

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Ali Adnan HAYALOĞLU

135748

STARTER OLARAK KULLANILAN BAZI *Lactococcus* SUŞLARININ
BEYAZ PEYNİRLERİN ÖZELLİKLERİ VE OLGUNLAŞMALARI
ÜZERİNE ETKİLERİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

135748

REKÜMANASYON MENDEKİ

ADANA, 2003

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**STARTER OLARAK KULLANILAN BAZI *Lactococcus* SUŞLARININ
BEYAZ PEYNİRLERİN ÖZELLİKLERİ VE OLGUNLAŞMALARI
ÜZERİNE ETKİLERİ**

Ali Adnan HAYALOĞLU

DOKTORA TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**Bu tez, 25.09.2003 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği
İle Kabul Edilmiştir.**

İmza
Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

DANIŞMAN

İmza
Prof. Dr. Celalettin KOÇAK

ÜYE

İmza
Prof. Dr. Harun UYSAL

ÜYE

İmza
Doç. Dr. Nuray ŞAHAN

ÜYE

İmza
Yrd. Doç. Dr. Işıl VAR

ÜYE

Bu tez Enstitümüz Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No : 780



İmza
Prof. Dr. Fikri AKDENİZ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma, Ç.Ü. Araştırma Fonu Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: FBE2002D-123

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

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZ	I
ABSTRACT	II
TEŞEKKÜR	III
ÇİZELGELER DİZİNİ	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
SİMGELER ve KISALTMALAR	IX
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	9
2.1. Starter Bakterilerin Peynirin Kimyasal Özelliklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar	9
2.2. Starter Bakterilerin Peynirin Biyokimyasal Özelliklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar	13
2.2.1. Starter Enzimlerinin Hidrolitik Özellikleri	13
2.2.2. Peynirde Mikroflora ve Starter–Mikroflora İlişkisi	14
2.2.3. Starter Bakterilerin Otolizi ve Otolizin Peynir Proteolizine Etkisi	15
2.2.4. Peynirde Amino Asit Oluşumu Üzerine Starter Bakterilerin Etkisi	17
2.2.5. Peynirin Duyusal Özellikleri Üzerine Starter Bakterilerin Etkisi	19
2.2.6. Starter Bakterilerin Peynirin Primer ve Sekonder Proteolizine Etkisi	20
2.3. Urea–PAGE ve RP–HPLC Analiz Sonuçlarının Çok Değişkenli İstatistiksel Analiz (Multivariate Statistical Analysis) Yöntemleri İle Değerlendirilmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar	28
3. MATERYAL ve YÖNTEM	30
3.1. Materyal	30
3.1.1. Süt	30
3.1.2. Starter Bakteriler	30
3.1.3. Pıhtılaştırıcı Enzim	30

3.1.4. Kalsiyum Klorür (CaCl_2)	31
3.1.5. Tuz (NaCl)	31
3.1.6. Ambalaj Materyali	31
3.2. YÖNTEM	31
3.2.1. Peynir Üretimi	31
3.2.2. Çiğ Süt ve Peyniraltı Suyunda Yapılan Analizler ve Peynir Randımanı	33
3.2.2.1. Titrasyon Asitliği	33
3.2.2.2. pH Değeri	34
3.2.2.3. Kurumadde Oranı	34
3.2.2.4. Yağ ve Yağsız Kuru Madde Oranları	34
3.2.2.5. Protein Oranı	34
3.2.2.6. Peynir Randımanı	34
3.2.3. Peynir Analizleri	35
3.2.3.1. Titrasyon Asitliği	35
3.2.3.2. pH Değeri	35
3.2.3.3. Kurumadde Oranı	35
3.2.3.4. Yağ ve Kurumaddede Yağ Oranları	35
3.2.3.5. Protein ve Kurumaddede Protein Oranları	36
3.2.3.6. Tuz ve Kurumaddede Tuz Oranları	36
3.2.3.7. Penetrometre Değeri ve Sertlik İndeksi	36
3.2.3.8. Toplam Serbest Yağ Asitleri	37
3.2.3.9. Suda Çözünen Azot Oranları ve Olgunlaşma Derecesi	38
3.2.3.10. % 12 Trikloroasetik Asitte (TCA) Çözünen Azot Oranı	39
3.2.3.11. % 5 Fosfotungstik Asitte (PTA) Çözünen Azot Oranı	39
3.2.3.12. Kazein Azotu Oranı	40
3.2.3.13. Proteoz-Pepton Azotu Oranı	40

3.2.3.14. Toplam Serbest Amino Asit Miktarı	41
3.2.3.15. Amino Asit Kompozisyonu	42
3.2.3.16. Biyokimyasal Analizler	44
3.2.3.16.(1) Ekstraksiyon ve Fraksiyonasyon	44
a) pH 4.6'da Ekstraksiyon	44
b) % 70 Etanol ile Alt Fraksiyonlara Ayırma	45
3.2.3.16.(2) Üre-Poliakrilamid Jel Elektrophorez (urea-PAGE) İle Kazein Fraksiyonlarının Belirlenmesi	45
3.2.3.16.(3) Ters-Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) İle Peptid Analizleri	49
3.2.3.17. Duyusal Analizler	51
3.2.4. İstatistiksel Analizler	51
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	55
4.1. Çiğ Sütün ve Peyniraltı Sularının Özellikleri ile Peynir Randımanı	55
4.2. Üretilen Beyaz Peynirlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri	57
4.2.1. pH Değerleri ve Titrasyon Asitlikleri	59
4.2.2. Kuru Madde Oranları	63
4.2.3. Yağ ve Kuru Maddede Yağ Oranları	65
4.2.4. Protein ve Kuru Maddede Protein Oranları	67
4.2.5. Tuz ve Kuru Maddede Tuz Oranları	69
4.3. Penetrometre Değerleri ve Sertlik İndeksleri	71
4.4. Toplam Serbest Yağ Asitleri (FFA) Miktarları	74
4.5. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Meydana Gelen Proteoliz	78
4.5.1. Azot Fraksiyonları	78
4.5.1.1. Toplam Azot Oranları	78
4.5.1.2. Suda Çözünen Azot Oranları	78
4.5.1.3. % 12 Trikloroasetik Asitte (TCA) Çözünen Azot Oranları ...	82
4.5.1.4. % 5 Fosfotungstik Asitte (PTA) Çözünen Azot Oranları	85

	<u>Sayfa No</u>
4.5.1.5. Kazein Azotu Oranları	88
4.5.1.6. Proteoz–Pepton Azotu Oranları	90
4.5.2. Toplam Serbest Amino Asit Miktarları	92
4.5.3. Amino Asit Kompozisyonu	95
4.5.4. Peynirlerde Üre–Poliakrilamid Jel Elektroforez (urea–PAGE) ve Ters–Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatigrafisi (RP–HPLC) ile Saptanan Proteoliz	99
4.5.4.1. Peynirlerin urea–PAGE ile Analizleri	99
4.5.4.2. Peynirlerin Ters–Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatigrafisi (RP–HPLC) İle Belirlenen Peptid Profilleri	108
4.5.4.2.(1). pH 4.6’da Çözünen Fraksiyonların RP–HPLC Peptid Profilleri	108
4.5.4.2.(2). % 70 Etanolde Çözünen Fraksiyonların RP–HPLC Peptid Profilleri	114
4.5.4.2.(3). % 70 Etanolde Çözünmeyen Fraksiyonların RP– HPLC Peptid Profilleri ve urea–PAGE Analizleri	118
4.6. Peynirlerin Duyusal Özellikleri	123
4.6.1. Renk ve Görünüş Puanları	124
4.6.2. Yapı ve Kıvam Puanları	125
4.6.3. Koku Puanları	126
4.6.4. Tat Puanları	128
4.6.5. Toplam Puanlar	129
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	131
KAYNAKLAR	138
ÖZGEÇMİŞ	170

ÖZ

DOKTORA TEZİ

STARTER OLARAK KULLANILAN BAZI *Lactococcus* SUŞLARININ BEYAZ PEYNİRLERİN ÖZELLİKLERİ VE OLGUNLAŞMALARI ÜZERİNE ETKİLERİ

Ali Adnan HAYALOĞLU

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Yıl: 2003, Sayfa: 170

Jüri: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Prof. Dr. Celalettin KOÇAK

Prof. Dr. Harun UYSAL

Doç. Dr. Nuray ŞAHAN

Yrd. Doç. Dr. Işıl VAR

Bu çalışmada, bazı *Lactococcus* cinsi farklı starter bakteriler (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCDO763 + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* SK11 ve *Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317 + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* HP) kullanılarak ve starter kullanılmadan Beyaz peynir üretilmiş ve 90 gün süre ile olgunlaştırılmıştır. Starter kullanımının peynirin fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve duyuşal özellikleri üzerinde önemli düzeyde etkili olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). Farklı starter ilave edilen peynirlerin kimyasal bileşimlerinin, pH değerlerinin ve duyuşal özelliklerinin birbirine yakın değerler aldığı, olgunlaşmanın bazı dönemlerinde suda çözünen azot oranları ile pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE özelliklerinde farklılıklar olduğu belirlenmiştir. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforezinde, α_{s1} -kazeinin önemli düzeyde parçalandığı, β -kazeinin hidrolize karşı dirençli olduğu belirlenmiştir. Starter bakteri farklılığının peynirlerin % 12 TCA'da çözünen, % 5 PTA'da çözünen azot oranları, toplam FAA, toplam FFA, amino asit kompozisyonu, pH 4.6'da çözünen, % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profilleri üzerine önemli etkileri bulunmuştur. Peynirlerin peptid konsantrasyonları olgunlaşma süresince artış göstermiştir. Elektroforetik ve kromatografik sonuçların PCA grafikleri ve HCA dendrogramları peynirlerin önemli derecede farklı olduklarını göstermiş ve peynirler starter kullanımı, starter farklılığı ve olgunluklarına göre gruplandırılmıştır. Peynirlerde serbest amino asit düzeyleri farklı bulunmuş ve en fazla Leu, Glu, Phe, Lys ve Val amino asitleri saptanmıştır. Olgunlaşma süresince peynirlerin azot fraksiyonları, toplam FAA, toplam FFA değerlerinde ve RP-HPLC ile saptanan peptid konsantrasyonlarında artışlar olmuş ve olgunlaşma süresinin bu özellikler üzerindeki etkisi önemli bulunmuştur. Starter ilave edilen peynirlerin duyuşal özellikleri açısından önemli düzeyde bir farklılık bulunamamış, ancak starter katılmayan peynir tüm olgunlaşma dönemlerinde en düşük puanlar almıştır. Uzman panelce, en çok NCDO763 + SK11 kombinasyonu ile üretilen peynir tercih edilmiştir. Farklı starter kullanımının, peynir kalitesinde önemli ölçüde etkili olduğu ve her bir starterin peynir proteolizine farklı biçimlerde katkı sağladığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Beyaz peynir, *Lactococcus*, olgunlaşma, peptid, amino asit

ABSTRACT

PhD THESIS

INFLUENCE OF THE STRAINS OF *Lactococcus* USED AS A STARTER ON THE CHARACTERISTICS AND RIPENING PROPERTIES OF TURKISH WHITE CHEESE

Ali Adnan HAYALOĞLU

DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
UNIVERSITY OF ÇUKUROVA

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Year: 2003, Pages: 170

Jury Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Prof. Dr. Celalettin KOÇAK

Prof. Dr. Harun UYSAL

Assoc. Prof. Dr. Nuray ŞAHAN

Assist. Prof. Dr. Işıl VAR

In this study, Turkish White-brined cheese was manufactured by either using some Lactococcal strains (*Lc. lactis* subsp. *lactis* NCDO763 plus *Lc. lactis* subsp. *cremoris* SK11 and *Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317 plus *Lc. lactis* subsp. *cremoris* HP) or without starter culture, and the experimental cheeses were ripened for 90 days. It was found that the usage of starters have significantly influenced the physical, chemical, biochemical and sensory properties of the cheese ($p < 0.01$). Chemical composition, pH values and sensory properties of starter added cheeses were not affected by different starter bacteria. In addition, water-soluble fractions and urea-PAGE of the pH 4.6-insoluble fractions were found to be significantly different in some stages of ripening. Urea-PAGE patterns of the pH 4.6-insoluble fractions of the cheeses showed that there was a considerable degradation of α_{s1} -caseins and it was found that β -casein were more resistant to hydrolysis. The use of different starter bacteria significantly influenced the 12% TCA-soluble nitrogen, 5% PTA-soluble nitrogen, total FAA, total FFA, amino acid composition and RP-HPLCs of pH 4.6-soluble, 70% ethanol-soluble or -insoluble fractions of the cheeses. The peptide concentration of cheeses were increased during ripening. The PCA plots or HCA dendrograms of electrophoretic and chromatographic results indicated that the cheeses were found to be significantly different and they were grouped based on the usage and types of starters and ripening stages. Free amino acid levels of the cheeses were different and, Leu, Glu, Phe, Lys and Val were the most abundant amino acids. Nitrogen fractions, total FAA, total FFA and peptide concentrations detected by RP-HPLC increased during ripening, and the effect of ripening was significant on above parameters. There were no significant differences found between the sensory properties of starter-added cheeses, but the cheese with no starter received lower points than starter added cheeses during ripening. However, the cheese made with NCDO763 plus SK11 was voted as the best cheese during ripening by the tasters. It was concluded that the use of different starter bacteria significantly cause a difference on the quality of cheeses, and each starter bacteria contributes to cheese proteolysis in different manners.

Key Words: White Cheese, *Lactococcus*, ripening, peptide, amino acid.

TEŞEKKÜR

Doktora çalışması sırasında beni yönlendiren ve engin deneyimlerinden yararlandığım danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet GÜVEN'e, İrlanda Cork Üniversitesi'nden Prof. Dr. Patrick F. FOX'a, Dr. Paul L.H. McSWEENEY'e, Tez İzleme Komitesi üyeleri Prof. Dr. Celalettin KOÇAK'a ve Doç. Dr. Nuray ŞAHAN'a teşekkürü bir borç bilirim.

Starter bakteri suşlarını sağlayan Dr. Jan KOK, Dr. Chris J. PILLIDGE, bakterilerin çoğaltılmasında katkıları olan Arş. Gör. Bülent KABAK'a, peynir üretimi sırasında yardımlarını gördüğüm Arş. Gör. Kurban YAŞAR, Mine ÇÜRÜK ve Gıda Şubesi çalışanlarına, Akpınar Ambalaj A.Ş. ve Güney Süt A.Ş.'ye, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Yrd. Doç. Dr. Hüseyin ERTEN'e ve Ertuğrul KARLI'ya, İrlanda Cork Üniversitesi'nden arkadaşlarım John A. HANNON, Vivek K. UPADHYAY, James A. O'MAHONY, Niamh A. O'SULLIVAN, Jim HOLLAND ve Therese CONSIDINE'e teşekkür ederim.

Ayrıca, tez çalışmasını maddi olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü'ne, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tüm bölüm hocalarıma ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma, katkılarını gördüğüm idari personel arkadaşlarıma, çalışmalarım sırasında gösterdikleri sabır ve anlayış için eşim Nevin'e, oğlum Alper'e ve kızım Zeynep'e teşekkür ederim.

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 3.1.	RP–HPLC Analizinde (A) ve (B) Çözeltilerinin Kromatografi Süresi İçerisinde Kolondan Geçiş Oranları	51
Çizelge 3.2.	Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu I	53
Çizelge 3.3.	Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu II	54
Çizelge 3.4.	Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu III	54
Çizelge 4.1.	Beyaz Peynirlerin Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün ve Elde Edilen Peyniraltı Sularının Özellikleri İle Peynir Randımanı ..	56
Çizelge 4.2.	Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Fiziksel ve Kimyasal Özellikler	58
Çizelge 4.3.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde pH ve Titrasyon Asitliği Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	62
Çizelge 4.4.	Beyaz Peynirlerde Kuru Madde Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları	64
Çizelge 4.5.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Yağ ve Kuru Maddede Yağ Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları	66
Çizelge 4.6.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Protein ve Kuru Maddede Protein Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları	68
Çizelge 4.7.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Tuz ve Kuru Maddede Tuz Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları	71
Çizelge 4.8.	Beyaz Peynir Örneklerinin Penetrometre Değerleri ve Sertlik İndeksleri	72
Çizelge 4.9.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerin Sertlik Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	74
Çizelge 4.10.	Beyaz Peynir Örneklerinin Toplam FFA Miktarları (% Oleik Asit)	74
Çizelge 4.11.	Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Serbest Yağ Asitleri Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	76

Çizelge 4.12. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Azot Fraksiyonları	79
Çizelge 4.13. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Suda Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	81
Çizelge 4.14. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde % 12 TCA'da Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	84
Çizelge 4.15. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde % 5 PTA'da Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	87
Çizelge 4.16. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Kazein Azotu Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	89
Çizelge 4.17. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Proteoz–Pepton Azotu Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları	91
Çizelge 4.18. Beyaz Peynir Örneklerinin Toplam Serbest Amino Asit Miktarları	92
Çizelge 4.19. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Serbest Amino Asit Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları	94
Çizelge 4.20. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşmanın 60. Gününde Saptanan Amino Asit Kompozisyonu (mg/100 g) ve % Oranları	95
Çizelge 4.21. Peynirlerin Urea–PAGE Elektroforetogramlarının Dansitometrik Sonuçları (Pik Hacmi $\times 10^3$)	102
Çizelge 4.22. Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Kalıntı β –kazein ve α_{s1} –kazein Oranları	103
Çizelge 4.23. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Duyusal Özellikler.....	123

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.	Peynirin üretimi ve olgunlaşması sırasında kazeinin amino asitlere dönüşümü	3
Şekil 3.1.	Beyaz peynirin üretim akış şeması	32
Şekil 3.2.	Farklı konsantrasyonlarda Leu standardına karşı elde edilen absorbans değerleri	41
Şekil 3.3.	Peynirlerin amino asit kompozisyonunu belirlemede elde edilen örnek bir kromatogram	43
Şekil 3.4.	Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramlarının dansitometrik profili	49
Şekil 4.1.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan pH değerleri ..	59
Şekil 4.2.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan titrasyon asitliği değerleri	61
Şekil 4.3.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kuru madde oranları	63
Şekil 4.4.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan yağ ve kuru maddede yağ oranları	65
Şekil 4.5.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan protein ve kuru maddede protein oranları	67
Şekil 4.6.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan tuz ve kuru maddede tuz oranları	70
Şekil 4.7.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan penetrometre ve sertlik indeksi değerleri	73
Şekil 4.8.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam FFA değerleri	75
Şekil 4.9.	Beyaz peynirlerinde olgunlaşma süresince saptanan suda çözünen azot oranları	80
Şekil 4.10.	Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan % 12 TCA'da çözünen azot oranları	83

Şekil 4.11. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan % 5 PTA'da çözünen azot oranları	86
Şekil 4.12. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kazein azotu oranları	88
Şekil 4.13. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan proteoz-pepton azotu oranları	90
Şekil 4.14. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam serbest amino asit miktarları	93
Şekil 4.15. Beyaz peynirlerde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenen amino asit kompozisyonu	96
Şekil 4.16. A, B ve C peynirlerinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramları	100
Şekil 4.17. Peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kalıntı β -kazein ve kalıntı α_{s1} -kazein oranları	101
Şekil 4.18. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramlarının dansitometrik profilleri	104
Şekil 4.19. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramlarına ait dansitometrik sonuçların PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta)	106
Şekil 4.20. A (a), B (b) ve C (c) peynirlerinin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri	109
Şekil 4.21. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 1. (a), 15. (b), 30. (c), 60. (d) ve 90 (e) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri	111
Şekil 4.22. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta)	113

Şekil 4.23. A, B ve C peynirlerinin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 60. (a) ve 90. (b) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri	115
Şekil 4.24. Peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta)	117
Şekil 4.25. A, B ve C peynirlerinin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 60. (a) ve 90. (b) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri	118
Şekil 4.26. Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta)	119
Şekil 4.27. Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramları	121
Şekil 4.28. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan renk ve görünüş puanları	124
Şekil 4.29. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan yapı ve kıvam puanları	125
Şekil 4.30. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan koku puanları.	127
Şekil 4.31. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan tat puanları	128
Şekil 4.32. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam puanlar	130

SİMGELER ve KISALTMALAR

Urea-PAGE	: Urea-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, Ure-Poliakrilamid Jel Elektroforez
RP-HPLC	: Reversed-Phase High Performamnce Liquid Chromatography, Ters Faz-Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
TCA	: Trikloroasetik Asit
PTA	: Fosfotungstik Asit
CN	: Kazein
FAA	: Free Amino Acid
FFA	: Free Fatty Acid
TNBS	: 2,4,6-Trinitrobenzenesulphonic acid
Cd-Ninhidrin	: Cadmium Ninhydrin
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
<i>Lb.</i>	: <i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	: <i>Lactococcus</i>
<i>Leu.</i>	: <i>Leuconostoc</i>
<i>Str.</i>	: <i>Streptococcus</i>
kob	: koloni oluşturma birimi
l.a.	: laktik asit
dk	: dakika
sn	: saniye
a_w	: su aktivitesi
g	: gravity, bağlı santrifüj kuvveti
IDF	: International Dairy Federation, Uluslararası Sütçülük Federasyonu
PC	: Principal Component, Temel Bileşen
PCA	: Principal Component Analysis, Temel Bileşen Analizi
HCA	: Hierarchical Cluster Anlaysis, Kümeleme Analizi
GLM	: General Linear Model
LSD	: Least Significant Difference
SD	: Serbestlik Derecesi
KO	: Kareler Ortalaması

ABS	: Absorbans
Cis	: Cysteic acid
Asp	: Aspartic acid
Thr	: Threonine
Ser	: Serine
Glu	: Glutamic acid
Pro	: Proline
Gly	: Glycine
Ala	: Alanine
Cys	: Cystine
Val	: Valine
Met	: Methionine
Ile	: Isoleucine
Leu	: Leucine
Tyr	: Tyrosine
Phe	: Phenylalanine
His	: Histidine
Lys	: Lysine
NH ₃	: Amonyak
Arg	: Arginine

1. GİRİŞ

Peynir, süt ürünleri içerisinde en çok ilgi çeken ve üzerinde en çok bilimsel çalışma yapılan bir gıda maddesidir (Fox ve McSweeney, 1997). Uygun koşullarda üretilen ve depolanan çoğu süt ürünleri, biyolojik ve kimyasal olarak oldukça stabil olduğu halde, peynir biyokimyasal olarak dinamik bir üründür. Bu nedenle, organik ve analitik kimya, biyokimya, kolloid bilimi, reoloji, mikrobiyoloji, moleküler biyoloji, beslenme gibi bir çok farklı dalda çalışan araştırmacılar peynirde geniş çalışma alanları bulmuşlardır (Fox ve ark, 1996; Fox ve McSweeney, 1997). Peynirde geniş çalışma alanı sunan ve dinamizm kazandıran en önemli unsurlardan biri, peynirin üretimi ve olgunlaşması sırasında vazgeçilmez rolü olan laktik asit bakterileridir.

Peynirin laktik asit bakterileri ile olgunlaştırılması, bilinen en eski gıda fermentasyonlarından birisidir. Bu fermentasyonun temeli yaklaşık 8000 yıl öncesine kadar dayanmakta ve dünyada birbirinden farklı olarak 4000'den fazla peynir çeşidi olduğu bilinmektedir (Steele ve Ünlü, 1992). Bu peynirlerin yaklaşık 500 kadarı Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) tarafından tanınmış durumdadır ve kalan peynirler de yerel çeşitler olarak hala üretilmekte ve tüketilmektedir (Fox ve ark, 2000). Diğer taraftan Kalantzopoulos (1993), sadece koyun ve keçi sütünden 500'den fazla peynir çeşidi bulunduğunu bildirmiştir.

Beyaz peynir, ülkemizde en çok üretilen ve tüketilen peynir çeşididir. DPT'nin 2001 yılı verilerine göre Türkiye'de toplam peynir üretimi yılda yaklaşık 350.000 ton olup, bunun % 60-70'ini Beyaz peynir oluşturmaktadır (Anon, 2001). Genellikle inek sütünden üretilen ve % 12-14'lük salamurada 1-3 ay olgunlaştırılan Beyaz peynir, kabuk ve gözenek içermeyen, tuzlu, karakteristik tat ve kokuda bir peynir olarak tanımlanmaktadır (Anon, 1995; Üçüncü, 2002). Bu karakteristik tat; tuz ve laktik asidin yanı sıra, protein ve yağların çeşitli biyokimyasal reaksiyonlarla parçalanması sonucu oluşan bir çok metabolitlere bağımlı olarak meydana gelmektedir. Bu durum, her peynir türünde farklılıklar göstermekte, dolayısıyla peynirde aroma gelişimi; çeşide, peynir sütüne, kullanılan starter kültür tipi ve miktarına, olgunlaştırma koşullarına göre değişebilmektedir (Fox ve ark, 1996). Yarı

sert ya da yarı yumuşak olarak sınıflandırılabilen Beyaz peynir (Hayaloğlu ve ark, 2002), aynı zamanda rennetle pıhtılaştırılan, bakteriyle olgunlaştırılan ve salamurada tuzlanan peynirler sınıfında yer almaktadır (Fox ve ark, 2000).

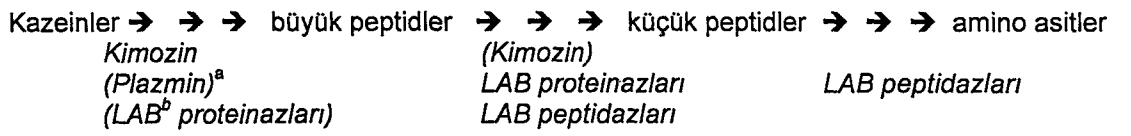
Peynirde olgunlaşma; glikoliz, lipoliz ve proteoliz gibi biyokimyasal reaksiyonları kapsamaktadır. Glikoliz, peynir üretiminden sonra birkaç gün ya da birkaç hafta içinde büyük oranda tamamlanırken, lipoliz ve proteoliz olgunlaşma boyunca devam etmekte, bu reaksiyonlar dizisi peynirlerin değerlendirilmelerinde birer kalite faktörü olarak ortaya çıkmaktadır (Fox ve ark, 1996; Fox ve McSweeney, 1996).

Peynirde proteoliz, süt pıhtılaştırıcı enzimler, süt proteinazları (özellikle plasmin) starter ve starter olmayan mikroorganizmalar ile sekonder mikroorganizmaların salgıladıkları enzimlerin katalizlediği bir reaksiyonlar zinciridir (Fox, 1989; Steele ve Ünlü, 1992; Visser, 1993; Madkor ve ark, 2000a). Peynirlerde olgunlaşma sürecinde, kalıntı pıhtılaştırıcı enzim yanında az da olsa plasminin etkisi ile büyük ve orta molekül ağırlıklı peptidler oluşmakta, bunlar daha sonra ortamda bulunan starter ya da starter olmayan bakterilerin proteolitik enzimleri ile daha düşük molekül ağırlıklı peptidlere ve amino asitlere parçalanmaktadır (Grappin ve ark, 1985; Law, 1987; Law ve ark, 1992; Vicente ve ark, 2001).

Sütün enzimle pıhtılaştırılması sırasında çöken para- κ -kazein süt yağının etrafında bulunan diğer kazein moleküllerini, starter bakterileri ve kalıntı pıhtılaştırıcı enzimleri bünyesine alarak kompleks bir kazein jeli oluşturmaktadır. Oluşan bu jelde, sineresis gerçekleştikten sonra, baskı sırasında kitlede kalan laktoz, starter bakteriler tarafından kullanılarak asitlik gelişmekte ve pıhtının pH'sı düşmektedir. Peynir tuzlandıktan sonra da laktoz fermentasyonu devam etmekte ve bu nedenle pH 5.2–5.4'e kadar düşmektedir (Walstra ve ark, 1987). Peynir üretiminde, laktozu laktik aside dönüştürerek enerji sağlayan homofermentatif karakterli *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* en yaygın olarak kullanılan starter bakterilerdir (Beresford ve ark, 2001).

Peynirde proteoliz, peynir mikroflorasının bileşimine bağlı olarak farklı biçimde ilerlemektedir (Law, 1984). Kazeinin primer proteolizi daha çok peynir sütüne ilave edilen rennet, sekonder proteoliz ise starter bakteriler tarafından

gerçekleştirilmektedir (Kok, 1993; Visser, 1993; Broadbent ve ark, 2002). Kazeinin hidrolizinde bakteriyel enzimler, süt pıhtılaştırıcı enzimlere göre sınırlı düzeyde rol oynamaktadırlar. Visser (1977b), Gouda peynirinin olgunlaşmasında *Lactococcus* proteinazlarının toplam kazein hidrolizinde ancak % 20–30 düzeyinde rolleri olduğunu bildirmiştir. Oysa, kazein türevli peptidlerin hidrolizinden tamamen laktik asit bakterilerinin sorumlu olduğu belirtilmektedir (Steele ve ark, 1998). Kazeinlerin hidrolizi ve burada etkili olan enzim kaynakları Şekil 1.1’de özetlenmiştir.



Şekil 1.1. Peynirin üretimi ve olgunlaşması sırasında kazeinin amino asitlere dönüşümü.

^a Parantez içerisindeki enzimler, ilgili basamakta daha az etkili olduğunu göstermektedir.

^b Laktik Asit Bakterileri.

Peynir ve fermente süt ürünlerinin üretiminde yaygın bir şekilde kullanılmakta olan starter kültürlerin temel görevi laktik asit üretmektir. Ürettikleri laktik asitin etkisi ile, pıhtılaştırıcı enzimin aktivitesini, enzimin pıhtıda kalma oranını, pıhtının elastikiyetini, sinerezi ve peynirin reolojik özelliklerini belirleyen koloidal kalsiyum fosfat düzeyini etkilemektedirler (Engels ve ark, 1997; Urbach, 1997; Brome ve Limstowtin, 1998; Beresford ve ark, 2001).

Starter kullanımının kaliteli bir peynir üretimi için çok önemli olduğu uzun zamandır vurgulanmaktadır. 19. yüzyılın sonlarında kullanılmaya başlanan starter kültürler, peynirde asit gelişiminin standardize edilerek kalitenin iyileştirilmesini sağlamıştır (Fox ve ark, 1998). Haddadin (1986), starterin iyi bir peynirin kalbi olduğunu, peynir üretimi için diğer unsurlar ne kadar mükemmel olursa olsun, uygun olmayan bir starterle kesinlikle kaliteli bir peynir üretilmeyeceğini belirtmiştir. Peynirde arzu edilen düzeyde ve kontrollü bir şekilde aroma gelişimi sağlamak için, özellikle 80’li yılların sonu ve 90’lı yılların başından bu yana yapılan çalışmalar starterler üzerinde olmuş ve bu çalışmalar artarak devam etmektedir (El–Soda, 1997).

Peynirlerde olgunlaşma süresince kazeinden amino asit üretimine de neden olan starter bakterilerin proteinaz ve peptidazları, starter gelişimi duraksama noktasına geldikten sonra bile, olgunlaşma süresince aktivitelerine devam etmektedirler. Bu enzimler, peynir matriksinin iskeletini oluşturan β - ve α_{s1} -kazeinleri parçalayarak peynir tekstürünün değişmesine neden olmaktadır (Law ve ark, 1992). Sonuçta, peynirde aroma gelişimine katkıda bulunan bileşikler veya onların oluşumunu sağlayabilecek öncül maddeler ortaya çıkmaktadır. Ayrıca starter bakterilerin lize olmaları da peynirde aroma gelişimine katkı sağlamaktadır. Yoğun aroma üreten starterlerin, daha az aroma üretenlere oranla daha çabuk lize olduğu ve daha fazla amino asit ürettiği (Urbach, 1997), peynirde serbest amino asit üretimi ile starterin otoliz durumu arasında pozitif bir ilişki olduğu bildirilmektedir (Boutrou ve ark, 1998; Hannon ve ark, 2003). Lizis sonucu ortaya çıkan enzimlerin aroma üretiminde çok etkili olduğu ve lize olan hücre içeriğinin starter olmayan laktik asit bakterileri tarafından kullanılarak aromaya katkı sağladığı açıklanmaktadır (Brome ve Linstowtin, 1998; Boutrou ve ark, 1998).

Beyaz peynire benzerlik gösteren Yunanistan geleneksel Feta peyniri üretiminde starter olarak yoğurt kültüründen yararlanıldığı (Litoupoulou-Tzanetaki ve ark, 1993), ancak yoğurt kültürünün starter olarak kullanıldığı bu peynirde olgunlaşması sırasında birtakım yapısal ve mikrobiyolojik bozukluklar olduğu bildirilmiştir (Kandarikis ve ark, 2001). Bu nedenle, Cheddar, Gouda, Edam vb. peynirlerin üretiminde mezofilik karakterli kültürler, yoğun olarak *Lc. lactis*, ssp. *lactis* ve *Lc. lactis* ssp. *cremoris*'in tek veya karışık suşları kullanılmaktadır (Beresford ve ark., 2001).

Aynı cinse ait hatta aynı türün farklı suşları arasında farklı biyokimyasal özellikler görülebilmektedir (Marshall ve Tamime, 1997). Örneğin, *Lc. lactis* Wg2, SK11 ve NCDO763 suşlarının, amino asit dizilimleri ve kazeini parçalama özelliklerinde de farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Marugg ve ark, 1995). Law ve ark. (1992), Cheddar peynirlerinde tek suş olarak kullandıkları *Lc. lactis* UC317 ve *Lc. cremoris* HP'nin, peynirin proteolizinde oldukça farklı etkilerde bulunduklarını belirtmişlerdir.

Peynir üretimi sırasında *Lactococcus* cinsi bakteriler hızla çoğalmakta ve pıhtının baskılanması sırasında 10^9 kob/g'a ulaşabilmektedir (Lynch ve ark, 1996). Olgunlaşma sırasında, peynirdeki çevresel koşullara (a_w , tuz konsantrasyonu, pH, laktoz miktarındaki düşme) bağlı olarak bu bakterilerin sayıları da azalmaktadır. Starter bakterilerdeki bu azalışa karşın starter olmayan bakterilerin sayısında artış olmakta ve olgunlaşmanın başlangıcındaki 10^1 – 10^4 kob/g düzeyinden, olgunlaşmanın sonuna doğru 10^6 – 10^7 kob/g düzeyine yükselebilmektedir. Bu mikroorganizmaların, starterlerin metabolizması sonucu kalan laktozu, laktatları, sitratları, peptidleri, amino asitleri, kazein türevli şekerleri ve starterlerin otolizi sonucu ortaya çıkan hücre içeriğini kullandıkları belirtilmektedir (Martley ve Crow, 1993; Meijer, 1997).

Lactococcus cinsi bakteriler, zayıf proteolitik etkiye sahip olmalarına karşın, peynirde aroma oluşumuna substrat oluşturacak çeşitli peptidlerin ve amino asitlerin oluşumu için zengin bir proteinaz ve peptidaz enzim aktivitesine sahiptirler (Visser, 1993; Bockelmann, 1995; Fox ve McSweeney, 1996; Fox ve ark, 1996; Boutrou ve ark, 1998). Söz konusu bakterilerin lipolitik aktivitelerinin ise zayıf olduğu, ancak uzun bir periyotta süt yağını hidrolize edebildikleri belirtilmektedir (Fox ve ark, 1996).

Peynir üretiminde kullanılan kültürler, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* cinsine ait bakterilerdir. Bu bakteriler içersinde en çok kullanılan starter cinsi, *Lactococcus* cinsine ait bakterilerdir ve biyokimyasal, moleküler ve genetik çalışmaların çoğu bu bakteriler üzerinde yoğunlaşmıştır (Fox ve McSweeney, 1996; Meijer, 1997; Ayad ve ark, 2000; Yvon ve ark, 2000; Rijnen ve ark, 2000). Kazeini parçalayabilen cell envelope-associated proteinase (CEP) veya yeni adı ile lactocepine (EC 3.4.21.96), *Lactococcus* cinsi bakterilerde tanımlanan ilk enzim olarak bilinmekte ve bu enzimler kazein türevli peptidlerin hidrolizini de gerçekleştirmektedirler (Steele ve ark, 1998). Boutrou ve ark. (1998), *Lactococcus* cinsi bakterilerde proteolitik sistemin;

- a) hücre içi peptidazlara,
- b) kazein ve kazein fragmentlerine etki eden lactocepine,

- c) β -kazeini, kısmen de κ -kazeini, hidrolize eden lactocepın I proteinazına,
- d) α_{s1} , β ve κ -kazeini hidrolize eden lactocepın III tipi proteinazlara sahip olduğunu bildirmiştir.

Bakterilerle olgunlaştırılan bir çok peynirde, *Lactococcus* cinsi bakterilerin hücre duvarına bağı proteinazları olan lactocepın, pıhtılaştırıcı enzim veya plasmin tarafından oluşturulan suda çözünebilen büyük molekülü peptidlerin düşük molekülü peptidlere ya da amino asitlere dönüştürülmesinde çok önemli rol oynamaktadır. Lactocepın, 180–190 kDa ve serin proteazlardan subtilisin grubuna ait bir enzimdir. Bu enzimin kazeinlere karşı eğilimi ve spesifitesi farklılık gösterebilmekte ve bunun enzim–substrat bağlanma bölgesindeki amino asit diziliminden kaynaklandığı belirtilmektedir (Broadbent ve ark, 2002). Lactocepın I ve III hücre dışı proteinazdırlar ve bazı *Lactococcus*’larda sadece Lactocepın I veya III tip enzimler bulunurken, bazılarında her iki tip enzim de bulunabilmektedir.

Aminopeptidaz aktivitesi oldukça güçlü olan *Lactococcus* cinsi bakterilerde şimdiye kadar karboksipeptidaz aktivitesi saptanmamıştır (Steele ve Ünlü, 1992, Fox ve ark, 1996; Steele ve ark, 1998). Bu bakteriler sahip oldukları enzimlerle amino asitleri çeşitli aroma bileşenlerine çevirebildikleri (Rijnen ve ark, 1999) ve aroma oluşturmada Leu, Tyr, Phe, Trp, Met vb. amino asitlerinden yararlandıkları ileri sürülmektedir (Yvon ve ark, 1997).

Asit geliştirme yeteneklerinin uygun olması nedeniyle (Boutrou ve ark, 1998), Beyaz peynir üretiminde de *Lactococcus* cinsi bakteriler starter olarak yaygın bir şekilde kullanılmakta (Ergüllü, 1980; Çelik, 1981; Kaymaz, 1982; Tekinşen, 1983; Kurt, 1991; Uysal, 1996; Üçüncü, 2002) ve Beyaz peynirde olgunlaşma başlangıcında *Lactococcus* cinsi bakteriler en baskın florayı oluşturmaktadır (Karakuş ve ark, 1992; Litopoulou–Tzanetaki ve Tzanetakis, 1992; Tzanetakis ve ark., 1995).

Beyaz peynire işlenecek sütün mutlaka pastörize edilmesi istenmektedir. Pastörizasyonla hem sütte bulunan patojen mikroorganizmalar inaktive edilmekte hem de peynir sütüne eklenecek olan starter bakteri için uygun ortam hazırlanmaktadır. Pastörizasyon işlemi ile sütün doğal florası zarar gördüğünden,

rennetle pıhtılaşma gücü zayıflamakta ve elde edilen peynirde istenen düzeyde aroma gelişimi sağlanamamaktadır. Bu nedenle, peynire kendine özgü aroma ve yapı kazandırmak amacıyla, pastörize edilen süte özel bazı laktik asit bakterileri ilave edilerek arzu edilen kalitede peynir elde edilmeye çalışılmaktadır (Koçak ve ark, 1994).

Starter bakteri ilave edilen peynirlerde, laktoz, proteinler ve süt yağının starter enzimlerinin etkisi ile daha hızlı ve yüksek oranda parçalanması nedeniyle, peynirin olgunlaşma süresinde bir kısalma olmakta veya peynirde istenilen düzeyde olgunluğa daha kısa sürede ulaşabilmektedir. Pastörize süttten startersiz olarak yapılan peynirlerde, olgunlaşma süresi uzun tutulsa bile istenilen düzeyde aroma gelişimi sağlanamamaktadır (Yaygın ve Kılıç, 1993).

Ticari olarak üretilen starterler genellikle üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar; tek suş starterleri, çok suş starterleri ve karışık suş starterleridir (Çelik, 1981). Tek suş ve çok suş starterlerinde, starterlerin ve bu starterlere ait suşların neler olduğu tam olarak belirlidir. Bunun yanında, karışık suşlu starterlerin bileşimleri belli değildir ve bunların işletmelerde çoğaltılma sonrasında sürekli bileşimi değişmekte ve peynirin mikroflorasını kontrol altında tutmak oldukça güç olmaktadır (Martley ve Crow, 1993). Bilindiği kadarıyla, ülkemizde peynir işletmelerinin tamamı karışık tür starter kullanmakta ve elde edilen Beyaz peynirin kalitesi her zaman standart nitelikte olmamaktadır. Litopoulou-Tzanetaki ve Tzanetakis (1992), Beyaz peynirde tat ve tekstür kaynaklı sorunları çözebilmek için, peynir üretiminde geleneksel (karışık) kültür kullanmak yerine spesifik starter kullanımının bu sorunları giderebileceğini açıklamışlardır. Ayrıca, spesifik starter seçiminde starterin enzim profilinin de göz önünde bulundurulması gerektiği vurgulanmaktadır (Fox ve Tobin, 1999).

Beyaz peynir üzerine yapılan çalışmalar genel olarak incelendiğinde, çoğunlukla peynirlerin bileşimleri veya Kjeldahl yöntemi ile belirlenebilen olgunluk durumu ve toplam amino asit içeriği üzerinde yoğunlaştığı görülmüştür (Metin, 1967; Ergüllü, 1980; Kaymaz, 1982; Gürsel ve ark, 1987; Yıldırım, 1991; Karakuş ve Alperden, 1992; Karakuş ve ark, 1992; Çakmakçı ve Kurt, 1993; Karakuş ve Alperden, 1995; Akbulut ve ark, 1996; Uysal, 1996; Uraz ve Şimşek, 1998; Yetişmeyen ve ark, 1998; Gürsoy ve ark, 2001; Güven ve Karaca, 2001; Gürsel ve

ark, 2003). Olgunlaşma boyunca peynirde proteolizin belirlemesine yönelik spesifik tekniklerin (PAGE, HPLC vb) kullanıldığı çalışma yok denecek kadar azdır. Belirli starter bakteri suşları kullanılarak Beyaz peynirin kalitesini belirlemede önemli rolleri olan peptidlerin alt fraksiyonlara ayrılarak peptid profillerinin çıkarıldığı ve elektroforetogramlarının belirlendiği bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada yukarıdaki açıklamaların ışığında, Beyaz peynir üretiminde en çok kullanılan *Lactococcus* cinsine ait karışık suşların yerine, aynı cins bakteriye ait olan ve yapılan çeşitli bakteriyolojik çalışmalarla farklı proteolitik özelliklere sahip oldukları belirlenen suşlar kullanarak Beyaz peynir üretilmesi planlanmıştır. Bu amaçla, biri startersız ve ikisi de *Lactococcus*'un farklı suşlarını içeren üç farklı peynir üretilmiş ve 90 gün süre ile olgunlaştırılarak, olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde analizleri yapılmıştır. Starter uygulamasının, starter farklılığının ve olgunlaşma süresinin peynirin bileşimine, suda ve çeşitli çözücülerde çözünebilen azot fraksiyonlarına, amino asit kompozisyonuna, elektroforetik (urea-PAGE) ve kromatografik (RP-HPLC) özellikleri ile diğer bazı fiziksel ve duyuşsal özelliklerine etkileri araştırılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde, Beyaz peynir ve diğer peynir çeşitlerinde starter kullanımı konusunda yapılan çalışmalar ve konu ile ilgili olan sonuçları dikkate alınarak özetlenmiştir. Beyaz peynirde veya ülkemizde üretilen diğer peynir çeşitlerinde starter olarak daha çok karışık suşlar kullanılmaktadır. Suşları kesin olarak bilinen starterlerin Beyaz peynir üretiminde kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Bilindiği kadarıyla, Türkiye’de Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında proteolizin belirlenmesine yönelik elektroforetik çalışmalar son derece sınırlı sayıda kalmış (Saldamlı ve Kaytanlı, 1998), peynirin peptid profilinin belirlendiği HPLC çalışmasına ise, henüz rastlanmamıştır. Bu nedenle, ülkemiz dışında üretilen ve üretimde kullanılan bakterilerin peynir kalitesine etkilerinin araştırıldığı çalışmalara da yer verilmiştir. Bu kaynakların bazılarında, peynirlerin kimyasal bileşimi ve duyuşsal nitelikleri yönünden, bazılarında azot fraksiyonları, bazılarında biyokimyasal özellikleri yönünden ele alınırken son yıllarda yapılan çalışmaların çoğunda bu özelliklerin tamamı birden incelenmiştir. Burada literatürler özetlenirken, ağırlıklı starter bakteri kullanımının peynirin kimyasal bileşimi ve özellikleri üzerinde durulan çalışmalar bir başlık altında, biyokimyasal özellikler üzerinde durulan çalışmalar ise diğer bir başlık altında incelenmiştir. Tekrarlardan kaçınmak için, çok fazla alt başlık ayırımına gidilmemiş, anlatımda birinci derecede konunun akışı ve bütünlüğü, ikinci derecede ise tarih sırası göz önüne alınmıştır. Literatür bildirişlerinde, çoğunlukla araştırmacıların buldukları sayısal sonuçların aktarılmasının yerine bunların nedenleri, peynir kalitesine yansıttığı etkiler ve dayandığı bilimsel temeller irdelenmiştir.

2.1. Starter Bakterilerin Peynirin Kimyasal Özelliklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Beyaz peynirde, kimyasal bileşimin çok değişken olmasının yanı sıra, ürün kalitesini etkileyebilen mikrobiyal floranın da oldukça değişken olduğu belirtilmektedir (Turantaş ve ark, 1989). Yıldız ve ark. (1989), ülkemizde üretilen

salamura Beyaz peynirlerde kullanılan starter miktarının % 0.15–1.0 arasında değiştiğini, 4 ayrı işletmeden elde ettikleri peynirlerde genellikle yoğurt kültürü veya *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. casei* subsp. *casei* (2:1) içeren karışık kültürlerin kullanıldığını, peynirlerde suda çözünen azot oranının kullanılan kültüre göre farklılıklar gösterdiğini belirtmişlerdir.

El-Koussy ve ark. (1976) Domiati peynirinde farklı starter kültür ilavesinin peynirin randımanı, kimyasal bileşimi ve olgunluk indeksi üzerine önemli düzeyde etkide bulunmadığını ancak, peynirin titrasyon asitliği değerleri arasında önemli farklılıklar bulunduğunu açıklamışlardır. Tekinşen (1983) *Lc. lactis* subsp. *lactis* ile *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (1:2) karışık kültürü ile üretilen Beyaz peynirlerin pH değerlerinin starter kültür kullanılmayan diğer peynirlere göre daha düşük olduğunu ve duyuşal değerlendirmede daha yüksek puan aldıklarını bildirmiştir. Araştırmacı, peynir üretiminde kullandığı bu bakterilerin pH'yı düşürdüğünü ve peynir olgunlaşmasında etkin rol oynayarak duyuşal kaliteyi iyileştirdiğini belirtmiştir. Ayrıca, starter kullanılan peynir örneğinin tuzlanmasında daha düşük konsantrasyonda NaCl içeren salamuranın seçilmesinin olgunlaşma boyunca peynirin kalitesinde herhangi bir bozukluğa neden olmadığını hatta starter bakterilerin aktivitesi için bunun gerekli olduğunu savunmuştur.

Visser (1977a), 7 farklı *Lactococcus* suşu ile (E8, HP, Z8, Wg2, AM1, AM2 ve Bos) ürettiği Gouda tipi peynirlerde, pH, nem, tuz ve yağ içerikleri açısından bir farklılık bulunmadığını bildirmiştir.

Kaymaz (1979), pastörize süttten starter kullanılmadan yapılan taze Beyaz peynirde pH değerinin 5.90–5.95 olduğunu, 3 ay süre ile olgunlaştırılan peynirlerde bu değerin 5.05–5.20 düzeylerine indiğini saptamıştır. Araştırmacı, pastörize süttten starter kullanılarak yapılan peynirlerde ise bu değerlerin sırasıyla, 5.35–5.45 ve 4.80–4.95 arasında olduğunu belirlemiştir.

Çelik (1981), pastörize süte % 2 oranında ilave ettiği *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* ve *Leu. cremoris* bakterilerinin kombinasyonu ile üretilen Beyaz peynirlerde 120 günlük olgunlaşma süresince pH ve asitlik gelişiminin düzenli olduğunu ve bu peynirlerin duyuşal olarak daha yüksek puan aldıklarını bildirmiştir.

Araştırmacı, pastörize süte bu starterlerin ilave edilmesi ile üretilen Beyaz peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyusal açıdan çok kaliteli olabileceğini belirtmiştir.

Uysal (1996) pastörize süte iki farklı oranda starter kültür ilave ederek ürettiği peynirler ile klasik yöntemle pastörize-startersiz süten ürettiği Beyaz peynirlerde, olgunlaşmanın farklı olduğunu, toplam azot oranının azalması ile birlikte suda çözünen azot ve tirozin içeriklerinin peynir sütüne katılan starter miktarı ile orantılı olarak artış gösterdiğini belirtmiştir. Araştırmacı, özellikle olgunlaşmanın 30. gününden sonra starter oranındaki farklılığın, starterle yapılan peynirlerin özellikleri üzerinde farklılık yarattığını açıklamıştır. Bunun yanı sıra, peynirde kuru madde ve yağ oranlarının olgunlaşma süresi boyunca önemli düzeyde değişmediğini buna karşın, tuz, pH ve titrasyon asitliği değerlerinin artış gösterdiğini saptamıştır.

Palma ve ark. (1987), 5 farklı *Lactobacillus* suşu ile üretilen İsviçre peynirlerinde bu bakterinin peynir bileşimini etkilemediğini, proteoliz ve yapı gelişimini önemli derecede etkilediğini bildirmişlerdir. Kandarikis ve ark. (1998), farklı termofilik ve mezofilik kültürler ile propiyonik asit bakterilerinin Graviera Kritis peynirinin bileşimi üzerinde önemli bir farklılık yaratmadığını ($p>0.05$), ancak pastörize süten startersiz yapılan peynirlerde olgunlaşmanın başlangıcında kuru madde miktarının düşük düzeyde olduğunu ve pH değerinin ise daha yüksek olduğunu ($p<0.05$) saptamışlardır.

Yetişmeyen ve ark. (1993), Kaşar peyniri üretiminde kullandıkları 4 farklı starter kültür kombinasyonunun peynirin kimyasal bileşimi ve azot fraksiyonları üzerinde önemli derecede etkili olmadıklarını, *Lc. lactis* + *Lc. cremoris* + *Str. thermophilus* suşlarından oluşan kombinasyonun istenilen düzeyde lipolitik aktivite gösterdiğini ve daha üstün duyusal özelliklere sahip olduğunu saptamışlardır. Halkman ve ark. (1994), Kaşar peyniri üretiminde çeşitli termofilik ve mezofilik kültürleri kullanmışlardır. Peynirin bileşimi, suda ve % 12 Trikloroasetik asit (TCA)'da çözünen azot değerleri üzerinde farklı kültür kullanımının etkilerinin önemli düzeyde olmadığını ve bu konuda pek çok yeni çalışmaya gereksinim duyulduğunu ifade etmişlerdir.

Kehagias ve ark. (1996), Feta tipi salamura peynir üretiminde mezofilik, termofilik ve karışık starter kullanımının peynirin bileşiminde ve azot

fraksiyonlarında önemli bir değişiklik yaratmadığını, termofilik kültürlerle üretilen peynirlerin % nem oranları, pH ve suda çözünen azot değerlerinin, diğerlerine göre daha yüksek olduğunu açıklamışlardır.

Kurt ve Özdemir (1995), süte starter kültür ilavesinin Beyaz peynirin bileşimini ve olgunlaşmasını olumlu yönde etkilediğini, starter kültür katılan peynirlerin kuru maddelerinin, asitlik gelişiminin ve suda çözünen azot oranının starter katılmayanlardan daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Stefanova-Kondratenko ve ark. (1966), *Lc. lactis* ve *Lc. lactis* + *Lb. casei* bakterilerinden oluşan kültürleri farklı oranlarda (1:1, 3:1, 9:1) ve miktarlarda (25, 30, 50, 100, 150, 200 ml/100 kg süt) Beyaz peynir üretiminde kullanmışlardır. Starter bakterilerin, Beyaz peynirde kuru madde, toplam ve çözünür azot, pepton azotu ve amino asit değerleri üzerinde farklı etki yaratmadığını, kültür miktarının artırılması ile koliform grubu bakterilerin gelişiminin engellendiğini ve serbest amino asit birikiminin arttığını saptamışlardır.

Asensio ve ark. (1997), bazı mezofilik (*Lc. lactis*, *Lb. casei*, *Lb. plantarum*) bakterilerin ilave edilmesi ile düşük yağlı keçi peynirinde amino peptidaz aktivitesinin ve amino azot miktarının arttığını, suda çözünen fraksiyonlarda hidrofobik peptidlerin miktarında azalma olduğunu, duyuşal değerlendirme puanlarının arttığını ve kontrol örneğine göre kabul edilebilirliklerinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Gürsoy ve ark. (2001), starter bakteri farklılığının Beyaz peynirde olgunlaşma süresince proteolizi farklı düzeylerde etkilediğini, kullanılan bakterilerin olgunlaşmayı hızlandığını ve proteolize bağlı olarak tüm örneklerde yapıda yumuşama görüldüğünü bildirmişlerdir.

Koca ve Metin (1998), İzmir Teneke Tulum peyniri üretiminde *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Enterococcus* cinsi bakterilerden oluşan 4 farklı kombinasyonu starter olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar, farklı starter kullanımının peynirlerin pH, kuru madde, toplam azot ve çözünür azot, sertlik indeksi değerleri üzerinde önemli farklılıklar yarattığını belirlemişlerdir. Araştırmacıların bulguları değerlendirildiğinde, starterle üretilen tüm örneklerin starter katılmayan örneklerden daha iyi nitelikte olduğu sonucu çıkmaktadır.

Bedel ve Kılıç (2000) pastörize sütten starterli ve startersiz ürettikleri İzmir Tulum peynirlerinde, örneklerin kimyasal bileşimi arasında farklılık olmadığını ancak starter kültür ile üretilen peynirlerin titrasyon asitliği değerlerinin yüksek, pH değerlerinin ise düşük olduğunu belirlemişlerdir. Aynı şekilde, starter ile yapılan peynirlerin olgunlaşma dereceleri, suda çözünen azot değerleri ve çözünür Tyr içeriklerinin daha yüksek olduğunu ve bu peynirlerin duyusal değerlendirmede daha yüksek puan aldıklarını saptamışlardır. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada, proteolitik enzim katılan peynirlerde olgunlaşmanın hızlı gerçekleştiğini, bu peynirlerde acılaşma meydana geldiğini ve duyusal açıdan da düşük puanlar aldığını vurgulamışlardır.

Pappa ve Anifantakis (2001a) farklı termofilik ve mezofilik starterlerle ürettikleri Feta peynirlerinde pH değerlerinin ve nem oranlarının önemli derecede farklı olduğunu saptamışlardır. Araştırmacılar bu durumun nedeninin, muhtemelen starterlerin peynir üretimi ve olgunlaşması sırasında pH ve asitlik gelişimindeki farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, pH değeri yüksek olan peynirlerin daha yüksek oranda nem içerdiğini açıklamışlardır.

2.2. Starter Bakterilerin Peynirin Biyokimyasal Özelliklerine Etkisi Üzerine Yapılan Çalışmalar

2.2.1. Starter Enzimlerinin Hidrolitik Özellikleri

Starter, peynirde amino azotunun oluşumunda önemli rol oynamakta ve farklı proteolitik enzim sistemine sahip olmaları nedeniyle peynirlerde farklı düzeylerde amino asit oluşturabilmektedirler (Exterkate ve ark, 1987).

Starter proteinazları, peynir proteolizine önemli düzeyde katkı sağlamaktadırlar. Proteinaz pozitif suşlarının peynir proteolizine daha çok katkı sağladığı ve proteinaz negatif suşlara göre daha yüksek konsantrasyonlarda peptid ve serbest amino asit birikimi sağladıkları belirtilmektedir (Law ve ark, 1993).

Exterkate ve Alting (1993) *Lc. lactis* suşlarının sahip oldukları P_I (Lactocepın I) ve P_{III} (Lactocepın III) tipi proteinazların α_{s1} -kazeinin f1-23 fragmentleri üzerinde

farklı spesifik noktalarda etki yaptıklarını, P_I tipi proteinaz fl-23 fragmentlerinde 8-9, 9-10 ve 13-14 nolu bağlara etki ettiğini, P_{III} tipi proteinazların 16-17, 17-18 ve 21-22 nolu peptid bağlarını etkilediğini açıklamışlardır.

