

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

TULUM PEYNİRİNDEN İZOLE VE İDENTİFİYE EDİLEN BAZI LAKTİK
ASİT BAKTERİ SUŞLARININ STARTER KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ VE
PEYNİRLERİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN TESPİTİ

105296

Mustafa ŞENGÜL

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2001

Her hakkı saklıdır

105296

TC. YÜKSEKÖĞRETİM
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ERZURUM MERKEZİ

JURİ ÜYELERİ

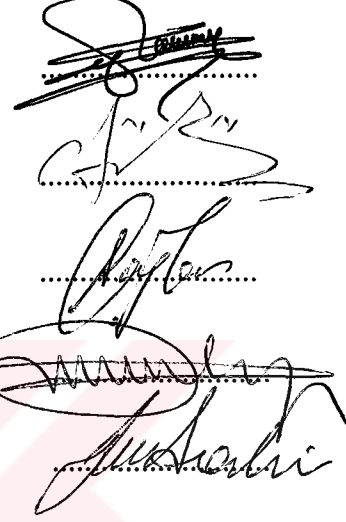
Prof.Dr.Necati AKBULUT

Prof.Dr.Songül ÇAKMAKÇI

Prof.Dr.Abdullah ÇAĞLAR

Prof.Dr.Mükerrem KAYA

Doç.Dr.Fikrettin ŞAHİN



15.11.2001 tarihinde 36/360 kararla kurulan jürimiz iş bu **Doktora** tezini *26.12.2001* tarihinde kabul etmiştir.

ÖZET

Doktora Tezi

TULUM PEYNİRİNDEN İZOLE VE İDENTİFİYE EDİLEN BAZI LAKTİK ASİT BAKTERİ SUŞLARININ STARTER KÜLTÜR ÖZELLİKLERİ VE PEYNİRLERİN BAZI ÖZELLİKLERİNİN TESPİTİ

Mustafa ŞENGÜL

Atatürk Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI

Bu araştırmada, Erzincan Tulum peynirinde starter kültür belirleme çalışmalarına katkıda bulunmak amacıyla 40 örnekten izole edilen 240 adet laktik asit bakterisinin (LAB) Microbiology Identification System kullanılarak identifikasyonu yapılmıştır. Ayrıca suşların bazı özellikleri ile peynir örneklerinin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri de belirlenmiştir.

İdentifiye edilen LAB'nin % 92.08'i *Lactobacillus* (*Lb*), % 7.08'i *Pediococcus* (*P*) ve % 0.83'ü *Leuconostoc* (*Leu*) olarak tanımlanmıştır. *Lb* cinsine ait: 94 *Lb. parabuchneri*, 50 *Lb. bif fermentans*, 14 *Lb. buchneri*, 14 *Lb. paracasei*, 12 *Lb. fermentum*, 8 *Lb. suebicus*, 6 *Lb. casei*, 5 *Lb. malefermentans*, 4 *Lb. collinoides*, 3 *Lb. cellobiosus*, 3 *Lb. coryniformis*, 2 *Lb. confusus*, 2 *Lb. kefir*, 2 *Lb. vaccino stercus*, 1 *Lb. brevis* ve 1 suş ise *Lb. helveticus*; *Pediococcus* cinsine ait: 11 *P. acidilactici*, 3 *P. parvulus*, 1 *P. pentosaceus*, 1 *P. damnosus*, 1 suş ise *P. halophilus*; *Leuconostoc* cinsine ait 1 suş *Leu. pseudomesenteroides* ve 1 suş *Leu. oenes* olarak tanımlanmıştır.

Lactobacillus cinsine ait tüm suşların 5 °C'de gelişmediği (2 adet *Lb. collinoides* ve 2 adet *Lb. vaccino stercus* suşu hariç); *Lb. fermentum* ve *Lb. helveticus* suşları hariç diğer suşların 10 °C'de geliştiği; tüm *Lb* suşlarının hem 37 °C'de hem de % 2 ve % 6.5 NaCl'de geliştiği tespit edilmiştir. *Leu* ve *P* cinsine ait suşların hiç birisi 5 °C'de gelişemezken, 10 °C ve 37 °C'de geliştikleri; *Leu* suşlarının tamamının % 2 ve % 6.5 NaCl'de, *P* suşlarının ise tamamının % 2 NaCl'de geliştiği, % 6.5 NaCl'de ise iki suş (*P. parvulus*) hariç diğer suşların geliştiği belirlenmiştir. Suşların 6 saatlik asit oluşturma aktiviteleri *Lb* suşlarında 0.04- 0.43, *P* suşlarında 0.10-0.32, *Leu* suşlarında ise 0.04-0.22; 24 saatlik asit oluşturma aktiviteleri ise *Lb* suşlarında 0.22-0.94, *P* suşlarında 0.31-1.49, *Leu* suşlarında ise 0.27-0.53 ΔpH arasında değiştiği tespit edilmiştir. Proteolitik aktivite değerleri *Lb* suşlarında 35.0-98.0, *P* suşlarında 48.0-102.0, *Leu* suşlarında ise 49.0-72.2 µg tiro sin /ml arasında saptanmıştır. *Lb. buchneri*'nin histidin ve tiro sin; *Lb. parabuchneri*'nin tiro sin ve triptofan; *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. brevis*, *Lb. suebicus*, *Lb. helveticus* ve *Lb. bif fermentans*'in tiro sin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu, diğer *Lb* suşları ile *P* ve *Leu* suşlarının ise dekarboksilaz aktiviteye sahip olmadığı saptanmıştır.

2001, 123 sayfa

Anahtar kelimeler: Tulum peyniri, laktik asit bakterisi, izolasyon, identifikasyon, starter kültür.

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

THE DETERMINATION OF STARTER CULTURE PROPERTIES OF SOME ISOLATED AND IDENTIFIED LACTIC ACID BACTERIA STRAINS FROM TULUM CHEESE AND SOME PROPERTIES OF THE CHEESES

Mustafa ŞENGÜL

Atatürk University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI

In this study, a total 40 samples were used to determine some qualitative characteristics of Erzincan Tulum cheese, from which 240 strains of lactic acid bacteria (LAB) isolated were identified by using Microbiology Identification System (MIS) to find out potential starter cultures for Tulum cheese industry. Some properties of the isolated strains and chemical, physical and sensory characteristics of the cheeses were also determined.

Of LAB strains, were 92.08 % *Lactobacillus* (*Lb*), 7.08 % *Pediococcus* (*P*) and 0.83 % *Leuconostoc* (*Leu*). Among 221 strains in the genus of *Lb*, 94 of them were *Lb. parabuchneri*, 50 *Lb. bif fermentans*, 14 *Lb. buchneri*, 14 *Lb. paracasei*, 12 *Lb. fermentum*, 8 *Lb. suebicus*, 6 *Lb. casei*, 5 *Lb. male fermentans*, 4 *Lb. collinoides*, 3 *Lb. cellobiosus*, 3 *Lb. coryniformis*, 2 *Lb. confusus*, 2 *Lb. kefir*, 2 *Lb. vaccino stercus*, 1 *Lb. brevis* and 1 *Lb. helveticus*. Furthermore, 17 strains belong to genus of *P*, including 11 *P. acidilactici*, 3 *P. parvulus*, 1 *P. pentosaceus* and 1 *P. damnosus*, and two strains of *Leu* genus, *Leu. pseudomesenteroides*, and *Leu. oenes* were identified in this study.

It was determined that all strains belonging to *Lb* genus (except 2 strains *Lb. collinoides* and *Lb. vaccino stercus*) could not grow at 5 °C. Other than *Lb. fermentum* and *Lb. helveticus* strains; all strains of *Lb* genus were able to grow at 10 °C. Without exception all *Lb* strains have been proven to grow at 37 °C and 2 % and 6.5 % NaCl. All of the *Leu* and *P* strains had grown at 10 and 37 °C, but not at 5 °C. With the exception of two *P. parvulus* strains did not grow in 6.5 % NaCl, all *Leu* and *Pediococcus* strains showed a growth in 2 % and 6.5 % NaCl. The acid production capacities of the strains were changed in 6 h as follows; 0.04-0.43, 0.10-0.32, 0.04-0.22 ΔpH scale for *Lb*, *P* and *Leu*, respectively, and these data were 0.22-0.94, 0.31-1.49, 0.27-0.53 for 24 h. The values of the proteolytic activity were ranged 35.0-98, 48.0-102.0, 49.0-72.2 μg tyrosine/ml in for *Lb*, *P* and *Leu* strains, respectively. Among the LAB, it was determined that *Lb. buchneri* had histidin and tyrosin decarboxylase activity; *Lb. parabuchneri* had tyrosin and tryptofan decarboxylase activity; *Lb. fermentum*, *Lb. paracasei*, *Lb. brevis*, *Lb. suebicus*, *Lb. helveticus* and *Lb. bif fermentans* had tyrosin decarboxylase activity while the other LAB, *P* and *Leu* strains had no decarboxylase activity.

2001, 123 pages

Keywords: Tulum cheese, lactic acid bacteria, isolation, identification, starter culture

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanmasında, yürütülmesinde ve sonuçların yorumlanmasında her türlü yardım ve kolaylığı gösteren kıymetli hocam Sayın Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI'ya çok teşekkür ederim. Atatürk Üniversitesi Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürü Doç Dr. Fikrettin ŞAHİN'e ve kurumun diğer elemanlarına, araştırmanın yürütülmesinde çeşitli yardımlarını gördüğüm Gıda Mühendisliği Bölüm elemanlarına ayrı ayrı teşekkür ederim.

Çalışmalarım esnasında desteğini esirgemeyen eşim Arş. Gör. Memnune ŞENGÜL'e teşekkürlerimi sunarım.

Mustafa ŞENGÜL

Aralık 2001

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOT	28
2. 1. Materyal	27
2. 2. Metot	27
2. 2. 1. Fiziksel ve Kimyasal Analizler	27
2. 2. 2. Duyusal Analizler	28
2. 2. 3. Mikrobiyolojik Analizler	29
2. 2. 3. 1. Mikrobiyolojik Analizler İçin Peynir Örneklerinin Homojenizasyonu	29
2. 2. 3. 2. Peynir Örneklerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler	29
2. 2. 4. Laktik Asit Bakterilerinin (<i>Lactobacillus</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Leuconostoc</i>) Geliştirilmesi ve İzolasyonu	30
2. 2. 4. 1. Gram Boyama	31
2. 2. 4. 2. Katalaz Testi	31
2. 2. 4. 3. Oksidaz Testi	31
2. 2. 5. Laktik Asit Bakterilerine Uygulanan Bazı Biyokimyasal Testler	32
2. 2. 5. 1. Glukozdan Gaz Üretimi	32
2. 2. 5. 2. Değişik Sıcaklıklarda (5 °C, 10 °C ve 37 °C) Gelişme	32
2. 2. 5. 3. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında (% 2 ve % 6.5 NaCl) Gelişme	32
2. 2. 6. Yağ Asitleri Kompozisyonuna Göre Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyonu	33
2. 2. 6. 1. MIS Sistemi	34
2. 2. 6.1. 1. Gaz Kromatografisi	34
2. 2. 6.1. 2. Kromatografi Sistemini Besleyen Gaz Tankları	34
2. 2. 6.1. 3. Bilgisayar Sistemi ve Programlar	35
2. 2. 6.1. 4. Lazer Yazıcı	35
2. 2. 6. 2. Yağ Asitlerinin Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözeltiler	35
2. 2. 6. 3. Yağ Asitleri Ekstraksiyon Metodu	36
2. 2. 7. Bakterilerin Asit Üretimlerinin Belirlenmesi	39

2. 2. 8. Bakterilerin Proteolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi	39
2. 2. 9. Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi	41
2. 2. 10. İstatistik Analizler	42
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	43
3. 1. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları	43
3. 1. 1. Kurumadde Miktarı	43
3. 1. 2. Yağ Miktarı	43
3. 1. 3. Kurumaddede Yağ Miktarı	44
3. 1. 4. Tuz Miktarı	46
3. 1. 5. Kurumaddede Tuz Miktarı	46
3. 1. 6. Toplam Kül Miktarı	47
3. 1. 7. Titrasyon Asitliği	48
3. 1. 8. pH Değeri	48
3. 1. 9. Toplam Protein Miktarı	49
3. 1. 10. Suda Eriyen Protein Miktarı	49
3. 1. 11. Olgunlaşma Derecesi	50
3. 2. Kolorimetre İle Renk Değerlerinin Belirlenmesi	50
3. 3. Duyusal Analiz Sonuçları	52
3. 4. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	55
3. 4. 1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayısı	55
3. 4. 2. Koliform Bakteri Sayısı	57
3. 4. 3. Maya-Küf Sayısı	58
3. 4. 4. <i>Staphylococcus aureus</i> Sayısı	58
3. 4. 5. Lipolitik Bakteri Sayısı	59
3. 4. 6. Proteolitik Bakteri Sayısı	60
3. 4. 7. Laktik Asit Bakteri Sayısı	61
3. 5. Deneme Tulum Peynirlerinden İdentifiye Edilen Bazı Laktik Asit Bakterileri	62
3. 5. 1. Suşların Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri	66
3. 5. 2. Bakterilerin Asit Üretimlerinin Belirlenmesi	76
3. 5. 3. Suşların Proteolitik Aktivite Değerleri	82
3. 5. 4. Suşların Dekarboksilaz Aktivite Değerleri	96
4. SONUÇLAR	102
KAYNAKLAR	106
ÖZGEÇMİŞ	123

SİMGELER DİZİNİ

Cfu	Colony Forming Unit
Kob	Koloni Oluşturan Birim
LAB	Laktik Asit Bakterisi
<i>Lb</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>P</i>	<i>Pediococcus</i>
<i>Leu</i>	<i>Leuconostoc</i>
MIS	Microbiology Identification System
PAD	Proteolitik Aktivite Değeri



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2. 1. Microbiyal identifikasyon sistem (MIS) ünitesi	34
Şekil 2. 2. Yağ asidi profiline göre bakteri identifikasyonunda işlem basamakları	38



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2. 1. Tulum peynirlerinin duysal değerdendirilmesinde kullanılan hedonik tip skala örneği (Tam Puan = 9)	29
Çizelge 2. 2. Mac Farland metoduna göre A ve B çözeltilerinin karışım Oranları	42
Çizelge 3. 1. Tulum peynirlerinde belirlenen bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları ortalamaları	45
Çizelge 3. 2. Peynir örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları	47
Çizelge 3.3. Tulum peyniri örneklerinin renk değeri sonuçları	51
Çizelge 3. 4. Peynirlerin renk değerdlerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları	52
Çizelge 3. 5. Tulum peynirlerinde yapılan duysal analiz sonuçları (Tam puan = 9)	53
Çizelge 3. 6. Peynir örneklerinin duysal özelliklerine ait bazı istatistiki analiz Sonuçları	54
Çizelge 3. 7. Peynir örneklerinin duysal özelliklerine ait korelasyon değerdleri (n= 40)	54
Çizelge 3. 8. Tulum peynirlerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları	56
Çizelge 3. 9. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları	58
Çizelge 3. 10. Peynir örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçlarına ait korelasyon değerdleri (n= 40)	59
Çizelge 3. 11. Tulum peyniri örneklerinden identifiye edilen <i>Lactobacillus</i> suşlarının bazı biyokimyasal özellikleri	68

Çizelge 3. 12. Tulum peyniri örneklerinden identifiye edilen <i>Pediococcus</i> ve <i>Leuconostoc</i> suşlarının bazı fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları	74
Çizelge 3. 13. <i>Lactobacillus</i> suşlarının asidifikasyon, dekarboksilaz aktivite ve proteolitik aktivite değerleri	83
Çizelge 3. 14 <i>Pediococcus</i> ve <i>Leuconostoc</i> suşlarının asidifikasyon, dekarboksilaz aktivite ve proteolitik aktivite değerleri	93



1. GİRİŞ

İnsan için mükemmel yakın bir gıda maddesi olan süt, mikroorganizmaların gelişmesi için de ideal bir ortamdır. Dolayısıyla bozulmalara karşı da oldukça hassastır. Bu nedenle süt, daha dayanıklı ürünlere işlenerek hem bozulması önlenmekte veya geciktirilmekte, hem de lezzet ve tekstür bakımından farklı yeni süt ürünleri elde edilerek tüketici beğenisinin çeşitliliğine alternatif olabilecek gıdalar üretilmektedir. Bunlar arasında en yaygın olarak üretilen ve tüketilenlerden biri de peynirdir:

Devlet İstatistik Enstitüsü kayıtlarına göre, 1999 yılı toplam süt üretimimiz 10.082.010 ton (Anonim 1999), 1998 yılı toplam peynir üretimimiz ise yaklaşık 313.370 ton olarak gerçekleşmiştir (Anonim 2000). Türkiye’de üretilen sütün yaklaşık % 20’sinin peynir yapımında kullanıldığı (Tekinşen 2000), üretilen peynirlerin de % 65’inden fazlasını sırasıyla Beyaz peynir ve Kaşar peynirinin oluşturduğu belirtilmektedir (Anonim 2000). Geriye kalan % 34’lük oranın ise en büyük bölümünü Erzincan Tulum peyniri* teşkil etmektedir. Diğer ülkelerle karşılaştırıldığında ülkemizde, peynir tüketimi oldukça düşüktür. Ülkemizde kişi başına yıllık peynir tüketiminin 3.2 kg, Fransa’da 24.3 kg, Almanya ve Yunanistan’da 20 kg olduğu belirtilmektedir (Yetişmeyen ve Deveci 2000). Önceleri Kaşar peyniri üretiminin yapılmadığı, Beyaz peynir üretiminin ise ekonomik olmadığı yörelerimizde üretilmekte olan Tulum peyniri; Elazığ, Tunceli, Bingöl, Erzincan ve Erzurum İllerimize özgü mahalli bir peynir çeşidimizdir (Eralp 1974, Kurt ve Öztekin, 1984). Son yıllarda toplumun her kesiminin severek tükettiği, bu nedenle de bütün yurttan üretim ve tüketimi artan bir peynir çeşidi olmuştur. Tulum peynirinin Türkiye’de en fazla üretilen peynir çeşitlerinden biri olduğu ve Trakya bölgesi hariç her

* “Erzincan Tulum peyniri”, “Tulum peyniri” olarak kısaltılmıştır.

yerde üretildiği bildirilmektedir (Karacabey ve Uraz 1974, Karaibrahimoğlu ve Üçüncü 1988, Kurt vd 1991 a).

