FARKLI PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN GAMA AMİNOBÜTİRİK ASİT (GABA) ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ VE SEÇİLEN SUŞLARIN GABA İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Neslihan AYAĞ

Danışman: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

Doktora Tezi

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

2023

(Her hakkı saklıdır.)

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

FARKLI PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN GAMA AMİNOBÜTİRİK ASİT (GABA) ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ VE SEÇİLEN SUŞLARIN GABA İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

(Determination of the Gamma Aminobutyric Acid (GABA) Production Capability of Lactic Acid Bacteria Isolated from Different Cheeses and the Use of Selected Strains in the GABA-Enriched Beyaz Cheese Production)

DOKTORA TEZİ

Neslihan AYAĞ

Danışman: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

Erzurum

Temmuz, 2023

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

FARKLI PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN GAMA AMİNO BÜTİRİK ASİT (GABA) ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ VE SEÇİLEN SUŞLARIN GABA İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR danışmanlığında, Neslihan AYAĞ tarafından hazırlanan bu çalışma, 14/07/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Bilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği (5/5)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU *İnönü Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Danışman:	Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Bülent ÇETİN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Prof. Dr. Mesut TAŞKIN *Atatürk Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır
Jüri Üyesi:	Dr. Öğr. Üyesi Engin GÜNDOĞDU *Gümüşhane Üniversitesi*	Aslı Islak İmzalıdır

Enstitü Yönetim
Kurulunun …./…/…. tarih
ve …… sayılı kararı.

Bu tezin Atatürk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddelerinde belirtilen şartları yerine getirdiğini onaylarım.

Prof.Dr. Saltuk Buğrahan CEYHUN
Enstitü Müdürü

Aslı Islak İmzalıdır

Bu çalışma TÜBİTAK-1002 Hızlı Destek Projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 219O526

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora Tezi olarak *Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR* danışmanlığında sunulan "Farklı Peynirlerden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Gama Aminobütirik Asit (GABA) Üretme Yeteneklerinin Belirlenmesi ve Seçilen Suşların GABA ile Zenginleştirilmiş Beyaz Peynir Üretiminde Kullanımı" başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	*22*	**30**
Kuramsal Temeller	*14*	**30**
Materyal ve Yöntem	*27*	**35**
Araştırma Bulguları ve Tartışma	*18*	**20**
Sonuçlar ve Öneriler	*5*	**20**
Tezin Geneli	*19*	**25**

Not: *Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının* ***%5'den*** *büyük olmaması gerekir.*

Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi halde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Tez Yazarı (Öğrenci)	**Tez Danışmanı**
Neslihan AYAĞ	Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR
31.7.2023	**31.7.2023**
İmza: Aslı Islak İmzalıdır	İmza: Aslı Islak İmzalıdır

***** Tez ile ilgili YÖKTEZ'de yayınlamasına ilişkin bir engelleme var ise aşağıdaki alanı doldurunuz.

☐ Tezle ilgili patent başvurusu yapılması / patent alma sürecinin devam etmesi sebebiyle Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 2 (iki) yıl süreyle engellenmiştir.

☐ Enstitü Yönetim Kurulunun …./…/…. tarih ve ……. sayılı kararı ile teze erişim 6 (altı) ay süreyle engellenmiştir.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimin ilk gününden itibaren bilgi ve tecrübesiyle beni aydınlatan, çalışmalarım esnasında karşılaştığım zorlukların üstesinden gelmem için tavsiyeleriyle bana yol gösteren, bilimsel bakış açısı ve akademik vizyonu ile bana öncülük eden, doktora tezimin her safhasında büyük katkısı, desteği ve emeği olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR'e,

Görüş ve önerileriyle tez çalışmamın şekillenmesini sağlayan Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Bülent ÇETİN'e ve Sayın Prof. Dr. Mesut TAŞKIN'a, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım Gıda Mühendisliği Bölümü'nün değerli Hocaları'na,

HPLC ve GC-MS analizlerinin gerçekleştirilmesi için İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarında çalışma imkânı sağlayan, bilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na ve yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Didem ŞAHİNGİL'e, Öğr. Gör. Ali TEKİN'e ve Arş. Gör. Hilal KANMAZ'a,

Peynirlerin üretildiği Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi çalışanlarına, Arş. Gör. Haktan AKTAŞ'a, Arş. Gör. Hacer MERAL AKTAŞ'a ve Arş. Gör. Dr. Zeynep GÜRBÜZ'e, lisansüstü öğrenimim boyunca birlikte güzel anılar biriktirdiğim değerli dostum Dr. Sümeyra IŞIK'a,

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) (Proje No: 219O526),

Doktora öğrenimim süresince sağlamış olduğu maddi destekten dolayı 100/2000 YÖK Doktora Bursu Programı'na,

Benim için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, her daim desteklerini hissettiğim sevgili annem Sebahat AYAĞ'a, kardeşlerim Cihan AYAĞ'a ve Furkan AYAĞ'a,

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Neslihan AYAĞ

ÖZET

DOKTORA TEZİ

FARKLI PEYNİRLERDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN GAMA AMİNOBÜTİRİK ASİT (GABA) ÜRETME YETENEKLERİNİN BELİRLENMESİ VE SEÇİLEN SUŞLARIN GABA İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Neslihan AYAĞ

Danışman: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

Amaç: Bu çalışmada geleneksel yöntemle üretilmiş Beyaz, Kaşar ve Erzincan Tulum peynirlerinden Gama aminobütirik asit (GABA) üreten laktik asit bakterilerinin (LAB) izolasyonu, yüksek oranda GABA üretme yeteneğine sahip suşların belirlenmesi, bu suşların çeşitli kombinasyonlarının Beyaz peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılması ile GABA başta olmak üzere biyoaktif bileşenler bakımından zengin fonksiyonel bir peynirin üretimi amaçlanmıştır.

Yöntem: Araştırma kapsamında piyasada satışa sunulan geleneksel yöntemle üretilmiş Beyaz, Kaşar ve Erzincan Tulum peynirlerinden 45 adet toplanmış ve LAB'ların izolasyonu için araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Sonraki aşamada teknolojik özellikleri ile GABA üretme yetenekleri dikkate alınarak seçilen izolatlar ile 4 farklı peynir üretimi (K, A, B ve C) gerçekleştirilmiş, salamurada (S) ve vakum (V) ambalajda olmak üzere iki farklı şekilde 120 gün süreyle olgunlaştırılmıştır. I. grup peynir sadece primer kültür (*Lactococcus lactis* 672 ve *L. lactis* subps. *cremoris* 586) suşlarının ilavesiyle üretilmiş ve kontrol (**KS-KV**) grubu olarak kabul edilmiştir. II. grup peynirin (**AS-AV**) üretiminde *Lactiplantibacillus plantarum* 255, III. grup peynirde (**BS-BV**) *L. plantarum* 255 + *Lacticaseibacillus paracasei* 670, son grup peynirde (**CS-CV**) ise *L. paracasei* 670 + *L. plantarum* 255 + *L. plantarum* 134 izolatları primer startere ilaveten yardımcı kültür olarak kullanılmıştır. Olgunlaşma süresince peynirlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik özellikleri, proteoliz düzeyleri, GABA ve serbest amino asit içerikleri ile uçucu bileşen profilleri analiz edilmiştir.

Bulgular: Toplam 507 adet LAB izole edilmiş, sekans analizi sonucunda *L. paracasei* 135 suş ile en fazla tespit edilen tür olmuş, bunu sırasıyla *L. plantarum* (42), *Enterococcus italicus* (39), *L. lactis* (34), *E. faecium* (34) suşları takip etmiştir. Yapılan PCR analizi sonucunda 507 izolattan sadece 40'ının (%7,89) GAD genine sahip olduğu, sekans analizi sonucunda tüm suşların *L. plantarum* türüne ait olduğu belirlenmiştir. *L. plantarum* 134 suşunun MRS brothda (626,359 mg/L), *L. plantarum* 255 suşunun ise yağsız sütte (5,403 mg/L) yüksek oranda GABA ürettiği tespit edilmiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda B ve C kültür kombinasyonlarıyla üretilen ve vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin TAMB ve MRS agarda gelişen LAB sayılarının daha yüksek olduğu görülmüştür. Kimyasal kompozisyon açısından vakum ambalajda ve salamura olgunlaştırılan peynirler arasında farklılıkların bulunduğu, kuru madde, yağ ve protein içeriklerinin vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde, tuz içeriklerinin ise salamura olgunlaştırılan peynirlerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çözünür azot fraksiyonlarının olgunlaşma süresince arttığı, söz konusu parametrelerin özellikle C kültürü ile üretilen peynirlerde daha yüksek olduğu, bu peyniri sırasıyla K, B ve A örneklerinin takip ettiği tespit edilmiştir. Üre-PAGE sonuçlarından, tüm Beyaz peynir örneklerinde β-kazein fraksiyonunun hidrolize karşı direnç gösterdiği, buna karşın α_{S_1}-kazein fraksiyonunun daha yüksek düzeyde hidrolize olduğu görülmüştür. Peptit profillerine ait kromatogramlarda vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere ait peptit piklerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yardımcı kültür kullanımının sekonder proteolizi artırdığı, serbest amino asitlerin özellikle C kültür kombinasyonu ile üretilen vakum ambalajlanmış peynirlerde daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134, *L. plantarum* 255 suşlarının bir arada kullanıldığı C kültürü ile üretilen ve hem salamurada hem de vakumda olgunlaştırılan peynirlerin önemli düzeyde GABA içerdiği tespit edilmiştir. GC-MS analizi sonucunda, toplam 75 adet uçucu bileşik tayin edilmiş olup, yardımcı kültür kullanımının bazı uçucu bileşik gruplarının çeşitliliğini ve miktarlarını artırdığı tespit edilmiştir.

Sonuç: *L. plantarum* 255 ve *L. plantarum* 134 suşları kullanılarak üretilen GABA ile zenginleştirilmiş Beyaz peynirin hem hipertansiyonun kontrol altına alınmasına hem de bazı hastalıkların önlenmesine katkı sağlayabileceği, bu suşlar başta olmak üzere GABA üreten izolatların çoğunun biyo-fonksiyonel kültürler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Beyaz peynir, Laktik asit bakterileri, GABA, Fonksiyonel gıda, Proteoliz, Uçucu bileşikler

Temmuz 2023, 167 Sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

DETERMINATION OF THE GAMMA AMINOBUTYRIC ACID (GABA) PRODUCTION CAPABILITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM DIFFERENT CHEESES AND THE USE OF SELECTED STRAINS IN THE GABA-ENRICHED BEYAZ CHEESE PRODUCTION

Neslihan AYAĞ

Supervisor: Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR

Purpose: The aim of this study was to isolate of gamma aminobutyric acid (GABA) producing lactic acid bacteria (LABs) from traditionally produced Beyaz, Kasar and Erzincan Tulum cheeses, determination of strains capable of producing high GABA, and to produce functional cheese rich in bioactive components especially GABA, with using various combinations of these strains as adjunct culture.

Method: For this purpose, a total of 45 from Beyaz, Kasar and Erzincan Tulum cheeses produced with the traditional method, which are offered for sale in the market, were collected and used as material for the isolation of LAB. In the next stage, the four different cheeses (K, A, B, C) were produced with the selected isolates considering their technological features and their ability of GABA producing and cheeses were ripened for 120 days at two different ways, in brine and in vacuum packaging. Group I cheese was produced only with the addition of primary culture (*Lactococcus lactis* 672 and *L. lactis* subps. *cremoris* 586) strains and was accepted as the control **(KS-KV)** group. *Lactiplantibacillus plantarum* 255 was used together to the primary starter culture in the production of group II **(AS-AV)** cheese. *L. plantarum* 255 + *Lacticaseibacillus paracasei* 670 strains were used in the group III **(BS-BV)** and finally in the last group **(CS-CV)** cheese were produced strains as using *L. paracasei* 670 + *L. plantarum* 255 + *L. plantarum* 134 strains. During the ripening period, physicochemical, microbiological properties, proteolysis levels, GABA and free amino acid contents and volatile component profiles of cheeses were analyzed.

Findings: A total of 507 LABs were isolated and as a result of the sequence analysis *L. paracasei* was the most detected species with 135 strains, followed by *L. plantarum* (42), *Enterococcus italicus* (39), *L. lactis* (34) and *E. faecium* (34) strains. It was determined that only 40 (7,89%) of 507 isolates had the GAD gene, and as a result of the sequence analysis, all strains belonged to the *L. plantarum* species. It was determined that *L. plantarum* 134 and *L. plantarum* 255 strains produced at high concentration GABA in MRS broth (626,359 mg/L) and skimmed milk (5,403 mg/L) in respectively. As a result of microbiological analysis, it was seen that cheeses, produced with B and C culture combinations and ripened in vacuum packaging, had higher LAB counts growth on MRS agar and TAMB. There were differences between cheeses ripened in vacuum packaged and in brine in terms of chemical composition. The dry matter, fat, and protein contents were higher in vacuum packaged cheeses, and salt content was higher in cheeses ripened in brine. The soluble nitrogen fractions increased during ripening, the these parameters were higher especially in cheeses produced with C culture, followed by K, B and A samples, respectively. From the Urea-PAGE results, it was observed that the β-casein fraction showed resistance to hydrolysis in all Beyaz cheese samples, whereas the hydrolysis of αs_1-casein fraction occurred at a higher level. In the chromatograms of peptide profiles, it was determined that the peptide peaks of cheeses vacuum packaged were higher. The use of adjunct cultures increased secondary proteolysis, and free amino acids were especially higher in vacuum packaged cheeses produced by C culture combinations. At the same time, it was determined that the cheeses produced by C culture, a combination of *L. paracasei* 670 and *L. plantarum* 134, *L. plantarum* 255 strains, and ripened both in brine and in vacuum contained significant levels of GABA. In results of GC-MS analysis, a total of 75 volatile compounds were determined, and the use of adjunct culture increased both diversity and quantities of some volatile components groups.

Results: It was concluded that Beyaz cheese enriched with GABA produced using *L. plantarum* 255 and *L. plantarum* 134 strains can contribute to both the control of hypertension and the prevention of some diseases, and that most of the GABA-producing isolates, especially these strains, can be used as bio-functional cultures.

Keywords: Beyaz cheese, Lactic acid bacteria, GABA, Functional food, Proteolysis, Volatile compounds

July 2023, 167 Pages

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY TUTANAĞI i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU ii
TEŞEKKÜR iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR DİZİNİ ix
ŞEKİLLER DİZİNİ xii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ xv
GİRİŞ 1
KURAMSAL TEMELLER 7
Peynir ve İnsan Beslenmesindeki Önemi 7
Peynirde Olgunlaşma 8
Peynir Mikrobiyotası 11
Gama Aminobütirik Asit (GABA) 13
GABA'nın sağlık üzerindeki rolü 14
GABA'nın üretimi 15
Gıdaların GABA ile zenginleştirilmesi 16
MATERYAL VE YÖNTEM 24
Materyal 24
LAB'ların izolasyonu ve tanısında kullanılan peynirler 24
Süt 25
Starter kültürler 25
Pıhtılaştırıcı enzim 26
$CaCl_2$ ve tuz 26
Ambalaj materyali 26
Yöntem 26
Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinin LAB izolasyonu için hazırlanması 26
Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden LAB'ların izolasyonu 26
Elde edilen LAB izolatlarının fenotipik karakterlerinin belirlenmesi 27
Elde edilen LAB izolatlarında DNA izolasyonu 27
LAB izolatlarında glutamik asit dekarboksilaz (GAD) geninin belirlenmesi 28
GAD aktivitesine sahip olan LAB'ların GABA üretim miktarlarının belirlenmesi 28

Bakteri izolatlarının moleküler yöntemlerle gruplandırılması ve tanısı 29
Genetik tanısı yapılmış izolatların bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi 29
Starter kültür olarak kullanılan izolatların seçimi ve Beyaz peynir üretimi için çoğaltılması 31
Peynir üretiminde kullanılan sütte yapılan fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler 32
Beyaz peynir örneklerinin üretimi 32
Peynir örneklerinde yapılan fizikokimyasal analizler 36
Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler 37
Peynir örneklerinde azot fraksiyonlarının belirlenmesi 37
Peynir örneklerinde proteolizin üre–poliakrilamid jel elektroforezi (üre–PAGE) ile belirlenmesi 38
Peynir örneklerinde peptit profilinin belirlenmesi 39
Peynir örneklerinde GABA ve serbest amino asit içeriğinin belirlenmesi 39
Peynir örneklerinde SPME/GCMS ile uçucu bileşiklerin belirlenmesi 40
Deneme planı ve istatistiki analizler 41
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA 42
Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinden İzole Edilen LAB'ların Genetik Tanı Sonuçları 42
Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinden İzole Edilen LAB'larda GAD Geninin Varlığı 49
GABA (+) İzolatlarının MRS Broth/Yağsız Süt Besiyerlerinde GABA Üretme Yetenekleri 56
Tanısı Yapılan İzolatların Bazı Teknolojik Özellikleri 59
Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Sütün Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 65
Beyaz Peynir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları 65
Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı 66
MRS agarda gelişen LAB sayıları 67
M17 agarda gelişen LAB sayıları 69
Enterococcus cinsi bakteri sayıları 70
Maya ve küf sayıları 72
Beyaz Peynir Örneklerine Ait Fizikokimyasal Analiz Sonuçları 73
Kuru madde miktarı 73
Yağ ve kuru maddede yağ oranları 76
Protein miktarı 78
Tuz ve kuru maddede tuz 79

Titrasyon asitliği 81
pH 84
Çözünür Azot Fraksiyonlarına Ait Analiz Sonuçları 86
pH 4,6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi 87
TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi 89
PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi 91
Kazein Fraksiyonlarına Ait Elektroforez (Üre-PAGE) Analiz Sonuçları 92
Beyaz Peynir Örneklerine Ait Peptid Profili Analiz Sonuçları 96
Beyaz Peynir Örneklerinin Serbest Amino Asit Analiz Sonuçları 100
Beyaz Peynir Örneklerinin GABA İçerikleri 107
Beyaz Peynir Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler 112
Alkoller 112
Esterler 116
Ketonlar 119
Aldehitler 122
Karboksilik asitler 124
Terpenler 126
Diğer bileşikler 126
SONUÇLAR VE ÖNERİLER 130
KAYNAKLAR 136
ÖZGEÇMİŞ 148

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1. İzolasyonda Kullanılan Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerine Ait Bazı Tanımlayıcı Bilgiler 24
Tablo 2. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan İzolatlar 31
Tablo 3. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Primer Starter/Yardımcı Kültür Kombinasyonları ve Örnek Kodları 33
Tablo 4. Peptit Profiline Ait RP-HPLC Analizinde Hareketli Faza Ait Çözeltilerin Kromatografi Süresi İçerisinde Kolondan Geçiş Oranları 39
Tablo 5. Amino Asit Analizinde Hareketli Faz Çözeltilerinin (A ve B) Kromatografi Süresi İçerisinde Kolondan Geçiş Oranları 40
Tablo 6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları 45
Tablo 7. GAD (+) İzolatların Sekans Analiz Sonuçları 51
Tablo 8. GAD Genine Sahip Olduğu Belirlenen *L. plantarum* İzolatlarının MRS Broth ve Yağsız Süt Besiyerlerinde Tespit Edilen GABA Konsantrasyonları (mg/L) 56
Tablo 9. Sekans Analizi Yapılan İzolatların Bazı Teknolojik Özellikleri 60
Tablo 10. Sekans Analizi Yapılan Suşların Asit Üretim Aktiviteleri 63
Tablo 11. Beyaz Peynir Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Çiğ ve Pastörize Sütlerin Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri 65
Tablo 12. Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Verilerine Ait Varyans Analiz Sonuçları 66
Tablo 13. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen TAMB Sayıları (log kob/g) 66
Tablo 14. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen MRS Agarda Gelişen LAB Sayıları (log kob/g) 68
Tablo 15. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen M17 Agarda Gelişen LAB Sayıları (log kob/g) 70
Tablo 16. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Enterokok Sayıları (log kob/g) 71
Tablo 17. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Maya Sayıları (log kob/g) 72
Tablo 18. Beyaz Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Verilerine Ait Varyans Analiz Sonuçları 73
Tablo 19. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Kuru Madde Miktarları (%) 74

Tablo 20. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Yağ ve Kuru Maddede Yağ Oranları (%) 76
Tablo 21. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Protein Miktarları (%) 78
Tablo 22. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Tuz ve Kuru Maddede Tuz Oranları (%) 80
Tablo 23. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Titrasyon Asitliği Değerleri (%) 82
Tablo 24. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen pH Değerleri 85
Tablo 25. Beyaz Peyniri Örneklerinin pH 4,6'da, TCA'da ve PTA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları 87
Tablo 26. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince pH 4,6'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%) 88
Tablo 27. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince TCA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%) 90
Tablo 28. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince PTA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%) 91
Tablo 29. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Serbest Amino Asit İçerikleri (mg/100g) 103
Tablo 30. Beyaz Peyniri Örneklerinin Serbest Amino Asit Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları 106
Tablo 31. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen GABA Konsantrasyonları (mg/100g) 107
Tablo 32. Beyaz Peyniri Örneklerinin GABA Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları 108
Tablo 33. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Alkol Bileşikleri (µg/100g) 114
Tablo 34. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Ester Bileşikleri (µg/100g) 117
Tablo 35. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Keton Bileşikleri (µg/100g) 120
Tablo 36. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Aldehit Bileşikleri (µg/100g) 123
Tablo 37. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Karboksilik Asit Bileşikleri (µg/100g) 125

Tablo 38. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Terpen Bileşikleri (µg/100g) 127
Tablo 39. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Diğer Bileşikler (µg/100g) 128

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Peynirde LAB'lar tarafından üretilen metabolitler 3
Şekil 2. Peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz ve glikoliz reaksiyonlarının genel hatları ile gösterimi 9
Şekil 3. Peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen lipoliz reaksiyonunun genel hatları ile gösterimi. 10
Şekil 4. Glutamik asitten GABA'nın oluşumu 13
Şekil 5. Merkezi sinir sisteminde gerçekleşen nörotransmisyon şeması 14
Şekil 6. Deneme Beyaz peynir üretimi için kullanılan izolatların çoğaltılması 32
Şekil 7. Deneme Beyaz peynir üretimine ait akış şeması 34
Şekil 8. Deneme Beyaz peynirlerin üretimine ait bazı görseller 36
Şekil 9. Bazı LAB izolatlarının agaroz jel elektroforezi sonucunda oluşturduğu bantlar 42
Şekil 10. Temsili suşların 16S-rRNA PCR işlemine ait bant görüntüleri 43
Şekil 11. LAB izolatlarının peynir çeşitlerine göre dağılımı 45
Şekil 12. Bazı izolatlara ait PCR (a), HRM (b) ve HRM türevi (c) görüntüleri 53
Şekil 13. *L. plantarum* 255 suşuna ait PCR (a), HRM (b) ve HRM türevi (c) görüntüleri 54
Şekil 14. GAD aktivitesine sahip tüm izolatlara ait PCR ürünlerinin agaroz jeli görüntüsü 55
Şekil 15. GAD (+) *L. plantarum* izolatlarının peynirlere göre dağılımı 55
Şekil 16. *L. plantarum*134 izolatının MRS brothda GABA üretimine ait HPLC kromatogramı 57
Şekil 17. Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 68
Şekil 18. Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 69
Şekil 19. Beyaz peynir örneklerinin kuru madde miktarları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 75
Şekil 20. Beyaz peynir örneklerinin kuru madde miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 75
Şekil 21. Beyaz peynir örneklerinin yağ miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 77
Şekil 22. Beyaz peynir örneklerinin protein miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 79
Şekil 23. Beyaz peynir örneklerinin tuz (a) ve kurumadde de tuz (b) değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 81

Şekil 24. Beyaz peynir örneklerinin tuz (a) ve kurumadde de tuz (b) değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 81
Şekil 25. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 83
Şekil 26. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 83
Şekil 27. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 84
Şekil 28. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 85
Şekil 29. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 86
Şekil 30. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 86
Şekil 31. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 89
Şekil 32. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 89
Şekil 33. Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 90
Şekil 34. Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 92
Şekil 35. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının üre-PAGE elektroforetogramları 94
Şekil 36. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik bantlarının aşamalı kümeleme analizi 95
Şekil 37. Beyaz peynir örneklerinde 1. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 96
Şekil 38. Beyaz peynir örneklerinde 60. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 97

Şekil 39. Beyaz peynir örneklerinde 120. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 97
Şekil 40. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan K örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 98
Şekil 41. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan A örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 99
Şekil 42. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan B örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 99
Şekil 43. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan C örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı 100
Şekil 44. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 109
Şekil 45. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi 109
Şekil 46. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi 110
Şekil 47. GABA ve diğer bazı parametreler arasındaki korelasyon analizi 111

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

Kısaltmalar

Ala : Alanin
Arg : Arginin
Asn : Asparagin
Asp : Aspartik asit
CN : Kazein
Cys : Sistein
DNA : Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA : Etilendiamintetra Asetik Asit
FTS : Fizyolojik Tuzlu Su
GABA : Gama Aminobütirik Asit
GAD : Glutamat Dekarboksilaz
GC-MS : Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
Gln : Glutamin
Glu : Glutamik asit
Gly : Glisin
GRAS : Genel Olarak Güvenli Kabul Edilen
His : Histidin
HPLC : Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
HRM : Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi
IDF : Uluslararası Sütçülük Federasyonu
Ile : İzolösin
KAA : Kanamycin Esculin Azide Agar
Kob : Koloni Oluşturan Birim
LAB : Laktik Asit Bakterisi
Leu : Lösin
Lys : Lisin
Met : Metiyonin
MRS : De Man Rogosa and Sharpe
MSG : Monosodyum Glutamat
NSLAB : Starter Olmayan Laktik Asit Bakterisi
PAGE : Poliakrilamid Jel Elektroforezi
PBS : Fosfat Tamponlu Salin

PCA **:** Plate Count Agar

PCR **:** Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PDA **:** Potato Dextrose Agar

Phe **:** Fenilalanin

PLP **:** Piridoksal-5′-fosfat

Pro **:** Prolin

PITC **:** Fenil İzotiyosiyonat

PTA **:** Fosfotungstik Asit

RAPD **:** Rastgele Arttırılmış Polimofik DNA

RP-HPLC **:** Ters Fazlı Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi

rRNA **:** Ribozomal Ribonükleik Asit

RT **:** Retention Time

RT-PCR **:** Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu

SD **:** Serbestlik Derecesi

SDS **:** Sodyum Dodesil Sülfat

Ser **:** Serin

TA **:** Toplam Azot

TAMB **:** Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri

TCA **:** Trikloroasetik Asit

TEPGE **:** Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü

TFA **:** Trifloroasetik Asit

Thr **:** Treonin

Trp **:** Triptofan

Tyr **:** Tirosin

UV **:** Ultraviyole

Val **:** Valin

Simgeler

α : Alfa

β : Beta

ɣ : Gama

d : Dakika

s : Saniye

° : Derece

bp : Baz Çifti

kg : Kilogram

g : Gram

mg : Miligram

µg : Mikrogram

cm : Santimetre

v : Hacim

L : Litre

Log : Logaritma

mL : Mililitre

µL : Mikrolitre

ppm : mg/kg (milyonda bir kısım)

mm : Milimetre

µm : Mikrometre

nm : Nanometre

M : Molarite

N : Normalite

mM : Milimolar

V : Volt

GİRİŞ

Beslenme; büyümek, sağlığı korumak, geliştirmek ve yaşam kalitesini yükseltmek için vücudun gereksinimi olan besin öğelerini yeterli miktarlarda, çeşitlilikte almak için günlük olarak yapılan temel zorunlu ihtiyaçlarından biridir. Bununla birlikte; günümüzde beslenme denilince sadece açlığın giderilmesi amacıyla yeme ve içme faaliyetlerin yürütülmesi algısından uzaklaşılmış, yaşam kalitesinin artışıyla birlikte insanların beslenme ihtiyaçları ve talepleri nicelik ve nitelik olarak değişmiş, vücuda alınan gıdaların sağlık üzerindeki etkilerinin bilinmesi de önem kazanmaya başlamıştır. Böylece son yıllarda birçok insan aldıkları besinlerin nitelikleri ve sağlıkları üzerindeki etkileri hakkında çok daha hassas ve bilinçli olmaya başlamış, bu durum fonksiyonel gıdalara olan talebin artışına yol açmıştır. Fonksiyonel gıda; besin ve enerji sağlamanın yanı sıra, belirli bir fizyolojik tepkiyi artırarak ve/veya hastalık riskini azaltarak vücuttaki bir veya daha fazla hedeflenen işlevi faydalı bir şekilde modüle eden diyet öğeleri olarak tanımlanmaktadır.

Fonksiyonel gıdalar ihtiva ettikleri biyoaktif bileşenler sayesinde çok sayıda kronik hastalıktan korunmada ve hastalıkların tedavisinde etkili olmakta, antioksidanlar, şeker alkolleri, glikozitler, diyet lifleri, probiyotikler, çoklu doymamış yağ asitleri, prebiyotikler, oligosakkaritler, peptitler, proteinler, kolinler, isopreneoitler ve fitokimyasallar fonksiyonel gıdalardaki biyoaktif bileşenleri oluşturmaktadır (Yaşlı 2010). Yapılan araştırmalarda süt ürünleri tüketiciler tarafından fonksiyonel bileşenleri barındıran en güvenilir ürünlerden biri olarak kabul edilmekte, gıdalara fonksiyonellik kazandıran biyoaktif bileşenlerin doğal yöntemlerle sentezleniyor olması, sağlıklı yaşam sürmek isteyen bireyler için tercih nedeni olmaktadır. Son zamanlarda üzerinde en çok çalışan biyoaktif bileşenlerden biride γ-aminobütirik (GABA; $C_4H_9NO_2$) asittir.

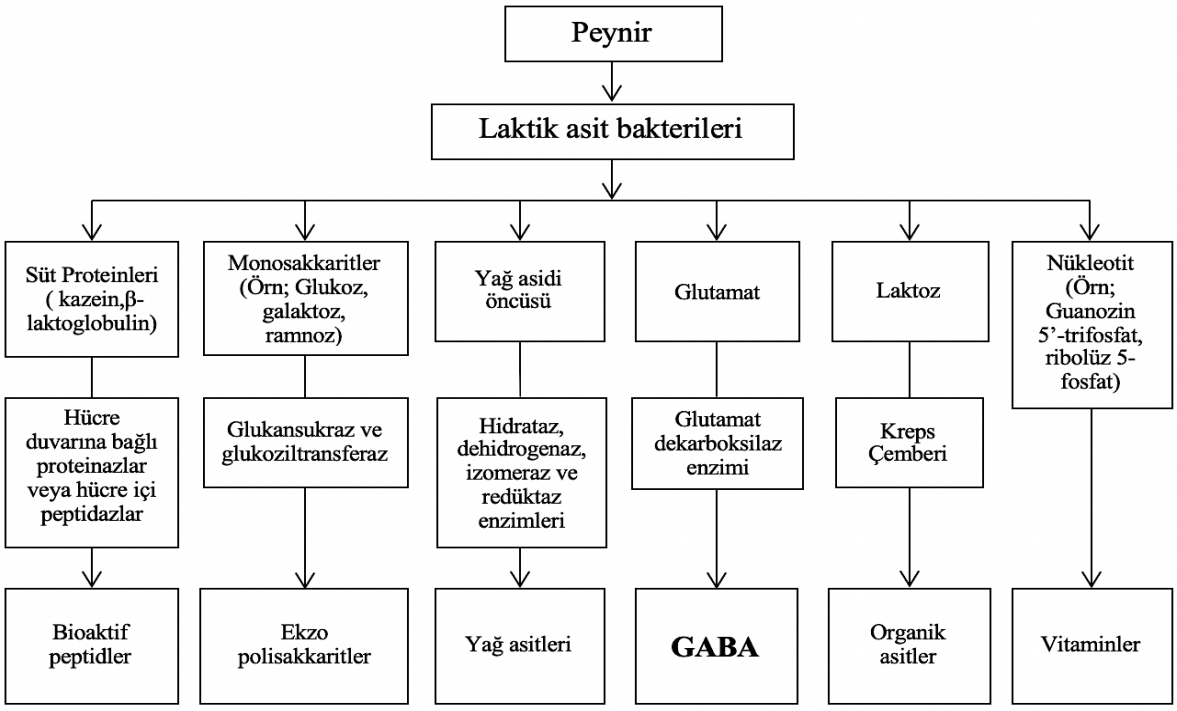
GABA, mikroorganizmalarda, omurgalılarda ve bitkilerde yaygın olarak bulunan, protein tabiatında olmayan dört karbonlu bir amino asittir. GABA; aktivitesi piridoksal 5'fosfat ve B_6 vitaminine bağlı olan glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi tarafından L-glutamatın geri dönüşümsüz dekarboksilasyonu sonucu bir protonun tüketilmesi ile oluşmaktadır (Diana *et al.* 2014b). Merkezi sinir sisteminde yaygın olarak bulunan GABA; uyku/uykusuzluk döngüsünün düzenlenmesinde, motor aktivite ile ilgili faaliyetlerinin yürütülmesinde, hafıza oluşumunda ve idrak etme yeteneğinin devam ettirilmesinde görevli önemli bir nörotransmitter maddedir (Yunes *et al.* 2016). Beyinde düşük seviyedeki GABA'nın anksiyete, depresyon, uykusuzluk, şizofreni ve epilepsi dahil olmak üzere çeşitli psikiyatrik ve nörolojik

bozukluklarla ilişkili olduğu, bu yüzden GABA'nın ruh sağlığı üzerinde ve söz konusu nörolojik bozuklukların önlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Hudec *et al.* 2014; Irla *et al.* 2017). Bunlara ilaveten, anti-hipertansif, anti-karsinojenik, anti-diyabetik, anti-mutajenik, diüretik ve sakinleştirici etki gibi önemli birçok fizyolojik etkilere de sahiptir (Hayakawa *et al*. 2004; Anggraini *et al*. 2019; Dhakal *et al.* 2012; Galli *et al*. 2022).

Son yıllarda yukarıda bahsedilen fizyolojik fonksiyonlarından dolayı GABA hem gıda hem de ilaç endüstrinin yoğun ilgisini çekmekte, gıda katkı maddesi veya ilaç olarak kullanılması açısından uygun bir aday olarak kabul edilmekte ve üzerinde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Biyoaktif bir bileşik olarak GABA'nın Çin, Amerika Birleşik Devletleri, Japonya ve Avrupa ülkelerindeki fonksiyonel gıdalarda kullanımına izin verilmiş, Japonya'da PharmaFood şirketi tarafından Kimchi'den izole edilen laktik asit bakterileri (LAB) kullanılarak üretilen preparatın PharmaGABA ismiyle satışa sunulması sağlanmıştır (Kook and Cho 2013; Wang *et al.* 2019).

Söz konusu fizyolojik etkilerine ilaveten GABA'nın naylon 4 (polyamid 4) olarak bilinen ve biyolojik olarak parçalanabilen plastik polimerinin monomeri olan 2-pyrolidinin öncü maddesi olduğu, söz konusu polimerin toprakta *Pseudomonas* sp., *Fusarium solani, F. oxysporum* ve *Clonostachys rosea* gibi mikroorganizmalar tarafından parçalanabildiği bildirilmiştir (Irla *et al.* 2017). GABA'nın biyolojik olarak parçalanabilir plastik madde üretiminde kullanılabilir olması çevre kirliliğinin önlenmesi açısından umut vaadetmekte ve GABA'nın biyoteknolojik olarak düşük maliyetle fazla miktarda üretimine yönelik araştırmaların yapılmasına öncülük etmektedir. GABA'nın doğal olarak bakteri, maya, küf gibi mikroorganizmalar tarafından üretilebildiği, özelliklede GRAS olarak kabul edilmeleri nedeniyle LAB'ların önemli potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Diana *et al.* 2014a).

Dünya üzerinde çeşitli fermente süt ürünleri mikroorganizmalar tarafından üretilmekte ve genellikle LAB'lar bu ürünlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Peynir, çeşitli enzimatik ve metabolik aktiviteye sahip starter/starter olmayan çok sayıda LAB'ı içermekte, bünyesinde yer alan birçok bileşiğin oluşması, nihai ürünün doku ve lezzetinin gelişmesi bu LAB'ların metabolizması sonucu gerçekleşmektedir (Santiago Lopez *et al*. 2018). LAB'ların metabolik faaliyetleri sonucu peynirde oluşan ürünler Şekil 1'de sunulmuştur.



Şekil 1. Peynirde LAB'lar tarafından üretilen metabolitler (Santiago Lopez *et al*. 2018)

Glikoliz, proteoliz ve lipoliz olgunlaşma sırasında meydana gelen temel biyokimyasal olaylar olarak kabul edilmekte, özellikle proteolizin peynirin tipik aroması ve tekstürünün oluşmasında önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Proteolizin peynire karakteristik özelliklerini kazandırmasının yanı sıra, son 20 yılda oldukça popüler hale gelen ve vücut fonksiyonlarını olumlu yönde etki edebilecek biyoaktif peptitlerin oluşumuna neden olabileceği belirtilmiştir (Galli *et al*. 2019). LAB'ların serbest amino asit üretimine yol açabilecek proteinazlar ve peptidazlar içerdikleri ve peynir olgunlaşması sırasında gerçekleşen proteolizde çok önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir (Fox *et al*. 2017; Renes *et al*. 2019). Proteolizin son ürünü olarak oluşan amino asitlerin çeşitli katabolik reaksiyonlarla uçucu lezzet bileşiklerine dönüştüğü ve böylece peynir aromasının oluşmasında oldukça önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (Settani and Moschetti 2010). Aynı zamanda son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda olgunlaşma sırasında oluşan serbest amino asitlerin LAB'lar tarafından ikincil katabolik reaksiyonlar için substrat olarak kullanılabileceği, böylece GABA ve ornitin gibi bileşiklerin oluşumuna yol açabileceği bildirilmiştir (Renes *et al*. 2019). Benzer şekilde, Redruello *et al.* (2022) peynirin olgunlaşması sırasında proteoliz sonucu oluşan amino asitlerin peynir matriksinde biriken çeşitli biyoaktif bileşenlerin üretiminde mikrobiyal aminoasil dekarboksilazlar için substrat görevi gördüğünü bildirmişlerdir.

Nitekim yapılan çalışmalarda Gouda, Cheddar, Blue ve Edam peynirlerinde (Nomura *et al*. 1998), Pecorino Marchigiano ve Pecorino Filiano gibi İtalyan peynirlerinde (Siragusa *et al*. 2007), İspanya peynirlerinde (Diana *et al*. 2014b), Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinde (Ayağ

et al. 2022) GABA'nın varlığı tespit edilmiştir. Peynirde GABA varlığının spesifik mikrobiyal aktivitenin işareti olarak düşünülebilineceği ve peynire fonksiyonel bir değer kazandırabileceği ifade edilmiştir (Diana *et al*. 2014b). İlaveten kazeinin yüksek oranda glutamik asit içerdiği (toplam amino asit içeriğinin yaklaşık %17,5'u kadar), dolayısıyla sütün fermantasyonu ya da proteolizi sırasında söz konusu amino asidin fazla miktarda serbest kalabileceği ve GABA üretimi için substrat olarak kullanılabilineceği belirtilmiştir (Siragusa *et al*. 2007). Bu nedenle özellikle peynir GABA üretimi açısından üzerinde en çok yoğunlaşılan süt ürünleri arasında yer almaktadır. Bununla birlikte çoğu zaman peynirdeki GABA konsantrasyonunun insan sağlığı üzerinde olumlu etki gösterebilmesi için gerekli olan seviyenin altında olduğu bildirilmiştir. Günlük alınması gereken GABA konsantrasyonu ile ilgili net bir bilgi bulunmamakla birlikte, nörolojik rahatsızlıkların tedavi edilmesinde ağız yoluyla günlük olarak alınması gereken GABA miktarının 26,4 mg olduğu belirtilmiştir (Renes *et al*. 2017). Bu nedenle son üründeki GABA içeriğini zenginleştirmek için doğal stratejilerin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Son yıllarda fermente gıdalarda GABA üreten çeşitli mikroorganizmaların taranması ve yüksek oranda GABA üreten yeni suşların belirlenmesine yönelik çok sayıda araştırmaya rastlamak mümkündür (Lacroix *et al*. 2013; Franciosi *et al*. 2015; Liu *et al*. 2022; Galli *et al*. 2022). Söz konusu araştırmalarda mümkün olduğunca fazla fermente gıdadan GABA üreten çeşitli mikroorganizmaların taranması ve yüksek oranda GABA üreten yeni suşların keşfedilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Ayrıca GABA üretme yeteneğinin suşa bağımlı olduğu düşünüldüğünde farklı gıdalardan yeni suşların belirlenmesi önem arz etmektedir. Ülkemizde fermente gıdaların çeşitliliği dikkate alındığında; bu anlamda büyük bir potansiyele sahip olduğu, ancak söz konusu gıdalardan GAD aktivitesine, dolayısıyla yüksek GABA üretme yeteneğine sahip suşların belirlenmesine yönelik araştırma sayısının oldukça sınırlı olduğu görülmektedir (Demirbaş *et al*. 2017; Özer 2019; Alkay 2021; Memiş 2021). Özellikle peynir, doğal mikrobiyotasında bulunan çeşitlilik nedeniyle GABA üreten LAB'ların izolasyonu açısından önemli bir kaynak olarak kabul edilmekte ve ülkemizin peynir türleride göz önüne alındığında GABA üreten suşların belirlenmesine yönelik yapılacak çalışmalar açısından önemli bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir.

GABA'nın sağlık üzerindeki olumlu etkileri dikkate alındığında sadece yüksek GABA üretme yeteneğine sahip suşların belirlenmesinin yeterli olmadığı görülmekte, bu suşlar kullanılarak gıdaların GABA ile zenginleştirilmesi de önemli hale gelmektedir. Daha önce bahsedildiği üzere özellikle peynirde olgunlaşma sırasında oluşabilecek glutamik asitin GAD aktivitesine sahip seçilmiş LAB'lar tarafından GABA'ya dönüştürülebilmesi ve tüketim sıklığı

dikkate alındığında peynirin bu tür fonksiyonel gıdaların üretimi için uygun aday olabileceğini göstermektedir. Peynirdeki GABA konsantrasyonu üretim teknolojisine, starter olarak kullanılan bakterilere, peynirin doğal mikrobiyotasına ve olgunlaşma koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir. Bu durumda çoğu zaman GABA oluşumu şansa bağlı kalmakta ve beklenen fizyolojik etkileri sağlayabilmesi için günlük olarak alınması tavsiye edilen miktarın (26,4 mg) altında kalmaktadır. Son yıllarda dünya genelinde yapılan çalışmaların çoğu gıdaların GABA ile zenginleştirilmesine odaklanmış olmakla birlikte, konu ile ilgili ürün odaklı az sayıda araştırmanın bulunduğu görülmektedir. Yapılan literatür taraması sonucunda mevcut peynirlerimizden GABA üreten LAB suşlarının izolasyonu ve tanısı ile söz konusu suşlarla GABA ile zenginleştirilmiş Beyaz peynir üretimine yönelik herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Günümüzde, peynirin hijyenik kalitesi sütün pastörizasyonuyla garanti altına alınmakta, ısıl işlem, sütün mikrobiyotasının bir kısmının ortadan kaldırılmasına neden olmakta, bu durumda arzu edilen duyusal özelliklere sahip peynir üretiminin sağlanabilmesi için starter ve yardımcı kültürlerin kullanılması zorunlu hale gelmektedir. Çiğ süt peynirlerinin daha yoğun ve daha güçlü aromaya sahip olmasında starter olmayan laktik asit bakterilerinin (NSLAB) önemli rol oynadığı, yardımcı kültür olarak ilave edilen NSLAB'ların peynir kalitesi üzerindeki etkisinin her peynir çeşidinde aynı olmadığı ve kullanılan bakteri ile peynir üretiminde uygulanan teknolojiye göre değişiklik gösterebildiği bilinmektedir. NSLAB'lar olmaksızın peynir üretiminin mümkün olmadığı, starter olarak kullanılan LAB'lar ile karşılaştırıldığında; NSLAB'ların farklı substrat spesifikliği ile yüksek proteolitik ve peptiolitik aktiviteye sahip olduğu bilinmekte, bu durum özellikle biyoaktif peptitler ve GABA gibi biyoaktif bileşenlerin oluşumunu teşvik etmesi açısından önem arz etmektedir. Bununla birlikte peynir matriksinde fazla sayı ve çeşitte NSLAB'ların bulunmasının son ürünün duyusal özellikleri üzerinde olumsuz etki yaratabileceği bildirilmiştir. Ancak seçilmiş LAB'ların yardımcı kültür olarak kullanımı ile hem mikrobiyal çeşitliliği/değişkenliği minimuma indirilinebilineceği, böylece son üründe arzu edilen organoleptik özelliklerin sağlanabilineceği, hem de biyoaktif bileşenlerin sentezinin arttırılabilineceği düşünülmektedir.

Bu bilgiler ışığında mevcut çalışma kapsamında; geleneksel yöntemle üretilmiş Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden GABA üreten LAB'ların izolasyonu ve yüksek oranda GABA üretme yeteneğine sahip suşların belirlenmesi, izolatlar arasında yüksek konsantrasyonda GABA üretimine sahip suşların çeşitli kombinasyonlarının ülkemizde en fazla üretimi ve tüketimi yapılan Beyaz peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılması ile GABA başta olmak üzere biyoaktif bileşenler bakımından zengin fonksiyonel bir peynir üretimi

amaçlanmıştır. Aynı zamanda teknolojik özellikleri ve GABA üretme yetenekleri dikkate alınarak seçilen yardımcı kültürlerin peynirin kimyasal kompozisyonu, mikrobiyolojik özellikleri, proteoliz düzeyi ve aroma oluşumu üzerindeki etkileri, kısaca peynir kalitesi üzerine etkileri de araştırılmıştır.

KURAMSAL TEMELLER

Peynir ve İnsan Beslenmesindeki Önemi

İnsan beslenmesinde oldukça önemli bir gıda maddesi olan süt, içermiş olduğu kıymetli besin elementleri ile canlı için hayati öneme sahip ideal bir üründür. Biyolojik olarak aktif bileşenlere sahip olması mikroorganizmaların da gelişip büyümesi için sütü uygun ortam haline getirmekte, bu durum sütün çabuk bozulmasına sebep olmaktadır. Dayanıklılığının az olması, naklinin zor olması gibi çeşitli sebeplerden dolayı süt farklı mamüllere işlenmekte, böylece hem muhafaza süresi artırılmakta hem de tekstür ve lezzet bakımından değişik ürünler elde edilebilmektedir. Bu ürünlerin başında süt ürünleri içerisinde en fazla üretimi ve tüketimi yapılan peynir gelmektedir. Başlangıçta sütün dayanıklılığını artırmak için üretilirken, günümüzde peynir duyusal ve besleyici özellikleri nedeniyle satın alınmakta ve tüketilmektedir. Tarımsal Ekonomi ve Politika Gelıştirme Enstitüsü (TEPGE) tarafından düzenlenen 'Süt ve Ürünleri, Durum ve Tahmin' raporuna göre Dünya toplam peynir üretiminin 2021 yılında bir önceki yıla göre %1,5 oranında artarak yaklaşık 24,7 milyon tona ulaştığı, Türkiye'de ise toplam peynir üretiminin 2021 itibariyle 763 bin ton olduğu bildirilmiştir (TEPGE 2022).

Peynir, yağlı süt, kısmen ya da tamamen yağı alınmış süt, krema, yayıkaltı veya bunların birkaçının veya tümünün karıştırılması, daha sonra peynir mayası olarak bilinen uygun proteolitik enzimler veya zararsız organik asitler katılarak pıhtılaştırılması, pıhtının kırılarak peynir altı suyunun süzülmesi, şekillendirilmesi, tuzlanması, bazen tat ve koku verici zararsız maddelerin katılması ile elde edilen, taze veya olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen besleyici bir süt ürünü olarak tanımlanmaktadır (Üçüncü 2008).

Peynir; proteinler, lipitler, mineral ve vitaminler gibi esansiyel besin elementleri bakımından önemli bir kaynak olup, özellikle yüksek kaliteli protein, yağ, Ca, A ve B_2 vitaminleri yönünden oldukça zengindir. Peynirin içerdiği esansiyel amino asitler besin değerini zenginleştirmekte, olgunlaşması sırasında proteinlerin parçalanmasıyla da proteinlerin sindirilme oranı artmaktadır. Aynı zamanda olgunlaşma sırasında mikrobiyal faaliyet sonucu oluşan antihipertansif, antitrombotik, antikarsinojenik, antimikrobiyal özelliğe sahip çeşitli peptit ve amino asitler peynirin sağlık ve beslenme üzerindeki önemini daha da artırmaktadır. Aynı zamanda peynirde yer alan konjüge linoleik asidin kalp sağlığı üzerinde etkili olduğu, antikanserojenik etki gösterdiği ve probiyotik özellik gösteren suşlar için iyi bir taşıyıcı olduğu bildirilmiştir (Kwak *et al.* 2011; Santiago Lopez *et al.* 2018). Ek olarak peynirin düşük laktoz

içeriğine sahip olduğu ve laktoz intoleransı olan bireyler içinde son derece uygun olduğu ifade edilmiştir (Zheng *et al.* 2021).

İnsan beslenmesinde uzun bir geçmişi olan peynirin beslenme ve sağlık üzerindeki faydaları, uzun süre bozulmadan dayanabilmesi, enerji ve besin öğeleri bakımından zengin bir kaynak olması sebebiyle dünyada binlerce çeşidi üretilmektedir. Ülkemizde ise çeşitli hammadde, farklı işlem ve olgunlaştırma tekniği yöre şartlarına, kültürel alışkanlıklara ve tüketim isteklerine bağlı olarak değişmekte olup, yüzlerce yerel peynir çeşidi ortaya çıkmaktadır. Türkiye'de üretilen peynirlerin büyük çoğunluğunu Beyaz, Kaşar ve Tulum peyniri oluşturmaktadır.

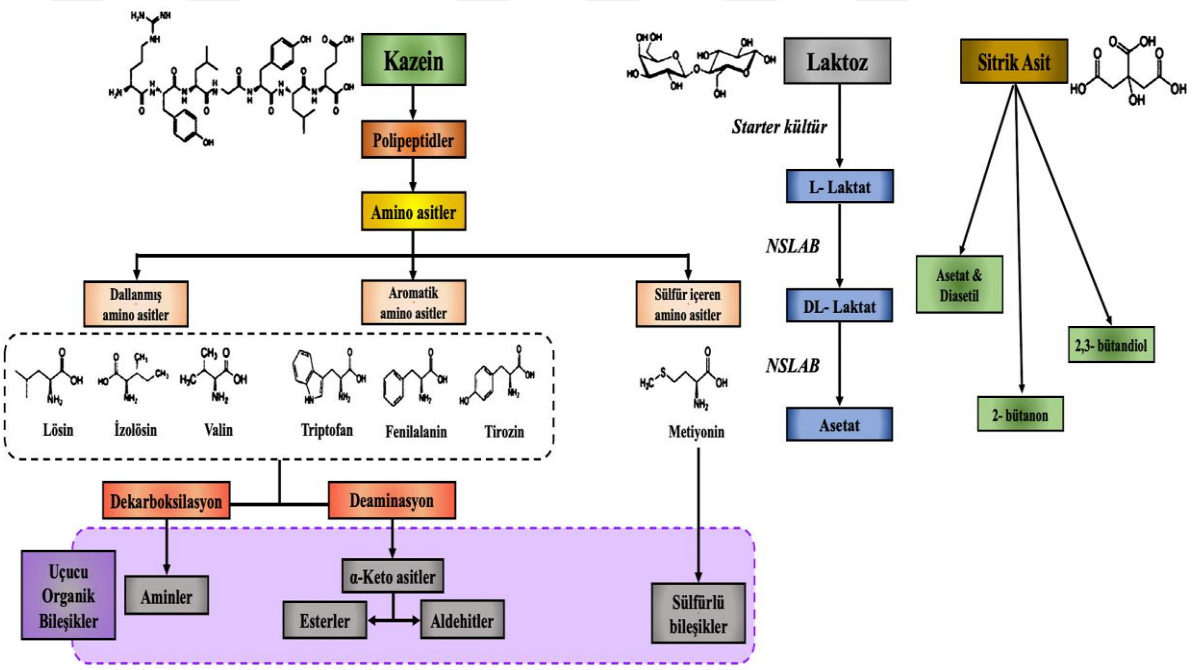
Peynirde Olgunlaşma

Peynirin farklı koşullar (nem, sıcaklık vb.) ve sürelerde geçirdiği değişikliklerin bir sonucu olarak kendine özgü tat, koku, kıvam, kabuk, renk, gözenek gibi yapısal ve dokusal özellikleri kazanabilmesi için gerçekleşen mikrobiyolojik, fiziksel ve enzimatik olayların tümü olgunlaşma olarak tanımlanmaktadır (Massouras *et al.* 2006; Boran 2021). Tüketiciler açısından kabul edilebilirliği yüksek lezzetli ve kaliteli bir ürünün elde edilmesi ve peynire özgü karakteristik özelliklerin tam olarak oluşması esasen olgunlaşma sürecinde gerçekleşmektedir. Peynir, çeşidine bağlı olarak değişmekle beraber olgunlaşma sırasında meydana gelen bir dizi biyokimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonlar sonucunda oluşmuş karmaşık bir sürecin ürünü olarak tanımlanmakta ve bu reaksiyonlar, elde edilen nihai ürünün lezzetini, tekstürünü, görünümünü ve mikro yapısını etkilemektedir (Temizkan *et al.* 2014; Fox *et al.* 2017).

Peynirin olgunlaşma biyokimyasını; proteoliz, lipoliz ve glikoliz reaksiyonları oluşturmakta, bu üç reaksiyon peynirin olgunlaşma süresi boyunca meydana gelen birincil ana reaksiyonlar olarak kabul edilmektedir. Birincil reaksiyonları takip eden ikincil reaksiyonlar ise yağ asitleri ve amino asitlerin metabolizmasında meydana gelen değişimleri içermektedir (Mei *et al.* 2015; Sulejmani and Hayaloglu 2016; Fox *et al.* 2017; Gezginc *et al.* 2022). Birincil reaksiyonların esasen peynirin yapısal değişimi ve aroma oluşumu üzerinde etkili olduğu, ikincil reaksiyonların ise daha çok peynirin duyusal özelliklerini etkilediği bildirilmiştir (Singh *et al.* 2003). Olgunlaşma derecesinin kimyasal bileşim üzerindeki etkilerinden dolayı peynirin karakteristik aroma ve lezzetinin gelişmesinde çok önemli bir rol oynadığı, bu nedenle peynir kalitesinin olgunlaşma derecesi ve bununla ilişkili lezzet bileşenleri belirlenerek değerlendirilebilineceği ifade edilmiştir (Khattab *et al.* 2019).

Glikoliz; peynir üretiminden sonra olgunlaşmanın en hızlı gerçekleşen olayıdır. Bu olay genellikle birkaç gün veya bir haftada büyük ölçüde tamamlanmaktadır. Tüm peynir

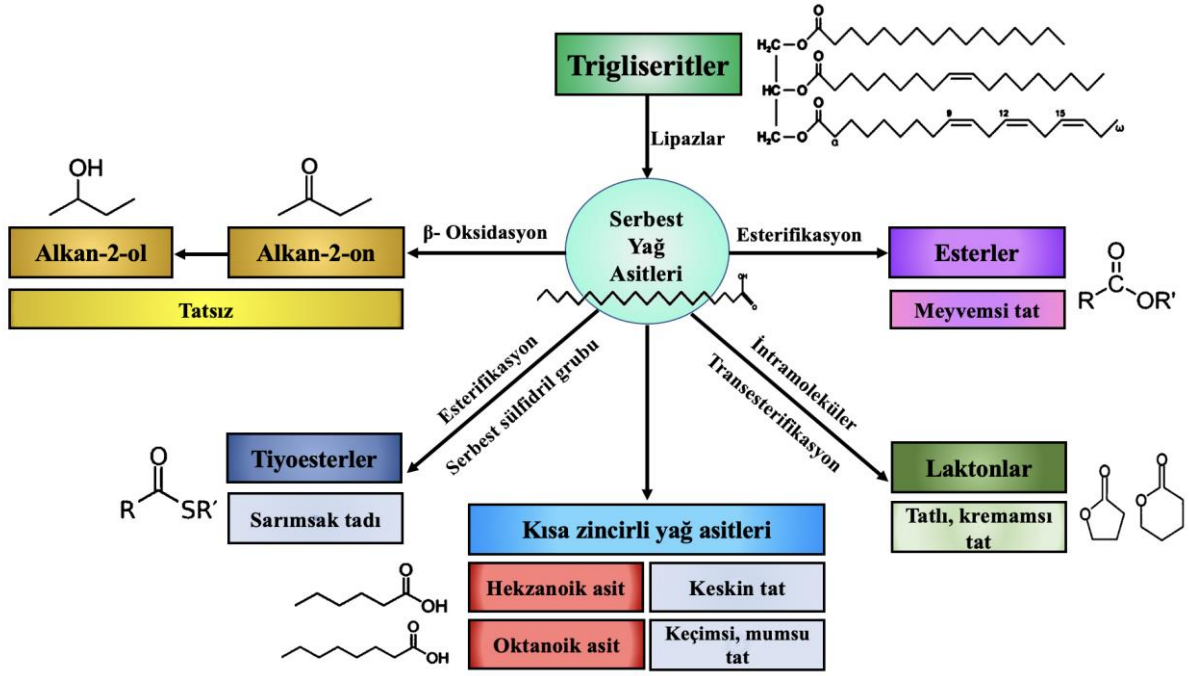
çeşitlerinde gerçekleşen bu biyokimyasal olay, laktozun laktik aside dönüştürülmesini kapsamaktadır (Fox *et al.* 2017). Peynir yapımı esnasında laktozun büyük bir kısmı peynir altı suyu ile uzaklaşırken, çok düşük bir miktarı telemede kalmaktadır. Telemede kalan bu kalıntı laktoz ise çeşitli mikroorganizmalar, starter olarak kullanılan bakteriler ve starter olmayan diğer bakteriler vasıtasıyla laktik aside dönüştürülmektedir. Laktik asit ise starter olmayan laktik asit bakterileri tarafından okside edilerek format, asetat ve CO_2'ye, İsviçre peynirlerinde olduğu gibi propionat, asetat, H_2O ve CO_2'ye veya *Penicillium* spp. tarafından CO_2 ve H_2O'ya metabolize edilebilir. Oluşan bu ürünler peynirin hem lezzeti hem de kalitesi üzerinde oldukça önemli etkiye sahiptir. Aynı zamanda sütte çoğunlukla çözünür formda ve düşük konsantrasyonlarda yer alan sitratında (1,8 g/L) mezofilik laktobasillerin mevcudiyetinde peynirlerin lezzetine katkıda bulunan diasetil, asetoin, asetat ve 2,3-bütandiol dahil olmak üzere belirli lezzet bileşiklerini üretmek için metabolize edilebildiği bilinmektedir.



Şekil 2. Peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz ve glikoliz reaksiyonlarının genel hatları ile gösterimi (Khattab *et al.* 2019)

Lipoliz; olgunlaşma süresi boyunca gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonların bir diğeridir. Peynirlerde lezzetin gelişmesinde ve algılanmasında önemli bir basamak olan lipoliz, süt yağının telemede bulunan lipaz enzimi ve esterazlar gibi lipolitik enzimlerin etkisiyle parçalanması ile serbest yağ asitlerinin ve alkollerin oluşması işlemidir (Poveda *et al.* 2004; Bulut Solak 2013). Lipoliz sonucunda oluşan kısa ve orta zincirli yağ asitleri; ketonlar, aldehitler, primer ve sekonder alkoller, esterler ve laktonlar gibi birçok aromatik bileşenin oluşmasına da öncülük etmektedirler (Şahingil 2012; Mei *et al.* 2015). Peynirde meydana gelen parçalanma; süt lipazı, peynir mayası, sütte ve peynir florasında bulunan mikroorganizmalar,

starter ve starter olmayan bakterilerden kaynaklanmaktadır. Bunlara ilaveten sütün pastörizasyon derecesi ve süresi, olgunlaşma sıcaklığı ve kullanılan salamuranın konsantrasyonu da lipoliz üzerinde etkili olmaktadır. Çoğu peynir çeşidinde farklı düzeylerde gerçekleşen lipoliz reaksiyonu peynirdeki aromanın oluşmasına doğrudan katkı sağlamaktadır.



Şekil 3. Peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen lipoliz reaksiyonunun genel hatları ile gösterimi (Khattab *et al.* 2019).

Proteoliz; peynirde olgunlaşma sırasında meydana gelen esasen en önemli ve en kompleks biyokimyasal reaksiyondur (Poveda *et al.* 2015; Sulejmani and Hayaloğlu 2016; Galli *et al.* 2019). Süt ürünleri içerisinde özellikle peynirler proteoliz sırasında enzimatik parçalanmalara karşı hassas hale gelmektedirler. Proteoliz tipik peynir aromasının oluşmasında önemli yer tutmasının yanı sıra, elastikiyet, sertlik ve erime kapasitesi gibi tekstürel ve duyusal özelliklerini de en çok etkileyen olaylardan biridir (Poveda *et al.* 2015; Soltani *et al.* 2016; Galli *et al.* 2019). Kazeinin metabolize olma süreci, peynirde lastiksi sert pıhtıdan kremsi pürüzsüz bir yüzeye kadar farklı dokusal değişikliklere neden olmaktadır.

Peynirdeki proteoliz, peynir mayası (pepsin, kimozin) veya benzeri pıhtılaştırıcı enzimler, sütün doğal proteazları, starter ve starter olmayan mikroflora ile sekonder mikrofloranın enzimleri vasıtasıyla gerçekleşen bir dizi reaksiyondan ibarettir. Çoğu peynir çeşidinde başlangıçta mevcut proteolitik enzimlerin etkisiyle birincil proteoliz gerçekleşmekte, kazeinin parçalanması ile büyük ve orta büyüklükteki peptitler oluşmaktadır. Daha sonra oluşan bu peptitler ortamda bulunan mikrofloranın salgılamış olduğu enzimler vasıtasıyla gerçekleşen ikincil proteoliz ile daha düşük molekül ağırlığına sahip peptitlere ve ardından da serbest amino asitlere dönüşmektedir. Aminotransferazlar, serbest amino asitleri uçucu organik bileşiklerin

oluşumu için farklı yollar vasıtasıyla (transaminasyon, deaminasyon, dekarboksilasyon ve desülfürizasyon) daha fazla bozunmaya uğratarak α-keto asitlerine dönüştürmektedirler. Transaminasyon, LAB'larda amino asit katabolizmasında aromatik bileşiklerin oluşumuna yol açan merkezi reaksiyon olarak kabul edilmekte, amino asit transaminasyonu sırasında aminotransferazlar, bir amino asidin amino grubunu bir α-ketoasite aktarmakta ve daha sonra elde edilen α-ketoasitler, aldehitler, alkoller, karboksilik asitler ve kükürt gibi çeşitli aromatik bileşiklere ek reaksiyonlarla parçalanmaktadırlar (Abarquero *et al.* 2023).

Lösin (Leu), izolösin (Ile) ve valin (Val) gibi dallı zincirli amino asitler, güçlü hoş olmayan aromalara sahip olan sırasıyla ketoizokaproat, α-keto-L-metil valerat ve α-keto izovalerat gibi aminlere dekarboksile edilebilirken, dallı zincirli amino asitler de deaminasyona uğrayarak karboksilik asitler ve amonyağa dönüşebilirler. Üretilen karboksilik asitler içerisinde aroma üzerinde etkili olan acı tada sahip bütirik asit ile yağlı bir tad oluşumuna neden olan pentanoik asitte yer alır. Aromatik amino asitler de ilgili α-keto asitlerine dönüştürülebilir ve daha da parçalanmaya uğrayabilirler. Örneğin triptofan (Trp), asetata dönüştürülebilen indol-3-piruvat'a, Tirozin (Tyr) ise hidroksibenzaldehite ve fenilalanin (Phe) acı badem aroması sergileyen benzaldehite dönüştürülür. Bu farklı yollar ve elde edilen bileşikler Şekil 2 ve Şekil 3'de sunulmuştur.

Kazein, peynirin olgunlaşmasında katabolize olabilen metiyonin (Met) gibi kükürt içeren amino asitleride içermekte, bu amino asit methional (pişmiş patates/et benzeri aroma), methanetiol (ransit tat), dimetil sülfür (sarımsak tadı) gibi kükürt içeren diğer potansiyel aroma bileşenlerinin öncüsü olarakta görev yapmaktadır. Aynı zamanda amino asitler α-keto asitlere dönüştürüldüğünde, amin grupları α-ketoglutarat'a metabolize olarak glutamik asit oluşumuna neden olmaktadırlar.

Peynirin tipik tat ve aroması, yukarıda bahsedilen çok kompleks biyokimyasal reaksiyonlar ve bu reaksiyonların sonucunda oluşan yüzlerce bileşiğin mevcudiyetiyle oluşmaktadır. Peynirdeki olgunlaşma tüketicilerin albenisini artıran kaliteli bir ürünün eldesi için dikkat çeken önemli bir süreçtir.

Peynir Mikrobiyotası

Peynir; çiğ süt, starter ve yardımcı kültürler tarafından sağlanan, peynir florası olarak bilinen çeşitli mikroorganizmaların kolonize ettiği biyo-kompleks bir ekosistem olarak kabul edilmektedir. Bu floranın peynir üretiminde "olgunlaşma" olarak bilinen önemli teknolojik süreçte süt proteinleri, karbonhidratlar ve yağlarla karmaşık etkileşimlere girdikleri ve böylece farklı peynir türlerinde algılanan duyusal niteliklerin oluşmasına büyük katkı sağladıkları ifade

edilmektedir (Khattab *et al.* 2019). Bu nedenle peynir mikrobiyotasının anlaşılması önem arz etmektedir. Peynir üretim koşullarına bağlı olarak değişiklik gösteren çok geniş bir mikrobiyotaya sahiptir. Peynirin üretim ve olgunlaştırma yöntemleri, sütün türü ve kimyasal bileşimi, su aktivitesi ve tuzlama yöntemleri gibi birçok faktör peynirin mikroflorası üzerinde etkili olmaktadır (Poveda *et al.* 2015; Hayaloğlu 2016). Birçok peynir çeşidinde mikrobiyotanın büyük çoğunluğunu starter olarak katılan veya sütün doğal mikroflorasında yer alan LAB'lar oluşturmaktadır. Bunun yanı sıra mayalar, küfler ve starter olmayan bakterilerde bu karmaşık mikrobiyal ekosistemde önemli bir yer tutmaktadır. Geleneksel yöntemle üretilen peynirlerin çiğ sütün mikrobiyotasına benzer olduğu, aynı zamanda mikrobiyal çeşitliliğin coğrafi konum, iklim koşulları ve üretim sürecinden etkilendiği bildirilmiştir (Gontijo *et al*. 2020).

