107) STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H., Principles and Procedures of Statistics,

Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York, 1980.

## ÖZET

Bu çalışma; *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* probiyotik bakterilerinin, salamura beyaz peynirlerde 90 günlük depolama sonunda canlı kalma düzeylerini belirlemek amacıyla gerçekleştirılmıştır. Bu çerçevede iki farklı inokulasyon düzeyinde (% 2.5 ve % 5) üretilen peynirler kontrol peyniri ile karşılaştırılmıştır.

Deneme örneklerinden kurumadde, yağ, yağ/K.M., tuz, tuz/K.M., pH, toplam asitlik., toplam azot, protein, suda çözünen azot, protein olmayan azot, proteoz-pepton azotu, olgunlaşma katsayısı, tirozin değerleri ile toplam bakteri, toplam maya-küf, *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* sayılarında depolama boyunca meydana gelen değişimler araştırılmıştır.

İki tekrarlamalı olarak yürütülen çalışmada elde edilen bulgular SPSS® paket istatistik program aracılığı ile basit varyans analizine tabi tutulmuş ve farklı gruplar DUNCAN testi ile belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, istatistiksel açıdan önemli bulunsa bile, örnekler arasında kurumadde, yağ ve kurumaddede yağ içerikleri bakımından önemli farklılıklar ile karşılaşılmamıştır. Bu parametreler, tüm örneklerde dar sınırlar içerisinde değişmiştir.

Probiyotik bakteri inokülasyon oranının peynir örneklerinin tuz ve kurumaddede tuz içerikleri üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. Buna karşın, depolama süresi boyunca, örneklerin tuz içeriklerinin sürekli ve muamelelerden bağımsız olarak arttığı gözlenmiştir.

Depolamanın başlangıcında örneklerin toplam azot içerikleri farklı muamelelerden etkilenmiştir. Probiyotik starter konsantrasyonundaki artış ile toplam azot içeriğinde bir azalma ile karşılaşılmıştır. Örnekler arasındaki bu farklılık depolamanın 30. gününden itibaren ortadan kalkmıştır. Depolama sürecinde tüm örneklerin toplam azot içeriklerinde önemli azalmalar ile karşılaşılmıştır ve bu azalmanın muamelelerden bağımsız olduğu bulunmuştur. Benzer eğilimlerin, protein ( $\Sigma N \times 6.38$ ) içerikleri içinde geçerli olduğu belirlenmiştir.

Deneme peynirlerinin suda çözünen azot (WSN) içerikleri karşılaştırıldığında kontrol ve % 2.5 oranında probiyotik kültür ilavesi ile üretilen peynirler arasında fark olmadığı, ancak probiyotik starter inokulasyon oranının

artışı ile proteolizin de artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu eğilim depolama süresi boyunca devam etmiştir. 90 günlük depolama süreci boyunca tüm örneklerin WSN içeriklerinde sürekli artışlar ile karşılaşılmıştır.

Deneme örneklerinin WSN içeriklerinde olduğu gibi protein olmayan azot (NPN) içerikleri de olgunlaşmanın ilk gününde muamelelerden etkilenmiştir. Buna karşın, depolamanın ilerleyen aşamalarında kontrol ve % 2.5 oranında probiyotik kültür ilave edilen örnek arasında farkın ortadan kalktığı, ancak % 5 oranında probiyotik kültür katılan örneğin önemli oranda yüksek NPN içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Depolama sürecinde tüm örneklerde NPN konsantrasyonları artış göstermiştir.

WSN ve NPN içeriklerinin aksine proteoz-pepton azotu (PPN) içerikleri muamelelerden bağımsız bir değişim eğilimi göstermiştir. Kontrol ve % 5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir örnekleri arasında fark bulunmazken, % 2.5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir daha yüksek PPN değerlerine sahip olmuştur.

Genel olarak, probiyotik kültür katılım oranındaki artışa paralel olarak örneklerin olgunlaşma katsayıları ve tirozin içeriklerinde de artış meydana gelmiştir. Bu eğilim 90 günlük depolama boyunca devam etmiştir.

Deneme peynirlerinin pH ve titrasyon asitliği değerleri incelendiğinde probiyotik peynirlerin birbirlerine yakın değerlere sahip olduğu ve bu örneklerin yüksek titrasyon asitliği içeriklerine rağmen, pH değerlerinin de yüksek olduğu belirlenmiştir. Depolama boyunca tüm örneklerde pH'da düşüş, titrasyon asitliğinde ise artış kaydedilmiştir.

Kontrol ve % 2.5 oranında probiyotik kültür ile inoküle edilen peynir örneklerinin toplam bakteri sayıları birbirlerine çok yakın bulunurken diğer probiyotik peynir örneği önemli ölçüde yüksek sayıda bakteri içermiştir. Depolama süresi boyunca örneklerin toplam bakteri sayılarında sürekli bir düşüş ile karşılaşılmıştır.

Buna karşın probiyotik kültür içeren peynir örneklerinin kontrol örneğine oranla daha düşük sayıda maya-küf içeriği ve toplam maya-küf sayılarının depolama süresince azalduğu saptanmıştır. Probiyotik bakteri inokülasyon oranı maya-küf gelişimi üzerinde etkili olmamıştır.