Exterkate ve Alting (1995), Gouda peyniri üretiminde bazı *Lactococcus* cinsi bakteri suşlarını (AM1, AM2, E8, NCDO763, Wg2, Z8 ve HP) kullanarak, peynirdeki kazeinin hidrolize olma durumunu araştırmışlardır. *Lactococcus* cinsi bakterilerin olmadığı ortamda α_{s1} -kazeinin (fl-23) parçalanmadan kaldığını veya parçalanmanın çok yavaş olduğunu gözlemlemişlerdir. Kullanılan her bir bakteri suşunun α_{s1} -kazeini (fl-23) farklı spesifik noktalardan parçaladığı ve bu bakterilerin HPLC profillerinin ve amino asit konsantrasyonunun farklı olduğunu saptamışlardır. Peynirde tuz miktarının yüksek oluşunun, olgunlaşmanın başlangıcında α_{s1} -kazeinin (fl-23) hidrolizini önemli ölçüde etkilemediğini, olgunlaşmanın sonraki dönemlerinde peptidlerin amino asitlere dönüşümünü kısmen inhibe edebileceğini belirten araştırmacılar, peynirin kabuğa yakın kısımlarında su oranının az olması nedeniyle protein ve peptidlerin daha yavaş hidrolize olduklarını bildirmişlerdir.

Farkye ve ark. (1990), *Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317 ve bu bakterinin proteinaz negatif suşu olan UC041 ile üretilen ve 6 ay süre ile olgunlaştırılan Cheddar peynirlerinin bileşimleri ile suda çözünen azot oranları arasında farklılık olmadığını, % 5 fosfotungstik asitte (PTA) çözünen azot değerleri arasında farklılık olduğunu bulmuşlardır. Araştırmacılar, Cheddar peynirlerinin elektroforezinde her iki bakteri arasında fark bulunmadığını, ancak bu peynirlerin suda çözünür ekstraktlarının elektroforezleri arasında bazı farklılıklar olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.2. Peynirde Mikroflora ve Starter-Mikroflora İlişkisi

Trapanier ve ark. (1991) Cheddar peynirinde *Lactobacillus* suşlarının ilavesi ile peynir olgunlaştırmasının önemli derecede etkilendiğini ve peynir sütüne canlı bakteri ilavesinin, istenmeyen mikrofloranın gelişmesini minimize ettiğini bildirmişlerdir. Bottazi ve ark. (1993), Grana peynirinde asit geliştirebilen starter bakteri kullanımının peynirde erken şişmeyi engellediğini ve peynir üretiminde

starter kullanıldığı takdirde şişmeyi engellemek için antibakteriyel madde kullanımına gerek kalmadığını açıklamışlardır.

Karakuş ve Alperden (1995), 4 farklı *Lactococcus* ve *Lactobacillus* kombinasyonu ile ürettikleri Beyaz peynirlerde *Lactococcus* cinsi bakterilerin baskın florayı oluşturduğunu, ancak olgunlaşmanın sonuna doğru bu bakterilerin sayılarında belirgin bir azalma olduğunu bildirmişlerdir. Farklı starter kombinasyonu ile yapılan peynirlerin üretimi ve olgunlaşma sırasındaki özellikleri açısından peynirler arasında önemli bir farklılık olmadığı, duyuşal açıdan ise bazı starter kombinasyonlarının daha üstün özelliklere sahip olduğu ve starter ile yapılan peynirlerin kontrol peynirinden tamamen farklı olduğunu belirtmişlerdir.

Beyaz peynirin karakteristik florasını belirleyen Hosono ve ark. (1993), peynirin baskın florasında *Lc. lactis* subsp. *lactis* (2.6×10^6 /g) bulunduğunu, bunun dışında *Lc. cremoris*, *Lb. casei*, *Leu. paramesenteroides*, *E. faecalis* gibi bakterilerin de izole edildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Litopoulou-Tzanetaki ve Tzanetakis (1992), Beyaz salamura peynirlerde baskın floranın *Lactococcus* cinsi bakteriler olduğunu ancak, depolamanın 15. gününden sonra *Lactobacillus* cinsi bakterilerin ortama hakim olduklarını bildirmişlerdir. Peynirin pH değerinin 4.5 ve tuz konsantrasyonunun % 5.8–6.2 düzeyinde olmasının, mikrobiyal gelişmeyi inhibe etmede etkili birer faktörler olduğunu bildirmişlerdir. Rodriquez-Medina ve ark. (1995), İspanya Leon peynirinin 1. haftasında floranın % 85'ini *Lactococcus* suşlarının oluşturduğunu 8 haftalık olgunlaşma sonunda bu oranın % 55'e düştüğünü bildirmişlerdir.

2.2.3. Starter Bakterlerin Otolizi ve Otolizin Peynir Proteolizine Etkisi

Lc. lactis suşları erken lize olmaları ve peynir ortamına serbest enzim bırakmaları nedeniyle peynirde olgunlaşmayı hızlandırmaktadırlar. Bakteriyel yolla peynirlerde hızlı olgunlaştırma güncel ve etkili bir yöntemdir (Ruyter ve ark, 1996).

Starter otolizi ile peynir proteolizi arasında sıkı bir ilişki bulunmaktadır. Saint-Paulin peyniri üretiminde starter olarak kullanılan *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCDO763 suşunun lize olması ile peynir proteolizi önemli ölçüde değişmiştir

(Kawabata ve ark, 1997). Olgunlaşmanın 2. ayından sonra kontrol örneğine göre, % 5 PTA'da çözünen azot oranının 3 kat, toplam amino asit miktarlarının 7 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, erken lize olan bakterilerin hücre içi proteinaz ve peptidazlarının serbest kalması ile peynir kitlesinde aktif hale geldiklerini belirtmişlerdir. Kullandıkları starterlerin lize olması ile peynir olgunlaşması ve aroma gelişimi arasında pozitif korelasyon bulan Kiernan ve ark. (2001), lize olan *Lactobacillus* suşlarının Cheddar peynirinde proteolizi arttırdığını ve lize olmayan suşlarla yapılan peynirlerde ise proteoliz ve aroma gelişiminin geciktiği bildirmişlerdir. Kefalotryri peynirinde ise starter bakteri hücrelerinin olgunlaşmanın başlarında lize olduklarını bu aşamadan sonra starter olmayan laktik asit bakterilerinin aktif hale geldikleri açıklanmıştır (Litopoulou-Tzanetaki, 1990)

Madkor ve ark. (1999), dondurularak şoklanmış 7 farklı *Lactobacillus* suşlarını kullanarak hazırladıkları peynir sulu sisteminde (cheese slurry), bakterilerin proteolitik etkileri arasında farklılıklar bulunduğunu saptamışlardır. Otolitik özelliği zayıf olan suşların enzim aktiviteleri düşük olduğunu, otolitik özellikleri yüksek olan suşların kullanımı ile suda çözünen azot ve amino asit oranlarının artış gösterdiği bulunmuştur. Yardımcı kültürler arasında peptidaz enzim sistemleri farklı olduğundan, peynirlerin elektroforetogramlarının da farklı çıktığı, bu farkın kontrol örneğine göre daha belirgin olduğu bildirilmiştir. Madkor ve ark. (2000b), dondurularak şoklanmış *Lb. helveticus* suşlarının, yağı azaltılmış Cheddar peynirinin gerek proteoliz gerekse organoleptik açıdan olumlu katkılar sağladığını açıklamışlardır. Araştırmacılar ayağı azaltılmış Cheddar peynirinde şoklanmış *Lb. helveticus* kullanımı ile acılık oluşumu ve yapıda sertleşmenin önüne geçilebildiğini belirtmişlerdir.

Hannon ve ark. (2003), starter olarak *Lc. lactis* subsp. *cremoris* 227 ve *lactis* 223 bakterilerinin karışımı ve otolitik starter olan *Lactobacillus helveticus* 4571 ilavesi ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde bileşim açısından farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Peynirlerin pH 4.6'da ve % 5 PTA'da çözünen azot oranları arasında önemli düzeyde farklılık bulunmasına karşın, urea-PAGE elektroforetogramları arasında önemli bir fark bulunamadığı saptanmıştır. RP-HPLC analizlerinde ise olgunlaşma süresinin artması ile peynirler arasındaki farklılığın daha belirgin hale

geldiğini yalnız *Lactococcus* suşlarının karışımlarının kullanıldığı peynirlerde peptid konsantrasyonlarının daha yüksek çıktığı belirtilmiştir. Diğer taraftan peptid konsantrasyonu düşük olan peynirlerin amino asit miktarlarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar, starter peptidazlarının peptidleri parçalaması ile peptid konsantrasyonunun düştüğünü, diğer taraftan amino asit konsantrasyonunun arttığını ve bunun starterin otolizi ile yakından ilişkili olduğunu bildirmişlerdir.

Hannon ve ark. (2003)'nın bulgularından farklı olarak, Drake ve ark. (1996), *Lb. helveticus* ile yapılan Cheddar peynirlerinin kontrol örneğine göre SDS-PAGE analizinde farklı bir bant verdiğini (3. ve 6. aylarda) ve peynir proteolizinde önemli derecede etkili olduğunu açıklamışlardır. Bir başka araştırmacı grubu, *Lactobacillus* cinsine ait bazı suşlar ve bunlardan elde ettikleri hücre ekstraktlarının proteolitik aktivitelerini saptamak amacıyla yaptıkları denemede, hücre ekstraktlarının daha yüksek düzeyde proteolitik aktivite gösterdiğini ve yapılan urea-PAGE analizinde bu farklılığın belirgin bir şekilde gözlemlendiğini bildirmişlerdir (Hahn ve ark, 1993).

Lynch ve ark. (1996), çeşitli *Lactobacillus* suşları ve *Lactococcus* ile üretilen Cheddar peynirlerinin bileşimleri, urea-PAGE ve HPLC analizleri açısından belirgin bir farklılık bulunamadığını ancak, amino asit kompozisyonun farklı bulunduğunu, özellikle bakterilerin lize olması ile amino asit konsantrasyonunda artış olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, bu konudaki çalışmaların sürdürülmesi gerektiğini önermişlerdir.

2.2.4. Peynirde Amino Asit Oluşumu üzerine Starter Bakterilerin Etkisi

Peynirlerin olgunlaşmasında, starter enzimlerinin önemli rolleri bulunmaktadır. Starter bakterilerin olgunlaşmaya en büyük katkısı peynirde serbest amino asit üretimidir. Buna göre, peynirin çeşidi de dikkate alınarak, iyi kalitede bir peynir üretimi için uygun bir starter ya da starter karışımının seçilmesi çok önemlidir. Peynirin kalitesi, kazeinin hidrolizine ve hidroliz sonucu oluşan amino asit profiline göre karakterize edilmektedir (Dilanyan, 1974). Laktik asit bakterilerinin starter olarak kullanıldığı peynirlerde duyuusal yönden bir kusura rastlanmamakta, bu bakterilerin aktivitesi sonucu daha yüksek düzeyde düşük

moleküllü peptidler ve amino asitler oluşmaktadır (Poznanski ve Rymaszewski, 1965).

Visser (1977b), Gouda tipi peynirlerde kullanılan farklı starter bakterilerin, peynirin bileşiminde ve suda çözünen azot oranlarında çok önemli bir farklılık yaratmadığını, starterin peynirlerin serbest amino asit oluşumunda önemli derecede etkiye sahip olduğunu belirtmiştir. Peynirlerde kalıntı rennetin suda çözünen azot oranları üzerinde etkili olduğunu, serbest amino asit miktarları üzerinde önemli düzeyde etkili olmadığını, bunda tamamıyla starter bakterinin etkili olduğunu açıklamıştır. Söz konusu çalışmada, pıhtılaştırıcı enzimin peynirde “*olgunlaşmanın genişliği*” üzerinde, starterin ise “*olgunlaşmanın derinliği*” üzerinde etkili olduğu vurgulanmıştır.

Kaymaz (1982), starterli (% 95–98 *Lc. lactis* subsp. *cremoris* + % 2–5 *Lc. lactis* subsp. *lactis*) ve startersiz üretilen Beyaz peynirlerde Arg, Ile, Leu, Met, Phe ve Trp amino asitlerinin oluşumunu incelemiştir. Bu amino asitlerin en fazla çığ sütten yapılan peynirlerde açığa çıktığını bunu pastörize–starterli sütten yapılan peynirlerin izlediğini saptamıştır. Pastörize–startersiz sütten yapılan peynirlerde ise bu amino asitlerin sınırlı düzeyde saptandığını, pastörize sütten yapılan peynirlerde söz konusu amino asitlerin yeterince oluşabilmesi için mutlaka starter kullanılması gerektiğini vurgulamıştır.

Üçüncü (1981), çığ ve pastörize inek ve koyun sütünden starterli ve startersiz ürettiği Beyaz peynirlerde olgunlaşmanın ilerlemesi ile birlikte amino asit konsantrasyonunun da arttığını, pastörize edilmiş ve starter ilave edilmeden üretilmiş sütlerden işlenen peynirlerde amino asit konsantrasyonunun en düşük düzeyde olduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, peynirin tuz konsantrasyonunun yüksek olması nedeniyle starterin yeterince aktivite gösteremediğini, bu amaçla Beyaz peynirde kalitenin iyileştirilmesi için tuza dayanıklı starterin seçilmesi gerektiğini vurgulamıştır. Araştırmacının elde ettiği bulgular dikkate alındığında, Beyaz peynirde baskın olarak Phe, Leu, Glu ve Val amino asitleri bulunduğu sonucu çıkarılabilmektedir.

Lynch ve ark. (1999) *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* ve *Lb. plantarum* ile yaptıkları Cheddar peynirlerinde starter bakterilerin peynirin primer proteolizinde

önemli bir farklılığa neden olmadıklarını buna karşın, peynirlerin serbest amino asit değerleri açısından farklılık bulunduğunu saptamışlardır. Poveda ve ark. (2003b), 3 farklı starter kültür kullanarak ürettikleri Manchego peynirlerinde, amino asit kompozisyonunun starter kültür farklılığından etkilendiğini, Glu, Leu ve Val amino asitlerinin en yüksek konsantrasyonlarda saptanan amino asitler olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.5. Peynirin Duyusal Özellikleri Üzerine Starter Bakterilerin Etkisi

Peynirin yapısı, tadı, kokusu ve diğer duysal özellikleri üzerinde, starter bakterinin önemli derecede etkisi olup, mezofilik starterlerle yapılan peynirler daha olgun tada sahip olmakta, peynirin genel duysal özellikleri üzerinde starter ya da yardımcı starter bakterilerin önemli derecede etkileri bulunmaktadır (Muir ve ark, 1996).

Akyüz (1986), farklı oranlarda mezofilik ve termofilik starter bakterilerle ürettiği Kaşar peynirlerinin toplam serbest yağ asitleri miktarının ve duysal özelliklerinin farklı olduğunu, bu nedenle starter bakteri tipinin peynirde serbest yağ asitleri oluşumu ve duysal özellikler üzerinde farklı etkiler yaptığını belirtmiştir. Diğer taraftan Gosheva ve ark. (1992), Beyaz salamura peynirde duysal özelliklerin gelişiminde starter bakterinin çok önemli rolü olduğunu, en yüksek düzeyde asetaldehit, aseton ve butanon-2 gibi önemli aroma bileşenlerinin starterle üretilen peynirlerde saptandığını vurgulamışlardır.

Requena ve ark. (1993), çeşitli *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* suşlarının karışımlarının denendiği yarı sert keçi sütü peynirlerinde en iyi sonucu, *Lactococcus* suşu bakterilerin yer aldığı kombinasyonun verdiğini ve bu peynirlerde azot fraksiyonlarının daha yüksek düzeyde bulunduğunu bildirmişlerdir. Bu peynirler, karakteristik özellikler ve duysal kalite bakımından da diğer peynirlerden daha üstün olarak bulunmuştur.

2.2.6. Starter Bakterilerin Peynirin Primer ve Sekonder Proteolizine Etkisi

Pıhtılaştırıcı olarak kullanılan rennetin peynir proteolizinde önemli düzeyde etkili olduğunu belirten O'Keeffe ve ark. (1976), jel-elektroforezde belirlenebilen büyük ve orta molekül ağırlıklı bazı peptidlerin oluşumuna neden olabildiğini saptamışlardır. Ancak, peynirde düşük molekül ağırlıklı peptidler ve amino asitlerin oluşumunda birinci derecede starter enzimlerinin etkisi olduğunu vurgulamışlardır. Aynı grup araştırmacı bir başka çalışmalarında (O'Keeffe ve ark, 1978), starterle yapılan peynirlerin kimyasal olarak asitlendirilen (GdL ile) peynirlerden daha yüksek düzeyde suda ve % 12 trikoloroasetik asitte çözünen azot oranlarına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Aynı şekilde, peynir üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzimin büyük molekül ağırlıklı peptidlerin oluşumunda, starter proteinazlarının ise küçük molekül ağırlıklı peptidlerin oluşumundan sorumlu olduğu belirtilmiştir. Visser ve de Groot-Mastert (1977), normal starter bakteri ile üretilen peynirlerde α_{s1} -kazeinin hızlı bir şekilde parçalandığını, buna karşın β -kazeinin enzimlere daha dirençli olduğunu saptamışlardır. Starter bakteri aktivitesinin, olgunlaşmanın ilk bir ayında yavaş daha sonra ise hızlı olduğunu ancak, farklı starterlerle (Z8, AM1, AM2) yapılan peynirler arasında önemli düzeyde bir farklılık bulunmadığını, hatta bu starterlerle rennetsiz peynir yapıldığında bile durumun değişmediğini belirlemişlerdir. Rennetsiz-starterli yaptıkları peynirlerde α_{s1} - ve β -kazeinin yavaş da olsa parçalandığını bu parçalanmanın olgunlaşmanın ileri aşamalarında (1 aydan sonra) olduğunu belirten araştırmacılar, burada starter hücrelerinin lize olmasıyla ortaya çıkan enzimlerin etkili olduğunu açıklamışlardır.

El-Soda ve ark. (1982) Cheddar peynirine starter hücre ekstraktlarının ilave edilmesinin, proteolizi arttırdığını ve bu ekstraktların peynirde olgunlaşmayı hızlandırdığını, daha yüksek düzeyde uçucu asit oluşturduğunu bildirmişlerdir. Aynı grup araştırmacı (El-Soda ve ark, 1981), *Lb. casei* ile yapılan Cheddar peynirinin normal karışık starter kültürler yapılanlara oranla protein parçalanmasının ve uçucu asit oluşumunun daha yüksek olduğunu, bu bakterinin hücre ekstraktı ile üretilen peynirlerde acılık meydana geldiğini belirtmişlerdir.

İki farklı ticari kültür ile Cheddar peynirleri üreten Ramasamy ve ark. (1998), glikoliz, proteoliz ve lipoliz açısından farklılıklar bulunduğunu, starter katılan peynirlerin daha kısa sürede olgunlaştıklarını bildirmişlerdir. Morgan ve ark. (1997) bakteriosin üreten *Lactococcus* suşlarının peynir olgunlaşmasına önemli derecede etki yaptığını, olgunlaşma süresini kısalttığını, kontrol peynirine göre daha fazla miktarda amino asit birikimine neden olduğunu açıklamışlardır.

Law ve Wigmore (1983), starter olarak kullanılan *Lactococcus* bakterilerinin Cheddar peynirinin kimyasal bileşimini etkilemediğini, ancak peptid ve amino asit oluşumunda önemli ve farklı etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir. Starter katılan peynir örneklerinde, starter katılmayan veya nötraz katılan peynirlerden daha yüksek oranlarda serbest amino asit birikimi olduğu vurgulanmıştır. Ardö ve Petterson (1988), *Lb. helveticus*'un peynirde kazein hidrolizinden daha çok peptidlerin hidrolizinde rol aldığını ve peynirde amino asit oluşumunu hızlandırarak aromayı zenginleştirdiğini bildirmişlerdir.

Choi ve Kim (1990), Cheddar peynirinde *Lc. lactis*, laktaz negatif suşlarının kontrol örneğine göre kimyasal bileşim açısından farklılık göstermediğini, suda çözünen azot fraksiyonları ve urea-PAGE elektroforetogramlarının benzer olduğunu, ancak laktaz negatif proteaz pozitif suşların % 5 PTA'da çözünen azot değerlerinin daha yüksek olduğunu bulmuşlardır.

Subramanian ve ark. (1993a) farklı starterlerle ürettiği Cheddar peynirlerinin toplam ve çözünen azot miktarları arasında fark olmadığını, 12 aylık depolama süresince çözünen azot miktarının sürekli artış gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar Cheddar peynirinde farklı starter kullanımının α_{s1} -kazeinin parçalanmasında farklı etkiler yarattığını ve olgunlaşma süresi içerisinde α_{s1} -kazeinin β -kazeinden daha hızlı parçalandığını bildirmişlerdir (Subramanian ve ark, 1993b).

Law ve ark. (1992), *Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317 ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* HP suşları ile yaptıkları Cheddar peynirlerinin bileşimleri arasında fark bulunmadığını, UC317 suşu ile yapılan peynirlerin suda ve % 5 PTA'da çözünen azot oranlarının daha yüksek bulunduğunu belirtmişlerdir. Bu farklılık Cd-ninhydrin yöntemi ile belirlenen toplam serbest amino asit konsantrasyonunun saptanması ile

de ortaya çıkmıştır. Diğer taraftan, peynirlerin suda çözünür ekstraktlarının elektroforezinde birtakım farklılıkların olduğu saptanmıştır. Suda çözünen fraksiyonların HPLC peptid analizleri UC317 ve HP suşları ile üretilen peynirler arasında belirgin farklılıklar olduğunu göstermiştir. Aynı şekilde bu farklılık duyu analizlerde de görülmüş ve UC317 ile yapılan peynirler daha yüksek puan almışlardır. Araştırmacılar farklı starter bakteri suşlarının peynir proteolizine farklı biçimlerde katkıda bulunduklarını belirtirken, HP suşunun herhangi bir acılığa neden olmadığını açıklamışlardır.

Litopoulou-Tzanetaki ve ark. (1993) starter olarak kullandıkları bazı *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Leuconostoc* cinsi bakteriler ile yoğurt bakterilerinden oluşan çeşitli kombinasyonların Feta peynirinin kimyasal ve duyu özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, peynir üretiminde mezofilik ve termofilik karakterli bazı bakterilerin, üretimde ve olgunlaşmada farklı etkiler gösterdiklerini; protein olmayan azot, % 12 TCA'da ve % 5 PTA'da çözünen azot değerlerinin özellikle olgunlaşmanın ileri aşamalarında farklı olduğunu saptamışlardır.

McSweeney ve ark. (1994), *Lactococcus* ve *Lactobacillus* ilavesi ile üretilen Cheddar peynirinin bileşiminin önemli ölçüde etkilenmediğini, ayrıca örneklerin urea-PAGE ve azot fraksiyonları arasında da farklılık görülmediğini vurgulamışlardır. Ancak, Cd-Ninhidrin metodu ile belirlenen toplam serbest amino asit miktarları dikkate alındığında, *Lactobacillus* ilave edilmiş suşların önemli derecede etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Peynirlerin HPLC ile belirlenen peptid profillerinin genelde benzer olduğu, ancak kromatogramların hidrofobik bölgelerinde belirgin bir takım farklılıklar saptandığı ileri sürülmüştür.

Wilkinson ve ark. (1994) *Lc. lactis* subsp. *cremoris* AM2 ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* HP gibi tek suş içeren starter ve G11/C25 karışık suş içeren kültürlerle ürettikleri Cheddar peynirinde, *Lactococcus* suşlarının farklı düzeylerde otolize uğradıklarını ve farklı düzeyde proteolitik aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir. Peynirlerin bileşimleri ve pH değerleri arasında önemli bir farklılık bulunamazken, özellikle olgunlaşmanın ileri aşamalarında serbest amino asit miktarları oldukça farklı çıkmıştır. En yüksek amino asit birikiminin AM2 suşu ile üretilen peynirlerde

saptandığını bunu G11/C25 karışık suşu ile işlenen peynirler izlediğini, en düşük miktarda amino asidin ise HP suşu ile işlenen peynirlerde saptandığını açıklamışlardır.

Farkye ve ark. (1995), çeşitli *Lactococcus* ve *Lactobacillus* cinsine ait bakterilerin proteolitik aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, bu bakterilerin peptid profillerinin (RP-HPLC analizleri) farklı olduğunu ve Cd-Ninhidrin reaktifi ile farklı absorban değerleri verdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, peynirin olgunlaşması süresince laktik starter bakterilerinin kazeinleri de farklı oranlarda parçaladıklarını bildirmişlerdir.

Lane ve Fox (1996), *Lc. lactis* subsp *lactis* suşlarından oluşan starter bakterilerin Cheddar peynirinde proteolize önemli derecede katkı sağladığını, suda çözünen düşük moleküllü peptidler ve amino asit oluşumunda önemli düzeyde etkili olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, peynirlerin ve suda çözünen ekstraktın elektroforezi, peynirde temel proteolitik enzimin pıhtılaştırıcı enzim olduğunu, orta ve büyük moleküllü peptidlerin oluşumunda starterlerin sınırlı düzeyde rolü olduğunu göstermiştir.

Lane ve Fox (1997), proteinaz pozitif *Lc. lactis* subsp *lactis* UC317 ve bu bakterinin proteinaz negatif tipi olan *Lc. lactis* subsp *lactis* FH041 suşu ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde, *Lc. lactis* subsp *lactis* UC317 suşunun peynirin proteolitik ve duyuşal özelliklerinde belirgin bir farklılık gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu nedenle, starter proteinazlarının peynirin proteolizinde ve aroma gelişiminde oldukça önemli role sahip olduklarını vurgulamışlardır. 6 ay süre ile olgunlaştırılan peynirlerin elektroforetogramları arasında kalitatif veya kantitatif olarak önemli bir farklılığın olmadığını, suda çözünen ekstraktların urea-PAGE analizleri, HPLC analizleri ve toplam serbest amino asit analizlerinde ise birtakım farklılıklar bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. Awad ve ark. (1999b) tarafından *Lc. lactis* suşları ile *Lb. casei* suşları kullanılarak üretilen Gouda tipi peynirler arasında bileşim açısından farklılık bulunamamış, ancak tüm peynirlerde α_{s1} -kazeinin β -kazeine göre daha yüksek oranda parçalandığı görülmüştür. Örneklerin peptid profillerinin belirlendiği HPLC analizlerinde, starter bakteri suşları arasında önemli düzeyde farklılık olduğu açığa çıkmıştır. Ayrıca, örneklerin toplam serbest amino asit içeriklerinin de farklı olduğu,

starter katılmadan yapılan peynirlerde toplam serbest amino asit konsantrasyonunun en düşük düzeyde kaldığı saptanmıştır. Araştırmacılar, starter enzimlerinin peynirde düşük moleküllü peptidler ve serbest amino asit oluşumunda oldukça önemli yere sahip olduklarını bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada, sadece starter kültür katılan ve katılmayan peynir örneklerinin peptid profillerinin farklı olmasının yanı sıra, starter katılan peynirlerin peptid profillerinin de birbirinden farklı olduğu ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar, peynirlerin HPLC peptid profilleri üzerinde farklı starter bakterilerin önemli derecede etkilerinin olduğunu savunmuşlardır.

Lynch ve ark. (1997), *Lc. lactis* subsp. subsp. *lactis* UC317 ile birlikte çeşitli mezofilik *Lactobacillus* türlerinin ilavesiyle ürettikleri Cheddar peynirlerinde, starter bakterinin peynirin bileşimine önemli düzeyde etkide bulunmadığını, ancak serbest amino asit oluşumuna, etanolde çözünen ve çözünmeyen peptid miktarlarına önemli derecede etki ettiğini bildirmişlerdir. Örneklerin jel elektroforezinde olgunlaşmanın ilk 3 ayında belirgin bir farklılık görülmezken 6 ay süre ile olgunlaştırılan peynirlerde kalitatif olarak farklılıklar gözlemlenmiştir. *Lactococcus* bakterileri starter olmayan laktik asit bakterilerine göre, peynirin sekonder proteolizine daha fazla katkı sağladıkları belirtilmiştir.

Carmona ve ark. (1999), *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* karışımları ile ürettikleri Los Pedroches peynirlerinde, starter kültür katılmış örneklerde proteolizin daha hızlı ve düzenli olduğunu, protein olmayan azot, amino azotu oranları ile çözünür Tyr miktarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Ancak, örneklerin jel elektroforez analizleri sonunda starter kültürlerin elektroforetik özellikler (α_{s1} -kazein, β -kazein ve bunların parçalanma ürünleri) üzerinde farklı bir etkide bulunmadığı açıklanmıştır.

Gomez ve ark. (1999), yaptıkları elektroforez çalışmasında, α_{s1} - ve β -kazeinin ticari starterlerle yapılan peynirlerde daha fazla parçalandığını peynirlerin pH 4.6'da ve % 12 TCA'da çözünen azot oranlarının önemli düzeyde yüksek çıktığını belirtmişlerdir. Ancak, belirli suşlarla (*Lactococcus*) yapılan peynirlerin proteolizinin daha kontrollü olduğunu açıklayan Gomez ve ark. (1999), *Lactococcus* suşları ile üretilen peynirlerin duyuşal özellikler açısından ticari starterlerle yapılanlardan daha çok beğeni kazandığını açıklamışlardır.

Fenelon ve ark. (1999) çeşitli *Lactococcus lactis* suşları ile ürettikleri Cheddar peynirlerinin elektroforetogramlarında birtakım farklılıklar görüldüğü, ancak bunun starterden kaynaklanmadığını açıklamışlardır. Farklı starter bakteri kullanımının, peynirin sekonder proteolizi olarak adlandırılan peptid profilleri ve amino asit miktarları üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir.

Drab ve ark. (1999) farklı mezofil kültürün Gouda-tipi peynirlerinin proteoliz düzeyi, özellikle amino asit kompozisyonu üzerinde önemli derecede etkisinin olduğunu en çok Glu, Leu, Lys amino asitleri bulunduğu halde, starter bakteri farklılığı en fazla Lys miktarı üzerinde etkili olduğunu ve farklı starterlerle üretilen peynirlerin HPLC ile belirlenebilen peptid profillerinin de farklı olduğunu saptamışlardır.

Shakeel-Ur-Rehman ve ark. (1999), farklı *Lactococcus* cinsi bakteri suşları (*Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* 223, 227, 250, 255, 267, 303, AM1, SK11, Wg2 ve HP) kullanarak yaptıkları Cheddar peynirlerinin elektroforetik özelliklerinin birbirine yakın olduğunu, ancak suda çözünen azot değerlerinde bazı farklılıklar olduğunu açıklamışlardır. Wg2 suşu ile yapılan peynirlerin urea-PAGE, RP-HPLC (pH 4.6'da çözünen, etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonlar) profilleri ile serbest amino asit miktarlarının diğer bakterilerle üretilen peynirlerden farklı olduğu bulunmuştur.

Olarte ve ark. (2000) ticari starterlerle (*Lc. lactis* suşları) yapılan Cameros peynirlerinin kontrol örneğine göre önemli derecede farklılık göstermediğini ancak, pH ve serbest yağ asitleri değerleri ile protein olmayan azot değerlerinin farklı bulunduğunu bildirmişlerdir. Starter ilave edilen peynirlerde pH'nın daha hızlı bir düşüş gösterdiğini belirlemişlerdir. Olgunlaşmanın başlangıcında *Lactococcus* bakterilerinin daha yoğun durumda olduğunu ancak, olgunlaşmanın 15. gününden sonra sayılarının azalmaya başladığını bildirmişlerdir. Bonczar ve ark. (2001) yarı-sert koyun peynirinin üretiminde temofilik ve mezofilik starter kullanımının, peynirin çözünür azot bileşenleri üzerinde etkili olduğunu bildirmiştir. Mezofilik starterlerle üretilen peynirlerin protein olmayan azot, amonyak azotu ve amino azotu oranları daha yüksek bulunurken, termofilik kültürlerle yapılan peynirlerin suda çözünen azot değerleri daha yüksek bulunmuştur.

Menendez ve ark. (2000), *Lactococcus* ve *Lactobacillus* suşları ile ürettikleri Arzua-Ulloa peynirlerinde β -kazeinde meydana gelen parçalanmanın *Lactococcus* suşları ile yapılan peynirlerde daha çok görüldüğünü, buna karşın suda çözünür azot oranının *Lactobacillus* suşları ile yapılan peynirlerde daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Uçucu yağ asidi miktarlarının ise *Lactobacillus* suşları ile yapılan peynirlerde daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Diğer taraftan, β -kazeinin parçalanması ve acılık arasında pozitif bir ilişki saptayan araştırmacılar, α_{s1} -kazeinin parçalanması ile peynir sertliği arasında da negatif bir ilişki bulunduğunu belirtmişlerdir.

Mendia ve ark. (2000) çiğ süttten ve starter ilave edilmiş çiğ ve pastörize süttten ürettikleri peynirlerde, en yüksek düzeyde çözünür azot oranlarının pastörize edilmiş ve starter ilave edilmiş süttten üretilen peynirlerde saptamışlardır. Serbest amino asit miktarları dikkate alındığında, çiğ süte starter katılarak yapılan peynirlerde bu değer daha yüksek düzeyde bulunmuştur. Araştırmacılar peynirde en çok bulunan amino asitlerin Glu, Leu, Phe ve Lys olduğunu, örneklerin elektroforetik analizlerinde en fazla pastörize edilmiş ve starter katılmış örneklerde parçalanma olduğunu ve α_{s1} -kazeinin β -kazeine göre daha fazla miktarda parçalandığını belirlemişlerdir.

Chopard ve ark. (2001) İsviçre peynirlerinde *Lactobacillus* suşlarının peynir proteolizine önemli derecede katkı sağladığını, HPLC peptid analizinde farklı peptid profilleri ortaya çıktığını açıklamışlardır. Ayrıca araştırmacılar, peptidlerin HPLC kromatogramları ile pH 4.6'da ve %12 TCA'da çözünen azot miktarları arasında önemli bir korelasyon bulamamışlardır.

Kandarıkis ve ark. (2001) farklı termofilik ve mezofilik kültür karışımları kullanarak ürettikleri Feta peynirlerinde, termofilik kültürlerle üretilen peynirlerin pH, toplam kuru madde ve suda çözünen azot oranları açısından farklı olduğunu, bu farklılığın peynirlerin ve suda çözünen ekstraktlarının elektroforezinde ve HPLC analizlerinde de ortaya çıktığını belirtmişlerdir. Starter karışımının aynı zamanda serbest yağ asitleri miktarını da etkilediği bildirilmiştir. Pappa ve Anifantakis (2001b) farklı starter kültürlerinin Feta peynirinde suda, % 12 TCA'da ve % 5

PTA'da çözünen azot değerleri üzerinden önemli etkiye sahip olduklarını saptamışlardır.

Candioti ve ark. (2002), 3 farklı *Lb. helveticus* kültürleri ve “doğal peynir suyu starteri” adı ile geleneksel olarak kullanılan ve *Lactococcus* ve *Lactobacillus* cinsi bakterilerden oluşan kültür kullanmışlardır. Araştırmacılar, peynirin kimyasal bileşimi ve suda çözünen azot fraksiyonlarında önemli bir farklılık bulunamadığını, ancak % 12 TCA'da ve % 5 PTA'da çözünen azot oranlarında birtakım farklılıklar bulunduğunu ifade etmişlerdir. Peynirler arasında, jel elektroforetik özellikleri ve serbest yağ asitleri değerleri bakımından önemli bir farklılık bulunamazken, duyuşal özelliklerinin birbirinden farklı olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar, starter bakterilerin peynirin üretiminde ve primer proteolizinde direkt etkide bulunmadığını, daha çok peynirin sekonder proteolizi üzerinde direkt etkiye sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Moatsou ve ark. (2002), 3 farklı işletmeden elde ettikleri ve 120 gün süre ile olgunlaştırdıkları Feta peynirlerinin proteoliz düzeylerinde farklılık saptamışlardır. Bu farklılığa peynirin üretildiği işletmenin benimsediği üretim teknolojisinin ve bu arada kullanılan starterin etkisinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Peynirlerin elektroforetik (urea-PAGE) ve kromatografik (RP-HPLC) analizleri farklı işletmelerde uygulanan yöntemlerin peynirde düşük molekül ağırlıklı peptidlerin oluşumuna farklı düzeylerde katkıda bulunduğunu göstermiştir.

Poveda ve ark. (2003a) 3 farklı starter bakteri kullanarak ürettikleri Manchego tipi peynirlerin bileşimlerinin birbirlerinden farklı olmadığını, buna karşın istatistiksel olarak önemli olmasa da pH değerleri arasında bir kısım farklılıklar bulunduğunu saptamışlardır. Aynı şekilde peynirin jel elektroforetik özellikleri ile, suda ve % 5 PTA'da çözünen azot oranlarının da farklı olduğu gözlemlenmiştir. Peynirlerin RP-HPLC peptid profillerinin ve duyuşal özelliklerinin birtakım farklılıklar gösterdiğini saptayan araştırmacılar, Manchego tipi peynir üretiminde karışık kültür kullanmak yerine suşları belirli kültür kullanımıyla daha iyi sonuçlar alınabileceğini önermişlerdir.

Michaelidou ve ark. (2003) Feta peyniri üretiminde *Lc. lactis* ve *Lc. cremoris* içeren kültürlerle tam yağlı ve düşük yağlı peynirlerde kültür oranının artmasının, serbest amino asit miktarında da artışa neden olduğunu belirtmişlerdir. Düşük yağlı

peynirlerde starter kullanımının peynirin bileşimi, suda ve çeşitli çözücülerde çözünen azot miktarları, elektroforetik ve kromatografik özellikleri üzerinde önemli düzeyde etkiye bulunmadığını, buna karşın % 5 PTA'da çözünen azot oranları ve amino asit miktarları üzerine önemli düzeyde etkili olduğunu bildirmişlerdir.

2.3. Urea-PAGE ve RP-HPLC Analiz Sonuçlarının Çok Değişkenli İstatistiksel Analiz (Multivariate Statistical Analysis) Yöntemleri İle Değerlendirilmesi Üzerine Yapılan Çalışmalar

Gıda alanında yapılan araştırmalarda elde edilen verilerin analizleri, genellikle örneklerin gruplandırılması ile yapılmaktadır. Kromatografik çalışmalarda çok sayıda veri elde edilmekte, ancak önemli olan bunların etkili bir şekilde değerlendirilmesi ve yorumlanmasıdır (Verdini ve Rubiolo, 2002). Kromatogramların karşılaştırılmasında çoğunlukla görsel incelemelere (visual study) başvurulmasına karşılık, son çalışmalarda daha objektif yaklaşımlara gereksinim duyulmuştur. Olgun peynirlerin çok farklı düzeylerde peptid içermeleri ve olgunlaşma süresi ilerledikçe bu peptidlerin konsantrasyonlarının ve kompozisyonlarının değişerek daha komplike olmaları, sonuçların değerlendirilmesinde yeni ve daha çok objektif metodların aranmasına neden olmuştur. Bir başka deyişle, proteolitik profillerin yorumlanmasında görsel incelemelerin yanında daha objektif değerlendirmelerin kullanımı zorunlu olmuştur. Peynirin olgunlaşması sırasında proteolizin karmaşıklığını çözme ya da daha iyi anlamada farklı bir yaklaşım olarak çok değişkenli istatistiksel teknikler bir metod olarak önerilmiştir. Son yıllarda, peynirde proteolizi belirlemeye yönelik olarak sıklıkla başvuru alan elektroforetik ve kromatografik yöntemlerle elde edilen sonuçların değerlendirilmesinde çok değişkenli istatistiksel analiz yöntemlerine başvurulmaktadır (Pripp ve ark, 1999; Pripp ve ark, 2000b). Çok değişkenli istatistiksel yöntemlerin, peynirin olgunluk durumunu tahmin etmede de yararlı bilgiler sunduğu belirtilmektedir (Ruiz ve ark, 1998).

Peynirlerin urea-PAGE ve RP-HPLC analizlerinden elde edilen sonuçların değerlendirilmesi için, araştırmacılar verilerin azaltılması ve değişkenlerin

gruplandırılması yoluna gitmişlerdir. Bu amaçla temel bileşen (Principal Component Analysis, PCA) ve kümeleme (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) analizlerinden yararlanılmıştır. Lopez-Fandino ve ark. (1994), azot fraksiyonları ve elektroforez analizleri sonuçlarından yararlanarak Beaufort, Apenzeller, Comte, Fontina, Mahon ve Parmigiano peynirlerini HCA analizi ile peynirleri çeşitlerine gruplandırmayı başarmışlardır. Dewettinck ve ark. (1997), Pripp ve ark. (2000a, 2000c), peynirlerde olgunlaşma boyunca saptadıkları urea-PAGE elektroforetik sonuçlarına çok değişkenli istatistiksel yöntemleri uygulamışlar ve yöntemin oldukça basit ve kullanışlı olduğunu açıklamışlardır.

Frau ve ark. (1997), geleneksel olarak ve endüstriyel olarak üretilen farklı olgunluktaki Mahon peynirlerinin kimyasal analizlerini yapmışlardır. Araştırmacılar kimyasal analiz sonuçlarını PCA analizine tabi tutarak örnekleri gruplandırmışlardır. Principal Component (PC) 1'e göre örneklerin olgunluklarına göre gruplandırılması, PC 2'ye göre peynirlerin (endüstriyel veya geleneksel üretim) gruplandırılması mümkün olmuştur. Araştırmacılar, PCA tekniğini kullanarak peynirlerin, üretim metodunun ve olgunlaşma süresinin birer fonksiyonu olarak sınıflandırıldığını göstermişlerdir.

PCA ve HCA tekniklerinin uygulandığı diğer analizler ise kromatografik sonuçlardır. Kromatografik sonuçlara PCA ve HCA tekniklerinin uygulanması ile deneme peynirlerinde değişkenlerin gruplandırılması (Pripp ve ark, 1999; Pripp ve ark, 2000a, 2000b; Poveda ve ark, 2003a; Benfeldt ve Sorensen, 2001; Sorensen ve Benfeldt, 2001; Bütikofer ve ark, 1998) ve peynirlerin olgunluk durumlarına göre sınıflandırılması mümkün olmuştur (O'Shea ve ark, 1996; Verdini ve Rubiolo, 2002; Verdini ve ark, 2002; Poveda ve ark, 2003b; Bara-Herczegh ve ark, 2002). Yukarıda verilen çalışmalarda da, PC 1'e göre peynirler olgunluklarına, PC 2'ye göre üretim metodu, uygulanan farklı işlem parametrelerine (starter, enzim, tuz, ısıtma işlemi, basınç vb) bağımlı olarak gruplandırılmışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Süt

Denemelerde, Beyaz peynir üretiminde Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Araştırma ve Uygulama Çiftliği Hayvancılık Şubesi'nden sağlanan sabah sağımı çiğ inek sütleri kullanılmıştır. Başlangıçta çiğ süt örneğinde ön kontroller yapılmış ve bazı fiziksel ve kimyasal analizler için örnekler ayrılmıştır. Daha sonra peynir sütü, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümüne getirilerek Beyaz peynire işlenmiştir.

3.1.2. Starter Bakteriler

Lactococcus lactis subsp. *lactis* UC317, Department of Food and Nutritional Science, University College, Cork, Ireland'da bulunan kültür koleksiyonundan, *Lc. lactis* subsp. *lactis* NCDO763 Frontera Research Centre, Palmerston North, New Zealand'daki araştırma merkezinden, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* SK11 ve HP suşları Groningen Biomolecular Science and Biotechnology Institute, Department of Genetics, University of Groningen, Haren The Netherlands'da bulunan kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. Bakteriler M17 broth (Merck, Darmstadt, Germany) içerisinde çoğaltıldıktan (30 °C'de 24 saat) sonra en az 2 defa aktive edilmişlerdir. Kültür ortamında çoğaltılan bakteriler üretimden bir gün önce 90 °C'de 30 dk tutulmuş rekonstitüe sütte (% 10, w/v) geliştirilmiştir (Fenelon ve ark, 2000). Bakteriler Şekil 3.1'de gösterildiği gibi, B ve C sütlerine iki farklı kombinasyonda % 1 oranında ilave edilmişlerdir.

3.1.3. Pıhtılaştırıcı Enzim

Pıhtılaştırıcı enzim olarak Chr. Hansen's firmasından sağlanan şirden mayası kullanılmış ve kuvveti kesin olarak saptandıktan sonra peynir sütüne pıhtılaşmayı 90 dakikada tamamlayacak miktarda katılmıştır. Pıhtılaştırıcı enzimin

miktarı Gönç (1984) tarafından bildirilen aşağıdaki formül yardımı ile saptanmıştır. Enzim 1/10 oranında saf su ile sulandırıldıktan sonra peynir sütüne ilave edilmiştir.

$$\text{Enzim miktarı} = (A \times B) / (C \times 60)$$

A: 1 litre sütün pıhtılaşma süresi (sn)

B: süt miktarı (kg)

C: kazan sütünün pıhtılaşma süresi (dk) ifade etmektedir.

3.1.4. Kalsiyum Klorür (CaCl₂)

CaCl₂ (Merck, Darmstadt, Germany), saf suda çözündürüldükten sonra 20 g CaCl₂ /100 kg süt hesabı ile peynir sütüne ilave edilmiştir.

3.1.5. Tuz (NaCl)

Peynirlerin tuzlanması, piyasada bulunan normal kaya tuzundan yararlanılmıştır. Bu amaçla hazırlanan % 14'lük salamura, 90 °C'de 20 dakika süre ile ısıtılma tabi tutulmuştur.

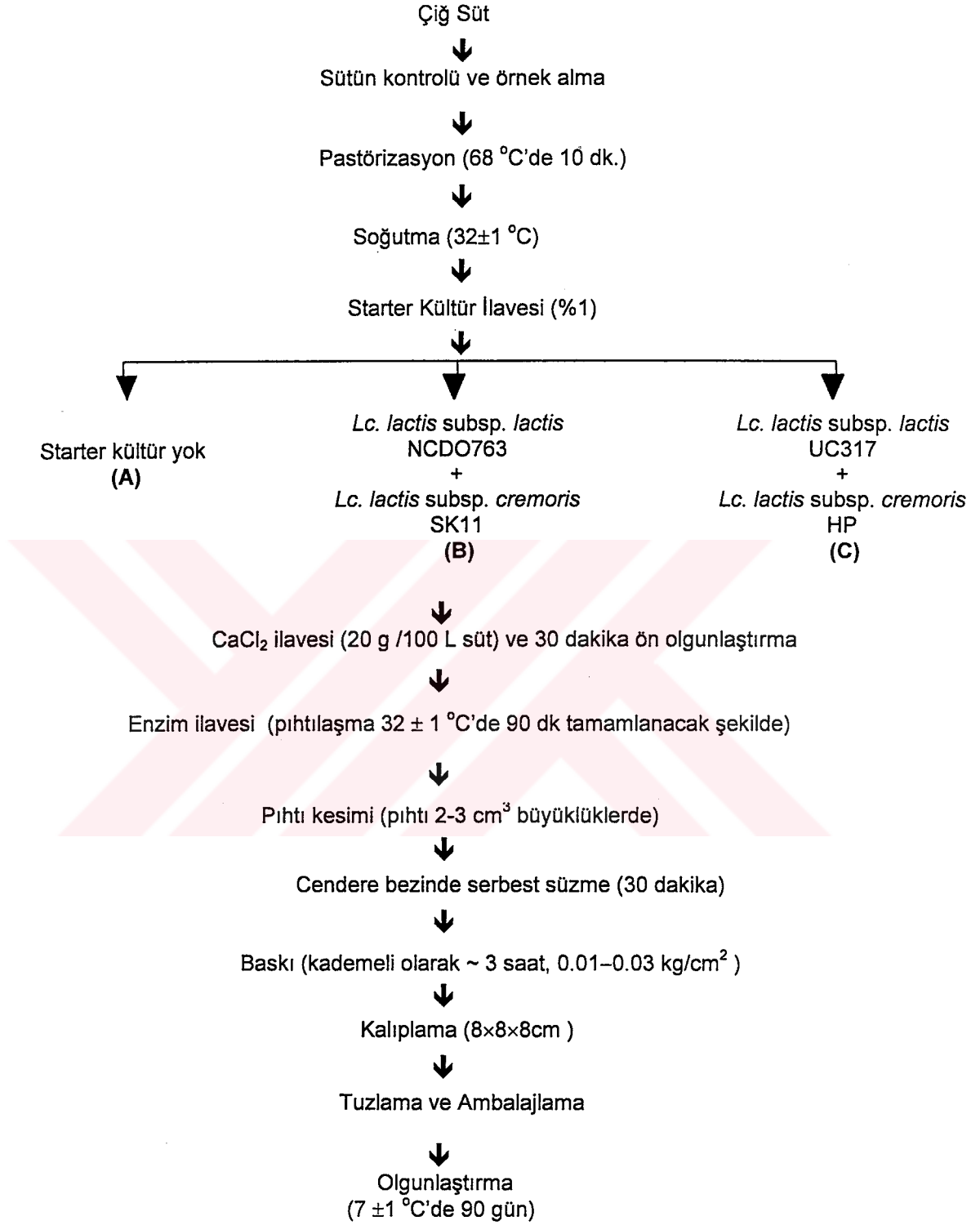
3.1.6. Ambalaj Materyali

Peynirlerin ambalajlanmasında pratik açılabilir kapaklı 1'lik teneke kutular kullanılmıştır. Kutular, Akpınar Ambalaj A.Ş. (Konya)'den sağlanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Peynir Üretimi

Peynir üretimi, Ç.Ü. Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Süt Teknolojisi Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Peynir üretim şeması Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Beyaz peynirin üretim akış şeması

Başlangıçta, çiğ inek sütü gerekli ön kontroller (pH, asitlik) yapıldıktan sonra çift ceketli açık kazanda 68 °C'de 10 dakika süre ile pastörize edilmiştir. Pastörizasyon sonrası, 32±1 °C'ye soğutulan sütler, 3 eşit kısma ayrılmış ve birinci kısım süte starter ilave edilmemiş ve kontrol olarak (A) ayrılmıştır. İkinci kısım B ve C kodlu süt örneklerine ise; dondurulmuş stok kültürler, kültürlerin sağlandığı kuruluşların (Bak. 3.1.2.) önerilerine göre, % 10'luk rekonstitüe sütte [90 °C'de 30 dk süre ile ısıtma işlemi uygulanmış (Fenelon ve ark, 2000)] 30 °C'de 16 saat süre ile çoğaltıldıktan sonra, % 1 oranında ilave edilmiştir. Ardından 20 g/100 L süt hesabı ile CaCl₂ katılmış ve bu sıcaklıkta en az 30 dakika (pH 6.3'e kadar) ön olgunlaştırma yapılmıştır. Daha sonra peynir sütüne, 90 dakikada sütü pıhtılaştıracak şekilde peynir mayası ilave edilmiştir. Bu sürenin sonunda, kesim olgunluğuna gelen pıhtı 2–3 cm³ boyutlarda kesilmiştir. Bir miktar peynir suyu uzaklaştırılıp yaklaşık 30 dakika cendere bezi içerisinde süzildikten sonra cendere bezlerinin karşılıklı uçları bağlanmış ve kademeli olarak 3 saat süreyle baskı işlemi uygulanmıştır (0.01–0.03 kg/cm²). Baskı işlemi tamamlandıktan sonra, kalıplama işlemine geçilmiş ve 8.0 cm boyutlarında kübik biçimde kesilmiştir. Elde edilen kalıplar, % 14'lük (NaCl) salamurda 12 saat bekletildikten sonra, teneke ambalajlara yerleştirilmiştir. Peynir kalıplarının üzerlerini kaplayacak şekilde % 14'lük salamura ile doldurulmuş ve teneke kapatılmıştır. Peynirler, 90 gün süre ile 7±1 °C'de olgunlaştırılmıştır. Olgunlaştırmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde peynirler 3.2.3.'te belirtilen analizleri yapılmıştır.

3.2.2. Çiğ Süt ve Peyniraltı Suyunda Yapılan Analizler ve Peynir Randımanı

3.2.2.1. Titrasyon Asitliği

Alkali titrasyon yöntemine göre yapılmıştır. Sonuçlar % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (Anon., 1994).

3.2.2.2. pH Değeri

pH değerleri Inolab WTW (Weilheim, Germany) dijital pH metre ile saptanmıştır.

3.2.2.3. Kurumadde Oranı

Belirli miktarlardaki örneklerin 100 ± 2 °C’de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak belirlenmiştir. Sonuçlar % (w/w) olarak ifade edilmiştir (Anon., 1994).

3.2.2.4. Yağ ve Yağsız Kurumadde Oranları

Yağ oranları 0–8 taksimatlı özel süt bütirometresi ile Gerber yöntemine göre % olarak belirlenmiştir. (Yöney, 1973; Anon., 1994). Yağsız kurumadde ise, % (w/w) kurumadde oranından % yağ oranının çıkarılması ile hesaplanmıştır.

3.2.2.5. Protein Oranı

Protein oranları, yağ yakmaya tabi tutulan örneklerin mikro Kjeldahl yöntemi ile azot miktarlarının saptanması yardımı ile bulunmuştur. Protein oranları, bulunan azot miktarının 6.38 faktörü ile çarpılması ile hesaplanmıştır (IDF, 1993).

3.2.2.6. Peynir Randımanı

Sütün, peynirin ve peyniraltı suyunun bileşimleri dikkate alınarak Yetişmeyen (1995) tarafından bildirilen yöntemle göre hesaplanmıştır. Sonuçlar, 100 kg sütten elde edilen kg peynir olarak randıman ve elde edilen peynirlerin kurumadde oranlarının % 40 olduğu durumundaki randıman olmak üzere iki türlü ifade edilmiştir.

3.2.3. Peynir Analizleri

Örneklerin fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve duyu analizleri depolamanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde aşağıda belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Her bir analiz, en az iki paralel olarak çalışılmıştır.

3.2.3.1. Titrasyon Asitliği

Alkali titrasyon yöntemi yapılmış ve sonuç % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (Anon., 1995).

3.2.3.2. pH Değeri

10 g rendelenmiş peynir ile 10 ml saf su karıştırılarak Ultra Turrax blenderde (Janke & Kunkel KG, IKA, WERK) homojenize edilmiştir. Hazırlanan homojen karışımın pH'sı, Inolab WTW (Weilheim, Germany) pH ile ölçülmüştür (Hannon ve ark, 2003).

3.2.3.3. Kurumadde Oranı

Peynirlerin kurumadde oranları, belirli miktarlardaki örneklerin 100 ± 2 °C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak (% w/w) belirlenmiştir (IDF, 1982).

3.2.3.4. Yağ ve Kurumaddede Yağ Oranları

Örneklerin yağ oranları, 0–40 taksimatlı özel peynir bütirometreleri ile Van Gulik butirometresi ile Gerber yöntemine göre yapılmıştır (Kotterer ve Münch, 1978). Kurumaddede yağ;

$$\% (w/w) \text{ kurumaddede yağ} = \% \text{ yağ} \times 100 / \% \text{ kurumadde}$$

eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.5. Protein ve Kurumaddede Protein Oranları

Protein oranları, yağ yakmaya tabi tutulan örneklerin mikro Kjeldahl yöntemi ile azot miktarlarının saptanması yardımı ile bulunmuştur. Protein oranları, bulunan azot miktarının 6.38 faktörü ile çarpılması ile hesaplanmıştır (IDF, 1993). Kurumaddede protein oranları ise;

$$\% \text{ kurumaddede protein} = \% \text{ protein} \times 100 / \% \text{ kurumadde}$$

eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.6. Tuz ve Kurumaddede Tuz Oranları

Tuz oranları Mohr titrasyon yöntemine göre, hazırlanan örneğin ayarlı 0.1 N AgNO₃ ile titrasyonu sonucu belirlenmiştir (Bradley ve ark, 1993). Sonuçlar % (w/w) olarak ifade edilmiştir. Kurumaddede tuz oranı ise;

$$\% \text{ kurumaddede tuz} = \% \text{ tuz} \times 100 / \% \text{ kurumadde}$$

eşitliğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.7. Penetrometre Değeri ve Sertlik İndeksi

Peynir örneklerinin penetrometre değerleri, 94.5 g ağırlığındaki konik başlığın peynir kitlesine 5 saniye sürede batma derinliği ölçülerek bulunmuştur (Güven ve Konar, 1996). Bu amaçla SUR BERLIN PNR 6 marka penetrometreden yararlanılmıştır. Sertlik indeksleri ise, kullanılan konik başlığın ağırlığının (94.5 g) penetrometre değerine bölünmesi ile belirlenmiştir (Öztürk, 1993).