Çoğu peynir üretiminde kullanılan LAB'lar sütte doğal olarak bulunmakta veya üretimin başlangıcında 'starter kültür' olarak kasıtlı bir şekilde süte eklenmektedir. LAB'lar, Gram (+), katalaz (-), spor oluşturmayan, fakültatif anaerobik bakteriler olup son ürün olarak laktik asit üreten çubuk ve kok şeklindeki mikroorganizmalardır. Üretmiş oldukları organik asitler ile arzu edilen peynir aromasının oluşmasını sağlarken, ortamda bulunan diğer mikroorganizmaların çoğalmasını kontrol altında tutmakta ve patojen olan bakterilerin gelişmesini engelleyerek antimikrobiyal etki göstermektedirler. Başlangıç sayıları da dikkate alındığında baskın grubu oluşturan starter LAB'lar özellikle peynirin olgunlaştırılması sırasında da anahtar rol oynamaktadırlar (Saidi *et al.* 2020; Esen 2021). Göstermiş oldukları proteolitik ve lipolitik aktiviteleri ile birçok aroma bileşiğinin sentezlenmesini gerçekleştirerek lezzet oluşumuna katkı sağlamakta ve günümüzde starter kültür olarak kullanılma popülaritelerini korumaya devam etmektedirler.

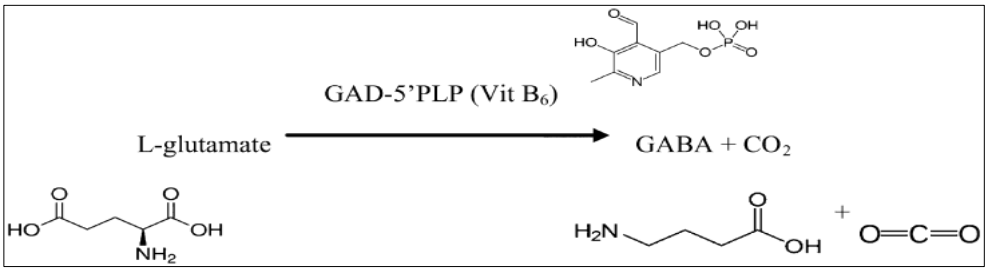
Son yıllardaki literatür verileri yerel peynir mikrobiyotasının azımsanamayacak bir kısmını da starter olmayan laktik asit bakterilerinin (NSLAB) oluşturduğunu göstermiştir. Sekonder mikrobiyota olarak bilinen NSLAB özellikle olgunlaştırılan peynirlerde önem arz etmektedir. Olgunlaşmanın başlangıcında starter LAB'ların sayısı fazla ve ortama hâkim iken, depolamanın ve olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte sayılarının azaldığı ve ortama NSLAB'ların hâkim olduğu bildirilmiştir (Crow *et al.* 2001; Yılmaz 2019). NSLAB'lar, çiğ sütten, fabrika ortamından, alet ve ekipmandan peynire bulaşmakta ve pastörizasyon sonrasında da canlılıklarını devam ettirebilmektedirler (De Pasquale *et al.* 2014). Çoğu NSLAB'lar, tuza ve aside dayanıklı, fakültatif anaerob olmaları sebebiyle peynirde oldukça iyi bir şekilde gelişim göstermektedirler. Genellikle peynir olgunlaştırılması sırasında yardımcı kültür olarak kullanılan bu mikroorganizma grubu, peptidler, serbest amino asitler ve serbest yağ asitlerinin oluşmasına katkıda bulunmakta ve peynirin duyusal özelliklerini etkilemektedir (Hayaloğlu

2016; De Pasquale *et al.* 2019; Arslan 2020). Starter olmayan laktik asit bakterilerinin olgunlaşma sürecini hızlandırması, peynir aromasını artırması ve yukarıda bahsi geçen önemli özelliklerinden dolayı peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılma potansiyeline sahip oldukları görülmektedir.

Mayalar ve küflerde tıpkı LAB'lar gibi peynir mikrobiyotasının önemli bir kısmını oluşturmaktadırlar. Dünya üzerinde üretilen birçok peynir çeşidinde kullanılan mayalar ve küfler peynirlerde lezzetin gelişmesinde etki göstermektedirler. Bu mikroorganizmalar süt ürünlerinde doğal olarak bulunabildikleri gibi bazı özel ürünlerin üretilmesi amacıyla dışardan bilinçli olarakta katılabilmektedirler. Özellikle mayalar peynirin olgunlaştırılması sırasında laktozu, proteinleri ve lipitleri kullanarak bazı aroma bileşenleri oluşturmakta ve peynirin yapısını değiştirmektedir. İlaveten uzun olgunlaştırma süreleride peynir yüzeylerinde küf gelişimini teşvik etmekte olup, küfler sahip oldukları yüksek proteoliz yeteneklerinden dolayı lezzet oluşumuna büyük katkılar sağlamaktadırlar (Esen 2021). Kontrollü ortam koşulları oluşturularak peynirlere genellikle yardımcı kültür olarak katılan mayalar ve küfler yarı sert, küflü, yumuşak ve salamura içinde olgunlaştırılan çoğu peynir çeşidinin ikincil florasında önemli roller oynamaktadırlar.

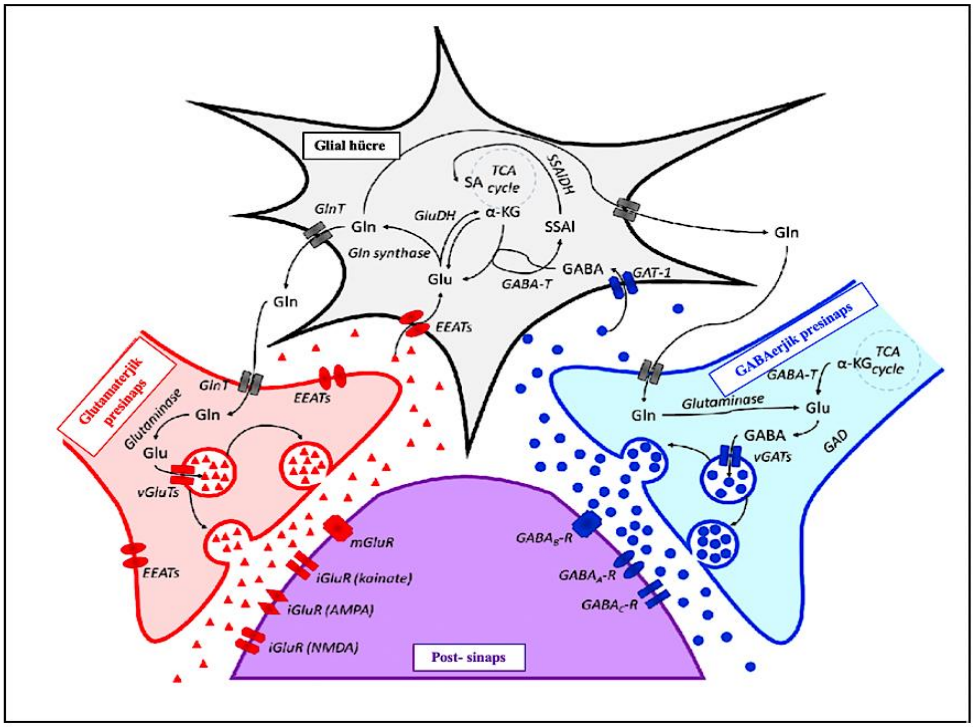
Gama Aminobütirik Asit (GABA)

Nörotransmitterler; nöronlar arasında sinyali kimyasal yolla ileten ve böylece hücrelerin elektriksel aktivitelerini kısa süreliğine arttıran veya azaltan moleküller olarak tanımlanmaktadır. Merkezi sinir sistemi genelinde yaygın olarak bulunan nörotransmitterlerden biri olan GABA; 4-aminobütirik asit ya da 4-aminobütanoik asit olarak da bilinen, protein tabiatında olmayan dört karbonlu bir amino asittir. GABA; glutamik asit dekarboksilaz (GAD) enzimi tarafından L-glutamatın geri dönüşümsüz dekarboksilasyonu sonucu bir protonun tüketilmesi ile oluşmaktadır (Şekil 4) (Diana *et al.* 2014b; Wang *et al.* 2019). Bu sistemde glutamat hücrelere GABA antiporter tarafından alınmakta, hücre içi GAD enzimi tarafından dekarboksile edilerek GABA'ya dönüştürülmekte, ardından GABA antiporter yoluyla hücrelerden ihraç edilmekte ve hücre içi pH'sının alkalize olmasını sağlamaktadır (Mancini *et al.* 2019).



Şekil 4. Glutamik asitten GABA'nın oluşumu

L-glutamat, kan-beyin bariyerini geçemediği için merkezi sinir sisteminde salgılanmakta ve burada bulunan presinaptik membrandaki vezikül keselerinde birikmektedir. Uygun uyarı geldikten sonra ise vezikül keselerden sinaptik boşluğa salınmakta ve buradan postsinaptik nörona ulaşmaktadır. Ardından postsinaptik membranlarda bulunan çoklu GABA reseptörleri (GABA-A, GABA-B ve GABA-C) ile etkileşime girerek sinir iletimini gerçekleştirmektedir (Şekil 5). Bu reseptörlerden GABA-A; sinaptik iletimleri engellemeye hızlıca müdahale etmekte, böylece nöronal uyarıları ve ruh halindeki ani değişimleri düzenleyerek endişe, stres, panik ve nöbet durumlarını kontrol altında tutmaktadır. GABA-B reseptörleri ise; ruh hali, hafıza ve ağrıda önemli olan sinirsel iletimlerin inhibisyonuna yavaşça aracılık etmektedir. Tanımlanmış olmalarına rağmen GABA-C reseptörlerinin fizyolojik rolleri henüz tam olarak netlik kazanmamıştır. Sistemde bağlanmamış olarak bulunan GABA ise, GABA taşıyıcılar vasıtasıyla glial hücreler tarafından ortamdan uzaklaştırılmaktadır (Diana *et al.* 2014a; Mazzoli and Pessione 2016).



Şekil 5. Merkezi sinir sisteminde gerçekleşen nörotransmisyon şeması (●: GABA, ▲: Glutamat) (Mazzoli and Pessione 2016)

GABA'nın sağlık üzerindeki rolü

Beynin çok fazla uyarılması sinirlilik, huzursuzluk, uykusuzluk, nöbetler ve hareket bozukluklarına yol açmakta ve çeşitli faktörlerle inhibe edilerek dengelenmesi gerekmektedir. Beyindeki en önemli nörotransmitter inhibitörlerden olan GABA, bu inhibisyonu sağlamakta ve aşırı stres durumlarında "fren" etkisi yapmaktadır. Buna ilaveten beyinde düşük seviyedeki GABA'nın anksiyete, depresyon, uykusuzluk, parkinson, alzheimer, şizofreni ve epilepsi dahil

olmak üzere çeşitli psikiyatrik ve nörolojik bozukluklarla ilişkili olduğu, bu yüzden GABA'nın ruh sağlığı üzerinde ve söz konusu nörolojik bozuklukların önlenmesinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Hudec *et al.* 2014; Irla *et al.* 2017).

GABA'nın önemli fizyolojik etkilerinden biri kan basıncını düzenleyici etkisidir. GABA'nın antihipertansif etkisi presinaptik GABA reseptörleri üzerindeki bir eylem yoluyla noradrenalin salınımının engellenmesi ve buna bağlı olarak perfüzyon basıncındaki artışın durdurulmasından kaynaklanmaktadır (Hayakawa *et al.* 2004; Anggraini *et al.* 2019). GABA'nın bahsedilen etkilerine ilave olarak diüretik ve sakinleştirici etki gösterdiği, insülin hormonunun salgılanmasını artırdığından diyabeti önlediği, endokrin sistem üzerindeki etkileriyle plazmadaki büyüme hormonunun konsantrasyonunu artırdığı, beyindeki protein sentezini düzenlediği ve akciğer adenokarsinomunu inhibe ettiği de gözlemlenmiştir. Aynı zamanda bu metabolitin enterik nöronlar, entero-endokrin hücreler ve bağışıklık hücreleri dahil olmak üzere farklı yollar aracılığıyla bağırsak-beyin sinyalleşmesine katkıda bulunduğuda bildirilmiştir (Mazzoli and Pessione 2016).

GABA'nın üretimi

Son yıllarda yukarıda bahsedilen fizyolojik fonksiyonlarından dolayı GABA hem gıda hem de ilaç endüstrisinin yoğun ilgisini çekmekte, gıda katkı maddesi veya ilaç olarak kullanılması açısından uygun bir aday olarak kabul edilmekte ve üzerinde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. GABA'nın doğal biyolojik dokularda miktarının az olması nedeniyle canlı dokulardan direkt ekstrakte edilmesinin zor olduğu, yararlı fonksiyonları ve artan ticari talep nedeniyle kimyasal veya biyolojik olarak sentezine yönelik birçok uygulamanın denendiği bildirilmiştir (Li and Cao 2010). Kimyasal sentez ile üretilen sentetik GABA'nın kullanılan kimyasal maddelerin aşındırıcı ve toksik olması ve bu kimyasallara ait kalıntıların son üründe bulunma ihtimali nedeniyle uygun olmadığı ifade edilmiştir (Hudec *et al.* 2014; Zhu *et al.* 2018). Kimyasal olarak sentezlenen GABA'nın gıda katkı maddesi olarak kullanılmasının yasak olduğu, mikrobiyal fermantasyon ile üretilen GABA'nın ise nispeten daha güvenli olduğu bildirilmiştir (Liu *et al.* 2022). GABA ile zenginleştirme amacıyla GABA'nın direkt olarak gıdalara ilavesinin de doğal ve güvenli bir yöntem olmadığı, sentetik GABA'nın baş dönmesinden bağımlılığa kadar çok sayıda yan etkisinin olabileceği belirtilmiştir (Hudec *et al.* 2014). Biyolojik yolla sentezinin basit bir reaksiyon prosedürüne, yüksek katalitik verimliliğe ve çevresel uyumluluğa sahip olması nedeniyle diğer kimyasal sentez yöntemlerinden daha fazla tercih edildiği bildirilmiştir (Huang *et al.* 2007; Dhakal *et al.* 2012). Bu olumlu yönleri nedeniyle özellikle mikrobiyal fermantasyon yöntemi ile GABA üretiminin sağlanması önem kazanmaya başlamıştır. Bu bağlamda GABA'nın doğal olarak bakteri, maya, küf gibi

mikroorganizmalar tarafından üretilebildiği, özelliklede GRAS olarak kabul edilmeleri nedeniyle LAB'ların önemli potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Diana *et al.* 2014a). Bakterilerin L-Glutamatın GABA'ya dekarboksilasyonunu, başta düşük pH'ya maruz kalma, ozmotik stres ve fermantasyon sırasında besin eksikliği olmak üzere farklı stres türlerine yanıt olarak savunma mekanizmasının bir parçası olarak gerçekleştirdiği (Irla *et al.* 2017; Santos Espinosa *et al.* 2020), çeşitli kaynaklardan yapılan izolasyon çalışmalarında bazı LAB'ların (*Lactobacillus buchneri, L. brevis, L. paracasei* ve *L. plantarum*) GAD genlerine sahip olduğu, dolayısıyla GAD enzim aktivitesi ve GABA üretme yeteneği gösterdiği belirlenmiştir (Gardner Fortier *et al.* 2013). Benzer şekilde *L. brevis* DPC 6108, *L. brevis* PM17, *L. plantarum* C48, *L. paracasei* PF6 ve *Lactococcus lactis* PU1 suşlarının monosodyum glutamat (MSG) katkılı besiyeri ortamlarında GABA sentezleyebildiği, GABA sentezleme kapasitesinin ise suşa bağımlı olduğu bildirilmiştir (Siragusa *et al.* 2007; Barrett *et al.* 2012). LAB'ların GABA üretim aktivitelerinin pH, sıcaklık, süre, kültür ortamının kompozisyonu gibi faktörlerden etkilendiği, pH'nın GABA üretimini etkileyen en önemli faktör olduğu ifade edilmiştir (Santiago Lopez *et al.* 2018).

Üzerinde en çok çalışma yürütülen GABA üreticileri LAB'lar olmasına rağmen, bazı diğer bakterilerin, mayaların ve küflerinde GAD aktivitesine sahip olduğu ve GABA üretebildiği tespit edilmiştir. Bunların içerisinde maya türlerinden; *Pichia kudriavzevii, Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces cerevisiae*'nın, küflerden ise *Aspergillus nidulans, A. niger* ve *Neurospora crassa*'nın GABA üretme kabiliyetine sahip olduğu bildirilmiştir. LAB'lar dışında *Streptomyces* cinsi bakterilerin ve *Escherichia coli*'nin de uygun şartlarda GABA sentezlediği belirlenmiştir (Diana *et al.* 2014a; Li *et al.* 2022).

Gıdaların GABA ile zenginleştirilmesi

GABA'nın söz konusu fizyolojik etkileri göz önüne alındığında sağlık adına umut verici sonuçlar elde edilmiş olması gıdalardaki GABA içeriğinin artırılmasına yönelik birçok çalışmanın yapılmasına neden olmuştur. Bu çalışmalardan birinde, GABA'nın bitkilerde sitosolik pH'nın düzenlenmesi, azot metabolizması, oksidatif stresin azaltılması, osmoregülasyon ve sinyalizasyon dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarda rol oynadığı, bununla birlikte normal koşullarda miktarının az olduğu (0,03-2 µmol/g yaş ağırlık) (Kook and Cho 2013), ancak dış kaynaklı stres koşullarının sağlanması ile miktarının arttırılabileceği bildirilmiştir (Li *et al.* 2019). Bitkilerde mekanik yaralanma, anoksi, sıcak/soğuk şok ve tuzluluk gibi abiyotik stres koşullarının GAD seviyelerinde hızlı artışa neden olduğu, dolayısıyla GABA miktarını arttırdığı ifade edilmiştir (Ding *et al.* 2019). GABA

ile zenginleştirilmiş ürünlerin üretimine yönelik çalışmaların bir bölümü bitkilerde söz konusu stres koşullarının sağlanmasına odaklanmıştır.

GABA ile zenginleştirmenin diğer bir yolunun ise yulaf, buğday, pirinç gibi tahıl tanelerinin çimlendirilmesi olduğu bildirilmiştir. Kontrollü çimlendirmenin tahılların besin değeri ve lezzetini artırmak amacıyla kullanıldığı, GABA dahil olmak üzere birçok biyoaktif bileşenin miktarlarında artışa neden olduğu ifade edilmiştir (Ding *et al.* 2019).

Son yıllarda GABA'nın doğal yöntemlerle sentezlenmesine yönelik yapılan çalışmalar daha çok fermente gıdalardan GABA üretme yeteneğine sahip LAB'ların izolasyonuna odaklanmış, peynir (Lacroix *et al.* 2013; Diana *et al.* 2014a; Franciosi *et al.* 2015; Renes *et al.* 2017), kimchi, yoğurt (Lu *et al.* 2008; Lee *et al.* 2010), sake (Ohmori *et al.* 2018), ekşi hamur (Demirbaş *et al.* 2017; Fujimoto *et al.* 2019; Alkay 2021) gibi fermente gıdalar GABA üreten LAB'lar için izolasyon kaynağı olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda GABA üreten LAB suşlarının çeşitli gıdaların üretiminde fonksiyonel kültür olarak kullanıldığı araştırmaların sayısı da giderek artış göstermiş, süt ürünleri açısından değerlendirildiğinde GABA üretme yeteneğine sahip çeşitli suşların fermente süt (Minervini *et al.* 2009; Nejati *et al.* 2013), yoğurt (Linares *et al.* 2016; El-Fattah *et al.* 2018) ve peynir üretiminde (Wang *et al.* 2010; Carafa *et al.* 2019; Renes *et al.* 2019; Li *et al.* 2021; Li *et al.* 2022) kullanımına yönelik araştırmalar yapılmıştır. Konu ile ilgili yapılan bazı çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Siragusa *et al.* (2007) İtalya'da üretilen farklı teknolojik özelliklere sahip 22 çeşit peynire ait örneklerde GABA konsantrasyonunun 0,26-391 mg/kg arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Aynı zamanda peynir çeşitlerinden izole ettikleri toplam 440 izolatı GABA üretme kapasitesi açısından değerlendirmişler, sadece 61 tanesinin in vitro şartlarda GABA üretme yeteneğine sahip olduğunu, *L. paracasei* PF6, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* PR1, *L. lactis* PU1, *L. plantarum* C48 ve *L. brevis* PM17 suşlarının yağsız sütte en çok GABA üreten izolatlar olduğunu bildirmişlerdir. *L. lactis* PU1 dışında üç laktobasillus suşunun simule edilmiş gastrointestinal koşullarda canlılığını devam ettirdiğini ve GABA sentezleyebildiğini ifade etmişlerdir.

Seo *et al.* (2013) Kimchi'den izole ettikleri *L. brevis* 340G suşunun %1 MSG içeren MRS broth besiyerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda 15,50 mM konsantrasyonunda GABA ürettiğini, %3 sukroz, %2 maya ekstraktı ve %3 MSG içeren optimize edilmiş besiyeri ortamında GABA üretiminin 54 saatlik fermantasyon sonunda 68,77 mM'a ulaştığını belirlemişlerdir. Aynı zamanda aynı suşun yağsız sütte 4,64 mM konsantrasyonunda GABA ürettiğini, söz konusu suşun fonksiyonel fermente gıdaların üretiminde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Diana *et al.* (2014b) 34 çeşit İspanyol peynirinde GABA ve serbest amino asit konsantrasyonlarını araştırmışlar, örneklere ait toplam serbest amino asit konsantrasyonunun 0,19-67,95 g/kg arasında değiştiğini, tüm peynirlerde LAB'ların hâkim florayı oluşturduklarını, bazı peynirlerde önemli miktarlarda GABA (ortalama 330 mg/kg) ve ornitin (450 mg/kg) belirlendiğini ifade etmişlerdir. Aynı zamanda GABA konsantrasyonunun sütün orijini ve olgunlaşma şeklinden etkilenmediği, buna karşılık ornitin miktarının inek sütünden yapılan peynirlerde keçi sütünden yapılanlara oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Wu and Shah (2015) potansiyel GABA üreticilerinin belirlenmesi amacıyla gaz salınımına dayalı bir ön tarama yöntemi geliştirmişler, Kimchi'den şansa bağlı seçilen 500 adet LAB'dan 9 izolatın yüksek GABA üreticileri olduğunu belirlemişler ve 16S rRNA geninin dizilimine dayalı olarak bu izolatları *L. brevis* olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar geliştirdikleri ön tarama yöntemini HPLC ile doğrulamışlar, söz konusu yöntemin yüksek GABA üreten LAB'ları belirlemek için verimli ve uygun maliyetli bir yöntem olarak kullanılabilineceğini ifade etmişlerdir.

Franciosi *et al.* (2015) İtalya'nın Trentino-Alto Adige bölgesinde geleneksel yöntemle çiğ sütten üretilen Nostrano peynirlerinden olgunlaşma sırasında LAB'ları izole etmişler ve bu izolatların GABA sentezleme yeteneğini araştırmışlardır. Sıklıkla izole edilen türler arasında *L. paracasei, Streptococcus thermophilus* ve *Leuconostoc mesenteroides* suşlarının yer aldığını, GABA üreten suşların çoğunluğunun *L. paracasei*'den oluştuğunu, *L. lactis, L. plantarum, L. rhamnosus, Pediococcus pentosaceus* ve *S. thermophilus* bakterilerinin ise GABA sentezleyen türler arasında olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırıcılar *Enterococcus faecalis* ve *S. macedonicus* izolatlarının ise GABA üretemediklerini, *S. thermophilus*'un ise en yüksek konsantrasyonda GABA üreten izolat olduğunu ifade etmişlerdir.

Yapılan başka bir çalışmada ekşi hamurdan izole edilen LAB'ların antifungal, antibakteriyel aktiviteleri ile GABA üretme yetenekleri araştırılmış, tüm izolatların insan sağlığı için önemli bir fizyolojik bileşen olarak GABA'yı ürettikleri ve özellikle bazı suşların önemli düzeylerde GABA üretebildiği belirlenmiştir (Demirbaş *et al.* 2017).

Ribeiro *et al.* (2018) Portekiz'de geleneksel olarak çiğ sütten üretilen Pico peynirinden izole ettikleri 57 suşu MSG içeren besiyerinde GABA üretebilme kapasiteleri açısından değerlendirmişler, 1 adet *L. otakiensis*, 3 adet *L. paracasei*, 3 adet *L. plantarum* suşunun yüksek oranda (>300 mg/L) GABA ürettiğini belirlemişlerdir. Bununla birlikte *Lactococcus, Leuconostoc* ve *Enterococcus* türlerine ait suşların hiçbirinin GABA üretim aktivitesine sahip olmadığını, *L. plantarum* L2A21R1 suşunun ise en yüksek GABA (936,8 mg/L) üretim aktivitesine sahip suş olduğunu bildirmişlerdir.

Yogeswara *et al.* (2018) Endonezya'da üretilen 12 adet fermente gıdadan LAB'ları izole etmişler ve GABA üretim aktiviteleri açısında değerlendirmişlerdir. Bu izolatlar içerisinde 6 suşun (IFK-10, IFK-11, IFK-12, FN-12, FN-14, FN-15) 24 saatlik bir inkübasyon sırasında MSG'yi GABA'ya dönüştürebildiğini, en yüksek GABA üretiminin *L. plantarum* IFK-10 ve *P. pentosaceus* IFK-11 suşları tarafından gerçekleştirildiğini bildirmişlerdir. Özellikle GABA üretimi açısından bu 2 suşun fonksiyonel gıda üretimi için umut verici olduğunu bildirmişlerdir.

Özer (2019) tarafından yapılan çalışmada ise lahana turşusu, Sauerkraut ve Kimchi gibi lahana-bazlı fermente ürünlerin doğal mikroflorasından izole edilen LAB'ların GABA üretme yetenekleri ve kontrollü fermantasyon koşullarında GABA üretim seviyeleri araştırılmıştır. İzolatlarda GAD enzim aktivitesi pH indikatör yöntemiyle belirlenmiş ve spektrofotometrik olarak yapılan ölçümlerde söz konusu enzim aktivitesine sahip *L. lactis* ssp. *lactis* 1 SK1-C29 ve *L. mesenteroides* ssp. *mesenteroides* 1 KM1-C102 suşlarının yüksek oranda GABA ürettiği bildirilmiştir.

Harnentis *et al.* (2019) fermente manda sütün (Dadih)'den izole edilen ve *L. plantarum* olarak tanımlanan suşun pH 5,5'te, 36 ^{o}C'de, 500 mM MSG konsantrasyonunda 84 saatlik inkübasyon sonunda yüksek konsantrasyonda GABA üretebildiğini bildirmişlerdir.

Mancini *et al.* (2019) kültür ortamında yüksek miktarda GABA üretme yeteneği ile probiyotik özelliklerini dikkate alarak geleneksel Alp peynirinden izole ettikleri *L. brevis* DSM 32386 suşunu, *L. brevis* DSM 20054 suşu ile karşılaştırmışlar, 37 ^{o}C'de 24 saatlik inkübasyon sonunda MSG'den en yüksek GABA üretim miktarının DSM 32386 suşu (262,06±15,42 mg/L) tarafından gerçekleştirildiğini, DSM 20054 suşunun ise düşük miktarda (78,27±18,61 mg/L) GABA ürettiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, geleneksel peynirlerden sağlık üzerinde önemli etkileri olan yeni LAB suşlarının izole edilebileceğini ve bu peynirlerin önemli mikrobiyal biyoçeşitlilik kaynağı olduğunu bildirmişlerdir.

Anggraini *et al.* (2019) Endonezya'nın Batı Sumatra bölgesinde manda sütünden üretilen fermente bir süt ürünü olan Dadih'den izole ettikleri ve GABA üretme yeteneğine sahip olduğunu belirledikleri LAB DS15 suşunun genetik tanısını 16S rRNA gen dizisi analizini kullanarak yapmışlar, bu suşun *P. acidilactici* olduğunu ve *P. acidilactici* DSM 20284 suşu ile %99 oranında benzerlik gösterdiğini bildirmişlerdir.

Valenzuela *et al.* (2019) tarafından yapılan bir çalışmada starter kültür kullanılmaksızın çiğ sütten üretilen geleneksel süt ürünlerinden izole edilen 262 LAB suşu enzimatik (GABase) yöntem kullanılarak %1 MSG katkılı kültür ortamında GABA üretimi açısından taranmış ve suşların yaklaşık olarak yarısının (123) GABA ürettiği belirlenmiştir. Söz konusu araştırmada 16'sı *L. lactis* subsp. *lactis*, 3'ü *S. thermophilus* olmak üzere 24 suşun $>$ 1 mM'den fazla (1,01-

2,81 mM aralığında) GABA ürettiği tespit edilmiş ve bu suşların daha ileri tanımlamalar yapmak üzere seçildiği belirtilmiştir. Aynı zamanda *L. brevis* suşu hariç araştırılan 24 GABA üreticisi suşun hiçbirinde tiramin, histamin ve kadaverin gibi toksik biyojenik amin üretmedikleri, bu suşların güvenli olarak tek başlarına veya karışım halinde starter/yardımcı kültürler olarak sağlık üzerinde olumlu etkilere sahip çeşitli süt ürünlerinin geliştirilmesinde faydalı olabileceğini bildirmişlerdir.

Renes *et al.* (2019) 4 adet seçilmiş suşun (*L. lactis* TAUL 238, *L. cremoris* TAUL 1239, *L. plantarum* TAUL 1588, *L. casei* subsp. *casei* SS 1644) pastörize sütten üretilen koyun peynirinde olgunlaşma süresince serbest amino asit profili, GABA ve ornitin içeriği ile biyojen amin oluşumu üzerindeki etkilerini incelemişler, tüm peynir örneklerinde 240 günlük olgunlaştırma süresince yüksek oranlarda GABA ve ornitin oluştuğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda starter kültür olarak *L. lactis* TAUL 238 + *L. cremoris* TAUL 1239 suşlarının yardımcı kültür olarak ise *L. plantarum* TAUL 1588 suşunun kullanıldığı peynir örneğinde olgunlaşma süresince biyojen amin konsantrasyonunun kontrol örneğine (*L. lactis* TAUL 238 + *L. cremoris* TAUL 1239) oranla yaklaşık 2,37 kat azaldığı belirlenmiştir. Söz konusu suşların kullanımının fonksiyonel koyun sütü peynirinin üretimi açısından uygun bir yaklaşım olabileceği bildirilmiştir.

Carafa *et al.* (2019) Nostrano peynirinden izole ettikleri *S. thermophilus* 84C suşu ve geleneksel Malga peynirinden izole ettikleri *L. brevis* DSM 32386 suşlarını farklı kombinasyonlar halinde GABA ile zenginleştirilmiş peynir üretiminde kullanmışlar, GABA konsantrasyonu üzerine kültürlerin ve olgunlaşma süresinin etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar tüm peynir örneklerinde pH değerinin 5,5'in altında olduğunu, GABA konsantrasyonunun olgunlaşma süresince arttığını, olgunlaşmanın 9. gününde en yüksek GABA konsantrasyonunun 84C suşu ile üretilen peynirde belirlendiğini, olgunlaşmanın 20. gününde ise GABA konsantrasyonlarının 84C-DSM (*S. thermophilus* 84C - *L. brevis* DSM 32386) ve CTRL-DSM (ticari *S. thermophilus* + *L. brevis* DSM 32386) kombinasyonları ile üretilen peynirlerde sırasıyla 91±28 ve 88±24 mg/kg olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, *S. thermophilus* 84C ve *L. brevis* DSM 32386 suşlarının peynir üretiminde fonksiyonel kültürler olarak kullanılabileceğini, GABA'nın doğal yöntemle üretilmesi için önemli bir fırsat sunabileceğini bildirmişlerdir.

Saidi *et al.* (2020) çiğ sütten starter kültür kullanmaksızın ürettikleri Lighvan peynirinde olgunlaşma süresince potansiyel nörotransmitter maddelerin varlığını araştırmışlar, galaktoz, trosin, GABA, tramin, lisin gibi metabolitlerin starter olmayan LAB'lar (laktobasil, laktokok ve enterokok) tarafından gerçekleştirilen karbonhidrat metabolizması, proteolitik aktivite,

dekarboksilasyon reaksiyonları ve amino asit katabolizması ile ilişkilendirildiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar söz konusu metabolitlerin konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince artış gösterdiğini, sonuç olarak Lighvan peynirinin önemli bir diyet nörotransmitter kaynağı olabileceğini ifade etmişlerdir.

Redruello *et al.* (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada Avrupa'da üretilen 37 peynir çeşidine ait 100 örnek sütün kaynağı, süte uygulanan ısıl işlem, üretimde kullanılan proteolitik ajanlar, küflerin varlığı, olgunlaşma süresi, tekstür, yağ içeriği ve iklim gibi teknolojik/metabolik/çevresel faktörler açısından gruplandırılmış, böylece GABA ile zenginleştirilmiş peynirlerin tasarımı için gerekli koşulları belirlenmesine çalışılmıştır. Analiz edilen örneklerin %98'inde GABA'nın belirlendiği, konsantrasyonlarının ise 2,06 mg/kg ile 6480,06 mg/kg arasında değiştiği, en yüksek GABA konsantrasyonlarını barındıran peynirlerin teknolojik/metabolik/çevresel faktörler açısından iki farklı profil grubu içeresinde yer aldığı belirlenmiştir. İlk profile giren peynirlerin okyanus iklimi etkisinin hâkim olduğu bölgelerde çiğ inek sütünden yapılan olgunlaştırılmış mavi küflü peynirler olduğu, ikinci profilin ise ılıman karasal iklimin etkisi altında çiğ koyun sütü ve peynir mayası ile yapılan olgunlaştırılmış, sert peynirlerden oluştuğu bildirilmiştir.

Santos Espinosa *et al.* (2020) yerel Meksika peynirlerinden izole ettikleri 94 yabani LAB suşunun GABA üretme yeteneğini ve GABA üretimi üzerinde fermantasyon koşullarının etkisini araştırmışlar ve *Lactobacillus* ssp.'ye ait 54 suştan 16'sının, *Lactococcus* ssp.'ye ait 8 suştan 3'ünün GABA üretebildiğini, buna karşılık *Streptococcus* ssp.'ye ait hiçbir suşun ise GABA üretme yeteneğine sahip olmadığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar 2 adet *L. lactis* suşunu (L571 ve L572) içeren fermente sütte en yüksek GABA veriminin gözlemlendiğini, ilaveten fermantasyon koşulları değerlendirildiğinde özellikle L571 suşunu içeren fermente sütte 37 ^{o}C inkübasyon sıcaklığında, 10^{9} kob/mL inokülüm oranında, 3 g/L glutamat ve 100 μM piridoksal 5'- fosfat (PLP) konsantrasyonlarında en yüksek GABA üretiminin sağlandığını bildirmişlerdir. Sonuç olarak yabani LAB suşlarının GABA içeren fonksiyonel gıdaların üretimi için ümit verici suşlar olduğunu ifade etmişlerdir.

Sharma *et al.* (2021) fermente sütten izole ettikleri 29 adet LAB suşunu GABA ve laktik asit üretme aktivitesi açısından analiz etmişler, bu suşlar arasında sadece *L. plantarum* LP-9 suşunun GABA üretebildiğini, söz konusu suşun %1 MSG katkılı MRS brothda 0,86 g/L konsantrasyonunda GABA, 19,81 g/L oranında ise laktik asit ürettiğini ifade etmişlerdir. Aynı zamanda *L. plantarum* LP-9 suşu kullanarak α-amilaz, amiloglukosidaz ve selülaz içeren enzim karışımı ile muamele edilmiş çeşitli zirai atıklarından (buğday, mısır ve pirinç kepeği) fermantasyon yoluyla GABA ve laktik asit üretimini araştırmışlar, söz konusu suşun bu

atıklardan önemli miktarlarda GABA (1,14–1,30 g/L) ve laktik asit (22,83–29,82 g/L) üretebildiğini belirlemişlerdir.

Li *et al.* (2021) tarafından yapılan bir çalışmada GABA üretme yeteneğine sahip mayalar (*Pichia kudriavzevii* 1–21, *Kluyveromyces marxianus* B13–5, *Saccharomyces cerevisiae* DL6–20 ve *K. lactis* DY1–10) Kazak peynirinin üretiminde kullanılmış, *K. marxianus* B13-5 ile üretilen peynirin GABA üretim kapasitesinin 95,6 mg/100 g'a ulaştığı, protein içeriğinin önemli ölçüde değişmediği, buna karşılık belirgin bir amino asit oluşumunun gözlendiği belirlenmiştir. Aynı zamanda *K. marxianus* B13-5'nin peynirde arzu edilen tekstürü oluşturulmasına yardımcı olduğu, kullanılan tüm mayaların ester ve alkol üretimini artırdığı, *S. cerevisiae* DL6-20'nın yüksek konsantrasyonlarda izoamil alkol, hekzanoik asit etil ester, benzil alkol, oktanoik asit etil ester, 3-hidroksi-2-bütanon ve hekzanoik asit ürettiği, 2-metil-propanoik asit içeriğinin ise düşük olduğu, bununla birlikte söz konusu suş ile üretilen peynirin iyi aroma üretim performansına sahip olduğu belirlenmiştir.

Renes *et al.* (2021) farklı mevsimlerde silaj ve ot ile beslenen koyunlardan elde edilen pastörize sütten üretilmiş koyun peynirlerini olgunlaşma periyodu boyunca mikrobiyal popülasyon, serbest amino asit düzeyleri, biyojen amin içeriği ile duyusal özellikler açısından analiz etmişler, peynirlerde 180 günlük olgunlaşma periyodunun sonunda serbest amino asit içeriğinin 35.179,26 ile 138.063,71 mg/kg arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar insan sağlığı üzerindeki yararlı etkileri ile ilişkilendirilen γ-aminobütirik asitin tüm peynir örneklerinde en bol bulunan ikinci amino asit olduğunu ve toplam serbest amino asidin %15'ini oluşturduğunu, olgunlaşma periyodunun sonunda ilkbaharda üretilen peynirlerinin yaz ve sonbahar peynirlerine göre 2 kat daha fazla γ-aminobütirik asit içerdiğini bildirmişlerdir.

Liu *et al.* (2022) Kimchi'den izole edilen 364 LAB suşundan 7'sinin GABA üretme yeteneğine sahip olduğunu, bu suşlardan 6'sının *L. brevis* olarak tanımlandığını, *L. brevis* F109-MD suşunun %10 MSG içeren MRS broth besiyerinde 72 saatlik fermantasyon sonunda 550 mmol/L konsantrasyonda GABA ürettiğini ifade etmişlerdir. Sonuç olarak 7 suşun GABA'nın food grade üretimi için ve sağlıklı gıdaların geliştirilmesi amacıyla kullanılabilineceği bildirmişlerdir.

Galli *et al.* (2022) kendiliğinden fermantasyona bırakılan çiğ sütten 6 türe ait 14 LAB suşunu izole etmişler, teknolojik ve besinsel karakterizasyonlarına göre iki *L. lactis* suşunu 5 mmol MSG içeren sütte yardımcı kültür olarak *Lacticaseibacillus rhamnonus* ve *Lacticaseibacillus paracasei* suşları ile birlikte fermente süt üretiminde kullanmışlardır. Araştırmacılar fermente sütlerde (*L. lactis* ile *L. rhamnonus* veya *L. paracasei*) GABA konsantrasyonlarını sırasıyla 185,81 ± 24,00 mg /L ve 319,72 ± 27,15 mg /L olarak

belirlemişler, GABA içeriğinin depolama süresince artarak 395,84 ± 12,55 mg/L ve 377,49 ± 46,62 mg/L'ye ulaştığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak, seçilen kültürlerin yüksek GABA konsantrasyonları içeren fermente süt üretiminde kullanılabileceğini ifade etmişlerdir.

Li *et al.* (2022) maya (*P. kudriavzevii* 1–21, *K. marxianus* B13-5, *S. cerevisiae* DL6-20, *K. lactis* DY10) ve ticari starter kültür (*S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*) kullanarak üretmiş oldukları peynirlerde *K. marxianus* B13-5 ile üretilen peynirin en yüksek GABA içeriğine (489 mg/kg'a kadar) ve nispeten iyi bir dokuya sahip olduğunu, *K. lactis* DY1-10'un ise amino asit üretimini arttırdığını belirlemişlerdir. Araştırmacılar dört peynirinde güçlü meyvemsi, elma ve ananas benzeri aromalara sahip olduğunu, mayaların kullanıldığı peynirlerin tümünün bütanoik asit etil ester, asetik asit etil ester, hekzanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester ürettiği, söz konusu peynirlerde kontrol grubundan farklı olarak 2-heptanol, 1-propanol, 2-metil benzen etanol, izoamil alkol, propanoik asit, 2-metil-asetik asit, 2-bütanon 3-hidroksi, oktanoik asit etil ester ve asetik asit etil ester gibi uçucu bileşenlerin tespit edildiğini bildirmişlerdir. Sonuç olarak GABA üretme yeteneğine sahip mayalar ile yapılan peynirlerin potansiyel probiyotik etkiye sahip olabileceği ifade edilmiştir.

Ayağ *et al.* (2022) tarafından yapılan çalışmada farklı teknolojik özelliklere sahip üç çeşide (Beyaz, Kaşar ve Tulum) ait toplam otuz peynir örneğinde GABA ve serbest amino asit içeriği analiz edilmiş, His, Ile, Lys amino asitlerinin Beyaz peynirlerde, Glu, His, Tyr, Ile, Phe, Trp amino asitlerinin Kaşar peynirlerinde, His, Arg, Tyr, Ile, Leu, Trp amino asitlerinin ise Tulum peynirlerinde hâkim amino asitler olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda GABA konsantrasyonunun Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirleri için sırasıyla 0,00 ile 83,05 mg/100 g, 1,65-45,79 mg/100 g ve 0,20-21,06 mg/100 g arasında değiştiği, peynir mikroflorasının, çözünür azot fraksiyonlarının, Glu ve Gln gibi amino asit konsantrasyonlarının ve olgunlaşma zamanı/koşullarının GABA oluşumunda önemli etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Sousa *et al.* (2023) inek, koyun ve keçi sütünden üretilen yedi farklı Portekiz peynirinin (São Jorge, Pico, Serra da Estrela, Serpa, Nisa, Beira Baixa ve Azeitão) GABA içeriklerini analiz etmişler, inek sütünden yapılan peynirlerin GABA içeriklerininin 1,23 ile 2,64 g/kg peynir arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar keçi ve koyun sütü peynirlerinin GABA içeriklerinin daha geniş sınırlar (0,73 ile 2,31 g/kg) arasında değiştiğini, tüm peynirlerin GABA üretebilen LAB'ların izolasyonu için uygun matrisler olabileceğini ifade etmişlerdir.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

LAB'ların izolasyonu ve tanısında kullanılan peynirler

Araştırma kapsamında piyasada satışa sunulan geleneksel yöntemle üretilen Beyaz, Kaşar ve Erzincan Tulum peynirlerinin her birinden olgunluk düzeyleri de dikkate alınarak 15'er adet toplanmış ve GAD aktivitesine sahip LAB'ların izolasyonu ve tanısı için araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Peynirlerin olgunlaşma süreleri üretim tarihleri ile ambalaj üzerindeki bilgiler dikkate alınarak belirlenmiştir. İzolasyonda kullanılan peynirlere ait bazı tanımlayıcı bilgiler Tablo 1'de sunulmuştur. Temin edilen örnekler aynı gün mikrobiyolojik analizlere tabii tutulmuştur.

Tablo 1. İzolasyonda Kullanılan Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerine Ait Bazı Tanımlayıcı Bilgiler

Peynir Çeşidi	Olgunluk Düzeyi (Gün)	Ulusal/ Yerel	Sütün Orijini	Isıl İşlem	Starter ilavesi	Miktarı	Ambalaj
Beyaz (B1)	120	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	706 g	Vakum ambalaj
Beyaz (B2)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	650 g	Plastik kutu
Beyaz (B3)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	460 g	Plastik kutu
Beyaz (B4)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	400 g	Plastik kutu
Beyaz (B5)	90	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	400 g	Teneke ambalaj
Beyaz (B6)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	400 g	Plastik kutu
Beyaz (B7)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	600 g	Vakum ambalaj
Beyaz (B8)	250	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	600 g	Vakum ambalaj
Beyaz (B9)	120	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	450 g	Vakum ambalaj
Beyaz (B10)	90	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	500 g	Vakum ambalaj
Beyaz (B11)	90	Yerel	Koyun sütü	Pastörize	Yok	400 g	Plastik kutu
Beyaz (B12)	90	Yerel	İnek sütü	Pastörize	Yok	300 g	Plastik kutu
Beyaz (B13)	90	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	500 g	Plastik kutu
Beyaz (B14)	90	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	400 g	Plastik kutu
Beyaz (B15)	140	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	500 g	Plastik kutu
Tulum (T1)	270	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	500 g	Vakum ambalaj
Tulum (T2)	90	Yerel	Koyun, keçi sütü	Çiğ	Yok	525 g	Vakum ambalaj
Tulum (T3)	90	Yerel	İnek, koyun sütü	Çiğ	Yok	1000 g	Plastik ambalaj
Tulum (T4)	120	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	950 g	Plastik ambalaj
Tulum (T5)	120	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	356 g	Vakum ambalaj
Tulum (T6)	120	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	382 g	Vakum ambalaj
Tulum (T7)	315	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj
Tulum (T8)	270	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj

Tablo 1. (devamı)

Tulum (T9)	345	Ulusal	Koyun, keçi sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj
Tulum (T10)	120	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj
Tulum (T11)	120	Ulusal	Koyun, inek, keçi sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj
Tulum (T12)	120	Ulusal	İnek, koyun, keçi sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik ambalaj
Tulum (T13)	150	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	900 g	Plastik ambalaj
Tulum (T14)	120	Ulusal	Koyun, keçi, inek sütü	Çiğ	Yok	400 g	Vakum ambalaj
Tulum (T15)	90	Yerel	Koyun, keçi sütü	Çiğ	Yok	900 g	Plastik ambalaj
Kaşar (K1)	90	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	170 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K2)	90	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	390 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K3)	90	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	360 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K4)	270	Ulusal	İnek sütü	-	-	350 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K5)	240	Ulusal	İnek sütü	Çiğ	Yok	468 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K6)	90	Ulusal	İnek sütü	Çiğ	-	242 g	Plastik film
Kaşar (K7)	150	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	660 g	Plastik film
Kaşar (K8)	150	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	400 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K9)	180	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Var	400 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K10)	540	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	400 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K11)	120	Yerel	İnek sütü	Çiğ	Yok	550 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K12)	90	Yerel	İnek sütü	-	-	500 g	Plastik film
Kaşar (K13)	90	Ulusal	İnek sütü	Pastörize	Yok	450 g	Vakum ambalaj
Kaşar (K14)	90	Ulusal	İnek sütü	Çiğ	Yok	450 g	Plastik film
Kaşar (K15)	90	Ulusal	İnek sütü	Çiğ	Yok	400 g	Plastik film

- Belirtilmemiş

Süt

Beyaz peynirlerin üretimi için Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilen duyusal ve teknolojik özellikleri peynir yapımına uygun olan inek sütü kullanılmıştır.

Starter kültürler

Beyaz peynir üretiminde primer kültür olarak kullanılan *L. lactis* 672 suşu Beyaz peynirden, *L. cremoris* 586 suşu ise Tulum peynirinden izole edilmiştir. GABA üretme yeteneğine sahip olduğu belirlenen *L. plantarum* 134 ve *L. plantarum* 255 suşları ise sırasıyla Tulum ve Kaşar peynirlerinden izole edilmiş, yardımcı kültür olarak deneme peynirlerinin üretiminde kullanılmıştır. Aynı zamanda proteolitik aktivitesi nedeniyle yardımcı kültür olarak kullanılan *Lacticaseibacillus paracasei* 670 suşu Beyaz peynirden izole edilmiştir. Primer ve yardımcı kültür olarak kullanılan tüm suşlar sekans analizine gönderilmiş ve genetik tanıları yapılmıştır.

Pıhtılaştırıcı enzim

Peynir yapımı sırasında sütün pıhtılaştırılmasında 1:20000 MCU/ mL kuvvetindeki sıvı ticari peynir mayası (rennet) kullanılmış ve Mayasan A.Ş'den temin edilmiştir.

$CaCl_2$ ve tuz

Peynir üretimi sırasında kullanılan kalsiyum klorür ($CaCl_2$) (Sigma Aldrich, food grade) saf suda çözündürüldükten sonra 100 litreye 20 g olacak şekilde peynire işlenecek süte ilave edilmiştir. Peynirlerin tuzlanmasında ticari kaya tuzu kullanılmıştır.

Ambalaj materyali

Peynirlerin ambalajlanmasında gıda ambalajlamaya uygun plastik 500 g'lık kaplar Erko Plastik A.Ş'den (Erzurum), vakum ambalajlamada kullanılan plastik filmler ise Beş Yıldız Ambalaj Sanayi A.Ş'den (İstanbul) temin edilmiştir.

Yöntem

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinin LAB izolasyonu için hazırlanması

Steril kavanozlara alınan peynir örneklerinden aseptik şartlarda 10 g tartılıp Stomacher torbalarının içerisine aktarılmış ve üzerine 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (FTS, %0,85 NaCl) ilave edilmiştir. Daha sonra Stomacher (bag mixer 400 range) cihazında homojenize edilmiş, böylece 10^{-1}'lik dilüsyonlar hazırlanmıştır. Diğer dilüsyonların hazırlanmasında ise steril pipetler kullanılarak ilk dilüsyondan 1 mL alınmış ve içerisinde 9 mL steril dilüsyon sıvısı bulunan tüplere aktarılmıştır. İşleme 10^{-7}'lik dilüsyona ulaşılıncaya kadar devam edilmiştir.

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden LAB'ların izolasyonu

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden LAB'ların izolasyonu için iki farklı besiyeri (MRS agar ve M17 agar) kullanılmış, bu amaçla hazırlanan uygun dilüsyonlardan MRS ve M17 agar'a yayma yöntemiyle ekim yapılmıştır. MRS agar'a ekim yapılan petriler anaerobik şartlarda, M17 agar'a ekim yapılan petriler ise aerobik koşullarda 30 ºC'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresinin sonunda her iki besiyerinde gelişen farklı hücre morfolojisine sahip koloniler seçilmiş, Gram boyama ve katalaz testlerine tabii tutulmuştur. Gram-pozitif, katalaz-negatif, çubuk veya kok şeklindeki izolatlar yeniden MRS ve M17 agara çizilerek saf kültürleri elde edilmiştir. Daha ileri analizler için uygun olan izolatlar %40'lık gliserol içerisinde -80 ºC'de muhafaza edilmiştir (Bachtarzi *et al.* 2019; De Pasquale *et al.* 2019).

Elde edilen LAB izolatlarının fenotipik karakterlerinin belirlenmesi

LAB izolatlarının bu aşamada hücre morfolojileri, Gram ve katalaz özellikleri belirlenmiştir.

Hücre morfolojisi

Hücre morfolojisinin belirlenmesi için saf olarak elde edilmiş olan LAB izolatları basit boyama metodu ile boyanarak mikroskop yardımı ile görüntülenmiştir (Sert 2011).

Gram boyama

İzolatların 24 saatlik genç kültürleri kullanılarak Gram boyama yapılmış, koyu mor renginde boyanan bakteriler Gram pozitif, kırmızı renkte boyananlar ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Sert 2011).

Katalaz testi

Katalaz testi için geliştirilmiş olan koloniler üzerine %3'lük H_2O_2 çözeltisi damlatılmış ve gaz çıkışı olan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir (Ismail *et al.* 2019).

Elde edilen LAB izolatlarında DNA izolasyonu

LAB'ların DNA izolasyonu için uygun besiyerlerine (MRS ve M17 agar) ekilen saf kültürlerden 1 öze dolusu alınmış, 1mL steril saf su ile karıştırılmıştır. Ardından elde edilen bu solüsyondan 100 µL alınarak üzerine 500 µL steril saf su eklenmiş, 5000 *x g*'de 3 d santrifüj edilmiş ve PBS (fosfat tamponlu salin) çözeltisi ile 3 kez yıkanmıştır. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra bakteri peleti üzerine 0,1 mL %10 SDS (sodyum dodesil sülfat) ve 0,5 mL 6 M üre eklenmiş, 37 ºC'de 20 d inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandığında örnekler 95 ºC'de 5 d tutulmuş, 8000 *x g*'de 10 d santrifüjlenmiştir. Daha sonra süpernatant uzaklaştırılarak pelet üzerine 0,1 mL 0,2 N NaOH eklenmiş, 37 ºC'de 10 d bekletilmiş ve 3000 *g*'de 3 d süre ile tekrar santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatant uzaklaştırılarak pelet üzerine 2,5 hacim absolute etanol ilave edilmiş ve sonra -20 ºC'de 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda 4 ºC'de 13200 *x g'*de 15 d santrifüjlenmiş ve %70'lik etanol ile yıkanmıştır. DNA peleti alınmış, oda sıcaklığında bekletilerek kurutulmuştur. Devamında 20 µL Tris-EDTA (etilendiamintetra asetik asit) tamponunda süspanse edilip PCR işleminde template (kalıp) DNA olarak kullanılmıştır (Singh and Ramesh 2009).

DNA uygunluğunu belirlenmesi amacıyla $260_{nm}/280_{nm}$'de absorbans değeri ölçülmüş ve 1,8 olanlar saf olarak değerlendirilmiştir. DNA konsantrasyonu ise ng/µl olarak ifade edilmiştir.

LAB izolatlarında glutamik asit dekarboksilaz (GAD) geninin belirlenmesi

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden elde edilen izolatlarda GAD geninin moleküler karakterizasyonu ilgili genin yüksek oranda korunmuş bölgelerinden elde edilen Core F (5[1] - CCTCGAGAAGCCGATCGCTTAGTTCG-3[1]) ve Core R (5[1] TCATATTGACCGGTATAAGTGATGCCC-3[1]) primerleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Siragusa *et al.* 2007). PCR reaksiyon hacmi 12,5 µL master miks (Type-it HRM PCR Kit, Qiagen) 1'er µL Core F ve Core R primerleri, 1 µL template DNA ve 9,5 µL su olmak üzere toplam 25 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Real Time-PCR (RT-PCR) işlemi için 95 °C'de 5 d ilk denatürasyon, 35 döngü olacak şekilde 95 °C'de 20 s denatürasyon, 65,5 °C'de 60 s bağlanma, 72 °C'de 20 s uzama ve 72 °C'de 5 d son uzama şartları uygulanmıştır. Doğrulama amacı ile klasik PCR işlemi de gerçekleştirilmiş olup, amplikonlar %1,8'lik agaroz jel elektroforezde 90 V'ta 1,5 saat süre ile yürütülmüş ve 600 bp'lik bantlar pozitif olarak değerlendirilmiştir (Demirbaş *et al.* 2017). RT-PCR işleminin optimizasyonu amacıyla GAD geni açısından (+) olduğu bilinen *L. plantarum* 56 suşu pozitif kontrol, steril moleküler su ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Aynı zamanda RT-PCR ile elde edilen amplikonlar karakterizasyon açısından 70-95 °C aralığında 0,1 °C/3 s tedrici sıcaklık artışı olacak şekilde HRM (Yüksek Çözünürlüklü Erime Analizi) işlemine tabi tutulmuştur.

GAD aktivitesine sahip olan LAB'ların GABA üretim miktarlarının belirlenmesi

GAD aktivitesine sahip olduğu belirlenen LAB'ların GABA üretim miktarları hem MRS brothda hem de yağsız süt besiyerinde belirlenmiştir.

MRS brothta GABA üretim aktivitesinin belirlenmesi

Öncelikle suşlar %1 MSG içeren MRS broth besiyerinde 32 ºC'de 48 saat boyunca inkübe edilmiş, daha sonra 10000 *x g*'de 15 d santrifüj işlemine tabi tutulmuş ve süpernatant kısmında bulunan GABA, fenil izotiyosiyonat (PITC) ile türevlendirilip 0,22 µm filtreden geçirildikten sonra, Ters Fazlı Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (RP-HPLC) (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) cihazına 40 µL enjekte edilmiştir. İzolatların MRS brothdaki GABA üretim miktarları mg/L olarak belirlenmiştir (Ko *et al.* 2013; Liu *et al.* 2022).

Yağsız süt besiyerinde GABA üretim aktivitesinin belirlenmesi

Yağsız süt besiyerinde GABA üretme aktivitesinin belirlenmesinde Siragusa *et al.* (2007) ile Shan *et al.* (2015) tarafından belirtilen metotlar modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla uygun brothlarda geliştirilen izolatlar santrifüj edilerek çöktürülmüş, 50 mM fosfat tamponu (pH 7,0) ile iki kez yıkanmış, ardından 9000 *x g* de 4 ºC'de 15 d santrifüj edilmiştir.

Hücre yoğunluğu yaklaşık 10^7 kob/mL olacak şekilde MSG içeren (%1) steril yağsız süt besiyerine (%12) (110 °C 10 d) de yeniden süspanse edilmiş ve 32 ºC'de 48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından 10000 *x g*'de 15 d santrifüj edilmiş, PITC ile türevlendirilip 0,22 µm filtreden geçirildikten sonra HPLC cihazına enjekte (40 µL) edilmiştir. Yağsız süt besiyerinde GABA üretim miktarları mg/L olarak belirlenmiştir.

Bakteri izolatlarının moleküler yöntemlerle gruplandırılması ve tanısı

Peynirlerden izole edilen suşların genetik tanısı için -80 ºC'de muhafaza edilen suşlar uygun besiyerlerinde aktifleştirilmiş ve genç kültürleri elde edilmiştir. Elde edilen genç kültürler öncelikle RAPD PCR (Rastgele Arttırılmış Polimofik DNA) işlemi ile gruplandırılmış, ardından temsili suşlar için 16S ribozomal RNA (rRNA) PCR işlemi uygulanmış ve sekans analizi yapılmıştır. RAPD PCR tekniği ile izolatların gruplandırılmasında primer olarak $(GTG)_5$ primeri (5'-GTGGTGGTGGTGGTG-3') kullanılmıştır. PCR işlemi sıcaklık döngüsü 94 ºC'de 5 d (ilk denatürasyon), 35 döngü olacak şekilde 94 °C'de 30 s (denatürasyon), 52 °C'de 30 s (bağlanma) ve 72 °C'de 90 s (uzama) şeklinde uygulanmıştır. İlaveten 72 °C'de 5 d son uzama yapılarak işlem tamamlanmıştır. PCR karışımı 7,5 µL master miks (2X HS Mastermix Clear, Procomcure), 1 µL template DNA, 1 µL primer ve 5,5 µL su kullanılarak toplam 15 µL olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan bu karışımdan 12-13 µL alınarak %2'lik agaroz jele yüklenmiş, yürütme işlemi sonrasında UV ışık altında izolatların finger printleri kaydedilerek benzer suşlar tespit edilmiştir (Aktaş 2018).

LAB'ların genotipik tanımlaması 16S rRNA gen dizilimi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Genomik DNA izole edildikten sonra 16S rRNA bölgesi 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') ve 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') primerleri kullanılarak amplifiye edilmiştir. PCR karışımı 25 µL master miks (2X HS Mastermix Clear, Procomcure), 1'er µL 27F ve 1492R primerleri, 1 µL template DNA ve 22 µL su ilavesi ile toplam 50 µL olacak şekilde ayarlanmıştır. PCR analizi 94 ºC'de 5 d ön denatürasyon, 35 döngü olacak şekilde 94 ºC'de 30 s denatürasyon, 56,5 ºC'de 30 s bağlanma, 72 ºC'de 90 s uzama ve ilaveten 72 ºC'de 5 d son uzama işlemleri uygulanarak gerçekleştirilmiştir (Yogeswara *et al.* 2018). PCR ürünlerinin sekansı için hizmet alımı yapılmış, sonuçlar BLAST (http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/) programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Genetik tanısı yapılmış izolatların bazı teknolojik özelliklerinin belirlenmesi

Tanısı yapılan izolatlardan primer/yardımcı kültür olarak kullanılacak olanlarının seçimi için izolatlar glikozdan gaz üretimi, farklı sıcaklık (10 ºC, 15 ºC ve 45 ºC) ve tuz

konsantrasyonlarında (%2, %6 ve %10) gelişme, asit üretimi ve proteolitik aktiviteleri açısından test edilmiştir. Tüm testler her bir izolat üç paralelli olarak yapılmıştır.

Glikozdan gaz üretimi

Glikozdan gaz (CO_2) üretimine yönelik analiz, ters çevrilmiş Durham tüpleri içeren modifiye MRS ve M17 broth (Merck) besiyeri ortamlarında yapılmıştır. Taze izolatlar uygun besiyerlerinde geliştirilmiş, bakteri konsantrasyonu 0,5 McFarland süspansiyonu (~10^8 kob/ml) olacak şekilde ayarlanmıştır. Bakteriler modifiye besiyerlerine [(1 L distile suya; 10 g pepton (Sigma Aldrich), 8 g lab-lemco powder (Oxoid), 4 g maya ekstraktı (Merck), 20 g glikoz (Merck), 1 mL Tween 80 (Merck), 2 g K_2HPO_4 (Merck), 5 g sodyum asetat. $3H_2O$ (Merck), 0,05 g $MnSO_4.4H_2O$ (Merck), 0,2 g $MgSO_4.7H_2O$ (Merck)] inoküle edilmiş ve 32 ^oC'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda Durham tüplerinde gaz kabarcıklarının varlığı pozitif olarak yorumlanmıştır (Aktaş *et al.* 2022).

Farklı sıcaklıklarda gelişme yetenekleri

İzolatların farklı sıcaklıklarda büyüme yeteneklerinin belirlenmesi için ayarlı (0,5 McFarland) süspansiyondan uygun MRS ve M17 broth besiyerlerine inoküle edilen suşlar 10 ^oC, 15 ^oC ve 45 ^oC'de 48 saat süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon için 96'lık plateler kullanılmış, inkübasyondan sonra büyümeyi gözlemlemek için plate reader'da (Epoch, BioTek) 600 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Steril MRS ve M17 broth besiyerleri (suş içermeyen) negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Brothlarda görülen üreme pozitif olarak yorumlanmış, kör numune ile aynı absorbansı veren suşlar -, <1 absorbans gösteren suşlar +, 1-1,5 arasında absorbans gösteren suşlar ++, >1,5 absorbans gösterenler ise +++ olarak değerlendirilmiştir (Yıldız 2019).

Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme yetenekleri

İzolatların farklı tuz konsantrasyonlarında çoğalabilme yeteneklerinin tespiti için %2, %6 ve %10 NaCl (w/v) eklenmiş steril MRS ve M17 broth besiyerleri kullanılmıştır. Ayarlı (0,5 McFarland) süspansiyondan ilgili besiyerlerine inoküle edilen izolatlar 32 ^oC'de 48 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon için 96'lık plateler kullanılmıştır. İnkübasyonu takiben plate reader (Epoch, BioTek) ile 600 nm'de ölçümler yapılmıştır (Yıldız 2019). Sonuçların değerlendirilmesi bir önceki başlıkta belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Asit üretim aktiviteleri

İzolatların asit üretme yeteneği, steril yağsız sütte gerçekleştirilmiş, bu amaçla 0,5 McFarland'daki suşlar yağsız süte inoküle edilmiş ve 32 ^oC'de inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sırasında pH (Mettler Toledo pH cihazı ile) ve titre edilebilir asitlik değerleri 6 saat, 12 saat ve 24 saat süre sonunda ölçülmüş ve Uluslararası Sütçülük Federasyonu'na (IDF) (IDF 1995) göre yorumlanmıştır. Suş içermeyen yağsız sütler negatif kontrol olarak kullanılmıştır.

Proteolitik aktivite

İzolatların proteolitik aktivitesi yağsız süt tozu (%10 w/v) eklenmiş MRS ve M17 agar (Merck) besiyerlerinde belirlenmiş, bu amaçla 10 µL izolat modifiye agarlara damlatılmış ve 32 ºC'de 2-4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası izolatların oluşturduğu şeffaf haleler içeren zonlar pozitif olarak sınıflandırılmış ve zon çapları ölçülmüştür.