Deneme peynirlerinin *Lb. acidophilus* ve *B. bifidum* içerikleri inokülasyon oranından etkilenmiştir. Ayrıca, tuz konsantrasyonunun artışına bağlı olarak her iki probiyotik organizmada da şiddetli azalmalar ile karşılaşılmıştır. Buna karşın, 90 gün sonunda her iki mikroorganizmanın da minimum probiyotik etkinin yaratılabilmesi için gerekli olan  $10^6$  kob/g düzeyinin üzerinde kaldığı belirlenmiştir.

## SUMMARY

This study was designed to study the survival of *Lb. acidophilus* and *B. bifidum* in white brined cheeses stored for 90 days. In this context, the probiotic cheeses manufactured by inoculation with selected probiotic strains at two different rates (2.5% and 5.0%) were compared with the control cheese.

In the test materials, total solids, fat, fat in total solids, salt, salt in total solids, pH, total titratable acidity, total nitrogen, protein, water soluble nitrogen, non-protein nitrogen, proteose-pepton nitrogen, ripening index, tyrosine values and total viable colony, total yeast and moulds, *Lb. acidophilus* and *B. bifidum* numbers were determined throughout storage for 90 days.

The results obtained from this study which was repeated twice, were statistically examined by means of SPSS<sup>®</sup> package program and different groups were determined by DUNCAN test.

According to the results obtained; even though it was found to be statistically significant, no technologically significant differences were noted between the samples in terms of total solids, fat and fat in total solids. These parameter varied within very narrow limits.

Probiotic bacteria inoculation rate did not affect the salt penetration rate into the cheese samples. During storage, however, the salt contents of the samples continuously and independently from the applications increased.

At the beginning of storage, total nitrogen contents of the samples was influenced by the rate of inoculation. With the increase in the starter concentration, total nitrogen content declined. Nevertheless, this was not the case after the 30 days of storage. Throughout storage, the decrease in total nitrogen levels of the samples was significant and this was found to be independent from the probiotic bacteria inoculation rates. Similar trends were noted for the total protein contents ( $\Sigma N \times 6.38$ ) of the samples.

When the water soluble nitrogen (WSN) contents of the samples were compared, no marginal differences were obtained between the control and 2.5% inoculation rate; however, the other probiotic sample had more WSN indicating

more proteolysis. This continued throughout storage. Regardless the inoculation rates, in all samples, the WSN values increased continuously.

As with WSN values, at the begining of the storage, the non-protein nitrogen (NPN) values of the cheeses were affected by different applications. On contrary, at the later stages of storage, this differences between the control and 2.5% probiotic strains inoculated cheeses disappeared, but the sample containing 5% probiotic bacteria had significantly higher NPN values. Throughout storage, the NPN values constantly increased.

Opposite the WSN and NPN values, the PPN values of cheeses varied independently from the inoculation rates. No difference was noted between the control cheese and the samples inoculated with higher rate of probiotic bacteria. However, other probiotic samples had higher PPN values.

In general, with the increase in the rate of inoculation, the ripening index and tyrosine values of the samples increased as well. This applied throughout the storage period.

When the pH and titratable acidity degrees of the samples were investigated, it was seen that the probiotic cheeses were close to each other, and despite higher titratable acidity degrees in the samples, the pH values of these cheeses were high too. During ongoing storage, while the pH values were decreasing constantly, the titratable acidity degrees increased accordingly.

With regard to total viable colony numbers of the cheeses and the sample inoculated with lower level of probiotic atarter were close to each other. However, the other probiotic cheese had significantly higher number of viable colony counts. The number of total viable colonies constantly declined in all test materials.

The probiotic cheeses had significantly higher numbers of yeast and mould comparing to the control sample and throughout storage, the numerical intensity of yeast and mould decreases in the samples. The rate of inoculation of probiotic bacteria did not influence the number of yeast and mould grown in the samples.

The number of *Lb. acidophilus* and *B. bifidum* were affected by the rate of inoculation. Additionally, in accordance with the increase in salt penetration rate into the cheeses, drastic declines were monitored in the viability of the probiotic

bacteria. After 90 days of storage, probiotic cheeses had higher numbers of both strains than the probiotic minimum ( $10^6$  cfu/g).



## ÖZGEÇMİŞ

1975 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Şanlıurfa'da tamamladı. 1994 yılında İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne girdi. 1998 yılında aynı bölümde Gıda Mühendisi ünvanı ile mezun oldu. Aynı yıl Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Bir süre çeşitli özel kuruluşlarda yöneticilik yaptı. Halen 2000 yılında başladığı akademik hayatını İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak sürdürmektedir.

## EK 1.

### Tirozin Kurvesi

0.1 g tirozin 0.2 N HCl içerisinde çözülmek için hacim 100 ml' ye tamamlanır ve üzerine %1' lik formaldehitten 1-2 damla ilave edilir. Bu çözeltiden, 0, 100, 200, 300, 400, 500, 700, ve 900  $\mu\text{L}$ ' ye tamamlanır. Biri tamk 6 tüpe hacimce tirozin eklenir ve hacim saf su ile 5 ml' ye tamamlanır. Üzerine 10 ml 0.72 N TCA eklenip karıştırılır ve karanlık ortamda 10 dakika bekletilir. Ardından Whatman 42 filtre kağıdından süzülen karışımın süzüntüsünden 5 ml alınıp üzerine 10 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$  çözeltisinden ilave edilir. Üzerine 3 ml folin çözeltisi eklenir (1 kısım folin + 2 kısım saf su) ve 4500 devir/ dakika santrifüj edilen örneğin berrak kısmından alınarak 650 nm' de okuma yapılır. Hesaplama kurve denklemi yardımı ile gerçekleştirtilir.

