

**PROBİYOTİK KÜLTÜRLERLE ÜRETİLEN BEYAZ
PEYNİRLERİN OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE BAZI
KALİTE ÖZELLİKLERİ VE OLUŞAN PEPTİTLERİN
BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Tuba ERKAYA

Doktora Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

2014

Her hakkı saklıdır

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**PROBİYOTİK KÜLTÜRLERLE ÜRETİLEN BEYAZ
PEYNİRLERİN OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE BAZI KALİTE
ÖZELLİKLERİ VE OLUŞAN PEPTİTLERİN
BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Tuba ERKAYA

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ERZURUM
2014**

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

**PROBİYOTİK KÜLTÜRLERLE ÜRETİLEN BEYAZ PEYNİRLERİN OLGUNLAŞMA
SÜRESİNCE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ VE OLUŞAN PEPTİTLERİN
BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ**

Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL danışmanlığında, Tuba ERKAYA tarafından hazırlanan bu çalışma 15/04/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (.../...)** ile kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI

İmza :

Üye : Prof. Dr. İhsan BAKIRCI

İmza :

Üye : Prof. Dr. Mehmet İNAN

İmza :

Üye : Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Ali ATASEVER

İmza :

Yukarıdaki sonuç;

Enstitü Yönetim Kurulu 08.04.2014 ... tarih ve 9/525. nolu kararı ile
onaylanmıştır.

Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP, projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2011/162

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

ÖZET

Doktora Tezi

PROBİYOTİK KÜLTÜRLERLE ÜRETİLEN BEYAZ PEYNİRLERİN OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE BAZI KALİTE ÖZELLİKLERİ VE OLUŞAN PEPTİTLERİN BİYOAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

Tuba ERKAYA

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

Bu çalışmada, probiyotik bakteri suşları kullanılarak (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (kontrol), *L. lactis* + *L. cremoris* + *Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20456 ve *L. lactis* + *L. cremoris* + *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079 bakteri kombinasyonları ile) Beyaz peynir üretilmiştir. Salamura ve vakum ambalajdaki peynirler 120 gün süreyle olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşmanın 2, 30, 60, 90. ve 120. günlerinde peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal, duyu ve proteoliz özellikleri ile olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde elektroforetik özellikleri, peptit profilleri ve peptitlerin anjiotensin-I dönüştürücü enzim (ADE)–inhibitör aktiviteleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Araştırma sonucunda; probiyotik peynirlerde *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarının *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarına göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin kurumadde, yağ ve protein oranlarının olgunlaşma süresince giderek azaldığı, vakum ambalajlanan örneklerde ise değişiminin olmadığı bulunmuştur. Proteoliz değerlerinin tüm peynirlerde olgunlaşma süresince arttığı ve en yüksek değerlerin vakum ambalajlanmış ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ile üretilmiş peynir örneklerinde olduğu belirlenmiştir. Peynirlerin elektroforetik analizlerinde; olgunlaşma süresinin sonunda β -kazein degradasyonunun tüm örneklerde α_{s1} -kazein degradasyonuna göre daha az olduğu belirlenmiştir. pH 4,6’da çözünür fraksiyonların peptit profillerine ait kromatogramlarda vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerine ait peptit piklerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Peynire *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilavesi ve vakum ambalaj uygulamasının peptitlerin ADE–inhibitör aktivitelerini artırdığı tespit edilmiştir. Diğer taraftan, vakum ambalajlı peynirlerden ekstrakte edilen peptitlerde daha yüksek antioksidan aktivite belirlenmiştir. Peptit ekstraktlarının *E. coli* BC 402, *S. Typhimurium* RSSK 95091 ve *S. aureus* ATCC 29213’e karşı inhibitör aktive göstermediği, aksine bu bakterinin gelişimini teşvik ettiği, ancak bu teşviğin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte giderek azaldığı belirlenmiştir. Peptitlerin *B. cereus* BC 6230’a karşı ise olgunlaşma süresince inhibisyon gösterdiği ve bu inhibisyonun olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığı belirlenmiştir. Duyusal açıdan vakum ambalajlı peynir örnekleri panelistler tarafından daha fazla beğenilmiştir. Sonuç olarak; *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin Beyaz peynir kalitesi açısından daha iyi sonuçlar verdiği saptanmıştır.

2014, 181 sayfa

Anahtar Kelimeler: Beyaz peynir, probiyotik, vakum ambalaj, proteoliz, RP-HPLC, peptit profili, ADE–inhibitör aktivite, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

DETERMINATION OF SOME QUALITY CHARACTERISTICS AND BIOACTIVITY OF FORMED PEPTIDES IN WHITE CHEESES PRODUCED WITH PROBIOTIC CULTURES DURING RIPENING

Tuba ERKAYA

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

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

In this study, white cheese was produced using probiotic bacterial strains (with a combination of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* + *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (control), *L. lactis* + *L. cremoris* + *B. bifidum* DSMZ 20456 and *L. lactis* + *L. cremoris* + *L. acidophilus* DSMZ 20079). Cheese samples in brine and vacuum were ripened for 120 days. Some microbiological, chemical, sensory and proteolytic properties of cheeses on days ripening of the 2nd, 30th, 60th, 90th, and 120th electrophoretic characteristics, peptide profiles, angiotensin-I converting enzyme (ACE)–inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of peptides on 2th, 60th and 120th days of ripening were investigated. In result of the research, in probiotic cheeses *L. acidophilus* DSMZ 20079 counts were determined to be higher than the counts of *B. bifidum* DSMZ 20456. When determining dry matter, fat and protein ratios of cheeses in brine gradually decreased during ripening; no changes were observed in vacuum packaged samples. It was determined that proteolysis values increased in all cheeses during ripening and the highest values was in cheeses produced by *L. acidophilus* DSMZ 20079 and vacuum-packed. In electrophoretic analysis of cheeses; at the end of the ripening period β –casein degradation was determined to be less than α_{s1} -casein degradation in all samples. It was found that peptide peaks was higher in chromatograms of peptide profiles of cheese samples in vacuum package belonging to pH 4,6 soluble fractions. It was determined the addition of *L. acidophilus* DSMZ 20079 to cheese and the application of vacuum packaging increased ACE-inhibitory activity of peptides. On the other hand, the higher antioxidant activity was determined in peptides extracted from vacuum packaged cheeses. It was determined that peptide extracts did not show inhibitory activity against *E. coli* BC 402, *S. Typhimurium* RSSK 95091 and *S. aureus* ATCC 29213, in contrast bacterium growth was stimulated, but this stimulation gradually decreased with the progressing ripening time. However, peptides were found to show inhibition on all days of ripening against *B. cereus* BC 6230 and to increase inhibition with the progression of ripening period. Cheese samples vacuum packaged were much liked by the panelists. As a result, it was detected that cheeses with *L. acidophilus* DSMZ 20079 and vacuum packaged yielded the best results in terms of quality of White cheese.

2014, 181 sayfa

Keywords: White cheese, probiotic, vacuum package, proteolysis, RP-HPLC, peptid profile, ACE–inhibitory activity, antioxidant and antimicrobial activity

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın çoğu aşamasında ve karşılaştığım problemlerin çözümünde tavsiyelerde bulunarak bana yol gösteren, emeğini, hoşgörüsünü ve manevi desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, akademik olarak yetişmemde önemli katkısı olan, kibirli ve kırıkcı tavırlardan uzak güzel ahlakıyla örnek bir insan olduğunu düşündüğüm değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL'e,

Araştırmanın gerçekleştirilmesi için gerekli bakteri suşlarını sağlayan, çalışmalarım esnasında laboratuvar imkânları sunan, bilgi ve deneyimleriyle kendisinden çok şey öğrendiğim ve yardımını gördüğüm değerli hocam Sayın Doç. Dr. Bülent ÇETİN'e,

ADE-inhibitör aktivite analizinin gerçekleştirilmesinde yardım ve desteğini gördüğüm değerli arkadaşım Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi Kimya Bölümü Öğretim Elemanı Sayın Arş. Gör. Aykut ÖZTEKİN'e,

Peptit profilinin belirlenmesi ve elektroforetik analizlerin yapılmasında laboratuvar imkânı sağlayan ve sonuçların değerlendirilmesinde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi değerli hocam Sayın Doç. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na ve bu analizler esnasındaki yardımlarından ötürü Sayın Arş. Gör. Hacer GÜRKAN'a ve Erhan SÜLEJMANI'ye,

Tez çalışmalarına tavsiye ve önerileriyle yol gösteren Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali ATASEVER'e,

Çalışmalarım sırasında göstermiş olduğu idari kolaylıklardan dolayı Bölüm Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mükerrrem KAYA'ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında yardım ve desteğini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Elif DAĞDEMİR'e, laboratuvar imkânı sunarak çalışmama destek olan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Memnune ŞENGÜL'e, peynir üretimi aşamasında her türlü imkanı sağlayan Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Pilot Süt Fabrikası ve çalışanlarına, araştırmayı maddi olarak destekleyen Atatürk Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı'na (BAP-2011/162),

Ayrıca laboratuvar çalışmalarım süresince yanımda olan ve yardımını esirgemeyerek bana yoldaşlık eden sevgili kız kardeşim Zübeyde ERKAYA'ya ve maddi ve manevi her türlü destekleriyle her zaman yanımda olan sevgili annem, babam ve kardeşlerime,

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Tuba ERKAYA

Nisan 2014

İÇİNDEKİLER

ÖZET	1
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	ii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	6
2.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Probiyotik Kültürler ve Yararlı Etkileri.....	6
2.1.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	10
2.1.2. <i>Bifidobacterium bifidum</i>	11
2.2. Peynir Olgunlaşması.....	14
2.2.1. Proteoliz.....	17
2.3. Süt Proteini Kaynaklı Biyoaktif Peptitler ve Peynirdeki Oluşumu.....	19
2.3.1. ADE–inhibitör peptitler.....	20
2.3.2. Antioksidatif peptitler.....	27
2.3.3. Antimikrobiyal peptitler	31
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	36
3.1. Materyal.....	36
3.1.1. Çiğ süt.....	36
3.1.2. Pıhtılaştırıcı enzim, kalsiyum klorür (CaCl ₂) ve tuz	36
3.1.3. Starter kültür	36
3.1.4. Probiyotik kültürler	37
3.1.5. Ambalaj materyali	37
3.2. Yöntem	37
3.2.1. Deneme düzeni	37
3.2.2. Probiyotik kültürlerin hazırlanması.....	38
3.2.3. Deneme peynirlerin üretimi.....	38
3.2.4. Sütte yapılan analizler	40

3.2.5. Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler	40
3.2.5.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı	41
3.2.5.b. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayımı	41
3.2.5.c. M-17 agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayımı.....	41
3.2.5.d. <i>Bifidobacterium bifidum</i> DSMZ 20456 sayımı	41
3.2.5.e. <i>Lactobacillus acidophilus</i> DSMZ 20079 sayımı	42
3.2.6. Peynir örneklerinde yapılan bazı kimyasal analizler.....	43
3.2.7. Azot fraksiyonlarının belirlenmesi	43
3.2.7.a. Suda çözünür azot oranının belirlenmesi.....	43
3.2.7.b. Trikloroasetik asitte (TCA) çözünür azot oranının belirlenmesi.....	44
3.2.7.c. Fosfotungustik asitte (PTA) çözünür azot oranının belirlenmesi.....	45
3.2.8. Proteolizin üre-poliakrilamid jel elektroforez (üre-PAGE) ile belirlenmesi ..	45
3.2.9. Proteolizin HPLC ile belirlenmesi: peptit profili	46
3.2.10. Toplam serbest aminoasit analizi	47
3.2.11. Peptitlerin biyoaktivite	48
3.2.11.a. pH 4,6'da çözünür fraksiyonun hazırlanması.....	48
3.2.11.b. Anjiotensin-I dönüştürücü enzim (ADE)-inhibitör aktivitenin belirlenmesi.....	48
3.2.11.c. Antioksidatif aktivitenin belirlenmesi	50
3.2.11.d. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi	51
3.2.12. Duyusal analizler	53
3.2.13. İstatistiksel analizler	54
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	55
4.1. Beyaz Peynir Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Pastörize Sütün Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	55
4. 2. Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	55
4.2.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı	56
4.2.2. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayısı	58
4.2.3. M-17 agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayısı	61
4.2.4. <i>Bifidobacterium bifidum</i> DSMZ 20456 sayısı.....	63
4.2.5. <i>Lactobacillus acidophilus</i> DSMZ 20079 sayısı	65
4.3. Beyaz Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları.....	66

4.3.1. Kurumadde oranı (%)	66
4.3.2. Yağ oranı (%)	70
4.3.3. Kurumaddede yağ oranı (%)	72
4.3.4. Tuz oranı (%).....	75
4.3.5. Kurumaddede tuz oranı (%)	78
4.3.6. Titrasyon asitliği (% laktik asit)	80
4.3.7. pH	83
4.3.8. Protein oranı (%)	87
4.4. Proteoliz.....	89
4.4.1. Suda çözünür azot oranı (%)	89
4.4.2. Suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi (%).....	92
4.4.3. %12'lik TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi (%).....	95
4.4.4. %5'lik PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi (%)	97
4.4.5. Toplam serbest aminoasit miktarı (507 nm'deki absorbans)	100
4.4.6. Elektroforetik olarak (üre-PAGE) belirlenen proteoliz	104
4.4.7. RP-HPLC ile kromatografik olarak belirlenen proteoliz: peptit profili.....	110
4.5. Peptitlerin Biyoaktivitesi	115
4.5.1. ADE-inhibitör aktivite	115
4.5.1.a. Peptit ekstraktlarının ADE-inhibitör aktiviteleri (IC ₅₀ - µg/ml).....	115
4.5.1.b Peptit ekstraktlarının ADE-inhibitör aktiviteleri (% inhibisyon)	118
4.5.2. Antioksidan aktivite	121
4.5.2.a. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (IC ₅₀ - mg/ml)	121
4.5.2.b. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (% inhibisyon).....	122
4.5.3. Peptit ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri.....	126
4.5.3.a. Peptit ekstraktlarının <i>Escherichia coli</i> BC 402'ye karşı inhibisyonu.....	127
4.5.3.b. Peptit ekstraktlarının <i>Salmonella Typhimurium</i> RSSK 95091'e karşı inhibisyonu	129
4.5.3.c. Peptit ekstraktlarının <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213'e karşı inhibisyonu (%)	132
4.5.3.d. Peptit ekstraktlarının <i>Bacillus cereus</i> BC 6230'a karşı inhibisyonu (%)....	135
4.6. Duyusal Analiz Sonuçları.....	137
4.6.1. Renk ve görünüş	137

4.6.2. Tekstür.....	139
4.6.3. Koku	142
4.6.4. Lezzet	145
4.6.5. Tuzluluk.....	147
4.6.6. Genel kabul edilebilirlik.....	150
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	153
KAYNAKLAR	163
ÖZGEÇMİŞ	182

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
dk	Dakika
°	Derece
g	Gram
κ	Kappa
kg	Kilogram
L	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
μ	Mikron
N	Normalite
s	Saniye

Kısaltmalar

ACE	Angiotensin-I Converting Enzyme
ADE	Anjiotensin-I Dönüştürücü Enzim
ATCC	American Type Culture Collection
DSMZ	Deutsche Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen
kob	Koloni Oluşturan Birim
log	Logaritma
MRS	Man Rogosa Sharp
PTA	Fosfotungustik asit
RP-HPLC	Reverse Phase-High Performance Liquid Chromatography
subsp.	Subspecies
TAMB	Toplam aerobik mezofilik bakteri
TCA	Trikloroasetik asit
Üre-PAGE	Üre-Poliakrilamid Jel Elektroforez

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Probiyotik bakterilerin sindirim sistemindeki fonksiyonları	13
Şekil 2.2. Peynirin olgunlaşması esnasında meydana gelen biyokimyasal olaylar	16
Şekil 2.3. Peynir olgunlaşma sürecinde meydana gelen proteoliz olayının şematik gösterimi.....	18
Şekil 2.4. ADE enziminin renin–anjiotensin sistemdeki rolü.....	21
Şekil 2.5. Antimikrobiyal peptitler tarafından bakteri membranının tahrip şekilleri	34
Şekil 3.1. Deneme Beyaz Peynirlerin Üretim Akım Şeması	39
Şekil 3.3. <i>B. bifidum</i> DSMZ 20456’nın mikroskopik görüntüsü.....	42
Şekil 3.4. <i>L. acidophilus</i> DSMZ 20079’un mikroskopik görüntüsü.....	43
Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan Protean II XI dikey jel elektroforez cihazı.....	46
Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı.....	47
Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan UV–visible spektrofotometre.....	50
Şekil 3.8. İnkübasyona bırakılmış 96’lı kuyucuklu plakalar	51
Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan Bio–rad spektrofotometre	52
Şekil 3.10. Antimikrobiyal aktivite ölçümünde elde edilen spektrofotometrik bir data örneği.....	53
Şekil 4.1. Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayıları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	58
Şekil 4.2. Beyaz peynir örneklerinin LAB sayıları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	61
Şekil 4.3. Beyaz peynir örneklerinin kurumadde miktarları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	69
Şekil 4.4. Beyaz peynir örneklerinin yağ miktarları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	72
Şekil 4.5. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ miktarları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	74
Şekil 4.6. Beyaz peynir örneklerinin tuz miktarları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	77

Şekil 4.7. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede tuz miktarları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	80
Şekil 4.8. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	83
Şekil 4.9. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresi etkisi.....	85
Şekil 4.10. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi	86
Şekil 4.11. Beyaz peynir örneklerinin protein oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	89
Şekil 4.12. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerleri üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	92
Şekil 4.13. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi.....	95
Şekil 4.14. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi	102
Şekil 4.15. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	103
Şekil 4.16. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresi etkisi.....	104
Şekil 4.17. Beyaz peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforetogramı (NaCN: Standart sodyum-kazeinat)	105
Şekil 4.18. Beyaz peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik analizlerinin aşamalı kümeleme analizi.....	107
Şekil 4.19. Beyaz peynir örneklerinin α_{s1} -kazein oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	110
Şekil 4.20. Beyaz peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünür fraksiyonlarının olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerindeki peptit profilleri	112
Şekil 4.21. Beyaz peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünür fraksiyonlarının olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerindeki peptit profilleri (2)	114

Şekil 4.22. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerleri (%) üzerine ambalaj × olgunlaşma süresi etkisi.....	120
Şekil 4.23. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × ambalaj etkisi.....	125
Şekil 4.24. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%) üzerine ambalaj × olgunlaşma süresi etkisi.....	126
Şekil 4.25. Peptit ekstraktlarının <i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091’e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi.....	131
Şekil 4.26. Peptit ekstraktlarının <i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091’e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresinin etkisi	131
Şekil 4.27. Peptit ekstraktlarının <i>S. aureus</i> ATCC 29213’e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresinin etkisi.....	134
Şekil 4.28. Beyaz peynir örneklerinin renk × görünüş puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresinin etkisi	139
Şekil 4.29. Beyaz peynir örneklerinin tekstür puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	141
Şekil 4.30. Beyaz peynir örneklerinin koku puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	144
Şekil 4.31. Beyaz peynir örneklerinin lezzet puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi.....	147
Şekil 4.32. Beyaz peynir örneklerinin tuzluluk puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	149
Şekil 4.33. Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi	152

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Fermente süt ürünlerinde tanımlanan biyoaktif peptitler.....	24
Çizelge 2.2. Antihipertansif peptitler içeren ticari süt ürünleri ve ingredientleri	25
Çizelge 2.3. Süt protein kaynaklı antimikrobiyal peptitler	32
Çizelge 3.1. Beyaz peynir örneklerinin duyusal değerlendirilmesinde kullanılan skala örneği.....	54
Çizelge 4.1. Beyaz peynir üretiminde kullanılan pastörize sütün bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri.....	55
Çizelge 4.2. Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayılarına ait varyans analiz sonuçları.	56
Çizelge 4.3. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TAMB sayıları (log kob/g)	57
Çizelge 4.4. Beyaz Peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları	59
Çizelge 4.5. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen MRS agarda gelişen LAB sayıları (log kob/g)	60
Çizelge 4.6. Beyaz Peynir örneklerinin M-17 agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları	62
Çizelge 4.7. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen M-17 agarda gelişen LAB sayıları (log kob/g)	62
Çizelge 4.8. Beyaz Peynir örneklerinin <i>B. bifidum</i> DSMZ 20456 sayılarına ait varyans analiz sonuçları	63
Çizelge 4.9. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen <i>B. bifidum</i> DSMZ 20456 sayıları (log kob/g)	64
Çizelge 4.10. Beyaz peynir örneklerinin <i>L. acidophilus</i> DSMZ 20079 sayılarına ait varyans analiz sonuçları	65
Çizelge 4.11. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen <i>L. acidophilus</i> DSMZ 20079 sayıları (log kob/g)	66
Çizelge 4.12. Beyaz Peynir örneklerinin kurumadde oranlarına ait varyans analiz sonuçları	67

Çizelge 4.13. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumadde oranları (%).....	68
Çizelge 4.14. Beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları	70
Çizelge 4.15. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen yağ oranları (%).....	71
Çizelge 4.16. Beyaz Peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları	73
Çizelge 4.17. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede yağ oranları (%)	73
Çizelge 4.18. Beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları.....	76
Çizelge 4.19. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuz oranları (%).....	76
Çizelge 4.20. Beyaz Peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları	78
Çizelge 4.21. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede tuz oranları (%)	79
Çizelge 4.22. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz sonuçları	81
Çizelge 4.23. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen titrasyon asitliği değerleri (%)	82
Çizelge 4.24. Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları ...	84
Çizelge 4.25. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen pH değerleri	84
Çizelge 4.26. Beyaz peynir örneklerinin protein oranlarına ait varyans analiz sonuçları	87
Çizelge 4.27. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen protein oranları (%).....	88
Çizelge 4.28. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerlerine ait varyans analiz sonuçları	90
Çizelge 4.29. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azot değerleri (%)	91

Çizelge 4.30. Beyaz Peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	93
Çizelge 4.31. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)	94
Çizelge 4.32. Beyaz peynir örneklerinin TCA’da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları	96
Çizelge 4.33. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TCA’da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)	96
Çizelge 4.34. Beyaz peynir örneklerinin PTA’da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	98
Çizelge 4.35. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen PTA’da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)	99
Çizelge 4.36. Beyaz Peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait varyans analiz sonuçları	100
Çizelge 4.37. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen toplam serbest aminoasit değerleri (507 nm’deki absorbands)	101
Çizelge 4.38. Beyaz Peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} –kazein oranlarına ait varyans analiz sonuçları.....	108
Çizelge 4.39. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kalıntı α_{s1} –kazein oranları (%).....	109
Çizelge 4.40. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	116
Çizelge 4.41. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen ADE–inhibitör aktivite değerleri (IC ₅₀ –µg/ml)	117
Çizelge 4.42. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	118
Çizelge 4.43. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen ADE–inhibitör aktivite değerleri (%).....	119
Çizelge 4.44. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	121
Çizelge 4.45. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen antioksidan aktivite değerleri (IC ₅₀ –mg/ml)	122

Çizelge 4.46. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	123
Çizelge 4.47. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen antioksidan aktivite değerleri (%).....	124
Çizelge 4.48. Peptit ekstraktlarının <i>E. coli</i> BC402'ye karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları	127
Çizelge 4.49. Peptit ekstraktlarının <i>E. coli</i> BC 402'ye karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%).....	128
Çizelge 4.50. Peptit ekstraktlarının <i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları.....	129
Çizelge 4.51. Peptit ekstraktlarının <i>S. Typhimurium</i> RSSK 95091'e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%).....	130
Çizelge 4.52. Peptit ekstraktlarının <i>S. aureus</i> ATCC 29213'e karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları	133
Çizelge 4.53. Peptit ekstraktlarının <i>S. aureus</i> ATCC 29213'e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%)	133
Çizelge 4.54. Peptit ekstraktlarının <i>B. cereus</i> BC 6230'a karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları	135
Çizelge 4.55. Peptit ekstraktlarının <i>B. cereus</i> BC 6230'a karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%).....	136
Çizelge 4.56. Beyaz Peynir örneklerinin renk ve görünüş puanlarına ait varyans analiz sonuçları.....	137
Çizelge 4.57. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen renk ve görünüş puanları	138
Çizelge 4.58. Beyaz Peynir örneklerinin tekstür puanlarına ait varyans analiz sonuçları	140
Çizelge 4.59. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tekstür puanları.....	140
Çizelge 4.60. Beyaz Peynir örneklerinin koku puanlarına ait varyans analiz sonuçları	143
Çizelge 4.61. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen koku puanları.....	143

Çizelge 4.62. Beyaz Peynir örneklerinin lezzet puanlarına ait varyans analiz sonuçları	145
Çizelge 4.63. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen lezzet puanları	146
Çizelge 4.64. Beyaz Peynir örneklerinin tuzluluk puanlarına ait varyans analiz sonuçları	148
Çizelge 4.65. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuzluluk puanları	148
Çizelge 4.66. Beyaz Peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarına ait varyans analiz sonuçları	150
Çizelge 4.67. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen genel kabul edilebilirlik puanları	151

1. GİRİŞ

Hem besleyici hem de koruyucu özelliklere sahip olan süt, aynı zamanda mikroorganizmaların gelişimi için de ideal bir ortamdır. Bu nedenle, sütün bozulmasını önlemek veya geciktirmek, sütü daha dayanıklı hale getirmek ve tüketicilere görünüş, tekstür ve lezzet açısından alternatif ürünler sunmak amacıyla süt çeşitli ürünlere işlenmektedir. Peynir, bu ürünler arasında en fazla üretilen ve tüketilen fermente süt ürünlerinin başında gelmektedir. Peynir, sütün peynir mayası veya zararsız organik asitlerin etkisiyle pıhtılaştırılması, değişik şekillerde işlenmesi ve süzülmesi, şekillendirilmesi, tuzlanması, bazen tat ve koku verici gıda katkı maddelerinin ilavesi ve farklı süre ve sıcaklıklarda olgunlaştırılması sonucunda elde edilen bir süt ürünüdür (Yetişmeyen 1995). Peynir, sütün bileşiminde yer alan protein, yağ, mineral maddeler ve vitaminleri yoğun olarak bünyesinde bulundurduğundan dolayı besin değerinin yüksek olması ve zevkle tüketilmesi nedeniyle her toplumda beslenme açısından büyük bir öneme sahiptir.

Ülkemizde en fazla üretimi ve tüketimi yapılan peynir çeşidi Beyaz peynirdir. Beyaz peynir benzeri ürünler dünyanın birçok ülkesinde örneğin; Yunanistan’da “Feta”, Bulgaristan’da “Bjalo Salamureno Sirene”, Mısır’da “Domati”, Romanya’da “Teleme”, İsrail’de “Brinza”, Amerika’da “Ouesto Blanco” ve Yugoslavya’da “Beli Sir Kriskama” adıyla bilinmekte ve tüketilmektedir (Hayaloglu *et al.* 2002). Devlet İstatistik Enstitüsü kayıtlarına göre, 2012 yılı toplam süt üretimimiz 17,401 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (TÜİK 2012). Türkiye’de üretilen sütün yaklaşık olarak %40 kadarı peynir üretimi için kullanılmakta ve üretilen peynirlerin %60’ını Beyaz peynir, %15’ini Kaşar peyniri ve %15’ini Tulum ve Mihaliç peyniri oluşturmaktadır. Kalan %10’luk kısmını ise diğer yöresel peynirler oluşturmaktadır. Süt sektörü istatistik verilerine göre, 2010 yılında 473,491 ton olarak gerçekleşen peynir üretim miktarı 2011 yılında 520,420 ton ve 2012 yılında ise 563,480 tona yükselmiştir (Anonim 2013).

Beyaz peynir, yumuşak veya yarı yumuşak yapıda, tuzlu ve hafif asidik tadı olan ve salamura olgunlaştırılan peynirler arasında en yaygını olup, “Edirne peyniri” veya

“Teneke peyniri” olarak da adlandırılmaktadır. Bu peynir, $7 \times 7 \times 7 \text{ cm}^3$ veya $7 \times 7 \times 10 \text{ cm}^3$ boyutlarında kesilmekte ve yaklaşık 12–14 g/100g NaCl içeren salamurada üç ay süre ile $4 \pm 2^\circ\text{C}$ ’de olgunlaştırılmaktadır (Dinkçi ve Gönç 2000). Beyaz peynir, salamurada olgunlaştırılan ve çoğunlukla bu haliyle satışa sunulan bir peynir çeşidi olmasına rağmen son yıllarda vakum ambalajın sağladığı birçok avantaj nedeniyle vakum ambalajlanmış olarak da marketlerde yerini almaktadır.

Peynir olgunlaşmasında önemli rolü olan sütün doğal enzimlerinin (proteinaz ve lipaz) ve peynir mayasından gelen enzimlerin faaliyetlerini veya mikroorganizma faaliyetlerini etkileyen her faktör, peynirin kendine özgü niteliklerini de belirli oranda etkilemektedir (Öztek 1996). Proteoliz, peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen en önemli biyokimyasal olaylardan biridir. Proteolize neden olan enzimler sütün doğal enzimleri, rennet ve mikrobiyal enzimlerdir. Bu enzimler kazeini çok küçük peptit ve aminoasitlere kadar parçalarlar. Oluşan bu peptitlerin bazılarının insan sağlığı üzerine olumlu etkileri bulunan biyoaktif peptitler olduğu bildirilmektedir (Meisel 1998; Shah 2000; FitzGerald and Murray 2006).

Sütün gastrointestinal sistemden geçişi sırasında sindirim enzimleri veya fermentasyon esnasında laktik asit bakterileri tarafından salgılanan proteaz ve peptidaz enzimlerinin proteinleri hidrolizi sonucu oluşan ve insan sağlığı üzerine olumlu etkileri olan spesifik protein kısımlarına “**süt kaynaklı biyoaktif peptitler**” denilmektedir. Bu biyoaktif peptitler açığa çıktıktan sonra hormon benzeri aktiviteleri ile vücutta düzenleyici olarak rol oynamaları nedeniyle “gıda hormonu” veya “formonlar” olarak da adlandırılmaktadır (Meisel 2005). Bu peptitlerin antihipertansif, antimikrobiyal, antioksidatif, antitrombotik, bağışıklık sistemini düzenleyici, mineral bağlayıcı ve opioid (uyutucu, yatıştırıcı) etkili olmak üzere birçok farklı fizyolojik biyoaktiviteleri bulunmaktadır (Korhonen and Pihlanto–Leppälä 2000). Genel anlamda, biyoaktif peptit içeren süt ve ürünlerinin tüketilmesiyle sindirim sistemi, bağışıklık sistemi, kalp–damar sistemi ve sinir sistemi üzerine yararlı etkiler sağlanacağı bildirilmektedir. Çünkü bu peptitler, gıdayla alımını takiben veya bağırsaktaki üretiminin ardından, bağırsakta hedef bölgelerle interaksiyona girmekte ve daha sonra absorbe edilerek periferel

organlara ulaşmaktadırlar (Moller *et al.* 2008). Yumurta, et, balık, soya ve buğday gibi hayvansal ve bitkisel kaynaklı ürünlerden biyolojik aktiviteye sahip peptitler de izole edilmiş olmasına rağmen süt proteinleri biyoaktif peptitler açısından başlıca kaynak olarak değerlendirilmektedir (Meisel 1993; Takano 1998; Hartmann and Meisel 2007). Araştırmacılar, peynir başta olmak üzere süt ürünlerinin böyle peptitler bakımından oldukça zengin olduğunu ifade etmektedirler (Sieber *et al.* 2010).

Peynir ve fermente süt ürünlerinde biyoaktif peptit oluşumu; üretimde kullanılan starter kültür tipi, ürün çeşidi, fermentasyon süresi, olgunlaşma şartları (sıcaklık, nispi nem, ambalaj vb.) ve süresi gibi birçok faktöre bağlıdır (Korhonen and Pihlanto 2006). Yapılan bir çalışmada, Çedar peynirinde probiyotik kültür kullanımının Anjiotensin-I dönüştürücü enzim (ADE)–inhibitör peptitlerin oluşumunu artırdığı ve bu peptitlerin peynirde belli bir dereceye kadar olan proteoliz sonucu oluştuğu belirlenmiştir (Ong *et al.* 2007). Yapılan başka çalışmalar da kullanılan starter kültürler tarafından biyoaktif peptitlerin oluşumunun bir dereceye kadar düzenlenebildiğini, ancak olgunlaşma süresince bu peptitlerin stabil olarak kalabilmesinin zor olduğunu göstermiştir (Ryhänen *et al.* 2001; Bütikofer *et al.* 2007). Bu noktada, peynirde biyoaktif peptitlerin oluşumunda; kullanılan kültürün ve olgunlaşma süre ve şartlarının önemli bir role sahip olduğu öne çıkmaktadır.

Son yıllarda gıdalar, tüketiciler tarafından yalnızca lezzet ve besin içeriklerine göre değil, aynı zamanda sağlık üzerine pozitif yararlar sağlayıp sağlamadıklarına göre de değerlendirilmektedirler. Günlük diyet ile gıda formunda tüketilen, sentetik bileşen içermeyen ve besleyici etkisinin yanında insan sağlığı üzerine yararlı etkileri olan gıdalar fonksiyonel gıdalar olarak tanımlanmaktadır (Anonymous 2004; Stanson *et al.* 2005). Gıdanın fonksiyonel olabilmesi için biyoaktif bileşikler, probiyotik mikroorganizmalar ve prebiyotik maddeler gibi etkenlere sahip olması ve bu etkenlerin vücudun ilgili bölgesine yeterince gönderilebilmesi gereklidir. Fonksiyonel gıdalar alanında çeşitliliğin artması ile birlikte ürünlerin besleyici ve insan sağlığı üzerine olumlu özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmış ve bu bağlamda probiyotik bakterilerin fermente süt ürünleri üretiminde kullanılması konusu ile ilgili yapılan araştırma sayısı

giderek artmıştır. Son on yıl içerisinde sağlık üzerine olumlu etkilerinden dolayı Bifidobakteriler başta olmak üzere bazı Laktobasil türlerine ait probiyotik bakterilerin, fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanımının yaygınlaşmakta olduğu bildirilmektedir (Dave and Shah 1997; Snah and Lankaputhra 1997; Laine *et al.* 2003). Bu fermente ürünlerden birisi de peynirdir.

Fonksiyonel gıda üretimi amacıyla probiyotik mikroorganizmalar çeşitli peynirlerin üretiminde ilave kültür olarak denenmiştir. Bu mikroorganizmalar; Kotaj peynirinde (Blanchette *et al.* 1996), Çedar peynirinde (Philips *et al.* 2006; Ong and Shah 2009), Gouda peynirinde (Gomes *et al.* 1995), yarı sert peynirde (Bergamini *et al.* 2006) ve Beyaz peynirde (Kasımoğlu *et al.* 2004; Özer *et al.* 2009; Kılıç *et al.* 2009) ilave kültür olarak kullanılmışlardır. Bu çalışmalarda peynirin probiyotik bakteriler için taşıyıcı olarak önemli bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır. Ancak bu çalışmalar çoğunlukla probiyotik bakterilerin peynirde üretim ve depolama süresince canlılığını sürdürebilmesi, oluşan uçucu ve organik bileşiklerin tespiti ve peynirlerin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin belirlenmesi gibi konular üzerine odaklanmıştır. Probiyotik kültür ilaveli peynirlerde biyoaktif peptitlerin oluşumu üzerine yapılmış çok az sayıda çalışma mevcuttur (Ryhänen *et al.* 2001; Ong *et al.* 2007; Ong and Shah 2008).

Peynir; pH'sı, yağ içeriği, oksijen seviyesi ve depolama koşulları dikkate alındığında, üretim ve depolama esnasında probiyotik mikroorganizmaların uzun süre canlılıklarını sürdürmesi açısından diğer süt ürünlerine kıyasla daha uygun bir ortam oluşturmaktadır (Stanton *et al.* 2001). Ancak salamura beyaz peynir üretiminde kullanılan salamuranın tuz konsantrasyonu probiyotik bakterilerin canlılığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Bu nedenle, probiyotik peynir üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların çevresel faktörlere karşı dirençlerinin artırılması gerekmektedir. Bu amaçla, vakum ambalajlama, kullanılan kültürlerin kapsüllenmesi, tuza dirençli suşlar geliştirme ve yüksek oranda inokülasyon gibi yöntemlere başvurulmaktadır.

Beyaz peynir salamurada olgunlaştırılan bir peynir çeşidi olmasına rağmen tuzun zararlı etkilerinden korunmak ve aşırı tuz alımının önüne geçmek amacıyla son yıllarda kısa

sürelili olarak salamurada bekletmenin ardından vakum ambalajlanarak satışa sunulmaktadır (Akalin and Karaman 2010). Tuz, sağlık üzerine olan olumsuz etkilerinin yanı sıra, peynirde mikrobiyal enzim faaliyetlerini etkilemekte ve olgunlaşma süresince arzu edilen duyusal niteliklerin gelişimini de engellemektedir. Probiyotik peynirlerde; peynirin tuz içeriğinin %4'ün üzerinde olması durumunda probiyotik bakterilerin canlılığının azaldığı bildirilmektedir (Gobbetti *et al.* 1998). Bu nedenle, yüksek tuz içeriğine sahip probiyotik peynirlerin, probiyotik kültürler açısından iyi bir taşıyıcı olabilmeleri için; üretim şartlarının optimize edilmesi veya bu fonksiyonel ürünlerin ambalajlanmasında düşük oksijen geçirgenliğine sahip plastik filmler kullanılması gerekmektedir (Gomes da Cruz *et al.* 2009). Konu ile ilgili olarak yapılan bir araştırmada, probiyotik Beyaz peyniri vakum ambalajda olgunlaştırmanın probiyotik bakterilerin canlılığını olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Kasımoğlu *et al.* 2004).

Ülkemizde peynir üretiminde probiyotik kültür kullanımı veya farklı ambalaj materyallerinin denenmesine yönelik çok sayıda çalışma mevcut olmasına rağmen Beyaz peynir üretiminde probiyotik kültür kullanımı (Kasımoğlu *et al.* 2004; Özer *et al.* 2009; Kılıç *et al.* 2009) ve vakum ambalaj uygulaması (Akalin and Karaman 2010) konusunda yapılan çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Diğer taraftan; dünya genelinde birçok biyoaktif peptidin fermente süt ürünlerinden izole ve identifiye edildiği bildirilmektedir. Ancak ülkemizde bu konuya yönelik yapılmış çok az sayıda çalışma mevcut olup; dünyada da son yıllarda yapılan araştırma sayısı giderek artmaktadır.

Bu çalışmada, *B. bifidum* DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 probiyotik bakteri suşları kullanılarak Beyaz peynirler üretilmiş ve salamura ve vakum ambalajda olmak üzere 4 ay süreyle olgunlaştırılmıştır. İki tekerrürlü olarak yürütülen çalışmada, olgunlaşmanın farklı dönemlerinde Beyaz peynirlerin bazı kimyasal, mikrobiyolojik, duyusal ve proteoliz özelliklerinin yanı sıra, elektroforetik (üre-PAGE) özellikleri, RP-HPLC ile peptit profilleri ve peptitlerin ADE-inhibitör aktiviteleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Aynı zamanda, incelenen özellikler üzerine probiyotik bakterilerin, ambalajın ve olgunlaşma süresinin etkileri de ortaya konulmaya çalışılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

Peynir; esas olarak sütün doğrudan ya da pastörize edildikten sonra pıhtılaşması, pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılması ve daha sonra pıhtının farklı şekillerde işlenmesi sonucu elde edilen bir süt ürünüdür. Peynirin ilk kez nerede ve ne zaman üretildiğine dair kesin bilgiler bulunmamakla beraber, çok uzun yıllar önce Orta Asya'da göçebe Türk boylarının peynir ve benzeri ürünleri ürettikleri bilinmektedir. Günümüzde farklı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellik gösteren peynir çeşitleri mevcuttur. Dünya üzerinde 2000 ile 4000 arasında çeşidinin bulunduğu bildirilen peynirin ülkemizde de üretim yöntemi ve bileşim bakımından farklılık gösteren 100'den fazla çeşidi olduğu bildirilmektedir (Çakmakçı 2011). Ancak bu peynirler arasında Beyaz peynir, Kaşar peyniri ve Tulum peyniri ekonomik değere sahiptirler.

Peynir, üzerinde en çok bilimsel çalışma yapılan süt ürünüdür. Uygun şartlarda üretilen ve depolanan birçok süt ürünü, biyolojik ve kimyasal olarak oldukça stabil olduğu halde, peynir biyokimyasal açıdan dinamik bir üründür (Gürsoy ve Kınık 2004). Peynir dinamizm kazandıran unsurlardan biri peynir üretimi ve olgunlaşması sırasında çok önemli rol oynayan laktik asit bakterileridir (Fox *et al.* 1996).

2.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Probiyotik Kültürler ve Yararlı Etkileri

Probiyotik bakteriler; beslenme üzerine olduğu kadar insan sağlığı üzerine de sayısız faydaları bulunan mikroorganizmalardır (Guarner and Schaafsma 1998). Bu mikroorganizmalar;

- ✓ Bağırsaklarda mikrobiyal dengeyi olumlu yönde etkileyici,
- ✓ Bağırsak enfeksiyonlarını kontrol eden antimikrobiyal ve antikanserojenik özelliklere sahip,
- ✓ Antibiyotik tedavisinin yan etkilerini önleyici,
- ✓ Serum kolesterol seviyesinin kontrolüne yardımcı,

✓ Laktozdan yararlanmayı artırıcı özelliklere sahip bazı laktik asit bakterilerini içine almaktadır.

Çoğunluğu patojen olmayan probiyotik mikroorganizmalar laktobasiller, bifidobakteriler ve enterokoklar gibi mikroorganizma gruplarını teşkil etmekte ve bu mikroorganizmalar insan sindirim sisteminde doğal olarak bulunmaktadır (Guslandi 2003). Böyle bakterileri içeren gıdalar fonksiyonel gıdalar kategorisine girmekte ve bu gıdalar sağlık üzerine pozitif etkileri olan gıdalar olarak tanımlanmaktadır. Fonksiyonel probiyotik gıdalar, en az 10^6 – 10^7 kob/g probiyotik içermeli ve sağlık üzerine olumlu etkisinin görülebilmesi için 100 g/gün'den fazla tüketilmelidir (FAO 2002; Boylston *et al.* 2004; Gomes da Cruz *et al.* 2009). Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalar, probiyotik mikroorganizmaların çeşitli gıdalarda kullanımı ve etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Probiyotik mikroorganizmaların fermente sütler ve yoğurt üretiminde kullanımı oldukça yaygındır. Ancak bu mikroorganizmaların bu ürünlere çeşitli şekillerde ilavesi üzerine çok sayıda araştırma ve ticari uygulama mevcut olmasına rağmen söz konusu bu ürünler bazı probiyotik mikroorganizmaların yüksek seviyede bulunması ve canlılıklarını devam ettirebilmesi için uygun bir ortam sağlamamaktadır (Gürsoy ve Kınık 2004). Bu noktada alternatif bir yaklaşım olarak probiyotik mikroorganizmaların peynir ve peynir benzeri ürünlere ilavesi fikri gündeme gelmektedir. Peynir, uygun pH'sı, yağ içeriği, oksijen seviyesi ve depolama koşulları nedeniyle probiyotiklerin dağılımı ve gastrointestinal sistemde canlılıklarını daha iyi sürdürebilmeleri ve korunmaları bakımından yoğurt ve yoğurt benzeri ürünlere nazaran daha fazla avantajlar sağlamaktadır (Stanton *et al.* 1998; Gomes da Cruz *et al.* 2009).

Probiyotik yoğurt ve asidofiluslu süt gibi probiyotik fermente süt ürünleri üzerine yapılmış birçok araştırma mevcut olmasına rağmen probiyotik peynir üretimi konusunda yapılan çalışmalar daha sınırlı sayıdadır. Bununla birlikte, salamura olgunlaştırılan Feta, Hellim ve Beyaz peynir gibi peynir çeşitlerinde probiyotik mikroorganizmaların kullanıldığı çalışma sayısı ise daha azdır. Beyaz peynirin kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özelliklerinin belirlenmesine yönelik çok sayıda araştırma

bulunmasına rağmen probiyotik kültürlerin kullanımı üzerine yapılmış sadece birkaç çalışmaya rastlanmıştır. Bu çalışmalar aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Kasımoğlu *et al.* (2004), *L. acidophilus* kullanarak vakum ambalaj ve salamurada muhafaza ettikleri Beyaz peynirlerin 4°C’de 90 günlük olgunlaşma süresince bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada, vakum ambalajlanan peynirlerde *L. acidophilus* sayısının 10^7 kob/g’den fazla olduğunu ve bu peynirlerin protein, kurumadde, tuz ve laktik asit içeriklerinin salamurada muhafaza edilen peynirlerden önemli derecede farklı olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca, vakum ambalajlı probiyotik peynirlerin proteoliz düzeyi ve duyuşal puanlarının diğer peynirlere oranla daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada ise Yilmaztekin *et al.* (2004), *B. bifidum* BB–12 ve *L. acidophilus* LA–5 bakterilerini iki farklı inokülasyon oranında (%2,5 ve %5,0) salamura Beyaz peynirde denemişler ve peynir örneklerinin 90 günlük olgunlaşma süresince mikrobiyolojik ve biyokimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda, inokulum konsantrasyonundaki artışın peynirlerde proteolizin de artmasına ve dolayısıyla suda çözünür azot, protein tabiatında olmaya azot, proteoz–pepton azotu ve tirozin miktarlarında artışa sebep olduğunu ortaya koymuşlardır. Ayrıca, olgunlaşma süresince probiyotik bakteri sayılarının giderek azaldığını, ancak 90 gün sonunda bu sayının probiyotik etki için gerekli olan sayıda kaldığını da belirlemişlerdir.

Kılıç *et al.* (2009), *L. fermentum* (AB5–18 ve AK4–120) ve *L. plantarum* (AB16–65 ve AC18–82) probiyotik kültürlerini kullanarak Beyaz peynir üretmişler ve 4°C’de 120 günlük depolama süresince peynirlerin bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri ile uçucu bileşikleri ve biyojen amin içeriklerini belirlemişlerdir. Çalışmada, peynirlerin probiyotik bakteri sayılarının depolama süresince azaldığını tespit etmişlerdir. Araştırma sonucunda, *L. fermentum* ve *L. plantarum*’un probiyotik Beyaz peynir üretiminde kullanımı açısından uygun olduklarını ifade etmişlerdir.

Özer *et al.* (2009), *B. bifidum* BB–12 ve *L. acidophilus* LA–5 probiyotik bakterileri iki farklı teknik (ekstrüzyon veya emülsiyon) kullanarak mikroenkapsüle etmişler ve Beyaz

peynir pıhtısına ilave ederek 90 günlük olgunlaşma süresince bu bakterilerin canlı kalma düzeyleri ile peynirlerin yağ asitleri ve uçucu bileşik kompozisyonunu belirlemişlerdir. Araştırmada, her iki mikroenkapsülasyon yönteminde de probiyotiklerin sağlığa yararlı seviyelerinden ($>10^7$ kob/g) daha yüksek sayılarda tutulduğunu tespit etmişlerdir. Olgunlaşma süresi sonunda kapsüllenmemiş probiyotikler kullanılarak üretilen peynir örneklerinde canlı bakteri sayıları 3 logaritmik birim kadar azalmış, mikroenkapsül sistemi ile korunan probiyotiklerin azalma seviyesi ise 1 logaritmik birim düzeyinde kalmıştır. Probiyotik peynir örneklerinin orta ve uzun zincirli yağ asitleri düzeyinin kontrol grubu peynir örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde, probiyotik peynir örneklerinin asetaldehit ve diasetil seviyelerinin de kontrolden yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Özer and Kirmaci (2009), *L. acidophilus* LA-5 ve *B. bifidum* BB-12 probiyotik bakterilerini mikroenkapsüle edilmiş ve serbest halde kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde 4°C'de 90 günlük depolama süresince probiyotik bakteri sayısındaki değişimi ve peynirlerin proteoliz düzeylerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, *L. acidophilus* LA-5 ve *B. bifidum* BB-12'nin yeterli terapötik etkiyi gösterebilmesi için mikroenkapsülasyon tekniğinin gerekli olan sayının korunmasını sağladığını ve proteoliz olayının da daha yavaş gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır.

Gursoy and Kinik (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *B. bifidum* gibi probiyotik bakteriler kullanılarak üretilen Beyaz peynir örneklerinin 90 günlük depolama süresince bazı fizikokimyasal ve duyuşal özellikleri araştırılmıştır. Çalışmada, kullanılan kültürlerin Beyaz peynirlerin kimyasal bileşimi üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkide bulunmadığı ve duyuşal açıdan da tüm örneklerin panelistler tarafından kabul edilebilir olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, ilave edilen probiyotik kültürlerin peynir starter kültürlerinin gelişimi üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin bulunmadığı ve Beyaz peynirin *B. bifidum*'un gelişimi ve dağılımı için oldukça uygun bir gıda matriksi olduğu sonucuna varılmıştır.

Zomorodi *et al.* (2011), ultrafiltrasyon tekniği ile ürettikleri İran Beyaz peynirinde *L. casei* (ATCC 39392), *L. plantarum* (ATCC 8014) ve *B. bifidum* (ATCC 29521) bakterilerini mikroenkapsüle veya serbest formda kullanmışlardır. Araştırma sonuçları, mikroenkapsüle edilen probiyotiklerin serbest formda olanlara nazaran canlılıklarını daha fazla muhafaza ettiklerini göstermiştir. Bununla birlikte, bakterilerin peynirde kullanımının peynirin kimyasal kompozisyonunu etkilemediği, ancak probiyotik peynirlerin pH değerlerinin kontrole göre daha düşük olduğu görülmüştür.

Süt ürünlerinin üretiminde probiyotik özellik taşıyan birçok bakteri kullanılmakla birlikte, bunlardan *L. acidophilus* ve *B. bifidum* yaygın olarak kullanılanların başında gelmektedir (Rada and Petr 2002; Turgut 2006). Bu çalışmada Beyaz peynir üretiminde ilave kültür olarak kullanılan bu iki bakterinin genel özelliklerine aşağıda değinilmiştir.

2.1.1. *Lactobacillus acidophilus*

İlk olarak 1990 yılında Moro adlı bir araştırmacı tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilmiş olan *L. acidophilus* Gram (+), katalaz (–), spor oluşturmeyen, çubuk veya kokobasil şekilli, anaerob veya fakültatif anaerob ve hareketsiz bir bakteridir (Hammes and Vogel 1995; Gomes and Malcata 1999). Optimum gelişme sıcaklığı 35–38°C olup, 45°C'ye kadar gelişebilmekte ve 15°C'nin altında ise gelişmemektedir. Gelişimi için gerekli optimum pH aralığı ise 5,5–6,0 arasındadır ve pH 5–7 arasında da gelişim gösterebilmektedir. Homofermantatif olan bu bakteri %0,3–1,9 oranında konakçı sağlığı açısından potansiyel ve besinsel yararı olan laktik asit üretebilmektedir. Laktobasillerin gelişim ihtiyaçları oldukça komplekstir. Gelişimleri için; düşük oksijene, fermente edilebilir karbonhidratlara, proteinlere ve parçalanma ürünlerine, çok sayıda B vitamini kompleksine, nükleik asitlere, doymamış yağ asitlerine ve magnezyum, demir ve manganez gibi minerallere ihtiyaç duymaktadırlar (Marshall *et al.* 1982; Nahaisi 1986; Kurmann 1998).

L. acidophilus, mide asidi ve safra tuzlarına karşı dirençlidir ve üst gastrointestinal kanaldan geçerek ince bağırsak ve kolona ulaşmaktadır. Antibiyotiklere ve mide

bağırsak salgılarına dayanıklı olması nedeniyle bağırsakta kolayca adapte olabilmekte ve kolonize olabilmektedir. Üretmiş olduğu laktik asit vasıtasıyla kolon florasının düzenlenmesine yardımcı olmaktadır (Özden 2008). Bu bakteri, bağırsak florasını düzeltilmesi ve çeşitli bağırsak hastalıklarının tedavisi amacıyla süt ve ürünlerinde yıllardır kullanılmaktadır.

Laktik asit bakterilerinin süt ürünlerindeki önemli faydalarından birisi; patojenleri inhibe etmeleridir. Bu inhibisyon genellikle laktik asit üretimi ve pH'nın düşüşü ile gerçekleşmektedir. Bunun yanı sıra laktik asit bakterileri, organik asitler, yağ asitleri, hidrojen peroksit, bakteriosinler ve bakteriosin benzeri çeşitli antimikrobiyal maddeler üreterek de patojenlere karşı inhibitör etki gösterebilmektedirler (Gürsoy ve Kınık 2005). *L. acidophilus* asidofilin, asidolin ve laktolin adı verilen antibiyotik maddeler ve laktik asit, asetik asit gibi organik asitler üretmektedir. Böylece *E. coli* gibi Gram (–) patojen bakterilere ve diğer bağırsak patojenlerine karşı inhibitör aktivite gösterebilmektedir (Fuller 1992; Özden 2008).

L. acidophilus kullanılarak fermente süt veya yoğurt üretimi üzerine pek çok ticari uygulama mevcuttur. Bunlardan bazıları; Asidofiluslu yoğurt (Reform yoğurt), Biyoyoğurt, Asidofilus yoğurdu, Aco yoğurt ve Asidofilus bifidus yoğurt olarak isimlendirilmiş fermente süt ürünleridir. Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotik bakterilerin birçok peynir çeşidinin üretiminde de başarıyla kullanılabileceğini ortaya koymuştur. *L. acidophilus* probiyotik olarak kullanılan laktobasil türlerinin başında gelmekte ve bu bakterinin peynir üretiminde kullanımına yönelik olumlu sonuçların alındığı çalışmalar mevcuttur (Gomes *et al.* 1995; Gomes *et al.* 1998; Stanton *et al.* 1998; Vinderola *et al.* 2000; Yılmaztekin *et al.* 2004; Özer *et al.* 2009).

2.1.2. *Bifidobacterium bifidum*

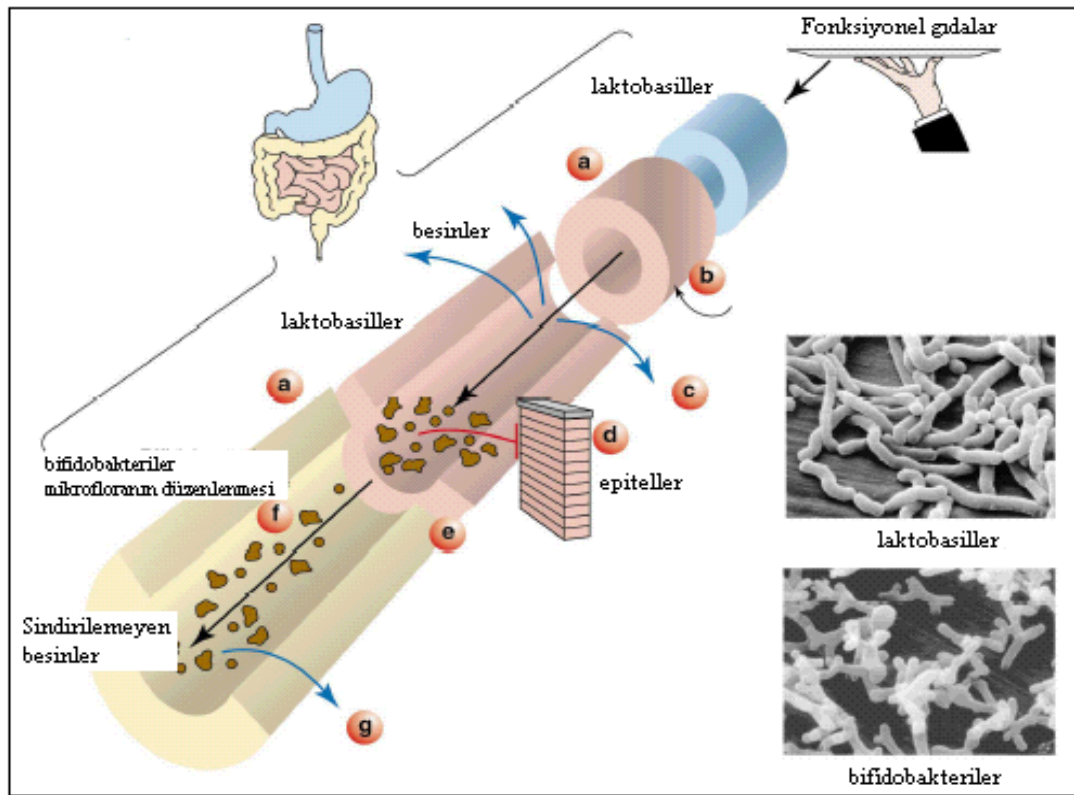
Bifidobakterler, ilk olarak 1899–1900 yılları arasında Henry Tissier adlı araştırmacı tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin dışkılarından izole ve identifiye edilmiş ve *Bacillus bifidus communis* olarak isimlendirilmiştir (Ishibashi and Shimamura 1993).