Tulum peynirinin özellikle üretildiği dağlık bölgede sütün değerlendirilmesini sağladığı, ekonomik yönden üreticisine yüksek gelir getirdiği ve üstün özellikleri ve besin değerinin yüksek oluşu nedeniyle ihracata çok uygun bir peynir çeşidi olduğu belirtilmektedir (Akyüz 1981, Kurt vd 1991 a, Güneş ve Albayrak 1994).

Peynir, üretim sırasında büyük emek ve masraf gerektiren değerli bir süt ürünüdür. Bu ürünün insan sağlığını olumsuz yönde etkilemeyecek kalitede, standart ve modern üretim teknolojisiyle üretilmesi ve tüketiciye ulaştırılıncaya kadar kalitesinin bozulmaması için üretimi ve muhafazası sırasında hijyenik ve teknolojik kurallara uyulması şarttır. Aksi halde peynir mikrobiyal bozulma sonucu tüketilemeyecek hale gelebilmekte veya kalitesinin düşmesi nedeniyle gerçek değerinin çok altında pazarlanmakta, daha da önemlisi insan sağlığı için risk faktörü olabilmektedir. Tulum peyniri de büyük çoğunlukla hijyenik olmayan şartlarda çalışan geçici mandıralarda, ilkel yöntemlerle üretilmektedir. Peynir yapımında kullanılan sütler mayalama sıcaklığına kadar ısıtılıp mayalanmakta, dolayısıyla mikrobiyal açıdan güvenilir olmayan ürünler elde edilmektedir. Bu şekilde çiğ süttten üretilen Tulum peynirleri ile hem tüketici sağlığı bakımından risk taşıyan, hem de kalitesi düşük ve standart olmayan ürünler ortaya çıkmaktadır.

Tulum peyniri, ülkemizin değişik bölgelerinde birbirinden farklı teknolojilerle üretilmektedir. Çoğunlukla da Erzincan Tulum peyniri, Divle Tulum peyniri, Çimi Tulum peyniri gibi yöresel olarak isimlendirilmektedir (Gönç 1974, Akyüz 1981, Kurt ve Öztekin 1984). Ege bölgesinde büyük çapta üretilen ve "salamuralı" olarak adlandırılan Tulum peyniri gerek yapılışı ve gerekse özellikleri bakımından diğerlerinden farklıdır

(Yaygın 1971). Tulum peyniri çeşitlerinin duysal özellikleri ve kimyasal bileşimleri de oldukça farklılık göstermektedir.

Tulum Peyniri Standardı (Anonim 1989)'nda Tulum peyniri: uygun pastörize süten veya TS 1018 (Anonim 1981)'e uygun çiğ sütin 63-65 °C'de yarım saat pastörize edildikten sonra imalat tekniğine göre peynir mayası ilave edilmesi ve keçi tulumu içinde belirli şartlarda bekletilip olgunlaştırılması sonucu elde edilen kendine has şekil, tat ve aroması olan peynir şeklinde tarif edilmektedir. Kurt vd (1991 a) ise kaliteli ve standart özellikte Tulum (Şavak) peynirini şu şekilde tanımlamaktadırlar: "beyaz ve krem renkte, kurumadde, protein ve yağ oranı yüksek, kolay dağılmayan, ağıza alındığında kendine özgü tereyağı aroması kolaylıkla hissedilen, yarı sert, homojen yapıda ve belirgin asidik tatta olan bir peynir çeşididir."

Ülkemizde Beyaz peynir ve Kaşar peyniri üretiminde starter kültür hazırlama ve kullanma çalışmaları sürdürülürken (Kurt 1969, Akyüz 1978, Çelik 1981, Alpar vd 1986, Anonim 1990, Temelli 2000), önemli diğer bir peynir çeşidimiz olan Tulum peyniri için de uygun starter kültür çalışmalarına ivedilikle başlanması gerekmektedir. İlkel şartlarda ve geleneksel üretim tekniği ile 10-15 günde üretimi gerçekleştirilen Tulum peynirinin kalitesi, üretim süresinin uzunluğu, üretim şartlarının uygun olmayışı, hijyenik şartlara uyulmaması nedeniyle üreticinin becerisinden çok, doğal kontaminasyon sonucu oluşan şartlara bağlı kalmaktadır. Bu durum, piyasada satılan Tulum peynirlerinin kalitesinin şansa bırakılmasına, piyasaya güvenin kalmamasına ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır. Bu sakıncaların giderilmesi için; öncelikle kaliteli çiğ süt elde edilmesi ve sütin pastörize edildikten sonra üretimde kullanılması gerekmektedir. Ancak, pastörizasyon tek başına yeterli olmamaktadır. Çünkü pastörizasyon işlemi, ürünün istenilen lezzette olmasını sağlayan ve sütte bulunması arzu edilen mikroorganizmaların çoğunun da yok olmasına neden olmaktadır (Tunail ve

Köşker 1986). Bu sütlerden üretilen peynirlerde olgunlaşma, tekstür ve lezzet gelişimi çok yavaş olmakta ve uzun süre soğuk hava depolarında olgunlaştırılma zorunluluğu nedeniyle ilave bir masraf ortaya çıkmaktadır. Bütün bu sakıncaları ortadan kaldırmak için; pastörizasyondan sonra starter kültür adı verilen, özellikleri önceden belirlenmiş yararlı mikroorganizma suşlarının peynir yapılacak süte belirli oranda ilave edilmesi gerekmektedir (Scott 1986, Cogan ve Daly 1987, Özalp 1988, Bostan ve Uğur 1992). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda Tulum peyniri için belirlenmiş bir starter kültür bulunmamaktadır. Bu nedenle, peynirin olgunlaşma ve lezzetinde önemli role sahip olan laktik asit bakterilerinin izolasyon ve identifikasyonunun yapılması gerekmektedir.

Tulum peyniri üzerinde yapılan araştırma sayısı sınırlıdır. Araştırmaların çoğu da mevcut üretim tekniği ve bileşimi üzerinde yoğunlaşmıştır. Çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda Tulum peynirlerinin üretim metodu, mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal açıdan çok farklı olduğu belirtilmektedir (İzmen 1939, Töral 1969 Gönç 1974, Karacabey ve Uraz 1974, Akyüz 1981, Kurt ve Öztekin 1984, Kurt vd 1991 a). Tulum peynirinin mikrobiyolojisi üzerinde ise daha az çalışılmıştır (Özalp vd 1978, Tekinşen ve Çelik 1979, Kurt vd 1991 b, Dığrak vd 1994). Tüketime sunulan Tulum peynirleri üzerinde yapılan farklı çalışmalarda, kurumadde miktarının % 52.73-71.34 arasında, yağ miktarının % 7.50-26.80 arasında, protein miktarının % 17.39-27.44 arasında, asitlik derecesinin 49-139.9 SH arasında olduğu belirlenmiştir (Eralp ve Kaptan 1970, Eralp 1974, Kurt vd 1991 a).

Tekinşen ve Çelik (1979), Elazığ yöresinden aldıkları 40 adet Şavak peyniri örneğinde *Staphylococcus* ve *Micrococcus* tür ve alt gruplarının varlığını ve dağılımını incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, Elazığ yöresinde Şavak peynirlerinin hijyenik koşullar altında üretilmediği ve halk sağlığı yönünden potansiyel bir tehlike arz ettiği tespit edilmiştir. Özalp vd (1978) de enterotoksijenik stafilokoklar ve salmonellelar

türlerinin izolasyonu ve tanısı yönünden araştırmalar yapmışlardır. Araştırma sonucunda örneklerin hiçbirinde belirtilen mikroorganizmalar bulunmamış, sadece bir örnekte kurbağa testi ile enterotoksin bulunduğu tespit edilmiştir.

Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerinin bazı mikrobiyolojik özellikleri Kurt vd (1991 b) tarafından saptanmıştır. Kültür kullanımının Tulum peynirinin duysal, fiziksel-kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkisi Arıcı ve Şimşek (1991), Elazığ kapalı çarşısında satışa sunulan Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel ve kimyasal özellikleri ise Dığrak vd (1994) tarafından saptanmıştır. Araştırmacılar mikrobiyolojik analizler sonucunda, peynirin üretimi ve pazarlanması sırasında kontaminasyona maruz kaldığı ve halk sağlığını bozabilecek potansiyel bir tehlike taşıdığı sonucuna varmışlardır. Bostan (1991) ise, İstanbul piyasasında satılan plastik bidon ve keçi derisi tulumda basılı Tulum peynirleri üzerinde yaptığı araştırmada; duysal açıdan plastik bidonlarda bulunan peynirlerin, keçi derisinde basılı peynirlerden, hem toplam puan hem de görünüm, tat-koku ve yapı bakımından ayrı ayrı üstün olduğunu belirlemiştir.

Çiğ inek sütünden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinin fiziksel, kimyasal ve duysal özellikleri Güven ve Konar (1994) tarafından araştırılmıştır. Araştırmada, polietilen poşette bulunan Tulum peynirlerinin en iyi renk ve görünüş özelliklerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Tulum peynirlerinin duysal özelliklerinin 90 günün ötesine uzayan olgunlaşmadan olumsuz yönde etkilendiği saptanmış ve bu nedenle Tulum peynirlerinin en çok üç ay olgunlaştırılması gerektiği aynı araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır.

Şengül (1995)'ün çiğ ve pastörize inek sütünden yapılan ve farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan Tulum peynirleri üzerinde yapmış olduğu araştırmada;

starter kültür olarak *Lactococcus lactis* 71580 ve *Lactobacillus casei* 71605 kullanmıştır. Araştırma sonucunda, pastörize süttten elde edilen peynirin randımanının daha yüksek olduğu, olgunlaşma peryodunun 90. gününde pastörize süt peynirlerinin duyuusal açıdan daha çok beğenildiği ve araştırılan ambalaj materyallerinin, peynire yabancı tat ve aroma vermediği ve duyuusal özellikleri fazla etkilemediğini belirlemiştir. Bu sonuçlardan hareketle, Tulum peynirlerinin pastörize süttten starter kültür ilavesiyle üretilmesi gerektiği ve bu konuda çeşitli açılardan araştırmalara devam edilmesi gerektiği vurgulanmıştır.

Bostan vd (1992), geleneksel yöntem ile üretilen 8 adet ve piyasadan temin etmiş oldukları 20 adet Tulum peynirinde laktik asit bakterilerini çalışmışlardır. Araştırma sonucunda, deneysel peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilk günlerinde *Streptococcus lactis* (*Str. lactis*) ve *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)'in, olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde ise *Lactobacillus casei* (*Lb. casei*), *Lb. plantarum* ve *E. faecalis*'in çok sayıda, ticari Tulum peynirleri örneklerinden ise izole etmiş oldukları 426 laktik asit bakterisinin 72'si *E. faecium*, 48'i *E. faecalis*, 45'i *Str. lactis*, 64'ü *Lb. casei* ve 42'si *Lb. plantarum*, 2'si *Lb. coryniformis*, 13'ü *Lb. brevis*, 4'ü *Lb. kefir*, 1'ini *Lb. buchneri*'nin oluşturduğunu belirlemişlerdir. *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerine ise çok az sayıda rastlamışlardır. Deneysel taze peynir örneklerinde laktobasillere çok az rastlanmasına rağmen, olgunlaşmanın 30., 60. ve 90. günlerinde *Lb. casei* ve *Lb. plantarum*'un elde edilen suşların başında yer aldığını, dolayısıyla bu iki mikroorganizmanın Tulum peynirlerinin olgunlaşmasında etkili olduklarını belirlemişlerdir. Sürmeli vd (1982), Tulum peynirinden izole etmiş oldukları 54 *Lactobacillus* suşundan 2'sini termobakteriler, 37'sini streptobakteriler ve 15'ini betabakteriler grubuna dahil olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca *Lactobacillus*'lar içerisinde *Lb. casei* ve *Lb. plantarum*'un çoğunlukta olduğunu tespit etmişlerdir.

Literatür taramasından da anlaşılacağı gibi, Tulum peyniri konusunda yapılmış olan araştırmalar daha çok peynirin üretim metodu, duyusal, kimyasal ve genel mikrobiyolojik özellikleri üzerindedir. Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu hakkında birkaç araştırmaya rastlanmıştır. Tulum peynirinin orijininde mevcut olan laktik asit bakterilerinin ve bunların özelliklerinin bilinmesi Tulum peynirinin tipik özelliklerini korumak ve teknolojik üretime geçmek için gereklidir.

Peynirlerin kendine özgü tat, koku ve yapısı, üretimde kullanılan sütün çeşidi, uygulanan teknolojik işlemler, olgunlaştırma süre ve sıcaklığı gibi faktörlerin yanı sıra starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların türüne de bağlıdır. Mikroorganizmalar sütte bulunan protein, laktoz ve süt yağını kullanarak meydana getirdikleri metabolitlerle peynirlerin tat, koku ve yapısında belirleyici rol oynamaktadırlar. Dolayısıyla süte starter kültür olarak katılan veya sütün doğal mikroflorasında bulunan laktik asit bakterileri peynir yapımını her yönden etkilemekte ve peynirin kalitesi üzerinde belirleyici olmaktadır.

Peynirlerde en çok kullanılan kültürler laktik asit bakterileridir (Kosikowski 1978, Cogan ve Daily 1987, Gilliland 1988). Laktik asit bakterilerinin başlıca fonksiyonu asit oluşturmaktır. Ayrıca, lezzet oluşumuna da katkıda bulunmaktadırlar (Tunail ve Köşker 1986, Özalp 1988, Olson 1990). Laktik asit bakterileri, doğada çok yaygın oluşları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça rastlanan bozulmalara neden olmaları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında teknolojik açıdan önemli rol oynamaları nedeniyle gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadırlar. Oldukça değişik özelliklere sahip mikroorganizmaları ihtiva eden familyanın ortak özellikleri: Gram (+), katalaz negatif ve hareketsiz oluşlarıdır. Genellikle şekerleri fermente ederek karakteristik fermentasyon ürünü olan laktik asit üreten, çubuk veya kok şeklinde bakteriler olup doğada geniş bir

şekilde yayılmaktadırlar (Sharpe et al. 1966, Şahin 1990). İki fizyolojik gruba ayrılmaktadırlar: heksozdan CO₂, laktik asit, asetik asit, etanol ve mannitol üretenler heterofermentatif LAB, heksozdan esas olarak laktik asit üretenler ise homofermentatif LAB olarak isimlendirilmektedir. Cinsler arasında ve hatta türler arasında bile çok büyük metabolik çeşitlilik olduğu belirtilmektedir (McDonald et al.1987).

Laktik asit bakterileri, çoğu peynirde en yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır (Elortondo et al. 1998). *Lactococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinslerine ait olan türler peynir ve tereyağı gibi fermente ürünlerin üretiminde önemlidir. Laktik asit bakterileri laktik asit üretmek, pH'yı düşürmek, diasetil gibi aroma maddeleri üretmek, peynirin olgunlaşması ve istenmeyen mikroorganizmaları inhibe eden maddelerin üretimi için kullanılmaktadır (Al-Zoreky ve Sandine 1991, Hammes ve Tichaczek 1994). LAB starter kültür olarak ticari ve endüstriyel öneme sahiptirler. Metabolizmalarının son ürünü olan laktik asit, istenmeyen mikroorganizmalara karşı doğrudan antagonistik bir etkiye sahiptir (Boubekri ve Ohta 1996). Birçok türlerinin antimutajenik ve antitümör aktiviteye sahip olduğu ifade edilmektedir (Hosona et al. 1989, Zhang ve Ohta 1990). Bu bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyal bileşikler, süt ve ürünlerinin bozulmasını önlemede ve raf ömrünü artırmada önemli role sahiptirler (Vaughan et al. 1994, Medina et al. 1995). LAB'nin, lezzet gelişimi ve iyi bir tekstür oluşumu açısından olduğu kadar peynirin muhafazası açısından da önem taşıdığı belirtilmektedir (Steele ve Ünlü 1992).