3.2.3.8. Toplam Serbest Yağ Asitleri

Peynirlerden yağ ekstraksiyonu Nunez ve ark. (1986) ve Balcı (1994) tarafından belirtilen yöntemlere göre bazı küçük modifikasyonlarla yapılmış ve sonuçlar 100 g peynir yağındaki g oleik asit (%) cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla; küçük parçalar halinde rendelenmiş peynir örneğinden 10 g tartılmış ve üzerine 6 g susuz Na₂SO₄ (Merck, Darmstadt, Germany) ilave edilmiştir. Bir havan içerisinde iyice ezilmiş ve peynir ile Na₂SO₄'ün iyice karışması sağlanmıştır. Daha sonra karışım, şilifli-kapaklı erlene alınmış ve 60 ml dietileter (Merck, Darmstadt, Germany) ilave edilerek 1 saat bekletilmiştir. Bu süre içerisinde karışım her 15 dakikada geçtikten sonra 1 dk süre ile karıştırılmıştır. Sıvı kısım filtreden (Schleicher & Schuell 589/2, beyaz bant) geçirilmiş ve katı kısımdaki muhtemel yağ kalıntıları, her defasında 20 ml dietileter ilave edilerek 3 kez çözündürülmüş ve şilifli-kapaklı erlende toplanmıştır. Erlende toplanan dietileter-yağ karışımından, dietileter 50 °C'de bir rotary evaporator (Buchi Rotavapor-RE, CH-9230 Flawil, Swiss) yardımı ile vakum altında uzaklaştırılmıştır. Yağ içerisindeki dietil-eter tamamen uçurulduktan sonra, balon içerisindeki yağ bir erlene tartılmış ve 10 ml dietileter:etilalkol karışımı (1:1) ilave edilerek 0.05 N etilalkolde hazırlanmış KOH ile % 1'lik feneolftalein ile titre edilmiştir. Şahit deneme yapıldıktan sonra, aşağıdaki formül yardımı ile serbest yağ asitleri hesaplanmış ve sonuçlar % oleik asit cinsinden ifade edilmiştir.

$$\% \text{ Oleik asit (g/100 g yağ) } = \frac{[\text{ml KOH (V}_1\text{-V}_0\text{)} \times 282 \times F \times 0.5]}{\text{örnek (g)} \times 100}$$

V₁ : Örnek için harcanan KOH, ml

V₀ : Şahit denemede harcanan KOH, ml

282 : Oleik asitin molekül ağırlığı, g/mol

F : 0.05 N KOH çözeltisinin faktörü

3.2.3.9. Suda Çözünen Azot Oranı ve Olgunlaşma Derecesi

Kuchroo ve Fox (1982)'de belirtilen yöntemle göre suda çözünen azotlu maddelerin ayrılması sağlanmıştır. Bu amaçla, 20 g peynir örneği 40 ml su ile karıştırılıp Ultra Turrax blender (Janke & Kunkel KG, IKA, WERK) kullanılarak 2 dakika homojenize edilmiştir. Karışım 40 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulmuş ve ardından 3000 × g'de ve +4 °C'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası, üst kısımdaki yağ tabakası bir spatül ile uzaklaştırıldıktan sonra, sıvı kısım Schleicher & Schuell 589/2 beyaz bant filtre kağıdından süzölmüştür. Filtrattan 10 ml alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile (IDF, 1993) suda çözünen azot oranı saptanmıştır. Kalan filtrat diğer analizler için kullanılmak üzere ayrılmıştır. Sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre bulunmuştur.

$$\% \text{ Suda çözünen azot (w/w)} = \frac{[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N \times F]}{m}$$

V_1 : Örnek için harcanan HCl, ml

V_0 : Kör denemede harcanan HCl, ml

N : HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

F : HCl çözeltisinin faktörü

m : Örnek miktarı, g

Suda çözünen azot oranının toplam azota oranı olarak ifade edilebilen olgunluk derecesi aşağıdaki formül yardımı ile hesaplanmıştır (Uraz ve Şimşek, 1998).

$$\text{Olgunlaşma Derecesi} = \frac{\% \text{ Suda Çözünen Azot}}{\% \text{ Toplam Azot}} \times 100$$

3.2.3.10. % 12 Trikloroasetik Asitte (TCA) Çözünen Azot Oranı

Suda çözünen azot analizinde hazırlanan filtrattan 25 ml alınmış ve eşit hacimde % 24'lük (w/v) TCA çözeltisi karıştırılarak (son TCA konsantrasyonu % 12 olacak şekilde) oda sıcaklığında 2 saat tutulmuştur. Daha sonra, karışım Schleicher & Schuell 589/2 beyaz bant filtre kağıdından süzölmüş ve filtrattan 25 ml alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile (IDF, 1993) TCA'da çözünür kısmın azot içeriği saptanmıştır (Polychroniadou ve ark, 1999). Sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre bulunmuştur.

$$\% 12 \text{ TCA'da çözünen azot (w/w)} = \frac{[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N \times F]}{m}$$

- V_1 : Örnek için harcanan HCl, ml
 V_0 : Kör denemede harcanan HCl, ml
 N : HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi
 F : HCl çözeltisinin faktörü
 m : Örnek miktarı, g

% 12 TCA'da çözünen azot cinsinden olgunlaşma derecesi ise, yukarıda elde edilen değerin toplam azota oranlanması ile hesaplanmıştır.

$$\text{Olgunlaşma Derecesi} = \frac{\% 12 \text{ TCA'da çözünen azot}}{\% \text{ Toplam azot}} \times 100$$

3.2.3.11. % 5 Fosfotungstik Asitte (PTA) Çözünen Azot Oranı

Jarrett ve ark. (1982)'de belirtilen yönteme göre, suda çözünen azotta hazırlanan filtrattan 5 ml alınmış ve üzerine 3.5 ml 3.95 M H₂SO₄ çözeltisi ile 1.5 ml

% 33.3'lük (w/v) PTA çözeltisinden ilave edilmiştir. Karışım +4 °C'de bir gece bekletildikten sonra, Schleicher & Schuell 589/2 beyaz bant filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen süzöntünün azot içeriği mikro-Kjeldahl metodu ile (IDF, 1993) saptanmıştır. Sonuçlar aşağıdaki eşitliğe göre bulunmuştur.

$$\% 5 \text{ PTA'da çözönen azot (w/w)} = \frac{[1.4 \times (V_1 - V_0) \times N \times F]}{m}$$

V_1 : Örnek için harcanan HCl, ml

V_0 : Kör denemede harcanan HCl, ml

N : HCl'nin standart volumetrik çözöltisinin normalitesi

F : HCl çözöltisinin faktörü

m : Örnek miktarı, g

% 5 PTA'da çözönen azot cinsinden olgunlaşma derecesi ise, yukarıda elde edilen değerin toplam azota oranlanması ile hesaplanmıştır.

$$\text{Olgunlaşma Derecesi} = \frac{\% 5 \text{ PTA'da çözönen azot}}{\% \text{ Toplam azot}} \times 100$$

3.2.3.12. Kazein Azotu Oranı

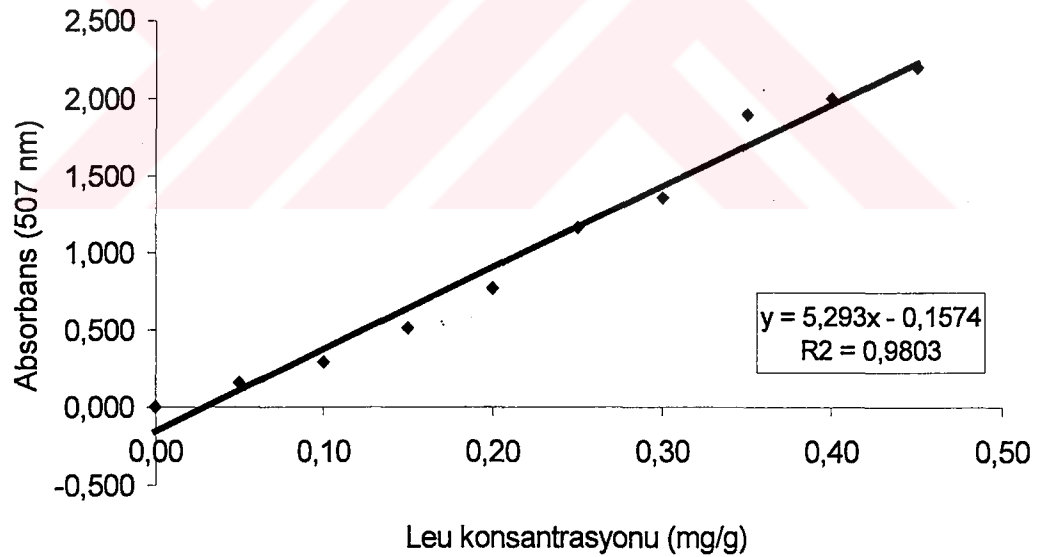
Toplam azot oranından suda çözönen azot oranının çıkarılması ile hesaplanmış ve sonuçlar % azot üzerinden ifade edilmiştir (Argumosa ve ark, 1992).

3.2.3.13. Proteoz-Pepton Azotu Oranı

Suda çözönen azot oranından % 12 TCA'da çözönen azot oranının çıkarılması ile hesaplanmış ve sonuçlar % azot üzerinden ifade edilmiştir (Argumosa ve ark, 1992).

3.2.3.14. Toplam Serbest Amino Asit Miktarı

Analiz, Doi ve ark. (1981)'de belirtilen metodun, Folkertsma ve Fox (1992) tarafından uygulandığı şekliyle yapılmıştır. Cd–Ninhidrin çözeltisi (0.8 g ninhydrin, 80 ml etanol ve 10 ml asetik asit karışımında çözündürülmüş ve elde edilen karışıma 1 ml suda çözündürülmüş CdCl_2 ilave edilmiştir) ile hazırlanan örneğin absorbansı 507 nm'de ölçülmüştür. Bu amaçla, suda çözünen azot analizinde elde edilen ekstraktan 10–100 ml (beklenen serbest amino asit miktarına göre) alınmış ve saf su ile 1 ml'ye tamamlanıp üzerine 2 ml Cd–Ninhidrin çözeltisi eklenmiştir. Karışım 84 °C'de 5 dakika tutulduktan sonra soğutulmuş ve 507 nm'deki absorbansı uv–spektrofotometrede (Shimadzu, UV–1201, Japan) okunmuştur.



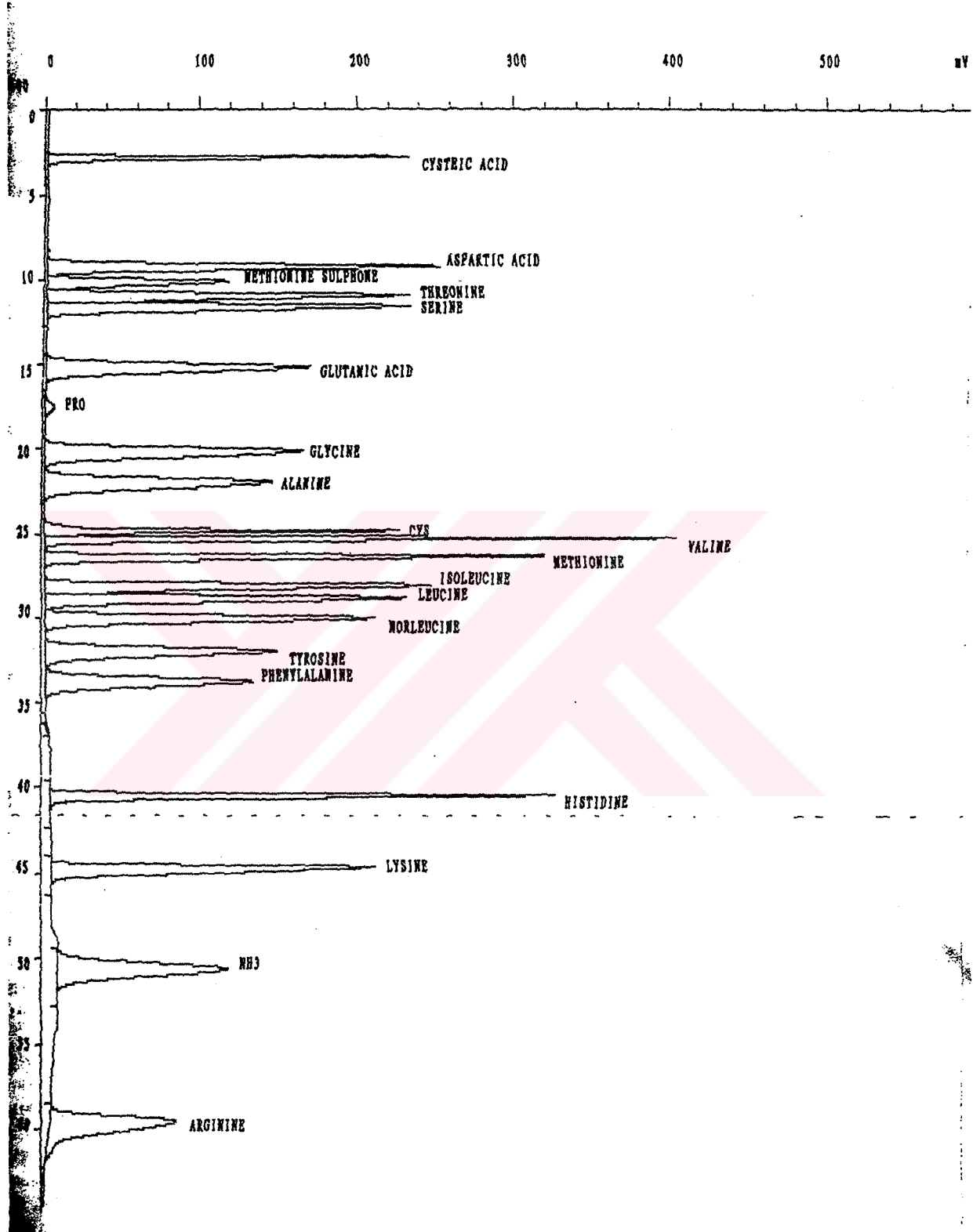
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda Leu standardına karşı elde edilen absorbans değerleri

Örneklerin toplam serbest amino asit içerikleri, Şekil 3.2'deki denklemde gösterildiği gibi farklı konsantrasyonlarda (x) hazırlanan Leu standardına karşılık 507 nm'de okunan absorbans değerleri (y) grafiğe geçirilmiştir. Buradan elde edilen standart eğriye göre peynirlerde bulunan toplam serbest amino asit miktarları mg Leu/g peynir cinsinden hesaplanmıştır.

3.2.3.15. Amino Asit Kompozisyonu

Peynirlerin amino asit kompozisyonları, olgunlaşmanın sadece 60. gününde belirlenmiştir. Belirli miktarda pH 4.6'da çözünen fraksiyonla eşit hacimde % 24'lük TCA (w/v) ile karıştırılmış ve karışım oda sıcaklığında 10 dk tutulduktan sonra $14000 \times g$ 'de santrifüj edilmiştir (Microcentaur, MSE, UK). Filtrat 1.2 M sodyum sitrat tamponu (pH 2.2) ile her bir amino asit kalıntısından yaklaşık 250 nmol içerecek şekilde seyreltilmiştir. Örnekler, 1:2 oranında norleucine (iç standart madde) ile karıştırılmış ve 1 ml enjeksiyon hacmi için her bir amino asit kalıntısından yaklaşık 125 nmol olacak şekilde konsantrasyon ayarlanmıştır.

Örnekler 120×4 mm katyon değiştirici kolonda Beckman 6300 High Performance Amino Acid Analyser (Beckman Instruments Ltd., High Wycombe, UK) ile analiz edilmiştir. Amino asitler, post-column ninhidrin türevi iyon değiştirici kromatografi yardımı ile ayrılmışlardır. Tüm amino asitler görünür kolorimetrik yöntemle (visible colorimetric detection) 570 nm'de, sadece Prolin amino asiti 400 nm'de belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar, Minichrom veri elde edici sistem (VG Data Systems, Altrincham, Cheshire, UK) kullanılarak kaydedilmiş ve sonuçlar mg/100 g peynir olarak ifade edilmiştir. Şekil 3.3'te peynirlerin amino asit kompozisyonunu belirlemede elde edilen örnek bir kromatogram gösterilmiştir



Şekil 3.3. Peynirlerin amino asit kompozisyonunu belirlemede elde edilen örnek bir kromatogram

3.2.3.16. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler, kazein fraksiyonları ile α_s1 - ve β -kazeinin hidroliz durumunu saptamak amacıyla urea-PAGE, peynirlerin peptid profillerini belirlemek amacıyla da RP-HPLC analizleri yapılmıştır. Peynirlerin olgunlaşma sürecinde, pH 4.6'da çözünen ve çözünmeyen olarak iki fraksiyona ayrılmıştır. Olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE kullanılarak kazein fraksiyonları, çözünen fraksiyonların ise RP-HPLC kullanılarak peptid profilleri belirlenmiştir. Olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde pH 4.6'da çözünen fraksiyonlar, % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen olarak iki alt-fraksiyona ayrılmıştır. % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonların RP-HPLC peptid profilleri ile % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE analizleri yapılmıştır. Bu amaçla, örnekler aşağıda açıklandığı şekilde analizlere hazırlanmış ve analizleri yapılmıştır.

3.2.3.16.(1) Ekstraksiyon ve Fraksiyonasyon

a) pH 4.6'da Ekstraksiyon

20 g rendelenmiş peynir örneği 40 ml saf su ile Colworth Stomacher 400 (Seward Laboratory, UK) kullanılarak 5 dk süre ile homojenize edilmiştir. Homojenatın pH'sı 1 M HCl kullanılarak pH 4.6'ya getirilmiştir ve oda sıcaklığında (~21 °C) 30 dk bekletildikten sonra pH tekrar kontrol edilerek aynı düzeye getirilmiştir. Elde edilen homojenat 40 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulmuştur. Bu süre sonunda, pH 4.6'da çözünen ve çözünmeyen fraksiyonlar soğutmalı (+4 °C) bir santrifüjde (model RC5C, Sorvall, Wilmington, USA) 3000 × g'de 30 dk süre ile santrifüj edilmiştir. Daha sonra, pH 4.6'da çözünen kısım Whatman No. 113 filtre kağıdından geçirilmiş ve peptid ve amino asit analizleri için örnekler ayrılmıştır. pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlar (pellet) urea-PAGE analizi için dondurularak kurutulmuştur.

b) % 70 Etanol ile Alt Fraksiyonlara Ayırma

20 ml pH 4.6'da çözünen fraksiyon ile 46.7 ml susuz etanol karıştırılmıştır. Böylece, pH 4.6'da çözünen fraksiyon etanolde çözünen (daha küçük molekül ağırlıklı ve hidrofilik peptidler) ve etanolde çözünmeyen (daha büyük molekül ağırlıklı ve hidrofobik peptidler) alt fraksiyonlara ayrılması sağlanmıştır. Karışım oda sıcaklığında (~ 21 °C) 30 dk tutulmuştur ve daha sonra 3000 × g'de 20 °C'de 30 dk süre ile santrifüj (model RC5C, Sorvall, Wilmington, USA) edilmiştir. Elde edilen filtrat (etanolde çözünen peptidleri içeren fraksiyonlar) Whatman No. 1 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüş ve karışımdaki etanol bir rotary evaporatör (Bibby Sterelin Ltd., Stone, UK) kullanılarak vakum altında 30 °C'de uzaklaştırılmıştır. Pellet (etanolde çözünmeyen fraksiyonları içeren fraksiyonlar) suda disperse edildikten sonra peptid analizi için dondurularak kurutulmuştur.

3.2.3.16.(2) Üre-Poliakrilamid Jel Elektrophorez (urea-PAGE) ile Kazein Fraksiyonlarının Belirlenmesi

Peynir örneklerinin pH 4.6'da ve % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE (% 12.5 C, % 4 4 T, pH 8.9) elektroforetik analizleri yapılmıştır. Urea-PAGE Andrews (1983)'in önerdiği ve Shalabi ve Fox (1987) tarafından kısmî olarak modifiye edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Elektrophorez PROTEAN II XI dikey slab-jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) kullanılarak yapılmış ve elde edilen jeller Blakesley ve Boezi (1977)'de belirtildiği gibi Coomassie Brilliant Blue G250 ile direkt olarak boyanmıştır. Jelin hazırlanışı ve elektroforezin uygulanması aşağıda belirtildiği şekilde yapılmıştır.

a) Stok Çözeltilerin Hazırlanması*Akrilamid çözeltisi:*

Saf suda % 40 (w/v) konsantrasyonunda hazır olarak (Merck, Darmstadt, Germany) kullanılmıştır.

Stacking jel tamponu:

4.15 g tris (hydroxymethyl) aminomethane, 150 g üre, 2.2 ml konsantre HCl saf suda çözülmüş ve 500 ml'ye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı HCl ile 8.9'a ayarlanmıştır.

Separating jel tamponu:

32.15 g tris (hydroxymethyl) aminomethane, 192.85 g üre, 2.86 ml konsantre HCl saf suda çözülmüş ve 500 ml'ye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'sı HCl ile 8.9'a ayarlanmıştır.

Elektrot tamponu: 15 g tris (hydroxymethyl) aminomethane, 73 g glycine saf suda çözülmüş ve 5 L'ye tamamlanmıştır.

Örnek tamponu:

0.75 g tris (hydroxymethyl) aminomethane, 49 g üre, 0.4 ml konsantre HCl, 0.7 ml 2-mercaptoethanol, 0.15 g bromophenol blue saf suda çözülmüş ve 100 ml'ye tamamlanmıştır.

Amonyum persulfat:

Saf suda % 10 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanmış ve 1'er ml eppendorf tüplerine konulmuştur ve daha sonra kullanılmak üzere -20 °C'nin altında dondurulmuştur

Boyama çözeltisi:

Coomassie Brilliant Blue G250 % 0.2 (w/v) konsantrasyonda hazırlanmış ve eşit hacimde 1 M H₂SO₄ ile karıştırıldıktan sonra bir gece bekletilmiştir. Ardından çözelti Whatman No. 1 filtre kağıdından süzölmüş ve 9:1 oranında 10 M KOH ile karıştırılmıştır. Daha sonra çözeltiye % 12 oranında trikloroasetik asit ilave edilmiştir.

b) Jel Çözeltilerinin Hazırlanması*Stacking jel çözeltisi:*

5 ml acrylamid çözeltisi, 45 ml stacking jel tamponu, 0.1 g N,N,N',N'-methylene bisacrylamide karıştırılmış ve Whatman No. 113 filtre kağıdından

geçirilmiştir. Elde edilen filtrata, 25 µl N,N,N',N'-tetramethyleethylene diamine (TEMED) ilave edilmiştir.

Separating jel Çözeltisi:

22.5 ml acrylamide çözeltisi, 52.5 ml separating jel tamponu 0.375 g N,N,N',N'-methylene bisacrylamide karıştırılmış ve Whatman No. 113 filtre kağıdından geçirilmiştir. Elde edilen filtrata, 37.5 µl N,N,N',N'-tetramethyleethylene diamine (TEMED) ilave edilmiştir.

c) Örneğin Hazırlanması

Dondurularak kurutulmuş örnekten 10 mg alınarak 1 ml örnek tamponunda çözölmüştür.

d) Elektroforezin Uygulanması

Elektroforez ünitesi, üretici firmanın (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) önerdiği biçimde kurulmuştur. Elektroforeze başlamadan hemen önce başlangıç polimerizasyonunu sağlamak için, separating jel çözeltisine 282 µl amonyum persülfat ilave edilmiştir. Stacking jel çözeltisi, her iki jel ünitesine dökölmüş ve jel seviyesi, jel tarakları yerleştirildiğinde tarakların uç kısmından yaklaşık 1 cm aşağıda olacak şekilde ayarlanmıştır. Jelin üzerine saf su ilave edilmiş ve jel tamamıyla polimerize oluncaya kadar beklenilmiştir (~45 dk). Daha sonra üst kısımdaki su dikkatli bir şekilde dökölmüştür. Stacking jel çözeltisine 300 µl amonyum persülfat ilave edildikten sonra jel ünitesine dökölmüş ve taraklar uygun pozisyonda yerleştirilmiştir. Çözelti polimerize olması için yeterli süre beklenilmiştir (polimerizasyon görölünceye kadar, yaklaşık 45–60 dk). Polimerizasyondan sonra, taraklar çıkarılmış ve jeller içinde yeterli miktarda elektrot tamponu bulunan jel ünitesine yerleştirilmiştir. Elektroforez sistemi soğuk su ile sirküle edilerek soğutulmuştur. Jellere 30 dk süre ile 280 V elektrik akımı uygulandıktan sonra, Na-kazeinat (standart) ve peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen ekstraktları özel şırınga ile jel kuyucuklarına enjekte edilmiştir. Örnekler, önce stacking jel tamponu

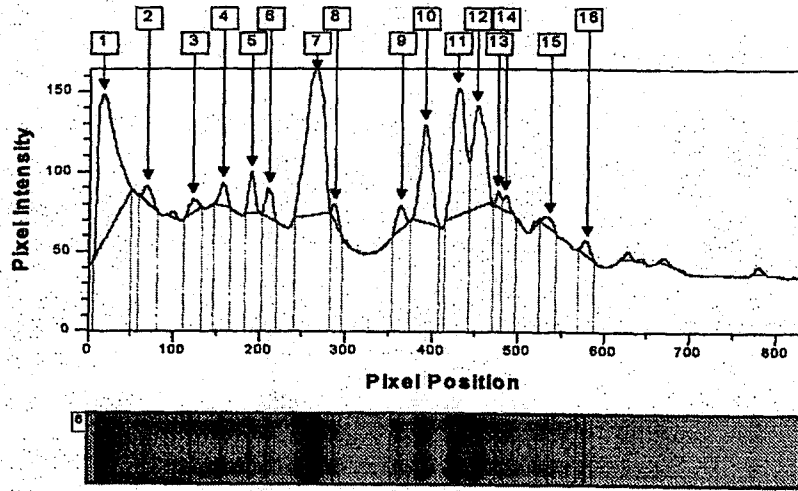
boyunca 280 V'de, separating jel tamponu boyunca 300 V'de yürütülmüştür. Örneklerin jelde yürütülmesi, boya izinin jel ünitesinin dip kısmına gelinceye kadar devam etmiştir.

e) Jelin Boyanması

Elde edilen jeller, Blakesley ve Boezi (1977)'nin önerilerine göre hazırlanan jel boyama çözeltisine daldırılmış ve burada bir gece bekletilmiştir. Bu sürede jelde bulunan proteinlerin yoğunluklarına göre boya ile kompleks oluşturmaları sağlanmıştır. Ardından, jeller saf suya daldırılarak bant dışında kalan kısımlardaki boyanın giderilmesi sağlanmıştır.

f) Dansitometri

Boya giderildikten sonra elde edilen jeller bir Scanner (HP ScanJet software, ScanJet 6300C, Hewlett Packard, City, USA) kullanılarak taranmıştır. Elektroforetik bantların yoğunluğu dansitometre (Image Master, TotalLab 1D Gel analysis v1.11 software, Amersham, Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) kullanılarak belirlenmiştir. Kazein fraksiyonları ve bunların ilgili fragmentleri, standart olarak kullanılan Na-kazeinat ve McSweeney ve ark. (1994)'te belirtildiği şekilde bantların yeri saptanmış ve bu bantlar dansitometrik integrasyonlar kullanılarak kantitatif olarak belirlenmiştir. Şekil 3.4'te bir elektroforetogramın dansitometrik pikleri ve bantların tanımlamaları verilmektedir. Dansitometre ile elektroforetik bantla ait piklerin alanları ve hacimleri okunmuştur.



Şekil 3.4. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramlarının dansitometrik profili. Bantlar McSweeney ve ark, 1994'te belirtildiği şekilde belirlenmiş ve bantların dansitometrik okumaları ayrıca Çizelge 4.27'de gösterilmiştir. Bantlar: 1-3: -, 4. γ_2 -kazein (β -kazein f106-209); 5. γ_1 -kazein (β -kazein f29-209); 6. γ_3 -kazein (β -kazein f 108-209); 7. β -kazein; 8. β -I- kazein (β -kazein f1-192); 9. (β -kazein f 1-?); 10. α_{s1} -kazein; 11. α_{s1} -kazein (f102-199); 12. α_{s1} -I-kazein (α_{s1} -kazein f24-199); 13-16. α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri.

3.2.3.16.(3) Ters-Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) ile Peptid Analizleri

pH 4.6'da çözünen, % 70'lik etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonların peptid analizleri Varian HPLC sistemi (Varian Associates Inc., Walnut Creek, CA, USA) kullanılarak RP-HPLC ile belirlenmiştir. Sistemi oluşturan birimler ve özellikleri aşağıda verilmiştir:

- Otomatik örnek alıcı (autosampler, model 410)
- 3 pompalı ProStar çözücü dağıtım sistemi (Prostar solvent delivery system, model 230)

- Bir PC sistemine bağlı ProStar programlanabilir spektrofotometre (model 310)
- Veri elde etme ve sistemi kontrol etmeye yarayan paket program (Varian Star Workstatiton 5 software)
- Nucleosil RP-8 (250 × 4 mm, 5 µm patikül boyutu, 300 Å gözenek boyutu) analitik ve guard kolon (4.6 × 10 mm) (Capital HPLC Ltd., Broxburn, West Lothian, UK).

a) Kullanılan Çözeltiler;

- (A): % 0.1 (v/v) trifloroasetik asit (TFA, sequencing grade; Sigma St Louis, USA) deiyonize HPLC kalitesindeki suda (Milli-Q system, Waters Corp., Molshem, France) hazırlanmıştır.
- (B): % 0.1 (v/v) TFA acetonitrilde (HPLC grade, Lab-Scan Ltd., Dublin, Ireland) hazırlanmıştır ve çözeltinin akış hızı 0.75 ml/dk olacak şekilde ayarlanmıştır.

b) Örneklerin Sistemde Analizi

Dondurularak kurutulmuş pH 4.6'da çözünen, % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen faksiyonlardan 10 mg tartılmış ve 1 ml (A) çözücüsünde çözündürülmüştür. Daha sonra, 0.45 µm selüloz asetat filtreden (Sartorius GmbH, Göttingen, Germany) geçirilmiş ve bu filtrattan 40 µL örnek sisteme enjekte edilmiştir. Örnekler başlangıçta 5 dk süre ile % 100 (A) çözücüsü ile geçirilmiş ve daha sonra 55 dk % 0-50 (B) çözücüsü ile geçirildikten sonra 6 dk süre ile % 50 (B) çözücüsünde tutulmuştur (Çizelge 3.1). Ardından 4 dk süre ile % 50-60 (B), ve son olarak 3 dk % 60 (B) çözücüsünden geçirilmiştir. Kolon 5 dk süre ile % 95 (B) çözücüsü ile yıkandıktan sonra, bir sonraki enjeksiyon için % 100 (A) ile kalibre edilmiştir. Kromatografi 214 nm'de gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3.1. RP-HPLC analizinde (A) ve (B) çözeltilerinin kromatografi süresi içerisinde kolondan geçiş oranları

Süre (dk)	A çözeltisi (%)	B çözeltisi (%)
0	100	0
5	100	0
60	50	50
66	50	50
70	40	60
73	40	60
75	5	95
77	5	95
78	100	0
101	100	0

3.2.3.17. Duyusal Analizler

TS 591 Beyaz peynir standardında (Anon., 1995) belirtildiği şekilde, 5 kişilik uzman panelist tarafından, olgunlaşmanın 1. 15., 30. 60. ve 90. günlerinde duyusal değerlendirme yapılmıştır. Panelistlere 3 ayrı duyusal değerlendirme formu (Çizelge 3.2, 3.3, 3.4) sunulmuştur. Çizelge 3.2'deki formda, sayısal değerlendirme yapılmış, Çizelge 3.3'te panelistlerden örnekleri beğenilerine göre sıralamaları, Çizelge 3.4'te gösterilen formda ise örnekleri kontrol peynirine göre karşılaştırmaları istenmiştir.

3.2.4. İstatistiksel Analizler

Araştırma üç farklı uygulama (A, B ve C peynirleri) ve üç tekerrür olarak yürütülmüş ve tesadüf parselleri deneme planına uygun olarak düzenlenmiştir. Peynirlerin bileşim analizleri, azot fraksiyonları, sertlik indeksi, toplam serbest amino asit ve toplam serbest yağ asitleri oluşumunda starter bakteri farklılığının ve depolama süresinin etkilerini belirlemek amacıyla varyans analizi (ANOVA)

uygulanmıştır. ANOVA, genel doğrusal model (general linear model, GLM) yöntemi ile SAS version 6.12 paket programı (SAS®, 1995) kullanılarak yapılmıştır. ANOVA sonucunda önemli olan veriler Duncan çoklu karşılaştırma testine göre en az $p < 0.05$ önem düzeyinde test edilmiş ve peynirler gruplandırılmıştır. Peynirlerin bileşim özellikleri ile fiziksel ve biyokimyasal özellikleri bölünmüş parsellere (split plot design) göre düzenlenmiştir. Ana parsel faktörü (main plot factor) starter uygulamaları (A, B ve C), alt parsel faktörü (sub-plot factor) ise olgunlaşma süresi (1., 15., 30., 60. ve 90. gün) olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca ana parsel $\times$ alt parsel (uygulama $\times$ olgunlaşma süresi) etkileşimi de yapılmıştır. Bölünmüş parsel düzeni için yine ANOVA analizi, SAS version 6.12 paket programı (SAS®, 1995) kullanılmış ve GLM yönteminden yararlanılmıştır. Uygulamalar arasında istatistiksel olarak önemli ($P < 0.05$) fark olup olmadığı Fisher'in LSD testine göre belirlenmiştir.

pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE analizi sonrasında elde edilen dansitometrik değerler çok değişkenli istatistiksel analiz tekniği (multivariate statistical technique) kullanılarak test edilmiştir. Sodyum kazeinat standardına ait bantlar baz alınarak, örneklerin elektroforezi ile elde edilen bantlar McSweeney ve ark. (1994)'te belirtildiği şekilde tanımlanmıştır. İlgili bantların pik alanları ve hacimleri dansitometrede ölçülmüş ve elde edilen değerler temel bileşen analizi (Principal Component Analysis, PCA) için veri olarak kullanılmıştır. pH 4.6'da çözünen ve % 70'lik etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonların RP-HPLC kromatogramlarının istatistiksel değerlendirilmesinde yine çok değişkenli istatistiksel analiz tekniği kullanılmıştır. Kromatogramlardaki piklerin yükseklikleri ölçülmüş ve bu değerler istatistiksel analiz için veri olarak kullanılmıştır. Pik yükseklikleri, ilgili kromatogramların ASCII dosyalarına dönüştürülmesi ile elde edilmiştir. PCA kovaryans matrisi ve varimax rotasyon kullanılarak yapılmıştır. Aynı zamanda verilerin kümeleme analizleri (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) de yapılmıştır (Pripp ve ark, 1999; Pripp ve ark, 2000a). İstatistiksel analizler, SPSS version 11.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Duyusal analizlerden elde edilen sonuçlara SPSS version 10.0 programındaki Non-parametrik testlerden Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır (Düzgüneş ve ark, 1987).

Çizelge 3.2. Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu I

Tarih : / / 2002

Panelistin Adı:

Özellik	Puan	PEYNİRLER		
		A	B	C
Görünüş (20 tam puan)				
- Kendine özgü parlak beyaz, homojen ve düzgün prizmatik görünümlü bozulmamış kalıp	20			
- Mat, soluk beyaz renk	15			
- Bir örnek olmayan renk dağılımı	10			
- Esmerimsi renk	10			
- Anormal renk	0			
- Kesit yüzeyinde birkaç delik ve gözenek	15			
- Homojen olmayan görünüm	10			
- Küflü görünüm	10			
- Fazla sayıda delik ve gözenek	5			
- Yarık ve çatlak oluşumu	10			
- Düzgün olmayan prizmatik görünüm, bozulmuş kalıp	10			
- Parçalanmış kalıp	5			
Kitle ve Yapı (35 tam puan)				
- Düzgün, pürüzsüz, lekesiz, homojen kesit, fazla sert ve yumuşak olmayan	35			
- Lekeli kesit	25			
- Kuru sert yapı	25			
- Kaygan yapı	25			
- Kumlu yapı	20			
- Kesitte yarık ve çatlak oluşumu	10			
- Dağılabilen yapı	10			
- Elastiki yapı	10			
- Yumuşak ve ıslak yapı	10			
- Erimiş yapı	5			
Koku (10 tam puan)				
- Kendine özgü koku	10			
- Mayamsı koku	8			
- Ekşimsi koku	6			
- Küfümsü koku	4			
- Hayvansal koku	2			
- Yem veya ot kokusu	2			
- Yabancı koku	0			
Tat (35 tam puan)				
- Kendine özgü tat	35			
- Maya tadı	25			
- Pişmiş tat	25			
- Ekşi tat	20			
- Tatlımsı tat	20			
- Tuzlu tat	20			
- Yavan tat	20			
- Metalik tat	15			
- Küflü tat	10			
- Amonyak tadı	10			
- Acı tat	5			
- Ransit tat	5			
- Yabancı tat	5			

Çizelge 3.3. Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu II

SINIFLAMA	
TARİH	:
PANELİSTİN ADI	:
Size sunulan örnekleri karşılaştırarak, beğeninize göre sıralama yapınız.	
<u>Sırası</u>	<u>Örnek Kodu</u>
Birinci	
İkinci	
Üçüncü	

Çizelge 3.4. Beyaz Peynirlerde Duyusal Değerlendirme Formu III

KONTROLA GÖRE FARK			
TARİH	:		
PANELİSTİN ADI	:		
1. Size kıyaslamanız için 3 adet peynir örneği sunulmuştur. Kıyaslamaya esas olmak üzere kontrol örneği ile birlikte verilmiştir. Örnekleri; kontrol örneğiyle aşağıda verildiği şekilde karşılaştırınız.			
Örneğin Numarası			
Kontrolden iyi			
Kontrolle aynı			
Kontrolden kötü			
2. Farklılığın derecesini belirtiniz.			
Hiç fark yok			
Az farklı			
Farklı			
Çok farklı			
3. Düşünceler:			

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu bölümde, peynir üretiminde kullanılan çiğ sütün, elde edilen peyniraltı sularının fiziksel ve kimyasal özellikleri, üretilen peynirlerin randımanları, farklı starterlerle ve startersiz olarak yapılan Beyaz peynirlerin 90 günlük olgunlaşma sürecinde meydana gelen fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve duyuşsal özellikler ayrı ayrı incelenmiştir. Starter kullanımının, starter farklılığının ve olgunlaşma süresinin peynirlerin özellikleri üzerine etkileri tartışılmış, bulunan sonuçlar istatistiksel yönden değerlendirilmiş ve bu konuda yapılan başka çalışmalarla da karşılaştırılarak bulgular yorumlanmıştır.

4.1. Çiğ Sütün ve Peyniraltı Sularının Özellikleri ile Peynir Randımanı

Peynir üretiminde kullanılan çiğ inek sütünün, peyniraltı sularının bazı özellikleri ve elde edilen peynirlerin randımanları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çiğ sütlerin pH değerleri ortalama 6.61 olarak, titrasyon asitliği % 0.17 olarak belirlenmiştir. Üretimde kullanılan sütün ortalama kurumadde oranı % 11.83, yağsız kurumadde oranı % 8.18, yağ oranı % 3.65, protein oranı % 3.05 olarak bulunmuştur. Bu konuda yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği’ne göre; çiğ inek sütünde titrasyon asitliğinin % 0.135–0.2 arasında, süt yağı oranının en az % 3.5, toplam protein oranının en az % 2.8, yağsız kurumadde oranının en az % 8.5 olması gerektiği belirtilmektedir (Anon., 2000). Bu değerlerin karşılaştırılması yapıldığında, üretimde kullanılan sütün yağsız kurumadde oranının düşük olduğu görülmüştür. Bu durumun, peynir üretiminin sütlerin kurumaddesinin düşük olduğu ilkbahar aylarında yapılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Kullanılan sütün protein/yağ oranları 0.83 olarak bulunan bu değer, Göllü ve Koçak (1989), Tekinşen (1997) ve Çürük ve ark. (2002)’nin önerdiği değerler arasındadır.

Peyniraltı sularının kimyasal özellikleri peynir üretiminde uygulanan farklı işlem parametrelerine, kullanılan sütün ve elde edilecek peynirin bileşimine göre değişmektedir. A peyniraltı suyunun pH değerinin diğer peynir sularından yüksek ve önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$). B ve C peyniraltı sularında pH

değerleri birbirlerine yakın değerler almıştır. Titrasyon asitlikleri incelendiğinde, en yüksek değeri C peyniraltı suyunun aldığı bunu sırasıyla B ve A peyniraltı sularının izlediği ve aralarındaki farklılığın istatistiksel yönden önemli düzeyde olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Peyniraltı sularının pH ve titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılıklar, starter bakterilerin asit geliştirme yetenekleri ile ilgilidir. Dağdemir (2001), Beyaz peynir üretiminde kullanılan farklı starterlerin, peyniraltı sularının titrasyon asitliği ve pH değerlerinin farklı olmasına neden olduğunu açıklamıştır.

Çizelge 4.1. Beyaz Peynirlerin Üretiminde Kullanılan Çiğ Sütün ve Elde Edilen Peyniraltı Sularının Özellikleri ile Peynir Randımanı

Özellik	Çiğ Süt	Peyniraltı Suları		
		A	B	C
pH	6.61±0.05	6.49±0.03 ^a	5.77±0.42 ^b	5.31±0.35 ^b
Titrasyon Asitliği (% l.a.)	0.17±0.01	0.11±0.00 ^a	0.16±0.04 ^b	0.21±0.03 ^c
Toplam Kurumadde (%)	11.83±0.21	6.69±0.03 ^a	6.65±0.00 ^a	6.68±0.03 ^a
Yağ (%)	3.65±0.05	0.59±0.01 ^a	0.47±0.03 ^b	0.48±0.02 ^b
Yağsız Kurumadde (%)	8.18±0.16	6.10±0.03 ^a	6.19±0.03 ^a	6.20±0.02 ^a
Toplam Protein (%)	3.05±0.04	0.73±0.04 ^a	0.62±0.05 ^b	0.60±0.04 ^b
Protein/Yağ Oranı	0.83±0.01	—	—	—
Peynir Randımanı (%)	—	14.86±1.79 ^a	12.77±1.00 ^b	12.39±1.27 ^b
Peynir Randımanı (%40 KM)	—	16.08±0.85 ^a	15.66±0.69 ^a	15.60±0.87 ^a

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0.05$ düzeyinde farklıdır.

Peyniraltı sularının kurumadde oranları % 6.65–6.69 arasında değişmiştir. Kurumadde oranı, B peyniraltı suyunda en düşük değer alırken (% 6.65), en yüksek değer A peyniraltı suyunda (% 6.69) bulunmuştur. Peyniraltı sularının kurumadde oranları arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemli çıkmamıştır ($p>0.05$). Alpar ve ark. (1985), pastörize sütlerden farklı starterlerle üretilen Beyaz peynirlerin peyniraltı sularının kimyasal bileşim açısından önemli düzeyde farklı olmadığını bildirmişlerdir.

B ve C peyniraltı sularının yağ oranları birbirlerine yakın değerler almış, startersız yapılan A peynirinin peyniraltı suyundaki yağ oranı daha yüksek olmuştur. A peyniraltı suyundaki bu farklılık istatistiksel olarak $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. A peynirinin üretiminde starter kullanılmaması, pH değerinin yüksek olmasına neden olmuş, bu durum telemenin süzülmesi sırasında peyniraltı suyu ile birlikte yağ kaybını da artırmıştır. B ve C peyniraltı sularının protein oranları da birbirlerine çok yakın değerler almış, A örneğinde bu oran biraz daha yüksek çıkmış ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Buradan, peyniraltı suyu ile olan protein kaybını pıhtı asitliğinin etkilediği gerçeği ortaya çıkmaktadır. Peynir pıhtısında asitliğin artması ile sinerezin hızlandığı (Walstra ve ark, 1987) ve peynir suyu ile protein ve yağ kaybının azaldığı belirtilmektedir (Yüzbaşı, 1996). Ancak, yüksek oranda sinerezin pH 4.9'da olduğu, daha yüksek ve düşük pH'larda sinerezin azaldığı belirtilmektedir (Gürsel ve ark, 1994).

Deneme peynirlerinde randıman, endüstriyel olarak üretilenlere göre daha düşük gerçekleşmiştir. A, B ve C peynirlerinde 100 kg süttten elde edilen kg peynir hesabı ile sırasıyla, % 14.86, % 12.77 ve % 12.39 olarak bulunmuştur. Starter kullanılmayan A peynirinde randımanın daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, A peynirinde % nem oranının yüksek olmasından kaynaklanmıştır. Beyaz peynirlerde kurumadde oranının % 40 olması gerektiği esas alınarak randıman hesabı yapıldığında, peynirler arasındaki farklılıkların azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.1). B ve C peynirlerinde kurumadde oranının yüksek olması, starter bakterilerin laktik asit üreterek pH'yı düşürmesinden kaynaklanmıştır. pH'nın düşmesi sonucu oluşan H^+ iyonları, kazeinin negatif yüklü grupları ile nötralize olacağından kazeinin su tutma kapasitesi azalmakta ve böylece pıhtının daha kolay su salması sağlanmaktadır (Tunail, 1983; Walstra ve ark, 1987; Tekinşen, 1997).

4.2. Üretilen Beyaz Peynirlerin Kimyasal ve Fiziksel Özellikleri

Peynirlerin kimyasal ve fiziksel özellikleri ile olgunlaşma sürecinde meydana gelen değişimler standart sapma değerleri ile birlikte toplu olarak Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Fiziksel ve Kimyasal Özellikler

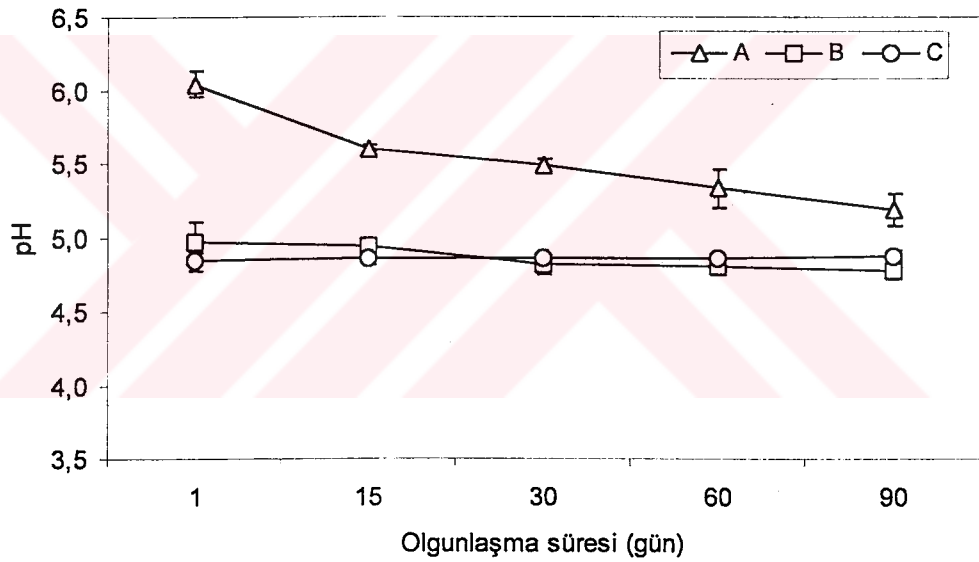
Özellikler	Günler	A	B	C
pH	1	6.04±0.05x ^a	4.97±0.13y ^a	4.84±0.06y ^a
	15	5.59±0.05x ^b	4.94±0.05y ^a	4.85±0.03y ^a
	30	5.48±0.06x ^{cb}	4.81±0.06y ^a	4.85±0.02y ^a
	60	5.33±0.15x ^{cb}	4.80±0.06y ^a	4.86±0.03y ^a
	90	5.19±0.18x ^c	4.78±0.06y ^a	4.87±0.04y ^a
Titrasyon Asitliği (% l.a.)	1	0.51±0.05x ^a	1.55±0.05y ^a	1.68±0.07y ^a
	15	0.73±0.05x ^{ab}	1.52±0.07y ^a	1.72±0.12y ^a
	30	1.03±0.06x ^{bc}	2.02±0.13y ^b	1.90±0.15y ^a
	60	1.23±0.15x ^c	1.98±0.08y ^b	1.84±0.01y ^a
	90	1.21±0.18x ^c	2.07±0.12y ^b	1.73±0.19y ^a
Kurumadde (%)	1	42.61±1.02x ^a	49.19±1.30y ^a	49.53±0.61y ^a
	15	42.44±0.74x ^a	49.13±0.75y ^a	49.87±0.70y ^a
	30	41.37±0.47x ^{ab}	48.26±1.45y ^a	48.84±1.03y ^a
	60	39.47±0.61x ^b	47.79±0.79y ^a	48.37±0.96y ^a
	90	39.92±0.76x ^b	47.60±0.98y ^a	48.25±0.88y ^a
Yağ (%)	1	20.83±0.88x ^{ab}	24.83±1.17y ^a	24.83±1.17y ^a
	15	21.08±0.58x ^a	24.92±0.87y ^a	25.42±0.82y ^a
	30	20.50±0.00x ^{ab}	24.17±0.67y ^a	24.25±0.63y ^a
	60	19.08±0.08x ^b	23.67±0.82y ^a	24.42±0.36y ^a
	90	20.67±0.60x ^{ab}	25.17±0.17y ^a	24.67±0.67y ^a
Kurumaddede Yağ (%)	1	48.88±1.38x ^{ab}	50.43±1.03x ^a	50.10±1.73x ^a
	15	49.69±1.18x ^{ab}	50.69±1.00x ^a	50.96±1.23x ^a
	30	49.57±0.56x ^{ab}	50.12±1.43x ^a	49.64±0.27x ^a
	60	48.04±0.58x ^b	49.51±1.57x ^a	50.49±0.38x ^a
	90	51.76±0.85x ^a	52.89±0.90x ^a	51.11±0.49x ^a
Toplam Protein (%)	1	12.78±0.02x ^a	17.27±0.85y ^a	16.97±0.42y ^b
	15	12.84±0.62x ^a	17.29±0.31y ^a	16.74±0.44y ^a
	30	12.95±0.46x ^a	17.25±0.57y ^a	16.38±0.61y ^{ab}
	60	12.89±0.34x ^a	16.10±0.36y ^{ab}	15.84±0.80y ^b
	90	12.95±0.85x ^a	15.10±0.17y ^b	16.10±0.14y ^{ab}
Kurumaddede Protein (%)	1	30.03±0.78x ^a	35.06±0.80y ^a	34.30±0.48y ^a
	15	30.31±1.74x ^a	35.20±0.58y ^a	33.54±1.39y ^b
	30	31.32±1.22x ^a	35.86±2.21y ^a	33.51±0.59y ^{ab}
	60	32.44±0.79x ^a	33.68±0.21x ^{ab}	32.73±1.10x ^a
	90	32.40±1.62x ^a	31.73±0.42x ^b	33.38±0.43x ^{ab}
Tuz (%)	1	5.59±0.20x ^a	5.65±0.06x ^a	5.78±0.09x ^{ab}
	15	6.44±0.19x ^b	6.30±0.16xy ^a	5.90±0.23y ^a
	30	4.35±0.29x ^d	4.71±0.15x ^b	5.09±0.32x ^{bc}
	60	4.70±0.17x ^{cd}	4.80±0.31x ^b	5.29±0.21x ^{abc}
	90	5.13±0.17x ^{cb}	4.79±0.40x ^b	4.83±0.12x ^c
Kurumaddede Tuz (%)	1	13.14±0.53x ^b	11.47±0.30y ^{ab}	11.68±0.30y ^a
	15	15.16±0.38x ^a	12.83±0.50y ^a	11.82±0.29y ^a
	30	10.50±0.63x ^c	9.78±0.39x ^b	10.42±0.60x ^{ab}
	60	11.83±0.54x ^{cb}	10.05±0.74y ^b	10.95±0.56xy ^{ab}
	90	12.86±0.66x ^b	10.07±0.72y ^b	10.01±0.33y ^b

x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

a,b,c: Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

4.2.1. pH Değerleri ve Titrasyon Asitlikleri

Farklı starter karışımları kullanılarak ve startersız olarak üretilen Beyaz peynirlerin pH değerleri ve depolama süresindeki değişimleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Starter kullanılmayan A peynirinin pH değerinin diğer peynirlerden yüksek ve önemli düzeyde farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). Bu farklılık olgunlaşma süresince devam etmiştir. Lynch ve ark. (1996), Carmona ve ark. (1999) ve Moatsou ve ark. (1999), benzer şekilde starter ilave edilen peynirlerde pH değerinin kontrol peynirlerinden daha düşük olduklarını belirlemişlerdir. Kullanılan farklı starterlerin asitlik geliştirme yeteneklerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür.



Şekil 4.1. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan pH değerleri

A peynirinde, süttten gelen veya peynir yapımı ya da olgunlaşma sırasında çevreden kontamine olan starter olmayan bakteriler gelişerek peynirin pH değerini olgunlaşma süresince düşürmüşlerdir. En hızlı düşüş 1. gün ile 15. gün arasında gerçekleşmiş ve pH değerleri 6.04’ten 5.59’a düşmüştür. A peynirinde olgunlaşmanın diğer aşamalarında da önemli düşüşler gözlenmiş ve olgunlaşma

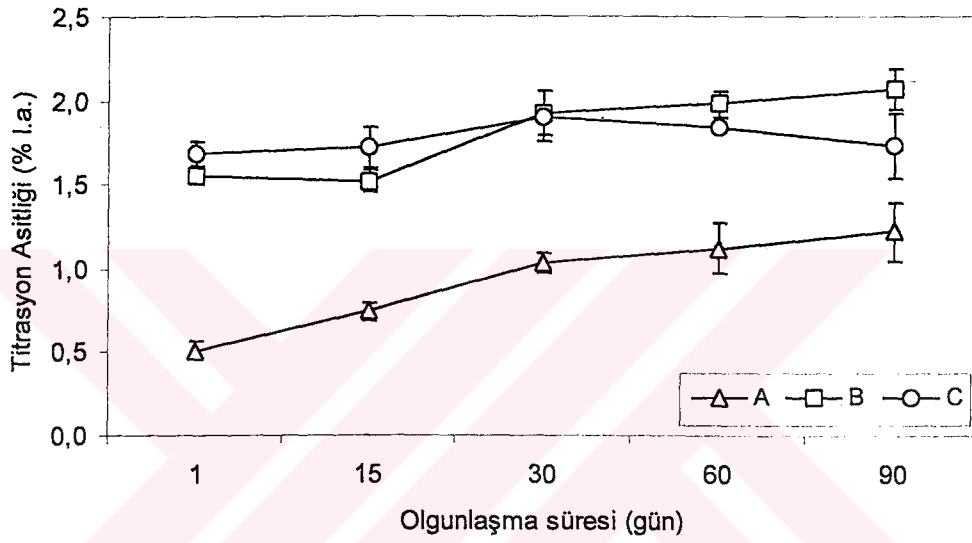
süresi A peynirinin pH değeri üzerinde önemli düzeyde etkili olmuştur ($p<0.01$). B ve C peynirlerinde olgunlaşmanın 1. gününde sırasıyla 4.97 ve 4.84 olan pH değerleri olgunlaşmanın 90. gününde 4.78 ve 4.87 değerlerini almıştır. B ve C peynirlerinin pH değerinde depolama süresince istatistiksel olarak önemli bir değişim görülmemiştir ($p>0.05$).

Bazı araştırmacılar peynirde starter kültür farklılığının pH değeri üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu açıklarken (Özcan, 2000; Hannon ve ark, 2003), bazı araştırmacılar da pH değerinin starter farklılığından etkilenmediğini bildirmişlerdir (Lynch ve ark, 1996; Demir, 1999; Gürsoy ve ark, 2001; Pappa ve Anifantakis, 2001a).

Araştırmacıların bir çoğu Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında, olgunlaşmanın belirli bir aşamasına kadar da olsa pH değerinin sürekli düşüş gösterdiğini savunmuşlardır. Kaymaz (1979), pastörize süttten starter kullanmadan yaptığı taze peynirlerde pH değerlerinin 3 aylık olgunlaştırma sonunda 5.05–5.20 düzeyine indiğini, pastörize süttten starter kullanılarak yapılan peynirlerde ise bu değerlerin 4.80–4.95 düzeyinde bulunduğunu belirlemiştir. Üçüncü (1971), Çelik (1981) ve Dağdemir (2001) farklı starterle ürettiği Beyaz peynirlerde pH'nın olgunlaşma boyunca düşüş gösterdiğini ve pH değerinin starter farklılığından önemli düzeyde etkilendiğini açıklamışlardır. Bunun yanı sıra, starter farklılığının peynirde pH değerini önemli düzeyde etkilemediği (Karakuş ve Alperden, 1995; Demir, 1999), hatta olgunlaşmanın belirli bir aşamasından sonra oluşan amonyak, karbonil bileşikleri vb. bazik maddeler nedeniyle (Litopoulou-Tzatenaki ve ark, 1993; McSweeney ve ark, 1993; Yüzbaşı, 1996) veya amino asitlerin deaminasyonu ve organik asitlerin metabolizması sonucu pH'nın yükseldiği de belirtilmektedir (Madkor ve ark, 1987).

Peynirlerin titrasyon asitliği değerleri % laktik asit olarak belirlenmiştir. Starter ile üretilen B ve C peynirlerinin titrasyon asitlikleri arasında olgunlaşmanın tüm dönemlerinde önemli düzeyde farklılık olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). B ve C peynirleri ile kültür katılmayan A peyniri arasındaki farklılıklar olgunlaşmanın tüm aşamalarında $p<0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Olgunlaşmanın ilk döneminde C peynirinin titrasyon asitliği değeri % 1.68 düzeyinde iken, 30. günde en yüksek değerlere (% 1.90) ulaşmış, daha sonra azalmış ve % 1.73'e düşmüştür. B peynirinde olgunlaşmanın 15. gününe kadar çok önemli bir değişiklik olmamış, 30. günde % 2.02, 90. günde % 2.07 değerine ulaşmıştır.