Bu bakteriler genel olarak; Gram (+), katalaz (-), spor oluşturmeyen, hareketsiz, genellikle eğri çubuklar halinde ve sıklıkla dallanmış olarak bulunan mecburi anaerobik mikroorganizmalardır.

Mikroskop altında kısa, eğimli veya tokmak şeklindeki çubuklar veya düzensiz dallanan, Y ve V şeklindeki çubuklar halinde görünürler (Gomes and Malcata 1999; Leahy *et al.* 2005). *Bifidobacterium* cinsinin 30 civarında türü mevcut olup, bunlardan *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. catenulatum*, *B. breva* ve *B. pseudocatenulatum* olmak üzere 10 kadar türü insan kaynaklıdır. Diğer türleri ise hayvan bağırsak sistemi, rumen, atık su ve fermente süttten izole edilmişlerdir. Bifidobakterler, glukozu kendilerine özgü bir yolla asetat ve laktata fermente etmeleri nedeniyle heterofermantatiftirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 37–41°C olup, 43–45°C'ye kadar gelişebilmekte ve 25–28°C'nin altında ise gelişmemektedirler. Gelişimleri için gerekli optimum pH aralığı 6,0–7,0 arasındadır ve pH 4,5–5,0 veya aşağısında ve pH 8,0–8,5 veya yukarısında ise arasında gelişimleri yavaşlamaktadır (Scardovi 1986; Gomes and Malcata 1999).

B. bifidum'un da dahil olduğu *Bifidobacterium* türleri mide asidi, pankreas salgısı ve safra tuzlarına karşı dirençli olduklarından zarar görmeden ince bağırsağa ve kolona geçebilmekte ve orada kolonize olabilmektedirler. Epitel dokuya yapışarak kolonize olabilmeleri için patojen mikroorganizmalarla yarışa girmektedirler. Bu bakteriler, en önemli fermentasyon ürünleri olarak asetik ve laktik asit üretmekte ve böylece ortam pH'sını düşürerek kolonda istenmeyen Gram (-) bakterilere karşı antagonistik etki oluşturmaktadırlar (Modler *et al.* 1990). Gastrointestinal enfeksiyonlara karşı koruyucu etki gösterirler. Bu özelliklerden dolayı Bifidobakterilerden *B. bifidum*, *B. longum*, *B. breva*, *B. infantis* bebek gaitasından izole edilerek bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır. Son yıllarda yeni *Bifidobacterium* suşları da devreye girmiş olup yeni süt ürünlerinin üretiminde kullanılmaktadır (Özden 2008). Ancak *Bifidobacterium*'lar oksijene duyarlı mikroorganizmalar olduklarından dolayı katıldıkları üründe muhafaza süresince canlılıklarını sürdürebilmeleri için anaerobik muhafaza şartlarının sağlanması gerekmektedir. Bu durum, bu bakterilerin

Lactobacillus türlerine kıyasla teknolojik olarak daha az kullanılmalarına sebep olmaktadır (Tannock 1998; Ouwehand *et al.* 2002). Probiyotik ürünler üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda, probiyotik olarak kullanılması düşünülen suşların, probiyotik kullanım açısından tüm özellikleri taşımasının yanı sıra, suşa üstünlük katacak bazı özellikleri de sahip olmasının getireceği avantajlar göz önünde tutulmaya başlanmıştır. Bu avantajlar arasında, yaşamsal faaliyetlerde önemi olan vitaminleri üretebiliyor olmaları ve serum kolesterol seviyelerinin düşürülmesindeki rolleri ve biyoaktif peptit üretmeleri gibi özellikleri yer almaktadır (Alp ve Aslım 2009). *Bifidobacterium*'ların biyoaktif peptit üretimi ile ilgili olarak; peptidazlarının süt proteinleri üzerine etkisi sonucu oluşan tripeptitlerin anjiotensin-I enzim dönüşümünü inhibe ettiği ve hücre duvarı komponentlerinin anjiotensin-I enzim inhibitörleri gibi davrandığı bildirilmektedir (Karahan ve Güvener 1999). Probiyotik bakterilerin sindirim sistemindeki fonksiyonları Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Probiyotik bakterilerin sindirim sistemindeki fonksiyonları (German *et al.* 1999; Sağdıç vd 2004)

2.2. Peynir Olgunlaşması

Peynir kalitesinin oluşumunda birçok faktör etkili olmasına rağmen ürünün karakteristik özellikleri büyük ölçüde olgunlaşma sürecinde belirlenmektedir. Peynir olgunlaşması; taze peynirlerin çeşidine özgü olarak tat, koku ve yapısal özellikler kazanabilmesi için farklı şartlar ve sürelerde depolanmalarıyla gerçekleştirilen, fiziksel, mikrobiyolojik ve enzimatik etkileşimlerle ortaya çıkan karmaşık biyokimyasal olayların toplamı olarak tanımlanmaktadır (Üçüncü 2004).

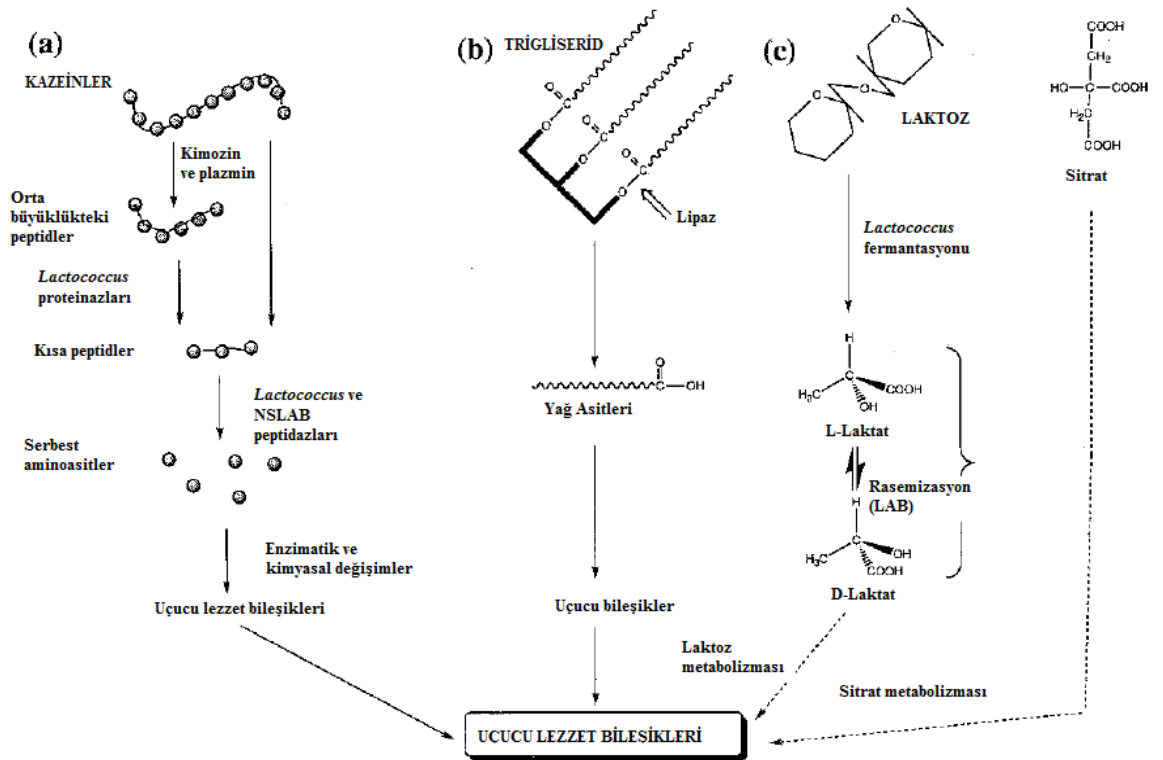
Kaliteli bir peynir elde edebilmek için; başta hammadde sütün kaliteli olması, ardından peynir yapım aşamalarının doğru uygulanması, ısıtma işlem parametrelerinin doğru seçilmesi, starter kültür ve peynir mayasının uygun olması gerekmektedir. Bunun yanı sıra, peynir çeşidine bağlı olarak elde edilen teleminin doğru işlenmesi, son ürünlerdeki su ve tuz oranının iyi bir şekilde ayarlanması şarttır (Hayaloğlu ve Özer 2011). Ancak yavan tatta, solgun renkli ve lastiksi yapıya sahip taze peynirin daha lezzetli olabilmesi ve daha düzgün tekstürel özelliklere sahip olabilmesi için zamana ihtiyaç vardır. Diğer bir ifade ile taze peynir ile olgun peynir arasında lezzet, görünüş ve reolojik özellikleri bakımından önemli farklılıklar söz konusu olup bu farklılıklar olgunlaşma süresince oluşmaktadır (Hutkins 2006). Bu yönüyle olgunlaştırma işlemi peynire apayrı nitelikler kazandırmaktadır.

Peynir olgunlaşması; ardı ardına gelişen bir dizi metabolik reaksiyonların bir sonucu olarak gelişmektedir. Bu bağlamda; sütün doğal enzimleri, kimozin ve/veya lipolitik enzimler, starter, sekonder starter veya starter olmayan bakterilerin salgıladıkları enzimler, canlı veya ölü mikroorganizmalar ve kimyasal ve fiziksel reaksiyonlar peynirin olgunlaşmasında oldukça etkilidirler (Hayaloğlu ve Özer 2011). Peynirin olgunlaşma sürecinde;

- ✓ Kalıntı laktoz, laktat ve sitrat metabolizması (Glikoliz)
- ✓ Yağ ve serbest yağ asitlerinin katabolizması (Lipoliz)
- ✓ Protein ve aminoasit katabolizması (Proteoliz)

olmak üzere başlıca 3 biyokimyasal olay meydana gelmektedir (Fox and McSweeney 1996). Sözkonusu bu olaylar sonucunda; ilk önce primer parçalanma ürünleri ortaya çıkmakta ve daha sonra da sekonder katabolizma olayları şekillenmektedir. Peynirde ortaya çıkan sekonder parçalanma reaksiyonları aminoasitlerin deaminasyonu, dekarboksilasyonu ve desülfürasyonu olup yağ asitlerinin β -oksidasyon tepkimelerini hatta esterleşme reaksiyonlarını da kapsamaktadır (Ertekin ve Seydim 2009). Beyaz peynir olgunlaşmasında peynire ait çoğu karakteristik özellik depolamanın ilk birkaç haftası ile iki aya kadar olan süre zarfında oluşmaktadır (Hayaloglu *et al.* 2002).

Glikoliz; peynirin üretim ve olgunlaşma sürecinde gerçekleşen en hızlı ve önemli biyokimyasal olaylardan biri olup birçok peynir çeşidinde tuzun inhibitör etkisiyle peynirin üretim aşamasında sonlanan bir reaksiyondur. Peynir yapımı esnasında laktozun yaklaşık %98 kadarı peyniraltı suyuyla uzaklaşır ve çok az bir miktarı pıhtıda kalır (Fox *et al.* 1993). Kalıntı laktoz bu aşamada laktik asit bakterileri tarafından laktik asit, şekerli bileşikler ve organik asitlere dönüştürülmektedir. Peynirde oluşan laktik asit; pH'nın düşmesiyle birlikte kuvvetli proteolitik ve istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi önlenerek peynirde hem koruyucu hem de kötü tat oluşumuna neden olabilecek kontrolsüz protein yıkımını önleyici etkiye sahiptir (Üçüncü 2004).



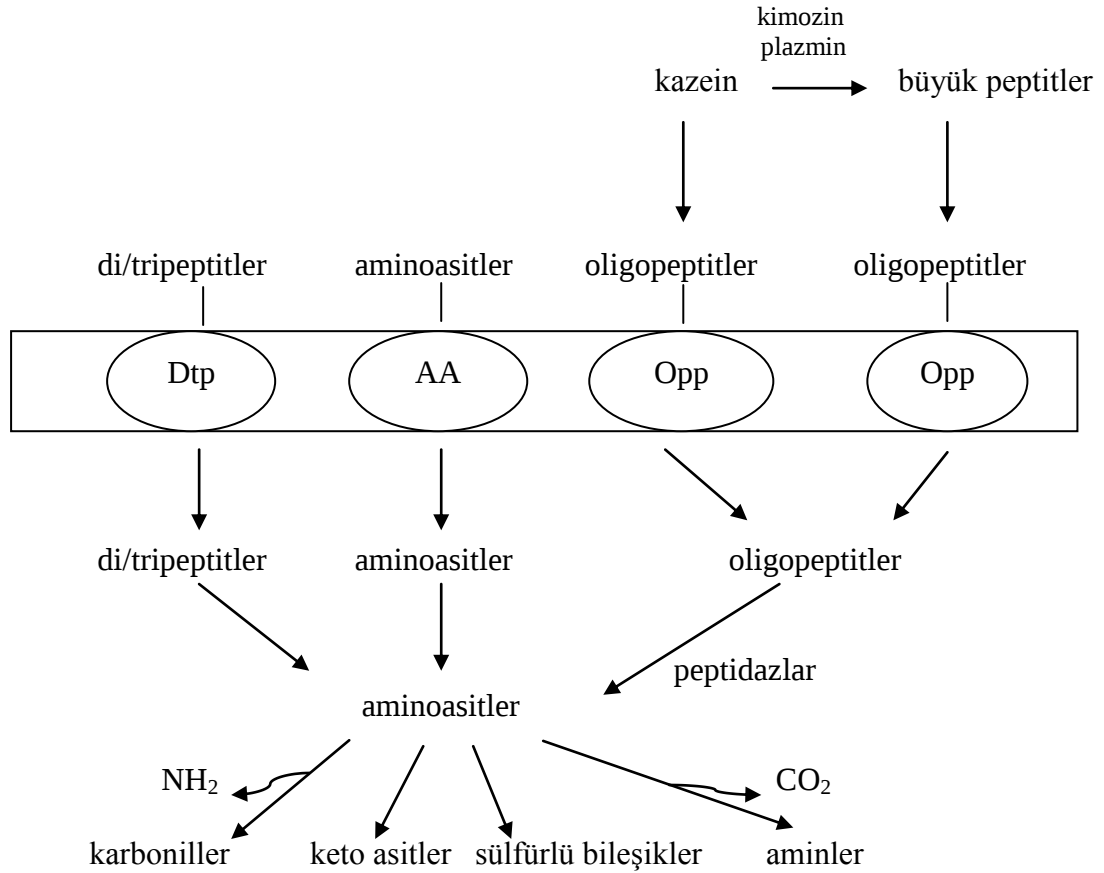
Şekil 2.2. Peynirin olgunlaşması esnasında meydana gelen biyokimyasal olaylar (McSweeney and Sousa 2000)

Lipoliz, peynirin olgunlaşması esnasında lipidlerin lipaz ve esterazlar gibi lipolitik enzimlerin etkisiyle hidrolizi sonucu gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon sonucu; yüksek konsantrasyonlarda kısa ve orta zincirli yağ asitleri açığa çıkar. Lipoliz, birçok peynirde lezzet gelişimi için gereklidir (Marilley and Casey 2004). Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde lipoliz düzeyi, üretimde kullanılan sütün orijini, süt lipazı, bakteriyel veya ilave edilen lipaz, sütün homojenizasyon ve pastörizasyonu, salamura konsantrasyonu ve olgunlaşma sıcaklığından etkilenmektedir (Abd El-Salam 1987). Genellikle Beyaz peynirde düşük düzeyde lipoliz gerçekleşmekte iken Beyaz peynir benzeri peynir olan Feta peynirinde lipoliz reaksiyonu sonucu oluşan bütirik, hekzanoik ve oktanoik asitler gibi kısa zincirli yağ asitleri peynir lezzetine katkı sağlamaktadır (Işın ve Kılıç 2002). Laktik asit bakterileri peynirde lipolize nispeten daha az katkı sağlamakta, ancak ilave kültürler özellikle de küfler, yüzey olgunlaştırılmış peynirlerde yağların parçalanmasında yüksek aktivite göstermektedirler (Çelik ve Uysal 2009).

Proteoliz; peynirin olgunlaşma sürecinde gerçekleşen başlıca biyokimyasal olay olup, peynirlerin kendine özgü tekstür, tat ve aromalarının oluşumunda önemli yer tutar (Fox *et al.* 1996). Salamurada olgunlaştırılan Beyaz peynirde proteoliz, depolama süresince devam etmekte ve tuz oranının yükselmesiyle birlikte hızı ve düzeyi azalmaktadır (Çakmakçı ve Kurt 1993; Çelik *et al.* 2005). Bu çalışmanın konusu ile yakından ilgili olduğundan peynirde gerçekleşen proteoliz olayı üzerinde ayrı bir başlık altında durulacaktır.

2.1.1. Proteoliz

Peynirde olgunlaşma esnasında gerçekleşen reaksiyonların en önemlisi olan proteoliz; süt pıhtılaştırıcı enzimler, sütün doğal proteinazları, starter ve starter olmayan mikroorganizmalar ile sekonder mikroorganizmaların salgıladıkları enzimlerin katalizlediği bir reaksiyonlar zinciri olarak ifade edilmektedir (Fox *et al.* 1994). Bu süreçte, proteolitik enzimlerden, kalıntı pıhtılaştırıcı enzim ve az da olsa plazminin etkisi ile önce yüksek moleküler ağırlıklı peptitlerden büyük ve orta molekül ağırlıklı peptitler oluşmakta ve daha sonra starter ya da starter olmayan bakterilerin salgıladıkları enzimler vasıtasıyla daha düşük molekül ağırlıklı peptitler ve serbest aminoasitler oluşmaktadır (Hayaloğlu ve Özer 2011). Serbest aminoasitlerin bir kısmı ileri proteolizin bir sonucu olarak daha sonra transaminasyon, desülfürizasyon, demetilizasyon ve dekarboksilasyon gibi enzim–katalizör reaksiyonları sonucunda diğer bileşiklere dönüşebilmektedir (Rank *et al.* 1985; Askar and Treptow 1986; Nout 1994).



Şekil 2.3. Peynir olgunlaşma sürecinde meydana gelen proteoliz olayının şematik gösterimi (Hutkins 2006)

Kazeinin parçalanma mekanizmasında rol oynayan ilk proteolitik enzim rennindir. Bu enzim ilk olarak pıhtılaşma aşamasında etkili olmakta, daha sonra enzimin büyük bir kısmı peyniraltı suyu ile uzaklaşmakta ve %0–15 kadarı peynirde kalabilmektedir (Üçüncü 2004). Rennet olgunlaşmanın ilk aşamalarında α_{s1} -kazeini hidroliz edebilmekte ve düşük düzeyde de olsa β -kazein üzerine de etki gösterebilmektedir. Ancak rennetin kazein hidrolizi sonucu çoğunlukla yüksek molekül ağırlıklı peptitler oluşmakta, düşük molekül ağırlıklı peptitler ve serbest aminoasitlerin oluşumunda rolü bulunmamaktadır. Özetle, peynir üretimi esnasında kazeinin primer proteolizi çoğunlukla rennet tarafından, sekonder proteoliz ise kazein türevlerinin küçük peptitler ve aminoasitlere dönüşümü şeklinde mikroorganizmaların salgıladığı enzimler tarafından gerçekleştirilmektedir (Visser 1993).

2.3. Süt Proteini Kaynaklı Biyoaktif Peptitler ve Peynirdeki Oluşumu

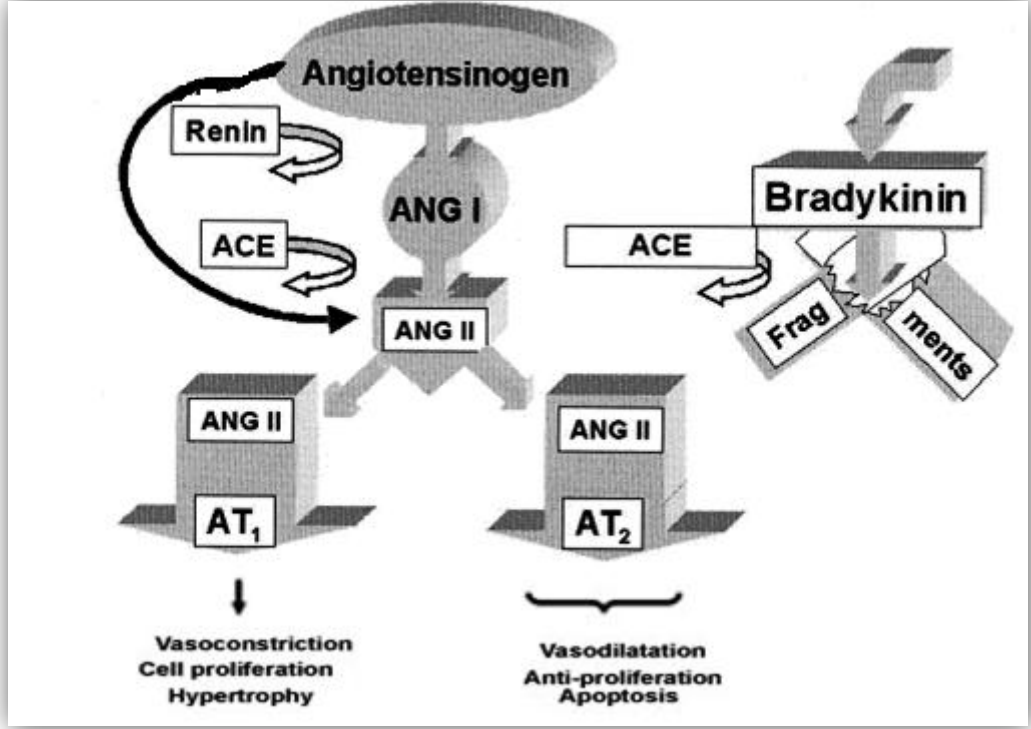
Proteinlerin vücutta fizyolojik aktif bileşikler olarak rol oynadığı bilgisi giderek kabul görmektedir. Araştırmalar, birçok gıda kaynaklı protein ve peptitlerin besin değerlerinin yanı sıra biyolojik aktivitelerinin de olduğunu ve bu proteinlerin biyolojik olarak aktif peptitlerin zengin bir kaynağını oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır (Korhonen and Pihlanto 2006; Mine and Shahidi 2006). Böyle peptitler, protein dizisi içinde inaktif halde olup sindirim enzimlerinin, proteolitik mikroorganizmaların ve mikrobiyal veya bitkisel kaynaklı enzimlerin hidrolizi sonucu açığa çıkmaktadır. Biyoaktif peptitler olarak tanımlanan bu peptitler; hormon veya ilaç benzeri aktiviteleri ile vücut fonksiyonları ve insan sağlığını olumlu yönde etkileyen spesifik protein fragmentleridir (Fitzgerald and Murray 2006). Biyoaktif peptitler genel olarak 3–20 aminoasitten oluşmakta ve bu peptitlerin biyoaktiviteleri protein zinciri üzerindeki aminoasit dizilimine bağlı olarak değişmektedir (Je *et al.* 2007; Byun *et al.* 2009). Gıda kaynaklı düşük molekül ağırlıklı biyoaktif peptitler kolayca absorbe edilebilmeleri ve sentetik ilaçlara göre daha güvenli ve sağlıklı olmaları yönüyle dikkat çekmektedirler (Sarmadi and Ismail 2010). Süt, yumurta, fasulye, mısır ve balık gibi farklı birçok gıdada bulunmasına rağmen biyoaktif peptitlerin en önemli kaynağını süt proteinleri oluşturmaktadır (Narva 2004). *In vivo* ve *in vitro* koşullarda yapılan araştırmalar, süt proteinlerinin ve bunlardan kaynaklanan peptitlerin beslenmenin yanı sıra insan sağlığı üzerinde de birçok faydası olduğunu göstermiştir. Bu peptitler antihipertansif, antitrombotik, antimikrobiyal ve antioksidatif özellikler göstermektedir (FitzGerald and Meisel 2003; Korhonen and Pihlanto 2003; Shimizu 2004). Mikrobiyal proteoliz sonucu açığa çıkan birçok biyoaktif peptidin fermente süt ürünlerinden izole ve tanımlanmıştır (Gobbetti *et al.* 2002; Matar *et al.* 2003; Korhonen and Pihlanto–Leppälä, 2001, 2004; Gobbetti *et al.* 2004). Bu çalışmaların çoğunda ADE–inhibitör veya antihipertansif, immunomodülatör, antioksidatif ve antimikrobiyal peptitlerin üretimi üzerinde durulmuştur.

2.3.1. ADE–inhibitör peptitler

Anjiotensin-I dönüştürücü enzim (ADE; EN 3.4.15.1), hücre zarının luminal yüzeyinde lokalize olmuş, glukoz ihtiva eden, yüksek mol kütesine sahip integral bir membran proteini olup kan basıncının düzenlenmesinde rol oynayan anahtar enzimlerden birisidir (Meng and Oparil 1996; Hou *et al.* 2003). Çok fonksiyonlu bir ektoenzim olan ADE vücutta farklı dokularda lokalize olmuştur ve renin–anjiotensin, kinin–kallikrein ve immün sistemleriyle ilgili bir enzimdir (Gobbetti *et al.* 2004). Renin, inaktif bir öncü olan anjiotensinojen üzerine etki etmekte ve böylece 10 aminoasitli anjiotensin–I oluşmaktadır. ADE ise anjiotensin–I’i, damar daraltıcı potansiyeli oldukça yüksek olan anjiotensin–II’ye dönüştürmektedir (Skeggs *et al.* 1956). Bununla eş zamanlı olarak ADE, damar genişletici özelliği olan 9 aminoasitli bir peptitten oluşan bradikininin de degrasyonuna neden olmaktadır (Sieber *et al.* 2010). Bu yüzden, ADE’nin inhibisyonu kan basıncını düşürücü etki ile sonuçlanmaktadır. Ancak aynı zamanda bu inhibisyon bağışıklık ve sinir sistemi gibi farklı düzenleyici sistemleri de etkileyebilmektedir (Meisel 1993). Enkefalinler, bradikinin ve P maddesi gibi vücut kökenli enzimler ADE’nin inhibitörü ve yarışmalı substratlarıdır. Şekil 2.4’te ADE enziminin renin–anjiotensin sistemdeki rolü şematik olarak gösterilmiştir.

Hipertansiyon, diğer bir ifade ile yüksek kan basıncı; miyokard enfarktüsü, kalp yetmezliği ve felç gibi hastalıkların meydana gelmesine sebep olan en önemli risk faktörlerinden birisidir. Dünya çapında erken yaşta hastalığa yakalanma ve ölüm oranlarının artmasında hipertansiyonun en önemli etkenlerin başında geldiği ifade edilmektedir (Jing *et al.* 2014). Bununla birlikte, dünyada hipertansiyon yüzünden yılda 7,5 milyon kişinin öldüğü ve bu rakamın toplam ölüm oranının %12,8’ini oluşturduğu bildirilmektedir (WHO 2012). Özellikle kardiyovasküler hastalıkların ortaya çıkışı doğrudan kan basıncıyla ilişkilidir (López–Fandiño *et al.* 2006; Haque and Chand 2008). Kan basıncı birçok biyokimyasal olayın interaksyonuyla kontrol edilmektedir. Hipertansiyonun klinik anlamda tedavisinde; damar genişleticiler, diüretikler, kalsiyum kanal bloke edicileri, anjiotensin–II reseptör bloke edicileri ve ADE inhibitörleri kullanılmaktadır. Bu maddeler; renin–anjiotensin, kinin–kallikrein, nötral endopeptidaz

ve endotelin–dönüştürücü sistem olarak da adlandırılan kan basıncı, kan akışı ve elektrolit dengeyi kontrol eden biyokimyasal yolların farklı etkileşimlerini önlemektedir (FitzGerald *et al.* 2004; López-Fandiño *et al.* 2006).



Şekil 2.4. ADE enziminin renin–anjiotensin sistemdeki rolü

ADE inhibitörleri ilk olarak yılan zehirinden elde edilmiş olup (Ondetti *et al.* 1977), daha sonraları sentetik ADE inhibitörleri üretilerek hipertansiyonun tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Dünyada 40 milyondan fazla tansiyon hastasının captopril, enalapril, alecepril ve lisinopril gibi adlarla bilinen bu sentetik ilaçlarla tedavi edildiği bildirilmektedir (Sieber *et al.* 2010). Ancak bu ilaçların düşük tansiyon, öksürük, potasyum seviyesinin artması, görme fonksiyonlarında azalma ve anjioödem gibi yan etkilere sebep olduğu da bildirilmektedir (FitzGerald *et al.* 2004). Bu nedenle, yüksek tansiyonun düşürülmesinde kullanılmak üzere gıda proteini kaynaklı doğal ADE–inhibitörleri tanımlanmıştır (Ariyoshi 1993). Bu inhibitörler, kollajen, jelatin ve kazein gibi proteinlerin enzimatik hidrolizi ile elde edilmiştir.

ADE–inhibitör peptitler, yapısal olarak genellikle 2 ila 12 aminoasitten oluşan peptitlerdir. Ancak ADE–inhibitör aktiviteye sahip 27’ye kadar aminoasit içeren bazı peptitler de tanımlanmıştır (Yamamoto *et al.* 1994; Saito *et al.* 2000; Robert *et al.* 2004). Peptitlerin ADE–inhibitör aktivite gösterebilmeleri, peptit zincirindeki aminoasit kompozisyonu ve dizilişine bağlıdır. Ayrıca, peptitlerin C–terminal veya N–terminal pozisyonundaki aminoasidi de son derece önemlidir. ADE enzimine bağlanma, substratın C–terminal bölgesi tarafından oldukça etkilenmektedir. ADE’nin substrat spesifikliğı tam olarak anlaşılmış olmamasına rağmen ADE genellikle her birinde 3 C–terminal pozisyonu olan ve hidrofobik (aromatik veya dallanmış yan zincirli) aminoasit içeren substratlar veya yarışmalı inhibitörler tercih etmektedir. Yapılan çalışmalarda ADE–inhibisyonunda triptofan, tirozin, fenilalanin veya prolin kalıntılarının enzime bağlanmanın artırılmasında oldukça etkili oldukları bildirilmektedir (Cheung *et al.* 1980; Gobetti *et al.* 2004). Konuyla ilgili olarak yapılan başka bir çalışmada, β –kazein’nin mikrobiyal bir enzimle parçalanmasıyla elde edilen ADE–inhibitör aktiviteye sahip bir biyoaktif peptit zinciri 7 aminoasitten oluşmaktadır (Lys–Val–Leu–Pro–Val–Pro–Gln). Bu peptit kuvvetli bir ADE–inhibitörü aktivitesi göstermezken peptit zincirinden glisin (Gln) aminoasidi uzaklaştırıldığında 6 aminoasit içeren peptidin kuvvetli ADE–inhibitörü olarak aktivite gösterdiği bildirilmektedir. Bu durum, 6 aminoasitten oluşan peptidin C–terminal ucundaki prolin aminoasidinin ve aminoasit zincirinin ADE inhibisyonu için önemli olduğu şeklinde açıklanmıştır (Maeno *et al.* 1996). Prolin ve hidroksoprolin içeren peptitler genellikle sindirim enzimlerine karşı dirençli olmaları sebebiyle önem taşımaktadırlar (FitzGerald and Meisel 2000). Bu peptitler hücreler arası yolla bozulmadan bağırsaktan absorbe edilebilmekte, fakat absorpsiyon sonrası peptidin biyoaktivite gücü zincir uzunluğu ile ters ilişkili olmaktadır (Vermeirssen *et al.* 2002).

Gıda proteini kaynaklı ve C–terminal bölgesinde prolin ihtiva eden çok sayıda ADE–inhibitörleri tespit edilmiştir (FitzGerald *et al.* 2004). Meira *et al.* (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, Rokfor peynirinin suda çözünür kısmından identifiye edilen biyoaktif peptitlerin tümünün en az 1 prolin kalıntısı içerdiği belirlenmiştir. Süt proteinleri ADE’yi inhibe eden birçok peptidin öncüsü olup (Meisel 1993; Takano

1998; FitzGerald and Meisel 1999), kazein türevli inhibitörlere “kazokininler”, peyniraltı suyu türevli inhibitörlere ise “laktokininler” adı verilmektedir (FitzGerald and Meisel 1999). En etkili kazokininler olarak bilinen izölösil–prolil–prolin (İle–Pro–Pro, IPP) ve valil–prolil–prolin (Val–Pro–Pro,VPP) tripeptitleri son yıllarda tansiyon düşürücü etkileri nedeniyle süt kaynaklı peptitler olarak büyük ilgi görmektedir (Sieber *et al.* 2010). Yüksek tansiyonlu sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre; uzun süreli süt ürünleri tüketiminin kan basıncını düşürücü etki yaptığı ve sıçanları 14 hafta boyunca IPP ve VPP içeren fermente süt ile beslemenin kan basıncını sırasıyla 28,3 ve 32,1 mmHg’ye kadar düşürebildiği tespit edilmiştir (Nakamura *et al.* 1995). Başka bir çalışmada ise yüksek tansiyonlu sıçanları fermente süt ile beslemenin kan basıncı üzerine etkisinin saf tripeptitlerle beslemeye göre daha etkili olduğu belirlenmiştir. Bu durumun sütün bileşimindeki kalsiyum, potasyum ve magnezyum gibi minerallerin IPP ve VPP’nin antihipertansif etkilerini güçlendirmesi sebebiyle olabileceği ifade edilmiştir (Jauhiainen *et al.* 2005). Yoğurt, ekşi süt, dahi, kuark ve farklı tip peynirler olmak üzere birçok geleneksel fermente süt ürününden biyoaktif peptitler saflaştırılmış ve tanımlanmıştır. Çizelge 2.1’de farklı fermente süt ürünlerinde tespit edilen biyoaktif peptitlere örnekler verilmiştir.

Çoğu peptidin ADE–inhibitör özellikleri *in vitro* çalışmalarla ortaya konulmuş olup insanlar açısından yararlı antihipertansif etkilerinin kanıtı ise hayvan deneylerine ve klinik çalışmalara dayandırılmaktadır (Martínez–Maqueda *et al.* 2012). ADE–inhibitör peptitlerin antihipertansif etkilerinin ortaya konulmasında yüksek tansiyonlu sıçanların kullanılması oldukça yaygındır. Çünkü bu sıçanların sistolik kan basınçları 230 mmHg’ya kadar yükselebilmekte ve bu da peptitlerin *in vivo* olarak etkilerinin belirlenmesinde çok güçlü bir araç olmaktadır (Wakai and Yamamoto 2012). Bugüne kadar sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda sütün, antihipertansif etkili ADE–inhibitör peptitlerin ana kaynağı olduğu bildirilmiştir ve kazein kaynaklı peptitlerin yüksek tansiyonlu sıçanlarda antihipertansif etkinin oluşmasında başlıca rolü oynadığı belirlenmiştir (Martínez–Maqueda *et al.* 2012).

Çizelge 2.1. Fermente süt ürünlerinde tanımlanan biyoaktif peptitler (Korhonen 2009)

Süt ürünü	Tanımlanan biyoaktif peptitler	Biyoaktivite	Referans
Peynir tipi			
Çedar	α_{s1} ve β -kazein fragmentleri	Farklı fosfopeptitler	Singh <i>et al.</i> (1997)
<u>İtalyan peynirleri:</u> Mozzarella, İtalico, Gorgonzola	β -kazein f(58–72)	ADE–inhibitör	Smacchi and Gobbetti (1998)
Gouda	α_{s1} - kazein f(1–9) β -kazein f(60–68)	ADE–inhibitör	Saito <i>et al.</i> (2000)
Festivo	α_{s1} - kazein f(1–9), f(1–7), f(1–6)	ADE–inhibitör	Ryhänen <i>et al.</i> (2001)
Emmental	α_{s1} ve β -kazein fragmentleri	İmmunostümlatör, farklı fosfopetitler, antimikrobiyal	Gagnaire <i>et al.</i> (2001)
Manchego (koyun sütünden)	α_{s1} ve β -kazein fragmentleri	ADE–inhibitör	Gómez–Ruiz <i>et al.</i> (2002)
Toplam 44 adet sert, yarı–sert ve yumuşak peynir örneği	Val–Pro–Pro, Ile–Pro–Pro	ADE–inhibitör	Bütikofer <i>et al.</i> (2007)
Çedar	α_{s1} - kazein f(1–9), f(1–7), f(1–6), f(24–32), f(102–110), β -kazein f(47–52),f(193–209)	ADE–inhibitör	Ong <i>et al.</i> (2007)
Fermente süt tipi			
Ekşi süt	β -kazein f(74–76), f(84–86) κ -kazein f(108–111)	Antihipertansif	Nakamura <i>et al.</i> (1995)
Dahi	Ser–Lys–Val–Tyr–Pro	ADE–inhibitör	Ashar and Chand (2004)
Yoğurt (koyun sütünden)	Aktif peptitler tanımlanmadı	ADE–inhibitör	Chobert <i>et al.</i> (2005)
Kefir (keçi sütünden)	PYVRYL, LVYPFTGPIPN	ADE–inhibitör	Quiroś <i>et al.</i> (2005)
Fermente süt (probiyotik ve süt starter kültürleri ile üretilmiş)	Aktif peptitler tanımlanmadı	ADE–inhibitör	Donkor <i>et al.</i> (2007)
Uruguay ve Brezilya peynirleri (koyun sütünden)	α_{s1} , α_{s2} ve β -kazein fragmentleri	ADE–inhibitör, antioksidan	Meira <i>et al.</i> (2012)

Japonya’da yapılan bir çalışmada, *Lactobacillus helveticus* ve *Saccharomyces cerevisiae* ile fermente edilen ve içerisinde IPP ve VPP bulunduran ekşi sütün hipertansiyon hastaları üzerindeki tansiyon düşürücü etkisi araştırılmıştır. Hastalar random olarak iki gruba ayrılmış ve birinci gruba 8 hafta boyunca günlük 95 mL (3,4 mg IPP ve VPP içeren) bu süttten verilmiş, diğer gruba ise aynı süreyle aynı miktarda yapay olarak asitlendirilmiş süttten verilmiştir. Çalışma sonucunda 4. ve 8. haftalar arasında fermente süt içirilen hastaların kan basınçlarında önemli düzeyde azalma tespit edilirken, kontrol grubundaki hastaların kan basınçlarında herhangi bir azalma belirlenmemiştir (Hata *et al.* 1996). Bu IPP ve VPP içeren ekşi süt Japonya’da Calpis® ticari adıyla üretilip satılmaktadır. Benzer çalışmalarda elde edilen olumlu sonuçlar neticesinde tansiyon düşürücü özelliği bulunan ticari süt ürünleri ve ingredientleri mevcut olup dünyanın çeşitli ülkelerinde satışa sunulmaktadır. Çizelge 2.2’de bu ürünlere örnekler sunulmuştur.

Çizelge 2.2. Antihipertansif peptitler içeren ticari süt ürünleri ve ingredientleri (Haque and Chand 2008)

Ticari adı	Ürün tipi	İddia edilen fonksiyonel biyoaktif peptitler	Sağlık üzerine iddia edilen etkisi	Üreticiler
Calpis	Ekşi süt	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro, (β -kazein κ -kazein kazeinden türetilmiş)	Kan basıncını düşürme	Calpis Co., Japonya
Evolus	Kalsiyumla zenginleştirilmiş fermente süt içeceği	Val-Pro-Pro, Ile-Pro-Pro, (β -kazein κ -kazein kazeinden türetilmiş)	Kan basıncını düşürme	Valio Oy, Finlandiya
Biozate	Hidrolize peyniraltı suyu protein izolatu	β -laktoglobulin fragmentleri	Kan basıncını düşürme	MTT Agrifood Res, Finlandiya
Festivo	Fermente düşük yağlı sert peynir	α_{s1} -kazein f(1-9), f(1-7), f(1-6)	Kan basıncını düşürme	Davisco, ABD
C12	İngredient/hidrolizat	α_{s1} -kazein f(23-34)	Kan basıncını düşürme	DMV Int., Hollanda
Casein DP	Kazein hidrolizatı	α_{s1} -kazein f(23-34)	Kan basıncını düşürme	Kanebo

Yapılan literatür taramasında, süt ve süt ürünlerinde ADE-inhibitör peptitleri konu alan çok sayıda araştırmaya rastlanmış olup probiyotik peynirlerde de ADE-inhibitör peptitlerin araştırılmasına yönelik çalışma sayısının giderek arttığı görülmüştür.

Aşağıda, probiyotik peynirlerde bu konu ile ilgili yapılmış birkaç çalışma kısaca özetlenmiştir.

Ryhänen *et al.* (2001), *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. kullanarak ürettikleri düşük yağlı Festivo peynirlerinin 13 haftalık depolama süresince bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşsal özellikleri ile biyoaktif peptitlerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, olgun peynirlerin potansiyel antihipertansif etkileri olan biyoaktif peptitler içerdiğini belirlemişlerdir.

Ong and Shah (2008), starter Laktokoklar ve *B. longum* 1941, *B. animalis* subsp. *lactis* LAFTI-B94, *L. casei* 279, *L. casei* LAFTI-L26, *L. acidophilus* 4962, *L. acidophilus* LAFTI-L10 probiyotik bakteri suşlarını kullanarak ürettikleri Çedar peynirlerinde 24 haftalık depolama süresince ADE-inhibitör aktiviteyi ve ADE-inhibitör peptitleri belirlemişlerdir. Araştırmacılar, ADE-inhibitör aktivitenin depolamanın 24. haftasında en yüksek seviyeye ulaştığını ve *L. casei* 279, *L. casei* LAFTI-L26 ve *L. acidophilus* LAFTI-L10 kültürleriyle üretilen peynirlerde diğer peynirlere nazaran önemli derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca, ADE-inhibitör peptitleri κ -kazein f(96-102), α_{s1} -kazein f(1-9), α_{s1} -kazein f(1-7), α_{s1} -kazein f(1-6), α_{s1} -kazein f(24-32) ve β -kazein f(193-209) olarak tanımlamışlardır.

Lignitto *et al.* (2010), 2 farklı şekilde ürettikleri Asiago peynirlerinde 18 aylık olgunlaşma süresince ADE-inhibitör aktiviteyi ve ADE-inhibitör peptitleri incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, farklı üretim proseslerinin ADE-inhibitör aktiviteyi etkilemediğini, buna karşın 6 ay olgunlaştırılmış peynirlerde aktivitenin en yüksek olduğunu ve molekül ağırlığı 3 kDa'dan küçük olan peptitlerin aktiveyi önemli derece artırdığını ortaya koymuşlardır.

Madureira *et al.* (2013), *B. animalis*, *L. acidophilus* and *L. casei* probiyotik kültürlerini kullanarak ürettikleri peyniraltı suyu peynirlerinde molekül ağırlığı 3 kDa'dan düşük olan peptitlerin ADE-inhibitör aktivitelerinin oldukça yüksek olduğunu tespit

etmişlerdir. Bu anlamda kullanılan probiyotik kültürlerden en etkili olanın ise *L. casei* olduğunu belirlemişlerdir.

Ülkemiz açısından gıdalarda ADE–inhibitör peptitlerin çalışılması konusu oldukça yenidir. Konu ile ilgili olarak, bozada (Kancabaş and Karakaya 2011), kurubaklagillerde (Akıllıoğlu 2009), kefirde (Kanbak *et al.* 2013), yoğurtta (Unal and Akalın 2012) ve Beyaz peynirde (Şahingil 2012) olmak üzere sadece birkaç çalışmaya rastlanmıştır.

Şahingil (2012) tarafından yapılan çalışmada, bazı *Lactococcus* spp. cinsi starter bakteriler ile *Lactobacillus* spp. cinsi yardımcı kültür bakteri kombinasyonları kullanılarak Beyaz peynir üretilmiş ve üretilen peynirler iki farklı sıcaklıkta (6°C ve 12°C) 120 gün süre ile olgunlaştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre, yardımcı kültür kullanımının peynirin fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel, duyusal özellikleri ile aroma oluşumu üzerine ve ADE–inhibitör aktivitesi üzerine önemli düzeyde etkili olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, olgunlaşma süresi ilerledikçe her iki depolama sıcaklığında peynirlerin ADE–inhibisyon aktivitesinde artış olduğu saptanmıştır.

2.3.2. Antioksidatif peptitler

Süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit ve peroksit radikali gibi bazı reaktif oksijen türlerinin ve serbest radikal merkezli reaksiyonların sadece gıdalarda değil aynı zamanda canlılarda da oksidatif hasara sebep oldukları bilinmektedir (Liu *et al.* 2005). İnsan vücudu için oksidatif reaksiyonlar, hücrelerin canlılığının devamı için gerekli olmasına rağmen bu reaksiyonlar sonucu oluşan serbest radikaller vücutta bir takım tahribatlara yol açmaktadır. Aşırı serbest radikal oluşumu sonucu; süperoksit dismutaz, katalaz ve peroksidaz gibi koruyucu enzimler zarar görmekte ve membran lipidleri, DNA, proteinler ve enzimler okside olarak yıkıcı hücresel etkiler meydana gelmektedir (Pihlanto 2006). Hücresel yapılar ve fonksiyonel moleküllerin (örn., DNA, proteinler ve lipidler) oksidatif hasara uğraması yaşlanma, kanser, diyabet, kalp–damar hastalığı, Alzheimer hastalığı gibi hastalıklara ve nörodejeneratif bozukluklara yol açabilmektedir (Finkel and Holbrook 2000).

Gıdalarda meydana gelen lipid peroksidasyonu gıdada acı lezzet ve istenmeyen kokuların oluşumuna ve gıdanın raf ömrünün kısılmasına sebep olmaktadır. Ayrıca, peroksidasyon sonucu oluşan lipid peroksitleri ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler belli yaş hastalıklarının oluşumunda da rol oynamaktadır (Pihlanto 2006). Gıda bozulmalarının önüne geçilmesi ve insan vücudunun ciddi hastalıklara karşı korunması için lipid peroksidasyonunun ve serbest radikal oluşumunun önlenmesi gerekmektedir. Lipid oksidasyonu antioksidatif ajanlarla önlenabilmektedir. Antioksidanlar, oksidasyon mekanizmasındaki serbest radikalleri yakalayarak veya bu radikallerin oluşumunu önleyerek fonksiyon gören maddelerdir. Yapay antioksidanlar (BHA, BHT ve n-propil galat gibi) birçok oksidasyon sistemine karşı oldukça güçlü etkiye sahiptirler (Chen *et al.* 1992). Ancak bu antioksidanların insan sağlığı açısından potansiyel risk taşımaları nedeniyle bazı ülkelerde kullanımları sınırlandırılmış veya yasaklanmıştır. Bu nedenle doğal kaynaklardan elde edilen daha güvenli antioksidanlar üzerinde çalışılmaktadır. Doğal antioksidanlar olarak bilinen rosmarinik asit, kateşin, tokoferoller, askorbat ve çeşitli bitki kaynaklı fenolik ekstraktlar işlenmiş gıdalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu geleneksel kaynakların yanı sıra farklı doğal antioksidanların varlığı üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda bitki veya hayvansal kaynaklı bazı gıda protein hidrolizatlarının özellikle de sindirim enzimlerinin etkisiyle parçalanarak oluşan bazı peptitlerin antioksidan aktivite gösterdikleri bildirilmektedir (Okada and Okada 1998; Xue *et al.* 2009). Bu anlamda, süt proteinlerinden elde edilmiş antioksidan aktiviteye sahip peptitler son yıllarda giderek önem kazanmaktadır.

Süt, içerdiği değerli makro ve mikro bileşenlerinin ötesinde kazein, serum proteinleri, vitaminler (A ve E vitamini gibi), β -karoten ve bazı enzimatik sistemler gibi antioksidatif bileşenleri de yapısında bulundurmaktadır (Lindmark–Mansson and Akesson 2000). Serum proteinleri, kazein ve diğer süt proteinleri biyoaktif peptitlerin mükemmel öncüleridir (Haque *et al.* 2009). Süt fermentasyonu veya enzimatik sindirim, süt proteinlerinden antioksidatif peptitlerin ortaya çıkışında önemli bir role sahiptir (Power *et al.* 2013). Hidrolize olmamış kazein serbest aminoasitlere nispeten, enzimatik parçalanma sonucu oluşan kazein türevli peptitler ise hidrolize olmamış kazeine nispeten daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Laakso 1984). Konu ile ilgili

olarak yapılan bir araştırmada, tripsin enziminin etkisiyle kazeinin triptik sindirimi sonucu oluşan β -kazein fragmentlerinin linoleik asit oksidasyonunu önemli derecede engellediği tespit edilmiştir (Rival *et al.* 2001). Oluşan bu peptit fragmentlerinin antioksidan etkisinin parçalanmamış β -kazein'e göre oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durumun, peptitlerin yapısında bulunan metiyonin, arginin, tirozin ve prolin gibi spesifik amioasit kalıntıları ile ilgili olduğu vurgulanmıştır. Buna ilaveten, süt proteinleri ve hidrolizatlarının muhtemel antioksidatif etkilerinin sindirim sonucu açığa çıkan prolin, histidin, tirozin veya triptofan gibi hidrofobik aminoasitlerden kaynaklandığı bildirilmektedir (Pihlanto 2006). Ayrıca, His-His dipeptidinin N-terminal bölgesine lösın ya da prolin eklenmesinin antioksidan aktiviteyi arttırdığı ve BHT ve BHA gibi peptit olmayan antioksidanlarla sinerji oluşturduğu belirtilmektedir (Hartmann and Meisel 2007).

Sütteki kazein, lipid otooksidasyonunu katalizleyen lipoksigenaz enzimini inhibe etmektedir (Rival *et al.* 2001). Bununla birlikte, kazein ve kazeinin sulu fazdaki peptitleri lipid oksidasyonunun kontrolünde metalleri bağlayarak doğal çelat kaynağı olabilmektedirler (Pihlanto 2006). Lipid oksidasyonunun engellenmesinde eşit fosfor içeriğine sahip fosfokazeinat peptitleri ile zenginleştirilmiş kazein hidrolizatlarının daha etkili inhibitörler olduğu savunulmaktadır. Kazeinofosfopeptitlerin antioksidan özellikleri, peptitlerin fosfoseril gruplarının yalnızca metallerle çelat yapmalarına değil, aynı zamanda serbest radikalleri yakalamalarına da atfedilmektedir (Diaz *et al.* 2003). Ancak yine de peptitlerin antioksidan mekanizması tam olarak anlaşılmış değildir (Pihlanto 2006).

Son yıllarda oksidatif DNA hasarı, kanser ve diğer hastalıklara karşı etkili olabilecek farklı parametrelerin bulunmasına yönelik çalışmalar yapılmaktadır. Fermente süt ürünlerinin antioksidatif özelliklerini araştırmaya yönelik yapılmış bir çalışmada, laktik asit bakterilerinin, serum proteinlerinin ve özellikle β -laktoglobulinin bir dereceye kadar antiperoksidatif etki gösterdiği saptanmıştır. Süt kaynaklı fizyolojik olarak aktif peptitlerin düzenli bir diyetle alındıklarında hastalıkların önlenmesi, kontrolü ve hatta tedavi edilmesine yardımcı olabilecekleri bildirilmiştir (Zommara *et al.* 1998).

Yapılan literatür tarama sonucuna göre, süt protein hidrolizatlarında ve süt ve ürünlerinde antioksidatif peptitlerin araştırıldığı çok sayıda çalışmaya rastlanmıştır olup, peynirde ve özellikle probiyotik peynirde oluşan antioksidatif peptitlerle ilgili çalışma sayısının ise oldukça sınırlı olduğu görülmüştür. Ülkemizde ise yalnızca süt serum proteinlerinin (Velioğlu Öğünç ve Yalçın 2011) ve yoğurtta oluşan peptitlerin antioksidan aktivitelerinin (Şanlıdere Aloğlu and Öner 2011; Unal and Akalın 2012) araştırıldığı çalışmalara rastlanmıştır. Aşağıda probiyotik peynirlerde antioksidatif peptitlerin konu alındığı birkaç çalışmaya değinilmiştir.

Songisepp *et al.* (2004)'in probiyotik peynirde toplam antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteyi araştırdıkları çalışmada, kullanılan probiyotik suşun (*L. fermentum* ME-3) peynir üretimi sırasında uygulanan teknolojik işlemlere karşı canlılığını sürdürdüğünü tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, araştırmacılar bu suşun peynirin olgunlaşması süresince yüksek antioksidan aktivite oluşumunu devam ettirdiğini ve antioksidan aktivitenin olgunlaşma süresince giderek arttığını belirlemişlerdir.

Gupta *et al.* (2009), peynir starter kültürlerine ilave olarak *L. casei* ssp. *casei* 300 ve *L. paracasei* ssp. *paracasei* 22 kültürleriyle ürettikleri Çedar peynirlerinde 4 aylık depolama süresince oluşan antioksidatif peptitleri incelemişlerdir. Depolama sonunda *Lactobacillus casei* ssp. *casei* 300'nin antioksidatif aktiviteyi artırdığı ve tüm örneklerde antioksidatif aktivitenin çözünür peptitlerin oluşumuna bağlı olduğu sonucuna varmışlardır.

Bottesini *et al.* (2013) tarafından yapılan çalışmada, bir çeşit İtalyan peyniri olan Parmigiano-Reggiano peynirinde farklı olgunlaştırma zamanlarında suda çözünür ekstraktın antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, suda çözünür ekstraktın antioksidan aktivitesinin başlıca tirozin, metiyonin ve triptofan gibi serbest aminoasitlerden kaynaklandığı, ancak olgunlaşma süresi ve gastrointestinal sindirimden etkilenmediği tespit edilmiştir.

2.3.3. Antimikrobiyal peptitler

Sütün antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu yıllardır yaygın olarak bilinen bir gerçektir (Haque and Chand 2008). 1930 yılında, sütün bazı streptokok bakterilerinin gelişimini yavaşlatan aktif inhibitörler içerdiği bildirilmiştir (Jones and Simms 1930). Sütün antimikrobiyal etkisi genel olarak immunoglobulinler ile laktoferrin, laktoperoksidaz ve lizozim gibi immun olmayan proteinlere atfedilmektedir (Pakkanen and Aalto 1997). Bununla birlikte, adı geçen proteinlerin ve diğer süt proteinlerinin parçalanmasıyla ortaya çıkan biyoaktif peptitlerin de antimikrobiyal aktivitesi bulunmaktadır (Donagh *et al.* 1999; Hoer and Bostwick 2000). Bunlar süt kaynaklı antimikrobiyal peptitler olarak bilinmektedir.

Antimikrobiyal peptitler; özellikle akciğer ve ince bağırsak gibi mukozayla kaplı yüzeylerde bulunan epitelyum hücreler ve fagositik hücreler tarafından, potansiyel patojenlere karşı düşük enerjiyle sürekli olarak sentezlenen bileşiklerdir (Gobbetti *et al.* 2004). Depo edildiği yerlerde hazır bekleyen bu peptitler, enfeksiyondan hemen sonra yüksek miktarlara ulaşarak ve birbirleri ile ya da lizozim, laktoferrin gibi konağa ait diğer doğal savunma faktörleriyle ve çeşitli antibiyotiklerle de sinerjistik etki meydana getirerek birçok mikroorganizmanın çoğalmasını hızla inhibe etmektedirler (Kılıç 2010). Antimikrobiyal peptitler, hidrofobik ve hidrofilik kısımları olan 12–50 aminoasitten oluşan pozitif yüklü moleküllerdir. Bu özellikler, moleküllerin su içeren ortamlarda çözünmesini ve lipid bakımından zengin membranlara girebilmesini sağlamaktadır (Hancock and Diamond 2000).

Son yıllarda süt proteinlerinin primer yapısında kodlanan çok sayıda antibakteriyel peptit tanımlanmıştır (Gobbetti *et al.* 2004). Çizelge 2.3'te süt proteinleri kaynaklı antimikrobiyal peptitlere örnekler verilmiştir.