Van Den Berg et al. (1993), geleneksel fermente gıdalardan olan ekşi hamur, fermente sosis, sofra zeytinleri, peynir ve diğer süt ürünlerinden izole etmiş oldukları 400 adet laktik asit bakteri suşu ve kültür koleksiyonlarından 200 adet laktik asit bakterisinin eksopolisakkarit üretimi, bakteriosin üretimi ve proteolitik aktivitesini incelemişlerdir. Proteolitik aktiviteyi belirlemek için MRS-ma (MRS-milk agar) kullanarak, suşları 30

°C’de 16 saat anaerobik olarak inkübasyona bırakmışlar ve inkübasyon sonunda oluşan zonların yarı çaplarını ölçerek proteolitik aktiviteyi belirlemişlerdir. Araştırma sonunda 131 suşta negatif PAD ($r=0$ mm), 236 suşta düşük PAD ($0<r<3$ mm), 224 suşta orta düzeyde PAD ($3<r<5$ mm) ve 16 suşta da yüksek PAD ($r>5$) belirlemişlerdir. Lee et al. (1990), starter kültürsüz ve homofermentatif *Lactobacillus* suşlarını (*Lb. casei* subsp. *casei*, *Lb. casei* subsp. *pseudopantarum*, *Lb. plantarum*) kullanarak üretmiş oldukları Cheddar peynirinde bu bakterilerin çözünebilir azot bileşenleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Peynirleri 15 °C ve 7 °C’de olgunlaştırma sonucunda çözünebilir azot miktarını kültürlü peynirde sırasıyla 360 mg/g ve 240 mg/g, kontrol peynirde ise 170 mg/g ve 75 mg/g olarak belirlemişlerdir. Ayrıca *Lactobacillus* kültürlerinin proteolize önemli katkıda bulunduklarını, starter kültürsüz üretilen peynirlerde proteolizin yavaş olduğunu ve maksimum proteoliz seviyesine 10 aydan sonra bile ulaşamadığını, starter kültürlü peynirde ise 8 ayda maksimum proteolize ulaşıldığını saptamışlardır.

Süt ürünleri üretiminde kullanılan kültürler kullanılış amacına göre seçilmelidir. Hızlı asit üretilen çok az miktarda aroma maddesi oluşturan kültürlerin peynir üretimi için uygun kültür olabileceği, ancak aynı kültürlerin tereyağı üretimi için uygun olmadığı ifade edilmektedir (Kurt 1994). Peynir teknolojisinde kullanılan starter kültürlerde bulunması arzu edilen özellikler olarak; laktik asit üretiminin çabuk ve devamlı olması, bakteriyofaja ve antibiyotiklere dayanıklı olması, 38.9 °C’de asit üretiminin devam etmesi ve peynir üretiminde önemli olan yüksek tuza dayanıklı olması gibi şartlar sayılmaktadır (Kurt, 1994). De Giori et al. (1985) da, peynir olgunlaştırma süresince istenmeyen kötü koku ve acılığı önlemek için, starter kültür kombinasyonunun seçiminde üretim sırasındaki tüm sıcaklık ve pH derecelerinde starterin proteolitik aktivite ve asit üretim kapasitesinin önemli olduğunu ifade etmektedirler. Peynirde tuz miktarının azalması sonucu peynirin yumuşadığı; proteoliz, su aktivitesi, asitlik ve

acılığın arttığı, ayrıca istenmeyen fermentasyonların da meydana gelebildiği belirtilmektedir (Katsiari et al. 2001). Tuz miktarının peynirdeki proteoliz oranını, starter ve starter olmayan bakterilerin gelişimini etkilediği ifade edilmektedir (Kelly et al. 1996).

Tür ayrımında mikroorganizmaların farklı ayırt edici özelliklerinden yararlanarak farklı identifikasyon teknikleri kullanılmaktadır. Bu metotlardan en fazla kullanılanları şunlardır: DNA'daki baz miktarı farklılığından hareketle Guanin + Sitozin (G + S) oranının (% mol) belirlenmesi, 23S, 16S ve 5S rRNA baz dizilişlerinin benzerlik tespiti, genetik profillerin belirlenmesi, protein profillerinin saptanması (SDS-PAGE), morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özellikler metabolik profillerin belirlenmesi, hücre duvarı analizleri, serolojik özelliklerin tespiti ve hücre yağ asit profillerinin (FAME= Fatty Acid Methyl Ester) belirlenmesine dayanan tanı yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu metotların hepsi aynı hassasiyette olmayıp aynı sıklıkta kullanılmamaktadır. Herhangi bir metodun kullanılma sıklığını metodun güvenilirliği ve maliyetinin etkilediği belirtilmektedir (Jay 1992, Beresford et al. 2001).

Genel olarak bakteriyel mikroorganizmalarda yağ asitlerinin uzunluğunun C₉- C₂₀ arasında olduğu, aynı zamanda bu yağ asitlerinin farklı konfigürasyonları da (izo, cis ve trans gibi) düşünüldüğünde çeşitliliğin daha da arttığı, bakterilerin 300'den fazla çeşit yağ asidi ihtiva ettikleri belirtilmektedir. Yapılan çalışmalarda, Gram (+) bakterilerde dallanmış yapıdaki yağ asitleri daha fazla olmasına karşılık, Gram (-) bakterilerde kısa zincirli yağ asitlerinin daha fazla olduğu belirtilmektedir (Sasser 1990). Ökaryotik hücrelerde genellikle çift karbon sayısı ve C₁₄-C₂₄'lü yağ asitleri bulunurken, prokaryotik hücrelerde C₉-C₂₀ arasında tek ve çift karbon sayılı yağ asitleri bulunmaktadır (Şahin 1999).

Genetiksel olarak aynı tür mikroorganizmaların yağ asitleri çeşitliliği ve nispi oranlarının (yağ asitleri profili) aynı olduğu, çevre şartları aynı kaldığı sürece de (besiyeri, inkübasyon süresi ve sıcaklığı gibi) değişmediği, dolayısıyla yağ asitleri profilindeki farklılıkların mikroorganizmalar arasındaki akrabalıkların dolaylı bir göstergesi olduğu belirtilmektedir. Kültür ortamında çoğalabilen mikroorganizmaların gerek identifikasyonu ve gerekse taksonomik konumlarının saptanması için yağ asitleri profillerinin kullanılabileceği, birçok bilimsel araştırma ile ispatlanmıştır (Dzieak 1987, Decallone et al. 1991, Anonymous 1999, Şahin vd 2000). Bu şekilde ayrılabilirlik özelliklerinden yararlanarak ilk defa 1985 yılında ABD’de MIDI firması tarafından mikroorganizmaları yağ asitlerine göre tanımlayan bir sistem geliştirilmiştir. Bu sistem, Microbial Identification System (MIS) olarak isimlendirilmektedir (Anonymous 1999). MIS, standart koşullarda katı besi ortamlarında çoğaltılan bakteriyel hücrelerden ekstrakte edilen yağ asidi metil esterlerinin saptanması ve elde edilen yağ asidi metil esterlerine göre bakterileri tanılayan tam otomatik sistemdir.

MIS, temel olarak izole edilen mikroorganizmaların, standart besiyerine ekildikten sonra yağ asitlerinin saflaştırılması ve yağ asidi profillerinin elde edilmesi şeklinde özetlenebilmektedir.

Yağ asitleri vasıtasıyla bakteri identifikasyonunun mümkün olabileceğinin anlaşılmasından sonra konu ile ilgili çalışmalar her alanda artmıştır. Bunlardan bazıları aşağıda kısaca değerlendirilmiştir:

Decallonne et al. (1991), High Resolution Gas Chromatography (HRGC) sistemini kullanarak laktik asit bakterilerini tanımlamışlardır. Araştırmacılar API 50 CH galerisi kullanılarak elde etmiş oldukları sonuçlar ile sistemde elde etmiş oldukları sonuçların % 90 oranında uyumlu olduğunu tespit etmişlerdir.

Pentonen et al. (1992), pişirilmeden tüketilen vegan (hiçbir hayvansal ürün yemeyen) diyetinin, insan feçes mikroflorası üzerine etkilerini kompüterize edilmiş gaz kromatografisi sistemini kullanarak incelemişlerdir. Araştırmada *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Clostridium* cinslerine ait birçok bakteri türünü yağ asitleri kompozisyonuna göre tanımlamışlardır. Sonuç olarak, bu sistemin özellikle farklı türleri içeren örneklerin incelenmesi açısından çok kullanışlı olduğunu belirtmişlerdir.

Stead et al. (1992), bitki patojeni bakterilerin identifikasyonunda yağ asitleri profilini esas alan ticari cihazların gelişimini incelemişlerdir. Bunlar arasında en önemli paya sahip olan MIDI (Microbial Identification Inc.) firmasının mikroorganizmaların identifiye edilmesi amacıyla piyasaya sürdüğü ve gaz kromatografisi esasına göre çalışan cihazını kullanıp, belirtilen patojenleri tanımlamaya çalışmışlardır. Sonuç olarak sistemin birçok bakteri için oldukça güvenilir identifikasyonlar verdiğini belirtmişlerdir.

Haack et al. (1994), yağ asitlerinin tam olarak tespit edilip edilmediğini ve sonuçların tekrarlanabilirliğini incelemişlerdir. Araştırmada MIDI firmasının ürettiği MIS'i kullanmışlar ve sonuç olarak hem yağ asitlerinin tespiti hem de sonuçların tekrarlanabilirliği hakkında olumlu sonuç bildirmişlerdir.

Lipski et al. (1992), Gram (-) ve fermentatif olmayan bakterilerin biofiltreden izolasyonu ve identifikasyonunu yağ asitleri kompozisyonu, quinone sistem ve fizyolojik reaksiyon profillerini kullanarak bakterileri tanımlamaya çalışmışlardır. Sonuç olarak identifikasyonda kullanılan üç farklı sisteminden en ideal ve doğru sonuç verenin yağ asitleri kompozisyonuna göre yapılan olduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda yağ asitlerine göre identifikasyonun DNA ve RNA'nın ekstraksiyonu metotlarından bile daha kullanışlı ve üstün olduğunu belirtmişlerdir.

Dzieak (1987), HRGC ve Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez (SDS-PAGE) yöntemlerinin bakteri suşlarını karakterize etmek için kullanılabilecek iki ana biyofizik yöntem olduğunu belirtmektedir. Laktik asit bakterilerinin yağ asitleri kompozisyonuna göre karakterizasyonu ilk defa 1963 yılında yapılmıştır (Abel et al. 1963). Dzieak (1987), MIS sistemini kullanarak, yağ asidi kompozisyonuna göre mikroorganizmaların cins, tür ve alt türlerinin en iyi şekilde tanımlanabildiğini belirtmektedir. Bununla birlikte, gıdalardan izole edilmiş olan tipik olmayan LAB suşlarının identifikasyonu HRGC 1984'e kadar başaramadı. Yağ asitlerinin gaz kromatografisi ile analizlerinin 30 yıldır bakteri türlerinin belirlenmesi için kullanıldığı anlaşılmaktadır. Aynı zamanda teknik ilerlemeler HRGC'nin önemli bir cihaz olmasına neden olmuştur. Şimdiye kadar HRGC yöntemi bakteri suşlarının karakterize edilmesinde esas olarak kullanıldığı, ancak yağ asidi metil ester derivatları olarak çok sayıda araştırma mevcut olmadığı belirtilmektedir (Decallonne et al. 1991).

Elortondo et al. (1998), Tulum peyniri gibi yarı sert bir peynir çeşidi olan Idiazabal peynirinin laktik asit bakterilerini çalışmışlardır. Pıhtılaşma, presleme, tuzlama ve 12 aylık olgunlaştırma periyodu süresince laktik asit bakterilerini incelemişlerdir. Sonuçta 192 laktik asit bakteri suşu identifiye etmişlerdir. *Lactococcus* suşlarının % 61'i *Lc.lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, % 30'u *Lc.lactis* subsp. *lactis*, % 7'si *Lc.lactis* subsp. *cremoris* ve % 2'si *Lc. raffinolactis* olduğunu, süttten ve pıhtıdan elde edilen *Lactobacillus*'ların tamamının ve peynirden izole edilenlerin % 19'u *Lb. plantarum* olarak belirlenmişlerdir. Peynirde yaygın *Lactobacillus* olarak *Lb. casei* subsp. *casei*'yi (% 64) identifiye etmişlerdir. Centeno et al. (1996), çiğ süttten yapılan kaymaklı yumuşak bir peynir olan Arzua peynirinden laktik asit bakterilerinin izolasyon ve identifikasyonu çalışmışlardır. Araştırma sonucunda: toplam 121 *Lactococcus* (*Lc*) cinsine ait suştan 116 suşun *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 5 suşunda *Lc. lactis* subsp.

lactis biovar *diacetylactis* olduğunu; 55 *Lactobacillus* (*Lb*) suşundan 49 tanesinin *Lb. casei*, 6 tanesinin *Lb. plantarum* olduğunu; 72 *Leuconostoc* (*Leu*) suşundan 31 suşun *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides*, 18 suşun *Leu. mesenteroides* subsp. *dextranicum*, 22 suşun *Leu. paramesenteroides* ve 1 suşun *Leu. lactis* olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca 46 suşunda *Enterococcus* olarak tanımlanmışlardır. Üretim başlangıcında ve olgunlaşmanın 15. gününde *Lactococcus* suşlarının çok fazla sayıda iken, olgunlaşmanın sonlarına doğru *Lactococcus* ve *Lactobacillus* suşlarının eşit sayıda olduğunu belirlemişlerdir.

Valdeon peynirinin üretimi ve 60 günlük olgunlaştırma süresince meydana gelen mikrobiyolojik değişiklikler Lopez-Diaz et al. (1995) tarafından araştırılmış ve tüm proses boyunca laktik asit bakterilerinin baskın grup olarak bulunduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* cinslerine ait bakterilerin yoğunluğunu *Streptococcus*'lar biraz daha yüksek olmasına rağmen, benzer bulunmuştur.

Beukes et al. (2001), Güney Afrika'nın geleneksel fermente süt ürünlerinden 15 örneği mikrobiyolojik yönden incelemişlerdir. Araştırma sonucunda *Leuconostoc*, *Lactococcus* ve *Lactobacillus* cinslerini hakim mikroflora olarak belirlemişlerdir. İzole etmiş oldukları 336 laktik asit bakteri suşunun % 35'i *Leuconostoc*, % 28'i *Lactococcus*, % 23'ü *Lactobacillus*, % 8'i *Leuconostoc* / β -bakterium, % 4' ü pyogenic *Streptococcus* ve % 2'si ise *Enterococcus* olarak tespit edilmiştir.

Medina et al. (1995), çiğ inek sütünden starter kültür ilave edilmeden yapılan Leon peynirinde starter kültür olarak kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin temelini oluşturmak için bir araştırma yapmışlardır. Araştırmada laktik asit bakteri sayısının, total aerobik mezofilik bakteri sayısına yakın esas mikrobiyal grup olduğunu

bulmuşlardır. *Lc. lactis* subsp. *lactis* oranını 1 haftalık peynirde % 85, *Lb. casei* subsp. *casei* oranını 8 haftalık peynirde % 55 ve 12 haftalık peynirde % 42.5 olarak saptamışlardır. Araştırma sonucunda *Lb. casei* subsp. *casei* ve *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in bu peynirde starter kültür olarak kullanılabileceği önerilmiştir. Aynı araştırmada son ürünün organoleptik özelliklerini iyileştirmek için de *Leuconostoc*'ların bazı türlerinin bu starterlere ilave edilebileceği tavsiye edilmiştir.

Litopoulou - Tzaneteki (1990), sert bir peynir çeşidi olan Kefalotyri peynirinde 4 aylık olgunlaşma süresince laktik asit bakterilerinin çeşit ve değişimini incelemiştir. Olgunlaşma boyunca *Lactobacillus* ve *Enterococcus* sayılarının çok yüksek (*Lactobacillus* 10^6 - 10^9 cfu/g, *Enterococcus* 10^4 - 10^7 cfu/g) olduğunu, *Leuconostoc*, laktik streptokoklar (*Str. lactis*, *Str. lactis* subsp. *diacetylactis*, *Str. thermophilus*) ve betabakterilerin (*Lb. brevis*, *Lb. buchneri*)'nin olgunlaşmanın ilk zamanlarında ortadan kaybolduğunu, *Leuconostoc lactis* ve *Streptococcus thermophilus*'un başlangıçta hakim olduğunu ve olgunlaşmanın ilerlemesi ile *Enterococcus faecium*, *Lb. casei* ve *Lb. plantarum*'un baskın mikroflora olduğunu tespit etmiştir. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacı; esas olarak asidifikasyonu sağlayacak laktik streptokokları (*Streptococcus lactis*, *Str. lactis* subsp. *diacetylactis*, *Str. thermophilus*) ve olgunlaşma süresince canlı kalan ve aynı zamanda aroma oluşturarak olgunlaşmada önemli rol oynayacak *Lb. casei*'nin Kefalotyri peyniri üretimi için tercih edilebileceği sonucuna varmıştır.