Şekil 4.2. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan titrasyon asitliği değerleri

Olgunlaşma süresince, starter ilave edilmeyen A peyniri diğer peynirlerden önemli düzeyde düşük titrasyon asitliği değerlerine sahip olmuştur. Carmona ve ark. (1999), benzer sonuçlara ulaşmış ve starterli ürettikleri peynirlerde titrasyon asitliği değerini startersiz ürettikleri peynirlerden 2 kat fazla bulmuşlardır. Starterin Domiati peynirinin özelliklerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur (El-Koussy ve ark, 1976).

Olgunlaşma süresi ilerledikçe peynirlerin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık azalmıştır. Bulunan farklılık istatistiksel olarak önemli olsa da startersiz işlenen A peynirinin titrasyon asitliği değerleri, B ve C peynirlerinde bulunan sonuçlara yaklaşık değerler almıştır. Sütün pastörize edilmesi ile mikrobiyal

yükünde azalma olmasına karşın bir kısım laktik asit bakterileri canlılığını sürdürmektedir (Hynes ve ark, 2003). Pastörizasyon sonrasında starter ilave edilmediğinden canlı kalan veya çevreden bulaşan mikroorganizmalar ortamda baskın duruma geçmektedirler. Peynir sütüne starter ilavesinin, istenmeyen bakterilerin gelişimini engellediği bilinmektedir (Trapanier ve ark, 1991; Bottazi ve ark, 1993). Peynir sütüne starter ilavesi ile, starter olmayan bakterilerin gelişiminin engellenmesinin yanı sıra, peynir sütünün titrasyon asitliği değerleri de daha hızlı artmaktadır. Kandarikis ve ark. (2001), yavaş asitlik gelişiminin peynirde baskılama süresini ve peynirin nem oranını etkileyebileceğini, bunun da peynirde birtakım yapısal kusurların yanı sıra, aşırı gaz oluşumuna da neden olabileceğini bildirmektedirler.

Çizelge 4.3. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde pH ve Titrasyon Asitliği Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	pH				Titrasyon Asitliği (% laktik asit)			
	SD	KO	F Değeri	P	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	2.251	202.27	<0.001	2	3.765	94.40	<0.001
Olg. Süresi	4	0.157	14.09	<0.001	4	0.353	8.86	<0.001
Starter × Olg. Süresi	8	0.092	8.25	<0.001	8	0.062	1.55	0.193
Hata	24	0.011			24	0.039		

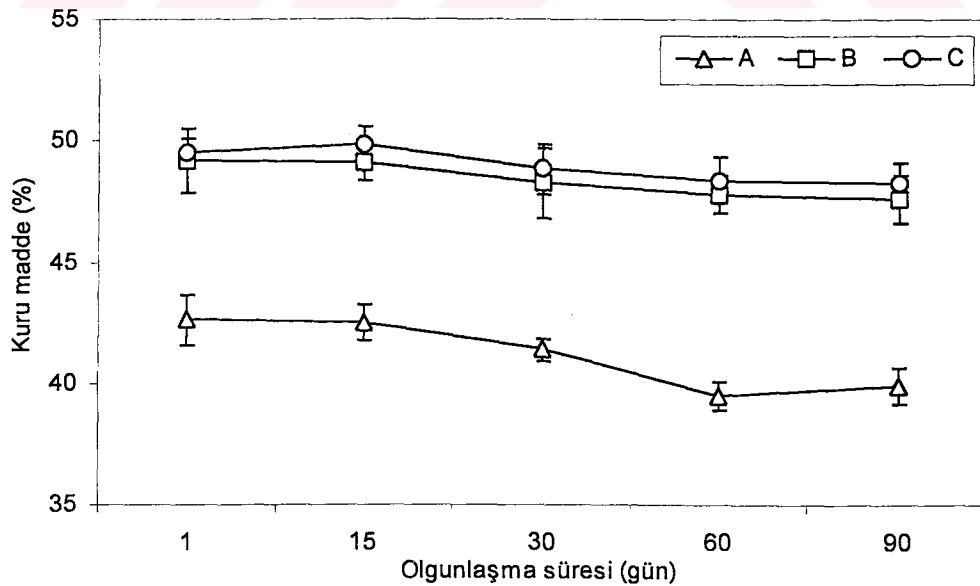
Beyaz veya Feta gibi salamurada 90 gün süre ile olgunlaştırılan peynirlerde titrasyon asitliği değerleri % 1.1 (Pappas ve ark, 1996), % 0.73–1.1 (Çelik, 1981), % 0.89–0.96 (Yılmaz, 1998), % 0.88 (Gürsoy ve ark, 2001) düzeylerinde bulunmuştur. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara bakıldığında, titrasyon asitliği değerlerinin olgunlaşmanın ilk dönemlerinde yukarıda verilen kaynaklarda elde edilen değerlerden daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun, kullanılan starter suşlarının oldukça güçlü asit geliştirme yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Starter katılmayan A örneğine ait değerler, diğer araştırmacıların belirttikleri değerlerle uyum sağladığı halde, B ve C peynirlerine ait değerlerin farklı olmaları starterin etkisini ortaya koymuştur. Genel olarak, peynirlerde en yüksek titre edilebilir asitlik

değeri olgunlaşmanın 30–60 günleri arasında bulunmuş ve daha sonra meydana gelen değişim istatistiksel yönden önemsiz bulunmuştur. Bu durum, proteoliz nedeniyle oluşan karbonil bileşikleri, laktik asidin metabolizması, amino asitlerin deaminasyonu ve NH_3 gibi bazik karakterli parçalanma ürünlerinin peynirin pH'sını değiştirmesinden kaynaklanmaktadır (Fox ve ark, 1993; Dağdemir, 2001).

Yapılan varyans analizi sonucunda starterin ve olgunlaşma süresinin pH değeri ve titrasyon asitliği üzerine önemli düzeyde etkili olduğu, starter $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonunun sadece pH değeri üzerine önemli ölçüde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3)

4.2.2. Kurumadde Oranları

Taze peynirlerin kurumadde oranları TSE 591 Beyaz peynir standardında (Anon., 1995) belirtilen % 40 değerinden yüksek bulunmuştur. Starter katılmayan A peynirinin kurumadde oranı, starter katılan B ve C peynirlerinden daha düşük değerler almıştır (Şekil 4.3). Peynir sütüne starter ilave edilerek sütün asitlendirilmesi, pıhtıda kalan suyun daha kolay ayrılmasını sağlamakta ve bu peynirlerin kurumadde oranları daha yüksek olmaktadır (Üçüncü, 2002).



Şekil 4.3. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kurumadde oranları

Starter katılan peynirlerle katılmayan peynir arasında kurumadadaki farklılık, tüm olgunlaşma süresince $p < 0.01$ düzeyinde önemli çıkarken, starter katılan B ve C peynirleri arasındaki farklılıklar önemli düzeyde bulunmamıştır ($p > 0.05$). C peynirinde olgunlaşmanın 15. gününde meydana gelen hafif artış dışında, tüm peynirlerde kurumadde oranları olgunlaşma süresince azalma göstermiştir (Şekil 4.3). Olgunlaşma süresince görülen değişim B ve C peynirlerinde istatistiksel açıdan önemli bulunmazken, A peynirinde önemli düzeyde bulunmuştur ($p < 0.05$). Pappa ve Anifantakis (2001a), benzer şekilde farklı starterle üretilen Feta peynirinde kurumadde oranlarının zamanla azaldığını ancak bunun istatistiksel olarak önemli olmadığını vurgulamışlardır. Demir (1999), starter ilavesi ile pH değerinde meydana gelen düşme nedeniyle, starter ilave edilen peynirlerde kurumadde oranının startersiz üretilenlere oranla önemli düzeyde yüksek olduğunu belirtmiştir.

Peynirde kurumadde oranının azalmasının, peynirin olgunlaşma süresine bağlı olarak kitlede bulunan bir takım suda çözünür protein ve peptidlerin salamurağa geçmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir (Karakuş ve Alperden, 1995; Katsiari ve ark, 2000). Creamer ve Olson (1982), peynir kitlesine su geçişinin, özellikle α_{s1} -kazeindeki peptid bağlarının protein ağı (network) oluşturmak için ayrılmasından ve oluşan yeni grupların bünyelerine su bağlamasından ileri geldiğini açıklamışlardır.

Yapılan varyans analizi sonunda olgunlaşma süresinin peynirlerin kurumadde oranlarını $p < 0.05$, starter kullanımının ise $p < 0.01$ düzeyinde etkilediği saptanmıştır (Çizelge 4.4).

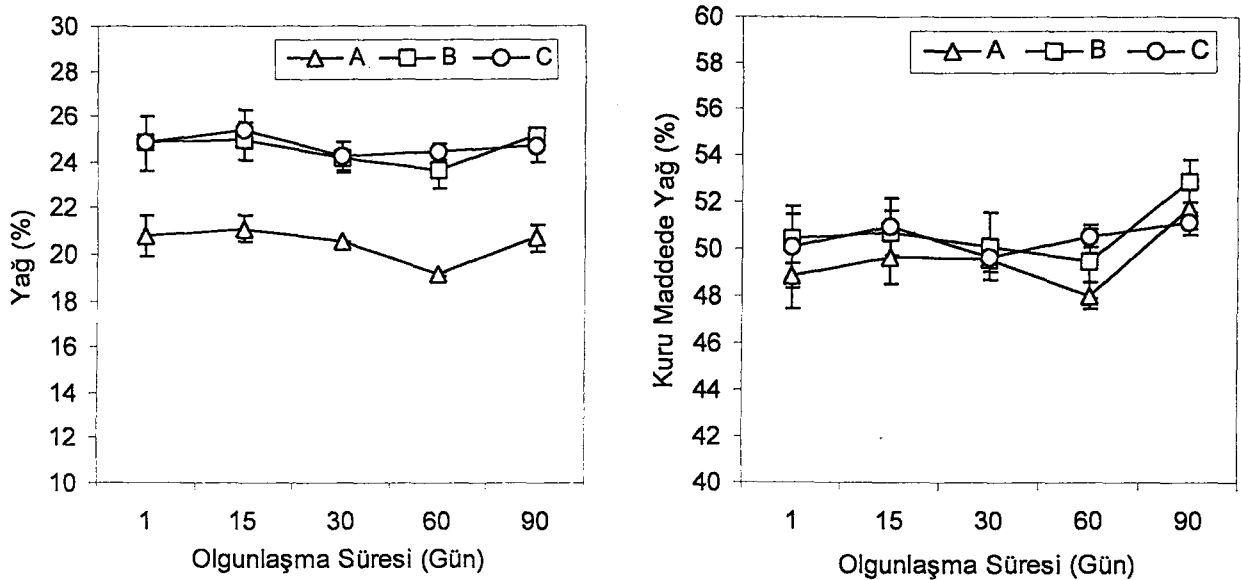
Çizelge 4.4. Beyaz Peynirlerde Kurumadde Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	279.202	167.17	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	8.103	4.85	0.0052
Starter $\times$ Olgunlaşma Süresi	8	0.587	0.35	0.936
Hata	24	1.670		

Salamurada olgunlaştırılan Beyaz ve Feta peynirlerinde, olgunlaşma süresince kurumadde oranlarında azalma olduğu çeşitli çalışmalarda da belirtilmiştir (Litopoulou-Tzanetaki ve ark, 1993; Şahan, 1993; Karakuş ve Alperden, 1995; Yıldırım, 1991). Diğer taraftan Dağdemir (2001), Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında kurumadde oranında artış olduğu, bu durumun tuzun peynir kitlesine geçiş yapmasından kaynaklandığını vurgulamıştır. Çelik (1981) ise, Beyaz peynirde olgunlaşmanın 60. gününe kadar kurumaddenin azaldığını (% 36.7–38.7), daha sonra yükselerek yaklaşık % 40 düzeyine ulaştığını bildirmiştir.

4.2.3. Yağ ve Kurumaddede Yağ Oranları

Peynirlerin içerdikleri yağ oranları kurumadde oranlarındaki değişime paralel olarak farklılık göstermiştir. Kurumadde oranlarının farklı olması, B ve C peynirleri ile A peynirinin yağ oranları arasında önemli düzeyde farklılık olmasına neden olmuştur ($p < 0.01$). Awad ve ark. (1999b), starter farklılığının peynirin pH'sını etkilediğini, pH değeri yüksek olduğu zaman peyniraltı suyu ile olan yağ kaybının daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda da, starter katılmayan A peynirinden elde edilen pH değeri daha yüksek olan peyniraltı suyunda yağ kaybı daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.1).



Şekil 4.4. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan yağ ve kurumaddede yağ oranları

Peynirlerin kurumaddede yağ oranları dikkate alındığında peynirler arasındaki farklılıkların, istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Benzer şekilde Pappa ve Anifantakis (2001a), starter farklılığının Feta peynirinin kurumaddede yağ oranlarını önemli ölçüde etkilemediğini bildirmişlerdir.

Beyaz peynirlerin yağ oranlarında kurumadde oranına bağlı olarak olgunlaşma süresince artma ve azalmalar olmuştur. Ancak bu durum A peynirinde olgunlaşmanın 15. günü ile 60. gününde saptanan farklılığın dışında istatistiksel olarak önemli düzeyde olmadığı görülmüştür ($p>0.05$). Olgunlaşmanın 60. gününe kadar peynirlerin yağ ve kurumaddedeki yağ oranlarında çok önemli bir değişim görülmemiş, genellikle yakın değerler almıştır (Şekil 4.4). Ancak, 90. günde özellikle kurumaddede yağ oranlarında bir artış olduğu gözlenmektedir. Peynirlerin kurumadde oranlarında meydana gelen azalış oransal olarak kurumaddedeki yağ oranlarına da etkilemiştir.

Çizelge 4.5. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Yağ ve Kurumaddede Yağ Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Yağ				Kurumaddede Yağ			
	SD	KO	F Değeri	P	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	88.304	131.02	<0.001	2	5.372	1.78	0.19
Olg. Süresi	4	2.815	4.18	<0.01	4	6.592	2.18	0.101
Starter × Olg. Süresi	8	0.393	0.58	0.782	8	1.149	0.38	0.92
Hata	24	0.694			24	3.018		

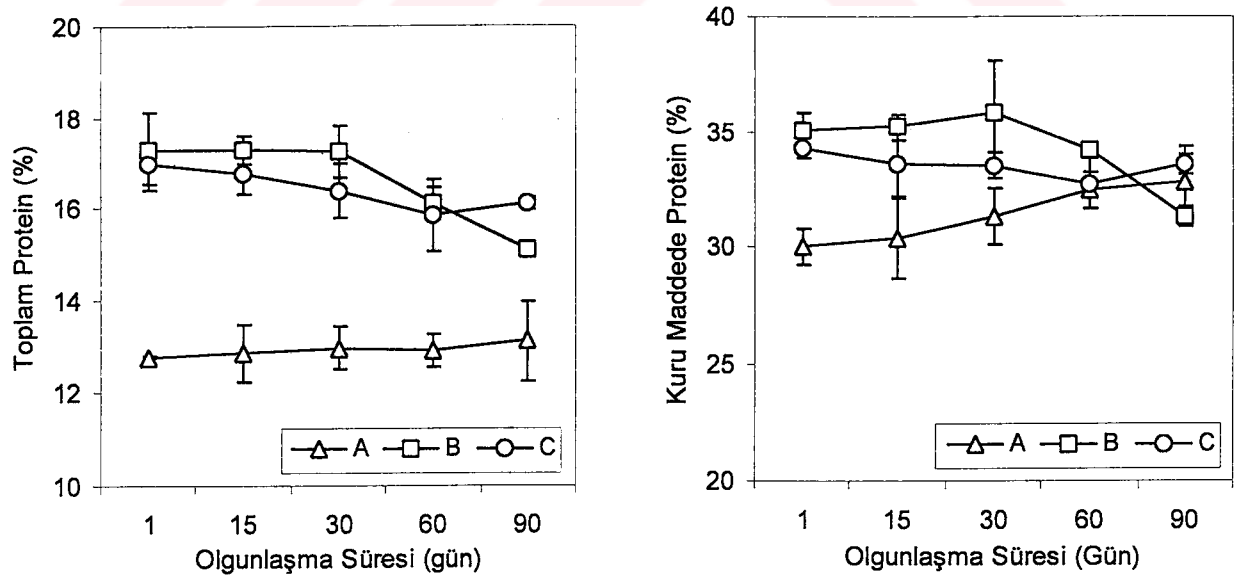
Peynirlerin % yağ oranları, B ve C peynirlerinde tüm olgunlaşma aşamalarında çoğunlukla % 24 düzeyinde bulunmuş, A peynirinde ise % 19–21 arasında değişmiştir. Kurumaddede yağ oranları da tüm örneklerde yaklaşık % 49–52 arasında saptanmıştır. Bulunan bu değerler bazı araştırmacıların buldukları değerlere benzerlik gösterdiği saptanırken (Yüzbaşı, 1996; Yılmaz, 1998) bazı araştırmacıların buldukları değerlerden farklı bulunmuştur (Yıldırım, 1991; Şahan, 1993; Mallatou ve

ark, 1994; Dağdemir, 2001). Araştırmacıların buldukları değerlerle bu çalışmada bulunan değerler arasındaki farklılık, üretimde kullanılan peynir sütünün yağ oranı ile ilişkili bulunmaktadır. Örneğin, Dağdemir (2001), Beyaz peynir üretiminde % 3.15 düzeyinde yağlı süt kullanmış ve bu nedenle ürettiği peynirlerde yağ oranları daha düşük bulunmuştur.

Yapılan varyans analizi sonucunda, peynirlerin yağ oranları üzerine starter kullanımının ve olgunlaşma süresinin önemli düzeyde etkili olduğu ($p<0.01$), starter $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonunun önemli düzeyde etkili olmadığı görülmüştür. Uygulanan farklı parametrelerin peynirlerin kurumaddede yağ oranları üzerine önemli düzeyde etkili olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$).

4.2.4. Protein ve Kurumaddede Protein Oranları

Olgunlaşmanın başlangıcında, B ve C peynirlerinin protein oranları tüm olgunlaşma dönemlerinde birbirlerine yakın değerler alırken, A peynirinin protein oranının daha düşük olduğu görülmüş ve bu farklılık istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.5. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan protein ve kurumaddede protein oranları

Olgunlaşmanın diğer dönemlerinde, B ve C peynirleri arasında önemli düzeyde farklılık olmadığı ($p>0.05$) halde, A peynirinin protein oranları 90 günlük olgunlaşma süresince daha düşük değerlerde ve istatistiksel açıdan farklı bulunmuştur ($p<0.05$)

Şekil 4.5'te görüldüğü gibi, peynirlerin protein oranları olgunlaşmanın ilk dönemlerinde önemli bir değişim göstermese de, ilerleyen dönemlerde azalmıştır. Protein oranındaki bu kısmi azalış, kazeinin çeşitli enzimlerle (peynir sütüne katılan pıhtılaştırıcı enzim, plasmin, starter ve starter olmayan bakterilerden kaynaklanan enzimler) parçalanması sonucu bir kısım düşük moleküllü peptidlerin ve amino asitlerin suda çözünür özellikte olması ve peynir salamurasına geçme eğilimi göstermesinden kaynaklanmaktadır (Abd-El Salam ve ark, 1993; Michaelidou ve ark, 1998; Fox ve ark, 2000).

Olgunlaşma süresince B ve C peynirlerinin protein oranlarındaki azalış $p<0.05$ düzeyinde önemli bulunmuş ancak, A peynirinde önemli bir değişim kaydedilmemiştir. Bu durum, peynir sütüne ilave edilen starter bakterilerin proteini parçalamada önemli etkilerinin olduğunu açığa çıkarmaktadır. Özellikle starter ilave edilen peynirlerinde olgunlaşma süresince, suda ve çeşitli çözücülerde çözünen azot fraksiyonlarında artış olması da bunu doğrulamaktadır.

A peynirinde kurumaddede protein oranları olgunlaşma süresince hafif bir yükseliş gösterse de, B ve C peynirlerinde bu oranlarda azalış görülmüştür. Starter kullanımının peynirlerin kurumaddede protein oranları üzerindeki etkileri önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4.6. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Protein ve Kuru Maddede Protein Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Protein				Kurumaddede Protein			
	SD	KO	F Değeri	P	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	1.588	84.74	<0.001	2	34.694	7.98	0.002
Olg. Süresi	4	0.052	2.78	0.049	4	3.493	0.80	0.535
Starter × Olg. Süresi	8	0.035	1.88	0.110	8	8.349	1.92	0.104
Hata	24	0.018			24	4.347		

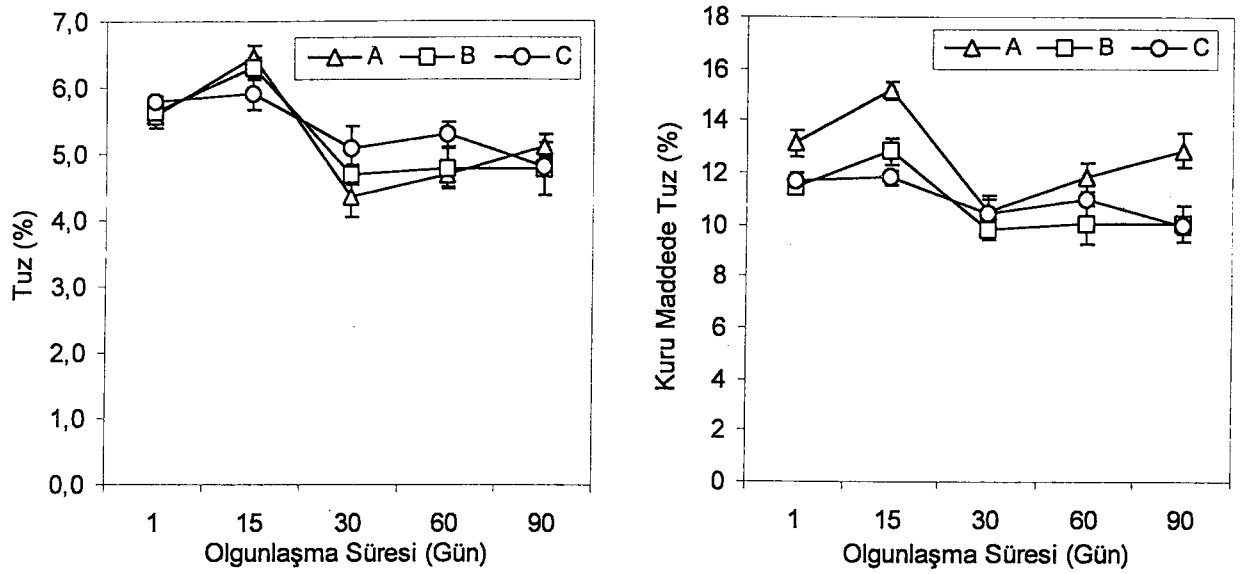
Beyaz peynir üzerine yapılan bir çok çalışmada da protein oranının olgunlaşma süresi boyunca azaldığı, bu durumun proteoliz nedeniyle proteinin suda çözünür karakterli kısımlarının artmasından ve oluşan yeni bileşenlerin peynir salamurasına geçmesinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir (Gahun, 1983; Şahan, 1993; Akbulut ve ark, 1996; Gürsoy ve ark, 2001; Gürsel ve ark, 2003). Bunun yanı sıra, Mallatou ve ark. (1994), Kaytanlı (1995), Yılmaz (1998), Pitso ve Bester (2000) toplam protein oranının olgunlaşma süresi içerisinde önemli bir değişikliğe uğramadığını belirtmişlerdir. Yüzbaşı (1996), yaptığı çalışmada bu değerin artış gösterdiğini bildirmiştir.

Yapılan varyans analizinde, starter kullanımının ve olgunlaşma süresinin peynirlerin protein oranları üzerine önemli düzeyde etkisi olurken ($p<0.05$), kurumaddede protein değerleri üzerine sadece starter kullanımının etkisi önemli bulunmuştur (Çizelge 4.6).

4.2.5. Tuz ve Kurumaddede Tuz Oranları

Peynirlerin tuz ve kurumaddede tuz oranları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Peynirler arasında tuz oranları açısından önemli düzeyde bir farklılık bulunmamıştır. Peynirlerin kurumaddede tuz oranlarına bakıldığında olgunlaşmanın 30. günü dışında tüm olgunlaşma dönemlerinde, A peynirinin kurumaddede tuz oranının diğer peynirlerden önemli düzeyde yüksek olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Bu durum peynirlerin kurumadde oranlarındaki farklılıktan kaynaklanmıştır.

Bazı çalışmalarda, starter farklılığının peynirin tuz oranına etki etmediği (Karakuş ve Alperden, 1995; Pappas ve ark, 1996) veya olgunlaşmanın bazı aşamalarında etkili olduğu (Litopoulou-Tzanetaki ve ark, 1993) açıklanırken, bazı çalışmalarda da etkili olduğu saptanmıştır (Özcan, 2000; Dağdemir, 2001). Bu çalışmada, starter farklılığının peynirin tuz oranına önemli düzeyde etki etmediği, starter ilave edilmeyen A peyniri ile starter katılan B ve C peynirleri arasında, kurumaddedeki farklılık nedeniyle tuz oranları bakımından farklılık bulunduğu saptanmıştır.



Şekil 4.6. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan tuz ve kurumaddede tuz oranları

Peynirlerde tuz oranları olgunlaşmanın 15. gününe kadar artış göstermiş, 30. gününde ise azalmıştır. 30. günden sonra peynir örneklerinin tuz oranlarında önemli bir değişiklik görülmemiştir (Şekil 4.6). Yapılan bazı çalışmalarda, peynirde su oranının artması nedeniyle, peynirin tuz oranının olgunlaşmanın başlangıcında hızlı olmak üzere olgunlaşma süresince arttığı belirlenmiştir (Pito ve Bester, 2000; Gürsoy ve ark, 2001). Yapılan diğer çalışmalarda, peynirin olgunlaşması sırasında tuz oranının olgunlaşma süresi ilerledikçe arttığı (Karakuş ve Alperden, 1995; Kaytanlı, 1995; Yüzbaşı, 1996; Yılmaz, 1998; Özcan, 2000; Dağdemir, 2001; Gürsoy ve ark, 2001; Özer ve ark, 2002) belirtilmektedir. Adı geçen çalışmaların bazılarında, kurumaddede tuz değerlerinin olgun peynirlerde % 6–8 düzeyine kadar ulaştığı bildirilmektedir. Bunun yanında, Özer ve ark. (2002) Urfa peynirlerinde tuz oranlarının olgunlaşma sürecinde artarak kurumaddede % 21.1'e kadar yükseldiğini belirtirken, Mallatou ve ark. (1994) ile Pappas ve ark. (1996) Feta peynirinde tuz oranının zamanla değişmediğini belirtmişlerdir.

Olgunlaşmanın 15. gününden sonra tuz oranında artışın görülmemesi, olgunlaşmanın ilk dönemlerinde salamura-peynir arasında tuz dengesinin oluştuğunu göstermektedir. Ayrıca, peynir kalıplarının yüzeyinde kabuk oluşumu, gözeneklerin küçülmesine neden olarak tuz geçişine engel olmuştur (Melilli ve ark, 2003). Peynir kitlesine tuz geçişi durduktan sonra, olgunlaşmanın 15. gününden sonra proteoliz sonucu oluşan yeni ürünler salamura ortamından bünyelerine su bağlamaktadırlar (Creamer ve Olson, 1982). Böylece, peynirlerde su oranı bir miktar artmış ve oransal olarak tuz oranında da bir azalma meydana gelmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Tuz ve Kurumaddede Tuz Oranlarında Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	Tuz				Kurumaddede Tuz			
	SD	KO	F Değeri	P	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	0.086	0.563	0.563	2	16.093	19.11	<0.001
Olg. Süresi	4	3.584	24.44	<0.001	4	12.785	15.18	<0.001
Starter × Olg. Süresi	8	0.248	1.69	0.152	8	1.517	1.80	0.126
Hata	24	0.147			24	0.842		

Yapılan varyans analizi sonucunda starter ilavesinin sadece kurumaddede tuz oranları üzerinde önemli düzeyde etkiye sahip olduğu saptanırken, olgunlaşma süresinin tuz ve kurumaddede tuz oranları üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

4.3. Penetrometre Değerleri ve Sertlik İndeksleri

Penetrometre değeri peynirde olgunlaşmaya bağlı olarak meydana gelen yapısal gelişmeyi belirlemek amacıyla, basit olarak belirli ağırlıktaki konik başlığın belli süre içerisinde peynir kitlesine batma derinliği olarak saptanmaktadır (Güven ve Konar, 1996). Sertlik indeksi ise, penetrometre başlığının sahip olduğu ağırlığın penetrometre değerine bölünmesi ile bulunmaktadır (Öztürk, 1993).

Peynirlerin penetrometre değerleri ve sertlik indeksleri Çizelge 4.8’de verilmiş ve peynirlerin yapısal özellikleri tartışılırken, sertlik indeksleri dikkate alınmıştır.

Taze peynirlerin sertlik indeksleri birbirinden önemli düzeyde farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Peynirlerin en yüksek sertlik indeksleri B peynirinde bulunmuş, bunu sırasıyla C ve A peynirleri izlemiştir. A peyniri tüm olgunlaşma dönemlerinde B ve C peynirlerinden farklı bulunmuştur ($p<0.05$). B ve C peynirlerinin sertlik indeksleri karşılaştırıldığında, her iki peynir arasında belirgin bir farklılık olmadığı ancak, yine de B peynirinin C peynirinden biraz daha yumuşak yapıda olduğu belirlenmiştir. B ve C peynirleri arasındaki farklılığı daha duyarlı olarak belirleyebilmek için, ileri düzeyde ölçüm yapabilen spesifik ve objektif cihazlara gereksinim vardır.

Çizelge 4.8. Beyaz Peynir Örneklerinin Penetrometre Değerleri ve Sertlik İndeksleri

Olgunlaşma Süresi (Gün)	Penetrometre Değeri (mm/5 sn)			Sertlik İndeksi		
	A	B	C	A	B	C
1	6.36±1.31x ^a	2.93±0.02y ^a	3.59±0.05z ^a	14.86±3.28x ^a	32.25±0.26y ^a	26.32±0.40z ^a
15	7.56±2.59x ^a	3.59±0.29y ^b	4.31±0.64y ^{ab}	12.50±4.44x ^a	26.32±2.06y ^a	21.93±2.93y ^{ab}
30	10.56±1.21x ^{ab}	6.56±0.78y ^c	5.35±1.17y ^{ab}	8.95±1.96x ^{ab}	14.41±1.57y ^b	17.66±2.03z ^{bc}
60	15.35±1.24x ^b	6.71±1.14y ^c	6.16±0.42y ^b	6.16±0.54x ^b	14.08±2.41y ^b	15.34±1.13y ^c
90	16.36±2.17x ^b	8.82±1.44y ^{cb}	7.48±0.92y ^b	5.78±0.81x ^b	10.71±3.62y ^b	12.63±2.64y ^{bc}

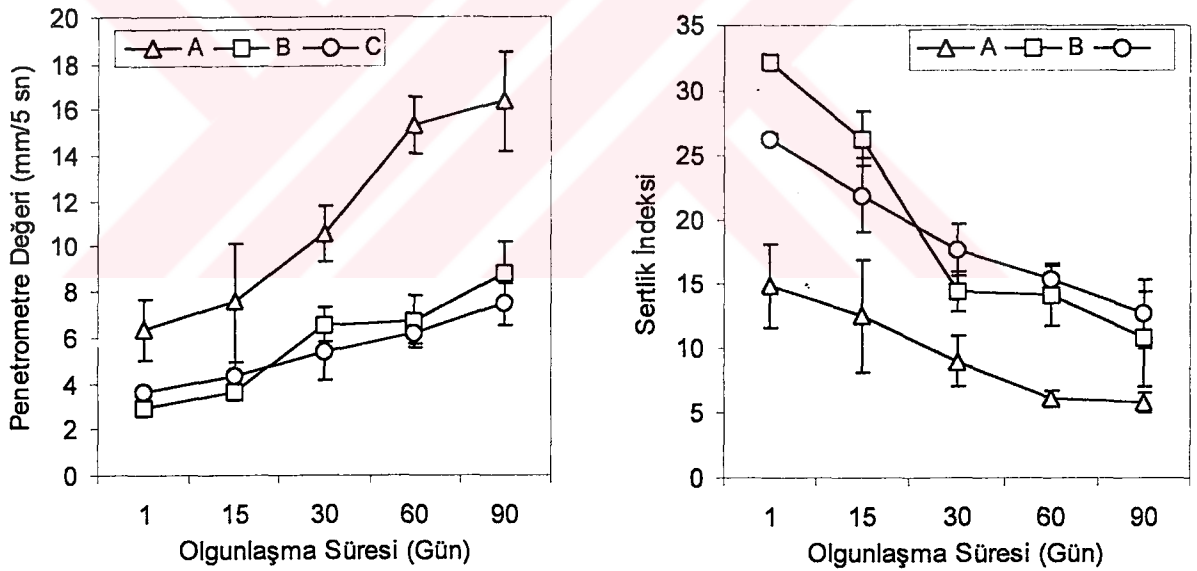
x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0.05$ düzeyinde farklıdır.

^{a,b,c} : Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0.05$ düzeyinde farklıdır.

Peynirlerin sertlik indeksleri olgunlaşma süresine bağımlı olarak azalmıştır (Şekil 4.7). Olgunlaşmanın başlangıcında, B ve C peynirlerinin sertlik indeksleri daha yüksek değerler alırken (sırasıyla 32.20 ve 26.34), A peynirinde daha düşük değer almıştır (16.17). Olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde bu durum devam etmiş ve peynirler en düşük sertlik indeksi değerlerini olgunlaşmanın 90. gününde almışlardır. En düşük değer A peynirinde (5.98) bulunmuş, bunu B (10.71) ve C (12.62) peynirleri izlemiştir. Proteoliz nedeniyle, α_{s1} -kazeinde meydana gelen

parçalanmanın, dolaylı olarak peynirin biraz yumuşamasına neden olduğu bildirilmiştir (Lawrence ve ark, 1987; Fox ve ark, 2000). Menendez ve ark. (2000), peynirde α_{s1} -kazeinin parçalanması ile peynirin sertliği arasında negatif bir ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Söz konusu durum, B peynirinde daha belirgin şekilde ortaya çıkmıştır. Bunun yanı sıra, A peynirinin kurumadde oranının (Çizelge 4.6) B ve C peynirine göre daha düşük olması, bu peynirin sertlik indeksinin düşük olmasına neden olmuştur.

Peynirlerin sertlik indekslerinde en belirgin azalma 30. günde meydana gelmiştir. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetogramları dikkate alındığında, α_{s1} -kazeinde en belirgin parçalanmanın da yine 30. günde olduğu görülecektir. Peynirde proteoliz ve yapısal gelişim arasında yakın bir ilişkinin olduğu hipotezi burada da doğrulanmıştır.



Şekil 4.7. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan penetrometre ve sertlik indeksi değerleri

Beyaz peynirde yapılan bazı çalışmalarda (Yıldız ve ark, 1989; Yüzbaşı, 1996; Gürsoy ve ark, 2001) penetrometre değeri olarak belirtilen sonuçlardan yola çıkılarak, sertlik indeksinin olgunlaşma süresi içerisinde azaldığı görülmüştür. Bu durumun, yukarıda belirtildiği gibi peynirde proteoliz nedeniyle meydana gelen

yapısal değişimlerden kaynaklandığı belirtilmiştir. Diğer taraftan, Öztürk (1993) ve Balcı (1994) çalışmalarında, sertlik indeksinin olgunlaşmanın 30. gününe kadar yükseldiğini daha sonra düşüş gösterdiğini açıklamışlardır. Koca ve Metin (1998), İzmir Teneke Tulum peynirinde bu değer olgunlaşma süresince artış gösterdiğini ve kültür kullanımının sertlik indeksine önemli ölçüde etki ettiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.9. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerin Sertlik Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	503.462	38.77	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	285.557	21.99	<0.001
Starter × Olgunlaşma Süresi	8	15.278	1.18	0.353
Hata	24	12.986		

Çizelge 4.9’da görüldüğü gibi, varyans analizi sonucunda, peynirlerin sertlik indeksi üzerine starter kullanımı ve olgunlaşma süresinin önemli düzeyde etkili olduğu saptanmıştır ($p<0.05$).

4.4. Toplam Serbest Yağ Asitleri (FFA) Miktarları

Peynirde lipoliz ile ilgili bilgi elde etmek amacıyla yapılan toplam serbest yağ asitleri (FFA) analizinde alınan sonuçlar Çizelge 4.10’da görülmektedir.

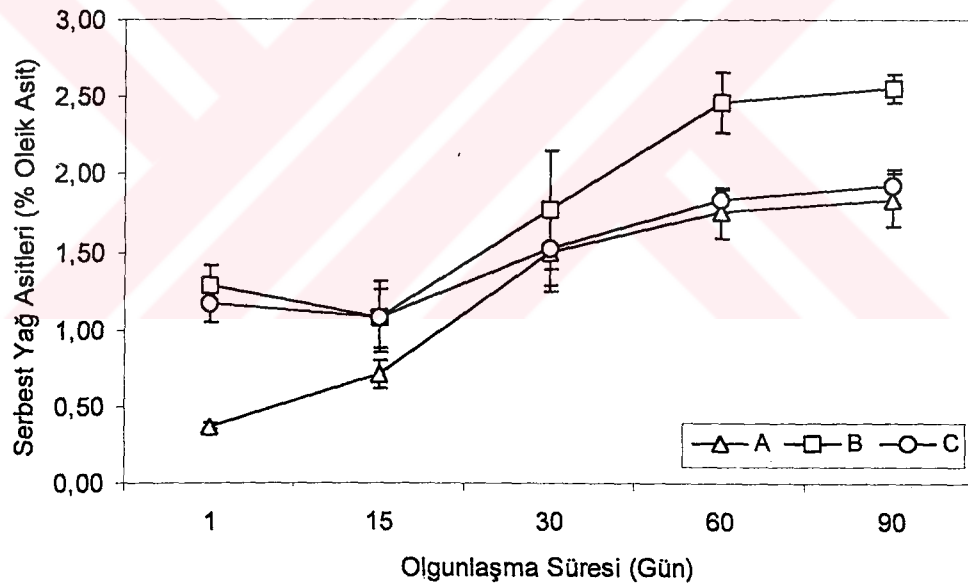
Çizelge 4.10. Beyaz Peynir Örneklerinin Toplam FFA Miktarları (% oleik asit)

Olgunlaşma Süresi (Gün)	A	B	C
1	0.37±0.02x ^a	1.29±0.13y ^a	1.16±0.11y ^a
15	0.71±0.09x ^b	1.07±0.19y ^a	1.08±0.23y ^a
30	1.49±0.24x ^c	1.77±0.38x ^b	1.52±0.23x ^{ab}
60	1.75±0.16x ^{cd}	2.46±0.20y ^c	1.83±0.07x ^b
90	1.83±0.17x ^d	2.55±0.09y ^c	1.92±0.11x ^b

x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0.05$ düzeyinde farklıdır.

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0.05$ düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşmanın başlangıcında A örneğinin toplam FFA miktarları B ve C peynirlerine göre oldukça düşük düzeyde olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.8). Olgunlaşmanın 1. ve 15. günlerinde B ve C peynirlerinin birbirlerinden farklı olmadığı, A peynirinin ise bu iki peynirden farklı olduğu saptanmıştır. Olgunlaşmanın 30. gününde her 3 peynirin de toplam FFA içerikleri birbirine yakın değerler almıştır. Olgunlaşmanın 60. günde B peynirindeki toplam FFA değeri hızlı bir artış göstermiştir. Olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde B örneğinde saptanan FFA değerinin, A ve C peynirlerinde saptananlardan yüksek ve $p<0.05$ düzeyinde farklı olduğu bulunmuştur. B peynirinde yer alan starter bakterilerin peynirde oluşturduğu proteolitik etkiler bakımından da diğerlerinden farklı bulunmuştur.



Şekil 4.8. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam FFA değerleri

Starter bakterilerin otoliz durumunun peynirde lipolize etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Collins ve ark, 2003), starter otolizinin peynir lipolizine de etkili olduğu, ancak bu konuda yeni araştırmalara gereksinim duyulduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, starter olarak kullandıkları AM2 suşunun (SK11 ile aynı enzim sistemine sahip), HP suşundan daha yüksek oranda peynirde serbest yağ asitleri

oluşturduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, olgunlaşmanın 30. gününden sonra A ve C peynirlerinde toplam FFA oluşumundaki artış devam etmiş ancak bir yavaşlama görülmüştür. B peynirinde ise artış devam etmiştir (Şekil 4.8). Bu durum, büyük olasılıkla SK11 suşunun otolitik özelliğinden kaynaklanmıştır. B peynirinin toplam FFA değerleri sözkonusu olgunlaşma dönemlerinde daha yüksek bulunmuş ve bu farklılık olgunlaşma sonuna kadar devam etmiştir. Yapılan varyans analizi sonucunda starterin ve olgunlaşma süresinin toplam FFA üzerine etkisi $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Çizelge 4.11. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Serbest Yağ Asitleri Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	1.344	22.85	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	2.799	47.60	<0.001
Starter × Olgunlaşma Süresi	8	0.129	2.21	0.064
Hata	24	0.058		

Farklı *Lactobacillus* ve *Lactococcus* suşlarından oluşan starter kültürlerle üretilen Beyaz peynirlerde toplam FFA içeriklerini inceleyen Karakuş ve Alperden (1995), peynirler arasında belirgin bir farklılık bulunamadığını bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (Awad ve ark, 1999b; Menendez ve ark, 2000) *Lactobacillus* ve *Lactococcus* suşları arasında peynirde toplam FFA oluşturma bakımından farklılıklar bulunduğunu, *Lactobacillus* cinsi bakterilerin daha çok lipolitik aktivite gösterdiklerini belirtmişlerdir. Akyüz (1986), farklı mezofilik ve termofilik kültürlerle ürettiği Kaşar peynirlerinin toplam FFA miktarlarının farklı bulunduğunu belirtmiştir. Tulum peynirinde farklı kombinasyonlarda kültür kullanımının toplam FFA oluşumuna etkisini inceleyen Koca ve Metin (1998), toplam FFA değerlerinin olgunlaşma sürecinde düzensiz bir artış gösterdiğini ve kullanılan farklı kültürlerin önemli düzeyde etkili olmadıklarını belirtmişlerdir. Kılıç ve ark. (1998), starterli ve startersiz ürettikleri İzmir Tulum peynirlerinde, serbest yağ asitleri değerinin olgunlaşma süresince artış gösterdiğini, starter katılan peynirlerde bu değerin daha

yüksek bulunduğunu açıklamışlardır. Bunun yanı sıra Akın ve ark. (2003), farklı oranlarda pregastrik lipaz kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerde, lipaz enzimi ilave edilmeyen kontrol peyniri de dahil tüm peynirlerde toplam serbest yağ asitleri miktarının 30 günlük depolama süresince önemli düzeyde arttığını belirlemişlerdir.

Lipolizin olgunlaşmanın belirli aşamasından sonra yavaşladığı ve toplam FFA miktarında azalmalar olduğu da bildirilmektedir. Litopoulou-Tzanetaki ve ark. (1993), farklı starter karışımları ile ürettikleri Feta peynirlerinde olgunlaşmanın 75. gününden sonra toplam FFA değerinde azalmalar olduğunu belirtmişlerdir. Dağdemir (2001), Beyaz peynirlerde yaptıkları çalışmada olgunlaşmanın belirli bir aşamasına kadar (30. gün) toplam FFA içeriğinde artış olduğunu, daha sonra azalma olduğunu belirtmiştir. Araştırmacı, olgunlaşmanın ilerlemesiyle toplam FFA'nin metil ketonlara ve sekonder alkollere parçalandığını ileri sürmüştür. Benzer bir yaklaşım Vafopoulou ve ark. (1989) tarafından da yapılmış ve Feta peynirlerinde toplam FFA içeriğinin 30. günden sonra azaldığını belirtmişlerdir. Güven (1993), Tulum peynirlerinde toplam FFA değerinin olgunlaşmanın 3. ayına kadar artış gösterdiğini, 3. aydan sonra önemli bir değişiklik saptanamadığını bildirmiştir. Bu durumun en önemli nedenleri, serbest yağ asitlerinin daha kısa zincirli yağ asitlerine ve metil ketonlara hidrolize olmaları (Dervişoğlu ve Yazıcı, 2001) ve oluşan kısa zincirli yağ asitlerinin suda çözünür özellikte olmaları nedeniyle peynir salamurasında geçme eğilimi göstermeleri olabilir (Abd El-Salam, 1993).

4.5. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Meydana Gelen Proteoliz

Peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz; peynirlerin azot fraksiyonları, serbest amino asit miktarları, urea-PAGE elektroforetik analizleri ile RP-HPLC peptid profilleri çıkarılarak ayrı ayrı açıklanmış ve tartışılmıştır.

4.5.1. Azot Fraksiyonları

Yapılan son çalışmalarda, azot fraksiyonları belirtilirken çoğunlukla % azot üzerinden hesaplanan değerler verilmektedir. Ayrıca, peynirlerin çözünür nitelikli azot fraksiyonları, içerdikleri toplam azot oranlarından da etkilenmektedir. Bu kısımda; suda çözünen, % 12 Trikloroasetik asitte (TCA) çözünen ve % 5 Fosfotungstik asitte (PTA) çözünen azot değerleri ve hesaplanan diğer azot fraksiyonları, hem % peynir hem de % azot üzerinden belirtilmiştir. Azot fraksiyonlarından elde edilen bulgular tartışılırken, % azot üzerinden hesaplanan değerler dikkate alınmıştır. Saptanan bu değerler Çizelge 4.12’de standart sapma değerleri ile birlikte topluca verilmiştir.

4.5.1.1. Toplam Azot Oranları

Peynirlerin toplam azot oranlarına ilişkin veriler Çizelge 4.12’de verilmesine karşılık peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam azot oranları toplam protein oranlarına dönüştürülerek bölüm 4.2.4’te tartışıldığından, bu bölümde toplam azot oranları üzerinde tekrar durulmamıştır.

4.5.1.2. Suda Çözünen Azot Oranları

Suda çözünen azot oranları, taze peynirlerde % 6.31 ile % 9.80 arasında değişen değerler almıştır. Olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek değeri C peynirinin aldığı ve bunu sırasıyla B ve A peynirlerinin takip ettiği belirlenirken, peynirler arasındaki farklılıkların da önemli düzeyde olduğu bulunmuştur ($p < 0.01$).

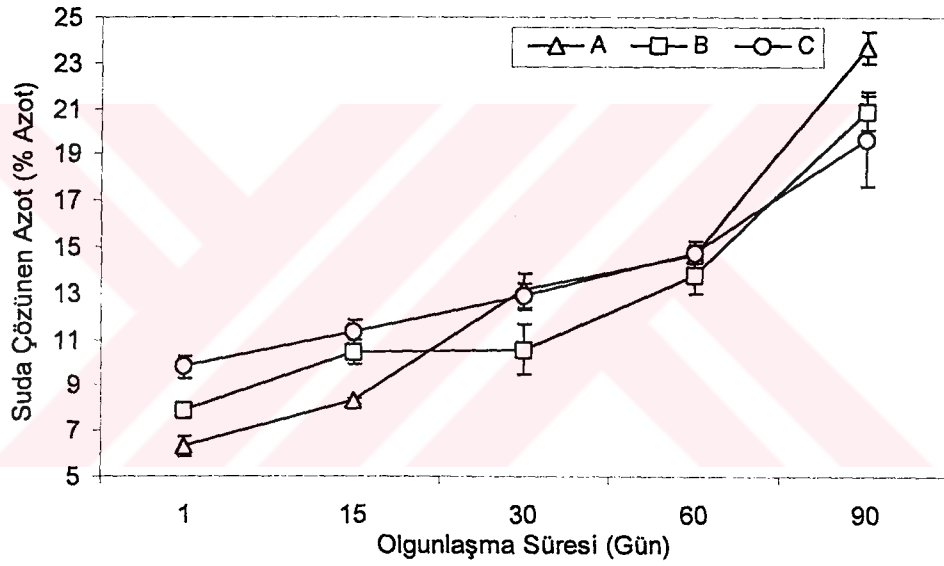
Çizelge 4.12. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Azot Fraksiyonları

Özellikler	Günler	A	B	C
Toplam Azot (%)	1	2.00±0.00x ^a	2.71±0.13y ^a	2.66±0.07y ^a
	15	2.01±0.10x ^a	2.71±0.05y ^a	2.62±0.07y ^a
	30	2.03±0.07x ^a	2.70±0.09y ^a	2.57±0.10y ^a
	60	2.02±0.05x ^a	2.52±0.06y ^{ab}	2.48±0.13y ^b
	90	2.03±0.13x ^a	2.37±0.03xy ^b	2.52±0.02y ^{ab}
Suda Çözünen Azot (%)	1	0.126±0.01x ^a	0.214±0.02y ^a	0.259±0.02y ^a
	15	0.167±0.01x ^{ab}	0.283±0.01y ^b	0.296±0.01y ^{ab}
	30	0.266±0.01x ^{bc}	0.284±0.02xy ^b	0.329±0.01y ^{ab}
	60	0.296±0.02x ^c	0.349±0.03xy ^c	0.367±0.02y ^b
	90	0.482±0.04x ^d	0.494±0.02x ^d	0.496±0.05x ^c
Suda Çözünen Azot (% Azot)	1	6.31±0.43x ^a	7.88±0.33y ^a	9.80±0.49z ^a
	15	8.31±0.11x ^b	10.46±0.52y ^b	11.30±0.50y ^b
	30	13.15±0.74x ^c	10.56±1.13y ^b	12.87±0.59x ^{bc}
	60	14.61±0.66x ^c	13.80±0.82x ^c	14.78±0.33x ^c
	90	23.68±0.74x ^d	20.85±0.72y ^d	19.69±2.05y ^d
% 12 TCA'da Çözünen Azot (%)	1	0.029±0.00x ^a	0.081±0.02y ^a	0.087±0.00y ^a
	15	0.052±0.01x ^a	0.085±0.01y ^a	0.108±0.01z ^a
	30	0.093±0.01x ^b	0.159±0.01y ^b	0.153±0.01y ^b
	60	0.117±0.01x ^{bc}	0.226±0.02y ^c	0.193±0.01z ^c
	90	0.152±0.00x ^c	0.318±0.02y ^d	0.270±0.01z ^d
% 12 TCA'da Çözünen Azot (% Azot)	1	1.46±0.16x ^a	2.97±0.45y ^a	3.30±0.01y ^a
	15	2.58±0.30x ^a	3.12±0.25xy ^a	4.17±0.29y ^a
	30	4.58±0.42x ^b	5.90±0.44y ^b	5.95±0.38y ^b
	60	5.83±0.82x ^b	8.99±1.09xy ^c	7.76±0.07y ^c
	90	7.56±0.51x ^c	13.46±0.80y ^d	10.69±0.41z ^d
% 5 PTA'da Çözünen Azot (%)	1	0.010±0.00x ^a	0.023±0.00y ^a	0.022±0.00y ^a
	15	0.011±0.00x ^{ab}	0.020±0.00y ^a	0.023±0.00y ^a
	30	0.016±0.00x ^{ab}	0.037±0.00y ^{ab}	0.025±0.00z ^a
	60	0.020±0.00x ^b	0.050±0.01y ^b	0.041±0.01z ^{ab}
	90	0.032±0.00x ^c	0.076±0.01y ^c	0.053±0.01z ^b
% 5 PTA'da Çözünen Azot (% Azot)	1	0.51±0.05x ^a	0.84±0.07y ^a	0.83±0.03y ^a
	15	0.57±0.11x ^a	0.75±0.03xy ^a	0.90±0.04y ^a
	30	0.80±0.12x ^b	1.37±0.18y ^{ab}	0.98±0.14xy ^a
	60	0.98±0.20x ^b	2.01±0.40y ^b	1.63±0.20xy ^b
	90	1.59±0.27x ^c	3.22±0.48y ^c	2.12±0.21z ^c
Kazein Azotu (%)	1	1.88±0.01x ^a	2.49±0.12y ^a	2.40±0.05z ^a
	15	1.85±0.09x ^a	2.43±0.06y ^{ab}	2.33±0.08y ^b
	30	1.76±0.07x ^{ab}	2.42±0.11y ^{ab}	2.24±0.10y ^b
	60	1.72±0.03x ^{ab}	2.17±0.04y ^b	2.12±0.10y ^c
	90	1.55±0.09x ^b	1.87±0.02y ^c	2.03±0.07z ^c
Kazein Azotu (% Azot)	1	93.70±0.37x ^a	92.12±0.33xy ^a	90.20±0.82y ^a
	15	91.69±0.11x ^b	89.54±0.52xy ^b	88.70±0.21y ^a
	30	86.85±0.74x ^c	89.44±1.13y ^b	87.13±0.59xy ^{ab}
	60	85.39±0.66x ^c	86.20±0.82x ^c	85.22±0.33x ^b
	90	76.32±0.72x ^d	79.15±0.72y ^d	80.31±2.05y ^c
Proteoz-Pepton Azotu (%)	1	0.097±0.00x ^a	0.132±0.00y ^a	0.172±0.02z ^a
	15	0.115±0.01x ^b	0.198±0.02y ^b	0.188±0.02z ^a
	30	0.174±0.00x ^c	0.125±0.01y ^a	0.177±0.02x ^a
	60	0.179±0.03x ^c	0.123±0.05y ^a	0.175±0.01x ^a
	90	0.330±0.04x ^d	0.175±0.04y ^b	0.226±0.04y ^a
Proteoz-Pepton Azotu (% Azot)	1	4.84±0.27x ^a	4.91±0.18x ^a	6.49±0.48y ^a
	15	5.73±0.38x ^a	7.34±0.60y ^b	6.75±0.78xy ^a
	30	8.57±0.32x ^b	4.65±0.70y ^a	7.13±0.83z ^a
	60	8.77±1.24x ^b	4.81±1.85y ^a	7.02±0.40x ^a
	90	16.12±1.14x ^c	7.39±1.51y ^b	8.99±1.78y ^a

x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

a,b,c: Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşmanın başlangıcında A peynirinde starter bulunmaması nedeniyle suda çözünen azot oranı, diğer peynirlere göre düşük düzeyde kalmıştır. Olgunlaşmanın 15. gününde A peynirinin suda çözünen azot oranının diğer peynirlerden önemli düzeyde düşük değerlerde ve farklı olduğu görülmüş, olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde bu farklılık önemini yitirmiştir. 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda en yüksek değeri A peyniri almıştır (% 23.68). A peynirinde meydana gelen proteolize, starter içermediğinden dolayı peynire sonradan kontamine olabilen starter olmayan mikroorganizmaların da etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.9. Beyaz peynirlerinde olgunlaşma süresince saptanan suda çözünen azot oranları

Moatsou ve ark. (1999), starter ilave edilen ve starter ilave edilmeyen Greviera Kritis peynirleri arasında tüm olgunlaşma dönemlerinde suda çözünen azot oranları açısından önemli düzeyde bir farklılık saptayamamışlardır. Araştırmacılar, bunun nedenini starter olmayan bakterilerin starter bakterilere benzer nitelikte suda çözünen azot değerinde etkili olabilen proteolitik aktivitesine bağlamışlardır. Karakuş ve Alperden (1995), Beyaz peynirde farklı starter kullanımının peynirin suda çözünen azot değerlerinde önemli bir farklılık yaratmadığını vurgulamış ve en yüksek değerlerin olgunlaşmanın son döneminde elde edildiğini belirtmişlerdir.

Fenelon ve ark. (1999), Shakeel-Ur-Rehman ve ark. (1999) ve Subramanian ve ark. (1992a), farklı starterlerle ürettikleri Cheddar peynirlerinde olgunlaşma süresince peynirlerin suda çözünen azot oranları arasında bir farklılık olmadığını, bu değerlerin olgunlaşma boyunca artış gösterdiğini bildirmişlerdir. Buna karşılık Özcan (2000), Sarantinopoulos ve ark. (2002), Hannon ve ark. (2003), kullanılan bakteri farklılığının suda çözünen azot değerleri üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir. Visser (1977b), starter kullanılarak üretilen peynirlerde bu değerler daha yüksek çıkabileceğini, suda çözünür azotun “olgunlaşmanın genişliği” veya “olgunlaşmanın çevresi” ile ilgili bir veri olduğunu, burada çoğunlukla rennetin etkili olmasına karşılık az da olsa starterin etkisinin bulunduğunu bildirmiştir. Araştırmacı, starterin suda çözünür azot üzerinde çok az etkili olduğunu ve starterin daha çok “olgunlaşmanın derinliği” ya da peynirde amino asit azotu üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu vurgulamıştır.