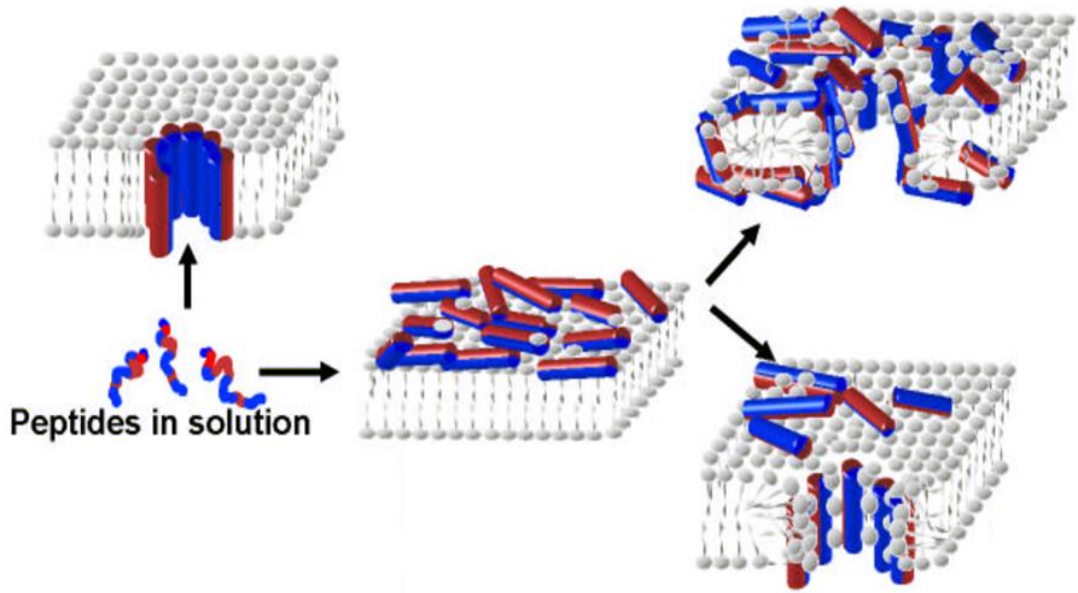
Çizelge 2.3. Süt protein kaynaklı antimikrobiyal peptitler (Gobbetti *et al.* 2004)

Peptidin adı	Fragmenti	Anitmikrobiyal aktivitesi	Enzim veya orijini	Referans
Laktenin	Bilinmiyor	Patojenik Streptokoklar	İnek sütü, rennet	Jones and Simms (1930)
Kazesidinler	κ - ve α_{s1} -kazein kaynaklı birkaç fragment	<i>S. aureus</i> 'un patojenik suşları ve laktobasiller	Kimozin veya ısı uygulaması	Lahov <i>et al.</i> (1971)
İsrasidin	α_{s1} -kazein f(1-23)	Birkaç mikroorganizma	Kimozin	Hill <i>et al.</i> (1974) Lahov and Regelson (1996)
Kazosidin-I	α_{s2} -kazein f(150-188)	<i>S. carnosus</i> <i>E. coli</i>	Kaynatma ve asidifikasyon	Zucht <i>et al.</i> (1995)
İsimsiz	α_{s2} -kazein f(164-179)	Bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Pepsin	Recio and Visser (1999)
İsimsiz	α_{s2} -kazein f(183-207)	Bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Pepsin	Recio and Visser (1999)
İsimsiz	Anne sütü β -kazeini f(184-210)	Bazı Gram (+) bakteriler ve <i>E. coli</i>	<i>L. helveticus</i> PR4proteinaz	Minervini <i>et al.</i> (2003)
Kappasin	κ -kazein f(106-169)	<i>Streptococcus mutans</i> <i>Porphyromonas gingivalis</i> ve <i>E. coli</i>	Kimozin	Malkoski <i>et al.</i> (2001)
İsimsiz	Anne sütü κ -kazeini f(43-97)	<i>S. carnosus</i> <i>E. coli</i>	Pepsin	Liepke <i>et al.</i> (2001)
İsimsiz	α -laktalbumin f(1-5)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (1999)
İsimsiz	α -laktalbumin f(17-31)S-S(109-114)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (1999)
İsimsiz	α -laktalbumin f(61-68)S-S(75-80)	Bazı Gram (+) bakteriler	Kimotripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (1999)
İsimsiz	β -laktoglobulin f(15-20)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (2001)
İsimsiz	β -laktoglobulin f(25-40)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (2001)
İsimsiz	β -laktoglobulin f(78-83)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (2001)
İsimsiz	β -laktoglobulin f(92-100)	Bazı Gram (+) bakteriler	Tripsin	Pellegrini <i>et al.</i> (2001)
Laktoferrisin-B	Laktoferrin f(17-41/42)	Bazı Gram (+) ve Gram (-) bakteriler	Pepsin veya kimoziin	Bellamy <i>et al.</i> (1992); Jones <i>et al.</i> (1994); Recio and Visser (1999)

Sütün rennet ile muamelesinden sonra elde edilmiş ve “laktenin” olarak isimlendirilmiş peptidin süt kaynaklı ilk antibakteriyal peptit olduğu düşünülmektedir. Bu peptidin sindirim enzimlerine karşı dirençli olduğu ve streptokokların gelişimini inhibe ettiği bildirilmiş olup, bu inhibisyonun sebebi aydınlatılamamıştır (Jones and Simms 1930). Kazeinin hidrolizi sonucu açığa çıkan “kazesidinler” adlı antibakteriyal peptitler ise bir grup glikozillenmiş ve molekül ağırlığı yüksek (~5 kDa) polipeptitlerdir. Bu peptitlerin laktobasiller ve *S. aureus*, *B. subtilis*, *Diplococcus pneumonia* gibi patojen bakterilere karşı bakterisidal etki gösterdikleri tespit edilmiştir (Lahov *et al.* 1971). α_{s1} -kazeinin kimozi ile hidrolizi sonucu elde edilen “israsidin” adı verilen bir diğer antimikrobiyal peptit ise α_{s1} -kazeinin N-terminal f(1–23) fraksiyonudur. Bu fraksiyonun *in vitro* koşullarda laktobasiller ve diğer Gram (+) bakterilere karşı yüksek konsantrasyonları kullanıldığında (0,1–1,0 mg/mL) antibakteriyal etki gösterdiği belirlenmiştir. *In vivo* koşullarda fareler üzerinde yapılan deneylerde ise fare başına 10 µg gibi düşük bir dozda verildiğinde *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *L. monocytogenes* gibi patojenlere karşı güçlü bir koruyucu etki ortaya koyduğu görülmüştür (Hill *et al.* 1974). α_{s2} -kazein kaynaklı “kazosidin-I” adlı antibakteriyal peptit de bazı Gram (+) (*S. carnosus*) ve Gram (–) (*E. coli*) bakterilere karşı inhibitör etki göstermiştir (Zucht *et al.* (1995). Bunlar gibi pek çok süt kaynaklı antimikrobiyal peptit tespit edilmiştir (Çizelge 2.3).

Çoğu antibakteriyal protein veya peptit; protein hücre spesifikliği olan kanal membranlar oluşturarak hücre membranını tahrip edici özellik göstermekte ve böylece mikroorganizmaların membranları ile etkileşime girerek onlara karşı antibakteriyal etki göstermektedir (Gobbetti *et al.* 2004). Mikroorganizmaların membranlarıyla girdikleri bu etkileşimlerle, hücrenin dengesini bozarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Ancak spesifik membran proteinlerinin veya oksidatif stres proteinlerinin sentezinin durdurulması, DNA sentezinin durdurulması, DNA ile etkileşim, hidrojen peroksit oluşumu, ökaryotik hücrelerde apoptozu tetikleme veya bakteriyal hedeflerde otolizi tetikleme gibi farklı etki mekanizmaları da öne sürülmektedir (De Smet and Contreras 2005). Gram (+) ve Gram (–) bakterilerin membran kompozisyonlarındaki farklılıklar da antibakteriyal bileşiklerin aktivite şekillerini ve bakteriyal spesifikliğini etkilemektedir (Floris *et al.* 2003). Antibakteriyal peptitlerin pozitif net yük özelliği

sayesinde peptide negatif yüklü bakteriyal membran arasında etkileşim olduğu ve belli bir hidrofobik karaktere sahip olmalarının bu peptitlerin membran içine girmelerine izin verdiği ileri sürülmektedir (Wieprecht *et al.* 1997). Antibakteriyal peptitlerin yapısal olarak karşılaştırılması sonucu; anne sütü kaynaklı β -kazein f(184–210) ile israsidin ve laktoferrinin benzer uzunlukta oldukları (26 aminoasit), polar olmayan hidrofobik kalıntı içeriklerinin yüksek olduğu (26 aminoasitten 15'i) ve bazı C-terminal'e çok yakın bölgelerde prolin kalıntılarının bulunduğu bildirilmektedir (Gobbetti *et al.* 2004).



Şekil 2.5. Antimikrobiyal peptitler tarafından bakteri membranının tahrip şekilleri (Papo and Shai 2005)

Mevcut bilgiler süt ve ürünlerinin özellikle anne sütünün bebeklerin korunmasında son derece önemli rol oynadığını göstermektedir. Ayrıca sindirim sistemindeki proteolitik aktivitenin sınırlı oluşu nedeniyle süt ve ürünleri ile yüksek konsantrasyonlarda biyoaktif peptit alımı da önem taşımaktadır. Bu durum fermente süt ürünlerinin önemini bir kat daha arttırmaktadır (Kınık ve Gürsoy 2002). Diğer biyoaktivite özellikleriyle kıyaslandığında süt peptitlerinin antimikrobiyal özelliklerinin süt ürünlerinde araştırıldığı çok az çalışmanın olduğu görülmüştür. Bu konuda peynirde yapılan çalışmalar ise daha da sınırlı sayıdadır.

Rizello *et al.* (2005) tarafından yapılan çalışmada, üretimde kullanılan süt çeşidi, starter kültür, üretim teknolojisi ve olgunlaşma süreleri birbirinden farklı olan 9 farklı İtalyan peynirinden elde edilen suda çözünür ekstraktların birkaç bakteri üzerine antibakteriyal etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre; çok uzun süreli olgunlaştırma ile aşırı proteoliz sonucu antimikrobiyal etkili biyoaktif bileşiklerin parçalandığı ve laktik asit bakteri proteazlarının potansiyel rolü dikkate alınmadığında antimikrobiyal fragmentlerin oluşumunda kimozinin en önemli ajanlardan biri olduğu ortaya konulmuştur.

Pritchard *et al.* (2010), Çedar peynirinden molekül ağırlıklarına göre izole ettikleri peptitlerin *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Demers–Mathieu *et al.* (2013) ise peyniraltı suyu proteinlerinden elde edilmiş anyonik peptit ekstraktını Çedar peynirine katmışlar ve *L. monocytogenes* gelişimi üzerine antimikrobiyal peptitlerin etkisini araştırmışlardır. Her iki çalışmada da olumlu sonuçlar elde edildiği ifade edilmiştir.

Meira *et al.* (2012), Uruguay ve Brezilya’da üretilen farklı tip peynirlerden elde ettikleri suda çözünür ekstraktların *B. cereus* ATCC 9634, *S. aureus* ATCC 1901, *S. Enteritidis* ATCC 13076, *E.coli* ATCC 8739 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 gibi bakteriler üzerine herhangi bir antibakteriyel etkide bulunmadığı sonucuna varmışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan materyaller sırasıyla aşağıda özetlenmiştir.

3.1.1. Çiğ süt

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi İşletmesi'nden temin edilen duysal, fiziksel, kimyasal ve teknolojik özellikleri peynir yapımına uygun (kurumadde: %11,95; yağ: %3,60; protein: %2,99; titrasyon asitliği: %0,15; pH: 6,51; özgül ağırlık: 1,030) sabah sağımı çiğ inek sütü kullanılmıştır.

3.1.2. Pıhtılaştırıcı enzim, kalsiyum klorür (CaCl_2) ve tuz

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde pıhtılaştırıcı enzim olarak Mayasan A.Ş'den sağlanan 1/16000 kuvvetinde ticari peynir mayası kullanılmıştır. Peynir üretimi sırasında kullanılan CaCl_2 saf suda çözündürüldükten sonra 100 litreye 20 g olacak şekilde peynire işlenecek süte ilave edilmiştir. Peynirlerin tuzlanması ve salamura hazırlanmasında ticari kaya tuzu kullanılmıştır.

3.1.3. Starter kültür

Peynir üretiminde starter kültür olarak *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* karışım kültürü içeren mezofilik ve direkt tekneye inoküle edilen (DVS) kültür (R-707, Chr. Hansen's Lab., Horsholm, Denmark) kullanılmıştır.

3.1.4. Probiyotik kültürler ve patojen bakteriler

Peynir üretiminde probiyotik kültür olarak, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanmış olan *Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20456 ve *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079 kültürleri kullanılmıştır. Peptitlerin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde kullanılan *Escherichia coli* BC 402, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus cereus* BC 6230 ve *Salmonella Typhimurium* RSSK 95091 patojen bakteriler Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanmıştır.

3.1.5. Ambalaj materyali

Salamurada olgunlaştırılan peynirlerin ambalajlanmasında Farel Plastik (Tekirdağ) tarafından üretilmiş, polipropilenden yapılmış 500 g'lık peynir kutuları kullanılmıştır. Vakum ambalajda olgunlaştırılan peynirlerin ambalajlanmasında ise Sütma Gıda Kimya Temizlik Ambalaj ve Mandıra Sarf Malzemeleri (İstanbul) firmasından temin edilmiş olan polietilen vakum poşetleri kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Deneme düzeni

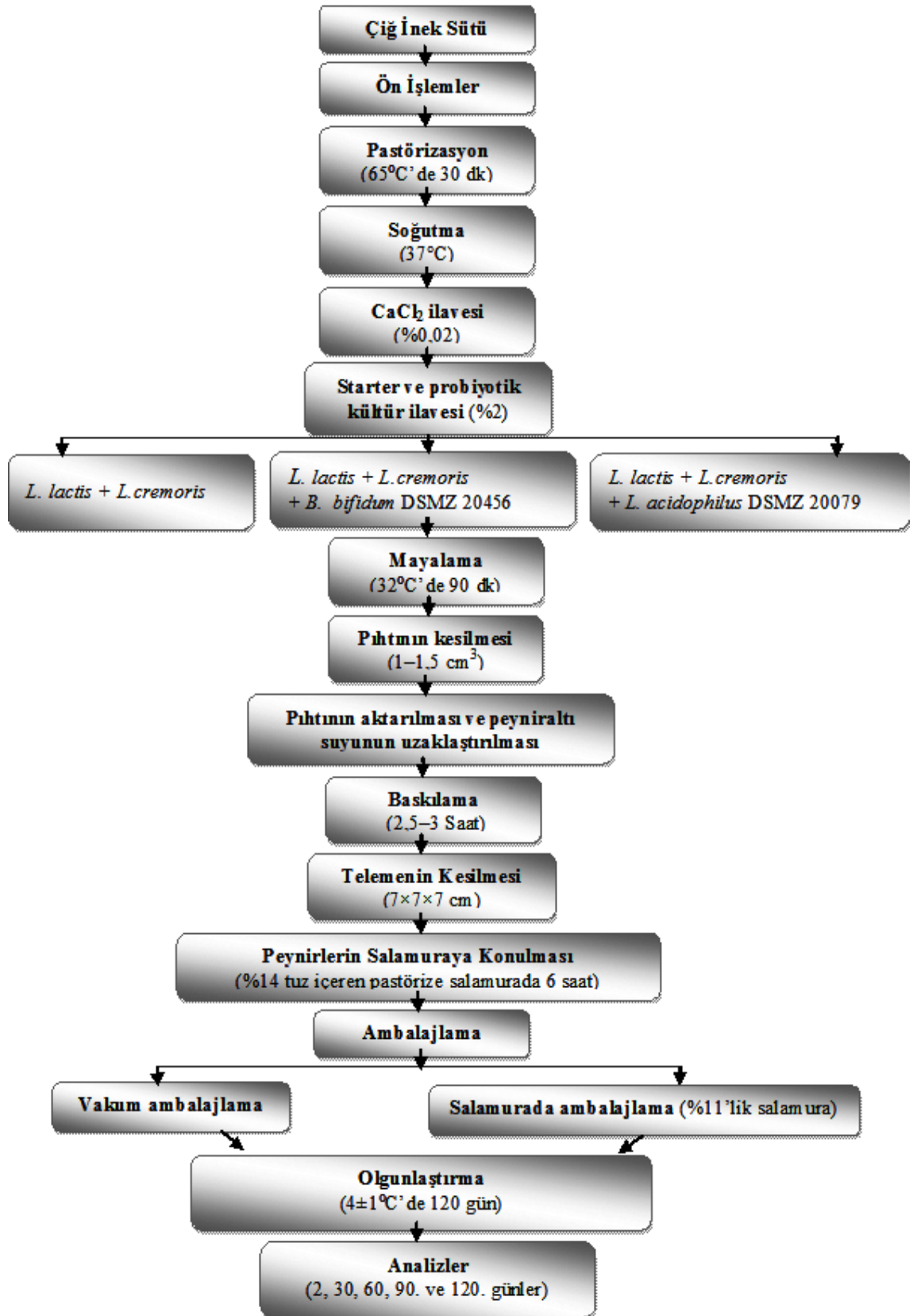
Araştırma, 3 farklı peynir örneği (kontrol, *B.bifidum* DSMZ 20456 ile *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli), 2 farklı ambalaj çeşidi (salamura ve vakum ambalaj) ve 5 farklı olgunlaşma süresi (2, 30, 60, 90. ve 120. günler) olmak üzere (3×2×5) faktöriyel düzenlemede Tam Şansa Bağlı Deneme Planına göre 2 tekerrürlü olarak yürütülmüştür.

3.2.2. Probiyotik kültürlerin hazırlanması

Probiyotik bakteri kültürlerini (*B. bifidum* DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079) aktifleştirmek amacıyla 5 mL steril MRS broth içerisine bireysel olarak inoküle edilmişlerdir. Daha sonra 37°C’de 24 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Aktifleşen kültürler, *B. bifidum* DSMZ 20456 için %0,05 oranında L–sistein hidroklorid (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) içeren steril yağsız süte %1 oranında, *L. acidophilus* DSMZ 20079 için ise steril yağsız süte %1 oranında inoküle edilerek 37°C’de 24 saat süre ile tekrar inkübe edilerek çoğaltılmıştır. Çoğaltılan *B. bifidum* DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 suşları yağsız steril süt içerisinde işletme kültürü olarak %2 oranında ilave edilmiştir.

3.2.3. Deneme peynirlerin üretimi

Deneme peynirlerin üretimi Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Pilot Süt Fabrikası’nda gerçekleştirilmiştir. Peynir üretim akım şeması Şekil 3.1’de verilmiştir. Beyaz peynir üretimi için yağ oranı %3’e ayarlanmış çiğ inek sütü 65°C’de 30 dk süreyle pastörize edilmiş ve 37°C’ye soğutularak içerisine %0,02 oranında CaCl₂ ilave edilmiştir. Daha sonra peynir üretim tanklarına *L. lactis* + *L. cremoris* (kontrol) (A), *L. lactis* + *L. cremoris* + *B. bifidum* DSMZ 20456 (B), *L. lactis* + *L. cremoris* + *L. acidophilus* DSMZ 20079 (C) bakteri kombinasyonları ilave edilerek 30 dk süreyle ön olgunlaştırmaya tabi tutulmuştur. Daha sonra 32°C’de peynir mayası ilave edilerek sütün pıhtılaşması sağlanmıştır. Maya ilavesinden 90 dk sonra oluşan pıhtı 1–1,5 cm³ büyüklüğünde kesilmiştir. Kesilen pıhtı cendere bezlerine aktarılarak 2,5–3 saat kadar baskıda bırakılmıştır. Baskılama işleminden sonra oluşan teleme temiz steril bıçaklarla 7×7×7 cm ebatlarında kesilerek %14 tuz içeren pastörize salamura içinde 6 saat süreyle bekletilmiştir. Daha sonra temiz bir zemin üzerinde 12 saat dinlendirilen peynirlerin yarısı plastik bidonlara konulup üzerleri %11’lik pastörize salamura ile doldurulmuş, diğer yarısı ise vakum ambalajla ambalajlanmıştır. Üretilen peynirler 4±1°C’de 120 gün süreyle muhafaza edilerek olgunlaştırılmıştır. Peynir üretimi iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Deneme Beyaz peynirlerin üretim akım şeması



Şekil 3.2. Vakum ve salamurada ambalajlanmış Beyaz peynir örnekleri

3.2.4. Sütte yapılan analizler

Peynir üretiminde kullanılan sütte kurumadde (gravimetrik yöntemle), yağ (Gerber yöntemiyle), kül (gravimetrik yöntemle), protein (Kjeldahl yöntemiyle), özgül ağırlık (laktodansimetre ile), titrasyon asitliği (% laktik asit cinsinden) ve pH (Crison marka birleşik elektrotlu dijital pH-metre) Kurt vd (2007) tarafından belirtildiği şekilde yapılmıştır. Mikrobiyolojik analizler ise (TAMB sayımı, laktik asit bakteri sayımı, koliform bakteri sayımı, maya-küf sayımı ve *S. aureus* sayımı) Diliello (1982) tarafından belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır.

3.2.5. Peynir örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizler için steril kavanozlara homojen olarak alınmış peynir örneklerinden steril şartlarda 10 g tartılarak Stomacher torbalarının içerisine aktarılmış ve üzerine 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (%0,85 NaCl) ilave edilmiştir. Daha sonra Stomacher cihazında 1 dk homojenize edilerek 10^{-1} 'lik dilüsyon hazırlanmıştır. Diğer dilüsyonların hazırlanmasında ise steril pipetler kullanılarak ilk dilüsyondan 1 mL alınmış ve içerisinde 9 mL steril dilüsyon sıvısı bulunan tüplere aktarılmıştır.

3.2.5.a. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayımı

Peynir örneklerinde TAMB sayımı için, Plate Count agar (PCA) besiyeri kullanılmıştır. Uygun dilüsyonlardan çift petri plağına dökme ekim yöntemi ile ekim yapıldıktan sonra $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve gelişen koloniler sayılmıştır (Messer *et al.* 1985).

3.2.5.b. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayımı

Steril edilmiş Man–Rogosa–Sharpe (MRS) agar ile uygun dilüsyonlardan 1 mL dökme plak yöntemiyle ekim yapılmış ve petri kutuları mezofilik laktik asit bakterileri için anaerobik ortamda $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat inkübasyona bırakılarak gelişen koloniler sayılmıştır (Speck 1976).

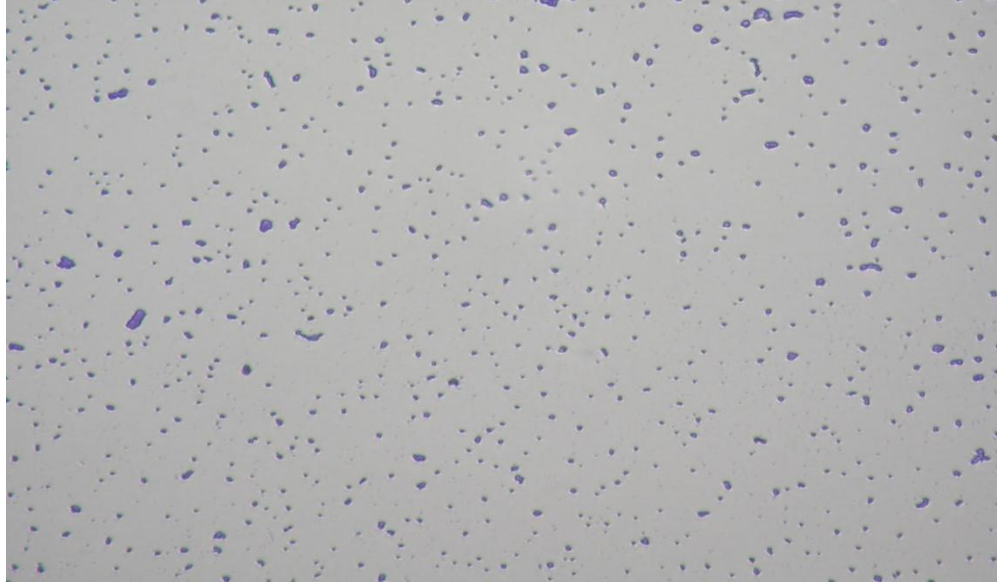
3.2.5.c. M–17 agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayımı

Beyaz peynir örneklerinde laktokokların sayımı için steril edilmiş M–17 agara uygun dilüsyonlardan dökme ekim yöntemiyle ekim yapılmış ve petri kutuları aerobik ortamda mezofilik LAB'lar için $30\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılarak gelişen koloniler sayılmıştır (Cabezas *et al.* 2007).

3.2.5.d. *Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20079 sayımı

B. bifidum DSMZ 20456'nın sayımı için; öncelikle 2 g/L neomycin sulfate, 4 g/L paramomycin sulfate, 3 g/L nalidixic acid, 60 g/L lithium chloride içeren antibiyotik karışımı (NNLP, Sigma–Aldrich) hazırlanmış ve 0,23 mm Millipore (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Daha sonra, hazırlanan NNLP karışımı içerisinde 5 mg/mL L–sistein hidroklorid (Sigma–Aldrich) bulunan steril MRS agara 50 mL/L olacak şekilde ilave edilmiştir. Dökme plak yöntemiyle ekimi yapılan petri kutuları anaerobik jar içerisinde 37°C 'de 72 saat inkübasyona tabi tutulduktan

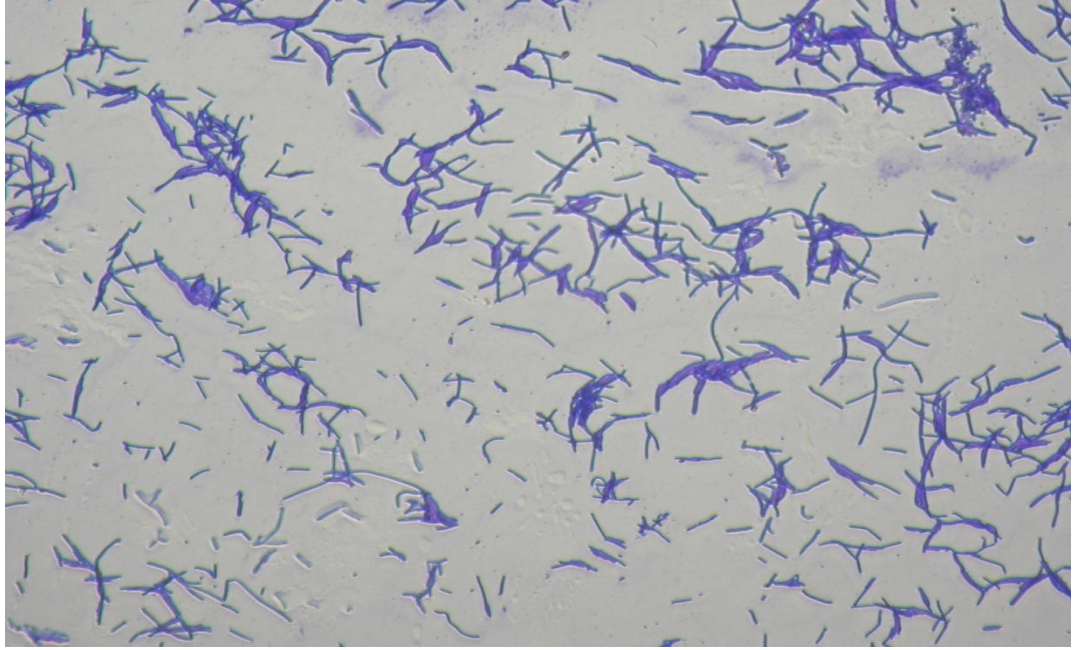
sonra gelişen koloniler mikroskopik incelemesi yapıldıktan sonra sayılmıştır (Dave and Shah 1997). Şekil 3.3'te deneme peynir örneklerindeki *B. bifidum* DSMZ 20456'nın mikroskop altındaki görüntüsü verilmektedir.



Şekil 3.3. *B. bifidum* DSMZ 20456'nın mikroskopik görüntüsü

3.2.5.e. *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079 sayımı

Probiyotik Beyaz peynir örneklerinde *L. acidophilus* DSMZ 20079 bakteri sayımı için MRS–Bile agar kullanılmıştır. Öncelikle hazırlanan Bile salts (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, UK) 0,23 mm Millipore (Millipore Corp., Bedford, MA, USA) filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Daha sonra, dökme sıcaklığına gelmiş olan steril MRS agar üzerine *L. acidophilus* DSMZ 20079 dışındaki mikroorganizmaların gelişimini inhibe etmek amacıyla safra tuzu 1,5 g/L olacak şekilde ilave edilmiştir. Ekim dökme plak yöntemine göre yapılmıştır. Petri kutuları anaerobik jarlar içerisinde 37°C'de 72 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda oluşan koloniler mikroskopik incelemesi yapıldıktan sonra *L. acidophilus* olarak sayılmıştır (Lima *et al.* 2009). Şekil 3.4'te deneme peynir örneklerindeki *L. acidophilus* DSMZ 20079'un mikroskop altındaki görüntüsü verilmektedir.



Şekil 3.4. *L. acidophilus* DSMZ 20079'un mikroskopik görüntüsü

3.2.6. Peynir örneklerinde yapılan bazı kimyasal analizler

Homojen hale getirilen Beyaz peynir örneklerinde kurumadde, yağ, tuz ve titrasyon asitliği (% laktik asit) Metin (2008) tarafından belirtilen yöntemlere göre yapılmıştır. Peynirlerde toplam azot tayini mikro-Kjeldahl yöntemine göre yapılmış ve protein miktarı ($N \times 6,38$) hesaplanmıştır (IDF 1993). Diğer taraftan, peynir örneklerinin pH'sı, 10 g Beyaz peynir 15 mL saf su içerisinde iyice homojenize edildikten sonra birleşik elektrotlu pH-metre (Crison model Basic 20, Alella, Spain) kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.7. Azot fraksiyonlarının belirlenmesi

3.2.7.a. Suda çözünür azot oranının belirlenmesi

Beyaz peynir örneklerinde suda çözünür ekstraktın hazırlanması amacıyla, 20 g peynir örneği tartılmış ve 40°C'de 40 mL su ilave edilerek Ultra Turrax (Heidolph, Silent Crusher M, Taiwan) ile 2 dk homojenize edilmiştir. Karışım 40°C'deki su banyosunda 1

saat tutulduktan sonra 3000×g'de 4°C'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üst kısımdaki yağ tabakası bir spatüle uzaklaştırılmış ve sıvı kısım Whatman No:113 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir (Kuchroo and Fox 1982). Elde edilen filtrattan 10 ml alınarak, Mikro Kjeldahl metodu ile suda çözünür azot oranı belirlenmiştir. Suda çözünür azot miktarı aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Alais 1984).

$$\% \text{Suda çözünür azot (w/w)} = \frac{[1,4 \times (V_1 - V_0) \times N \times F]}{m}$$

V_1 : Örnek için harcanan HCl, mL

V_0 : Kör denemede harcanan HCl, mL

N : HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

F : HCl çözeltisinin faktörü

m : Örnek miktarı, g

Beyaz peynir örneklerinde suda çözünür azota göre olgunlaşma derecesi, suda çözünür azotun toplam azota oranlanması ile belirlenmiştir.

$$\text{Olgunlaşma derecesi} = \frac{(\% \text{ Suda çözünür azot} \times 100)}{\% \text{ Toplam azot}}$$

3.2.7.b. Trikloroasetik asitte (TCA) çözünür azot oranının belirlenmesi

Suda çözünür azot tayini için hazırlanan filtrattan 25 mL alınmış ve eşit hacimde %24'lük (w/v) TCA ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat süreyle bekletilmiştir. Daha sonra karışım Whatman no:42 filtre kağıdından süzülerek filtrat 50 mL'ye saf su ile tamamlanmıştır (Polychroniadou *et al.* 1999). Filtrattan 25 mL alınarak, standart mikro-Kjeldahl metodu ile TCA'da çözünür azot oranı belirlenmiştir (IDF 1993). %12'lik TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma derecesi ise % 12'lik TCA oranının toplam azota oranlanması ile hesaplanmıştır.

$$\text{Olgunlaşma derecesi} = \frac{(\% 12 \text{ TCA'da çözünür azot} \times 100)}{\% \text{ Toplam azot}}$$

3.2.7.c. Fosfotungustik asitte (PTA) çözünür azot oranının belirlenmesi

Suda çözünür azot tayini için hazırlanan filtrattan 5 mL alınmış ve üzerine 3,5 mL 3,95 M H₂SO₄ ile 1,5 mL %33,3'lük PTA çözeltisinden ilave edilerek karışım 4°C'de bir gece bekletildikten sonra Whatman no:42 filtre kâğıdından süzölmüştür (Jarrett *et al.* 1982). Elde edilen süzöntünün azot içeriği standart mikro-Kjeldahl metodu ile belirlenmiştir (IDF 1993).

$$\text{Olgunlaşma derecesi} = \frac{(\%5 \text{ PTA'da çözünür azot} \times 100)}{\% \text{ Toplam azot}}$$

3.2.8. Proteolizin üre–poliakrilamid jel elektroforez (üre–PAGE) ile belirlenmesi

Peynir örneklerinde meydana gelen proteolizin elektroforetik olarak belirlenmesinde Andrews (1983) tarafından geliştirilen metot esas alınmıştır. Bu amaçla, liyofilize edilmiş pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyon örneklerinden 10 mg alınmış ve 1 mL elektroforez örnek hazırlama tamponunda çözöndürölerek jellere 7 µL olarak yüklenmiştir. Çalışmada Protean II XI dikey jel ünitesi kullanılmıştır (Bio–Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) (Şekil 3.5). Ayırım için ön ayırma jelinde 280 V, ayırma jelinde ise 300 V sabit akım hazırlanan her iki jelle uygulanmıştır. Akım sonrası jeller Blakesley and Boezi (1977) tarafından belirtilen metoda göre boyanmıştır. Çalışmada sodyum kazeinat standart olarak kullanılmıştır. Elde edilen jeller, boya çözeltisi içinde 1 gece bekletilerek protein bantları boyanmıştır. Daha sonra jeller, saf suda bekletilerek protein dışındaki boyanın giderilmesi amacıyla yıkanmıştır. Jeller özel bir tarayıcı (HP Scan Jet software, Scan Jet G4010, Hewlett Packard, Palo Alto, CA). kullanılarak bilgisayar ortamına aktarılmış ve kazein fraksiyonları ve parçalanma ürünlerinin bant yoğunluğu dansitometrik bir jel analiz programı (Image Master Total

Lab Phoretix 1D Pro software, Keel House, Newcastle upon Tyne, UK) kullanılarak kantitatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan Protean II XI dikey jel elektroforez cihazı

3.2.9. Proteolizin HPLC ile belirlenmesi: peptit profili

Peynir örneklerinde meydana gelen sekonder proteolizin incelenmesi ve peptit profilinin ortaya konulması amacıyla RP-HPLC ile pH 4,6'da çözünür fraksiyonun analizi Hayaloğlu vd (2011) tarafından belirtilen yöntemle göre yapılmıştır. Analizin gerçekleştirilmesinde, Shimadzu LC 20 AD Prominence HPLC sistem cihazı (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) kullanılmıştır (Şekil 3.6). Kromatografik ayırım, Phenomenex Jupiter 250×4,6 mm×5 µm, 300 Å pore size (Phenomenex Co, Torrance, CA, USA) RP-HPLC kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak; akış hızı 0,75 mL/dk olan Mobil faz A [(%0,1 TFA (Trifloroasetikasit, v/v) içeren HPLC-grade deiyonize saf su (Milli-Q system; Waters Corp., Molsheim, France)] ve Mobil faz B [(%0,1 TFA içeren asetonitril (v/v) (HPLC grade; Merck KGaA, Darmstadt, Germany)] kullanılmıştır. Bu amaçla; liyofilize edilmiş pH 4,6'da çözünür fraksiyondan 10 mg tartılmış ve 1 mL A çözücüsünde çözündürülmüştür. Daha sonra, 0,45 mm selüloz asetat filtreden (Sartorius GmbH, Gottingen, Germany) geçirilmiş ve bu

filtrattan 60 µL örnek sisteme enjekte edilmiştir. Elüsyon gradient olarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler başlangıçta 10 dk süre ile %100 A çözücüsü ile geçirilmiş ve daha sonra yaklaşık 80 dk süreyle %0–50 B çözücüsü ile geçirildikten sonra %50–60 B çözücüsü ile geçirilmiştir. Daha sonra, 5 dk süre ile %60 B çözücüsünde tutulmuş ve son olarak %60–95 B çözücüsü ile 5 dk'dan fazla bir süre lineer gradient uygulanmış ve elüsyon %95 B çözücüsü ile 5 dk sürdürülmüştür. Ölçümler 214 nm'de UV dedektörde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6. Çalışmada kullanılan HPLC cihazı

3.2.10. Toplam serbest aminoasit analizi

Peynirlerin pH 4,6'da çözünür fraksiyonunda yapılan toplam serbest aminoasit analizi Hayaloğlu vd (2011) tarafından belirtilen Cd–ninhydrin yöntemi kullanılarak yapılmış ve sonuçlar 507 nm'de ölçülen absorbans değerleri olarak ifade edilmiştir.

3.2.11. Peptitlerin biyoaktivite analizleri

3.2.11.a. pH 4,6'da çözünür fraksiyonun hazırlanması

10 gram peynir örneği 10 mL saf su içerisinde 10000×g'de 2 dk süreyle ultra-turrax (Heidolph, Silent Crusher M, Taiwan) ile homojenize edilmiştir. Elde edilen bulamaç 4000×g'de 4°C'de 20 dk süreyle santrifüj edilerek çözünür fraksiyon cam yününde süzölmüştür. Süzöntü yeniden 4000×g'de 4°C'de 20 dk süreyle santrifüj edilerek berrak bir süpernatant elde etmek için Whatman no:41 filtre kağıdından süzölmüştür. Elde edilen ekstrakt liyofilize edilerek peptit profili, peptit biyoaktivitesi ve toplam aminoasit analizleri yapılmak üzere -20°C'de muhafaza edilmiştir. Diğer taraftan, santrifüj sonrası elde edilen retantat kısmı da liyofilize edilerek elektroforetik analizde kullanılmak üzere muhafaza edilmiştir.

3.2.11.b. Anjiotensin-I dönüştürücü enzim (ADE)-inhibitör aktivitenin belirlenmesi

Peptitlerin ADE-inhibitör aktivite analizi, pH 4,6'da çözünür fraksiyonda (liyofilize) yapılmıştır. Bu amaçla, Jimsheena and Gowda (2009)'nın belirttiğı yöntemin tarafımızca modifiye edilmesiyle spektrofotometrik olarak aktivite ölçölmüştür. Metod; ADE tarafından katalizlenen hipüril-histidin-lösin'den (HHL) (HHL, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) hipürik asidin ayrılması esasına dayanmaktadır. Her analiz karışımı;

- 250 µL HHL solüsyonu (3,8 mmol/L HHL, 100 mmol/L, sodium borat tamponu, 300 mmol/L NaCl, pH 8,3)
- 2 mU ADE (tavşan akciğerinden, Sigma Aldrich) ve
- 35 µL örnek solusyonu (~15 mg/mL liyofilize örnek) içermiştir.

Bu karışım, 37°C’de 30 dk inkübasyondan sonra enzimatik reaksiyon 250 µL 1 M HCl ile sona erdirilmiştir

Daha sonra, 200 µL Toluenesulfonylchrolide (TSC) ilave edilmiş ve 1 dk süreyle inversiyon sağlanmıştır. Oluşan sarı rengin yoğunluğu UV–vis spektrofotometre (DU 730 Beckman Coulter Inc.) (Şekil 3.7) kullanılarak 393 nm’de saf suya karşı ölçülmüştür.

ADE–inhibisyonu;

$$\% \text{ ADE – inhibitör aktivite} = 1 - \left[\frac{(A - C)}{(B - D)} \right] \times 100$$

formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

A: ADE, HHL ve ADE inhibitör örneğinin absorbansı

B: ADE ve HHL’nin ADE inhibitör örneksiz absorbansı

C: HHL ve ADE inhibitör örneğinin ADE’siz absorbansı

D: HHL’nin ADE ve ADE inhibitör örneksiz absorbansı

ADE–inhibitör aktivite IC₅₀ olarak ifade edilmektedir. IC₅₀; ADE aktivitesinin %50’sini inhibe etmek için gerekli olan örnekteki protein konsantrasyonunun lineer regrasyonu sonucu belirlenmektedir. pH 4,6’da çözünür fraksiyonda IC₅₀ değerleri; ADE–inhibisyonunun farklı protein konsantrasyonlarındaki bir fonksiyonu olarak grafiksel ekstrapolasyonu ile belirlenmiştir. ADE–inhibisyonu ile protein konsantrasyonu arasında korelasyon kurmak için her örnek en az üç konsantrasyon seviyesinde hazırlanmıştır. Peptitlerin protein miktarı Folin–Lowry metodu kullanılarak belirlenmiştir (Lowry *et al.* 1951).



Şekil 3.7. Çalışmada kullanılan UV–visible spektrofotometre

3.2.11.c. Antioksidatif aktivitenin belirlenmesi

Peptitlerin antioksidatif aktivite analizi Apostolidis *et al.* (2007) tarafından bildirilen yöntem esas alınarak yapılmıştır. Bu amaçla; bir serbest radikal olan 1,1–diphenyl–2–picrylhydrazyl (DPPH) kullanılarak, liyofilize edilmiş pH 4,6’da çözünür fraksiyonda antioksidan aktivite belirlenmiştir. Analiz için, farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış her örnek solusyonu 3mL etanolik DPPH çözeltisi (60 µM) ile karıştırılmış ve karışım 1 saat süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra, artan konsantrasyona karşı azalan absorbans 517 nm’de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlardan; DPPH radikalinin %50’sini indirmek için gerekli olan örnekteki protein konsantrasyonunun lineer regrasyonu sonucu belirlenen IC₅₀ değerleri ve 250 µL örnek solusyonunda belirlenen % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. Peptitlerin antioksidan aktivitesi;

$$\text{DPPH radikali inhibitör aktivite (\%)} = \left[\frac{\text{Kontrol absorbansı} - \text{Örnek absorbansı}}{\text{Kontrol absorbansı}} \right] \times 100$$

formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.11.d. Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi

Peptitlerde antimikrobiyal aktivite analizinde Pritchard *et al.* (2010) tarafından bildirilen yöntem esas alınmıştır. Bu amaçla, peynir örneklerinden liyofilize edilmiş pH 4,6'da çözünür fraksiyonun *E. coli* BC 402, *S. aureus* ATCC 29213, *B. cereus* BC 6230 ve *S. Typhimurium* RSSK 95091 patojen suşlarına karşı göstermiş olduğu inhibitör aktivite ölçülmüştür. Bakteriler, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji laboratuvarı kültür koleksiyonundan sağlanmıştır. Analiz için; *E. coli* BC 402 ve *S. Typhimurium* RSSK 95091 suşları Difco Luria broth içinde (BD, North Ryde, Australia) ve *S. aureus* ATCC 29213, *B. cereus* BC 6230 suşları ise Difco Brain Heart Infusion broth içerisinde (BD, North Ryde, Australia) 35–37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilerek bakteri konsantrasyonu McFarland 0,5'e ayarlanmıştır. Negatif kontrol (16,12 mg/L tetracycline içeren solusyon) ve pozitif kontrol (0,052 mg/L triptonlu su) hazırlanarak 96'lı kuyucuklu plakalara 200 µL aktarılmıştır. Diğer kuyucuklara ise 130 µL bakteri solusyonu + 70 µL peptid solusyonu içeren sıvı aktarılmıştır ve 35–37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir (Şekil 3.8). İşlem dört paralelli olarak yapılmıştır. İnkübasyondan sonra absorbans ölçümü Bio-rad spektrofotometrede (Biorad, Gladesville, Australia) 595 nm'de yapılmıştır (Şekil 3.9).



Şekil 3.8. İnkübasyona bırakılmış 96'lı kuyucuklu plakalar

Elde edilen sonuçlardan bakterilere karşı ortaya çıkan inhibisyon hesaplanmıştır. Antimikrobiyal aktivite;

$$\text{İnhibisyon (\%)} = \left[\frac{\text{Örnek absorbansı} - \text{Negatif kontrol absorbansı}}{\text{Pozitif kontrol absorbansı} - \text{Negatif kontrol absorbansı}} \right] \times 100$$

formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.



Şekil 3.9. Çalışmada kullanılan Bio-rad spektrofotometre



Şekil 3.10. Antimikrobiyal aktivite ölçümünden elde edilmiş spektrofotometrik bir data örneği

3.2.12. Duyusal analizler

Beyaz peynir örneklerinin duyusal yönden değerlendirilmesinde, Bodyfelt *et al.* (1988) tarafından belirtilen kriterler modifiye edilerek hazırlanan skala kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Duyusal analizler, olgunlaşmanın 2, 30, 60, 90. ve 120. günlerinde, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü öğretim elemanlarından oluşan 8 kişilik bir panelist grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Peynirler Çizelge 3.1’de görülen duyusal değerlendirme formundaki özellikler bakımından panelistlerce değerlendirilmiştir. Peynir örnekleri, panelistlere üç haneli farklı rakamlarla kodlanmış olarak plastik tabaklarda ve oda sıcaklığında sunulmuştur. Örnekler arasında, peynirlerin ağızda bıraktığı hissin giderilmesi için panelistlere ekmek ve su verilmiştir.

Çizelge 3.1. Beyaz peynir örneklerinin duyuşal değerdendirilmesinde kullanılan skala örneği

Panelistin Adı ve Soyadı:			Tarih:	
Örnek No:				
Nitelikler		Puanlar		
Renk ve Görünüş	Çok İyi	İyi	Orta	Bozuk
	9–8	7–6	5–4	3–2–1
Koku	Çok İyi	İyi	Orta	Bozuk
	9–8	7–6	5–4	3–2–1
Tekstür	Çok İyi	İyi	Orta	Bozuk
	9–8	7–6	5–4	3–2–1
Lezzet	Çok İyi	İyi	Orta	Çok Kötü
	9–8	7–6	5–4	3–2–1
Tuzluluk	İdeal	İyi	Tuzlu	Çok Tuzlu
	9–8	7–6	5–4	3–2–1
Genel Kabul	Çok İyi	İyi	Orta	Kabul
Edilebilirlik	9–8	7–6	5–4	edilemez
				3–2–1

*Varsa ürünler hakkındaki diğerdüşünceleriniz.....

3.2.13. İstatistiksel analizler

Araştırma, 3 peynir örneği (kontrol, *B.bifidum* DSMZ 20456 ilaveli, *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli) × 2 farklı ambalaj (salamura ve vakum ambalaj) × 5 farklı olgunlaşma süresi (2, 30, 60, 90. ve 120. günler) × 2 tekerrürlü olarak yürütölmüştür. Araştırma sonucunda bulunan veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve önemli çıkan farklılıklara Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. İstatistiksel analizler, SPSS version 17.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Aynı zamanda üre–PAGE jelerinin değerdendirilmesinde kümeleme analizleri (Hierarchical Cluster Analysis, HCA) yapılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Beyaz Peynir Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Pastörize Sütün Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Beyaz peynir örneklerinin üretiminde kullanılan sütün bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Beyaz peynir üretiminde kullanılan pastörize sütün bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri

Kimyasal Özellikler		Mikrobiyolojik Özellikler (log kob/g)	
Kurumadde (%)	12,39	Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı	4,86
Yağ (%)	3,85	Laktik asit bakteri sayısı	4,00
Kül (%)	0,70	Koliform sayısı	<1,0
Protein (%)	3,05	Maya-küf sayısı	<1,0
Asitlik (%)	0,18	<i>S. aureus</i> sayısı	<1,0
pH	6,34		
Özgül Ağırlık	1,029		

Bu çalışmada Beyaz peynir örnekleri aşağıdaki şekilde kodlanmıştır;

KS: Salamurada olgunlaştırılmış kontrol peynir örneği

BS: Salamurada olgunlaştırılmış *B. bifidum* ilaveli peynir örneği

LS: Salamurada olgunlaştırılmış *L. acidophilus* ilaveli peynir örneği

KV: Vakum ambalajda olgunlaştırılmış kontrol peynir örneği

BV: Vakum ambalajda olgunlaştırılmış *B. bifidum* ilaveli peynir örneği

LV: Vakum ambalajda olgunlaştırılmış *L. acidophilus* ilaveli peynir örneği

4.2. Beyaz Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

4.2.1. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı

Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.2’de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere, olgunlaşma süresi değişkeninin peynirlerin TAMB sayıları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak $p < 0,01$ seviyesinde çok önemli, ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi ise $p < 0,05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Diğer taraftan, olgunlaşma süresi dışındaki değişkenlerin ve değişkenlere ait diğer interaksyonların TAMB sayıları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,016	0,220	0,804
Ambalaj (B)	1	0,022	0,303	0,586
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,757	10,233	0,000**
A $\times$ B	2	0,008	0,112	0,895
A $\times$ C	8	0,025	0,338	0,944
B $\times$ C	4	0,221	2,985	0,035*
A $\times$ B $\times$ C	8	0,020	0,272	0,970
Hata	30	0,074		
Genel	60			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli

** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TAMB sayıları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.3’te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük TAMB sayısı (7,91 log kob/g) *B. bifidum* DSMZ 20456 kültürü ile üretilmiş ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış BV örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde belirlenirken, en yüksek TAMB sayısı (8,88 log kob/g) ise *L. acidophilus* DSMZ 20079 kültürü ile üretilmiş ve salamurada olgunlaştırılmış LS örneğinde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenmiştir. Yilmaztekin *et al.* (2004) probiyotik kültürlerle üretmiş oldukları Beyaz peynir örneklerinin, Tosun (2009) farklı starter kültür kombinasyonları kullanarak üretmiş olduğu Beyaz peynirlerin TAMB sayılarını sırasıyla 7,00–9,25 ve 6,59–8,58 log

kob/g arasında değiştiğini ve 90 günlük olgunlaşma süresince bu sayılarda sürekli bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Yilmaztekin *et al.* (2004) bu azalmayı, peynirlerin olgunlaşma süresince artan tuz konsantrasyonuyla ilişkilendirmişlerdir.

Çizelge 4.3. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TAMB sayıları (log kob/g)

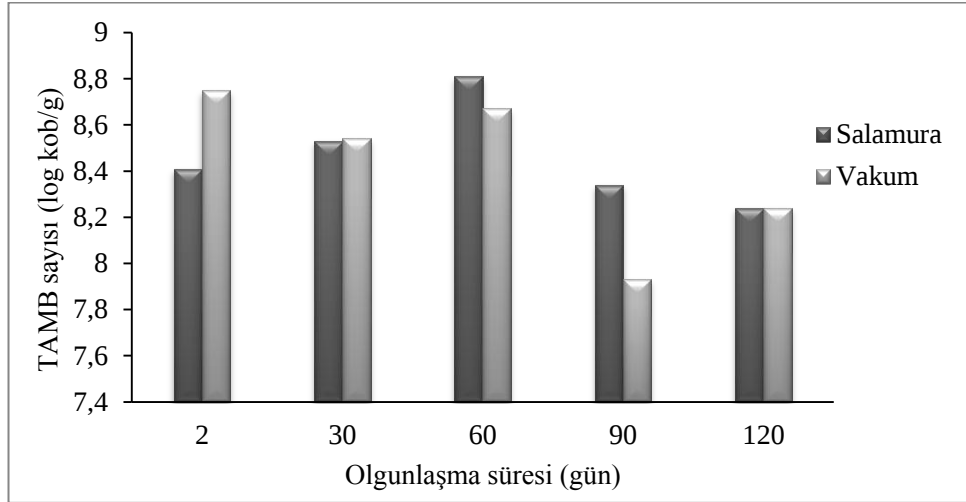
Peynir �rnekleri	Olgunlaşma süresi (g�n)				
	2	30	60	90	120
KS	8,33±0,04 ^{a,A}	8,50±0,47 ^{a,A}	8,76±0,08 ^{a,A}	8,44±0,16 ^{a,A}	8,22±0,32 ^{a,A}
BS	8,46±0,22 ^{a,A}	8,54±0,28 ^{a,A}	8,80±0,08 ^{a,A}	8,34±0,28 ^{a,A}	8,33±0,46 ^{a,A}
LS	8,44±0,11 ^{a,A}	8,55±0,40 ^{a,A}	8,88±0,28 ^{a,A}	8,23±0,39 ^{a,A}	8,17±0,45 ^{a,A}
KV	8,61±0,16 ^{ab,B}	8,28±0,28 ^{a,AB}	8,73±0,07 ^{a,B}	7,95±0,08 ^{a,A}	8,32±0,37 ^{a,AB}
BV	8,82±0,12 ^{b,C}	8,69±0,29 ^{a,BC}	8,65±0,19 ^{a,BC}	7,91±0,01 ^{a,A}	8,15±0,27 ^{a,AB}
LV	8,82±0,13 ^{b,B}	8,64±0,37 ^{a,AB}	8,63±0,07 ^{a,AB}	7,94±0,29 ^{a,A}	8,26±0,52 ^{a,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.

Çizelge 4.3 incelendiğinde, TAMB sayıları bakımından peynir örnekleri arasında olgunlaşmanın 2. günü dışında istatistiksel olarak bir farklılık olmadığı, olgunlaşma süresince ise tüm örneklerde başlangıç bakteri sayısına göre artış ve azalışlar olduğu görülmektedir. Peynirlerde belirlenen TAMB sayıları üzerine hammaddenin kalitesi, peynir üretim ve olgunlaşma şartları, uygulanan ısıl işlemler, ilave edilen kültürler ve özelliklerinin etki ettiği bildirilmektedir (Fontecha *et al.* 1990).

Beyaz peynir  rneklerinin TAMB sayılarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu şekil 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.1. Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayıları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.1’de peynir örneklerinin TAMB sayılarında vakum ambalaj ve salamura olgunlaştırma açısından farklılıklar olduğu, vakumda olgunlaştırılmış örneklerin TAMB sayılarının salamuraadaki örneklerle göre olgunlaşmanın 30. gününden itibaren daha düşük olduğu görülmektedir. Kırkın (2009), modifiye atmosfer ortamında ambalajladığı Beyaz peynirlerin TAMB sayılarının salamuraadaki peynirlere göre 0,7 log kob/g daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca, Şekil 4.1 incelendiğinde, peynir örneklerinin TAMB sayılarında olgunlaşma periyodunca düzensiz bir değişim olduğu da görülmektedir. Dağdemir (2006), farklı starter kültürler kullanarak ürettiği ve salamura olgunlaştırdığı Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayılarının 90 günlük olgunlaşma süresince önce azaldığını, olgunlaşma sonunda ise arttığını belirlemiştir. Bu artışın, yeni koşullara adapte olan mikroorganizmaların yavaş da olsa artma eğilimine girmesi sonucu olabileceğini ifade etmiştir.

4.2.2. MRS agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayısı

Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.4’te verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere, kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ve ambalaj × olgunlaşma

süresi interaksiyonunun MRS agarda gelişen LAB sayısı üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonları ve bu üç değişkene ait interaksiyonun MRS agarda gelişen LAB sayısı üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.4. Beyaz Peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,423	9,609	0,001**
Ambalaj (B)	1	4,283	97,315	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	3,017	68,544	0,000**
A $\times$ B	2	0,101	2,286	0,119
A $\times$ C	8	0,034	0,761	0,639
B $\times$ C	4	0,352	7,989	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,040	0,909	0,522
Hata	30	0,044		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen MRS agarda gelişen LAB sayıları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.5'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük LAB sayısı (6,44 log kob/g) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek sayı ise (8,76 log kob/g) ise BV ve LV örneklerinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Karaman (2007) yağı azaltılmış Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen laktik asit bakteri sayılarının 90 günlük olgunlaşma süresince 8,62–6,75 log kob/g arasında değiştiğini tespit etmiştir.

Çizelge 4.5. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen MRS agarda gelişen LAB sayıları (log kob/g)

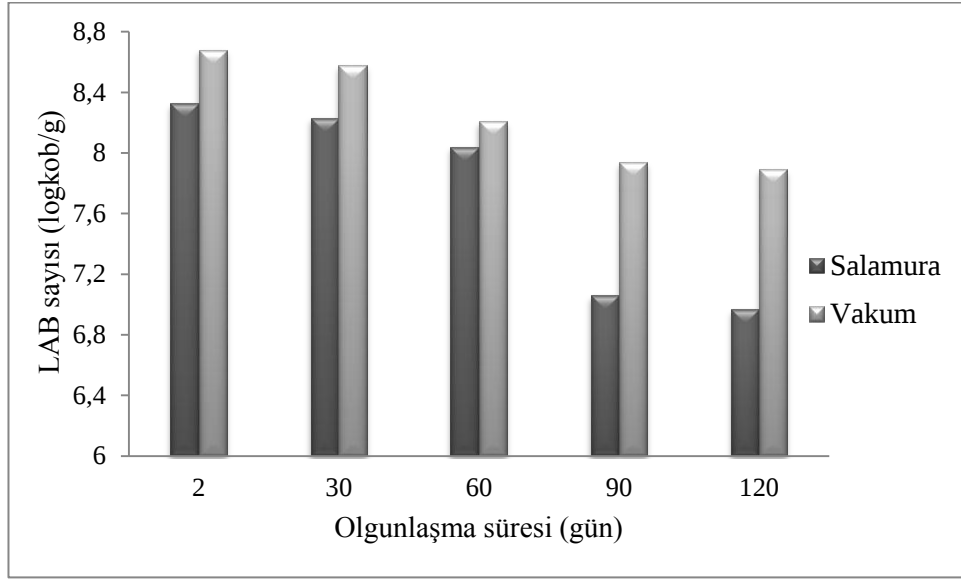
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	8,17±0,11 ^{a,B}	8,09±0,28 ^{a,B}	7,93±0,37 ^{a,B}	6,78±0,25 ^{a,A}	6,44±0,19 ^{a,A}
BS	8,42±0,23 ^{ab,B}	8,24±0,22 ^{ab,B}	8,23±0,08 ^{a,B}	7,06±0,08 ^{a,A}	7,21±0,13 ^{b,A}
LS	8,40±0,08 ^{ab,C}	8,36±0,13 ^{ab,C}	7,98±0,04 ^{a,BC}	7,36±0,47 ^{ab,AB}	7,27±0,23 ^{b,A}
KV	8,52±0,27 ^{ab,C}	8,43±0,23 ^{ab,BC}	8,18±0,25 ^{a,ABC}	7,93±0,13 ^{b,AB}	7,82±0,07 ^{c,A}
BV	8,76±0,12 ^{b,C}	8,64±0,13 ^{b,BC}	8,23±0,11 ^{a,AB}	7,93±0,35 ^{b,A}	7,88±0,13 ^{c,A}
LV	8,76±0,18 ^{b,B}	8,69±0,23 ^{b,B}	8,22±0,05 ^{a,A}	7,97±0,09 ^{b,A}	7,96±0,25 ^{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.