Poullet et al. (1993), starter kültür ilavesiz olarak üretilmiş olan Casar de Caceres peynirinde olgunlaşma boyunca laktik asit bakterilerinin izolasyonunu çalışmışlardır. Çalışma sonunda, toplam 217 *Streptococcus* izolatu, 314 *Lactococcus* izolatu ve 163 *Lactobacillus* izolatu elde etmişlerdir. Ayrıca *Lactococcus*'u (*Lc. lactis* subsp. *lactis*) olgunlaşmanın ilk 15. gününde çok fazla izole etmişlerdir. *Lactobacillus*'larda en

yaygın olan *Lb. curvatus* ve *Lb. plantarum* ve yaygın olmayan *Lb. rhamnosus* ve *Lb. brevis* olduğunu belirlemişlerdir.

Del Pozo et al. (1988), çiğ süt kullanarak ürettikleri starter kültürsüz La Serrena peynirinin 90 günlük olgunlaşma süresince mikroflorasındaki değişiklikleri araştırmışlardır. Peynirin mikroflorada *Streptococcus* (*Streptococcus lactis*), *Lactobacillus* (*Lb. casei* ve *Lb. plantarum*), *Leuconostoc* (*Lc. mesenteroides*) ve *Enterococcus*'un olgunlaşmanın 15. gününde maksimum seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda bu suşların peynir pH'sındaki düşmeden sorumlu olduklarını belirtmektedirler. 15. günden sonra lactic *Streptococcus*, *Lactobacillus* ve/veya *Leuconostoc*'ları baskın cins olarak bulmuşlardır.

Cezayir'in geleneksel bir peynir çeşidi olan El-Klila'dan laktik asit bakterilerinin identifikasyonu Boukberi ve Ohta (1996) tarafından çalışılmıştır. Araştırmada 4 haftalık 2 grup peynir materyal olarak kullanılmıştır. Peynirlerde *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* cinsleri izole edilmiştir. Bir grupta *Enterococcus* cinsinin suşları çoğunluk suş iken (% 89.9), diğer grupta *Pediococcus* cinsinin suşlarını yoğun olarak tespit etmişlerdir (% 33.3). Gobetti et al. (1999) ise, İtalyan peynir çeşidi olan Fossa (Pit) peynirinde starter olarak kullanmış oldukları *Lactococcus*'u oldukça düşük sayıda bulurken, diğer laktik asit bakterilerini (*Lb. plantarum*, *Lb. curvatus* ve *Lb. paracasei*) yüksek sayıda bulmuşlardır.

Fontecha et al. (1990), keçi sütünden yapılan Artisanal peynirinde 90 günlük olgunlaşma süresince mikrobiyolojik ve biyokimyasal özellikleri araştırmışlardır. Olgunlaşmanın sonunda *Lb. plantarum*'un en yaygın tür; *Lb. casei*, *Lb. brevis* ve *Lb. fermentum*'un ise daha az sayıda olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda bu türlerin yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük su aktivitesinden etkilendiklerini belirtmişlerdir.

Leuconostoc cinsine ait *Leu. paramesenteroides*, *Leu. mesenteroides* var. *dextranicum* ve *Leu. mesenteroides* var. *mesenteroides*'in Artisanal peynirindeki gözenekleri oluşturdıklarını da tespit etmişlerdir.

Requena et al. (1991) keçi sütünden yapılan ve yarı sert bir peynir çeşidi olan Majorero peynirinden izole ettikleri toplam 87 laktik asit bakteri suşundan 42'sinin *Lactococcus*, 39'unun *Lactobacillus* ve 6'sının da *Leuconostoc* cinsine ait olduğunu tanımlamışlardır. Tüm suşlar için proteolitik aktivite ve titre edilebilir asitlik (aktivite testi) testleri sonucunda; *Lb. plantarum*'un çok düşük proteolitik aktivite gösterdiği (4.9 µg tirozin /ml), *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in ise proteolitik aktivitesinin (52.4 µg tirozin /ml) *Lb. casei*'den (30.5 µg tirozin /ml) daha yüksek olduğunu; *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in diğer suşlardan daha fazla (% 0.22-0.39) titre edilebilir asitlik değerine ulaştığını saptamışlardır.

Peterson ve Marshall (1990), Cheddar peynirinde starter olmayan laktik asit bakterileri içerisinde büyük çoğunluğu Laktobasillerin oluşturduğunu, *Lb. casei* ssp. *casei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis*'in baskın türler olduğunu belirtmektedirler. Khalid ve Marth (1990), Cheddar peynirlerinin mikroflorasında *Pediococcus*'ların da bulunduğunu ve diğer starter mikroorganizmalarla birlikte aroma oluşumunda rol oynadıklarını belirtmektedirler. Aynı zamanda *P. acidilactici*'nin yüksek proteolitik aktiviteye sahip olmasından dolayı sert peynirlerin olgunlaştırılmasında önemli olduğunu vurgulamaktadırlar.

Bir mikroorganizmada aranacak starter kültür özelliği, elde edilecek ürünün özelliği ve uygulanan teknolojiye bağlı olarak değişmektedir. Olgunlaştırılmamış yumuşak peynirlerde asit oluşturma özelliği önemli olup ilk sırayı almaktadır. Sert peynirlerde ise proteolitik aktivite daha çok önem taşımaktadır. Bu özelliklerin yanısıra starter

kültürlerde bakteriyofaj özelliğinin belirlenmesi, dekarboksilaz aktivite ve buna bağlı olarak da biogen amin oluşturma düzeylerinin önemli olduğu belirtilmektedir (Edwards ve Sandine 1981, Joosten ve Northolt 1987).

Peynirin amin üretimi için ideal ortam olduğu (Antila et al. 1984 a, Antila et al. 1984 b, Maijala 1994), peynirin çeşidi ve olgunluk derecesine bağlı olarak genellikle pH 5.0 - 6.5 arasının amin üretimi için uygun olduğu belirtilmektedir (Edwards ve Sandine 1981, Taylor et al. 1982, Stratton et al. 1991, Vale ve Gloria, 1998). Birçok peynir çeşidinde histamin, tiramin, kadaverin, putresin, triptamin ve feniletilamin gibi aminlerin birçoğunun bulunduğu belirtilmektedir (Stratton et al. 1991). Histamin ve tiramin sadece farklı peynir çeşitlerinde değil aynı zamanda aynı peynir çeşitlerin içerisinde de farklı seviyelerde oluşmaktadır (Voigt ve Eitenmiller 1977, Voigt ve Eitenmiller 1978, Stratton et al. 1991). Laktik asit bakterilerinin geliştiği çoğu ürünlerin putresin, kadaverin, histamin ve tramin ihtiva ettiği belirtilmektedir (Santos 1996).

Histamin zehirlenmesi ile ilgili olarak, balıktan sonra peynir de en yaygın histamin zehirlenmesi görülen bir gıdadır. İlk zehirlenmeye 1967 yılında Hollanda'da Gouda peynirinin neden olduğu, peynirin histamin ve tiramin zehirlenmesi ile ilgili en bilinen gıdalardan olduğu ve Hollanda, Amerika ve Fransa'da birçok zehirlenme vakasının olduğu belirtilmektedirler (Stratton et al 1991, Stratton et al. 1992, Santos 1996). Edwards ve Sandine (1981) ve Stratton et al. (1991), 100 mg/100 g'dan daha fazla histamin içeren Swiss peynirinde zehirlenme olduğunu belirtmektedirler.

Aminler olgunlaşma süresince peynirde birirmektedirler. Bakırcı (2000), biogen amin oluşumunda etkili olan faktörleri serbest amino asit varlığı, sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu, starter kültürler ve diğer mikroorganizmalar, olgunlaşma ve ısı işlemi olarak belirtmektedir. Gerek starter kültür olarak kullanılan ve gerekse starter kültür

olmayan birçok bakterinin biogen amin üretme kapasitesine sahip olduğu ve bu bakterilerin *Escherichia*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* olduğu belirtilmektedir (Edwards ve Sandine 1981, Chang et al. 1985, Vale ve Glori 1998). *Lactobacillus*'un histamin, tiramin ve putresin birikmesinde önemli bir role sahip olduğu (Stratton et al. 1991), yüksek miktarda histamin içeren Cheddar ve Swiss peynirlerinin tüketilmesi sonucunda birçok histamin zehirlenmesinin ortaya çıktığı belirtilmektedir (Taylor et al. 1982). Straub et al. (1995)'e göre, proteolizisi hızlandırmak için *Lb. buchneri*'nin histidin dekarboksilaz pozitif suşunun denendiği bir kombinasyonda, son üründe histamin miktarının önemli miktarda arttığını, bununla birlikte *Lb. buchneri*'nin bozulma yapan mikroorganizma olduğu ve fermente gıdalarda bulunmaması gerektiğini de bildirilmektedir (Leuschner et al. 1998).

Biogen aminlerin oluşmasında, starter ve starter olmayan bakterilerin dekarboksilaz enzimlerinin etkili olduğu, starter kültür olarak kullanılan bakterilerin dekarboksilatif etkilerinin daha düşük olduğu ve bu nedenle de starter kültür kullanılarak yapılan peynirlerde genellikle biogen amin oluşum düzeyinin de düşük olduğu ileri sürülmektedir (Joosten ve Northolt 1987).

El-Sayed (1996), 50 adet Mısır peynirinde, biogen amin üzerine yapmış olduğu araştırmada; tiramini test etmiş olduğu örneklerin % 70'inde ortalama 58.7 mg/kg^{-1} olarak, β -feniletilamini işlem görmüş peynirlerin % 40'ında, putresin ve kadaverini toplam örneklerin % 70'inde sırasıyla 21.1 mg/kg^{-1} ve 41.0 mg/kg^{-1} olarak, polyamin ve spermin'i ise örneklerin % 30'unda belirlemiştir. Histamin, triptamin ve spermidini ise hiçbir örnekte belirleyememiştir. Valsamaki et al. (2000) ise, Feta peynirinde 4 aylık olgunlaşma boyunca biogen amin oluşumunu araştırmışlardır. 60 günlük olgunlaştırma sonunda biogen amin miktarını 330 mg/kg , 120 günlük olgunlaşma sonunda ise 617

mg/kg olarak belirlemişlerdir. Triptamin ve feniletilamin tüm olgunlaşma boyunca çok düşük konsantrasyonlarda iken, tiramin ve putresin'in esas biogen amin olduğunu (60 ve 120 günlük olgunlaşmada sırasıyla % 69.7 ve % 71.2 olarak belirlemişlerdir. Ordonez et al. (1997) tarafından yürütülen çalışmada ise Idiazabal peynirinde biogen aminlerin formasyonunu çalışmışlar ve potansiyel olarak en tehlikeli amin olan histamini çok düşük miktarlarda; tiramin, putresin ve kadaverini esas biogen amin olarak tespit etmişlerdir.

Vale ve Gloria (1998), 10 farklı çeşit 92 adet Brezilya peynirinde biogen amin üzerinde yaptıkları araştırma sonucunda; tüm örneklerde spermin, agmatin, 2-feniletilamin, serotonin, spermidin ve triptamini düşük seviyelerde (< 4.10 mg/100 g), bununla birlikte kadaverin (111 mg/100 g), triptamin (21.25 mg/100 g), histamin (19.65 mg/100 g ve putresini (17.37 mg/100 g) yüksek seviyelerde tespit etmişlerdir. Durlu-Özkaya vd. (1999) ise, starter kültürlü ve kültürsüz olarak üretilen Beyaz peynirlerde baskın biogen aminlerin putresin, kadaverin ve tiramin olduğunu belirlemişlerdir. Putresin ve kadaverini örneklerin % > 90 ve histamini ise % 82'sinde belirlerken, tiramini tüm örneklerde tespit etmişlerdir.

Durlu-Özkaya vd (2000), 20 adet Tulum peyniri örneğinin triptamin, putresin, kadaverin, histamin, spermin ve spermidin biogen amin içeriklerini incelemişlerdir. Araştırmada hiçbir örnekte triptamin ve spermin bulunmazken, örneklerin % 25'inde kadaverin, histamin ve spermidin, % 20'sinde feniletilamin, % 40'ında histamin, % 50'sinde putresin ve % 25'inde tiramin tespit etmişlerdir. En yüksek oranda feniletilamin'i 33.2 mg/100 g olarak belirlemişlerdir. Putresin 20.6 mg/100 g, kadaverin 13.00 mg/100 g, tiramin 12.00 mg/100 g, spermidin 9.79 mg/100 g ve histamini ise 8.02 mg/100 g olarak tespit etmişlerdir. Ancak bulunan bu değerlerin toksik seviyenin altında olduğu belirtilmektedir.

Süt ürünlerindeki fermentasyonlarda asit üretiminin tahmini iyi ayarlanmalıdır. Bu nedenle starter kültürler tarafından laktozun metabolize olma kabiliyeti en önemli özelliklerden birisidir (Hebert et al. 2000). Peynir üretiminde asit oluşumundan laktik asit bakterileri sorumludur. Oluşan asit peynirde istenmeyen mikroorganizmalara karşı doğrudan antagonistik etki göstermektedir (Cogan 1980, Frey et al. 1986). Laktik asit bakterilerinin peynir üretiminde en önemli görevi; laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmaktır. Oluşan laktik asidin, sütün peynir mayası ile pıhtılaşması, peyniraltı suyunun ayrılması, yapı ve lezzetin gelişmesi, patojenlere karşı peynirin korunması ve dayanıklılığının artırılması üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır (Karakuş 1994).

Vignolo et al. (1988), 13 adet *Lb. plantarum* ve 5 adet *Lb. casei* suşunun asit oluşturma kapasitesini incelemişlerdir. 30°C'de 5 günlük inkübasyon sonunda Δ pH değerlerinin sırasıyla 2.15 ile 3.00 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Durlu-Özkaya (2001) ise, *Lactobacillus* suşlarının 6 saatlik inkübasyonu sonunda çok düşük Δ pH değerleri (0.00 ile 0.20) bulmuş olmalarına rağmen, 24 saatlik inkübasyon sonunda oluşturdıkları asitliğin sırasıyla Δ pH 1.00 ile 1.60 düzeyinde olduğunu, bu değerlerin laktokoklarda 0.60 ile 2.45, enterokoklar için ise 0.30 ile 1.50 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Karakuş (1994), Beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakteri suşlarının 30 °C'de 5 saat inkübasyon sonucunda asit oluşturma özelliklerini Δ pH olarak belirlemiştir. Araştırma sonucunda *Lactobacillus* türlerinin asit oluşturma aktivitelerinin uygulanan inkübasyon koşullarında çok yavaş olduğunu ve suşlara göre çok dar sınırlar içinde değiştiğini belirlemiştir. Aynı araştırmada *Lb. casei* türüne ait suşlarda en düşük ve en yüksek asit oluşturma değeri Δ pH olarak 0.09 ve 0.32, *Lb. plantarum* suşlarında ise 0.06 ve 0.32 olarak belirlemiştir.

Çoğu LAB'nin sahip olduğu proteolitik aktivite, sadece bu mikroorganizmaların gelişmeleri açısından değil, aynı zamanda özellikle süt ürünlerinde tekstür ve lezzet

oluşumu açısından da büyük önem taşımaktadır (Van Den Berg et al. 1993). Toplam proteolitik aktivite birçok proteinaz ve peptidaz enzimlerinin kompleks etkisi ile oluşmaktadır (Kamaly ve Marth, 1989). Herbert et al. (2000), starter suşların laktozu metabolize etme özelliğinden başka, diğer önemli özelliklerinin proteolitik aktivite, bakteriosin üretimi, bakteriyofaj ataklarına karşı hassasiyet ve ekstraselüler polisakkarit (ESP) üretimi olduğunu; bu nedenle starter kültürlerde de bu özelliklerin araştırılması gerektiğini belirtmektedirler. Aynı araştırmacılar biyoteknolojik olarak laktik asit bakterilerinin bu önemli özelliklerinin (laktoz metabolizması ve proteolitik aktivite) plazmidlerle ilgili olduğunun çok iyi bilindiğini de belirtmektedirler.

Bütün peynirlerde primer protein hidrolizi az da olsa meydana gelmektedir (Khalid ve Marth 1990, Çakmakçı 1996). Olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz; süt enzimleri, süt proteinazları, LAB ve tesadüfe bağlı olarak bulunan diğer mikroorganizmalarca gerçekleştirilen kompleks bir prosestir (Scolari et al. 1996). Proteoliz, peynirin lezzet ve tekstürünü etkiler. Proteinlerde meydana gelen bu parçalanma peynir kitlesinin yumuşamasına ilaveten, lezzete direkt katkı yapan amino asitler ve peptitlerin formasyonu ile aromasının gelişimine de etki etmektedir (Fox 1989, Folkersma ve Fox 1992, De Llano et al. 1995).