Olgunlaşma süresince tüm peynirlerde suda çözünen azot oranları artış göstermiştir (Şekil 4.9). Bu artışlar olgunlaşmanın ilk 60 gününde daha yavaş iken, olgunlaşmanın 90. gününde hızlı olmuştur. Yapılan varyans analizi sonunda starter kullanımının peynirlerin suda çözünen azot oranları üzerinde etkili olmadığı, olgunlaşma süresi ve starter $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun $p < 0.01$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.13. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Suda Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	3.445	1.68	0.208
Olgunlaşma Süresi	4	236.564	115.18	<0.001
Starter $\times$ Olgunlaşma Süresi	8	8.041	3.92	0.004
Hata	24	2.054		

A peynirinde olgunlaşmanın 90. gününde saptanan suda çözünen azot oranı en yüksek değer olup (% 23.68) aynı olgunlaşma döneminde B ve C peynirlerinde bu değerler sırasıyla % 20.85 ve % 19.69 olmuştur. A peynirinin pH değerinin yüksek olması olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde suda çözünen azot oranının yüksek

olmasına neden olmuştur. Peynirde pH değerinin yüksek olmasının, plasminin aktif hale gelerek suda çözünür karakterli proteoz-pepton azotu oluşturmaya neden olduğu belirtilmektedir (Rank ve ark, 1985; Fox ve ark, 2000). Benzer sonuçlar Cheddar peynirinde de belirlenmiştir (Lynch ve ark, 1997). Peynirlerin suda çözünen azot oranlarındaki bu artışların olgunlaşmanın 60. gününden sonra daha hızlı artmasının starter bakterilerin lize olması ile peynir kitlesinde proteolitik veya peptidolitik enzimlerin artmasından kaynaklanmıştır. Ortaya çıkan bu enzimler, büyük moleküllü peptidlerin küçük moleküllü peptidlere veya amino asitlere dönüşmelerine yol açmaktadırlar (Meijer, 1997). Peptidlerin parçalanması ile hidrofilik özellikleri de arttığından (McSweeney ve Fox, 1997), suda çözünen azot miktarında artış gözlemlenmektedir. Ruyter ve ark. (1996) ve El-Soda ve ark. (2000), lizis sonucu ortaya çıkan serbest enzimler nedeniyle, peynirde olgunlaşmanın hızlandığını ve bakteriyel yolla hızlı olgunlaştırmanın güncel ve etkili bir yöntem olduğunu vurgulamışlardır.

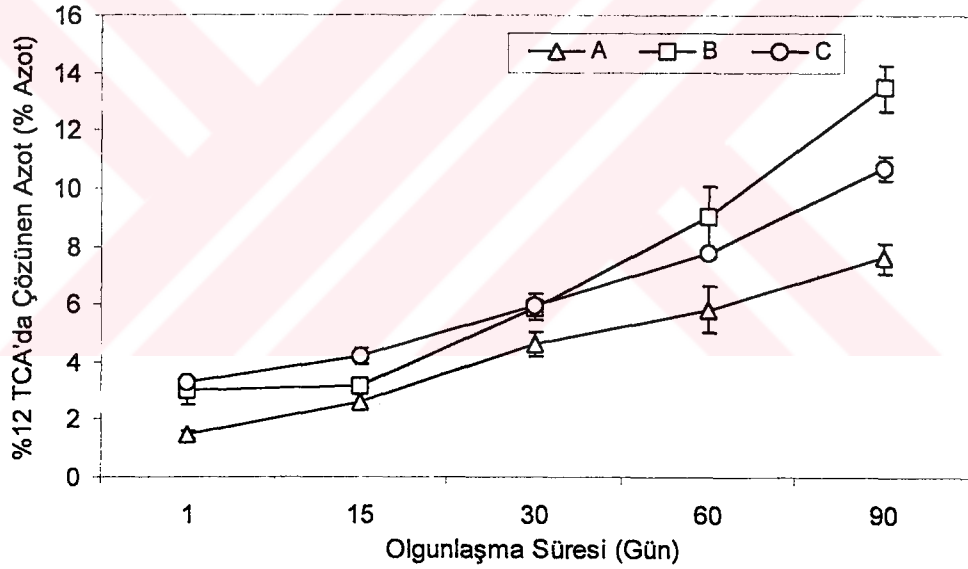
Bu konuda yapılan çalışmalarda, genellikle olgunlaşma süresinin peynirin suda çözünen azot değerleri üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Bazı araştırmacılar 90 gün süre ile olgunlaştırdıkları peynirlerde suda çözünen azot değerlerini çoğunlukla % 20 düzeylerinde bulmuşlardır (Vafopoulou ve ark, 1989; Law ve ark, 1992; Şimşek, 1995; Drab ve ark, 1999; Moatsou ve ark, 1999; Pavia ve ark, 2000a; Özcan, 2000; Moatsou ve ark, 2002; Michaelidou ve ark, 2003). Bu çalışmada, suda çözünen azot oranlarına ilişkin sonuçlar, yukarıda belirtilen çalışmalarda bulunanlara yakın değerlerdedir. Buna karşın, Litopoulou-Tzatenaki ve ark. (1993) Feta peynirinde olgunlaşmanın 75. gününde bu değer % 27, Lynch ve ark. (1996) Cheddar peynirinde % 25, Dağdemir (2001) Beyaz peynirde olgunlaşmanın 90. gününde % 57 düzeylerinde olduğunu belirtmişlerdir.

4.5.1.3. % 12 Trikloroasetik Asitte (TCA) Çözünen Azot Oranları

% 12 TCA'da çözünen veya bir başka deyişle protein olmayan azot oranları (Alichanidis ve ark, 1984; Pappas ve ark, 1996; Gürsoy ve ark, 2001), orta ve kısa

zincirli peptidler ile amino asitlerden oluşmaktadır (Fox, 1989; McSweeney ve Fox, 1997).

Olgunlaşmanın başlangıcında en düşük % 12 TCA'da çözünen azot oranı A peynirinde saptanırken, en yüksek C peynirinde saptanmıştır. Startersiz üretilen A peyniri ile starterli olarak üretilen B ve C peynirlerinin % 12 TCA'da çözünen azot oranları arasında önemli derecede farklılık olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). Olgunlaşmanın diğer aşamalarında da bu farklılık devam etmiştir. Starter ilave edilen B ve C peynirlerinin, % 12 TCA'da çözünen azot oranları sadece olgunlaşmanın 1. ve 30. günlerinde birbirine yakın değerler alırken, diğer olgunlaşma dönemlerinde birbirlerinden önemli düzeyde farklı değerler almışlardır ($p<0.01$).



Şekil 4.10. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan % 12 TCA'da çözünen azot oranları

Starter bakteri ilavesinin peynirlerde suda çözünen azot oranlarından daha çok % 12 TCA'da çözünen azot değerleri üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Suda çözünen azot fraksiyonlarının (büyük peptidler) oluşumunda daha çok süt pıhtılaştırıcı enzimlerin etkileri söz konusu iken (O'Keeffe ve ark, 1976; Visser, 1977b; O'Keeffe ve ark, 1978; Lane ve Fox, 1996), % 12 TCA'da çözünebilen

fraksiyonların (kısa zincirli peptidler, amino asitler, amonyak ve diğer minor bileşenler) oluşumunda starter enzimlerinin etkili olduğu belirtilmektedir (Grappin ve ark, 1985; Rank ve ark, 1985; Fox, 1989; Pavia ve ark, 2000a). B ve C peynirlerinin üretiminde kullanılan bakterilerin farklı proteolitik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle % 12 TCA'da çözünen azot oranları $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da starter bakterilerin % 12 TCA'da çözünen azot değerleri üzerinde önemli etkilere sahip olduğu saptanmıştır (Vafopoulou ve ark, 1989; Litopoulou-Tzanetaki ve ark, 1993; Pappas ve ark, 1996; Carmona ve ark, 1999; Drab ve ark, 1999).

Şekil 4.10'da da görüldüğü gibi, peynirlerin % 12 TCA'da çözünen azot oranları olgunlaşma süresince artış göstermiştir. Sadece, olgunlaşmanın 1. günü ile 15. günü arasındaki artış önemsiz bulunmuştur. 15. günden sonraki dönemlerde peynirler arasındaki farklılık daha belirgin duruma gelmiştir. 60. günde ise, en yüksek % 12 TCA'da çözünen azot oranı B peynirinde (% 8.99), en düşük ise starter katılmayan A peynirinde (% 5.83) saptanmıştır. Olgunlaşmanın 90. gününde de benzer durum devam etmiş ve B peynirinin % 12 TCA'da çözünen azot oranı % 13.46 düzeyine ulaşmıştır. Olgunlaşmanın son döneminde örnekler arasındaki farklılık daha da artmış ve bu farklılık istatistiksel olarak $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Varyans analizi sonucunda; starter uygulamasının, olgunlaşma süresinin ve bunların interaksiyonunun peynirlerin % 12 TCA'da çözünen azot değerleri üzerinde önemli derecede etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.14. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde % 12 TCA'da Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	26.016	59.78	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	95.389	219.17	<0.001
Starter × Olgunlaşma Süresi	8	3.721	8.55	<0.001
Hata	24	0.435		

Karakuş ve Alperden (1995), Moatsou ve ark. (1999) ve Michealidou ve ark. (2003) starter farklılığının % 12 TCA'da çözünen azot değerleri üzerine önemli derecede etki etmediğini veya olgunlaşmanın belirli aşamalarında etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar, % 12 TCA'da çözünen azot oranlarının 90 gün olgunlaştırılmış peynirlerde % 15 düzeyinde olduğunu belirtirlerken (Vafopoulou ve ark, 1989; Litopoulou-Tzanetaki ve ark, 1993; Pavia ve ark, 2000b), bazıları da % 10-12 arasında olduğunu açıklamışlardır (Mallatou ve ark, 1994; Şimşek, 1995; Drab ve ark, 1999; Pappa ve Anifantakis, 2001b; Benech ve ark, 2003; Michaelidou ve ark, 2003). Bu çalışmada starter ilave edilerek üretilen B ve C peynirlerinde saptanan değerler, yukarıda bildirilen kaynaklardaki verilerle benzerlik gösterirken, A peynirinde saptanan değerlerin daha düşük düzeylerde kaldığı görülmüştür.

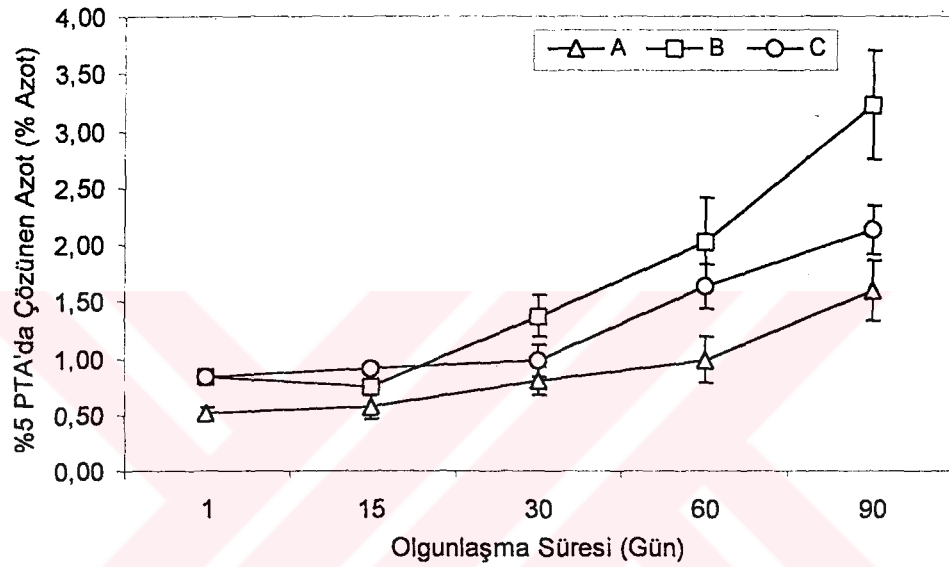
4.5.1.4. % 5 Fosfotungstik Asitte (PTA) Çözünen Azot Oranları

Peynirin % 5 PTA'da çözünen fraksiyonların, 700 Dalton'dan (Gonzalez de Llano ve ark, 1991) veya 600 Dalton'dan küçük olan peptidler (di-, tri- ve tetra-peptidler) ile amino asitler olduğu belirtilmektedir (Jarrett ve ark, 1982; McSweeney ve Fox, 1997; Hannon ve ark, 2003).

Peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot oranları Çizelge 4.12'de gösterilmiştir. Peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot oranları olgunlaşmanın başlangıcında starter katılan B ve C peynirlerinde birbirine yakın değerlerde iken (sırasıyla % 0.84 ve % 0.83), startersiz üretilen A peynirinde bu değer % 0.51 olarak bulunmuştur. A peynirindeki bu farklılık istatistiksel yönden önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Olgunlaşma ilerledikçe her 3 peynir arasındaki farklılık artmış ve önemli düzeye çıkmıştır. Olgunlaşmanın 90. gününde en yüksek % 5 PTA'da çözünen azot oranı B peynirinde saptanırken (% 3.22), en düşük değer starter ilave edilmeyen A peynirinde bulunmuştur (% 1.59). Starter farklılığının peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot oranları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$).

Litopoulou-Tzanetaki ve ark. (1993) ve Pappa ve Anifantakis (2001b), Feta peynirinde kullandıkları starterlerin % 5 PTA'da çözünen azot değerleri üzerinde farklı etkiler yarattığını belirtmişlerdir. Cheddar (Law ve ark, 1992; Law ve ark,

1993; Hannon ve ark, 2003) ve Gouda tipi peynirlerde (Visser, 1977b; Drab ve ark, 1999) farklı bakteri kullanımının peynirin % 5 PTA'da çözünen azot değerleri üzerinde önemli derecede etki yaptığı bildirilmiştir. Carmona ve ark. (1999), starter ilave edilmeyen peynirlerde % 5 PTA'da çözünen azot değerinin düşük bulunabileceğini belirtmişlerdir.



Şekil 4.11. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan % 5 PTA'da çözünen azot oranları

% 5 PTA'da çözünen azot oranları, olgunlaşmanın başlangıcından itibaren sürekli artış göstermiştir (Şekil 4.11). % 12 TCA'da çözünen azot oranlarında olduğu gibi, % 5 PTA'da çözünen azot oranları da olgunlaşmanın 15. gününe kadar önemli bir artış göstermemiş, 30. günden sonra bu değerlerde hızlı bir artış meydana gelmiştir. Peynirlerin olgunlaşma süresi içerisinde görülen bu artış, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Olgunlaşma ilerledikçe, starter katılan peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot oranları arasındaki farklılığın daha belirgin hale geldiği görülmüştür. % 5 PTA'da çözünen fraksiyonlar üzerine starter bakterilerin proteolitik aktivitelerinin etkisinin önemli düzeyde olduğu (Exterkate ve ark, 1987) ve farklı peptidolitik enzim sistemine sahip bakterilerin peynirde farklı

miktarlarda peptid ve amino asit birikimi sağlayabilecekleri belirtilmektedir (Crow ve ark, 1993). Bu araştırmada, peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot fraksiyonları özellikle olgunlaşmanın ilerleyen aşamalarında belirgin farklılıklar göstermiş ve varyans analizinde starter uygulamasının, olgunlaşma süresinin ve bunların interaksiyonunun önemli düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.15. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde % 5 PTA'da Çözünen Azot Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

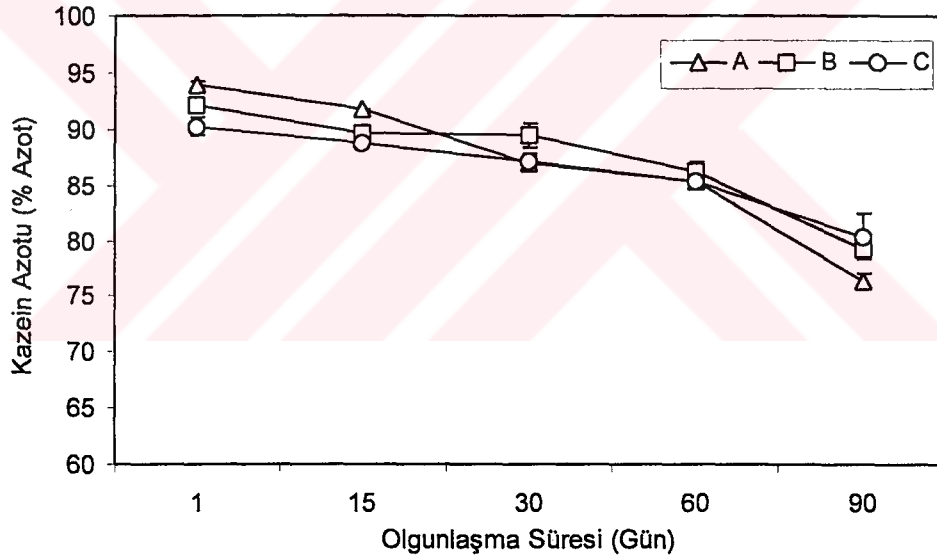
Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	2.108	25.80	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	3.973	48.63	<0.001
Starter × Olgunlaşma Süresi	8	0.306	3.75	0.006
Hata	24	0.0816		

% 5 PTA'da çözünen azot oranlarının, peynirin olgunlaşması süresince artış gösterdiği çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konulmuştur (Choi ve Kim, 1990; Vofapoulou ve ark, 1989; Tzanetakis ve ark, 1991; Vafopoulou–Mastrojiannoki ve ark, 1991; Güler, 1999; Litopoulou–Tzanetaki ve ark, 1993; Hannon ve ark, 2003; Michaelidou ve ark, 2003; Poveda ve ark, 2003a) Araştırmacıların bir çoğu bunun nedeninin, olgunlaşma süresince ortaya çıkan küçük moleküllü peptidlerin ve amino asitlerin % 5 PTA'da çözünür özellik göstermesinden kaynaklandığını belirtmişlerdir.

Peynirin serbest amino asit miktarı ile ilgili çok önemli bilgiler veren % 5 PTA'da çözünen azot oranlarının, spektrofotometrik olarak peynirin toplam serbest amino asit miktarının belirlendiği TNBS yöntemi (Jarrett ve ark, 1982) ve Ninhidrin yöntemi (Pavia ve ark, 2000a, 2000b) ile doğrusal yönlü güçlü bir ilişki içerisinde olduğu belirtilmektedir. Yapılan bu çalışmada da, peynirlerin % 5 PTA'da çözünen azot oranlarının olgunlaşma sürecinde Ninhidrin yöntemi ile belirlenen toplam amino asit değerleri ile birlikte artış gösterdiği, starter ilavesinin ve starter farklılığının bu özellik üzerinde önemli düzeyde etkiye sahip olduğu görülmüştür.

4.5.1.5. Kazein Azotu Oranları

Ham kazein olarak da tanımlanan ve olgunlaşma süresince sürekli azalan kazein azotu, olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek A peynirinde (% 93.70), en düşük C peynirinde (% 90.20) saptanmış ve peynirler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Peynirlerin kazein oranlarındaki değişim olgunlaşma süresince farklılıklar göstermiştir. Olgunlaşmanın 1. ve 30. günlerinde starter kullanılan B ve C peynirleri arasında, 15. ve 90. günlerinde de starter kullanılmayan A peyniri ile diğer peynirler arasında önemli düzeyde farklılık olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Olgunlaşmanın 60. gününde ise, peynirlerin kazein azotu oranları birbirlerine yakın değerler almışlardır.



Şekil 4.12. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kazein azotu oranları

Peynirlerin kazein oranları, olgunlaşmanın ilerlemesi ile azalmış ve olgunlaşmanın 90. gününde peynirler en düşük kazein oranlarına sahip olmuşlardır. Kazein oranları olgunlaşmanın ilk 60 günü içinde doğrusal bir azalış göstermiş (Şekil 4.12), 60. günden sonra daha hızlı bir azalış görülmüştür. Starter ilave edilen peynirler arasında, en fazla azalış B peynirinde saptanmış ve örneklerin

elektroforetik analizlerinde en fazla kazein hidrolizinin B peynirde olduğu görülmüştür. Varyans analizi sonucunda starter uygulamasının önemli bir etkisinin olmadığı, olgunlaşma süresi ile stater $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun peynirlerin kazein azotu oranları üzerindeki etkilerinin önemli olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Kazein Azotu Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	3.582	1.70	0.203
Olgunlaşma Süresi	4	240.769	114.46	<0.001
Starter $\times$ Olgunlaşma Süresi	8	8.069	3.84	0.004
Hata	24	2.103		

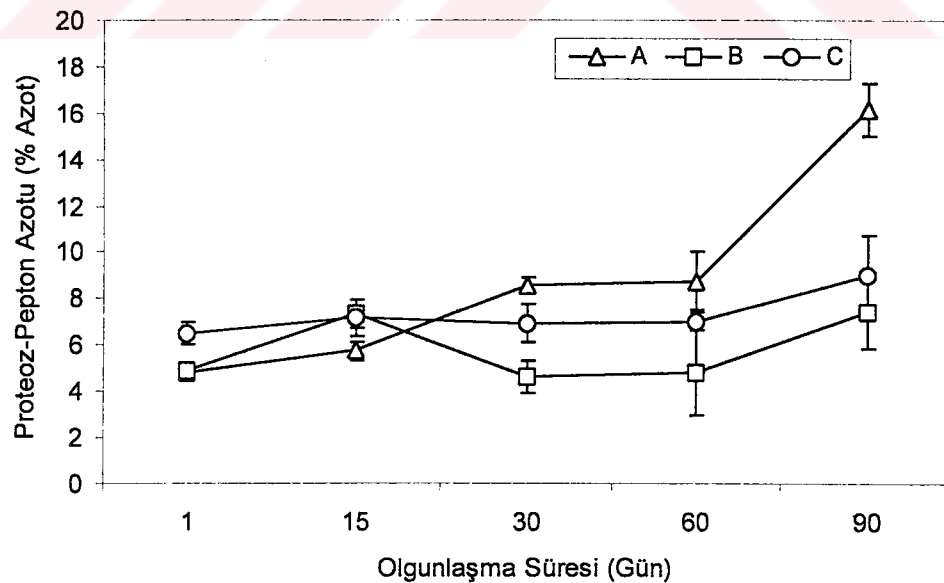
Fenelon ve Guinee (2000), Cheddar peynirlerinde ham proteinin olgunlaşma süresince doğrusal bir azalış gösterdiğini bildirmişlerdir. Kazein azotu oranlarının belirtilmediği diğer çalışmalarda, peynirlerin olgunlaşma süresince suda veya pH 4.6'da çözünen azot oranlarında artış olduğu, buna karşın toplam azot oranlarında ise azalış olduğu belirtilmiştir. Söz konusu çalışmalarda verilen sonuçlardan kazein oranları hesaplandığında, bu oranının olgunlaşma süresince azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.12 incelendiğinde, B ve C peynirlerinde kazein oranlarında daha belirgin bir azalış meydana gelirken, A peynirinde 15. güne kadar kazein azotu oranları önemli bir değişikliğe uğramamış 30. ve 90. günlerde belirgin bir şekilde azalmıştır. A peynirinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramında, kazeinlerin en fazla olgunlaşmanın 30. gününden sonra parçalanmaya başladığı ve 60. günden sonra α_{s1} -kazein parçalanma bölgesinde belirgin bantlar olduğu saptanmıştır. A peynirindeki bu farklılığın en önemli nedenlerinden birinin, peynire sonradan kontamine olabilen ve olgunlaşmanın belirli bir aşamasından sonra peynir florasına hakim olan diğer kontamine bakterilerin proteolitik etkileri olduğu düşünülmüştür (Hynes ve ark, 2003).

Bu konuda yapılan çalışmalarda kazein oranları verilmediğinden, bu çalışmada bulunan sonuçlar başka çalışmalarla karşılaştırılamamıştır. Peynirlerin urea-PAGE elektroforetik analizleri yapıldığından ve kazeindeki parçalanmalar daha spesifik olarak belirlendiğinden bu konudaki tartışmalara daha ayrıntılı olarak bölüm 4.3.2.1.'de yer verilmiştir.

4.5.1.6. Proteoz-Pepton Azotu Oranları

Olgunlaşmanın 1. gününde en yüksek proteoz-pepton azotu oranları C peynirinde bulunmuş ve bunu sırasıyla B ve A peynirleri izlemiştir. A ve B peynirleri birbirine yakın değerler alırken, C peynirinin istatistiksel olarak farklı düzeyde proteoz-pepton azotu içerdiği saptanmıştır ($p<0.01$). Olgunlaşmanın ilk 60 günü içinde starter ilave edilen B ve C peynirleri arasındaki farklılık önemli iken, starter katılmayan A peynirinin proteoz-pepton azotu oranlarının diğer peynirlerle olgunlaşma süresince önemli düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). En belirgin farklılık olgunlaşmanın 90. gününde saptanmıştır.



Şekil 4.13. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan proteoz-pepton azotu oranları

A peynirinin proteoz-pepton azotu oranları olgunlaşma süresi boyunca diğer peynirlerden daha yüksek oranda artış göstermiştir (Şekil 4.13). Bu durum, suda çözünen azot değerlerinin % 12 TCA'da çözünen azot değerlerinden daha fazla oranda artış göstermesinden kaynaklanmaktadır. Çünkü, % 12 TCA'da çözünen azot oranları üzerinde daha çok starter enzimleri rol oynadığından, starter kullanılmayan A peynirinde % 12 TCA'da çözünen azot oranları daha düşük düzeylerde kalmıştır.

Peynirlerin proteoz-pepton azotu değerlerinde olgunlaşmanın 60. gününe kadar düzensiz de olsa bir artış olmuştur. Olgunlaşmanın 60. gününden sonra görülen artış daha hızlı olmuş ve olgunlaşmanın bu döneminde her 3 peynirde de en yüksek değerleri almıştır. A peynirinde 15. güne kadar meydana gelen artış önemli bulunmazken, 60. günde belirgin bir artış gözlenmemiş, ancak 90. günde önemli bir artış olmuştur. Olgunlaşma süresince A peynirinde meydana gelen artış $p < 0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Peynirde pH değerinin yüksek olması, plasminin aktivite olmasına neden olduğu ve plasmin β -kazeinin N-terminalinde parçalanma yaparak proteoz-pepton azotu değerlerinde artış meydana getirdiği belirtilmektedir (Visser, 1977b; Lynch ve ark, 1997).

Varyans analizinde starter uygulamasının, olgunlaşma süresinin ve starter $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonunun peynirlerin proteoz-pepton azotu oranları üzerinde önemli derecede etkili olduğu açığa çıkmıştır (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Proteoz-Pepton Azotu Oranlarına Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	0.005	3.02	0.037
Olgunlaşma Süresi	4	0.016	8.72	<0.001
Starter $\times$ Olgunlaşma Süresi	8	0.007	4.12	0.003
Hata	24	0.0018		

Şimşek (1995), Beyaz peynirlerde proteoz-pepton azot değerlerini % 3.5–15.5 arasında ve ortalama % 7.7 düzeyinde olduğunu belirtirken, diğer araştırmacıların (Litopoulou-Tzanetaki ve ark, 1993; Mallatou ve ark, 1994; Karakuş ve Alperden,

1995; Gürsoy ve ark, 2001) saptadıkları suda ve % 12 TCA'da çözünen azot değerleri dikkate alındığında proteoz-pepton azotu oranlarının % 5–15 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu çalışmada da, özellikle starter ilave edilmiş B ve C örneklerinde elde edilen sonuçlar, yapılan çalışmalara benzerlik göstermektedir.

4.5.2. Toplam Serbest Amino Asit Miktarları

Proteinlerdeki toplam serbest amino asit miktarları, amino asitlerin fonksiyonel amino gruplarının kromofor bir madde ile boyandıktan sonra belirlenmektedir (Wallace ve Fox, 1998). Toplam serbest amino asit miktarları, spektrofotometrik olarak 507 nm'de saptanmış ve absorbands değerleri standart eğriye göre mg Leu/g'a dönüştürülmüştür. Bulguların değerlendirilmesi yapılırken, mg Leu/g cinsinden sonuçlar dikkate alınmıştır.

Çizelge 4.18. Beyaz Peynir Örneklerinin Toplam Serbest Amino Asit Miktarları

Olgunlaşma Süresi (Gün)	507 nm'deki absorbands			mg Leu/g peynir		
	A	B	C	A	B	C
1	0.096±0.01x ^d	0.261±0.03y ^d	0.238±0.01y ^c	2.40±0.07x ^d	3.95±0.16y ^d	3.73±0.10y ^c
15	0.143±0.02x ^{cd}	0.349±0.06y ^{cd}	0.259±0.02z ^c	2.84±0.20x ^{cd}	4.78±0.54y ^{cd}	3.93±0.22z ^c
30	0.201±0.02x ^{cb}	0.472±0.10y ^{bc}	0.354±0.03z ^b	3.39±0.17x ^{cb}	5.95±0.55y ^{bc}	4.83±0.30z ^b
60	0.222±0.03x ^b	0.582±0.02y ^b	0.394±0.06z ^b	3.59±0.25x ^b	6.99±0.21y ^b	5.21±0.56z ^b
90	0.471±0.03x ^a	0.914±0.08y ^a	0.562±0.08z ^a	5.94±0.28x ^a	10.12±0.79y ^a	6.79±0.74x ^a

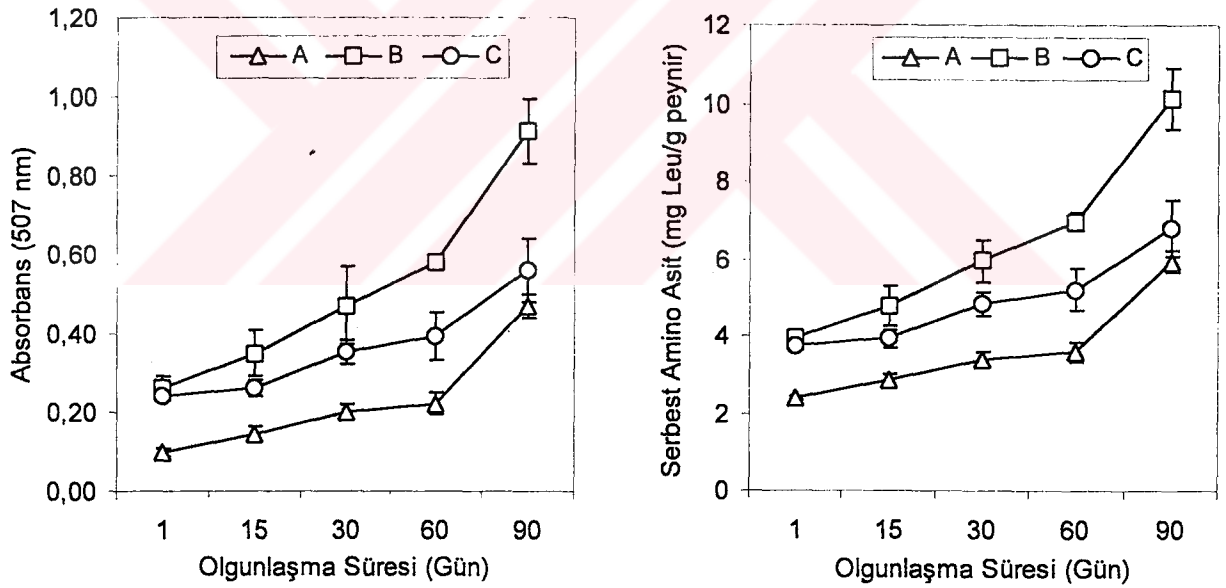
x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

Peynirlerin içerdikleri toplam serbest amino asit konsantrasyonları incelendiğinde, starter katılmayan A peynirinin tüm olgunlaşma dönemlerinde B ve C peynirlerinden daha düşük düzeyde kaldığı görülmüştür. B ve C peynirleri olgunlaşmanın 1. gününde birbirlerine benzerlik göstermiş (sırasıyla 3.95 ve 3.73 mg Leu/g), olgunlaşma ilerledikçe bu peynirler arasındaki farklar artmış ve olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde saptanan farklılıklar istatistiksel olarak önemli

düzeye çıkmıştır ($p<0.05$). Toplam serbest amino asit konsantrasyonunda en hızlı artış B peynirinde görülmüş ve B peyniri olgunlaşmanın 60. gününde A ve C peynirlerinin olgunlaşmanın 90. gününde sahip oldukları amino asit konsantrasyonlarından daha yüksek değerler almıştır. Lane ve Fox (1996) Cheddar peynirlerinde olgunlaşmanın 4. ayında serbest amino asit konsantrasyonunun 2.3 mg Leu/g, Pavia ve ark. (2000a) Manchego peynirlerinde bu değer yaklaşık 6 mg Leu/g olduğunu belirtmişlerdir.

Şekil 4.14'te görüldüğü gibi, olgunlaşma süresince peynirlerin toplam serbest amino asit konsantrasyonunda önemli bir artış olmuştur. En yüksek artışlar, olgunlaşmanın 60–90 günleri arasında gerçekleşmiştir. C peynirindeki amino asit konsantrasyonu başlangıçta B peyniri ile yaklaşık değerlerde iken, olgunlaşma süresi içerisinde C peynirindeki artış daha yavaş, B peynirindeki artış daha hızlı olmuştur.



Şekil 4.14. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam serbest amino asit miktarları

Peynirlerin toplam serbest amino asit konsantrasyonunun olgunlaşma süresi ilerledikçe genellikle doğrusal bir artış gösterdiği diğer çalışmalarda da belirlenmiştir. Araştırmacıların bazıları, yaptıkları çalışmalarda amino asit

konsantrasyonunu mg/g, bazıları mM, bazıları ise sadece absorbands değerleri olarak vermişlerdir. Ancak, araştırmacıların ulaştıkları ortak nokta, starterin toplam serbest amino asit oluşumunda önemli düzeyde etkiye sahip olduğu ve her bir starterin farklı konsantrasyonlarda amino asit oluşturduğudur (Law ve ark, 1993; Farkye ve ark, 1995; Yüzbaşı, 1996; Lynch ve ark, 1996; Shakeel–Ur–Rehman ve ark, 1999; Gürsoy ve ark, 2001; Kandarikis ve ark, 2001). Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, peynirler arasındaki farklılık $p<0.01$ düzeyinde önemli bulunmuş, olgunlaşma süresinin ve starter $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonunun toplam serbest amino asit oluşumuna önemli düzeyde etkisinin olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19. Farklı Starterlerle Üretilen Beyaz Peynirlerde Toplam Serbest Amino Asit Değerlerine Ait Varyans Analizi Sonuçları

Varyasyon Kaynakları	507 nm'deki absorbands				mg Leu/g peynir			
	SD	KO	F Değeri	P	SD	KO	F Değeri	P
Starter	2	0.313	93.22	<0.001	2	27.944	93.22	<0.001
Olgunlaşma Süresi	4	0.277	82.55	<0.001	4	24.746	82.55	<0.001
Starter $\times$ Olg. Süresi	8	0.015	4.41	0.002	8	1.323	4.41	0.002
Hata	24	0.003			24	0.299		

Lynch ve ark. (1997), starter ilave edilen Cheddar peynirlerinde daha yüksek konsantrasyonda amino asit saptandığını bildirmişlerdir. Law ve ark. (1992), UC317 ve HP suşları ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde Cd–Ninhidrin yöntemi ile saptadıkları toplam amino asit değerlerinin (507 nm'deki absorbands) birbirinden farklı olduğu ve bulunan değerlerin % 5 PTA'da çözünen azot değerleri ile oldukça uyumlu bir şekilde değiştiğini saptamışlardır. Çünkü, peptidlerin hidrolizi sonucunda daha küçük peptidler ve amino asitler oluşmakta ve oluşan yeni bileşenler de Cd–Ninhidrin reaktifi ile yeni gruplar oluşturmaktadır (Madkor ve ark, 1987). Bu çalışmada da, Ninhidrin yöntemi ile belirlenen serbest amino asit miktarları, % 5 PTA'da çözünen azot oranları ve serbest amino asit kompozisyonu ile uyum içinde olduğu, bu analizlerle de B peynirinin en yüksek değerlere sahip olduğu görülmüştür.

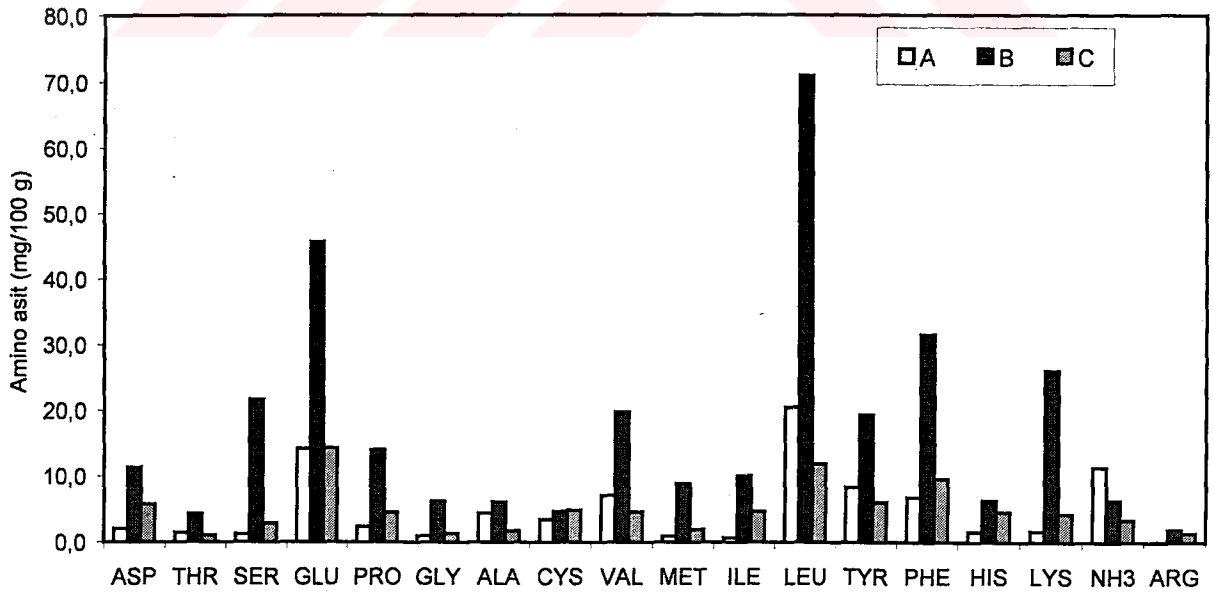
4.5.3. Amino Asit Kompozisyonu

Beyaz peynirlerde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenen serbest amino asit kompozisyonu mg/100g peynir olarak ve her bir amino asitin toplam amino asit miktarındaki % oranları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Beyaz peynirin tam olarak olgunluğa eriştiği 60. günde önemli düzeyde serbest amino asit varlığı saptanmıştır. Toplam serbest amino asit konsantrasyonu A peynirinde 93.549 mg/100 g, B peynirinde 341.562 mg/100 g ve C peynirinde 107.965 mg/100 g düzeyinde saptanmıştır. Şekil 4.15’te görüldüğü gibi, peynir örneklerinde en fazla miktarda Leu, Glu, Phe ve Lys amino asitlerine rastlanmıştır. Cis amino asiti, C peynirinde yüksek konsantrasyonda bulunmuş, ancak peynirlerdeki miktarı düşük düzeylerde dir.

Çizelge 4.20. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşmanın 60. Gününde Saptanan Amino Asit Kompozisyonu (mg/100 g) ve % Oranları

Amino asitler	A	% oranı	B	% oranı	C	% oranı
CIS	4.08	4.36	25.829	7.56	18.502	17.14
ASP	2.054	2.20	11.298	3.31	5.734	5.31
THR	1.460	1.56	4.323	1.27	1.065	0.99
SER	1.243	1.33	21.630	6.33	2.892	2.68
GLU	14.203	15.18	45.672	13.37	14.314	13.26
PRO	2.383	2.55	14.037	4.11	4.537	4.20
GLY	0.986	1.05	6.247	1.83	1.384	1.28
ALA	4.468	4.78	6.176	1.81	1.774	1.64
CYS	3.466	3.71	4.774	1.40	4.904	4.54
VAL	7.129	7.62	19.803	5.80	4.631	4.29
MET	0.926	0.99	8.927	2.61	1.979	1.83
ILE	0.704	0.75	10.097	2.96	4.717	4.37
LEU	20.521	21.94	70.913	20.76	11.941	11.06
TYR	8.374	8.95	19.391	5.68	6.111	5.66
PHE	6.846	7.32	31.544	9.24	9.646	8.93
HIS	1.598	1.71	6.385	1.87	4.656	4.31
LYS	1.643	1.76	26.134	7.65	4.355	4.03
NH ₃	11.390	12.18	6.413	1.88	3.421	3.17
ARG	0.084	0.09	1.980	0.58	1.402	1.29
TOPLAM	93.549	100.01	341.562	100.00	107.965	100.00

B peynirinde A ve C peynirlerine göre oldukça yüksek konsantrasyonda serbest amino asit saptanmıştır. B peynirinin bazı amino asitlerden, örneğin Val, Met, Leu, Tyr, Lys amino asitleri bakımından A ve C peynirlerinden daha zengin olduğu görülmüştür. Toplam serbest amino asit analizinde de benzer durum gözlenmiş ve B peynirinde olgunlaşmanın 15. gününden itibaren daha yüksek miktarda serbest amino asit saptanmıştır. B peynirinin starter bileşiminde yer alan NCDO763 ve SK11 suşlarının, lactocepin III tipi proteinaz sitemine sahip olmaları, α_{s1} -kazeinin fl-23 fragmenti üzerinde daha spesifik ayrılmalara neden olmaktadır (Tan ve ark, 1993; Exterkate ve Alting, 1995). Bunun yanı sıra, SK11 suşunun otolitik özelliği yüksek bir suş olması, peynirde olgunlaşmanın daha erken dönemlerinde bazı peptidolitik enzimlerin serbest kalmasına yol açmaktadır (Meijer, 1997). Bu durumda, B peynirinde kısa zincirli peptidlerin daha yüksek oranda bulunmasının ve bunların amino asitlere dönüşmesinin en önemli nedenlerinden biri, bu bakterinin daha erken lize olmalarıyla ortaya çıkan hücre içi enzimleridir (Hayaloğlu ve ark, baskıda).



Şekil 4.15. Beyaz peynirlerde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenen amino asit kompozisyonu

Üçüncü (1981), pastörize süttten starterli ve startersiz olarak ürettiği Beyaz peynirlerde, starter kullanımının serbest amino asit oluşumunu önemli düzeyde artırdığını ve peynirlerde en çok bulunan amino asitlerin sırasıyla Leu, Glu, Ser, Phe ve Val olduğunu saptamıştır. Araştırmacı, peynirde amino asit birikiminin pıhtılaştırıcı enzimlerden değil, daha çok starter enzimlerinden kaynaklandığını vurgulamıştır. Visser (1977b) ve Kaymaz (1982), benzer sonuçlara ulaşmış ve pastörize–startersiz süttten yapılan peynirlerde sınırlı düzeyde amino asit birikimi olduğunu, starterli olarak üretilen peynirlerde daha yüksek miktarda serbest amino asit bulunduğunu belirtmişlerdir.

Hannon ve ark. (2003), *Lactococcus* suşları ile üretilen Cheddar peynirlerinde olgunlaşma süresinin aynı döneminde amino asit konsantrasyonunun 320 mg/100g olduğunu ve starter farklılığının toplam amino asit miktarları üzerinde önemli düzeyde etkili olduğunu bildirmişlerdir. Wilkinson ve ark. (1994), starter (HP ve AM2 tek suşları ile G11/C25 karışık kültürü) farklılığının Cheddar peynirinin amino asit kompozisyonunda önemli derecede farklılığa neden olduğunu vurgulamışlardır.

O’Keeffe ve ark. (1976), O’Keeffe ve ark. (1978), Drab ve ark. (1999), Fenelon ve ark. (1999), Moatsou ve ark. (1999) ve Shakeel–Ur–Rehman ve ark. (1999) farklı tip peynirlerde, starterin amino asit oluşumuna önemli derecede etkili olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar, inceledikleri peynir örneklerinde en çok bulunan amino asitlerin Glu, Leu ve Lys, ikinci derecede ise Ala, Val ve Phe amino asitlerinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Güven (1993), Tulum peynirlerinde en yüksek oranlarda saptanan amino asitlerin Glu, Leu ve Lys olduğunu bildirmiştir. Diğer yandan Azarnia ve ark. (1997), İran Beyaz peynirinde Lys, Arg ve Glu en çok bulunan amino asitler olduğunu saptamışlardır. Görüldüğü gibi, peynir çeşidi farklı olsa bile genellikle belli düzeyde olgunluğa ulaşmış peynirlerde belirli bazı amino asitlerin baskın durumda olduğu ortaya çıkmaktadır.

Bu çalışmada, en yüksek amino asit konsantrasyonuna sahip olan B peynirinin, toplam amino asit miktarının (mg Leu/g) daha yüksek olduğu ve RP–HPLC peptid profilinin de belirgin bir şekilde farklı olduğu gözlemlenmiştir. B

peynirinde pH 4.6'da ve % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profillerinde (sırasıyla Şekil 4.21 ve 4.23), özellikle alıkonma zamanının başlangıcında (9. ve 13. dakikalarda) farklı piklerin varlığı dikkat çekmiştir. Diğer taraftan, B peynirinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonunun urea-PAGE analizinde (Şekil 4.16), α_{s1} -kazeinin diğer peynirlerden farklı oranlarda parçalanması ve α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri bölgesinde farklı bantlar bulunması, bu peynirde amino asit kompozisyonunun farklı olabileceğini doğrulamaktadır.

Starter ilave edilmeyen A peynirinde amino asit konsantrasyonunun oldukça düşük olduğu, toplam serbest amino asit tayininde de A peynirinin olgunlaşmanın tüm dönemlerinde en düşük değerleri aldığı belirlenmiştir. Peynirlerin serbest amino asit konsantrasyonları incelendiğinde, A peynirinde saptanan bazı amino asitlerin (Ala, Val, Leu, Tyr) C peynirinden daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu görülmüştür. Bu durum, A peynirinde olgunlaşmanın başlangıcından itibaren çevreden kontamine olabilen ve peynirde baskın bir mikroflora bulunmaması nedeniyle gelişebilen starter olmayan laktik asit bakterilerinin, peynirin amino asit profilinde farklılıklar yarattığı şeklinde açıklanabilir. Bu peynirde baskın duruma gelen starter olmayan laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus* cinsi bakterilerin, peynirde farklı profillerde ve konsantrasyonlarda amino asit birikimine neden olabildiği belirtilmektedir (Lynch ve ark, 1996; Ardö ve ark, 2002; Fenelon ve ark, 1999; Hannon ve ark, 2003). *Lactobacillus* cinsi bakterilerin proteolitik enzim sistemlerinin *Lactococcus*'lar kadar bilinmediği ve bu konuda yapılan çalışmaların henüz devam ettiği belirtilmektedir (Fox ve ark, 1998).

Ayrıca, A peynirinde diğer peynirlerden farklı olarak NH_3 miktarının yüksek olduğu dikkat çekmektedir (Çizelge 4.20). Bu durum starter olmayan bakterilerin farklı proteolitik etkiye sahip olduklarını ve bu mikroorganizmaların amino asitleri de parçalayarak bazik karakterli ürünler oluşturduklarını göstermektedir.

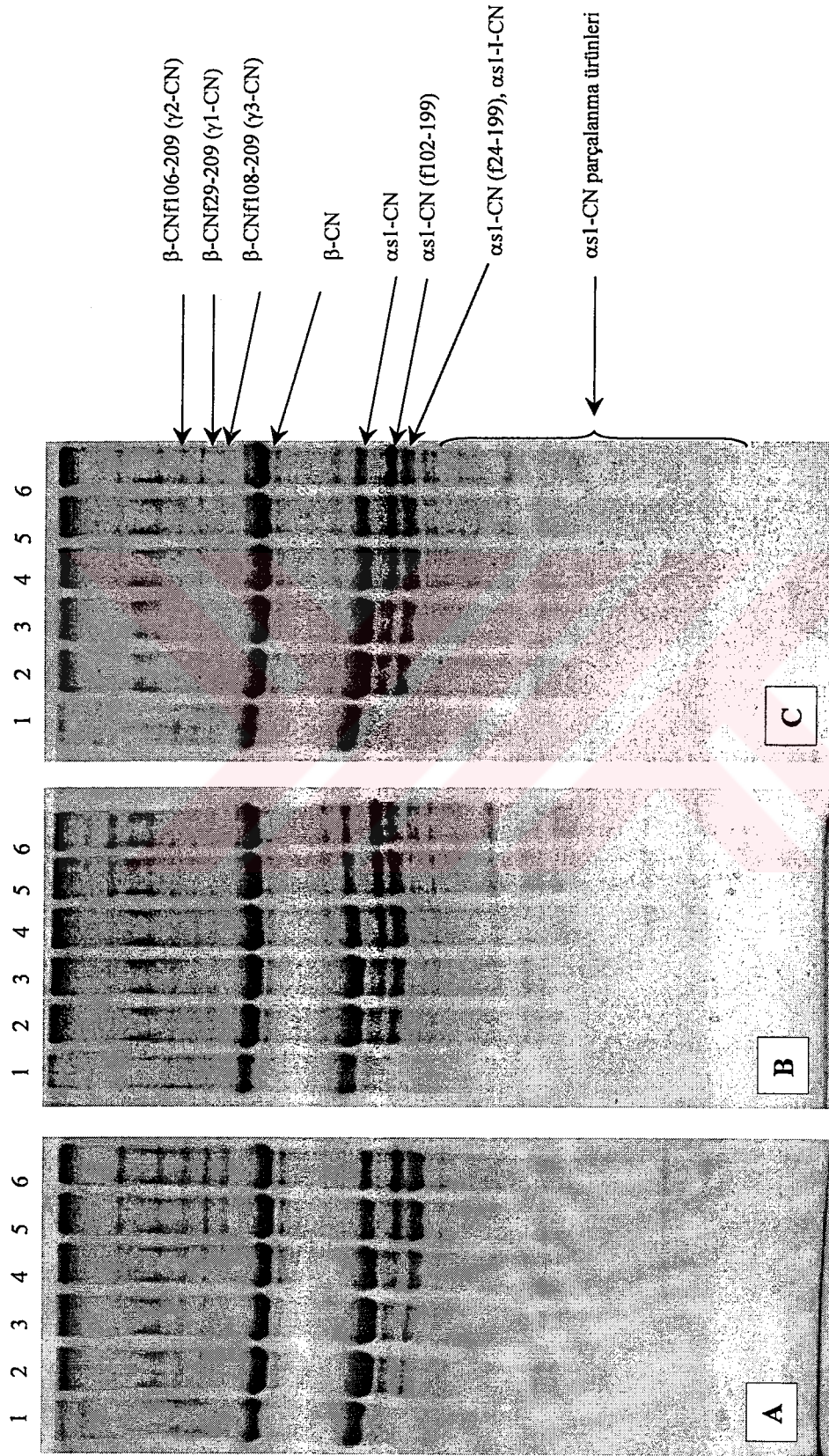
4.5.4. Peynirlerde Urea-Poliakrilamid Jel Elektrophorez (urea-PAGE) ve Ters-Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) ile Saptanan Proteoliz

Bu bölümde, pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE analizleri ile, pH 4.6'da çözünen, % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC kromatografik analizlerinden elde edilen sonuçlar tartışılmıştır. Elde edilen sonuçlar, çok değişkenli istatistiksel analizlere (temel bileşen ve kümeleme analizleri) tabi tutulmuş ve peynirler olgunlaşma süresince verdikleri urea-PAGE ve RP-HPLC profillerine göre gruplandırılmıştır.

4.5.4.1. Peynirlerin urea-PAGE ile Analizleri

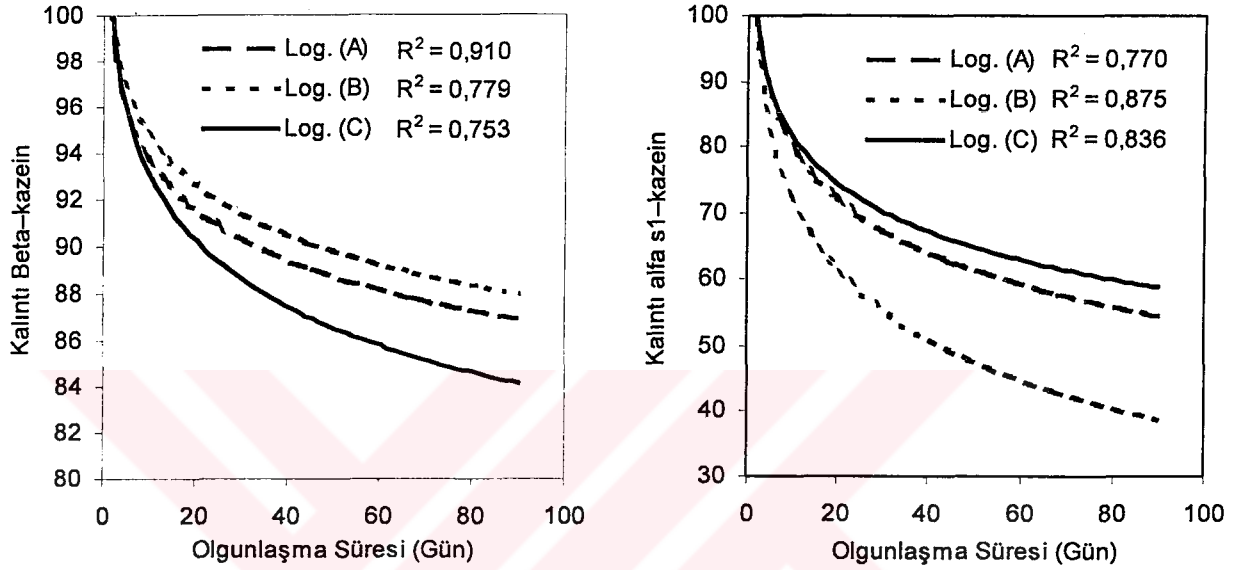
Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramları Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Her bir şekilde, 1. bantlar Na-kazeinatı, diğer bantlar da (2-6) sırasıyla olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen kazein fraksiyonlarının elektroforetik özelliklerini göstermektedir.

Starter ilave edilmeyen A peynirinde, olgunlaşmanın 30. gününden sonra parçalanma ürünlerinin diğer peynirlerden daha fazla olduğu dikkat çekmiştir. Bu durumun gerçekleşmesinde, peynirin pH değeri en önemli etkenlerden biridir. β -kazeinin hidrolizinde rol oynayan süt alkali proteinaz (plasmin), 5.6 pH'dan daha yüksek pH'larda aktif olmasına karşın, genellikle optimum aktiviteyi pH 7.6'da göstermektedir (Lawrence ve ark, 1987; Fox ve ark, 1993; Fenelon ve Guinee, 2000; Sousa ve McSweeney, 2001). B ve C peynirlerinin pH değerlerinin 5.0'ın altında olması ve A peynirinde olgunlaşmanın başlangıcında 6.0, olgunlaşmanın 30. gününde 5.5 düzeyine inmesi, A peynirinin plasmin aktivitesi açısından daha uygun ortam oluşturmasını sağlamıştır. Elde edilen jellerin dansitometrik analiz sonuçlarına göre, A peynirinde diğer peynirlere oranla daha yüksek miktarda γ -kazein oluşması (Çizelge 4.21), plasmin veya peynire sonradan kontamine olan starter olmayan mikroorganizmaların aktivitelerinin olduğunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.16. A, B ve C peynirlerinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE elektroforetogramları.
CN: kazein; 1: Na-kazeinat; 2, 3, 4, 5 ve 6 sırasıyla olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerini temsil etmektedir.

C peynirinin starter kombinasyonunda yer alan UC317 ve HP suşları, sırasıyla lactocepın I-III ve lactocepın I enzim sistemlerine sahip bakteriler olduğundan, B peynirine oranla C peynirinde β -kazeini hidrolize etmede daha etkili olmuşlardır (Şekil 4.17).