Çizelge 4.5 incelendiğinde, KS örneğinin BS ve LS örneklerine göre; KV örneğinin de BV ve LV örneklerine göre LAB sayılarının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum, peynirlere ilave edilen probiyotik bakterilerin de MRS agarda sayımları nedeniyle probiyotik ilaveli peynirlerin daha yüksek LAB sayısına sahip olmaları ile açıklanabilir. Ong and Shah (2009), MRS agarda gelişen starter olmayan laktik asit bakterilerinin sütün pastörizasyonundan sonra canlı kalabilen *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Micrococcus* türlerinden oluşan ikincil flora olduklarını belirtmişlerdir. Olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte tüm örneklerin LAB sayılarının azaldığı da Çizelge 4.5'te görülmektedir. Bu sonuçlara benzer olarak; Öner *et al.* (2006) yaptıkları çalışmada çiğ süttten ürettikleri Beyaz peynirlerdeki MRS agarda gelişen LAB sayısının 105 günlük olgunlaşma süresince azalarak ortalama 7.90 log kob/g'dan 6.40 log kob/g'a düştüğünü bildirmişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Beyaz peynir örneklerinin LAB sayıları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.2’de görüldüğü gibi, olgunlaşma süresince vakumda olgunlaştırılmış örneklerin LAB sayıları salamuradaki örneklere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu durum, vakum ambalajın MRS agarda gelişen LAB’lar için salamuraya göre daha iyi bir ortam oluşturduğunun bir göstergesi olabilir.

4.2.3. M–17 agarda gelişen laktik asit bakteri (LAB) sayısı

M–17 agarda gelişen laktik asit bakterileri; çoğunlukla peynire starter kültür olarak katılan *Lactococcus* cinsi bakterilerden oluşmaktadır. Beyaz peynir örneklerinin M–17 agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere yalnızca olgunlaşma süresi değişkeninin M–17 agarda gelişen LAB sayıları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuş olup, diğer değişkenlerin ve değişkenlere ait interaksiyonların etkisi istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.6. Beyaz Peynir örneklerinin M-17 agarda gelişen LAB sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,029	0,364	0,698
Ambalaj (B)	1	0,004	0,051	0,823
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,484	6,165	0,001**
A×B	2	0,002	0,022	0,978
A×C	8	0,039	0,499	0,847
B×C	4	0,209	2,665	0,052
A×B×C	8	0,034	0,433	0,892
Hata	30	0,078		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen M-17 agarda gelişen LAB sayıları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.7’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük M-17 agarda gelişen LAB sayısı (7,89 log kob/g) LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek sayı ise (8,83 log kob/g) BV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. MRS agarda gelişen LAB sayılarıyla kıyaslandığında M-17 agarda gelişen LAB sayılarının daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuç, Öner *et al.* (2006), Karaman (2007) ve Kılıç *et al.* (2009)’ın bulgularıyla uyum içerisindedir.

Çizelge 4.7. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen M-17 agarda gelişen LAB sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	8,21±0,04 ^{a,A}	8,47±0,21 ^{a,AB}	8,75±0,13 ^{a,B}	8,52±0,01 ^{c,AB}	8,38±0,19 ^{a,AB}
BS	8,42±0,20 ^{a,A}	8,44±0,18 ^{ab,A}	8,76±0,05 ^{a,A}	8,44±0,11 ^{bc,A}	8,40±0,23 ^{a,A}
LS	8,34±0,01 ^{a,A}	8,62±0,26 ^{ab,A}	8,71±0,23 ^{a,A}	8,12±0,13 ^{ab,A}	8,25±0,69 ^{a,A}
KV	8,61±0,25 ^{a,A}	8,42±0,23 ^{ab,A}	8,72±0,02 ^{a,A}	8,07±0,25 ^{a,A}	8,33±0,36 ^{a,A}
BV	8,83±0,23 ^{a,B}	8,64±0,01 ^{b,B}	8,67±0,12 ^{a,B}	8,11±0,01 ^{ab,A}	8,13±0,28 ^{a,A}
LV	8,76±0,26 ^{a,A}	8,61±0,21 ^{b,A}	8,55±0,33 ^{a,A}	8,24±0,09 ^{abc,A}	7,89±0,91 ^{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.

Çizelge 4.7 incelendiğinde, tüm örneklerin starter laktokok sayılarının 30. ve 90. günler dışında istatistiksel olarak benzerlik gösterdiği ve olgunlaşma süresince KS ve BV

örnekleri dışındaki örneklerde bu sayının önemli ölçüde ($p>0,05$) değişmediği görülmektedir. Ancak tüm örnekler için olgunlaşmanın 60. gününe kadar yüksek olan sayının 60. günden sonra azaldığı belirlenmiştir. Benzer şekilde, Kasımoğlu *et al.* (2004), probiyotik kültür kullanarak üretmiş oldukları Beyaz peynirlerin laktokok sayılarının olgunlaşmanın 7. gününe kadar arttığını, daha sonra ise giderek azaldığını belirlemişlerdir. Bu durumun peynirin su içeriğinin yüksek, tuz içeriğinin ise düşük olması nedeniyle bu bakterilerin gelişiminin teşvik edilmesinden kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir. Tüm bunlara ilaveten, Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi olgunlaşmanın 30. gününden sonra vakum ambalajlanan örneklerin M-17 agarda gelişen LAB sayılarının salamurada olgunlaştırılmış peynirlere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç, Oliszewski *et al.* (2007) ve Akalın and Karaman (2010)’ın bulgularıyla farklılık arz etmektedir.

4.2.4. *Bifidobacterium bifidum* DSMZ 20456 sayısı

B. bifidum DSMZ 20456 probiyotik starter kültürü ilave edilerek üretilmiş Beyaz peynir örneklerinin *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabileceği üzere ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin *B. bifidum* DSMZ 20456 sayıları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunurken, ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.8. Beyaz Peynir örneklerinin *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Ambalaj (B)	1	0,145	6,625	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,464	21,280	0,000**
B $\times$ C	4	0,011	0,527	0,719
Hata	10	0,022		
Genel	20			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen *B. bifidum* DSMZ 20456 sayıları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.9’da verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük *B. bifidum* DSMZ 20456 sayısı (6,10 log kob/g) BS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek sayı ise (7,06 log kob/g) ise BV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen *B. bifidum* DSMZ 20456 sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
BS	7,04±0,15 ^B	6,30±0,29 ^A	6,28±0,04 ^A	6,20±0,02 ^A	6,10±0,01 ^A
BV	7,06±0,11 ^B	6,60±0,02 ^A	6,43±0,18 ^A	6,43±0,18 ^A	6,24±0,17 ^A

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

Çizelge 4.9 incelendiğinde, hem salamura hem de vakum ambalajda olgunlaştırılmış BS ve BV örneklerinde başlangıç *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarının benzer olduğu ve olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte giderek azaldığı görülmektedir. Diğer taraftan, bu azalmanın BS örneğinde daha fazla olduğu görülmektedir. Bu durum, salamuradaki tuz konsantrasyonunun bu bakterinin canlılığı üzerine olumsuz etkide bulunmasından kaynaklanmış olabilir. Nitekim Yilmaztekin *et al.* (2004), iki farklı inokulasyon oranı kullanarak ürettikleri probiyotik Beyaz peynir örneklerinde *B. bifidum* DSMZ 20456 sayısının 90 günlük olgunlaşma süresince azaldığını ve bu durumun artan tuz konsantrasyonu ile ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Buna ilaveten, yapılan başka çalışmalarda da; Cottage peyniri (Blanchette *et al.* 1996) ve salamura Beyaz peynirin (Ghoddusi and Robinson 1996) üretiminde kullanılan *B. infantis* ve *B. bifidum*’un olgunlaşma süresince canlılıklarını büyük ölçüde sürdüremedikleri tespit edilmiştir. Vinderola *et al.* (2009), ürettikleri probiyotik peynirlerde *B. bifidum*’un 7,30 log kob/g olan başlangıç sayısının olgunlaşmanın 60. gününde 6,70 log kob/g’a düştüğünü belirlemişlerdir. Ryhänen *et al.* (2001) da *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. ilavesiyle üretmiş oldukları düşük yağlı peynirde canlı probiyotik bakteri sayılarının olgunlaşmanın 7. haftasına kadar 10⁶ kob/g’ın üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

4.2.5. *Lactobacillus acidophilus* DSMZ 20079 sayısı

L. acidophilus DSMZ 20079 probiyotik starter kültürü ilave edilerek üretilmiş Beyaz peynir örneklerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayıları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunurken, ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.10. Beyaz peynir örneklerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Ambalaj (B)	1	1,152	28,586	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	1,995	49,504	0,000**
A $\times$ B	4	0,031	0,778	0,564
Hata	10	0,040		
Genel	20			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli ** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayıları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.11'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayısı (6,57 log kob/g) LS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek sayı ise (8,52 log kob/g) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Probiyotik mikroorganizma ilave edilmiş bir gıdanın probiyotik olarak adlandırılabilmesi ve probiyotik etki gösterebilmesi için o gıdanın probiyotik bakteri sayısının 10^6 – 10^7 kob/g arasında olması gerektiği ifade edilmektedir (Ishibashi and Shimamura 1993; De Vuyst 2000; Talwakar *et al.* 2004). Bu çalışmada, hem *B. bifidum* DSMZ 20456 hem de *L. acidophilus* DSMZ 20079 için başlangıç mikroorganizma sayısının 10^7 kob/g'dan fazla olduğu, olgunlaşmanın son gününde ise bakteri sayısının 10^6 kob/g'ın altına düşmediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.11. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayıları (log kob/g)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
LS	8,23±0,07 ^B	8,16±0,01 ^B	7,00±0,02 ^A	6,79±0,42 ^A	6,57±0,12 ^A
LV	8,52±0,33 ^B	8,50±0,20 ^B	7,47±0,18 ^A	7,35±0,08 ^A	7,30±0,13 ^A

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

Çizelge 4.11’de, probiyotik Beyaz peynir örneklerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarının vakum ambalajlanmış örnekte (LV) daha fazla olduğu ve tüm örneklerde bu sayının giderek azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde, Kasımoğlu *et al.* (2004), vakum ambalajda olgunlaştırdıkları Beyaz peynir örneklerinin *L. acidophilus* sayılarının salamura olgunlaştırdıkları örneklerle kıyasla daha fazla olduğunu ve olgunlaşma süresince canlı bakteri sayısının $>10^7$ kob/g olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan; Gomes and Malcata (1998), geleneksel yarı–sert Gouda peynirinde 70 günlük olgunlaşma sonunda *L. acidophilus* sayısının 10^6 kob/g’ın altına düştüğünü, tam aksine Vinderola *et al.* (2000) ise Arjantin Fresco peynirinde bu bakterinin canlılığını 10^6 kob/g’ın üzerinde sürdürdüğünü bulmuşlardır. Bergamini *et al.* (2006), yarı–sert Arjantin peynirinde ilave kültür olarak kullandıkları *L. acidophilus* bakteri sayısının ortalama 8,51–7,98 log kob/g arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Aynı zamanda, bakterinin probiyotik potansiyeli dışında olgunlaşmayı hızlandırıcı ve yağ asidi üretimini artırmasıyla aroma gelişimi sağlayıcı özelliklerinin de olduğunu tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, bu bakterinin bu peynirin üretiminde önemli yararlar sağladığını ifade etmişlerdir.

4.3. Beyaz Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

4.3.1. Kurumadde oranı (%)

Beyaz peynir örneklerinin kurumadde oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.12’de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi interaksiyonunun

kurumadde oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonları ve değişkenlere ait interaksyonun kurumadde oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.12. Beyaz Peynir örneklerinin kurumadde oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,798	0,813	0,453
Ambalaj (B)	1	860,558	876,339	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	62,241	63,382	0,000**
A $\times$ B	2	0,264	0,269	0,766
A $\times$ C	8	0,735	0,749	0,649
B $\times$ C	4	39,715	40,444	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,590	0,601	0,769
Hata	30	0,982		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumadde oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.13'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kurumadde oranı (%36,76) salamurada olgunlaştırılmış *B. bifidum* ilaveli peynir örneğinde (BS) olgunlaşma süresinin 90. gününde belirlenirken, en yüksek kurumade oranı (%48,97) ise *B. bifidum* DSMZ 20456 kültürü ile üretilmiş vakum ambalajda olgunlaştırılmış BV kodlu peynir örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Yılmaztekin *et al.* (2004), Gürsoy (2005) ve Kılıç *et al.* (2009) probiyotik kültür kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde depolama süresince kurumadde miktarlarının sırasıyla %39,86–41,19, %35,19–43,21 ve %31,85–45,05 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, bu araştırmada belirlenen kurumadde değerleriyle benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.13. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumadde oranları (%)

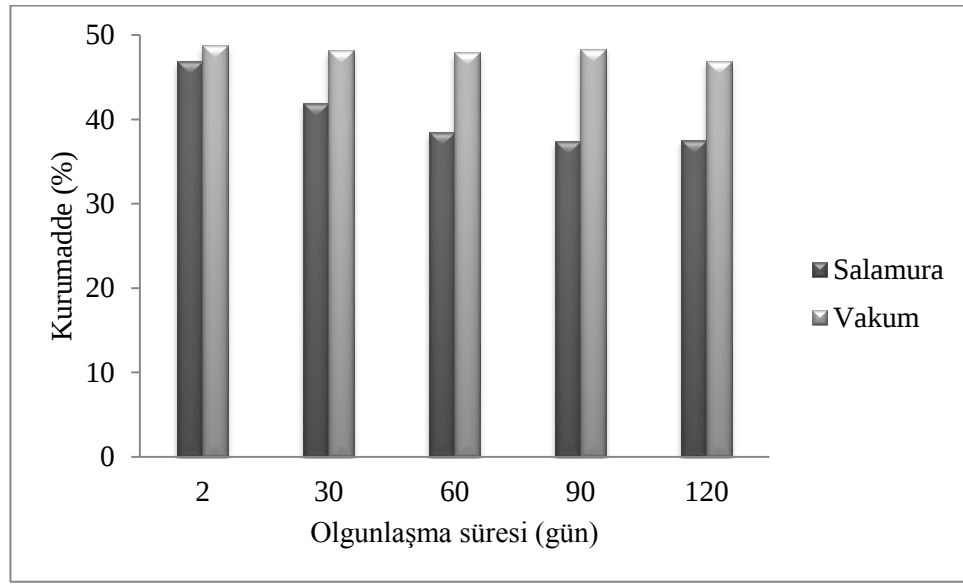
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	47,05±1,65 ^{a,C}	41,33±0,71 ^{a,B}	38,76±0,49 ^{a,A}	36,85±0,15 ^{a,A}	37,21±0,88 ^{a,A}
BS	47,49±0,57 ^{a,B}	41,70±1,53 ^{a,B}	38,35±2,03 ^{a,A}	36,76±1,15 ^{a,A}	37,60±0,51 ^{a,A}
LS	46,16±0,45 ^{a,C}	42,82±0,04 ^{a,B}	38,34±1,25 ^{a,A}	38,62±2,40 ^{a,A}	37,60±0,82 ^{a,A}
KV	48,82±0,49 ^{a,B}	48,55±0,11 ^{b,B}	47,29±0,08 ^{b,AB}	47,91±1,23 ^{b,B}	46,28±0,07 ^{b,A}
BV	48,97±0,75 ^{a,A}	48,04±1,76 ^{b,A}	48,35±0,11 ^{b,A}	48,50±1,01 ^{b,A}	47,17±0,80 ^{b,A}
LV	48,44±0,18 ^{a,A}	47,97±0,11 ^{b,A}	48,15±0,14 ^{b,A}	48,73±0,16 ^{b,A}	47,08±1,20 ^{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.

Çizelge 4.13 incelendiğinde, salamura olgunlaştırılmış peynir örneklerinde depolama süresince kurumadde oranlarının önemli derecede ($p<0,01$) azaldığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise kontrol örneği (KV) dışında diğerlerinin kurumadde oranlarının istatistiksel olarak değişmediği görülmektedir. KV kodlu peynir örneğinin kurumadde oranlarında depolama süresince çok az bir azalma olduğu saptanmıştır. TS 591 Beyaz Peynir Standardı'nda, taze Beyaz peynir için kurumadde oranının en az %40 olması öngörülmektedir (TSE 2006). Bu çalışmada üretilen tüm peynirlerin kurumadde miktarları söz konusu standarda uygunluk göstermektedir. Ancak salamura olgunlaştırılmış peynirlerin olgunlaşmanın 60. gününden itibaren kurumadde miktarlarının standartta belirtilen değerin altına düştüğü belirlenmiştir. Olgunlaşmanın ilk gününde belirlenen kurumadde miktarlarının tüm örneklerde istatistiksel olarak benzer olduğu, depolamanın ilerleyen günlerinde ise farklılıklar gösterdiği ve özellikle salamuradaki örneklerin kurumadde oranlarının vakumda olgunlaştırılmış örneklerle göre giderek azaldığı ($p<0,01$) saptanmıştır. Benzer şekilde, Akalın and Karaman (2010) Beyaz peynirde, Hayaloglu *et al.* (2012) ise Mihaliç peynirinde yaptıkları araştırmalarda vakumda olgunlaştırdıkları peynirlerin kurumadde içeriklerinin salamura olgunlaştırdıkları peynirlere nazaran daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Beyaz peynir örneklerinin kurumadde oranlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi etkileşimini Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Beyaz peynir örneklerinin kurumadde oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.3 incelendiğinde, vakumda olgunlaştırılmış örneklerin kurumadde miktarlarının olgunlaşma süresince değişmediği, salamuraadaki örneklerde ise giderek azaldığı görülmektedir. Salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin kurumadde oranlarında görülen bu azalmalar; peptit bağlarının parçalanarak peyniri saran salamuraadan peynire su geçişine neden olan yeni iyonik grupların açığa çıkmasından (Tzanetakis *et al.* 1995; Sarantinopoulos *et al.* 2002) ve düşük sıcaklık derecelerinde yapılan depolama esnasında proteinlerin su bağlama kapasitelerinin artmasından kaynaklanmış olabilir (Gürsoy vd 2001; Atasoy 2004). Bununla birlikte, deneme Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerinin yüksek oluşu da kurumadde kaybına neden olmuş olabilir (Bölüm 4.2). Araştırmacılar, yüksek pH'nın salamuraada olgunlaştırılmış peynirlerde erime eğilimini artırdığını bildirmişlerdir (Van den Berg and Exterkate 1993). Bu faktörlere ilaveten, uzun süreli olgunlaşma periyoduna bağlı olarak peynirdeki suda çözünür protein ve peptitlerin salamuraaya geçişi de kurumaddede azalmaya sebep olabilmektedir. Bu sonuçlara benzer olarak; Gürsel vd (2003), Gürsoy (2005), Dağdemir (2006) ve Öner *et al.* (2006) salamuraada olgunlaştırdıkları Beyaz peynir örneklerinin olgunlaşma süresince kurumadde miktarlarının azaldığını belirlemişlerdir.

4.3.2. Yağ oranı (%)

Beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.14'te verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun yağ oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi × ambalaj, kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksiyonları ile bu üç değişkene ait interaksiyonun yağ oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.14. Beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,450	1,485	0,243
Ambalaj (B)	1	289,082	953,902	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	25,352	83,646	0,000**
A×B	2	0,353	1,164	0,352
A×C	8	0,143	0,471	0,629
B×C	4	20,018	66,048	0,000**
A×B×C	8	0,316	1,043	0,427
Hata	30	0,303		
Genel	60			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli ** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen yağ oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.15'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük yağ oranı (%18,58) KS örneğinde olgunlaşma süresinin 120. gününde belirlenirken, en yüksek yağ oranı (%25,88) ise BV örneğinde olgunlaşmanın başlangıcında belirlenmiştir. Kılıç *et al.* (2009), probiyotik kültür kullanarak ürettikleri taze Beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarını %21,35–24,90 olarak belirlemişlerdir.

Çizelge 4.15. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen yağ oranları (%)

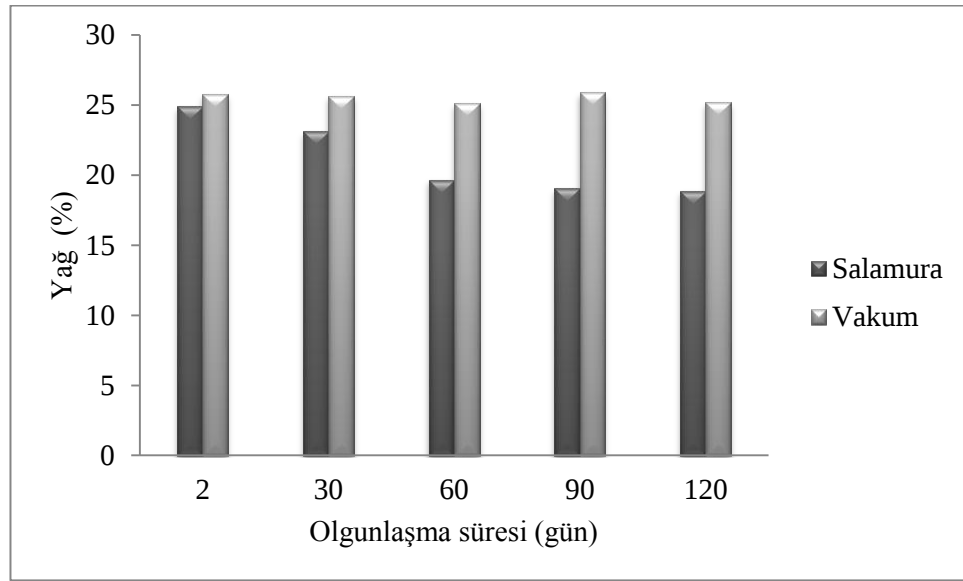
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	24,88±0,53 ^{a,B}	22,80±0,99 ^{a,B}	19,88±0,18 ^{a,A}	18,75±0,35 ^{a,A}	18,58±0,32 ^{a,A}
BS	25,25±0,35 ^{a,C}	23,40±0,85 ^{a,B}	19,40±0,85 ^{a,A}	18,70±0,42 ^{a,A}	18,83±0,25 ^{a,A}
LS	24,62±0,18 ^{a,B}	23,13±0,53 ^{a,B}	19,73±0,60 ^{a,A}	19,70±0,99 ^{a,A}	19,25±0,35 ^{a,A}
KV	25,63±0,18 ^{a,A}	26,10±0,14 ^{b,A}	25,38±0,18 ^{b,A}	26,00±0,71 ^{b,A}	24,50±0,71 ^{b,A}
BV	25,88±0,18 ^{a,A}	24,88±1,24 ^{ab,A}	24,88±0,18 ^{b,A}	25,75±0,35 ^{b,A}	25,25±0,35 ^{b,A}
LV	25,75±0,35 ^{a,A}	26,00±0,71 ^{b,A}	25,13±0,53 ^{b,A}	25,88±0,18 ^{b,A}	25,75±0,35 ^{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.

Çizelge 4.15'te görüldüğü gibi, salamurada olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinin yağ oranları olgunlaşmanın 30. gününden sonra önemli derecede ($p<0,05$) azalmış olup, 60. günden sonraki azalma ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Yağ oranındaki bu azalmalar peynirlerin olgunlaşma süresince kurumadde miktarlarındaki azalmanın bir sonucudur. Benzer şekilde, Öner *et al.* (2006) ve Dağdemir (2006) Beyaz peynirlerin yağ miktarlarında olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte azalma tespit etmişlerdir. Diğer taraftan, Karaca (2007) mikrobiyal kaynaklı proteolitik ve lipolitik enzimler ve Yangılar (2010) ise farklı probiyotik kültür kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince yağ miktarlarının arttığını belirlemişlerdir. Bu bulgular; bu araştırmada elde edilen sonuçlarla farklılık arz etmektedir. Bu farklılıklar, peynir üretiminde kullanılan hammadde sütün bileşimi, üretim metodu ve olgunlaşma şartlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Deneme Beyaz peynir örneklerinin yağ oranlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.4. Beyaz peynir örneklerinin yağ oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.4'te görüldüğü gibi, yağ oranları vakumda olgunlaştırılmış peynir örneklerinin yağ oranları olgunlaşma süresince değişmemiş, salamura da olgunlaştırılmış peynir örneklerinde ise giderek azalmıştır. Peynir örneklerinin yağ oranlarındaki azalma, mikrobiyal enzimlerin trigliseritleri parçalaması ve gerçekleşen lipoliz olayı sonucu oluşan yağ asitlerinin salamuraya geçişiyle açıklanabilir (Zomorodi *et al.* 2011).

4.3.3. Kurumaddede yağ oranı (%)

Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.16'da verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun kurumaddede yağ oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi × ambalaj ile kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksiyonları ve bu üç değişkene ait interaksiyonun kurumaddede yağ oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.16. Beyaz Peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	1,298	1,524	0,234
Ambalaj (B)	1	15,342	18,002	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	11,183	13,124	0,000**
A×B	2	1,529	1,794	0,184
A×C	8	1,090	1,279	0,291
B×C	4	13,356	15,675	0,000**
A×B×C	8	1,302	1,528	0,189
Hata	30	0,852		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede yağ oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.17’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kurumaddede yağ oranı (%49,93) KS örneğinde olgunlaşma süresinin 120. gününde belirlenirken, en yüksek kurumaddede yağ oranı (%56,11) ise BS örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde belirlenmiştir. Hayaloğlu *et al.* (2004) farklı starter kültür kullanarak ürettikleri Beyaz peynirde, Zomorodi *et al.* (2011) probiyotik kültürlerle ürettikleri İran Beyaz peynirinde olgunlaşmanın ilk gününde kurumaddede yağ oranlarının sırasıyla %48,95–49,79, %37,80–42,70 arasında değiştiğini saptamışlardır. Bu sonuçların, bu araştırmada bulunan değerlerden düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.17. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede yağ oranları (%)

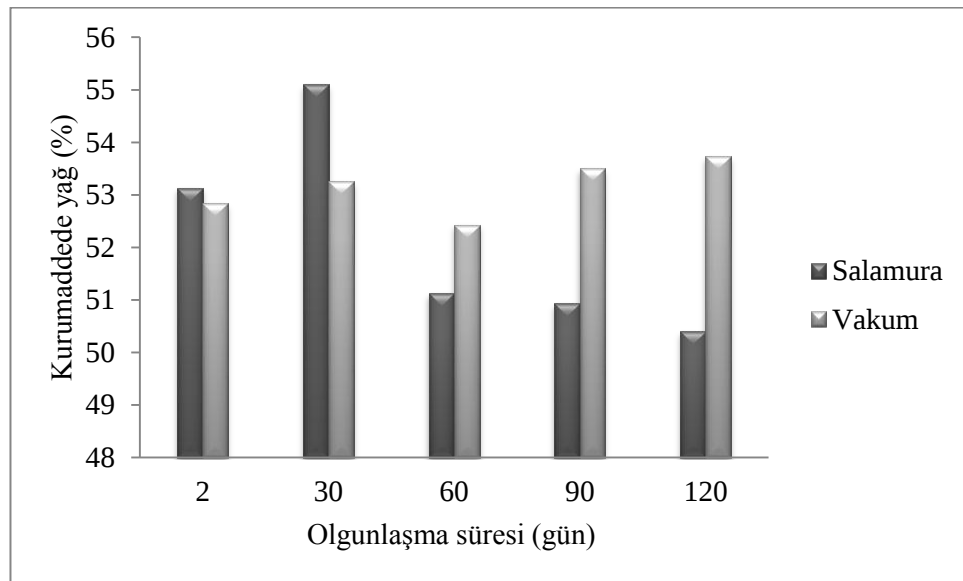
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	52,88±0,73 ^{a,BC}	55,16±1,44 ^{ab,C}	51,29±1,10 ^{a,AB}	50,89±1,16 ^{a,AB}	49,93±0,32 ^{a,A}
BS	53,17±1,39 ^{a,B}	56,11±0,21 ^{b,C}	50,61±0,46 ^{a,A}	50,88±0,43 ^{a,A}	50,07±0,21 ^{a,A}
LS	53,36±0,90 ^{a,B}	54,02±1,20 ^{ab,B}	51,46±0,11 ^{a,A}	51,04±0,60 ^{a,A}	51,21±1,40 ^{ab,AB}
KV	52,50±0,90 ^{a,A}	53,77±0,18 ^{ab,A}	53,66±0,28 ^{b,A}	54,27±0,08 ^{b,A}	52,94±1,61 ^{abcA}
BV	52,85±0,45 ^{a,A}	51,77±0,68 ^{a,A}	51,45±0,25 ^{a,A}	53,12±1,84 ^{ab,A}	53,54±0,16 ^{bc,A}
LV	53,16±0,53 ^{a,A}	54,21±1,35 ^{ab,A}	52,18±0,95 ^{ab,A}	53,10±0,20 ^{ab,A}	54,72±2,15 ^{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.

Çizelge 4.17 incelendiğinde, olgunlaşmanın ilk gününde Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranları arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olmadığı, olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte farklılıkların ortaya çıktığı görülmektedir. Bulat (2011), *E. faecium* probiyotik kültürü ilave ederek ürettiği Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarının %51,4–59,5 arasında değiştiğini ve olgunlaşma süresince bu değerlerde artan ve azalan değişimler olduğunu belirlemiştir. TS 591 Beyaz Peynir Standardı'na göre, tam yağlı Beyaz peynirin kurumaddede yağ oranının %45'ten az olmaması öngörülmektedir (TSE 2006). Bu çalışmada üretilen tüm peynirlerin kurumaddede yağ oranları söz konusu standarda uygunluk göstermektedir.

Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi etkisi Şekil 4.5'te verilmiştir.



Şekil 4.5. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.5 incelendiğinde, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin kurumaddede yağ oranlarının olgunlaşma süresince benzerlik gösterdiği, en düşük ortalama kurumaddede yağ oranının 60. günde, en yüksek oranın ise 120. günde belirlendiği görülmektedir. Diğer taraftan, salamuraadaki örneklerin kurumaddede yağ oranlarının

olgunlaşmanın 30. gününde arttığı, daha sonra ise giderek azaldığı görülmektedir. Bu durum, olgunlaşmanın 30. gününde peynirlerin kurumadde oranlarında meydana gelen azalmanın yağ oranlarındaki azalmadan daha fazla olması nedeniyle kurumaddede yağ miktarında artışa sebep olması ile açıklanabilir. Bununla birlikte, olgunlaşmanın 60. gününden itibaren peynirlerin kurumadde ve yağ miktarlarındaki azalma oranlarının paralellik göstermesi kurumaddede yağ miktarında da azalmaya neden olmuştur. Kasımoğlu *et al.* (2004), *L. acidophilus* probiyotik kültürü ilave ederek ürettikleri, vakum ambalaj ve salamurada olgunlaştırdıkları Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarının vakum ambalajlanmış örneklerde daha yüksek olduğunu, olgunlaşma süresince salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde bu oranların giderek azaldığını tespit etmişlerdir.

4.3.4. Tuz oranı (%)

Tuz, peynirin duyusal özelliklerinin oluşumuna katkıda bulunmasının yanı sıra olgunlaşma sırasında meydana gelen mikrobiyal ve enzimatik aktiviteler ve peynir kompozisyonu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Peynirde tuz oranının %4'ün üzerinde olması, probiyotik bakterilerin yaşam sürelerini kısaltmaktadır (Gobbetti *et al.* 1998). Bu nedenle, yüksek tuz içeriğine sahip peynirlerin probiyotik bakteriler için uygun bir taşıyıcı olabilmesi için üretim şartlarının optimize edilmesi ve bu peynirlerin düşük oksijen içerikli ambalajlarda muhafaza edilmesi önerilmektedir (Gomes da Cruz *et al.* 2009).

Beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.18'de verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun tuz oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi $\times$ ambalaj ile kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonları ve bu üç değişkene ait interaksyonun tuz oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.18. Beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,023	1,925	0,163
Ambalaj (B)	1	66,234	5657,804	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,782	66,798	0,000**
A×B	2	0,034	2,916	0,070
A×C	8	0,006	0,545	0,813
B×C	4	1,246	106,463	0,000**
A×B×C	8	0,002	0,191	0,990
Hata	30	0,012		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuz oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.19’da verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük tuz oranı (%2,33) KV örneğinde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenirken, en yüksek tuz oranı (%5,03) ise KS peynir örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Mahmoudi *et al.* (2012) farklı probiyotik kültürler kullanarak ürettikleri İran Beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarının 60 günlük olgunlaşma süresince %3,36–6,37 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.19. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuz oranları (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	3,65±0,12 ^{b,A}	4,62±0,78 ^{c,B}	4,76±0,07 ^{ab,BC}	4,98±0,08 ^{c,C}	5,03±0,15 ^{c,C}
BS	3,57±0,08 ^{b,A}	4,51±0,17 ^{bc,B}	4,87±0,08 ^{c,C}	4,90±0,04 ^{c,C}	4,95±0,04 ^{bc,C}
LS	3,45±0,24 ^{b,A}	4,34±0,08 ^{b,B}	4,66±0,07 ^{b,B}	4,63±0,11 ^{b,B}	4,74±0,18 ^{b,B}
KV	2,52±0,25 ^{a,A}	2,49±0,13 ^{a,A}	2,33±0,07 ^{a,A}	2,46±0,11 ^{a,A}	2,35±0,04 ^{a,A}
BV	2,57±0,00 ^{a,A}	2,40±0,08 ^{a,A}	2,40±0,08 ^{a,A}	2,42±0,05 ^{a,A}	2,41±0,04 ^{a,A}
LV	2,57±0,16 ^{a,A}	2,46±0,08 ^{a,A}	2,40±0,08 ^{a,A}	2,40±0,08 ^{a,A}	2,41±0,12 ^{a,A}

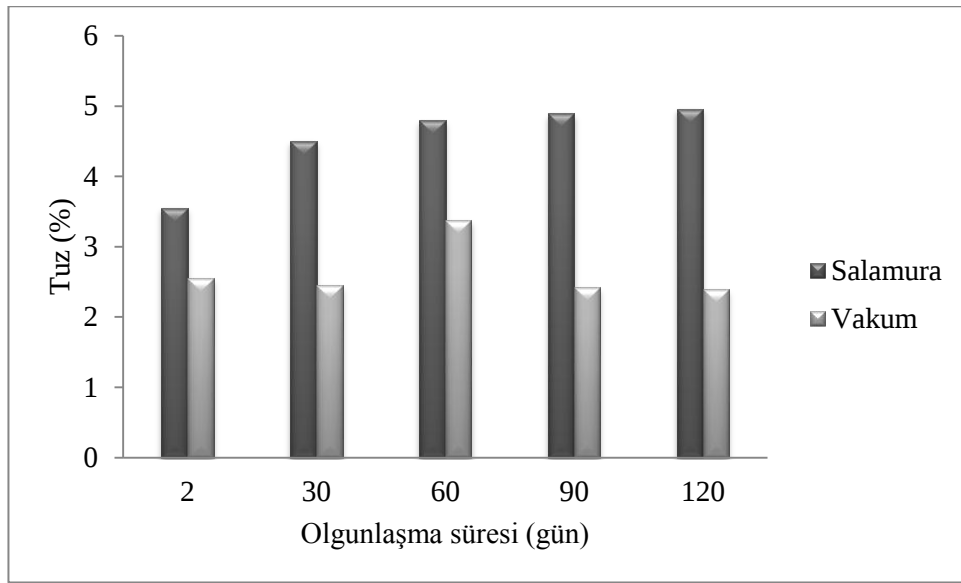
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

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

Çizelge 4.19’da görüldüğü gibi, salamurada olgunlaştırılmış KS, BS ve LS örneklerinin tuz oranları olgunlaşma süresince giderek artmış, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise tuz oranları %2,33–2,63 arasında değişmiştir. Yılmaztekin *et al.* (2004) ve Kılıç *et al.* (2009) ürettikleri probiyotik Beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince tuz

miktarlarının arttığını tespit etmiş, buna karşın Prasad and Alvarez (1999) Feta peynirinde ve Karaca (2007) salamura da olgunlaştırdıkları Beyaz peynirde olgunlaşma süresince tuz miktarlarının azaldığını belirlemişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin tuz oranlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi etkisi Şekil 4.6’da verilmiştir.



Şekil 4.6. Beyaz peynir örneklerinin tuz oranları üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, salamura da olgunlaştırılmış peynir örneklerinin tuz oranları vakum ambalajda olgunlaştırılmış örnekler göre oldukça yüksek olup, olgunlaşma süresince giderek artmıştır. Benzer şekilde, Kaya (2002) Gaziantep peynirinde, Khosrowshahi *et al.* (2006) İran Beyaz peynirinde ve Akalın and Karaman (2010) Beyaz peynirde tuz miktarlarının olgunlaşma süresince arttığını belirlemişlerdir. Tuz oranlarındaki bu artış; salamura ile peynir kitlesi arasındaki engellenmiş difüzyon ile açıklanabilir. Peynir tuz geçişini önemli ölçüde etkileyen faktörler; peynirin boyutu ve şekli, peynirin su içeriği, peynirin yağ içeriği, salamuranın tuz konsantrasyonu, salamuranın asitliği, salamura sıcaklığı, ham peynirin asitliği ve sıcaklığı olarak belirtilmektedir (Guinee 2004; Koçak *et al.* 1990). Bununla birlikte, peynire geçen tuz

miktarının peynir asitliği ile ters orantılı olduğu bildirilmektedir (Gahun 1983). Bu çalışmada, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin tuz miktarlarının düşük oluşu probiyotik bakteriler için olumlu bir durum ortaya koyarken, salamura da olgunlaştırılmış örneklerde tuz miktarının yüksek olması ise bunun tersi bir durum ortaya koymuştur.

4.3.5. Kurumaddede tuz oranı (%)

Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.20’de verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun kurumaddede tuz oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonları ve bu üç değişkene ait interaksyonun kurumaddede tuz oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.20. Beyaz Peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,350	1,896	0,168
Ambalaj (B)	1	604,012	3273,277	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	15,591	84,489	0,000**
A $\times$ B	2	0,379	2,053	0,146
A $\times$ C	8	0,105	0,567	0,796
B $\times$ C	4	18,025	97,681	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,063	0,341	0,943
Hata	30	0,185		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede tuz oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.21’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kurumaddede tuz oranı (%4,92) LV örneğinde olgunlaşma süresinin 60. ve 90. günlerinde belirlenirken, en yüksek kurumaddede tuz oranı (%13,52) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. TS 591 Beyaz Peynir Standardı’na göre,

tam yağlı Beyaz peynirin kurumaddede tuz oranının %10'dan fazla olmaması öngörülmektedir (TSE 2006). Bu çalışmada elde edilen kurumaddede tuz değerleri, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örnekleri için standarda uygun bulunurken, salamura olgunlaştırılmış örnekler için olgunlaşmanın 30. gününden itibaren standartta belirtilen değerin üzerinde bulunmuştur.

Çizelge 4.21. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kurumaddede tuz oranları (%)

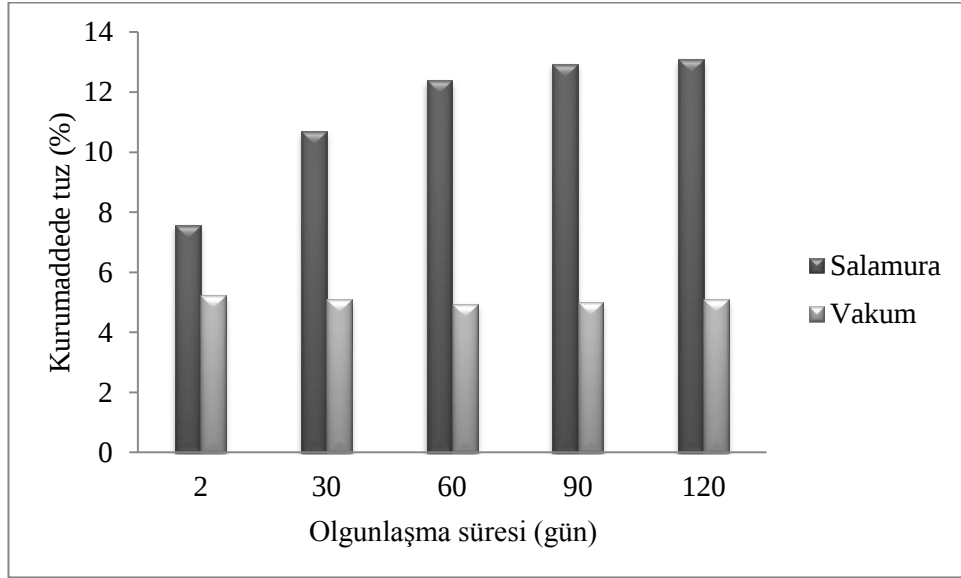
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,76±0,53 ^{b,A}	11,17±0,38 ^{b,B}	12,28±0,34 ^{b,B}	13,50±0,16 ^{c,C}	13,52±0,72 ^{b,C}
BS	7,51±0,25 ^{b,A}	10,82±0,79 ^{b,B}	12,71±0,88 ^{b,C}	13,33±0,52 ^{c,C}	13,16±0,28 ^{b,C}
LS	7,48±0,45 ^{b,A}	10,13±0,18 ^{b,B}	12,16±0,21 ^{b,C}	12,00±0,45 ^{b,C}	12,61±0,21 ^{b,C}
KV	5,15±0,45 ^{a,A}	5,13±0,27 ^{a,A}	4,93±0,16 ^{a,A}	5,14±0,11 ^{a,A}	5,08±0,10 ^{a,A}
BV	5,25±0,08 ^{a,A}	5,01±0,36 ^{a,A}	4,96±0,18 ^{a,A}	4,98±0,00 ^{a,A}	5,11±0,00 ^{a,A}
LV	5,31±0,30 ^{a,A}	5,13±0,17 ^{a,A}	4,92±0,15 ^{a,A}	4,92±0,15 ^{a,A}	5,12±0,10 ^{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.

Çizelge 4.21 incelendiğinde, KS, BS ve LS kodlu örneklerin kurumaddede tuz oranlarının KV, BV ve LV kodlu örneklere göre oldukça yüksek olduğu ve olgunlaşma süresince giderek arttığı görülmektedir. Buna ilaveten, bu artışın 30. günde daha hızlı olduğu, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte daha yavaş gerçekleştiği görülmektedir. Beyaz peynirde olgunlaşma süresince kurumaddede tuz oranlarındaki artış diğer araştırmacılar tarafından da belirlenmiştir (Kasımoğlu 2004; Dağdemir 2006; Öner *et al.* 2006; Kılıç *et al.* 2009).

Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi etkileşimini Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.7 incelendiğinde, salamura ve vakum ambalajda ambalajlanan Beyaz peynir örneklerinde kurumaddede tuz bakımından önemli derecede farklılıklar olduğu görülmektedir. Bilindiği gibi Beyaz peynirin tuz içeriği ile su ve pH arasında doğrusal bir ilişki bulunmaktadır. Buna göre, peynirin su ve pH değeri arttıkça tuz içeriği de artmaktadır. Bu bağlamda, salamura olgunlaştırılmış örnekler vakum ambalajda olgunlaştırılmış örnekler ile kıyaslandığında, olgunlaşma süresince artan su içerikleri ve daha yüksek pH değerlerine sahip olmaları, kurumaddede tuz içeriklerinin de daha yüksek oluşunun bir nedeni olarak düşünülebilir. Kasımoğlu *et al.* (2004) ve Akalın and Karaman (2010) vakum ambalajlanmış Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede tuz oranlarını salamura olgunlaştırılmış peynirlere göre daha düşük olduğunu saptamışlardır.

4.3.6. Titrasyon asitliği (% laktik asit)

Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.22’de verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin titrasyon asitliği değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak $p < 0,01$ seviyesinde

önemli bulunurken, ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun etkisi ise $p<0,05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonları ve bu üç değişkene ait interaksyonun titrasyon asitliği değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.22. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,001	0,720	0,495
Ambalaj (B)	1	0,028	13,636	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,103	49,841	0,000**
A $\times$ B	2	0,001	0,390	0,681
A $\times$ C	8	0,341	2,000	0,153
B $\times$ C	4	0,007	3,226	0,026*
A $\times$ B $\times$ C	8	0,001	0,632	0,745
Hata	30	0,002		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen titrasyon asitliği değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.23'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük titrasyon asitliği değeri (%0,48) KS örneğinde olgunlaşmanın ilk gününde belirlenirken, en yüksek titrasyon asitliği değeri (%0,80) ise KV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Dagdemir *et al.* (2003), farklı starter kültürler kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde, Kılıç *et al.* (2009) probiyotik Beyaz peynir örneklerinde ve Mahmoudi *et al.* (2012) probiyotik İran Beyaz peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince titrasyon asitliği değerlerini sırasıyla %0,35–0,66; %0,75–1,78 ve %0,11–0,76 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.23. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen titrasyon asitliği değerleri (%)

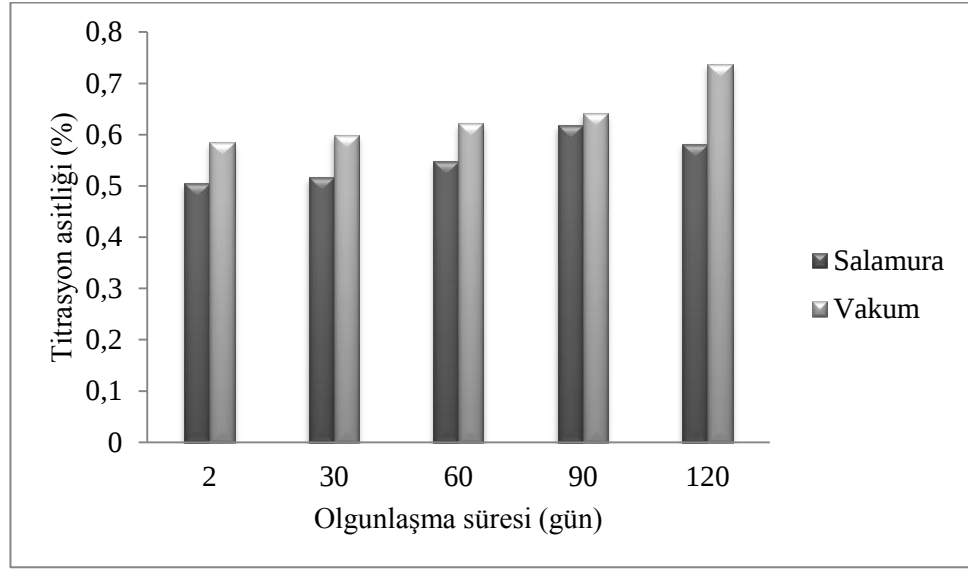
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	0,48±0,01 ^{a,A}	0,52±0,01 ^{a,A}	0,53±0,05 ^{a,AB}	0,61±0,05 ^{a,B}	0,59±0,01 ^{a,B}
BS	0,53±0,00 ^{abc,A}	0,50±0,01 ^{a,bA}	0,57±0,01 ^{ab,B}	0,65±0,01 ^{a,C}	0,57±0,01 ^{a,B}
LS	0,51 ±0,05 ^{ab,A}	0,54±0,01 ^{ab,AB}	0,56±0,02 ^{ab,AB}	0,60±0,06 ^{a,B}	0,59±0,01 ^{a,AB}
KV	0,56±0,03 ^{bcd,A}	0,55±0,01 ^{ab,A}	0,61±0,06 ^{ab,A}	0,68±0,08 ^{a,AB}	0,80±0,01 ^{c,B}
BV	0,59±0,03 ^{cd,A}	0,63±0,11 ^{b,A}	0,67±0,08 ^{b,A}	0,65±0,11 ^{a,A}	0,70±0,04 ^{b,A}
LV	0,61±0,03 ^{d,AB}	0,62±0,01 ^{b,AB}	0,60±0,02 ^{ab,A}	0,61±0,08 ^{a,A}	0,72±0,02 ^{b,B}

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

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

Çizelge 4.23 incelendiğinde, tüm örneklerin titrasyon asitliği değerlerinin 120 günlük olgunlaşma süresince çok dar bir aralıkta değiştiği, önemli değişikliklerin olmadığı görülmektedir. Bulat (2011), *E. faecium* ilave ederek ürettiği Beyaz peynir örneklerinin asitlik değerlerindeki değişimde olgunlaşma süresince dalgalanmalar olduğunu ve bu dalgalanmaların olgunlaşma sırasında proteolize bağlı olarak bazik karakterli maddelerin oluşumundan ve kurumadde miktarındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceğini ifade etmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.8’de verilmiştir.



Şekil 4.8. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.8’de görüldüğü gibi, salamura da olgunlaştırılmış örneklerin titrasyon asitliği değerleri vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklere kıyasla daha düşük bulunmuş ve bu değerlerde olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte genel olarak bir artış olmuştur. En yüksek ortalama titrasyon asitliği değeri olgunlaşmanın 120. gününde vakumda olgunlaştırılmış örneklerde görülmüştür. Benzer şekilde, Akalın and Karaman (2010) ve Hayaloglu *et al.* (2012) vakum ambalajlı peynir örneklerinin asitlik değerlerinin salamura da ki örneklerle göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Diğer taraftan, Kasımoğlu *et al.* (2004) Beyaz peynirlerin asitlik değerlerinde vakum ambalaj ve salamura açısından farklılık olmadığını ortaya koymuşlardır. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerlerinde görülen farklılıklar; salamura da olgunlaştırılmış peynirlerde artan tuz miktarının kullanılan kültürlerin faaliyetini kısıtlaması ve oluşan asidin bir kısmının salamura ya geçmesi ile açıklanabilir.

4.3.7. pH

Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.24’te verilmiştir. Buna göre, kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile

kültür ilavesi $\times$ ambalaj, ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonlar ile üç değişkene ait interaksyonun pH değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun pH değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.24. Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,013	15,337	0,000**
Ambalaj (B)	1	0,013	14,926	0,001**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,004	4,869	0,004**
A $\times$ B	2	0,006	6,899	0,003**
A $\times$ C	8	0,001	0,980	0,470
B $\times$ C	4	0,009	9,833	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,003	3,323	0,008**
Hata	30	0,001		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen pH değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.25'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük pH değeri (4,98) LS örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde belirlenirken, en yüksek pH değeri (5,21) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Zomorodi *et al.* (2011) *L. casei*, *L. plantarum* ve *B. bifidum* DSMZ 20456 probiyotik kültürleri kullanarak ürettikleri İran Beyaz peynirlerinin pH değerlerinin olgunlaşma süresince 3,79–4,66 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.25. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen pH değerleri

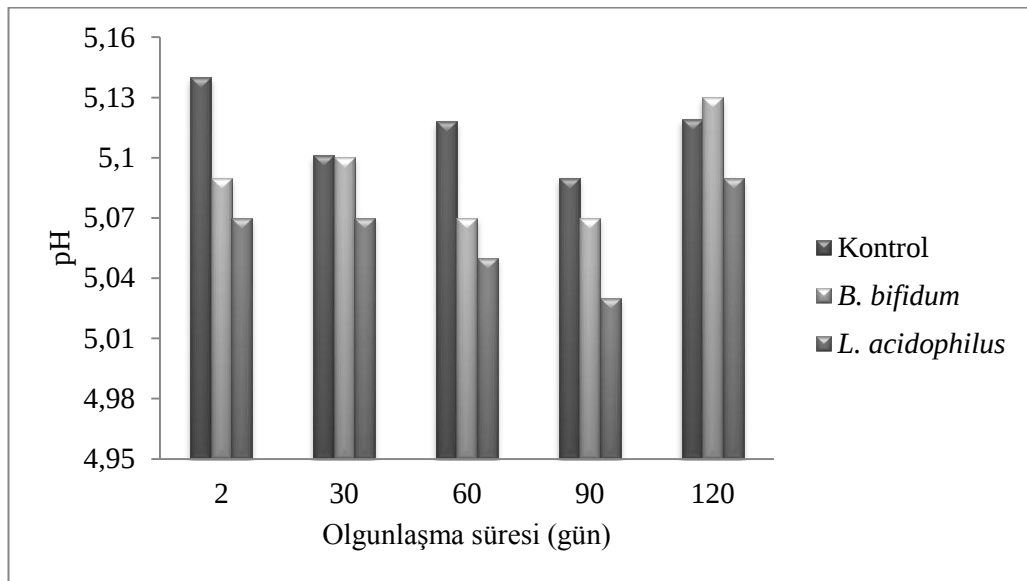
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	5,15 $\pm$ 0,04 ^{c,AB}	5,11 $\pm$ 0,02 ^{a,A}	5,14 $\pm$ 0,04 ^{b,A}	5,13 $\pm$ 0,01 ^{c,A}	5,21 $\pm$ 0,01 ^{e,B}
BS	5,11 $\pm$ 0,01 ^{abc,BC}	5,12 $\pm$ 0,04 ^{a,BC}	5,08 $\pm$ 0,01 ^{ab,AB}	5,03 $\pm$ 0,01 ^{ab,A}	5,17 $\pm$ 0,04 ^{d,C}
LS	5,09 $\pm$ 0,02 ^{abc,AB}	5,11 $\pm$ 0,06 ^{a,A}	5,03 $\pm$ 0,04 ^{ab,AB}	4,98 $\pm$ 0,06 ^{a,A}	5,12 $\pm$ 0,01 ^{c,A}
KV	5,12 $\pm$ 0,01 ^{bc,C}	5,10 $\pm$ 0,04 ^{a,BC}	5,10 $\pm$ 0,01 ^{ab,BC}	5,06 $\pm$ 0,02 ^{bc,AB}	5,03 $\pm$ 0,01 ^{a,A}
BV	5,07 $\pm$ 0,04 ^{ab,A}	5,08 $\pm$ 0,02 ^{a,A}	5,05 $\pm$ 0,01 ^{ab,A}	5,11 $\pm$ 0,02 ^{c,A}	5,10 $\pm$ 0,01 ^{bc,A}
LV	5,05 $\pm$ 0,01 ^{a,A}	5,04 $\pm$ 0,02 ^{a,A}	5,08 $\pm$ 0,07 ^{a,A}	5,09 $\pm$ 0,02 ^{bc,A}	5,06 $\pm$ 0,02 ^{ab,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.

Çizelge 4.25 incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerinin olgunlaşma süresince artış ve azalışlar gösterdiği, ancak bu değişikliklerin her örnekte aynı istatistiksel farklılığa sebep olmadığı görülmektedir. Gupta *et al.* (2009), Çedar peynirinin pH değerlerinde olgunlaşmanın 30. gününde azalma olduğunu, 30. günden sonra ise artış olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar, bu durumu olgunlaşmanın başlangıcında laktozun hızlı bir şekilde mikrobiyal degradasyona uğraması ile asitlik artışına paralel olarak pH'nın düşebileceği, daha sonra ise laktik asitin parçalanmasının ve proteoliz sonucu açığa çıkan bazik karakterli degradasyon ürünlerinin pH'yı yükseltebileceği şeklinde açıklamışlardır.

Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait kültür ilavesi × olgunlaşma süresi etkisi Şekil 4.9'da verilmiştir.