Starter kültür olarak kullanılan izolatların seçimi ve Beyaz peynir üretimi için çoğaltılması

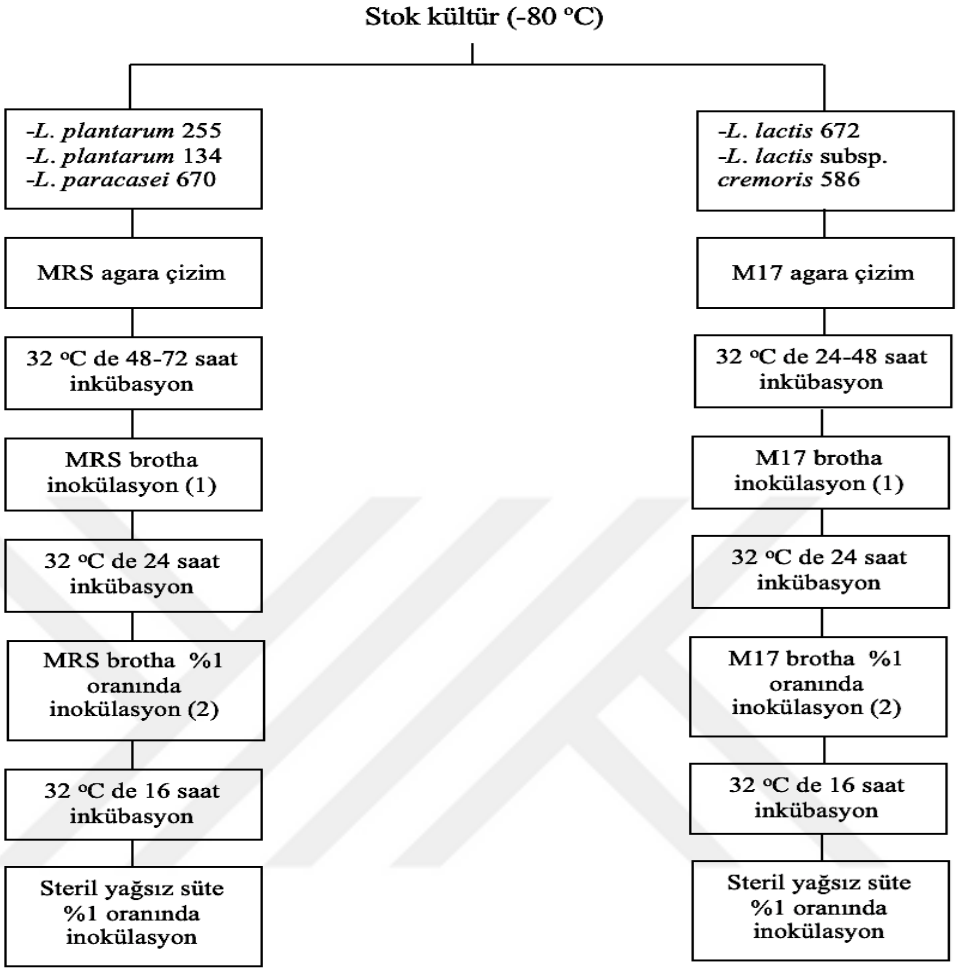
Starter kültür olarak kullanılacak bakterilerin seçimi izolatların GABA üretme yeteneği ile proteolitik aktiviteleri başta olmak üzere teknolojik özellikleri dikkate alınarak yapılmıştır. Bu amaçla moleküler yöntemlerle GAD aktivitesine sahip olduğu belirlenen suşların GABA üretme kapasiteleri MRS broth besiyeri ile yağsız sütte analiz edilmiş, yağsız sütte yüksek GABA üretme yeteneğine sahip *L. plantarum* 255 ile MRS broth besiyerinde yüksek GABA üretme yeteneğine sahip *L. plantarum* 134 suşları GABA üreticisi olarak seçilmiştir. Bu izolatlara ilaveten glutamik asit oluşumunu teşvik etmek amacıyla GAD genine sahip olmayan dolayısıyla GABA üretme yeteneği bulunmayan, ancak yüksek oranda proteolitik aktiviteye sahip başka bir izolat (*L. paracasei* 670) da yardımcı kültür olarak peynir üretiminde kullanılmıştır. Aynı zamanda *L. lactis* 672 ve *L. lactis* subsp. *cremoris* 586 suşlarıda peynir üretimi sırasında primer starter olarak kullanılmak üzere seçilmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan İzolatlar

İzolatlar	GABA üretimi	Primer /Yardımcı kültür
L. plantarum 255	GABA (+)	Yardımcı kültür
L. plantarum 134	GABA (+)	Yardımcı kültür
L. paracasei 670	GABA (-)	Yardımcı kültür
L. lactis 672	GABA (-)	Primer kültür
L. lactis subsp. *cremoris* 586	GABA (-)	Primer kültür

Dondurucuda (-80 ºC) muhafaza edilen seçilmiş izolatların aktifleştirilmesi amacıyla; MRS/M17 broth besiyerlerine bireysel olarak inokülasyon yapılmış ve 32 °C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun sonunda %1 oranında alınarak MRS/M17 broth besiyerine yeniden inokülasyon yapılmıştır. Ardından söz konusu izolatlardan steril yağsız süt besiyerine %1 oranında ekim yapılmış ve 32 ºC'de tekrar inkübe edilerek çoğalmaları sağlanmıştır. Ardından Beyaz peynir üretiminde primer ve yardımcı starter olarak

kullanılmışlardır. Beyaz peynir üretiminde kullanılan izolatların çoğaltılma aşamaları Şekil 6'da sunulmuştur.



Şekil 6. Deneme Beyaz peynir üretimi için kullanılan izolatların çoğaltılması

Peynir üretiminde kullanılan sütte yapılan fizikokimyasal ve mikrobiyolojik analizler

Peynir üretiminde kullanılan sütte kuru madde gravimetrik yöntemle, yağ Gerber yöntemiyle, protein mikro-Kjeldahl yöntemiyle, asitlik (% laktik asit cinsinden) titrasyon yöntemiyle ve pH dijital pH-metre (Mettler Toledo Seven Compact S220) kullanılarak belirlenmiştir. Peynir yapımında kullanılan sütte toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı, MRS ve M17 agarda LAB sayımı ile koliform grubu bakteri sayımı Diliello (1982) tarafından belirtilen yöntemlere göre, enterokok bakteri sayısı ise Graham *et al.* (2017) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Beyaz peynir örneklerinin üretimi

Deneme Beyaz peynirlerinin üretimi Atatürk Üniversitesi Gıda ve Hayvancılık Uygulama ve Araştırma Merkezi Pilot Süt Fabrikası'nda gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla çiğ

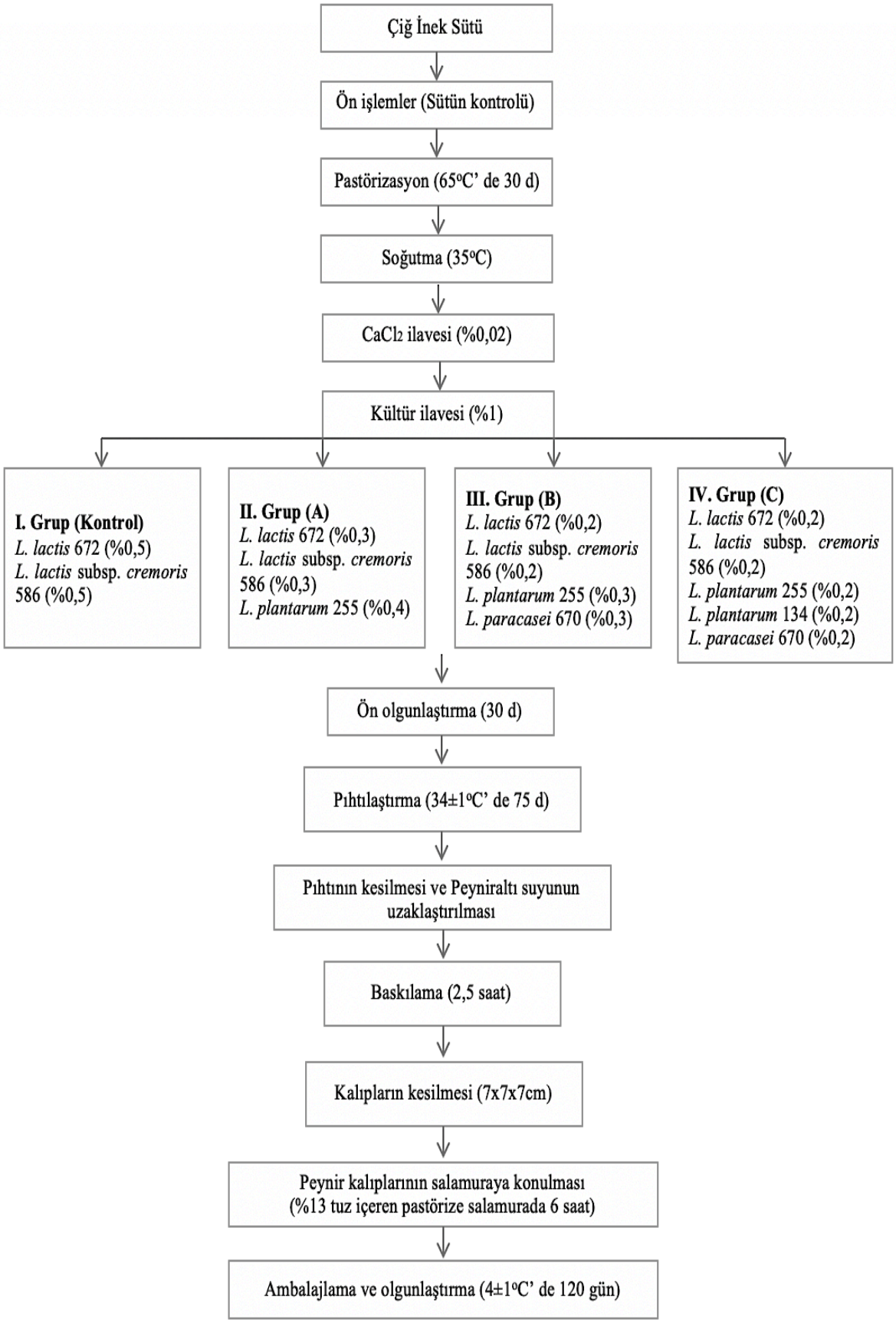
inek sütü 65 ºC'de 30 d süreyle pastörize edilmiş, 35 ºC'ye soğutularak 4 kısıma ayrılmış, her bir gruba %0,02 oranında $CaCl_2$ ilave edilmiştir. **I. Grup** peynir pastörize edilmiş süte primer starter olarak *L. lactis* 672 ve *L. lactis* subps. *cremoris* 586 suşlarının ilavesiyle üretilmiş ve kontrol grubu olarak kabul edilmiştir. **II. Grup** peynirin üretiminde primer starter kültüre ilaveten daha önce GAD genine sahip olduğu ve yağsız süt besiyerinde yüksek miktarda GABA ürettiği belirlenen *L. plantarum* 255 suşu yardımcı kültür olarak kullanılmıştır. **III. Grup** peynir pastörize süte primer starter kültüre ilaveten *L. plantarum* 255 ile yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenen *L. paracasei* 670 suşu kullanılarak üretilmiştir. Son olarak **IV. Grup** primer starter, *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 255 suşlarına ek olarak MRS broth besiyerinde yüksek konsantrasyonda GABA üreten *L. plantarum* 134 suşu yardımcı kültür olarak kullanılmıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Primer Starter/Yardımcı Kültür Kombinasyonları ve Örnek Kodları

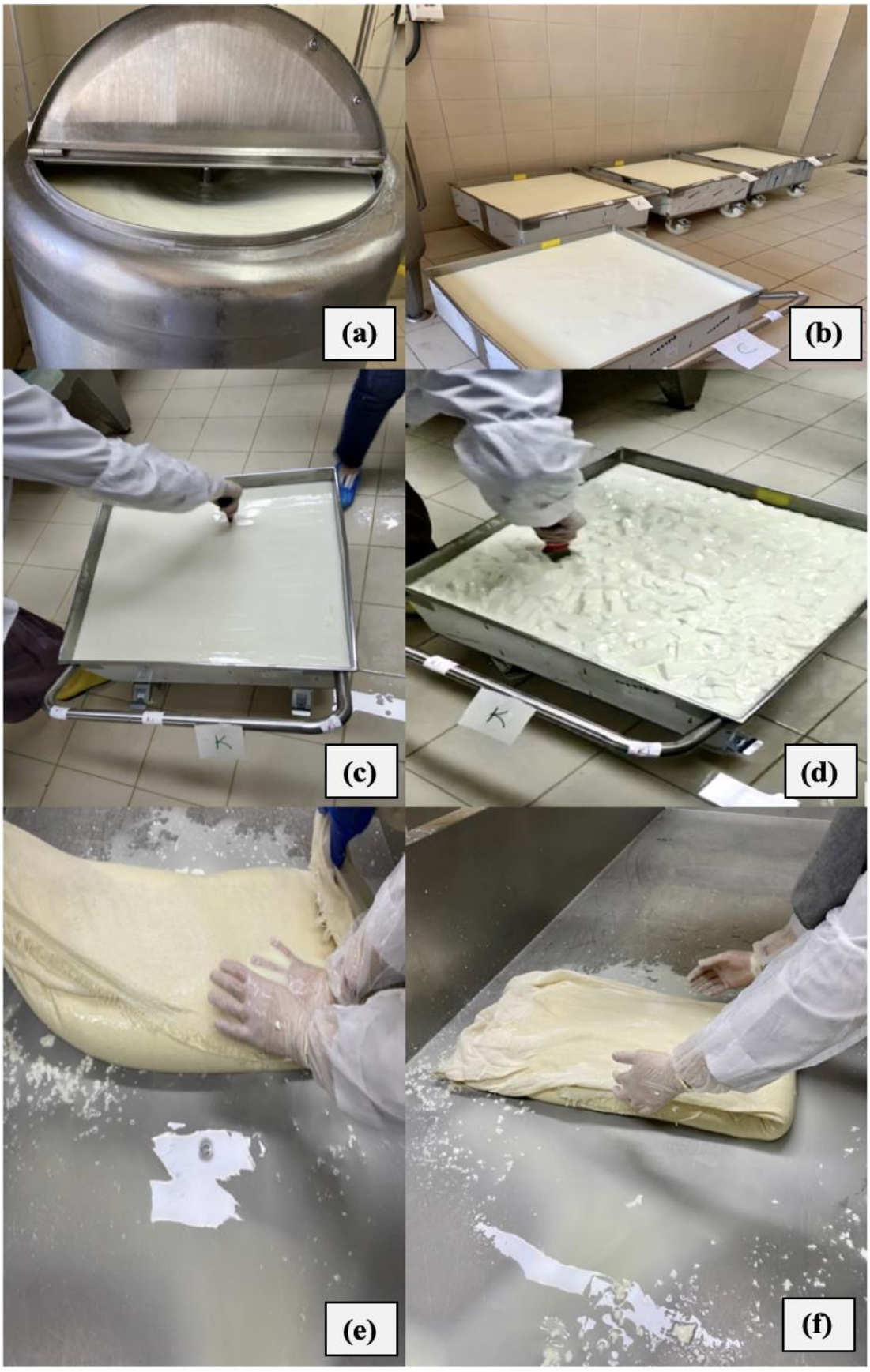
Peynir Grupları	
I. Grup (Kontrol-KS-KV)	Primer starter kültür (*L. lactis* 672 + *L. lactis* subsp. *cremoris* 586)
II. Grup (AS-AV)	Primer starter kültür + *L. plantarum* 255
III. Grup (BS-BV)	Primer starter kültür + *L. plantarum* 255 + *L. paracasei* 670
IV. Grup (CS-CV)	Primer starter kültür + *L. plantarum* 255 + *L. plantarum* 134 + *L. paracasei* 670

S: salamurada olgunlaştırma V: vakum ambalajda olgunlaştırma

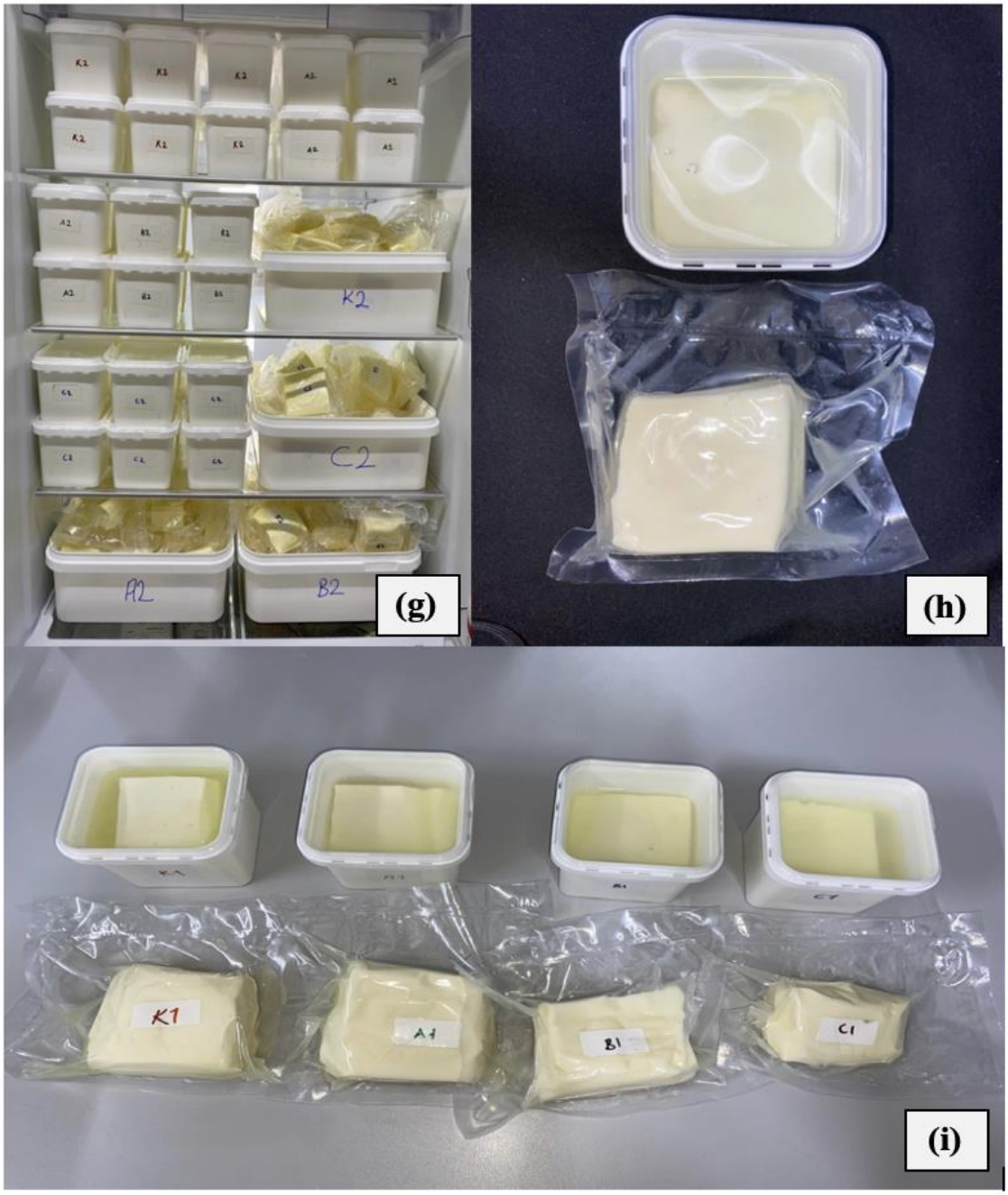
Kültürlerin ilavesinden sonra yaklaşık 30 d beklenmiş, ardından 34±1 ºC'de peynir mayası ilave edilerek 75 dakikada pıhtılaşması sağlanmıştır. Daha sonra pıhtı 1-1,5 cm^3 büyüklüğünde kesilmiş ve kesilen pıhtılar cendere bezlerine alınarak baskıya bırakılmıştır. Baskılama işlemi tamamlandıktan sonra oluşan teleme temiz steril bir bıçak kullanılarak 7x7x7 cm^3 ebatlarında kesilerek %13'lük salamura içinde 6 saat süreyle bekletilmiştir. Salamurada bekleyen peynirler alınarak temiz bir zemin üzerinde 12 saat dinlendirilmiş ve iki kısıma ayrılarak ambalajlanmıştır. I. kısım peynirler (KS, AS, BS, CS) gıda ambalajlamaya uygun plastik kaplara konulmuş üzerleri salamura (%10) ile doldurulmuştur. II. grup peynirler (KV, AV, BV, CV) ise plastik filmlerle vakum ambalajlanmıştır. Tüm peynirler 4±1 ºC'de 120 gün süreyle olgunlaştırılmak üzere depolanmıştır. Deneme peynirlere ait üretim akış şeması Şekil 7'de, peynir üretimine ait bazı görseller Şekil 8'de sunulmuştur.



Şekil 7. Deneme Beyaz peynir üretimine ait akış şeması



Şekil 8. Deneme Beyaz peynirlerin üretimine ait bazı görseller (a: pastörizasyon, b: mayalama, c-d: pıhtı kesme, e-f: baskıya alma, g-i: ambalajlama)



Şekil 8. Deneme Beyaz peynirlerin üretimine ait bazı görseller (a: pastörizasyon, b: mayalama, c-d: pıhtı kesme, e-f: baskıya alma, g-i: ambalajlama) (Devamı)

Deneme peynirlerin üretimi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş, tekerrürler birer hafta ara ile üretilmiştir. Peynirler, 1. günden itibaren fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikler açısından aylık periyotlarla analiz edilmiş, üre-PAGE elektroforezi, peptit profili analizi, GABA ve serbest amino asit analizi ile uçucu aroma bileşenlerinin analizi ise olgunlaşmanın 1., 60. ve 120. günlerinde gerçekleştirilmiştir.

Peynir örneklerinde yapılan fizikokimyasal analizler

Beyaz peynir örneklerinde kuru madde miktarı 3 g peynir örneğinin 102±1 °C'de sabit tartıma gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak (IDF 1982), yağ miktarı Van Gulik

bütirometreleri kullanılarak Gerber yöntemiyle (Ardö and Polychroniadou 1999), toplam protein miktarı ise mikro-Kjeldahl yöntemiyle azot miktarlarının saptanması ve 6,38 faktörü ile çarpılmasıyla belirlenmiştir (IDF 1993). Peynir örneklerinde tuz miktarı örneğin ayarlı 0,1 N $AgNO_3$ ile asitlik değeri ise örneğin ayarlı 0,1 N NaOH ile titre edilmesiyle tespit edilmiştir. Peynir örneklerinde pH ölçümü için ise 10 g Beyaz peyniri 15 mL saf su içerisinde iyice homojenize edilmiş ve pH-metre kullanılarak ölçüm yapılmıştır. Beyaz peynir örneklerinin kuru maddede yağ oranı (%), yağ miktarının kuru madde miktarına bölünmesiyle, kuru maddede tuz oranı (%) ise tuz miktarının kuru madde miktarına bölünmesiyle hesaplanmıştır.

Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Beyaz peynir örneklerinde TAMB sayımı için Plate Count agar (PCA), LAB sayımı için MRS ve M17 agar, *Enterococcus* cinsi bakteri sayımı için Kanamycin Esculin Azide agar (KAA) ve maya-küf sayımında ise Potato Dextrose agar (PDA) kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına yayma yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra uygun sıcaklık ve sürelerde inkübasyona bırakılmıştır. Ardından koloni içeren petriler sayılmıştır (Harrigan 1998).

Peynir örneklerinde azot fraksiyonlarının belirlenmesi

pH 4,6'da çözünen azot oranının belirlenmesi

Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot oranlarının belirlenmesi amacıyla, 20 g peynir örneği tartılmış, 40 °C'de 40 mL saf su ilave edilerek Ultra Turrax homogenizer ile 2 d homojenize edilmiştir. Homojenatın pH'sı 1 M HCl ile 4,6'ya getirildikten sonra, karışım 40 °C'deki su banyosunda 1 saat tutulmuş, 3000 × *g*'de 4 °C'de 30 d santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki yağ tabakası bir spatülle uzaklaştırılmış ve sıvı kısım Whatman No: 113 numaralı filtre kâğıdından süzülmüştür. Süzülen filtrat saf su ile 100 mL'ye tamamlanmış ve filtrattan 10 mL alınarak standart mikro-Kjeldahl metodu ile pH 4,6'da çözünen azot miktarı belirlenmiştir. Kalan filtrat TCA'da ve PTA'da çözünen azot tayini için muhafaza edilmiştir. pH 4,6'da çözünen azot miktarı aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (Kuchroo and Fox 1982; Hayaloğlu *et al.* 2011). Aynı zamanda peynir örneklerine ait pH 4,6'da çözünen/çözünmeyen azot fraksiyonları peptit profili ile üre-PAGE jel elektroforezi analizlerinde kullanılmak üzere dondurulmuştur.

$$\text{pH 4,6'da Çözünen Azot} = \frac{[1{,}4 \times (V_1 - V_0) \times N \times F]}{M}$$

V_1: Örnek için harcanan HCl, mL

V_0: Kör denemede harcanan HCl, mL

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

F: HCl çözeltisinin faktörü

M: Örnek miktarı, g

Trikloroasetik asit (TCA)'te çözünen azot oranının belirlenmesi

Daha önce hazırlanan filtrattan 25 mL alınmış ve eşit hacimde %24'lük (ağırlık/hacim) TCA ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Karışım Whatman No: 42 numaralı filtre kağıdından süzülmüş, filtrat 50 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır (Polychroniadou *et al.* 1999). Süzüntüden 10 mL alınmış, standart mikro-Kjeldahl metodu ile %12'lik TCA'da çözünen azot miktarı belirlenmiştir. Sonuçlar yukarıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

Fosfotungstik asit (PTA)'te çözünen azot oranının belirlenmesi

Daha önce hazırlanan filtrattan 5 mL alınmış, üzerine 3,5 mL 3,95 M H_2SO_4 ile 1,5 mL %33,3'lük PTA çözeltisinden ilave edilmiş, karışım 4 °C'de bir gece bekletildikten sonra Whatman No: 542 filtre kağıdından süzülmüştür (Jarrett *et al.* 1982; Hayaloğlu *et al.* 2011). Süzüntünün azot içeriği standart mikro-Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir. %5'lik PTA'da çözünen azot miktarı yukarıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

pH 4,6'da, TCA ve PTA'da çözünür azot fraksiyonlarına ait olgunlaşma indeksi değerleri (%) ise çözünür azot fraksiyonlarına ait değerlerin toplam azot değerlerine bölünmesiyle hesaplanmıştır.

Peynir örneklerinde proteolizin üre–poliakrilamid jel elektroforezi (üre–PAGE) ile belirlenmesi

Peynir örneklerinde Üre-PAGE elektroforezi uygulamasında Elektroforez Protean II XI dikey slab-jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, İngiltere) kullanılmıştır. Bu amaçla dondurularak kurutulmuş pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlardan 10 mg tartılmış, %49 üre içeren 1 mL örnek tamponu içerisinde çözündürülmüştür. Hazırlanan örneklerden 7 µL jele yüklenmiş ve yoğunlaştırıcı jel tamponu boyunca 280 V'da, ayırıcı jel tamponu boyunca 300 V'da yürütülmüştür. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra oluşan jeller bir gece boyunca Comassie brillant blue G-250 içeren çözeltide bekletilmiş, boya su ile uzaklaştırılmış, ardından oluşan bantlar HP Scanjet G4010 (Hewlett Packard Co., Palo Alto, CA, Amerika) kullanılarak taranmıştır (Andrews 1983; Hayaloğlu *et al.* 2011). Elektroforetogramdaki protein bantları sodyum kazeinat standartı referans alınarak isimlendirilmiştir.

Peynir örneklerinde peptit profilinin belirlenmesi

Peynir örneklerinin peptit profili pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonunda RP-HPLC cihazı (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Öncelikle dondurularak kurutulmuş pH 4,6'da çözünen fraksiyonlardan dikkatle 10 mg tartılmış ve 1 mL %0,1 trifloroasetik asit (TFA) çözeltisi içerisinde çözündürülmüştür. Ardından 0,45 µm selüloz asetat filtreden geçirilmiş ve filtrattan 80 µL alınarak HPLC cihazına enjekte edilmiştir. Ayrım için C8 kolon (250 mm x 4,6 mm x 5 µm, 300 ^{o}A por hacmi) kullanılmış ve elüsyon işlemi 214 nm'de gerçekleştirilmiştir (Hayaloğlu *et al.* 2013a). Mobil faz olarak; akış hızı 0,75 mL/d olan solvent A [%0,1 TFA (Trifloroasetikasit; v/v) içeren HPLC–grade deiyonize saf su (Milli–Q system; Waters Corp., Molsheim, Fransa)] ve solvent B [%0,1 TFA içeren asetonitril (v/v) (Sigma-Aldrich, UHPLC plus, Amerika)] kullanılmıştır. Elüsyon gradiyentli olarak gerçekleştirilmiş ve akış programı Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 4. Peptit Profiline Ait RP-HPLC Analizinde Hareketli Faza Ait Çözeltilerin Kromatografi Süresi İçerisinde Kolondan Geçiş Oranları

Süre (d)	Hareketli Faz A (%)	Hareketli Faz B (%)
0	0	0
5	100	0
60	70	30
75	50	50
80	40	60
85	5	95
90	5	95
95	100	0
105	100	0

Peynir örneklerinde GABA ve serbest amino asit içeriğinin belirlenmesi

Peynir örneklerinde serbest amino asit tayini için; 5 g peynir örneği falcon tüplerine tartılmış, üzerine 0,1 N HCl çözeltisinden 10 mL eklenmiş ve ultraturraksta 5 d boyunca homojenize edilmiştir. Homojenize edilen peynir süspansiyonu, 20 d süreyle ultrasonik su banyosunda bekletilmiş, ardından 3000 *x g*'de 4 °C'de 10 d santrifüj edilmiştir. Süpernatanttan 1 mL alınıp, üzerine 1 mL %40'lık TCA ilave edilmiş ve 4 °C'de 10 d bekletilmiştir. Daha sonra 20000 *x g*'de 4 °C'de 10 d santrifüj edilerek deproteinize edilmiş 25 µL supernatant liyofilize edilerek kurutulmuştur. Kurutma işlemini takiben üzerine 20 µL eşleme tamponu (metanol:1M sodium asetat:trietilenamin; 2:2:1) eklenmiş ve yeniden liyofilize edilmiştir. Ardından kurutulmuş örnek üzerine 20 µL türevlendirme tamponu (metanol: trietilenamin:deiyonize su:fenilizotiyosiyonat; 7:1:1:1) ilave edilmiş, hızlıca çalkalandıktan sonra oda sıcaklığında 20 d bekletilmiştir. Son olarak yeniden liyofilize edilmiş ve 1 mL seyreltme tamponu ilave edilerek 0,20 µm çapındaki filtreden geçirilmiştir. Filtre edilmiş

örnekten 20 µL alınarak HPLC kolonuna enjekte edilmiştir (Hayaloğlu *et al.* 2011). Hareketli faz A olarak pH'sı asetik asitle 6,55'e ayarlanmış %2,5 asetonitril içeren 70 mM sodyum asetat çözeltisi kullanılmıştır. Hareketli faz B ise asetonitril: deiyonize su: metanol 9:8:3 (v/v/v) oranında karıştırılmasıyla hazırlanmış, her iki solvente 10 mg/L olacak şekilde disodyum etilendiamintetraasetik asit (Na_2EDTA) ilave edilmiş ve 254 nm de 45 °C'de 1 mL/d akış oranı ile kolona enjekte edilmiştir (Tablo 5). Peynir örneklerinde amino asitlerin ayrımı Kromasil 100-5C18 (150 x 4,6 mm) kolonu kullanılarak yapılmıştır, amino asit konsantrasyonları mg/100 g olarak verilmiştir.

Aynı şekilde amino asit ve GABA standartları 0,1 N HCl içerisinde hazırlanmış ve HPLC cihazına örnek enjeksiyonu yapılmadan önce tek tek cihaza enjekte edilerek alıkonma süreleri saptanmıştır. Daha sonra karışım halindeki serbest amino asit standartları en yüksek konsantrasyondan en düşüğe doğru kolona enjekte edilmiştir. Gerçekleştirilen ayırım sonrasında tüm serbest amino asitler için HPLC sisteminin yazılım programında standart eğri oluşturularak hesaplamalar yapılmıştır.

Tablo 5. Amino Asit Analizinde Hareketli Faz Çözeltilerinin (A ve B) Kromatografi Süresi İçerisinde Kolondan Geçiş Oranları

Süre (d)	Hareketli Faz A (%)	Hareketli Faz B (%)
0	95	5
11	65	35
16	50	50
20	30	70
25	30	70
30	95	5
35	95	5

Peynir örneklerinde SPME/GCMS ile uçucu bileşiklerin belirlenmesi

Peynir örneklerinde uçucu bileşenlerin belirlenmesi amacıyla 3 g rendelenmiş peynir örneğinden 15 mL'lik cam viallere tartılmış ve üzerine 10 µL metanolde hazırlanmış 100 ppm'lik 2-methyl-3-heptanone içeren internal standart ilave edilmiştir. Örnekler ısıtma ünitesinde 40 °C'de 30 d bekletilmiş, ekstraksiyon işlemi 75 µm carboxen-polydimethylsiloxane fiber (Supelco SPME Fiber, 75 µm Carboxen-PDMS, Bellefonte, Amerika) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fiber açık konumda örnek içeren vialin tepe boşluğunda 40 °C'de 30 d süreyle tutulmuş, ekstrakte edilecek uçucu bileşiklerin desorpsiyonu ise Shimadzu GC gaz kromatografisi sistemi ve buna bağlı Shimadzu QP–2010 kütle spektrometresi cihazında yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/d akış oranına sahip helyum gazı kullanılmış ve uçucu bileşikler HP-5MS kolon (60 m x 0,250 mm x 0,25 µm) kullanılarak ayrılmıştır.

Fırın sıcaklığı 40 °C'de 2 dakika tutulmuş (desorpsiyon periyodu), dakikada 5 °C olmak üzere sıcaklık 70 °C'ye yükseltilmiş ve bu sıcaklıkta 1 d tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık, dakikada 10 °C artışla 240 °C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 47 dakika tutulmuştur. Aroma maddeleri örneklerin analiz edildiği çalışma koşullarında sisteme alkan serisi (C10–C26) verilerek RI (retention index) değerlerinin hesaplanmasıyla belirlenmiş, örnekteki her bir uçucu bileşiğin RI değeri Wiley Registry of Mass Spectral Data (7th edition, www.wiley.com), NIST/EPA/ NIH 02 mass spectral library (www.nist.gov) kütüphaneleri ve aynı koşullardaki literatür verileriyle karşılaştırılmıştır. Peynir örneklerindeki uçucu bileşenlerin miktarları ise internal standartın pik alanıyla karşılaştırılmasıyla µg/100g olarak belirlenmiştir (Hayaloğlu *et al.* 2013b).

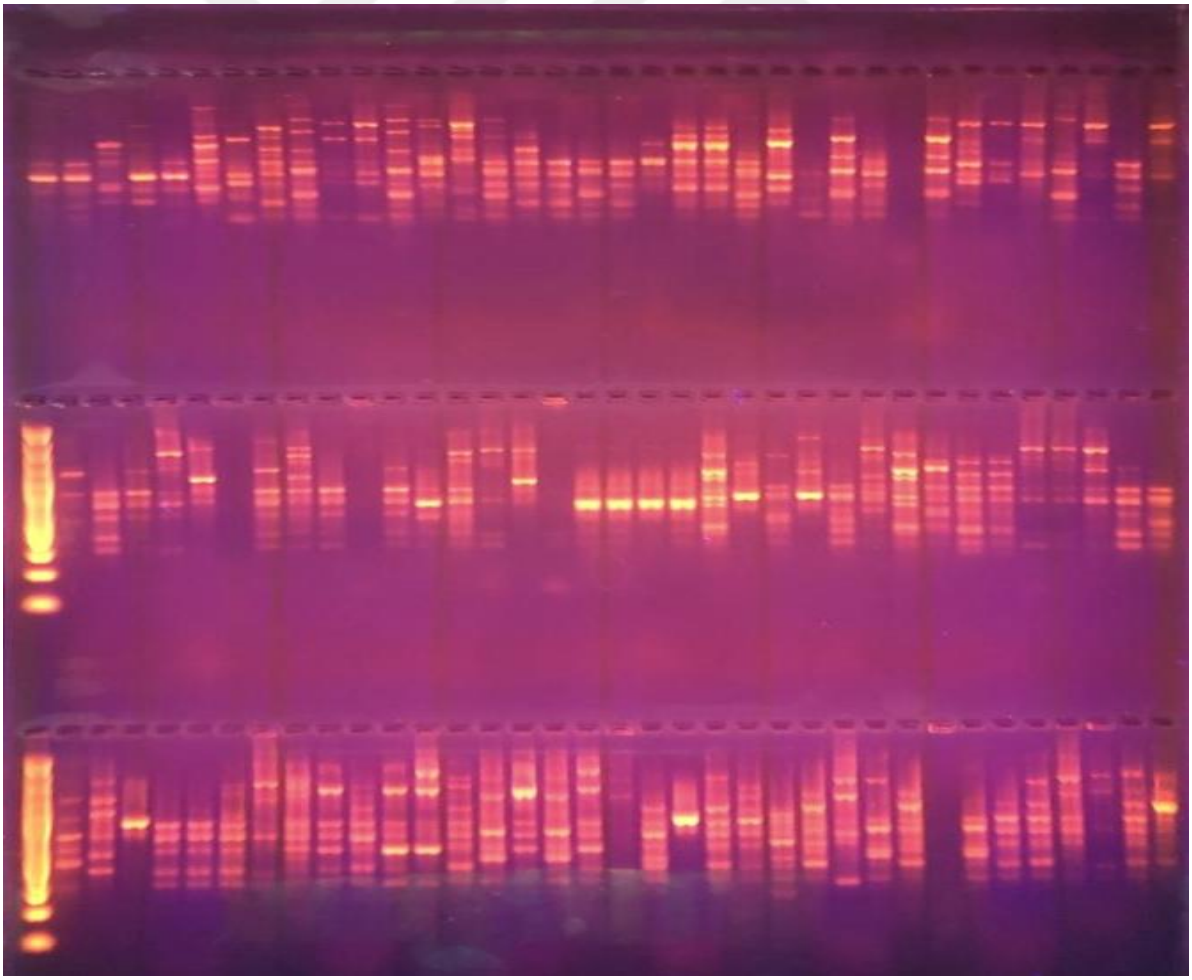
Deneme planı ve istatistiki analizler

Araştırma 4 farklı starter kültür kombinasyonu (kontrol, A, B, C) x 2 farklı muhafaza şekli (salamura ve vakum ambalaj) x 5 farklı olgunlaşma süresi (1., 30., 60., 90., 120. günler) x 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. Peynir örneklerine ait analiz sonuçları SPSS for Windows Release ver. 26.0.1 paket programında varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli bulunan ortalamalara Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

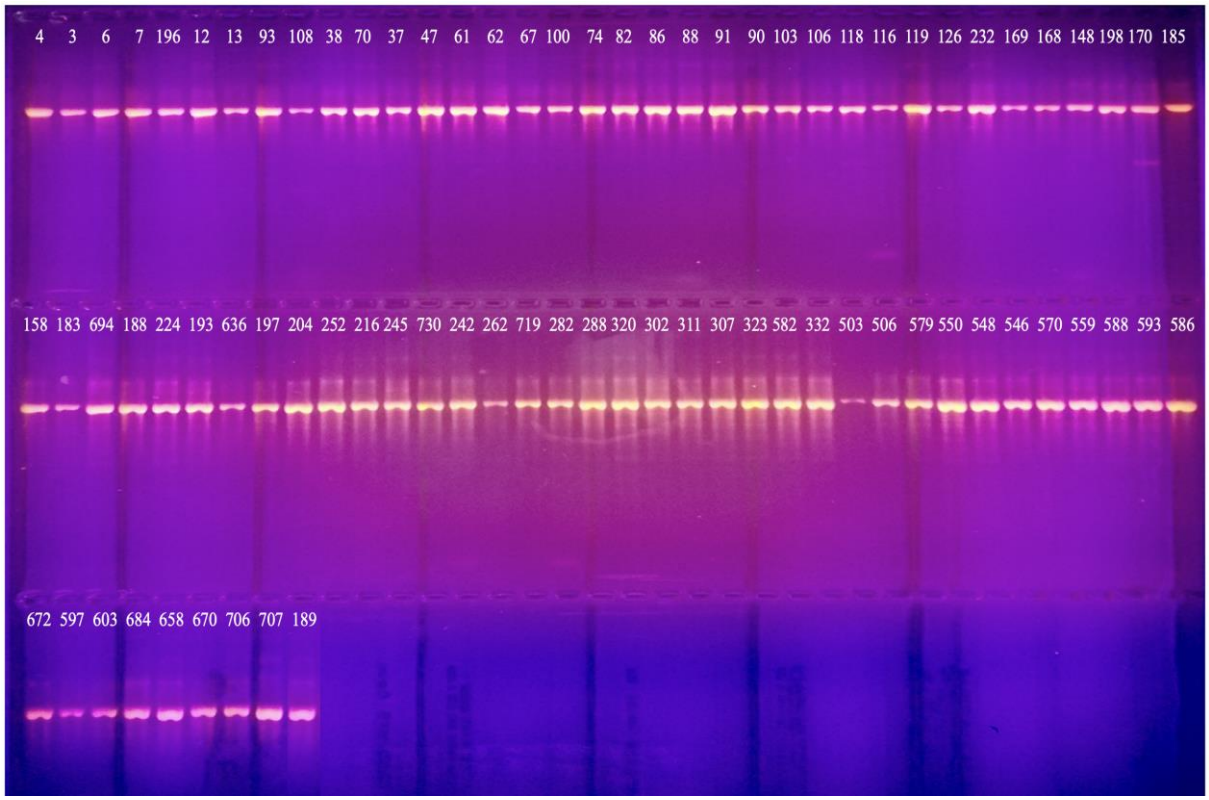
Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinden İzole Edilen LAB'ların Genetik Tanı Sonuçları

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinin her birinden 15'er adet olmak üzere toplam 45 adet peynir örneği LAB'ların izolasyonu için araştırma materyali olarak kullanılmıştır. Bu amaçla uygun dilüsyonlardan MRS ve M17 agar besiyerlerine ekim yapılmış, farklı hücre morfolojisine sahip olduğu düşünülen toplam 878 izolat muhtemel LAB'lar olarak seçilmiştir. Yapılan Gram boyama, katalaz testi ve morfolojik incelemeler sonucunda MRS besiyerinden izole edilen 449 izolattan 304'ünün, M17 besiyerinden izole edilen 429 suştan 203'ünün LAB olduğu belirlenmiş ve araştırmaya toplam 507 izolat ile devam edilmiştir. İzole edilen LAB'lar genotipik ayrımlarının gerçekleştirilmesi amacıyla RAPD-PCR analizine tabii tutulmuştur. RAPD-PCR analizi sonucunda bazı izolatlara ait PCR ürünlerinin agaroz jelde yürütülmesiyle elde edilen görüntü Şekil 9'da verilmiştir.



Şekil 9. Bazı LAB izolatlarının agaroz jel elektroforezi sonucunda oluşturduğu bantlar

RAPD-PCR analizi sonucunda 507 suşa ait bantlar değerlendirilmiş, benzer özellikteki bantlar gruplandırılmış ve her bir gruba ait birer adet temsili numune 16S rRNA geninin çoğaltılması için seçilmiştir. Böylece toplamda 81 izolat sekans analizine gönderilmiştir. Sekans sonuçları BLAST (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) programı kullanılarak değerlendirilmiş, izole edilen LAB'ların cins ve türleri belirlenmiştir. Tanı sonuçları Tablo 6'da sunulmuştur. Sekans analizine gönderilen suşların 16S rRNA işlemine ait bant görüntüleri Şekil 10'da verilmiştir.

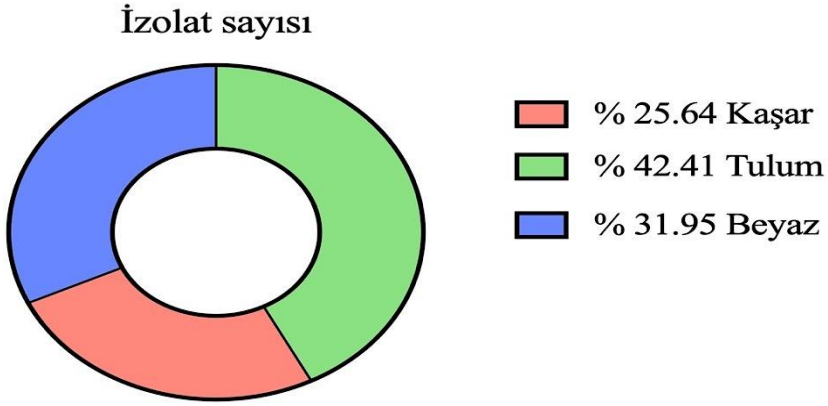


Şekil 10. Temsili suşların 16S-rRNA PCR işlemine ait bant görüntüleri

Sekans analizi sonucunda izole edilen suşların 16 farklı cinse ve bu cinslere ait 30 farklı türden oluştuğu tespit edilmiştir. İzole edilen türler içerisinde *Lacticaseibacillus paracasei*'nin neredeyse tüm peynirlerden izole edildiği, 135 suş (%26,63) ile en fazla tespit edilen tür olduğu, bunu 42 (%8,28) suş ile *Lactiplantibacillus plantarum*, 39 (%7,69) suş ile *Enterococcus italicus*, 34 (%6,71) suş ile *Lactococcus lactis* ve yine 34 (%6,71) suş ile *Enterococcus faecium*'un takip ettiği belirlenmiştir. Aynı zamanda *L. paracasei*'nin 17 farklı DNA fingerprint ile en fazla çeşitliliğe sahip tür olduğu tespit edilmiştir. Yukarıda belirtilen suşlara ilaveten tanısı yapılan diğer türlerin de süt ve ürünlerinde bulunabilen mikroorganizmalar olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan değerlendirildiğinde *L. lactis* gibi süt sektöründe ana starter kültür olarak sıklıkla kullanılan bakterilerin izole edilmiş olması muhtemel starter kültür geliştirme çalışmaları için umut vermekte, aynı zamanda yüksek sayılarda izole edilen *L. paracasei* ve *L. plantarum* suşlarınında değerlendirilmesi gerektiğini düşündürmektedir.

Bir diğer dikkat çekici nokta *Levilactobacillus* ve *Secundilactobacillus* cinslerinin sadece Tulum peynirinden, *Streptococcus, Lactobacillus* ve *Paucilactobacillus* cinslerinin Beyaz peynir örneklerinden, *Weissella*'nın ise sadece Kaşar peyniri örneklerinden izole edilmiş olmasıdır. Rüstemoğlu *et al*. (2023) bugüne kadar çoğu peynir çeşidinde *Weisella* cinsine giren türlerin (*W. thailandensis*, Meksika Cotija peyniri), (*W. hellenica*, Mozeralla), (*W. halotolerans*, Cheddar), (*W. viridescens*, Romanya peyniri) izole edildiğini, kendileri tarafından gerçekleştirilen araştırmada da Otlu peynirden izole ettikleri *W. jogaejeotgali*c'in ilk kez bir süt ürününde belirlendiğini ifade etmişlerdir. Gezginc *et al.* (2022) çiğ sütten üretilen ve 90 gün olgunlaştırılan Tulum peynirlerinin kompleks bir floraya sahip olduğunu, özellikle *Lactobacillus, Lactococcus, Streptococcus, Leuconostoc, Enterococcus, Pediococcus* cinslerinin tüm örneklerde baskın bakteri cinsleri olduğunu bildirmişlerdir. Bulut Albayrak and Duran (2021) geleneksel yöntemle üretilen uzun süre olgunlaştırılmış Beyaz peynirlerden izole edilen 40 adet LAB'ın tümünün *Enterococcus* cinsine ait olduğunu, seçilmiş suşların *E. faecium, E. faecalis* ve *E. durans* olarak tanımladığını ve uzun dönem olgunlaştırılan peynirlerde olumsuz çevre koşulları nedeniyle enterokokların hâkim florayı oluşturduğunu bildirmişlerdir. Aydemir *et al.* (2015) Kars ilinde faaliyet gösteren süt tesislerinde üretilen ve 180 gün olgunlaştırılan Kaşar peynirlerinden 594 LAB suşunu izole etmişler, *L. casei* (247 izolat, %41,6), *L. plantarum* (77 izolat, %13,0) ve *P. acidilactici* (58 izolat, %9,8) izolatlarının olgunlaşma boyunca tüm Kaşar peynirlerinde hâkim türler olduklarını ifade etmişlerdir. Farklı araştırmacılar tarafından Beyaz, Tulum ve Kaşar peynirlerinde belirlenen LAB türleri mevcut araştırma sonuçları ile paralellik göstermektedir.

İzolatların peynir çeşitlerine göre dağılımı değerlendirildiğinde; 507 izolatın 215'inin Tulum, 162'sinin Beyaz, 130'unun ise Kaşar peynir orjinli olduğu görülmektedir (Şekil 11). Bu durumun peynirlerin üretim metotlarındaki (ısıl işlem, tuzlama vb.) farklılıklardan kaynaklandığı, özellikle Tulum peynirlerinin genel olarak çiğ sütten üretilmiş olması, üretimi sırasında doğal mikrofloranın azalmasına neden olabilecek herhangi bir ısıl işlem uygulanmaması ve genel olarak tuz içeriklerinin daha düşük olması izole edilen bakteri sayısının ve çeşitliliğinin daha fazla olmasının nedeni olarak düşünülebilir.



Şekil 11. LAB izolatlarının peynir çeşitlerine göre dağılımı

Tablo 6. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Genetik Tanı Sonuçları

Sıra	Genetik tanı sonucu	Genetik benzerlik oranı (%)	Sekans ID	Temsil ettiği izolat sayısı	Temsil ettiği izolatların kodları	Numune kodu
1	***Pediococcus parvulus***	100,00	EU331254.1	6	1, 2, 4, 5, 79, 580	T1, T5, T7
		100,00	EU331254.1	3	297, 318, 320	K11, K15
2	***Loigolactobacillus coryniformis***	99,10	MT045585.1	1	3	T1
		99,85	MG462029.1	1	6	T1
		99,70	MG462029.1	4	36, 37, 39, 95	B1, T6
		99,21	LR216276.1	3	326, 518, 582	T3, T7, T13
3	***Levilactobacillus brevis***	98,50	MT611674.1	3	7, 10, 11	T2, T3
		98,19	KF851331.1	4	63, 65, 67, 140	T4, T12
		99,71	MT611674.1	12	71, 77, 81, 83, 98, 99, 100, 110, 121, 128, 136, 137	T5, T6, T7, T8, T10, T11, T12
		99,03	JX185494.1	6	132, 332, 334, 338, 340, 343	T11, T14, T15
		98,80	MT611674.1	6	553, 561, 562, 564, 570, 601	T4, T5, T10
4	***Lacticaseibacillus paracasei***	100,00	CP072181.1	12	15, 73, 80, 109, 111, 177, 195, 196, 335, 336, 617, 640	B8, B11, T3, T5, T8, T12, T14
		99,30	MW716238.1	3	9, 12, 64	T2, T3, T4
		99,29	MT604878.1	10	19, 38, 92, 102, 133, 157, 164, 187, 270, 274	B1, B6, B10, K1, K7, K8, T6, T7, T11
		99,56	MT613509.1	1	90	T6

Tablo 6. (Devamı)

		98,92	MT597664.1	2	103, 181	B9, T7
		100,00	MT613509.1	3	117, 119, 130	T9, T11
		100,00	CP072181.1	6	141, 142, 232, 233, 235, 238	B4, K2, K3
		99,83	MW243989.1	3	155, 182, 185	B5, B9
		97,82	MT549177.1	2	180, 694	B9, K6
		99,67	MH393099.1	4	186, 188, 191, 220	B9, B10, B15
		99,85	MW463775.1	11	213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 267, 269, 279, 299	B14, B15, K7, K8, K11
		99,32	CP072181.1	5	254, 258, 262, 264, 278	K5, K6, K8
		98,34	CP041944.1	39	501, 502, 503, 504, 505, 508, 511, 517, 538, 552, 554, 555, 557, 560, 565, 567, 568, 569, 571, 573, 574, 575, 576, 577, 583, 584, 592, 594, 595, 598, 722, 723, 726, 727, 729, 731, 736, 737, 738	B2, T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T13, T14, T15
		99,44	MW243991.1	2	559, 591	T4, T8
		99,46	CP072181.1	21	608, 611, 619, 621, 634, 644, 645, 646, 648, 651, 654, 655, 656, 663, 665, 683, 684, 687, 688, 732, 735	B4, B7, B8, B9, B10, B11, B13, K2, K3, T11, T15
		99,82	CP072181.1	10	668, 669, 670, 696, 702, 703, 708, 710, 713, 718	B14, K6, K7, K8, K9, K10, K11
		99,81	CP072181.1	1	706	K8
5	***Lactiplantibacillus paraplantarum***	99,85	MF429234.1	1	13	T3
6	***Secundilactobacillus malefermentans***	99,56	LC383829.1	2	14, 93	T3, T6
7	***Enterococcus faecium***	99,84	CP064443.1	25	18, 20, 41, 45, 46, 66, 69, 76, 107, 108, 145, 150, 152, 160, 161, 162, 244, 247, 277, 281, 291, 292, 293, 298, 300	B2, B4, B5, B6, K1, K4, K8, K9, K10, K11, K12, T4, T5, T7, T8
		99,40	CP016163.1	3	21, 68, 70	K1, T4
		99,70	MT634243.1	6	74, 78, 101, 163, 649, 692	B6, B9, K5, T5, T7
8	***Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei***	99,70	MG770030.1	2	44, 47	B2
		99,52	MG770030.1	1	224	B15

Tablo 6. (Devamı)

9	***Levilactobacillus cerevisiae***	97,71	NR_158030.1	1	61	T4
		98,05	NR_158030.1	1	62	T4
10	***Lentilactobacillus kefiri***	98,99	MH107106.1	1	82	T6
		99,51	MH107106.1	1	193	B10
11	***Companilactobacillus alimentarius***	98,96	MT645505.1	6	84, 85, 86, 87, 190, 734	B10, T6, T15
		99,58	MG049744.1	4	89, 91, 174, 178	B8, T6
12	***Levilactobacillus senmaizukei***	99,72	NR_041584.1	2	88, 94	T6
13	***Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum***	98,14	JN573602.1	5	106, 123, 149, 322, 329	B5, T7, T10, T13
14	***Leuconostoc mesenteroides***	99,85	MT545113.1	5	112, 114, 115, 118, 120	T8, T9
		98,70	MT542338.1	1	126	T10
		99,09	MT597709.1	2	151, 198	B5, B11
		99,84	MT545093.1	3	153, 170, 256	B5, B7, K5
		98,57	KJ026674.1	1	597	T9
15	***Lactiplantibacillus plantarum***	97,74	KT583294.1	42	8, 16, 72, 75, 96, 97, 104, 113, 116, 122, 124, 125, 127, 131, 134, 135, 138, 139, 156, 172, 173, 239, 255, 324, 328, 330, 331, 339, 341, 342, 344, 345, 507, 516, 589, 606, 609, 615, 685, 689, 691, 704	B6, B8, K3, K5, K8, T2, T3, T5, T7, T8, T9, T10, T11, T12, T13, T15
16	***Leuconostoc pseudomesenteroides***	99,26	MF098078.1	2	143, 169	B4, B7
17	***Lactococcus lactis***	97,25	MT645510.1	5	144, 159, 165, 168, 171	B4, B6, B7
		99,05	MF369874.1	5	199, 201, 202, 203, 204	B12
		99,05	MT545096.1	6	234, 337, 566, 581, 730, 739	K2, T5, T7, T14, T15
		99,23	MT597705.1	15	587, 596, 600, 602, 620, 628, 632, 660, 662, 664, 671, 672, 676, 728, 733	B4, B6, B13, B15, T8, T9, T10, T14, T15
		99,47	KY347896.1	3	657, 658, 659	B12
18	***Lacticaseibacillus rhamnosus***	99,84	MW714714.1	2	147, 148	B5
		98,87	MT613492.1	9	266, 276, 284, 287, 288, 295, 312, 624, 625	B5, K7, K8, K9, K10, K11, K14
19	***Enterococcus faecalis***	99,38	MT611693.1	3	158, 209, 210	B6, B13
		99,39	MT611694.1	2	506, 556	T2, T4

Tablo 6. (Devamı)

		100,00	MZ067236.1	15	539, 540, 578, 579, 599, 705, 709, 711, 712, 715, 716, 720, 721, 724, 725	B2, K8, K9, K10, K11, K14, T7, T9, T13
20	***Latilactobacillus curvatus***	99,71	KT351722.1	15	175, 179, 183, 184, 237, 271, 273, 275, 296, 327, 333, 513, 558, 590, 642	B8, B9, K3, K7, K8, K11, T3, T4, T8, T13, T14
		99,53	MT597551.1	6	306, 309, 311, 572, 629, 717	B6, K11, K13, T6
		99,68	MT597551.1	2	323, 325	T13
21	***Streptococcus equinus***	98,86	MN372131.1	3	194, 635, 636	B7, B11
22	***Lactococcus chungangensis***	98,76	KF193937.1	1	197	B11
23	***Lacticaseibacillus casei***	100,00	MK161059.1	22	200, 205, 206, 207, 208, 211, 212, 221, 222, 223, 225, 228, 230, 231, 246, 249, 250, 251, 252, 253, 666, 667	B12, B13, B14, B15, K4, K5
24	***Lentilactobacillus buchneri***	98,94	MG646781.1	4	226, 227, 229, 245	B15, K4
		99,17	MF662532.1	4	301, 302, 303, 304	K12
25	***Weissella halotolerans***	99,52	MT106829.1	7	236, 241, 242, 243, 248, 283, 285	K2, K3, K4, K9
		99,29	KC568554.1	13	257, 259, 261, 263, 265, 268, 272, 290, 313, 314, 315, 316, 719	K6, K7, K10, K13, K14
		99,95	MT106829.1	10	260, 280, 282, 286, 289, 294, 305, 317, 319, 321	K6, K9, K10, K11, K12, K15
		99,22	KC568554.1	2	307, 310	K13
26	***Streptococcus thermophilus***	99,52	MT613636.1	2	543, 550	B2, B3
27	***Streptococcus lutetiensis***	100,00	MT540572.1	2	545, 548	B3
28	***Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus***	99,51	MG551080.1	1	546	B3
29	***Leuconostoc lactis***	98,76	MT604792.1	2	563, 588	T5, T8
30	***Enterococcus gallinarum***	99,28	MT584665.1	2	585, 593	T8, T9
31	***Lactococcus lactis* subsp. *cremoris***	98,22	MT585515.1	2	586, 680	B15, T8
		99,83	MT544710.1	1	707	K8

Tablo 6. (Devamı)

32	***Enterococcus italicus***	99,17	MN994409.1	39	603, 604, 605, 607, 610, 612, 613, 614, 616, 618, 622, 623, 626, 630, 637, 638, 639, 643, 647, 650, 652, 653, 661, 674, 675, 677, 678, 679, 681, 682, 686, 690, 693, 695, 697, 698, 699, 700, 701	B4, B5, B6, B8, B9, B10, B13, B15, K3, K4, K6, K7, T10, T11, T12
33	***Paucilactobacillus wasatchensis***	99,87	NR_147709.	1	189	B10

-Altı çizili suşlar her bir grup için temsili olarak seçilmiş ve sekans analizine gönderilmiştir.

Beyaz, Kaşar ve Tulum Peynirlerinden İzole Edilen LAB'larda GAD Geninin Varlığı

Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden izole edilen toplam 507 izolatın tümü RT-PCR ile GAD geninin varlığı açısından test edilmiştir. RT-PCR işleminin optimizasyonu amacıyla GAD geni açısından *L. plantarum* 56 suşu pozitif, steril moleküler su ise negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Yapılan PCR testi sonucunda GAD genine sahip olduğu belirlenen suşların daha fazla doğrulanması amacıyla RT-PCR ile elde edilen amplikonlar HRM işlemine tabi tutulmuş ve tümünün benzer sekans yapısına sahip olduğu görülmüştür. Bazı izolatlara ait PCR, HRM ve HRM türevi görüntüleri Şekil 12'de, RT-PCR ile GAD aktivitesine sahip olduğu belirlenen *L. plantarum* 255 suşuna ait ilgili görüntüler ise Şekil 13'de sunulmuştur. Ayrıca elde edilen amplikonun boyutu (600 bp) agaroz jelde de görüntülenmiş (Şekil 14) test sonuçları bir kez daha doğrulanmıştır.

Yapılan PCR analizi sonucunda 507 izolattan sadece 40'ının (%7,89) GAD genine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 7). Taranan izolat sayısı dikkate alındığında az sayıda suşun GAD aktivitesine sahip olduğu görülmekte, bu durumun GABA üretim aktivitesinin suşa bağlı olarak değişiklik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Siragusa *et al.* (2007) 22 farklı İtalyan peynir çeşidinden izole ettikleri 440 adet LAB'dan sadece yaklaşık %14'lük bölümü gibi düşük oranının GABA üretebildiğini bildirmişlerdir. Ribeiro *et al.* (2018) geleneksel olarak çiğ sütten üretilen Pico peynirinden izole edilen 57 LAB izolatından sadece 7'sinin in vitro ortamda yüksek oranda GABA üretebildiğini, GABA üretebilme yeteneğine sahip suşların %12 gibi düşük bir orana karşılık geldiğini belirtmişlerdir. Santos Espinosa *et al.* (2020) Meksika peynirlerinden izole ettikleri 94 yabani LAB suşunun sadece 19'unun (%20) GABA üretebildiğini ifade etmişlerdir. Işık vd (2021) yoğurt ve kefir danelerinden izole edilen 422 adet izolatın hiçbirinde GAD geninin bulunmadığını bildirmişlerdir. Devi *et al.* (2023) pH indikatör yöntemiyle GABA üretim aktivitelerini test ettikleri 268 LAB'dan sadece 5'inin GABA üretebildiğini bildirmişlerdir.

GAD aktivitesi belirlenen 40 adet suş sekans analizine gönderilmiş, sekans analizi sonucunda tüm suşların *L. plantarum* türüne ait olduğu belirlenmiştir (Tablo 7). Birçok araştırmada LAB'lar arasında özellikle laktobasillerin GABA üreten suşlar olarak izole edildiğini, *L. plantarum* ve *L. brevis* suşlarının önemli GABA üreticileri oldukları belirtilmiştir. Benzer şekilde Sharma *et al.* (2021) fermente edilmiş süt pıhtısından izole ettikleri 29 adet LAB'dan sadece 1'inin GABA ürettiğini ve bu suşun *L. plantarum* türüne ait olduğunu bildirmişlerdir. Harnentis *et al.* (2019) Endonezya'ya özgü geleneksel fermente süt ürünü Dadih'ten izole ettikleri yüksek oranda GABA ürettiği belirlenen suşu *L. plantarum* olarak tanımlamışlardır. Siragusa *et al.* (2007) 22 adet İtalyan peynir çeşidinden izole edilen GABA üreten izolatların büyük çoğunluğunun *L. plantarum* (17) ve *L. paracasei* (16) suşlarından oluştuğunu ifade etmişlerdir.

Franciosi *et al.* (2015) İtalya'da geleneksel yöntemle çiğ sütten üretilen Nostrano peynirlerinden olgunlaşma sırasında izole ettikleri LAB'lara ait 97 baskın kümeyi GABA üretimi açısından taramışlar, toplam 68 suşun GABA ürettiğini, GABA üreten suşların çoğunluğunun *L. paracasei'*den oluştuğunu, *L. lactis, L. plantarum, L. rhamnosus, P. pentosaceus* ve *S. thermophilus* bakterilerinin de GABA sentezleyen türler arasında olduğunu bildirmişlerdir.

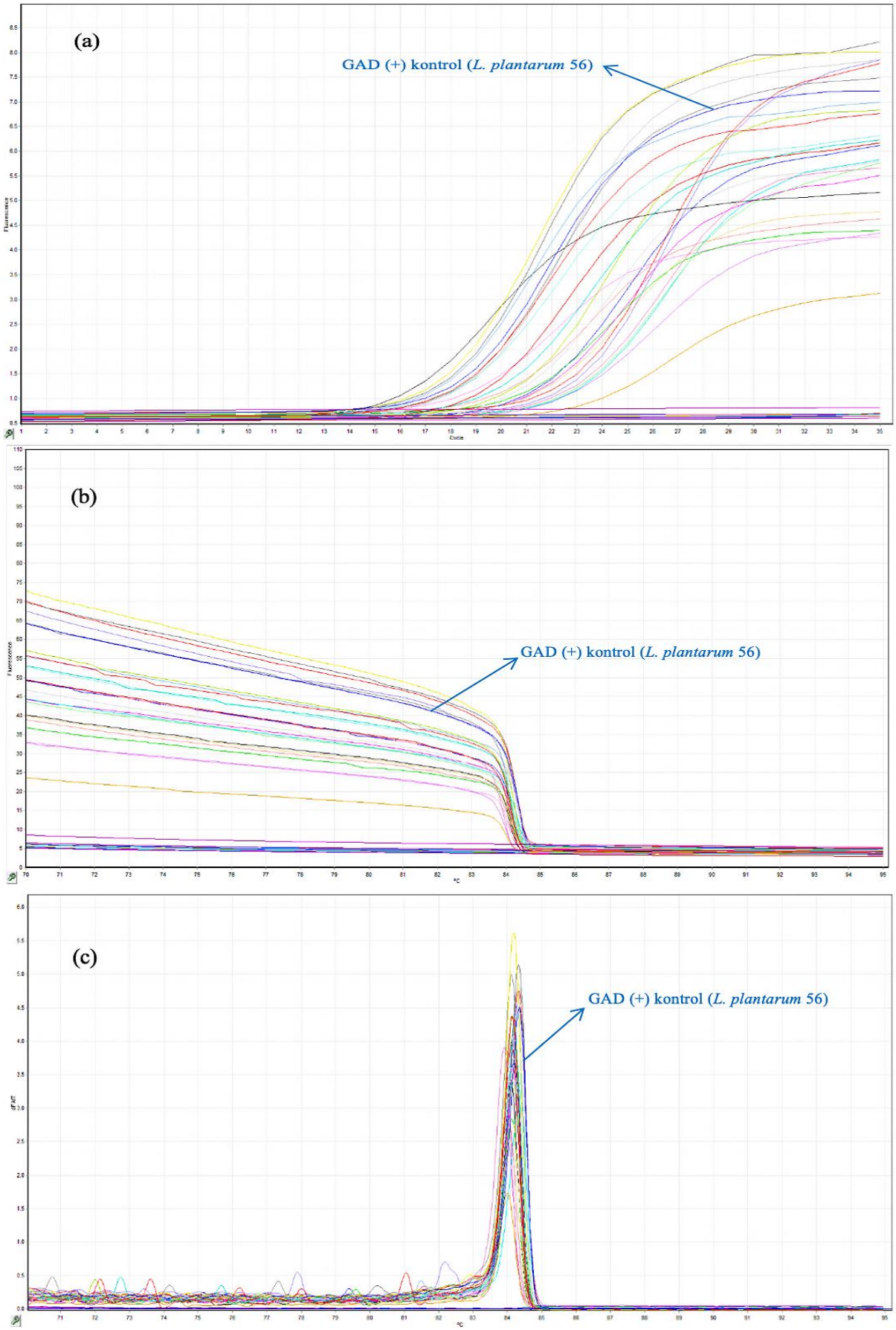
Diana *et al.* (2014a) geleneksel olarak üretilen İspanyol peynirlerinden izole edilen yüksek oranda GABA üreten LAB'ların *L. brevis* (CECT 8183, 8181, 8182) ile *L. lactis* 8184 suşlarından oluştuğunu bildirmişlerdir. Yogeswara *et al.* (2018) Endonezya'da üretilen fermente gıdalardan izole ettikleri LAB'lardan 6'sının GABA üretme yeteneğine sahip olduğunu, bu suşlardan 2'sinin yüksek oranda GABA üretebildiğini ve söz konusu suşların *L. plantarum* IFK-10 ve *Pediococcus pentosaceus* IFK-11 olarak tanımlandığını bildirmişlerdir.