LAB sahip oldukları proteolitik enzimler sayesinde kazeini hidrolize ederek peynirlerin olgunlaşmasında, tekstür yanında lezzet gelişimine de önemli katkıda bulunurlar (Frey et al. 1986). Kazeinin α_{s1} fraksiyonunun hidrolize olması sonucu taze peynirdeki elastiki yapı, olgun peynire özgü yumuşak yapıya dönüşmektedir (Creamer ve Olson 1982; Coşkun 2000). α_{s1} , α_{s2} , β ve para- κ -kazeinin yavaş bir şekilde parçalanması ile peynirin olgunlaşma evresinin başladığı belirtilmektedir (Visser 1993). Ayrıca peynirde proteoliz sonucu oluşan küçük moleküllu peptitler ve serbest amino asitler çeşitli enzimatik ve kimyasal değişmelere uğrayarak aldehit, keton ve aroma bileşiklerinin oluşumunda rol

oynamaktadır (Klara ve Shahani 1978). Ancak, bazı suşların hücre duvarına bağlı proteinaz aktivitesinin sert ve yarı sert peynirlerde acı lezzette peptitlerin oluşumuna yol açan olumsuz etkileri bulunmaktadır. Acı peptitlerin oluşumu starter suşların sahip olduğu proteinazların tipine bağlıdır. Starter suşların proteolitik aktiviteleri, başlıca azot kaynağı kazein olan sütte bu bakterilerin gelişmesi ve buna bağlı olarak asit oluşturma hızları açısından önemlidir.

Peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılan LAB'nin başlıca fonksiyonu süt ve peynirde asit oluşturmaktır. LAB'nin peynir olgunlaşması sırasında tat ve aroma maddeleri oluşturmalarının bakterilerin proteolitik aktiviteleri ile ilgili olduğu belirtilmektedir (Steele ve Ünlü 1992, Kınık vd 1999, Beresford et al. 2001).

Olgunlaştırılan sert peynirlerin üretiminde proteolitik aktivitesi yüksek olan kültürler kullanılırken, olgunlaştırılmadan tüketilen taze peynirler için ise düşük proteolitik aktiviteye sahip suşlar kullanılmaktadır. Peynirlerde proteinazlar peptidazlardan daha fazla bulunursa acı lezzetin yanında tekstür hatalarının da meydana gelebileceği bildirilmektedir. Ayrıca acılığa, peynir üretiminde kullanılan sütün kalitesi, uygulanan proses, starter kültürler ve peynir mayası gibi faktörlerin de etkili olduğu belirtilmektedir (Lemieux ve Simard 1991, Çakmakçı ve Şengül 1995). Peynirlerin olgunlaşmasında direkt etkili olan peynir mayasının dışında, sütte doğal olarak bulunan lipaz ve proteinaz gibi enzimler, sütte doğal olarak bulunan ve starter olarak ilave edilen bakterilerin ürettiği enzimler ve peynirlerin hızlı olgunlaştırılması için üretim sırasında süte ilave edilen enzimler de büyük önem taşımaktadır (Kelly et al. 1996).

Peynir üretiminde kullanılan starter kültürlerin en önemli rolünün, rennet tarafından büyük peptitler şeklinde hidrolize edilen kazein bileşenlerinin proteinaz ve peptidazlar

tarafından daha küçük peptit ve amino asitlere parçalanması olduğu bildirilmektedir (Lawrence et al. 1987, Laborda ve Rubiolo 1999).

Karakuş (1994), Beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitelerini incelemiştir. Proteolitik aktivite değerlerinin (PAD), *Lc.lactis* ssp. *lactis* suşlarında 3.5 ile 26.6 µg tirozin/ml arasında, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetilactis* suşlarında ise 4.4-26.2 µg tirozin/ml arasında değişim gösterdiğini ve % 16.3'ünün zayıf, % 59.2'sinin orta düzeyde ve % 24.5'inin ise kuvvetli aktivite gösterdiğini belirlemiştir. Suşların % 35.4'ünün zayıf (PAD<10.0), % 46.3'ünün orta düzeyde (10.0<PAD<20.0) ve % 18.3'ünün ise kuvvetli (PAD>20.0) aktiviteye sahip olduğunu belirlemiştir. *Lactobacillus* suşlarının proteolitik aktivite değerleri ise *Lactococcus* suşlarına oranla genel olarak daha düşük bulunmuştur. *Lb. casei* suşlarında 0.8 ile 18.6 µg/ml, *Lb. plantarum* suşlarında ise 4.4 ile 19.2 µg/ ml değerleri arasında değiştiğini tespit etmiştir. Araştırmada sonuç olarak, Beyaz peynir üretiminde kullanılan starter kültür suşlarının seçiminde mümkün olduğunca yüksek proteolitik aktivite gösteren suşların ele alınması gerektiği belirtilmektedir. Durlu-Özkaya (2001) ise, Beyaz peynir yapımında kullanılan suşların proteolitik aktiviteleri üzerine yürütülen az sayıdaki çalışma sonuçlarından hareketle, yüksek proteolitik aktiviteden kaçınılması gerektiğini ancak suşların az bir miktar proteolitik aktiviteye sahip olmalarının istendiğini ifade etmektedir. Aynı araştırmacı salamura Beyaz peynirden izole etmiş olduğu *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* suşlarında 25.4- 77.2 µg tirosin/ml arasında proteolitik aktivite belirlemiştir. *Lactobacillus*'larda en düşük PAD 29.4 µg tirosin/ml ve en yüksek değeri ise 57.3µg tirosin/ml olarak tespit etmiştir. *Enterococ*'larda ise en yüksek aktivitenin 121.1 µg tirosin/ml ve en düşük aktivitenin ise 29.3 µg tirosin/ml olduğunu belirlemiştir. De Giori et al. (1985), LAB'nin proteolitik aktiviteleri üzerine pH ve sıcaklığın etkisini çalışmışlardır. Çalışmalarında 30 °C'de 14 saatlik inkübasyon

sonucunda *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* suşlarının meydana getirdikleri proteoliz ürünlerinin *Lactococcus*'larınkinden daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Arthur et al. (1978), Cheddar peynirinde proteoliz üzerine starter bakteri ve rennetin etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, rennetin esas olarak büyük peptitlerin formasyonundan sorumlu olduğunu, bununla birlikte küçük peptitlerin ve serbest amino asitlerin ise starterler tarafından üretildiğini belirlemişlerdir. Lee et al. (1990), *Lactobacillus* kültürleri tarafından Cheddar peynirinin olgunlaştırılmasının hızlandırılmasının protein hidrolizasyonu ile ilişkili olduğunu belirtmişlerdir. Peterson ve Marshall (1990), Cheddar peynirinde starter olmayan laktik asit bakterileri içinde büyük çoğunluğu *Lactobacillus*'ların oluşturduğunu, *Lb. casei* ssp. *casei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis*'in baskın türler olduğunu, aynı zamanda *Pediococcus*'ların da bu peynirin florasını oluşturduklarını ve diğer starter mikroorganizmalarla birlikte aroma oluşumunda rol oynadıklarını ifade etmektedirler. Khalid ve Marth (1990), *Pediococcus acidilactici*'nin yüksek proteolitik aktiviteye sahip olması nedeniyle sert peynirlerin olgunlaşmasında rol oynadığını ifade etmektedirler.

Cheddar, Gouda, Edam, Tilsit, Camembert, Roquefort, Romadour ve Salami peynirlerinin proteolitik düzeyleri üzerine tuz içeriğinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, peynirlerin tuz içeriğinin düşmesi ile proteoliz derecesinin arttığı ve duyuusal özelliklerin daha iyi olduğu ortaya konulmuştur (Wisniewska et al. 1991). Uraz ve Şimşek (1998), Ankara piyasasında satılan 40 adet Beyaz peynirin proteoliz düzeylerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, peynirlerin hijyenik olmayan şartlarda üretilmesi ve satılması gibi nedenlerden dolayı proteoliz ürünlerinin meydana geldiğini ve bunların da keskin tat bozukluklarına neden olduğunu belirtmişlerdir. Guinee ve Fox (1987), 122 günlük olgunlaşma süresince Romano peynirlerinde proteolizi PAGE ile

incelemişlerdir. Proteoliz oranını peynirin iç yüzeylerinde dış yüzeylere oranla daha fazla olduğunu ve buna neden olarak da yüksek tuz içeriğini göstermişlerdir.

Literatür taramasından da anlaşılacağı gibi, Tulum peynirlerinden laktik asit bakterilerinin izolasyon ve identifikasyonu konusunda yapılan birkaç araştırmaya rastlanmıştır. Bu durum dikkate alınarak araştırmanın amacı aşağıda maddeler halinde verildiği gibi özetlenebilir:

1. Tulum peynirinin en çok üretildiği illerimizin (Erzincan, Elazığ, Bingöl, Tunceli, Erzurum) piyasa şartlarından temin edilen Tulum peynirlerinin mevcut mikroflorası, fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerini tespit etmek.
2. Tulum peynirlerinde doğal olarak bulunan bazı laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*) izolasyon ve identifikasyonunu yapmak.
3. İdentifikasyonu yapılan laktik asit bakterilerinin Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılabilirliğini belirlemek için, starter kültürde bulunması gerekli olan bazı özellikleri (bakterilerin asit üretim kapasitesi, dekarboksilaz aktivitesi, proteolitik aktivitesi, değişik sıcaklık ve tuz konsantrasyonlarında gelişme durumu, glukozdan gaz üretimi) saptamak.
4. Araştırmadan elde edilecek bulgular ışığında, tarafımızdan yürütülecek bir seri proje ile starter kültür olabilecek diğer laktik asit bakterilerini de tanımlayarak Tulum peyniri için uygun starter kültür hazırlama çalışmalarına devam etmek.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2. 1. Materyal

Araştırmada, Tulum peynirinin orijini olan ve en çok üretildiği ve dağıtımının yapıldığı, Bingöl, Elazığ, Erzincan, Erzurum ve Tunceli illeri piyasasından şansa bağlı olarak temin edilen 40 adet Tulum peyniri örneği kullanılmıştır. Steril cam kavanozlara 250 g kadar Tulum peyniri örneği alınarak ağzı sıkıca kapatılmış 4 ± 1 °C'nin altında tutularak hemen bölüm laboratuvarlarına getirilmiş ve analizler süresince buzdolabı şartlarında muhafaza edilmiştir.

2. 2. Metot

2. 2. 1. Fiziksel ve Kimyasal Analizler

Peynir örneklerinde % kurumadde ve % tuz miktarı ile % asitlik değeri TS-591 (Anonim 1983)'de verilen yöntemlerle, % yağ miktarı TS- 3046 (Anonim 1978), % kül miktarı Kurt vd (1993)'nin belirttiği yöntemle, protein ve suda eriyen protein oranı ise Kaptan (1969) ve Kurt vd (1993)'nin belirttiği yöntemlerle saptanmıştır.

Peynir örneklerinde renk yoğunluğu üç boyutlu renk ölçme esasına dayanan Minolta kolorimetre (Chroma Meter, CR-200, Japan) cihazı ile Certel (1990)'in belirttiği gibi, pH değerleri ATI ORION Model 420A pH metre kullanılarak Kurt vd (1993)'nin belirttiği gibi ölçülmüştür.

Peynirlerin yağsız kurumadde, kurumaddede yağ ve kurumaddede tuz oranları hesapla bulunmuştur.

2. 2. 2. Duyusal Analizler

Peynir örneklerinin duyusal yönden değerlendirilmesi Layne (1995)'nin belirttiği değerler esas alınarak tarafımızdan geliştirilen hedonik tip skala kullanılarak yapılmıştır (Çizelge 2. 1). Duyusal analizler bölüm elemanlarından oluşan 8 kişilik bir panelist grubu tarafından yapılmıştır.

Çizelge 2. 1. Tulum peynirlerinin duyusal değerlendirilmesinde kullanılan hedonik tip skala örneği (Tam Puan = 9)

Hakem İsmi:	Örnek No:			Tarih:
Renk	Çok İyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4-3	Bozuk 2-1
Tekstür	9-8	7-6	5-4-3	2-1
Lezzet	9-8	7-6	5-4-3	2-1
Acılık	Yok 9-8	Çok Az 7-6	Hissedilebilir 5-4-3	Çok Fazla 2-1
Tuzluluk	Normal 9-8	Biraz Tuzluca 7-6	Az Tuzlu 5-4-3	Çok Tuzlu 2-1
Ağızda Bıraktığı His	Çok İyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4-3	Çok Kötü 2-1
Yağlılık	İdeal 9-8	Fazla 7-6	Az 5-4-3	Çok Az 2-1
Genel Kabul Edilebilirlik	Çok İyi 9-8	İyi 7-6	Orta 5-4-3	Kabul Değil 2-1

Not: Belirtmek istediğiniz başka husus varsa lütfen belirtiniz.

2. 2. 3. Mikrobiyolojik Analizler

2. 2. 3. 1. Mikrobiyolojik Analizler İçin Peynir Örneklerinin Homojenizasyonu

Steril Stomacher torbasına steril bıçak ve spatüla kullanılarak, 11 gram peynir örneği tartılmış ve üzerine 99 ml steril fizyolojik tuzlu su (% 0.85'lik NaCl çözeltisi) ilave edilerek Stomacher'de (Lab Stomacher Blander 400-BA 7021 Sewardmedical) 1.5 dakika homojenize edilmiştir.

2. 2. 3. 2. Peynir Örneklerinde Yapılan Mikrobiyolojik Analizler

Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) sayısı Plate Count Agar (PA) (Merck) besiyeri kullanılarak belirlenmiştir. Uygun dilüsyonlardan steril petri kutularına 1 ml alınarak üzerine 40-45 °C'deki PA'dan 13-15 ml ilave edilmiş ve petriler 30±1 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Messer et al. 1985). Koliform grubu bakteri sayısı Violet Red Bile Agar (VRBA) (Merck) kullanılarak 37 °C'de 48 saat inkübe edilerek belirlenmiştir (Hartman et al.1985). Laktik asit bakteri sayısı MRS Agar (De Man, Rogosa, Sharpe Agar) (Merck) kullanılarak, petri kutuları 30 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılarak belirlenmiştir (Speck 1976). Maya-küf sayısı Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck) kullanılarak 21 ± 2 °C 'de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılarak belirlenmiştir (Koburger et al. 1984). Lipolitik mikroorganizma sayısını belirlemek için Nutrient Agar (NA) (Merck) kullanılmıştır. Nutrient Agarın 1 litresine 50 g yağ ve viktoria blue'nün suda hazırlanmış 1:1500'lük çözeltisinden 200 ml ilave edilmiştir. Daha sonra NA'dan petri kutularına 13-15 ml ilave edilmiş ve petri kutuları 30 °C'de 3-4 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır (Smith and Alford 1984). Proteolitik mikroorganizma sayısını belirlemek için Nutrient Agara % 10 yağsız süt tozu ilave edilmiş ve petriler 30 °C'de

72 saat inkübe edilmiştir (Lee and Kraft 1984). *Staphylococcus aureus* sayısı (Anonymous 1995)'de belirtildiği gibi Staphylococcus Medium 110 (Merck) besiyeri kullanılarak ve petrilerin 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılması sonucu belirlenmiştir.

2. 2. 4. Laktik Asit Bakterilerinin (*Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc*) Geliştirilmesi ve İzolasyonu

2. 2. 3. 1'de açıklandığı gibi homojenize edilmiş peynir örneklerinden hazırlanan uygun dilüsyonlardan (10^{-4} ve 10^{-5}) petri kutularına 1 ml alınarak üzerine 45 °C'ye soğutulmuş MRS agar'dan 13-15 ml kadar ilave edilip karıştırılmak suretiyle dökme plak yöntemine göre ekimler yapılmıştır. Ekim yapılan petri kutuları anaerobik koşullarda (%10 CO₂ % 90 N₂) 30 °C 'de 72 saat inkübe edilmiştir (Elliker et al. 1956, Speck 1976, Collins ve Layne 1984). İnkübasyon sonucu gelişen tipik görünüşlü koloniler (besiyeri üzerinde gelişenlerden 1-2 mm çaplı, konveks, beyaz veya krem renkli koloniler, besiyeri içerisinde gelişenlerden de 1-2 mm çaplı, yuvarlak ve buğday tanesi şekilli krem-kehribar renkli koloniler) Gram boyama, mikroskopik görünüm, katalaz ve oksidaz testlerine tabi tutulmuştur. Gram pozitif, katalaz negatif, oksidaz negatif, kok veya çubuk şekilli bakterileri içeren koloniler (her peynir örneği için 8 koloni) MRS broth'a aşılansak 30 °C 'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, MRS agar'a çizgi usulu ekim yapılmış ve plaklar anaerob şartlarda 30 °C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon süresi sonunda tek düşmüş kolonilerden MRS broth'a aşılansak ve 30 °C'de 24 saat daha inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda Gram boyama, mikroskopik görünüm, katalaz ve oksidaz testleri tekrarlanmış ve saf görünümlü, katalaz ve oksidaz negatif, kok veya basil şeklindeki muhtemel laktik asit bakterileri seçilmiştir.