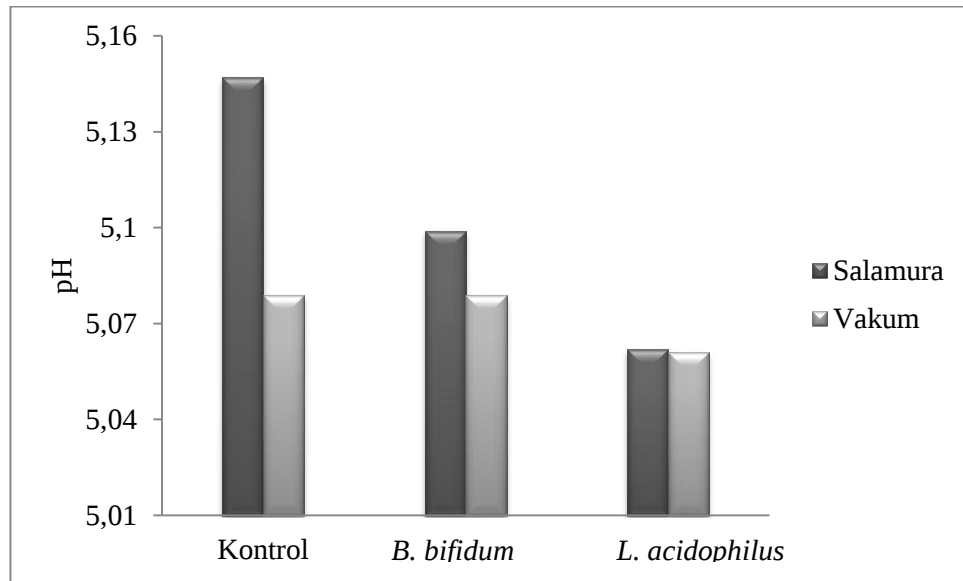


Şekil 4.9. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.9'un incelenmesinden anlaşılabileceği gibi, probiyotik kültür ilavesi peynirlerin pH değerleri üzerine istatistiksel olarak etkili bulunmuştur ($p < 0,01$). Buna göre, probiyotik kültür kullanılmayan kontrol örneklerinin pH değerleri diğer örneklerle göre daha yüksek bulunmuş ve en yüksek ortalama değer olgunlaşmanın 2. gününde

belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince en düşük ortalama pH değerleri ise *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynirlerde belirlenmiş ve olgunlaşmanın 120. gününde tüm peynir örneklerinin pH değerlerinde artış tespit edilmiştir. Benzer şekilde; Bergamini *et al.* (2006), *L. acidophilus* probiyotik kültürü ile ürettikleri yarı sert peynirlerin pH değerlerinde olgunlaşmanın son gününde artma saptamışlardır. Diğer taraftan, Buriti *et al.* (2005) ise *L. acidophilus* ilaveli Minas peynirinin pH değerlerinde olgunlaşma süresince azalma tespit etmişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerine ait kültür ilavesi × ambalaj etkisi Şekil 4.10’da verilmiştir.



Şekil 4.10. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi

Şekil 4.10’da görüldüğü gibi, en yüksek ortalama pH değerleri salamura olgunlaştırılmış kontrol örneklerinde, en düşük değerler ise vakum ambalajda olgunlaştırılmış *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli Beyaz peynir örneklerinde belirlenmiştir.

4.3.8. Protein oranı (%)

Beyaz peynir örneklerinin protein oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.26’da verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun protein oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi × ambalaj, kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksyonları ve üç değişkene ait interaksyonun protein oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.26. Beyaz peynir örneklerinin protein oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,200	1,173	0,323
Ambalaj (B)	1	200,385	1174,489	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	12,522	73,395	0,000**
A×B	2	0,341	2,000	0,153
A×C	8	0,024	0,141	0,996
B×C	4	13,325	78,100	0,000**
A×B×C	8	0,187	1,099	0,391
Hata	30	0,171		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen protein oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.27’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük protein oranı (%10,90) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek protein oranı (%16,76) ise KV kodlu peynir örneğinde olgunlaşmanın 30. gününde belirlenmiştir. Hayaloğlu (2003), farklı starter kültürler kullanarak ürettiği 3 farklı Beyaz peynirde toplam protein oranının %12,78–17,27 değerleri arasında değiştiğini belirlemiştir.

Çizelge 4.27. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen protein oranları (%)

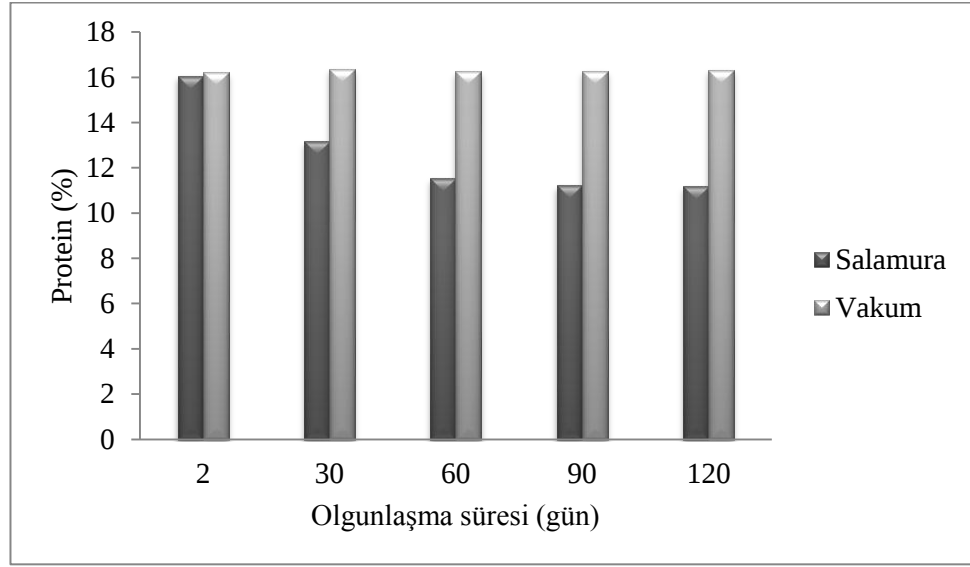
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	15,93±0,31 ^{a,C}	12,55±0,27 ^{a,B}	11,68±0,16 ^{a,A}	11,08±0,48 ^{a,A}	10,90±0,32 ^{a,A}
BS	16,16±0,08 ^{a,C}	13,24±0,88 ^{a,B}	11,38±0,24 ^{a,A}	11,17±0,44 ^{a,A}	11,34±0,19 ^{a,A}
LS	16,07±0,22 ^{a,C}	13,69±0,30 ^{a,B}	11,54±0,30 ^{a,A}	11,45±0,48 ^{a,A}	11,34±0,13 ^{a,A}
KV	16,22±0,16 ^{a,A}	16,76±0,12 ^{b,A}	16,14±0,20 ^{b,A}	16,29±1,14 ^{b,A}	16,52±0,32 ^{b,A}
BV	16,03±0,54 ^{a,A}	15,98±0,52 ^{b,A}	16,25±0,38 ^{b,A}	16,27±0,28 ^{b,A}	16,20±0,45 ^{b,A}
LV	16,38±0,14 ^{a,A}	16,34±0,35 ^{b,A}	16,41±0,23 ^{b,A}	16,31±0,21 ^{b,A}	16,26±0,59 ^{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.

Çizelge 4.27’den de görüldüğü gibi, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin protein oranlarında olgunlaşma süresince istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı; buna karşın salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranları giderek azaldığı ortaya konulmuştur. Benzer şekilde, Karaca (2007) ürettiği Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede protein oranlarının olgunlaşma süresince azaldığını ve bu azalmanın olgunlaşma süresince proteinlerin suda çözünür azotlu bileşiklere parçalanarak salamuraya geçmesiyle açıklanabileceğini bildirmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede protein oranlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.11’de verilmiştir.



Şekil 4.11. Beyaz peynir örneklerinin protein oranları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.11 incelendiğinde, salamura ve vakumda olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarının olgunlaşmanın 2. gününde benzer olduğu, olgunlaşma süresi ilerledikçe salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarının vakumda olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarından daha düşük olduğu görülmektedir.

4.4. Proteoliz

4.4.1. Suda çözünür azot oranı (%)

Peynirde olgunlaşmanın bir göstergesi olan proteoliz; genellikle yüksek, orta ve düşük molekül ağırlıklı peptitleri, serbest aminoasitleri ve azotlu bileşikleri içeren peynirin suda çözünür azot fraksiyonunun miktarının belirlenmesiyle ölçülmektedir (Christensen *et al.* 1991; McSweeney and Fox 1997).

Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.28’de verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun suda çözünür

azot değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni, kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonları ve üç değişkene ait interaksiyonun suda çözünür azot değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.28. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,000	0,408	0,669
Ambalaj (B)	1	0,138	237,135	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,317	546,318	0,000**
A $\times$ B	2	0,001	2,413	0,107
A $\times$ C	8	0,000	0,250	0,977
B $\times$ C	4	0,023	38,950	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,000	0,740	0,656
Hata	30	0,001		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azot değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.29’da verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük suda çözünür azot değeri (%0,11) KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek suda çözünür azot değeri (%0,62) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Beyaz peynirde olgunlaşma süresince suda çözünür azot miktarını Yilmaztekin *et al.* (2004) %0,317–0,527, Arslan (2005) %0,137–0,317 ve Tosun (2009) ise %0,26–1,28 arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 4.29. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azot değerleri (%)

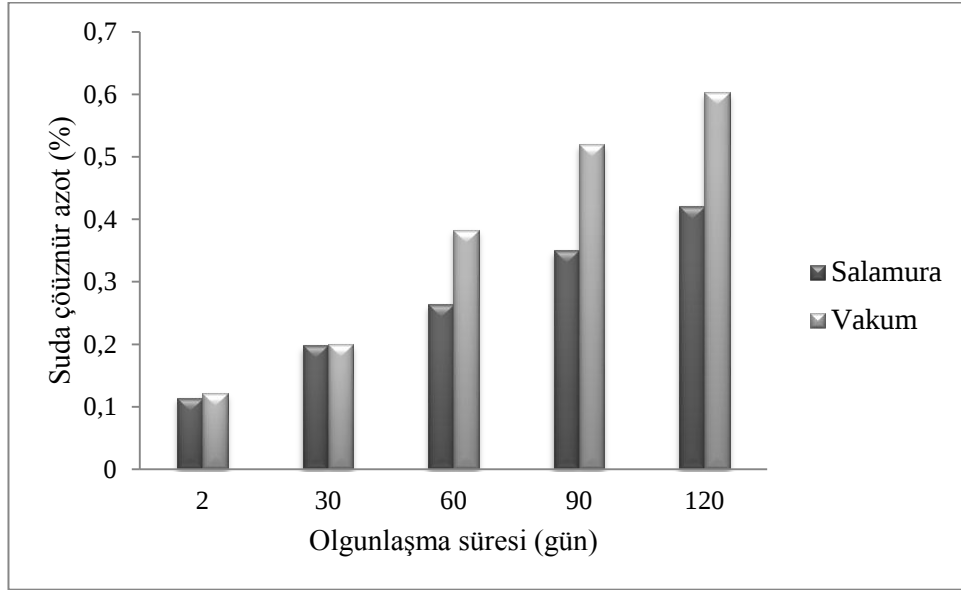
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	0,11±0,01 ^{a,A}	0,20±0,03 ^{a, B}	0,28±0,01 ^{a,C}	0,37±0,02 ^{a,D}	0,42±0,01 ^{a,D}
BS	0,12±0,01 ^{a,A}	0,19±0,02 ^{a,B}	0,28±0,02 ^{a,C}	0,34±0,02 ^{a,D}	0,43±0,04 ^{a,E}
LS	0,12±0,01 ^{a,A}	0,21±0,02 ^{a,B}	0,24±0,02 ^{a,B}	0,34±0,01 ^{a,C}	0,42±0,03 ^{a,D}
KV	0,12±0,00 ^{a,A}	0,20±0,01 ^{a,B}	0,37±0,01 ^{b,C}	0,51±0,00 ^{b,D}	0,59±0,02 ^{b,E}
BV	0,12±0,00 ^{a,A}	0,19±0,00 ^{a,B}	0,37±0,03 ^{b,C}	0,52±0,04 ^{b,D}	0,60±0,03 ^{b,E}
LV	0,13±0,01 ^{a,A}	0,21±0,01 ^{a,A}	0,41±0,05 ^{b,B}	0,53±0,05 ^{b,C}	0,62±0,03 ^{b,C}

^{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.

Çizelge 4.29 incelendiğinde, tüm örneklerin 120 günlük olgunlaşma süresince suda çözünür azot oranlarının arttığı ve Duncan çoklu karşılaştırma testi sonuçlarına göre bu artışların istatistiksel olarak önemli bulunduğu görülmektedir. Suda çözünür azot oluşumu üzerine plazmin ve peynir mayası gibi enzimler ile starter ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin etkisi bulunmaktadır. Beyaz peynirin diğer peynirlere göre daha yüksek su içeriğine sahip olması nedeniyle peynirde daha fazla oranda kalan peynir mayasının etkisiyle suda çözünür azot miktarı artmaktadır (Michaelidou *et al.* 1998). Bununla birlikte, suda çözünür azot miktarı üzerine maya ve küfler ile psikrofilik bakterilerin de etkisi bulunmaktadır. Yılmaztekin *et al.* (2004), *B. bifidum* ve *L. acidophilus*'un iki farklı inokülasyon oranı ile ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde bu bakterilerin zayıf bir proteolitik aktivite gösterdiklerini, diğer taraftan yüksek probiyotik inokulasyonu kullandıkları peynir örneklerinde hızlı bir proteoliz gerçekleştiğini belirlemişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerlerine ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Beyaz peynir örneklerinin suda çözümlü azot değerleri üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.12 incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinin suda çözümlü azot oranlarının giderek arttığı ve bu artışın 60. günden itibaren vakumda olgunlaştırılmış örneklerde daha fazla olduğu görülmektedir. Bu sonuca benzer olarak, Akalın and Karaman (2010), vakum ambalajda olgunlaştırdıkları Beyaz peynir örneklerinin suda çözümlü azot oranlarının salamura olgunlaştırdıklarına nazaran daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar salamura olgunlaştırılan peynirlerde olgunlaşma süresince artan yüksek tuz konsantrasyonuna bağlı olarak proteolizin engellenmesi nedeniyle bu peynirlerin daha düşük suda çözümlü azot oranlarına sahip olduğunu belirtmişlerdir. Benzer şekilde Madadlou *et al.* (2007), İran Beyaz peynirinde peynirin tuz içeriğinin artmasıyla birlikte suda çözümlü azot oranlarının azaldığını belirlemişlerdir.

4.4.2. Suda çözümlü azota göre olgunlaşma indeksi (%)

Peynirin protein ve su içerikleri farklılık gösterebileceğinden dolayı suda çözümlü azot genellikle toplam azota oranlanarak suda çözümlü azota göre olgunlaşma indeksi hesaplanmakta ve bu şekilde yapılan değlendirmeler daha objektif olabilmektedir. Beyaz

peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.30’da verilmiştir. Buna göre, suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ($p<0,01$) ve kültür ilavesi $\times$ ambalaj varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun etkisi ($p<0,05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi ve ambalaj değişkenleri, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi ve ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyon ile üç değişkene ait interaksiyonun suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.30. Beyaz Peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,147	0,117	0,890
Ambalaj (B)	1	0,896	0,713	0,405
Olgunlaşma süresi (C)	4	747,292	594,497	0,000**
A $\times$ B	2	4,810	3,826	0,033*
A $\times$ C	8	0,452	0,360	0,934
B $\times$ C	4	2,759	2,195	0,094
A $\times$ B $\times$ C	8	0,928	0,738	0,658
Hata	30	1,257		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.31’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük değer (%4,36) KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%24,37) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Dagdemir *et al.* (2003), farklı ticari starter kültürler kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde ortalama suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerini %27–36,70 arasında belirlemişlerdir. Gürsel vd (2003), Beyaz peynir üretiminde, *L. helveticus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* bakterilerini yardımcı kültür olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar, 90 günlük olgunlaşma süresince suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerini az yağlı kontrol örneğinde %8,32–20,61, az yağlı *L. helveticus*’lu

örnekte %11,08–25,51, az yağlı *L. bulgaricus*'lu örnekte ise %10,95–22,90 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar yardımcı kültür kullanımının peynirlerin genel bileşimini etkilemediğini, ancak olgunlaşmayı hızlandırdığını ifade etmişlerdir. Buna göre, bu çalışmada belirlenen değerler Dagdemir *et al.* (2003)'in belirlediği değerlerden düşük, Gürsel vd (2003)'in belirlediği değerlere ise yakın bulunmuştur.

Çizelge 4.31. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)

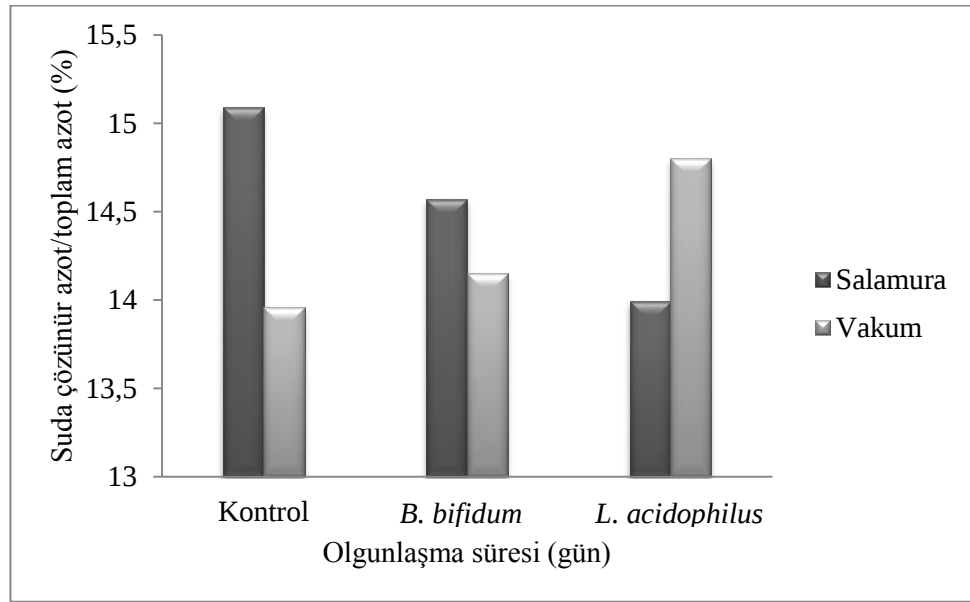
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	4,36±0,42 ^{a,A}	10,01±1,94 ^{b,B}	15,21±0,61 ^{a,C}	21,49±1,95 ^{a,D}	24,37±0,80 ^{a,C}
BS	4,60±0,00 ^{a,A}	9,31±0,30 ^{ab,B}	15,46±1,24 ^{a,C}	19,40±1,65 ^{a,D}	24,10±1,86 ^{a,E}
LS	4,67±0,32 ^{a,A}	9,54±0,74 ^{ab,B}	13,15±0,68 ^{a,C}	18,95±0,68 ^{a,D}	23,65±1,87 ^{a,E}
KV	4,70±0,24 ^{a,A}	7,43±0,62 ^{a,B}	14,66±0,10 ^{a,C}	20,17±1,34 ^{a,D}	22,85±1,19 ^{a,E}
BV	4,74±0,11 ^{a,A}	7,64±0,12 ^{a,B}	14,40±0,94 ^{a,C}	20,46±1,95 ^{a,D}	23,53±0,47 ^{a,E}
LV	4,89±0,57 ^{a,A}	8,32±0,15 ^{ab,B}	15,98±2,05 ^{a,C}	20,53±1,81 ^{a,D}	24,32±0,20 ^{a,E}

^{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.

Çizelge 4.31 incelendiğinde, peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin örnekler açısından istatistiksel olarak önemli bir farklılığın olmadığı görülmektedir. Diğer taraftan, bu değerlerin olgunlaşma süresince önemli düzeyde (p<0,01) arttığı izlenmektedir. Benzer şekilde, Güven ve Karaca (2001), Katsiari *et al.* (2002); Cinbaş and Kılıç (2006), Göncü ve Alpkent (2005) ve Akalın and Karaman (2007) Beyaz peynirde olgunlaşma süresince suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin arttığını ifade etmişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait kültür ilavesi × ambalaj interaksyonu Şekil 4.13'te verilmiştir.



Şekil 4.13. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi

Şekil 4.13'te kontrol ve *B. bifidum* DSMZ 20456 ilaveli salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin ortalama suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin vakumda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha fazla olduğu, *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneklerinde ise bunun tersi olduğu görülmektedir.

4.4.3. %12'lik TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi (%)

TCA'da çözünür azot fraksiyonu orta ve küçük molekül ağırlıklı (<3000 dalton) peptitler, aminoasitler ve aminler, üre ve amonyum gibi daha küçük azotlu bileşikleri içermektedir (Ardö 1999). Bu fraksiyon, peynirde olgunlaşmanın yorumlanmasında kullanılan önemli bir parametre olmasıyla önem arz etmektedir. Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.32'de verilmiştir. Ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunurken, kültür ilavesi değişkeninin ve değişkenlere ait interaksiyonların TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.32. Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,356	1,646	0,210
Ambalaj (B)	1	8,435	38,948	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	35,420	163,562	0,000**
A×B	2	0,034	0,156	0,856
A×C	8	0,054	0,251	0,977
B×C	4	0,307	1,419	0,252
A×B×C	8	0,133	0,616	0,757
Hata	30	0,217		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.33'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%1,72) KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%7,26) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Parrot *et al.* (2003), Emmental peynirinde ve Adt *et al.* (2011) İsviçre peyniri olan Beafort peynirinde TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin sırasıyla %5–%32 ve %17–%40 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Bu değerlerin, bizim çalışmamızda bulunan değerlerle kıyaslandığında çok yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.33. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	1,72±0,15 ^{a,A}	3,18±0,18 ^{a,B}	3,63±0,84 ^{a,BC}	4,60±0,37 ^{a,C}	5,63±0,50 ^{a,D}
BS	1,74±0,12 ^{a,A}	3,10±0,34 ^{a,B}	3,73±0,59 ^{a,B}	4,74±0,06 ^{a,C}	5,89±0,46 ^{a,D}
LS	1,85±0,23 ^{a,A}	3,10±0,10 ^{a,B}	4,26±0,03 ^{a,C}	5,02±0,29 ^{ab,D}	6,19±0,01 ^{ac,E}
KV	2,07±0,05 ^{ab,A}	3,26±0,04 ^{a,AB}	5,00±1,86 ^{a,BC}	5,43±0,06 ^{ab,BC}	6,98±0,02 ^{bc,C}
BV	2,43±0,03 ^{b,A}	3,69±0,45 ^{ab,B}	4,59±0,11 ^{a,C}	5,25±0,31 ^{ab,C}	7,23±0,20 ^{b,D}
LV	2,12±0,28 ^{ab,A}	4,04±0,27 ^{b,B}	4,57±0,27 ^{a,B}	5,70±0,65 ^{b,C}	7,26±0,18 ^{b,D}

^{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.

Çizelge 4.33 incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte istatistiksel olarak önemli düzeyde ($p<0,01$) arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, vakum ambalajlanmış örneklerin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin özellikle 120. günde, salamurada olgunlaştırılmış örneklerde bulunan değerlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. En yüksek TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneğinde belirlenmiştir (Çizelge 4.33). Bu durum, vakum ambalajın düşük oksijen geçirgenliğinin bakterilerin proteinaz aktivitesine katkıda bulunmuş olabileceğinin bir sonucu olabilir. Bununla ilgili olarak; Fox *et al.* (1993), rennet, bakterial proteinaz ve peptidazların TCA'da çözünür azot fraksiyonunun bir kısmının oluşumundan sorumlu olduklarını bildirmişlerdir. Benzer şekilde, Hayaloglu *et al.* (2012), vakum ambalajlanmış Mihaliç peyniri örneklerinin TCA'da çözünür azot miktarının salamuradaki peynir örnekleri ile kıyaslandığında önemli derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca 360 günlük olgunlaşma süresinin sonunda peynirlerin TCA'da çözünür azot miktarlarının başlangıç miktarına göre beş kat arttığını tespit etmişlerdir. Ong and Shah (2008), farklı probiyotik kültürler ilave ederek ürettikleri Çedar peynirinde *L. acidophilus* ve *L. helveticus* ilaveli peynirlerin TCA'da çözünür azot miktarlarının diğer peynirlere göre önemli derecede yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Diğer taraftan, Milesi *et al.* (2009), potansiyel probiyotik özelliği olan dört farklı laktobasil suşu (*L. casei* I90, *L. plantarum* I91, and *L. rhamnosus* I73 and I75) kullanmışlardır. Araştırmada, ürettikleri yumuşak ve yarı sert peynir olan Cremoso ve Pategras peynirlerinde ilave kültürlerin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine istatistiksel olarak önemli bir farklılığa sebep olmadıklarını saptamışlardır.

4.4.4. %5'lik PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi (%)

Peynirde PTA'da çözünür fraksiyonu 600 Dalton'dan daha küçük molekül ağırlığına sahip peptit ve aminoasitler oluşturmakta olup, bu azot fraksiyonunun esas olarak starter

ve starter olmayan mikroorganizmaların peptidazlarının aktivitesi sonucu olduğu düşünülmektedir (Fox *et al.* 1993; Scolari *et al.* 1993).

Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.34'te verilmiştir. Buna göre, sadece olgunlaşma süresi değişkeninin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunurken, ambalaj ve kültür ilavesi değişkenlerinin ve değişkenlere ait interaksiyonların PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.34. Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,232	2,364	0,111
Ambalaj (B)	1	0,192	1,960	0,172
Olgunlaşma süresi (C)	4	7,761	79,237	0,000**
A×B	2	0,171	1,751	0,191
A×C	8	0,092	0,941	0,498
B×C	4	0,020	0,199	0,937
A×B×C	8	0,102	1,045	0,426
Hata	30	0,098		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.35'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%1,28) KV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değeri (%4,09) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Karaca (2007) mikrobiyal ve proteolitik enzim kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinin 90 günlük olgunlaşma süresince PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin %1,54–3,10 arasında değiştiğini ortaya koymuştur. Bu değerler çalışmamızda bulunan değerlere yakınlık göstermektedir.

Çizelge 4.35. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	1,38±0,11 ^{a,A}	2,19±0,02 ^{a,B}	2,65±0,16 ^{a,AB}	2,86±0,41 ^{a,C}	3,57±0,19 ^{a,D}
BS	1,34±0,06 ^{a,A}	2,27±0,70 ^{a,AB}	2,64±0,29 ^{a,B}	3,21±0,53 ^{a,B}	3,44±0,30 ^{a,B}
LS	1,33±0,01 ^{a,A}	2,07±0,01 ^{a,B}	2,88±0,00 ^{a,C}	2,90±0,20 ^{a,C}	3,58±0,32 ^{a,D}
KV	1,28±0,02 ^{a,A}	1,76±0,07 ^{a,A}	2,93±0,11 ^{a,B}	2,94±0,39 ^{a,B}	3,33±0,33 ^{a,B}
BV	1,96±0,69 ^{a,A}	2,38±0,58 ^{a,AB}	2,66±0,28 ^{a,AB}	3,06±0,24 ^{a,AB}	3,52±0,45 ^{a,B}
LV	1,52±0,15 ^{a,A}	2,66±0,19 ^{a,B}	2,91±0,14 ^{a,B}	3,00±0,11 ^{a,B}	4,09±0,03 ^{a,C}

^{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.

Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri tüm örneklerde olgunlaşma süresince giderek artmış ve bu artış istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Çizelge 4.35). Bu sonuca benzer olarak, Karagul–Yuceer *et al.* (2009) salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırdıkları Ezine peynirlerinde 9 aylık olgunlaşma süresince PTA'da çözünür azot miktarlarının hızlı bir şekilde arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada, ilave kültür kullanımının peynirlerin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmasına rağmen en yüksek değer vakum ambalajda olgunlaştırılmış ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneğinde (LV) bulunmuştur. Bu durum, bakterinin vakum ortamında proteolize katkıda bulunmuş olabileceğinin göstergesi olabilir. Madkor *et al.* (2000), Hynes *et al.* (2003) ve Ong and Shah (2008) laktobasil ilavesinin peynirde PTA'da çözünür azot miktarını arttırdığını belirlemişlerdir. Bergamini *et al.* (2006) *L. acidophilus* ilave ederek ürettikleri yarı–sert probiyotik peynirlerde PTA'da çözünür azot ve serbest aminoasit miktarının *L. paracasei* ilavesiyle ürettikleri peynirlerde belirledikleri miktardan da yüksek olduğunu bulmuşlar ve bu sonucun *L. acidophilus*'un peptolitik sisteminin diğer bakteriye kıyasla daha aktif olabileceği kanısına varmışlardır. Diğer taraftan, Poveda *et al.* (2003) Manchego peynirinde ve Milesi *et al.* (2009) ise Cremoso ve Pategras peynirlerinde olgunlaşma süresince laktobasil ilavesinin PTA'da çözünür azot oranlarını etkilemediğini tespit etmişlerdir.

4.4.5. Toplam serbest aminoasit değeri (507 nm'deki absorbans)

Beyaz peynir örneklerinde toplam serbest aminoasit değerleri, spektrofotometrik olarak 507 nm'de saptanan absorbans değerleri cinsinden belirlenmiştir. Peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.36'da sunulmuştur. Buna göre, kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ve bu değişkenlere ait interaksiyonların tümünün toplam serbest aminoasit değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur.

Çizelge 4.36. Beyaz Peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,037	208,949	0,000**
Ambalaj (B)	1	0,199	1141,452	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	0,414	2370,380	0,000**
A×B	2	0,011	61,047	0,000**
A×C	8	0,020	114,106	0,000**
B×C	4	0,030	169,205	0,000**
A×B×C	8	0,010	57,209	0,000**
Hata	30	0,000		
Genel	60			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli ** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen toplam serbest aminoasit değerleri standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.37'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük toplam serbest aminoasit değeri (0,234) KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek toplam serbest aminoasit değeri (0,858) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Karaca (2007) mikrobiyal ve proteolitik enzim kullanarak ürettikleri Beyaz peynir örneklerinde en yüksek toplam serbest aminoasit değerini olgunlaşmanın 90. gününde 0,287 olarak belirlemiştir. Bu değer, bu çalışmada elde edilen değerlere göre düşük olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.37. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen toplam serbest aminoasit değerleri (507 nm’deki absorbands)

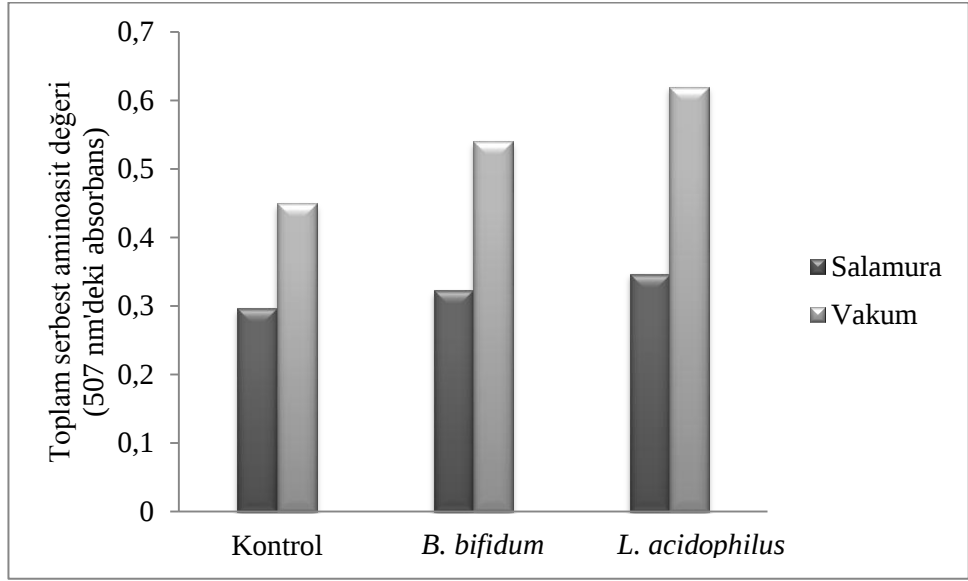
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	0,234±0,01 ^{a,A}	0,258±0,02 ^{a,A}	0,397±0,01 ^{b,B}
BS	0,281±0,01 ^{b,A}	0,334±0,00 ^{b,B}	0,354±0,01 ^{a,B}
LS	0,241±0,01 ^{a,A}	0,305±0,00 ^{b,B}	0,495±0,00 ^{c,C}
KV	0,370±0,01 ^{c,A}	0,410±0,01 ^{c,A}	0,571±0,03 ^{d,B}
BV	0,400±0,00 ^{d,A}	0,526±0,02 ^{d,B}	0,693±0,02 ^{e,C}
LV	0,295±0,00 ^{b,A}	0,707±0,01 ^{e,B}	0,858±0,00 ^{f,C}

^{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.

Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerinin tüm örneklerde olgunlaşma süresince giderek arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.37). Bununla birlikte, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin toplam serbest aminoasit değerlerinin salamura depolanan örneklerden daha yüksek olduğu da görülmektedir. Hayaloglu *et al.* (2012) salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırdıkları Mihaliç peynirinde toplam aminoasit içeriklerinin önemli ölçüde farklılıklar gösterdiğini ve olgunlaşmanın 360. gününde 507 nm’de ölçülen toplam aminoasit değerlerine ait absorbandsların vakum ambalajlanmış örneklerde 3’e, salamura örneklerde ise 2,4’e yükseldiğini rapor etmişlerdir.

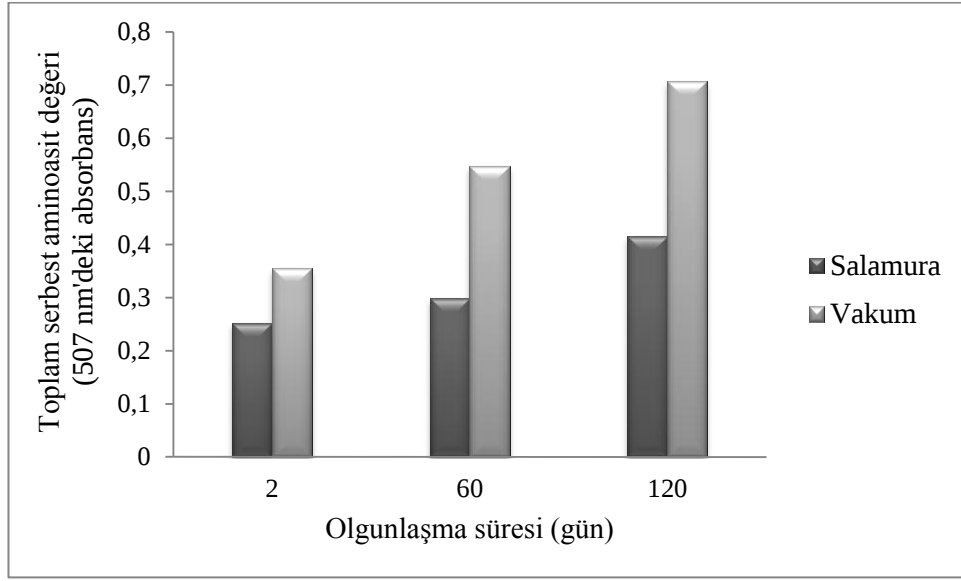
Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait kültür ilavesi × ambalaj interaksyonu Şekil 4.14’te verilmiştir.



Şekil 4.14. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi

Şekil 4.14 incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit içeriklerinin vakum ambalajlanmış örneklerde ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneklerinde en fazla olduğu görülmektedir. Çoğu araştırmacı peynire ilave kültür olarak katılan laktobasillerin serbest aminoasit miktarının artışına önemli katkıda bulunduğunu saptamışlardır (Drake *et al.* 1996; Madkor *et al.* 1999, 2000; Tungjaroenchai *et al.* 2001; Di Cagno *et al.* 2005; Hashemi *et al.* 2009).

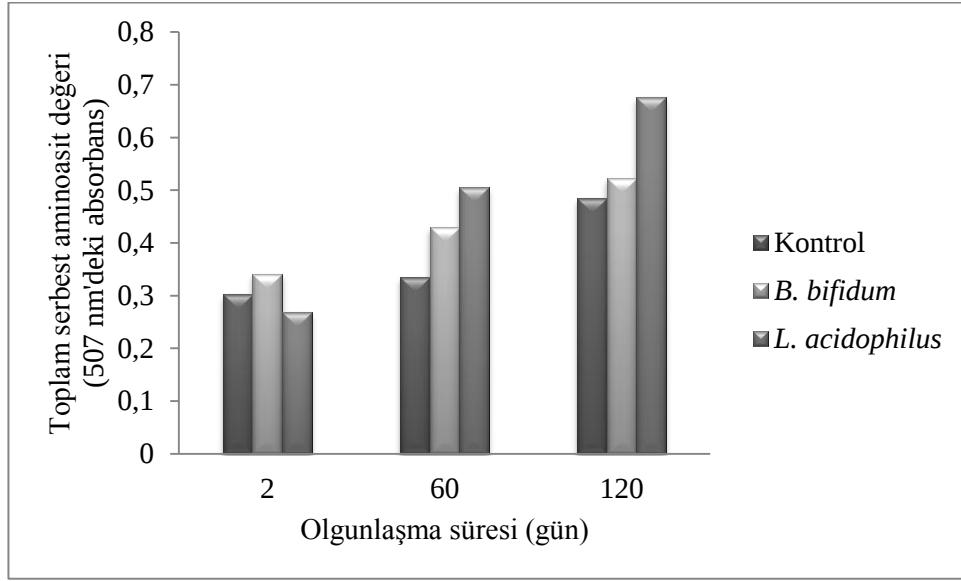
Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.15'te verilmiştir.



Şekil 4.15. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.15 incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinde farklı ambalaj uygulamasının toplam aminoasit miktarlarını önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Buna göre, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin toplam aminoasit miktarları salamura da olgunlaştırılmış peynirlerinkinden daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, tüm örneklerin toplam aminoasit miktarlarının depolama süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığı da belirlenmiştir (Şekil 4.15). Bu sonuçlar, bu çalışmada belirlenen diğer proteoliz sonuçlarıyla da paralellik arz etmektedir.

Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerlerine ait kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.16'da verilmiştir.



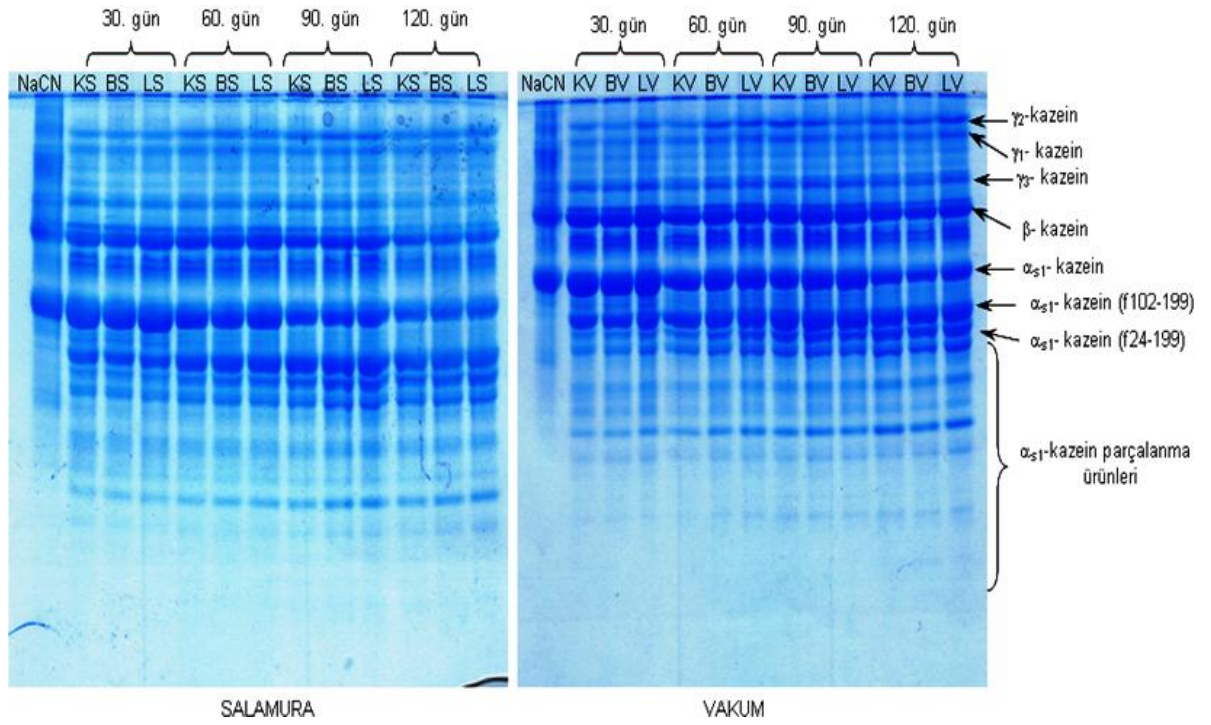
Şekil 4.16. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresi etkisi

Peynirde serbest aminoasitlerin oluşumundan starter kültürlerin peptidazları ve kimozinin sorumlu olduğu bildirilmektedir (Lane and Fox 1996). Şekil 4.16’da da görüldüğü gibi olgunlaşmanın başlangıcında en yüksek serbest aminoasit miktarının *B. bifidum* DSMZ 20456 ilaveli peynir örneklerinde olduğu, ancak olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde ise *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli örneklerde olduğu görülmektedir. Bu sonuç, ilave kültürlerin serbest aminoasit oluşumuna önemli ölçüde katkıda bulunduğunun göstergesidir.

4.4.6. Elektroforetik olarak (üre–PAGE) belirlenen proteoliz

Beyaz peynir örneklerinin üre–PAGE elektroforetik analizleri pH 4,6’da çözünmeyen fraksiyonları kullanılarak yapılmış olup, olgunlaşmanın 30, 60, 90. ve 120. günlerinde elde edilen elektroforetogramlar ve bunların dansitometrik sonuçları alınarak kalıntı α_{s1} –kazein oranları belirlenmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6’da çözünmeyen fraksiyonunda olgunlaşmanın 30, 60, 90. ve 120. günlerinde belirlenmiş olan elektroforetogram Şekil 4.17’de verilmiştir.



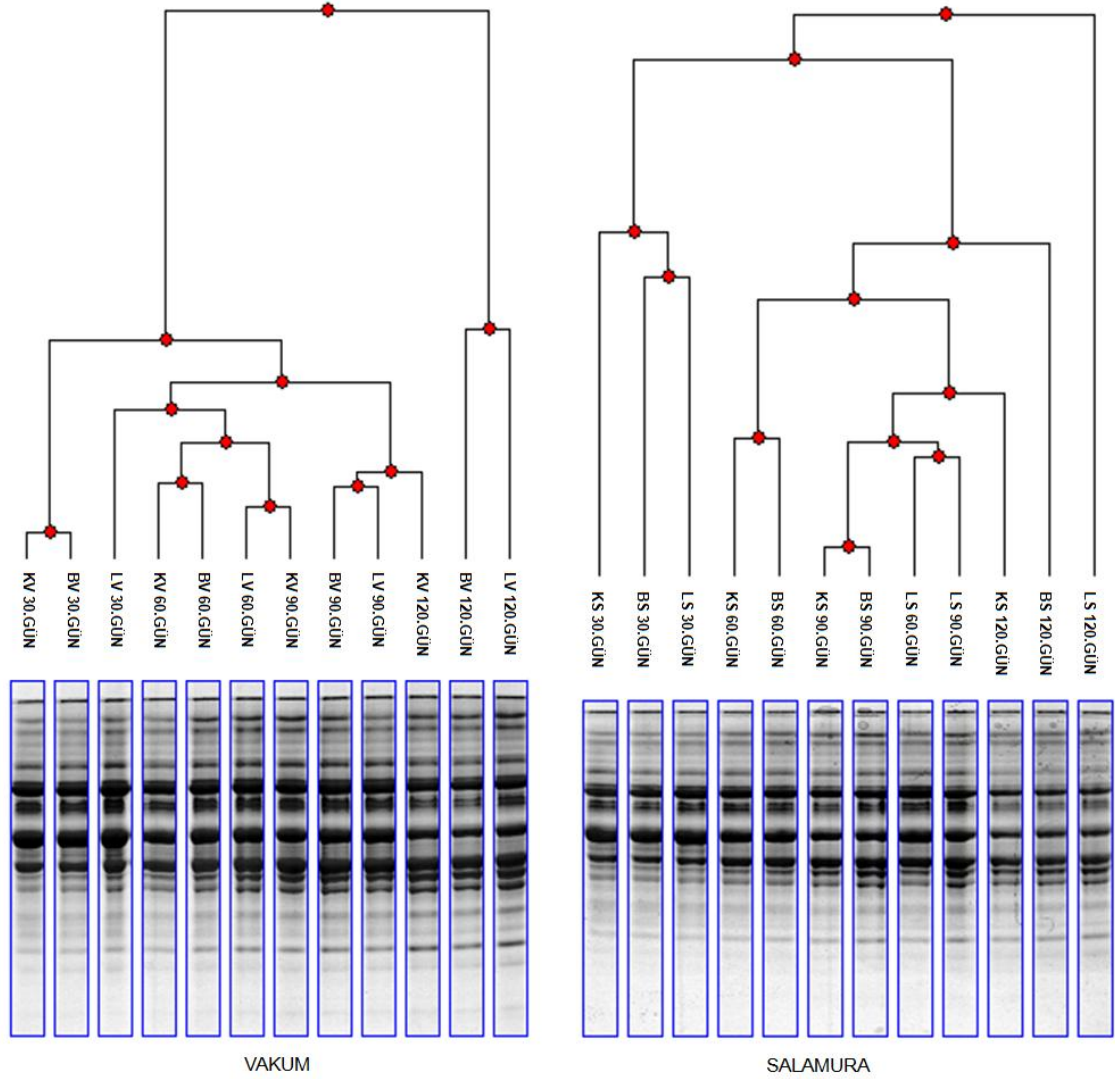
Şekil 4.17. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforetogramı (NaCN: Standart sodyum-kazeinat)

Şekil 4.17'de salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerinin olgunlaşma süresince kazein fraksiyonlarındaki değişim izlenmektedir. Her iki şekilde de 1. bant sodyum-kazeinatı, diğer bantlar da sırasıyla peynirlerin kazein fraksiyonlarının farklı olgunlaşma günlerindeki elektroforetik özelliklerini göstermektedir. Buna göre, tüm örneklerde olgunlaşma süresinin sonuna gelindiğinde β -kazein degradasyonunun α_{s1} -kazeinde meydana gelen degradasyona nazaran daha az olduğu görülmektedir. Benzer durum, Kılıç *et al.* (2009) tarafından yapılan çalışmada probiyotik kültür kullanarak ürettikleri Beyaz peynirlerde de belirlenmiştir. Buna ilaveten, bazı araştırmacılar starter kültür kullanılarak üretilen peynirlerde α_{s1} -kazeinin hızlı bir şekilde hidrolize olduğunu, buna karşın β -kazeinin olgunlaşma süresince starter enzimlerinin hidrolizine direnç gösterebildiğini ifade etmişlerdir (Visser and de Groot-Mastert 1977; Abd El-Salam *et al.* 1993; Fox *et al.* 1993). Diğer taraftan, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin α_{s1} -kazein ve β -kazein hidrolizinin vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerde meydana gelen hidrolize nisbeten daha fazla olduğu, ancak α_{s1} -kazeinin ileri parçalanma ürünlerinin ise vakum ambalajlı örneklerde daha çok

oluştugu gör÷lmektedir (Şekil 4.17). Diğer bir ifade ile Şekil 4.17 incelendiğinde, primer proteolizin göstergesi olan α_{s1} -kazein ve β -kazeinin başlangıç hidrolizinin salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde daha fazla olduğu, sekonder proteolizin göstergesi olan küçük peptitler ve aminoasitler gibi ileri parçalanma ürünlerinin oluşumunun ise vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde daha fazla gerçekleştiğı gör÷lmektedir. Peynirde kazeinin primer proteolizinin çoğunlukla kalıntı kimozin tarafından, sekonder proteolizin ise starter olarak kullanılan kültürlerin enzimleri tarafından gerçekleştiğı bildirilmektedir (Broadbent *et al.* 2002). Bununla birlikte, salamurada olgunlaştırılan peynirlerde yüksek su içeriğı ve uygun ortam şartlarının kimozinin kazein üzerindeki aktivitesini hızlandırdığı belirtilmektedir. Bu ifadeler, çalışmamızda elde edilen bu sonucun açıklaması olarak kabul edilebilir. Nitekim Bulat (2011), olgunlaşmanın ilk gününde tüm peynir örneklerinde α_{s1} -kazein (f24–199) oluşumu tespit ettiğini ve bu durumun peynir yapısında kalan kimozinin α_{s1} -kazeini ilk 24 saatte hidrolize etmesinin bir sonucu olduğunu ifade etmiştir.

Şekil 4.17'deki jeller incelendiğinde, α_{s1} -kazein fraksiyonlarının olgunlaşma süresince giderek arttığı gör÷lmektedir. Bu fraksiyonlar [α_{s1} -kazein (f102–199), α_{s1} -kazein-(f24–199)] ağırlıklı olarak starter enzimleri tarafından üretilmekte (Law *et al.* 1992) ve önce kimozin sonra da laktokok enzimleri tarafından daha küçük peptitlere hidrolize edilmektedir (Fox *et al.* 1996). Diğer taraftan, β -kazein bandının hemen üzerinde gör÷len γ -kazein fraksiyonlarına bakıldığında, olgunlaşmanın ilerlemesiyle tüm örneklerde fark edilebilir bir değışiklik gör÷lmemekle beraber vakum ambalajlanmış örneklerde bilhassa γ_3 -kazein fraksiyonunda bir artış göze çarpmaktadır. Bu durum *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli LV kodlu peynir örneğinde daha fazladır. γ -kazein konsantrasyonundaki artışın plazmin aktivitesine bağılı olarak β -kazeinin hidrolizi sonucu gerçekleştiğı bildirilmektedir (Fox *et al.* 1994). Salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin tuz konsantrasyonunun yüksek oluşu plazmin aktivitesini olumsuz yönde etkilediğinden γ -kazein konsantrasyonundaki artış, vakum ambalajlanmış örneklere göre daha az gerçekleşmiş olabilir.

Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik analizlerinin aşamalı kümeleme analizine ait dendrogram Şekil 4.18'de sunulmuştur.



Şekil 4.18. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünmeyen fraksiyonlarının elektroforetik analizlerinin aşamalı kümeleme analizi (Hierarchical Cluster Analysis)

Dendrogram incelendiğinde, vakum ve salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin her ikisinde de *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli örneklerin daha çok bir sonraki olgunlaşma günündeki örneklerle kümelendiği görülmektedir. Örneğin; LS örneğinin 60. günü ile 90. günü, LV örneğinin 60. günü ile KV örneğinin 90. günü elde edilmiş jelleri birlikte kümelendiştir. Buna ilaveten, olgunlaşmanın 120. gününde *B. bifidum*

DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli vakum ambalajlanmış örneklerin diğer örneklerden ayrılarak aynı grup altında kümelendiği, salamurada olgunlaştırılmış *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli örneğin ise son günde diğer örneklerden farklı gruplandığı göze çarpmaktadır. Bu durum, kullanılan probiyotik kültürlerin proteolize katkısı olduğunu göstermektedir.

Beyaz peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} -kazein oranlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.38’de verilmiştir. Buna göre, kültür ilavesi ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi değişkenlerine ait interaksiyonun kalıntı α_{s1} -kazein oranları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak $p<0,01$ seviyesinde önemli bulunurken, ambalaj değişkeninin etkisi ise $p<0,05$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi $\times$ ambalaj ve kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonlar ile üç değişkene ait interaksiyonun kalıntı α_{s1} -kazein oranları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.38. Beyaz Peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} -kazein oranlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	111,579	13,314	0,000**
Ambalaj (B)	1	50,430	6,017	0,022*
Olgunlaşma süresi (C)	4	4802,253	1600,751	0,000**
A $\times$ B	2	20,270	2,419	0,110
A $\times$ C	8	19,526	2,330	0,065
B $\times$ C	4	48,747	5,817	0,004**
A $\times$ B $\times$ C	8	13,038	1,556	0,203
Hata	30	8,381		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli

** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kalıntı α_{s1} -kazein oranları standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.39’da verilmiştir. Yapılan dansitometrik hesaplamaya göre olgunlaşmanın 30. gününde peynir örneklerinde belirlenen α_{s1} -kazein bandına ait alan 100 olarak kabul edilmiş, sonraki günlerde oluşan bantların alanı da buna göre belirlenmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük kalıntı α_{s1} -kazein oranı (%66,75) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.39. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen kalıntı α_{s1} –kazein oranları (%)

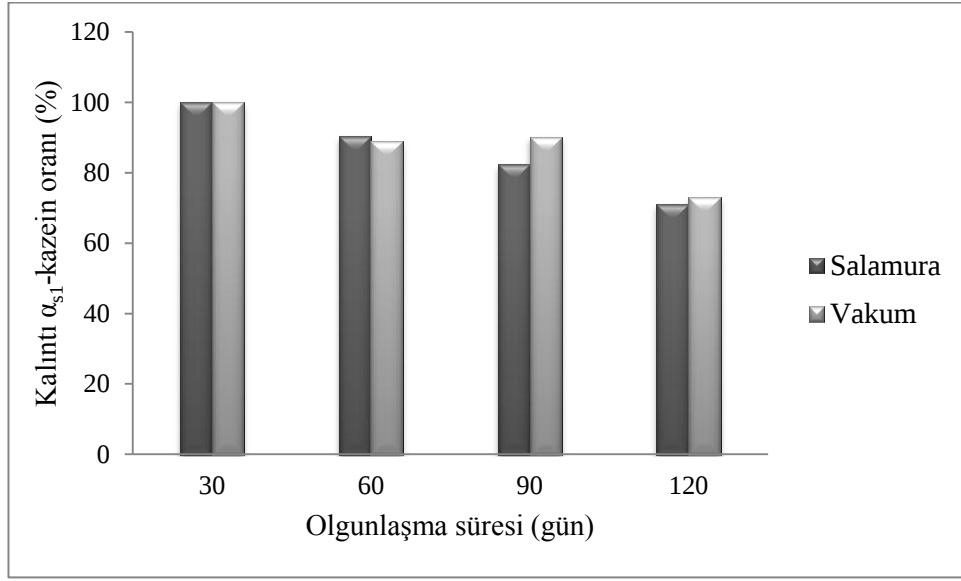
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)			
	30	60	90	120
KS	100,00 ^{a,C}	85,38±1,27 ^{a,B}	76,75±3,62 ^{a,B}	66,75±5,58 ^{a,A}
BS	100,00 ^{a,C}	93,68±0,78 ^{c,BC}	88,52±2,63 ^{bc,B}	76,67±5,81 ^{a,A}
LS	100,00 ^{a,D}	92,11±0,88 ^{bc,C}	82,06±0,00 ^{ab,B}	69,88±2,73 ^{a,A}
KV	100,00 ^{a,C}	86,40±1,55 ^{a,B}	87,35±2,74 ^{bc,B}	73,01±2,81 ^{a,A}
BV	100,00 ^{a,B}	93,08±4,35 ^{c,B}	94,97±1,67 ^{c,B}	70,90±2,73 ^{a,A}
LV	100,00 ^{a,C}	87,37±0,49 ^{ab,B}	88,22±0,14 ^{bc,B}	75,10±2,98 ^{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.

Çizelge 4.39 incelendiğinde, peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} –kazein oranının olgunlaşmanın başlangıcından sonuna doğru giderek azaldığı ve olgunlaşma süresinin sonunda kalıntı α_{s1} –kazein oranının %66’dan fazla olduğu görülmektedir. Moatsou *et al.* (2004), Feta peynirinde olgunlaşmanın 180. gününde, Karaca (2007) ise Beyaz peynirde, olgunlaşmanın 90. gününde kalıntı α_{s1} –kazein oranının %35–%40 civarında olduğunu tespit etmişlerdir. Bu araştırmacıların peynirde belirlemiş oldukları α_{s1} –kazeindeki degradasyon oranı bu çalışmada elde edilen oranlardan daha yüksek bulunmuştur.

Beyaz peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} –kazein oranlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.19’da verilmiştir.



Şekil 4.19. Beyaz peynir örneklerinin α_{s1} -kazein oranları üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.19’da α_{s1} -kazein faraksiyonunun olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte degradasyona uğradığı ve miktarının azaldığı görülmektedir. Degradasyonun salamura da olgunlaştırılmış peynir örneklerinde özellikle olgunlaşmanın 90. gününde daha belirgin olduğu da görülmektedir.