Tablo 7. GAD (+) İzolatların Sekans Analiz Sonuçları

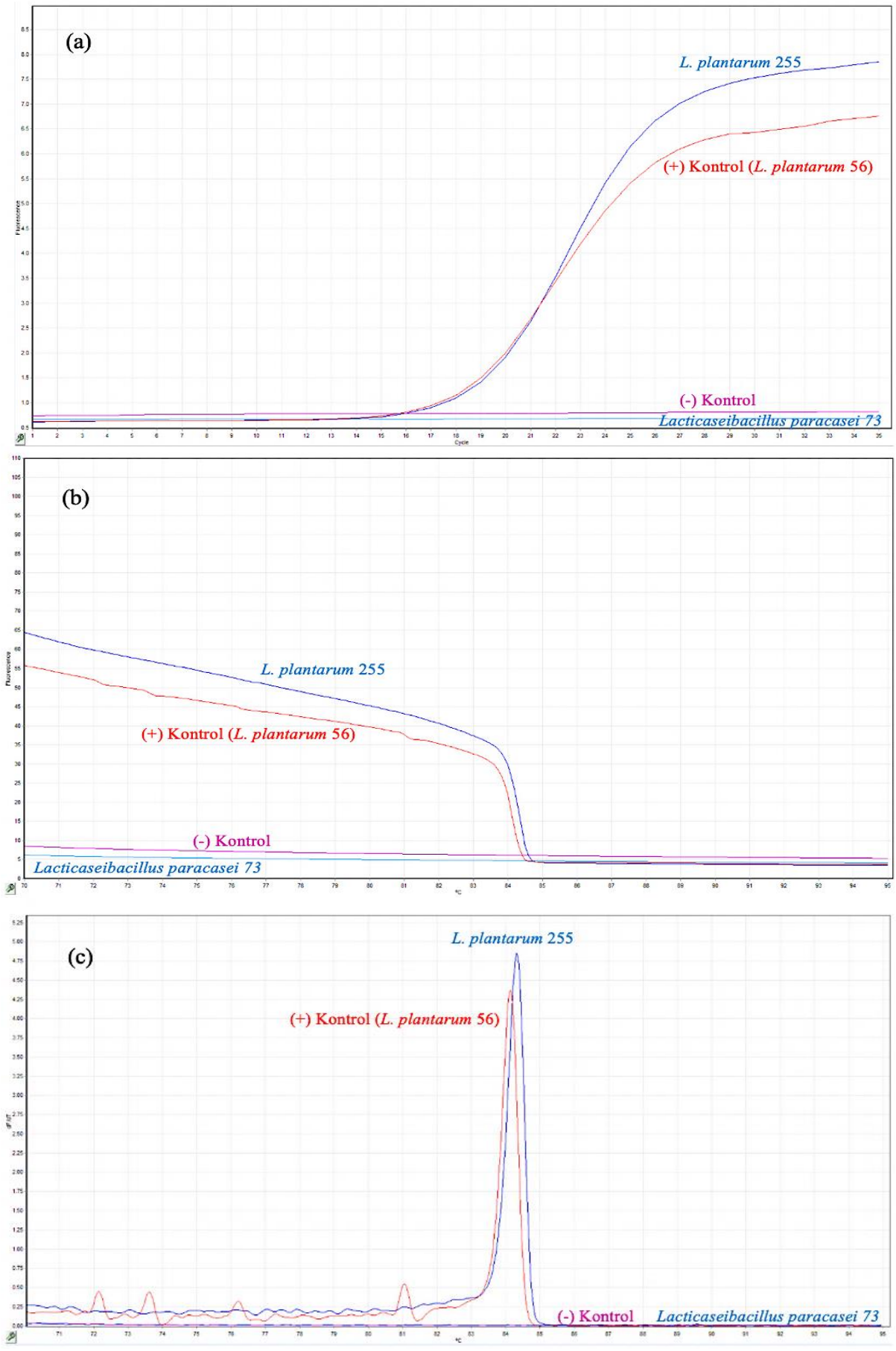
Sıra	Genetik tanı sonucu	Genetik benzerlik oranı (%)	Sekans ID	Temsil ettiği izolatın kodu	İzole edildiği peynir	Morfoloji
1	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,81	MT473428.1	8	T2	Basil
2	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,01	OM060675.1	16	T3	Basil
3	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,28	MK396544.1	72	T5	Basil
4	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,89	MK396544.1	75	T5	Basil
5	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,90	MW504943.1	96	T7	Basil
6	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,67	MH548356.1	97	T7	Basil
7	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,77	MK999916.1	104	T7	Basil
8	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,94	KM507560.1	113	T8	Basil
9	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,56	CP023728.1	122	T10	Basil
10	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,83	CP028261.1	124	T10	Basil
11	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,80	OM679322.1	127	T11	Basil
12	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,78	OM060675.1	131	T11	Basil
13	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,76	OM049402.1	134	T11	Basil
14	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,77	CP023728.1	135	T11	Basil
15	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,71	MN094358.1	138	T12	Basil
16	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,77	MW350034.1	139	T12	Basil
17	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,00	CP055123.1	156	B6	Basil
18	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,55	OM049402.1	172	B8	Basil
19	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,35	AB863736.1	173	B8	Basil
20	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,10	MW310246.1	239	K3	Basil

Tablo 7. (Devamı)

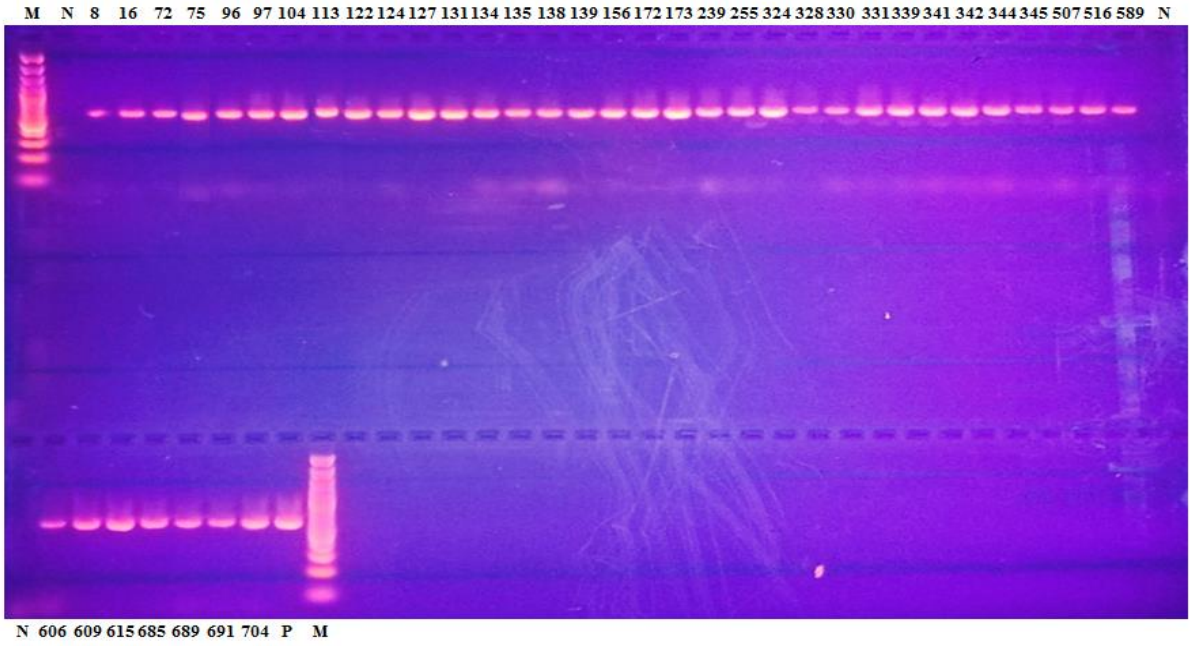
21	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,28	KJ690573.1	255	K5	Basil
22	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,58	MG988280.1	324	T13	Basil
23	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,47	MT109496.1	328	T13	Basil
24	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,58	CP025412.1	330	T13	Basil
25	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,14	MT613642.1	331	T13	Basil
26	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,52	MN493510.1	339	T15	Basil
27	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,82	MG646872.1	341	T15	Basil
28	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,96	KX649122.1	342	T15	Basil
29	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,71	AB761311.1	344	T15	Basil
30	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,58	MT150944.1	345	T15	Basil
31	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,87	MH079448.1	507	T2	Basil
32	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,02	KT581997.1	516	T3	Basil
33	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,33	CP023728.1	589	T8	Basil
34	*Lactiplantibacillus plantarum*	99,69	MH656848.1	606	T11	Basil
35	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,60	MF611828.1	609	T11	Basil
36	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,63	CP023728.1	615	T12	Basil
37	*Lactiplantibacillus plantarum*	98,03	KU892393.1	685	K3	Basil
38	*Lactiplantibacillus plantarum*	100,00	KX057558.1	689	K3	Basil
39	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,00	KF318862.1	691	K5	Basil
40	*Lactiplantibacillus plantarum*	97,24	KX057685.1	704	K8	Basil



Şekil 12. Bazı izolatlara ait PCR (a), HRM (b) ve HRM türevi (c) görüntüleri

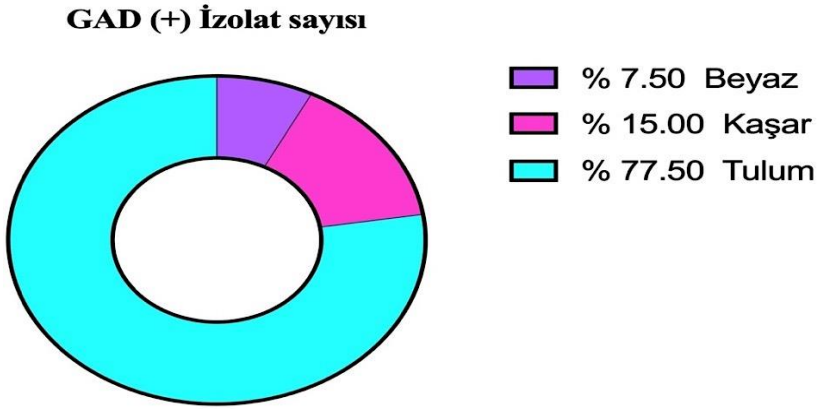


Şekil 13. *L. plantarum* 255 suşuna ait PCR (a), HRM (b) ve HRM türevi (c) görüntüleri



Şekil 14. GAD aktivitesine sahip tüm izolatlara ait PCR ürünlerinin agaroz jeli görüntüsü (**M**: Marker, **N**: (-) kontrol, **P**: GAD (+) kontrol (*L. plantarum* 56))

GAD (+) suşlarının peynirlere göre dağılımına bakıldığında; yaklaşık olarak %78'lik bölümün Tulum peynirinden izole edildiği, bunu sırasıyla Kaşar (6 izolat, %15) ve Beyaz (3 izolat, %7,50) peynirlerin izlediği tespit edilmiştir (Şekil 15). Analiz edilen 15 adet Tulum peynirinin 10 tanesinden GAD genine sahip *L. plantarum* izole edilebilmiştir. Bu durumun izolasyon için kullanılan Tulum peyniri örneklerinin çiğ sütten üretilmiş olması, üretimi sırasında herhangi bir ısıl işlem (pastörizasyon, haşlama vb.) uygulanmamış olmasına bağlı olarak mikrobiyal çeşitliliğin daha fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim çiğ sütten yapılan peynirlerin mikrobiyal biyoçeşitliliğe sahip olduğu ve sağlığı geliştirici özelliklere sahip yeni LAB suşlarının izolasyonu için uygun kaynaklar olabileceği bildirilmiştir. Benzer şekilde birçok araştırmacı çiğ süt peynirlerinin değerli bir mikrobiyal biyoçeşitlilik kaynağı olduğunu ve sağlığı geliştirici özelliklere sahip çok sayıda yeni LAB suşunu içerdiğini bildirmişlerdir (Diana *et al.* 2014a; Dovom *et al.* 2023).



Şekil 15. GAD (+) *L. plantarum* izolatlarının peynirlere göre dağılımı

GABA (+) İzolatlarının MRS Broth/Yağsız Süt Besiyerlerinde GABA Üretme Yetenekleri

LAB izolatları arasından GABA üretme kabiliyetine sahip suşların seçiminde genel olarak glutamik asit kaynağı olarak MSG ile zenginleştirilmiş besiyeri ortamları kullanılmaktadır. Bu nedenle RT-PCR yöntemiyle GAD genine sahip olduğu belirlenen *L. plantarum* izolatlarının MSG katkılı MRS broth ve yağsız süt besiyerlerinde GABA üretme yetenekleri kantitatif olarak test edilmiş, elde edilen veriler Tablo 8'de sunulmuştur. *L. plantarum* izolatının (134) GABA üretme yeteneğine ait örnek kromatogram Şekil 16'da verilmiştir.

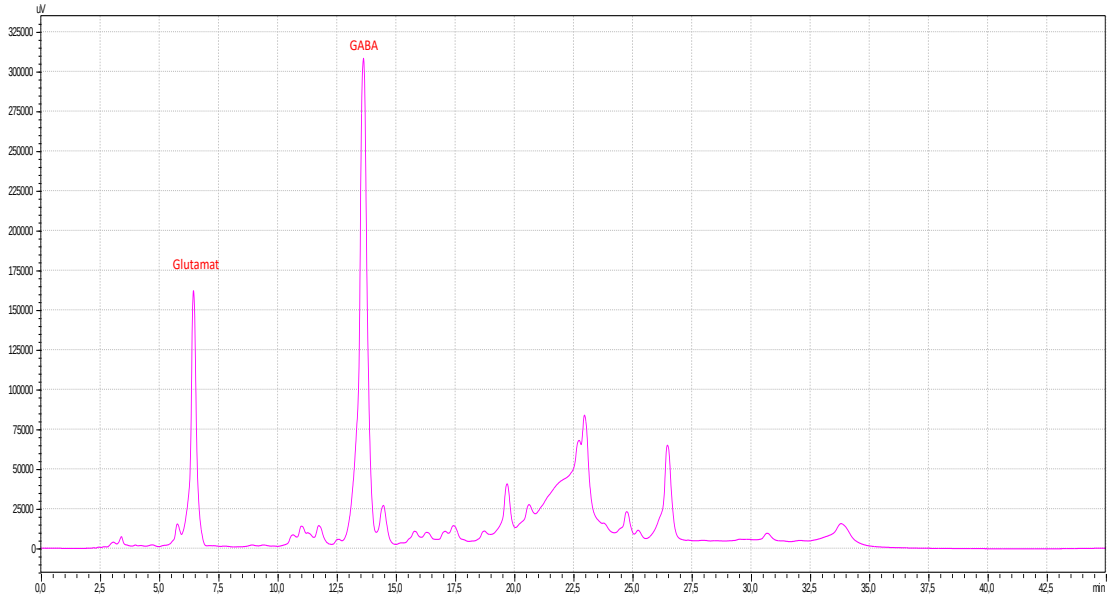
Tablo 8. GAD Genine Sahip Olduğu Belirlenen *L. plantarum* İzolatlarının MRS Broth ve Yağsız Süt Besiyerlerinde Tespit Edilen GABA Konsantrasyonları (mg/L)

Sıra No	İzolat Kodu (GABA +)	MRS broth	Yağsız süt
1	8	75,819	TE
2	16	83,055	2,144
3	72	94,257	1,146
4	75	67,651	2,646
5	96	92,768	3,633
6	97	10,948	1,259
7	104	154,709	0,904
8	113	41,480	0,344
9	122	102,197	0,620
10	124	66,002	0,805
11	127	80,466	2,855
12	131	71,855	2,545
13*	134	626,359	3,161
14	135	77,768	0,193
15	138	80,679	0,682
16	139	96,460	3,600
17	156	76,709	3,458
18	172	74,607	2,384
19	173	106,599	1,529
20	239	57,995	1,260
21*	255	165,056	5,403
22	324	87,489	5,371
23	328	53,861	0,881
24	330	106,114	0,978
25	331	549,717	1,027
26	339	93,682	3,472
27	341	86,224	0,632
28	342	87,830	0,607
29	344	92,582	0,186
30	345	489,868	0,417
31	507	145,572	0,461
32	516	111,533	0,457
33	589	230,472	0,969
34	606	78,878	1,767

Tablo 8. (Devamı)

35	609	76,001	0,465
36	615	34,899	0,481
37	685	72,255	0,631
38	689	196,076	4,065
39	691	229,990	0,484
40	704	68,045	0,818

* İşaretli olan izolatlar deneme Beyaz peynirlerinin üretiminde kullanılmıştır. TE: Tespit edilemedi.



Şekil 16. *L. plantarum*134 izolatının MRS brothda GABA üretimine ait HPLC kromatogramı

GAD genine sahip olduğu belirlenen *L. plantarum* izolatlarından biri dışında (8 nolu) tüm izolatların hem MRS brothda hem de yağsız süt besiyerinde farklı oranlarda GABA üretebildiği belirlenmiştir. Bu durumun GABA üretiminin türler hatta aynı tür içerisinde suşlar arasında bile farklılık göstermesinden kaynaklandığı, aynı zamanda genetik yapı farklılıklarınında GABA üretiminde etkili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim Abarquero *et al.* (2023) geleneksel peynirlerden izole ettikleri *L. lactis* ve *L. plantarum* suşlarında GABA üretim miktarlarındaki farklılıkların GABA biyosentez yolunda yer alan genetik alt yapıyla ilgili olabileceğini bildirmişlerdir. Yogeswara *et al.* (2018) bazı LAB cinsi veya türlerinin GABA üreten bakteriler olarak bilindiğini, ancak MSG'yi GABA'ya dönüştürme yeteneğinin suşa bağlı olduğunu ifade etmişlerdir.

MRS broth besiyerinde en yüksek GABA üretme kapasitesi (626,359 mg/L) Tulum peynirinden izole edilen 134 numaralı izolatta, en düşük konsantrasyon (10,948 mg/L) ise yine Tulum peynirden izole edilen 97 numaralı izolatta tespit edilmiştir. Aynı zamanda 104, 122, 173, 255, 330, 331, 345, 507, 516, 589, 689 ve 691 numaralı *L. plantarum* izolatlarınında 100

mg/L'nin üzerinde GABA üretebildiği belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada in vitro koşullar altında (MSG içeren MRS broth) >300 mg/L'nin üzerinde GABA sentezleyen suşları iyi GABA üreticileri olarak tanımlanmıştır (Ribeiro *et al.* 2018). Bu açıdan değerlendirildiğinde özellikle 134, 331, 345 numaralı *L. plantarum* izolatları yüksek GABA üreticisi (sırasıyla 626,359, 549,717 ve 489,868 mg/L) olarak düşünülebilir.

Yağsız sütte GABA üretme yetenekleri incelendiğinde 8 numaralı suş dışında tüm izolatların GABA üretebildiği, özellikle Kaşar peynirinden izole edilen 255 numaralı suşun yağsız sütte yüksek oranda (5,403 mg/L) GABA ürettiği görülmektedir. Aynı zamanda 96, 134, 139, 156, 324, 339 ve 689 numaralı suşlarında önemli sayılabilecek miktarlarda (>3 mg/L) GABA ürettiği belirlenmiştir. Tablo 8 incelendiğinde yağsız süt besiyerinde belirlenen GABA konsantrasyonlarının MRS brothda belirlenen değerlerden önemli derecede düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun kültür ortamının bileşimindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Kook and Cho (2013) GABA üreten bakterilerin aktif olarak çoğalabildiği optimal ortamda kültürlenmesi gerektiğini, optimal ortam bileşiminin GABA üreten LAB'ların türüne bağlı olarak değişebildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde fermantasyon yoluyla üretilen GABA konsantrasyonunun taranan suşların yeteneklerine ve fermantasyon koşulunun optimizasyonuna bağlı olarak farklılık gösterebileceği ifade edilmiştir. Santos-Espinosa *et al.* (2020) *Lactobacillus* spp. suşlarının 48 saat süre ile fermente edilmiş yağsız sütte 4,2 mg/L ile 11,2 mg/L gibi düşük konsantrasyonlarında GABA üretebildiğini, yüksek GABA konsantrasyonlarına ancak fermantasyon koşulları modifiye edildiğinde ulaşılabildiğini bildirmişlerdir. Benzer şekilde Seo *et al*. (2013) Kimchi'den izole ettikleri *L. brevis* 340G suşunun %1 MSG içeren MRS broth besiyerinde 48 saatlik inkübasyon sonunda 15,50 mM konsantrasyonunda GABA ürettiğini, buna karşılık aynı suşun yağsız sütte 4,64 mM konsantrasyonunda GABA ürettiğini bildirmişlerdir.

Sharma *et al.* (2021) fermente sütten izole ettikleri *L. plantarum* LP-9 suşunun %1 MSG katkılı MRS broth besiyerinde fermantasyonu sonucunda 0,86 g/L GABA ürettiğini, kültür koşullarının optimizasyonu ile GABA üretiminin iki kat (1,53 g/L) arttığını bildirmişlerdir. Yogeswara *et al.* (2018) fermente gıdalardan izole ettikleri ve GABA ürettiği belirlenen 6 adet suş arasında *L. plantarum* ve *P. pentosaceus* olarak tanımlanan 2 suşun %5 MSG içeren MRS broth besiyerinde yüksek oranda GABA (sırasıyla 2,68 mg/mL ve 2,06 mg/mL) ürettiğini belirlemişlerdir. Ribeiro *et al.* (2018) çiğ sütten üretilen Pico peynirinden izole ettikleri LAB'lar arasında 7 suşun 30 mg/mL MSG içeren MRS broth'da >300 mg/L'nin üzerinde GABA ürettiklerini, *L. plantarum* L2A21R1 suşunun en yüksek GABA (936,8 mg/L) üretim aktivitesine sahip suş olduğunu bildirmişlerdir. Devi *et al.* (2023) %2 MSG içeren MRS brothda

96 saatlik fermantasyon sonucunda *W. confusa* G2 suşunun 222,8 mg/L konsantrasyonunda GABA üretebildiğini ve laktobasil suşlarıyla karşılaştırıldığında GABA üretiminin düşük düzeyde kaldığını bildirmişlerdir. Söz konusu çalışmalar GABA üretme kapasitesinin LAB suşları arasında değişken bir özellik olduğunu ve fermantasyon koşullarının optimizasyonu ile GABA veriminin iyileştirilebileceğini göstermektedir.

Tanısı Yapılan İzolatların Bazı Teknolojik Özellikleri

Çalışmada elde edilen izolatlardan primer ve yardımcı kültür olarak kullanılacak olan suşların seçimi amacıyla sekans analizine gönderilen toplam 121 suş (40'ı *L. plantarum*, 81'i PCR analizi ile gruplandırılan temsili suşlar) Gram boyama, katalaz testi, morfolojik incelemeler ile glikozdan gaz üretme, farklı tuz ve sıcaklık derecelerinde gelişme yetenekleri, proteolitik ve asit üretme aktiviteleri açısından analiz edilmiştir. Bu izolatlara ait bazı teknolojik özellikler Tablo 9'da, asit üretim aktiviteleri ise Tablo 10'da verilmiştir. İlgili tablolarda bakteriler izolat kodu ile verilmiş, kodlara karşılık gelen bakteriler ise cins ve tür seviyesinde Tablo 6'da sunulmuştur.

Tablo 9 incelendiğinde Gram boyama, katalaz testi ve morfoloji açısından elde edilen verilerin sekans analizi sonucu belirlenen tanı bulgularıyla uyumlu olduğu görülmektedir. Özellikle glikozdan gaz oluşturan izolatların *L. brevis, L. cerevisiae, L. mesenteroides, L. pseudomesenteroides, L. buchneri* ve *W. halotolerans* türlerine ait olduğu belirlenmiştir. Bu türlerin hepsinin heterofermentatif LAB'lar olduğu ve gaz ürettiği bilinmektedir (De Vos *et al.* 2009). Çalışmada 121 suşun farklı sıcaklıklarda (10 ºC, 15 ºC ve 45 ºC) gelişimleri de incelenmiş (Tablo 9), ilgili suşların 55 tanesinin (%45,45) tüm sıcaklık derecelerinde geliştiği, 3 tanesinin (%2,48) hiçbir sıcaklık derecesinde gelişim gösteremediği belirlenmiştir. Gelişme gösteremeyen bu izolatların *L. cerevisiae* ve *S. malefermentans* gibi mezofilik türlere ait olduğu görülmüştür. Öte yandan tüm sıcaklık derecelerinde üreme gösteren suşların yaklaşık yarısının *L. plantarum* izolatlarından oluştuğu belirlenmiştir. Tüm izolatlar farklı sıcaklıklarda gelişme özellikleri açısından incelendiğinde ilgili literatürlerde verilen değerler ile uyumlu oldukları belirlenmiştir (Ertürkmen ve Öner 2015; Çetin vd 2017).

Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim karakteristiğinin belirlenmesi peynir üretiminde kullanılacak muhtemel starter kültürün tespit edilmesinde önemli kriter olarak ortaya çıkmaktadır. Tuz, peynir bileşiminin önemli bir komponenti olup, özellikle ülkemizde ticari öneme sahip Beyaz peynir üretiminde dikkat çekmektedir. Üretim prosedürü gereği Beyaz peynir salamura içinde olgunlaştırılan ve muhafaza edilen bir peynir çeşidi olup, bu süreçte peynir kitlesi yüksek oranda tuz içerebilmektedir. Bu nedenle yüksek tuz konsantrasyonlarında aktivite gösterebilen suşların belirlenmesi önem taşımaktadır. Çalışmada izole edilen suşların

25 tanesi (%20,66) tüm tuz konsantrasyonlarında gelişme göstermiş, hiçbir tuz konsantrasyonunda üremeyen suş tespit edilmemiştir. Tüm tuz konsantrasyonlarında gelişen suşlar izolasyon kaynağı açısından incelendiğinde büyük bir çoğunluğunun Tulum ve Beyaz peynirinden elde edildiği görülmektedir.

Tablo 9. Sekans Analizi Yapılan İzolatların Bazı Teknolojik Özellikleri

Sıra	İzolat kodu	Gram boyama	Katalaz testi	Morfoloji	Gaz üretimi	Proteolitik aktivite	Farklı sıcaklıklarda gelişim (48 saat)			Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişim (48 saat)		
							10ºC	15ºC	45ºC	%2	%6	%10
1	3	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	-	-
2	4	+	-	Kok	-	-	+	+	-	++	-	-
3	6	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+	-	-
4	7	+	-	Basil	+	-	+	+	-	+++	+	+
5	8	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
6	12	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
7	13	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	++	-
8	16	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
9	37	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
10	38	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	-
11	47	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
12	61	+	-	Basil	+	-	-	-	-	++	-	-
13	62	+	-	Basil	+	-	-	-	-	++	-	-
14	67	+	-	Basil	+	-	+	+	-	+++	+	-
15	70	+	-	Kok	-	-	+	+	++	++	+	+
16	72	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
17	74	+	-	Kok	-	-	+	+	++	++	+	-
18	75	+	-	Basil	-	-	+	++	++	+++	+++	+
19	82	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+	+	-
20	86	+	-	Basil	-	-	-	+	-	++	++	-
21	88	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+	+	-
22	90	+	-	Basil	-	-	-	+	-	++	+	-
23	91	+	-	Basil	-	-	-	+	-	++	+	-
24	93	+	-	Basil	-	-	-	-	-	+	+	-
25	96	+	-	Basil	-	-	-	+	+	+++	++	-
26	97	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	-
27	100	+	-	Basil	+	-	+	+	-	+++	-	-
28	103	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
29	104	+	-	Basil	-	-	+	++	-	+++	++	+
30	106	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	++	+
31	108	+	-	Kok	-	-	+	+	++	++	++	-
32	113	+	-	Basil	-	-	-	+	++	+++	+++	-
33	116	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	+++	-
34	118	+	-	Kokobasil	+	-	-	+	-	+++	++	-
35	119	+	-	Basil	-	-	+	+	-	++	+	-
36	122	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+++	-
37	124	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	+++	-
38	126	+	-	Kokobasil	+	-	+	+	+	+++	+	-
39	127	+	-	Basil	-	-	-	+	+	+++	++	-
40	131	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
41	134	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	+
42	135	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
43	138	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+++	++	-
44	139	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	+++	-
45	148	+	-	Basil	-	-	+	+	++	++	++	+
46	156	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	+++	-
47	158	+	-	Kok	-	-	-	-	+	++	++	+
48	168	+	-	Kok	-	-	+	+	+	++	++	-
49	169	+	-	Kokobasil	+	-	+	+	+	+++	+	-

Tablo 9. (Devamı)

50	170	+	-	Kokobasil	+	-	+	+	+	++	+	-
51	172	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+++	++	+
52	173	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+++	++	-
53	183	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	-
54	185	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	+
55	188	+	-	Basil	-	-	-	+	-	++	-	-
56	189	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+	+	-
57	193	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+	+	+
58	196	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	+
59	197	+	-	Kok	-	-	-	+	-	++	-	-
60	198	+	-	Kokobasil	+	-	-	+	-	+++	+	-
61	204	+	-	Kok	-	-	+	+	-	++	+	-
62	216	+	-	Basil	-	-	+	++	+	++	++	+
63	224	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	++	-
64	232	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	-
65	239	+	-	Basil	-	-	-	+	-	+++	++	-
66	242	+	-	Kokobasil	+	-	-	+	+	+	+	-
67	245	+	-	Basil	+	-	-	+	-	++	-	-
68	252	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	-
69	255	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	+
70	262	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
71	282	+	-	Kokobasil	+	-	+	+	+	+++	+	-
72	288	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	++	-
73	302	+	-	Basil	-	-	+	+	-	++	-	-
74	307	+	-	Kokobasil	+	-	+	+	+	++	-	-
75	311	+	-	Basil	-	-	+	++	+	++	+	+
76	320	+	-	Kok	-	-	+	+	-	+++	+	-
77	323	+	-	Basil	-	-	+	+	-	++	+	-
78	324	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	++	-
79	328	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+++	+
80	330	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	+	-
81	331	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	+++	-
82	332	+	-	Basil	+	-	+	+	-	+++	+	-
83	339	+	-	Basil	-	-	+	+	+	+++	++	-
84	341	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	++	-
85	342	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	+
86	344	+	-	Basil	-	-	+	+	-	+++	++	-
87	345	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	+++	+
88	503	+	-	Basil	-	-	+	++	+	+++	++	+
89	506	+	-	Kok	-	1,17±0,06	+	+++	+++	+++	+++	+
90	507	+	-	Basil	-	1,27±0,06	+	++	+	++	+	-
91	516	+	-	Basil	-	1,00±0,10	+	+	-	+	-	-
92	546	+	-	Basil	-	-	+	-	+++	++	-	-
93	548	+	-	Kok	-	1,90±0,01	-	-	+++	+++	+++	-
94	550	+	-	Kok	-	1,17±0,06	-	-	+	+++	+++	-
95	559	+	-	Basil	-	1,07±0,06	+	+	-	++	-	-
96	570	+	-	Basil	+	1,03±0,12	+	++	-	+++	++	+
97	579	+	-	Kok	-	1,13±0,12	+	+++	+	+++	+++	+
98	582	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	-	-
99	586	+	-	Kok	-	1,33±0,06	++	+++	-	+++	+	-
100	588	+	-	Kokobasil	-	-	+	+	-	+++	+++	-
101	589	+	-	Basil	-	-	+	++	+	++	+	-
102	593	+	-	Kok	-	-	+	++	+++	+++	+++	+
103	597	+	-	Kokobasil	-	1,03±0,15	-	+	-	+++	+++	-
104	603	+	-	Kok	-	-	-	+	-	+++	+++	-
105	606	+	-	Basil	-	-	+	+	+	++	+	+
106	609	+	-	Basil	-	1,03±0,06	+	++	+	+++	+	+
107	615	+	-	Basil	-	1,00±0,12	+	+	+	++	+	-
108	636	+	-	Kok	-	1,00±0,10	-	-	+	+	-	-
109	658	+	-	Kok	-	1,37±0,06	+	+++	-	++	+	-
110	670	+	-	Basil	-	1,23±0,06	-	+	-	+++	+	-

Tablo 9. (Devamı)

111	672	+	-	Kok	-	1,47±0,06	+	+++	-	+++	+	-
112	684	+	-	Basil	-	1,07±0,06	-	+	-	++	-	-
113	685	+	-	Basil	-	1,30±0,00	+	+	+	++	-	-
114	689	+	-	Basil	-	1,07±0,06	+	+	+	++	-	-
115	691	+	-	Basil	-	1,20±0,10	+	+	-	+	-	-
116	694	+	-	Basil	-	1,17±0,06	-	+	-	++	-	-
117	704	+	-	Basil	-	1,00±0,10	+	+	+	++	-	-
118	706	+	-	Basil	-	1,27±0,12	+	+	-	+	-	-
119	707	+	-	Kok	-	1,37±0,15	++	+++	-	++	-	-
120	719	+	-	Kokobasil	-	-	-	+	+	+	+	-
121	730	+	-	Kok	-	1,37±0,06	+	+++	-	++	-	-

\- : Üreme görülmemiştir (Absorbans değeri = kör numune) + : Zayıf üreme (Absorbans değeri < 1)
++ : İyi üreme (1 < Absorbans değeri < 1,5) +++ : Çok iyi üreme (1,5 <Absorbans değeri)

Farklı sıcaklık seviyelerinde gelişimde olduğu gibi farklı tuz konsantrasyonlarında gelişebilme açısından da *L. plantarum* izolatlarının öne çıktığı görülmektedir. Bunu sırasıyla *L. paracasei* ve *Enterococcus* türleri takip etmiştir. Tüm izolatlar farklı tuzlarda üreme özellikleri açısından incelendiğinde ilgili literatürle uyumlu olduğu görülmektedir (Ertekin ve Çon 2014; Çetin vd 2017).

Starter ve non starter LAB'ların peynirin olgunlaşması sırasındaki temel fonksiyonlarından biri proteolitik aktiviteleridir. Bu bakteriler sahip oldukları proteolitik enzimlerle kazeini hidrolize ederek peynirde tat, aroma ve tekstür oluşumuna önemli katkıda bulunurlar. Bu nedenle starter olarak kullanılacak izolatların seçiminde proteolitik aktivitenin belirlenmesi önem arz etmektedir. Çalışmada test edilen 121 adet suşun 25 tanesinin 1 cm ve üzerinde proteolitik zon oluşturduğu, belirlenen zonların 1,00-1,90 cm arasında olduğu tespit edilmiştir. Proteolitik aktiviteye sahip suşların büyük çoğunluğunu *L. plantarum* türlerinin oluşturduğu, bunu sayısal olarak sırasıyla *L. paracasei, L. lactis* ve *E. faecalis* türlerinin izlediği belirlenmiştir. İlgili türler incelendiğinde bunların büyük bir çoğunluğunun peynir üretimde potansiyel starter kültür olarak kullanılabilecek suşlar olduğu görülmektedir. Çalışmada (Tablo 9) proteolitik aktivitesi en güçlü, dolayısıyla zon çapı en geniş ilk beş izolatın dördünün *L. lactis*'ten oluştuğu tespit edilmiştir.

Asit üretme yeteneği özellikle ortamda hızlı pH düşüşünü sağlayarak starter kültürün ürüne hâkim olmasını sağlaması açısından önemlidir. Çalışmada izole edilen suşların asit üretim yetenekleri % laktik asit ve pH cinsinden incelenmiş, kullanılan 121 suşun ilk 6 saat asit üretim hızlarının % asitlik cinsinden %0,135-0,396 aralığında, pH cinsinden ise 6,87-5,62 aralığında olduğu tespit edilmiştir. İlgili tablo (Tablo 10) incelendiğinde en hızlı asit üretim yeteneğine sahip suşların beklenildiği üzere *L. lactis* türüne ait olduğu, en yavaş izolatların ise, *P. parvulus, L. plantarum* ve *L. paracasei* suşları olduğu tespit edilmiştir. Bilindiği üzere peynir üretiminde starter kültür olarak *L. lactis* suşlarının kullanımı oldukça yaygındır. Sütte asit üretimi hızı açısından en başarılı 5 suşun tümünün *L. lactis* olması ilgili literatür bulgularıyla

uyumlu olduğunu göstermektedir (Hayaloğlu vd 2002; Dağdemir 2006). Araştırma sonuçlarından en hızlı asit üreten suşun 6. saatte %0,396, 24. saatte ise %0,776 oranında asit üretimiyle *L. lactis* ssp. *cremoris* 586 suşu olduğu belirlenmiştir. En zayıf suşun ise (*P. parvulus* 320) 6. saatte %0,135 oranında, 24. saatin sonunda ise %0,140 oranında asit ürettiği tespit edilmiştir. Öte yandan diğer izolatlarında asit üretim hızları açısından ilgili literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (Arslankoz 2011).

Tablo 10. Sekans Analizi Yapılan Suşların Asit Üretim Aktiviteleri

Sıra	Örnek kodu	Asit üretimi (% laktik asit)			pH değeri		
		6 saat	12 saat	24 saat	6 saat	12 saat	24 saat
1	3	0,162±0,00	0,162±0,00	0,351±0,01	6,75±0,01	6,68±0,01	5,50±0,08
2	4	0,149±0,01	0,153±0,01	0,324±0,05	6,80±0,02	6,77±0,01	5,90±0,15
3	6	0,153±0,01	0,149±0,01	0,198±0,03	6,78±0,01	6,72±0,01	6,04±0,48
4	7	0,153±0,01	0,149±0,01	0,288±0,05	6,80±0,01	6,75±0,01	5,69±0,04
5	8	0,144±0,00	0,149±0,01	0,180±0,00	6,81±0,02	6,67±0,01	6,41±0,01
6	12	0,149±0,01	0,153±0,01	0,189±0,01	6,81±0,02	6,75±0,01	6,39±0,10
7	13	0,153±0,01	0,153±0,01	0,180±0,00	6,76±0,00	6,68±0,01	6,48±0,02
8	16	0,144±0,00	0,158±0,01	0,180±0,00	6,76±0,01	6,71±0,01	6,52±0,02
9	37	0,144±0,00	0,153±0,01	0,185±0,01	6,78±0,01	6,77±0,01	6,52±0,01
10	38	0,144±0,00	0,153±0,01	0,180±0,00	6,81±0,00	6,78±0,00	6,54±0,03
11	47	0,140±0,01	0,162±0,00	0,423±0,01	6,81±0,02	6,71±0,01	5,38±0,06
12	61	0,144±0,00	0,144±0,00	0,450±0,03	6,81±0,02	6,81±0,01	5,45±0,14
13	62	0,140±0,01	0,144±0,00	0,441±0,01	6,81±0,02	6,81±0,01	5,45±0,14
14	67	0,140±0,01	0,144±0,00	0,297±0,01	6,82±0,01	6,79±0,01	6,70±0,01
15	70	0,149±0,01	0,198±0,00	0,333±0,01	6,74±0,01	6,43±0,02	5,60±0,01
16	72	0,144±0,00	0,153±0,01	0,198±0,00	6,77±0,01	6,71±0,01	6,37±0,01
17	74	0,176±0,01	0,243±0,01	0,338±0,01	6,60±0,02	6,09±0,02	5,61±0,02
18	75	0,144±0,00	0,149±0,01	0,234±0,00	6,78±0,02	6,68±0,03	6,17±0,01
19	82	0,144±0,00	0,149±0,01	0,153±0,01	6,81±0,02	6,80±0,02	6,79±0,01
20	86	0,140±0,01	0,153±0,01	0,171±0,01	6,82±0,01	6,79±0,03	6,68±0,02
21	88	0,140±0,01	0,153±0,01	0,167±0,01	6,82±0,01	6,81±0,01	6,79±0,02
22	90	0,135±0,00	0,158±0,01	0,185±0,01	6,80±0,00	6,77±0,01	6,51±0,02
23	91	0,144±0,00	0,158±0,01	0,167±0,01	6,80±0,01	6,79±0,01	6,66±0,01
24	93	0,149±0,01	0,162±0,00	0,162±0,00	6,82±0,01	6,80±0,00	6,79±0,00
25	96	0,153±0,01	0,189±0,01	0,207±0,01	6,80±0,02	6,67±0,02	6,25±0,03
26	97	0,149±0,01	0,171±0,01	0,216±0,00	6,81±0,01	6,67±0,02	6,30±0,03
27	100	0,149±0,01	0,162±0,00	0,162±0,00	6,82±0,01	6,78±0,01	6,76±0,01
28	103	0,140±0,01	0,167±0,01	0,270±0,03	6,81±0,01	6,67±0,01	6,03±0,01
29	104	0,149±0,01	0,167±0,01	0,212±0,01	6,56±0,01	6,49±0,01	6,39±0,03
30	106	0,162±0,00	0,162±0,00	0,194±0,01	6,59±0,01	6,57±0,01	6,47±0,02
31	108	0,203±0,01	0,252±0,00	0,387±0,01	6,31±0,03	5,92±0,02	5,50±0,03
32	113	0,158±0,01	0,171±0,01	0,203±0,01	6,59±0,01	6,55±0,01	6,39±0,01
33	116	0,153±0,01	0,162±0,00	0,239±0,01	6,61±0,01	6,52±0,01	6,22±0,02
34	118	0,158±0,01	0,167±0,01	0,270±0,03	6,62±0,02	6,58±0,02	6,17±0,10
35	119	0,144±0,00	0,162±0,01	0,243±0,01	6,59±0,01	6,56±0,02	6,24±0,01
36	122	0,149±0,01	0,167±0,01	0,225±0,01	6,62±0,01	6,55±0,01	6,28±0,01
37	124	0,153±0,00	0,162±0,00	0,216±0,00	6,62±0,02	6,59±0,02	6,38±0,01
38	126	0,158±0,01	0,180±0,00	0,270±0,00	6,59±0,01	6,47±0,01	6,18±0,01
39	127	0,158±0,01	0,167±0,01	0,239±0,01	6,58±0,01	6,51±0,01	6,44±0,01
40	131	0,149±0,01	0,171±0,00	0,207±0,01	6,59±0,03	6,52±0,01	6,44±0,01
41	134	0,167±0,01	0,167±0,01	0,225±0,01	6,59±0,02	6,55±0,01	6,44±0,01
42	135	0,153±0,01	0,176±0,01	0,279±0,01	6,60±0,02	6,53±0,02	6,19±0,01
43	138	0,153±0,01	0,176±0,01	0,234±0,00	6,59±0,01	6,54±0,02	6,53±0,01
44	139	0,149±0,01	0,185±0,01	0,279±0,01	6,58±0,02	6,53±0,02	6,28±0,01
45	148	0,158±0,01	0,180±0,01	0,315±0,01	6,55±0,01	6,51±0,01	5,97±0,02
46	156	0,158±0,01	0,171±0,01	0,243±0,01	6,59±0,01	6,53±0,01	6,36±0,03
47	158	0,234±0,00	0,257±0,01	0,441±0,01	6,18±0,02	5,95±0,01	5,53±0,01

Tablo 10. (Devamı)

48	168	0,311±0,01	0,419±0,01	0,666±0,03	5,66±0,03	5,26±0,02	4,68±0,02
49	169	0,140±0,01	0,167±0,01	0,203±0,01	6,77±0,01	6,64±0,02	6,29±0,02
50	170	0,144±0,00	0,144±0,00	0,216±0,00	6,79±0,03	6,75±0,02	6,28±0,02
51	172	0,144±0,00	0,149±0,01	0,185±0,01	6,78±0,02	6,69±0,01	6,38±0,03
52	173	0,144±0,00	0,144±0,00	0,158±0,01	6,80±0,01	6,80±0,01	6,62±0,02
53	183	0,144±0,00	0,144±0,00	0,149±0,01	6,79±0,02	6,76±0,03	6,70±0,03
54	185	0,144±0,00	0,158±0,01	0,180±0,00	6,78±0,02	6,70±0,03	6,36±0,01
55	188	0,144±0,00	0,149±0,01	0,176±0,01	6,78±0,01	6,72±0,04	6,44±0,02
56	189	0,173±0,00	0,180±0,00	0,549±0,01	6,62±0,01	6,61±0,01	4,91±0,05
57	193	0,140±0,01	0,144±0,00	0,144±0,01	6,81±0,02	6,80±0,02	6,79±0,01
58	196	0,144±0,00	0,149±0,01	0,207±0,01	6,79±0,01	6,72±0,01	6,24±0,04
59	197	0,185±0,01	0,234±0,00	0,347±0,01	6,62±0,03	6,09±0,03	5,56±0,01
60	198	0,149±0,01	0,167±0,01	0,198±0,00	6,80±0,02	6,65±0,01	6,34±0,01
61	204	0,180±0,00	0,216±0,00	0,315±0,01	6,64±0,03	6,20±0,02	5,69±0,01
62	216	0,140±0,01	0,144±0,01	0,221±0,01	6,80±0,02	6,68±0,01	6,19±0,01
63	224	0,144±0,00	0,158±0,01	0,203±0,01	6,79±0,02	6,68±0,01	6,36±0,02
64	232	0,144±0,00	0,144±0,00	0,189±0,01	6,81±0,01	6,76±0,03	6,51±0,03
65	239	0,144±0,00	0,144±0,00	0,167±0,01	6,81±0,02	6,77±0,03	6,63±0,02
66	242	0,144±0,00	0,149±0,01	0,158±0,01	6,80±0,02	6,77±0,01	6,69±0,02
67	245	0,140±0,01	0,144±0,00	0,194±0,01	6,81±0,01	6,80±0,01	6,48±0,15
68	252	0,144±0,00	0,149±0,01	0,189±0,00	6,80±0,01	6,72±0,02	6,37±0,00
69	255	0,153±0,00	0,153±0,01	0,185±0,01	6,81±0,02	6,69±0,01	6,45±0,02
70	262	0,144±0,00	0,162±0,00	0,216±0,00	6,80±0,01	6,69±0,01	6,21±0,02
71	282	0,149±0,01	0,158±0,01	0,162±0,00	6,81±0,02	6,73±0,00	6,62±0,02
72	288	0,140±0,01	0,162±0,00	0,203±0,01	6,77±0,01	6,67±0,01	6,31±0,01
73	302	0,144±0,00	0,146±0,00	0,149±0,01	6,81±0,01	6,79±0,01	6,80±0,01
74	307	0,144±0,00	0,158±0,01	0,144±0,00	6,79±0,01	6,69±0,01	6,72±0,02
75	311	0,144±0,00	0,144±0,00	0,149±0,01	6,80±0,02	6,75±0,01	6,70±0,02
76	320	0,135±0,00	0,140±0,01	0,140±0,01	6,80±0,01	6,81±0,00	6,81±0,01
77	323	0,140±0,01	0,149±0,01	0,158±0,01	6,81±0,01	6,73±0,01	6,71±0,01
78	324	0,144±0,00	0,149±0,01	0,176±0,01	6,83±0,01	6,72±0,01	6,47±0,01
79	328	0,135±0,00	0,150±0,00	0,171±0,01	6,82±0,01	6,73±0,02	6,50±0,01
80	330	0,149±0,01	0,162±0,00	0,180±0,00	6,81±0,02	6,70±0,02	6,49±0,01
81	331	0,149±0,01	0,162±0,00	0,180±0,00	6,82±0,02	6,69±0,01	6,49±0,01
82	332	0,140±0,01	0,144±0,00	0,149±0,01	6,82±0,01	6,80±0,01	6,79±0,01
83	339	0,144±0,00	0,149±0,01	0,194±0,01	6,78±0,01	6,68±0,02	6,38±0,01
84	341	0,144±0,00	0,162±0,01	0,180±0,00	6,79±0,01	6,69±0,01	6,53±0,01
85	342	0,140±0,01	0,144±0,00	0,171±0,00	6,79±0,01	6,68±0,01	6,48±0,01
86	344	0,144±0,00	0,153±0,01	0,167±0,01	6,82±0,01	6,70±0,01	6,51±0,01
87	345	0,153±0,00	0,158±0,01	0,203±0,01	6,81±0,01	6,69±0,01	6,28±0,01
88	503	0,158±0,01	0,162±0,00	0,198±0,00	6,63±0,01	6,53±0,02	6,18±0,04
89	506	0,189±0,00	0,239±0,01	0,335±0,01	6,43±0,02	5,94±0,01	5,45±0,04
90	507	0,158±0,01	0,185±0,01	0,194±0,01	6,82±0,02	6,75±0,02	6,46±0,01
91	516	0,167±0,01	0,187±0,01	0,198±0,00	6,85±0,01	6,78±0,03	6,58±0,01
92	546	0,162±0,00	0,221±0,01	0,315±0,01	6,61±0,01	6,20±0,02	5,41±0,06
93	548	0,239±0,01	0,284±0,01	0,770±0,01	6,27±0,02	5,42±0,21	4,28±0,16
94	550	0,176±0,01	0,315±0,01	0,518±0,02	6,56±0,02	5,64±0,05	4,84±0,01
95	559	0,158±0,01	0,171±0,00	0,189±0,01	6,68±0,01	6,61±0,02	6,40±0,03
96	570	0,158±0,01	0,176±0,01	0,189±0,01	6,66±0,02	6,63±0,02	6,43±0,04
97	579	0,198±0,00	0,221±0,01	0,324±0,00	6,43±0,03	6,00±0,02	5,48±0,02
98	582	0,149±0,01	0,167±0,01	0,194±0,01	6,64±0,01	6,59±0,02	6,31±0,03
99	586	0,396±0,00	0,680±0,02	0,776±0,00	5,62±0,02	4,51±0,01	4,37±0,01
100	588	0,149±0,01	0,167±0,01	0,239±0,01	6,68±0,02	6,51±0,01	5,97±0,02
101	589	0,162±0,00	0,176±0,01	0,225±0,01	6,84±0,01	6,74±0,01	6,47±0,02
102	593	0,171±0,00	0,230±0,01	0,360±0,00	6,50±0,01	5,92±0,01	5,30±0,01
103	597	0,167±0,01	0,176±0,01	0,243±0,01	6,63±0,01	6,58±0,02	6,15±0,06
104	603	0,162±0,00	0,207±0,01	0,342±0,00	6,55±0,01	6,17±0,02	5,36±0,01
105	606	0,167±0,01	0,182±0,00	0,203±0,01	6,85±0,01	6,76±0,02	6,52±0,02
106	609	0,162±0,00	0,189±0,00	0,198±0,00	6,84±0,01	6,75±0,01	6,54±0,01
107	615	0,158±0,01	0,185±0,01	0,207±0,01	6,87±0,02	6,74±0,01	6,57±0,04
108	636	0,162±0,00	0,257±0,01	0,414±0,00	6,56±0,02	5,79±0,02	4,98±0,02

Tablo 10. (Devamı)

109	658	0,180±0,00	0,270±0,00	0,410±0,01	6,41±0,01	5,91±0,01	5,38±0,01
110	670	0,158±0,01	0,176±0,01	0,207±0,00	6,67±0,01	6,56±0,01	6,11±0,02
111	672	0,333±0,01	0,680±0,02	0,819±0,01	5,91±0,08	4,52±0,02	4,31±0,01
112	684	0,158±0,01	0,176±0,01	0,194±0,01	6,68±0,01	6,64±0,02	6,26±0,02
113	685	0,158±0,01	0,189±0,00	0,207±0,00	6,85±0,01	6,75±0,01	6,56±0,02
114	689	0,167±0,01	0,185±0,01	0,212±0,01	6,85±0,01	6,77±0,02	6,57±0,02
115	691	0,167±0,01	0,185±0,01	0,203±0,01	6,84±0,01	6,77±0,02	6,60±0,02
116	694	0,158±0,01	0,167±0,01	0,194±0,01	6,70±0,01	6,64±0,01	6,33±0,01
117	704	0,162±0,00	0,191±0,00	0,203±0,01	6,86±0,01	6,78±0,01	6,57±0,01
118	706	0,158±0,01	0,171±0,01	0,198±0,00	6,67±0,01	6,59±0,01	6,19±0,02
119	707	0,293±0,01	0,405±0,01	0,590±0,01	6,00±0,03	5,32±0,01	4,71±0,01
120	719	0,149±0,01	0,158±0,01	0,225±0,01	6,68±0,02	6,68±0,01	6,10±0,03
121	730	0,288±0,00	0,581±0,02	0,747±0,01	6,11±0,01	4,61±0,01	4,33±0,01

Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Sütün Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde kullanılan çiğ ve pastörize sütlerin bazı fizikokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri Tablo 11'de verilmiştir.

Tablo 11. Beyaz Peynir Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Çiğ ve Pastörize Sütlerin Bazı Fizikokimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri

Fizikokimyasal Özellikler	**Çiğ süt**	**Pastörize süt**
Kuru madde (%)	11,81	11,87
Yağ (%)	3,50	3,50
Protein (%)	3,00	3,05
Asitlik (%)	0,16	0,16
pH	6,79	6,74
Mikrobiyolojik Özellikler (log kob/mL)	**Çiğ süt**	**Pastörize süt**
TAMB sayısı	6,15	3,89
MRS-LAB sayısı	4,47	2,29
M17-LAB sayısı	5,93	3,32
Enterokok cinsi bakteri sayısı	2,05	<2
Koliform grubu bakteri sayısı	3,30	<1

Verilen değerler iki tekerrür ortalamasıdır.

Beyaz Peynir Örneklerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Farklı kültür kombinasyonları ile üretilen Beyaz peynir örneklerinin mikrobiyolojik verilerine ait varyans analizi test sonuçları toplu olarak Tablo 12'de verilmiştir.

Tablo 12. Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Verilerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F				
		TAMB	MRS-LAB	M17-LAB	Enterokok	Maya-küf
Kültür ilavesi (A)	3	12,559**	137,289**	13,302**	43,845**	27,144**
Muhafaza şekli (B)	1	10,733**	28,693**	9,176**	18,569**	200,843**
Olgunlaşma süresi (C)	4	12,670**	8,432**	13,362**	0,746	156,114**
AxB	3	0,999	2,535*	1,595	0,248	16,919**
AxC	12	0,788	0,776	1,369	0,395	11,747**
BxC	4	1,585	2,523*	1,410	1,183	87,981**
AxBxC	12	0,194	0,334	0,381	0,151	4,630**
Hata	120					
Toplam	160					

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

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayısı

Olgunlaşma süresince Beyaz peynir örneklerinde belirlenen TAMB sayıları standart sapmaları ile birlikte Tablo 13'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarından TAMB sayıları üzerinde kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresinin etkisi istatistiksel olarak p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 12). Bununla birlikte peynir örneklerinde belirlenen TAMB sayıları üzerinde kültür ilavesi x muhafaza şekli, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi, muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 13. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen TAMB Sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	8,40±1,17 ^{a,A}	8,06±0,80 ^{a,AB}	7,29±0,21 ^{b,BC}	7,01±0,28 ^{d,BC}	6,90±0,35 ^{d,C}
AS	8,36±0,84 ^{a,A}	8,22±0,80 ^{a,A}	7,85±0,53 ^{ab,A}	7,71±0,30 ^{bc,A}	7,76±0,07 ^{bc,A}
BS	8,59±0,29 ^{a,A}	8,32±0,53 ^{a,AB}	7,93±0,50 ^{ab,B}	7,77±0,33 ^{bc,B}	7,85±0,30 ^{b,B}
CS	8,72±0,74 ^{a,A}	8,48±0,69 ^{a,A}	7,93±0,50 ^{ab,AB}	7,92±0,36 ^{b,AB}	7,55±0,22 ^{bc,B}
KV	8,38±0,92 ^{a,A}	8,21±0,61 ^{a,AB}	7,86±0,32 ^{ab,AB}	7,34±0,29 ^{cd,B}	7,38±0,55 ^{c,B}
AV	8,33±0,67 ^{a,A}	8,01±0,85 ^{a,A}	8,10±0,59 ^{a,A}	7,84±0,37 ^{b,A}	7,77±0,02 ^{bc,A}
BV	8,58±0,29 ^{a,A}	8,54±0,32 ^{a,A}	8,45±0,11 ^{a,A}	8,48±0,06 ^{a,A}	8,27±0,06 ^{a,A}
CV	8,70±0,83 ^{a,A}	8,58±0,38 ^{a,A}	8,45±0,06 ^{a,A}	8,37±0,15 ^{a,A}	8,42±0,06 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait en yüksek TAMB sayısı (8,72 log kob/g) CS örneğinde olgunlaştırma periyodunun 1. gününde, en düşük sayı (6,90 log kob/g) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Tablo 13 incelendiğinde olgunlaştırma periyodunun 1. ve 30. günlerinde tüm örneklerde TAMB sayılarının istatistiksel olarak benzer

olduğu, bununla birlikte 60. günden itibaren özellikle B (*L. lactis* 672 + *L. lactis* subsp. *cremoris* 586 + *L. plantarum* 255 + *L. paracasei* 670) ve C (*L. lactis* 672 + *L. lactis* subsp. *cremoris* 586 + *L. plantarum* 255 + *L. paracasei* 670 + *L. plantarum* 134) kültür kombinasyonları ile üretilen örneklerde TAMB sayılarının diğer örneklerden yüksek olduğu görülmektedir. Aynı zamanda aynı kültür kombinasyonlarının kullanıldığı peynirler dikkate alındığında salamurada olgunlaştırılan peynirlerin vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlere oranla daha düşük TAMB sayısına sahip olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma periyodu boyunca genel olarak tüm örneklerde bakteri sayılarında azalma olduğu, özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde bu azalmaların istatistiki olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun söz konusu peynirlerde artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak bakteri sayısının azalmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bu çalışmada belirlenen TAMB sayıları Erkaya (2014) tarafından probiyotik suşlar kullanılarak üretilen Beyaz peynir örneklerinde belirlenen değerlerle benzerlik göstermektedir.

MRS agarda gelişen LAB sayıları

Farklı kültür kombinasyonları kullanılarak üretilen Beyaz peynir örneklerine ait MRS agarda gelişen LAB sayıları standart sapmalarıyla birlikte Tablo 14'de, varyans analiz sonuçları ise Tablo 12'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarından MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ile olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Aynı zamanda kültür ilavesi x muhafaza şekli ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarınında LAB sayıları üzerinde etkisinin önemli ($p<0,05$) olduğu tespit edilmiştir. Önemli bulunan interaksiyonlara ait grafikler sırasıyla Şekil 17 ve Şekil 18'de sunulmuştur. Peynir örneklerine ait en yüksek MRS agarda gelişen LAB sayısı (8,62 log kob/g) olgunlaşmanın başında BS örneğinde, en düşük sayısı (5,23 log kob/g) ise olgunlaşma periyodunun 60. gününde KS örneğinde belirlenmiştir. Tablo 14 incelendiğinde örnekler arasında MRS agarda gelişen LAB sayıları açısından farklılıkların bulunduğu, kontrol örneklerinin (KS ve KV) LAB sayılarının daha düşük olduğu, söz konusu bakteri grubunun B ve C örneklerinde fark edilir düzeyde yüksek olduğu görülmektedir. Örnekler arasındaki bu farklılıkların peynir üretiminde kullanılan starter kültür kombinasyonlarındaki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim kontrol örneklerinde sadece *L. lactis* 672 ve *L. cremoris* 586 suşlarından oluşan primer kültür kullanılırken, A, B ve C örnekleri primer startere ilaveten *L. plantarum* 255, *L. plantarum* 134 ile *L. paracasei* 670 suşu/suşlarının kombinasyonları kullanılarak üretilmiştir. Adı geçen suşların MRS agarda gelişmesi ve sayılması bu örneklerde LAB sayılarının daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir.

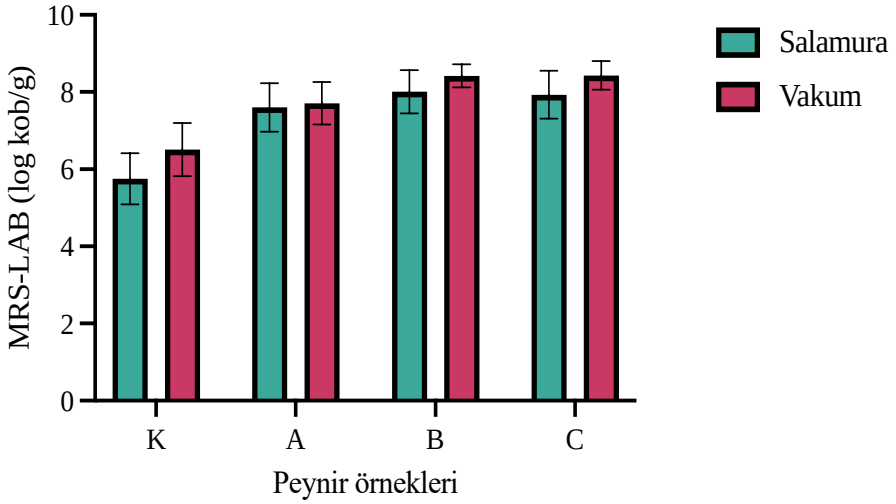
Tablo 14. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen MRS Agarda Gelişen LAB Sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	6,47±0,13 ^{b,A}	6,01±0,08 ^{d,AB}	5,23±0,26 ^{d,B}	5,38±0,76 ^{d,B}	5,68±0,90 ^{e,AB}
AS	8,31±1,17 ^{a,A}	7,55±0,19 ^{bc,AB}	7,32±0,44 ^{b,B}	7,47±0,22 ^{b,AB}	7,35±0,16 ^{c,B}
BS	8,62±0,85 ^{a,A}	8,15±0,38 ^{ab,AB}	7,89±0,40 ^{ab,AB}	7,60±0,26 ^{b,B}	7,79±0,27 ^{abc,B}
CS	8,61±0,90 ^{a,A}	8,10±0,48 ^{ab,AB}	7,88±0,42 ^{ab,AB}	7,69±0,22 ^{b,B}	7,36±0,21 ^{c,B}
KV	6,49±0,13 ^{b,A}	7,00±1,00 ^{c,A}	6,21±0,87 ^{c,A}	6,34±0,60 ^{c,A}	6,53±0,61 ^{d,A}
AV	8,26±1,00 ^{a,A}	7,54±0,27 ^{bc,A}	7,55±0,35 ^{b,A}	7,63±0,34 ^{b,A}	7,59±0,35 ^{bc,A}
BV	8,56±0,65 ^{a,A}	8,40±0,13 ^{a,A}	8,43±0,17 ^{a,A}	8,47±0,16 ^{a,A}	8,25±0,17 ^{ab,A}
CV	8,52±0,84 ^{a,A}	8,41±0,20 ^{a,A}	8,44±0,22 ^{a,A}	8,35±0,18 ^{a,A}	8,40±0,16 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

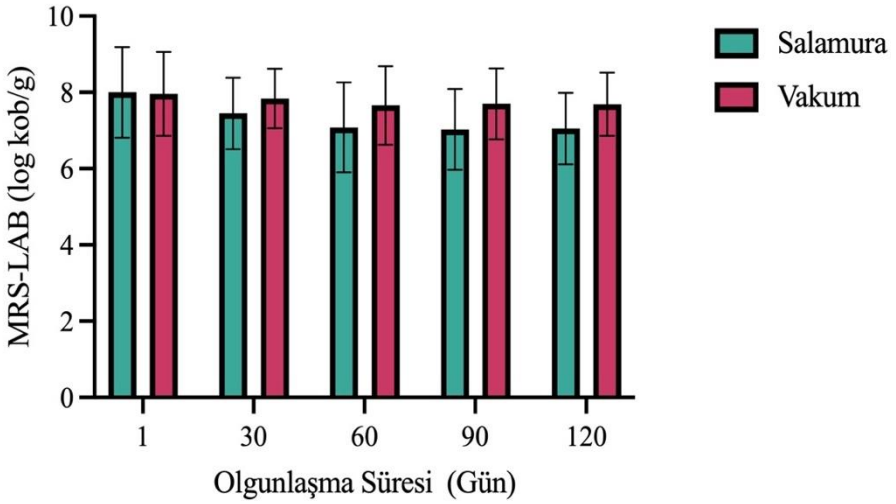
^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerinde muhafaza şeklininde etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin salamurada olgunlaştırılanlara göre daha fazla sayıda LAB içerdiği belirlenmiştir. Bu durumun vakum ambalaj ortamının LAB'ların gelişimini teşvik etmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde Sönmez vd (2019) vakum ambalajlanmış Lor peynirinde LAB sayılarının daha yüksek olduğunu, bu durumun vakum ambalajlamanın sağladığı oksijensiz ortama bağlı olarak söz konusu bakteri grubunun daha iyi gelişebilmesi ile alakalı olduğunu bildirmişlerdir. Frau *et al.* (2020) vakum ambalajlanmış keçi sütünden yapılan peynirlerde LAB sayılarının ambalajlanmamış peynirlere oranla daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Erkaya (2014) farklı probiyotik suşlar kullanarak üretmiş olduğu Beyaz peynirlerde vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin salamurada olgunlaştırılanlara göre daha fazla sayıda LAB içerdiğini bildirmiştir. Olgunlaşma süresince genel olarak LAB sayılarında hafif artış ya da azalışlar görülmüş, bu dalgalanmaların özellikle vakum ambalajlanmış örneklerde (KV, AV, BV ve CV) istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 17. Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi

Şekil 17'de görüldüğü üzere MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine muhafaza şeklinin etkili olduğu, bu durumun özellikle vakum ambalajlanmış örneklerde starter kültür olarak kullanılan laktobasil cinsi bakterilerin anaerobik koşullar nedeniyle daha yüksek oranda gelişme göstermesiyle ilgili olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 18. Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

MRS agarda gelişen LAB sayılarının olgunlaşma periyodunun başlangıcında benzer olduğu, bununla birlikte olgunlaşma süresince vakum ambalajlanmış örneklerde söz konusu bakteri grubunun daha yüksek oranda canlılıklarını sürdürdükleri belirlenmiştir. Aynı zamanda LAB sayılarının olgunlaşma süresince özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde azalma eğiliminde olduğu, vakum ambalajlanmış örneklerde ise genel olarak önemli bir değişim sergilemediği gözlenmiştir (Şekil 18).

M17 agarda gelişen LAB sayıları

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen M17 agarda gelişen LAB sayıları Tablo 15'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından M17 agarda gelişen LAB sayıları üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ile olgunlaşma süresinin etkisinin istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli olduğu, buna karşılık kültür ilavesi x muhafaza şekli, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi, muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisinin ise istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir (Tablo 12). Örneklere ait en yüksek M17 agarda gelişen LAB sayısı (8,79 log kob/g) olgunlaşmanın başlangıcında CS örneğinde, en düşük sayı (6,67 log kob/g) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Tablo 15 incelendiğinde olgunlaşmanın 1. ve 30. günlerinde M17 agarda gelişen LAB sayıları açısından örnekler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, olgunlaşmanın ilerlemesiyle

birlikte AS, BS, AV, BV ve CV örneklerinde bakteri sayılarında bazı dalgalanmalar olmakla birlikte önemli düzeyde değişiklik göstermediği görülmektedir.