Çalışmada her peynir örneğinden 8'er adet olmak üzere toplam 320 izolat alınmış mikroskopik görünüm, gram boyama, katalaz ve oksidaz testleri neticesinde 240 adedinin muhtemel laktik asit bakterisi olduğu belirlenmiş ve 240 laktik asit bakterisi MIS ile identifiye edilmiştir.

2. 2. 4. 1. Gram Boyama

İzolatların 24 saatlik genç kültürlerinde Sert (1992)'in verdiği yönteme göre, boyama yapılmış ve menekşe renkli koloniler gram pozitif olarak değerlendirilmiştir

2. 2. 4. 2. Katalaz Testi

MRS agarda geliştirilmiş (en fazla 2 günlük) koloniler üzerine % 3'lük H_2O_2 damlatılmış ve mikroskop altında gözlenen koloniler etrafında gaz habbeciklerinin görülmesi pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Bilgehan 1992).

2. 2. 4. 3. Oksidaz Testi

İzolatlar Nutrient agara çizgi usulü ekilmiş ve aerob şartlarda 30 °C'de 48 saat süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucu gelişen kolonilerin üzerine % 0.5'lik tetrametil-parafenildiamin dihidroklorit damlatılmış 1-2 dakika içerisinde kırmızı-mavi renk alan koloniler pozitif, renk değişikliği olmayanlar negatif olarak değerlendirilmiştir (Çon 1995).

2. 2. 5. Laktik Asit Bakterilerine Uygulanan Biyokimyasal Testler

Elde edilmiş olan laktik asit bakterilerinden, Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılabilecek olanları belirlemek amacıyla, starterlerde bulunması gereken bazı özellikler hakkında bilgi veren biyokimyasal testler yapılmıştır. Bunlar; glukozdan gaz üretimi, değişik sıcaklıklarda gelişme kabiliyeti (4 °C, 10 °C ve 37 °C), tuza dayanıklılık (% 2 ve % 6.5 Na Cl), proteolitik aktivite ve asidifikasyon testleridir.

2. 2. 5. 1. Glukozdan gaz üretimi

Deney tüplerinin içerisine 9 ml steril MRS broth ve tüplerin içerisine ters çevrilmiş durham tüpleri konularak glukozdan gaz üretimi gözlenmiştir. Bunun için aktif kültürlerden birer öze alınarak besiyerlerine inoküle edilmiş ve tüpler 37 °C'de 72 saat inkübasyondan sonra gaz üretimi yönünden değerlendirilmiştir. Gaz üretenler pozitif olarak kabul edilmiştir (Garvie 1986, Holzapfel ve Schillinger 1992).

2. 2. 5. 2. Değişik Sıcaklıklarda (4 °C, 10 °C ve 37 °C) Gelişme

Aktif kültürlerden birer öze alınarak MRS broth besiyerlerine inoküle edilmiş ve tüpler 4 °C, 10 °C ve 37 °C'de 7 günlük inkübasyondan sonra oluşan bulanıklık dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Bulanıklık görülen tüplerde gelişme olduğu kabul edilmiştir (Garvie 1986, Holzapfel ve Schillinger 1992).

2. 2. 5. 3. Farklı Tuz Konsantrasyonlarında (% 2 ve % 6.5 NaCl) Gelişme

Aktif kültürlerden % 2 ve % 6.5 tuz içeren MRS broth'a inokülasyon yapılmış ve 30 °C'de 72 saat inkübasyondan sonra gelişme durumuna bakılmıştır. Inkübasyon sonunda

oluşan bulanıklık pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir (Garvie 1986, Holzapfel ve Schillinger 1992).

2. 2. 6. Yağ Asitleri Kompozisyonuna Göre Laktik Asit Bakterilerinin İdentifikasyonu

Laktik asit bakterilerinin izolasyonu 2. 2. 4'de açıklandığı gibi Elliker et al. (1956), Speck (1976), Collins ve Layne (1984)'nin belirttiği yöntemlerle tespit edilmiştir.

İzole edilen laktik asit bakterileri MIS kullanılarak identifiye edilmiştir. MIS Cihazı (MIDI, version 6.0, Newark, DE) için örnek hazırlama Anonymous (1999)'a göre yapılmıştır.

MIS sistemi kullanılarak, tanımlanan laktik asit bakterilerinden yağ asitlerinin ekstraksiyonu için takip edilen yöntem 2. 2. 6. 3'te özetlenmiştir. MRS broth'dan MRS agar'a 4 fazlı çizim usulu ekim yapılmış ve 30 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon peryodunu takiben, 4 fazlı çizim yapılmış petrilerin 3 ve 4 numaralı fazlarından canlı bakteri hücreleri steril öze ile toplanarak ($\cong$ 40 mg) steril bir cam test (ekstraksiyon) tüpüne (5 ml) aktarılmıştır. Test tüplerinin üzerlerine izolat numaraları yazılarak ağızları kapatılmıştır. Farklı kolonilerden yağ asitlerinin elde edilmesi saponifikasyon, metilasyon, saflaştırma ve bazik yıkama olmak üzere dört ana basamaktan oluşmaktadır.

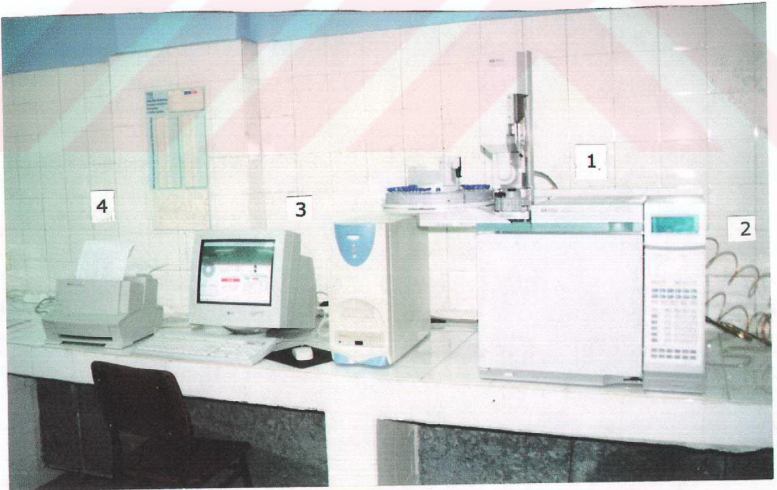
LAB identifikasyonunun yapılabilmesi için, izole edilen muhtemel LAB'nin yağ asidi metil esterlerinin izolasyonu ve ekstraksiyonu yapılmıştır. Daha sonra MIS kullanılarak bakterilerin tanımlanması gerçekleştirilmiştir.

2. 2. 6. 1. MIS Sistemi

MIS cihazı Şekil 2.1'de görülmekte olup, bölümlerin fonksiyonları aşağıda özetlenmiştir:

2. 2. 6. 1. 1. Gaz Kromatografisi: Bu kısım HP-6890 kromatografisinden oluşmaktadır. Kromatografi kolon uzunluğu 25 m, kolon iç çapı 0.2 mm olan % 5'lik phenylmethyl (fenilmetil) silikon kolon (HP 19091B-102), injeksiyon sıcaklığı 170 °C, flame-iyonizasyon dedektör sıcaklığı 250 °C, son sıcaklığı 20 dakikada 310 °C.

2. 2. 6. 1. 2. Kromatografi Sistemini Besleyen Gaz Tankları: Hidrojen, azot ve kuru hava sağlayan tüplerdir. Kuru havanın basıncı = 2.758 bar, hidrojenin basıncı = 2.068 bar ve azotun basıncı = 1.379 bardır. Azot gazının debisi 30 m/dk.



Şekil 2. 1. Microbiyal identifikasyon sistem (MIS) ünitesi

2. 2. 6. 1. 3. Bilgisayar Sistemi ve Programlar (Sherlock system software, library generation software): Bakteri için hazırlanmış paket kütüphanedir. Bu kütüphanede firma tarafından taranarak elde edilmiş mikroorganizmalara ait kromatogramlar bulunmaktadır.

2. 2. 6. 1. 4. Lazer Yazıcı.

2. 2. 6. 2. Yağ Asitlerinin Ekstraksiyonunda Kullanılan Çözeltiler

Yağ asitlerinin ekstraksiyonu için kullanılan kimyasal çözeltiler aşağıda verilmiştir (Anonymous 1999).

Çözelti 1: Saponifikasyon Çözeltisi (sabunlaşma)

Sodyum hidroksit (ACS grade)	45 g
Metil alkol (HPLC grade)	150 ml
Saf su	150 ml

Önce metil alkol ile saf su karıştırılmış ve daha sonra sodyum hidroksit ilave edilmiştir.

Çözelti 2: Metilasyon Çözeltisi

Hidroklorik asit (6.00 N)	325 ml
Metil alkol (HPLC grade)	275 ml

Çözelti 3: Ekstraksiyon Çözeltisi

Hekzan (HPLC grade)	200 ml
Metil-Tert-Bütil Eter (MTBE, HPLC grade)	200 ml

MTBE hekzan üzerine ilave edilerek karıştırılmıştır.

Çözelti 4: Bazik Yıkama Çözeltisi

Sodyum hidroksit (ACS grade)	10.8 g
Saf su (deiyonize)	900 ml

2. 2. 6. 3. Yağ Asitleri Ekstraksiyon Metodu

İdentifikasyon işleminde aşağıda sırasıyla verilen metot uygulanmıştır.

1) Test edilecek bakterinin tek bir kolonisinden steril bir özeyle MRS Agar (Merck) besiyerine dört fazlı çizgi usulü ekim,

2) Ekim yapılmış petrilerin 30 ± 1 °C'de 48 ± 3 saat inkübasyonu,

3) İnkübasyon periyodunu takiben, dört fazlı çizim yapılmış petrilerin üçüncü ve dördüncü fazlarından bakterilerin steril bir özeyle toplanarak steril cam tüplere alınması ve kapaklarının kapatılması,

4) Her bir test tüpüne Çözelti 1'den 1 ml ilave edilmesi ve 5-10 saniyelik çalkalamadan sonra 5 dk süreyle 100 °C'lik su banyosunda bekletilmesi. Bu işlemi takiben tekrar 5-10 saniye çalkalandıktan sonra 25 dk 100 °C'lik su banyosunda inkübasyon. Bu şekilde bakterilerin hücre çeperleri parçalanarak yağ asitlerinin serbest kalması sağlanmış olmaktadır.

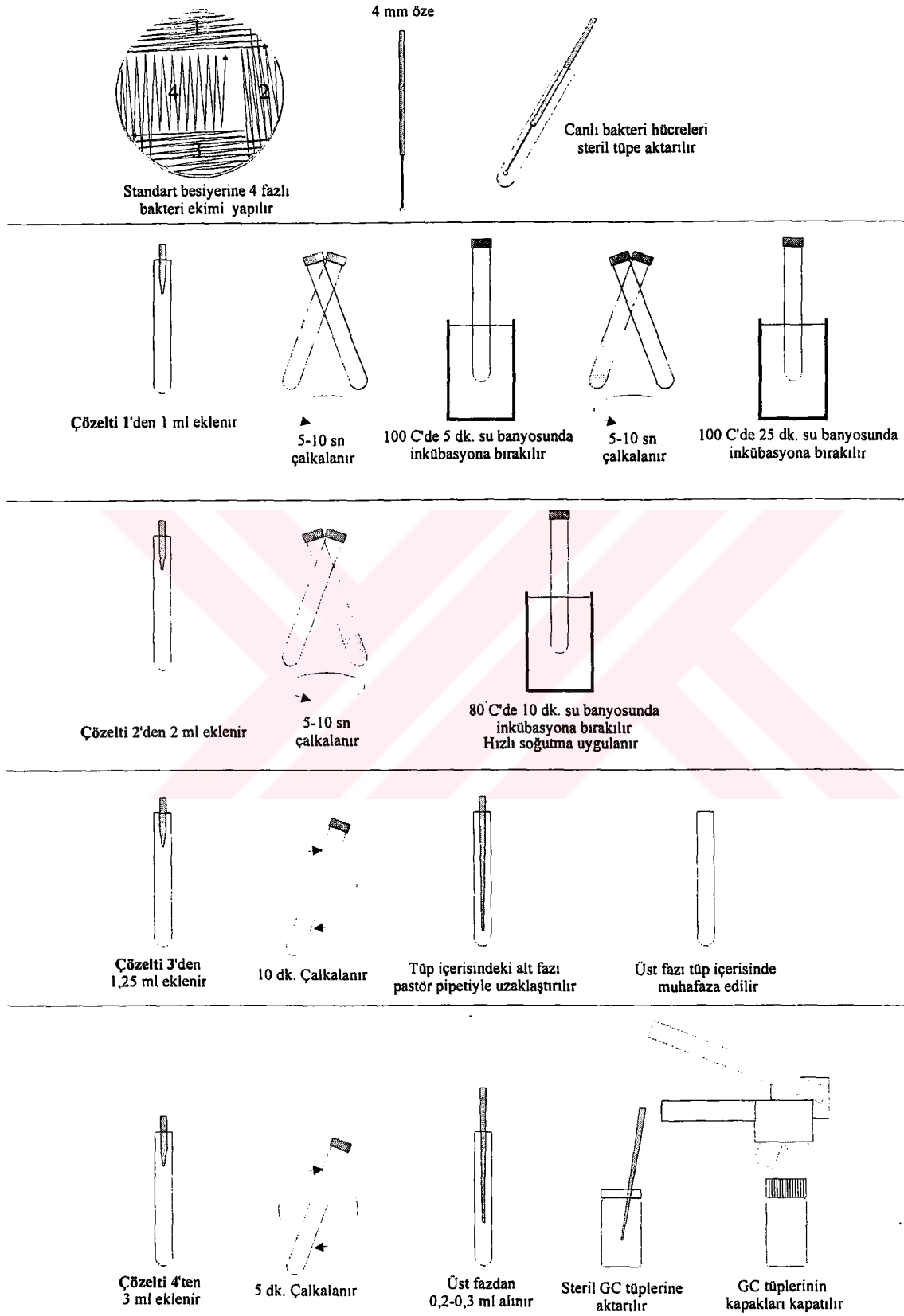
5) Test tüplerine Çözelti 2'den 2 ml ilave edilip 5-10 saniye çalkalamadan sonra 80 °C'de 10 dk süreyle su banyosunda bekletme ve hemen 2 dk süreyle buz içerisinde hızlı soğutmaya bırakma. Bu uygulama ile serbest yağ asitlerine ester bağları ile metil eklenmiş olmaktadır.

6) Soğutulmuş tüplere Çözelti 3'den 1,25 ml ilave edilip 10 dk süreyle çalkalama. Böylece alt kısımda asidik, üst kısımda ise organik faz oluşturulup bir pastör pipeti vasıtasıyla alt kısımdaki asidik fazın atılarak üst kısımdaki organik fazın tüp içerisinde muhafaza edilmesi.

7) En son aşamada her tüpe 3'er ml Çözelti 4 ilave edilip 5 dk süreyle çalkalandıktan sonra 10 dk süreyle oda sıcaklığında bekletme. Beklemeyi takiben tüp içerisinde ayrışan üst fazdan 0,2-0,3 ml alınarak gaz kromatografisi tüplerine 2 ml transfer edilip ağzı sıkıca kapatılan tüpler MIS üzerindeki örnek depolama tepsisine yerleştirilmektedir.

8) Daha sonra sistem kılavuzunda belirtildiği gibi örnekler analiz edilerek bakterilerin tanısı yapılmıştır.

Hazırlanan numuneler gaz kromatografisi tüplerine konularak cihazın tablasına yerleştirilmiştir. Her numune için analiz 20 dakika sürmektedir. Cihaz başlangıçta 2 ve her 10 örnekten sonra da birer defa olmak üzere kendisini otomatik olarak kalibrasyon çözeltisi ile kalibre etmektedir. Sonuçlar bilgisayardan alınıp yağ asidi profillerine göre test edilen mikroorganizmaların tanısı yapılmıştır (Anonymous 1999).



Şekil 2.2. Bakterilerin yağ asidi profiline göre identifikasyonunda işlem basamakları.

2. 2. 7. Bakterilerin Asit Üretimlerinin Belirlenmesi

Bakterilerin asidifikasyon aktivitelerinin belirlenmesinde; -80 °C'de saklanan suşlar MRS broth besiyerinde iki defa aktifleştirildikten sonra 10 ml Skim Milk besiyeri içeren tüplere %1 oranında inoküle edilerek 30 °C'de 18 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra bu kültürlerden 100 ml Skim Milk besiyeri içeren tüplere %1 oranında inokülasyon yapılmış ve başlangıç pH değeri ölçülmüştür. Takiben 30 °C'de inkübasyona bırakılarak inkübasyonun 6. ve 24. saatlerinde oluşturdıkları asitlik, pH olarak ölçülmüştür.

Sonuçlar değerlendirilirken; inoküle edilmiş olan Skim Milk besiyerinin başlangıç pH'sı ile inkübasyon sonrası (6. ve 24. saatlerde) pH'sı dikkate alınarak Δ pH değerleri belirlenmiştir (Anonymous 1988).