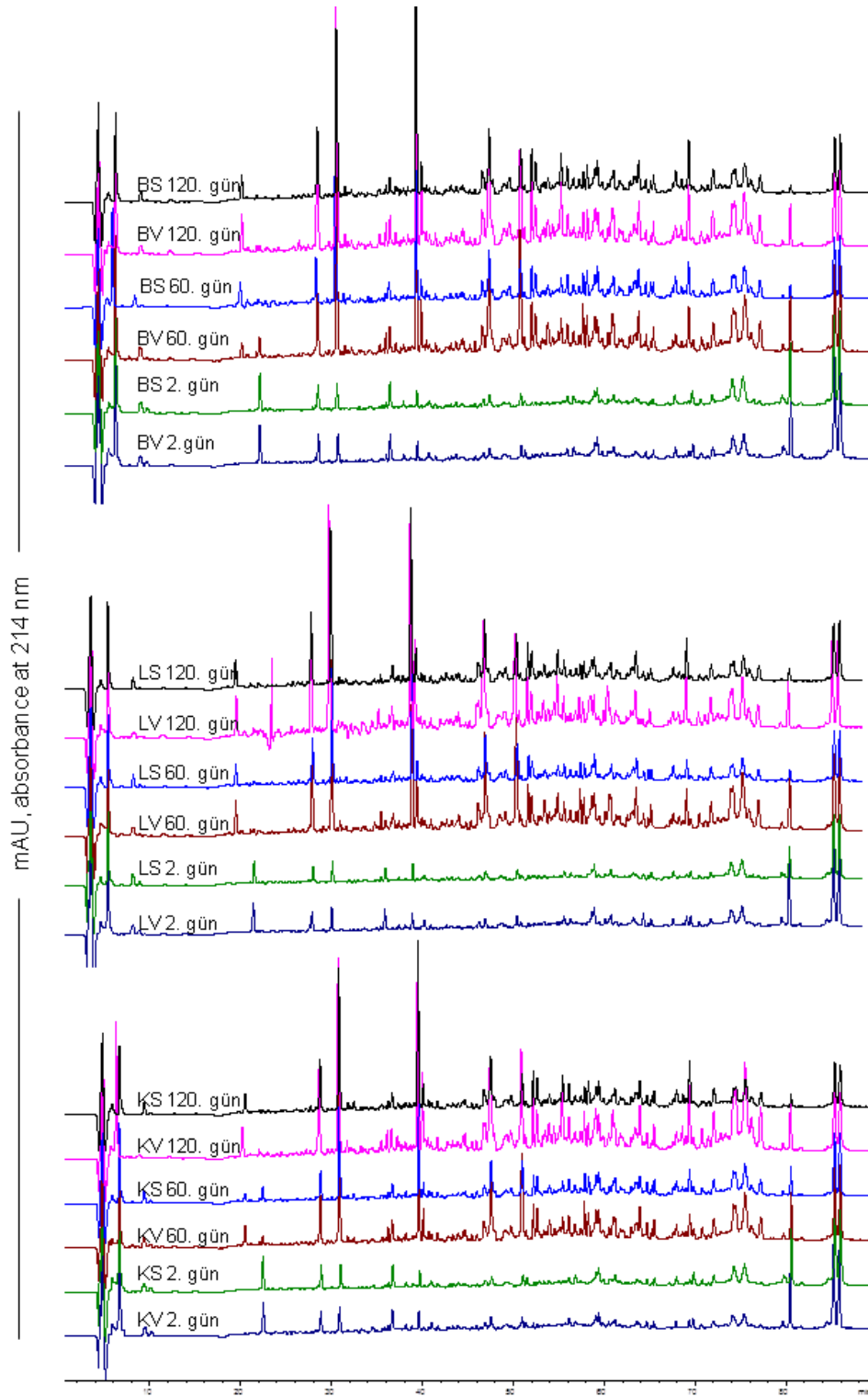
4.4.7. RP-HPLC ile kromatografik olarak belirlenen proteoliz: peptit profili

Protein ve peptit ayrımında kullanılan RP-HPLC, peynirde olgunlaşmanın bir göstergesi olarak kullanılan yaygın bir tekniktir. HPLC kromatogramlarında oluşan pik sayısı, yüksekliği ve oluştuğu alan (hidrofilik ve hidrofobik bölge) peynirlerde sekonder proteoliz hakkında bilgi vermektedir. Araştırmacılar, peynir ekstraktlarının RP-HPLC kromatogramlarının farklı molekül ağırlığındaki peptitlerin dizilimini gösterdiğini ve peynirlerin peptit konsantrasyonları arasındaki farklılığı net bir biçimde ortaya koyduğunu bildirmektedirler (McSweeney and Fox 1997; Hayaloğlu 2003).

Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6’da çözünür fraksiyonlarının RP-HPLC peptit profilleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde belirlenmiş olup, ilgili HPLC

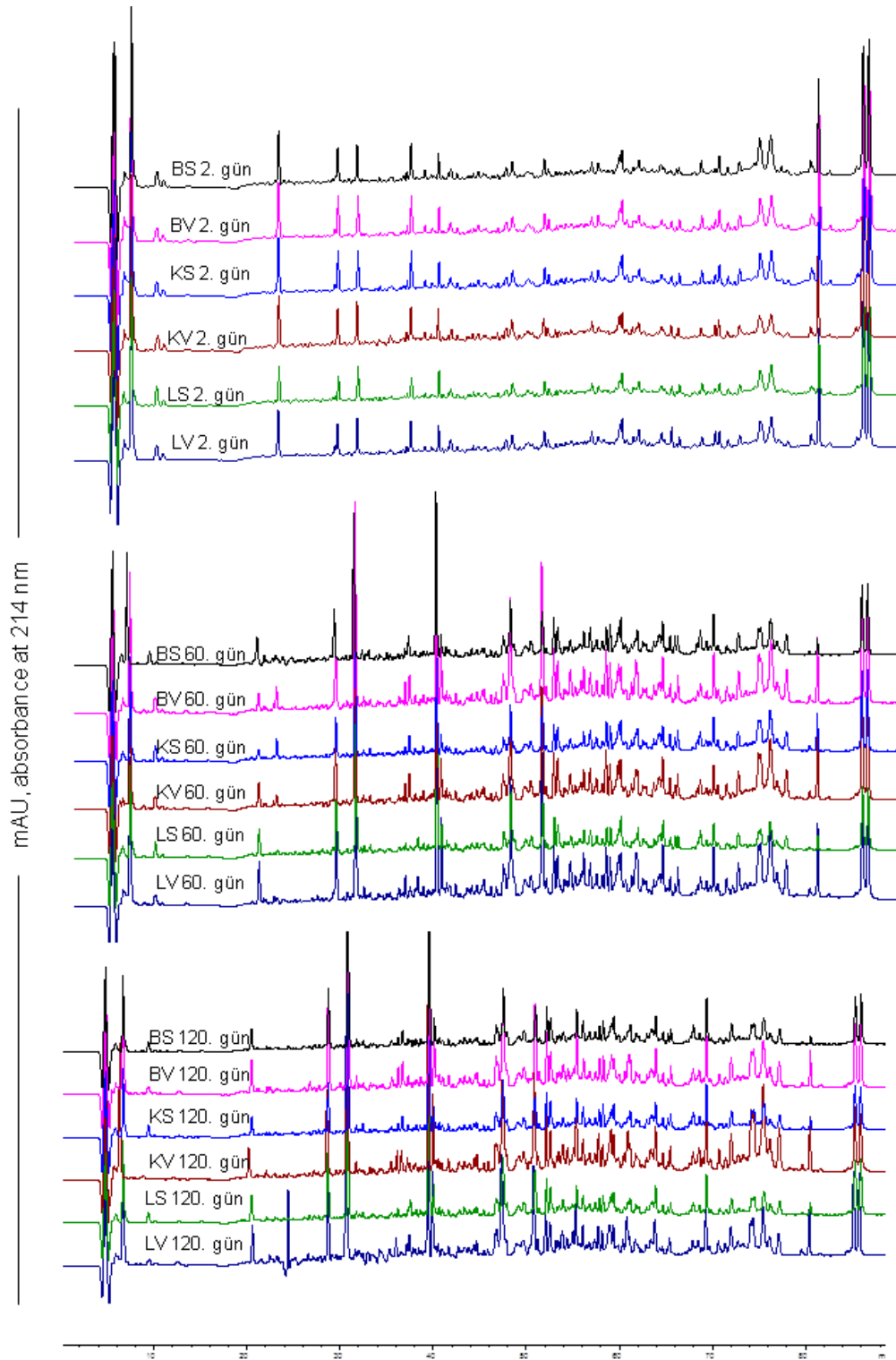
kromatogramları Şekil 4.20 ve 4.21’de verilmiştir. Hidrofobik bölgeyi belirlemek için kullanılan tirozin, fenilalanin ve triptofan aminoasitlerinin pikleri sırasıyla 22,7., 28,9. ve 38,3. dakikalarda gelmiş olup, α_{s1} - kazein ve β -kazeinin degradasyonu sonucu oluşan peptitlere ait pikler ise yaklaşık 80. dakikaya kadar gelmiştir. 80. dakikadan sonra gelen büyük pikler ise sırasıyla α -laktalbumin ve β -laktoglobuline karşılık gelmektedir. Kromatogramlar incelendiğinde, peynir örneklerinde çok sayıda pikin oluştuğu ve olgunlaşma süresince pik sayısından ziyade yüksekliklerinin değiştiği görülmektedir. Olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte pik yükseklikleri de giderek artmıştır. Beyaz peynir örneklerinin tümünde olgunlaşmanın 120. gününde, alıkonma zamanının yaklaşık olarak 31. ve 39. dakikalarında gelen piklerin en yüksek konsantrasyona sahip olduğu görülmektedir.

Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6’da çözünür fraksiyonlarının, kullanılan kültür açısından kontrol ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ile *B. bifidum* DSMZ 20456 ilaveli peynir örneklerinin 2, 60. ve 120. günlerdeki peptit profilleri kendi aralarındaki kıyaslaması Şekil 4.20’de görülmektedir. Buna göre, tüm örneklerde olgunlaşmanın 2. gününde çok düşük konsantrasyonda olan peptitlerin pik yüksekliklerinin 60. ve 120. günlerde oldukça arttığı ve bazı örneklerde yeni piklerin oluştuğu görülmektedir. LV kodlu örnekte 120. günde alıkonma süresinin yaklaşık olarak 25. dakikasında diğer örneklerde görülmeyen yeni bir pikin oluştuğu göze çarpmaktadır. Araştırmacılar, peynirde olgunlaşma süresince oluşan yeni peptitlerin starter veya probiyotik olarak kullanılan ilave kültürlerin proteolitik aktivitelerinin bir sonucu olduğunu ifade etmişlerdir (Sousa *et al.* 2001). İlave edilen probiyotik kültür bakımından piklerin kıyaslaması yapıldığında; LV kodlu örneğe ait çoğu peptidin pik yüksekliklerinin diğer örneklere göre biraz daha yüksek olmasına karşın, genel anlamda çok önemli bir farklılık olmadığı görülmektedir. Bergamini *et al.* (2006) ve Ong and Shah (2008) yaptıkları çalışmalarda; peynirde ilave kültür olarak kullandıkları probiyotik bakterilerin elde ettikleri peptit profili kromatogramlarına, etkisinin olmadığı sonucuna varmışlardır.



Şekil 4.20. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünür fraksiyonlarının olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerindeki peptit profilleri

Şekil 4.21’de ise Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6’da çözünür fraksiyonlarının aynı olgunlaşma günlerinde elde edilmiş peptit profillerinin kıyaslaması verilmiştir. Buna göre, olgunlaşmanın 2. gününde peynir örneklerinin peptit profillerinin benzerlik gösterdiği, 60. ve 120. günlerinde ise farklılıkların ortaya çıktığı görülmektedir. Bu farklılıklar, peptitlerin toplam pik alanlarının artması ve vakum ambalaj ile salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin peptit profillerinin benzer olmaması olarak öne çıkmaktadır. Pik alanlarındaki artış peynir örneklerinde önemli bir proteolizin gerçekleştiğinin göstergesidir. Vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerine ait peptitlerin pik yükseklikleri salamurada olgunlaştırılmış peynirlere göre daha yüksek olması önceki bölümlerde açıklanan proteoliz sonuçlarını destekler niteliktedir. Benzer şekilde, Hayaloglu *et al.* (2012), Mihaliç peyniri için elde ettikleri peptit profili kromatogramlarında vakum ambalajda olgunlaştırdıkları peynirlere ait piklerin salamurada olgunlaştırdıkları peynirlere göre oldukça yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Bu durumun, salamura peynirin yüksek tuz konsantrasyonunun proteolizi sınırlayıcı etki yapmasından kaynaklandığını ifade etmişlerdir. Kromatogramlar incelendiğinde dikkati çeken başka bir husus ise tirozin, fenilalanin ve triptofan aminoasitlerinin pik yüksekliklerinin de olgunlaşma süresince giderek artmış olmasıdır. Fox (1999) tirozin ve triptofan düzeyindeki artış ile β -kazein hidrolizi arasında korelasyon olduğunu bildirmiştir.



Şekil 4.21. Beyaz peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünür fraksiyonlarının olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerindeki peptit profilleri (2)

4.5. Peptitlerin Biyoaktivitesi

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen pH 4,6'da çözünür fraksiyonda; ADE–inhibitör aktivite, antioksidan aktivite ve bazı patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir.

4.5.1. ADE–inhibitör aktivite

4.5.1.a. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktiviteleri (IC₅₀– µg/ml)

Süt proteinleri kaynaklı biyoaktif peptitler arasında kan basıncını düşürücü etkiye sahip peptitlerin önemi, yüksek tansiyonun yaygınlığı nedeniyle giderek artmaktadır. Bu peptitler, vücutta inaktif formda olan anjiotensin-I'i, damar daraltıcı etkiye sahip olan anjiotensin-II'ye hidrolize eden Anjiotensin-I Dönüştürücü Enzimi (ADE) inhibe etmekte ve böylece tansiyonun düşmesine yardımcı olmaktadır (López-Fandiño *et al.* 2006).

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.40'da verilmiştir. Kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin ADE–inhibitör aktivite değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur (Çizelge 4.40). Diğer taraftan, kültür ilavesi × ambalaj, kültür ilavesi × olgunlaşma süresi ve ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonları ve üç değişkene ait interaksyonun ADE–inhibitör aktivite değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.40. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	575,304	6,856	0,006**
Ambalaj (B)	1	21,747	0,259	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	4490,199	53,509	0,000**
A×B	2	101,134	1,205	0,323
A×C	8	185,639	2,212	0,109
B×C	4	77,415	0,923	0,416
A×B×C	8	106,958	1,275	0,317
Hata	30	83,914		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde IC₅₀ olarak belirlenmiş olup standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.41’de verilmiştir. IC₅₀ değerleri, ADE aktivitesinin %50’sinin inhibe edilebilmesi için gerekli olan inhibitör peptit konsantrasyonunu ifade etmektedir. ADE–inhibitör aktivite bu değerlerin artışı ile azalmakta, azalışı ile de artmaktadır. Sonuçlar µg/ml cinsinden verilmiştir. Peptit ekstraktlarına ait en düşük IC₅₀ değeri (82,78 µg/ml) LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek IC₅₀ değeri (141,00 µg/ml) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Buna göre, en yüksek ADE–inhibitör aktivitenin LV örneğinde 120. günde, en düşük ADE–inhibitör aktivitenin ise KS örneğinde 2. günde olduğu ortaya konulmuştur. Peptitlerin ADE–inhibitör aktivitelerinin belirlendiği çalışmalarda, ortalama IC₅₀ değerlerini; Okamoto *et al.* (1995) Kamembert peynirinde 160 µg/ml, Parrot *et al.* (2003) Emmental peynirinde 27,6 mg/ml ve Ong *et al.* (2007) ise Çedar peynirinde 240 µg/ml olarak belirlemişlerdir. Öte yandan, Saito *et al.* (2000) Gouda peynirinde, Ryhänen *et al.* (2001) probiyotik Festivo peynirinde, Donkor *et al.* (2007) probiyotik yoğurtta ve Kancabas and Karakaya (2012) bozada IC₅₀ değerlerini sırasıyla 13,4 µg/ml, 44 µg/ml, 27,79–103,3 µg/ml ve 7,7 µg/ml olarak tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.41. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen ADE–inhibitör aktivite değerleri (IC₅₀–µg/ml)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	141,00±8,39 ^{a,B}	133,62±5,51 ^{b,B}	101,11±8,85 ^{a,A}
BS	135,75±7,42 ^{a,B}	101,26±10,03 ^{a,A}	104,38±3,71 ^{a,A}
LS	133,86±11,64 ^{a,A}	101,54±2,18 ^{a,B}	99,89±2,98 ^{a,B}
KV	138,00±11,31 ^{a,B}	123,55±7,41 ^{a,bAB}	100,57±10,84 ^{a,A}
BV	135,25±0,74 ^{a,B}	120,84±6,36 ^{ab,AB}	100,71±11,91 ^{a,A}
LV	136,13±7,04 ^{a,B}	100,59±17,23 ^{a,AB}	82,78±13,52 ^{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.

Çizelge 4.41’de, peptitlerin IC₅₀ değerlerinin peynir örnekleri açısından istatistiksel olarak farklı olmadığı, ancak olgunlaşma süresince tüm örneklerde önemli ölçüde azaldığı görülmektedir. Peynirde olgunlaşma süresince IC₅₀ değerlerinin giderek azaldığı diğer çalışmalarda da bildirilmektedir (Ryhänen *et al.* 2001; Gómez–Ruiz *et al.* 2004; Ong and Shah 2008). Genel olarak bakıldığında, olgunlaşmanın 60. ve 120. günlerinde hem vakum ambalajda hem de salamurada olgunlaştırılmış örnekler için LS ve LV kodlu peynirlerden ekstrakte edilen peptitlerin IC₅₀ değerlerinin diğer örneklerle kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Diğer bir ifade ile ADE–inhibitör aktivitelerinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu durum, ilave kültür olarak kullanılan *L. acidophilus* DSMZ 20079’in ADE–inhibitör peptitlerin oluşumuna olası katkısını göstermektedir. Nitekim laktobasillerin fermente süt ürünlerinde ADE–inhibitör aktiviteyi artırdığını bildiren çalışmalar mevcuttur. Ong and Shah (2008) Cheddar peynirinde en yüksek ADE–inhibitör aktiviteyi *L. acidophilus* LAFTI L10 kullanarak ürettikleri peynirde belirlemişlerdir. Yine, *L. helveticus*’un farklı suşlarının fermente süt ürünlerinde kullanımının valil–prolil–prolin (VPP) ve izolosil–prolil–prolin (IPP) gibi tansiyon düşürücü tri–peptitlerin oluşumuna katkıda bulunduğu ve ADE–inhibitör aktiviteyi artırdığı yapılan çalışmalarda ortaya konulmuştur (Yamamoto *et al.* 1994; Maeno *et al.* 1996; Seppo *et al.* 2002).

Çizelge 4.41 incelendiğinde, en düşük IC₅₀ değerinin olgunlaşmanın 120. gününde LV kodlu örnekte belirlendiği görülmektedir. Bu sonuç, Beyaz peynirde ADE–inhibitör

aktiviteyi ifade eden IC_{50} değerinin düşmesinde *L. acidophilus* DSMZ 20079'un katkısının yanı sıra vakum ambalajda olgunlaştırmanın da olumlu yönde etkisi olduğunun göstergesidir.

4.5.1.b Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktiviteleri (% inhibisyon)

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin % olarak ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.42’de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere, ADE–inhibitör aktivite değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi ($p<0,01$) ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi, kültür ilavesi $\times$ ambalaj ve kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonları ve üç değişkene ait interaksiyonun ADE–inhibitör aktivite değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.42. Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	78,895	2,766	0,090
Ambalaj (B)	1	716,990	25,142	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	4658,309	163,346	0,000**
A $\times$ B	2	77,501	2,718	0,093
A $\times$ C	8	32,433	1,137	0,371
B $\times$ C	4	125,598	4,439	0,027*
A $\times$ B $\times$ C	8	22,755	0,798	0,542
Hata	30	28,518		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının ADE–inhibitör aktivite değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde % olarak belirlenmiş olup standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.43’te sunulmuştur. Peptit ekstraktlarına ait en düşük % inhibisyon değeri (%15,63) BS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri (%65,06) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Lignitto *et al.* (2010) Asiago peynirinden izole ettikleri peptitleri ultrafiltrasyon yöntemiyle molekül

ağırlıklarına göre ayırıp saflaştırmışlar ve bu peptitlerin ADE–inhibitör aktivitelerini belirlemişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre, molekül ağırlığı 3 kDa olan peptitlerin % 9,5 oranında ADE–inhibitör aktivite gösterdiklerini, molekül ağırlığı 10 kDa olan peptitlerin ise %3,1 oranında ADE–inhibitör aktiviteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir. Buna benzer olarak Pritchard *et al.* (2010) Çedar peynirinden molekül ağırlıklarına göre izole ettikleri peptitlerde en yüksek ADE–inhibitör aktiviteyi sırasıyla <5 kDa, <10 kDa ve >10 kDa molekül ağırlığına sahip peptitlerde saptamışlardır. Pihlanto–Leppälä *et al.* (1998) ise yaptıkları çalışmada, laktik asit bakterileri tarafından fermente edilmiş ve sindirim enzimleriyle parçalanmış kazein ve serum proteinlerinin ADE–inhibitör aktivitelerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre; ADE–inhibisyonunun yalnızca proteinlerin pepsin veya tripsin ile parçalanması sonucu oluştuğunu ve serum proteinlerinin %35–61 arasında inhibisyona sahip olmalarına karşılık kazeinin %86 oranında ADE–inhibisyonu gösterdiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 4.43. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen ADE–inhibitör aktivite değerleri (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	16,76±3,10 ^{a,A}	33,77±0,32 ^{a,B}	41,31±4,23 ^{a,B}
BS	15,63±6,03 ^{a,A}	50,89±7,52 ^{b,B}	47,73±5,62 ^{ab,B}
LS	17,98±5,08 ^{a,A}	49,19±4,22 ^{b,B}	52,56±5,23 ^{abc,B}
KV	19,61±1,85 ^{a,A}	52,06±4,29 ^{b,B}	64,49±2,00 ^{cd,C}
BV	19,52±7,52 ^{a,A}	52,11±10,44 ^{b,B}	59,38±7,63 ^{bcd,B}
LV	19,79±2,52 ^{a,A}	54,12±5,82 ^{b,B}	65,06±0,40 ^{d,B}

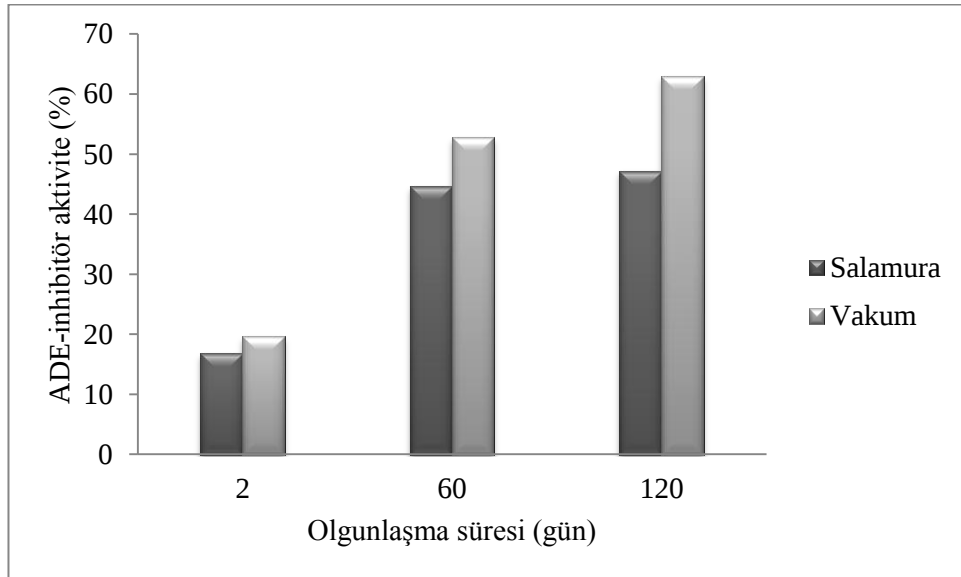
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

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

Çizelge 4.43 incelendiğinde, tüm peynir örneklerinden ekstrakte edilmiş olan peptitlerin ADE–inhibisyon değerlerinin olgunlaşma süresince arttığı görülmektedir. Bu konuda yapılan diğer çalışmalarda da ADE–inhibitör aktivitenin olgunlaşma süresince giderek arttığı, ancak olgunlaşmanın belli bir süresinden sonra ise azaldığı ifade edilmektedir. Addeo *et al.* (1992), Parmesan peynirinden izole ettikleri α_{s1} –kazein peptitlerinde olgunlaşmanın 6. ayında antihipertansif aktivitenin olduğunu, ancak 15. ayından sonra ise aktivite tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Meisel *et al.* (1997) Gouda peynirinde,

Gómez-Ruiz *et al.* (2002) ise Manchego peynirinde ADE-inhibitör aktivitenin olgunlaşmanın ortasında en yüksek olduğunu buna karşın, olgunlaşmanın sonuna doğru ise azaldığını belirlemişlerdir. Bu durum, peynirlerde devam eden proteolizin ADE-inhibitör aktiviteli peptitlerin de parçalanmasına sebep olmasıyla açıklanabilir.

Peptitlerin ADE-inhibitör aktivitelerine (%) ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.22’de verilmiştir.



Şekil 4.22. Peptit ekstraktlarının ADE-inhibitör aktivite değerleri (%) üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.22’de, peptit ekstraktlarının ADE-inhibitör aktivitelerinin olgunlaşma süresince önemli düzeyde arttığı görülmektedir. Ayrıca, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerden ekstrakte edilmiş peptitlerin salamurada olgunlaştırılmış peynirlerden ekstrakte edilmiş olanlara göre daha yüksek bir aktivite gösterdiği izlenmektedir. Bu sonuçlar, peptitlerin IC₅₀ olarak ifade edilmiş olan ADE-inhibitör aktivite sonuçlarıyla da paralellik arz etmektedir. Tarafımızca yapılan literatür taramasına göre, peynirde farklı ambalaj kullanımının peptitlerin ADE-inhibitör aktiviteleri üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

4.5.2. Antioksidan aktivite

4.5.2.a. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (IC₅₀– mg/ml)

Süt fermentasyonu sonucu oluşan bazı peptitlerin aynı zamanda antioksidan aktivite gösterdiği ortaya konulmuştur (Kudoh *et al.* 2001; Rival *et al.* 2001; Hernandez *et al.* 2005). Bu peptitler; kanser, kalp krizi ve felç gibi birçok hastalığın oluşumuna ve biyomoleküllerin oksidatif hasarına neden olan serbest radikallerin oluşumunun önlenmesi açısından gıdada hayati bir rol oynarlar (Gupta *et al.* 2009).

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.44'te verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere antioksidan aktivite değerleri üzerine olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ($p<0,01$) istatistiksel olarak önemli bulunurken, ambalaj ve kültür ilavesi değişkenleri ile değişkenlere ait tüm interaksiyonların antioksidan aktivite değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.44. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,713	2,143	0,146
Ambalaj (B)	1	0,644	1,934	0,181
Olgunlaşma süresi (C)	4	14,079	42,308	0,000**
A×B	2	0,348	1,046	0,372
A×C	8	0,103	0,309	0,868
B×C	4	0,302	0,908	0,421
A×B×C	8	0,184	0,554	0,699
Hata	30	0,333		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde IC₅₀ olarak belirlenmiş olup standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.45'te sunulmuştur. Peptit ekstraktlarına ait en yüksek IC₅₀ değeri (5,39 mg/mL) KV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en düşük IC₅₀ değeri (2,41

mg/mL) ise LS örneğinde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenmiştir. Pritchard *et al.* (2010), Çedar peynirinden farklı molekül ağırlıklarına göre izole ettikleri peptitlerde DPPH yöntemini kullanarak antioksidan aktiviteyi belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda, IC₅₀ değerlerini 5–9,5 mg/mL arasında değiştiğini ve antioksidan aktivitenin, molekül ağırlığı 10 kDa'dan fazla olan peptitlerde en yüksek olduğunu belirlemişlerdir.

Çizelge 4.45. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen antioksidan aktivite değerleri (IC₅₀–mg/mL)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	3,66±0,12 ^{a,A}	3,61±0,18 ^{b,A}	4,94±0,98 ^{a,A}
BS	3,25±0,51 ^{a,AB}	2,67±0,31 ^{a,A}	4,36±0,64 ^{a,B}
LS	3,00±0,36 ^{a,A}	2,41±0,19 ^{a,A}	4,81±0,19 ^{a,B}
KV	3,84±0,59 ^{a,AB}	2,78±0,17 ^{a,A}	5,39±0,78 ^{a,B}
BV	3,21±0,57 ^{a,A}	2,87±0,29 ^{a,A}	4,98±0,29 ^{a,B}
LV	3,98±0,07 ^{a,A}	2,77±1,29 ^{a,A}	5,30±0,94 ^{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.

Çizelge 4.45'te, peptit ekstraktlarının antioksidan aktivitesini ifade eden IC₅₀ değerlerinin olgunlaşma süresince dalgalanma gösterdiği ve bu değerlerin 60. günde azalıp 120. günde tekrar arttığı görülmektedir. Buna göre, peynir örneklerinin tümünde en yüksek antioksidan aktivite olgunlaşmanın 60. gününde, en düşük aktivite ise 120. gününde belirlenmiştir. Benzer şekilde, Gupta *et al.* (2009) probiyotik kültür kullanarak ürettikleri Çedar peynirinden elde ettikleri suda çözünür fraksiyonun antioksidan aktivitelerinin olgunlaşmanın 4. ayına kadar arttığını ve daha sonra ise azaldığını tespit etmişlerdir. Bu azalmanın; antioksidan peptitlerin ileri proteolize direnç gösterememesi nedeniyle olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

4.5.2.b. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri (% inhibisyon)

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.46'da verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden

anlaşılabacağı üzere antioksidan aktivite değerleri üzerine kültür ilavesinin etkisi ($p<0,05$), ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi ($p<0,01$) ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj ve ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonlarının etkisi ($p<0,05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi ve üç değişkene ait interaksiyonun antioksidan aktivite değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.46. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	2,855	5,474	0,014*
Ambalaj (B)	1	4,516	8,657	0,009**
Olgunlaşma süresi (C)	4	31,205	59,826	0,000**
A $\times$ B	2	2,011	3,855	0,040*
A $\times$ C	8	0,306	0,587	0,676
B $\times$ C	4	2,093	4,013	0,036*
A $\times$ B $\times$ C	8	0,459	0,880	0,495
Hata	30	0,522		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde % olarak DPPH radikal inhibisyonu belirlenmiş olup standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.47’de sunulmuştur. Peptit ekstraktlarına ait en düşük % inhibisyon değeri (%5,10) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri (%10,38) ise BV örneğinde olgunlaşmanın 60. gününde belirlenmiştir. Meira *et al.* (2012) Uruguay ve Brezilya’da üretilen Rokfor, Pecorino ve Feta benzeri koyun peynirlerinden izole edilmiş peptitlerin biyoaktivitelerini araştırdıkları çalışmada, peptitlerin antioksidan aktiviteleri bakımından radikal inhibisyonu oranlarının %38,49–51,84 arasında değiştiğini, ancak Feta peynirine ait peptitlerin diğer peynirlerden düşük olarak %25,95 oranında inhibisyon gösterdiğini saptamışlardır. Apostolidis *et al.* (2007) sade, meyveli veya otlu farklı tip peynirlerden izole ettikleri peptitlerin DPPH radikali inhibisyonunun Rokfor peynirinde %90 civarında ve en yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda otlu peynirlerin antioksidan aktivitelerinin sade peynirlere göre daha fazla olduğunu da saptamışlardır.

Başka bir çalışmada ise otlı yoğurdun antioksidan aktivitesinin sade yoğurda göre daha yüksek olduğu ve depolama süresince aktivitenin %28'den %46'ya kadar arttığı belirlenmiştir (Amirdivani and Baba 2011). Bu çalışmalarda elde edilen antioksidan aktivite değerleri bizim çalışmamızda belirlenen değerlerden oldukça yüksektir.

Çizelge 4.47. Peptit ekstraktlarında olgunlaşma süresince belirlenen antioksidan aktivite değerleri (%)

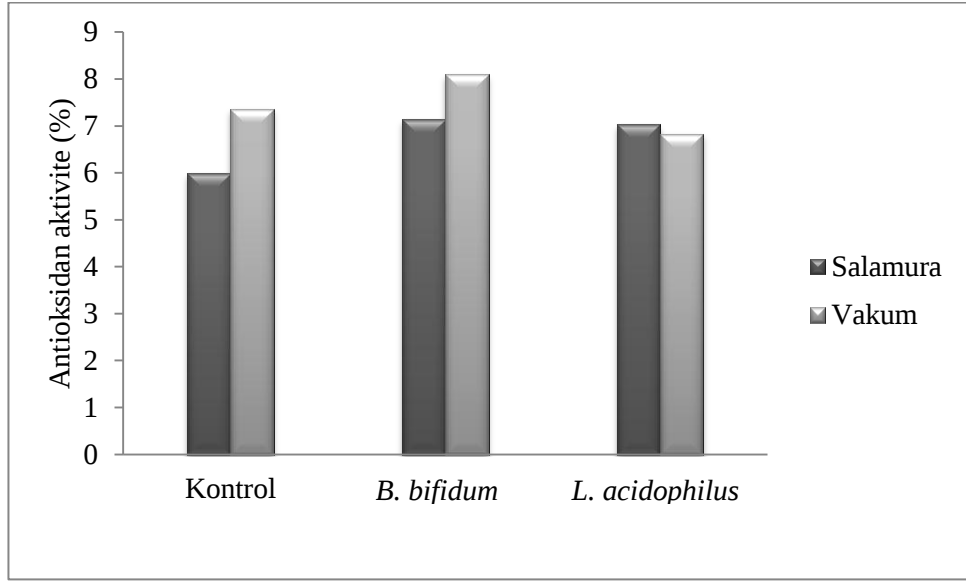
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	5,33±0,30 ^{a,A}	7,55±0,61 ^{a,B}	5,10±1,13 ^{a,AB}
BS	6,52±0,69 ^{a,A}	8,60±0,88 ^{abc,A}	6,29±0,93 ^{a,A}
LS	7,07±1,33 ^{a,A}	8,41±1,23 ^{ab,A}	5,65±0,22 ^{a,A}
KV	5,71±0,12 ^{a,A}	10,05±0,53 ^{bc,B}	6,33±0,60 ^{a,A}
BV	7,19±0,66 ^{a,A}	10,38±0,03 ^{c,B}	6,75±0,71 ^{a,A}
LV	5,54±0,60 ^{a,A}	8,64±0,33 ^{abc,B}	6,33±0,36 ^{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.

Çizelge 4.47 incelendiğinde, IC₅₀ sonuçlarına paralel olarak antioksidan aktivitenin olgunlaşmanın 60. gününde arttığı, 120. gününde ise azaldığı görülmektedir. Peynir örneklerinin DPPH radikali inhibisyon değerlerinin 2. ve 120. günlerde benzer olduğu, 60. günde ise farklılıklar gösterdiği de görülmektedir. Songisepp *et al.* (2004) probiyotik peynirin toplam antioksidan aktivitesinin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığını tespit etmişlerdir.

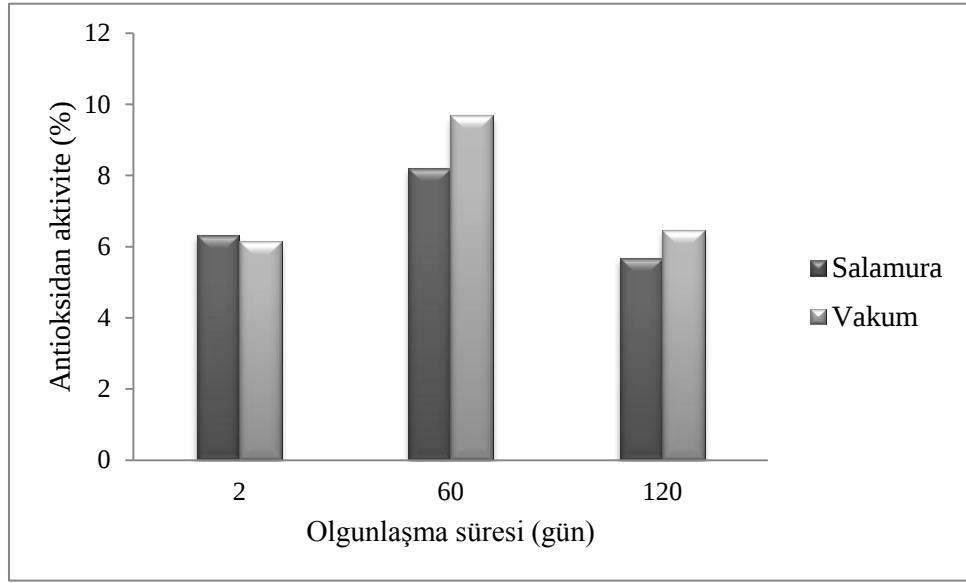
Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivitelerine (%) ait kültür ilavesi × ambalaj interaksyonu Şekil 4.23'te verilmiştir.



Şekil 4.23. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × ambalajın etkisi

Şekil 4.23 incelendiğinde, en yüksek antioksidan aktivitenin *B. bifidum* DSMZ 20456 kültürü ilavesiyle üretilmiş peynirlerden ekstrakte edilen peptitlerde belirlendiği görülmektedir. Bu sonuç; bu bakterinin antioksidatif peptit oluşumuna katkı sağladığını göstermektedir. Gupta *et al.* (2009) *L. casei* ssp. *casei* 300 kültürünün Çedar peynirinde antioksidan aktiviteyi artırdığını ifade etmişlerdir. Gómez–Ruiz *et al.* (2008) ise koyun sütünün enzimatik hidrolizinin, oluşan peptitlerin antioksidan aktivitesini özellikle kazein fraksiyonları bakımından artırdığını belirlemişler ve tanımladıkları κ -kazein fraksiyonu olan peptidin [f(98–105)] bu aktiviteden sorumlu olabileceğini ortaya koymuşlardır.

Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivitelerine (%) ait ambalaj × olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.24’te verilmiştir.



Şekil 4.24. Peptit ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri (%) üzerine ambalaj × olgunlaşma süresi etkisi

Şekil 4.24’te, hem salamurada hem de vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde en yüksek antioksidan aktivitenin olgunlaşmanın 60. gününde belirlendiği görülmektedir. Bununla birlikte, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde salamurada olgunlaştırılmış peynirlere kıyasla daha yüksek bir antioksidan aktivite tespit edildiği görülmektedir. Bu sonuç; Beyaz peynirin vakum ambalajda olgunlaştırılmasının antioksidatif peptitlerin oluşumunu olumlu yönde etkilediğinin göstergesidir.

4.5.3. Peptit ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri

Mikrobiyal enfeksiyonların tedavisinde kuvvetli antibiyotik ilaçlar kullanılmasına rağmen geniş bir etki spektrumuna sahip ve hızlı bir şekilde hedef hücreleri öldürebilme avantajları olan kazein türevli antimikrobiyal peptitler de mevcuttur (Phelan *et al.* 2009). Süt protein hidrolizatlarından izole edilmiş pek çok antimikrobiyal peptit bulunmakta olup bu peptitlerin *Escherichia*, *Helicobacter*, *Listeria*, *Salmonella* and *Staphylococcus* gibi çoğu Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere, maya ve küflere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmektedir (Korhonen and Pihlanto 2006).

4.5.3.a. Peptit ekstraktlarının *Escherichia coli* BC 402'ye karşı inhibisyonu

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *E. coli* BC402'ye karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.48'de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere kültür ilavesi değişkeninin *E. coli* BC402'ye karşı inhibisyon değerleri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak $p < 0,05$ seviyesinde önemli bulunurken, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi $p < 0,01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Bu değişkenlere ait tüm interaksiyonların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.48. Peptit ekstraktlarının *E. coli* BC402'ye karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	223,808	4,328	0,029**
Ambalaj (B)	1	1260,250	24,369	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	360,084	6,963	0,006**
A×B	2	102,163	1,976	0,168
A×C	8	74,904	1,448	0,261
B×C	4	40,512	0,783	0,551
A×B×C	8	25,887	0,501	0,736
Hata	30	51,715		
Genel	60			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli ** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *E. coli* BC402'ye karşı % inhibisyon değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde belirlenmiş olup, standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.49'da verilmiştir. En düşük % inhibisyon değeri (–35,49) KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri (0,14) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Pritchard *et al.* (2010), Cedar peynirinden farklı molekül ağırlıklarına göre izole ettikleri peptitlerin antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları çalışmada; 10 kDa'dan büyük molekül ağırlığına sahip peptitlerde %20 oranında bir aktivite tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.49. Peptit ekstraktlarının *E. coli* BC 402'ye karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%)

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	-35,49±3,62 ^{a,A}	-17,27±3,47 ^{ab,B}	-17,94±5,59 ^{ab,AB}
BS	-31,14±14,30 ^{a,A}	-27,45±6,35 ^{a,A}	-11,88±9,60 ^{a,A}
LS	-24,50±8,75 ^{ab,A}	-22,49±3,51 ^{ab,A}	-19,71±3,25 ^{ab,A}
KV	-24,53±4,37 ^{ab,A}	-23,82±13,65 ^{ab,A}	-5,82±9,91 ^{bc,A}
BV	-18,63±5,06 ^{ab,A}	-17,55±5,10 ^{ab,A}	-8,99±0,13 ^{bc,A}
LV	-9,07±6,35 ^{b,A}	-6,74±9,33 ^{b,A}	0,14±2,77 ^{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.

Çizelge 4.49'da, peptit ekstraktlarının *E. coli* BC 402'ye karşı elde edilen inhibisyon değerlerinin çoğunlukla negatif değerlerden oluştuğu göze çarpmaktadır. Bu durum, Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *E. coli* BC 402'ye karşı inhibitör aktive göstermediği, aksine bu bakterinin gelişimini teşvik ettiği şeklinde izah edilebilir. Ancak Çizelge 4.49 dikkatle incelendiğinde bu teşviğin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte azaldığı ve vakum ambalajlanmış örneklerde ise daha belirgin bir azalma olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, *L. acidophilus* ilaveli vakum ambalajlanmış örnekte olgunlaşmanın 120. gününde *E. coli* BC 402'ye %0,14 oranında bir inhibisyon belirlenmiştir. Bu sonuçlar vakum ambalajlamanın ve peynire *L. acidophilus* ilavesinin *E. coli* BC 402'nin gelişiminin engellenmesine daha fazla katkıda bulunduğunu göstermektedir. Diğer taraftan, olgunlaşma süresince tüm örneklerde *E. coli* BC 402'nin gelişimine olan teşviğin azalmasının nedeni olarak; bu bakteriyi inhibe eden yeni peptitlerin oluştuğu veya gelişimi teşvik eden peptitlerin parçalandığı düşünülmektedir. Pritchard *et al.* (2010) yaptıkları araştırmada, Çedar peynirinden izole ettikleri bazı peptitlerin *E. coli*'nin gelişimini teşvik ettiğini bazılarının ise inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

4.5.3.b. Peptit ekstraktlarının *Salmonella* Typhimurium RSSK 95091'e karşı inhibisyonu

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.50'de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere; ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj ve kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan; kültür ilavesi değişkeni ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonu ve üç değişkene ait interaksiyonun *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.50. Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	9,965	0,485	0,624
Ambalaj (B)	1	177,378	8,624	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	998,337	48,540	0,000**
A $\times$ B	2	247,945	12,055	0,000**
A $\times$ C	8	96,126	4,674	0,009**
B $\times$ C	4	23,875	1,161	0,336
A $\times$ B $\times$ C	8	50,857	2,473	0,081
Hata	30	20,567		
Genel	60			

* $p < 0,05$ düzeyinde önemli ** $p < 0,01$ düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı % inhibisyon değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde belirlenmiş olup, standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.51'de sunulmuştur. En düşük % inhibisyon değeri ($-20,36$) LS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri ($6,47$) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.51. Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%)

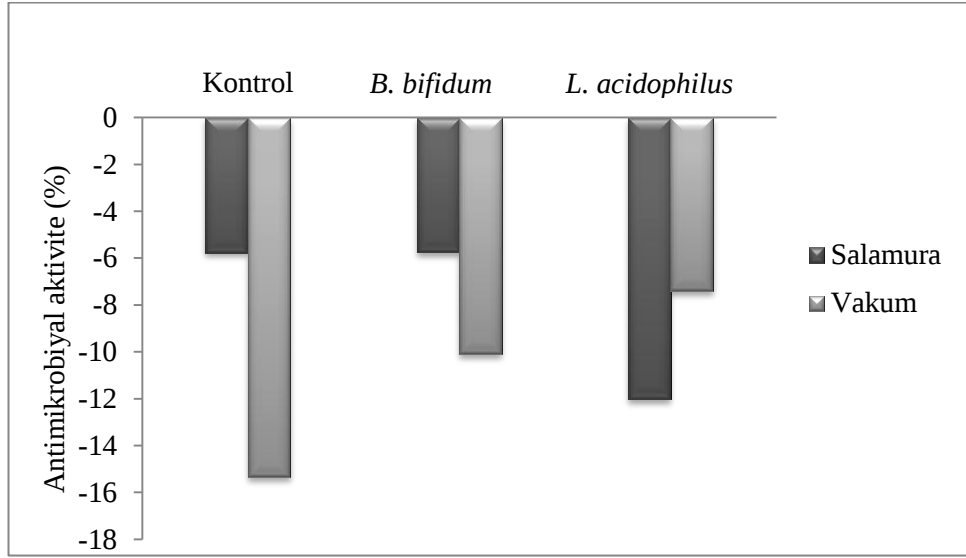
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	-19,50±2,27 ^{a,A}	0,44±2,90 ^{c,AB}	2,70±4,14 ^{b,B}
BS	-17,57±5,66 ^{a,A}	-0,62±3,76 ^{bc,B}	0,98±1,06 ^{b,B}
LS	-20,36±0,81 ^{a,A}	-19,74±0,35 ^{a,A}	4,05±2,38 ^{b,B}
KV	-20,07±8,92 ^{a,A}	-14,47±9,48 ^{a,A}	-11,44±7,42 ^{a,A}
BV	-17,34±2,55 ^{a,A}	-17,10±3,10 ^{a,A}	4,16±3,49 ^{b,B}
LV	-17,25±1,36 ^{a,A}	-11,44±0,94 ^{ab,A}	6,47±5,51 ^{b,B}

^{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.

Çizelge 4.51 incelendiğinde, peptit ekstraktlarının *E. coli* BC 402'nin gelişimine katkıda bulundukları gibi *S. Typhimurium* RSSK 95091'in de gelişimini teşvik ettikleri görülmektedir. Ancak bu teşviğin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte giderek azaldığı ve 120. güne gelindiğinde KV örneği dışındaki tüm örneklerde negatif inhibisyon değerlerinin pozitif değerlere dönüştüğü görülmektedir. Bu durum, olgunlaşmanın son gününde *S. Typhimurium* RSSK 95091'in gelişimi üzerine inhibisyon sağlandığını göstermektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda antibakteriyal peptitlerin Gram (+) bakteriler üzerine Gram (-)'lere göre daha etkili bulundukları bildirilmektedir (Benkerroum 2010). Ancak McCann *et al.* (2005) yaptıkları araştırmada, sodyum kazeinatın kimozen ile muamelesi sonucu elde ettikleri α_{s2} -kazein türevli 5 farklı peptit tanımlamışlardır. Bu peptitlerin ise *S. Typhimurium*, *S. Enteritidis* ve *E. coli* gibi Gram (-) bakterilere karşı göstermiş oldukları inhibitör etkininin (MIC değeri: 21,0–171,2 µg/mL) *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *B. subtilis* gibi Gram (+) bakterilere karşı gösterdikleri etkiden (MIC değeri: 4,8–21,0 µg/mL) oldukça yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

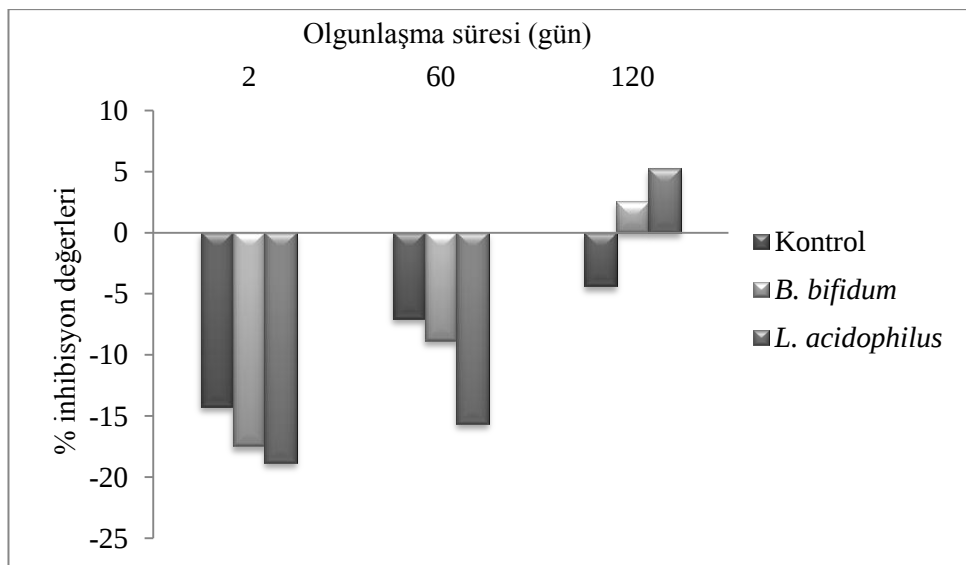
Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerlerine (%) ait kültür ilavesi × ambalaj interaksyonu Şekil 4.25'te verilmiştir.



Şekil 4.25. Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × ambalaj etkisi

Şekil 4.25 incelendiğinde, *S. Typhimurium* RSSK 95091'in gelişimi üzerine pozitif bir inhibisyonun olmadığı, aksine gelişimin teşvik edildiği görülmektedir.

Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerlerine (%) ait kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksiyonu Şekil 4.26'da verilmiştir.



Şekil 4.26. Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine kültür ilavesi × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.26’da peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091’in gelişimi olgunlaşmanın 2. ve 60. günlerinde pozitif bir inhibisyonun olmadığı, 120. gününde ise probiyotik ilaveli örneklerde bir inhibisyonun olduğu görülmektedir. Bu durum olgunlaşma süresinin ilerlemesinin ve probiyotik kültürlerin antibakteriyal peptit oluşumuna katkıda bulunduğunu göstermektedir. Demers–Mathieu *et al.* (2013), peyniraltı suyundan ekstrakte ettikleri anyonik karakterli peptitleri Çedar peyniri üretiminde kullanmışlar ve bu peptitlerin, peynire belli bir sayıda ilave ettikleri *L. monocytogenes* ve *L. innocua* patojen bakterileri üzerine inhibtör etkilerini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre, 30°C’de 7 gün süreyle muhafaza edilen peynirlerde bu patojen bakterilerin sayısında 1,1 ila 1,5 logaritmik birim düzeyinde bir azalma olduğunu belirlemişlerdir.

4.5.3.c. Peptit ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* ATCC 29213’e karşı inhibisyonu (%)

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *S. aureus* ATCC 29213’e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.52’de verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılabacağı üzere; peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213’e karşı inhibisyon değerleri üzerine olgunlaşma süresi değişkeninin etkisi ($p<0,01$) ve ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun etkisi ($p<0,05$) istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Diğer taraftan; ambalaj ve kültür ilavesi değişkenleri ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj ve kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonlarının ve üç değişkene ait interaksyonun peptitlerin *S. aureus* ATCC 29213’e inhibisyon değerleri üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.52. Peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	87,503	2,835	0,085
Ambalaj (B)	1	34,242	1,109	0,306
Olgunlaşma süresi (C)	4	3691,505	119,610	0,000**
A×B	2	15,078	0,489	0,621
A×C	8	23,466	2,212	0,109
B×C	4	182,056	5,899	0,011*
A×B×C	8	28,869	0,935	0,466
Hata	30	30,863		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı % inhibisyon değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde belirlenmiş olup, standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.53'te sunulmuştur. En düşük % inhibisyon değeri (–26,97) BS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri (14,17) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir. Rizello *et al.* (2005), 9 farklı İtalyan peynirinden izole ettikleri 21 farklı peptit fragmentinin birkaç farklı patojen bakteri üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırmışlardır. Bu peptit fragmentlerinin *S. aureus* üzerine de antimikrobiyal etkide bulunduklarını ve peptitlerin tüm patojenlere karşı göstermiş oldukları minimal inhibisyon konsantrasyonlarının 25–70 µg/mL arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.53. Peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%)

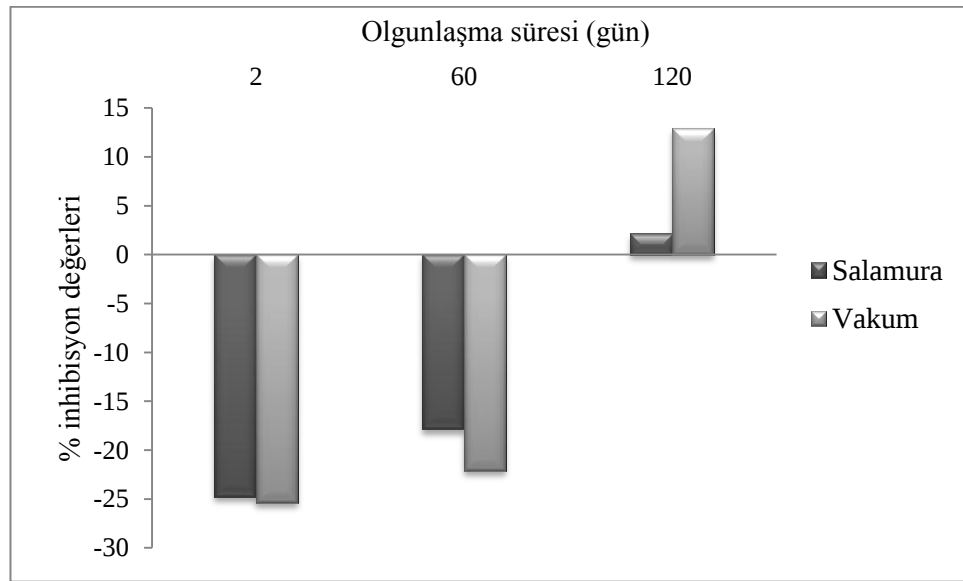
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)		
	2	60	120
KS	–23,03±2,70 ^{a,A}	–19,71±3,95 ^{a,A}	–3,99±6,30 ^{a,B}
BS	–26,97±1,02 ^{a,A}	–18,70±1,77 ^{a,AB}	1,69±12,65 ^{a,B}
LS	–24,29±0,25 ^{a,A}	–15,17±6,94 ^{a,A}	12,25±10,77 ^{a,B}
KV	–26,34±5,88 ^{a,A}	–24,48±2,47 ^{a,A}	13,09±6,14 ^{a,B}
BV	–24,30±0,25 ^{a,A}	–24,03±3,08 ^{a,A}	11,41±3,57 ^{a,B}
LV	–25,42±2,06 ^{a,A}	–17,83±1,71 ^{a,A}	14,17±6,29 ^{a,B}

^{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.

Çizelge 4.53 incelendiğinde olgunlaşmanın 2. ve 60. günlerinde peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı üzerine anitimikrobiyal etkide bulunmadığı, ancak 120. günde KS örneği dışındaki örneklerde inhibisyon olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, 120. günde elde edilen inhibisyon değerlerinin vakum ambalajlanmış örneklerde ve *L. acidophilus* ilaveli örneklerde daha yüksek olduğu da görülmektedir. Araştırmacılar kazesidin adı verilen peptitlerin ve α_{s1} -kazeinin (1–23) nolu fraksiyonunun *S. aureus* üzerine inhibitör etkide bulunduğunu belirlemişlerdir (Lahov *et al.* 1971; Tome and Ledoux 1998). Millette *et al.* (2007) *L. acidophilus* and *L. casei* probiyotik süt kültürlerinin gıda kaynaklı *S. aureus*, *E. faecium*, *E. faecalis* ve *Listeria innocua* gibi patojenlerin gelişimini yavaşlattıklarını bildirmişlerdir.

Peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı inhibisyon değerlerine (%) ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.27'de verilmiştir.



Şekil 4.27. Peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı inhibisyon değerleri (%) üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.27 incelendiğinde, olgunlaşmanın sadece 120. gününde *S. aureus* ATCC 29213'e karşı inhibitör aktivite olduğu ve vakum ambalajlamanın bu inhibisyona daha fazla katkıda bulunduğu görülmektedir.

4.5.3.d. Peptit ekstraktlarının *Bacillus cereus* BC 6230'a karşı inhibisyonu (%)

Pastörize süt ürünlerinde *B. cereus* varlığı, ürünlerin raf ömürlerinin kılmasına sebep olmakta (te Giffel *et al.* 1997) ve toprak kökenli olan bu bakteri, inek otlatma mevsiminde meme kontaminasyonu ile süte geçmesi sonucu potansiyel gıda zehirlenmesi kaynağı olabilmektedir (Christiansson *et al.* 1999).

Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *B. cereus* BC 6230'a karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.54'te verilmiştir. Çizelgenin incelenmesinden anlaşılacağı üzere; peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı inhibisyon değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi ($p<0,01$) istatistiksel olarak önemli bulunurken, değişkenlere ait tüm interaksiyonların etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.54. Peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı inhibisyon değerlerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	3,056	0,451	0,644
Ambalaj (B)	1	167,357	24,712	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	452,883	66,874	0,000**
A×B	2	5,916	0,874	0,434
A×C	8	10,775	1,591	0,220
B×C	4	15,998	2,362	0,123
A×B×C	8	7,027	1,038	0,415
Hata	30	6,772		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli

** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı % inhibisyon değerleri olgunlaşmanın 2, 60. ve 120. günlerinde belirlenmiş olup, standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.55'te sunulmuştur. En düşük % inhibisyon değeri (5,58) BS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenirken, en yüksek % inhibisyon değeri (23,74) ise LS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.55. Peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri (%)

Peynir Örnekleri	Olgunlaşma Süresi (gün)		
	2	60	120
KS	8,70±4,05 ^{a,A}	16,06±0,12 ^{b,AB}	21,62±0,86 ^{ab,B}
BS	5,58±2,77 ^{a,A}	17,43±2,38 ^{b,B}	21,26±2,11 ^{ab,B}
LS	9,08±0,17 ^{a,A}	16,65±1,22 ^{b,AB}	23,74±4,84 ^{b,B}
KV	6,11±1,53 ^{a,A}	14,80±4,81 ^{b,A}	15,76±2,33 ^{ab,A}
BV	6,46±1,66 ^{a,A}	12,08±0,96 ^{ab,A}	14,32±4,75 ^{a,A}
LV	5,68±0,08 ^{a,A}	7,85±2,16 ^{a,A}	18,24±0,36 ^{ab,B}

^{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.

Çizelge 4.55 incelendiğinde, peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı olgunlaşmanın tüm günlerinde inhibisyon gösterdiği ve bu inhibisyonun olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, olgunlaşmanın 60. ve 120. günlerinde gerçekleşen inhibisyonun salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde vakum ambalajda olgunlaştırılmışlara nazaran daha fazla olduğu, ancak farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı da görülmektedir. Pritchard *et al.* (2010) Çedar peynirinden izole ettikleri peptitlerin *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmada, en yüksek inhibisyonun *B. cereus* bakterisine karşı sağlandığını belirlemişlerdir. Recio and Visser (1999) α_{s2} -kazeinin pepsinle muamelesi sonucu oluşan f(164–179) ve f(183–207) fraksiyonlarının *E. coli*, *B. cereus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterileri üzerine güçlü bir antimikrobiyal etkide bulunduklarını tespit etmişlerdir.

4.6. Duyusal Analiz Sonuçları

4.6.1. Renk ve görünüş

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen renk ve görünüş puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.56'da verilmiştir. Buna göre, olgunlaşma süresi değişkeni ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi ve ambalaj değişkenleri ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun ve üç değişkene ait interaksyonun renk ve görünüş puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.56. Beyaz Peynir örneklerinin renk ve görünüş puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,276	2,025	0,150
Ambalaj (B)	1	0,183	1,340	0,256
Olgunlaşma süresi (C)	4	6,264	45,972	0,000**
A $\times$ B	2	0,023	0,168	0,846
A $\times$ C	8	0,137	1,005	0,453
B $\times$ C	4	2,454	18,013	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,066	0,485	0,857
Hata	30	0,136		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen renk ve görünüş puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.57'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük renk ve görünüş puanı (5,26) LS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek renk ve görünüş puanı (7,97) ise KS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.57. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen renk ve görünüş puanları

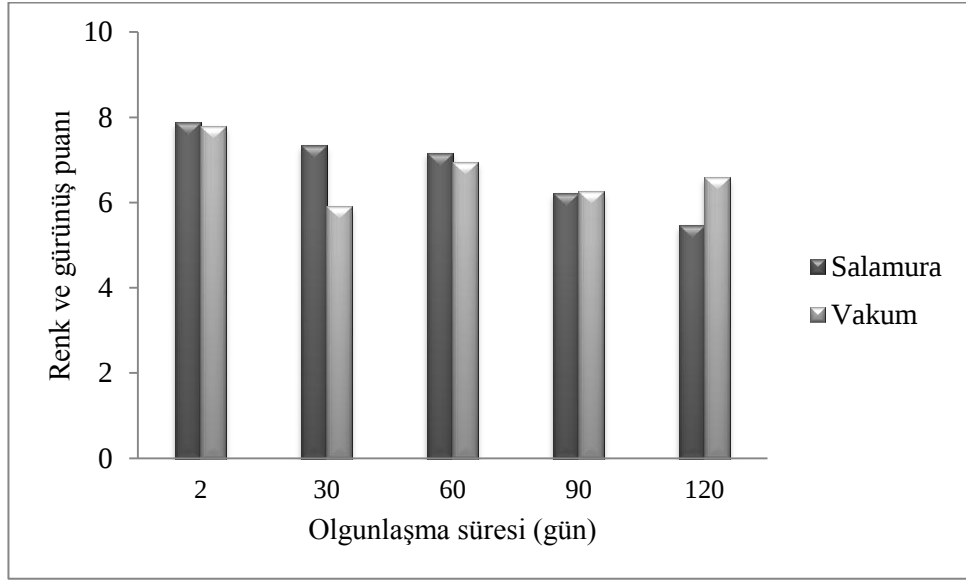
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,97±0,13 ^{a,C}	7,03±0,84 ^{ab,BC}	7,00±0,43 ^{a,BC}	6,13±0,18 ^{a,AB}	5,69±0,27 ^{abc,A}
BS	7,77±0,52 ^{a,B}	7,35±0,05 ^{b,B}	7,28±0,31 ^{a,B}	5,94±0,09 ^{a,A}	5,44±0,08 ^{ab,A}
LS	7,90±0,31 ^{a,D}	7,63±0,18 ^{b,CD}	7,22±0,23 ^{a,C}	6,60±0,13 ^{b,B}	5,26±0,01 ^{a,A}
KV	7,96±0,33 ^{a,B}	5,85±0,40 ^{a,A}	7,00±0,08 ^{a,AB}	6,05±0,21 ^{a,A}	6,57±0,80 ^{bc,A}
BV	7,49±0,48 ^{a,B}	5,96±0,24 ^{a,A}	6,97±0,40 ^{a,AB}	6,04±0,05 ^{a,A}	6,38±0,53 ^{abc,A}
LV	7,96±0,08 ^{a,B}	5,94±0,70 ^{a,A}	6,88±0,18 ^{a,A}	6,69±0,27 ^{b,A}	6,82±0,4 ^{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.

Çizelge 4.57’de, tüm peynir örneklerinin olgunlaşma süresi ilerledikçe renk ve görünüş puanlarının önemli derecede azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde, Dinkçi (1999), Dağdemir (2006) ve Karaca (2007) üretmiş oldukları Beyaz peynir örneklerinin, Katsiari *et al.* (2002) ise Feta peynirinin renk ve görünüş puanlarının olgunlaşma süresince azaldığını belirlemişlerdir. Çalışmamızda, peynir üretiminde kullanılan probiyotik kültürlerin ve farklı ambalaj uygulamasının renk ve görünüş puanlarını istatistiksel olarak etkilemediği saptanmıştır. Ancak Çizelge 4.57 incelendiğinde olgunlaşmanın 30. ve 60. günlerinde vakum ambalajlanmış peynir örneklerinin renk ve görünüş puanlarının salamurada olgunlaştırılmış peynirlere göre düşük olduğu gözden kaçmamaktadır. Bu durum, vakum ambalajın Beyaz peynir için salamurada olgunlaştırılmış peynire göre renk ve görünüş açısından farklılık oluşturduğunun göstergesidir.

Beyaz peynir örneklerinin renk ve görünüş puanlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi etkileşimini Şekil 4.28’de verilmiştir.



Şekil 4.28. Beyaz peynir örneklerinin renk ve görünüş puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.28 incelendiğinde, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin renk ve görünüş puanlarının olgunlaşma süresince sürekli olarak azaldığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin ise renk ve görünüş puanlarının olgunlaşma süresince dalgalanmalar gösterdiği görülmektedir.

4.6.2. Tekstür

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen tekstür puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.58’de verilmiştir. Buna göre, kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun tekstür puanları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi × ambalaj, kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksyonlarının ve üç değişkene ait interaksyonun tekstür puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.58. Beyaz Peynir örneklerinin tekstür puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,441	6,761	0,004**
Ambalaj (B)	1	6,435	98,760	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	5,271	80,884	0,000**
A×B	2	0,189	2,902	0,070
A×C	8	0,135	2,071	0,071
B×C	4	3,787	58,113	0,000**
A×B×C	8	0,033	0,500	0,846
Hata	30	0,065		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tekstür puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.59’da verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük tekstür puanı (4,88) BS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek tekstür puanı (7,84) ise LS örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.59. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tekstür puanları

Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,64±0,38 ^{ab,C}	7,64±0,25 ^{b,C}	6,44±0,27 ^{a,B}	5,10±0,14 ^{a,A}	4,90±0,14 ^{a,A}
BS	7,17±0,21 ^{a,D}	7,42±0,02 ^{b,D}	6,16±0,22 ^{ab,C}	5,60±0,14 ^{b,B}	4,88±0,18 ^{a,A}
LS	7,84±0,36 ^{b,C}	7,67±0,20 ^{b,C}	6,50±0,35 ^{ab,B}	6,02±0,11 ^{c,B}	5,25±0,35 ^{a,A}
KV	7,78±0,17 ^{a,C}	6,53±0,04 ^{a,A}	7,16±0,31 ^{b,B}	6,69±0,27 ^{d,AB}	6,45±0,07 ^{b,A}
BV	7,58±0,20 ^{ab,B}	6,66±0,58 ^{a,A}	7,26±0,18 ^{b,AB}	7,03±0,04 ^{d,AB}	7,07±0,09 ^{c,AB}
LV	7,77±0,04 ^{ab,B}	6,53±0,14 ^{a,A}	7,25±0,62 ^{b,AB}	7,10±0,14 ^{e,AB}	7,18±0,11 ^{c,AB}

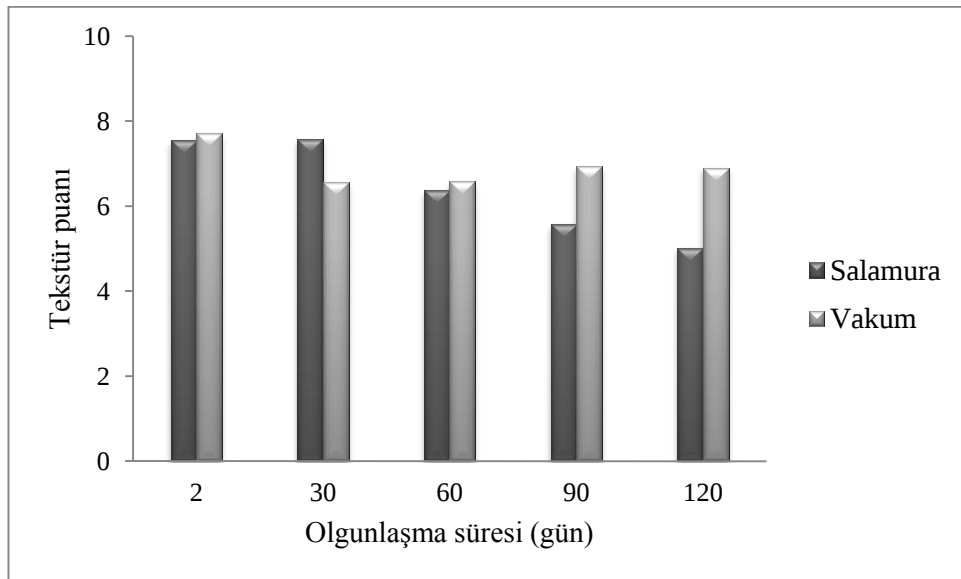
^{a,b,c} : Aynı sütunda üstel harflerle gösterilen ortalamalar birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

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

Çizelge 4.59’da Beyaz peynir örneklerinin tekstür puanlarının olgunlaşmanın ilk gününde istatistiksel olarak benzerlik gösterdiği, ancak olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte örnekler arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. KS, BS ve LS kodlu salamurada olgunlaştırılmış peynir örneklerinin tekstür puanlarının olgunlaşmanın 60. gününden itibaren düşmeye başladığı ve olgunlaşmanın son gününde ise daha fazla düştüğü de görülmektedir. Bu durum, bu peynir örneklerinde olgunlaşma

süresinin ilerlemesiyle birlikte gerçekleşen yumuşamanın tekstürel özellikleri olumsuz yönde etkilediğini ve tekstür puanlarının düşmesine sebep olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, Pappa *et al.* (2006), farklı kültür kombinasyonları kullanarak ürettikleri Feta peynirlerinde olgunlaşma süresince yapı ve tekstür puanlarının giderek azaldığını ifade etmişlerdir. Peynir yumuşamasında salamurada olgunlaştırmanın ve olgunlaşma süresinin etkili olduğu görülmektedir. Bogenrief and Olson (1995), peynirlerde erimenin β -kazein hidrolizi ile ilgili olabileceğini vurgulamışlardır. Peynirde olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz ile peynirin yapı ve tekstürü arasında bir ilişki olduğu ve proteoliz sonucu meydana gelen su tutma kapasitesine sahip küçük peptitlerin peynirin sertliğini azalttığı bildirilmektedir (Benech *et al.* 2003).

Beyaz peynir örneklerinin tekstür puanlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.29’da verilmiştir.



Şekil 4.29. Beyaz peynir örneklerinin tekstür puanları üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.29 incelendiğinde, salamurada olgunlaştırılmış peynir örneklerinin tekstür puanlarının olgunlaşmanın 30. gününe kadar arttığı daha sonra ise giderek azaldığı, vakum ambalajlanmış örneklerde ise bunun tersi bir durum olduğu görülmektedir. Bu

sonuç, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte artan su içeriği ve proteoliz düzeyine paralel olarak yumuşayan yapısının panelistlerin puanlarını olumsuz yönde etkilediğinin göstergesidir. Diğer taraftan, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin kurumadde içeriklerinde, kullanılan ambalaj sebebiyle herhangi bir değişikliğin olmaması yapı ve tekstürlerinde de önemli bir değişikliğe yol açmamıştır. Rodríguez–Alonso *et al.* (2011), modifiye atmosfer ve vakum ambalajda olgunlaştırdıkları Arzúa–Ulloa adlı bir çeşit yarı–yumuşak peynirin biyokimyasal, fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmada, vakum ambalajlanan peynirlerin tekstürel özellikler bakımından panelistlerce oldukça elastik bulunduğunu belirtmişler ve modifiye atmosferde olgunlaştırılmış peynirlerin ise aşırı yumuşak ve sürülebilir bir yapıda olduğunu ifade etmişlerdir. Esmer *et al.* (2009), vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin daha sıkı ve daha elastik bir yapıya sahip olduklarını bildirmişlerdir.

4.6.3. Koku

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen koku puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.60’da verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun koku puanları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonunun ve üç değişkene ait interaksyonun koku puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.60. Beyaz Peynir örneklerinin koku puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0,127	2,830	0,075
Ambalaj (B)	1	1,670	37,151	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	2,807	62,441	0,000**
A×B	2	0,062	1,381	0,267
A×C	8	0,063	1,408	0,233
B×C	4	0,704	15,665	0,000**
A×B×C	8	0,061	1,358	0,254
Hata	30	0,045		
Genel	60			

*p<0,05 düzeyinde önemli **p<0,01 düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen koku puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.61’de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük koku puanı (5,75) LS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek koku puanı (7,96) ise KS ve LV örneklerinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.61. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen koku puanları

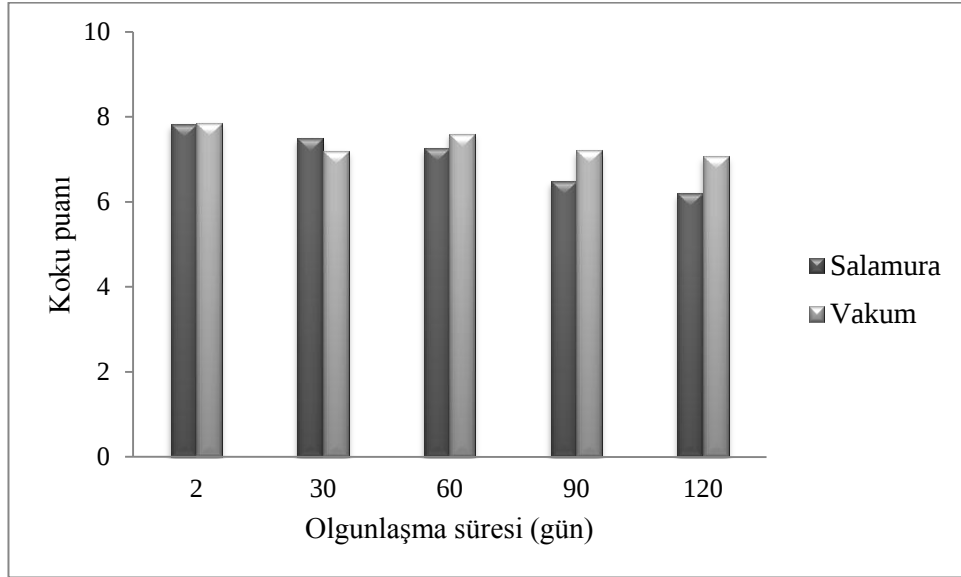
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,96±0,10 ^{a,B}	7,58±0,07 ^{a,B}	7,19±0,53 ^{a,AB}	6,72±0,30 ^{b,A}	6,55±0,23 ^{bc,A}
BS	7,69±0,13 ^{a,B}	7,50±0,08 ^{a,B}	7,32±0,26 ^{a,B}	6,32±0,04 ^{a,A}	6,28±0,21 ^{ab,A}
LS	7,81±0,21 ^{a,C}	7,42±0,30 ^{a,C}	7,31±0,00 ^{a,C}	6,42±0,02 ^{ab,B}	5,75±0,35 ^{a,A}
KV	7,91±0,14 ^{a,B}	7,32±0,25 ^{a,A}	7,54±0,22 ^{a,AB}	7,12±0,03 ^{c,A}	7,13±0,18 ^{d,A}
BV	7,72±0,24 ^{a,B}	7,08±0,19 ^{a,A}	7,77±0,25 ^{a,B}	7,47±0,05 ^{d,AB}	7,07±0,09 ^{cd,A}
LV	7,96±0,32 ^{a,B}	7,19±0,21 ^{a,A}	7,50±0,00 ^{a,AB}	7,04±0,05 ^{c,A}	7,02±0,16 ^{cd,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.

Çizelge 4.61’de Beyaz peynir örneklerinin koku puanlarının olgunlaşma süresince tüm örneklerde istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı ve örnekler arasındaki farklılığın olgunlaşmanın 90. ve 120. günlerinde olduğu görülmektedir. Eren Vapur (2010), farklı starter kültür oranları ve farklı koagulant kullanarak üretmiş olduğu Beyaz peynir örneklerinde proteolize ve lipolize bağlı olarak daha ileriki olgunlaşma aşamalarında tat puanlarının artmasına rağmen koku puanlarının azaldığını ifade etmiştir.

Beyaz peynir örneklerinin koku puanlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonu Şekil 4.30’da verilmiştir.



Şekil 4.30. Beyaz peynir örneklerinin koku puanları üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.30 incelendiğinde, salamurada ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinin koku puanlarının olgunlaşmanın başlangıcında benzer olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, olgunlaşmanın 30. gününde salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin koku puanlarının vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere kıyasla daha yüksek olduğu, olgunlaşmanın 60. gününden itibaren ise tam tersi bir durum ortaya çıktığı da görülmektedir. Ayrıca, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin olgunlaşma süresince koku puanlarındaki azalmanın vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Bu durum, Beyaz peynirin vakum ambalajda olgunlaştırılmasının koku bakımından daha olumlu bir sonuç ortaya koyduğunun göstergesidir.

4.6.4. Lezzet

Bir gıdanın kalitesinin belirlenmesinde o gıdanın duysal özellikleri büyük bir önem arz etmekte ve o gıdadaki lezzet bileşenlerinin dengesi bu gıdanın hoşla gidip gitmediğini büyük ölçüde belirlemektedir. Peynir gibi fermentasyonun etkili olduğu bir gıdada birçok lezzet bileşeni bulunmakta ve peynir olgunlaşması sırasında gerçekleşen biyokimyasal reaksiyonlar bu bileşenlerin oluşumunda etkin rol oynamaktadırlar (Ertekin ve Seydim 2009).

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen lezzet puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.62’de verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksyonun lezzet puanları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksyonlarının ve üç değişkene ait interaksyonun lezzet puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.62. Beyaz Peynir örneklerinin lezzet puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür ilavesi (A)	2	0162	1,852	0,174
Ambalaj (B)	1	8,978	102,832	0,000**
Olgunlaşma süresi (C)	4	2,974	34,060	0,000**
A $\times$ B	2	0,107	1,224	0,308
A $\times$ C	8	0,126	1,440	0,221
B $\times$ C	4	1,010	11,566	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,043	0,489	0,854
Hata	30	0,087		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen lezzet puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.63’te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük lezzet puanı (5,62) BS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken,

en yüksek lezzet puanı (7,80) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir.

Çizelge 4.63. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen lezzet puanları

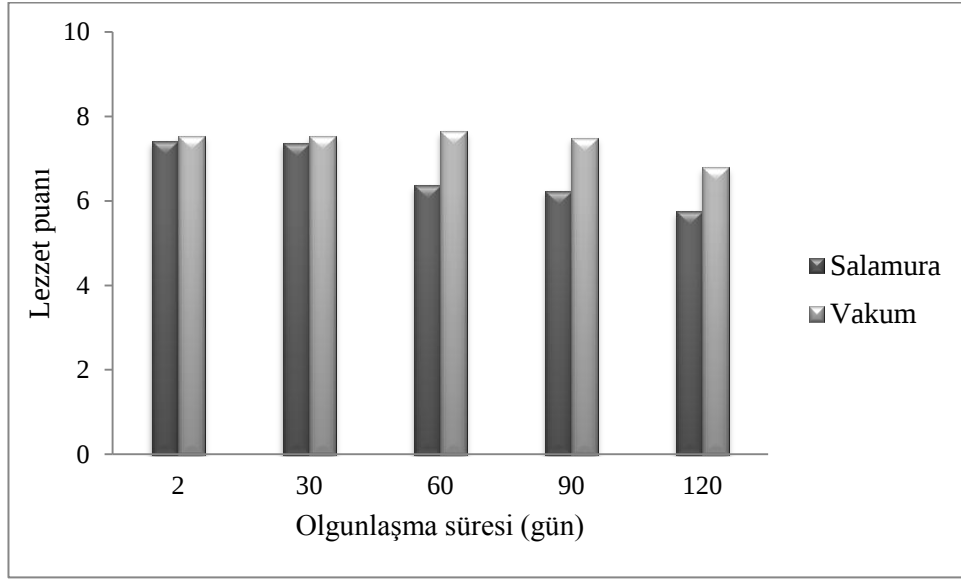
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,66±0,08 ^{b,C}	7,42±0,24 ^{a,C}	6,47±0,48 ^{a,B}	6,10±0,14 ^{a,AB}	5,68±0,25 ^{a,A}
BS	6,90±0,16 ^{a,BC}	7,24±0,06 ^{a,B}	6,41±0,67 ^{a,ABC}	6,19±0,16 ^{ab,AB}	5,62±0,25 ^{a,A}
LS	7,69±0,46 ^{b,C}	7,46±0,57 ^{a,BC}	6,22±0,50 ^{a,A}	6,44±0,08 ^{b,AB}	5,94±0,33 ^{ab,A}
KV	7,46±0,19 ^{ab,B}	7,64±0,20 ^{a,B}	7,60±0,13 ^{b,B}	7,47±0,04 ^{c,B}	6,44±0,08 ^{bc,A}
BV	7,36±0,37 ^{ab,A}	7,44±0,57 ^{a,A}	7,72±0,23 ^{b,A}	7,63±0,09 ^{c,A}	6,88±0,18 ^{cd,A}
LV	7,80±0,13 ^{b,B}	7,54±0,14 ^{a,AB}	7,63±0,08 ^{b,AB}	7,38±0,18 ^{c,AB}	7,04±0,23 ^{d,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.

Lezzet puanları bakımından örnekler arasında olgunlaşmanın 60. gününe kadar istatistiksel olarak fark bulunmazken, olgunlaşmanın 60. gününden itibaren farklılık olduğu görülmektedir (Çizelge 4.63). Olgunlaşmanın son günlerinde en yüksek lezzet puanlarını BV ve LV kodlu örnekler almıştır. Bu durum, vakum ambalajın ve probiyotik olarak kullanılan *B. bifidum* DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 kültürlerinin peynirlerin lezzetini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Nitekim Brearty *et al.* (2001), *Bifidobacterium* kültürlü Çedar peynirinin olgunlaşma süresince tat ve aromasının geliştiğini bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar da laktobasil suşlarının Çedar peynirinin lezzetini iyileştirdiğini ifade ederken (Broome *et al.* 1990; McSweeney *et al.* 1994), bazıları ise bu suşların peynirde lezzet kusurlarına sebep olduğunu belirtmişlerdir (Lee *et al.* 1990). Özer *et al.* (2009) ise probiyotik kültür kullanarak üretmiş oldukları Beyaz peynirlerin tat ve aromasının kabul edilebilir değerlerin üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Beyaz peynir örneklerinin lezzet puanlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi etkileşimini Şekil 4.31’de verilmiştir.



Şekil 4.31. Beyaz peynir örneklerinin lezzet puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.31 incelendiğinde, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin lezzet puanlarının olgunlaşma süresince azaldığı görülmektedir. Olgunlaşma süresince peynirlerde giderek artan tuz konsantrasyonunun lezzet puanlarının düşmesine yol açtığı düşünülmektedir. Bununla birlikte, olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte artan lipoliz ve proteoliz sonucu oluşan bazı bileşiklerin peynirde istenmeyen bir lezzet oluşumuna sebep olduğu da söylenebilir. Diğer taraftan, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerinin lezzet puanları 90. güne kadar artmış, 120. günde ise azalmıştır (Şekil 4.31). Bu durum, bu peynirlerin olgunlaşma süresince tuz konsantrasyonlarında bir değişikliğin olmaması ve vakum ambalajda olgunlaştırmanın lezzet üzerine olumlu bir etki yapmış olabileceği sonucu lezzet puanlarının artması ile açıklanabilir.

4.6.5. Tuzluluk

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen tuzluluk puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.64’te verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj × olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun tuzluluk puanları üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p < 0,01$) bulunmuştur.

Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni ile kültür ilavesi × ambalaj, kültür ilavesi × olgunlaşma süresi interaksiyonunun ve bu üç değişkene ait interaksiyonun tuzluluk puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.64. Beyaz Peynir örneklerinin tuzluluk puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür İlavesi (A)	2	0,226	2,300	0,118
Ambalaj (B)	1	49,142	500,950	0,000**
Olgunlaşma Süresi (C)	4	3,271	33,343	0,000**
A×B	2	0,087	0,888	0,422
A×C	8	0,157	1,600	0,167
B×C	4	4,287	43,703	0,000**
A×B×C	8	0,090	0,916	0,517
Hata	30	0,098		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuzluluk puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.65'te verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük tuzluluk puanı (3,94) KS örneğinde olgunlaşmanın 120. gününde belirlenirken, en yüksek tuzluluk puanı (7,82) ise KV örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde belirlenmiştir. Bergamini *et al.* (2009), probiyotik kültür kullanarak ürettikleri peynirlerin tuzluluk puanlarının 4,50–6,50 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Çizelge 4.65. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen tuzluluk puanları

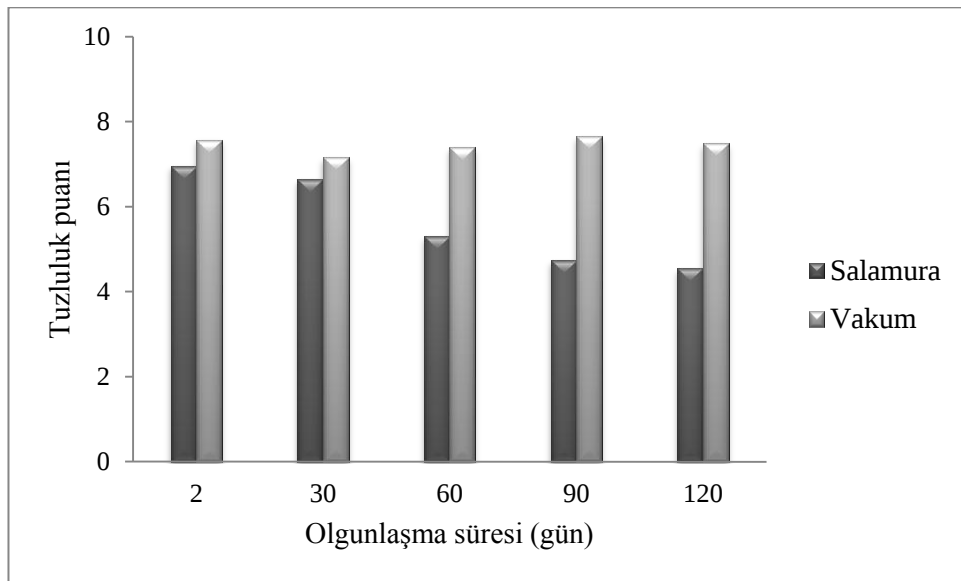
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	6,95±0,16 ^{a,C}	6,78±0,66 ^{a,C}	5,51±0,18 ^{a,B}	4,53±0,04 ^{a,A}	3,94±0,08 ^{a,A}
BS	6,93±0,19 ^{a,B}	6,66±0,13 ^{a,B}	5,13±0,53 ^{a,A}	4,51±0,18 ^{a,A}	4,57±0,08 ^{b,A}
LS	7,02±0,68 ^{a,B}	6,50±0,35 ^{a,B}	5,31±0,03 ^{a,A}	5,17±0,05 ^{b,A}	5,13±0,18 ^{c,A}
KV	7,61±0,00 ^{a,AB}	7,13±0,26 ^{a,A}	7,53±0,31 ^{b,AB}	7,82±0,09 ^{c,B}	7,34±0,12 ^{d,AB}
BV	7,36±0,59 ^{a,A}	7,13±0,09 ^{a,A}	7,32±0,45 ^{b,A}	7,48±0,11 ^{c,A}	7,54±0,05 ^{d,A}
LV	7,74±0,42 ^{a,A}	7,22±0,31 ^{a,A}	7,32±0,45 ^{b,A}	7,66±0,04 ^{d,A}	7,59±0,12 ^{d,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.

Çizelge 4.65’te olgunlaşmanın 60. gününden itibaren peynir örnekleri arasında tuzluluk puanları bakımından istatistiksel olarak önemli bir farklılığın ortaya çıktığı görülmektedir. Buna göre, salamura olgunlaştırılmış tüm örnekler olgunlaşmanın son gününe kadar vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerle kıyasla panelistler tarafından daha düşük puanlar almışlardır. Bu durum, salamura olgunlaştırılmış peynirlerde salamura peynir kitlesine olgunlaşma süresince önemli ölçüde tuz geçişinin olduğunu göstermektedir.

Beyaz peynir örneklerinin tuzluluk puanlarına ait ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi etkisi Şekil 4.32’de verilmiştir.



Şekil 4.32. Beyaz peynir örneklerinin tuzluluk puanları üzerine ambalaj $\times$ olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.32’de salamura ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin tuzluluk puanları bakımından olgunlaşma süresince birbirine zıt bir durum sergilediği görülmektedir. Buna göre, salamura olgunlaştırılmış peynirlerin tuzluluk puanları olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte azalırken, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise artmıştır.

4.6.6. Genel kabul edilebilirlik

Beyaz peynir örneklerine panelistler tarafından verilen genel kabul edilebilirlik puanlarına ait varyans analiz sonuçları Çizelge 4.66'da verilmiştir. Buna göre, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenleri ile ambalaj $\times$ olgunlaşma süresi varyasyon kaynaklarına ait interaksiyonun genel kabul edilebilirlik üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Diğer taraftan, kültür ilavesi değişkeni ile kültür ilavesi $\times$ ambalaj, kültür ilavesi $\times$ olgunlaşma süresi interaksiyonlarının ve üç değişkene ait interaksiyonun genel kabul edilebilirlik puanları üzerindeki etkisi ise istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.66. Beyaz Peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarına ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon kaynakları	SD	KO	F	P
Kültür İlavesi (A)	2	0,015	0,179	0,837
Ambalaj (B)	1	14,920	175,290	0,000**
Olgunlaşma Süresi (C)	4	2,257	26,518	0,000**
A $\times$ B	2	0,059	0,698	0,505
A $\times$ C	8	0,186	2,185	0,058
B $\times$ C	4	1,954	22,959	0,000**
A $\times$ B $\times$ C	8	0,025	0,297	0,962
Hata	30	0,085		
Genel	60			

* $p<0,05$ düzeyinde önemli ** $p<0,01$ düzeyinde önemli

Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen genel kabul edilebilirlik puanlarına ait değerler standart sapmalarıyla birlikte Çizelge 4.67'de verilmiştir. Peynir örneklerine ait en düşük genel kabul edilebilirlik (5,52) BS örneğinde olgunlaşmanın 90. gününde belirlenirken, en yüksek genel kabul edilebilirlik puanı (7,91) ise LV örneğinde olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Dağdemir (2006) farklı kültür kombinasyonları kullanarak üretmiş olduğu salamura Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarının olgunlaşma süresince azaldığını belirlemiştir. Araştırmacı, bu azalışın; olgunlaşma süresince artan tuz miktarının peynirin başta lezzeti olmak üzere diğer özelliklerini de baskılaması sebebiyle olabileceğini ifade etmiştir.

Çizelge 4.67. Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince belirlenen genel kabul edilebilirlik puanları

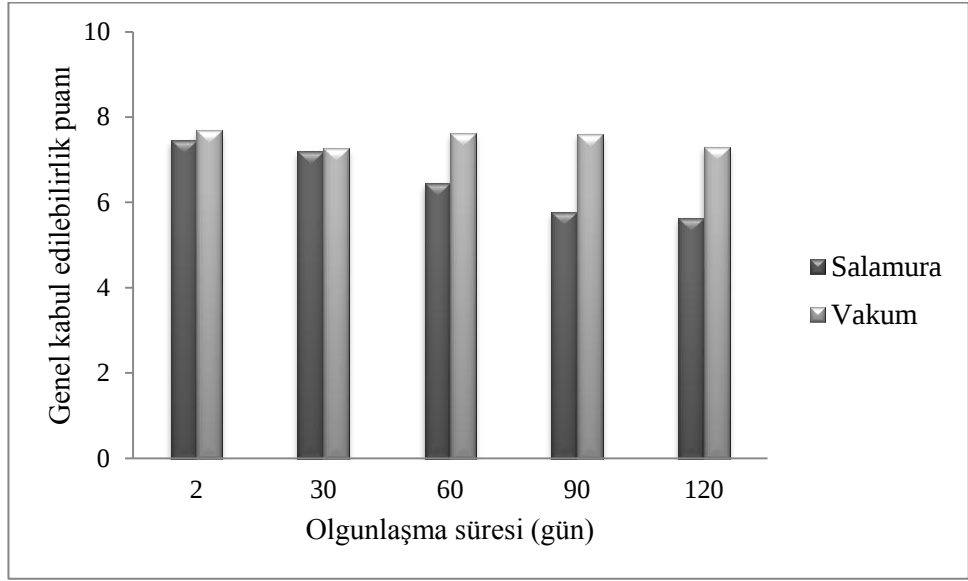
Peynir örnekleri	Olgunlaşma süresi (gün)				
	2	30	60	90	120
KS	7,61±0,25 ^{a,B}	7,13±0,30 ^{a,B}	6,72±0,59 ^{ab,B}	5,69±0,35 ^{a,bA}	5,69±0,27 ^{a,A}
BS	7,17±0,24 ^{a,B}	7,21±0,25 ^{a,B}	6,53±0,50 ^{a,B}	5,52±0,13 ^{a,A}	5,62±0,16 ^{a,A}
LS	7,56±0,57 ^{a,B}	7,23±0,30 ^{a,B}	6,08±0,52 ^{a,A}	6,10±0,20 ^{b,A}	5,61±0,28 ^{a,A}
KV	7,66±0,06 ^{a,BC}	7,23±0,07 ^{a,AB}	7,81±0,35 ^{b,C}	7,49±0,01 ^{c,ABC}	7,11±0,13 ^{b,A}
BV	7,48±0,31 ^{a,A}	7,27±0,02 ^{a,AB}	7,83±0,02 ^{b,B}	7,65±0,08 ^{c,AB}	7,38±0,18 ^{b,A}
LV	7,91±0,24 ^{a,A}	7,28±0,18 ^{a,A}	7,23±0,47 ^{ab,A}	7,67±0,18 ^{c,A}	7,41±0,13 ^{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.

Genel kabul edilebilirlik puanları açısından örnekler arasında oluşan istatistiksel farklılığın olgunlaşmanın 90. ve 120. günlerinde meydana geldiği Çizelge 4.67’de görülmektedir. Salamurada olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarının olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte önemli derecede (p<0.01) azaldığı, vakum ambalajlanmış örneklerde ise önemli bir değişikliğin olmadığı görülmektedir. Salamurada olgunlaştırılmış peynirler olgunlaşmanın 2. ve 30. günlerinde beğenilirken, daha sonra vakum ambalajdaki peynirler yüksek puanlar almıştır.

Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarına ait ambalaj × olgunlaşma süresi etkileşimi Şekil 4.33’te verilmiştir.



Şekil 4.33. Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları üzerine ambalaj × olgunlaşma süresinin etkisi

Şekil 4.33 incelendiğinde, vakum ambalajda olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerine panelistlerce verilen genel kabul edilebilirlik puanlarının salamurada olgunlaştırılmış peynir örneklerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, salamurada olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanlarının olgunlaşma süresince azaldığı da görülmektedir. Bu durum, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde olgunlaşma süresince artan tuz miktarları sebebiyle gerek lezzet bakımından gerekse de tekstürel özellikler bakımından oluşan kusurların genel kabul edilebilirlik puanlarını düşürdüğünü göstermektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, *B. bifidum* DSMZ 20456 ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 probiyotik bakteri suşları kullanılarak Beyaz peynirler üretilmiş ve salamura ve vakum ambalajda olmak üzere 4 ay süreyle $4\pm1^{\circ}\text{C}$ 'de olgunlaştırılmışlardır. Olgunlaşmanın farklı dönemlerinde Beyaz peynirlerin bazı kimyasal, mikrobiyolojik, duyuşsal ve proteoliz özelliklerinin yanı sıra, elektroforetik (üre-PAGE) özellikleri, RP-HPLC ile peptit profilleri ve peptitlerin ADE-inhibitör aktiviteleri ile antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Bu bölümde, Beyaz peynir örneklerinde yapılan tüm bu analizlerden elde edilen sonuçlar özetlenmiştir.

1. Beyaz peynir örneklerinin TAMB sayıları üzerine yalnızca olgunlaşma süresinin etkili ($p<0,01$) olduğu, olgunlaşma süresince bu sayılarda tüm örneklerde başlangıç bakteri sayısına göre artış ve azalışlar olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, vakumda olgunlaştırılmış örneklerin TAMB sayılarının salamuradaki örneklere göre olgunlaşmanın 30. gününden itibaren daha düşük olduğu saptanmıştır.

2. Beyaz peynir örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin üçünün de etkili ($p<0,01$) olduğu bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre; kontrol örneklerinin LAB sayılarının probiyotik kültür ilaveli örneklere göre daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, salamurada olgunlaştırılmış örneklerin de LAB sayılarının vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla, vakum ambalajın bu bakteriler için salamuraya göre daha uygun bir ortam oluşturduğu görülmüştür. Ayrıca, olgunlaşma süresince MRS agarda gelişen LAB sayıları giderek azalmıştır ($p<0,01$).

3. Beyaz peynir örneklerinin M-17 agarda gelişen LAB sayıları üzerine yalnızca olgunlaşma süresinin etkili ($p<0,01$) olduğu bulunmuş olup tüm örneklerde

olgunlaşmanın 60. gününe kadar yüksek olan sayının 60. günden sonra azaldığı belirlenmiştir.

4. *B. bifidum* DSMZ 20456 probiyotik starter kültürü ilave edilerek üretilmiş Beyaz peynir örneklerinin *B. bifidum* DSMZ 20456 sayıları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi $p<0,01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Hem salamura hem de vakum ambalajda olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinde başlangıç *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarının benzer olduğu ve olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte giderek azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarının vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha düşük olduğu, ancak tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresince canlı probiyotik bakteri sayılarının olgunlaşmanın son gününe kadar 10^6 kob/g'ın üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

5. *L. acidophilus* DSMZ 20079 probiyotik starter kültürü ilave edilerek üretilmiş Beyaz peynir örneklerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayıları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi $p<0,01$ seviyesinde önemli bulunmuştur. Tüm örneklerde başlangıç *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarının olgunlaşmanın ilerlemesiyle birlikte giderek azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarının vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha düşük olduğu ve tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresince canlı probiyotik bakteri sayılarının olgunlaşmanın son gününe kadar 10^6 kob/g'ın üzerinde olduğu tespit edilmiştir.

Genel olarak bakıldığında, probiyotik peynirlerde *L. acidophilus* DSMZ 20079 sayılarının *B. bifidum* DSMZ 20456 sayılarına göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Ancak olgunlaşma süresince *L. acidophilus* DSMZ 20079 bakteri sayısındaki logaritmik azalmanın *B. bifidum* DSMZ 20456 sayısına göre daha fazla olduğu görülmüştür.

6. Beyaz peynir örneklerinin kurumadde oranları üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin üçünün de etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir.

Olgunlaşmanın ilk gününde belirlenen kurumadde miktarlarının tüm örneklerde istatistiksel olarak benzer olduğu, depolamanın ilerleyen günlerinde ise farklılıklar gösterdiği ve özellikle salamuraadaki örneklerin kurumadde oranlarının vakumda olgunlaştırılmış örneklerle kıyasla giderek azaldığı ($p<0,01$) saptanmıştır. Olgunlaşmanın son gününe gelindiğinde, salamuraada olgunlaştırılmış peynirlerin kurumadde oranlarında başlangıca göre yaklaşık %10 kadar bir azalma olduğu görülmüştür. Bu durumun pek çok sebebi olabileceği ifade edilmiş olup, vakum ambalajın bu anlamda daha avantajlı olduğu öngörülmüştür.

7. Beyaz peynir örneklerinin yağ oranları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Salamurada olgunlaştırılmış Beyaz peynir örneklerinin yağ oranları olgunlaşmanın 30. gününe kadar önemli derecede azalmış olup, 60. günden sonraki azalma ise istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır.

8. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Beyaz peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranlarının TSE 591 Beyaz Peynir Standardı'nda öngörülen değere ($\geq\%45$) uygunluk gösterdiği belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerin kurumaddede yağ oranlarının benzer olduğu, salamuraada olgunlaştırılmış peynirlerin ise kurumaddede yağ oranlarının 30. günden sonra azaldığı tespit edilmiştir.

9. Beyaz peynir örneklerinin tuz ve kurumaddede tuz oranları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Salamurada olgunlaştırılmış peynir örneklerinin tuz ve kurumaddede tuz oranlarının olgunlaşma süresince giderek arttığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise benzerlik gösterdiği görülmüştür. Kurumaddede tuz değerleri, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örnekleri için TSE 591 Beyaz Peynir Standardı'nda öngörülen değere ($\leq\%10$) uygun bulunurken, salamuraada olgunlaştırılmış örnekler için olgunlaşmanın 30. gününden itibaren standartta belirtilen değerin üzerinde bulunmuştur. Bu çalışmada, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin tuz miktarlarının düşük oluşu probiyotik

bakteriler için olumlu bir durum ortaya koyarken, salamurada olgunlaştırılmış örneklerde tuz miktarının yüksek olması ise olumsuz bir durum ortaya çıkarmıştır.

10. Beyaz peynir örneklerinin titrasyon asitliği değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Tüm örneklerin titrasyon asitliği değerlerinin 120 günlük olgunlaşma süresince çok dar bir aralıkta değiştiği, önemli değişikliklerin olmadığı belirlenmiştir. Salamurada olgunlaştırılmış örneklerin titrasyon asitliği değerleri vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklere kıyasla daha düşük bulunmuş ve bu değerlerde olgunlaşma periyodunun ilerlemesiyle birlikte genel olarak bir artış olmuştur.

11. Beyaz peynir örneklerinin pH değerleri üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu görülmüştür. Probiyotik kültür kullanılmayan kontrol örneklerinin pH değerleri diğer örneklerde belirlenen değerlere göre daha yüksek bulunmuş ve en yüksek ortalama değer olgunlaşmanın 2. gününde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince en yüksek ortalama pH değerleri salamurada olgunlaştırılmış kontrol örneklerinde, en düşük değerler ise vakum ambalajda olgunlaştırılmış *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli Beyaz peynir örneklerinde saptanmış olup, olgunlaşmanın 120. gününde tüm peynir örneklerinin pH değerlerinde artış tespit edilmiştir.

12. Beyaz peynir örneklerinin protein oranları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu görülmüştür. Salamura ve vakumda olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarının olgunlaşmanın 2. gününde benzer olduğu, olgunlaşma süresi ilerledikçe salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarının vakumda olgunlaştırılmış peynirlerin protein oranlarından daha düşük olduğu belirlenmiştir.

13. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azot değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Peynirlerin suda

çözünür azot oranlarının olgunlaşma süresince giderek arttığı ve bu artışın 60. günden itibaren vakumda olgunlaştırılmış örneklerde daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

14. Beyaz peynir örneklerinin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine yalnızca olgunlaşma süresi değişkeninin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri tüm örneklerde artış göstermiştir. salamura da olgunlaştırılmış kontrol ve *B. bifidum* DSMZ 20456 ilaveli peynirlerin ortalama suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin vakumda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha fazla olduğu, *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneklerinde ise vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin suda çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

15. Beyaz peynir örneklerinin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, vakum ambalajlanmış örneklerin TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin özellikle 120. günde, salamura da olgunlaştırılmış örneklerde bulunan değerlere göre daha yüksek bulunmuştur. En yüksek TCA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerlerinin *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneğinde belirlenmiştir.

16. Beyaz peynir örneklerinin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine yalnızca olgunlaşma süresi değişkeninin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir ve olgunlaşma süresince arttığı tespit edilmiştir. İlave kültür kullanımının peynirlerin PTA'da çözünür azota göre olgunlaşma indeksi değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmasına rağmen en yüksek değer vakum ambalajda olgunlaştırılmış ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneğinde (LV) bulunmuştur.

17. Beyaz peynir örneklerinin toplam serbest aminoasit değerleri üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Bu

değerlerin tüm örneklerde olgunlaşma süresince giderek arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerin toplam serbest aminoasit değerlerinin salamurada depolanan örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. En yüksek değerleri ise vakum ambalajlanmış ve *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynir örneklerinde belirlenmiştir.

18. Beyaz peynir örneklerinin üre-PAGE elektroforetik analizlerinde; tüm örneklerde olgunlaşma süresinin sonunda β -kazein degradasyonunun α_{s1} -kazeinde meydana gelen degradasyona göre daha az olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan, salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin α_{s1} -kazein ve β -kazein hidrolizinin vakum ambalajda olgunlaştırılmış örneklerde meydana gelen hidrolize nisbeten daha fazla olduğu, ancak α_{s1} -kazeinin ileri parçalanma ürünlerinin ise vakum ambalajlı örneklerde daha çok olduğu görülmüştür. Elde edilen jeller ve bu jellere ait dendrogram sonuçları kullanılan probiyotik kültürlerin elektroforetik olarak ölçülen proteolize katkıda bulunduğu tespit edilmiştir.

19. Beyaz peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} -kazein oranları üzerine kültür ilavesi ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin $p<0,01$ seviyesinde, ambalaj değişkeninin ise $p<0,05$ seviyesinde etkili olduğu görülmüştür. Peynir örneklerinin kalıntı α_{s1} -kazein oranının olgunlaşmanın başlangıcından sonuna doğru giderek azaldığı ve olgunlaşma süresinin sonunda kalıntı α_{s1} -kazein oranının %66'dan fazla olduğu belirlenmiştir.

20. Beyaz peynir örneklerinin pH 4.6'da çözünür fraksiyonlarının RP-HPLC peptit profillerine ait kromatogramlarda peynir örneklerinde çok sayıda pikin olduğu ve olgunlaşma süresince pik sayısından ziyade yüksekliklerinin değiştiği görülmüştür. Olgunlaşmanın 2. gününde peynir örneklerinin peptit profilleri benzerlik göstermiş, 60. ve 120. günlerinde ise farklılıklar ortaya çıkmıştır. Tüm örneklerde alıkonma zamanının yaklaşık olarak 31. ve 39. dakikalarında gelen piklerin en yüksek konsantrasyona sahip olduğu belirlenmiştir. Vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerine ait peptitlerin pik yükseklikleri salamurada olgunlaştırılmış peynirlere göre daha yüksek olmuştur.

21. Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin ADE–inhibitör aktivite değerleri (IC_{50}) üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşmanın 60. ve 120. günlerinde hem vakum ambalajda hem de salamurada olgunlaştırılmış örnekler *L. acidophilus* DSMZ 20079 ilaveli peynirlerden ekstrakte edilen peptitlerin IC_{50} değerlerinin diğer örneklerle kıyasla daha düşük olduğu, yani ADE–inhibitör aktivitelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, *L. acidophilus* DSMZ 20079’un ADE–inhibitör peptitlerin oluşumuna katkı sağladığı şeklinde yorumlanmıştır. Diğer taraftan, en düşük IC_{50} değeri olgunlaşmanın 120. gününde LV kodlu örnekte belirlenmiştir. Bu sonuç, Beyaz peynirde ADE–inhibitör aktiviteyi ifade eden IC_{50} değerinin düşmesinde *L. acidophilus* DSMZ 20079’un katkısının yanı sıra vakum ambalajda olgunlaştırmanın da olumlu yönde etkisi olduğunu göstermiştir.

22. Peptit ekstraktlarının % olarak ölçülen ADE–inhibitör aktivite değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince ADE–inhibisyonunun arttığı ve vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerden ekstrakte edilmiş peptitlerin salamurada olgunlaştırılmış peynirlerden ekstrakte edilmiş olanlara göre daha yüksek bir aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

23. Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin antioksidan aktivite değerleri (IC_{50}) üzerine olgunlaşma süresinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Peynir örneklerinin tümünde en yüksek antioksidan aktivite olgunlaşmanın 60. gününde en düşük aktivite ise 120. gününde tespit edilmiştir.

24. Peptit ekstraktlarının % olarak ölçülen antioksidan aktivite değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. IC_{50} sonuçlarına paralel olarak antioksidan aktivitenin olgunlaşmanın 60. gününde arttığı, 120. gününde ise azaldığı saptanmıştır. Vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde salamurada olgunlaştırılmış peynirlere kıyasla daha yüksek bir antioksidan aktivite tespit edilmiştir. Bununla birlikte, en yüksek antioksidan aktivite *B. bifidum* DSMZ

20456 kültürü ilavesiyle üretilmiş peynirlerden ekstrakte edilen peptitlerde belirlenmiştir.

25. Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *E. coli* BC 402'ye karşı inhibisyon değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin $p<0,01$ seviyesinde, kültür ilavesi değişkeninin ise $p<0,05$ seviyesinde etkili olduğu görülmüştür. Peptit ekstraktlarının *E. coli* BC 402'ye karşı inhibitör aktive göstermediği, aksine bu bakterinin gelişimini teşvik ettiği belirlenmiştir. Ancak bu teşviğin olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte azaldığı ve vakum ambalajlanmış örneklerde ise daha belirgin bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, *L. acidophilus* ilaveli vakum ambalajlanmış örnekte olgunlaşmanın 120. gününde *E. coli* BC 402'ye %0,14 oranında pozitif bir inhibisyon belirlenmiştir.

26. Peptit ekstraktlarının *S. Typhimurium* RSSK 95091'e karşı inhibisyon değerleri üzerine kültür ilavesi, ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin $p<0,01$ seviyesinde etkili olduğu görülmüştür. *S. Typhimurium* RSSK 95091'in de gelişimi üzerine teşvik tespit edilmiş olup, bu teşvik olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte giderek azalmış ve 120. güne gelindiğinde KV örneği dışındaki tüm örneklerde negatif inhibisyon değerleri pozitif değerlere dönüşmüştür.

27. Beyaz peynir örneklerinden ekstrakte edilen peptitlerin *S. aureus* ATCC 29213'e karşı olgunlaşma süresince belirlenen inhibisyon değerleri üzerine yalnızca olgunlaşma süresi değişkeni etkili ($p<0,01$) olmuştur. Olgunlaşmanın 2. ve 60. günlerinde peptit ekstraktlarının *S. aureus* ATCC 29213'e karşı anitimbakteriyel etkide bulunmadığı, ancak 120. günde KS örneği dışındaki örneklerde inhibisyon olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, 120. günde elde edilen inhibisyon değerlerinin vakum ambalajlanmış örneklerde ve *L. acidophilus* ilaveli örneklerde daha yüksek olduğu da belirlenmiştir.

28. Peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı inhibisyon değerleri üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Peptit ekstraktlarının *B. cereus* BC 6230'a karşı olgunlaşmanın tüm günlerinde

inhibisyon gösterdiği ve bu inhibisyonun olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte arttığı görülmüştür. Bununla birlikte, olgunlaşmanın 60. ve 120. günlerinde gerçekleşen inhibisyonun salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde vakum ambalajda olgunlaştırılmış olanlara nazaran daha fazla olduğu, ancak farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı da tespit edilmiştir.

29. Beyaz peynir örneklerinin olgunlaşma süresi ilerledikçe renk ve görünüş puanlarının önemli derecede ($p<0,01$) azaldığı belirlenmiştir. Bununla birlikte, peynir üretiminde kullanılan probiyotik kültürlerin ve farklı ambalaj uygulamasının renk ve görünüş puanlarını istatistiksel olarak etkilemediği tespit edilmiştir.

30. Beyaz peynir örneklerinin tekstür puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu, kültür ilavesinin ise etkisinin olmadığı ($p>0,05$) belirlenmiştir. Salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin tekstür puanlarının olgunlaşmanın 30. gününe kadar arttığı daha sonra ise giderek azaldığı, vakum ambalajlanmış örneklerde ise bunun tersi bir durum olduğu tespit edilmiştir. Salamurada olgunlaştırılmış peynirlerde olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte gerçekleşen yumuşamanın tekstürel özellikleri olumsuz yönde etkilediğini ve tekstür puanlarının düşmesine sebep olduğu sonucuna varılmıştır.

31. Beyaz peynir örneklerinin koku puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Koku puanlarının olgunlaşma süresinin sonuna doğru genel olarak azaldığı görülmüştür. Ancak salamurada olgunlaştırılmış peynirlerin olgunlaşma süresince koku puanlarındaki azalmanın vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, Beyaz peynirin vakum ambalajda olgunlaştırılmasının koku bakımından daha olumlu bir durum ortaya koyduğunu göstermiştir.

32. Beyaz peynir örneklerine verilen lezzet puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak önemli ($p<0,01$) bulunmuştur. Lezzet puanları bakımından örnekler arasında olgunlaşmanın 60. gününe kadar istatistiksel

olarak fark bulunmazken, olgunlaşmanın 60. gününden itibaren farklılık olduğu görülmüştür. Salamura da olgunlaştırılmış peynirlerin lezzet puanlarının olgunlaşma süresince giderek azaldığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynir örneklerinin ise 90. güne kadar arttığı, 120. günde ise azaldığı belirlenmiştir.

33. Beyaz peynir örneklerinin tuzluluk puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Salamura da olgunlaştırılmış peynirlerin tuzluluk puanlarının olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte azaldığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise arttığı görülmüştür.

34. Beyaz peynir örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları üzerine ambalaj ve olgunlaşma süresi değişkenlerinin etkili ($p<0,01$) olduğu belirlenmiştir. Salamura da olgunlaştırılmış peynirlerin genel kabul edilebilirlik puanlarının olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle birlikte azaldığı, vakum ambalajda olgunlaştırılmış peynirlerde ise değişiklik olmadığı görülmüştür.