Tablo 15. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen M17 Agarda Gelişen LAB Sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	8,39±1,14 ^{a,A}	7,91±0,38 ^{a,AB}	7,02±0,16 ^{c,BC}	6,74±0,29 ^{c,C}	6,67±0,57 ^{e,C}
AS	8,20±1,09 ^{a,A}	8,15±0,57 ^{a,A}	7,83±0,58 ^{ab,A}	7,60±0,25 ^{b,A}	7,73±0,09 ^{bc,A}
BS	8,40±0,93 ^{a,A}	8,00±0,66 ^{a,A}	7,67±0,06 ^{b,A}	7,75±0,25 ^{b,A}	7,78±0,19 ^{abc,A}
CS	8,79±0,71 ^{a,A}	8,46±0,85 ^{a,AB}	7,55±0,27 ^{b,C}	7,74±0,24 ^{b,BC}	7,37±0,21 ^{cd,C}
KV	8,27±0,85 ^{a,A}	8,15±0,52 ^{a,AB}	7,57±0,25 ^{b,ABC}	7,10±0,64 ^{c,BC}	7,02±0,88 ^{de,C}
AV	8,19±0,71 ^{a,A}	8,03±1,01 ^{a,A}	7,92±0,51 ^{ab,A}	7,57±0,20 ^{b,A}	7,56±0,08 ^{cd,A}
BV	8,38±0,85 ^{a,A}	8,52±0,27 ^{a,A}	8,32±0,05 ^{a,A}	8,36±0,11 ^{a,A}	8,22±0,16 ^{ab,A}
CV	8,62±0,65 ^{a,A}	8,38±0,52 ^{a,A}	8,23±0,14 ^{a,A}	8,32±0,16 ^{a,A}	8,36±0,04 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Başlangıçta bakteri sayılarının benzer olmasının tüm örneklerde primer starter olarak *L. lactis* 672 ve *L. cremoris* 586'nın kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Olgunlaşma periyodunun 60. gününe kadar tüm örneklerde M17 agarda gelişen LAB sayılarında azalmaların olduğu, özellikle KS, CS ve KV örneklerinde görülen azalmaların istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir. Bu durumun olgunlaşma süresince artan tuz konsantrasyonuna bağlı olarak özellikle primer starter olarak kullanılan bakterilerin sayılarının azalmasıyla ilgili olabileceği düşünülmektedir.

Enterococcus cinsi bakteri sayıları

Farklı kültür kombinasyonları kullanılarak üretilen Beyaz peynir örneklerine ait enterokok cinsi bakteri sayılarında olgunlaşma süresince görülen değişim Tablo 16'da verilmiştir. Varyans analiz sonuçları incelendiğinde; peynir örneklerinde belirlenen enterokok sayıları üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ile olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisinin istatistiksel olarak p<0,01 düzeyinde önemli olduğu belirlenmiştir (Tablo 12).

En yüksek enterokok cinsi bakteri sayısı (7,31 log kob/g) CV örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde, en düşük sayı (4,90 log kob/g) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 1. gününde tespit edilmiştir (Tablo 16). Tablo 16'da görüldüğü üzere genel olarak tüm örneklerde önemli sayılabilecek düzeyde enterokok cinsi bakteri belirlenmiştir. Peynir örneklerinde enterokok cinsi bakterilerin varlığı pastörizasyon sonrası canlı kalabildiklerini ya da peynir yapım aşamaları sırasında bulaşmış olabileceğini düşündürmektedir. Mariam *et al*. (2021) fermente ve pastörize edilmiş çeşitli süt ürünlerinde enterokokların varlığını araştırdıkları çalışmalarında pastörize olduğu beyan edilen ürünlerin birçoğunun enterokok içerdiğini, süt ürünlerindeki

olası enterokok kaynaklarının kesin olarak bilinmediğini, ancak çevreden, çalışanlardan, hayvanlardan ve/veya kullanılan ekipmanlardan kontamine olabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda enterokokların esas olarak yüksek adaptasyon kabiliyetleri ve olumsuz çevresel koşullara karşı dirençleri nedeniyle çeşitli ekosistemlerdeki en yaygın bakteri gruplarından biri olduğu, özellikle çiğ süt peynirlerindeki floranın önemli bir bölümünü oluşturduğu bildirilmiştir (Fuka *et al.* 2017). Söz konusu mikroorganizma grubunun pastörizasyon sıcaklıklarında canlılıklarını devam ettirebildikleri ifade edilmiştir (Dapkevicius *et al.* 2021).

Enterokok cinsi bakteri sayıları açısından peynir örnekleri arasında önemli farklılıkların bulunduğu, özellikle yardımcı kültür kullanılarak üretilen peynirlerde (A, B ve C) söz konusu bakteri grubunun sadece primer kültür kullanılarak üretilen kontrol (K) örneğine oranla daha yüksek sayılarda olduğu görülmüştür. Çetin vd (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada KAA besiyeri enterokokların izolasyonu için kullanılmış, ancak söz konusu besiyerinde izole edilen suşların çok önemli bir bölümünün beklenenin aksine *L. plantarum* olarak tanımlanmış, bu durumun KAA besiyerinde *L. plantarum* suşlarınında gelişebilmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir. Bu durum özellikle *L. plantarum*'un yardımcı kültür olarak kullanıldığı örneklerde enterokok cinsi bakteri sayılarının daha yüksek olmasının nedenlerinden biri olarak düşünülebilir. Nitekim *L. plantarum* içermeyen kontrol örneğinde enterokok cinsi bakteri sayısının önemli derece düşük olması bu olasılığı destekler niteliktedir. Benzer şekilde Weiss *et al.* (2005) tarafından yürütülen enterokokların sayımı için seçici besiyerlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada KAA'da *L. plantarum*'un da dahil olduğu laktobasil cinsine ait 8 türün gelişme gösterebildiği bildirilmiştir.

Tablo 16. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Enterokok Sayıları (log kob/g)

Peynir	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
örnekleri	**1**	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	4,90±1,04 ^{b,A}	5,16±0,40 ^{c,A}	5,05±0,58 ^{c,A}	5,13±0,56 ^{b,A}	5,30±0,75 ^{c,A}
AS	6,54±0,71 ^{a,A}	6,25±1,01 ^{abc,A}	6,37±0,38 ^{ab,A}	6,23±0,47 ^{ab,A}	6,10±0,69 ^{ab,A}
BS	6,53±0,48 ^{a,A}	6,73±0,23 ^{a,A}	6,24±0,66 ^{ab,A}	6,24±0,53 ^{ab,A}	6,40±0,09 ^{a,A}
CS	6,83±0,91 ^{a,A}	6,50±0,86 ^{ab,A}	6,19±0,58 ^{ab,A}	6,33±0,57 ^{ab,A}	6,32±0,57 ^{ab,A}
KV	4,98±1,13 ^{b,A}	5,40±0,99 ^{bc,A}	5,76±0,83 ^{bc,A}	5,44±0,86 ^{b,A}	5,58±0,46 ^{bc,A}
AV	6,53±0,70 ^{a,A}	7,20±0,70 ^{a,A}	6,91±0,87 ^{a,A}	6,88±0,42 ^{a,A}	6,78±0,20 ^{a,A}
BV	6,59±0,30 ^{a,B}	7,13±0,37 ^{a,A}	6,93±0,32 ^{a,AB}	6,86±0,06 ^{a,AB}	6,71±0,31 ^{a,AB}
CV	6,78±0,84 ^{a,A}	7,31±0,74 ^{a,A}	6,95±0,61 ^{a,A}	6,75±0,83 ^{a,A}	6,89±0,47 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Enterokok grubu bakteri sayısı üzerinde salamurada ya da vakumda olgunlaştırma açısından da önemli bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Enterokok cinsi bakteri sayılarının olgunlaşma süresindeki değişimi incelendiğinde tüm örneklerde önemli bir azalmanın olmadığı, bu durumun söz konusu bakteri grubunun olumsuz koşullara (yüksek tuz

konsantrasyonu, düşük pH) adaptasyon yeteneği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde farklı gıdalardaki enterokokların varlığının onların olumsuz çevresel koşullara karşı direncini yansıttığını, aerobik ve anaerobik koşullar altında, geniş pH ve sıcaklık aralıklarında, yüksek tuz konsantrasyonlarının varlığında gelişebildikleri bildirilmiştir (Del Rio *et al.* 2021). Öner *et al*. (2006) Beyaz peynirlerde enterokok cinsi bakteri sayısının 90 günlük olgunlaşma periyodu boyunca azaldığını, ancak tuz ve asitlik artışından diğer bakteri grupları kadar etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Maya ve küf sayıları

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen maya-küf sayıları Tablo 17'de verilmiştir. Maya ve küfler petri plaklarında ayrı ayrı sayılmış, olgunlaştırma süresince tüm örneklerde küf sayıları tespit edilebilir seviyenin altında (<2 log kob/g) belirlenmiştir. Varyans analiz sonuçlarından kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile bu değişkenlere ait tüm interaksiyonların maya sayıları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 12).

Tablo 17. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Maya Sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{b,C}	3,15±0,52 ^{a,B}	3,85±0,80 ^{a,A}
AS	<2±0,00 ^{a,B}	<2±0,00 ^{a,B}	<2±0,00 ^{b,B}	<2±0,00 ^{b,B}	3,13±0,32 ^{b,A}
BS	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{a,C}	2,24±0,41 ^{a,C}	3,12±0,22 ^{a,B}	3,86±0,16 ^{a,A}
CS	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{a,C}	2,10±0,23 ^{ab,C}	2,98±0,44 ^{a,B}	3,96±0,24 ^{a,A}
KV	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{a,C}	<2±0,00 ^{b,C}	3,24±0,20 ^{a,A}	2,70±0,19 ^{b,B}
AV	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{c,A}
BV	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{c,A}
CV	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{a,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{b,A}	<2±0,00 ^{c,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait maya sayılarının <2 log kob/g ile 3,96 log kob/g arasında değiştiği, olgunlaşma periyodunun 60. gününe kadar tüm örneklerde maya sayılarının tespit edilebilir seviyenin altında olduğu (<2 log kob/g) belirlenmiştir. Olgunlaşmanın 60. gününde sadece BS ve CS örneklerinde, 90. gününde ise KS ve KV örneklerinde maya tespit edilmiş, 120. günde KV örneği dışında maya sayılarında artış gözlenmiştir. Maya ve küflerin starter kültürün bir parçası olarak eklenilmemesine rağmen, peynir işleme ortamından veya ekipmanlardan bulaşabileceği bildirilmiştir (Manolopoulou *et al.* 2003).

Peynir örneklerinde belirlenen maya sayıları üzerine peynirin olgunlaştırma şeklinin de etkili olduğu, özellikle vakum ambalajlanmış peynirlerde genel olarak maya gelişiminin olmadığı gözlenmiştir. Akarca *et al.* (2015) farklı şekillerde ambalajlanan (aerobik

ambalajlama, vakum ambalajlama ve modifiye atmosferde ambalajlama) Mozerella peynirlerinde maya küf sayılarındaki en fazla azalmanın vakum ambalajlanmış peynirlerde görüldüğünü bildirmişlerdir. Benzer şekilde Miloradaovic *et al.* (2018) vakum ve modifiye atmosferde ambalajlanmış keçi sütünden yapılan Beyaz peynirlerde maya ve küf sayılarının vakum ambalajlanan peynirlerden tüm olgunlaşma periyodu boyunca düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Beyaz Peynir Örneklerine Ait Fizikokimyasal Analiz Sonuçları

Farklı kültür kombinasyonları ile üretilen Beyaz peynirlerin fizikokimyasal özelliklerine ait varyans analiz sonuçları toplu olarak Tablo 18'de verilmiştir.

Tablo 18. Beyaz Peynir Örneklerinin Fizikokimyasal Analiz Verilerine Ait Varyans Analiz Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F			
		Kuru madde	Yağ	Kuru maddede yağ	Protein
Kültür ilavesi (A)	3	20,581**	5,877**	3,054*	8,069**
Muhafaza şekli (B)	1	2486,671**	1572,779**	1,434	1313,717**
Olgunlaşma süresi (C)	4	6,999**	8,309**	2,275	7,029**
AxB	3	3,231*	2,115	1,204	1,864
AxC	12	0,758	0,847	0,917	1,078
BxC	4	147,020**	90,723**	2,108	70,879**
AxBxC	12	0,941	1,453	1,252	0,413
Hata	120				
Toplam	160				
Varyasyon kaynakları	**SD**	**F**			
		Tuz	**Kuru maddede tuz**	**Asitlik**	**pH**
Kültür ilavesi (A)	3	16,696**	9,379**	6,795**	65,901**
Muhafaza şekli (B)	1	1540,852**	2659,913**	915,940**	1819,081**
Olgunlaşma süresi (C)	4	42,628**	59,076**	16,331**	57,925**
AxB	3	9,618**	7,257**	3,548*	35,974**
AxC	12	0,741	0,618	6,451**	9,702**
BxC	4	12,287**	49,391**	88,727**	114,245**
AxBxC	12	1,022	0,630	2,194*	11,041**
Hata	120				
Toplam	160				

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

Kuru madde miktarı

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kuru madde miktarları standart sapmaları ile birlikte Tablo 19'da verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarından peynir örneklerinin kuru madde değerlerine kültür ilavesi, olgunlaşma süresi ve muhafaza şekli ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresinin etkisi p<0,01 düzeyinde (Şekil 20), kültür ilavesi x

muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi (Şekil 19) ise p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 18). Peynir örneklerine ait en düşük kuru madde miktarı (%36,30) primer kültüre ilaveten *L. plantarum* 255, *L. plantarum* 134, *L. paracasei* 670 suşları ile üretilen ve salamurada olgunlaştırılan CS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde, en yüksek kuru madde oranı (%49,84) ise yine primer kültüre ilaveten *L. plantarum* 255 suşu ile üretilen vakum ambalajlanmış AV örneğinde olgunlaşmanın sonunda tespit edilmiştir.

Tablo 19 incelendiğinde tüm peynir örneklerinin başlangıçtaki kuru madde değerlerinin istatistiksel olarak benzer olduğu, olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte salamurada olgunlaştırılan örneklerde kuru madde değerlerinin azaldığı, söz konusu azalmanın CS örneğinde biraz daha belirgin olduğu görülmektedir. Vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde ise kuru madde değerlerinde olgunlaştırmanın 30. gününde önemli miktarda artış görüldüğü, diğer günlerde ise genel olarak sabit kaldığı, önemli bir değişim sergilemediği gözlenmiştir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde olgunlaştırılmış Beyaz peynir için nem miktarının en çok %60 olabileceği hükmü yer almakta, bu açıdan incelendiğinde olgunlaşma süresince özellikle vakum ambalajlanmış peynir örneklerinin tebliğde belirtilen değerlerle uygunluk gösterdiği, buna karşılık salamurada olgunlaştırılan peynirlerin 30. günden itibaren belirtilen nem değerlerinin üzerine çıktığı belirlenmiştir.

Tablo 19. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Kuru Madde Miktarları (%)

Peynir örnekleri	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	43,69±1,24 ^{a,A}	40,72±1,03 ^{bc,B}	39,03±2,42 ^{bc,BC}	38,14±1,79 ^{cd,C}	37,83±0,23 ^{e,C}
AS	43,62±1,90 ^{a,A}	41,66±1,09 ^{b,B}	40,22±0,49 ^{b,BC}	39,08±0,78 ^{c,C}	38,93±1,00 ^{d,C}
BS	43,14±1,07 ^{a,A}	39,03±1,66 ^{d,B}	37,26±1,72 ^{c,BC}	37,74±0,17 ^{d,BC}	37,06±0,68 ^{ef,C}
CS	42,77±0,23 ^{a,A}	39,18±1,95 ^{cd,B}	37,43±1,74 ^{c,BC}	37,20±0,03 ^{d,C}	36,30±0,15 ^{f,C}
KV	44,12±1,40 ^{a,B}	48,53±0,38 ^{a,A}	48,85±0,09 ^{a,A}	48,33±0,71 ^{ab,A}	48,69±0,28 ^{b,A}
AV	44,09±0,79 ^{a,D}	49,07±0,10 ^{a,BC}	48,59±0,07 ^{a,C}	49,43±0,34 ^{a,AB}	49,84±0,29 ^{a,A}
BV	43,58±1,88 ^{a,B}	48,30±0,29 ^{a,A}	49,64±0,14 ^{a,A}	48,69±0,59 ^{ab,A}	48,25±0,14 ^{b,A}
CV	43,15±0,36 ^{a,B}	48,13±0,58 ^{a,A}	47,73±0,39 ^{a,A}	48,01±1,02 ^{b,A}	47,34±0,81 ^{c,A}

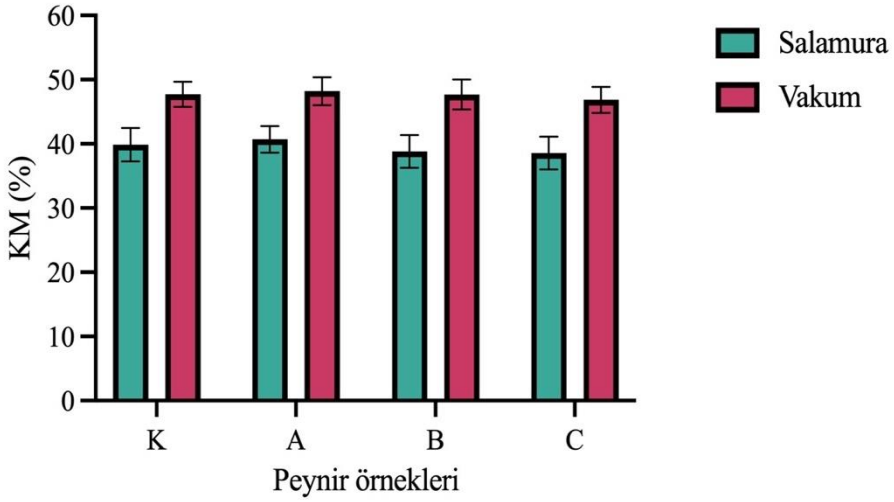
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

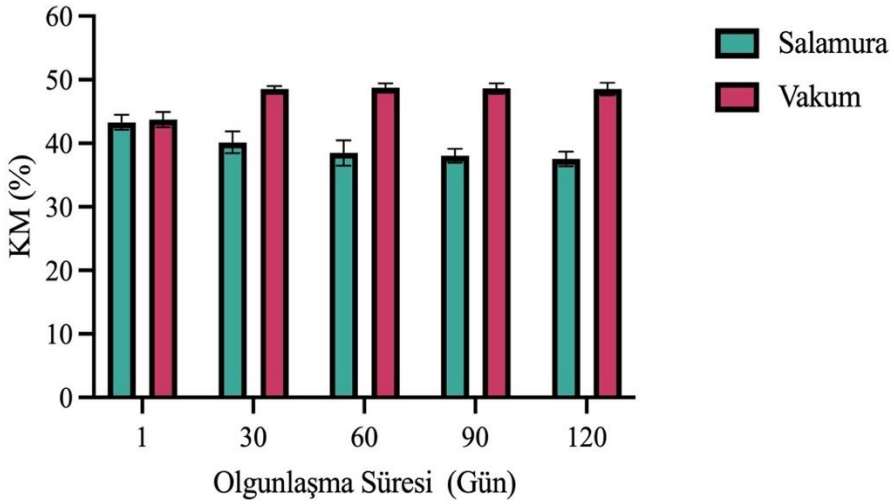
Muhafaza şekli açısından örneklerin kuru madde değerleri karşılaştırıldığında; vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin salamurada olgunlaştırılanlara göre daha yüksek kuru madde değerlerine sahip olduğu görülmektedir (Şekil 19). Benzer şekilde Barac *et al.* (2021) salamurada olgunlaştırılan Beyaz peynirlerin kuru madde değerlerinin vakum ambalajda olgunlaştırılanlara göre önemli düzeyde düşük olduğunu, bu durumun düşük sıcaklıkta depolama sırasında kazeine bağlı kalsiyumun çözünür olma eğilimi göstermesi ve dolayısıyla kazeinin hidrasyonunu artırarak salamuradan suyun absorplanmasıyla ilgili olabileceğini

bildirmişlerdir. Aynı zamanda proteoliz sonucu oluşan peptitlerin suyu bağlayabileceğini, bu durumunda nem artışına neden olabileceğini ifade etmişlerdir.

Genel olarak salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolama süresince kuru madde değerlerinde azalmaların olduğu belirlenmiştir (Şekil 20). Beyaz peynirin olgunlaşması sırasında görülen kuru madde artış ya da azalışlarının peynir bünyesine salamura alınması, bazı bileşenlerin salamuraya geçişi ve asitliğe bağlı olarak proteinlerin su tutma kapasitesindeki değişimlerle ilgili olduğu bildirilmiştir. Olgunlaşma sırasında Beyaz peynirlerin kuru madde içeriklerinde azalmaların olduğu diğer araştırıcılar tarafından da ifade edilmiştir (Öner *et al.* 2006; Erkaya 2014).



Şekil 19. Beyaz peynir örneklerinin kuru madde miktarları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi



Şekil 20. Beyaz peynir örneklerinin kuru madde miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Yağ ve kuru maddede yağ oranları

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen yağ ve kuru maddede yağ oranları standart sapmaları ile birlikte Tablo 20'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından peynir örneklerinin yağ oranları üzerine kültür ilavesi, olgunlaşma süresi ve muhafaza şekli değişkenleri ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 18). Muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonuna ait grafik Şekil 21'de sunulmuştur.

Peynir örneklerine ait en düşük yağ miktarı (%19,00) olgunlaşmanın 120. gününde primer kültür ile üretilen salamurada olgunlaştırılan KS örneğinde, en yüksek yağ miktarı (%26,25) ise primer kültüre ilaveten *L. plantarum* 255 suşu ile üretilen ve vakumda olgunlaştırılan AV örneğinde 120. günde tespit edilmiştir. Beyaz peynir örneklerinde kuru maddede yağ oranlarının ise %50,22 ile %54,36 arasında değiştiği görülmektedir.

Tablo 20. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Yağ ve Kuru Maddede Yağ Oranları (%)

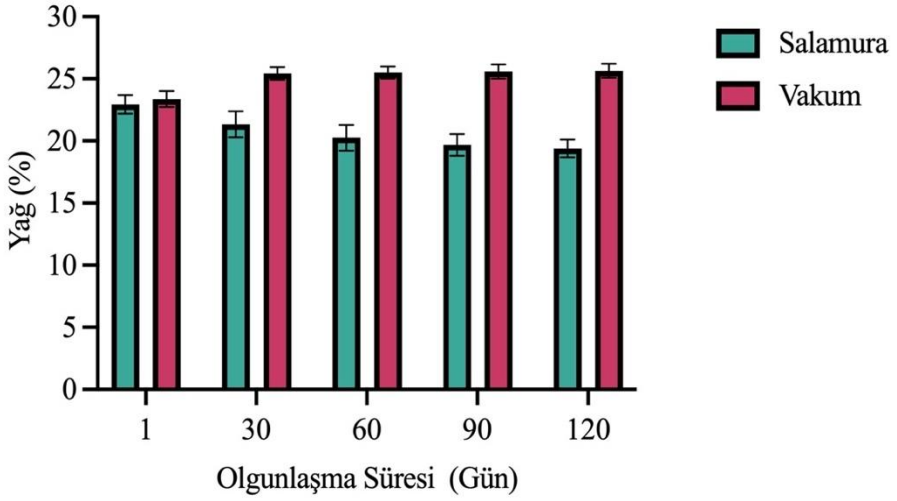
Peynir örnekleri	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	23,25±0,29 ^{ab,A}	22,13±0,25 ^{b,B}	20,75±1,19 ^{b,C}	19,75±0,50 ^{b,CD}	19,00±0,82 ^{b,D}
AS	23,25±0,96 ^{ab,A}	22,00±1,15 ^{b,B}	20,63±0,48 ^{bc,C}	19,88±0,75 ^{b,C}	19,75±0,50 ^{b,C}
BS	23,00±0,41 ^{ab,A}	20,00±0,41 ^{c,B}	19,50±1,00 ^{c,B}	19,50±0,58 ^{b,B}	19,38±0,48 ^{b,B}
CS	22,25±0,87 ^{b,A}	21,25±0,50 ^{b,AB}	20,13±1,18 ^{bc,B}	19,63±1,60 ^{b,B}	19,50±1,00 ^{b,B}
KV	23,50±0,82 ^{a,B}	25,25±0,50 ^{a,A}	25,50±0,58 ^{a,A}	25,25±0,96 ^{a,A}	25,63±0,48 ^{a,A}
AV	23,50±0,41 ^{a,B}	25,75±0,50 ^{a,A}	25,63±0,48 ^{a,A}	26,00±0,41 ^{a,A}	26,25±0,50 ^{a,A}
BV	23,25±0,50 ^{ab,B}	25,50±0,58 ^{a,A}	25,88±0,25 ^{a,A}	25,50±0,41 ^{a,A}	25,38±0,48 ^{a,A}
CV	23,25±0,96 ^{ab,B}	25,25±0,50 ^{a,A}	25,00±0,00 ^{a,A}	25,63±0,25 ^{a,A}	25,38±0,48 ^{a,A}
Peynir örnekleri	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	53,21±0,99 ^{a,AB}	54,36±1,32 ^{a,A}	53,16±2,46 ^{ab,AB}	51,78±2,24 ^{a,AB}	50,22±2,03 ^{b,B}
AS	53,30±1,61 ^{a,A}	52,80±1,41 ^{ab,AB}	51,29±0,74 ^{b,BC}	50,87±1,20 ^{a,C}	50,73±0,52 ^{b,C}
BS	53,31±0,83 ^{a,A}	51,24±1,47 ^{b,A}	52,33±2,16 ^{ab,A}	51,67±1,59 ^{a,A}	52,29±0,77 ^{ab,A}
CS	52,02±1,93 ^{a,A}	54,23±1,49 ^{a,A}	53,78±1,30 ^{a,A}	52,76±2,35 ^{a,A}	53,71±2,83 ^{a,A}
KV	53,26±0,81 ^{a,A}	52,03±0,97 ^{b,A}	52,20±1,08 ^{ab,A}	52,24±1,26 ^{a,A}	52,63±0,97 ^{ab,A}
AV	53,30±0,05 ^{a,A}	52,48±0,96 ^{ab,A}	52,74±0,98 ^{ab,A}	52,60±0,69 ^{a,A}	52,66±0,84 ^{ab,A}
BV	53,35±1,43 ^{a,A}	52,79±0,88 ^{ab,A}	52,13±0,59 ^{ab,A}	52,37±1,05 ^{a,A}	52,60±0,92 ^{ab,A}
CV	53,88±1,88 ^{a,A}	52,46±0,42 ^{ab,A}	52,38±0,43 ^{ab,A}	53,38±0,93 ^{a,A}	53,61±1,12 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Genel olarak olgunlaşma periyodunun başlangıcında tüm örneklerin benzer yağ içeriklerine sahip oldukları, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte salamurada olgunlaştırılan peynirlerde yağ içeriklerinin azaldığı, BS örneğinin 30. ve 60. günlerine ait değerler dışında salamura olgunlaştırılan tüm örneklerde yağ içeriklerinin olgunlaşma süresince istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir. Vakum ambalajda olgunlaştırılan örneklerde yağ

içeriklerinin 30. günde tüm örneklerde artış gösterdiği, yağ içerikleri açısından örnekler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, olgunlaşma süresince neredeyse sabit kaldığı belirlenmiştir. Aynı zamanda vakum ambalajlanan peynirlerde belirlenen yağ değerlerinin salamura olgunlaştırılanlara oranla daha yüksek olduğu, bu durumun söz konusu örneklerde kuru madde değerlerinin de daha yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yağ miktarlarında olgunlaşma süresince görülen değişimler incelendiğinde salamurada olgunlaştırılan örneklere ait değerlerin kuru madde değerlerine paralel olarak azaldığı görülmektedir. Olgunlaşma süresince Beyaz peynirde yağ miktarlarında azalma diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Öner *et al.* 2006; Erkaya 2014).



Şekil 21. Beyaz peynir örneklerinin yağ miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Şekil 21'de görüldüğü üzere olgunlaşmanın başlangıcında hem salamurada hem de vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin benzer yağ oranlarına sahip olduğu, ancak olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte genel olarak salamurada muhafaza edilen örneklerde azalma gözlenirken, vakum ambalajlı örneklerin önemli bir değişim sergilemediği belirlenmiştir.

Kuru maddede yağ oranları açısından hem salamurada hem de vakum ambalajda olgunlaştırılan örnekler arasında çok önemli bir farklılığın bulunmadığı, olgunlaşma süresince bazı artma ve azalmalar olmakla birlikte kuru maddede yağ oranlarının genel olarak önemli bir değişim sergilemediği görülmektedir. Bu durumun olgunlaşma süresince kuru madde ve yağ oranlarında görülen artış ya da azalışların paralel seyretmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde peynirin kuru maddede yağ oranı en az %45 ise tam yağlı, %25-45 arasında ise yarım yağlı, %10-25 arasında ise az yağlı, %10'dan az ise yağsız peynir olarak sınıflandırıldığı bildirilmiştir. Bu durumda tüm peynir örneklerinin tam yağlı peynir sınıfına girdiği görülmektedir.

Protein miktarı

Beyaz peynir örneklerine ait protein miktarlarının olgunlaşma süresince değişimi Tablo 21'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından peynir örneklerinin protein miktarları üzerine kültür ilavesi, olgunlaşma süresi ve muhafaza şekli değişkenleri ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur (Tablo 18). Muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonuna ait grafik Şekil 22'de sunulmuştur.

Tablo 21. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Protein Miktarları (%)

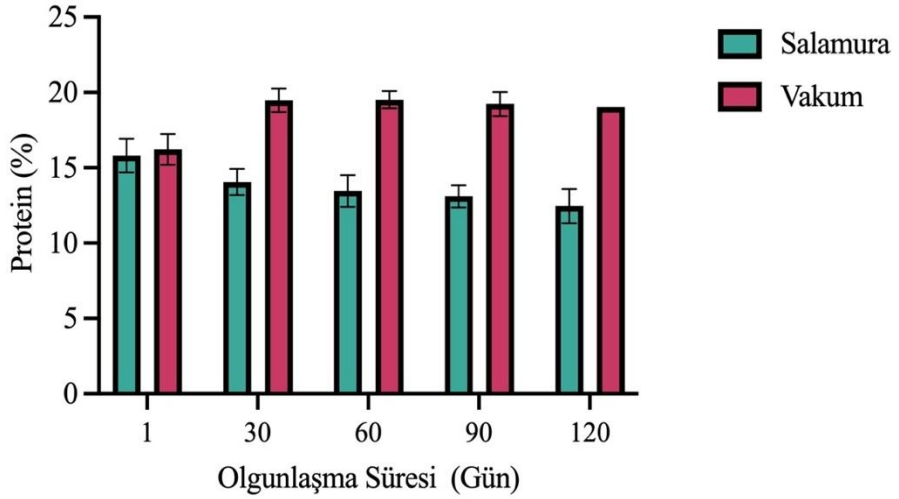
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	15,94±0,77 ^{a,A}	14,22±0,33 ^{b,B}	13,78±0,61 ^{bc,B}	13,29±0,04 ^{bc,B}	13,27±1,32 ^{c,B}
AS	15,85±1,40 ^{a,A}	14,38±1,78 ^{b,AB}	14,37±0,02 ^{b,AB}	14,02±0,17 ^{b,B}	13,22±1,00 ^{c,B}
BS	15,65±1,73 ^{a,A}	13,96±0,18 ^{b,B}	12,91±0,65 ^{c,BC}	12,88±0,67 ^{cd,BC}	12,07±0,47 ^{d,C}
CS	15,81±0,83 ^{a,A}	13,69±0,29 ^{b,B}	12,81±1,63 ^{c,BC}	12,24±0,30 ^{d,CD}	11,30±0,05 ^{d,D}
KV	16,25±0,57 ^{a,C}	19,49±0,22 ^{a,AB}	19,74±0,53 ^{a,A}	19,43±0,32 ^{a,AB}	19,04±0,29 ^{ab,B}
AV	15,96±1,01 ^{a,B}	19,82±0,83 ^{a,A}	19,30±0,19 ^{a,A}	19,53±1,08 ^{a,A}	19,81±0,46 ^{a,A}
BV	16,41±1,77 ^{a,B}	19,32±0,84 ^{a,A}	19,77±0,98 ^{a,A}	19,37±0,85 ^{a,A}	19,11±0,73 ^{ab,A}
CV	16,26±0,83 ^{a,B}	19,27±1,17 ^{a,A}	19,30±0,41 ^{a,A}	18,59±0,72 ^{a,A}	18,17±0,25 ^{b,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait en düşük protein miktarı (%11,30) CS örneğinde olgunlaşma süresinin 120. gününde, en yüksek protein miktarı (%19,82) ise AV örneğinde olgunlaşma süresinin 30. gününde belirlenmiştir. Tablo 21 incelendiğinde olgunlaşmanın başında protein içerikleri açısından örnekler arasında istatistiksel olarak farklılığın bulunmadığı, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte salamurada olgunlaştırılan peynirlerde protein oranlarının azaldığı görülmektedir. Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolama süresince görülen azalmaların proteoliz sonucu oluşan suda eriyen bileşiklerin salamuraya taşınmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Öner ve Sarıdağ (2018) farklı hayvan sütleri kullanarak üretmiş oldukları peynir örneklerinde inek sütü ile yapılan peynirde başlangıçta %13,55 olan protein içeriğinin 9 aylık olgunlaşma periyodu sonunda %7,95'e düştüğünü bildirmişlerdir. Araştırmacılar söz konusu azalmanın azotlu bileşiklerin diğer bileşiklere (amin, asit, tiyol vb.) dönüşümü ile açıklanabileceğini ifade etmişlerdir. Benzer şekilde Miloradovic *et al.* (2018) farklı ambalajlama yöntemleri (modifiye atmosferde ambalajlama, vakum ambalajlama ve salamurada) kullanarak 50 gün olgunlaştırdıkları keçi sütünden yapılan Beyaz peynirlerde özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde protein ve kuru madde değerlerinin önemli düzeyde azaldığını bildirmişlerdir.

Vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde ise kuru madde oranına paralel olarak 30. günde protein miktarının arttığı, olgunlaşmanın diğer günlerinde ise CV örneği dışında önemli bir değişim sergilemediği belirlenmiştir. Peynirlerin olgunlaşma koşulları dikkate alındığında salamurada olgunlaştırılan peynirlerin protein içeriklerinin vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlere oranla daha düşük olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Barac *et al.* (2021) salamurada olgunlaştırılan peynirlerde kuru madde ve protein oranlarının vakumda olgunlaştırılan peynir örneklerine göre önemli ölçüde daha düşük olduğunu, bu durumun muhtemelen olgunlaşma sırasında oluşan düşük molekül ağırlıklı nitrojen bileşiklerinin salamuraya difüzyonunun sonucu oluştuğunu bildirmişlerdir.



Şekil 22. Beyaz peynir örneklerinin protein miktarları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Şekil 22'de görüldüğü üzere olgunlaşmanın 1. gününde salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin benzer protein içeriğine sahip olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte salamura olgunlaştırılan peynirlerin protein içeriklerinin giderek azaldığı, buna karşılık vakum ambalajlanan örneklerde önemli bir değişim olmadığı gözlenmektedir.

Tuz ve kuru maddede tuz

Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuz ve kuru maddedeki tuz oranları Tablo 22'de verilmiştir. Varyans analiz sonuçlarından hem tuz hem de kuru maddede tuz değerleri üzerine kültür ilavesi, olgunlaşma süresi ve muhafaza şekli değişkenleri ile kültür ilavesi x muhafaza şekli ve muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. İlgili interaksiyonlara ait grafikler sırasıyla Şekil 23 ve Şekil 24'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük tuz miktarı (%2,61) olgunlaşma periyodunun başında CV peynirinde, en yüksek tuz miktarı (%5,23) AS örneğinde

olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin kuru maddede tuz oranlarının ise %5,93 ile %13,90 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Tablo 22 incelendiğinde bazı farklılıklar olmakla birlikte genel olarak salamura ve vakumda olgunlaştırılan peynirlerin hem tuz hem de kuru maddede tuz oranlarının kendi aralarında benzer olduğu görülmektedir. Beklenildiği üzere vakumda olgunlaştırılan peynirlerin tuz ve kuru maddede tuz oranlarının istatistiksel açıdan salamurada olgunlaştırılanlardan düşük olduğu tespit edilmiştir. Barac *et al.* (2021) vakum ambalajda olgunlaştırılan Beyaz peynirlerin salamurada olgunlaştırılanlara göre daha düşük tuz düzeylerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Tuz ve kuru maddede tuz değerlerinin olgunlaşma süresince özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde sürekli artış gösterdiği, salamuradan tuz geçişinin 30. ve 60. günde daha yüksek düzeyde gerçekleştiği, sonraki dönemlerde ise geçiş hızının yavaşladığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Renes *et al.* (2019) farklı kültür kombinasyonları kullanılarak koyun sütünden yapılan peynirlerde nemdeki tuz konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince arttığını, olgunlaşmanın sonunda ise tüm örneklerde sabit değere ulaştığını bildirmişlerdir. Vakumda olgunlaştırılan peynirlerde ise tuz içerikleri çok dar sınırlar içerisinde değişmiş, kuru maddede tuz oranları ise neredeyse olgunlaşma süresince sabit kalmıştır.

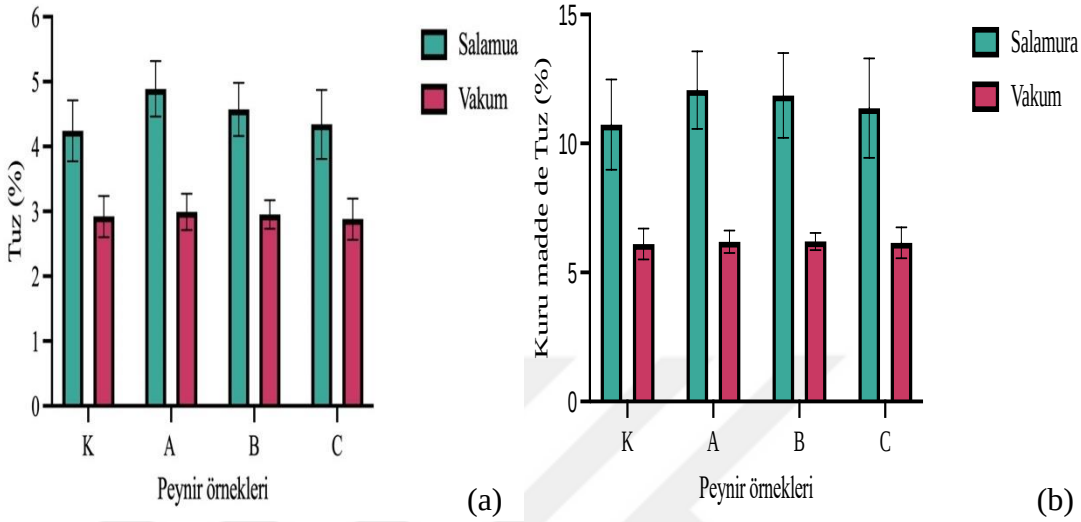
Tablo 22. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Tuz ve Kuru Maddede Tuz Oranları (%)

Peynir örnekleri	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	3,52±0,25 ^{b,C}	4,12±0,20 ^{b,B}	4,37±0,05 ^{b,B}	4,35±0,20 ^{b,B}	4,85±0,18 ^{b,A}
AS	4,15±0,08 ^{a,C}	4,88±0,08 ^{a,B}	5,16±0,40 ^{a,AB}	5,04±0,16 ^{a,AB}	5,23±0,07 ^{a,A}
BS	4,14±0,22 ^{a,C}	4,35±0,20 ^{b,BC}	4,48±0,31 ^{b,BC}	4,74±0,20 ^{a,B}	5,15±0,28 ^{a,A}
CS	3,73±0,17 ^{b,C}	4,05±0,37 ^{b,BC}	4,23±0,48 ^{b,B}	4,75±0,10 ^{a,A}	4,98±0,13 ^{ab,A}
KV	2,64±0,13 ^{c,A}	2,95±0,34 ^{c,A}	3,03±0,63 ^{c,A}	3,01±0,04 ^{c,A}	2,98±0,13 ^{c,A}
AV	2,62±0,08 ^{c,B}	3,05±0,19 ^{c,A}	3,06±0,15 ^{c,A}	3,16±0,33 ^{c,A}	3,08±0,31 ^{c,A}
BV	2,62±0,08 ^{c,B}	3,04±0,04 ^{c,A}	3,08±0,25 ^{c,A}	3,02±0,20 ^{c,A}	3,03±0,10 ^{c,A}
CV	2,61±0,17 ^{c,A}	3,00±0,35 ^{c,A}	2,95±0,41 ^{c,A}	2,99±0,46 ^{c,A}	2,89±0,02 ^{c,A}
Peynir örnekleri	**Olgunlaşma süresi (Gün)**				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	8,07±0,80 ^{c,D}	10,13±0,67 ^{c,C}	11,23±0,79 ^{b,BC}	11,42±0,91 ^{b,B}	12,82±0,51 ^{b,A}
AS	9,53±0,49 ^{a,C}	11,71±0,25 ^{a,B}	12,82±0,85 ^{a,A}	12,91±0,52 ^{a,A}	13,43±0,30 ^{ab,A}
BS	9,60±0,36 ^{a,D}	11,15±0,89 ^{ab,C}	12,07±1,37 ^{ab,BC}	12,57±0,53 ^{a,B}	13,90±0,67 ^{a,A}
CS	8,72±0,39 ^{b,C}	10,36±0,91 ^{bc,C}	11,32±1,41 ^{ab,B}	12,77±0,27 ^{a,A}	13,71±0,34 ^{a,A}
KV	5,98±0,25 ^{d,A}	6,08±0,67 ^{d,A}	6,19±1,28 ^{c,A}	6,22±0,17 ^{c,A}	6,12±0,29 ^{c,A}
AV	5,93±0,12 ^{d,A}	6,21±0,40 ^{d,A}	6,29±0,29 ^{c,A}	6,39±0,70 ^{c,A}	6,17±0,60 ^{c,A}
BV	6,01±0,42 ^{d,A}	6,30±0,10 ^{d,A}	6,21±0,50 ^{c,A}	6,21±0,43 ^{c,A}	6,28±0,22 ^{c,A}
CV	6,04±0,37 ^{d,A}	6,23±0,64 ^{d,A}	6,19±0,92 ^{c,A}	6,23±0,92 ^{c,A}	6,11±0,08 ^{c,A}

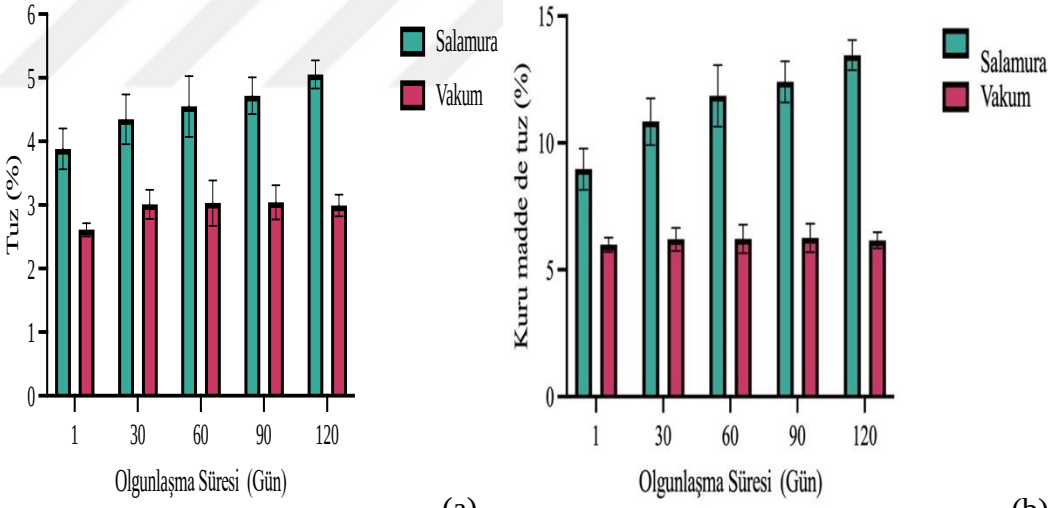
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde olgunlaştırılmış Beyaz peynir için tuz miktarının kuru maddede en çok %6,5 olabileceği belirtilmiştir. Bu açıdan incelendiğinde olgunlaşma süresince salamurada olgunlaştırılan peynirlerin tamamının tebliğde belirtilen değerden daha yüksek kuru maddede tuz oranlarına sahip olduğu görülmektedir. Vakum ambalajlanmış örneklerin ise tebliğde belirtilen değerler ile uyumlu olduğu belirlenmiştir.



Şekil 23. Beyaz peynir örneklerinin tuz (a) ve kurumadde de tuz (b) değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi



Şekil 24. Beyaz peynir örneklerinin tuz (a) ve kurumadde de tuz (b) değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Titrasyon asitliği

Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen titrasyon asitliği değerleri Tablo 23'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisi $p<0,01$ düzeyinde, kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi ise $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. İlgili interaksiyonlara ait grafikler Şekil 25-Şekil 27'de sunulmuştur.

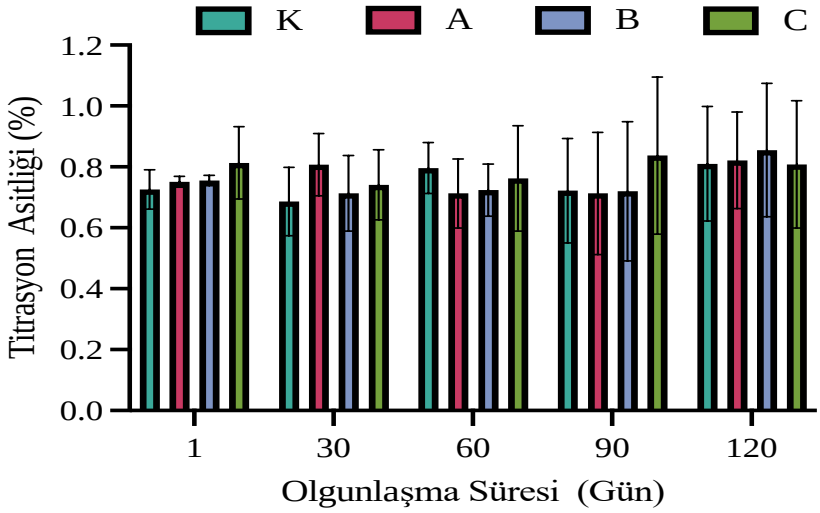
Peynir örneklerine ait en düşük titrasyon asitliği değeri (%0,508) primer starter kültüre ilaveten *L. plantarum* 255 ve *L. paracasei* 670 yardımcı kültürleri ile üretilen ve salamurada olgunlaştırılan BS örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde, en yüksek titrasyon asitliği değeri (%1,073) ise aynı kültürlere ilaveten *L. plantarum* 134 suşunun kullanıldığı vakum ambalajda olgunlaştırılan CV örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde belirlenmiştir. Tablo 23 incelendiğinde peynir örneklerine ait titrasyon asitliği değerleri açısından örnekler arasında farklılıkların bulunduğu, özellikle B ve C kültür kombinasyonu ile üretilen ve vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin asitlik değerlerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Adı geçen örneklerde olgunlaşma süresince hem MRS agarda hem de M17 agarda gelişen LAB sayılarının yüksek oluşu asitlik değerlerinin söz konusu örneklerde daha yüksek olmasının nedeni olarak düşünülebilir (Tablo 14-Tablo 15). Nitekim; peynirde asitlik gelişiminin peynirin doğal mikroflorasında yer alan bakteriler ile starter olarak kullanılan bakterilerin aktivitesiyle ilişkili olduğu bilinmektedir. Mevcut sonuçlardan B ve C örneklerinin üretiminde primer startere ilaveten her ne kadar düşük asit üretme kapasitesine sahip olsalarda (Tablo 10) *L. plantarum* ve *L. paracasei* yardımcı kültürlerinin kullanımının asitlik değerlerinde artışa neden olduğu söylenebilir. Aljewicz *et al.* (2014) *L. rhamnosus* HN001, *L. paracasei* LPC 37 ve *L. acidophilus* NCFM probiyotik suşlarını kullanarak ürettikleri Dutch tipi peynirlerde asitlik değerlerinin kontrol örneklerinden daha yüksek olduğunu, bu durumun deneme peynirlerinde *Lactobacillus* suşlarının daha yüksek sayılarda bulunmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Renes *et al.* (2019) tarafından yapılan çalışmada *L. casei* subsp. *casei* SS1644 suşunu içeren koyun sütünden yapılan Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinin bu suşu içermeyen örneklere oranla daha yüksek olduğu belirlenmiş, bu durumun söz konusu suşun asitlendirme kapasitesinden kaynaklandığı bildirilmiştir.

Tablo 23. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Titrasyon Asitliği Değerleri (%)

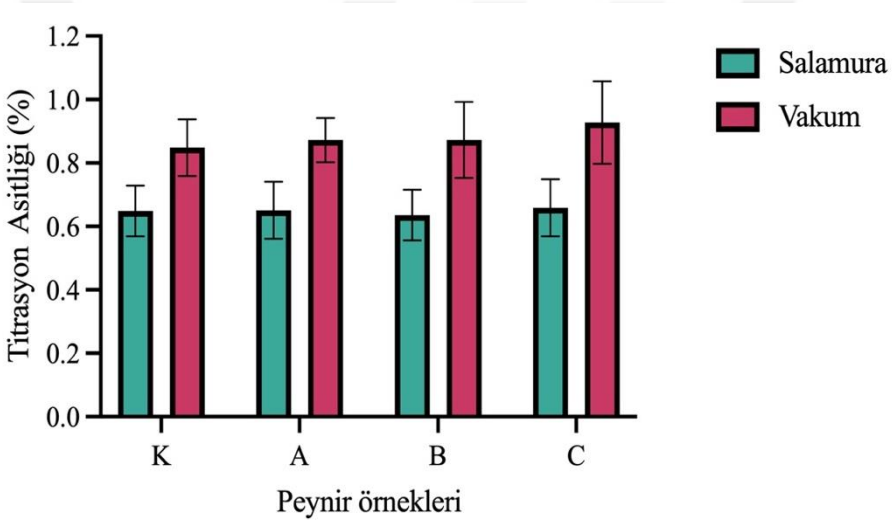
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	**30**	**60**	**90**	**120**
KS	0,734±0,07 ^{a,A}	0,585±0,02 ^{e,BC}	0,720±0,03 ^{d,A}	0,563±0,04 ^{cd,C}	0,639±0,05 ^{c,B}
AS	0,756±0,03 ^{a,A}	0,716±0,04 ^{d,B}	0,581±0,01 ^{f,D}	0,527±0,03 ^{d,E}	0,675±0,02 ^{c,C}
BS	0,758±0,02 ^{a,A}	0,608±0,04 ^{e,C}	0,653±0,03 ^{e,B}	0,508±0,03 ^{d,D}	0,651±0,02 ^{c,B}
CS	0,831±0,09 ^{a,A}	0,635±0,02 ^{e,B}	0,603±0,02 ^{ef,B}	0,603±0,02 ^{c,B}	0,621±0,03 ^{c,B}
KV	0,720±0,07 ^{a,C}	0,788±0,04 ^{c,C}	0,872±0,02 ^{b,B}	0,882±0,02 ^{b,B}	0,981±0,05 ^{b,A}
AV	0,747±0,01 ^{a,D}	0,900±0,03 ^{a,B}	0,846±0,04 ^{b,C}	0,900±0,03 ^{b,B}	0,970±0,01 ^{b,A}
BV	0,753±0,02 ^{a,C}	0,819±0,07 ^{bc,C}	0,796±0,06 ^{c,C}	0,933±0,05 ^{b,B}	1,060±0,02 ^{a,A}
CV	0,798±0,16 ^{a,C}	0,848±0,02 ^{ab,C}	0,923±0,05 ^{a,BC}	1,073±0,09 ^{a,A}	0,996±0,09 ^{b,AB}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

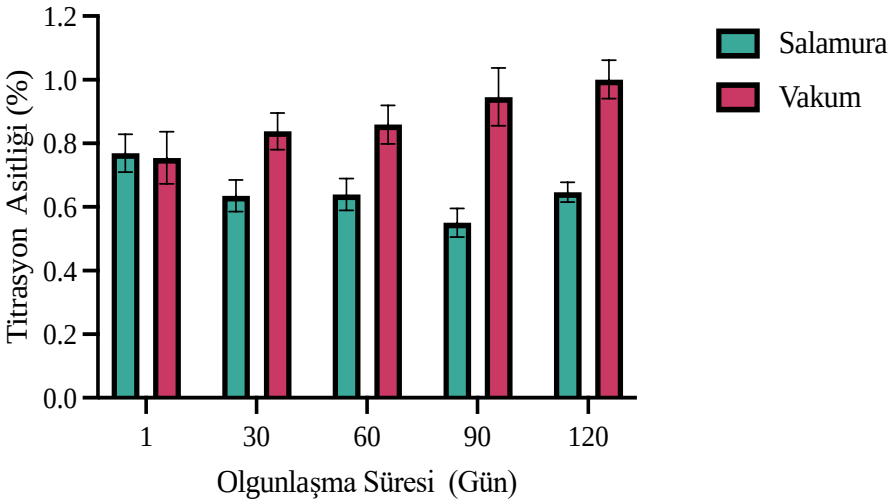


Şekil 25. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi



Şekil 26. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi

Peynir örneklerinin asitlik değerleri üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin titrasyon asitliği değerlerinin olgunlaşma süresince salamurada olgunlaştırılanlardan daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Şekil 26). Bu durumun vakum ambalaj ortamının peynirlerin üretiminde kullanılan primer ve yardımcı kültürlerin gelişimini teşvik etmesinden, böylece asitlik oluşumuna katkıda bulunmalarından kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde Hayaloglu *et al.* (2012) vakum ambalajlanmış Mihaliç peynir örneklerinin asitlik değerlerinin salamuradaki örneklere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 27. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Olgunlaşma süresince genel olarak tüm örneklerde titrasyon asitliği değerlerinde artış/azalışların olduğu görülmektedir. Olgunlaşma sırasında asitlik değerlerindeki dalgalanmalar diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Erkaya 2014; Gürkan 2019).

pH

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen pH değerleri Tablo 24'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi, kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonlarının etkisi $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur. İlgili interaksiyonlara ait grafikler Şekil 28-Şekil 30'da sunulmuştur.

Tablo 24'de görüldüğü üzere; peynir örneklerine ait en düşük pH değeri (4,79) CV örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde, en yüksek pH değeri (5,26) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde belirlenmiştir. Genel olarak tüm peynirlerde pH değerlerinin düştüğü, asit üretme kabiliyetleri nedeniyle primer starter kültür olarak kullanılan *L. lactis* ve *L. cremoris* izolatlarının pH düşüşünde etkili oldukları görülmektedir. Bununla birlikte peynir örneklerinin pH değerleri açısından örnekler arasında bazı farklılıkların bulunduğu, olgunlaşma periyodunun başında özellikle primer starter kültüre ilaveten *L. plantarum* 255-134 ve *L. paracasei* 670 suşlarının kombinasyonları ile üretilen B ve C örneklerinde pH değerlerinin diğer örneklere nazaran daha düşük olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte özellikle aynı kültür kombinasyonlarıyla üretilen ve vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin (BV ve CV) daha düşük pH değerlerine sahip oldukları gözlenmiştir. Mevcut durum daha önce de belirtildiği gibi söz konusu örneklerde başta mezofilik laktobasil sayıları olmak üzere LAB

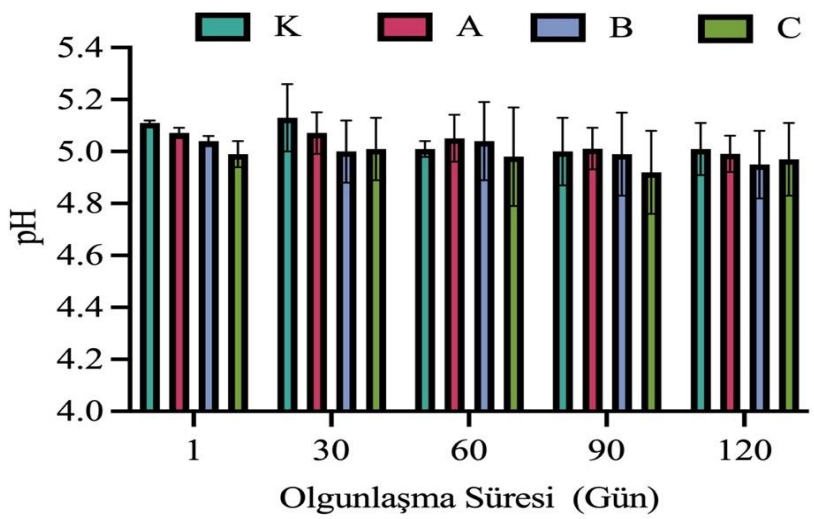
sayılarının daha yüksek olmasına ve dolayısıyla asitlik oluşumuna katkıda bulunarak pH değerlerini düşürmesine bağlanabilir.

Tablo 24. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen pH Değerleri

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	5,12±0,02 ^{a,B}	5,26±0,04 ^{a,A}	5,03±0,02 ^{c,C}	5,13±0,01 ^{a,B}	5,12±0,02 ^{a,B}
AS	5,07±0,03 ^{bc,BC}	5,16±0,01 ^{b,A}	5,14±0,01 ^{b,A}	5,09±0,01 ^{b,B}	5,06±0,01 ^{b,C}
BS	5,06±0,03 ^{cd,E}	5,12±0,01 ^{c,C}	5,19±0,01 ^{a,A}	5,15±0,01 ^{a,B}	5,09±0,01 ^{a,D}
CS	4,99±0,04 ^{e,D}	5,13±0,01 ^{bc,AB}	5,16±0,01 ^{ab,A}	5,07±0,01 ^{b,C}	5,11±0,01 ^{a,B}
KV	5,11±0,02 ^{ab,A}	5,01±0,03 ^{d,B}	4,99±0,02 ^{d,B}	4,88±0,02 ^{d,D}	4,92±0,01 ^{c,C}
AV	5,08±0,02 ^{abc,A}	4,99±0,02 ^{d,B}	4,96±0,02 ^{d,C}	4,94±0,01 ^{c,D}	4,92±0,01 ^{c,D}
BV	5,03±0,00 ^{cde,A}	4,89±0,02 ^{e,B}	4,90±0,02 ^{e,B}	4,84±0,01 ^{d,C}	4,83±0,01 ^{d,C}
CV	5,01±0,07 ^{de,A}	4,89±0,01 ^{e,B}	4,81±0,06 ^{f,BC}	4,79±0,08 ^{e,C}	4,85±0,04 ^{d,BC}

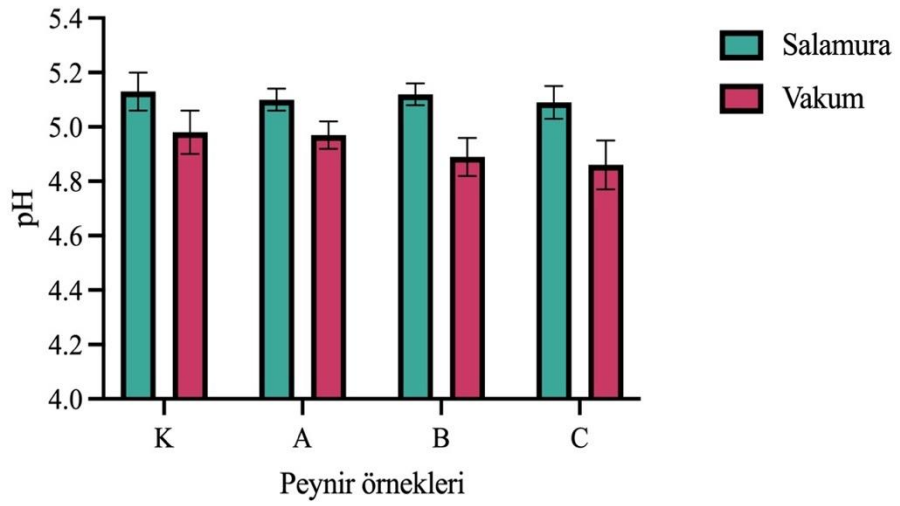
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

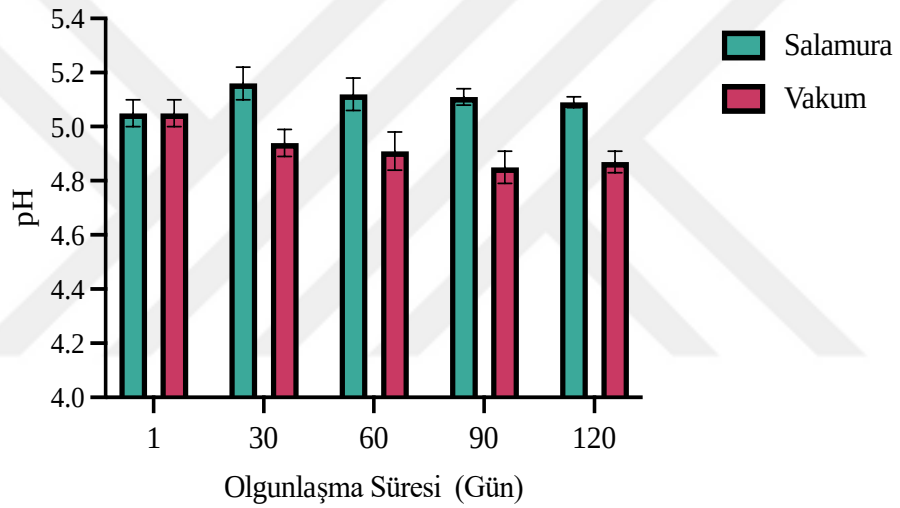


Şekil 28. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Peynir örneklerinin pH değerleri üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin daha düşük pH değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu durumun daha öncede bahsedildiği üzere vakum ambalaj ortamının LAB'ların gelişimini teşvik ederek asitlik gelişimine katkıda bulunmasına bağlı olabileceği düşünülmektedir. Olgunlaşma süresince pH değerlerinde dalgalanmaların olduğu görülmüştür. Olgunlaşma süresince pH değerlerinde görülen dalgalanmalar başlangıçta laktozun hızlı bir şekilde fermantasyona uğraması ile asitlik artışına paralel pH'nın azalmasına, sonraki dönemlerde ise laktik asitin parçalanmasının ve proteoliz sonucu açığa çıkan bazik karakterli ürünlerin pH'yı yükseltmesine bağlanabilir.



Şekil 29. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi



Şekil 30. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

Çözünür Azot Fraksiyonlarına Ait Analiz Sonuçları

Peynirlerin çözünür azot fraksiyonları içerdikleri toplam azot oranlarından etkilendiğinden, söz konusu fraksiyonlar genellikle toplam azot üzerinden değerlendirilmektedir. Bu nedenle; pH 4,6'da, TCA'da ve PTA'da çözünen azot fraksiyonlarına ait değerler toplam azot değerlerine oranlanmış ve olgunlaşma indeksi (%) değerleri olarak verilmiştir. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot fraksiyonlarının olgunlaşma indekslerine ait varyans analiz sonuçları toplu olarak Tablo 25'te verilmiştir.

Tablo 25. Beyaz Peyniri Örneklerinin pH 4,6'da, TCA'da ve PTA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F		
		pH 4,6'da ÇA /TA	TCA'da ÇA /TA	PTA'da ÇA /TA
Kültür ilavesi (A)	3	26,272**	11,290**	4,869**
Muhafaza şekli (B)	1	19,350**	0,070	45,152**
Olgunlaşma süresi (C)	4	661,876**	424,805**	376,487**
AxB	3	2,017	0,518	1,403
AxC	12	2,319*	2,535**	0,735
BxC	4	6,848**	1,731	3,375*
AxBxC	12	0,815	0,543	0,841
Hata	120			
Toplam	160			

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

pH 4,6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

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

Tablo 25'te verilen varyans analiz sonuçlarından peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli, olgunlaşma süresi değişkenleri ile muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi p<0,01 düzeyinde, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi ise p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. İlgili interaksiyonlara ait grafikler Şekil 31-Şekil 32'de sunulmuştur.

Peynir örneklerine ait en düşük olgunlaşma indeksi değeri (%5,21) KS örneğinde olgunlaşmanın başında, en yüksek değer ise (%17,93) CS örneğinde 120. günde belirlenmiştir (Tablo 26).

Tablo 26. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince pH 4,6'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%)

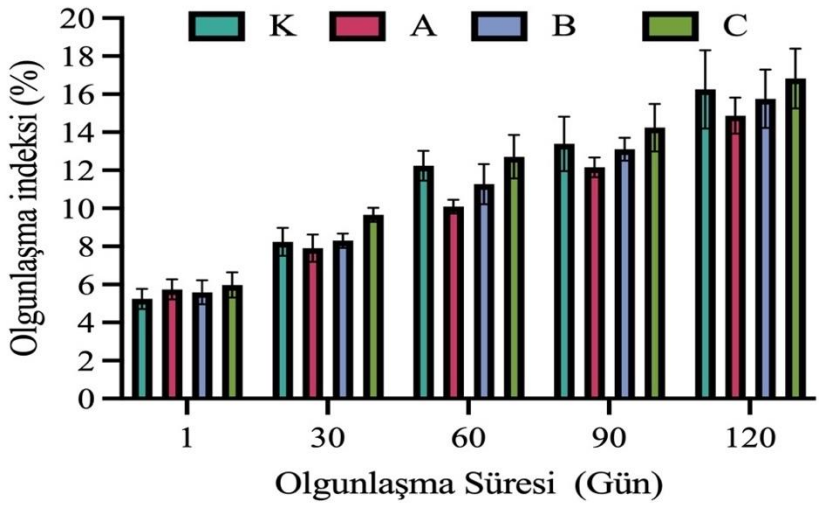
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	5,21±0,58 ^{a,E}	8,53±0,49 ^{b,D}	12,93±0,36 ^{a,C}	13,74±0,07 ^{ab,B}	17,23±0,69 ^{ab,A}
AS	5,73±0,69 ^{a,E}	7,77±1,04 ^{b,D}	9,77±0,09 ^{d,C}	11,95±0,16 ^{c,B}	15,70±0,20 ^{bc,A}
BS	5,84±0,55 ^{a,E}	8,53±0,25 ^{b,D}	11,11±0,57 ^{bc,C}	13,18±0,33 ^{bc,B}	16,96±0,65 ^{ab,A}
CS	6,21±0,81 ^{a,E}	9,43±0,15 ^{a,D}	13,03±0,18 ^{a,C}	15,04±0,62 ^{a,B}	17,93±1,27 ^{a,A}
KV	5,28±0,59 ^{a,D}	7,96±0,91 ^{b,C}	11,57±0,32 ^{bc,B}	13,06±2,13 ^{bc,AB}	15,27±2,64 ^{bc,A}
AV	5,77±0,47 ^{a,E}	8,05±0,28 ^{b,D}	10,42±0,12 ^{cd,C}	12,38±0,71 ^{bc,B}	14,05±0,52 ^{c,A}
BV	5,36±0,69 ^{a,E}	8,07±0,37 ^{b,D}	11,46±1,48 ^{bc,C}	13,03±0,85 ^{bc,B}	14,57±1,15 ^{c,A}
CV	5,74±0,50 ^{a,D}	9,90±0,38 ^{a,C}	12,40±1,66 ^{ab,B}	13,46±1,26 ^{bc,B}	15,73±0,96 ^{bc,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

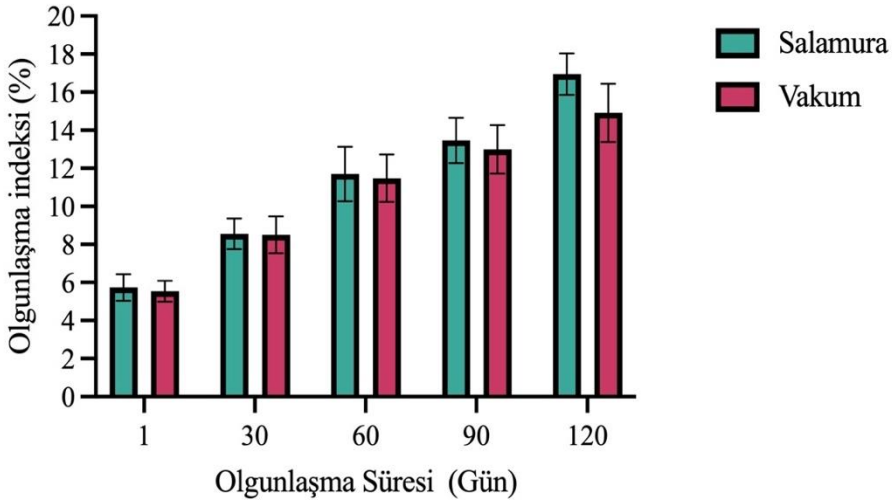
^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşmanın başlangıcında pH 4,6'da çözünen azota göre belirlenen olgunlaşma indeksi değerleri açısından örnekler arasında farklılıkların bulunmadığı, istatistiksel olarak benzer olduğu görülmektedir. Olgunlaşmanın 30., 60., 90. ve 120. günlerinde ise en yüksek değerler primer startere ilaveten *L. paracasei* 670 ve *L. plantarum* 134-255 suşlarının kullanıldığı C örneğinde belirlenmiş, bu örneği sırasıyla K, B ve A örnekleri izlemiştir. pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonu üzerinde kalıntı kimozin ve plazmin enzimlerinin ana etkenler olduğu, bununla birlikte peynirde olgunlaşma sırasında görülen tüm proteolitik ve peptidolitik aktivitelerinin de primer proteoliz üzerinde katkısı olduğu bildirilmiştir (Poveda *et al*. 2015).