2. 2. 8. Bakterilerin Proteolitik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Suşlar Skim Milk besiyerinde geliştirilerek, besiyerinde bulunan proteinlerin hidrolizasyonu sonucu oluşan ürünler spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Proteolitik aktivite tirozin ekivalenti (μ g tirosin /ml) olarak ifade edilmiştir. Bunun için -80 °C'de saklanan kültürler ardışık iki pasajla aktifleştirilmiş, daha sonra 10 ml'lik Skim Milk besiyerine pasaj yapılarak geliştirilmiş (30 °C'de 24 saat) ve 100 ml Skim Milk besiyeri içeren erlenlere %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. 24 saat inkübasyon sonucunda bu kültürlerden 2'şer ml alınarak 50 ml'lik erlenlere aktarılmıştır. Üzerlerine 1'er ml saf su ilave edilerek karıştırıldıktan sonra 10'ar ml A çözeltisi katılmıştır. Erlenler karıştırılarak içerik homojen hale getirilmiş ve 10 dakika bekletilmiştir. Bu karışım Whatman 40 ile filtre edilerek, filtratın 5 ml'lik kısmı başka bir erlene alınmıştır. Bunun üzerine 10 ml B çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışıma 3 ml C çözeltisi ilave edilerek

maksimum mavi rengin oluşması için 5 dakika bekletilmiştir. Ölçümler, 1 cm ışık yolu olan küvetler kullanılarak, 650 nm’de Shimadzu UV-120-01 spektrofotometre’de yapılmıştır. Örneklerin okunması sırasında şahit olarak, sterilize edilmiş Skim Milk besiyerinden gelecek proteoliz ürünlerini elemine etmek için bu besiyerinden 2 ml alınarak yukarıda belirtilen işlemler uygulanarak elde edilen karışım kullanılmıştır (Anonymous 1997).

Kullanılan Çözeltiler

A Çözeltisi: 0.72 N triklor asetik asit (TCA)

B Çözeltisi: 75 g sodyum karbonat ve 10 g tetrasodyum-difosfat 500 ml saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

C Çözeltisi: Kullanmadan hemen önce taze olarak hazırlanması gereken bu çözelti, 1 birim folin ciocalteau çözeltisinin 2 birim saf su ile karıştırılması ile elde edilmektedir.

Tirosin Standart Kurvesinin Hazırlanması

Kristal haldeki tirosin’den 100 mg tartılarak saf su ile 250 ml’ye tamamlanmıştır. Tirosin çözeltisinden 5, 10, 15, 20, 25 ve 30’ar ml alınarak her biri 100 ml’ye tamamlanmıştır (0.02-0.12 mg/ml). Bu çözeltilerin her birinden 5’er ml alınarak 50 ml’lik erlenlere aktarılmış ve bunların üzerine 1’er ml saf su ilave edilerek hacimleri 6 ml’ye tamamlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan standart çözelti örneklerinin diğer işlemlerine 2.2.8’de verildiği gibi devam edilmiştir.

2. 2. 9. Bakterilerin Dekarboksilaz Aktivitelerinin Belirlenmesi

Dekarboksilaz aktivitenin belirlenmesi amacıyla, kullanılan bazal besiyeri (Dekarboksilaz Agar) çeşitli amino asitlerce (histidin, tirosin, ornitin, triptofan ve fenilalanin) % 2 oranında zenginleştirilmiş ve bakterilerle inoküle edildikten sonra 7 gün süreyle anaerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır (Joosten ve Northolt 1989).

-80 °C’de saklanan kültürler MRS broth besiyerinde ardışık iki pasajla aktifleştirildikten sonra MRS yatık agara sürme yapılmış ve gelişmeleri için 30 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda aşağıda verilen Mac Farland metoduna göre hücreler dilue edilmiş ve dilüsyonda 5 No’lu Mac Farland tüpü esas alınmıştır. Bakteriler amino asit içeren dekarboksilaz agar besiyeri ile hiçbir amino asit içermeyen ve şahit olarak kullanılan dekarboksilaz agar besiyerine inoküle edilmişlerdir. İnoküle edilmiş tüpler anaerobik şartlarda 30 °C’de 7 gün süreyle inkübasyona bırakılmıştır.

Sonuçlar, Dekarboksilaz Agarda mikroorganizmaların koloni etrafında oluşturdukları mor halka dekarboksilaz aktivitesi pozitif, koloni etrafında meydana getirdikleri sarı halka ise dekarboksilaz aktivitesi negatif olarak değerlendirilmiştir. Ancak tirosin dekarboksilaz aktivitesine sahip olan suşlar diğerlerinden farklı olarak koloni etrafında berrak bir zon oluşturmalarına göre belirlenmişlerdir.

Mac Farland Metodu

A çözeltisi (% 1.175 BaCl₂.2H₂O) ve **B çözeltisi** (0.36 N H₂SO₄’den %1’lik (v/v) çözeltisi) Çizelge 2. 2’de belirtildiği oranlarda karıştırılarak 1’den 10’a kadar Mac Farland tüpleri elde edilmiştir (Çizelge 2. 2).

2. 2. 9’da açıklandığı gibi hazırlanan yatık agar besiyerindeki hücreler fizyolojik tuzlu su ile yıkanarak steril tüplere aktarılmıştır. Buradan, pastör pipeti yardımıyla içinde 3 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) bulunan tüplere damla damla aktararak 5 No’lu Mac Farland tüpleriyle eşdeğer bulanıklıkta hücre süspansiyonu elde edilmiştir.

Çizelge 2. 2. Mac Farland metoduna göre A ve B çözeltilerinin karışım oranları

Çözelti No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
A çözeltisi (ml)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
B çözeltisi (ml)	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0

2. 2. 10. İstatistiki Analizler

Araştırma sonucunda elde edilen verilerin istatistiki olarak değerlendirilmesinde paket program (Statistica for windows Release 5.0 Copyright Statsoft, Inc. 1984-1995) kullanılmıştır (Gülbüz 1993).

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3. 1. Peynir Örneklerinin Kimyasal Analiz Sonuçları

3. 1. 1. Kurumadde Miktarı (%)

Peynir örneklerinin % kurumadde miktarları Çizelge 3. 1 ve bu değerlere ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de verilmiştir. Peynir örneklerinde kurumadde miktarı en az % 43.42, en çok % 65.07 ve ortalama ise % 55.44 olarak bulunmuştur. İncelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinden 2’si hariç (10. ve 11. örnekler), Tulum Peyniri Standardı-TS 3001 (Anonim 1989)’de sınırlanan en fazla su miktarından (rutubet miktarı kütlege en fazla % 40) daha fazla bulunmuştur. Elde edilen kurumadde oranları Akyüz (1981)’ün Tulum peynirinde bulmuş olduğu değerlerden çok düşük (en az % 50.09, en çok % 71.34, ortalama % 62.71), Kurt vd (1991a)’nin bulmuş oldukları değerlere (en az % 39.11, en çok % 64.08, ortalama % 53.21) yakındır. Ayrıca Kurt vd (1991a) 26 örnekten 2’sinin Tulum Peyniri Standardı’na uygun olduğunu belirlemişlerdir. Bulunan değerler, Dığrak vd. (1994)’nin bulmuş oldukları değerlerden daha yüksek (en az % 37.18, en çok % 61.76, ortalama % 53.69), değerler elde edilmiştir.

Bu farklı sonuçlar üretimde kullanılan hammadde sütün, işleme metotlarının, tuz oranlarının, ambalaj materyallerinin ve olgunlaştırma süre ve sıcaklıklarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

3. 1. 2. Yağ Miktarı (%)

Peynir örneklerinin % yağ miktarları Çizelge 3. 1 ve bazı istatistiki analiz sonuçları da Çizelge 3. 2’de görölmektedir. Peynir örneklerinde yağ miktarı en az % 16.20, en çok %

35.85 ve ortalama ise % 29.82 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, Akyüz (1981)'ün bulmuş olduğu sonuçlardan (en az % 27.50, en fazla % 41.00, ortalama % 34.96) düşük, Kurt vd (1991 a)'nin buldukları değerlere (en az %16.00, en çok % 37.00, ortalama % 28.20) yakın, Dığrak vd (1994)'nin buldukları değerlerden (en az % 22.56, en fazla % 34.69, ortalama %27.76) ise farklıdır. Yağ oranında görölen bu farklılıkların nedeni, üretimde kullanılan sütlerin farklı yağ içeriğine sahip olması ve peynirlerin kurumadde oranlarının farklı olmasına bağlanabilir.

3. 1. 3. Kurumaddede Yağ Miktarı (%)

Peynir örneklerinin kurumaddede yağ oranları Çizelge 3. 1 ve bu verilere ait bazı istatistiki analiz sonuçları ise Çizelge 3. 2'de verilmiştir. Çizelge 3. 2'den de göröldüğü gibi peynir örneklerinde kurumaddede yağ miktarı en az % 37.31, en çok % 63.01 ve ortalama % 53.73 olarak bulunmuştur. Kurumaddede yağ oranları, kurumadde ve yağ oranları üzerinden hesaplandığından bu değerlerle aynı yönde değişim olmuştur. Bu durum yağ ve kurumaddede yağ miktarları arasındaki istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) pozitif korelasyonla da ($r = 0.30$) doğrulanmaktadır. Tulum Peyniri Standardı -TS 3001 (Anonim 1989)'e göre değerlendirme yapıldığında, 40 adet peynir örneğinden 37 adedinin tam yağlı peynir (kurumaddede kütlece en az % 45 süt yağı) ve 3 tanesinin yağlı peynir (kurumaddede kütlece en az % 30 süt yağı) sınıfına girdiği anlaşılmaktadır. Akyüz (1981), Tulum peynirlerinde kurumaddede yağ oranlarını en az % 43.56, en çok % 62.08 ve ortalama % 55.73 olarak belirlemiştir. Kurt vd (1991 a) de,

Çizelge 3. 1. Tulum peynirlerinin bazı fiziksel ve kimyasal analiz sonuçları

Örnek No	KM (%)	Yağ (%)	KM de Yağ (%)	Tuz (%)	KM de Tuz (%)	Kül (%)	Asitlik (%LA)	pH	TP (%)	SEP (%)	OD (%)
1	43.42	16.20	37.31	3.90	8.98	4.92	1.17	4.30	17.60	2.05	11.65
2	55.79	29.00	51.98	2.70	4.84	3.56	0.81	4.57	19.85	2.85	14.36
3	50.12	26.15	52.17	3.49	6.96	4.89	1.04	4.94	17.66	2.56	14.50
4	54.63	29.20	53.45	2.85	5.22	3.92	0.85	5.39	18.17	3.15	17.34
5	55.07	27.15	49.30	3.10	5.63	4.25	0.42	4.17	18.60	2.65	14.25
6	52.92	23.05	43.56	4.83	9.13	5.27	0.37	5.23	17.30	2.95	17.05
7	54.88	26.10	47.56	3.81	6.94	4.91	0.30	4.27	18.75	3.85	20.53
8	55.39	29.00	52.35	4.19	7.56	4.97	0.45	6.78	17.22	3.58	20.79
9	54.75	27.65	50.50	2.84	5.19	3.78	1.13	5.67	16.51	3.48	21.08
10	61.57	34.75	56.44	2.71	4.40	4.04	0.90	5.40	18.97	3.27	17.24
11	65.07	35.85	55.09	2.77	4.26	5.07	0.86	6.10	21.40	3.50	16.36
12	59.55	33.10	55.58	3.12	5.24	4.86	0.90	5.60	19.08	3.46	18.13
13	51.17	29.15	56.97	2.84	5.55	3.74	1.53	5.41	17.62	3.98	22.59
14	51.30	29.00	56.53	2.41	4.70	3.38	0.86	5.67	18.18	2.31	12.71
15	54.50	31.50	57.80	2.77	5.08	3.28	0.95	5.87	18.68	3.50	18.74
16	55.39	34.00	61.38	2.55	4.78	3.53	0.86	5.06	17.03	3.50	20.55
17	56.39	33.00	58.52	2.55	4.52	3.61	0.76	5.03	18.22	2.97	16.30
18	55.89	35.00	62.62	2.61	4.70	3.74	0.72	5.03	16.62	2.92	14.56
19	56.85	34.00	59.81	2.42	4.26	3.72	0.72	5.90	16.41	3.01	18.34
20	56.35	30.75	54.57	3.37	5.98	3.78	1.13	5.24	19.16	3.55	18.53
21	55.87	32.00	57.28	2.76	4.94	3.96	0.76	5.08	18.36	3.20	17.43
22	56.27	34.90	62.20	3.03	5.38	3.30	0.90	5.14	16.97	2.81	16.56
23	55.60	30.20	54.32	3.30	5.94	3.66	1.22	5.03	19.98	3.77	18.87
24	52.07	32.25	61.94	2.52	4.84	3.42	0.95	5.16	15.99	2.46	15.38
25	56.22	33.25	59.15	2.57	4.57	2.98	0.90	4.83	18.60	2.96	15.91
26	53.09	31.00	58.39	2.90	5.46	3.55	1.04	5.20	17.30	3.71	21.45
27	57.30	29.25	51.05	3.03	5.29	3.59	0.95	5.03	16.65	3.89	23.36
28	56.54	34.25	60.58	2.55	4.51	4.32	0.90	5.45	16.17	3.06	18.92
29	54.52	25.25	46.31	4.07	7.47	6.17	0.90	5.00	20.00	3.36	16.80
30	56.29	25.00	44.41	1.93	3.43	3.47	0.54	5.02	21.76	3.96	18.20
31	56.67	26.00	45.88	3.28	5.79	5.10	0.90	5.28	20.66	3.71	17.96
32	56.20	25.40	45.20	2.58	4.59	3.62	0.90	4.89	19.77	3.74	18.92
33	55.18	25.00	45.31	2.28	5.22	4.20	0.99	5.08	21.25	3.59	16.89
34	56.49	32.25	58.86	2.74	4.85	4.00	0.72	5.49	17.72	3.05	17.21
35	58.60	33.00	56.31	2.48	4.23	4.59	0.81	5.21	19.04	2.81	14.78
36	54.36	34.25	63.01	2.94	5.41	3.27	0.63	5.59	15.99	3.38	21.14
37	59.31	34.00	57.33	3.29	5.55	6.66	0.45	5.56	17.16	3.00	17.48
38	55.88	29.00	51.90	3.46	6.19	5.46	1.13	4.89	18.02	2.50	13.87
39	54.97	27.00	49.12	5.21	9.48	4.33	1.04	4.94	19.30	3.48	18.03
40	55.23	26.00	47.08	4.44	8.04	3.57	1.35	4.99	20.19	3.36	16.64

KM: Kurumadde, LA: Laktik Asit, TP: Toplam Protein, SEP: Suda Eriyen Protein, OD: Olgunlaşma Derecesi

kurumaddede yağ oranlarını en az % 33.39, en çok % 62.38, ortalama % 52.77 olarak tespit etmişlerdir.

3. 1. 4. Tuz Miktarı (%)

Peynirlerin kendilerine özgü lezzet ve yapısal özellikleri ile olgunlaşma süresince mikrobiyal stabilitenin sağlanmasında rol oynayan tuz miktarı (Kınık vd 1999) en az % 1.93, en çok % 5.21 ve ortalama % 3.08 olarak bulunmuştur (Çizelge 3. 1). Akyüz (1981), Tulum peynirlerinde tuz oranlarını en az % 3.44, en çok % 7.37, ortalama % 4.68; Kurt vd (1991 a) en az % 2.17, en çok % 8.13, ortalama % 3.44; Dığrak vd (1994) en az % 2.00, en çok % 5.23, ortalama % 3.44 olarak belirlemişlerdir. Sonuçların bu kadar değişken olması peynire katılan tuz miktarlarının üreticinin alışkanlığına ve tecrübesine bağlı olması ve peynirin üretim teknolojisinin standart olmamasından kaynaklanmış olabilir.

3. 1. 5. Kurumaddede Tuz Miktarı (%)

İncelenen Tulum peyniri örneklerinin kurumaddede tuz oranları Çizelge 3. 1 ve bazı istatistiki analiz sonuçları da Çizelge 3. 2’de verilmiştir. Peynir örneklerinde kurumaddede tuz miktarı en az % 3.43, en çok % 9.48 ve ortalama % 5.63 olarak bulunmuştur. Kurumaddede tuz oranları kurumadde ve tuz oranlarına bağlı olarak hesaplandığından bu değerlerle paralel yönde değişen sonuçlar elde edilmiştir. Çizelge 3. 1’in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, Tulum Peyniri Standardı - TS 3001 (Anonim 1989)’e göre değerlendirme yapıldığında, incelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinin 31 adedi (% 77.5) tuzluluk bakımından I. Sınıf peynir (kurumaddede en çok % 6 tuz), 5 adedinin (% 12.5) II. Sınıf peynir (kurumaddede en çok % 8 tuz) sınıfına

girdiği, ancak 4 adedinin (% 10) ise II. Sınıf (kurumaddede en çok % 8 tuz) peynirler için belirtilen oranın da üstünde olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar, Akyüz (1981) (en az % 5.41, en çok % 11.56, ortalama % 7.27) ve Kurt vd (1991 a)'nin bulmuş oldukları en az değer hariç (en az % 3.96, en çok % 16.82, ortalama % 6.56) düşüktür.