Özetle;

- ✓ Kullanılan probiyotik kültürlerin Beyaz peynir için uygun olduğu görülmüş ve olumlu sonuçlar alınmıştır.
- ✓ Probiyotik bakteri sayılarının 10^6 kob/g'ın altına düşmemesi nedeniyle, peynirler 120. günde bile probiyotik ürün olma özelliğini korumuştur.
- ✓ Probiyotik kültürlerin ve vakum ambalajın peynirde oluşan peptitlerin ADE-inhibitör, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini artırdığı ve incelenen çoğu özellik bakımından *L. acidophilus*'un daha etkili olduğu görülmüştür.
- ✓ Vakum ambalajın Beyaz peynirin olgunlaştırılmasında mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal açıdan salamura ya göre daha uygun olduğu tespit edilmiştir.
- ✓ Beyaz peynir salamura da olgunlaştırılan bir peynir çeşidi olmakla birlikte, bu çalışmada probiyotik kültür kullanılarak ve vakum ambalajda olgunlaştırılarak yeni bir ürün üretilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abd El-Salam, M.H., 1987. Domiati and Feta type cheeses. In P.F. Fox (ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 2. London, Elsevier Applied Science. 277–309.
- Abd El-Salam, M.H., Alichanidis, E., and Zerfiridis, G.K., 1993. Domiati ve Feta Type Cheeses (P. F. Fox, editor). *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, 2nd ed. Major Cheese Groups, Vol. 2, London, Chapman and Hall, 301–335.
- Addeo, F., Chianes, L., Salzano, A., Sacchi, R., Cappucio, U., Ferranti, P. and Malroni, A., 1992. Characterization of the 12% trichloroacetic acid-insoluble oligopeptides of Parmigiano-Reggiano cheese. *Journal of Dairy Research*, 59, 401–411.
- Adt, I., Dupas, C., Boutrou, R., Oulahal, N., Noel, C., Moll  , D., Jouvet, T. and Degraeve, P., 2011. Identification of caseinophosphopeptides generated through in vitro gastro-intestinal digestion of Beaufort cheese. *International Dairy Journal*, 21, 129–134.
- Akalın, A.S. and Karaman, A.D., 2010. Influence of packaging systems on the biochemical characteristics and volatile compounds of industrially produced Turkish white cheese. *Journal of Food Biochemistry*, 35, 663–680.
- Akıllıoğlu, H.G., 2009. Bazı Kurubaklagillerden Elde Edilen Protein Ekstraktları ve Fraksiyonlarının ADE İnhibisyon Aktiviteleri: Isıl İşlem ve *  n Vitro* Sindirilirliğin Etkisi. *Yüksek Lisans Tezi*, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, İzmir.
- Alais, C., 1984. *Science du Lait*. 4. Edition, Edition SEPAIC, Paris, 814.
- Alp, G. ve Aslım, B., 2009. İnsan bağırsak sisteminde probiyotik olarak Bifidobakterilerin   nemi. *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10 (2), 343–354.
- Amirdivani, S. and Baba, A.S., 2011. Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-I converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 1458–1464.
- Andrews, A.T., 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on casein. *Journal of Dairy Research*, 50, 45–55.
- Anonymous, 2004. Position of the American Dietetic Association: Functional Foods. *Journal of American Dietetic Association*, 104, 814–822.
- Anonim, 2013. Ulusal S  t Konseyi. Dünya ve Türkiye’de S  t Sekt  r İstatistikleri 2012. Ed. N. Demirel, 1. Basım - Mayıs 2013 Ankara, 57–59.
- Apostolidis, E., Kwon, Y.I. and Shetty, K., 2007. Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal-enriched cheese against key enzymes linked to type 2 diabetes and hypertension. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8, 46–54.
- Ard  , Y., 1999. Evaluating proteolysis by analysing the N content of cheese fractions, Bulletin 337, International Dairy Federation, Brussel, 4–9.
- Ariyoshi, Y., 1993. Angiotensin-converting enzyme inhibitors derived from food proteins. *Trends in Food Science and Technology*, 4, 139–144.

- Arslan, S., 2005. Fonksiyonel Beyaz Peynir Üretiminde Süt Yağı Yerine Bazı Alternatif Maddelerin Kullanımı ve Bunların Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Ashar, M.N. and Chand, R., 2004. Fermented milk containing ACE-inhibitory peptides reduces blood pressure in middle aged hypertensive subjects. *Milchwissenschaft*, 59, 363–366.
- Askar, A. and Treptow, H., 1986. Biogene Amine in Lebensmitteln. Ulmer Verlag, Stuttgart.
- Atasoy, A.F., 2004. Farklı Tür Sütlerden Yapılan Urfa Peynirlerinin Nitelikleri Üzerine Değişik Pastörizasyon Normlarının ve Starter Kültürlerinin Etkileri. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara.
- Bellamy, W., Takase, M., Yamauchi, K., Wakabayashi, H., Kawase, K. and Tomita, M. 1992. Identification of the bactericidal domain of lactoferrin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1121, 130–136.
- Benech, R.O., Kheadr, E.E., Lacroix, C. and Fliss, I., 2003. Impact of nisin producing culture and liposome-encapsulated nisin on ripening of *Lactobacillus* added-Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 86, 1895–1909.
- Benkerroum, N., 2010. Antimicrobial peptides generated from milk proteins: a survey and prospects for application in the food industry. A review. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 320–338.
- Bergamini, C.V., Hynes, E.R. and Zalazar, C.A. 2006. Influence of probiotic bacteria on the proteolysis profile of a semi-hard cheese. *International Dairy Journal*, 16, 856–866.
- Bergamini, C.V., Hynes, E.R., Palma, S.B., Sabbag, N.G. and Zalazar, C.A., 2009. Proteolytic activity of three probiotic strains in semi-hard cheese as single and mixed cultures: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* and *Bifidobacterium lactis*. *International Dairy Journal*, 19, 467–475.
- Blakesley, R.W. and Boezi, J.A., 1977. A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G-250. *Analytical Biochemistry*, 82, 580–581.
- Blanchette, L., Roy, D., Belanger, G. and Gauthier, S.F. 1996. Production of cottage cheese using dressing fermented by *Bifidobacteria*. *Journal of Dairy Science*, 79, 8–15.
- Bodyfelt, F.W., Tobias J. and Trout G.M., 1988. The Sensory Evolution of Dairy Products. Published by Van Nostrand Reinhold-New York.
- Bogenrief, D.D. and Olson, N.F., 1995. Hydrolysis of casein increases Cheddar cheese meltability. *Milchwissenschaft*, 50 (12), 678–682.
- Bottesini, C., Paoletta, S., Lambertini, F., Galaverna, G., Tedeschi, T., Dossena, A., Marchelli, R. and Sforza, S., 2013. Antioxidant capacity of water soluble extracts from Parmigiano-Reggiano cheese. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 64 (8), 953–958.
- Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B. and Reinheimer, J.A., 2004. Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal*, 14, 375–387.

- Brearty, S.M., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K., Wallace, J.M. and Stanton, C., 2001. Influence of two commercially available bifidobacteria cultures on Cheddar cheese quality. *International Dairy Journal*, 11, 599–610.
- Broadbent, J.R., Barnes, M., Brennand, C., Strickland, M., Houck, K., Johnson, M.E. and Steele, J.L., 2002. Contribution of *Lactococcus lactis* cell envelope proteinase specificity to peptide accumulation and bitterness in reduced-fat cheddar cheese. *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 1778–1785.
- Broome, M.C., Krause, D.A. and Hickey, M.W., 1990. The use of non-starter *Lactobacilli* in Cheddar cheese manufacture. *Australian Journal of Dairy Technology*, 45 (2), 67–73.
- Bulat, T., 2011. Beyaz Peynir Üretiminde Probiyotik *Enterococcus faecium*'un Ek Kültür Olarak Kullanımı ve Bunun Oksidasyon–Redüksiyon Potansiyeli ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Buriti, F.C.A., Rocha, S.J. and Saad, M.I.S., 2005. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15, 1279–1288.
- Bütikofer, U., Meyer, J., Sieber, R. and Wechsler, D., 2007. Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val–Pro–Pro and Ile–Pro–Pro in hard, semi-hard and soft cheeses. *International Dairy Journal*, 17, 968–975.
- Byun, H.G., Lee, J.K., Park, H.G., Jeon, J.K. and Kim, S.K., 2009. Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. *Process Biochemistry*, 44, 842–846.
- Cabezas, L., Sanchez, I., Poveda, J.M., Sesena, S. and Palop, M.L., 2007. Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control*, 18, 11–17.
- Chen, C. H., Pearson, A. M. and Gray, J.L., 1992. Effect of synthetic antioxidant (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds. *Food Chemistry*, 43, 177–183.
- Cheung, H.S., Wang, F.L., Ondetti, M.A., Sabo, E.F. and Cushman, D.W., 1980. Binding of peptide substrates and inhibitors of angiotensin-converting enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, 25, 401–407.
- Chobert, J.M., El-Zahar, K., Sitohy, M., Dalgalarondo, M., Métro, F., Choiset, Y. and Haertle, T., 2005. Angiotensin I-converting-enzyme (ACE)-inhibitory activity of tryptic peptides of ovine β -lactoglobulin and of milk yoghurts obtained by using different starters. *Lait* 85, 141–152.
- Christensen, T.M.I.E., Bech, A.M. and Werner, H., 1991. Methods for Crude Fractionation (Extraction and Precipitation) of Nitrogen Components in Cheese. IDF Bulletin 261. Brussels: International Dairy Federation, 4–9.
- Christiansson, A., Bertilsson, J. and Svensson, B., 1999. *Bacillus cereus* spores in raw milk: factors affecting the contamination of milk during the grazing period. *Journal of Dairy Science*, 82, 305–314.
- Cinbaş, T., and Kılıç, M., 2006. Proteolysis and Lipolysis in White Cheeses Manufactured by Two Different Production Methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 530 (41), 530–537.

- Çakmakçı, S. ve Kurt A., 1993. Salamura tuz oranı ve olgunlaşma süresinin CaCl_2 ve lesitin ilavesiyle üretilen Beyaz peynir kalitesine etkisi. *Gıda*, 18 (1), 21–28.
- Çakmakçı, S., 2011. Türkiye Peynirleri. Ed: A.A. Hayaloglu ve B. Özer, *Peynir Biliminin Temelleri*, İzmir, Sidas Medya Ltd. Şti., 585–637.
- Çelik, Ş., Bakırcı, İ. and Özdemir, S. 2005. Effect of high heat treatment of milk and brine concentration on the quality of Turkish white cheese. *Milchwissenschaft*, 60, 147–151.
- Çelik, Ş. ve Uysal, Ş., 2009. Beyaz peynirin bileşim, kalite, mikroflora ve olgunlaşması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. 40 (1), 141–151.
- Dağdemir, E., 2006. Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılabilme imkânları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Dagdemir, E., Celik, S. and Ozdemir, S., 2003. The effects of some starter cultures on the properties of Turkish White cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 56 (4), 215–218.
- Dave, R.I. and Shah, N.P., 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31–41.
- De Smet, K. and Contreras, R., 2005. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnology Letters*, 27, 1337–47.
- De Vuyst, L., 2000. Technology aspects related to the application of functional starter cultures. *Food Technology and Biotechnology*, 38, 105–112.
- Demers-Mathieu, V., Gauthier, S.F., Britten, M., Fliss, İ., Robitaille, G. and Jean, J., 2013. Inhibition of *Listeria monocytogenes* growth in Cheddar cheese by an anionic peptides-enriched extract from whey proteins. *International Dairy Journal* 32, 6–12.
- Di Cagno, R., Quinto, M., Corsetti, A., Minervini, F. and Gobbetti, M., 2005. Assessing the proteolytic and lipolytic activities of single strains of mesophilic lactobacilli as adjunct cultures using a Caciotta cheese model system. *International Dairy Journal*, 16, 119–130.
- Diaz, M., Dunn, C.M., McClements, D.J. and Decker, E.A., 2003. Use of caseinophosphopeptides as natural antioxidants in oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2365–2370.
- Diliello, L.R., 1982. *Methods in food and dairy microbiology*. Avi. Publishing Company Inc., USA, p 142.
- Dinkçi, N., 1999. *Mucor miehei*'den Elde Edilen Lipaz (Piccantase A) Enziminin Beyaz Peynirin Olgunlaşmasında Kullanılması Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Dinkçi, N. and Gönç, S., 2000. *Mucor miehei*'den elde edilen lipaz (Piccantese A) enziminin Beyaz peynirin olgunlaşmasında kullanılması üzerine araştırmalar. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 37, 141–148.
- Donagh, D. Mc., Lawless, F., Gardiner, G.E., Ross, R.P., Stanton, C. and Donnelly, W.J., 1999. *Milk and Dairy Products For Better Human Health*. Teagasc, Publications, NDC 199.
- Donkor, O.N., Henriksson, A., Singh, T.K., Visiljevic, T. and Shah, N.P., 2007. ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt. *International Dairy Journal* 17, 1321–1331.

- Drake, M.A., Boylston, T.D., Spence, K.D. and Swanson, B.G., 1996. Chemical and sensory effects of *Lactobacillus* adjunct in cheddar cheese. *Food Research International*, 29, 381–387.
- Eren Vapur, U., 2010. Farklı Starter Kültür Oranları ile Hayvansal ve Mikrobiyel Kaynaklı Peynir Mayaları Kullanılarak Üretilen Tam Yağlı Beyaz Peynirlerin Özelliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- Ertekin, B. ve Seydim, Z., 2009. Laktoz, sitrat ve lipit metabolizmalarının peynirde lezzet bileşenlerinin oluşumuna etkileri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 46 (3), 97–104.
- Esmer, O.K., Balkir, P., Seckin, A.K. and Irkin, R. (2009). The effect of modified atmosphere and vacuum packaging on the physicochemical, microbiological, sensory and textural properties of Crottin de Chavignol cheese. *Food Science and Technology Research*, 15, 367–376.
- FAO/WHO, 2002. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. A joint publication of FAO and WHO, London, Ontario: Canada.
- Finkel, T. and Holbrook, N.J., 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408, 239–247.
- FitzGerald, R.J. and Murray, B.A., 2006. Bioactive peptides and lactic fermentations. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 118–125.
- FitzGerald, R.J. and Meisel, H., 1999. Lactokinins: whey proteinderived ACE inhibitory peptides. *Nahrung* 43, 165–167.
- FitzGerald, R.J. and Meisel, H., 2000, Milk protein–derived peptide inhibitors of angiotensin–I–converting enzyme, *British Journal of Nutrition*, 84, 33–37.
- FitzGerald, R.J. and Meisel, H., 2003. Milk protein hydrolysates and bioactive peptides. In: P.F. Fox, and P.L.H. McSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry, Proteins* (3rd ed.) New York, NY, USA: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 675–698.
- FitzGerald, R.J., Murray, B.A. and Walsh, D.J., 2004. Hypotensive peptides from milk proteins. *Journal of Nutrition*, 134, 980–988.
- Floris, R., Recio, I., Berkhout, B. and Visser, S., 2003. Antibacterial and antiviral effects of milk proteins and derivatives thereof. *Current Pharmaceutical Design*, 9, 1257–1275.
- Fontecha, J., Pebez, M., Juarez, M., Reguen, T., Gomez, C. and Ramos, M., 1990. Biochemical and microbiological characteristics of artisanal hard goat's cheese. *Journal of Dairy Science*, 73, 1150–1157.
- Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P. L. H. and Wallace, J., 1993. Biochemistry of Cheese Ripening. In P. F. Fox (Ed.), *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*, Vol. 1 London: Chapman and Hall, 389–438.
- Fox, P.F., Singh, T.K. and McSweeney, P.L.H., 1994. Proteolysis in Cheese During Ripening. In A. T. Andrews, and J. Varley (Eds.), *Biochemistry of milk products* Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 1–31.
- Fox, P.F., O'Connor, T. P., McSweeney, P.L.H., Guinee, T.P., O'Brien, N. M. 1996. Cheese: Physical, chemical, biochemical and nutritional aspects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 39, 163–328.
- Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H., 1996. Proteolysis in cheese during ripening. *Food Review International*, 12, 457–509.

- Fox, P.F., 1999. Cheese: An Overview. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Vol 1. Fox, P. F. (Ed.), 2nd edn. Aspen Publication, ISBN 0-412-58230-9 (set), Maryland, 1-36.
- Fuller, R., 1992. History and Development of Probiotics. In: Probiotics: The Scientific Basis, Roy Fuller (ed.), Chapman & Hall, London, UK, 1-8.
- Gagnaire, V., Molle, D., Herrouin, M. and Leonil, J., 2001. Peptides identified during Emmental cheese ripening: origin and proteolytic systems involved. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49, 4402-4413.
- Gahun, Y., 1983. Salamuradan Beyaz peynire tuz geçiş olgusu ve olgunlaşma sırasında tuzun peynirin bazı özelliklerine etkisi üzerinde araştırmalar. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 20 (1), 193-220.
- German, B., Schiffrin, E.J., Reniero, R., Mollet, B., Pfeifer, A. and Neeser, J.R., 1999. The development of functional foods: lessons from the gut. Tibtech December 17, 492-499.
- Ghoddusi, H.B. and Robinson, R.K., 1996. The test of time. Dairy Industries International, 61, 25-28.
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A. and De Angelis, M., 1998. Production of Crescenza cheese by incorporation of Bifidobacteria. Journal of Dairy Science, 81, 37-47.
- Gobbetti, M., Stepaniak, L., DeAngelis, M., Corsetti, A. and DiCagno, R., 2002. Latent bioactive peptides in milk proteins: proteolytic activation and significance in dairy processing. Critical Review in Food Science and Nutrition, 42, 223-239.
- Gobbetti, M., Minervini, F. and Rizzello, C.G. 2004. Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides. International Journal of Dairy Technology, 57, 173-188.
- Gomes da Cruz, A., Buriti, F.C.A., Batista de Souza, C.H., Fonseca Faria, J.A. and IsaySaad, S.M., 2009. Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects. Trends in Food Science and Technology, 20, 344-354.
- Gomes, A.M.P. and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science and Technology, 10, 139-157.
- Gomes, A.M.P. and Malcata, F.X., 1998. Development of probiotic cheese manufactured from goat milk: response surface analysis via technological manipulation. Journal of Dairy Science, 81, 1492-1507.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X., Klaver, F.A.M. and Grande, H.J., 1995. Incorporation and survival of *Bifidobacterium* sp. strain Bo and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a cheese product. Netherlands Milk and Dairy Journal, 49, 71-95.
- Gomes, A.M.P., Vieira, M.M. and Malcata, F.X., 1998. Survival of probiotic microbial strains in a cheese matrix during ripening: simulation of rates of salt diffusion and microorganism survival. Journal of Food Engineering, 36, 281-301.
- Gómez-Ruiz, J. A., Ramos, M. and Recio, I. 2002. Angiotensin converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures. International Dairy Journal, 12, 697-706.
- Gómez-Ruiz, J.A., López-Expósito, I., Pihlanto, A., Ramos, M. and Recio, I. 2008. Antioxidant activity of ovine casein hydrolysates: Identification of active

- peptides by HPLC–MS/MS. *European Food Research and Technology*, 227, 1061–1067.
- Gómez–Ruiz, J.A., Ramos, M. and Recio, I. 2004. Angiotensin converting enzyme–inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese. Stability under simulated gastrointestinal digestion. *International Dairy Journal*, 14, 1075–1080.
- Göncü, A. and Alpken Z., 2005. Sensory and chemical properties of White pickled cheese produced using kefir, yoghurt or a commercial cheese culture as a starter. *International Dairy Journal*, 15, 771–776.
- Guarner, F. and Schaafsma, G.J., 1998. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 237–238.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R. and Sangwan, R.B., 2009. Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 63, 339–347.
- Gursoy, O. and Kinik, O., 2010. Incorporation of adjunct cultures of *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* and *Bifidobacterium bifidum* into white cheese, *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 8 (2), 107–112.
- Guslandi, M. 2003. Probiotics for chronic intestinal disorders. *American Journal of Gastroenterology*, 98 (3), 520–521.
- Gürsel, A., Gürsoy A., Şenel E., Deveci O. ve Karademir E., 2003. Yağ içeriği azaltılmış Beyaz peynir üretiminde *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* kültürlerinin kullanımı. SEYES Sempozyumu, İzmir.
- Gürsoy, A., Gürsel, A., Senel, E., Deveci, O. ve Karademir, E. 2001. Yağ içeriği azaltılmış Beyaz peynir üretiminde ısıl işlem uygulanan *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus bulgaricus* kültürlerinin kullanımı. *Gıda*, 26 (5), 375–383.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö., 2004. Peynir üretiminde probiyotik bakterilerin kullanımı: Probiyotik Peynir. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi 12 (1), 105–116.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö., 2005. Laktobasiller ve probiyotik peynir üretiminde kullanım potansiyelleri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 11, 361–371.
- Gürsoy, O., 2005. Bazı Probiyotik Bakterilerin Destek Kültür olarak Beyaz Peynir Üretiminde Kullanımı. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Süt Teknolojisi Ana Bilim Dalı, İzmir.
- Güven, M. ve Karaca, O.B., 2003. Peynirde olgunlaştırmanın hızlandırılması amacıyla proteolitik ve lipolitik enzimlerin kullanım olanakları. *Dünya Gıda Dergisi*, 9, 76–85.
- Hammes, W. P., Vogel, R. F. 1995. The genus *Lactobacillus*. In “The Genera of Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria Volume: 2”, Editors: Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H., Chapman and Hall, 2–6 Boundary Row, London, SE1 8HN, UK, 19–55.
- Hancock, R.E. and Diamond, G., 2000. The role of cationic antimicrobial peptides in innate host defences. *Trends In Microbiology*, 8 (9), 402–410.
- Haque, E. and Chand, R., 2008. Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins. *European Food Research and Technology*, 227, 7–15.

- Haque, E., Chand, R. and Kapila, S., 2009. Biofunctional properties of bioactive peptides of milk origin. *Food Reviews International*, 25, 28–43.
- Hartmann, R. and Meisel, H., 2007. Food-derived peptides with biological activity: From research to food applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 18, 1–7.
- Hashemi, M., Azar, M. and Mazlumi, M.T., 2009. Effect of commercial adjunct lactobacilli on biochemical and sensory characteristics of Iranian white-brined cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 48–55.
- Hata, Y., Yamamoto, M., Ohni, M., Nakajima, K., Nakamura, Y. and Takano, T., 1996. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 64, 767–771.
- Hayaloglu, A.A., Guven, 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., 2003. Starter Kültür Olarak Kullanılan Bazı *Lactococcus* Suşlarının Beyaz Peynirlerin Özellikleri ve Olgunlaşmaları Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.
- Hayaloğlu, A.A., Guven, M., Fox, P.F., Hannon, J.A. and McSweeney, P.L.H., 2004. Proteolysis in Turkish white-brined cheese made with defined strains of *Lactococcus*. *International Dairy Journal*, 14, 599–610.
- Hayaloglu, A.A., Guven, M., Fox, P.F. and McSweeney, P.L.H. 2005. Influence of starters on chemical, biochemical, and sensory changes in Turkish White-brined cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 88, 3460–3474.
- Hayaloglu, A.A. ve Özer, B., 2011. Peynirde Olgunlaşma Ed: A.A. Hayaloglu ve B. Özer, *Peynir Biliminin Temelleri*, İzmir: Sidas Medya Ltd. Şti., 173–210.
- Hayaloğlu, A.A., Topçu, A. ve Koca, N. 2011. Peynir Analizleri. Ed: A.A. Hayaloglu ve B. Özer, *Peynir Biliminin Temelleri*, İzmir: Sidas Medya Ltd. Şti., 489–562.
- 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, 671–689.
- Hernandez, L.B., Davalos, A., Bartolome, B. and Amigo, L., 2005. Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin: identification of active peptides by HPLC–MS/MS. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53, 588–593.
- Hill, R.D., Lahov, E. and Givol, D., 1974. A rennin-sensitive bond in alpha and beta casein. *Journal of Dairy Research*, 41, 147–153.
- Hoer, R.A. and Bostwick, E.F., 2000. Bioactive proteins and probiotic bacteria: modulators of nutritional health. *Nutrition* 16 (7/8), 711–713.
- Hou, W.C., Chen, H.J. and Lin, Y.H., 2003. Antioxidant peptides with angiotensin converting enzyme inhibitory activities and applications for angiotensin converting enzyme purification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1706–1709.
- Hutkins, R.W., 2006. *Microbiology and Technology of Fermented Foods*. Blackwell Publishing, IFT Pres.
- Hynes, E.R., Bergamini, C.V., Suarez, V. B. and Zalazar, C.A., 2003. Proteolysis on Reggiano Argentino cheeses manufactured with natural whey cultures and

- selected strains of *Lactobacillus helveticus*. Journal of Dairy Science, 86, 3831-3840.
- IDF (International Dairy Federation), 1993. Standard Method 20B: Milk. Determination of Nitrogen content. IDF, Brussels, Belgium.
- Ishibashi, N. and Shimamura, S., 1993. Bifidobacteria: research and development in Japan. Food Technology, 47, 126-135.
- Işın, T.G. ve Kılıç, M., 2002. Peynirde olgunlaşma sürecinin incelenmesi. Türkiye 7. Gıda Kongresi (22-24 Mayıs 2002, Ankara) Bildirileri. Ankara Üniversitesi Basımevi, 771-775.
- Jarrett, W. D., Aston, J. W. and Dulley, J. R., 1982. A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 37, 55-58.
- Jauhiainen, T., Vapaatalo, H., Poussa, T., Kyrönpalo, S., Rasmussen, M. and Korpela, R., 2005. *Lactobacillus helveticus* fermented milk lowers blood pressure in hypertensive subjects in 24-h ambulatory blood pressure measurement. American Journal of Hypertension, 18, 1600-1605.
- Je, J.Y., Qian, Z.J., Byun, H.G. and Kim, S.K., 2007. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. Process Biochemistry, 42, 840-846.
- Jimsheena, V.K. and Gowda, L.R., 2009. Colorimetric, high-throughput assay for screening angiotensin I-converting enzyme inhibitors. Analytical Chemistry, 81, 9388-9394.
- Jing, P., Qian, B., Hea, Y., Zhao, X., Zhang, J., Zhao, D., Lv, Y. and Deng, Y., 2014. Screening milk-derived antihypertensive peptides using quantitative structure activity relationship (QSAR) modelling and in vitro/in vivo studies on their bioactivity. International Dairy Journal, 35, 95-101.
- Jones, F.S. and Simms, H.S. 1930. The bacterial growth inhibitor (lactenin) of milk. Journal of Experimental Medicine, 51, 327-339.
- Jones, E.M., Smart, A., Bloomberg, G., Burgess, L. and Millar, M.R., 1994. Lactoferricin, a new antimicrobial peptide. Journal of Applied Bacteriology, 77, 208-214.
- Kanbak, G., Uzuner, K., Kuşat Ol, K., Oğlakçı, A., Kartkaya, K. and Şentürk, H., 2013. Effect of kefir and low-dose aspirin on arterial blood pressure measurements and renal apoptosis in unihypertensive rats with 4 weeks salt diet. Clinical and Experimental Hypertension, Early Online: 1-8.
- Kancabaş, A., and Karakaya, S., 2012. Angiotensin-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity of boza, a traditional fermented beverage. Journal of the Science of Food Agriculture, 93 (3), 641-645.
- Karaca, O.B., 2007. Mikrobiyel Kaynaklı Proteolitik Ve Lipolitik Enzim Kullanımının Beyaz Peynirlerin Özellikleri ve Olgunlaşmaları Üzerine Etkileri. Doktora Tezi Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana.
- Karagul-Yuceer, Y., Tuncel, B., Guneser, O., Isleten, M., Yasar, K. and Mendes, M., 2009. Characterization of aroma active compounds, sensory properties and proteolysis in Ezine cheese. Journal of Dairy Science, 92, 4146-4157.
- Karahan, Z.C. and Güvener, E., 1999. Probiotics. Journal of Infections Diseases and Clinical Microbiology 4 (3), 156-162.

- Karaman, A.D., 2007. Yağı Azaltılmış Beyaz Peynir Üretimi ve Özelliklerine Homojenizasyonun Etkisi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Bölümü, İzmir.
- Kasımoğlu, A., Göncüoğlu, M. and Akgün, S., 2004. Probiotic white cheese with *Lb. acidophilus*. International Dairy Journal 14, 1067–1073.
- Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E. and Alichanidis, E., 2002. Flavour enhancement of low-fat feta-type cheese using a commercial adjunct culture. Food Chemistry, 79 (2), 193–198.
- Kaya, S., 2002. Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. Journal of Food Engineering, 52 (1), 155–159.
- Khosrowshahi, A., Madadlou, A., Mousavi, E.M. and Emamdjomeh, Z., 2006. Monitoring the chemical and textural changes during ripening of Iranian white cheese made with different concentrations of starter. Journal of Dairy Science, 89, 3318–3325.
- Kılıç, B.G., Kuleaşan, H., Eralp I. and Karahan, A.G., 2009. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT–Food Science and Technology, 42, 1003–1008.
- Kılıç, M., 2010. Antimikrobiyal Peptidler ve Glutasyon–S–Transferaz İzozimlerinin *Tinea versicolor*, *Tinea inguinalis*, *Tinea Pedis*, *Tinea Corporis* ve Candidal Intertrigo Enfeksiyonlarındaki Ekspresyonları. Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Kırıkkale.
- Kınık, Ö. ve Gürsoy, O., 2002. Süt proteinleri kaynaklı biyoaktif peptitler. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 8 (2), 195–203.
- Kırkın, C., 2009. Tüketime Hazır, Doğranmış Beyaz Peynirlerin Modifiye Atmosferde Paketleme ile Muhafazası. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği, İstanbul.
- Koçak, C., Gürsel A. ve Ergül E., 1990. Farklı asitlikteki salamurada bekletmenin peynire tuz geçisi üzerine etkisi. Gıda, 15, 211–215.
- Korhonen, H. and Pihlanto–Leppälä, A., 2000. Milk Protein–Derived Bioactive Peptides– Novel Opportunities For Health Promotion. Bulletin of IDF, 363, 17–26.
- Korhonen, H. and Pihlanto–Leppälä, A., 2001. Milk protein–derived bioactive peptides–novel opportunities for health promotion. IDF Bulletin, 363, 17–26.
- Korhonen, H. and Pihlanto, A., 2003. Food–derived bioactive peptides–opportunities for designing future foods. Current Pharmaceutical Design, 9, 1297–1308.
- Korhonen, H. and Pihlanto–Leppälä, A., 2004. Milk–Derived Bioactive Peptides: Formation And Prospects For Health Promotion. In; C. Shortt, and J. O’Brien (Eds.), Handbook of Functional Dairy Products. Functional Foods and Nutraceuticals Series 6.0. Florida, USA, CRC Press, 109–124.
- Korhonen, H. and Pihlanto, A., 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. International Dairy Journal, 16, 945–960.
- Korhonen, H., 2009. Bioactive Components In Bovine Milk. In: Park, Y. (Ed.), Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Wiley–Blackwell, Ames, IA, 15–42.
- Kuchroo, C. N. and Fox, P.F., 1982. Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. Milchwissenschaft, 37, 331–335.

- Kudoh, Y., Matsuda, S., Igoshi, K. and Oki, T., 2001. Antioxidative peptide from milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IFO13953. *Journal of the Japanese Society of Food Science*, 48, 44–50.
- Kurmann, J.A., 1998. Starters for Fermented Milks: Starters with Selected Intestinal Bacteria. *Bulletin of the International Dairy Federation* 227, 41–55.
- Kurt, A., Çakmakçı S. ve Çağlar A., 2007. Süt ve Mamülleri Muayene Analiz Metotları Rehberi. Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları No:257, 398 s, Erzurum.
- Laakso, S., 1984. Inhibition of lipid peroxidation by casein. Evidence of molecular encapsulation of 4,4–pentadiene fatty acids. *Biochimica et Biophysica Acta*, 792, 11–15.
- Lahov, E., Edelsten, D., Sode–Morgensen, M.T. and Sofer, E., 1971. Properties of basic glycopeptides released from cow milk protein by heat. *Milchwissenschaft*, 26, 489–495.
- Lahov, E. and Regelson, W. 1996. Antibacterial and immunostimulating casein–derived substances from milk: casecidin, isracidin peptides. *Food and Chemical Toxicology*, 34, 131–145.
- Laine, R., Salminen, S., Benno, Y. and Quwehand, A.C., 2003. Performance of Bifidobacteria in oat–based media. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 105–109.
- Lane, C.N. and Fox P.F., 1996. Contribution of starter and added Lactobacilli to proteolysis in Cheddar cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 6, 715–728.
- Law, J., Fitzgerald, G. F., Daly, C., Fox, P. F. and Farkye, N. Y., 1992. Proteolysis and flavour development in Cheddar cheese made with the single starter strains *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* UC317 or *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* HP. *Journal of Dairy Science*, 75, 1173–1185.
- Leahy, S.C., Higgins, D. G., Fitzgerald, G.F. and Sinderen, D., 2005. Getting beter with bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 1303–1315.
- Lee, B.H., Laleye, L.C., Simard, R.E., Holley, R.A., Emmons, D.B. and Giroux, R.N., 1990. Influence of homofermentative Lactobacilli on physicochemical and sensory properties of Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 55, 386–390.
- Liepke, C., Zucht, H.D., Forsmann, W.G. and Standker, L., 2001. Purification of novel peptide antibiotics from human milk. *Journal of Chromatography*, 752, 369–377.
- Lignitto, L., Cavatorta, V., Bazlan, S., Gabai, G., Galaverna, G., Novelli, E., Sforza, S. and Segato, S., 2010. Angiotensin–converting enzyme inhibitory activity of water–soluble extracts of Asiago d’allevio cheese. *International Dairy Journal*, 20, 11–17.
- Lima, K.G.C., Kruger, M. F., Behrens, J., Destro, M. T., Landgraf, M. and Franco, B.D.G.M. 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* and *B. animalis* in the presence of *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Technology*, 42, 491–495.
- Lindmark–Mansson, H. and Akesson, B., 2000. Antioxidative factors in milk. *British Journal of Nutrition*, 84, 103–110.
- Liu, J.R., Chen, M.J. and Lin, C.W., 2005. Antimutagenic and antioxidant properties of milk–kefir and soymilk–kefir. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2467–2474.

- López-Fandiño, R., Otte, J. and van Camp, J. 2006. Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity. *International Dairy Journal*, 16, 1277–1293.
- Lowry, O.H., Resebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biology and Chemistry*, 193, 265–275.
- Madadlou, A., Khosrowshahi, A., Mousavi, A.M. and Farmani, J., 2007. The influence of brine concentration on chemical composition and texture of Iranian white cheese. *Journal of Food Engineering*, 81, 330–335.
- Madkor, S.A., Tong, P.S. and El-Soda, M., 1999. Evaluation of commercial adjuncts for use in cheese ripening: 2. Ripening aspects and flavour development in cheese curd slurries prepared with adjunct lactobacilli. *Milchwissenschaft*, 54, 133–137.
- Madkor, S.A., Tong P.S. and El-Soda M., 2000. Ripening of Cheddar cheese with added attenuated adjunct cultures of *Lactobacilli*. *Journal of Dairy Science*, 83, 1684–1691.
- Madureira, A.R., Soares, J.C., Amorim, M., Tavares, T., Gomes, A.M., Pintado, M.M. and Malcata F.X., 2013. Bioactivity of probiotic whey cheese: characterization of the content of peptides and organic acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93, 1458–1465.
- Maeno, M., Yamamoto, N. and Takano, T., 1996. Identification of antihypertensive peptides from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *Journal of Dairy Science*, 73, 1316–1321.
- Maeno, M., Yamamoto, N. and Takano, T., 1996. Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysates produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *Journal of Dairy Science*, 79, 1316–1321.
- Mahmoudi, M., Asl, A.K. and Zomorodi, S. 2012. The influence of probiotic bacteria on the properties of Iranian white cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 65 (4), 561–567.
- Malkoski, M., Dashper, S.G., O'Brien-Simpson, N.M., Talbo, G.H., Macris, M. and Cross, K.J., 2001. Kappacin, a novel antibacterial peptide from bovine milk. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45, 2309–2315.
- Marilley, L. and M.G. Casey., 2004. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 139–159.
- Marshall, R.T., Obrien, B.L., Lee, Y.H. and Moats, W.A. 1982 . Pyruvate in producer and commingled manufacturing grade milk. *Journal of Food Protection*, 45 (13), 1236–1241.
- Martínez-Maqueda, D., Miralles, B., Recio, I. and Hernández-Ledesma, B., 2012. Antihypertensive peptides from food proteins: A review. *Food and Function*, 3, 350–361.
- Matar, C., LeBlanc, J. G., Martin, L. and Perdigo'n, G. (2003). Biologically Active Peptides Released In Fermented Milk: Role and Functions. In E. R. Farnworth (Ed.), *Handbook of Fermented Functional Foods*. Functional foods and nutraceuticals series Florida, USA: CRC Press, 177–201.

- McCann, K.B., Shiell, B.J., Michalski, W.P., Lee, A., Wan, J. and Roginski, H., 2005. Isolation and characterisation of antibacterial peptides derived from the f(164–207) region of bovine α_{s2} -casein. *International Dairy Journal*, 15, 133–143.
- McSweeney, P.L.H and Fox, P.F., 1997. Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 77, 41–76.
- McSweeney, P.L.H., Walsh, E.M., Fox, P.F., Cogan, T.M., Drinan, F.D. and Castelo-Gonzalo, M., 1994. A procedure for the manufacture of Cheddar cheese under controlled bacteriological conditions and the effect of adjunct lactobacilli on cheese quality. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 33, 183–192.
- McSweeney, P.L.H. and Sousa, M.J., 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening, A review, *Lait*, 80, 293–324.
- Meira, S.M.M., Daroit, D.J., Helfer, V.E., Corrêa, A.P.F., Segalin, J., Carro, S. and Brandelli, A., 2012. Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay. *Food Research International*, 48, 322–329.
- Meisel, H., 1993. Casokinins as inhibitors of angiotensin-*I*-converting enzyme. In *New Perspectives in Infant Nutrition*, [G Sawatski and B Renner, editors]. Stuttgart, New York: Thieme. pp. 153–159.
- Meisel, H. 1998. Overview on milk proteins-derived peptides. *International Dairy Journal*, 8, 363–373.
- Meisel, H., Goepfert, A. and Gunther, S. 1997. ACE-inhibitory activities in milk products. *Milchwissenschaft*, 52, 307–311.
- Meisel, H., 2005. Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1905–1919.
- Meng, Q.C. and Oparil, S. 1996. Purification and assay methods for angiotensin-converting enzyme. *Journal of Chromatography A*, 743 105–122
- Messer, J.W., Behney H.M. and Leudecke L.O., 1985. Microbiological Count Methods. In: Richardson, G. H. (Ed). *Standard Methods for the Examination of Dairy Products (APHA)*. 15th Edition, 133–149, Washington D.C.
- Michaelidou, A., Alichanidis, E., Urlaub, H., Polychroniadou, A. and Zerfiridis, G.K., 1998. Isolation and identification of some major water-soluble peptides in Feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 81, 3109–3116.
- Milesi M.M., Vinderola, G., Sabbag, N., Meinardi, C.A., Hynes, E., 2009. Influence on cheese proteolysis and sensory characteristics of non-starter lactobacilli strains with probiotic potential. *Food Research International*, 42, 1186–1196.
- Millette, M., Luquet, F.M. and Lacroix, M., 2007. In vitro growth control of selected pathogens by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* fermented milk. *Letters in Applied Microbiology*, 44, 314–319.
- Mine, Y. and Shahidi, F., 2006. In Y. Mine, and F. Shahidi (Eds.), *Nutraceutical Proteins and Peptides In Health And Disease: An Overview*. Boca Raton, Florida, FL, USA: CRC Press, Taylor and Francis Group, 3–9.
- Minervini, F., Algaron, F., Rizzello, C.G., Fox, P.F., Monnet, V. and Gobbetti, M., 2003. Angiotensin *I*-converting-enzyme inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed caseins of milk from six species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 5297–5305.
- Moatsou, G., Moschoopoulou, E., Georgala, A., Zoidou, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S., and Anifantakis, E., 2004. Effect of artisanal liquid rennet from kids and

- lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chemistry*, 88, 517–525.
- Modler, H.W., McKellar, R.C. and Yaguchi, M., 1990. Bifidobacteria and bifidogenic factors—review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 23, 29–41.
- Moller, N. P., Scholz–Ahrens, K. E., Roos, N. and Schrezenmeir, J., 2008. Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. *European Journal of Nutrition*, 47, 171–182.
- Nahaisi, M.H., 1986. *Lactobacillus acidophilus*: Therapeutic Properties, Products and Enumeration. (Chapter 6) in *Developments in Food Microbiology*, (Robinson, R.K., ed), Elsevier Applied Science Publishers, London, UK, 153–178.
- Nakamura, Y., Yamamoto, N., Sakai, K., Okubo, A., Yamazaki, S. and Takano, T., 1995. Purification and characterization of angiotensin I–converting enzyme inhibitors from a sour milk. *Journal of Dairy Science*, 78, 777–783.
- Narva, M., 2004. Effects of *Lactobacillus helveticus* fermented milk and milk–derived bioactive peptides (CPP, IPP and VPP) on calcium and bone metabolism. Doctoral Thesis, Institute of Biomedicine, Pharmacology, University of Helsinki, Helsinki.
- Nout, M.J.R., 1994. Fermented foods and food safety. *Food Research International*, 27 (3), 291–298.
- Okada, Y. and Okada, M., 1998. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 401–406.
- Okamoto, A., Hanagata, H., Matsumoto, E., Kawamura, Y., Koizumi Y. and Yanagida, F., 1995. Angiotensin–converting enzyme inhibitory activities of various fermented foods. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 59, 1147–1149.
- Oliszewski, R., Cisint, J.C. and Nunez de Kairuz, M., 2007. Manufacturing characteristics and shelf life of Quesillo, an Argentinean traditional cheese. *Food Control*, 18, 736–741.
- Ondetti, M.A., Rubin, B. and Cushman, D.W., 1977. Design of specific inhibitors of angiotensin–converting enzyme: New class of orally active antihypertensive agents. *Science*, 196, 441–444.
- Öner, Z., Karahan A.G. and Aloğlu H., 2006. Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *Food Science and Technology*, 39 (5), 449–454.
- Ong, L., Henriksson, A. and Shah N.P., 2007. Angiotensin converting enzyme–inhibitory activity in Cheddar cheeses made with the addition of probiotic *Lactobacillus casei* sp. *Lait*, 87, 149–165.
- Ong L. and Shah N.P., 2008. Release and identification of angiotensin–converting enzyme inhibitory peptides as influenced by ripening temperatures and probiotic adjuncts in Cheddar cheeses. *LWT–Food Science and Technology*, 41, 1555–1566.
- Ong, L. and Shah, N.P., 2009. Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles. *LWT– Food Science and Technology*, 42, 1260–1268.
- Ouwehand, A.C., Salminen, S. and Isolauri, E., 2002 . Probiotics and overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82, 279–289.

- Özden, A., 2008. Diğer fermente süt ürünleri (Biyoyoğurt–probiyotik yoğurt). *Güncel Gastroenteroloji*, 12 (3), 169–181.
- Özer, B. and Kirmaci, H.A., 2009. Development of proteolysis in white–brined cheese: role of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA–5 and *Bifidobacterium bifidum* BB–12 used as adjunct culture. *Milchwissenschaft*, 64, 294–299.
- Özer, B., Kirmacı, H.A., Şenel, E., Atamer, M. and Hayaloğlu, A., 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB–12 and *Lactobacillus acidophilus* LA–5 in white–brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*, 19, 22–29.
- Özer, B. ve Hayaloğlu, A.A., 2011. Giriş. Ed: A.A. Hayaloglu ve B. Özer, *Peynir Biliminin Temelleri*, İzmir: Sidas Medya Ltd. Şti., 1–9.
- Öztek, L., 1996. Peynirlerde olgunlaşma ve buna etkili olan faktörler. *Hasad Yayıncılık Ltd. Şrk.*, İstanbul, 124–142.
- Pakkanen, R. and Aalto, J., 1997. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. *International Dairy Journal*, 7, 285–297.
- Pappa, EC, Kandarakis I., Anifantakis E.M. and Zerfiridis G.K., 2006. Influence of types of milk and culture on the manufacturing practices, composition and sensory characteristics of Teleme cheese during ripening. *Food Control*, 17, 570–580.
- Papo, N. and Shai, Y., 2005. Host defense peptides as new weapons in cancer treatment. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62 (7-8), 784-90.
- Parrot, S., Degraeve, P., Curia, C. and Martial–Gros, A., 2003. In vitro study on digestion of peptides in Emmental cheese: analytical evaluation and influence on angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides. *Nahrung–Food*, 47, 87–94.
- Pellegrini, A., Thomas, U., Bramaz, N., Hunziker, P. and von Fellenberg, R., 1999. Isolation and identification of three bactericidal domains in the bovine alphas₂-lactalbumin molecule. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1426, 439–448.
- Pellegrini, A., Dettling, C., Thomas, U. and Hunziker, P., 2001. Isolation and characterization of four bactericidal domains in the bovine β -lactoglobulin. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1526, 131–140.
- Phelan, M., Aherne–Bruce, S.A., O’Sullivan, D., FitzGerald, R. J. and O’Brien, N.M., 2009. Potential bioactive effects of casein hydrolysates on human cultured cells. *International Dairy Journal*, 19, 279–285.
- Phillips, M., Kailasapathy, K. and Tran, L., 2006. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 108 (2), 276–280.
- Pihlanto–Leppala, A., Rokka, T. and Korhonen, H. 1998. Angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides derived from bovine milk proteins. *International Dairy Journal*, 8, 325–331.
- Pihlanto, A., 2006. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *International Dairy Journal*, 16, 1306–1314.
- Polychroniadou, A., Michaelidou A. and Paschaloudis N., 1999. Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid–soluble nitrogen of cheese. *International Dairy Journal*, 9, 559–568.
- Poveda, J.M., Sousa, M.J., Cabezas, L. and McSweeney, P.L.H., 2003. Preliminary observations on proteolysis in Manchego cheese made with a defined–strain

- starter culture and adjunct starter (*Lactobacillus plantarum*) or a commercial starter. *International Dairy Journal*, 13, 169–178.
- Power, O., Jakeman, P. and FitzGerald, R.J., 2013. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. *Amino Acids*, 44, 797–820.
- Prasad, N. and Alvarez, V.B., 1999. Effect of salt and chymosin on the physico-chemical properties of feta cheese during ripening. *Journal Dairy Science*, 82, 1061–1067.
- Pritchard, S.R., Phillips, M. and Kailasapathy, K., 2010. Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Research International*, 43, 1545–1548.
- Quiros, A., Hernándeiz-Ledesma, B., Ramos, M., Amigo, L. and Recio, I., 2005. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine Kefir. *Journal of Dairy Science*, 88, 3480–3487.
- Rada, V. and Petr, J. 2002. Enumeration of bifidobacteria in animal intestinal sample. *Veterinarni Medicina*, 47, 1–4.
- Rank, T.C., Grappin, R. and Olson, N.F., 1985. Secondary proteolysis of cheese during ripening: A Review. *Journal of Dairy Science*, 68, 801–805.
- Recio, I. and Visser, S., 1999. Identification of two distinct antibacterial domains within the sequence of bovine $\alpha(s2)$ -casein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1428, 314–326.
- Rival, S.G., Boeriu, C. G. and Wichers, H.J., 2001. Caseins and casein hydrolyzates. 2. Antioxidant properties and relevance to lipoxygenase inhibition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 295–302.
- Rizzello, C.G., Losito, I., Gobetti, M., Carbonara, T., De Bari, M.D. and Zambonin, P.G., 2005. Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties. *Journal of Dairy Science*, 88, 2348–2360.
- Robert, M.C., Razaname, A., Mutter, M. and Juillerat, M.A., 2004. Identification of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides derived from sodium caseinate hydrolysates produced by *Lactobacillus helveticus* NCC 2765. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6923–6931.
- Rodríguez-Alonso, P., Centeno J.A. and Garabal J.I., 2011. Biochemical study of industrially produced Arzúa-Ulloa semi-soft cows' milk cheese: Effects of storage under vacuum and modified atmospheres with high-nitrogen contents. *International Dairy Journal*, 21, 261–271.
- Ryhänen E.L., Pihlanto-Leppälä, A. and Pakkala, E., 2001. A new type of ripened low fat cheese with bioactive properties. *International Dairy Journal*, 11, 441–447.
- Sağdıç, O., Küçüköner, E. ve Özçelik, S., 2004.. Probiyotik ve prebiyotiklerin fonksiyonel özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 35 (3–4), 221–228.
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y. and Itoh, T., 2000. Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese. *Journal of Dairy Science*, 83, 1434–1440.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos G. and Tsakalidou E., 2002. Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese. *International Journal of Food Microbiology*, 76, 93–105.

- Sarmadi, B. H. and Ismail, A., 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*, 31, 1949–1956.
- Scardovi, V., 1986. Genus *Bifidobacterium* Orla-Jensen 1924, 472AL, In P. H. A. Sneath, N.S. Mair, M. E. Sharpe, and J.G. Holt (ed.), *Bergey's manual of systematic bacteriology* (volume 2). Williams and Wilkins, Baltimore, 1418–1434.
- Scolari, G., Vescovo, M., Sarra, P. G. and Bottazzi, V., 1993. Proteolysis in cheese made with liposome- entrapped proteolytic enzymes. *Lait*, 73, 281–292.
- Seppo, L., Kerojoki, O., Suomalainen, T. and Korpela, R., 2002. The effect of a *Lactobacillus helveticus* LBK-16 H fermented milk on hypertension—a pilot study on humans, *Milchwissenschaft–Milk Science International*, 57, 124–127.
- Shah, N.P., 2000. Effects of milk-derived bioactives: an overview. *British Journal of Nutrition*, 84 (1), 3–10.
- Shimizu, M., 2004. Food-derived peptides and intestinal functions. *BioFactors*, 21, 43–47.
- Sieber, R., Bütikofer, U., Egger, C., Portmann, R., Walther, B. and Wechsler, D., 2010. ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties. *Dairy Science and Technology*, 90, 47–73.
- Singh, T.K., Fox, P.F. and Healy, A., 1997. Isolation and identification of further peptides in the diafiltration retentate of the water-soluble fraction of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 64, 433–443.
- Skeggs, L.T., Marsh, W.H., Kahn J. K. and Shumway, N.P., 1954. The existence of two forms of hypertensin. *Journal of Experimental Medicine*, 99, 275–282.
- Smacchi, E. and Gobetti, M., 1998. Peptides from several Italian cheeses inhibitory to proteolytic enzymes of lactic acid bacteria, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948 and to the angiotensin I converting enzyme. *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 687–694.
- Snah, N.P. and Lankaputhra, W.E.V., 1997. Improving viability of *Lb. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in Yogurt. *International Dairy Journal*, 7, 349–356.
- Songisepp, E., Kullisaar, T., Hutt, P., Elias, P., Brilene, T., Zilmer, M. and Mikelsaar, M., 2004. A new probiotic cheese with antioxidative and antimicrobial activity. *Journal of Dairy Science*, 87, 2017–2023.
- Sousa, M. J., Ardö, Y. and McSweeney, P.L.H., 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 11, 327–345.
- Speck, N.L., 1976. *Compendium of Methods for the Examination of Foods*. Apha., Washington, D.C., USA.
- Stanson, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. and Sinderen, D., 2005. Fermented Functional Foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology*, 16, 1–6.
- Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G. and Ross, R.P., 1998. Probiotic cheese. *International Dairy Journal*, 8, 491–496.
- Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P.B. and Ross, R.P., 2001. Market potential for probiotics. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 4765–4835.
- 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 Anabilim Dalı, Tekirdağ.
- Şanlıdere Aloğlu, H. and Öner, Z., 2011. Determination of antioxidant activity of bioactive peptide fractions obtained from yogurt. *Journal of Dairy Science*, 94, 5305–5314.
- Takano, T., 1998. Milk derived peptides and hypertension reduction. *International Dairy Journal*, 8, 375–381.
- Talwalkar, A., Miller, C.W., Kailasapathy, K. and Nguyen, M.H., 2004. Effect of packaging materials and dissolved oxygen on the survival of probiotic bacteria in yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology*, 39 (6), 605–611.
- Tannock, G.W., 1998. Studies of the Intestinal microflora: A prerequisite for the development of probiotics. *International Dairy Journal* 8, 527–533.
- te Giffel, M.C., Beumer, R.R., Granum, P.E. and Rombouts, F.M. 1997. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* from pasteurized milk in household refrigerators in the Netherlands. *International Journal of Food Microbiology*, 34, 207–318.
- Tome, D. and Ledoux, N., 1998. Nutritional and physiological role of milk protein components. *Bulletin of IDF*, 336, 11–16.
- Tosun, İ., 2009. Beyaz Peynirin Uçucu Flavor Bileşikleri Üzerine, Starter Kültür ve Olgunlaştırmanın Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Bursa.
- TSE, 2006. Beyaz Peynir Standardı (TS–591). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- TÜİK, Türkiye İstatistik Yıllığı, 2012. Bölüm 12. *Tarım*. s., 206.
- Tungjaroenchai, W., Drake, M.A. and White, C.H., 2001. Influence of adjunct cultures on ripening of reduced fat Edam cheeses. *Journal of Dairy Science*, 84, 2117–2124.
- Turgut, T., 2006. Bazı probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanım imkanları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Tzanetakis, N., Vafopoulou–Mastrojiannaki, A. and Litopoulou–Tzanetaki, E., 1995. The quality of white–brined cheese from goat's milk made with different starters. *Food Microbiology*, 12, 55–63.
- Unal, G. and Akalın, A.S., 2012. Antioxidant and angiotensin–converting enzyme inhibitory activity of yoghurt fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Dairy Science and Technology*, 92 (6), 627–639.
- Üçüncü, M. 2004. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Cilt 1, Meta Basım, İzmir, 543 s.
- Van den Berg, G. and Exterkate, F.A., 1993. Technological parameters involved in cheese ripening. *International Dairy Journal*, 3, 485–507.
- Velioğlu Ögünç, A. ve Yalçın, A.S., 2011. Süt serumu proteinlerinin in vitro koşullardaki antioksidan etkileri. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 15 (1), 18–24.
- Vermeirssen, V., Deplancke, B., Tappenden, K.A., Van Camp, J., Gaskins, H.R. and Verstraete, W., 2002. Intestinal transport of the lactokinins Ala–Leu–Pro–Met–His–Ile–Arg through a Caco–2 Bbe monolayer. *Journal of Peptide Science*, 8, 95–100.

- Vinderola, C.G., Prosello, W., Ghiberto, D. and Reinheimer, J.A., 2000. Viability of probiotic (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and non probiotic microflora in Argentinean Fresco cheese. *Journal of Dairy Science*, 83, 1905–1911.
- Vinderola, G., Prosello, W., Molinari, F., Ghiberto, D. and Reinheimer, J., 2009. Growth of *Lactobacillus paracasei* A13 in Argentinian probiotic cheese and its impact on the characteristics of the product. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 171–174.
- Visser, F.M.W. and de Groot–Mostert, A.E.A., 1977. Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 4. Protein breakdown: A gel electrophoretic study. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 31, 247–264.
- Visser, S., 1993. Symposium: Proteolytic enzymes and cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 76, 329–350.
- Wakai, T. and Yamamoto, N., 2012. Antihypertensive peptides specific to *Lactobacillus helveticus* fermented milk. *Biotechnology–Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*, 92, 6, 627–639.
- WHO (World Health Organization), 2012. World health statistics 2012. Geneva, Switzerland: WHO Press.
- Wieprecht, T., Dathe, M., Epand, R.M., Beyermann, M., Krause, E., Maloy, W.L., MacDonald, D.L. and Bienert, M., 1997. Influence of the angle subtended by the positively charged helix face on the membrane activity of amphipathic, antibacterial peptides. *Biochemistry*, 36, 12869–12880.
- Xue, Z., Yu, W., Liu, Z., Wu, M., Kou, X. and Wang, J., 2009. Preparation and antioxidative properties of a rapeseed (*Brassica napus*) protein hydrolysate and three peptide fractions. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 57, 5287–5293.
- Yamamoto, N., Akino, A. and Takano, T., 1994. Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790. *Journal of Dairy Science*, 77, 917–922.
- Yangılar, F., 2010. Farklı Probiyotik Kültürler Kullanılarak Üretilen Beyaz Peynirin Olgunlaşma Periyodu Boyunca Bazı Kalite Kriterlerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Erzurum.
- Yetişmeyen, A., 1995. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1420, 229 s, Ankara.
- Yilmaztekin, M., Ozer, H.B. and Atasoy, F., 2004. Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA–5 and *Bifidobacterium bifidum* BB–02 in 173 White–Brine cheese. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 55 (1), 53–60.
- Zomorodi, S., Asl, K.A., Rohani, S.M.R. and Miraghaei, S., 2011. Survival of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* in free and microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. *International Journal of Dairy Technology*, 64, (1), 84–91.
- Zucht, H.D., Raida, M., Adermann, K., Mägert, H.J. and Forssmann, W.G., 1995. Casocidin–I: a casein– α_{s2} derived peptide exhibits antibacterial activity. *FEBS Letters*, 372, 185–188.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Erzurum’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Erzurum’da tamamladı. 2001 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nden 2005 yılında mezun oldu. Aynı yıl Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nde yüksek lisans öğrenimine başladı. Bir yıllık İngilizce hazırlık aşamasının ardından 2009 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı. Aynı yıl doktora öğrenimine başladı. 2007 yılından beri Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü’nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.