Olgunlaşma süresince tüm örneklerde olgunlaşma indeksi değerlerinde artış görülmüş, söz konusu artışların özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun salamurada olgunlaştırılan peynirlerde su içeriğinin daha fazla olmasına bağlı olarak kalıntı peynir mayası ile sütün doğal plazmininin daha etkin aktivite göstermesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim peynirlerin bulunduğu çevresel koşulların (düşük asitlik, yüksek nem içeriği gibi) kimozinin αs_1-kazein üzerindeki aktivitesini desteklediği, bu durumun da suda çözünür peptitlerin hızlı üretimine neden olduğu bildirilmiştir (Romeih *et al*. 2002). Benzer şekilde Erkaya (2014), Barac *et al*. (2021) vakumda olgunlaştırılan Beyaz peynirlerin salamurada olgunlaştırılan peynirlere oranla daha düşük suda çözünür azot değerlerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda olgunlaşma süresince olgunlaşma indeksi değerlerinde görülen artışların proteinlerin bir kısmının hidrolize olarak suda çözünür bileşiklere dönüşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 31. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi



Şekil 32. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

TCA'da çözünen azot fraksiyonu başlıca bakterilerin proteolitik aktiviteleri ile rennet aktivitesi sonucu oluşan molekül ağırlığı 3000 Dalton'dan küçük peptitleri ve amino asitleri içermektedir. Bu fraksiyon peynirdeki olgunlaşmanın yorumlanmasında kullanılan önemli bir parametre olarak kabul edilmektedir. Varyans analizi test sonuçlarından TCA'da çözünen azot fraksiyonuna göre belirlenen olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi, olgunlaşma süresi ile kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi istatistiksel olarak $p<0,01$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

Peynir örneklerine ait en düşük TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%3,22) olgunlaşmanın başlangıcında BV örneğinde, en yüksek değer ise (%11,55) C kültür

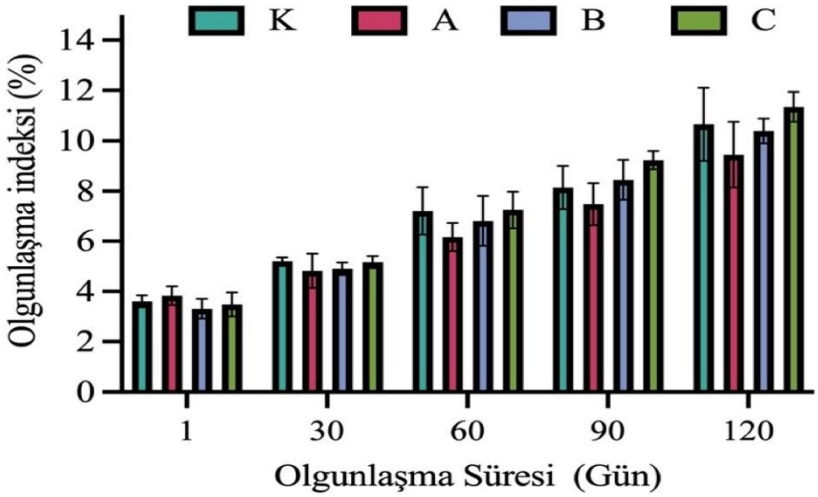
kombinasyonu ile üretilmiş ve vakum ambalajlanmış CV örneğinde 120. günde belirlenmiştir (Tablo 27).

Tablo 27. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince TCA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	3,73±0,23 ^{a,C}	5,14±0,18 ^{a,C}	7,30±0,47 ^{a,B}	8,06±0,41 ^{bc,B}	10,81±2,07 ^{ab,A}
AS	3,83±0,48 ^{a,D}	5,23±0,79 ^{a,C}	6,22±0,82 ^{a,BC}	7,17±1,01 ^{c,B}	9,13±0,87 ^{b,A}
BS	3,39±0,47 ^{a,E}	5,06±0,08 ^{a,D}	6,72±1,11 ^{a,C}	7,81±0,40 ^{c,B}	10,27±0,45 ^{ab,A}
CS	3,75±0,30 ^{a,E}	5,23±0,11 ^{a,D}	7,46±0,89 ^{a,C}	9,21±0,45 ^{a,B}	11,17±0,47 ^{a,A}
KV	3,50±0,22 ^{a,D}	5,26±0,16 ^{a,C}	7,14±1,36 ^{a,B}	8,23±1,25 ^{abc,B}	10,51±0,78 ^{ab,A}
AV	3,84±0,33 ^{a,D}	4,42±0,17 ^{b,D}	6,13±0,25 ^{a,C}	7,80±0,63 ^{c,B}	9,78±1,73 ^{ab,A}
BV	3,22±0,34 ^{a,E}	4,75±0,28 ^{ab,D}	6,91±1,03 ^{a,C}	9,10±0,45 ^{ab,B}	10,51±0,57 ^{ab,A}
CV	3,23±0,53 ^{a,E}	5,12±0,43 ^{a,D}	7,05±0,61 ^{a,C}	9,25±0,32 ^{a,B}	11,55±0,72 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.
^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşmanın 1., 30. ve 60. günlerinde genel olarak benzer olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle örnekler arasında farklılıkların bulunduğu görülmektedir. Olgunlaşmanın 90. ve 120. günlerinde en yüksek olgunlaşma indeksi değerleri özellikle *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 134-255 suşlarının kombinasyonları ile üretilen C örneğinde belirlenmiştir (Şekil 33). TCA'da çözünen azot miktarı üzerinde; özellikle starter olarak kullanılan bakterilerin proteolitik aktiviteleri ile kalıntı peynir mayasının etkili olduğu bilinmektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde C örneğinin üretiminde kullanılan starter/yardımcı kültürlerin bu parametreye ait değerlerin daha yüksek olmasına katkıda bulunduğu düşünülebilinir.



Şekil 33. Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince tüm örneklerde artış gösterdiği belirlenmiştir. Muhafaza şekli açısından değerlendirildiğinde;

istatistiksel olarak çok büyük farklılıklar bulunmamakla birlikte özellikle 120. günde aynı kültür kombinasyonu ile üretilen peynirler kendi içlerinde karşılaştırıldığında KV örneği dışında vakum ambalajda olgunlaştırılan örneklerin salamurada olgunlaştırılanlara oranla daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir.

PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi

Beyaz peynir örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri Tablo 28'de verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlarından PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi $p<0,01$ düzeyinde, muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur (Tablo 25). Muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonuna ait grafik Şekil 34'te verilmiştir.

Tablo 28. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince PTA'da Çözünen Azota Göre Olgunlaşma İndeksi Değerleri (%)

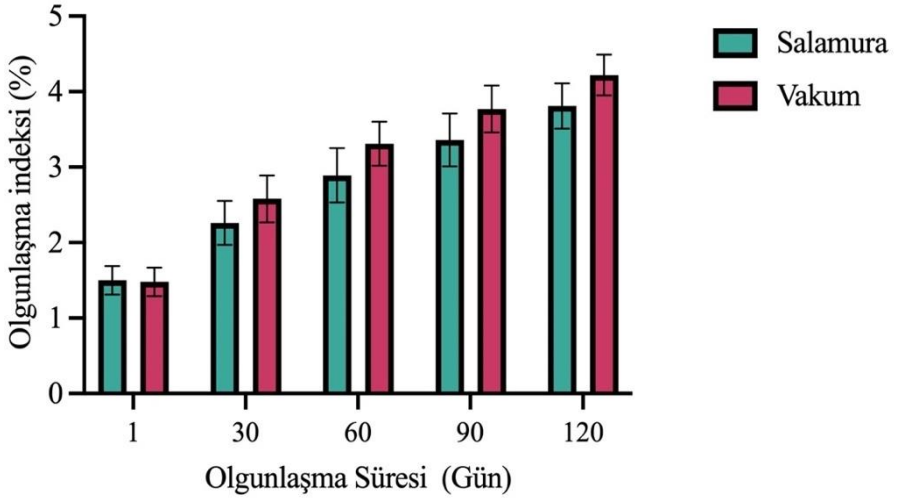
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)				
	1	30	60	90	120
KS	1,48±0,20 ^{a,D}	2,20±0,37 ^{bc,C}	3,06±0,50 ^{bcd,B}	3,53±0,34 ^{abc,AB}	3,98±0,33 ^{abcd,A}
AS	1,53±0,19 ^{a,D}	2,17±0,09 ^{c,C}	2,80±0,36 ^{cd,B}	3,18±0,49 ^{c,B}	3,63±0,13 ^{d,A}
BS	1,54±0,27 ^{a,E}	2,24±0,34 ^{bc,D}	2,76±0,46 ^{d,C}	3,29±0,32 ^{bc,B}	3,88±0,30 ^{bcd,A}
CS	1,49±0,20 ^{a,D}	2,45±0,32 ^{abc,C}	2,97±0,04 ^{bcd,B}	3,46±0,30 ^{abc,A}	3,76±0,40 ^{cd,A}
KV	1,52±0,20 ^{a,D}	2,63±0,21 ^{abc,C}	3,28±0,13 ^{abc,B}	3,79±0,41 ^{ab,A}	4,10±0,27 ^{abc,A}
AV	1,58±0,07 ^{a,E}	2,25±0,30 ^{bc,D}	3,01±0,24 ^{bcd,C}	3,54±0,31 ^{abc,B}	4,06±0,10 ^{abcd,A}
BV	1,41±0,29 ^{a,D}	2,67±0,31 ^{ab,C}	3,61±0,27 ^{a,B}	3,92±0,21 ^{a,B}	4,33±0,20 ^{ab,A}
CV	1,45±0,22 ^{a,E}	2,78±0,26 ^{a,D}	3,35±0,18 ^{ab,C}	3,84±0,26 ^{ab,B}	4,42±0,35 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Olgunlaşma süresince en düşük PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%1,41) BV örneğinde 1. günde, en yüksek değer (%4,42) ise CV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Peynir örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma periyodunun başında benzer olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte özellikle C, B ve kontrol örneklerinin daha yüksek değerlere sahip olduğu görülmektedir. PTA'da çözünen azot fraksiyonlarının olgunlaşma sırasında peynirlerde biriken çok küçük molekül ağırlıklı peptitler ile amino asitlerden oluştuğu, starter ve starter olmayan LAB'ların başlıca etken olduğu bildirilmiştir (Andiç *et al.* 2011). Bu açıdan değerlendirildiğinde başta B ve C örneklerinin üretiminde kullanılan yardımcı kültürler (*L. paracasei* ile *L. plantarum*) olmak üzere kullanılan tüm kültürlerin PTA'da çözünen azot fraksiyonları üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Muhafaza şekli açısından da örnekler arasında farklılıkların bulunduğu, özellikle vakum ambalajda olgunlaştırılmış B ve C kültürüyle üretilen peynirlerde olgunlaşma indeksi değerlerinin 120. günde daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu

durumun her iki peynirin üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılan *L. paracasei* suşunun proteolitik aktivitesinin yanı sıra söz konusu kültürlerin vakum ambalaj ortamında salamurada olduğundan daha fazla aktivite göstermesinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir. Aynı zamanda proteoliz sonucu parçalanma ürünlerinin salamuraya geçmiş olabileceği, bu nedenle PTA'da çözünür azot fraksiyonlarında azalma görülebileceğide akla gelmektedir. Benzer şekilde Erkaya (2014) farklı probiyotik suşlar kullanarak ürettiği Beyaz peynirlerde en yüksek değerlerin vakum ambalajda olgunlaştırılmış ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneğinde bulunduğunu bildirmiştir.



Şekil 34. Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünen azot fraksiyonu cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

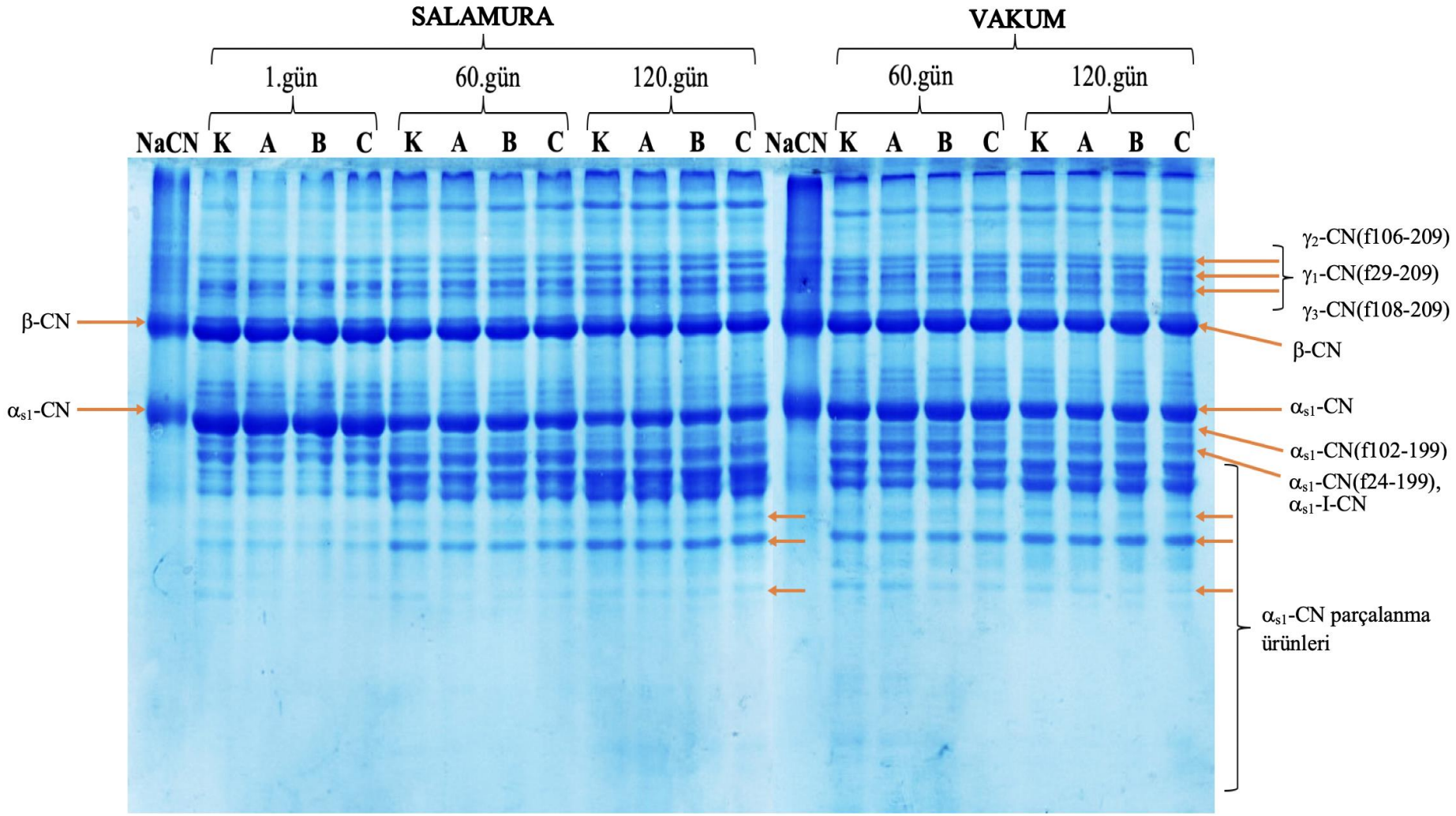
Olgunlaşma süresince tüm örneklerde PTA'da çözünen azot fraksiyonlarının sürekli olarak artış gösterdiği belirlenmiştir. PTA'da çözünen azot fraksiyonuna ait olgunlaşma indeksi değerlerinde artışlar diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Erkaya 2014; Barac *et al.* 2021).

Kazein Fraksiyonlarına Ait Elektroforez (Üre-PAGE) Analiz Sonuçları

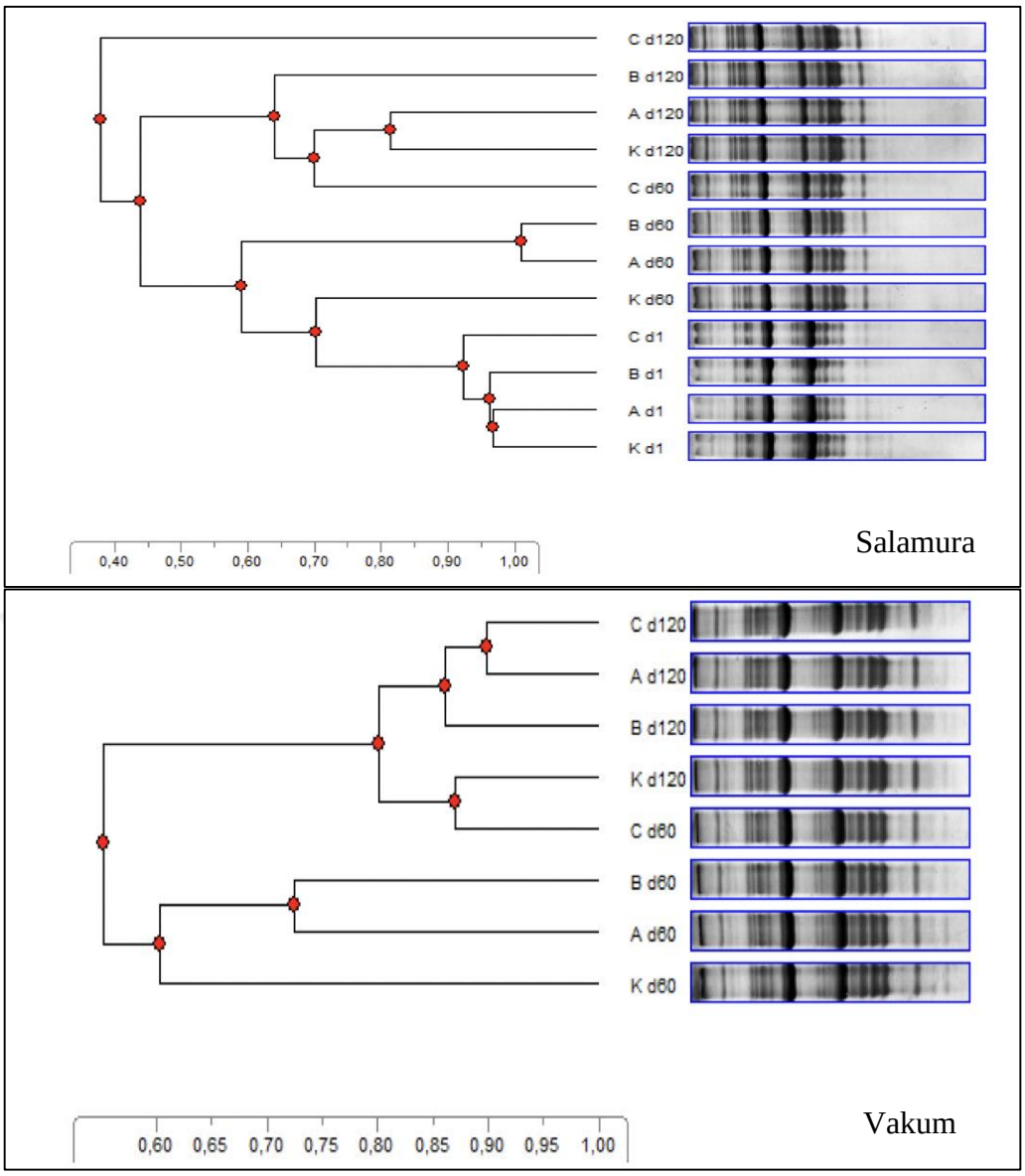
Beyaz peynir örneklerinin üre–PAGE elektroforetik analizleri pH 4,6'da çözünmeyen azot fraksiyonları kullanılarak yapılmış, olgunlaşmanın 1., 60. ve 120. günlerinde elde edilen elektroforetogramlar Şekil 35'te verilmiştir. Şekil 35'te ilk bant sodyum–kazeinatı, diğer bantlar da sırasıyla peynirlerin kazein fraksiyonlarının farklı olgunlaşma günlerindeki elektroforetik özelliklerini göstermektedir. Olgunlaşma periyodunun başında tüm örneklerde αs_1-kazeinin hidrolizasyonu sonucu benzer kazein bantlarının oluştuğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte tüm örneklerde kazein hidrolizinin arttığı, αs_1-kazein bandının yoğunluğunun azaldığı, αs_1-kazeinin parçalanma bölgesindeki bantların yoğunluğunun ise arttığı saptanmıştır.

Kültür kombinasyonları açısından değerlendirildiğinde örnekler arasında çok önemli farklılıkların olmadığı, bununla birlikte salamurada olgunlaştırılan peynirlerde αs_1-kazeinin vakum ambalajda olgunlaştırılanlara oranla daha fazla hidrolize olduğu belirlenmiştir. Elde edilen bu veriler primer proteolizin göstergesi olarak kabul edilen pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonlarının sonuçları ile de uyum göstermektedir (Tablo 26). Benzer şekilde Wang *et al.* (2010) farklı oranlarda (%0,1, %1 ve %2) *L. casei* Zhang suşu ile üretilen probiyotik Cheddar peynirinde Üre-PAGE elektroforetogramlarında 6 aylık olgunlaşma periyodunun sonunda örnekler arasında birincil proteolizin derecesi açısından herhangi bir farklılığın görülmediğini bildirmişlerdir.

Olgunlaşma süresi ilerledikçe αs_1-kazeinin hemen ilerisinde fragment (αs_1-kazein f102-199) miktarında vakum ambalajlanmış örneklerde daha fazla birikme olduğu gözlenmiştir. Peynir matriksinde bulunan kalıntı kimozinin, αs_1-kazeinin Phe 23-Phe 24 peptit bağını hidrolize ederek αs_1-kazein (f1-23) ve αs_1-kazein (f24-199) fraksiyonlarının meydana gelmesine neden olduğu bildirilmiştir (Merheb-Dini *et al.* 2012). Benzer şekilde Erkaya (2014) primer proteolizin göstergesi olan α_{S1}–kazein ve β–kazeinin başlangıç hidrolizinin salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde daha fazla olduğunu, sekonder proteolizin göstergesi olarak kabul edilen ileri parçalanma ürünlerinin oluşumunun ise vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde daha fazla gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Peynirde kazeinin primer proteolizi üzerinde çoğunlukla kalıntı kimozinin, sekonder proteolizi üzerinde (küçük peptitler ve amino asitler) ise starter olarak kullanılan kültürlerin enzimlerinin etkili olduğu bilinmektedir. Dikkat çekici diğer bir nokta tüm peynir örneklerinde olgunlaşma periyodunun sonunda yüksek oranda hidrolize edilmemiş β-kazein varlığının tespit edilmiş olmasıdır. Benzer şekilde; αs_1-kazeinin β-kazeinden daha fazla hidrolize edildiği Kaşar (Temizkan vd 2014; Yılmaz 2019), Beyaz (Erkaya 2014; Gürkan 2019) ve Kashkaval peynirlerinde (Sulejmani and Hayaloglu 2016) farklı araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir. Barac *et al.* (2021) vakum ambalaj ve salamurada olgunlaştırılan her iki Beyaz peynirdede αs-kazeinin proteolizinin β-kazeinden daha hızlı gerçekleştiğini, bu durumun enzimler için daha az erişilebilir hale gelen β-kazeinin yapısıyla ilgili olduğunu bildirmişlerdir.



Şekil 35. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının üre-PAGE elektroforetogramları (NaCN: Sodyum-kazeinat; CN: Kazein)



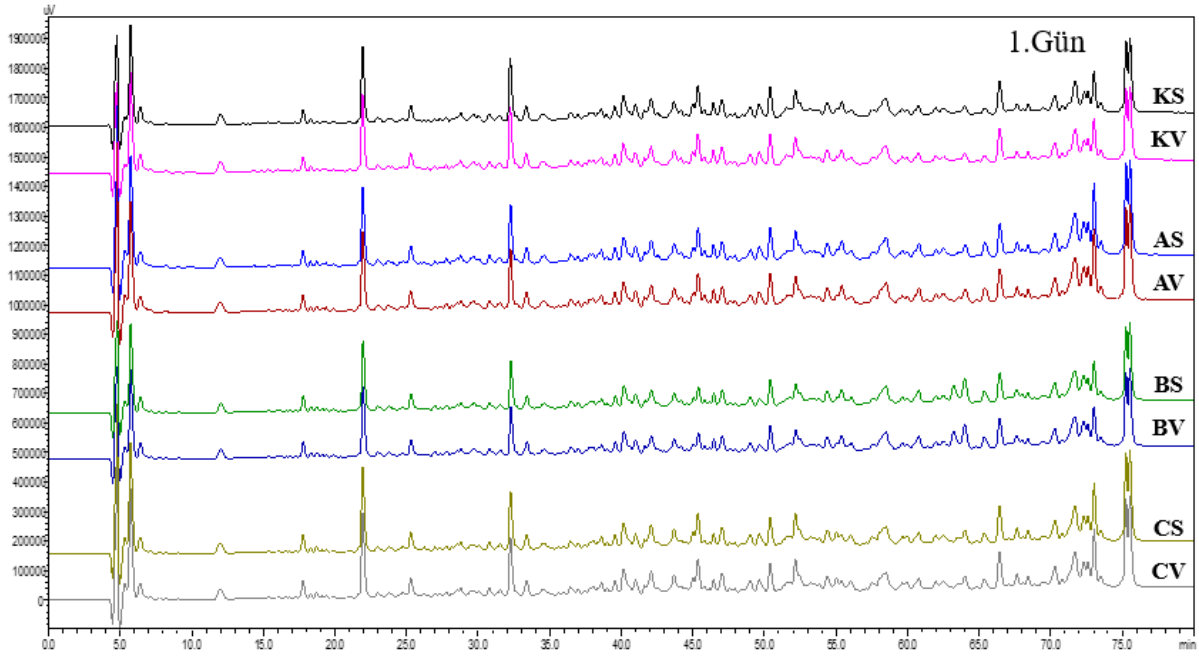
Şekil 36. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik bantlarının aşamalı kümeleme analizi

Şekil 36 incelendiğinde olgunlaşma periyodunun başlangıcında kazein hidrolizinin hem salamurada hem de vakum ambalajda olgunlaştırılan tüm örneklerde benzer olduğu ve bu nedenle aynı kümede yer aldıkları görülmektedir. Olgunlaşma periyodunun 60. gününde A ve B kültür kombinasyonları ile üretilen peynirlerde her iki muhafaza şeklinde de kazein parçalanmasının benzer olduğu, K ve C örneklerinden farklı kümelendiği belirlenmiştir. Özellikle C örneğinin 60. gününe ait bantların K örneğinin 120 günü ile birlikte kümelendiği tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 120. gününde ise A ve K kültür kombinasyonları ile üretilen ve salamurada olgunlaştırılan peynirlerde kazein hidrolizinin benzer olduğu, B ve C kültür kombinasyonları ile üretilen peynirlerden farklı kümelendiği gözlenmiştir. Vakum ambalajlanmış peynirlerde ise A, B ve C örneklerinde kazein parçalanmasının benzer olduğu,

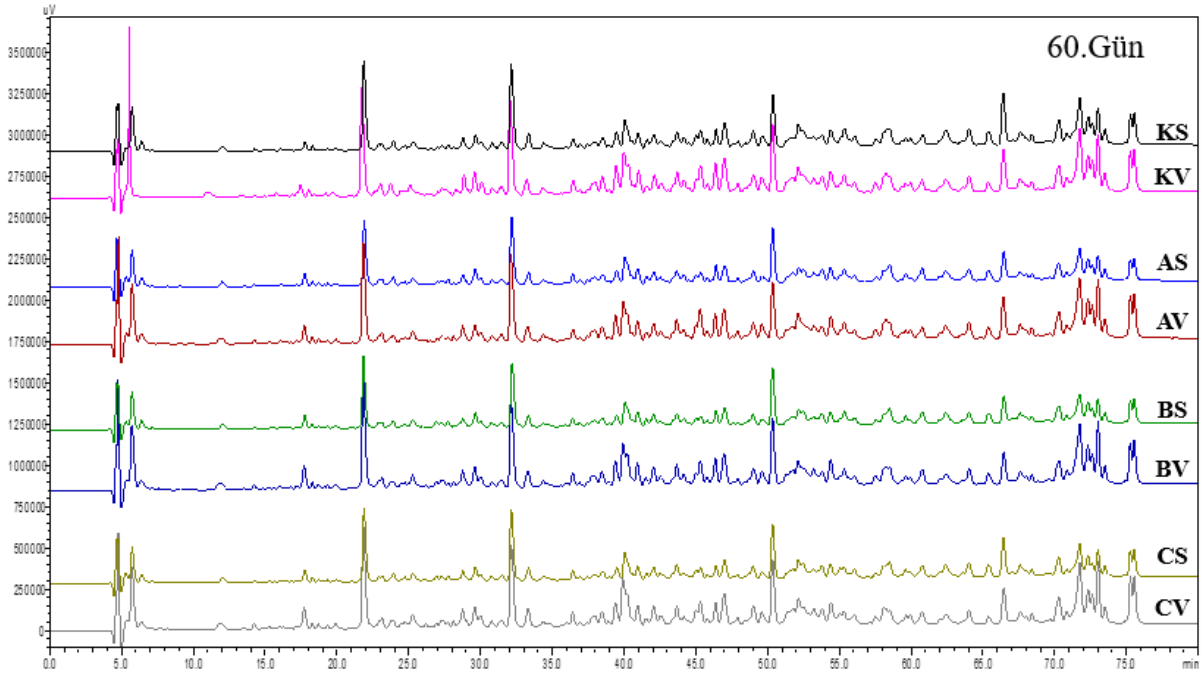
buna karşılık sadece primer kültürün kullanıldığı K örneğinden farklı kümelendiği tespit edilmiştir. Kümeleme analiz sonuçlarından özellikle primer startere ilaveten *L. paracasei* ve *L. plantarum* suşlarının bir arada kullanıldığı B ve C peynir örneklerinde kazein hidrolizinin benzer düzeyde olduğu, söz konusu suşların proteolize katkıda bulunduğu anlaşılmaktadır.

Beyaz Peynir Örneklerine Ait Peptid Profili Analiz Sonuçları

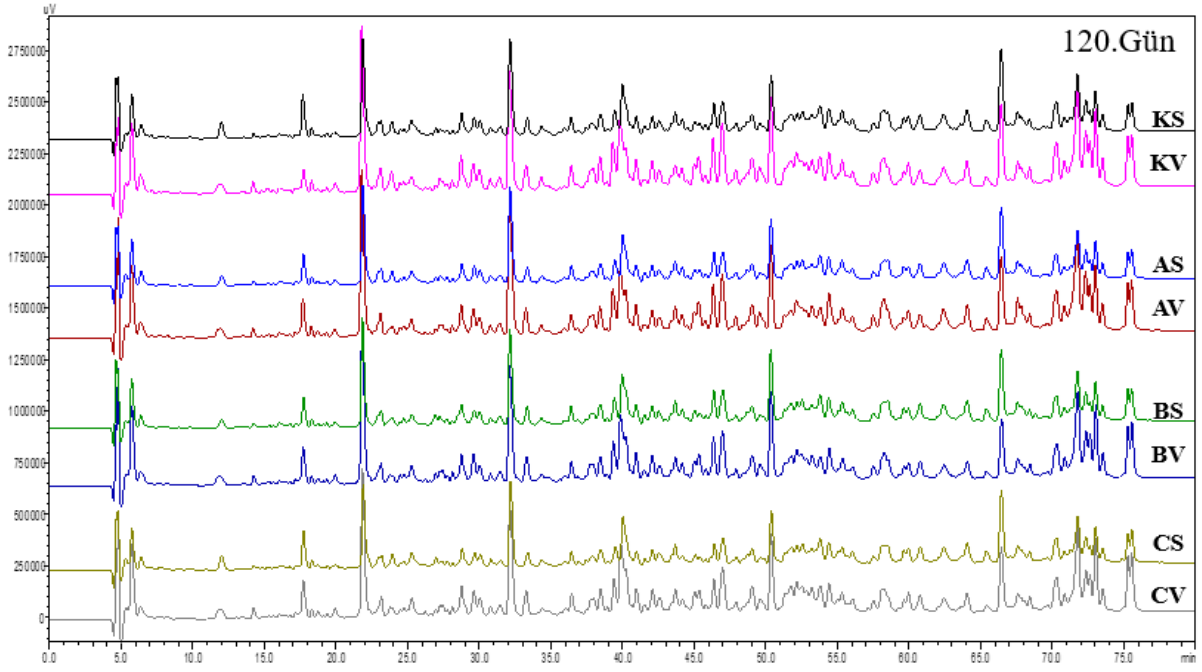
Birçok peynir çeşidinde olgunlaşma sürecinde meydana gelen proteolizi belirlemede başvurulan en yaygın ve en önemli yöntemlerden birinin RP-HPLC tekniği ile peptit profilinin belirlenmesi olduğu bildirilmiştir (Yılmaz 2019). HPLC kromotogramlarında oluşan pik sayısı, yüksekliği ve oluştuğu alan (hidrofilik ve hidrofobik bölge) peynirlerde sekonder proteoliz hakkında önemli bilgiler vermektedir. Beyaz peynir örneklerinin peptit profili analizi pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonunda RP-HPLC kullanılarak belirlenmiş ve olgunlaşma periyodunun 1., 60., 120. günlerinde elde edilen kromatogramlar sırasıyla Şekil 37, Şekil 38 ve Şekil 39'da verilmiştir. Kromatogramda 10-40 d arası hidrofilik peptitler, 40-75 d arası ise hidrofobik peptitler olarak belirtilmiştir (Pavlinic *et al.* 2010; Temizkan *et al.* 2014). Peynir örneklerinin 1. gününe ait kromatogram incelendiğinde tüm örneklere ait peptit profilinin genel olarak benzer olduğu, pik yükseklikleri açısından bazı küçük farklılıkların bulunduğu görülmektedir. Alıkonma süresinin 22. dakikasında gelen pikin yüksekliğinin C örneğinde biraz daha yüksek olduğu, 32. dakikada gelen pik yüksekliğinin ise diğer örneklere nazaran B örneğinde daha düşük olduğu gözlenmiştir.



Şekil 37. Beyaz peynir örneklerinde 1. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı



Şekil 38. Beyaz peynir örneklerinde 60. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

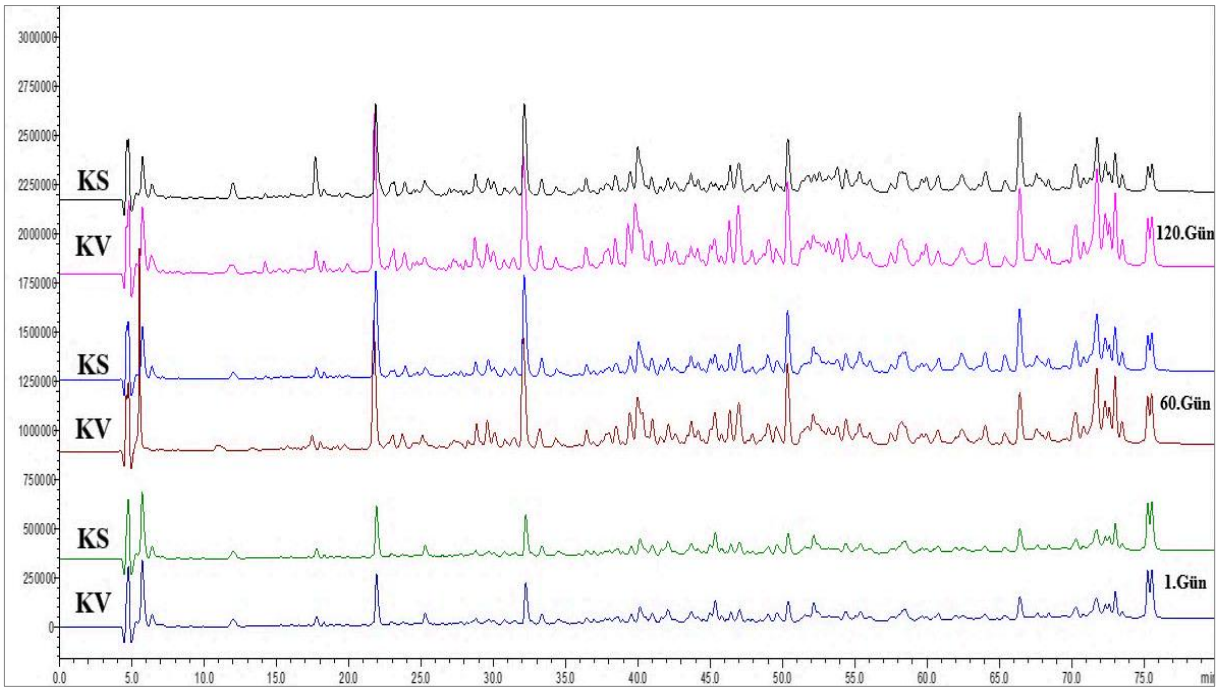


Şekil 39. Beyaz peynir örneklerinde 120. günde belirlenen peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

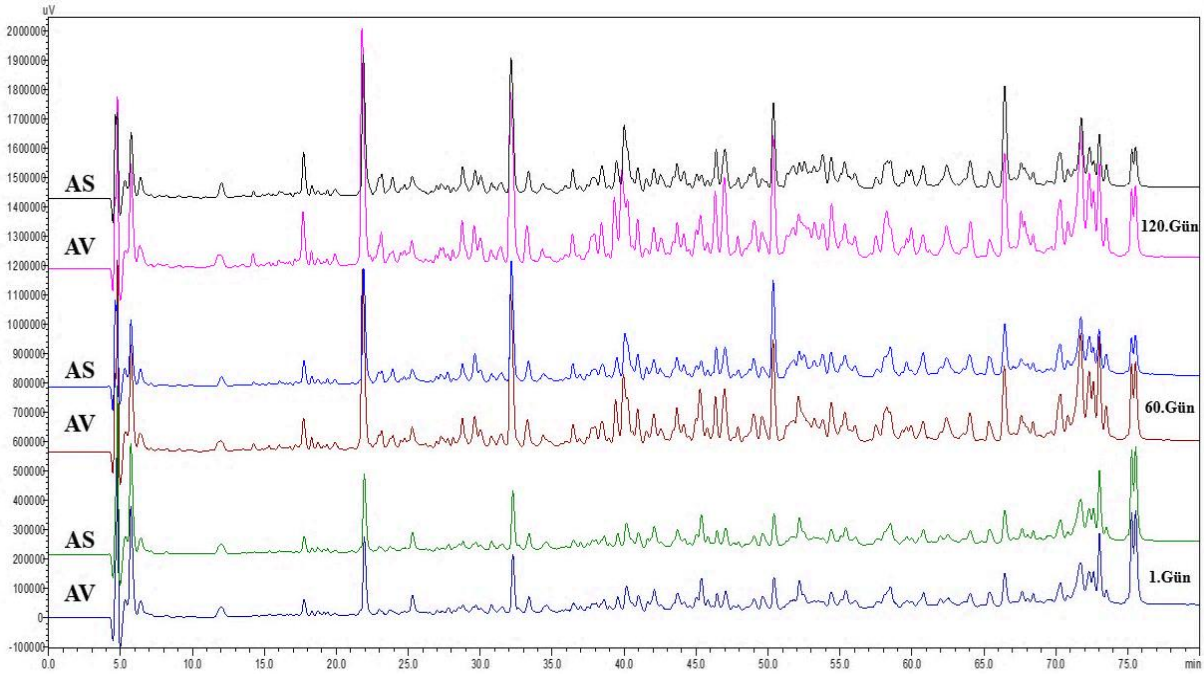
Olgunlaşmanın 60. ve 120. günlerinde tüm örneklerde hem hidrofilik / hidrofobik bölgelerdeki piklerin çeşitliliğinde hem de pik yüksekliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Pik alanlarındaki artış peynir örneklerinde önemli bir proteolizin gerçekleştiğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Özellikle 60. günde alıkonma sürelerinin 50. ve 67. dakikalarında gelen piklerin tüm örneklerde belirginleştiği görülmektedir. Kültür kombinasyonları açısından

değerlendirildiğinde peynir örnekleri arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, bununla birlikte özellikle olgunlaşmanın 60. gününde primer startere ilaveten *L. paracesi* 670, *L. plantarum* 255-134 suşlarının kombinasyonları ile üretilen B ve C peynirleri ile kontrol örneklerinin peptit profillerinin benzer olduğu belirlenmiştir.

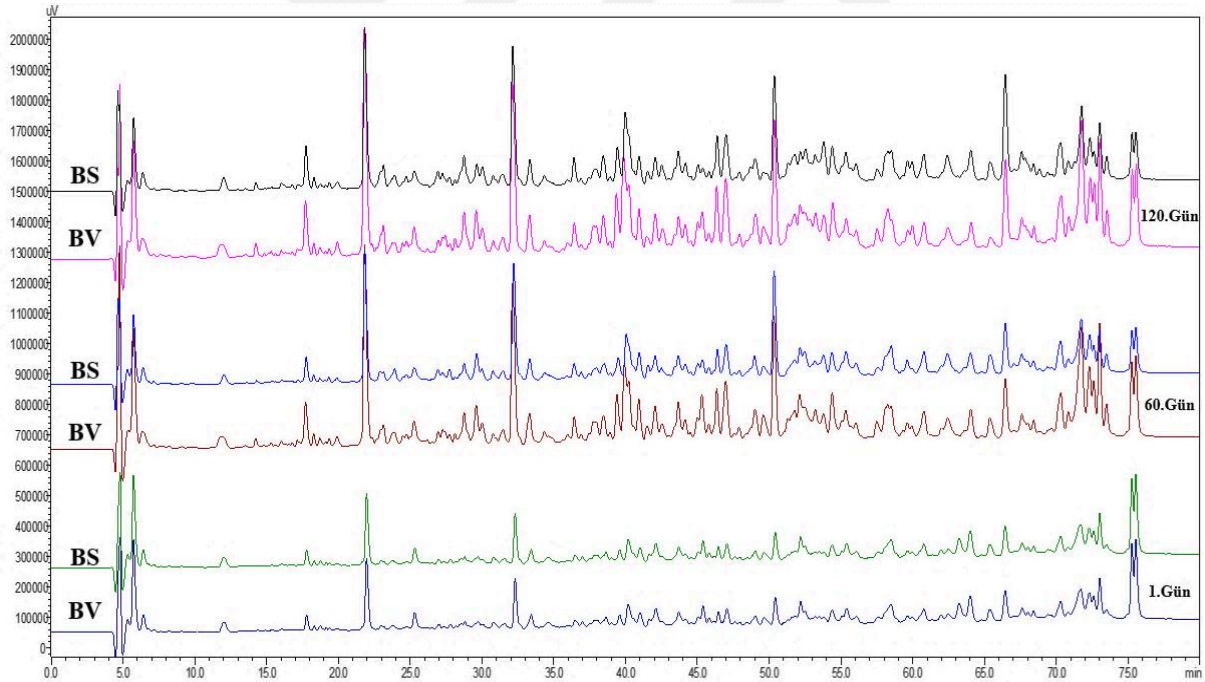
HPLC kromatogramları muhafaza şekli açısından değerlendirildiğinde vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde belirlenen piklerin salamurada olgunlaştırılan peynirlere oranla belirgin derecede yüksek olduğu görülmektedir (Şekil 40-43). Benzer şekilde Hayaloğlu vd (2012) vakum ambalajlanmış Mihaliç peynirinde, Erkaya (2014) ise vakum ambalajlanan Beyaz peynirde salamurada olgunlaştırılan peynirlere oranla pik yüksekliklerinin daha fazla olduğunu bildirmişlerdir.



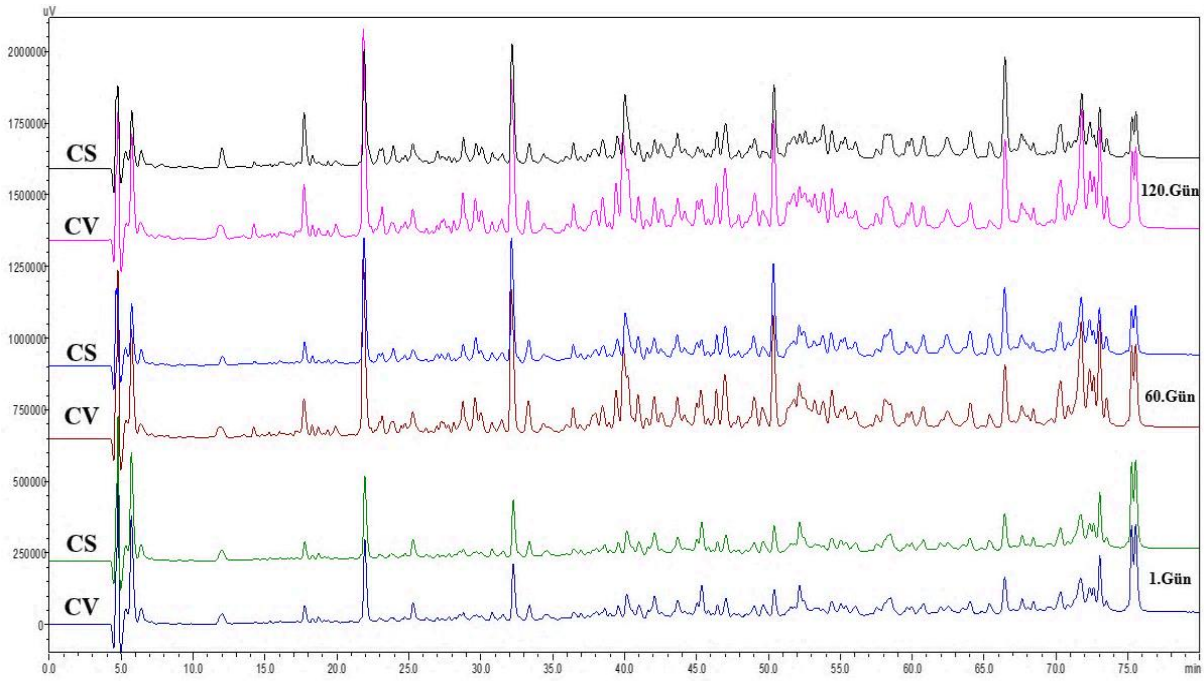
Şekil 40. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan K örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı



Şekil 41. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan A örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı



Şekil 42. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan B örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı



Şekil 43. Salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılan C örneğinin peptit profiline ait RP-HPLC kromatogramı

Beyaz Peynir Örneklerinin Serbest Amino Asit Analiz Sonuçları

Proteolizin son ürünü olarak oluşan amino asitlerin çeşitli katabolik reaksiyonlarla (dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon) uçucu lezzet bileşenlerine dönüştüğü ve böylece peynir lezzetinin oluşmasında oldukça önemli etkisinin olduğu bilinmektedir (Settani and Moschetti 2010). Başka bir ifadeyle, amino asitler çeşitli alkoller, aldehitler, esterler ve sülfür bileşikleri gibi lezzet bileşenleri için öncül maddeler olarak kabul edilmektedirler. Aynı zamanda son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda olgunlaşma sırasında oluşan serbest amino asitlerin LAB'lar tarafından ikincil katabolik reaksiyonlar için substrat olarak kullanılabileceği, böylece GABA ve ornitin gibi bileşiklerin oluşumuna yol açabileceği bildirilmiştir (Renes *et al.* 2019). İlave olarak serbest amino asitlerin tayini gıdanın besinsel kalitesi hakkında fikir vermesi bakımından da önemlidir (Yılmaz 2019).

Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma periyodunun 1., 60. ve 120. günlerinde belirlenen serbest amino asit miktarları standart sapmaları ile birlikte Tablo 29'da, varyans analiz sonuçları ise Tablo 30'da verilmiştir. Varyans analizi test sonuçlardan analiz edilen çoğu amino asit konsantrasyonları üzerinde kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Aynı zamanda kültür ilavesi x muhafaza şekli, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi, muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının amino asit konsantrasyonları üzerine etkilerinin de genel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Analiz edilen tüm örneklerde toplam 20 amino asit belirlenmiş, özellikle Leu, Ile, Tyr, Phe amino asitleri hâkim amino asitler olarak tespit edilmiştir. Eren-Vapur and Özcan (2012) farklı pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültür kullanarak ürettikleri peynirlerde Phe, Leu, Ile, Gln, Val, Pro ve Ala amino asitlerini majör amino asitler olarak belirlemişlerdir. Atanasova *et al.* (2021) inek, koyun ve keçi sütlerinden aynı starter kültürü kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerde Leu, Phe, Val, Arg ve Lys amino asitlerini hâkim amino asitler olarak tespit etmişlerdir. Aydemir (2018) farklı sıcaklıklarda pastörize edilmiş sütlerden ürettiği Beyaz peynirlerde en yüksek konsantrasyonlarda belirlenen amino asitlerin Leu, Lys, Phe ve Val olduğunu bildirmiştir.

Duncan Çoklu Karşılaştırma Test sonuçlarından kullanılan kültür kombinasyonlarının serbest amino asit oluşumu üzerinde etkili olduğu, Asp, Glu, Arg, Met, Leu, Ile, Phe amino asitlerinin *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134-255 suşlarının kombinasyonları kullanılarak üretilen ve vakumda olgunlaştırılan B ve C peynirlerinde daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 120 günlük olgunlaşma periyodunun sonunda Ser, Gln, Ala, Trp, Lys amino asitlerinin C kültürü ile üretilen ve vakumda olgunlaştırılan peynirde, Asn, Gly, Thr, Tyr, Val amino asitlerinin de yine CV ile KV örneğinde daha yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. His, Pro, Cys amino asitlerinin ise KV örneğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan özellikle C kültür kombinasyonunun (primer starter kültür + *L. plantarum* 255 + *L. plantarum* 134 + *L. paracasei* 670) peynir örneklerinde amino asit konsantrasyonunun arttırılmasında etkili olduğu görülmektedir. Peynirde amino asit oluşumu üzerinde starter/starter olmayan bakterilerin peptidaz aktivitelerinin etkili olduğu bilinmektedir. Benzer şekilde Aydemir (2010) Kars ilinde faaliyet gösteren farklı firmalardan temin ettiği Kaşar peynirlerinin serbest amino asit miktarlarının LAB sayısı ile paralel bir değişim gösterdiğini ve bu durumun serbest amino asitlerinin söz konusu mikroorganizma grubunun peptidaz aktivitesi sonucu ortaya çıkmasıyla ilgili olduğunu bildirmiştir.

Peynir örneklerinde belirlenen serbest amino asit konsantrasyonları üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakumda olgunlaştırmanın serbest amino asit düzeyini artırdığı görülmüştür. Bu durumun başta proteolitik aktivitesi nedeniyle kültür olarak seçilen *L. paracasei*'nin yüksek tuz konsantrasyonunda aktivitesinin yavaşlamasından, buna karşılık vakum ortamında daha fazla aktivite göstermesinden ve sonuç olarak proteoliz düzeyinde artış görülmesiyle ilişkili olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde LAB sayılarının daha yüksek olduğu görülmektedir (Tablo 14-Tablo 15). Aynı zamanda salamura olgunlaştırma sırasında oluşan amino asitlerin salamuraya geçmiş

olabileceği, dolayısıyla serbest amino asit düzeylerinde azalmaya sebebiyet verebileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde serbest amino asit konsantrasyonlarındaki azalmanın amino asit katabolizmasına bağlı olabileceği ya da salamuraya difüze olmaları ile ilgili olabileceği başka araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir (Azarnia *et al.* 1997; Eren-Vapur and Özcan 2012). Bazı dalgalanmalar olmakla birlikte genel olarak proteoliz düzeyindeki artışa paralel olarak incelenen tüm peynirlerde olgunlaşmanın 60. gününden itibaren toplam serbest amino asit miktarında artış olduğu, en yüksek artışın *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 134-255 suşlarının bir arada kullanıldığı ve vakum ambalajda olgunlaştırılan CV örneğinde belirlendiği görülmektedir.

Tablo 29. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Serbest Amino Asit İçerikleri (mg/100g)

Amino asitler	Olg. süresi (Gün)	Örnekler							
		KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Asp	1	1,01±0,14 ^{a,A}	0,99±0,39 ^{a,AB}	1,07±0,23 ^{a,B}	0,98±0,27 ^{a,A}	0,95±0,17 ^{a,B}	0,79±0,45 ^{a,B}	0,95±0,27 ^{a,C}	0,84±0,31 ^{a,B}
	60	0,97±0,38 ^{c,A}	0,72±0,24 ^{c,B}	1,33±0,47 ^{c,B}	1,22±0,20 ^{c,A}	4,16±1,53 ^{b,A}	3,65±2,16 ^{b,A}	7,07±0,61 ^{a,A}	6,04±1,11 ^{a,A}
	120	1,25±0,58 ^{c,A}	1,31±0,23 ^{c,A}	2,55±0,46 ^{c,A}	1,18±0,20 ^{c,A}	4,77±0,86 ^{b,A}	1,33±0,34 ^{c,B}	5,04±0,12 ^{b,B}	6,73±2,76 ^{a,A}
Glu	1	6,59±3,08 ^{a,A}	6,80±3,81 ^{a,A}	5,69±2,19 ^{a,AB}	6,65±0,03 ^{a,A}	8,14±0,05 ^{a,A}	6,82±3,82 ^{a,A}	4,62±2,55 ^{a,A}	6,63±0,00 ^{a,B}
	60	2,73±1,32 ^{b,A}	3,43±0,23 ^{b,A}	3,54±1,67 ^{b,B}	3,71±0,30 ^{b,B}	3,06±0,00 ^{b,C}	3,12±0,46 ^{b,B}	9,09±5,89 ^{a,A}	10,78±0,00 ^{a,AB}
	120	5,55±5,19 ^{bcd,A}	3,13±0,90 ^{cd,A}	9,54±3,38 ^{bc,A}	3,48±0,00 ^{cd,B}	4,53±1,48 ^{cd,B}	2,28±0,61 ^{d,B}	11,18±4,70 ^{ab,A}	15,69±7,93 ^{a,A}
Asn	1	1,28±0,28 ^{a,B}	1,31±0,09 ^{a,A}	1,08±0,24 ^{ab,B}	1,00±0,02 ^{ab,A}	1,13±0,32 ^{ab,B}	1,27±0,11 ^{a,A}	1,20±0,27 ^{ab,B}	0,86±0,30 ^{b,C}
	60	1,01±0,18 ^{d,B}	1,46±0,41 ^{cd,A}	0,70±0,24 ^{d,B}	1,01±0,16 ^{d,A}	5,60±2,55 ^{a,AB}	3,21±1,59 ^{bc,A}	3,88±1,40 ^{ab,A}	3,99±1,90 ^{ab,B}
	120	3,17±1,48 ^{b,A}	1,79±0,58 ^{b,A}	1,56±0,31 ^{b,A}	1,09±0,16 ^{b,A}	6,47±4,45 ^{a,A}	3,05±1,35 ^{b,A}	3,73±1,24 ^{b,A}	6,62±1,13 ^{a,A}
Ser	1	0,66±0,52 ^{ab,B}	0,48±0,01 ^{ab,B}	0,48±0,15 ^{ab,B}	0,34±0,11 ^{b,B}	0,92±0,59 ^{a,B}	0,48±0,01 ^{ab,B}	0,55±0,17 ^{ab,C}	0,40±0,01 ^{b,C}
	60	0,98±0,09 ^{b,B}	0,84±0,20 ^{b,B}	1,12±0,57 ^{b,B}	1,11±0,30 ^{b,A}	11,26±5,06 ^{a,A}	7,63±4,56 ^{a,A}	9,97±0,03 ^{a,A}	11,31±0,03 ^{a,B}
	120	2,03±0,05 ^{c,A}	2,08±0,84 ^{c,A}	2,65±0,41 ^{c,A}	1,08±0,22 ^{c,A}	14,90±6,74 ^{b,A}	2,94±1,43 ^{c,B}	2,25±0,80 ^{c,B}	20,25±0,00 ^{a,A}
Gln	1	0,41±0,05 ^{a,B}	0,25±0,01 ^{b,B}	0,24±0,01 ^{b,B}	0,18±0,08 ^{b,B}	0,43±0,06 ^{a,A}	0,19±0,13 ^{b,B}	0,19±0,12 ^{b,B}	0,14±0,09 ^{b,B}
	60	0,62±0,20 ^{a,B}	0,27±0,01 ^{b,B}	0,23±0,08 ^{b,B}	0,32±0,02 ^{b,B}	TE	0,05±0,01 ^{c,C}	TE	TE
	120	4,50±2,29 ^{b,A}	1,28±0,85 ^{cd,A}	2,57±0,11 ^{bcd,A}	0,66±0,18 ^{d,A}	3,96±4,57 ^{bc,A}	3,75±0,03 ^{bc,A}	4,25±0,18 ^{b,A}	7,52±0,16 ^{a,A}
Gly	1	0,49±0,51 ^{a,A}	0,32±0,01 ^{a,B}	0,32±0,18 ^{a,B}	0,26±0,01 ^{a,C}	0,74±0,59 ^{a,B}	0,32±0,01 ^{a,B}	0,42±0,20 ^{a,C}	0,27±0,01 ^{a,B}
	60	0,47±0,23 ^{c,A}	0,32±0,12 ^{c,B}	0,39±0,11 ^{c,B}	0,50±0,04 ^{c,B}	6,14±2,81 ^{a,A}	2,62±1,40 ^{b,A}	2,85±1,01 ^{b,A}	3,94±1,79 ^{b,B}
	120	0,76±0,03 ^{b,A}	1,11±0,41 ^{b,A}	0,72±0,01 ^{b,A}	0,56±0,04 ^{b,A}	8,31±4,22 ^{a,A}	1,18±0,04 ^{b,B}	1,73±0,27 ^{b,B}	8,67±3,97 ^{a,A}
His	1	1,60±0,62 ^{a,B}	1,76±0,94 ^{a,B}	1,66±0,57 ^{a,C}	1,68±0,04 ^{a,C}	1,35±0,40 ^{a,B}	2,23±0,01 ^{a,B}	2,01±0,53 ^{a,C}	2,01±0,78 ^{a,B}
	60	3,22±0,71 ^{d,B}	2,68±0,36 ^{d,B}	2,74±0,07 ^{d,B}	2,86±0,23 ^{d,B}	11,55±1,99 ^{a,A}	7,39±2,35 ^{c,A}	9,45±0,54 ^{b,A}	9,31±1,41 ^{b,A}
	120	8,24±3,57 ^{b,A}	5,11±1,38 ^{cd,A}	8,16±0,54 ^{b,A}	4,15±0,01 ^{d,A}	14,05±2,73 ^{a,A}	6,24±0,23 ^{bcd,A}	7,66±0,39 ^{bc,B}	11,56±2,53 ^{a,A}

Tablo 29. (Devamı)

Arg	1	0,15±0,13 ^{a,B}	0,19±0,03 ^{a,B}	0,22±0,15 ^{a,B}	0,19±0,07 ^{a,B}	0,22±0,10 ^{a,B}	0,20±0,03 ^{a,B}	0,30±0,18 ^{a,C}	0,23±0,08 ^{a,B}
	60	0,41±0,02 ^{b,AB}	0,27±0,16 ^{b,B}	0,59±0,39 ^{b,AB}	0,38±0,14 ^{b,B}	0,66±0,25 ^{b,AB}	0,65±0,05 ^{b,A}	4,41±3,96 ^{a,B}	2,32±0,98 ^{ab,B}
	120	0,66±0,26 ^{b,A}	0,64±0,16 ^{b,A}	2,07±1,57 ^{b,A}	1,02±0,43 ^{b,A}	0,94±0,53 ^{b,A}	0,90±0,44 ^{b,A}	8,54±0,00 ^{a,A}	9,10±5,14 ^{a,A}
Thr	1	0,42±0,04 ^{ab,B}	0,35±0,10 ^{abc,A}	0,34±0,00 ^{bc,B}	0,23±0,04 ^{d,B}	0,44±0,05 ^{a,B}	0,30±0,10 ^{cd,B}	0,34±0,00 ^{bc,B}	0,21±0,05 ^{d,B}
	60	0,49±0,09 ^{c,B}	0,26±0,01 ^{c,A}	0,31±0,13 ^{c,B}	0,35±0,04 ^{c,A}	3,20±1,05 ^{a,A}	1,73±1,02 ^{b,A}	2,07±1,11 ^{b,A}	2,70±0,01 ^{ab,A}
	120	1,30±0,48 ^{b,A}	0,56±0,34 ^{b,A}	1,13±0,31 ^{b,A}	0,39±0,04 ^{b,A}	4,61±1,65 ^{a,A}	0,82±0,49 ^{b,AB}	1,12±0,50 ^{b,AB}	4,25±2,43 ^{a,A}
Ala	1	1,06±0,12 ^{a,B}	0,99±0,28 ^{a,B}	1,11±0,28 ^{a,B}	0,92±0,27 ^{a,B}	1,00±0,14 ^{a,B}	0,85±0,32 ^{a,B}	0,97±0,32 ^{a,B}	0,79±0,31 ^{a,C}
	60	1,33±0,23 ^{c,B}	1,18±0,14 ^{c,B}	1,17±0,48 ^{c,B}	1,36±0,11 ^{c,A}	5,19±0,61 ^{ab,A}	4,30±2,15 ^{b,A}	5,01±1,68 ^{ab,A}	6,03±0,02 ^{a,B}
	120	2,91±0,90 ^{cd,A}	1,78±0,15 ^{d,A}	2,34±0,35 ^{cd,A}	1,63±0,21 ^{d,A}	5,84±0,58 ^{a,A}	3,22±1,48 ^{bc,AB}	4,29±1,43 ^{b,A}	6,79±0,39 ^{a,A}
Pro	1	3,08±2,21 ^{ab,A}	4,14±2,41 ^{ab,A}	3,74±1,60 ^{ab,A}	3,42±1,70 ^{ab,A}	2,12±1,91 ^{b,C}	5,34±0,00 ^{a,A}	2,94±1,85 ^{ab,B}	4,27±0,01 ^{ab,B}
	60	2,89±1,71 ^{c,A}	2,54±1,30 ^{c,A}	2,36±1,40 ^{c,A}	3,41±0,02 ^{c,A}	8,67±0,94 ^{a,B}	5,93±3,14 ^{b,A}	7,33±0,94 ^{ab,A}	6,56±1,89 ^{ab,A}
	120	4,13±1,53 ^{c,A}	2,40±1,25 ^{d,A}	3,60±0,02 ^{cd,A}	4,02±0,02 ^{cd,A}	10,95±0,72 ^{a,A}	4,03±1,82 ^{cd,A}	5,94±1,01 ^{b,A}	7,12±0,52 ^{b,A}
Tyr	1	3,01±1,10 ^{ab,B}	2,83±1,34 ^{ab,B}	2,55±0,76 ^{ab,B}	2,44±0,01 ^{ab,C}	2,47±1,28 ^{ab,B}	3,49±0,02 ^{a,A}	2,92±0,01 ^{ab,B}	2,00±0,89 ^{b,C}
	60	3,86±1,07 ^{bc,B}	2,73±0,39 ^{c,B}	2,57±0,77 ^{c,B}	3,03±0,43 ^{c,B}	9,48±4,59 ^{a,AB}	7,17±3,55 ^{ab,A}	8,27±1,78, ^{a,A}	7,63±2,17 ^{a,B}
	120	9,88±4,32 ^{ab,A}	5,23±1,61 ^{c,A}	7,03±1,44 ^{ab,A}	5,20±0,04 ^{c,A}	11,71±6,72 ^{a,A}	5,85±1,71 ^{c,A}	8,76±0,03 ^{ab,A}	11,32±0,43 ^{a,A}
Val	1	1,43±0,22 ^{a,B}	1,33±0,64 ^{a,B}	1,25±0,42 ^{a,B}	1,08±0,53 ^{a,C}	1,53±0,04 ^{a,C}	1,01±0,75 ^{a,B}	1,12±0,44 ^{a,C}	0,96±0,51 ^{a,C}
	60	2,15±0,23 ^{c,B}	1,63±0,04 ^{c,B}	1,53±0,37 ^{c,B}	1,97±0,07 ^{c,B}	6,20±0,05 ^{a,B}	4,69±1,55 ^{b,A}	6,24±0,03 ^{a,A}	5,71±0,00 ^{a,B}
	120	6,43±1,74 ^{b,A}	3,66±0,06 ^{cd,A}	5,33±0,74 ^{bc,A}	2,53±0,16 ^{d,A}	9,31±1,92 ^{a,A}	4,62±0,33 ^{bc,A}	5,56±0,34 ^{b,B}	9,09±1,98 ^{a,A}
Met	1	0,31±0,06 ^{a,B}	0,26±0,14 ^{a,B}	0,29±0,09 ^{a,C}	0,22±0,06 ^{a,C}	0,33±0,00 ^{a,C}	0,18±0,15 ^{a,B}	0,25±0,11 ^{a,C}	0,18±0,07 ^{a,C}
	60	1,69±0,65 ^{d,B}	1,19±0,37 ^{d,A}	1,31±0,52 ^{d,B}	1,53±0,30 ^{d,B}	2,38±0,02 ^{c,B}	2,22±0,00 ^{c,A}	3,72±0,01 ^{a,B}	3,13±0,03 ^{b,B}
	120	3,91±1,41 ^{bcd,A}	1,56±0,25 ^{e,A}	4,60±0,04 ^{abc,A}	2,94±0,02 ^{cde,A}	4,62±1,40 ^{abc,A}	2,44±0,87 ^{de,A}	5,53±0,03 ^{ab,A}	5,88±2,11 ^{a,A}
Cys	1	0,15±0,03 ^{a,B}	0,10±0,01 ^{b,B}	0,10±0,01 ^{b,B}	0,09±0,02 ^{b,C}	0,14±0,03 ^{a,B}	0,11±0,01 ^{b,B}	0,09±0,01 ^{b,B}	0,10±0,02 ^{b,C}
	60	0,57±0,18 ^{ab,A}	0,39±0,09 ^{bc,A}	0,30±0,15 ^{c,B}	0,29±0,18 ^{c,B}	0,66±0,00 ^{a,AB}	0,19±0,04 ^{c,AB}	0,38±0,24 ^{bc,A}	0,40±0,01 ^{bc,B}
	120	0,65±0,05 ^{b,A}	0,30±0,07 ^{b,A}	0,62±0,17 ^{b,A}	0,57±0,02 ^{b,A}	1,13±0,72 ^{a,A}	0,39±0,23 ^{b,A}	0,56±0,02 ^{b,A}	0,49±0,01 ^{b,A}