Şekil 4.17. Peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan kalıntı β -kazein ve kalıntı α_{s1} -kazein oranları

90 günlük olgunlaştırma süresi sonunda, C peynirinde kalıntı β -kazein oranı % 80.1 iken, B peynirinde bu oran % 84.9, A peynirinde ise % 84.3 olduğu saptanmıştır. β -kazeindeki parçalanmalar dikkate alındığında, olgunlaşmanın 1-30 günleri arasında meydana gelen parçalanmalar B ve C peynirlerinde birbirine yakın değerler alırken, A peynirinin farklı ve daha düşük değerlere sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.22, Şekil 4.16). Olgunlaşmanın 60. gününden sonra, C peynirinin aldığı değerler daha düşük bulunmuş ve C peyniri ile diğer peynirler arasındaki bu farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

B peynirinde bulunan bakteri suşları NCDO763 ve SK11'in sırasıyla lactocepın I-III ve lactocepın III enzim sistemine sahip olduklarından (Smid ve ark, 1991; Tan ve ark, 1993) daha çok α_{s1} -kazein üzerinde etkili olmuşlardır. Çizelge 4.22'de görüldüğü gibi, 90 günlük olgunlaşma sonunda A, B ve C peynirlerinde

hidrolize olmadan kalan α_{s1} -kazeinin oranları sırasıyla % 50.3, 27.9 ve 38.6 düzeylerindedir. Visser ve de Groot–Mostert (1977) farklı starter suşları ile üretilen Gouda peynirlerinde, olgunlaşmanın 1. ayında kalıntı α_{s1} -kazein oranının % 7–10 düzeyinde kaldığını, α_{s1} -kazeinin hidrolizi açısından starter suşları arasında önemli bir farklılığın bulunmadığını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.21. Peynirlerin urea–PAGE Elektroforetogramlarının Dansitometrik Sonuçları (Pik Hacmi $\times 10^3$)

Peynirler	Olgunlaşma Süresi (Gün)	$\gamma 2$ -CN	$\gamma 1$ -CN	$\gamma 3$ -CN	β -CN	α_{s1} -CN	α_{s1} -CN (f102-199)	α_{s1} -CN (f24-199)
A	1	11.71	7.40	10.53	210.888	154.899	9.89	28.17
	15	13.34	7.83	9.54	197.809	133.621	7.98	24.77
	30	17.55	12.16	12.30	191.601	118.222	37.79	81.89
	60	19.80	11.23	15.96	188.911	95.993	80.91	119.76
	90	24.21	17.48	21.66	177.776	59.775	95.65	98.74
B	1	6.70	4.14	6.74	223.609	173.383	11.58	51.36
	15	6.30	5.50	7.10	216.821	140.792	17.85	59.87
	30	7.14	7.20	8.90	211.338	101.720	34.63	61.26
	60	8.59	7.54	11.45	196.818	75.612	44.87	47.78
	90	11.74	11.86	11.02	189.869	48.436	55.98	37.73
C	1	6.76	6.02	4.83	219.729	143.260	10.98	49.79
	15	6.62	5.33	5.33	209.011	124.400	18.55	58.96
	30	7.19	6.62	5.96	204.763	111.861	33.84	61.57
	60	8.29	8.35	6.18	183.549	84.999	43.79	47.33
	90	11.67	9.86	7.11	175.954	72.066	60.47	36.80

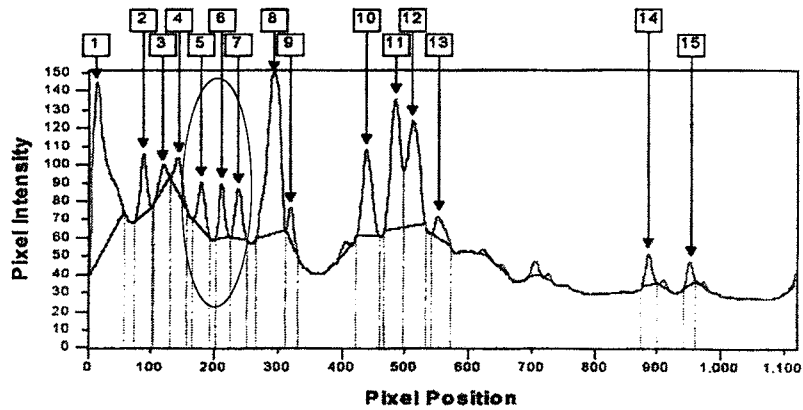
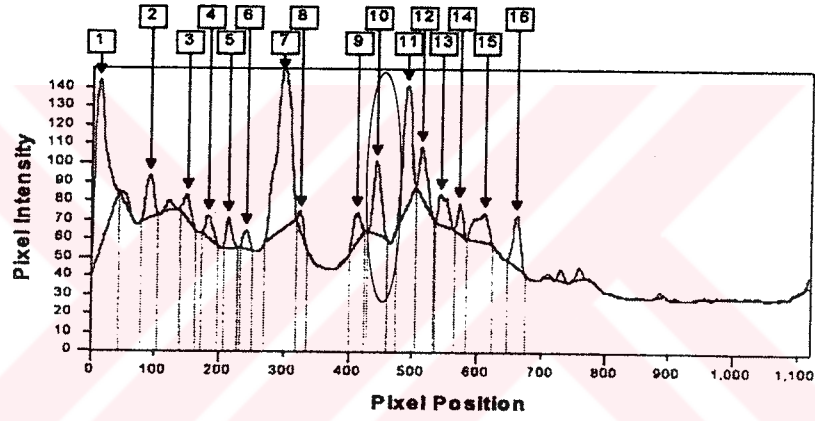
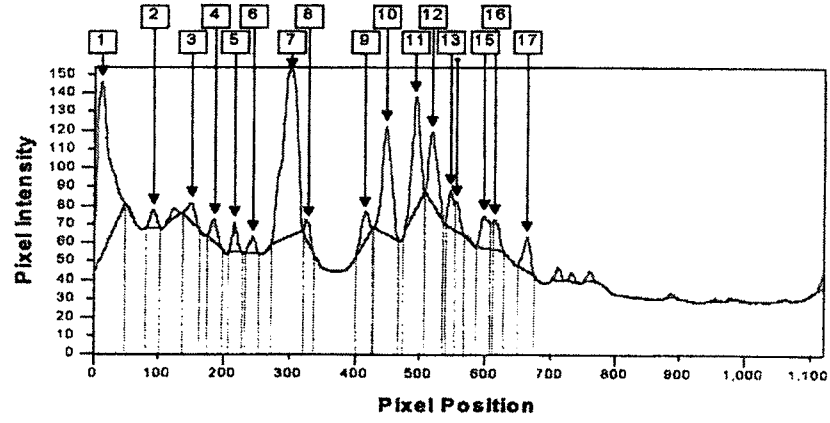
α_{s1} -kazeinin parçalanması sonucunda, α_{s1} -I-kazeinin (f24–199) ve α_{s1} -kazein (f102–199) ve elektroforetik mobiliteleri bunlardan daha hızlı olan α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri meydana gelmiştir (Şekil 4.16). Olgunlaşma süresi ilerledikçe α_{s1} -kazein miktarında azalma, diğer taraftan α_{s1} -kazein parçalanma ürünlerinde artış olmuştur (Çizelge 4.21). Olgunlaşmanın daha ileri aşamalarında bu parçalanma ürünleri de, starter enzimleri tarafından parçalanarak daha küçük molekülü peptidlere ve amino asitlere dönüşmektedir (Van der Berg ve Exterkate, 1993).

Çizelge 4.22. Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Kalıntı β -kazein ve α_{s1} -kazein Oranları

Olgunlaşma Süresi (Gün)	Kalıntı β -kazein (%)			Kalıntı α_{s1} -kazein (%)		
	A	B	C	A	B	C
1	100	100	100	100	100	100
15	93.8 ^a	96.9 ^b	95.1 ^b	86.3 ^a	81.2 ^b	86.8 ^a
30	91.0 ^a	94.3 ^b	93.9 ^b	76.3 ^a	58.7 ^b	78.1 ^a
60	89.6 ^a	88.0 ^a	83.5 ^b	62.0 ^a	43.6 ^b	59.3 ^c
90	84.3 ^a	84.9 ^a	80.1 ^b	38.6 ^a	27.9 ^b	50.3 ^c

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfleri taşıyan değerler arasında $p < 0.05$ düzeyinde önemli farklılık vardır.

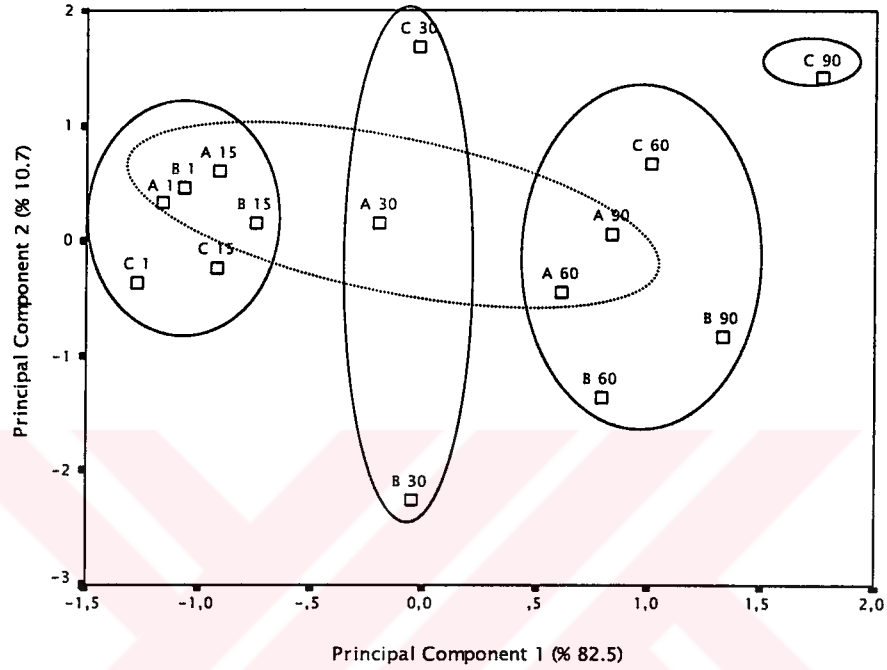
Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik özelliklerine genel olarak bakıldığında; normal enzimlerle üretilen çoğu peynir çeşitlerinde olduğu gibi [Blue (Hewedi ve Fox, 1982), Stilton (Madkor ve ark, 1987), Feta (Alichanidis ve ark, 1984; Katsiari ve ark, 2000), Teleme (Alichanidis ve ark, 1981), Gouda (Visser ve de Groot-Mostert, 1977; Awad ve ark, 1999a), Manchego (Pavia ve ark, 2000a, 2000b), Keçi peyniri (Jin ve Park, 1998), Beyaz peynir (Saldamlı ve Kaytanlı, 1998), Domiati (Abd-El Salam ve ark, 1993)], bu çalışmada söz konusu Beyaz peynirde de genellikle α_{s1} -kazein hidrolize uğramış, β -kazein hidrolize karşı daha fazla direnç göstermiştir. 90 günlük olgunlaştırma sonunda, peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarındaki β -kazeinlerin % 80'inden, α_{s1} -kazeinlerin ise yaklaşık % 30'undan fazlasının hidrolize olmadan kaldığı görülmüştür. Moatsou ve ark. (1999), 90 gün süre ile olgunlaştırılmış Graviera Kritis peynirlerinde kalıntı β - ve α_{s1} -kazein oranlarının, bu çalışmada bulunan sonuçlara yakın değerlerde oldukları görülmektedir. Bu değerlerin Feta peynirinde biraz daha düşük bulunduğunu belirten Katsiari ve ark. (2000), olgunlaşmanın 120. gününde kalıntı β -kazeinin % 66-71, α_{s1} -kazeinin ise % 23-30 oranları arasında olduğunu saptamışlardır. Coşkun ve Sienkiewicz (1999), Na-kazienat çözeltisinde süt proteinlerinin hidrolizini inceledikleri çalışmalarında, α_{s1} -kazeinin β -kazeinden daha hızlı hidrolize olduğunu belirtmişlerdir.



Beyaz peynirde pH değerinin 5.0'ın altında ve fazla tuzlu olması gerek starter aktivitesini gerekse pıhtılaştırıcı enzimin aktivitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Abd-El Salam ve ark, 1993). Exterkate ve Alting (1995), tuzun α_{s1} -kazeinin parçalanmasına olumsuz etkide bulunmadığını, ancak çözünür azot ve amino asit oluşumunu inhibe edebildiğini bildirmişlerdir. Starter farklılığının etkisi urea-PAGE ile belirlenebilen kazein fraksiyonları üzerinde önemli sayılabilecek bir etkiye sahip olmamış, α_{s1} -kazein ve parçalanma ürünleri üzerinde (özellikle B peynirinde) bir takım farklılıklar görülmüştür. Bu farklılıklar olgunlaşmanın 30. gününden sonra belirgin hale gelmiş ve özellikle 60. günde % 43.6, 90. günde % 27.9 değerlerine düşmüştür (Çizelge 4.22). Olgunlaşmanın 90. gününde A peynirinde α_{s1} -kazein önemli düzeyde parçalanmaya uğramıştır. A peynirinin urea-PAGE elektroforetogramında 4 nolu bantın sonunda, α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri bölgesinde bazı zonlar görülmüştür. Bu durum daha önce de sıklıkla belirtildiği gibi, starter olmayan bakterilerin de α_{s1} -kazein üzerinde etkili olmalarından kaynaklandığı düşünülmüştür. Diğer taraftan, A peynirinin pH değerinin ve su oranının B ve C peynirlerine göre daha yüksek olması nedeniyle, plasmin aktivitesi de yüksek olmuş ve γ -kazein oluşumu daha yüksek oranda gerçekleşmiştir. Moatsou ve ark. (1999), farklı starterlerle ve startersiz ürettikleri Graviera Kritis peynirlerinin urea-PAGE profillerinin kalitatif olarak farklı bulunduğunu, startersiz üretilen peynirlerde daha fazla oranda γ -kazein birikimine rastlanıldığını bildirmişlerdir. Elektroforetogramların dansitometrik analizlerinde A peynirinde elde edilen γ -kazeinin verdiği pikler oldukça yüksek olmuştur (Şekil 4.18).

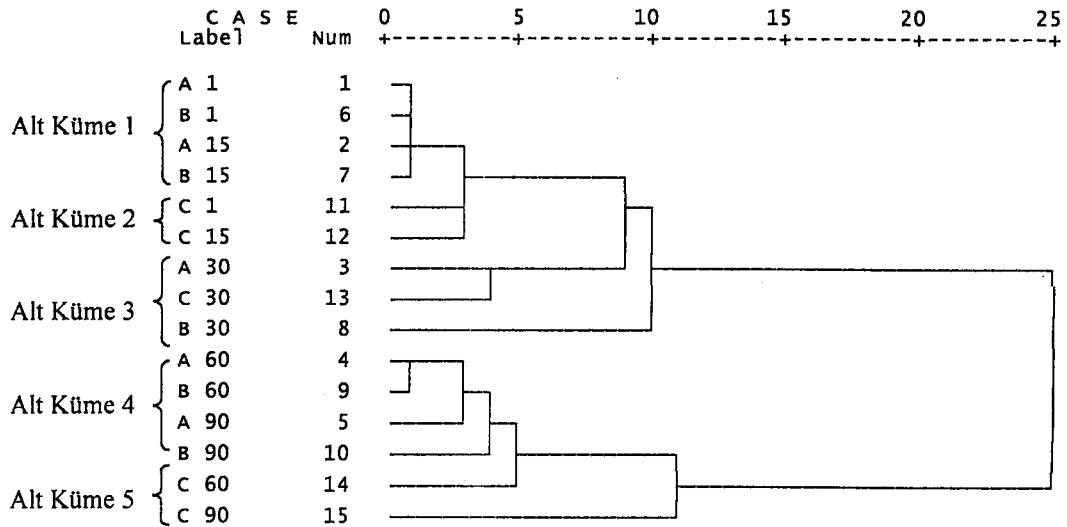
Yapılan çok değişkenli istatistiksel analiz yardımı ile peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının küme dendrogramları çıkarılmıştır (Şekil 4.19). Şekilde, peynirler olgunluk durumlarına göre 4 alt kümede toplanmış ve B ve C peynirleri aynı kümede, A peyniri ise kısmen farklı kümede yer almışlardır. Aynı şekilde, temel bileşen analizinde (PCA) elde edilen sonuçlar kümeleme analizinde (HCA) elde edilenlere paralel çıkmış ve A peynirleri genellikle ayrı bölgelerde konumlanmışlardır. PCA ve HCA analizinde, starter ilave edilmeyen peynir ile ilave edilen peynirlerin ayrımının yapılabilmesinin yanında, peynirler olgunluklarına göre

de sınıflandırılmışlardır. PCA grafiğinde, soldan sağa doğru gidildikçe, HCA dendrogramında ise yukarıdan aşağıya doğru inildikçe peynirlerin olgunluk durumlarında düzenli bir artış olduğu görülebilmektedir.



Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

Rescaled Distance Cluster Combine



Şekil 4.19. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramlarına ait dansimetrik sonuçların PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta). A, B ve C peynirleri, 1., 15., 30., 60. ve 90 olgunlaşma sürelerini belirtmektedir

Urea-PAGE analizi ile starter farklılığının peynir proteolizine etkisinin araştırıldığı diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuş ve starter farklılığının etkisinin urea-PAGE yöntemi ile tam olarak belirlenemeyeceği belirtilmiştir (Abd El-Salam, 1993; McSweeney ve Fox, 1997). Visser ve de Groot-Mostert (1977), Gouda peynirlerinin elektroforetogramlarında starterin çok az etkili olduğunu en önemli farklılığın rennetten ileri geldiğini belirtmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda (O'Keeffe ve ark, 1978; Lynch ve ark, 1996; Lane ve Fox, 1997; Fenelon ve ark, 1999; Kandarikis ve ark, 2001; Hannon ve ark, 2003) benzer sonuçlara varılırken, Awad ve ark. (1999b), yaptıkları çalışmada starterin sınırlı da olsa peynirlerin urea-PAGE elektroforetik analizlerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Ardö ve Petterson (1988), Law ve ark. (1992), Subramanian ve ark. (1992b) ve Lane ve Fox (1996), starterin α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri üzerinde farklı etkiler yaptığını açıklamışlardır. Aynı şekilde, Vafopoulou ve ark. (1989), yardımcı starter kullanılan peynirlerde daha fazla oranda parçalanma ürünlerinin oluştuğunu belirtmişlerdir. Suda çözünen fraksiyonların urea-PAGE profillerini inceleyen Law ve ark. (1993) ve Shakeel-Ur-Rehman ve ark. (1999), *Lactococcus* cinsi bazı bakteri suşlarının peynirlerin urea-PAGE elektroforetogramlarda bir takım farklılıklar yarattıklarını (orta molekül ağırlıklı peptidlerin oluşumu) açıklamışlardır.

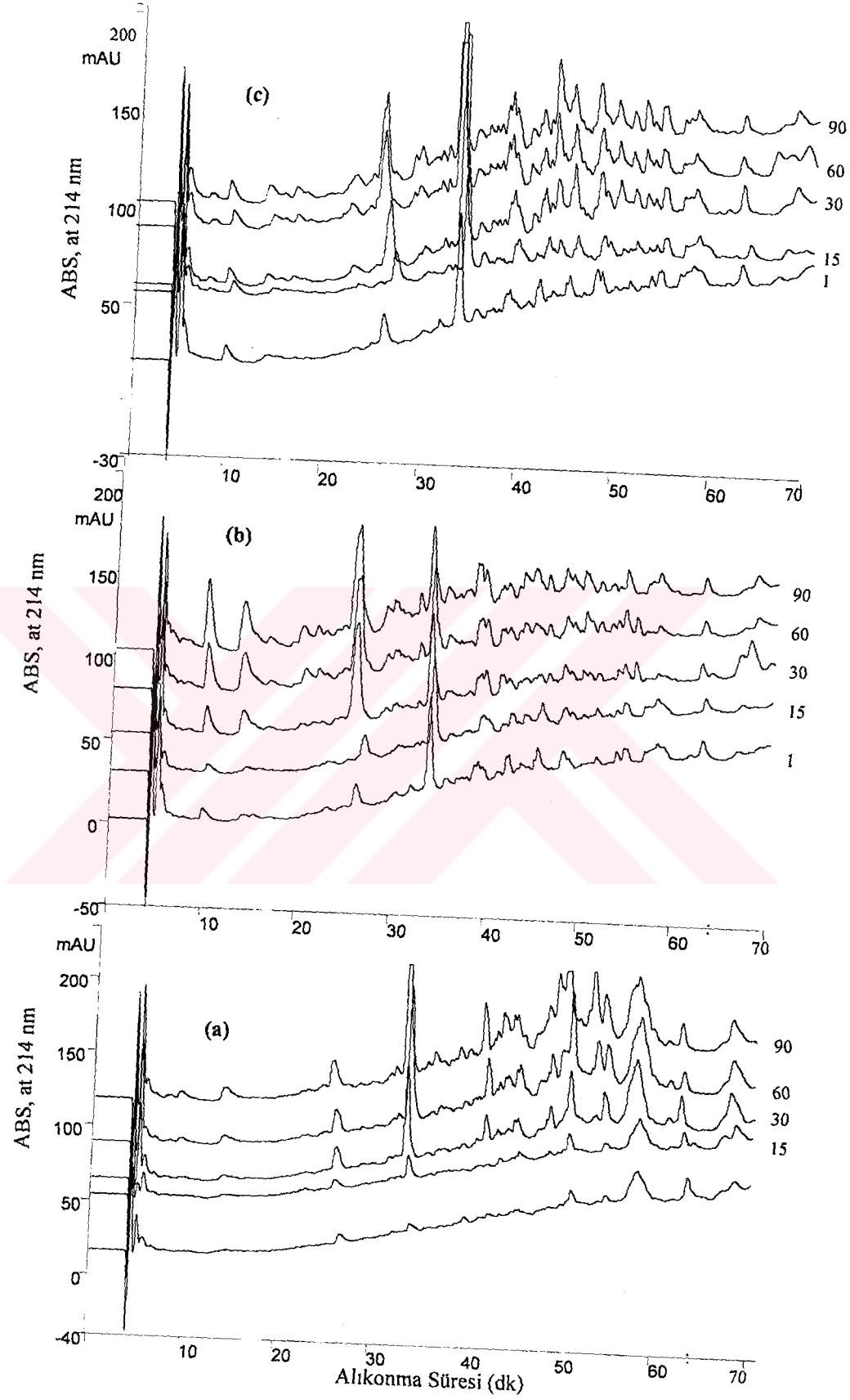
Tüm bu verilerden, starterin β -kazein ya da α_{s1} -kazeinden daha çok, α_{s1} -kazeinin parçalanma ürünleri (çeşitli büyüklüklerdeki peptidler) üzerinde etkili olduğu ortaya çıkmaktadır. Starterin kazeinlerin parçalanma ürünleri ve peptid profilleri üzerindeki etkileri, daha ayrıntılı olarak, pH 4.6'da, % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen fraksiyonların RP-HPLC peptid profillerinin açıklandığı, sırasıyla, bölüm 4.5.4.2.(1), 4.5.4.2.(2) ve 4.5.4.2.(3)'te açıklanmaktadır.

4.5.4.2. Peynirlerde Ters-Faz Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) ile Belirlenen Peptid Profilleri

RP-HPLC tekniği, peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen proteolizi saptamada başvuru en yaygın ve en önemli yöntemlerden biridir. Peynir ekstraktlarının RP-HPLC kromatogramları farklı molekül ağırlığındaki peptidlerin dizilimini gösterdiği (McSweeney ve Fox, 1997) ve peynirlerin peptid konsantrasyonları arasındaki farklılığı belirgin bir şekilde ortaya koyduğu bildirilmektedir (Law ve ark, 1992). Peynirdeki peptidlerin RP-HPLC tekniği ile ayırmanın mekanizması, çözülmüş moleküllerin ters adsorpsiyon/desorpsiyonuna dayanmakta olup, sabit fazın hidrofobiklik derecesine göre değiştiğinden, daha az hidrofobik olan moleküller ilk önce pik verecek, bunları hidrofobiklik özellikleri artan moleküller izleyecektir (Pripp ve ark, 1999). Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonları ile bunların % 70 etanolde çözünen ve çözünmeyen alt fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profilleri belirlenmiş ve bunların 90 günlük olgunlaşma sürecindeki değişimleri aşağıda açıklanmıştır. Peynir üretiminde starter kullanımının ve olgunlaşma süresinin peynirlerin peptid profillerine etkileri, çok değişkenli istatistiksel analizlerle [(Principal Component Analysis (PCA) ve Hierarchical Cluster Analysis (HCA)] ortaya çıkarılmıştır.

4.5.4.2.(1). pH 4.6'da Çözünen Fraksiyonların RP-HPLC Peptid Profilleri

Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişen RP-HPLC kromatogramları Şekil 4.20'de verilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi, starter katılmayan A peyniri ile diğer peynirler arasında oldukça belirgin farklılıklar görülmektedir. Olgunlaşma süresi ilerledikçe, kromatogramlarda görülen piklerin yüksekliğinde artış olduğu görülmüştür. Belirli bir olgunlaşma dönemi dikkate alındığında, peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının kromatogramlarının farklı olduğu görülmektedir (Şekil 4.21).



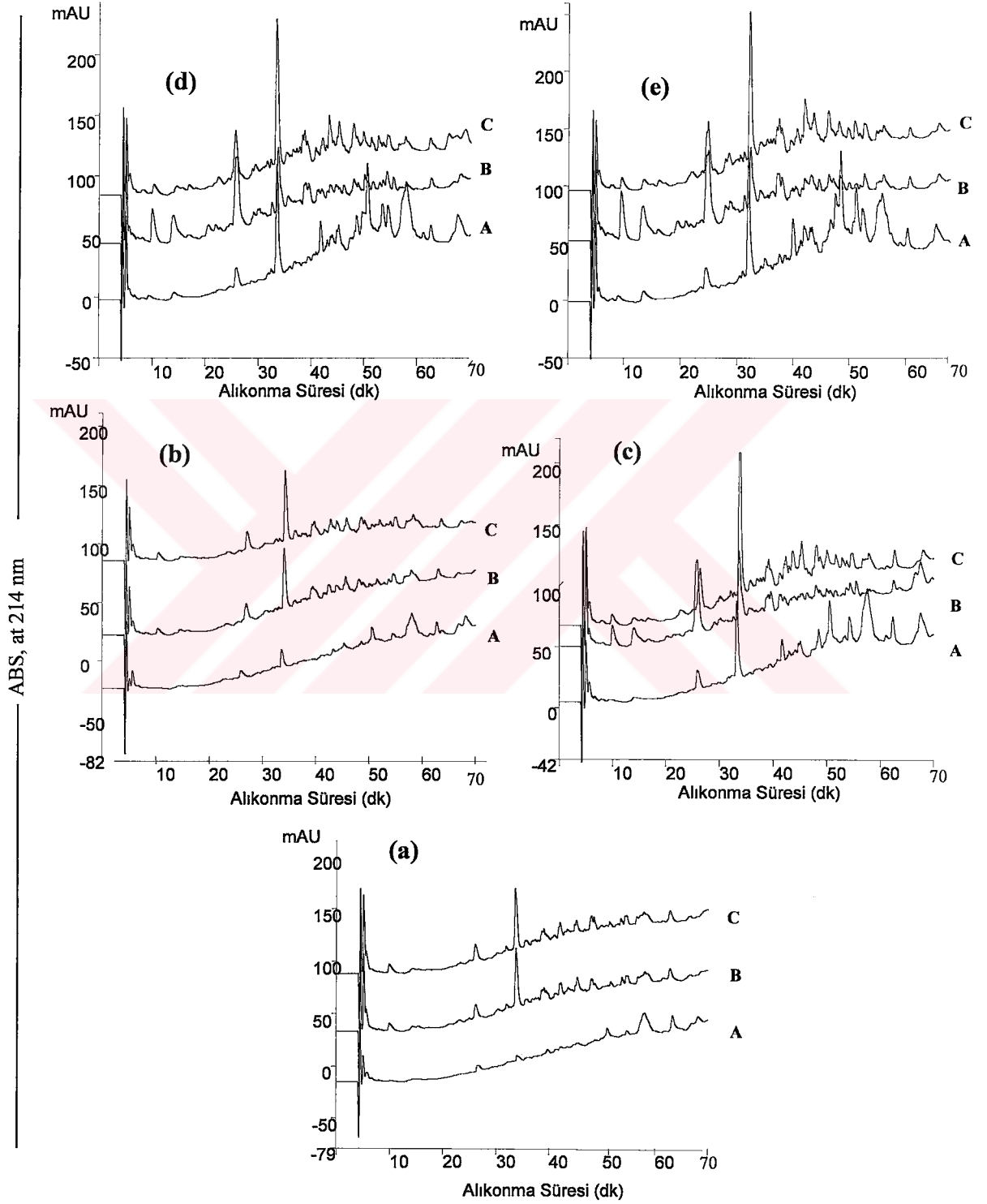
Şekil 4.20. A (a), B (b) ve C (c) peynirlerinin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri

Şekil 4.20 ve 4.21’de görüldüğü gibi, özellikle olgunlaşmanın 30. gününden sonra A peyniri, B ve C peynirlerine göre farklı bir peptid profili vermiştir. Peynir sütüne ilave edilen starterin, peynirin sekonder proteolizinde etkili olduğu ve belirgin farklılıklar ortaya koyduğu görülmektedir. Olgunlaşmanın 1. ve 15. günlerinde elde edilen kromatogramlar incelendiğinde, B ve C peynirlerinin peptid profilleri birbirlerine benzerlik göstermektedir. Olgunlaşmanın ilerleyen aşamalarında ve özellikle 30. günden sonra bu peynirlerin kromatogramları arasında belirgin bir farklılık saptanmıştır. Kromatogramlar incelendiğinde, Beyaz peynirlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunan iki önemli peptidin varlığı göze çarpmaktadır. Bunlardan birincisi; alıkonma zamanının 26. dakikasında ve diğeri 33. dakikasında gelen piklere ait olduğu bilinen peptidlerdir. Ayrıca, alıkonma zamanının 4.3–5.5. dakikaları arasında gelen 3 farklı pikin ortaya çıktığı bulunmuştur. Ancak bu pikler, her 3 peynirde de tüm olgunlaşma dönemlerde benzer özelliklerde olduğundan, bir başka deyişle spesifik pikler olmadıklarından tartışmalarda yer almamıştır.

A peynirinde, alıkonma süresinin 26. dakikasında gelen pikin peptid konsantrasyonu, diğer peynirlerden gelen piklerin konsantrasyonundan daha azdır. Bu peynirin tüm peptid profilleri incelendiğinde, peptidlerin çoğunlukla hidrofobik bölgede, daha çok alıkonma zamanının 50. ve 60. dakikaları arasında geldiği dikkat çekmektedir. A peynirini diğer peynirlerden belirgin olarak ayıran diğer önemli bir nokta da, alıkonma süresinin 26. dakikasına kadar önemli düzeyde bir pikin olmaması ve kromatogramın genellikle düz bir şekilde ilerlemesidir.

Alıkonma zamanının 9. ve 13. dakikalarında gelen pikler incelendiğinde, olgunlaşmanın 30. gününden sonra B peynirinin kromatogramında görülen piklerin oldukça yüksek konsantrasyonda oldukları görülmüştür. Söz konusu benzer piklerin C peynirinde de görüldüğü, ancak B peynirindeki kadar yüksek konsantrasyonda olmadığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, A peynirinde alıkonma zamanının 40. ile 55. dakikası arasında önemli düzeyde peptid varlığı bulunmuştur. Söz konusu dakikalarda, A peynirinde saptanan pikler, B peynirinde elde edilenlere oranla daha yüksek bulunmuş ve olgunlaşma ilerledikçe piklerin yüksekliği artmıştır. B peynirinde 30. dakikadan sonra peptid konsantrasyonunda meydana gelen artış diğer peynirlerden daha düşüktür. Bu artış, başlıca starter peptidazlarının aktivitesi

sonucunda, peptidlerin parçalanması ve amino asit konsantrasyonunun artmasından kaynaklanmaktadır.

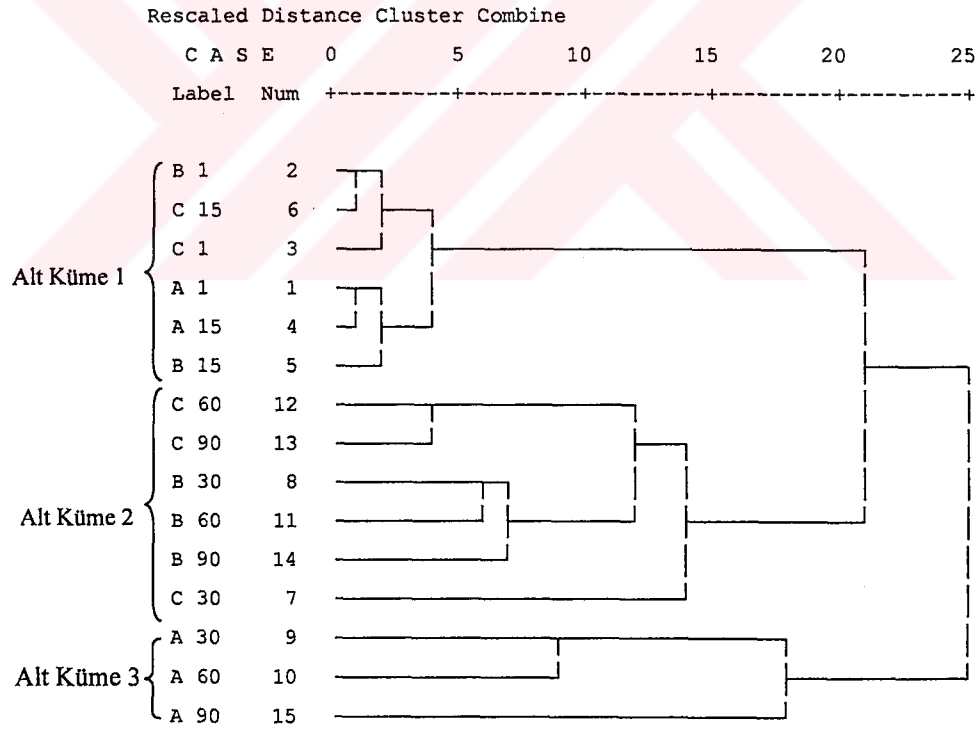
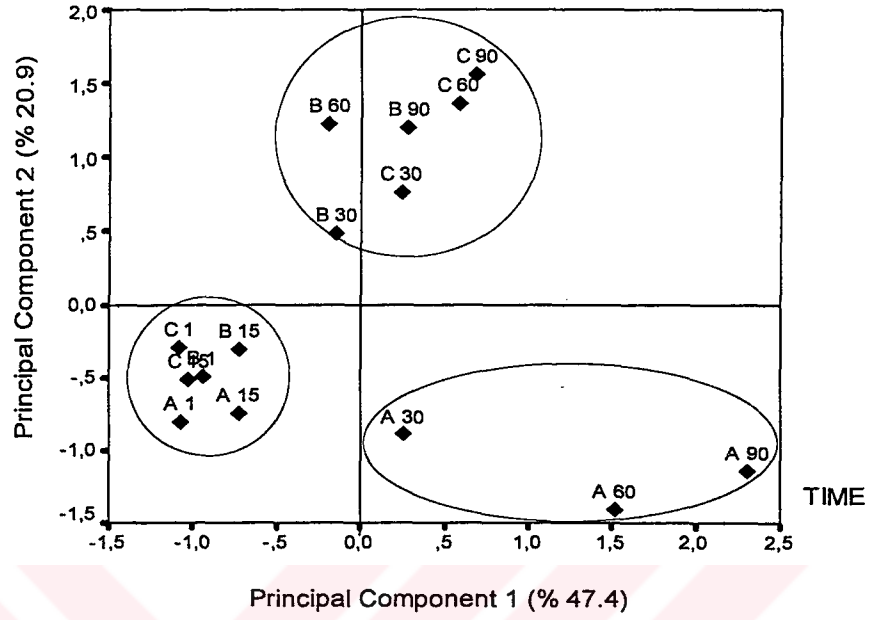


Şekil 4.21. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 1. (a), 15. (b), 30. (c), 60. (d) ve 90. (e) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri

Yapılan amino asit analizi, toplam serbest amino asit miktarının olgunlaşma süresine paralel olarak arttığını doğrulamaktadır. Hannon ve ark. (2003), farklı otolitik özellik gösteren *Lactobacillus* suşları ile Cheddar peyniri üretmişlerdir. Araştırmacılar, peynirlerde proteoliz sonucu oluşan peptidlerin güçlü peptidaz sistemine sahip starterler tarafından parçalanarak amino asitlere dönüşeceğini ve peptid konsantrasyonunda bir düşme olabileceğini belirtmişlerdir. Michaelidou ve ark. (1998), Feta peynirinde suda çözünür özellikteki peptidleri karakterize ettikleri çalışmalarında, alıkonma süresinin ilk dakikalarında daha çok düşük molekül ağırlıklı peptidlerin ve amino asitlerin geldiğini, oluşan bu amino asitlerin de Tyr ve Phe olduğunu bildirmişlerdir.

B peynirinde alıkonma zamanının 9. ve 13. dakikalarında gelen pikler, olgunlaşma süresine paralel olarak yükselmiş, ancak hidrofobik bölgede belirgin bir artış görülmemiştir. Oysa A ve C peynirinde, daha çok kromatogramın hidrofobik bölgesinde yüksek konsantrasyonda peptidler gelmiş, özellikle starter kullanılmayan A peynirinde piklerin tamamına yakın kısmı bu bölgede oluşmuştur. C peynirinde 33. ve 44. dakikalarda gelen piklerin peptid konsantrasyonunun yüksek oluşu, bu peyniri diğer peynirlerden ayırmıştır. B peynirinde, alıkonma zamanının 9, 13, ve 26. dakikalarında gelen pikler bu peynire karakteristik bir özellik kazandırmıştır.

Yapılan çok değişkenli istatistiksel analizlerde (PCA ve HCA), peynirler verdikleri peptid profillerine göre gruplandırılmışlardır (Şekil 4.22). Matriks yönteminden yararlanılarak uygulanan PCA ve HCA analizleri, HPLC peptid profillerinin yorumlanmasında oldukça hızlı, güvenilir ve pratik bilgiler verebilmektedir (Gonzalez de Llano ve ark, 1995; Pripp ve ark, 1999, 2000a, 2000b; Verdini ve Rubiolo, 2002). Kalitatif olarak oldukça kolay bir şekilde ayırt edilebilen peptid profillerini, böylece kantitatif olarak da ayırma olanağı bulunmuştur. Buna göre, A peynirinin olgunlaşmanın ilk dönemlerinde (1–15. günler) B ve C peynirleri ile aynı kümede yer aldığı, olgunlaşmanın 30. gününden sonra farklı yerde konumlandığı belirlenmiştir (Şekil 4.22).



Şekil 4.22. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta). A, B ve C peynir örneklerini; 1, 15, 30, 60 ve 90 olgunlaşma sürelerini (gün) temsil etmektedir.

Az olgun peynirler PC 1'in negatif bölgesinde, daha olgun peynirler ise PC 1'in pozitif bölgesinde yer almışlardır. 30 günden fazla süre ile olgunlaştırılmış peynirlerden startersız üretilen A peyniri PC 2'nin negatif bölgesinde bir kümede, starterli olarak üretilen B ve C peynirleri ise PC 2'nin pozitif bölgesinde gruplanmışlardır. Ancak, PCA analizi ile B ve C peynirleri arasında bir ayrım gözükmemektedir. HCA analizinde ise, olgunlaşmanın 30. gününden sonraki B ve C peynirleri ayrı birer alt küme oluşturmuşlardır. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC profillerinin PCA ve HCA analizleri yapılması ile elde edilen en yararlı sonuçlardan biri de, peynirlerin olgunluklarına göre sınıflandırılması olmuştur. Şekil 4.22'de gösterilen PCA grafiğinde soldan sağa doğru, HCA dendrogramında ise yukarıdan aşağıya doğru inildikçe peynirlerin olgunluklarında bir artış olduğu görülmektedir. PCA tekniği ile Cheddar peynirlerinde HPLC sonuçlarının değerlendirilmesinde oldukça yararlı ve pratik bilgiler elde edildiği (Furtula ve ark, 1994a) ve HPLC profili farklı olan örneği ayırmanın yanında, olgun olan peynirlerin ayrımının da yapılabileceği belirtilmektedir (Furtula ve ark, 1994b).

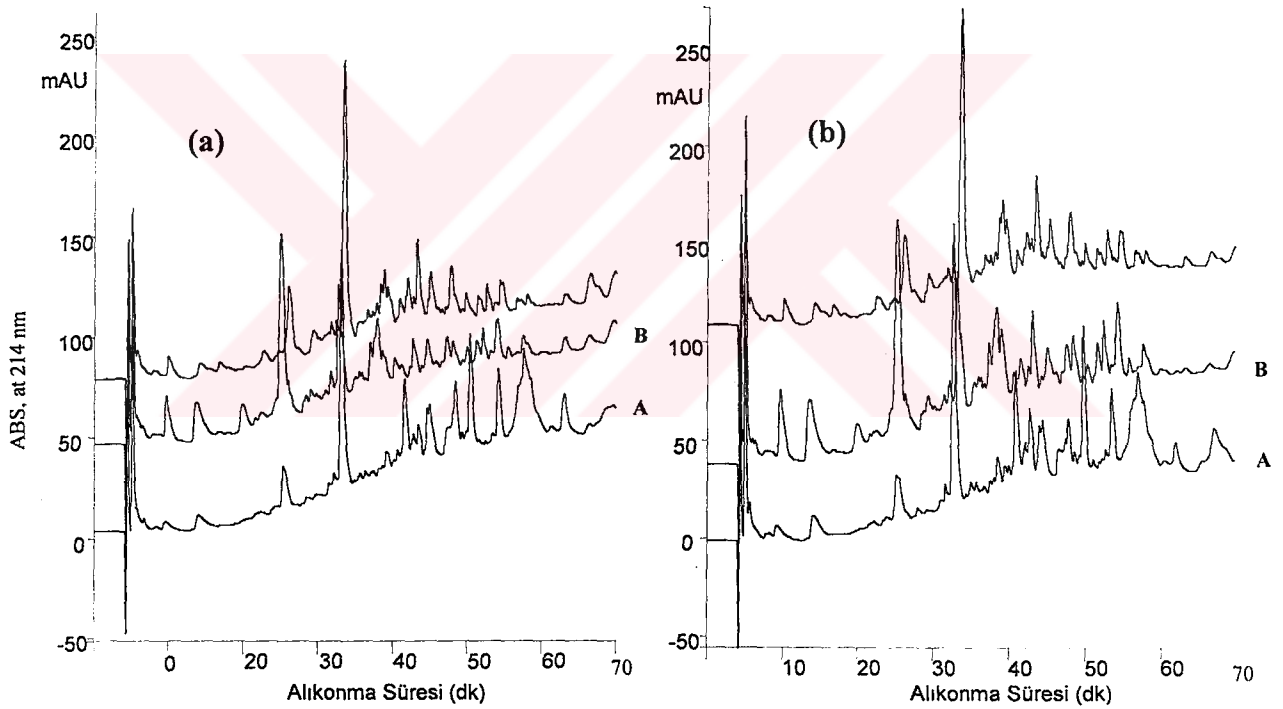
Bu konuda yapılan başka çalışmalarda da, farklı starter kullanımının peynirlerin RP-HPLC peptid profillerini önemli düzeyde etkilediği belirtilmiştir (Law ve ark, 1992; Lane ve Fox, 1996; Awad ve ark, 1999b; Drab ve ark, 1999; Muehlenkamp-Ulate ve Warthesen, 1999; Kandarikis ve ark, 2001; Sarantinopoulos ve ark, 2002; Hannon ve ark, 2003; Michaelidou ve ark, 2003). Moatsou ve ark. (1999) starterli ve startersız üretilen Greviera Kritis peynirlerinde suda çözünen fraksiyonların RP-HPLC peptid profillerinin farklı bulunduğunu, özellikle startersız üretilen peynirlerin, starterle üretilen peynirlerden farklı pikler verdiğini açıklamışlardır. Araştırmacılar, bu farklılığın starter olmayan laktik asit bakterilerinin enzim sistemlerinden kaynaklandığını bildirmişlerdir.

4.5.4.2.(2). % 70 Etanolde Çözünen Fraksiyonların RP-HPLC Peptid Profilleri

Peynirin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının % 70 etanolde alt fraksiyonlara ayrılımları sonucunda, hidrofilik (% 70 etanolde çözünen küçük molekül ağırlıklı

peptidler) özellikteki peptidleri belirlenmiştir. Bu konuda yapılan çalışmalarda, % 70 etanolde çözünen fraksiyonlar genellikle pH 4.6'da veya suda çözünen fraksiyonların RP-HPLC peptid profilleri ile benzerlik gösterdiği açıklanmıştır (Zarmpoutis ve ark, 1996; McSweeney ve Fox, 1997).

Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının % 70 etanol konsantrasyonunda çözünen alt fraksiyonlarının RP-HPLC kromatogramları Şekil 4.23'te gösterilmektedir. Peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonları olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde analiz edilmiştir. Burada elde edilen kromatogramların ve piklerin, pH 4.6'da çözünen fraksiyonların RP-HPLC kromatogramlarına oldukça benzer olduğu görülmüştür.



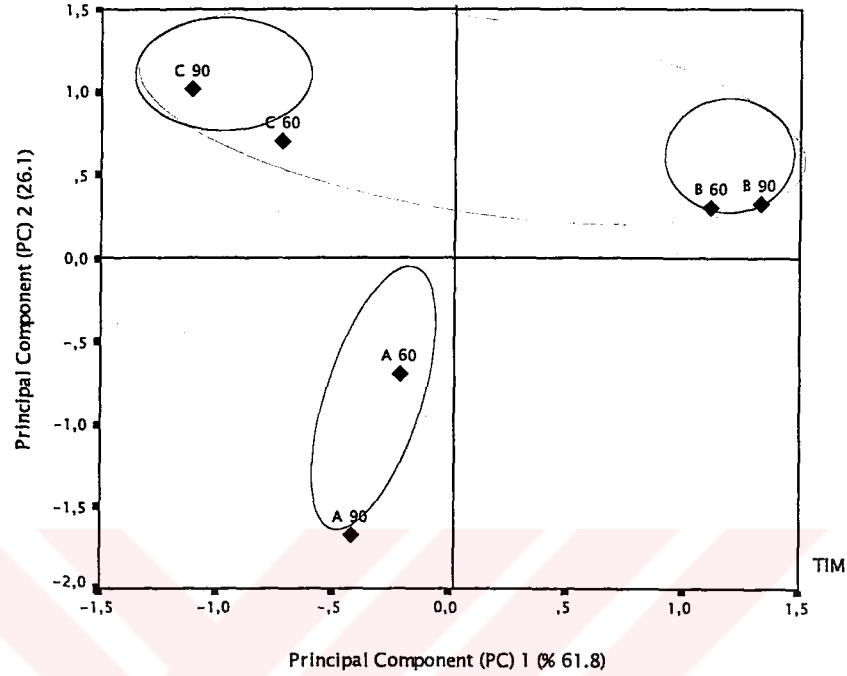
Şekil 4.23. A, B ve C peynirlerinin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 60 (a) ve 90. (b) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri

Kromatogramlar incelendiğinde, alıkonma zamanının 26. ve 33. dakikalarında gelen piklerin tüm peynirlerde ortak olduğu bulunmuştur. B peynirinde, alıkonma zamanının 9. ve 13. dakikalarında gelen pikler, diğer

peynirlerde gelen piklerden farklı olmuştur. Buradaki piklerin büyük olasılıkla amino asitlere veya düşük molekül ağırlıklı peptidlere ait olduğu düşünülmektedir (Michaelidou ve ark, 1998). Diğer taraftan, B peynirinde alıkonma zamanının 40–50. dakikaları arasında gelen pikler daha düşük konsantrasyonda olmuştur. Tüm peynirlerde 33. dakikalarda gelen ve C peynirinde diğer peynirlerden daha yüksek konsantrasyonda olan pik, tipik bir peptidi temsil etmektedir. A peynirinin peptid profili, diğer peynirlerden farklı olmuş ve kromatogramın hidrofilik bölgesinde az miktarda peptid oluşumu görülmüştür. Bu peynirde pikler, yoğun olarak hidrofobik bölgede bulunmuş ve alıkonma zamanının 40–60 dakikalarında gelen pikler peynirin farklılığını ortaya koymuştur. Lynch ve ark (1997), *Lactococcus* ve *Lactococcus* + *Lactobacillus* bakterilerinden oluşan kültürlerle üretilen Cheddar peynirlerinin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarını RP–HPLC’de incelemişler ve bunların peptid profillerinin farklı olmadığını, buna karşın starter katılan ve katılmayan peynirlerin peptid profilleri arasında kalitatif ve kantitatif farklılıklar bulunduğunu açıklamışlardır.

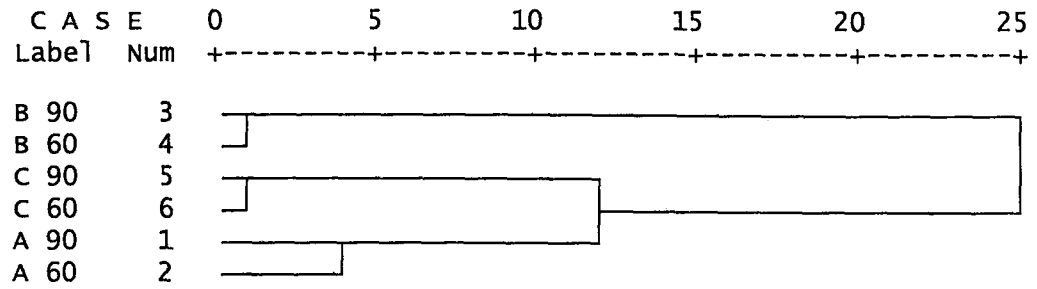
Şekil 4.24’te peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının PCA ve HCA analizleri yapılmış ve A, B ve C peynirlerinin farklı şekilde konumlandığı, B ve C peynirlerinin Principal Component (PC) 2’nin pozitif bölgesinde A peynirinin ise negatif bölgesinde gruplandığı görülmüştür. Bu nedenle, her 3 peynirin de farklı olduğu görünse de B ve C peynirlerinin kısmen benzerlik gösterdiği düşünülmektedir. PC 1’e göre, sadece B peyniri pozitif bölgede bulunmuştur.

Lane ve Fox (1997), peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının starter bakterilerin sahip olduğu farklı türdeki enzimlerden etkilendiğini ve proteinaz (+) suşların daha yüksek konsantrasyonlarda peptid oluşturduğunu belirtmişlerdir. Shakeel–Ur–Rehman ve ark. (1999), 12 farklı *Lactococcus* suşu ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde olgunlaşmanın 4. ayında % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarında farklılıklar bulunduğunu ve SK11 suşunun diğer suşlardan belirgin bir şekilde farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir.



Dendrogram using Average Linkage (Between Groups)

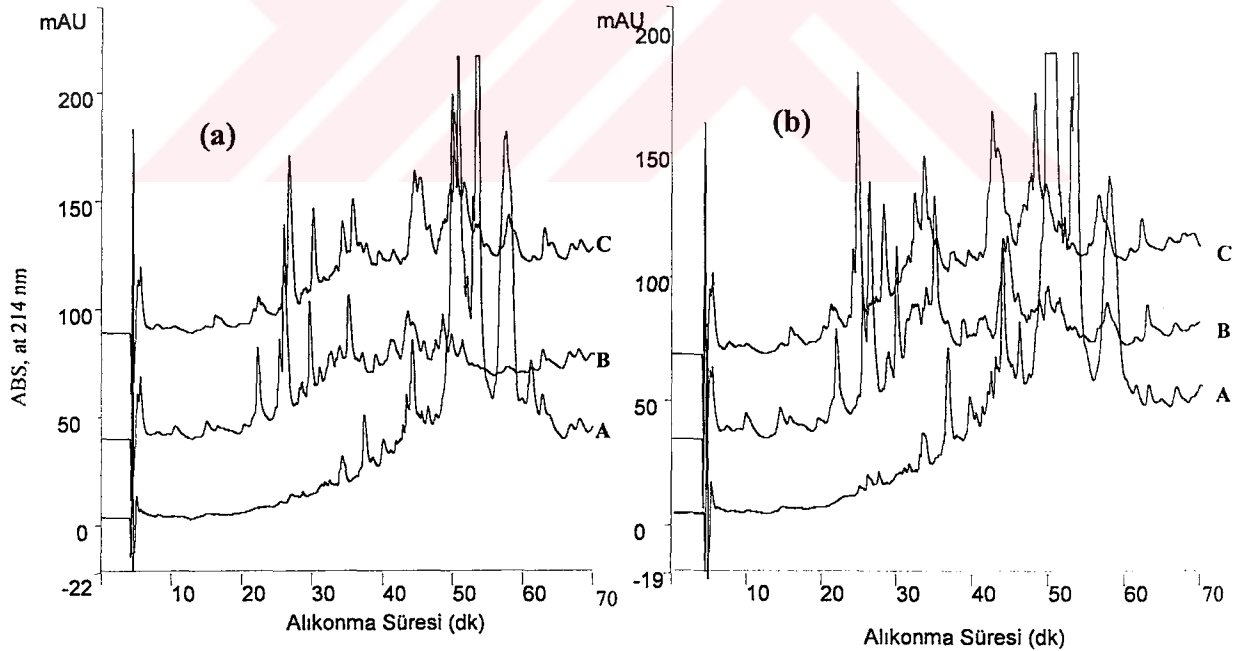
Rescaled Distance Cluster Combine



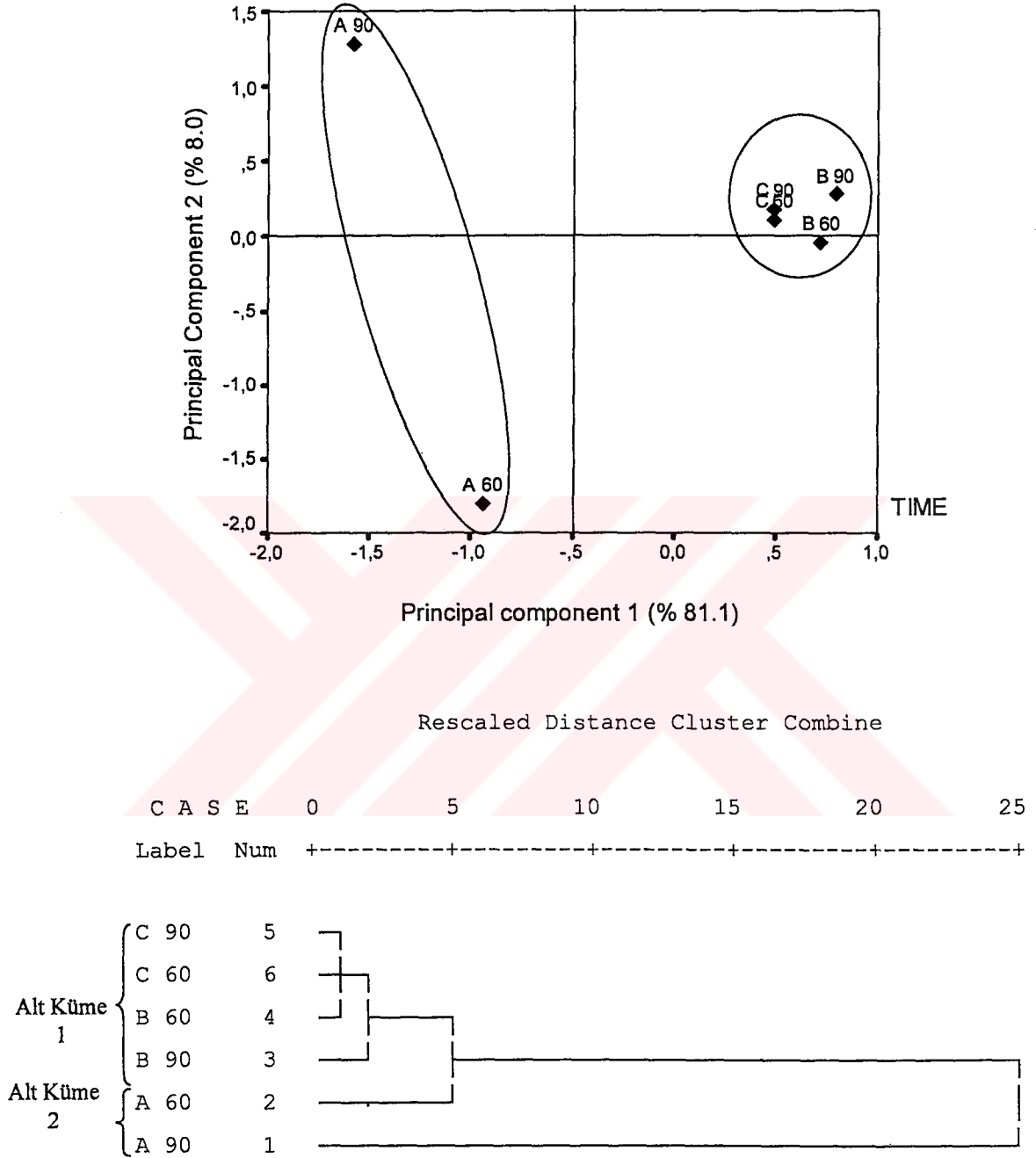
Şekil 4.24. Peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta). A, B ve C peynir örneklerini; 60 ve 90 olgunlaşma sürelerini (gün) temsil etmektedir.

4.5.4.2.(3). % 70 Etanolde Çözünmeyen Fraksiyonların RP-HPLC Peptid Profilleri ve Urea-PAGE Analizleri

Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının % 70 etanolde çözünmeyen alt fraksiyonlarının RP-HPLC profilleri Şekil 4.25'te verilmiştir. % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlar daha yüksek molekül ağırlıklı ve hidrofobik peptidlerden oluştuğundan, her 3 peynirde de alıkonma zamanının 20. dakikasına kadar önemli düzeyde bir pik gelmemiştir. A peynirinde 30. dakikaya kadar pik oluşmazken, 36. dakikadan sonra (özellikle 45-55 dk arasında) oldukça yüksek konsantrasyonda peptidlerin varlığını belirten kromatogramlar elde edilmiştir. C peynirinde hem hidrofilik hem de hidrofobik bölgede yüksek konsantrasyonlarda peptid varlığı saptanırken, B peynirinde daha çok hidrofilik bölgede daha yüksek konsantrasyonlarda peptid varlığı belirlenmiştir.