Tablo 29. (Devamı)

Leu	1	2,68±0,90 ^{ab,B}	1,95±1,06 ^{b,B}	2,37±0,20 ^{ab,B}	2,12±0,21 ^{b,C}	3,12±0,06 ^{a,C}	1,78±0,14 ^{b,B}	2,15±0,64 ^{b,C}	1,86±0,74 ^{b,C}
	60	4,15±0,25 ^{d,B}	3,11±0,20 ^{d,B}	3,24±0,45 ^{d,B}	3,94±0,35 ^{d,B}	13,83±0,01 ^{b,B}	11,00±3,74 ^{c,A}	16,60±1,48 ^{a,B}	14,46±0,44 ^{b,B}
	120	15,19±5,67 ^{cd,A}	9,33±2,32 ^{e,A}	12,41±1,31 ^{de,A}	8,45±0,01 ^{e,A}	18,84±0,00 ^{bc,A}	13,93±2,76 ^{d,A}	21,13±2,79 ^{b,A}	28,30±1,94 ^{a,A}
Ile	1	2,85±0,96 ^{a,B}	2,07±1,12 ^{a,B}	2,28±0,68 ^{a,B}	2,37±0,00 ^{a,C}	2,38±1,13 ^{a,C}	2,11±1,04 ^{a,B}	1,92±0,76 ^{a,C}	2,00±0,72 ^{a,C}
	60	4,71±0,02 ^{d,B}	3,56±0,43 ^{d,B}	3,69±0,49 ^{d,B}	4,29±0,41 ^{d,B}	14,67±0,02 ^{b,B}	11,68±3,97 ^{c,A}	18,01±1,36 ^{a,B}	15,42±0,54 ^{b,B}
	120	16,12±6,02 ^{c,A}	9,91±2,46 ^{de,A}	13,18±1,39 ^{cd,A}	7,02±0,14 ^{e,A}	21,86±3,70 ^{b,A}	14,79±2,93 ^{c,A}	23,92±0,00 ^{b,A}	30,05±2,06 ^{a,A}
Phe	1	3,31±0,90 ^{a,B}	3,45±1,43 ^{a,B}	2,99±0,70 ^{a,B}	2,66±0,81 ^{a,C}	2,88±1,06 ^{a,C}	2,95±1,46 ^{a,B}	2,64±0,80 ^{a,C}	2,44±1,25 ^{a,B}
	60	4,39±0,08 ^{c,B}	3,86±0,34 ^{c,B}	3,75±0,54 ^{c,B}	4,14±0,52 ^{c,B}	11,37±0,06 ^{b,B}	12,86±3,98 ^{b,A}	15,61±0,01 ^{a,A}	15,10±0,06 ^{a,A}
	120	11,43±2,69 ^{bc,A}	6,39±1,00 ^{d,A}	11,14±2,37 ^{bc,A}	10,62±0,00 ^{bc,A}	13,26±1,30 ^{b,A}	9,71±1,86 ^{c,A}	11,90±0,92 ^{bc,B}	16,73±4,01 ^{a,A}
Trp	1	2,90±0,79 ^{a,A}	3,02±1,26 ^{a,AB}	2,70±0,44 ^{a,A}	2,45±0,46 ^{a,C}	2,15±0,50 ^{a,B}	1,79±0,78 ^{a,C}	2,48±0,88 ^{a,C}	2,13±1,10 ^{a,B}
	60	2,82±0,69 ^{c,A}	2,60±0,22 ^{c,B}	2,93±0,80 ^{c,A}	3,16±0,42 ^{c,B}	11,74±2,95 ^{b,A}	16,98±0,00 ^{a,A}	17,84±0,01 ^{a,A}	17,26±0,07 ^{a,A}
	120	3,72±0,75 ^{d,A}	4,26±0,96 ^{d,A}	3,59±1,23 ^{d,A}	6,17±0,00 $^{c\ d,A}$	10,73±1,46 ^{b,A}	7,08±2,33 ^{bcd,B}	8,59±1,42 ^{bc,B}	15,77±6,81 ^{a,A}
Lys	1	2,94±1,34 ^{b,B}	9,39±5,79 ^{a,A}	2,66±1,16 ^{b,B}	2,48±1,22 ^{b,A}	3,60±0,03 ^{b,B}	9,32±5,74 ^{a,A}	2,07±1,34 ^{b,B}	3,09±0,00 ^{b,C}
	60	2,83±0,85 ^{b,B}	2,60±0,34 ^{b,B}	2,22±0,46 ^{b,B}	2,89±0,24 ^{b,A}	7,71±0,38 ^{a,A}	7,61±3,02 ^{a,A}	7,95±0,58 ^{a,A}	7,66±1,68 ^{a,B}
	120	8,36±5,19 ^{ab,A}	4,48±0,55 ^{cd,AB}	6,84±1,51 ^{bc,A}	3,00±0,18 ^{d,A}	7,40±0,95 ^{abc,A}	5,49±0,33 ^{bcd,A}	6,77±0,85 ^{bc,A}	10,31±0,23 ^{a,A}
Toplam	1	36,33	41,98	33,14	31,76	36,04	41,53	30,13	31,41
	60	42,29	35,64	36,02	41,47	137,53	114,68	155,74	149,75
	120	110,19	66,31	101,63	65,76	178,19	94,04	148,45	232,24

^{a,b,c} : Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

^{A,B,C}: Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Tablo 30. Beyaz Peyniri Örneklerinin Serbest Amino Asit Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	F				
		Asp	**Glu**	**Asn**	**Ser**	**Gln**
Kültür ilavesi (A)	3	14,896**	7,748**	3,596*	16,310**	1,875
Muhafaza şekli (B)	1	163,013**	11,666**	56,920**	197,208**	11,832**
Olgunlaşma süresi (C)	2	61,975**	3,891*	24,392**	73,202**	105,445**
AxB	3	8,417**	6,247**	2,278	19,591**	5,975**
AxC	6	4,354**	4,570**	1,601	10,139**	1,316
BxC	2	49,544**	2,596	14,959**	48,068**	18,827**
AxBxC	6	4,780**	2,881*	1,565	13,234**	5,572**
Hata	72					
Toplam	96					

Varyasyon kaynakları	SD	F				
		Gly	**His**	**Arg**	**Thr**	**Ala**
Kültür ilavesi (A)	3	10,109**	13,032**	16,233**	10,217**	6,603**
Muhafaza şekli (B)	1	78,879**	152,003**	40,273**	75,637**	194,827**
Olgunlaşma süresi (C)	2	25,844**	184,235**	32,440**	33,204**	107,516**
AxB	3	10,281**	6,998**	10,522**	7,993**	5,645**
AxC	6	3,928**	6,665**	7,030**	4,076**	2,804*
BxC	2	18,907**	43,586**	14,433**	19,448**	57,369**
AxBxC	6	4,895**	5,420**	4,816**	4,080**	2,353*
Hata	72					
Toplam	96					

Varyasyon kaynakları	SD	F				
		Pro	**Tyr**	**Val**	**Met**	**Cys**
Kültür ilavesi (A)	3	3,227*	3,956*	17,301**	17,835**	12,359**
Muhafaza şekli (B)	1	73,395**	31,118**	165,955**	47,977**	1,481
Olgunlaşma süresi (C)	2	10,813**	46,416**	255,730**	254,771**	57,727**
AxB	3	1,914	0,491	8,184**	3,088*	1,790
AxC	6	6,307**	2,244*	7,026**	9,071**	2,828*
BxC	2	17,945**	10,202**	50,654**	12,788**	0,842
AxBxC	6	2,674*	1,075	8,700**	2,381*	1,838
Hata	72					
Toplam	96					

Tablo 30. (Devamı)

Varyasyon kaynakları	SD	F				
		Leu	Ile	Phe	Trp	Lys
Kültür ilavesi (A)	3	15,180**	13,862**	7,080**	7,083**	2,985*
Muhafaza şekli (B)	1	311,588**	315,623**	157,064**	296,429**	27,178**
Olgunlaşma süresi (C)	2	460,928**	444,306**	235,375**	133,508**	7,681**
AxB	3	13,812**	15,202**	3,113*	3,052*	1,942
AxC	6	5,301**	5,139**	6,802**	6,702**	8,522**
BxC	2	80,082**	85,313**	81,499**	121,268**	10,307**
AxBxC	6	11,664**	11,717**	2,353*	3,747**	1,994
Hata	72					
Toplam	96					

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

Beyaz Peynir Örneklerinin GABA İçerikleri

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen GABA konsantrasyonları standart sapmalarıyla birlikte Tablo 31'de, varyans analiz sonuçları ise Tablo 32'de verilmiştir. Varyans analizi sonuçlarından GABA konsantrasyonları üzerinde kültür ilavesi, muhafaza şekli ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi ile kültür ilavesi x muhafaza şekli, kültür ilavesi x olgunlaşma süresi, muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkilerinin istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir.

Beyaz peynir örneklerine ait en düşük GABA konsantrasyonu (0,33 mg/100g) olgunlaşmanın başında salamurada olgunlaştırılan kontrol örneğinde, en yüksek GABA konsantrasyonu (20,38 mg/100g) ise olgunlaşmanın 120. gününde C kültür kombinasyonu ile üretilen vakum ambalajda olgunlaştırılan CV örneğinde belirlenmiştir.

Tablo 31. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen GABA Konsantrasyonları (mg/100g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (Gün)		
	1	60	120
KS	0,33±0,19 ^{b,A}	1,25± 0,85 ^{c,A}	1,62± 0,87 ^{ef,A}
AS	0,55± 0,35 ^{ab,C}	1,53± 0,01 ^{c,B}	4,81±0,00 ^{de,A}
BS	0,34± 0,20 ^{b,B}	1,15± 0,02 ^{c,A}	0,96± 0,10 ^{f,A}
CS	0,41± 0,27 ^{b,C}	1,95± 0,01 ^{c,B}	5,62± 0,00 ^{d,A}
KV	0,43±0,00 ^{ab,B}	5,22± 0,90 ^{bc,A}	5,62± 0,41 ^{d,A}
AV	0,74±0,02 ^{a,B}	7,64±1,06 ^{ab,A}	10,05± 0,10 ^{c,A}
BV	0,44±0,01 ^{ab,C}	11,28±0,00 ^{a,B}	14,76±0,00 ^{b,A}
CV	0,55±0,01 ^{ab,C}	11,48±0,01 ^{a,B}	20,38±0,03 ^{a,A}

^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

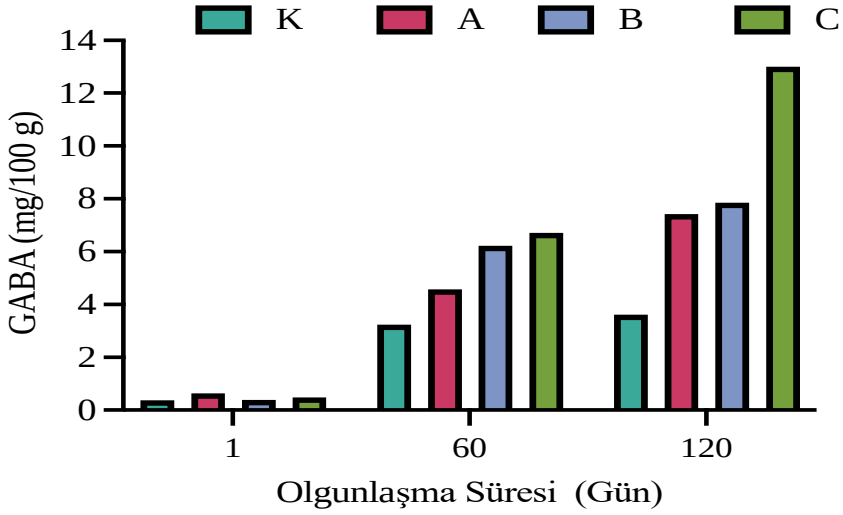
^{A,B,C}: Aynı satırda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Tablo 32. Beyaz Peyniri Örneklerinin GABA Değerlerine Ait Varyans Analiz Test Sonuçları

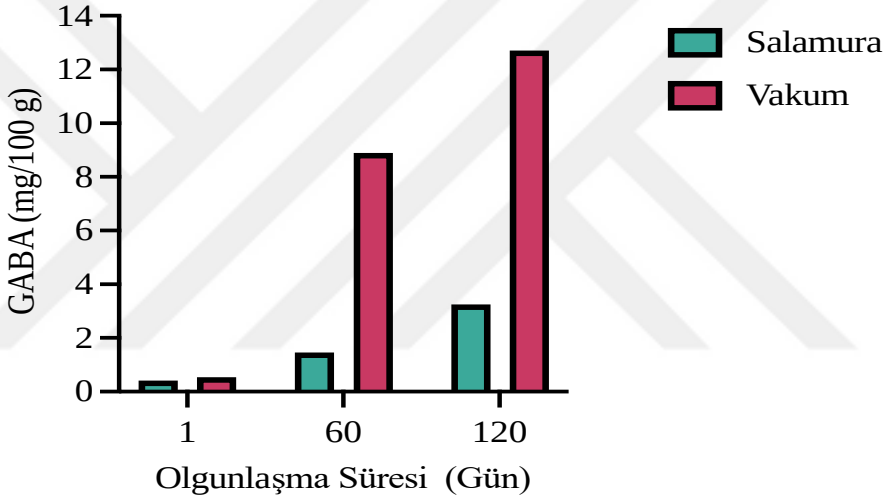
Varyasyon Kaynakları	SD	F	P
Kültür ilavesi (A)	3	16,971	0,000**
Muhafaza şekli (B)	1	172,096	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	2	102,659	0,000**
AxB	3	10,615	0,000**
AxC	6	7,027	0,000**
BxC	2	42,874	0,000**
AxBxC	6	3,612	0,003**
Hata	72		
Toplam	96		

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

Duncan Çoklu Karşılaştırmalı Test sonuçları incelendiğinde (Tablo 31) olgunlaşmanın başlangıcında istatistiksel olarak bazı farklılıklar olmakla birlikte, genel olarak GABA konsantrasyonlarının tüm örneklerde benzer olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte örnekler arasında belirgin farklılıkların oluştuğu görülmektedir. Olgunlaşma periyodunun 60. günün de salamurada olgunlaştırılan tüm örneklerin GABA içeriklerinin benzer olduğu, bununla birlikte B ve C kültür kombinasyonları ile üretilen peynirler başta olmak üzere vakumda olgunlaştırılan peynirlerin daha yüksek GABA içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma periyodunun sonunda ise yardımcı kültür olarak *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134, *L. plantarum* 255 suşlarının bir arada kullanıldığı C kültürü ile üretilen ve hem salamurada hem de vakumda olgunlaştırılan peynirlerin (CS ve CV) önemli derece GABA içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum söz konusu peynirin üretiminde kullanılan iki *L. plantarum* suşunun bir arada sinerjist etki göstererek GABA oluşumunu artırmasına bağlanabilir. Nitekim her iki *L. plantarum* suşunun yağsız süt ve MRS besiyerlerinde de yüksek oranda GABA ürettiği belirlenmiştir (Tablo 8). Aynı zamanda *L. paracasei* 670 suşunun proteolitik aktivitesi nedeniyle amino asit oluşumuna katkıda bulunmasınında GABA üretimini teşvik ettiği düşünülmektedir. Benzer şekilde Carafa *et al.* (2019) GABA üretme yeteneğine sahip *S. thermophilus* 84C suşunu tek başına ve *L. brevis* DSM 32386 ile birlikte kullanarak ürettikleri peynirlerdeki GABA konsantrasyonunun *S. thermophilus* ticari suşunun kullanıldığı kontrol örneğine oranla daha fazla olduğunu, *S. thermophilus* 84C ile *L. brevis* DSM 32386 suşunun bir arada kullanımının GABA oluşumunu teşvik ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar *L. brevis* DSM 32386 suşunun 20 günlük olgunlaşma süresince kazeinden glutamat salınımını ve bunun sonucunda L-glutamatın GABA'ya dönüşümünü arttırdığını ifade etmişlerdir. Li *et al*. (2021) GABA sentezleme yeteneğine sahip mayalar ile ürettikleri peynirlerde yalnızca sütte geliştirilen maya ile karşılaştırıldığında, karışık fermantasyon yönteminin (maya ve primer starter kültür) GABA'nın üretimi üzerinde teşvik edici bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir.

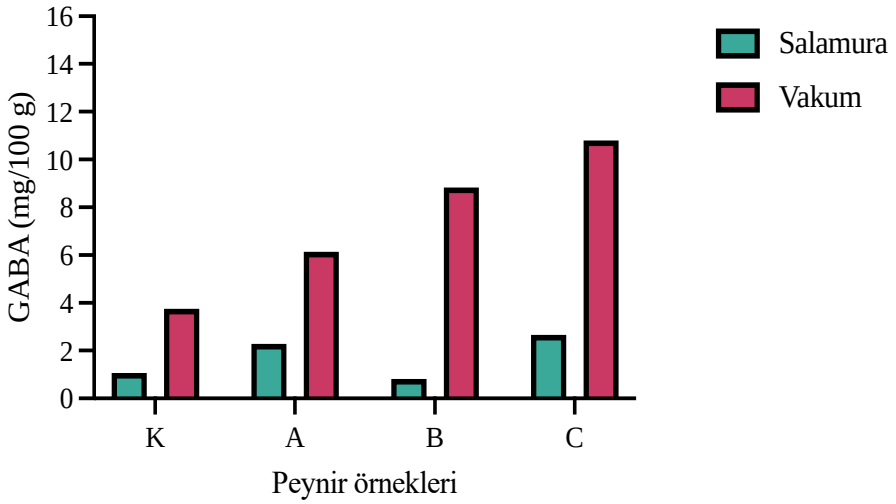


Şekil 44. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine kültür ilavesi x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi



Şekil 45. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine muhafaza şekli x olgunlaşma süresi interaksiyonunun etkisi

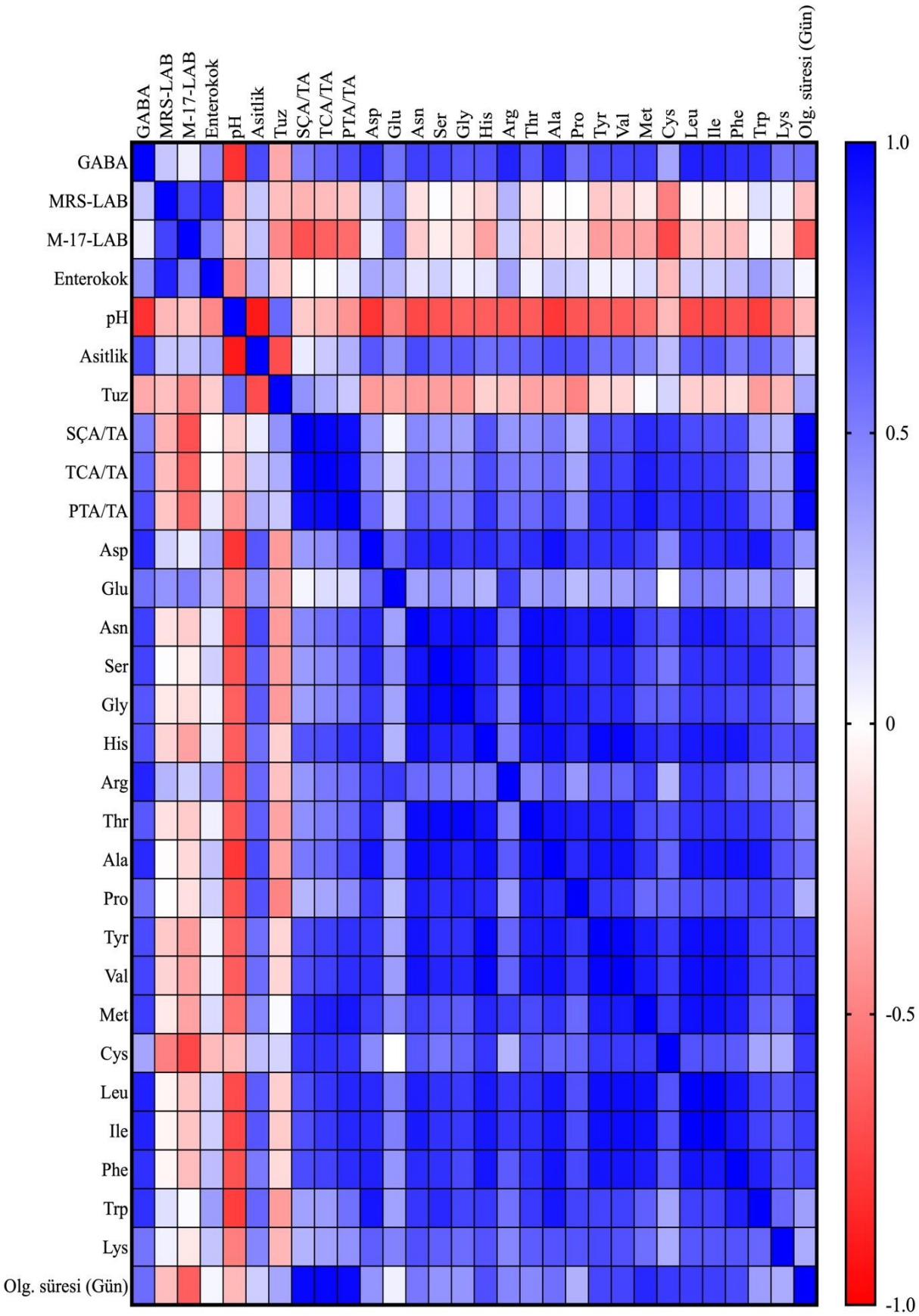
Bir diğer dikkat çekici nokta primer startere ilaveten *L. plantarum* 255 suşu ile üretilen AS ve AV peynirlerinde depolamanın sonunda önemli miktarlarda GABA'nın oluşmuş olmasıdır. Aynı şekilde *L. plantarum* 255 ve *L. paracasei* 670 suşlarının birlikte kullanıldığı ve özellikle vakum ambalajda olgunlaştırılan BV peynirinde de yüksek konsantrasyonda GABA oluşumu gözlenmiştir. Kontrol örneğinin üretiminde GABA üretme yeteneğine sahip herhangi bir suş kullanılmamış olmasına rağmen belirli bir miktar GABA oluştuğu görülmüş, starter olmayan LAB florasında yer alan bakterilerin GABA oluşumunda etkili olabileceği düşünülmüştür. Wang *et al.* (2010) farklı oranlarda (%0,1, %1 ve %2) *L. casei* Zhang suşu ile üretilen probiyotik Cheddar peynirinde 6 aylık olgunlaştırma periyodunun sonunda kontrol örneğinde GABA seviyesini 238,49 mg/kg, *L. casei* Zhang ile üretilen peynirlerde ise sırasıyla 525,34, 538,11 ve 677,35 mg/kg olarak belirlemişlerdir.



Şekil 46. Beyaz peynir örneklerinin GABA konsantrasyonları üzerine kültür ilavesi x muhafaza şekli interaksiyonunun etkisi

Muhafaza şeklinin GABA oluşumu üzerine etkisi değerlendirildiğinde; aynı kültür kombinasyonlarının kullanıldığı peynirler dikkate alındığında salamurada olgunlaştırılan peynirlerin vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlere oranla daha düşük oranda GABA içerdiği görülmüştür. Bu durumun vakum ambalaj ortamının peynirlerin üretiminde kullanılan GABA pozitif suşlar ile diğer starter/yardımcı kültürlerin gelişimi için uygun ortam sağlamasından ve aynı zamanda bu peynirlerde proteolizin daha yüksek oranda gerçekleşmiş olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim GABA'nın glutamik asitin dekarboksilasyonu sonucu oluştuğu bilinmektedir. Tarafımızca yürütülen bir çalışmada GABA oluşumu ile Glu, Gln, Ser ve Met amino asitleri arasında pozitif bir korelasyon belirlenmiştir (Ayağ *et al.* 2022). Aynı zamanda olgunlaşma sırasında oluşan GABA'nın salamuraya geçmiş olabileceği, bu nedenle konsantrasyonunun azalabileceği de öngörülmektedir. Olgunlaşma süresince genel olarak artan proteolize bağlı olarak GABA konsantrasyonlarının da arttığı belirlenmiştir.

GABA oluşumu üzerinde etkili olduğu düşünülen parametrelere korelasyon analizi uygulanmış ve elde edilen veriler Şekil 47'de sunulmuştur. GABA oluşumu ile MRS ve M17 agarda gelişen LAB sayıları arasında pozitif bir korelasyon olduğu, söz konusu korelasyonun istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir. Bununla birlikte enterokok sayısı ile GABA arasında istatistiksel olarak $p<0,05$ düzeyinde pozitif yönde korelasyon ($r^2=0,438$) tespit edilmiştir. Peynir örneklerinin fizikokimyasal özelliklerinin de GABA oluşumu üzerinde etkili olduğu, bu açıdan değerlendirildiğinde asitlik değerleri ile GABA arasında pozitif ($r^2=0,708$) pH arasında ise negatif korelasyon ($r^2=-0,806$) belirlenmiştir. Başka bir deyişle yüksek asitlikte dolayısıyla düşük pH'da GABA oluşumu artış göstermiştir. Nitekim GABA'nın bakteriler tarafından düşük pH'nın neden olduğu stres koşullarına bir yanıt olarak oluştuğu bilinmektedir.



Şekil 47. GABA ve diğer bazı parametreler arasındaki korelasyon analizi

GABA oluşumu üzerinde çözünür azot fraksiyonlarınında etkili olduğu, bu açıdan değerlendirildiğinde pH 4,6'da çözünen azot, TCA'da çözünen azot ve PTA'da çözünen azot cinsinden olgunlaşma düzeyleri ile pozitif yönde (sırasıyla r^2=0,504, r^2=0,598 ve r^2= 0,697) istatistiksel olarak önemli düzeyde korelasyonlar belirlenmiştir. Aynı zamanda GABA ile tüm amino asitler arasında istatistiksel olarak önemli düzeyde pozitif korelasyonlar belirlenmiş, bu korelasyonların özellikle Asp, Asn, Ser, Arg, Ala, Tyr, Val, Met, Leu, Ile, Phe ve Trp amino asitlerinde daha güçlü olduğu tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan proteoliz seviyesindeki artışın da GABA oluşumunu artırdığı anlaşılmaktadır.

İnsanların ihtiyaç duyduğu GABA seviyeleri hakkında net bir bilgi olmamakla birlikte, nörolojik bozuklukların tedavisinde etkili olması için günlük 26,4 mg GABA'nın oral yoldan verilmesi gerektiği bildirilmiştir (Okada *et al.* 2000; Renes *et al.* 2017). Benzer şekilde, Pouliot-Mathieu *et al.* (2013) 12 hafta boyunca günde 16 mg GABA içeren 50 g peynir tüketiminin insanlarda ortalama kan basıncında 3,5 ± 2,8 mm Hg ve sistolik basınçta 5,5 ± 3,9 mm Hg düşüşe yol açtığını bildirmişlerdir. Inoue *et al.* (2003) 12 hafta boyunca 10 ila 12 mg GABA içeren 100 mL fermente süt alımının hafif hipertansif hastalarda kan basıncını kontrol etmede yardımcı olabileceğini ifade etmişlerdir. Carafa *et al.* (2019) GABA üreten suşlarla (*S. thermophilus* 84C ve *L. brevis* DSM 32386) üretilen deneysel peynirlerin 117 mg/kg GABA içerdiğini, dolayısıyla 100 g'lık bir porsiyonun yaklaşık 11,7 mg GABA sağladığını, insan sağlığı üzerinde olumlu bir etki için gereken toplam alımı sağlayabileceğini bildirmişlerdir. Bu kapsamda değerlendirildiğinde bu çalışmada en yüksek GABA içeren peynir örneklerinin (BV ve CV) 100 gramının tüketilmesinin hem hipertansiyonun kontrol altına alınmasına hem de bazı hastalıkların önlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

Beyaz Peynir Örneklerinde Belirlenen Uçucu Bileşikler

Beyaz peynirlerinde olgunlaşma periyodunun 1., 60. ve 120. günlerinde belirlenen uçucu bileşikler kimyasal olarak gruplandırılmış, ayrı tablolar halinde verilmiştir (Tablo 33-Tablo 39). İlgili tablolardan görüldüğü üzere peynirlerde 16'sı alkol, 11'i ester, 10'u keton, 9'u aldehit, 7'si karboksilik asit, 6'sı terpen, 16'sı diğer bileşikler olmak üzere toplam 75 adet uçucu bileşik tayin edilmiştir.

Alkoller

Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri Tablo 33'de verilmiştir. Peynir örneklerinde toplam 16 adet alkol bileşiği tespit edilmiş olup, etanol, 2 metil 1 propanol, 3 metil 1 butanol, 2 metil 1 butanol ve 2,7 dimetil 4,5 oktanediol alkolleri tüm örneklerde yüksek konsantrasyonlarda belirlenmiştir. Gürkan (2019) yardımcı kültür

olarak farklı maya kombinasyonlarını kullanarak ürettiği Beyaz peynirlerde diğer alkol bileşiklerine oranla etanol ve 3-metil-1-bütanol miktarının daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Tablo 33 incelendiğinde peynir üretiminde farklı kültür kombinasyonlarının kullanımının alkol bileşiklerinin konsantrasyonlarını etkilediği, özellikle primer starter kültüre ilaveten *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134, *L. plantarum* 255 suşlarının yardımcı kültür olarak kullanıldığı ve hem salamura hem de vakum ambalajda olgunlaştırılan C örneğinde etanol, 2 metil 1 propanol ve 3 metil 1 butanol konsantrasyonlarının önemli derecede yüksek olduğu belirlenmiştir. Yine peynirlerde hâkim alkol bileşikleri arasında belirlenen 2,7 di metil 4,5 oktanediol'in vakum ambalajda olgunlaştırılan C, A ve kontrol örneklerinde önemli düzeylerde belirlendiği göze çarpmaktadır. Diğer alkol bileşikleri düşük konsantrasyonlarda belirlenmiş olup, örnekler arasında çok büyük farklılıkların bulunmadığı görülmektedir.

Muhafaza şeklinin peynirlerde belirlenen alkol miktarlarını etkilediği, genel olarak vakumda olgunlaştırılan peynirlerde alkollerin (etanol, 2 metil 1 propanol, 3 metil 1 butanol, 2 metil butanol, 2,7 di metil 4,5 oktanediol, heptanol) konsantrasyonlarının da yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte özellikle C kültürü ile üretilen ve salamurada olgunlaştırılan CS örneğinde belirlenen bileşiklerin miktarlarının aynı kültürle üretilen vakumda olgunlaştırılan CV örneği ile benzer ya da yüksek olduğu belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen alkol bileşikleri incelendiğinde; primer starter kültüre ilaveten özellikle C kültüründe daha belirgin olmak üzere kullanılan yardımcı kültürlerin alkollere ait uçucu bileşiklerin konsantrasyonlarını artırdığı söylenebilir.

Alkol bileşiklerinin konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişiklik gösterdiği, genel olarak çoğu alkol bileşiğinin miktarlarında olgunlaşma süresince artış/azalışlar görüldüğü, 2 heptanol gibi bazı bileşiklerin ise sadece olgunlaşmanın 120. gününde salamurada olgunlaştırılan peynirlerde belirlendiği görülmüştür.

Tablo 33. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Alkol Bileşikleri (μg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Ethanol	4.664	1	9,02±1,06	7,38±1,84	8,81±0,26	5,47±0,18	8,56±0,91	8,30±2,13	8,68±0,30	5,56±0,21
		60	6,78±0,23	6,60±0,94	4,03±0,93	5,99±1,12	10,99±3,15	9,68±1,49	13,34±3,19	14,04±4,23
		120	4,08±0,69	2,13±0,32	5,63±1,38	36,47±11,67	13,30±1,02	11,56±0,31	11,52±1,04	14,51±0,29
2-Methyl-1-propanol	6.399	1	5,99±0,39	7,58±0,03	9,87±0,89	7,18±0,96	6,15±0,34	7,60±0,03	10,42±0,63	6,70±1,11
		60	11,50±4,10	8,13±2,91	10,12±0,68	4,38±1,01	16,00±0,55	15,46±2,42	18,58±4,03	17,98±0,83
		120	5,39±0,28	5,43±1,59	6,81±0,89	27,30±8,73	11,28±2,60	10,13±3,04	12,90±2,07	28,60±4,28
3-Methyl-1-butanol	8.956	1	66,31±5,10	51,91±9,15	33,90±0,38	47,30±2,28	63,76±5,89	56,48±10,57	33,74±0,33	46,32±1,97
		60	46,60±1,17	50,28±11,58	28,50±2,89	27,48±5,94	59,39±0,00	57,55±1,64	70,17±13,52	85,41±11,43
		120	22,14±0,33	46,40±7,62	19,87±0,20	96,24±0,28	58,67±6,56	60,91±5,48	67,09±7,68	72,24±1,06
2-Methyl-1-butanol	9.036	1	14,19±1,75	12,08±2,09	8,69±0,50	10,41±0,19	14,95±1,52	13,13±2,42	8,39±0,36	10,51±0,22
		60	9,93±0,17	10,53±3,11	9,24±0,16	5,72±1,17	15,57±4,35	11,14±0,29	13,42±2,48	13,84±2,06
		120	8,42±0,01	8,49±1,32	7,47±0,08	14,72±5,25	13,49±1,35	11,55±1,49	10,82±0,86	12,47±0,19
1-Pentanol	9.872	1	0,18±0,01	0,11±0,05	0,16±0,02	0,21±0,01	0,19±0,00	0,14±0,06	0,17±0,02	0,21±0,01
		60	0,15±0,02	0,11±0,05	0,14±0,01	0,08±0,03	0,04±0,01	0,03±0,00	0,04±0,01	0,06±0,01
		120	0,05±0,01	TE	TE	0,04±0,01	0,09±0,01	0,04±0,00	0,03±0,00	TE
3-Methyl-2-buten-1-ol	10.233	1	0,12±0,00	0,10±0,03	TE	0,11±0,01	0,12±0,00	0,10±0,03	TE	0,11±0,01
		60	TE	0,16±0,01	TE	TE	0,17±0,04	0,32±0,03	0,32±0,05	0,24±0,00
		120	TE	TE	TE	TE	0,15±0,03	0,24±0,00	0,39±0,08	0,28±0,02
2-Methyl-3-hexanol	13.092	1	0,54±0,08	0,44±0,12	0,27±0,00	0,44±0,05	0,50±0,09	0,39±0,11	0,28±0,00	0,41±0,06
		60	0,26±0,10	0,30±0,10	0,26±0,02	0,21±0,05	0,63±0,18	0,39±0,01	0,48±0,10	0,47±0,02
		120	0,16±0,01	0,21±0,02	0,22±0,05	0,22±0,09	0,57±0,07	0,48±0,06	0,45±0,08	0,48±0,00
1-Hexanol	13.333	1	0,04±0,00	TE	0,06±0,01	0,04±0,00	0,03±0,00	TE	0,07±0,01	0,04±0,00
		60	0,19±0,02	TE	0,28±0,02	0,10±0,03	TE	TE	TE	0,08±0,01
		120	1,24±0,17	TE	0,37±0,05	0,12±0,02	TE	TE	0,13±0,08	0,14±0,07

114

Tablo 33. (Devamı)

2-Heptanol	14.464	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		120	2,75±0,29	3,18±0,02	1,30±0,12	0,25±0,08	TE	TE	TE	TE
2,7-Dimethyl-4,5-octanediol	16.399	1	55,22±7,23	54,42±10,99	40,72±2,77	53,88±5,51	58,35±6,26	59,18±9,52	42,10±3,20	51,49±4,77
		60	48,50±1,90	41,70±7,50	43,57±2,93	31,03±5,97	51,18±15,27	47,57±1,41	51,36±12,77	61,73±2,03
		120	17,74±0,51	12,29±0,45	31,83±3,73	19,69±4,48	50,19±6,36	45,08±2,41	37,82±4,29	48,60±0,14
3,5-Dimethyl-4-heptanol	16.611	1	0,34±0,12	0,24±0,03	0,39±0,09	0,38±0,03	0,39±0,10	0,25±0,03	0,43±0,08	0,39±0,02
		60	0,27±0,03	0,19±0,08	TE	0,18±0,00	0,23±0,02	0,20±0,01	0,24±0,06	0,21±0,01
		120	0,07±0,01	TE	TE	0,07±0,02	0,23±0,01	0,18±0,02	0,16±0,02	0,19±0,03
Heptanol	17.008	1	0,09±0,03	0,07±0,02	0,14±0,01	0,10±0,01	0,11±0,03	0,06±0,02	0,13±0,01	0,11±0,01
		60	0,18±0,02	0,10±0,01	TE	0,13±0,02	0,21±0,05	0,19±0,01	0,20±0,04	0,19±0,00
		120	TE	TE	TE	0,12±0,05	0,26±0,03	0,15±0,00	0,20±0,00	0,22±0,00
2,7-Dimethyl-4,5-octandiol	18.909	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	0,28±0,12	0,86±0,11	TE	1,11±0,19	TE	TE	TE	TE
		120	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
2-Ethyl-1-hexanol	19.144	1	0,78±0,15	0,73±0,01	0,86±0,03	0,83±0,01	0,85±0,13	0,72±0,01	0,88±0,03	0,82±0,00
		60	0,69±0,12	0,61±0,07	0,97±0,32	0,68±0,11	0,63±0,09	0,59±0,00	0,58±0,10	0,62±0,03
		120	0,79±0,07	0,80±0,04	0,85±0,13	0,86±0,23	0,85±0,06	0,56±0,01	0,52±0,01	0,71±0,05
1-Octanol	20.567	1	0,06±0,00	TE	TE	0,09±0,00	0,06±0,00	TE	TE	0,09±0,00
		60	TE	TE	TE	TE	TE	0,07±0,00	0,08±0,02	0,10±0,00
		120	TE	TE	TE	0,10±0,03	TE	0,08±0,00	0,10±0,01	0,13±0,00
Phenylethyl alcohol	22.339	1	0,40±0,10	0,25±0,02	0,31±0,02	0,48±0,04	0,40±0,10	0,25±0,02	0,31±0,02	0,48±0,04
		60	0,20±0,07	0,36±0,06	0,32±0,02	0,26±0,02	0,46±0,12	0,53±0,03	0,67±0,18	0,78±0,09
		120	0,36±0,02	0,52±0,06	0,43±0,13	1,32±0,16	0,87±0,14	0,52±0,11	0,59±0,12	0,79±0,08

TE: tespit edilemedi.

115

Esterler

Esterler; diğer aroma bileşiklerine göre daha kompleks reaksiyonlar sonucu meydana gelmekte, kısa zincirli serbest yağ asitlerinin alkollerle esterleşmesiyle oluşmaktadırlar. Söz konusu bileşikler çiçeksi ve meyvemsi bir aromaya sahip olup, özellikle yağ asitlerinin ve aminlerin neden olduğu keskin ve acı tadın azaltılmasına katkıda bulunurlar. Esterler, algı eşik değerlerinin düşük olması nedeniyle peynir aromasında oldukça etkili bileşik grubu olarak bilinirler (Majcher *et al.* 2011; Evert-Arriagada *et al.* 2013). Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen ester bileşikleri Tablo 34'te verilmiştir. Etil asetat ve 3 metil 1 butanol asetat peynir örneklerinde en yüksek konsantrasyonlarda belirlenen ester bileşikleri olmuştur.

Peynirlerin üretiminde kullanılan kültür kombinasyonlarının ester bileşikleri üzerinde etkili olduğu, *L. paracasei, L. plantarum* suşlarının yardımcı kültür olarak kullanıldığı B ve C örneğinde özellikle etil asetat, 3 metil 1 butanol asetat ester bileşiklerinin konsantrasyonlarının yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 2 metil propil asetat olgunlaşmanın 120. gününde CS örneğinde, etil bütonatta BV ve CV örneklerinde diğer örneklere nazaran yüksek miktarlarda belirlenmiştir. Diğer ester bileşikleri düşük konsantrasyonlarda belirlenmiş olup, söz konusu esterler açısından örnekler arasında önemli farklılıklar tespit edilememiştir. Mevcut sonuçlardan B ve C kültür kombinasyonlarının ester bileşiklerinin miktar ve çeşitliliğini artırdığı söylenebilir.

Ester bileşiklerinin konsantrasyonları üzerinde muhafaza şekli ve olgunlaşma süresininde etkili olduğu görülmüş, CS örneği dışında etil asetatın vakum ambalajlanmış peynir örneklerinde daha yüksek miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda etil bütonat salamurada olgunlaştırılan örneklerde, butil propanat, metil oktanat bileşikleri ise 60. günden itibaren vakum ambalajlanmış örneklerde tespit edilememiştir.

Olgunlaşma süresince genel olarak KV ve AV örnekleri hariç etil asetat konsantrasyonlarının artış gösterdiği, 3 metil 1 butanol asetat bileşiğinin olgunlaşmanın 120. gününde özellikle CS, BV, CV örneklerinde arttığı belirlenmiştir. Diğer ester bileşenlerinin konsantrasyonlarında olgunlaşma süresince dalgalanmalar görülmüştür.

Tablo 34. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Ester Bileşikleri (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Ethyl acetate	6.195	1	7,27±0,26	4,93±1,19	17,07±1,39	3,26±0,37	7,38±0,22	5,53±1,37	17,67±1,20	3,42±0,32
		60	31,58±6,72	22,45±2,06	28,95±1,95	23,77±6,23	58,34±0,39	54,18±1,40	65,86±14,27	53,02±14,78
		120	34,25±1,29	40,87±9,16	52,00±11,35	118,29±37,84	49,65±6,14	46,33±0,62	71,17±7,41	64,71±4,04
Methyl butanoate	8.571	1	0,18±0,05	0,17±0,01	0,06±0,06	1,25±0,04	0,20±0,04	0,18±0,01	0,09±0,06	1,28±0,05
		60	0,38±0,00	0,27±0,11	0,42±0,03	0,18±0,04	0,17±0,02	0,18±0,02	0,18±0,03	0,19±0,02
		120	0,23±0,03	0,26±0,03	0,30±0,07	0,06±0,02	0,24±0,02	0,18±0,04	0,13±0,01	0,20±0,01
2-Methyl propyl acetate	10.086	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	0,09±0,00
		120	TE	0,29±0,04	0,17±0,04	2,35±0,72	TE	0,07±0,00	TE	0,12±0,01
Ethyl butanoate	10.954	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	0,80±0,11	0,33±0,01	0,37±0,13	0,26±0,00
		120	TE	TE	TE	TE	TE	0,52±0,06	1,60±0,12	4,74±0,07
3-Methyl-1-butanol acetate	13.639	1	0,08±0,01	0,09±0,01	0,09±0,02	0,10±0,01	0,08±0,01	0,09±0,01	0,08±0,03	0,10±0,01
		60	TE	0,09±0,02	0,19±0,01	0,07±0,01	0,11±0,02	0,24±0,02	1,72±0,29	1,38±0,05
		120	0,13±0,01	0,94±0,05	0,25±0,01	6,46±1,34	0,17±0,02	0,24±0,05	5,58±0,81	5,97±0,10
Butyl-2-propenoate	14.325	1	0,64±0,14	0,35±0,13	0,59±0,21	0,60±0,10	0,70±0,12	0,42±0,14	0,50±0,18	0,64±0,09
		60	TE	0,18±0,02	0,63±0,04	TE	TE	0,18±0,08	0,06±0,01	TE
		120	TE	0,32±0,03	TE	0,19±0,06	0,06±0,01	TE	TE	TE
Butyl propanoate	14.765	1	0,36±0,09	0,24±0,12	0,28±0,07	0,29±0,06	0,40±0,08	0,19±0,10	0,25±0,08	0,32±0,05
		60	TE	0,07±0,01	0,11±0,01	TE	TE	TE	TE	TE
		120	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE

Tablo 34. (Devamı)

Methyl hexanoate	15.333	1	0,05±0,00	TE	TE	TE	0,05±0,00	TE	TE	TE
		60	TE	TE	0,10±0,01	0,03±0,01	0,09±0,00	0,07±0,00	0,07±0,02	0,09±0,01
		120	0,08±0,01	TE	TE	TE	0,13±0,01	0,07±0,00	0,07±0,00	0,10±0,00
Isobutyl butanoate	16.517	1	0,11±0,02	0,13±0,03	TE	0,14±0,00	0,12±0,02	0,15±0,03	TE	0,14±0,00
		60	0,20±0,03	TE	0,25±0,02	0,15±0,00	0,23±0,00	0,20±0,01	0,21±0,04	0,20±0,00
		120	0,23±0,01	0,09±0,01	0,14±0,03	0,09±0,00	0,33±0,01	0,22±0,03	0,21±0,02	0,24±0,02
Iso amyl butyrate	20.101	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	0,12±0,05	0,07±0,00	0,08±0,01	0,07±0,01
		120	0,24±0,03	0,08±0,01	TE	0,13±0,02	0,47±0,06	0,12±0,02	0,16±0,02	0,19±0,01
Methyl octanoate	22.467	1	0,05±0,00	0,05±0,01	0,17±0,07	0,08±0,00	0,05±0,00	0,05±0,01	0,14±0,06	0,08±0,00
		60	0,28±0,04	TE	0,49±0,03	0,29±0,12	TE	TE	TE	TE
		120	0,25±0,06	0,29±0,05	0,24±0,01	0,60±0,10	TE	TE	TE	TE

TE: tespit edilemedi.

Ketonlar

Ketonlar; temel olarak serbest yağ asitlerinin ß-oksidasyonu ve dekarboksilasyonu sonucu oluşmakta, düşük konsantrasyonlarda bile peynir aroması üzerinde etkili olmakta ve peynirin lezzetini belirleyen en önemli bileşikler arasında yer almaktadırlar. Diasetil ve asetoin gibi ketonların oluşumu ise laktoz ve sitrat parçalanması sonucu oluşan pirüvatın parçalanmasıyla gerçekleşmektedir (Yılmaz 2019). Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen keton bileşikleri Tablo 35'de verilmiştir. Peynir örneklerinde toplam 10 adet keton bileşiği tespit edilmiş olup, genel olarak asetoin, 2 heptanon, 2,2 dimetil 3 heptanonun peynir örneklerinde en yüksek konsantrasyonlarda belirlenen keton bileşikleri olduğu saptanmıştır. Soltani *et al.* (2016) deve kimozini ve *Rhizomucor miehei* proteazı kullanarak ultrafiltrasyon yöntemiyle ürettikleri Beyaz peynirlerde 2 propanon, 2-bütanon, 2,3-bütandion ve 3-hidroksi-2-butanon'u olgunlaşma sırasında tüm peynirlerde önemli düzeyde tespit edilen başlıca ketonlar olarak belirlemişlerdir.

Peynir örneklerinde belirlenen bazı keton bileşikleri üzerinde kullanılan kültürlerin, muhafaza şeklinin ve olgunlaşma süresinin etkili olduğu görülmektedir. Tereyağımsı aroma oluşumuna neden olan 2,3 butandion (diasetil) konsantrasyonunun olgunlaşmanın 60. gününde özellikle primer startere ilaveten yardımcı kültürleri kullanarak üretilen ve salamurada olgunlaştırılan peynirlerde (AS, BS ve CS) kontrol örneğine oranla daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde A, B ve C kültürleriyle üretilen salamura olgunlaştırılan AS, BS ve CS peynirlerinde 3 hidroksi 2 butanon (asetoin) konsantrasyonunun önemli miktarda yüksek olduğu görülmektedir. 2 heptanon'un BS örneğinde, 2 pentanon'un KS örneğinde, 2,2 dimetil 3 heptanon'un vakum ambalajlanmış peynirlerde (KV, AV, BV ve CV) yüksek miktarlarda belirlendiği gözlenmiştir.

Olgunlaşma süresince genel olarak keton bileşiklerin konsantrasyonlarında artış olduğu görülmüş, özellikle bu artışların 120. günde daha belirgin olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 35. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Keton Bileşikleri (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
2,3-Butanedione (Diacetyl)	5.797	1	0,23±0,04	0,25±0,06	0,89±0,23	1,23±0,04	0,25±0,04	0,27±0,05	0,99±0,20	1,21±0,03
		60	0,12±0,01	1,78±0,50	2,91±0,20	3,37±0,71	0,04±0,01	0,11±0,01	0,50±0,14	0,33±0,10
		120	TE	0,49±0,06	0,95±0,21	0,54±0,16	0,05±0,01	0,08±0,01	0,25±0,01	0,43±0,06
2-Pentanone	7.664	1	0,29±0,02	0,30±0,06	0,16±0,04	0,29±0,01	0,30±0,02	0,30±0,06	0,13±0,05	0,28±0,01
		60	0,23±0,02	0,54±0,24	0,52±0,20	0,25±0,04	0,50±0,18	0,68±0,02	0,73±0,09	0,65±0,13
		120	5,59±0,18	1,87±0,39	2,51±0,23	0,53±0,18	1,43±0,26	1,05±0,24	0,97±0,18	0,86±0,05
3-Hydroxy-2-butanone (Acetoin)	8.750	1	0,61±0,02	0,70±0,17	0,90±0,01	1,73±0,54	0,62±0,02	0,77±0,15	0,90±0,01	1,46±0,62
		60	0,31±0,04	9,09±2,63	8,80±0,06	5,65±1,33	0,05±0,01	2,49±0,11	2,61±0,71	3,44±0,42
		120	0,21±0,05	22,55±2,18	10,80±1,01	8,90±2,17	TE	2,19±0,40	3,54±0,37	4,66±0,03
2-Heptanone	14.148	1	0,48±0,06	0,46±0,14	0,76±0,06	1,03±0,03	0,51±0,05	0,53±0,13	0,73±0,07	1,04±0,03
		60	0,67±0,03	1,55±0,38	1,87±0,08	1,38±0,31	0,97±0,34	1,15±0,06	1,03±0,12	0,94±0,08
		120	16,18±0,70	8,08±0,62	22,01±0,51	2,08±0,71	1,71±0,38	1,50±0,24	1,38±0,24	1,46±0,01
2,2-Dimethyl-3-heptanone	16.154	1	7,85±0,42	9,25±1,92	7,39±0,53	7,85±0,70	7,67±0,36	10,08±1,66	7,13±0,61	8,15±0,60
		60	6,33±1,39	7,51±0,97	7,13±0,48	6,46±0,00	8,84±2,73	7,77±0,16	9,62±1,91	9,55±0,19
		120	2,84±0,45	2,17±0,02	5,66±1,07	3,55±0,97	8,09±0,00	7,85±0,50	6,04±0,21	8,56±0,19
5-Hydroxy-3,6-dimethyl-4-octanone	16.826	1	0,18±0,04	0,16±0,01	0,13±0,04	0,17±0,01	0,16±0,05	0,16±0,01	0,11±0,04	0,18±0,01
		60	0,20±0,03	0,27±0,02	TE	0,07±0,00	0,22±0,06	0,24±0,10	0,20±0,04	0,21±0,00
		120	0,05±0,01	0,07±0,01	TE	0,08±0,04	0,22±0,01	0,26±0,00	0,23±0,07	0,31±0,00
3-Octanone	17.672	1	0,09±0,05	0,12±0,02	0,26±0,03	0,16±0,00	0,11±0,05	0,11±0,03	0,25±0,02	0,16±0,00
		60	0,63±0,08	0,08±0,01	0,57±0,03	0,46±0,20	2,43±0,14	1,55±0,47	2,43±0,12	1,32±0,22
		120	0,49±0,12	0,41±0,05	0,39±0,08	0,43±0,17	TE	TE	TE	TE

Tablo 35. (Devamı)

Oct-3(E)-en-2-one	19.565	1	0,10±0,02	0,05±0,01	0,09±0,01	0,07±0,02	0,10±0,02	0,05±0,01	0,09±0,01	0,07±0,02
		60	TE	TE	TE	TE	0,20±0,06	0,15±0,02	0,14±0,02	0,67±0,07
		120	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
8-Nonen-2-one	21.108	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	0,09±0,01	TE	TE	TE	TE	TE
		120	0,40±0,10	0,23±0,05	1,22±0,13	TE	TE	TE	TE	TE
2-Nonanone	21.395	1	0,15±0,03	0,13±0,04	0,11±0,00	0,15±0,00	0,15±0,03	0,13±0,04	0,11±0,00	0,15±0,00
		60	0,13±0,00	0,24±0,07	0,35±0,12	0,18±0,03	0,22±0,06	0,33±0,00	0,26±0,05	0,27±0,03
		120	1,31±0,27	1,16±0,28	4,92±0,99	0,40±0,12	0,35±0,06	0,36±0,02	0,28±0,05	0,16±0,19

TE: tespit edilemedi.

Aldehitler

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen aldehit bileşikleri Tablo 36'da verilmiştir. Genel olarak tüm peynirlerde belirlenen aldehit konsantrasyonlarının oldukça düşük olduğu, 3 metil butanal ile hekzenal'ın en yüksek konsantrasyonlarda belirlenen aldehitler olduğu görülmektedir. Benzer şekilde Boran (2021) peynir bulamacı ile üretilen model peynirlerde aldehit grubu bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda belirlendiğini, dallanmış yapıya sahip olan 3 metil butanal'ın en yüksek konsantrasyonda belirlenen aldehit olduğunu bildirmiştir. Aldehit bileşiklerinin miktarları açısından örnekler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, muhafaza şeklinin de aldehitlerin konsantrasyonlarını etkilemediği tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince aldehit miktarlarında genel olarak bir azalma görülmüş, özellikle başlangıçta yüksek konsantrasyonlarda bulunan 3 metil butanal'ın ileriki dönemlerde önemli miktarda azaldığı gözlenmiştir. Bu durumun aldehitlerin kararsız bileşikler olması ve olgunlaşma sırasında diğer uçucu bileşiklere (alkol veya asit bileşiklerine) dönüşmesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Nitekim; aldehitlerin stabil olmayan bileşikler olduğu, hızla birincil alkollere indirgendikleri veya daha sonra hidrokarbonlara, alkollere ve karbonil bileşiklerine dönüştürülmek üzere asitlere veya hidroperoksitlere oksitlendikleri ve bu nedenle konsantrasyonlarında dalgalanmaların görülebileceği bildirilmiştir (Carbonell *et al.* 2002; De Pasquale *et al.* 2014).

Aldehitlerin çoğunlukla serbest amino asitlerin dekarboksilasyonu, deaminasyonu, transaminasyonu ile strecker reaksiyonları sonucunda oluştuğu, aynı zamanda düz zincirli aldehitlerde olduğu gibi doymamış yağ asitlerinin β-oksidasyonu ile de meydana geldiği bildirilmiştir (Fox and Wallace 1997; Massouras *et al.* 2006). Bahsedildiği üzere 1-hekzenal, 1-oktanal, 1-nonanal, 1-dekanal gibi düz zincirli aldehit bileşiklerinin peynirin olgunlaşması sırasında hızlıca alkol ve asitlere dönüştüğü ve bu nedenle algılanabilir peynir aromasına düşük düzeyde katkı sağladıkları bildirilmiştir (Irigoyen *et al.* 2007; Akalın ve Karaman 2011; Atasoy vd 2013; Mei *et al.* 2015).

Tablo 36. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Aldehit Bileşikleri (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
2-Methyl propanal	5.450	1	0,96±0,19	0,58±0,13	0,49±0,05	0,53±0,04	1,05±0,17	0,64±0,15	0,47±0,04	0,52±0,03
		60	0,22±0,03	0,10±0,01	0,03±0,00	TE	0,50±0,18	0,13±0,01	TE	0,14±0,01
		120	TE	TE	TE	1,06±0,40	0,30±0,00	0,13±0,00	0,26±0,03	TE
3-Methyl butanal	6.927	1	17,19±3,18	12,08±3,07	8,92±2,43	10,78±0,80	15,81±2,75	13,41±2,66	9,98±2,11	10,38±0,92
		60	9,46±1,33	0,66±0,02	1,52±0,06	0,89±0,14	9,68±3,08	0,28±0,01	0,39±0,15	0,40±0,11
		120	1,68±0,09	TE	0,17±0,02	1,20±0,26	8,90±0,45	0,16±0,07	0,28±0,03	0,29±0,03
2-Methyl butanal	7.134	1	2,10±0,55	1,16±0,64	1,47±0,42	1,21±0,27	2,10±0,55	1,16±0,64	1,47±0,42	1,21±0,27
		60	0,58±0,02	0,23±0,03	0,46±0,13	0,24±0,04	0,73±0,09	0,18±0,03	0,23±0,08	0,16±0,04
		120	0,23±0,02	0,24±0,03	0,27±0,09	0,18±0,01	0,66±0,05	0,10±0,05	0,22±0,04	0,22±0,02
Hexanal	10.926	1	2,27±0,51	1,66±0,26	1,70±0,51	1,83±0,09	2,02±0,59	1,53±0,30	1,95±0,59	1,78±0,10
		60	3,51±1,40	1,13±0,40	3,26±0,12	2,72±0,50	TE	0,27±0,01	0,23±0,01	0,23±0,01
		120	5,85±1,30	2,85±0,02	4,50±0,86	2,62±0,72	TE	TE	TE	TE
Heptanal	14.542	1	0,18±0,05	0,14±0,03	0,19±0,04	TE	0,20±0,04	0,12±0,03	0,21±0,04	TE
		60	0,46±0,00	0,11±0,01	0,47±0,08	0,33±0,07	TE	TE	TE	TE
		120	0,58±0,00	0,41±0,01	0,33±0,12	0,21±0,08	TE	TE	TE	TE
Benzaldehyde	16.884	1	0,25±0,08	0,15±0,02	0,21±0,12	0,26±0,00	0,25±0,08	0,15±0,02	0,21±0,12	0,26±0,00
		60	0,32±0,04	TE	0,19±0,01	0,22±0,07	0,26±0,06	0,14±0,01	0,17±0,06	0,10±0,01
		120	0,14±0,01	0,17±0,02	TE	0,19±0,05	0,15±0,02	TE	0,15±0,02	TE
Octanal	18.254	1	0,10±0,03	0,09±0,00	0,11±0,02	0,13±0,00	0,11±0,03	0,09±0,00	0,12±0,02	0,13±0,00
		60	0,15±0,02	TE	0,17±0,01	0,10±0,04	TE	TE	TE	TE
		120	0,14±0,03	0,10±0,01	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Benzeneacetaldehyde	19.870	1	0,65±0,16	0,42±0,13	0,45±0,02	0,51±0,01	0,72±0,14	0,35±0,15	0,44±0,02	0,50±0,01
		60	0,33±0,03	0,10±0,01	0,12±0,01	TE	0,26±0,05	TE	TE	TE
		120	0,14±0,00	TE	TE	TE	0,27±0,03	TE	TE	TE
Nonanal	21.824	1	0,27±0,07	0,17±0,03	0,47±0,03	0,37±0,00	0,27±0,07	0,17±0,03	0,47±0,03	0,37±0,00
		60	0,46±0,21	0,42±0,02	0,78±0,03	0,78±0,24	0,17±0,02	0,12±0,01	0,14±0,03	0,16±0,05
		120	0,58±0,13	0,74±0,08	0,67±0,15	0,57±0,15	0,30±0,04	TE	0,15±0,02	0,15±0,00

TE: tespit edilemedi.

Karboksilik asitler

Karboksilik asitler aromaya doğrudan katkı sağladıkları gibi, aynı zamanda ester, metil keton, alkol ve laktonların oluşumunda öncül maddeler olarak rol alabilmektedirler (Hayaloglu *et al.* 2013). Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen karboksilik asit bileşikleri Tablo 37'de verilmiştir. Tüm Beyaz peyniri örneklerinde asetik asit, bütanoik asit ve hekzanoik asit hâkim yağ asitleri olarak belirlenmiştir. Benzer şekilde Gürkan (2019) farklı maya türlerini kullanarak ürettiği Beyaz peynirlerde diğer asit bileşiklerine oranla asetik asit ve hekzanoik asit miktarının daha yüksek olduğunu bildirmiştir.

Tablo 37 incelendiğinde peynir örneklerinde belirlenen bazı karboksilik asit konsantrasyonları üzerinde kültür kombinasyonlarının etkili olduğu, genel olarak asetik asitin *L. plantarum* 134-255 ve *L. paracasei* 670 suşlarının kombinasyonlarının kullanıldığı B ve C kültürleriyle üretilen peynirlerde, hekzanoik asitin ise C, B ve K örneklerinde daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu görülmektedir. Benzer şekilde 2 metil propanoik asitin CS dışında vakum ambalajlanmış örneklerde olgunlaşmanın 120. gününde belirlendiği görülmektedir. Butanoik asit ile oktanoik asit konsantrasyonu ise vakum ambalajda olgunlaştırılan kontrol ile C örneğinde daha yüksek oranlarda belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince asit bileşiklerinin konsantrasyonları açısından da farklılıkların bulunduğu tespit edilmiştir. Bazı bileşiklerin konsantrasyonlarında artma/azalma görülürken, bazı bileşiklerde bahsedildiği üzere sadece olgunlaşmanın sonunda belirlenmiştir.

Tablo 37. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Karboksilik Asit Bileşikleri (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Acetic acid	6.599	1	2,35±0,08	1,16±0,29	TE	3,32±0,10	2,39±0,07	1,03±0,25	TE	3,37±0,09
		60	5,33±0,69	TE	10,25±0,69	5,71±1,40	TE	TE	TE	TE
		120	9,12±0,69	8,26±1,99	11,20±2,44	12,79±3,11	2,05±0,25	TE	10,26±1,07	9,57±0,15
2-Methyl propanoic acid	9.408	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		120	TE	TE	TE	0,27±0,03	0,25±0,00	0,06±0,00	0,22±0,02	0,50±0,01
Butanoic acid	10.673	1	0,64±0,05	0,59±0,22	TE	0,62±0,17	0,62±0,05	0,69±0,19	TE	0,55±0,14
		60	0,59±0,00	1,58±0,14	0,49±0,07	TE	2,10±0,12	1,35±0,12	0,93±0,07	1,60±0,69
		120	0,52±0,22	2,16±0,15	2,39±0,52	3,25±0,06	7,27±1,08	3,58±0,04	3,46±0,21	4,21±0,24
3-Methyl-butanoic acid	12.383	1	TE	TE	0,07±0,01	TE	TE	TE	0,07±0,01	TE
		60	0,52±0,07	TE	0,11±0,03	0,11±0,02	0,38±0,15	0,47±0,04	0,25±0,08	0,38±0,17
		120	0,69±0,07	0,77±0,01	0,31±0,13	1,34±0,23	0,56±0,09	0,35±0,09	0,33±0,05	0,61±0,01
Pentanoic acid	13.978	1	0,56±0,02	0,67±0,17	TE	0,47±0,01	0,57±0,02	0,60±0,14	TE	0,46±0,01
		60	TE	TE	TE	0,14±0,03	0,08±0,02	0,22±0,03	0,22±0,02	0,14±0,09
		120	TE	0,32±0,04	TE	0,53±0,11	0,11±0,02	0,34±0,12	0,28±0,18	0,16±0,00
Hexanoic acid	17.357	1	1,85±0,22	1,45±0,16	1,08±0,55	2,07±0,32	1,95±0,19	1,38±0,14	1,08±0,55	1,93±0,28
		60	2,37±0,67	1,93±0,12	1,91±0,13	1,08±0,29	4,00±0,12	3,05±0,20	2,78±0,64	4,03±0,85
		120	1,46±0,11	1,35±0,17	3,18±0,46	5,02±1,31	10,60±0,00	5,20±0,02	6,13±1,68	11,44±0,00
Octanoic acid	23.891	1	0,88±0,15	0,40±0,03	0,64±0,20	1,10±0,04	0,95±0,13	0,42±0,03	0,64±0,20	1,08±0,04
		60	0,23±0,03	0,71±0,06	TE	0,20±0,04	0,54±0,12	0,63±0,03	0,43±0,04	0,96±0,34
		120	0,65±0,14	0,70±0,11	TE	0,51±0,12	1,92±0,12	0,70±0,01	0,69±0,17	1,30±0,33

TE: tespit edilemedi.

Terpenler

Terpen bileşikleri bitki kaynaklı uçucu bileşikler olup, hayvanların otlatılmasıyla süte, sütten de peynire geçebilmektedir. Olgunlaşma sırasında gerçekleşen metabolik reaksiyonlar sonucunda ortaya çıkan bileşikler olmadığı, bu bileşiklerin varlığının peynirin yapıldığı coğrafik bölgeyle alakalı olduğu bildirilmiştir (Bezerra *et al.* 2017; Yılmaz 2019). Beyaz peynir örneklerinde belirlenen terpen bileşikleri Tablo 38'de verilmiştir. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde farklı konsantrasyonlarda beta-pinen, delta-3 karen, L-limonen, 1,8 sineol, gama terpinen ve linanol terpen bileşikleri tespit edilmiştir. Beta-pinen ve L-limonen terpen bileşikleri özellikle salamura olgunlaştırılan peynirlerde yüksek oranlarda belirlenmiştir.

Diğer bileşikler

Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler Tablo 39'da verilmiştir. Peynir örneklerine ait diğer bileşikler olarak sınıflandırılan toplam 16 adet bileşik belirlenmiş, hidroksilamin, dekan, toluen, 1 penten ve asetil valeril yüksek konsantrasyonlarda belirlenen uçucu bileşikler arasında yer almıştır. Peynir örneklerinde olgunlaşma süresince 1 penten, 3 metil pentan, 3 metilen heptan, dekan, 6 metil tridekan, dodekan, tetradekan olmak üzere çok sayıda hidrokarbon bileşiği tespit edilmiştir. Hidrokarbonlar içerisinde yer alan 3 metilen heptan, 6 metil tridekan bileşikleri ile metantiyol sadece vakum ambalajlanmış örneklerde olgunlaşma periyodunun 60. ve 120. günlerinde belirlenmiştir. Hidrokarbonların peynir olgunlaşması esnasında lipid oksidasyonu sonucunda olgun peynirlerde sıklıkla tespit edilen bileşikler olduğu, bu bileşiklerin peynir aromasına direkt etkide bulunmadığı, ancak aromatik bileşenlerin oluşumunda öncül maddeler oldukları ifade edilmiştir (Karali *et al.* 2013; Calzada *et al.* 2015). Uçucu kükürt bileşikleri arasında yer alan metantiyolün ise Cheddar peynirinde arzu edilen lezzet ile ilişkili bileşik olduğu bildirilmiştir. Toluene (methylbenzene) peynir örneklerinde belirlenen aromatik hidrokarbon bileşiği olup, özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde yüksek düzeyde belirlenmiştir. Aromatik hidrokarbonların karotenin parçalanması ya da solvent kontaminasyonu sonucunda oluştukları bildirilmiştir (Cakmakci and Hayaloglu 2011). Dimetil sülfid ise KV, AV ve CV örnekleri dışında diğer peynir örneklerinde tespit edilen sülfür bileşiği olup, bu bileşiğin sistein ve metionin gibi serbest radikal gruplarında sülfür bulunduran amino asitlerin parçalanması sonucunda meydana geldiği belirtilmektedir (Castada *et al.* 2014; Fuchsmann *et al.* 2015). Sülfürlü bileşiklerin sarımsak içeren ve olgun peynir kokuları ile karakterize edildiği, düşük konsantrasyonlarda bile peynire belirgin duyusal özellik kazandırdığı, dolayısıyla konsantrasyonlarındaki küçük bir değişimin bile peynir aromasında önemli bir farklılığa neden olabileceği bildirilmiştir (Fuchsmann *et al.* 2015).

Tablo 38. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Terpen Bileşikleri (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Beta-Pinene	17.542	1	0,14±0,00	0,13±0,03	0,34±0,03	0,15±0,01	0,14±0,00	0,13±0,03	0,34±0,03	0,15±0,01
		60	1,02±0,13	0,24±0,02	0,80±0,12	0,60±0,13	0,25±0,05	TE	0,16±0,03	TE
		120	3,53±0,01	1,83±0,03	0,59±0,13	2,38±0,29	TE	TE	TE	TE
Delta 3-Carene	18.669	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	0,18±0,04	0,08±0,02	0,09±0,01	0,08±0,01
		120	TE	TE	TE	TE	TE	0,14±0,00	0,13±0,01	TE
L-Limonene	19.346	1	1,05±0,04	0,53±0,01	1,40±0,14	0,87±0,10	1,05±0,04	0,54±0,01	1,46±0,12	0,92±0,09
		60	3,91±0,06	0,98±0,34	3,88±0,20	3,68±0,97	2,04±0,45	0,91±0,20	1,30±0,28	1,18±0,14
		120	2,96±0,09	3,10±0,24	2,90±0,34	2,27±0,12	TE	0,63±0,16	0,96±0,13	1,27±0,09
1,8-Cineole (Eucalyptol)	19.500	1	0,08±0,00	0,11±0,03	0,48±0,04	0,34±0,11	0,08±0,00	0,12±0,02	0,52±0,04	0,29±0,13
		60	1,42±0,18	0,14±0,06	1,47±0,10	1,17±0,12	TE	TE	TE	0,12±0,02
		120	1,00±0,51	1,31±0,26	0,44±0,06	0,70±0,12	TE	0,11±0,02	0,19±0,03	0,16±0,00
Gamma Terpinene	20.402	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	0,09±0,01	TE	0,15±0,01	0,07±0,02	TE	TE	TE	TE
		120	0,07±0,01	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
Linalool	21.697	1	0,07±0,02	0,12±0,02	0,39±0,04	0,19±0,06	0,07±0,02	0,11±0,03	0,41±0,03	0,21±0,05
		60	0,96±0,02	0,12±0,01	1,31±0,12	1,16±0,12	TE	TE	TE	TE
		120	1,15±0,00	1,61±0,46	0,60±0,04	0,59±0,03	TE	TE	TE	TE

TE: tespit edilemedi.

Tablo 39. Beyaz Peynir Örneklerinde Olgunlaşma Süresince Belirlenen Diğer Bileşikler (µg/100g)

Bileşik	RT	Ol. Sür. (Gün)	Örnekler							
			KS	AS	BS	CS	KV	AV	BV	CV
Hydroxylamine	4.419	1	4,28±0,19	4,19±0,73	3,11±0,17	3,44±0,13	4,28±0,19	4,19±0,73	3,11±0,17	3,44±0,13
		60	4,41±0,90	3,88±0,34	4,06±0,42	2,55±0,26	4,93±0,38	4,18±0,33	3,93±0,12	4,79±0,58
		120	3,62±0,54	4,56±0,89	4,56±0,73	3,58±0,60	4,62±0,33	4,22±0,13	4,60±1,05	4,77±0,29
Methanethiol	4.558	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	0,31±0,07	0,28±0,01	0,29±0,06	0,34±0,03
		120	TE	TE	TE	TE	0,41±0,05	0,31±0,00	0,25±0,03	0,33±0,02
Carbon disulfide	5.283	1	0,12±0,00	0,45±0,11	TE	0,33±0,06	0,12±0,00	0,45±0,11	TE	0,33±0,06
		60	0,25±0,03	0,30±0,03	TE	TE	1,06±0,48	0,86±0,33	1,13±0,33	1,25±0,09
		120	TE	TE	TE	TE	1,20±0,23	1,44±0,46	0,75±0,18	1,41±0,02
1-Pentene	5.525	1	0,24±0,04	0,31±0,08	0,46±0,06	0,21±0,04	0,24±0,04	0,31±0,08	0,46±0,06	0,21±0,04
		60	0,33±0,03	0,54±0,05	0,55±0,14	0,67±0,09	0,98±0,02	0,93±0,04	1,13±0,45	0,60±0,09
		120	1,00±0,01	0,72±0,26	1,34±0,29	0,72±0,18	0,68±0,19	0,89±0,01	0,91±0,12	1,25±0,07
3-Methyl pentane	5.703	1	0,08±0,00	0,13±0,03	0,42±0,04	0,08±0,02	0,08±0,00	0,13±0,03	0,42±0,04	0,08±0,02
		60	0,48±0,03	0,58±0,05	0,69±0,05	0,49±0,10	0,24±0,02	0,28±0,03	0,28±0,11	0,22±0,10
		120	0,83±0,02	0,69±0,18	0,95±0,21	0,36±0,08	0,23±0,07	0,27±0,00	0,29±0,06	0,41±0,00
Dimethyl disulfide	9.258	1	TE	TE	0,22±0,02	TE	TE	TE	0,22±0,02	TE
		60	0,36±0,12	TE	0,44±0,03	0,34±0,09	TE	TE	TE	TE
		120	0,43±0,01	0,45±0,01	0,56±0,22	TE	TE	TE	0,52±0,05	TE
Toluene (Methyl benzene)	9.939	1	0,71±0,14	0,47±0,19	1,48±0,21	0,60±0,05	0,71±0,14	0,47±0,19	1,48±0,21	0,60±0,05
		60	2,67±0,81	1,43±0,04	2,57±0,08	1,97±0,41	0,74±0,14	0,76±0,16	0,76±0,02	0,67±0,07
		120	2,87±0,12	2,28±0,24	2,38±0,03	1,72±0,46	0,63±0,23	0,64±0,01	0,73±0,22	1,11±0,17
3-Methylene-heptane	10.567	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	1,90±0,42	1,47±0,03	0,93±0,29	1,05±0,31
		120	TE	TE	TE	TE	1,70±0,16	2,01±0,04	0,72±0,16	1,55±0,12

Tablo 39. (Devamı)

Acetyl valeryl	12.161	1	1,11±0,04	1,29±0,27	0,99±0,00	1,22±0,27	1,11±0,04	1,29±0,27	0,99±0,00	1,22±0,27
		60	1,37±0,29	1,52±0,41	1,33±0,09	1,05±0,20	1,83±0,44	1,06±0,04	1,20±0,30	1,27±0,07
		120	0,99±0,00	0,27±0,01	1,05±0,21	0,45±0,17	3,56±0,49	1,05±0,03	0,71±0,03	1,07±0,02
o-Xylene	13.477	1	0,25±0,04	0,16±0,06	0,19±0,06	0,20±0,01	0,25±0,04	0,16±0,06	0,19±0,06	0,20±0,01
		60	0,19±0,02	0,05±0,00	0,17±0,01	0,08±0,03	0,11±0,04	0,07±0,03	0,08±0,06	0,07±0,01
		120	0,19±0,02	TE	0,18±0,04	TE	TE	0,06±0,00	0,08±0,01	0,15±0,00
Styrene	14.281	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	0,65±0,18	0,40±0,04	0,85±0,06	0,56±0,15	0,17±0,04	TE	TE	0,21±0,03
		120	0,03±0,00	0,54±0,13	0,10±0,02	0,36±0,13	TE	0,10±0,00	TE	TE
Oxime-, methoxy-phenyl-	14.470	1	0,41±0,11	0,62±0,10	0,47±0,01	0,64±0,03	0,41±0,11	0,62±0,10	0,47±0,01	0,64±0,03
		60	0,82±0,07	0,59±0,11	0,57±0,06	0,45±0,11	0,64±0,17	0,38±0,07	0,37±0,10	0,39±0,04
		120	0,11±0,01	0,31±0,04	0,18±0,04	0,63±0,11	0,48±0,18	0,41±0,11	0,39±0,16	0,31±0,02
Decane	18.105	1	0,95±0,03	0,81±0,07	1,03±0,08	1,21±0,02	0,95±0,03	0,81±0,07	1,03±0,08	1,21±0,02
		60	1,09±0,27	0,93±0,17	0,72±0,12	1,06±0,12	0,94±0,16	0,67±0,02	0,62±0,19	0,70±0,01
		120	1,08±0,03	0,75±0,07	0,62±0,20	1,05±0,12	1,27±0,01	0,93±0,13	0,90±0,00	0,94±0,07
6-Methyl tridecane	19.988	1	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60	TE	TE	TE	TE	0,14±0,03	0,12±0,01	0,11±0,01	0,08±0,00
		120	TE	TE	TE	TE	0,19±0,01	0,11±0,00	0,15±0,03	0,16±0,02
Dodecane	24.948	1	0,95±0,03	0,54±0,14	0,81±0,08	0,78±0,05	0,95±0,03	0,54±0,14	0,81±0,08	0,78±0,05
		60	0,93±0,18	0,65±0,06	0,46±0,03	0,96±0,08	0,34±0,01	0,27±0,05	0,27±0,03	0,32±0,02
		120	0,67±0,05	0,50±0,03	0,61±0,20	0,80±0,20	0,46±0,06	0,38±0,13	0,35±0,04	0,36±0,01
Tetradecane	31.003	1	0,10±0,00	0,17±0,04	0,10±0,05	0,07±0,00	0,10±0,00	0,17±0,04	0,10±0,05	0,07±0,00
		60	0,11±0,01	TE	TE	0,11±0,00	TE	TE	TE	TE
		120	0,07±0,01	TE	TE	0,11±0,06	TE	TE	TE	TE

TE: tespit edilemedi.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Mevcut tez çalışması; geleneksel yöntemle üretilmiş Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden GABA üreten LAB'ların izolasyonu ve yüksek oranda GABA üretme yeteneğine sahip suşların belirlenmesi, izolatlar arasında yüksek konsantrasyonda GABA üretimine sahip suşların çeşitli kombinasyonlarının ülkemizde en fazla üretimi ve tüketimi yapılan Beyaz peynir üretiminde yardımcı kültür olarak kullanılması ile GABA başta olmak üzere biyoaktif bileşenler bakımından zengin fonksiyonel bir peynir üretimi amaçlanmıştır. Aynı zamanda teknolojik özellikleri ve GABA üretme yetenekleri dikkate alınarak seçilen yardımcı kültürlerin peynirin kimyasal kompozisyonu, mikrobiyolojik özellikleri, proteoliz düzeyi ve aroma oluşumu üzerindeki etkileri, kısaca peynir kalitesi üzerine etkileride araştırılmıştır. Bu araştırma sonucunda aşağıda belirtilen bulgular elde edilmiş ve öneriler yapılmıştır.

1. Beyaz, Kaşar ve Tulum peynirlerinden toplam 507 adet LAB izole edilmiş, 16S rRNA gen dizilimi analizi sonucunda izole edilen suşların 16 farklı cinse ve bu cinslere ait 30 farklı türden oluştuğu tespit edilmiştir. İzole edilen türler içerisinde *L. paracasei* 135 suş ile en fazla tespit edilen tür olmuş, bunu sırasıyla *L. plantarum* (42), *E. italicus* (39), *L. lactis* (34) ve *E. faecium* (34) izolatları takip etmiştir. Aynı zamanda *L. paracasei*'nin 17 farklı DNA fingerprint ile en fazla çeşitliliğe sahip tür olduğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan *L. lactis*'in yanı sıra yüksek oranda izole edilen *L. paracasei* ve *L. plantarum* suşlarınında süt ürünleri başta olmak üzere fermente ürünlerin üretiminde starter/yardımcı kültür olarak değerlendirilebileceği görülmektedir.

2. Yapılan PCR analizi sonucunda 507 izolattan sadece 40'ının (%7,89) GAD genine sahip olduğu, bu suşların tamamının *L. plantarum* türüne ait olduğu belirlenmiştir. Taranan izolat sayısı dikkate alındığında az sayıda suşun GAD aktivitesine sahip olduğu görülmüş, bu durumun GABA üretim aktivitesinin suşa bağlı olarak değişiklik göstermesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle farklı fermente gıdalardan çok sayıda suşun GAD aktivitesi açısından taranmasının önemli olduğu düşünülmüştür.

3. GAD genine sahip olduğu belirlenen *L. plantarum* izolatlarından biri dışında tüm izolatların hem MRS brothda hem de yağsız süt besiyerinde farklı oranlarda GABA üretebildiği belirlenmiştir. MRS broth besiyerinde en yüksek GABA üretme kapasitesi (626,359 mg/L) Tulum peynirinden izole edilen 134 numaralı izolatta, yağsız sütte en yüksek GABA üretme

kapasitesi (5,403 mg/L) ise Kaşar peynirinden izole edilen 255 numaralı izolatta belirlenmiştir. Aynı zamanda 134, 331, 345 nolu izolatlarında MRS brothda 300 mg/L'nin üzerinde GABA sentezleyebildiği ve belirtilen bu suşların iyi GABA üreticisi olarak biyo-fonksiyonel kültürler olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

4. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda *L. plantarum* 255, *L. plantarum* 134 ile *L. paracasei* 670 suşu/suşlarının kombinasyonları kullanılarak üretilen peynirlerde (BS, BV, CS ve CV) TAMB ile MRS agarda gelişen LAB sayılarının kontrol örneğinden önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Söz konusu bakteri grupları üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde TAMB ve MRS agarda gelişen LAB sayılarının belirgin derece yüksek olduğu tespit edilmiştir. M17 agarda gelişen LAB sayıları açısından olgunlaşmanın 1. ve 30. günlerinde örnekler arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, olgunlaşmanın ilerlemesiyle özellikle kontrol örneklerinde (KS ve KV) azalma olduğu belirlenmiştir.

Aynı zamanda tüm örneklerde önemli sayılabilecek düzeyde enterokok cinsi bakteri tespit edildiği, özellikle yardımcı kültürlerin kullanıldığı A, B ve C örneklerinde söz konusu bakteri grubunun kontrol örneğinden önemli derece yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumun A, B ve C örneklerinin üretiminde *L. plantarum* suşlarının kullanılmış olması ve bu suşlarında enterokokların sayımı için kullanılan seçici besiyeri KAA'da gelişmiş olmasından kaynakladığı sonucuna varılmıştır. Peynir örneklerine ait maya sayılarının <2 log kob/g ile 3,96 log kob/g arasında değiştiği, olgunlaşma periyodunun 60. gününden itibaren özellikle salamura olgunlaştırılan örneklerde maya sayılarının artış gösterdiği belirlenmiştir.

5. Kimyasal bileşim açısından salamurada ve vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirler arasında bazı farklılıkların bulunduğu, kuru madde, yağ ve protein içeriklerinin vakum ambalajda olgunlaştırılanlarda daha yüksek düzeyde olduğu ve genel olarak sabit bir değişim sergilediği gözlenmiştir. Tuz ve kuru madde de tuz oranlarının ise salamurada olgunlaştırılan peynirlerde yüksek olduğu ve olgunlaşma süresince artış gösterdiği belirlenmiştir. Aynı zamanda kuru madde, yağ ve protein miktarlarının salamurada olgunlaştırılan peynirlerde olgunlaşma süresince azaldığı da tespit edilmiştir.

Asitlik ve pH değerleri açısından da örnekler arasında bazı farklılıkların bulunduğu, *L. plantarum* 255-134 ve *L. paracasei* 670 suşlarının kombinasyonları ile üretilen vakum ambalajda olgunlaştırılan B ve C örneklerinde asitlik değerlerinin daha yüksek, pH değerlerinin ise daha düşük olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin asitlik değerleri üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin titrasyon asitliği değerlerinin salamurada olgunlaştırılanlardan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu

durumun vakum ambalaj ortamının peynirlerin üretiminde kullanılan primer ve yardımcı kültürlerin gelişimini teşvik etmesinden, böylece söz konusu kültürlerin asitlik oluşumuna katkıda bulunmalarından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

6. Olgunlaşmanın başlangıcında peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azota göre belirlenen olgunlaşma indeksi değerleri açısından örnekler arasında farklılıkların bulunmadığı, 30., 60., 90., 120. günlerinde ise en yüksek değerlerin primer startere ilaveten *L. paracasei* 670 ve *L. plantarum* 134-255 suşlarının kullanıldığı C örneğinde belirlendiği, bu örneği sırasıyla K, B ve A örneklerinin izlediği görülmüştür. Olgunlaşma süresince tüm örneklerde olgunlaşma indeksi değerlerinde artış görülmüş, söz konusu artışların özellikle salamurada olgunlaştırılan peynirlerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Peynir örneklerine ait TCA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşmanın 1., 30., 60. günlerinde genel olarak benzer olduğu, olgunlaşmanın 90. ve 120. günlerinde ise söz konusu parametrenin özellikle *L. paracasei* 670*, L. plantarum* 134-255 suşlarının kombinasyonları ile üretilen C örneğinde daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Peynir örneklerine ait PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşmanın başında benzer olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte özellikle C, B ve kontrol örneklerinin daha yüksek değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan başta B ve C örneklerinin üretiminde kullanılan yardımcı kültürler (*L. paracasei* ile *L. plantarum*) olmak üzere kullanılan tüm kültürlerin PTA'da çözünen azot fraksiyonları üzerinde etkili olduğu kanaatine varılmıştır.

Tüm suda çözünür azot fraksiyonlarının olgunlaşma süresince artış gösterdiği, muhafaza şekli açısından değerlendirildiğinde özellikle PTA'da çözünen azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma periyodunun sonunda vakum ambalajlanmış peynirlerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

7. pH 4,6'da çözünmeyen azot fraksiyonlarına ait üre–PAGE elektroforezi sonuçları incelendiğinde; tüm Beyaz peyniri örneklerinde β-kazein fraksiyonunun hidrolize karşı direnç gösterdiği, buna karşın α_{S_1}-kazein fraksiyonunun belirli oranlarda hidrolize olduğu ve daha düşük molekül ağırlıklı farklı peptitlerin oluşmasına yol açtığı belirlenmiştir. Kültür kombinasyonları açısından değerlendirildiğinde; örnekler arasında çok önemli farklılıkların bulunmadığı, bununla birlikte salamurada olgunlaştırılan peynirlerde αs_1-kazeinin vakum ambalajda olgunlaştırılanlara oranla daha fazla hidrolize olduğu, α_{S_1}-kazeinin ileri parçalanma ürünlerinin ise vakum ambalajlı örneklerde daha fazla oluştuğu tespit edilmiştir.

8. Peynir örneklerine ait RP-HPLC kromatogramları incelendiğinde olgunlaşmanın başında peptit profillerinin genel olarak benzer olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle tüm örneklerde hem hidrofilik/hidrofobik bölgelerdeki piklerin çeşitliliğinde hem de pik yüksekliklerinde artış olduğu tespit edilmiştir. Kültür kombinasyonları açısından değerlendirildiğinde peynir örnekleri arasında önemli farklılıkların bulunmadığı, bununla birlikte özellikle olgunlaşmanın 60. gününde primer startere ilaveten *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 255-134 suşlarının kombinasyonları ile üretilen B ve C peynirleri ile kontrol örneklerinin peptit profillerinin benzer olduğu belirlenmiştir. HPLC kromatogramları muhafaza şekli açısından değerlendirildiğinde; vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerde belirlenen piklerin salamurada olgunlaştırılan peynirlere oranla belirgin derece yüksek olduğu gözlenmiştir.

9. Analiz edilen tüm örneklerde olgunlaşma süresince toplam 20 amino asit belirlenmiş, özellikle Leu, Ile, Tyr, Phe amino asitleri hâkim amino asitler olarak tespit edilmiştir. Genel olarak; tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit miktarında artış görülmüş, en yüksek artış *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 134-255 suşlarının bir arada kullanıldığı ve vakum ambalajda olgunlaştırılan CV örneğinde tespit edilmiştir. Serbest amino asit miktarları incelendiğinde Asp, Glu, Arg, Met, Leu, Ile, Phe amino asitlerinin *L. paracasei* 670, *L. plantarum* 134-255 suşlarının kombinasyonlarını kullanılarak üretilen ve vakumda olgunlaştırılan B ve C peynirlerinde daha yüksek düzeyde olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda 120. günlük olgunlaşma periyodunun sonunda Ser, Gln, Ala, Ile, Trp, Lys amino asitlerinin C kültürü ile üretilen ve vakumda olgunlaştırılan peynirde, Asn, Gly, Thr, Tyr, Val amino asitlerinin de yine CV ile KV örneğinde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. His, Pro, Cys amino asitlerinin ise KV örneğinde yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu belirlenmiştir.

Peynir örneklerin belirlenen serbest amino asit konsantrasyonları üzerinde muhafaza şeklinin de etkili olduğu, vakumda olgunlaştırmanın serbest amino asit düzeyini artırdığı görülmüştür. Bu durumun başta proteolitik aktivitesi nedeniyle kültür olarak seçilen *L. paracasei*'nin yüksek tuz konsantrasyonunda aktivitesinin yavaşlamasından, buna karşılık vakum ortamında daha fazla aktivite göstermesinden ve sonuç olarak proteoliz düzeyinin artış görülmesiyle ilişkili olduğu kanaatine varılmıştır.

10. Olgunlaşma periyodunun başında tüm örneklerde GABA içeriklerinin benzer olduğu, ileriki dönemlerde ise yardımcı kültür olarak *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134-255 suşlarının bir arada kullanıldığı C kültürü ile üretilen ve hem salamurada hem de vakumda olgunlaştırılan peynirlerin (CS ve CV) önemli derece GABA içerdiği tespit edilmiştir. Mevcut sonuçlardan söz konusu peynirlerin üretiminde kullanılan iki *L. plantarum* suşunun bir arada

sinerjist etkiye neden olduğu ve GABA oluşumunu artırdığı kanaatine varılmıştır. Aynı zamanda *L. paracasei* 670 suşunun proteolitik aktivitesi nedeniyle amino asit oluşumuna katkıda bulunduğu ve GABA üretimini teşvik ettiğide düşünülmektedir. İlave olarak *L. plantarum* 255 suşu ile üretilen A peynirinde depolamanın sonunda, aynı şekilde *L. plantarum* 255 ve *L. paracasei* 670 suşlarının birlikle kullanıldığı ve özellikle vakum ambalajda olgunlaştırılan B peynirinde de yüksek konsantrasyonda GABA oluşumu gözlenmiştir.

Muhafaza şeklinin GABA oluşumu üzerine etkisi değerlendirildiğinde; aynı kültür kombinasyonlarının kullanıldığı peynirler dikkate alındığında salamurada olgunlaştırılan peynirlerin vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlere oranla daha düşük oranda GABA içerdiği görülmüştür. Bu durumun vakum ambalaj ortamının peynirlerin üretiminde kullanılan GABA pozitif suşlar ile diğer starter/yardımcı kültürlerin gelişimi için uygun ortam sağlamasının yanı sıra aynı zamanda bu peynirlerde proteolizin daha yüksek oranda gerçekleşmiş olmasınında etkili olabileceği kanaatine varılmıştır. Olgunlaşma süresince genel olarak artan proteolize bağlı olarak GABA konsantrasyonlarının da artış gösterdiği belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan en yüksek GABA içeren peynir örneklerinin (BV ve CV) 100 g'nın tüketilmesiyle hem hipertansiyonun kontrol altına alınmasına hem de bazı hastalıkların önlenmesine katkı sağlanabilineceği belirlenmiştir.

11. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince 16'sı alkol, 11'i ester, 10'u keton, 9'u aldehit, 7'si karboksilik asit, 6'sı terpen, 16'sı diğer bileşikler olmak üzere toplam 75 adet uçucu bileşik tayin edilmiştir. Etanol, 2 metil 1 propanol ve 3 metil 1 butanol alkol bileşiklerinin, etil asetat, 3 metil 1 butanol asetat ester bileşiklerinin, asetik asit, hekzanoik asit karboksilik asitlerinin özellikle *L. paracasei* 670 ile *L. plantarum* 134-255 suşlarının yardımcı kültür olarak kullanıldığı C örneğinde yüksek düzeyde oluştuğu belirlenmiştir. Mevcut sonuçlardan yardımcı kültür kullanımının bazı uçucu aroma bileşenlerinin hem miktar ve hem de çeşitliliğini artırdığı sonucuna varılmıştır.

Tüm sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde; Tulum peyniri başta olmak üzere Beyaz, Kaşar peynirlerinin zengin biyoçeşitliliğe sahip olduğu ve sağlığı geliştirici özelliklere sahip yeni LAB suşlarının izolasyonu için uygun kaynaklar olabileceği belirlenmiştir. Söz konusu peynirlerden izole edilen ve GABA ürettiği belirlenen *L. plantarum* 255 ve *L. plantarum* 134 suşları başta olmak üzere GABA üreten izolatların çoğunun biyo-fonksiyonel kültürler olarak kullanılabileceği, GABA'nın doğal yöntemle üretilmesi için önemli bir fırsat sunabileceği düşünülmektedir. Özellikle GABA üretim koşullarının optimizasyonuna yönelik yeni araştırmalarla GABA üretiminin artırıla bilineceği öngörülmektedir.

Aynı zamanda *L. plantarum* 255 ve *L. plantarum* 134 suşlarının peynirlerde belirli konsantrasyonlarda GABA üretebildiği, her iki suşun bir arada kullanımının önemli miktarlarda GABA oluşumuna neden olduğu görülmüştür. Muhafaza şeklininde GABA oluşumu üzerinde etkili olduğu, vakum ambalajda olgunlaştırmanın salamura olgunlaştırmaya oranla GABA üretimini teşvik ettiği saptanmıştır. Bu çalışmada en yüksek GABA içeren peynir örneklerinin (BV ve CV) 100 gramının tüketilmesiyle hem hipertansiyonun kontrol altına alınmasına hem de bazı hastalıkların önlenmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Aynı zamanda kullanılan yardımcı kültürlerin peynirde proteolizi ve uçucu aroma bileşiklerin hem konsantrasyonlarını hem de çeşitliliğini artırdığı belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

Abarquero, D., Bodelon, R., Florez, A.B. Fresno, J.M., Renes, E., Mayo, B. and Tornadijo, M.E., 2023. Technological and safety assessment of selected lactic acid bacteria for cheese starter cultures design: Enzymatic and antimicrobial activity, antibiotic resistance and biogenic amine production. LWT-Food Science and Technology, 180, 114709.

Akalın, A.S. and Karaman, A.D., 2011. Influence of packaging systems on the biochemical characteristics and volatile compounds of industrially produced Turkish White cheese. Journal of Food Biochemistry, 35 (2), 663-680.

Akarca, G., Tomar, O. and Gök, V., 2015. Effect of different packaging methods on the quality of stuffed and sliced Mozzarella cheese during storage. Journal of Food Processing and Preservation, 39 (6), 2912-2918.

Aktaş, H., 2018. Ev Yapımı ve Endüstriyel Olarak Üretilen Yoğurtların Mikrobiyolojik Özelliklerinin İncelenmesi ve Potansiyel Probiyotik Suşların Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 65s, Erzurum.

Aktaş, H., Yıldız, S. and Çetin, B., 2022. Probiotic and technological properties of isolates from homemade and industrial yoghurts. Journal of Food Processing and Preservation, 46, 1-12.

Aljewicz, M., Siemianowska, E., Cichosz, G. and Tonska, E., 2014. The effect of probiotics (*Lactobacillus rhamnosus* HN001, *Lactobacillus paracasei* LPC-37, and *Lactobacillus acidophilus* NCFM) on the availability of minerals from Dutch-type cheese. Journal of Dairy Science, 97 (8), 4824-4831.

Alkay, Z., 2021. Ekşi Hamur İzolatlarının GABA Üretim ve probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Model Gıda Uygulamaları. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 188s, İstanbul.

Andiç, S., Tunçtürk, Y. and Gençcelep, H., 2011. The effect of different packaging methods on the formation of biogenic amines and organic acids in Kashar cheese. Journal of Dairy Science, 94 (4), 1668-1678.

Andrews, A.T., 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. Journal Dairy Research, 50 (1), 45-55.

Anggraini, L., Marlida, Y., Wizna, W., Jamsari, J., Mirzah, M., Adzitey, F. and Huda, N., 2019. Molecular identification and phylogenetic analysis of GABA-producing lactic acid bacteria isolated from indigenous dadih of West Sumatera, Indonesia (version 2; referees: awaiting peer review). F1000 Research, 7, 1-7.

Ardö, Y. and Polychroniadou, A., 1999. Laboratory manual for chemical analysis of cheese: İmprovement of the quality of the production of raw milk cheeses. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 122.

Arslan, N., 2020. Erzurum Küflü Civıl Peynıri'nın (Göğermiş Peynır) Laktik Asit Bakteri Mıkrobiyotası ile Bazı Mikrobiyolojık ve Fizikokimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.

Arslankoz, N., 2011. Ankara Çubuk Yöresi Turşularından İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Bazı Teknolojik ve Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek

Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

Atanasova, J., Dalgalarrondo, M., Iliev, I., Moncheva, P., Todorov, S.D. and Ivanova, I.V., 2021. Formation of free amino acids and bioactive peptides during the ripening of Bulgarian White brined cheeses. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 13 (1), 261–272.

Atasoy, A. F., Hayaloglu, A.A., Kırmacı, H., Levent, O. and Türkoğlu, H., 2013. Effects of partial substitution of caprine for ovine milk on the volatile compounds of fresh and mature Urfa cheeses. Small Ruminant Research, 115 (1-3), 113-123.

Ayağ, N., Dağdemir, E. and Hayaloğlu, A.A., 2022. Comparison of γ-aminobutyric acid and free amino acid contents of some common varieties of Turkish cheeses. International Dairy Journal, 128, 105285.

Aydemir, O., 2010. Kars Kaşar Peynirinin Karakterizasyonu. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 128s, Samsun.

Aydemir, O., Harth, H., Weckx, S., Dervişoğlu, M. and De Vuyst, L., 2015. Microbial communities involved in Kaşar cheese ripening. Food Microbiology, 46, 587-595.

Aydemir, O., 2018. Proteolysis and lipolysis of white-brined (Beyaz) cheese during storage: Effect of milk pasteurization temperature. Journal of Food Processing and Preservation, 42 (5), e13612.

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.

Bachtarzi, N., Kharroub, K. and Ruas Madiedo, P., 2019. Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria isolated from traditional Algerian dairy products and their application for skim-milk fermentations. LWT-Food Science and Technology, 107, 117-124.

Barac, M., Saric, Z., Vucic, T., Ignjatovic, I. S., Milincic, D., Trifunovic, B.S. and Smiljanic, M., 2021. Effect of ripening in brine and in a vacuum on protein, fatty acid and mineral profiles, and antioxidant potential of reduced-fat White cheese. Food Technology and Biotechnology, 59 (1), 44-55.

Barrett, E., Ross, R.P., O'Toole, P.W., Fitzgerald, G.F. and Stanton, C., 2012. γ-Aminobutyric acid production by culturable bacteria from the human intestine. Journal of Applied Microbiology, 113 (2), 411-417.

Bezerra, T.K.A., De Oliveira Arcanjo, N.M., De Araujo, A.R.R., De Queiroz, A.L.M., De Oliveira, M.E.G., Gomes, A.M.P. and Madruga, M.S., 2017. Volatile profile in goat coalho cheese supplemented with probiotic lactic acid bacteria. LWT - Food Science and Technology, 76, 209-215.

Boran, O.S., 2021. Model Peynirde Peynir Bulamacı İlavesinin Proteoliz ve Bioaktif Peptit Oluşumuna Etkisinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 165s, Malatya.

Bulut Albayrak, Ç. and Duran, M., 2021. Isolation and characterization of aroma producing lactic acid bacteria from artisanal white cheese for multifunctional properties. LWT-Food Science and Technology, 150, 112053.

Bulut Solak, B., 2013. Farklı Tip Peynirler Kullanılarak Üretilen Eritme Tipi Peynirlerin Üretimi Esnasında Uygulanan İşlem Parametrelerinin Peynirin Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 313s, Konya.

Cakmakci, S. and Hayaloglu, A.A., 2011. Evaluation of the chemical, microbiological and volatile aroma characteristics of Ispir Kaymak, a traditional Turkish dairy product. International Journal of Dairy Technology, 64 (3), 444-450.

Calzada, J., Del Olmo, A., Picon, A. and Nunez, M., 2015. Effect of high pressure processing on the lipolysis, volatile compounds, odour and colour of cheese made from unpasteurized milk. Food and Bioprocess Technology, 8 (5), 1076-1088.

Carafa, I., Stocco, G., Nardin, T., Larcher, R., Bittante, G., Tuohy, K. and Franciosi, E., 2019. Production of naturally γ-aminobutyric acid-enriched cheese using the dairy strains *Streptococcus thermophilus* 84C and *Lactobacillus brevis* DSM 32386. Frontiers in Microbiology, 10, 1-11.

Carbonell, M., Nunez, M. and Fernandez-Garcia, E., 2002. Evolution of the volatile components of ewe raw milk La Serena cheese during ripening. Correlation with flavour characteristics. Lait, 82 (6), 683-698.

Castada, H.Z., Wick, C., Taylor, K. and Harper, W.J., 2014. Analysis of selected volatile organic compounds in split and nonsplit Swiss cheese samples using selected-ıon flow tube mass spectrometry (SIFT-MS. Journal of Food Science, 79 (4), C489–C498.

Crow, V., Curry, B. and Hayes, M., 2001. The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. International Dairy Journal, 11 (4), 275-283.

Çetin, B., Çakmakçı, S., Yıldız, H., Bilginer, H. and Tarakçıoğlu, F., 2017. Turşu fermantasyonunda kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve probiyotik turşu üretimi için uygun suşların seçimi. Proje Sonuç Raporu, Tübitak, Ankara.

Dağdemir, E., 2006. Salamura Beyaz Peynirlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması ve Seçilen Bazı İzolatların Kültür Olarak Kullanılabilme İmkanları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.

Dapkevicius, M. de L.E., Sgardioli, B., Camara, S.P.A., Poeta, P. and Malcata, F.X., 2021. Current trends of *Enterococci* in dairy products: A comprehensive review of their multiple roles. Foods, 10 (4), 821.

De Pasquale, I., Di Cagno, R., Buchin, S., De Angelis, M. and Gobbetti, M., 2014. Microbial ecology dynamics reveal a succession in the core microbiota involved in the ripening of pasta filata Caciocavallo Pugliese cheese. Applied and Environmental Microbiology, 80 (19), 6243–6255.

De Pasquale, I., Di Cagno, R., Buchin, S., De Angelis, M. and Gobbetti, M., 2019. Use of autochthonous mesophilic lactic acid bacteria as starter cultures for making Pecorino Crotonese cheese: Effect on compositional, microbiological and biochemical attributes. Food Research International, 116, 1344-1356.

De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K.H. and Whitman, W. B., 2009. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Second Edition: Volume 3: The Firmicutes, Dordrecht, Holland: Springer.

Del Rio, B., Sanchez Llana, E., Martinez, N., Fernandez, M., Ladero, V. and Alvarez, M.A., 2021. Isolation and characterization of *Enterococcus faecalis*-infecting bacteriophages from different cheese types. Frontiers in Microbiology, 11, 1-11.

Demirbaş, F., İspirli, H., Kurnaz, A.A., Yılmaz, M.T. and Dertli, E., 2017. Antimicrobial and functional properties of lactic acid bacteria isolated from sourdoughs., LWT-Food Science and Technology, 79, 361-366.

Devi, P.B., Rajapuram, D.R., Jayamanohar, J., Verma, M., Kavitake, D., Avany, B.A.M., Rani, P.U., Ravi, R. and Shetty, P.H., 2023. Gamma-aminobutyric acid (GABA) production by potential probiotic strains of indigenous fermented foods origin and RSM based production optimization. LWT-Food Science and Technology, 176, 114511.

Dhakal, R., Bajpai, V.K. and Baek, K.H., 2012. Production of GABA (γ - Aminobutyric Acid) by microorganisms: a review. Brazilian Journal of Microbiology, 43 (4), 1230-1241.

Diana, M., Quılez, J. and Rafecas, M., 2014a. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. Journal of Functional Foods, 10, 407-420.

Diana, M., Rafecas, M., Arco, C. and Quılez, J., 2014b. Free amino acid profile of Spanish artisanal cheeses: Importance of gamma-aminobutyric acid (GABA) and ornithine content. Journal of Food Composition and Analysis, 35, 94-100.

Diliello, L.R., 1982. Methods in Food and Dairy Microbiology. Avi. Publishing Company Inc., 142s, USA.

Ding, W., Cui, J., Zhao, Y., Han, B., Li, T., Zhao, P., Xu, J.W. and Yu, X., 2019. Enhancing *Haematococcus pluvialis* biomass and γ-aminobutyric acid accumulation by two-step cultivation and salt supplementation. Bioresource Technology, 285, 121334, 1-7.

Dovom, M.R., Najafi, M.B.H., Vosough, P.R., Norouzi, N., Nezhad, S.J.E. and Mayo, B., 2023. Screening of lactic acid bacteria strains isolated from Iranian traditional dairy products for GABA production and optimization by response surface methodology. Nature Portfolio, 13 (440), 1-13.

El Fattah, A.A., Sakr, S., El Dieb, S. and Elkashef, H., 2018. Developing functional yogurt rich in bioactive peptides and gamma- aminobutyric acid related to cardiovascular health. LWT-Food Science and Technology, 98, 390-397.

Eren-Vapur, U. and Özcan, T., 2012. Determination of free amino acids in whole-fat Turkish White brined cheese produced by animal and microbial milk-clotting enzymes with and without the addition of starter culture. Mljekarstvo, 62 (4), 241–250.

Erkaya, T., 2014. Probiyotik Kültürlerle Üretilen Beyaz Peynirlerin Olgunlaşma Süresince Bazı Kalite Özellikleri ve Oluşan Peptitlerin Biyoaktivitesinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.

Ertekin, Ö. ve Çon, A.H., 2014. Farklı gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin endüstriyel ve probiyotik özellikleri. Akademik Gıda, 12 (4), 6-16.

Ertürkmen, P. and Öner, Z., 2015. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 19 (3), 9-16.

Esen, Y., 2021. Sürk Mikrobiyotasının Belirlenmesi ve Uygun Suşlar Kullanılarak Üretilen Sürklerin Olgunlaşma Periyodu Boyunca İncelenmesi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.

Evert-Arriagada, K., Hernandez-Herrero, M.M., Gallardo-Chacon, J.J., Juan, B. and Trujillo, A.J., 2013. Effect of high pressure processing on volatile compound profile of a starter-free fresh cheese. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 19, 73-78.

Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H., 1996. Proteolysis in cheese during ripening. Food Rewiews İnternational, 12 (4), 457-509.

Fox, P.F. and Wallace, J.M., 1997. Formation of flavor compounds in cheese. Advances in Applied Microbiology, 45, 17-85.

Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. and McSweeney, P.L.H., 2017. Biochemistry of cheese ripening. In: Fundamentals of Cheese Science, New York: Springer, 391-443.

Franciosi, E., Carafa, I., Nardin, T., Schiavon, S., Poznanski, E., Cavazza, A., Larcher, R. and Tuohy, K.M., 2015. Biodiversity and γ-aminobutyric acid production by lactic acid bacteria ısolated from traditional Alpine raw cow' s milk cheeses. BioMed Research International, 1-11.

Frau, F., Leguızamon Carate, J.N., Salinas, F. and Pece, N., 2020. Effect of vacuum packaging on artisanal goat cheeses during refrigerated storage. Food Science and Technology, 41 (2), 295-303.

Fuchsmann, P., Stern, M.T., Brügger, Y.A. and Breme, K., 2015. Olfactometry profiles and quantitation of volatile sulfur compounds of Swiss Tilsit cheeses. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 63 (34), 7511–7521.

Fujimoto, A., Ito, K., Narushima, N. and Miyamoto, T., 2019. Identification of lactic acid bacteria and yeast, and characterization of food components of sourdoughs used in Japanese bakeries. Journal of Bioscience and Bioengineering, 127 (5), 575-581.

Fuka, M.M., Maksimovic, A.Z., Tanuwidjaja, I., Hulak, N. and Schloter, M., 2017. Characterization of Enterococcal community ısolated from an artisan Istrian raw milk cheese: Biotechnological and safety aspects. Food Technology and Biotechnology, 55 (3), 368-380.

Galli, B.D., Baptista, D.P., Cavalheiro, F.G. and Gigante, M.L., 2019. *Lactobacillus rhamnosus* GG improves the sensorial profile of Camembert-type cheese: An approach through flash-profile and CATA. LWT-Food Science and Technology, 107, 72-78.

Galli, V., Venturi, M., Mari, E., Guerrini, S. and Granchi, L., 2022. Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in fermented milk by lactic acid bacteria isolated from spontaneous raw milk fermentation. International Dairy Journal, 127, 105284.

Gardner Fortier, C., St Gelais, D., Champagne, C.P. and Vuillemard, J.C., 2013. Determination of optimal conditions for γ-aminobutyric acid production by *Lactococcus lactis* spp. *lactis*. International Dairy Journal, 32 (2), 136-143.

Gezginc, Y., Karabekmez-Erdem, T., Tatar, H.D., Dağgeçen, E.C., Ayman, S. and Akyol, İ., 2022. Metagenomics and volatile profile of Turkish artisanal Tulum cheese microbiota. Food Bioscience, 45, 101497.

Gontijo, M.T.P., de Souza Silva, J., Vidigal, P.M.P. and Martin, J.G.P., 2020. Phylogenetic distribution of the bacteriocin repertoire of lactic acid bacteria species associated with artisanal cheese. Food Research International, 128, 108783.

Graham, K., Rea, R., Simpson, P. and Stack, H., 2017. Development of a rapid, one-step screening method for the isolation of presumptive proteolytic enterococci. Journal of Microbiological Methods, 132, 99-105.

Gürkan, H., 2019. Bazı Mayaların Beyaz Peynirde Uçucu Aroma Bileşikleri ve Proteoliz Düzeyine Katkısı ile Biyoaktif Peptit Üretme Performanslarının Belirlenmesi. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 187s, Malatya.

Harnentis, H., Nurmiati, N., Marlida, Y., Adzitey, F. and Huda, N., 2019. γ-Aminobutyric acid production by selected lactic acid bacteria isolate of an Indonesian indigenous fermented buffalo milk (*dadih*) origin. Veterinary World, 12 (8), 1352-1357.

Harrigan, W. F., 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology, San Diego: Academic Press, 532.

Hayakawa, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H. and Yamori, Y., 2004. Effect of a γ-aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. British Journal of Nutrition, 92, 411-417.

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, 635-648.

Hayaloğlu, A.A., Topcu, A., Koca, N., 2011. Peynir Analizleri. Peynir Biliminin Temelleri. İzmir: Sidas Yayıncılık.

Hayaloglu, A.A., Bansal, N. and McSweeney, P.L.H., 2012. Influence of brine immersion and vacuum packaging on the chemistry, biochemistry, and microstructure of Mihalic cheese made using sheep's milk during ripening. Dairy Science and Technology, 92 (6), 671-689.

Hayaloğlu, A.A., Tolu, C. and Yasar, K., 2013a. Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening. Small Ruminant Research, 113, 231-238.

Hayaloglu, A.A., Tolu, C., Yasar, K. and Sahingil, D., 2013b. Volatiles and sensory evaluation of goat milk cheese Gokceada as affected by goat breeds (Gokceada and Turkish Saanen) and starter culture systems during ripening. Journal of Dairy Science, 96 (5), 2765-2780.

Hayaloğlu, A.A., 2016. Cheese: Microbiology of cheese. Reference Module in Food Science, First Edition, 1-11.

Huang, J., Mei, L.H., Wu, H. and Lin, D.Q., 2007. Biosynthesis of γ-aminobutyric acid (GABA) using immobilized whole cells of *Lactobacillus brevis*. World Journal Microbiology and Biotechnology, 23, 865-871.

Hudec, J., Kobida, L., Canigova, M., Lacko Bartosova, M., Lozek, O., Chlebo, P., Mrazova, J., Ducsay, L. and Bystricka, J., 2014. Production of γ-aminobutyric acid by microorganisms from different food sources. Journal of the Science of Food and Agriculture, 95, 1190-1198.

IDF (International Dairy Federation), 1982. Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard 4A, Brussels, Belgium: International Dairy Federation.

IDF (International Dairy Federation), 1993. Determination of the nitrogen and calculation of the crude protein content. IDF Standard 20B, Brussels: International Dairy Federation, Milk.

IDF (International Dairy Federation), 1995. Guideline Determination of Acidifying Activity of Dairy Cultures. IDF Bulletin 306, International Dairy Federation.

Inoue, K., Shirai, T., Ochiai, H., Kasao, M., Hayakawa, K., Kimura, M. and Sansawa, H., 2003. Blood-pressure-lowering effect of a novel fermented milk containing γ -aminobutyric acid (GABA) in mild hypertensives. European Journal of Clinical Nutrition, 57, 490-495.

Irigoyen, A., Ortigosa, M., Juansaras, I., Oneca, M. and Torre, P., 2007. Influence of an adjunct culture of *Lactobacillus* on the free amino acids and volatile compounds in a Roncal-type ewe's-milk cheese. Food Chemistry, 100 (1), 71-80.

Irla, M., Naerdal, I., Brautaset, T. and Wendisch, V.F., 2017. Methanol-based γ-aminobutyric acid (GABA) production by genetically engineered *Bacillus methanolicus* strains. Industrial Crops and Products, 106, 12-20.

Ismail, Y.S., Yulvizar, C. and Mazhitov, B., 2018. Characterization of lactic acid bacteria from local cow´s milk kefir. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 130 (1), 012019.

Işık, S., Dağdemir, E. and Çetin, B., 2021. Determination of gamma aminobutyric acid (gaba) production ability of lactic acid bacteria ısolated from yogurt and kefir grain. İnternational Conference on Food, Agriculture and Animal Sciences (ICOFAAS), 13-17 Ekim 2021, Erzurum.

Jarrett, W.D., Aston, J.W. and Dulley, J.R., 1982. A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. The Australian Journal of Dairy Technology, 37, 55-58.

Karali, F., Georgala, A., Massouras, T. and Kaminarides, S., 2013. Volatile compounds and lipolysis levels of Kopanisti, a traditional Greek raw milk cheese. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93 (8), 1845–1851.

Khattab, A.R., Guirguis, H.A., Tawfik, S.M. and Farag, M.A., 2019. Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. Trends in Food Science and Technology, 88, 343-360.

Ko, C.Y., Lin, H.T.V. and Tsai, G.J., 2013. Gamma-aminobutyric acid production in black soybean milk by *Lactobacillus brevis* FPA 3709 and the antidepressant effect of the fermented product on a forced swimming rat model. Process Biochemistry, 48, 559–568.

Kook, M.C. and Cho, S.C., 2013. Production of GABA (gamma amino butyric acid) by lactic acid bacteria. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 33 (3), 377-389.

Kuchroo, C.N. and Fox, P.F., 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37 (6), 331-335.

Kwak, H.S., Ganesan, P. and Hong, Y.H., 2011. Nutritional Benefits in Cheese In: Cheese: Types, Nutrition and Consumption. Editors: Richard D. Foster, 269- 289.

Lacroix, N., St-Gelais, D., Champagne, C.P. and Vuillemard, J.C., 2013. Gamma-aminobutyric acid-producing abilities of lactococcal strains isolated from old-style cheese starters. Dairy Science and Technology, 93, 315-327.

Lee, B.J., Kim, J.S., Kang, Y.M., Lim, J.H., Kim, Y.M., Lee, M.S., Jeong, M.H., Ahn, C.B. and Je, J.Y., 2010. Antioxidant activity and γ-aminobutyric acid (GABA) content in a sea tangle fermented by *Lactobacillus brevis* BJ20 isolated from traditional fermented foods. Food Chemistry, 122, 271-276.

Li, H. and Cao, Y., 2010. Lactic acid bacterial cell factories for gamma-aminobutyric acid. Amino Acids, 39, 1107-1116.

Li, J., Zhou., X, Wei, B., Cheng, S., Zhou, Q. and Ji, S., 2019. GABA application improves the mitochondrial antioxidant system and reduces peel browning in 'Nanguo' pears after removal from cold storage. Food Chemistry, 297,124903, 1-8.

Li, S., Zhang, Y., Yin, P., Zhang, K., Liu, Y., Gao, Y., Li, Y., Wang, T., Lu, S. and Li, B., 2021. Probiotic potential of γ-aminobutyric acid (GABA)–producing yeast and its influence on the quality of cheese. Journal of Dairy Science, 104 (6), 6559–6576.

Li, Y., Wang, T., Li, S., Yin, P., Sheng, H., Wang, T., Zhang, Y., Zhang, K., Wang, Q., Lu, S., Dong, J. and Li, B., 2022. Influence of GABA-producing yeasts on cheese quality, GABA content, and the volatilome. LWT- Food Science and Technology, 154, 112766.

Linares, D.M., O'Callaghan, T.F., O'Connor, P.M., Ross, R.P. and Stanton, C., 2016. *Streptococcus thermophilus* APC151 strain is suitable for the manufacture of naturally GABA-enriched bioactive yoğurt. Frontiers in Microbiology, 7, 1-9.

Liu, W., Li, H., Liu, L., Ko, K. and Kim, I., 2022. Screening of gamma-aminobutyric acid-producing lactic acid bacteria and the characteristic of glutamate decarboxylase from *Levilactobacillus brevis* F109-MD3 isolated from kimchi. Journal of Applied Microbiology, 132 (3), 1967–1977.

Lu, X., Chen, Z., Gu, Z. and Han, Y., 2008. Isolation of γ-aminobutyric acid-producing bacteria and optimization of fermentative medium. Biochemical Engineering Journal, 41, 48-52.

Majcher, M.A., Goderska, K., Pikul, J. and Jelen, H.H., 2011. Changes in volatile, sensory and microbial profiles during preparation of smoked ewe cheese. Journal of the Science of Food and Agriculture, 91 (8), 1416-1423.

Mancini, A., Carafa, I., Franciosi, E., Nardin, T., Bottari, B., Larcher, R. and Tuohy, K.M., 2019. In vitro probiotic characterization of high GABA producing strain *Lactobacilluas brevis* DSM 32386 isolated from traditional "wild" Alpine cheese. Annals of Microbiology, 69 (13), 1435-1443.

Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., Kandarakis, I.G. and Anifantakis, E.M., 2003. Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. International Journal of Food Microbiology, 82 (2), 153-161.

Mariam, S.H., 2021. A sampling survey of enterococci within pasteurized, fermented dairy products and their virulence and antibiotic resistance properties. Plos One, 16 (7), e0254390.

Massouras, T., Pappa, E.C. and Mallatou, H., 2006. Headspace analysis of volatile flavour compounds of teleme cheese made from sheep and goat milk. International Journal of Dairy Technology, 59 (4), 250-256.

Mazzoli, R. and Pessione, E., 2016. The Neuro-endocrinological role of microbial glutamate and GABA signaling. Frontiers in Microbiology, 7, 1-17.

Mei, J., Guo, Q., Wu, Y., Li, Y. and Yu, H., 2015. Study of proteolysis, lipolysis, and volatile compounds of a Camembert-type cheese manufactured using a freeze-dried Tibetan kefir co-culture during ripening. Food Science and Biotechnology, 24 (2), 393-402.

Memiş, H., 2021. *Levilactobacillus Brevis* AK19B Suşu ile ɣ-Aminobütirik Asit Üretiminin Optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bayburt.

Merheb-Dini, C., Garcia, G.A.C., Penna, A.L.B., Gomes, E. and Da Silva, R., 2012. Use of a new milk-clotting protease from *Thermomucor indicae-seudaticae* N31 as coagulant and changes during ripening of Prato cheese. Food Chemistry, 130 (4), 859-865.

Miloradovic, Z., Smigic, N., Djekic, I., Tomasevic, I., Kljajevic, N., Nedeljkovic, A. and Miocinovic, J., 2018. The influence of NaCl concentration of brine and different packaging on goat white brined cheese characteristics. Internaional Dairy Journal, 79, 24-32.

Minervini, F., Bilancia, M.T., Siragusa, S., Gobbetti, M. and Caponio, F., 2009. Fermented goats' milk produced with selected multiple starters as a potentially functional food. Food Microbiology, 26, 559-564.

Nejati, F., Rizzello, C.G., Di Cagno, R., Sheikh Zeinoddin, M., Diviccaro, A., Minervini, F. and Gobbetti, M., 2013. Manufacture of a functional fermented milk enriched of

Angiotensin-I converting enzyme (ACE)- inhibitory peptides and γ-aminobutyric acid (GABA). LWT-Food Science and Technology, 51, 183-189.

Nomura, M., Kimoto, H., Someya, Y., Furukawa, S. and Suzuki, I., 1998. Production of γ-aminobutyric acid by cheese starters during cheese ripening. Dairy Foods, 81,1486-1491.

Ohmori, T., Tahara, M. and Ohshima, T., 2018. Mechanism of gamma-aminobutyric acid (GABA) production by a lactic acid bacterium in yogurt-sake. Process Biochemistry, 1-7.

Okada, T., Sugishita, T., Murakami, T., Murai, H., Saikusa, T., Horino, T., Onoda, A., Kajimoto, O., Takahashi, R. and Takahashi, T., 2000. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA or sleeplessness depression, autonomic disorder by oral administration. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 47 (8), 596-603.

Öner, Z., Karahan, A.G. and Aloğlu, H., 2006. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. LWT, 39, 449-454.

Öner, Z. and Sarıdağ, A.M., 2018. Proteolysis in the Beyaz (White) cheese produced from various milk. Tarım Bilimleri Dergisi, 24, 269-277.

Özer, C., 2019. Farklı Biyoteknolojik Yöntemler ile Gamma-Aminobutirik Asit (GABA) Üretimi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı,114s, İzmir.

Pavlinic, I., Mikulec, N., Kalit, S., Jakasa, I., Havranek, J., Tudor, M. and Antunac, N., 2010. Influence of starter culture on peptide profiles of Krk cheese. Milchwissenschaft, 65 (3), 262-266.

Polychroniadou, A., Michaelidou, A. and Paschaloudis, N., 1999. Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid soluble nitrogen of cheese. International Dairy Journal, 9, 559-568.

Pouliot-Mathieu, K., Gardner-Fortier, C., Lemieux, S., St-Gelais, D., Champagne, C.P. and Vuillemard, J.C., 2013. Effect of cheese containing gamma-aminobutyric acid-producing lactic acid bacteria on blood pressure in men. PharmaNutrition 1, 141-148.

Poveda, J.M., Cabezas, L. and McSweeney, P.L.H., 2004. Free amino acid content of Manchego cheese manufactured with different starter cultures and changes throughout ripening. Food Chemistry, 84(2), 213-218.

Poveda, J.M., Chicon, R. and Cabezas, L., 2015. Biogenic amine content and proteolysis in Manchego cheese manufactured with *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* as adjunct and other autochthonous strains as starters. International Dairy Journal, 47, 94-101.

Redruello, B., Szwengiel, A., Ladero, V., Del Rio, B. and Alvarez, M.A., 2020. Identification of technological/metabolic/environmental profiles of cheeses with high GABA contents. LWT - Food Science and Technology, 130, 109603.

Redruello, B., Szwengiel, A., Ladero, V., Del Rio, B. and Alvarez, M. A., 2022. Are there profiles of cheeses with a high GABA and safe histamine content?. Food Control, 132, 108491.

Renes, E., Linares, D.M., Gonzalez, L., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E. and Stanton, C., 2017. Production of conjugated linoleic acid and gamma-aminobutyric acid by autochthonous lactic acid bacteria and detection of the genes involved. Journal of Functional Foods, 34, 340-346.

Renes, E., Ladero, V., Tornadijo, M.E. and Fresno, J.M., 2019. Production of sheep milk cheese with high γ-aminobutyric acid and ornithine concentration and with reduced biogenic amines level using autochthonous lactic acid bacteria strain. Food Microbiology, 78, 1-10.

Renes, E., Fernandez, D., Abarquero, D., Ladero, V., Alvarez, M.A., Tornadijo, M.E. and Fresno, J.M., 2021. Effect of forage type, season, and ripening time on selected quality properties of sheep milk cheese. Journal of Dairy Science, 104 (3), 2539-2552.

Ribeiro, S.C., Domingos-Lopes, M.F.P., Stanton, C., Ross, R.P. and Silva, C.C.G., 2018. Production of γ-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus otakiensis* and other *Lactobacillus* sp. isolated from traditional Pico cheese. International Journal of Dairy Technology, 71 (4), 1012–1017.

Romeih, E. A., Michaelidou, A., Biliaderis, C.G. and Zerfiridis, G.K., 2002. Low-fat white-brined cheese made from bovine milk and two commercial fat mimetics: chemical, physical and sensory attributes. International Dairy Journal, 12 (6), 525-540.

Rüstemoğlu, M., Erkan, M.E., Cengiz, G. and Hajyzadeh, M., 2023. Bacterial metagenome profiling of hand-made herby cheese samples utilizing high-throughput sequencing to detect geographical indication and marketing potential. Heliyon, 9, e13334.

Saidi, V., Sheikh-Zeinoddin, M., Kobarfard, F. and Soleimanian-Zad, S., 2020. Bioactive characteristics of a semi-hard non-starter culture cheese made from raw or pasteurized sheep's milk. 3 Biotech, 10 (85), 1-8.

Santiago Lopez, L., Aguilar Toala, J.E., Hernandez Mendoza, A., Vallejo Cordoba, B., Liceaga, A.M. and Gonzalez Cordova, A.F., 2018. Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. Journal of Dairy Science, 101, 3742-3757.

Santos-Espinosa, A., Beltran-Barrientos, L.M., Reyes-Diaz, R., Mazorra-Manzano, M.A., Hernandez-Mendoza, A., Gonzalez-Aguilar, G.A., Sayago-Ayerdi, S.G., Vallejo-Cordoba, B. and Gonzalez-Cordova, A.F., 2020. Gamma-aminobutyric acid (GABA) production in milk fermented by specific wild lactic acid bacteria strains isolated from artisanal Mexican cheeses. Annals of Microbiology, 70 (12), 1–11.

Seo, M.J., Lee, J.Y., Nam, Y.D., Lee, S.Y., Park, S.L., Yi, S.H., Lee, M.H., Roh, S.W., Choi, H.J. and Lim, S.I., 2013. Production of γ-aminobutyric acid by *Lactobacillus brevis* 340G ısolated from Kimchi and its application to skim milk. Food Engineering Progress, 17 (4), 418–423.

Sert, S., 2011. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları (Üçüncü Baskı). Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Ders Yayınları No:138.

Settanni, L. and Moschetti, G., 2010. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. Food Microbiology, 27, 691-697.

Shan, Y., Man, C.X., Han, X., Li, L., Guo, Y., Deng, Y., Li, T., Zhang, L.W. and Jiang, Y.J., 2015. Evaluation of improved γ-aminobutyric acid production in yogurt using *Lactobacillus plantarum* NDC75017. Journal Dairy Science, 98 (4), 2138-2149.

Sharma, P., Sharma, A., Singh, J., Singh, N., Singh, S., Tomar, G.S., Nain, P.K.S., Khare, S.K. and Nain, L., 2021. Co-production of gamma amino butyric acid (GABA) and lactic acid using *Lactobacillus plantarum* LP-9 from agro-residues. Environmental Technology and Innovation, 23, 101650.

Singh, T.K., Drake, M.A. and Cadwallader, K.R., 2003. Flavor of Cheddar cheese: a chemical and sensory perspective. Comprenhensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 139–162

Singh, A.K. and Ramesh, A., 2009. Evaluation of a facile method of template DNA preparation for PCR-based detection and typing of lactic acid bacteria. Food Microbiology, 26**,** 504-513.

Siragusa, S., De Angelis, M., Di Cagno, R., Rizzello, C.G., Coda, R. and Gobbetti, M., 2007. Synthesis of γ-aminobutyric acid by lactic acid bacteria isolated from a variety of Italian cheeses. Applied and Environmental Microbiology, 73 (22), 7283-7290.

Soltani, M., Sahingil, D., Gokce, Y. and Hayaloglu, A.A., 2016. Changes in volatile composition and sensory properties of Iranian ultrafiltered white cheese as affected by blends of *Rhizomucor miehei* protease or camel chymosin. Journal of Dairy Science, 99 (10), 7744-7754.

Sousa, R.J.M., Ribeiro, S.C., Baptista, J.A.B. and Silva, C.C.G., 2023. Evaluation of gamma-aminobutyric acid content in Portuguese cheeses with protected designation of origin status. Journal of Dairy Research, 90 (1), 1-4.

Sönmez, A., Incili, G.K. and Çalıcıoğlu, M., 2019. Elazığ ilinde vakum ambalajlı ve açıkta satışa sunulan Lor peynirlerinin kimyasal özelliklerinin ve mikrobiyolojik kalitesinin değerlendirilmesi. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi, 33 (3), 169-175.

Sulejmani, E. and Hayaloglu, A.A., 2016. Influence of curd heating on proteolysis and volatiles of Kashkaval cheese. Food Chemistry, 211, 160-170.

Şahingil, D., 2012. Beyaz Peynir Üretiminde Kullanılan Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Proteoliz, ACE-İnhibisyon Aktivitesi ve Aroma Oluşumuna Etkilerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği ABD, Tekirdağ.

Temizkan, R., Yasar, K. and Hayaloglu, A.A., 2014. Changes during ripening in chemical composition, proteolysis, volatile composition and texture in Kashar cheese made using raw bovine, ovine or caprine milk. International Journal of Food Science and Technology, 49 (12), 2643-2649.

TEPGE (Tarımsal Ekonomi ve Politıka Geliştirme Enstitüsü)., 2022. Süt ve Süt Ürünleri Durum Tahmin Raporu.

Üçüncü, M., 2008. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Cilt 1. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 543 s.

Valenzuela, J.A., Florez, A.B., Vazquez, L., Vasek, O.M. and Mayo, B., 2019. Production of γ-aminobutyric acid (GABA) by lactic acid bacteria strains isolated from traditional, starter-free dairy products made of raw milk. Beneficial Microbes, 10 (5), 579-587.

Wang, H.K., Dong, C., Chen, Y.F., Cui, L.M. and Zhang, H.P., 2010. A new probiotic Cheddar cheese with high ACE-inhibitory activity and γ-aminobutyric acid content produced with Koumiss-Derived *Lactobacillus casei* Zhang. Food Technology and Biotechnology, 48 (1), 62-70.

Wang, Y., Liu, C., Ma, T. and Zhao, J., 2019. Physicochemical and functional properties of γ-aminobutyric acid-treated soy proteins. Food Chemistry, 295, 267-273.

Weiss, A., Domig, K.J. and Kneifel, W., 2005. Comparison of selective media for the enumeration of probiotic Enterococci from animal feed. Food Technology and Biotechnology, 43 (2), 147-155.

Wu, Q. and Shah, N.P., 2015. Gas release-based prescreening combined with reversed-phase HPLC quantitation for efficient selection of high γ-aminobutyric acid (GABA)-producing lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science, 98 (2), 790-797.

Yaşlı, B., 2010. *Lactobacillus acidophilus* KPb1 ve *Lactobacillus reuteri* NRRL B-14171 Probiyotik Kültürlerinin Koazervasyon Yöntemi ile Kaplanmasının ve Dondurmaya İlavesinin Kültürlerin Canlılık Düzeyleri Üzerine Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 85s, Bolu.

Yıldız, S., 2019. Yoğurt Kaynaklı Laktık Asit Bakterilerinin Starter Kültür ve Ekzopolisakkarit Üretim Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 69s, Erzurum.

Yılmaz, F., 2019. Kaşar Peyniri Üretiminde Sonikasyon Uygulanmış Bazı Laktobasillerin Peynirin Olgunlaşması ve Kalitesi Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.

Yogeswara, A.I.B., Kusumawati, I.G.A.W., Sumadewi, N.L.U., Rahayu, E.S. and Indrati, R., 2018. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Indonesian fermented foods as γ-aminobutyric acid-producing bacteria. International Food Research Journal, 25 (4), 1753-1757.

Yunes, R.A., Poluektova, E.U., Dyachkova, M.S., Klimina, K.M., Kovtun, A.S., Averina, O.V., Orlova, V.S. and Danilenko, V.N., 2016. GABA production and structure of gadB/gadC genes in *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from human microbiota. Anaerobe, 42, 197-204.

Zheng, X., Shi, X. and Wang, B., 2021. A Review on the general cheese processing technology, flavor biochemical pathways and the ınfluence of yeasts in cheese**.** Frontiers in Microbiology, 12, 703284.

Zhu, H., Sadiq, F.A., Li, Y., Yang, S.Y. and Zhou, F., 2018. Application of ion-exchange resin as solid acid for buffer-free production of γ-aminobutyric acid using *Enterococcus faecium* cells. LWT- Food Science and Technology, 98, 341–348.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı: Neslihan AYAĞ	
Eğitim	
Lisans:	Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2014)
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2017)
Doktora:	Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2023)
Yabancı Dil Bilgisi	