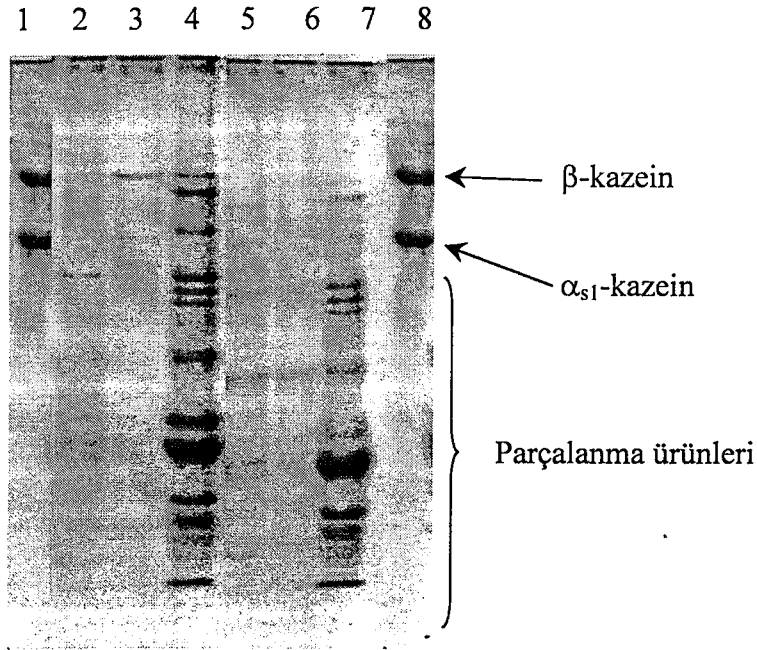
Şekil 4.25. A, B ve C peynirlerinin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının olgunlaşmanın 60 (a) ve 90. (b) günlerindeki RP-HPLC peptid profilleri



Şekil 4.26. Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid analizlerinin PCA grafiği (üstte) ve HCA dendrogramı (altta). A, B ve C peynir örneklerini; 60 ve 90 olgunlaşma sürelerini (gün) temsil etmektedir.

Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profillerinin PCA grafiği ve HCA dendrogramı Şekil 4.26'da verilmiştir. A peynirinin farklı bir küme oluşturduğu, buna karşın B ve C peynirlerinin ise ayrı bir kümede gruplandığı saptanmıştır. B ve C peynirlerinin oldukça benzer özellikler göstermelerine karşılık, yine de B peynirinin özellikle olgunlaşmanın 90. günündeki peptid profilinin farklı olduğu anlaşılmaktadır. A peynirinin PCA grafiğinde ve HCA dendrogramında farklı oluşu, olgunlaşmanın 90. gününde 60. güne göre ilgili peptidlerin yüksekliğinin daha da artmasından kaynaklanmaktadır (Şekil 4.25). Diğer taraftan, peynirlerin olgunlaşma sürelerine göre belirgin bir ayırım sağlanamamıştır. Poveda ve ark. (2003a), farklı starterle ürettiği Manchego peynirlerinin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının PCA analizinde, belirli suşlarla üretilen peynirlerin bir grupta, ticari starter ile üretilen peynirin ise diğer grupta konumlandığını saptamışlardır. Araştırmacılar, peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının PCA analizi sonucunda, peynirler olgunlaşma sürelerine göre iyi bir dağılım göstermediklerini belirtmişlerdir.

% 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE elektroforetik analizleri de yapılmış ve elektroforetogramı incelendiğinde (Şekil 4.27), B peynirinde α_{s1} -kazein parçalanma ürünleri bölgesinde belirgin bir bant görülmezken, C peynirinde çok belirgin olmasa da gözle görülebilir bantlar elde edilmiştir. A peynirinde ise özellikle elektroforetogramın son kısmına doğru çok belirgin bir bandın varlığı göze çarpmaktadır. % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların hem elektroforetogramları hem de RP-HPLC peptid profilleri, peynirdeki hidrofobik büyük molekülü peptidler ile ilgili çok önemli veriler sunmaktadır. Burada çok spesifik olmasa da, urea-PAGE yönteminin, peynirdeki proteinli bileşenleri ayırmada geçerliliğini hala koruduğunu ve bunun RP-HPLC ile doğrulanabildiği görülmektedir. McGoldrick ve Fox (1999), peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE sonuçlarından yararlanılarak peynirleri kalitatif ve kantitatif olarak ayırmanın mümkün olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 4.27. Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramları. 1 ve 8: Na-kazeinat, 2, 3 ve 4 A, B ve C peynirlerinin olgunlaşmanın 60.; 5, 6 ve 7 olgunlaşmanın 90. günlerindeki elektroforetogramları temsil etmektedir.

Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonları arasındaki bu farklılık, peynir sütüne ilave edilen bakterilerin proteolitik aktivitelerinden ve starter ilave edilmeyen A peynirinde büyük moleküllü hidrofobik peptidleri parçalayabilecek bakterinin bulunmayışından kaynaklanmaktadır. Starter olarak ilave edilen bir çok laktik asit bakterilerinin hidrofobik peptidleri parçalama niteliklerinin bulunduğu ve starter ilave edilen peynirlerde hidrofobik peptidlerin azaldığı belirtilmektedir (Visser, 1977c; Tan ve ark, 1993; Lee ve ark, 1996; Gomez ve ark, 1997; Rampilli ve ark, 1997). Peynirde olgunlaşma süresi ilerledikçe hidrofobik peptid miktarında azalma olabileceği belirtilirken (Lau ve ark, 1991), peynir sütüne starter ilavesi ile peynirde amino peptidaz aktivitesinin artacağı, suda çözünen fraksiyonlar içerisinde hidrofobik olan peptidlerin oranlarında azalma olabileceğini açıklanmaktadır (Asensio ve ark, 1997). Visser (1977c) ise, peynirde acılık oluşumuna neden olan peptidlerin genellikle starterler tarafından parçalandığını, ancak bunun yanında

starterler arasında peynirde acılığa neden olanların da bulunduğunu belirtmiştir. Peptidlerin hidrofobik özellikleri ile peynirdeki acılık arasında her zaman bir ilişki kurulamayacağını ileri süren Tieleman ve Warthesen (1991), HPLC analizi sırasında peptidlerin hidrofobik özelliklerinin alıkonma zamanına karşı sıralanmalarında birer ölçü olabileceğini bildirmişlerdir.

A peynirinde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenen toplam amino asit konsantrasyonunun da diğer peynirlerden düşük olması peptidlerin bu peynirde daha az parçalanmış olabileceğini göstermektedir. Lynch ve ark. (1997), *Lactococcus* ve *Lactococcus* + *Lactobacillus* bakterilerinden oluşan kültürlerle üretilen Cheddar peynirlerinin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profilleri arasında belirgin farklılıklar olmadığını, buna karşın starter katılan ve katılmayan peynirlerin peptid profilleri arasında kalitatif ve kantitatif farklılıklar bulunduğunu açıklamışlardır. Lane ve Fox (1997), peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının starter enzimlerinin tipinden etkilendiklerini, proteinaz (+) suşların daha yüksek konsantrasyonlarda peptid açığa çıkardıklarını belirtmişlerdir.

4.6. Peynirlerin Duyusal Özellikleri

Peynirlerde olgunlaşma süresince tüm duyusal kriterlerinde meydana gelen değişimler standart sapma değerleri ile birlikte Çizelge 4.23'te gösterilmektedir.

Çizelge 4.23. Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Süresince Saptanan Duyusal Özellikler

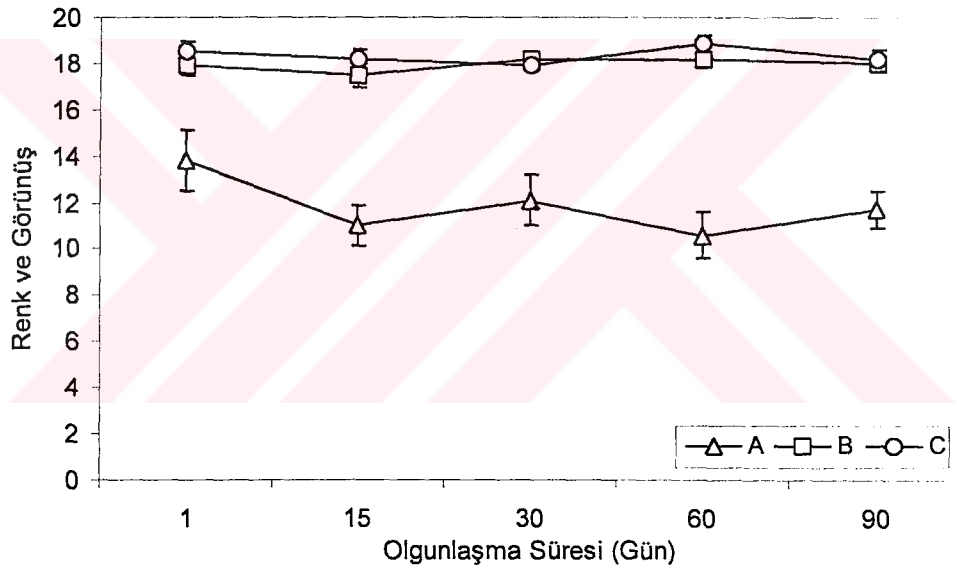
Özellikler	Günler	A	B	C
Renk ve Görünüş Puanı	1	13.80±1.34x ^a	17.87±0.41y ^a	18.53±0.46y ^a
	15	11.00±0.84x ^a	17.47±0.51y ^a	18.20±0.43y ^a
	30	12.07±1.10x ^a	18.13±0.40y ^a	17.93±0.23y ^a
	60	10.60±1.03x ^a	18.20±0.28y ^a	18.87±0.35y ^a
	90	11.67±0.78x ^a	18.00±0.32y ^a	18.20±0.40y ^a
Yapı ve Kıvam Puanı	1	24.00±1.96x ^a	30.67±0.65y ^a	30.60±0.79y ^a
	15	19.60±1.88x ^{ab}	29.60±1.01y ^a	29.40±0.94y ^a
	30	16.20±1.40x ^{bc}	30.20±0.96y ^a	30.87±0.67y ^a
	60	11.87±1.09x ^c	29.13±1.75y ^a	30.80±1.16y ^a
	90	16.60±1.44x ^b	29.40±1.14y ^a	30.00±1.01y ^a
Koku Puanı	1	8.00±0.28x ^a	9.60±0.21y ^a	9.20±0.28y ^a
	15	7.80±0.43x ^a	9.47±0.19y ^a	9.53±0.19y ^a
	30	7.27±0.56x ^a	9.73±0.15y ^a	9.47±0.19y ^a
	60	7.20±0.79x ^a	9.60±0.16y ^a	9.67±0.13y ^a
	90	7.53±0.38x ^a	9.60±0.19y ^a	9.40±0.24y ^a
Tat Puanı	1	21.87±0.79x ^a	30.27±0.52y ^{ab}	29.07±0.88y ^a
	15	20.93±1.50x ^a	29.27±0.81y ^b	31.33±0.84y ^b
	30	19.53±1.66x ^a	31.53±0.73y ^a	32.07±0.51y ^b
	60	18.67±1.58x ^a	31.80±0.99y ^a	32.47±0.32y ^b
	90	18.00±1.60x ^a	32.27±0.56y ^a	31.40±0.88y ^b
Toplam Puan	1	67.67±3.34x ^a	88.40±0.75y ^a	87.40±1.72y ^a
	15	59.33±3.45x ^{ab}	85.80±1.54y ^a	88.47±1.29y ^a
	30	55.07±3.62x ^{bc}	89.60±1.49y ^a	90.33±1.23y ^a
	60	48.33±2.96x ^c	88.73±2.31y ^a	91.80±1.45y ^a
	90	53.80±3.08x ^{bc}	89.27±1.67y ^a	89.00±1.82y ^a

x,y,z: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

^{a,b,c} : Aynı sütunda farklı üstel harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0.05 düzeyinde farklıdır.

4.6.1. Renk ve Görünüş Puanları

Beyaz peynirlerde olgunlaşma döneminde elde edilen renk ve görünüş puanları incelendiğinde, tüm olgunlaşma dönemlerinde B ve C peynirlerinin birbirine yakın, A peynirinin ise düşük puanlar aldığı görülmüştür (Şekil 4.28). Yapılan istatistiksel değerlendirmede A peyniri ile B ve C peynirleri arasındaki farklılığın $p<0.01$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur. A peynirinde, starter kullanılmaması nedeniyle peynirin iç kısımlarındaki gözenekler ve yapıdaki yumuşamalar meydana gelmiş ve renk ve görünüş bakımından olumsuz puan almasına neden olmuştur.



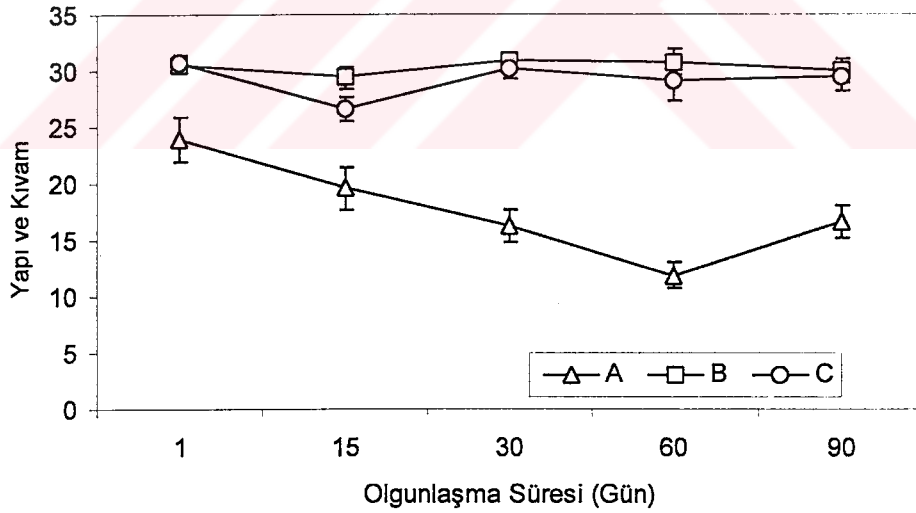
Şekil 4.28. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan renk ve görünüş puanları

A peynirinde olgunlaşmanın 1. gününde 13.80 olan renk ve görünüş puanları, olgunlaşma süresince düzensiz bir değişim göstermiş, en düşük puanı 60. günde 10.60 olarak almıştır. 90 günlük olgunlaşma sonunda renk ve görünüş puanları, C peynirinde çok önemli bir değişikliğe uğramamış, B peynirinde ise hafif bir artış görülmüştür. Yapılan istatistiksel analizde, olgunlaşma süresinin peynirlerin renk ve

görünüş özellikleri üzerinde önemli düzeyde etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

4.6.2. Yapı ve Kıvam Puanları

Peynirlerin yapı ve kıvam puanlarına ait değerlendirmeler Çizelge 4.23'te gösterilmektedir. Şekil 4.29 incelendiğinde, renk ve görünüş puanlarında olduğu gibi, yapı ve kıvam puanlarının da B ve C peynirlerinde birbirine benzer, A peynirinde ise düşük değerlerde ve farklı olduğu bulunmuştur. B ve C peynirleri 1. günde 35 puan üzerinden sırasıyla 30.60 ve 30.67 gibi birbirine oldukça yakın puanlar almışlardır. A peyniri ise aynı olgunlaşma döneminde 24.00 puan almış, ancak bu puan olgunlaşma ilerledikçe azalarak, 60. günde 11.87'ye kadar düşmüştür. B ve C peynirleri ile A peyniri arasındaki farklılık, tüm olgunlaşma dönemlerinde istatistiksel açıdan $p<0.01$ düzeyinde önemli olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.29. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan yapı ve kıvam puanları

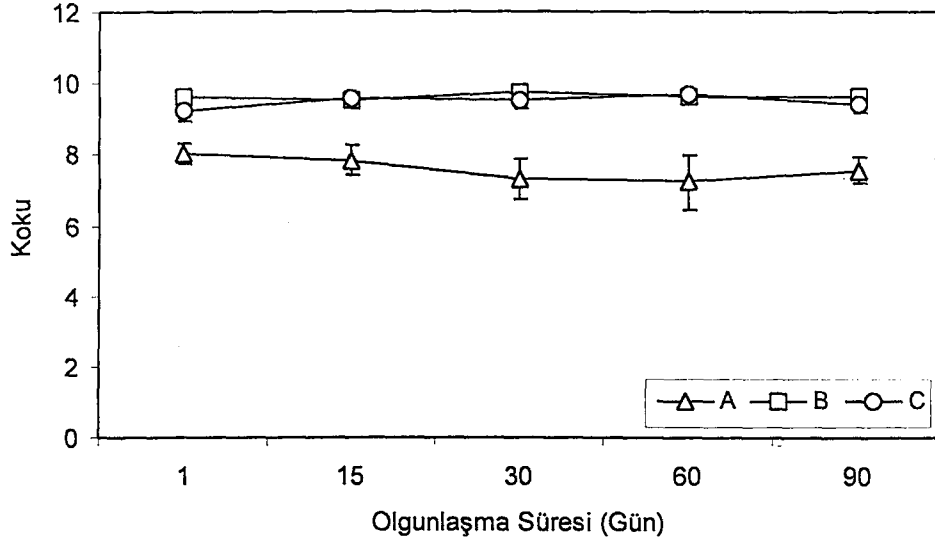
Olgunlaşma süresince B ve C peynirlerinin aldıkları puanlar önemli bir değişim göstermemiştir. B peyniri başlangıçta, 30.67 puan alırken 90. günde puanı

29.40'a düşmüştür. Bu azalışın peynirdeki proteoliz nedeniyle (özellikle α_{s1} -kazeinin parçalanması) yapıda meydana gelen yumuşamadan kaynaklanabilir (Lawrence ve ark, 1987; Fox ve ark, 1996). B peynirinde olgunlaşma süresince meydana gelen bu değişimin istatistiksel yönden önemli olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$). A peynirinin yapı ve kıvam puanlarının düşük olması, normal bir durum olarak değerlendirilmiştir. Çünkü, daha önce de belirtildiği gibi, bu peynire üretim sonrasında kontamine olan bakteriler (büyük olasılıkla koliform grubu bakteriler) başlıca yapısal kusurlara neden olmuştur. Olgunlaşma sırasında, peynirin iç kısmında belirgin büyüklüklerde gözenekler meydana gelmiş ve bunların koliform bakterilerden kaynaklanmış olabileceği panel üyeleri tarafından belirtilmiştir. Yapıda görülen bu kusurlar, söz konusu peynirin yapı ve kıvam puanlarını direkt olarak etkilemiş, olgunlaşma ilerledikçe bu kusurlar daha da artmıştır. Yapılan istatistiksel analizde, olgunlaşma süresinin A peynirin yapı ve kıvam puanları üzerinde önemli düzeyde etkili olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).

4.6.3. Koku Puanları

Çizelge 4.23'te Beyaz peynir örneklerine ait koku puanları verilmiştir. Peynirlerin koku puanları değerlendirildiğinde, A peyniri ile B ve C peynirleri arasında $p<0.05$ düzeyinde farklılık bulunmuştur. Peynirlerin 10 puan üzerinden değerlendirilen koku puanları, en yüksek B peynirinde elde edilmiştir. Olgunlaşmanın tüm dönemlerinde, B ve C peynirleri arasında önemli bir farklılık saptanamamıştır. Örneğin, C peyniri olgunlaşmanın başlangıcında 9.20 puan alırken, B peyniri 9.60 düzeyinde puan almıştır. Aynı olgunlaşma döneminde A peyniri de 10 puan üzerinden 8.00 puan almıştır.

B ve C peynirlerinin koku puanları, 90 günlük olgunlaşma süresi içerisinde önemli düzeyde değişikliğe uğramazken, A peynirinde bu değerler azalmıştır (Şekil 4.30). Ancak, A peynirinde meydana gelen bu azalma istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($p>0.05$).

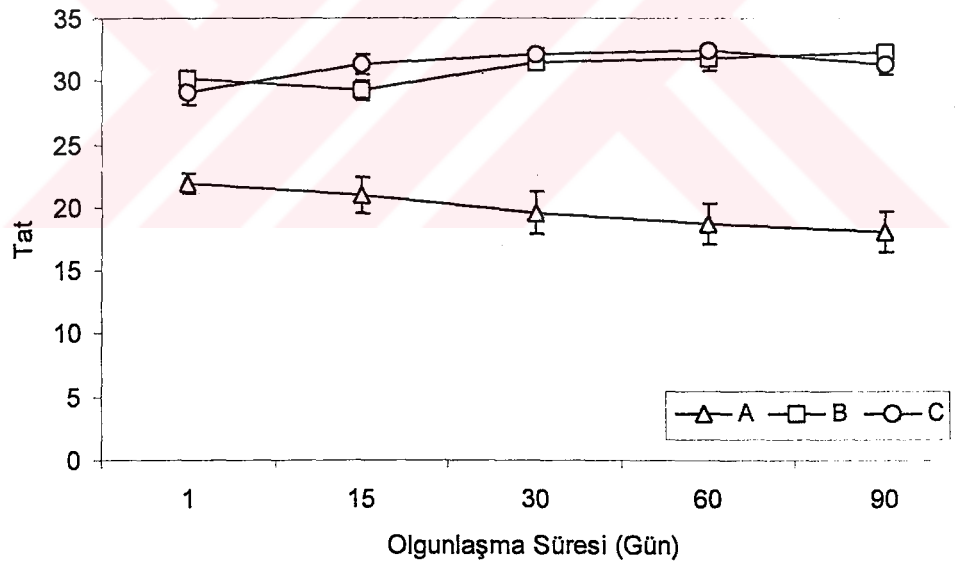


Şekil 4.30. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan koku puanları

Aslında peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen önemli biyokimyasal reaksiyonlardan biri de uçucu nitelikte tat ve koku bileşenlerinin oluşumudur (Fox ve ark, 1996). Olgunlaşmanın bu aşaması bazı kaynaklarda (Fox ve ark, 1996; Visser, 1993) proteolizin tersiyer fazı olarak da nitelendirilmektedir. Ancak, subjektif yöntemlerle bu durumun ortaya konulması oldukça güçtür. Bunun yanı sıra, duyusal değerlendirmeye katılan panel üyelerinin peynirin kokusunu algılamada farklılık gösterebilecekleri ve panel üyelerinin alışkanlık biçimlerinin de bunda etkili olabileceği bir gerçektir. Bunun için, GC-MS gibi objektif tekniklerden yararlanılarak uçucu aroma bileşenlerinin kalitatif ve kantitatif olarak belirlenmesi gerekmektedir. Duyusal değerlendirmelerin oldukça ön plana çıkarıldığı günümüzde, gıdalarda kokuyu objektif olarak algılayabilmek için elektronik burun geliştirildiği açıklanmaktadır (Schaller ve ark, 1998; Capone ve ark, 2001; Ampuero ve Bosset, 2003; Drake ve ark, 2003; O’Ricardson ve Delahunty, 2003).

4.6.4. Tat Puanları

Şekil 4.31’de görüldüğü gibi, en yüksek tat puanının B peynirinde (1. günde 30.27, 90. günde 32.27), en düşük puanın da A peynirinde (1. günde 21.87, 90. günde 18.00) saptandığı görülmektedir. B ve C peynirleri arasında önemli düzeyde bir farklılık bulunmazken, A peyniri ile B ve C peynirleri arasında $p<0.01$ düzeyinde önemli farklılık olduğu bulunmuştur. Biyokimyasal özellikler ve azot fraksiyonları belirlendiğinde, B peynirinin C peynirinden farklı olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Olgunlaşma süresi ilerledikçe A peyniri için verilen puanlar düşmüş, starterli ve startersız peynirler arasındaki bu farklılıklar daha da büyümüştür. Olgunlaşma süresince A peynirinde tat puanları azalırken, B ve C peynirlerinde artmış ve olgunlaşma süresinin tat puanları üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.31. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan tat puanları

Beyaz salamura peynirlerde duyuşal özelliklerin gelişiminde starterin çok önemli rolü olduğunu belirten Gosheva ve ark. (1992), asetaldehit, aseton ve

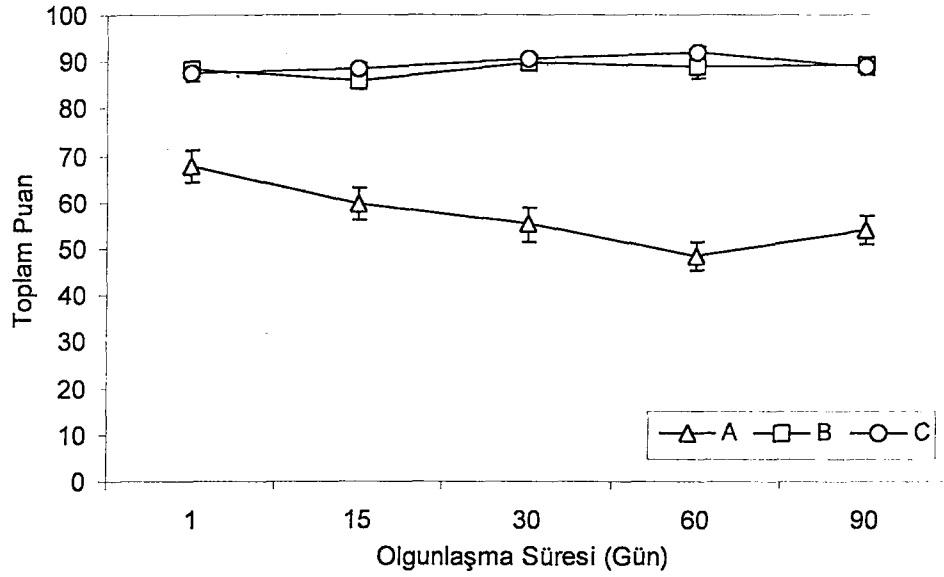
butanon-2 gibi aroma maddelerinin en çok starterle üretilen peynirlerde saptandığını belirtmişlerdir.

4.6.5. Toplam Puanlar

Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince verilen toplam duyusal puanlar Çizelge 4.23'te ve Şekil 4.32'de verilmiştir. Toplam duyusal puanlarda da B ve C peynirleri arasında önemli bir farklılık saptanamamış, A peynirinin B ve C peynirinden önemli düzeyde farklı olduğu bulunmuştur ($p<0.01$). Toplam puanlar incelendiğinde, C peyniri en yüksek toplam puanı olgunlaşmanın 60. gününde (90.33) B peynirinin de 30. gününde (89.60) aldığı belirlenmiştir. A peyniri ise en yüksek puanı olgunlaşmanın ilk gününde almıştır (67.67).

Olgunlaşma süresi ilerledikçe C peynirinde toplam puanlar 60. güne kadar düzenli bir şekilde artarken, B peynirinde 15. günde bir düşüş gözlenmiş, sonraki dönemlerde dalgalı da olsa artış meydana gelmiştir. A peynirinde ise olgunlaşma süresince toplam puanlar 60. güne kadar hızlı bir düşüş göstermiş, en düşük puanı bu dönemde almıştır (48.33). B ve C peynirlerinde olgunlaşma süresince meydana gelen değişim istatistiksel olarak önemli bulunmazken, A peynirinin toplam puanlarında meydana gelen düşüşler $p<0.01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. A peynirinin toplam puanlarındaki bu azalış, ayrı ayrı verilen duyusal parametrelerdeki azalmanın yansıması olarak değerlendirilmiştir. Olgunlaşmanın 60. gününde A peynirinin aldığı toplam puan, B ve C peynirlerinin sahip oldukları puanların hemen yarısı kadar olmuştur. Bu durum peynir sütüne ilave edilen starterin peynir kalitesine ne kadar etkili olduğunu göstermektedir.

Shakeel-Ur-Rehman ve ark. (1999), 12 farklı *Lactococcus* suşları ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde en yüksek duyusal puanın SK11 suşu ile yapılan peynirlerde saptandığını belirtmişlerdir. Muir ve ark. (1996), peynirin yapısı, tadı, kokusu ve diğer duyusal özellikleri üzerinde starter bakterilerin önemli etkilerinin olduğunu ve mezofilik starterlerle üretilen peynirlerin daha olgun tatta olduklarını bildirmişlerdir.



Şekil 4.32. Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince saptanan toplam puanlar

Duyusal puanlar genel olarak değerlendirildiğinde, starter katılmayan A peynirinin tüm olgunlaşma dönemlerinde starter katılan peynirlerden düşük değerler aldığı ve tercih sıralamasında en son sırada yer aldığı görülmüştür. Peynir sütüne starter ilave edilerek peynir mikrobiyotası kontrol altına alınmış ve dışarıdan kontamine olabilecek mikroorganizmaların gelişebilme riskleri en düşük düzeye indirilmiştir (Xanthopoulos ve ark, 2000). Starter ilave edilen B peynirinin, panele katılan üyelerin çoğunun beğenisini kazandığı ve tercih sıralamasında birinci sırada, C peynirinin ise ikinci sırada yer aldığı saptanmıştır. Tüm olgunlaşma dönemlerinde A peynirinin B ve C peynirlerinden çok farklı olduğu panel üyeleri tarafından belirtilmiştir. Duyusal açıdan B ve C peynirleri arasında bir benzerlik görülse de, gerek azot fraksiyonlarının Kjeldahl analizlerinde, gerekse urea-PAGE ve RP-HPLC analizlerinde bu peynirler arasında bazı farklılıkların olduğu saptanmıştır.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, starter olarak kullanılan farklı *Lactococcus* cinsi bakterilerin Beyaz peynirin kimyasal, biyokimyasal ve duyusal özelliklerine etkileri araştırılmıştır. Startersiz (A), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCDO763 + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* SK11 bakterilerinden oluşan (B) ve *Lc. lactis* subsp. *lactis* UC317 + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* HP bakterilerinden oluşan (C) starter kültürleriyle 3 tip peynir üretilmiş ve peynirler 7 ± 1 °C'de 90 gün süre ile olgunlaştırılmışlardır. Üç tekerrürlü olarak yürütülen bu çalışmada, olgunlaşmanın 1., 15., 30., 60. ve 90. günlerinde peynirlerin analizleri yapılmıştır. Aşağıda peynirlerin üretimi, olgunlaşma sırasındaki kimyasal bileşimi ve fiziksel özellikleri ile biyokimyasal ve duyusal özelliklerinde meydana gelen değişimler özetlenmiştir:

Peyniraltı Suyunun Özellikleri ve Peynir Randımanı

B ve C peynirinin üretiminde kullanılan suşlar peynir sütünde asitlik geliştirme bakımından önemli düzeyde farklılık göstermemişlerdir. Starter katılmayan A peynirinde ise asitlik gelişimi çok yavaş olmuş, üretimin tüm aşamalarında peyniraltı sularında ölçülen pH değerleri A peynirinde daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Bu peynirde yeterince asitlik gelişimi olmadığından, telemede daha fazla su kalmış ve bu durum olgunlaşma süresince devam etmiştir. Bu nedenle, peynirin bileşimindeki ve mikroflorasındaki farklılıklar peynirlerin tüm niteliklerinde, özellikle proteolizinde ve duyusal özelliklerinde önemli düzeyde farklı etkiler yaratmıştır.

pH değerinin A peynirinde daha yüksek olması nedeniyle, A peynirinin telemesinde daha fazla peyniraltı suyu bulunması peynir randımanının daha yüksek olmasına yol açmıştır. B ve C peynirlerinde pH değerinin daha düşük olması nedeniyle, kazeinlerin su tutma kapasiteleri azalmış ve bu peynirlerde randıman daha düşük bulunmuştur. % süt üzerinden peynir randımanları hesaplandığında sadece A peyniri farklı bulunurken ($p<0.05$), % 40 kuru madde üzerinden yapılan randıman hesabında ise peynirler arasında önemli düzeyde bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Peynirlerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Peynirlerin kimyasal bileşimleri üzerine starter kullanımının etkisi önemli bulunurken, starter farklılığının etkisinin önemli olmadığı görülmüştür. pH değerleri açısından, starter katılan B ve C peynirleri arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmazken, A peyniri tüm olgunlaşma dönemlerinde B ve C peynirlerinden farklı düzeyde pH değerlerine sahip olmuştur ($p<0.05$). Olgunlaşma süresince B ve C peynirlerinin pH değerleri önemli bir değişikliğe uğramazken A peynirinin pH değeri önemli düzeyde düşüş göstermiştir ($p<0.05$). A peynirinin titrasyon asitliği değerleri B ve C peynirlerinden farklı bulunmuş ($p<0.05$) ve bu değerler olgunlaşma süresince artış göstermiştir. Starter katılmayan A peynirinde kuru madde miktarı daha düşük olduğundan, oransal olarak % yağ, protein, tuz ve diğer bileşenler de daha düşük değerler almıştır. Olgunlaşma süresi ilerledikçe, peynirlerin kuru madde miktarları azalmıştır. Bu azalış B ve C peynirleri için önemli bulunmazken, A peyniri için önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Peynirlerin yağ ve kuru maddede yağ oranlarında çok önemli bir değişim görülmemiştir. Olgunlaşma süresince peynirlerin protein oranlarında da önemli bir değişim meydana gelmemiştir. Peynirlerin tuz oranları olgunlaşmanın ilk 15 günü içinde artmış ($p<0.05$), olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde önemli bir değişim görülmemiştir.

Azot Fraksiyonları ve Serbest Amino Asit Değerleri

Peynirde proteolizin ne ölçüde olduğu, kitlede bulunan azotun ne kadar parçalandığı ve ne kadarının yeni ürünlere dönüştüğünün saptandığı bu analizlerde, azot fraksiyonları ile ilgili tüm parametrelerde starter kullanımının, suda çözünen azot oranları dışında diğer parametrelerde starter farklılığının önemli düzeyde etkisinin olduğu saptanmıştır. Peynirlerin suda çözünen azot oranları üzerinde daha çok pıhtılaştırıcı enzimin rolünün olduğu gözlenmiştir. % 12 TCA'da çözünen azot, % 5 PTA'da çözünen azot ile toplam serbest amino asit miktarları üzerinde starter kullanımının ve starter farklılığının önemli ölçüde etkisinin olduğu saptanmıştır.

($p < 0.05$). Otolitik özelliği bulunan starter ile üretilen B peynirinde bu değer önemli düzeyde yüksek bulunurken, starter ilave edilmeyen A peynirinde en düşük değeri almıştır. Peynirlerin kazein azotu oranları sürekli düşüş göstermiş, en fazla düşüş B peynirinde görülmüştür. A peynirinin kazein azotu oranı tüm olgunlaşma dönemlerinde diğer peynirlerden önemli farklılıklar göstermiştir. Olgunlaşma süresinin peynirlerin kazein azotu değerleri üzerinde önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Peynirlerin proteoz-pepton azotu oranları, B peynirinde 30. günde görülen düşüş dışında olgunlaşma süresince artış göstermiştir. Bu durum, % 12 TCA'da çözünen azotun suda çözünen azota göre daha hızlı bir artış göstermesinden kaynaklanmıştır. A peynirinde proteoz-pepton azotu olgunlaşma süresince daha belirgin bir artış göstermiş, özellikle olgunlaşmanın 90. gününde en yüksek değere ulaşmıştır. Bunun nedeninin, A peynirinin plasmin aktivitesi için daha uygun bir ortam (pH, su oranı) oluşturmamasından ve olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde starter olmayan laktik asit bakterilerinin aktivitelerinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır.

Peynirlerin serbest amino asit miktarları, olgunlaşma süresince artış göstermiş ve peynirler arasında önemli düzeyde farklılık bulunmuştur. Özellikle olgunlaşmanın 60. gününden sonra bu farklılık daha belirgin hale gelmiştir. B peyniri, olgunlaşmanın 90. gününde A peynirine göre yaklaşık 2 kat fazla toplam amino asit birikimi sağlamıştır. Olgunlaşmanın 60. gününde belirlenen amino asit kompozisyonu incelendiğinde toplam amino asit miktarının yine en çok B peynirinde saptandığı görülmektedir. Peynir örneklerinde en çok bulunan amino asitlerin Leu, Glu, Phe, Lys ve Val olduğu belirlenmiştir. En yüksek NH_3 miktarının A peynirinde saptanması, bu peynire sonradan kontamine olan starter olmayan laktik asit bakterilerinin peynir proteolizinde, özellikle amino asit katabolizmasında, farklı etkiler meydana getirdiklerini düşündürmüştür.

Toplam FFA Miktarları ve Sertlik İndeksleri

Peynirlerin toplam FFA miktarları (% oleik) olgunlaşma süresi içerisinde sürekli artış göstermiştir. Olgunlaşmanın 30. gününe kadar peynirlerin FFA

miktarları birbirine yakın değerler almış, olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde B peyniri A ve C peynirlerinden yüksek ve önemli düzeyde farklı FFA miktarlarına sahip olmuştur ($p<0.05$). Bu durumun B peynirinin starter karışımında yer alan SK11 suşunun otolitik özelliğinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Peynirlerin sertlik indeksleri incelendiğinde, starter katılan B ve C peynirlerinin birbirine yakın değerler aldığı, A peynirinin sertlik indeksinin B ve C peynirlerinden düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Tüm peynirlerde olgunlaşma süresi ilerledikçe sertlik indeksi değerleri azalmış, B ve C peynirleri ile A peyniri arasındaki farklılık büyümüştür.

Urea-PAGE Elektroforetik Analizleri

Peynirlerin olgunlaşmanın tüm aşamalarında pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE elektroforetogramları çıkarılmış bunların dansitometrik değerleri elde edilmiştir. Peynirlerde olgunlaşma süresince, gerek β -kazein gerekse α_{s1} -kazein miktarlarında azalmalar olmuş, ancak α_{s1} -kazein daha çok parçalanmıştır. Bakteriyel olarak olgunlaştırılan diğer peynir çeşitlerinde olduğu gibi, β -kazein hidrolize karşı daha fazla direnç göstermiştir. β -kazein en çok A ve C peynirlerinde hidrolize olmuştur. Bu durum, C peynirinde yer alan starterlerin β -kazeine etki edebilen lactocepın-I proteinazına sahip olmasından ve A peynirinde pH değerinin yüksek olmasından dolayı plasminin aktivite göstermesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. α_{s1} -kazeinin en çok B peynirinde parçalandığı, γ -kazeinin ise en çok A peynirinde olduğu dikkat çeken diğer önemli bir nokta olmuştur. Peynirlerin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının urea-PAGE'de elde edilen değerlerinin PCA (Principal Component Analysis) ve HCA (Hierarchical Cluster Analysis) analizleri A peynirinin farklı olduğunu göstermiş, ayrıca peynirleri olgunluklarına göre gruplandırmıştır. Bu yolla, taze ya da az olgun peynirleri (1-15 günlük) bir grupta, olgun peynirleri ise (30-90 günlük) diğer bir grupta sınıflandırma olanağı elde edilmiştir. Son yıllarda uygulanan bu istatistiksel yöntemin

(Multivariate Statistical Analysis) oldukça kullanışlı bir teknik olduğu bu çalışma ile de doğrulanmıştır.

RP-HPLC Peptid Profilleri

Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profillerinde olgunlaşmanın 15. gününe kadar peynirler arasında önemli düzeyde bir farklılık belirlenememiştir. Ancak, olgunlaşmanın 30., 60. ve 90. günlerinde peynirlerin peptid profilleri arasında belirgin bazı farklılıklar görülmüştür. Starter kullanımının önemli ölçüde etkisinin saptanmasının yanı sıra, farklı starter kullanımının peynirin sekonder proteolizinde önemli derecede etkili olduğu ve peynirde farklı düzeyde peptid ve amino asit oluşumuna neden olduğu gerçeği bu çalışma ile de doğrulanmıştır. RP-HPLC peptid profillerinde, B peynirinin alıkonma zamanının başlangıcında (9. ve 13. dakikalarda) farklı pikler vermesi, A peynirinde ise alıkonma zamanının 20. dakikasına kadar önemli bir pik bulunmaması peynirleri peptid profilleri bakımından farklı kılan en önemli unsurlardan biri olmuştur. Alıkonma süresinin 40. dakikasından sonra gelen pikler (hidrofobik bölge) değerlendirildiğinde, en çok pik A peynirinde görülürken, bu bölgede en az piki B peyniri vermiştir. Peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profillerinde, alıkonma süresinin 26. ve 33. dakikalarında gelen peptidler her 3 peynirde de saptanmış, ancak konsantrasyonları farklı bulunmuştur. Urea-PAGE analizlerinde olduğu gibi, peynirlerin pH 4.6'da çözünen fraksiyonlarının RP-HPLC peptid profillerinin PCA grafiği ve HCA dendrogramlarında da A peynirinin B ve C peynirlerinden farklı olduğu saptanmış ve peynirler olgunluklarına göre gruplandırılmışlardır.

Peynirlerin % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarının (daha küçük, hidrofilik peptidler) RP-HPLC peptid profilleri pH 4.6'da çözünen fraksiyonların profillerine oldukça benzerlik göstermiştir. pH 4.6'da çözünen fraksiyonların RP-HPLC peptid profillerinde belirlenen ve alıkonma süresinin 26. ve 33. dakikalarında gelen pikler, pik yükseklikleri farklı da olsa % 70 etanolde çözünen fraksiyonlarda da elde

edilmiştir. Kromatografik sonuçların PCA ve HCA istatistiksel analizlerine göre A peynirinin farklı olduğu, B ve C peynirlerinin benzer olduğu saptanmıştır.

% 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların (daha büyük, hidrofobik peptidler) hem RP-HPLC peptid profilleri hem de urea-PAGE elektroforetogramları oldukça farklılık göstermiştir. % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların daha çok alıkonma süresinin 40. dakikasından sonra pikler vermeye başladığı saptanmıştır. Peynirlerin % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonlarının RP-HPLC profilleri açısından en belirgin farklılık A peynirinde görülmüştür. C peyniri için elde edilen kromatogramın hidrofobik bölgesinde, B peynirine göre daha yoğun pikler bulunduğu saptanmıştır. % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların urea-PAGE elektroforetogramında da A peyniri oldukça farklı bantlar vermiştir. B peynirinde α_1 -kazeinin parçalanma ürünleri bölgesinde hemen hiç bant belirlenemezken, A peynirinde ve kısmen de C peynirinde belirli yoğunluklarda bantlar elde edilmiştir. % 70 etanolde çözünmeyen fraksiyonların RP-HPLC peptid profillerinin PCA ve HCA analizinde A peynirinin oldukça farklı olduğu, B ve C peynirlerinin ise benzer profiller verdikleri görülmüştür.

Duyusal Özellikler

Peynirlerin duyuusal özellikleri (renk ve görünüş, yapı ve kıvam, koku, tat, toplam puanlar), değerlendirildiğinde, B ve C peynirleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir farklılığın olmadığı, A peynirinin ise tüm duyuusal özellikler açısından önemli derecede farklı olduğu saptanmıştır ($p < 0.01$). Olgunlaşma süresi ilerledikçe, B ve C peynirlerinin duyuusal puanlarında kısmen de olsa bir artış olurken, A peynirinde tüm duyuusal özelliklerde azalma olmuştur. A peynirinde starter kullanılmaması, B ve C peynirlerine göre çevreden olası kontaminasyonlara daha duyarlı olması nedeniyle, peynirde birtakım yapısal kusurlar görülmüş ve bu durum diğer duyuusal özellikleri de olumsuz yönde etkilemiştir.

Sonuç olarak, peynirde starter kullanılmadığı zaman, peynir sütünde asitlik gelişiminin yeterli düzeye ulaşamadığı ve bu nedenle de peynirin kimyasal bileşiminde, fiziksel, biyokimyasal ve duyuusal özelliklerinde önemli ölçüde

farklılıklar olmaktadır. Farklı starter kullanımının peynirin kimyasal bileşimi üzerinde önemli bir değişime neden olmadığı, starterin daha çok peynirin azot fraksiyonları ile biyokimyasal özellikleri ve kısmen de duyuşal özellikleri üzerinde farklı etkilerde bulunduğı belirlenmiştir. Starter farklılığının, peynirin az da olsa primer proteolizine (urea-PAGE) etkide bulunduğı en önemli farklılığın peynirlerin peptid ve amino asit profillerinde ortaya çıktığı saptanmıştır.

Lactococcus suşlarının kullanıldığı bu çalışmada suşların peynirlerin proteolizine farklı etkilerde bulunduğı, özellikle otolitik özellik gösteren ve B peynirinin starter kombinasyonunda yer alan SK11 suşunun peynirde kalite açısından önemli katkılar sağladığı yapılan duyuşal, kimyasal ve biyokimyasal analizlerle ortaya konulmuştur (Hayaloğlu ve ark, baskıda). Elde edilen sonuçlara göre, B peynirinin daha kısa sürede olgunluğa eriştiğı, peynirde otolitik özellik gösteren starterlerin kullanımının olgunlaşma süresini kısalttığı ve peynirde kalite açısından herhangi bir olumsuzluğa neden olmadığı (acılaşma, yapısal bozukluklar vb) görülmüştür. Son yıllarda, farklı starter kullanımının peynir proteolizi üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiş, uygun nitelikteki (özellikle otolitik özelliğı ve peptidolitik özellikleri güçlü olan) starterin kullanımı ile daha kısa sürede olgunlaşan ve iyi kaliteli peynir elde edilebileceğı belirtilmiştir. Ayrıca, çok sayıda veri içeren ve yorumlaması güç olan elektroforetik ve kromatografik sonuçların çok değişkenli bazı istatistiksel tekniklerin (PCA ve HCA) uygulanması, sonuçların daha kolay yorumlanmasını ve anlaşılmasını sağlamıştır. Bunlara ek olarak, peynir sütüne ısıt işlem uygulanmışsa mutlaka starter katılması gerektiğı, B ve C peynirlerinde yer alan starterlerin peynir proteolizine farklı şekillerde katkıda bulundukları, starter seçiminde mutlaka proteolitik özelliğinin ve starterin amino asit oluşturma yeteneğinin göz önünde bulundurulmasının gerekli olduğu sonucuna varılmıştır. Diğer taraftan, starter katılmayan A peynirinde özellikle 30. günden sonra azot fraksiyonları ve biyokimyasal özelliklerinde (urea-PAGE, RP-HPLC) bazı farklı sonuçların elde edilmesi, starter olmayan laktik asit bakterilerinin de Beyaz peynirde proteolize önemli ve farklı boyutlarda katkılar sağladığını göstermiştir.

KAYNAKLAR

- ABD EL-SALAM, M.H., ALICHANIDIS, E., and ZERFIRIDIS, G.K., 1993. Domiati and Feta Type Cheeses. (P.F. FOX, editor), Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, 2nd Edn. Major Cheese Groups, Vol. 2, London, Chapman and Hall, pp: 301–335.
- AKBULUT, N., GÖNÇ, S., KINIK, Ö., UYSAL, H., AKALIN, S., ve KAVAS, G., 1996. Bazı Tuzlama Yöntemlerinin Beyaz Peynir Üretiminde Uygulanabilirliği ve Peynir Kalitesine Etkileri Üzerinde Bir Araştırma. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33 (1): 17–24.
- AKIN, N., AYDEMİR, S., KOÇAK, C., and YILDIZ, M.A., 2003. Changes of Free Fatty Acid Contents and Sensory Properties of White Pickled Cheese During Ripening. Food Chemistry, 80 (1): 77–83.
- AKYÜZ, N., 1986. Effect of Starter Usage and Packaging with Paraffin on the Volatile Fatty Acids Contents and Flavor Quality of Kashar Cheese. Z Lebensm Unters Forsch, 182: 107–111.
- ALICHANIDIS, E., POLYCHRONIADOU, A., TZANETAKIS, N., and VAFOPOULOU, A., 1981. Teleme Cheese from Deep-Frozen Curd. Journal of Dairy Science, 64 (5): 732–739.
- ALICHANIDIS, E., ANIFANTAKIS, E.M., POLYCHRONIADOU, A., and NANOÜ, M., 1984. Suitability of Some Microbial Coagulants for Feta Cheese Manufacture. Journal of Dairy Research, 51 (1): 141–147 .
- ALPAR, O., ATAMER, M., YETİŞMEYEN, A., GÖRGÜLÜ, B., KARAHAN, A., ve KORUKLUOĞLU, M., 1985. Beyaz Peynir Yapımında Pastörizasyonun ve Kültür Kullanımının Peyniraltı Suyu Bileşimine Etkisi. Gıda, 10 (1): 11–18.
- AMPUERO, S., and BOSSET, J.O., 2003. The Electronic Nose Applied to Dairy Products: A Review. Sensors and Actuators B: Chemical, 94 (1): 1–12.

- ANDREWS, A.T., 1983. Proteinases in Normal Bovine Milk and Their Action on Caseins. *Journal of Dairy Research*, 50: 45–55.
- ANONYMOUS, 1994. Çiğ Süt Standardı (TS 1018), TSE, Ankara.
- ANONYMOUS, 1995. Beyaz Peynir Standardı (TS 591), TSE, Ankara.
- ANONYMOUS, 2000. Türk Gıda Kodeksi, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği, Resmi Gazete, 14 Şubat 2000, Sayı: 23964, s: 27–37.
- ANONYMOUS, 2001. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Süt ve Süt Ürünleri Alt Komisyon Raporu No. DPT: 2636–ÖİK: 644, Ankara, 75 s.
- ARDÖ, Y., and PETERSON, H.–E., 1988. Accelerated Cheese Ripening with Heat Treated Cells of *Lactobacillus helveticus* and A Commercial Proteolytic Enzyme. *Journal of Dairy Research*, 55: 239–245.
- ARDÖ, Y., THANGE, B.V., and MADSEN, J.S., 2002. Dynamics of Free Amino Acid Composition in Cheese Ripening. *Australian Journal of Dairy Technology*, 57 (2): 109–115.
- ARGUMOSA, O.G., CARBALLO, J., BERNARDO, A., and MARTIN, R., 1992. Chemical Characterisation of A Spanish Artisanal Goat Cheese (Babia–Laciana Variety). *Microbiologie–Aliments–Nutrition*, 10: 69–76.
- ASENSIO, C., PARRA, L., PELAEZ, C., and GOMEZ, R., 1997. Use of Heat–shocked Mesophilic Lactic Acid Bacteria in Low–fat Goat’s Milk Cheesemaking. *FSTA Abstracts*, Vol. 29, No.1, p: 208.
- AWAD, S., LUTHI–PENG, Q. Q., and PUHAN, Z., 1999a. Proteolytic Activities of Suparen and Rennilase on Buffalo, Cow, and Goat Whole Casein and β –casein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3632–3639.
- AWAD, S., LUTHI–PENG, Q. Q., and PUHAN, Z., 1999b. Influence of Coagulants and Starter Bacteria on Proteolysis and Sensory Quality of Gouda Type

- Cheese from Buffalo Milk. *Scienza e Technica Lattiero–Casearia*, 50 (6), 405–430.
- AYAD, E.H.E., VERHEUL, A., WOUTERS, J.T.M., and SMIT, G., 2000. Application of Wild Starter Cultures for Flavour Development in Pilot Plant Cheesemaking. *International Dairy Journal*, 10: 169–179.
- AZARNIA, S., EHSANI, M. R., and MIRHADI, S. A. 1997. Evaluation of the Physico–Chemical Characteristics of the Curd During the Ripening of Iranian Brine Cheese. *International Dairy Journal*, 7 (6–7): 473–478.
- BALCI, C., 1994. *Kluyveromyces lactis*’ten Gen Teknolojisi ile Elde Edilen Maxiren Ticari Adlı Kimozinin Kaşar Peyniri Üretiminde Kullanımı Üzerinde Araştırmalar. E.Ü. Yüksek Lisans Tezi, İzmir, 101 s, (Yayınlanmamış).
- BARA–HERCZEGH, O., HORVATH–ALMASSY, K, and ORSI, F., 2002. Application of Multivariate Methods to Identify the Indices of Secondary Proteolysis for Trappist Cheese Maturity and Quality. *Eur Food Res Technol*, 214: 516–520.
- BEDEL, A., ve KILIÇ, S., 2000. İzmir Tulum Peynirinin Olgunlaşma Süresi Üzerinde Kültürün ve Ticari Enzimin Rolü. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 37 (1): 73–80.
- BENECH, R.–O., KHEADR, E.E., LACROIX, C., and FLISS, I., 2003. Impact of Nisin Producing Culture and Liposome –encapsulated Nisin on Ripening of *Lactobacillus* Added–Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, 86 (6): 1895–1909.
- BENFELDT, C., and SORENSEN, J., 2001. Heat Treatment of Cheese Milk: Effect on Proteolysis During Cheese Ripening. *International Dairy Journal*, 11: 567–574.
- BERESFORD, T.P., FITZSIMONS, N.A., BRENNAN, N.L., and COGAN, T.M., 2001. Recent Advances in Cheese Microbiology. *International Dairy Journal*, 11: 259–274.

- BLAKESLEY, R.W., and BOEZI, J.A., 1977. A New Staining Technique for Proteins in Polyacrylamide Gels Using Coomassie Brilliant Blue G250. *Analytical Biochemistry*, 82: 580–581.
- BOCKELMANN, W., 1995. The Proteolytic System of Starter and Non-Starter Bacteria: Components and Their Importance for Cheese Ripening. *International Dairy Journal*, 5: 977–994.
- BONCZAR, G., WSZOLEK, M., and ZAROD, W., 2001. The Influence of Starter Culture Used and Ripening Time on Changes of Protein Hydrolysis in Sheep Half-hard Cheeses. *FSTA Abstracts*, Vol. 33, No. 3, pp: 193–194.
- BOTTAZI, V., SCOLARI, G.L., CAPPA, F., BATTISTOTTI, B., BOSI, F., and BRAMBILLA, E., 1993. Lactic Acid Bacteria for Manufacture of Grana Cheese. III. Acidification Rate and Blowing. *FSTA Abstracts*, Vol. 25, No. 1, p: 208.
- BOUTROU, R., SEPULCHRE, A., PITEL, G., DURIER, C., VASSAL, L., GRIPON, J.-C., and MONNET, V., 1998. Lactococcal Lysis and Curd Proteolysis: Two Predictable Events Important for Development of Cheese Flavour. *International Dairy Journal*, 8: 609–616.
- BRADLEY, R.L., ARNOLD, E., BARBANO, D.M., SEMERAD, R.G., SMITH, D.E., and VINES, B.K., 1993. Chemical and Physical Methods. (R.T. MARSHALL, editor), *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16th Edn, American Public Health Association, Washington DC, pp: 433–531.
- BROADBENT, J.R., BARNES, M., BRENNAND, C., STRICKLAND, M., HOUCK, K., JOHNSON, M.E., and STEELE, J.L., 2002. Contribution of *Lactococcus lactis* Cell Envelope Proteinase Specificity to Peptide Accumulation and Bitterness in Reduced-Fat Cheddar Cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 68 (4): 1778–1785.

- BROME, M.C., and LIMSOWTIN, G.K.Y., 1998. Starter Peptidase Activity in Maturing Cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53: 79–82.
- BUTIKOFER, U., BAUMANN, E., SIEBER, R., ve BOSSET, J.O., 1998. Ripening of Emmental Cheese Wrapped in Foil with and without Addition of *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. HPLC Separation of Water-Soluble Peptides. *Lebensmittel –Wissenschaft und –Technologie*, 31: 297–301.
- CANDIOTI, M.C., HYNES, E., QUIBERONI, A., PALMA, S.B., SABBAG, N., and ZALAZAR, C.A., 2002. Reggianito Argentino cheese: Influence of *Lactobacillus helveticus* Strains Isolated from Natural Whey Cultures on Cheese Making and Ripening Processes. *International Dairy Journal*, 12 (11): 923–931.
- CAPONE, S., EPIFANI, M.F. QUARANTA, F., SICILIANO, P., TAURINO, A., and VASANELLI, L., 2001. Monitoring of Rancidity of Milk by Means of An Electronic Nose and A Dynamic PCA Analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 78 (1–3): 174–179.
- CARMONA, M.A., SANJUAN, E., GOMEZ, R., and FERNANDEZ–SALGUERO, J., 1999. Effect of Starter Cultures on the Physico–chemical and Biochemical Features in Ewe Cheese Made with Extracts from Flowers of *Cynara cardunculus* L. *Journal of the Science of Food Agriculture*, 79: 737–744.
- CHOPARD, M.A., SCHMITT, M., PERREARD, E., and CHAMBA, J.F., 2001. Qualitative Aspect of Proteolytic Activity of Thermophilic Lactobacilli Used in Swiss Cheeses. *Lait*, 81 (1/2): 183–194.
- CHOI, C.K., and KIM, H.U., 1990. Accelerated Ripening of Cheddar Cheese Using *Streptococcus lactis* Lac[−] Mutants, *FSTA Abstracts*, Vol. 22, No. 6., p: 142.
- COLLINS, Y.F., McSWEENWY, P.L.H., and WILKINSON, M.G., 2003. Evidence of A Relationship Between Autolysis of Starter Bacteria and Lipolysis in Cheddar Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Research*, 70: 105–113.

- COŞKUN, H., and SIENKIEWICZ, T., 1999. Degradation of Milk Proteins by Extracellular Proteinase from *Brevibacterium linens* FLK-61. Food Biotechnology, 13 (3): 267-275.
- CREAMER, L.K., and OLSON, N.F., 1982. Rheological Evaluation of Maturing Cheddar Cheese. Journal of Food Science, 41: 631-636, 646.
- CROW, V.L., COOLBEAR, T., HOLLAND, R., PRITCHARD, G.G., and MARTLEY, F.G., 1993. Starters as Finishers: Starter Properties Relevant to Cheese Ripening. International Dairy Journal, 3: 423-460.
- ÇAKMAKÇI, S., ve KURT, A., 1993. Salamura Tuz Oranı ve Olgunlaşma Süresinin CaCl_2 ve Lesitin İlavesiyle Üretilen Beyaz Salamura Peynir Kalitesine Etkisi, Gıda, 18 (1): 21-28.
- ÇELİK, C., 1981. Çeşitli Starter Kültürleri Kullanılarak Salamura Beyaz Peynirin (Edirne Tipi) Standardizasyonu Üzerinde Araştırmalar, TÜBİTAK-VHAG, Proje No: 488. Elazığ, 99s., (Yayınlanmamış).
- ÇÜRÜK, M., KONAR, A., ve GÜVEN, M., 2002. Kazein/Yağ Oranı Farklı Sütlerden Üretilen Beyaz Peynirlerin Özellikleri. Ç.Ü.Z.F. Dergisi, 17 (1): 45-54.
- DAĞDEMİR, E., 2001. Salamura Beyaz Peynir Üretiminde Farklı Starter Kültür Kullanımının Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi. A.Ü. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, 73s., (Yayınlanmamış).
- DEMİR, N., 1999. Starter Kültür Kullanımının İvriz Peynirinin Kimyasal Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalite Nitelikleri Üzerine Etkisi. S. Ü. Doktora Tezi, Konya, 68 s. (Yayınlanmamış).
- DERVİŞOĞLU, M., and YAZICI, F., 2001. Ripening Changes of Kulek Cheese in Wooden and Plastic Containers. Journal of Food Engineering, 48: 243-249.

- DEWETTINCK, K., DIERCKX, S., EICHWALDER, P., and HUYGHEBAERT, A., 1997. Comparison of SDS-PAGE Profiles of Four Belgian Cheeses by Multivariate Statistics. *Lait*, 77: 77–89.
- DILANYAN, Z., 1974. Role of Bacterial Starters in the Manufacture of Different Types of Hard Cheese. *Milchwissenschaft*, 29 (6): 337–341.
- DOI, E., DAISUKE, S., and MATOBA, T., 1981. Modified Colorimetric Ninhydrin Methods for Peptidase Assay. *Analytical Biochemistry*, 118: 173–184.
- DRAB, V., VEJDOVA, M., SAJDOK, J., and HYNEK, R., 1999. Prubeh Proteolyzy Bilkovin a Zmeny Aktivity Kysele Fosfatsy v Syrech Holandskeho typu Vyrabenych s Ruznymi Druhy Smetanovych Kultur. *Czech Journal of Food Science*, 17 (6): 223–234.
- DRAKE, M.A., BOYLSTON, T.D., SPENCE, K.D., and SWANSON, B.G., 1996. Chemical and Sensory Effects of A *Lactobacillus* Adjunct in Cheddar Cheese. *Food Research International*, 29 (3/4): 381–387.
- DRAKE, M.A., GERARD, P.D., KLEINHENZ, J.P., and HARPER, W.J., 2003. Application of an Electronic Nose to Correlate With Descriptive Sensory Analysis of Aged Cheddar Cheese. *Lebensmittel –Wissenschaft und –Technologie*, 36 (1): 13–20.
- DÜZGÜNEŞ, O., KESİCİ, T., KAVUNCU, O., ve GÜRBÜZ, F., 1987. Araştırma Deneme Metodları (İstatistik Metodları-II), A.Ü.Z.F. Yay. No: 1021/295, A.Ü. Basımevi, Ankara, 381 s.
- EL-KOUSSY, L.A., HAMDY, A.M., and NASR, M.A., 1976. Utilization of Starter in Domiati Cheesemaking. *Milchwissenschaft*, 31 (7): 428–430.
- EL-SODA, M., DESMAZEAUD, M.J., ABOUDONIA, S., and KAMAL, N., 1981. Acceleration of Cheese Ripening by the Addition of Whole Cells or Cell Free Extracts from *Lactobacillus casei* to the Cheese Curd. *Milchwissenschaft*, 36 (3): 140–142.

- EL-SODA, M., DESMAZEAUD, M.J., ABOUDONIA, S., and BADRAN, A., 1982. Acceleration of Cheese Ripening by the Addition of Extracts from *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus lactis* to the Cheese Curd. *Milchwissenschaft*, 37 (6): 325–327.
- EL-SODA, M., 1997. Control and Enhancement of Flavour in Cheese. (B.A. LAW, editor). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic & Professional, London, pp: 219–252.
- EL-SODA, M., MADKOR, S.A., and TONG, P.S., 2000. Adjunct Cultures: Recent Development and Potential Significance to the Cheese Industry. *Journal of Dairy Science*, 83 (4): 609–619.
- ENGELS, W.J.M., DEKKER, R., de JONG, C., NEETER, R., and VISSER, S., 1997. A Comparative Study of Volatile Compounds in the Water Soluble Fraction of Various Types of Ripened Cheese. *International Dairy Journal*, 7: 255–263.
- ERGÜLLÜ, E., 1980. Beyaz Peynirin Olgunlaşması Sırasında Mikrofloranın Özellikle Gaz Yapıcı Bakterilerin Değişimi Üzerinde Araştırmalar. E.Ü., Doçentlik Tezi, İzmir, 145 s. (Yayınlanmamış).
- EXTERKATE, F.A., de VEER, G.J.C.M., and STADHOUDERS, J., 1987. Acceleration of the Ripening of Gouda Cheese by Using Heat-treated Mixed-strain Starter Cells. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 41: 307–320.
- EXTERKATE, F.A., and ALTING, A.C., 1993. The Convesion of the α_{s1} -casein-(1–23)-fragment by the Free and Bound Form of the Cell-envelope Proteinase of *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* Under Conditions Prevailing in Cheese. *FSTA Abstracts*, Vol. 25, No. 9, p: 195–196.
- EXTERKATE, F.A., and ALTING, A.C., 1995. The Role of Starter Peptidases in the Initial Proteolytic Events Leading to Amino Acids in Gouda Cheese. *International Dairy Journal*, 5: 15–28.

- FARKYE, N.Y., FOX, P.F., FITZGERALD, G.F., and DALY, C., 1990. Proteolysis and Flavor Development in Cheddar Cheese Made Exclusively with Single Strain Proteinase-Positive or Proteinase-Negative Starters. *Journal of Dairy Science*, 73 (4): 874–880.
- FARKYE, N.Y., MADKOR, S.A., and ATKINS, H.G., 1995. Proteolytic Abilities of Some Lactic Acid Bacteria in A Model Cheese System. *International Dairy Journal*, 5 (7): 715–725.
- FENELON, M.A., RYAN, M.P., REA, M.C., GUINEE, T.P., ROSS, R.P., HILL, C., and HARRINGTON, D., 1999. Elevated Temperature Ripening of Reduced Fat Cheddar Cheese Made With or Without Lacticin 3147-Producing Starter Culture. *Journal of Dairy Science*, 82 (1): 10–22.
- FENELON, M.A., and GUINEE, T.P., 2000. Primary Proteolysis and Textural Changes During Ripening in Cheddar Cheeses Manufactured to Different Fat Contents. *International Dairy Journal*, 10: 151–158.
- FENELON, M.A., O'CONNOR, P., and GUINEE, T.P., 2000. The Effect of Fat Content on the Microbiology and Proteolysis in Cheddar Cheese During Ripening. *Journal of Dairy Science*, 83 (10): 2173–2183.
- FOLKERSTMA, B., and FOX, P.F., 1992. Use of Cd-Ninhydrin Reagent to Assess Proteolysis in Cheese During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Research*, 59: 217–224.
- FOX, P.F., 1989. Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. *Journal Dairy Science*, 72 (6): 1379–1400.
- FOX, P.F., LAW, J., McSWEENEY, P.L.H., and WALLACE, J., 1993. Biochemistry of Cheese Ripening. (P.F. FOX, editor). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd Edn., General Aspects, Vol. 1, Chapman and Hall, London, pp: 389–438.
- FOX, P.F., and McSWEENEY, P.L.H., 1996. Proteolysis in Cheese During Ripening. *Food Reviews International*, 12 (4): 457–509.

- FOX, P.F., O'CONNOR, T.P., McSWEENEY, P.L.H., GUINEE, T.P., and O'BRIEN, N.M., 1996. Cheese: Physical, Chemical, Biochemical and Nutritional Aspects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 39: 163–328.
- FOX, P.F., and McSWEENEY, P.L.H., 1997. Rennets: Their Role in Milk Coagulation and Cheese Ripening. (B.A. LAW, editor). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic & Professional, London, pp: 1–49.
- FOX, P.F., McSWEENEY, P.L.H., and LYNCH, C.M., 1998. Significance of Non-Starter Lactic Acid Bacteria in Cheddar Cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 53: 83–89.
- FOX, P.F., and TOBIN, J., 1999. Acceleration and Modification of Cheese Ripening. *Marschall Italian & Specialty Cheese Seminars*, 43 p.
- FOX, P.F., GUINEE, T.P., COGAN, T.M., and McSWEENEY, P.L.H., 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. An Aspen Publication, Gaithersburg, Maryland, 585 p.
- FRAU, M., SIMAL, S., FEMENIA, A., and ROSSELLO, C., 1997. Application of Principal Component Analysis to Chemical Characteristics of Mahon Cheese. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 205: 429–432.
- FURTULA, V., NAKAI, S., AMANTEA, G.F., and LALEYE, L., 1994a. Reverse-Phase HPLC Analysis of Cheese Samples Aged by A Fast Ripening Process. *Journal of Food Science*, 59 (3): 528–532, 567.
- FURTULA, V., NAKAI, S., AMANTEA, G.F., and LALEYE, L., 1994b. Reverse-Phase HPLC Analysis of Reference Cheddar Cheese Samples for Assessing Accelerated Cheese Ripening. *Journal of Food Science*, 59 (3): 533–538.
- GAHUN, Y., 1983. Salamuradan Beyaz Peynir Tuz Geçiş Olgusu ve Olgunlaşma Sırasında Tuzun Peynirin Bazı Özelliklerine Etkisi Üzerinde Araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20 (1): 193–220.

- GOMEZ, M.J., GARDE, S., GAYA, P., MEDINA, M., and NUNEZ, M., 1997. Relationship Between Level of Hydrophobic Peptide and Bitterness in Cheese Made from Pasteurised and Raw Milk. *Journal of Dairy Research*, 64: 289–297.
- GOMEZ, M.J., RODRIGUEZ, E., GAYA, P., NUNEZ, M., and MEDINA, M., 1999. Characteristics of Manchego Cheese Manufactured from Raw and Pasteurized Ovine Milk and with Defined–strain or Commercial Mixed–strain Strater Cultures. *Journal of Dairy Science*, 82 (11): 2300–2307.
- GONZALEZ DE LLANO, D., POLO, M.C., and RAMOS, M., 1991. Production, Isolation and Identification of Low Molecular Mass Peptides from Blue Cheese by High Performance Liquid Chromatography. *Journal of Dairy Research*, 58: 363–372.
- GONZALEZ DE LLANO, D., POLO, M.C., and RAMOS, M., 1995. Study on Proteolysis in Artisanal Cheese: High–Performance Liquid Chromatography of Peptides. *Journal of Dairy Science*, 78 (5): 1018–1024.
- GOSHEVA, B., STEFANOVA, M., BANKOVA, N., and DEDOVA, P., 1992. Taste and Aroma of White Brined Cheese. *FSTA Abstracts*, Vol. 24, No. 12, p: 178.
- GÖLLÜ, E., ve KOÇAK, C., 1989. Kazein/Yağ Oranı Farklı Sütlerden İmal Edilen Beyaz Peynirlerin Bazı Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar. *Doğa Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi*, 13 (3): 265–272.
- GÖNÇ, S., 1984. Ülkemizde Uygulanan Beyaz Peynir (Edirne Peyniri) Yapım Tekniği. *Beyaz Peynir Yapım Tekniği ve Karşılaşılan Sorunlar*, 2–3 Mart 1984, İstanbul Ticaret Odası Yay. No: 1984/14, İstanbul, s: 54–78.
- GRAPPIN, R., RANK, T.C., and OLSON, N.F., 1985. Primary Proteolysis of Cheese Proteins During Ripening: A Review. *Journal of Dairy Science*, 68 (3): 531–540.

- GÜLER, M.B., 1999. Hatay Yöresi Sürk (Küflü Çökelek) ve Carra (Testi) Peynirlerinin Üretimi, Özellikleri ve Standardizasyon Olanakları Üzerine Bazı Araştırmalar. Ç.Ü., Doktora Tezi, Adana, 115 s, (Yayınlanmamış).
- GÜRSEL, A., ERGÜLLÜ, E., GURSOY, A., ve ERDOĞDU, N.G., 1987. Kalsiyumklorürün Taze Beyaz Peynirin Bazı Nitelikleri Üzerine Etkisi. Gıda, 12 (5): 293–298.
- GÜRSEL, A., AVŞAR, Y.K., ve KOÇAK, C., 1994. Peynir Mayasıyla Oluşan Pıhtılarda Sinerez. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 19, Ankara, 29 s.
- GÜRSEL, A., GURSOY, A., ŞENEL, E., DEVECİ, O., ve KARADEMİR, E., 2003. Yağ İçeriği Azaltılmış Beyaz Peynir Üretiminde Dondurulmuş *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Kültürlerinin Kullanımı. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu, SEYES 2003, 22–23 Mayıs 2003, İzmir, s: 57–62.
- GURSOY, A., GÜRSEL, A., ŞENEL, E., DEVECİ, O., ve KARADEMİR, E., 2001. Yağ İçeriği Azaltılmış Beyaz Peynir Üretiminde Isıl İşlem Uygulanan *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Kültürlerinin Kullanımı. GAP II. Tarım Kongresi, Şanlıurfa, 24–26 Ekim, 2001, s: 269–278.
- GÜVEN, M., 1993. İnek, Koyun ve Keçi Sütlerinden Üretilen ve Farklı Materyallerde Olgunlaştırılan Tulum Peynirlerinin Özellikleri Üzerinde Karşılaştırmalı Bir Araştırma. Ç.Ü., Doktora Tezi, Adana, 206 s. (Yayınlanmamış).
- GÜVEN, M., ve KONAR, A., 1996. Keçi Sütünden Üretilen Yarı Sert Kadiz Peyniri Üretimi. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 11: 137–146.
- GÜVEN, M., and KARACA, O.B., 2001. Proteolysis Levels of White Cheeses Salted and Ripened in Brines Prepared from Various Salts. International Journal of Dairy Technology, 54 (1): 29–33.

- HADDADIN, M.S.Y., 1986. Microbiology of White-Brined Cheeses. (R.K. ROBINSON, editor). Developments in Food Microbiology-2, Elsevier Applied Science, London, pp: 67-89.
- HAHN, C., STROHMAR, W., and KIRCHHUBEL, W., 1993. Investigations on the Breakdown of Casein As A Model for Ripening Cheese Using Cell Free Extracts of *Lactobacillus*. FSTA Abstracts, Vol. 25, No. 10, p: 223.
- HALKMAN, A.K., YETİŞMEYEN, A., YILDIRIM, M., YILDIRIM, Z., HALKMAN, Z., ve ÇAVUŞ, A., 1994. Kaşar Peyniri Üretiminde Starter Kültür Kullanımı Üzerinde Araştırmalar. Turkish Journal of Agricultural and Forestry, 18: 365-377.
- HANNON, J.A., WILKINSON, M.G., DELAHUNTY, C.M., WALLACE, J.M., MORRISSEY, P.A., and BERESFORD, T.P., 2003. Use of Autolytic Starter Systems to Accelerate the Ripening of Cheddar Cheese. International Dairy Journal, 13: 313-323.
- HAYALOĞLU, A.A., GÜVEN, M., and FOX, P.F., 2002. Microbiological, Biochemical and Technological Properties of Turkish White Cheese "Beyaz Peynir". International Dairy Journal, 12 (8): 635-648.
- HAYALOĞLU, A.A., GÜVEN, M., FOX, P.F., HANNON, J.A., and McSWEENEY, P.L.H., (baskıda). Biochemical Characteristics of Turkish White-brined Cheese Made with Defined Strains of Lactococci. International Dairy Journal, (baskıda).
- HEWEDI, M.M., and FOX, P.F., 1984. Ripening of Blue Cheese: Characterisation of Proteolysis. Milchwissenschaft, 39 (4): 198-201.
- HOSONO, A., ISEKI, Y., OTANI, H., and TAKAHASHI, F., 1993. Identification of Lactic Acid Bacteria in "Beyaz Peynir" A Traditional Cheese in Turkey. FSTA Abstracts, Vol. 25, No.4, p: 201.

- HYNES, E., OGIER, J.-C., SON, O., and DELACROIX-BUCHET, A., 2003. Influence of Starter and Adjunct Lactobacilli Culture on Ripening of Miniature Washed-Curd Cheeses. *Lait*, 83: 17–29.
- IDF., 1982. Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard 4A, Brussels: International Dairy Federation.
- IDF., 1993. Milk. Determination of the Nitrogen (Kjeldahl Method) and Calculation of the Crude Protein Content. IDF Standard 20B, Brussels: International Dairy Federation.
- JARRETT, W.D., ASTON, J.W., and DULLEY, J.R., 1982. A Simple Method for Estimating Free Amino Acids in Cheddar Cheese. *Australian Journal of Dairy Technology*, 37: 55–58.
- JIN, Y.W., and PARK, Y.K., 1998. Proteolytic Patterns of Caciotta and Monterey Jack Hard Goat Milk Cheeses As Evaluated by SDS-PAGE and Densitometric Analysis. *Small Ruminant Research*, 28: 263–277.
- KALANTZOPOULOS, G.C., 1993. Cheeses from Ewes' and Goats' Milk. (P.F. FOX, editor), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd Edn. Major Cheese Groups, Vol. 2, Chapman and Hall, London, pp: 507–543.
- KANDARIKIS, I.G., MOSCHOPOULOU, E.E., MOATSOU, G.A., and ANIFANTAKIS, E.M., 1998. Effect of Starters on Gross and Microbiological Composition and Organoleptic Characteristics of Greviera Kritis Cheese. *Lait*, 78: 557–568.
- KANDARIKIS, I., MOATSOU, G., GEORGALA, A.I.K., KAMINARIDES, S., and ANIFANTAKIS, E., 2001. Effect of Draining Temperature on the Biochemical Characteristics of Feta Cheese. *Food Chemistry*, 72: 369–378.
- KARAKUŞ, M., BORCAKLI, M., ve ALPERDEN, I., 1992. Beyaz Peynirin Olgunlaşması Süresince Laktik Asit Bakterileri. *Gıda*, 17 (6): 363–369.

- KARAKUŞ, M., ve ALPERDEN, İ., 1992. Beyaz Peynirin Olgunlaşma Sürecinde Mikrobiyolojik ve Kimyasal Özelliklerindeki Değişmeler. Gıda Sanayi, 6 (2): 34–47.
- KARAKUŞ, M., and ALPERDEN, I., 1995. Effect of Starter Composed of Various Species of Lactic Acid Bacteria on Quality and Ripening of Turkish White Pickled Cheese. Lebensmittel–Wissenschaft und–Technologie, 28 (4): 404–409.
- KATSIARI, M.C., ALICHANIDIS, E., VOUTSINAS, L.P., and ROUSSIS, I.G., 2000. Proteolysis in Reduced Sodium Feta Cheese Made by Partial Substitution of NaCl by KCl. International Dairy Journal, 10 (9): 635–646.
- KAWABATA, S., VASSAL, L., LE BARS, D., CESSÉLIN, B., NARDI, M., GRIPON, J.–C., and CHAPOT–CHARTIER, M.–P., 1997. Phage–induced Lysis of *Lactococcus lactis* During Saint–Paulin Cheese Ripening and Its Impact on Proteolysis. Lait, 77: 229–239.
- KAYMAZ, Ş., 1979. İnek Sütü ile Yapılan Starterli ve Startersiz Salamura Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma Süreleri Sırasında Bazı Serbest Amino Asitlerin (Arg, Ile, Leu, Met, Phe, Trp) Miktarları Üzerinde Araştırmalar. A. Ü., Doçentlik Tezi, Ankara, (Yayınlanmamış).
- KAYMAZ, Ş., 1982. İnek Sütü ile Yapılan Starterli ve Startersiz Salamura Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma Süreleri Sırasında Bazı Serbest Amino Asitlerin (Arg, Ile, Leu, Met, Phe, Trp) Miktarları Üzerinde Araştırma. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27 (3–4): 545–560.
- KAYTANLI, M., 1995. Beyaz Peynir Üretiminde Alternatif Süt Pıhtılaştırıcı Enzimler İle Rennet Kombinasyonları Kullanımının Kalite Üzerine Etkileri. H.Ü. Doktora Tezi, Ankara, 109 s, (Yayınlanmamış).
- KEHAGIAS, C., KOULOURIS, S., SAMONA, A., MALLIOU, S., and KOUMOUTSOS, G., 1996. Effects of Various Starters on the Quality of Cheese in Brine. FSTA Abstracts, Vol. 28, No. 2, p: 201.

- KIERNAN, R.C., BERESFORD, T.P., O'CUINN, G., and JORDAN, K.N., 2001. Autolysis of Lactobacilli During Cheddar Cheese Ripening. FSTA Abstracts, Vol. 33, No. 1, pp: 256–257.
- KILIÇ, S., GÖNÇ, S., UYSAL, H., ve KARAGÖZLÜ, C., 1998. Geleneksel Yöntemle ve Kültür Kullanılarak Yapılan İzmir Tulum Peynirinin Olgunlaşma Süresinde Meydana Gelen Değişikliklerin Kıyaslanması. V. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 21–22 Mayıs 1998, Tekirdağ, s: 43–64.
- KOCA, N., ve METİN, M., 1998. Çeşitli Starter Kültür Kombinasyonlarının İzmir Teneke Tulum Peynirinin Nitelikleri Üzerinde Etkileri. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Geleneksel Süt Ürünleri, 21–22 Mayıs, 1998. Tekirdağ, s: 298–314.
- KOÇAK, C., YETİŞMEYEN, A., ve ATAMER, M., 1994. Süt Endüstrisinde Starter Kültürler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1362/62, Ankara, 51 s.
- KOK, J., 1993. Genetics of Proteolytic Enzymes of Lactococci and Their Role in Cheese Flavour Development. Journal of Dairy Science, 76: 2056–2064.
- KOTTERER, R., and MUNCH, S., 1978. Untersuchungsverfahren für das Milchwirtschaftliche Laboratorium. Volkswirtschaftliche Verlag GmbH, München, 201s.
- KUCHROO, C.N., and FOX, P.F., 1982. Soluble Nitrogen in Cheddar Cheese: Comparison of Extraction Procedures. Milchwissenschaft, 37: 331–335.
- KURT, A., 1991. Peynircilikte Kullanılan Kültürler ve Kültür Kullanımının Önemi. II. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, Her Yönüyle Peynir, 12–13 Haziran 1991, Tekirdağ, s: 72–87.
- KURT, A., ve ÖZDEMİR, S., 1995. Farklı Dozlarda Hidrojen Peroksit (H₂O₂) ve Potasyum Sorbat Katılarak Muhafaza Edilmiş Koyun Sütlerinden Yapılan

- Beyaz Peynirlerin Randımanı ve Bileşimi. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science, 19 (1): 51–57.
- LANE, C.N., and FOX, P.F., 1996. Contribution of Starter and Adjunct Lactobacilli to Proteolysis in Cheddar Cheese During Ripening. International Dairy Journal, 6 (7): 715–728.
- LANE, C.N., and FOX, P.F., 1997. Role of Starter Enzymes During Ripening of Cheddar Cheese Made from Pasteurised Milk Under Controlled Microbiological Conditions. International Dairy Journal, 7 (1): 55–63.
- LAU, K.Y., BARBANO, D.M., and RASMUSSEN, R.R., 1991. Influence of Pasteurisation of Milk on Protein Breakdown in Cheddar Cheese During Aging. Journal of Dairy Science, 74 (3): 727–740.
- LAW, B.A., and WIGMORE, A.S., 1983. Accelerated Ripening of Cheddar Cheese With A Commercial Proteinase and Intracellular Enzymes from Starter Streptococci. Journal of Dairy Research, 50: 519–525.
- LAW, B.A., 1984. Flavor Development in Cheese. (F.L. DAVIES and B.A. LAW, editors). Advances in the Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Elsevier Applied Science, London, pp: 187–208
- LAW, B.A., 1987. Proteolysis in Relation to Normal and Accelerated Cheese Ripening. (P.F. FOX, editor) Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1. Elsevier Applied Science, London, pp: 365–392.
- LAW, J., FITZGERALD, G.F., DALY, C., FOX, P.F., and FARKYE, N.Y., 1992. Proteolysis and Flavour Development in Cheddar Cheese Made with the Single Starter Strains *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* UC317 or *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* HP. Journal of Dairy Science, 75: 1173–1185.
- LAW, J., FITZGERALD, G.F., UNIACKIE–LOWE, T., DALY, C., and FOX, P.F., 1993. The Contribution of Lactococcal Starter Proteinases to Proteolysis in Cheddar Cheese. Journal of Dairy Science, 76: 2455–2467.

- LAWRENCE, R.C., CREAMER, L.K., and GILLES, J., 1987. Texture Development During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, 70 (8): 1748–1760.
- LEE, K.D., LO, C.G., and WARTHESEN, J.J., 1996. Removal of Bitterness from the Bitter Peptides Extracted from Cheddar Cheese with Peptidases from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* SK11. *Journal of Dairy Science*, 79 (9): 1521–1528.
- LITOPOULOU-TZANETAKI, E., 1990. Changes in Numbers and Kinds of Lactic Acid Bacteria During Ripening of Kefalotyri Cheese. *Journal of Food Science*, 55: 111–113.
- LITOPOULOU-TZANETAKI, E., and TZANETAKIS, N., 1992. Microbiological Study of White-Brined Cheese Made from Raw Goat Milk. *Food Microbiology*, 9 (1): 13–19.
- LITOPOULOU-TZANETAKI, E., TZANETAKIS, N., and VAFOPOULOU-MASTROJIANNAKI, A., 1993. Effect of the Type of Lactic Starter on Microbiological Chemical and Sensory Characteristics of Feta Cheese. *Food Microbiology*, 10: 31–41.
- LOPEZ-FANDINO, R., MARTIN-ALVAREZ, P.J., PUEYO, E., and RAMOS, M., 1994. Proteolysis Assessment of Several Cheese Varieties Using Different Methods. *Milchwissenschaft*, 49 (6): 315–318.
- LYNCH, C.M., McSWEENEY, P.L.H., FOX, P.F., COGAN, T.M., and DRINAN, F.D., 1996. Manufacture of Cheddar Cheese with and without Adjunct Lactobacilli Under Controlled Microbiological Conditions. *International Dairy Journal*, 6 (8–9): 851–867.
- LYNCH, C.M., McSWEENEY, P.L.H., FOX, P.F., COGAN, T.M., and DRINAN, F.D., 1997. Contribution of Starter Lactococci and Non-Starter Lactobacilli to Proteolysis in Cheddar Cheese with A Controlled Microflora. *Lait*, 77: 441–459.

- LYNCH, C.M., MUIR, D.D., BANKS, J.M., McSWEENEY, P.L.H., and FOX, P.F., 1999. Influence of Adjunct Cultures of *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* or *Lactobacillus plantarum* on Cheddar Cheese Ripening. *Journal of Dairy Science*, 82 (8): 1618–1628.
- MADKOR, S., FOX, P.F., SHALABI, S.I., and METWALLI, N.H., 1987. Studies on the Ripening of Stilton Cheese: Proteolysis. *Food Chemistry*, 25: 13–29.
- MADKOR, S.A., TONG, P.S., and EL-SODA, M., 1999. Evaluation of Commercial Adjuncts for Use in Cheese Ripening: 2. Ripening Aspects and Flavor Development in Cheese Curd Slurries Prepared With Adjunct Lactobacilli. *Milchwissenschaft*, 54 (3): 133–137.
- MADKOR, S.A., TONG, P.S., and EL-SODA, M., 2000a. Ripening of Cheddar Cheese with Added Attenuated Adjunct Cultures of Lactobacilli. *Journal of Dairy Science*, 83: (8): 1984–1691.
- MADKOR, S.A., TONG, P.S., and EL-SODA, M., 2000b. Evaluation of Commercial Adjuncts for Use in Cheese Ripening: 5. Effect of Added Freeze-Shocked Adjunct Lactobacilli on Proteolysis and Sensory Quality of Reduced Fat Cheddar Cheese. *Milchwissenschaft*, 55 (7): 382–386.
- MALLATOU, H., PAPPAS, C.P., and VOUTSINAS, L.P., 1994. Manufacture of Feta Cheese from Sheep's Milk, Goat's Milk or Mixtures of These Milks. *International Dairy Journal*, 4: 641–664.
- MARSHALL, V.M.E., and TAMIME, A.Y., 1997. Physiology and Biochemistry of Fermented Milks. B.A. LAW (Editor). *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, Blackie Academic & Professional, London, pp: 153–192.
- MARTLEY, F.G., and CROW, V.L., 1993. Interaction Between Non-starter Microorganisms During Cheese Manufacture and Ripening. *International Dairy Journal*, 3: 461–484.

- MARUGG, J.D., MEIJER, W., van KRANENBURG, R., LAVERMAN, P., BRUINENBERG, P.G., and DE VOS, W., 1995. Medium-dependent Regulation of Proteinase Gene Expression in *Lactococcus lactis*: Control of Transcription Initiation by Specific Dipeptides. *Journal of Bacteriology*, 177: 2982–2989.
- McGOLDRICK, M., and FOX, P.F., 1999. Intervarietal Comparison of Proteolysis in Commercial Cheese. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 208: 90–99.
- McSWEENEY, P.L.H., FOX, P.F., LUCEY, J.A., JORDAN, K.N., and COGAN, T.M., 1993. Contribution of the Indigenous Microflora to the Maturation of Cheddar Cheese. *International Dairy Journal*, 3: 613–634.
- McSWEENEY, P.L.H., POCHET, S., FOX, P.F., and HEALY, A., 1994. Partial Identification of Peptides from the Water-Soluble Fraction of Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Research*, 61: 587–590.
- McSWEENEY, P.L.H., and FOX, P.F., 1997. Chemical Methods for the Characterization of Proteolysis in Cheese During Ripening. *Lait*, 77: 41–76.
- MEIJER, W.C., 1997. Expression and Release of Proteolytic Enzymes of *Lactococcus lactis*, –Ripening of UF Cheese–. NIZO, PhD Thesis, Ede, The Netherlands, 135p. (Unpublished).
- MELILLI, C., BARBANO, D.M., LICITRA, G., TUMINO, G., FARINA, G., and CARPINO, S., 2003. Influence of Presalting and Brine Concentration on Salt Uptake by Ragusano Cheese. *Journal of Dairy Science*, 86 (4): 1083–1100.
- MENDIA, C., IBANEZ, F.J., TORRE, P., and BARCINA, Y., 2000. Effect of Pasteurization and Use of A Native Starter Culture on Proteolysis in A Ewes' Milk Cheese. *Food Control*, 11: 195–200.
- MENENDEZ, S., CENTENO, J.A., GODINEZ, R., and RODRIGUEZ-OTERO, J.L., 2000. Effects of *Lactobacillus* Strains on the Ripening and Organoleptic Characteristics of Arzua-Ulloa Cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 59: 37–46.

- METİN, M., 1967. Türkisher Weißkäse – eine Monographie. Deutsche Molkerei-Zeitung (Kempten–Allgäu), 51/52: 282–284.
- MICHAELIDOU, A., ALICHANIDIS, E., URLAUB, H., POLYCHRONIADOU, A., and ZERFIRIDIS, G.K., 1998. Isolation and Identification of Some Major Water-Soluble Peptides in Feta Cheese. *Journal of Dairy Science*, 81: 3109–3116.
- MICHAELIDOU, A., KATSIARI, M.C., KONDYLI, E., VOUTSINAS, L.P., and ALICHANIDIS, E., 2003. Effect of A Commercial Adjunct Culture on Proteolysis in Low-Fat Feta-type Cheese. *International Dairy Journal*, 13 (2–3), 179–189.
- MOATSOU, G.A., KANDARIKIS, I.G., GEORGALA, A.K., ALICHANIDIS, E.S., and ANIFANTAKIS, E.M., 1999. Effect of Starters on Proteolysis of Greviera Kritis Cheese. *Lait*, 79: 303–315.
- MOATSOU, G., MASSOURAS, T., KANDARIKIS, I., and ANIFANTAKIS, E., 2002. Evolution of Proteolysis During the Ripening of Traditional Feta Cheese. *Lait*, 82, 601–611.
- MORGAN, S., ROSS, R.P., and HILL, C., 1997. Increasing Starter Cell Lysis in Cheddar Cheese Using A Bacteriocin Producing Adjunct. *Journal of Dairy Science*, 80 (1): 1–10.
- MUEHLENKAMP-ULARTE, M.R., and WARTHESEN, J.J., 1999. Evaluation of Several Non-starter Lactobacilli for Their Influence on Cheddar Cheese Slurry Proteolysis. *Journal of Dairy Science*, 82 (7): 1370–1378.
- MUIR, D.D., BANKS, J.M., and HUNTER, E.A., 1996. Sensory Properties of Cheddar Cheese: Effect of Starter Type and Adjunct. *International Dairy Journal*, 6 (4): 407–423.
- NUNEZ, M., GARCIA-ASER, C., RODRIGUEZ-MARTIN, M.A., MEDINA, M., and GAYA, P., 1986. The Effect of Ripening and Cooking Temperatures on

- Proteolysis and Lipolysis in Manchego Cheese. *Food Chemistry*, 21: 115–123.
- O'KEEFFE, A.M., FOX, P.F., and DALY, C., 1976. Contribution of Rennet and Starter Proteases to Proteolysis in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Research*, 43: 97–107.
- O'KEEFFE, A.M., FOX, P.F., and DALY, C., 1978. Proteolysis in Cheddar Cheese: Role of Coagulant and Starter Bacteria. *Journal of Dairy Research*, 45: 465–477.
- OLERTE, C., SANZ, S., GONZALEZ-FANDOS, E., and TORRE, P., 2000. The Effect of A Commercial Starter Culture Addition on the Ripening of An Artisanal Goat's Cheese (Cameros Cheese). *Journal of Applied Microbiology*, 88 (3): 421–429.
- O'RICARDSON, P.J., and DELAHUNTY, C.M., 2003. Characterisation of Commercial Cheddar Cheese Flavour. 1. Traditional and Electronic Nose Approach to Quality Assessment and Market Classification. *International Dairy Journal*, 13 (5): 355–370.
- O'SHEA, B.A., UNIACKIE-LOWE, T., and FOX, P.F., 1996. Objective Assessment of Cheddar Cheese Quality. *International Dairy Journal*, 6 (11–12): 1135–1147.
- ÖZCAN, T., 2000. Starter, Proteaz ve Lipaz Kullanımının Mihaliç Peynirlerinin Olgunlaşma Süresine Etkisi. U.Ü. Doktora Tezi, Bursa, 147 s. (Yayınlanmamış).
- ÖZTÜRK, G.F., 1993. Kaşar Peynirinin Olgunlaşmasının Hızlandırılması Üzerine Nötral Proteaz ve Nötral Proteaz–Lipaz Enzim Kombinasyonunun Etkisi, E.Ü. Doktora Tezi, İzmir, 105 s, (Yayınlanmamış).
- ÖZER, B., ATASOY, F., and AKIN, S., 2002. Some Properties of Urfa Cheese (A Traditional White-brined Turkish Cheese) Produced from Bovine and Ovine Milks. *International Journal of Dairy Technology*, 55 (2): 94–99.

- PALMA, V.L.D., HAMMOND, E.H., and GLATZ, B.A., 1987. Effect of Lactobacilli on the Properties of Swiss Cheese. *Journal of Dairy Science*, 70 (4): 733–737.
- PAPPA, H.C., and ANYFANTAKIS, E.M., 2001a. Effect of Concentrated Starter Cultures on the Manufacture of Feta Cheese. *Milchwissenschaft*, 56 (6): 325–329.
- PAPPA, H.C., and ANYFANTAKIS, E.M., 2001b. Effect of Different Concentrated Cultures on the Proteolysis and Organoleptic Charactersitics of Feta Cheese. *Milchwissenschaft*, 56 (7): 384–387.
- PAPPAS, C.P., KONDYLI, E., VOUTSINAS, L.P., and MALLATOU, H., 1996. Effects of Starter Level, Draining Time and Aging on the Physicochemical, Organoleptic and Rheological Properties of Feta Cheese. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 49 (3): 73–78.
- PAVIA, M., TRUJILLO, A.J., GUAMIS, B., and FERRAGUT, V., 2000a. Proteolysis in Manchego-type Cheese Salted by Brine Vacuum Impregnation. *Journal of Dairy Science*, 83 (7): 1441–1447.
- PAVIA, M., TRUJILLO, A.J., GUAMIS, B., and FERRAGUT, V., 2000b. Ripening Control of Salt-Reduced Manchego-type Cheese Obtained by Brine Vacuum-Impregnation. *Food Chemistry*, 70: 155–162.
- PITSO, S., and BESTER, B.H., 2000. Quality Aspects of Feta Cheese Manufactured from Mixture of Cow's and Goat's Milk. *Milchwissenschaft*, 55 (8): 454–458.
- POLYCHRONIADOU, A., MICHAELIDOU, A., and PASCHALLOUDIS, N., 1999. Effect of Time, Temperature and Extraction Method on the Trichloroacetic Acid-Soluble Nitrogen of Cheese. *International Dairy Journal*, 9: 559–568.
- POVEDA, J.M., SOUSA, M.J., CABEZAS, L., and McSWEENEY, P.L.H., 2003a. Preliminary Observation Proteolysis in Manchego Cheese Made With A

- Defined-strain Starter Culture and Adjunct Starter (*Lactobacillus plantarum*) or A Commercial Starter. *International Dairy Journal*, 13: 169–178.
- POVEDA, J.M., CABEZAS, L., and McSWEENEY, P.L.H., 2003b. Free Amino Acid Content of Manchego Cheese Manufactured With Different Starter Cultures and Changes Throughout Ripening. *Food Chemistry*, (baskıda, online tarihi: 08. 08. 2003).
- POZNANSKI, S., and RYMASZEWSKI, J., 1965. Proteolysis During the Ripening of Edam Cheese with the Participation of Some Bacteria Strains. *Milchwissenschaft*, 20 (1): 14–20.
- PRIPP, A.H., SHAKEEL-UR-REHMAN, McSWEENEY, P.L.H., SORHAUG, T., and FOX, P.F., 1999. Multivariate Statistical Analysis of Peptide Profiles and Free Amino Acids to Evaluate Effects of Single-Strain Starters on Proteolysis in Miniature Cheddar-type Cheeses. *International Dairy Journal*, 9: 473–479.
- PRIPP, A.H., SHAKEEL-UR-REHMAN, McSWEENEY, P.L.H., SORHAUG, T., and FOX, P.F., 2000a. Comparative Study by Multivariate Statistical Analysis of Proteolysis in A Sodium Caseinate Solution Under Cheese-like Conditions Caused by Strains of *Lactococcus*. *International Dairy Journal*, 10 (1): 25–31.
- PRIPP, A.H., STEPANIAK, L., and SORHAUG, T., 2000b. Chemometrical Analysis of Proteolytic Profiles During Cheese Ripening. *International Dairy Journal*, 10: 249–253.
- PRIPP, A.H., McSWEENEY, P., SORHAUG, T., and FOX, P.F., 2000c. Quantitative Contribution of Rennet and Bacterial Proteolytic Enzymes to the Primary Proteolysis in Sodium Caseinate Solution. *Milchwissenschaft*, 55 (5): 263–266.
- RAMASAMY, D., NARASIMHAN, R., KHAN, M.M.D.H., DHANALAKSHMI, B., PALANI DORAI, R., and VIJAYALAKSHMI, R., 1998. Effect of

- Commercial Modified Starters on Accelerated Ripening of Cheddar Cheese. FSTA Abstracts, Vol. 30, No. 2, p: 198.
- RAMPILLI, M., TOPPINO, P.M., RAJA, V., and DAGHETTA, A., 1997. Cheese Ripening: Evaluation of pH 4.6 Soluble Peptidic Fraction by RP-HPLC. FSTA Abstracts, Vol. 79, No. 12, p: 269.
- RANK, T.C., GRAPPIN, R., and OLSON, N.F., 1985. Secondary Proteolysis of Cheese During Ripening: A Review. Journal of Dairy Science, 68 (4): 801–805.
- REQUENA, T., FUENTE, M.A., FERNANDEZ, de PALENCIA, P., JUAREZ, M., and PELAEZ, C., 1993. Evaluation of A Specific Starter for the Production of Semi-Hard Goats Milk Cheese. FSTA Abstracts, Vol. 25, No. 4, p. 200.
- RIJNEN, L., BONNEAU, S. and YVON, M., 1999. Genetic Characterisation of the Major Lactococcal Aromatic Aminotransferase and Its Involvement in Conversion of Amino Acids to Aroma Compounds. Applied and Environmental Microbiology. 65: 4873–4880.
- RIJNEN, L., COURTIN, P., GRIPON, J.-C. and YVON, M., 2000. Expression of A Heterologus Glutamate Dehydrogenase Gene in *Lactococcus lactis* Highly Improves the Conversion of Amino Acid to Aroma Compounds. Applied and Environmental Microbiology. 66: 1354–1359.
- RODRIGUEZ-MEDINA, M.L., TORNADIJO, M.E., CARBALLO, J., and SARMIENTO, R.M., 1995. Microbiological Study of Leon Raw Cow-Milk Cheese, A Spanish Craft Variety. Journal of Food Protection, 58 (9): 998–1006.
- RUIZ, A.G., CABEZAS, L., MARTIN-ALVAREZ, P., and CABEZUDO, D., 1998. Prediction of the Ripening of Manchego Cheese Using Multivariate Statistical Analyse: A Preliminary Study. Z Lebensm Unters Forsch A, 206: 382–386.

- RUYTER, P.G.G.A., KUIPERS, O.P. and de VOS W.M., 1996. Accelerated Cheese Ripening by Controlled Lysis of Starter Bacteria. FSTA Abstracts, Vol., 29, No. 8, p: 204–205.
- SALDAMLI, I., and KAYTANLI, M., 1998. Utilisation of Fromase, Maxiren and Rennilase as Alternative Coagulating Enzymes to Rennet in Turkish White Cheese. *Milchwissenschaft*, 53 (1): 22–25.
- SARANTINOPOULOUS, P., KALANTZOPOULOS, G., and TSAKALIDOU, E., 2002. Effect of *Enterococcus faecium* on Microbiological, Physicochemical and Sensory Characteristics of Greek Feta Cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 76 (1): 93–105.
- SAS® (1995). User's Guide: Statistics, Version 6.12 Edition. Cary, NC: SAS Institute.
- SCHALLER, E., BOSSET, J.O., and ESCHER, F., 1998. "Electronic Noses" and Their Application to Food. *Lebensmittel –Wissenschaft und –Technologie*, 31(4): 305–316.
- SHAKEEL–UR–REHMAN, PRIPP, A.H., McSWEENEY, P.L.H., and FOX, P.F., 1999. Assessing the Proteolytic and Cheese Ripening Properties of Single Strains of *Lactococcus* in Miniature Cheeses. *Lait*, 79: 361–383.
- SHALABI, S.I., and FOX, P.F., 1987. Electrophoretic Analysis of Cheese, Comparison of Methods. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11: 135–151.
- SMID, E.J., POOLMAN, B., and KONINGS, W.N., 1991. Casein Utilisation by Lactococci. *Applied and Environmental Microbiology*, 57 (9): 2447–2452.
- SORENSEN, J., and BENFELDT, C., 2001. Comparison of Ripening Characteristics of Danbo Cheeses from Two Dairies. *International Dairy Journal*, 11: 355–362.

- SOUSA, M.J., and McSWEENEY, P.L.H., 2001. Studies on the Ripening of Cooleeney, An Irish Farmhouse Camembert-type Cheese. Irish Journal of Agricultural and Food Research, 40: 83–95.
- STEELE, J.L., and ÜNLÜ, G., 1992. Impact of Lactic Acid Bacteria on Cheese Flavor Development. Food Technology, Nov: 128–135.
- STEELE, J.L., JOHNSON, M.E., BROADBENT, J.R., and WEIMER, B., 1998. Starter Culture Attributes Which Affect Cheese Flavour Development. Proceedings from the LACTIC 97 Conference “Which Strains For Which Products?”, pp: 157–170.
- STEFANOVA-KONDRATENKO, V.M., NIKOLOV, N.M., KALIKOVA, G., and DENKOV, Z., 1966. Der Einfluß der Säurewecker-Art und -Menge auf die Reifung und Qualität von saure gereiftem Käse, Milchwissenschaft, 21 (12):774–776.
- SUBRAMANIAN, P., MALIK, R.K., and MATHUR, D.K., 1993a. Protein Breakdown in Cheddar Cheese Made from Buffalo Milk. I. Total and Soluble Nitrogen Fractions. FSTA Abstracts, Vol. 25, No. 3, p: 195.
- SUBRAMANIAN, P., MALIK, R.K., and MATHUR, D.K., 1993b. Protein Breakdown in Cheddar Cheese Made from Buffalo Milk. II. Polyacrylamide Gel Electrophoretic Profile. FSTA Abstracts, Vol. 25, No. 3, p: 195.
- ŞAHAN, N., 1993. Beyaz Peynir Üretiminde Hidrojen Peroksit ve Isıl İşlem Uygulamalarının Kaliteye Etkileri Üzerinde Araştırmalar. Ç.Ü. Doktora Tezi, Adana, 138 s. (Yayınlanmamış).
- ŞİMŞEK, B., 1995. Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeyi Üzerinde Bir Araştırma. A.Ü. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 71 s. (Yayınlanmamış).
- TAN, P.S.T., POOLMAN, B., and KONINGS, W.N., 1993. Proteolytic Enzymes of *Lactococcus lactis*. Journal of Dairy Research, 60: 269–286.

- TEKİNŞEN, O.C., 1983. Beyaz Peynirin Yapım Metotları Üzerinde Karşılaştırmalı İncelemeler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 30 (3): 449–466.
- TEKİNŞEN, O.C., 1997. Süt Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Konya, 326 s.
- TIELEMAN, A.E., and WARTHESEN, J.J., 1991. Comparison of Three Extraction Procedures to Characterise Cheddar Cheese Proteolysis. Journal of Dairy Science, 74: 3686–3694.
- TRAPANIER, G., SIMARD, R.E., and LEE, B.H., 1991. Lactic Acid Bacteria Relation to Accelerated Maturation of Cheddar Cheese. Journal of Food Science, 56 (5): 1238–1240, 1254.
- TUNAIL, N., 1983. Beyaz Peynir Üretiminde Saf Kültür Kullanımı ve Yararları. Beyaz Peynir Sempozyumu, 22–23 Aralık, 1983, İzmir, s: 41–47.
- TURANTAŞ, F., ÜNLÜTÜRK, A., and GÖKTAN, D., 1989. Microbiological and Compositional Status of Turkish White Cheese. International Journal of Food Microbiology, 8 (1): 19–24.
- TZANETAKIS, N., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., and VAFPOULOU-MASTROJIANNAKI, A., 1991. Effect of *Pediococcus pentosaceus* on Microbiology and Chemistry of Teleme Cheese. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie, 24 (2): 173–176.
- TZANETAKIS, N., VAFPO ULOU-MASTROJIANNAKI, A., and LITOPOULOU-TZANETAKI, E., 1995. The Quality of White-Brined Cheese from Goat's Milk Made with Different Starters. Food Microbiology, 12 (1): 55–63.
- URAZ, T., ve ŞİMŞEK, B., 1998. Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeyi Üzerine Araştırmalar. Gıda 23 (5): 371–375.

- URBACH, G., 1997. The Chemical and Biochemical Basis of Cheese and Milk Aroma. (B.A. LAW, editor). Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Blackie Academic & Professional, London, pp: 253–298.
- UYVAL, H.R., 1996. Değişik Miktarlarda Kültür Kullanılarak retilen Beyaz Peynirlerde Proteoliz Düzeyi zerine Araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 33 (1): 107–114.
- ÜÇÜNCÜ, M., 1971. Çeşitli Starterlerle İşlenen Beyaz Peynirlerin Nitelikleri zerinde Araştırmalar. A. . Doktora Tezi, Ankara, 174 s. (Yayınlanmamış).
- ÜÇÜNCÜ, M., 1981. İnek ve Koyun Sütlerinden İmal Edilen Beyaz Peynirlerde Olgunlaşma Sürecindeki Serbest Amino Asit Birikiminin Belirlenmesi. Ege Üniversitesi Gıda Fakültesi Dergisi, 2: 1–36.
- ÜÇÜNCÜ, M., 2002. Süt Teknolojisi. (II. Bölüm). V. Baskı, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayın No: 32, İzmir, 210 s.
- VAFOPOULOU, A., ALICHANIDIS, E., and ZERFIRIDIS, G., 1989. Accelerated Ripening of Feta Cheese, With Heat-Shocked Cultures or Microbial Proteinases. Journal of Dairy Research, 56: 285–296.
- VAFOPOULOU-MASTROJIANNAKI, A., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., and TZANETAKIS, N., 1991. Effects of *Pediococcus pentosaceus* on Ripening Changes of Feta Cheese. FSTA Abstracts, Vol. 23, No. 5, p: 199.
- VAN der BERG, G., and EXTERKATE, F.A., 1993. Technological Parameters Involved in Cheese Ripening. International Dairy Journal, 3: 485–507.
- VERDINI, R.A., and RUBIOLO, A.C., 2002. Effect of Frozen Storage Time on the Proteolysis of Soft Cheeses Studied by Principal Component Analysis of Proteolytic Profiles. Journal of Food Science, 67 (3): 963–967.
- VERDINI, R.A., ZORILLA, S.E., and RUBIOLO, A.C., 2002. Free Amino Acid Profiles During Ripening of Port Salut Argentino Cheese After Frozen Storage. Journal of Food Science, 67 (9): 3264–3270.

- VICENTE, M.S., IBANES, F.C., BARCINA, Y.R., and BARRON, L.J.R., 2001. Casein Breakdown During Ripening of Idiazabal Cheese: Influence of Starter and Rennet Type. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 210–215.
- VISSER, F.M.W., 1977a. Contribution of Enzymes from Rennet, Starter Bacteria and Milk to Proteolysis and Flavour Development in Gouda Cheese. 1. Description of Cheese and Aseptic Cheesemaking Techniques. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31: 120–133.
- VISSER, F.M.W., 1977b. Contribution of Enzymes from Rennet, Starter Bacteria and Milk to Proteolysis and Flavour Development in Gouda Cheese. 3. Protein Breakdown: Analysis of the Soluble Nitrogen and Amino Acid Nitrogen Fractions. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31: 210–239.
- VISSER, F.M.W., 1977c. Contribution of Enzymes from Rennet, Starter Bacteria and Milk to Proteolysis and Flavour Development in Gouda Cheese. 2. Development of Bitterness and Cheese Flavour. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31: 188–209.
- VISSER, F.M.W., and DE GROOT-MOSTERT, A.E.A., 1977. Contribution of Enzymes from Rennet, Starter Bacteria and Milk to Proteolysis and Flavour Development in Gouda Cheese. 4. Protein Breakdown: A Gel Electrophoretical Study. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31: 247–264.
- VISSER, S., 1993. Proteolytic Enzymes and Their Relation to Cheese Ripening and Flavor. An Overview. *Journal of Dairy Science*, 76: 329–350.
- WALLACE, J. M., and FOX, P. F., 1998. Rapid Spectrophotometric and Fluorimetric Methods for Monitoring Nitrogenous (Proteinaceous) Compounds in Cheese and Cheese Fractions: A Review. *Food Chemistry*, 62 (2): 217–224.

- WALSTRA, P., VAN DIJK, H.J.M., and GUERTST.J., 1987. Syneresis of Curd. (P.F. FOX, editor) Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1. Elsevier Applied Science, London, pp: 135–178.
- WILKINSON, M.G., GUINEE, T.P., O'CALLAGHAN, D.M., and FOX, P.F., 1994. Autolysis and Proteolysis in Different Strains of Starter Bacteria During Cheese Ripening. *Journal of Dairy Research*, 61: 249–262.
- XANTHOPOULOS, V., POLYCHRONIADOU, A., LITOPOULOU-TZANETAKI, E., and TZANETAKIS, N., 2000. Characteristics of Anevato Cheese Made from Raw or Heat-treated Goat Milk Inoculated with A Lactic Starter. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 33 (7): 483–488.
- YAYGIN, H., ve KILIÇ, S., 1993. Süt Endüstrisinde Saf Kültür. Altındağ Matbaacılık, İzmir, 108 s.
- YETİŞMEYEN, A., YILDIRIM, M., and YILDIRIM, Z., 1993. Einfluß der Verschiedenen Säurewecker auf Eigenschaften des Kascharkäse. *DMZ Lebensmittelindustrie und Milchwirtschaft*, 114 (6): 140–143.
- YETİŞMEYEN, A., 1995. Süt Teknolojisi. A. Ü. Z. F. Yayınları, No: 1420/410, Ankara, 229 s.
- YETİŞMEYEN, A., ÇİMER, A., ÖZER, M., ODABAŞI, S., ve DEVECİ, O., 1998. Ultrafiltrasyon Tekniği ile Salamura Beyaz Peynir Üretiminde Kalite Üzerinde Değişik Maya Enzimlerinin Etkisi. *Gıda*, 23 (1): 3–9.
- YILDIRIM, M., 1991. Hidrojen Peroksit İle Korunmuş Sütlerden Yapılan Beyaz Peynirlerin Bazı Kimyasal ve Fiziksel Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar. A.Ü. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 131 s, (Yayınlanmamış).
- YILDIZ, F., KOÇAK, C., KARACABEY, A., ve GÜRSEL, A., 1989. Türkiye’de Kaliteli Salamura Beyaz Peynir Üretim Teknolojisinin Belirlenmesi. *Doğa Türk Veteriner ve Hayvancılık Dergisi*, 13 (3): 384–392.

- YILMAZ, E., 1998. Beyaz Peynir Üretiminde Mezofilik Homofermentatif Streptokok Kombinasyonlarının Starter Kültür Olarak Kullanılması. U.Ü. Doktora Tezi, Bursa, 53 s. (Yayınlanmamış).
- YÖNEY, Z., 1973. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları. A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 491, Ankara, 182 s.
- YÜZBAŞI, N., 1996. Pastörize Edilmiş, Starter Kültür Katılmış Sütlerden Glukono Delta Lakton (GDL) Kullanılarak Elde Edilen Beyaz Peynirlerin Bazı Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar, A.Ü. Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 79 s. (Yayınlanmamış).
- YVON, M., THIOUIN, S., RIJNEN, R., FROMENTIER, D. and GRIPON, J.-C., 1997. An Aminotransferase from *Lactococcus lactis* Initiates Conversion of Amino Acids to Cheese Flavour Compounds. Applied and Environmental Microbiology, 63: 414–419.
- YVON, M., CHAMBELLON, E., BOLOTIN, A., and ROUDOT-ALGARON, F., 2000. Characterisation and Role of the Branched-Chain Aminotransferase (BcaT) Isolated from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* NCDO763. Applied and Environmental Microbiology, 66: 571–577.
- ZARMPOUTIS, I.V., McSWEENEY, P.L.H., BEECHINOR, T., and FOX, P.F., 1996. Proteolysis in the Irish Farmhouse Blue Cheese, Chetwynd. Irish Journal of Agricultural and Food Reserach, 35 (1): 25–36.

ÖZGEÇMİŞ

1973 yılında Malatya'nın Arapgir ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimini Malatya'da tamamladıktan sonra, 1991 yılında İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünü kazandım. 1995 yılında bu bölümden mezun olduktan sonra, aynı yıl Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde yüksek lisans eğitimine başladım. 1996 yılı Ocak ayında İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümüne araştırma görevlisi olarak atandım. 1999 yılında yüksek lisans eğitimini tamamladım ve aynı yıl doktora eğitimine başladım. 1999 Ağustos ayında, 2547 sayılı Yükseköğretim yasasının 35. maddesine göre doktora yapmak üzere Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümüne gönderildim. 2002 yılının Ağustos ayında, doktora çalışmamın bir bölümünü yürütmek üzere İrlanda'da (Food Chemistry, Food and Nutritional Sciences, University College, Cork, Ireland) görevlendirildim ve aynı yılın Kasım'ında Türkiye'ye döndüm. Halen, Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünde çalışmaktayım.

Y.Ö. YÜKSEKÖĞRETİM
DOKÜMAN TAYIN MEK