Çizelge 3. 2. Peynir örneklerinin bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları

Özellik	En az	En çok	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Kurumadde (%)	43.42	65.07	55.54	3.2938	0.5208
Yağ (%)	16.20	35.85	29.82	4.1382	0.6543
KM'de Yağ (%)	37.31	63.01	53.73	6.2011	0.9805
Tuz (%)	1.93	5.21	3.08	0.7055	0.1115
KM'de Tuz (%)	3.43	9.48	5.63	1.4147	0.2237
Kül (%)	2.98	6.66	4.16	0.8351	0.1320
Asitlik (% L.A)	0.30	1.53	0.87	0.2584	0.0409
pH	4.17	6.78	5.21	0.4878	0.0771
Protein (%)	15.99	21.76	18.35	1.5248	0.2411
SEP (%)	2.05	3.98	3.22	0.4760	0.0753
OD (%)	11.65	23.36	17.54	2.6322	0.4162

3. 1. 6. Toplam Kül Miktarı (%)

Peynir örneklerinde belirlenen % kül miktarları Çizelge 3. 1 ve bu miktarlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2'de görülmektedir. Peynir örneklerinde kül miktarı en az % 2.98, en çok % 6.66 ve ortalama ise % 4.16 olarak bulunmuştur. Akyüz (1981) en az % 4.38, en çok % 8.81, ortalama % 5.50; Kurt vd (1991 a) en az % 2.76, en çok % 9.16, ortalama % 4.73; Dıǧrak vd (1994) en az % 3.70, en çok % 7.21, ortalama % 5.22 olarak belirlemişlerdir. Kül miktarlarının bu kadar farklılık göstermesi, üretimde kullanılan hammadde sütün farklı hayvan sütleri olması, peynire ilave edilen tuz miktarlarının farklı olması ve peynirin kurumadde oranlarının standart olmamasından kaynaklanmış olabilir.

3. 1. 7. Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit)

İncelenen Tulum peyniri örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (% laktik asit cinsinden) Çizelge 3. 1 ve bunlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de verilmiştir. Örneklerin titrasyon asitliği değerleri en az % 0.30, en çok % 1.53 ve ortalama ise % 0.87 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, Akyüz (1981)’ün, en az % 0.90, en çok % 3.10, ortalama % 1.66; Kurt vd (1991 a)’nin en az % 0.612, en çok % 2.99, ortalama % 1.83 ve Dığrak vd (1994)’nin buldukları değerlerden düşüktür (Çizelge 3. 2). TS 3001 (Anonim 1989)’de Tulum peynirleri asitlik derecelerine göre iki sınıfa ayrılmıştır. Buna göre değerlendirme yapıldığında asitlik değeri açısından 39 peynir örneğinin I. sınıf (süt asidi cinsinden en çok % 1.5) peynirler olduğu, sadece bir örneğin II. sınıf peynir (süt asidi cinsinden en çok % 2.5) olduğu sonucuna varılabilir. Peynirlerin asitlik değerlerindeki farklılıkların; peynir bünyesinde kalan laktoz miktarı, mikroorganizma faaliyeti, hammadde süt, işleme metotları, tuz oranlarının, olgunlaşma süre ve sıcaklıklarının farklı olmasından kaynaklandığı söylenebilir.

3. 1. 8. pH Değeri

Peynir örneklerinin pH değerleri Çizelge 3. 1 ve bunlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de görülmektedir. Peynirlerin pH değerleri en az 4.17, en çok 6.78 ve ortalama ise 5.21 olarak bulunmuştur. Şengül (1995), 90 günlük olgunlaştırma süresince çiğ süt peynirlerinde pH değerlerini, en az 3.77, en çok 4.70, ortalama 4.37; pastörize süt peynirlerinde ise en az 3.42, en çok 5.30, ortalama 4.48 olarak belirlemiştir. Peynirlerin pH’sının farklı olma nedenleri olarak; peynir bünyesindeki suyun süzülme durumu, bünyede kalan laktoz miktarı ve mikroorganizma faaliyetinin farklılığı sayılabilir.

3. 1. 9. Toplam Protein Miktarı (%)

Peynir örneklerinin protein oranları Çizelge 3. 1 ve bunlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de görülmektedir. Çizelge 3. 2’nin incelenmesinden de görüleceği gibi örneklerin protein miktarları en az % 15.99 en çok % 21.76 ve ortalama % 18.35 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, Akyüz (1981)’ün bulduğu değerlerden (en az % 17.39, en çok % 24.75, ortalama % 21.54) düşük; Dıǧrak vd (1994)’nin bulmuş oldukları değerlerden (en az % 13.79, en çok % 21.60, ortalama % 16.91) ise yüksek olarak bulunmuştur. Bu farklılıklar, peynir üretiminde kullanılan sütün, üretim teknolojilerinin ve olgunlaştırma süre ve sıcaklıklarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

3. 1. 10. Suda Eriyen Protein Miktarı (%)

Peynir örneklerinin suda eriyen protein miktarları Çizelge 3. 1 ve bu değerlere ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de görülmektedir. Suda eriyen protein miktarları en az % 2.05 en çok % 3.98 ve ortalama ise % 3.22 olarak bulunmuştur (Çizelge 3. 2). Şengül (1995), farklı ambalaj materyallerinde 90 günlük olgunlaştırma süresince çiğ süttten yapılan Tulum peynirlerinde suda eriyen protein miktarını en az 1.55, en çok 3.90, ortalama 2.60 olarak; pastörize süttten yapılan peynirlerde ise en az 1.75, en fazla 4.30, ortalama 3.01 olarak belirlemiştir. Bu farklılıklar, suda çözünür protein miktarını artırıcı etkiye sahip olan proteolitik aktivite gözönüne alınarak açıklanabilir (Tunail ve Köşker 1986).

3. 1. 11. Olgunlaşma Derecesi (%)

Peynirlerin olgunlaşma derecesi, suda eriyen protein oranının toplam protein oranına bölünmesinden elde edilen bir değerdir. Bu araştırmada incelenen peynir örneklerinin olgunlaşma derecesi değerleri Çizelge 3. 1 ve verilere ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 2’de görülmektedir. Çizelge 3. 2’nin incelenmesinden de görüleceği gibi peynirlerin olgunlaşma derecesi değerleri en az % 11.65 en çok % 23.36 ve ortalama ise % 17.54 olarak bulunmuştur. Şengül (1995), farklı ambalaj materyalleri kullanarak 90 günlük olgunlaştırma süresince çiğ süt peynirlerinde olgunlaşma derecesi değerlerini en az % 9.51, en çok % 19.12, ortalama % 14.27 olarak, pastörize süt peynirlerinde ise en az % 9.69, en çok % 20.10, ortalama % 15.22 olarak belirlemiştir.

3. 2. Kolorimetre İle Renk Değerlerinin Belirlenmesi

Tulum Peyniri örneklerinde L, a ve b değerleri belirlenmiştir. Okunan değerler, L= 0’dan 100’e kadar örneğin açıklık ve koyuluğunu (Y) eksenindeki, + a kırmızı, - a yeşil (X) eksenindeki, + b sarı, - b mavi (Z) eksenindeki renk yoğunluklarını göstermiştir (Certel 1990).

Peynir örneklerinde bulunan renk değerleri Çizelge 3. 3 ve bunlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları ise Çizelge 3. 4’de görülmektedir. Çizelge 3. 4’ün incelenmesinden de anlaşılacağı gibi, L değeri en az 79.77, en çok 87.17, ortalama 84.48 olarak belirlenmiştir. Bu değer tam 100 olmaması, peynirlerin tamamen beyaz renkte olmamasından kaynaklanmaktadır. Nitekim Kurt vd (1991 a)’nin Tulum peynirinin tanımında da belirttikleri gibi, beyaz ve krem renkte olduğunu bir kere daha

doğrulamaktadır. Bu durum, L değeri ile duyusal analizdeki renk değeri arasındaki istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) pozitif korelasyonla da ($r = 0.190$) doğrulanmaktadır.

Ayrıca sarılık (+b) arttıkça rengin koyulaştığı yani L değerinin düştüğü, sarı renk azaldıkça rengin açıldığı yani L değerinin arttığı tespit edilmiştir L değeri ile b değeri arasındaki istatistiki olarak önemli ($P < 0.05$) negatif korelasyon ($r = -0.390$) da bu sonucu doğrulamaktadır.

Çizelge 3.3. Tulum peyniri örneklerinin renk değeri sonuçları

Örnek No	L	a	b	Örnek No	L	a	b
1	84.88	-2.16	10.78	21	85.37	-4.38	13.74
2	85.50	-3.13	15.35	22	83.90	-4.42	15.19
3	85.82	-3.90	12.31	23	85.81	-4.04	12.93
4	82.95	-3.95	12.31	24	85.37	-4.37	16.04
5	85.17	-2.60	13.68	25	87.17	-4.11	14.09
6	83.69	-3.37	13.89	26	83.18	-4.57	13.37
7	84.53	-2.76	13.77	27	85.07	-3.56	14.06
8	81.30	-3.95	15.54	28	84.35	-4.97	16.27
9	85.19	-3.76	13.00	29	85.89	-3.87	11.70
10	84.94	-2.45	11.38	30	84.51	-3.68	14.88
11	81.89	-3.08	17.16	31	83.11	-4.24	11.95
12	85.12	-3.73	11.82	32	85.41	-3.75	12.45
13	85.03	-2.89	12.56	33	84.38	-3.50	13.02
14	84.27	-5.26	15.91	34	84.18	-3.86	11.40
15	83.84	-4.97	15.40	35	85.39	-4.63	13.80
16	85.00	-4.20	14.39	36	85.07	-4.61	12.82
17	86.59	-3.96	14.13	37	79.77	-4.75	17.73
18	85.01	-3.93	14.40	38	86.02	-2.99	10.80
19	84.93	-4.35	14.60	39	83.35	-2.51	12.17
20	82.42	-4.57	13.42	40	83.63	-2.41	12.50

Tulum peynirlerinde + b değeri, en az 10.78, en çok 17.73, ortalama 13.67 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3. 4). + b değerindeki farklılıklar peynir örneklerindeki yağ oranının farklı olmasından kaynaklanabilir.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
PEYNİRCİLİK VE EKİMLİK BAKANLIĞI

Çizelge 3. 4. Peynirlerin renk değerlerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları

	En az	En çok	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
L	79.77	87.17	84.48	1.4334	0.2266
a	-5.26	-2.16	-3.80	-0.7796	0.1233
b	10.78	17.73	13.67	1.6890	0.2671

Yağ değeri ile + b değeri arasındaki istatistiki olarak ($P < 0.01$) pozitif bir korelasyon ($r = 0.449$) olması da bu sonucu doğrulamaktadır.

3. 3. Duyusal Analiz Sonuçları

İncelenen peynir örneklerinde yapılan duyusal analiz sonuçları (tam puan 9) toplu olarak Çizelge 3. 5’de ve bazı istatistiki analiz sonuçları da Çizelge 3. 6’da verilmiştir. Çizelge 3. 6’dan da görüldüğü gibi Tulum peyniri örneklerinde renk değerleri en az 5.80, en çok 8.14, ortalama 7.43 olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, örneklerin renginin homojen olmadığını göstermektedir. Peynirlerin protein ve yağ oranlarının farklı olması sonucunda peynirin proteinli kısmının beyaz, yağlı kısmının ise kirli beyaz veya donuk sarı renkte olması sonucunda iki rengin hakim olduğu Kurt vd (1991 a) tarafından da belirtilmektedir. Bu sonuçlar peynirlerin homojenize olmamış süttten yapıldığını, protein ve yağ oranlarının farklı olması, kullanılan süt çeşidinin farklılığı ve modern teknoloji kullanılarak üretilmediğini göstermektedir.

Peynirlerin lezzet değerleri en az 4.60, en çok 8.56, ortalama 6.94; acılık değerleri en az 5.00, en çok 8.71, ortalama 7.03 olarak belirlenmiştir. Çizelge 3. 5’in incelenmesinden de anlaşılacağı gibi lezzet ve acılık yönünden peynirler arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Bazı örneklerin duyusal analizi sırasında boğazda yanma hissi verdiği bazı panelistlerce not edilmiştir. Erzincan Tulum peynirlerinde yanma ve hafif acılık

Çizelge 3. 5. Tulum peynirlerinde yapılan duyuşal analiz sonuçları (Tam puan = 9)

Örnek No	Renk	Tekstür	Lezzet	Acılık	Tuzluluk	Ağızda Bıraktığı His	Yağlılık	Genel Kabul Edilebilirlik
1	6.00	6.00	4.60	5.20	7.00	4.40	5.40	4.60
2	6.80	7.00	7.80	7.80	7.80	7.90	7.20	7.90
3	7.80	8.00	7.40	7.40	7.80	7.20	6.00	7.40
4	8.40	8.20	7.60	8.00	8.00	7.20	6.30	8.00
5	7.00	5.80	6.88	7.57	8.14	7.07	7.50	6.78
6	7.28	6.86	6.43	6.57	6.86	6.43	5.28	6.43
7	7.14	6.88	6.71	8.00	8.00	7.14	7.60	7.21
8	8.14	8.71	7.93	8.71	8.07	8.08	6.75	8.50
9	7.07	6.57	6.50	7.14	7.28	6.86	5.75	6.86
10	6.69	7.25	8.56	6.75	7.25	6.31	6.38	6.50
11	5.93	7.31	4.69	5.00	7.25	5.68	6.50	5.50
12	6.81	7.75	6.88	7.50	7.00	6.44	7.67	6.75
13	6.69	6.75	5.88	7.00	7.25	5.75	6.92	6.00
14	6.69	6.50	5.38	6.25	6.89	5.38	6.67	5.12
15	6.82	6.44	6.56	6.56	6.94	6.31	8.00	6.31
16	8.00	7.94	7.94	8.25	8.44	8.19	8.37	8.31
17	8.19	7.50	7.69	7.81	7.44	7.88	7.44	7.81
18	8.25	8.06	7.44	7.94	7.82	7.94	7.38	8.06
19	7.94	8.19	7.94	7.44	7.75	7.63	7.69	7.63
20	8.26	7.78	8.07	7.93	7.93	8.14	6.75	8.14
21	7.05	8.36	6.86	7.07	7.07	6.64	6.19	6.78
22	7.93	6.08	6.71	6.07	6.93	5.90	5.62	5.93
23	7.86	7.36	7.64	7.14	7.07	6.67	6.75	6.78
24	8.06	6.44	6.13	6.44	7.31	6.44	6.50	6.44
25	7.94	7.63	7.31	7.06	6.81	7.63	6.00	7.13
26	7.44	6.94	7.19	7.19	6.81	7.31	6.00	7.44
27	6.75	6.56	5.19	6.19	5.75	5.56	6.50	5.44
28	7.81	7.19	6.81	6.81	6.94	6.94	7.00	7.06
29	8.19	7.31	6.88	6.63	5.79	6.13	5.14	6.39
30	6.88	7.69	7.38	7.19	7.69	7.29	6.85	6.34
31	7.94	7.50	6.81	6.88	7.12	6.94	5.93	6.94
32	7.19	6.38	6.81	7.06	7.31	6.81	7.00	6.69
33	7.31	7.56	7.94	5.69	7.81	7.81	6.14	6.50
34	7.92	7.42	7.42	7.58	7.33	6.25	7.58	7.75
35	8.25	8.08	7.66	7.58	8.17	7.75	8.00	7.75
36	7.40	8.00	6.90	7.20	7.30	7.00	7.58	7.60
37	5.58	6.75	5.58	6.17	6.48	5.17	6.42	5.58
38	8.00	5.25	7.08	7.33	7.33	7.42	8.00	6.42
39	7.00	7.21	7.50	6.64	7.93	7.14	6.42	7.00
40	7.78	6.64	6.78	6.50	7.21	6.57	6.60	7.00

hissinin, peynirin bileşiminde bulunan yağın küfler tarafından oluşturulan lipaz enzimi tarafından parçalanması ve özellikle bütirik asit ve diğer serbest uçucu yağ asitlerinin meydana gelmesi veya bu yağ asitlerinin otooksidasyonu sonucu olduğu belirtilmektedir (Çakmakçı 1996). Bu özellik Tulum peyniri gibi peynir çeşitlerinde çok az olarak istenmektedir. Peynirlerin duysal özelliklerine bakıldığında renk, tekstür, lezzet, acılık, tuzluluk, ağızda bıraktığı his, yağlılık ve genel kabul edilebilirlik arasında istatistiki olarak pozitif ($P < 0.01$) bir korelasyon olduğu görülmektedir (Çizelge 3. 7).

Çizelge 3. 6. Peynir örneklerinin duysal özelliklerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları

Özellik	En Az	En Çok	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Renk	5.80	8.14	7.43	0.7521	0.1189
Tekstür	5.25	8.71	7.20	0.7687	0.1215
Lezzet	4.60	8.56	6.94	0.9130	0.1444
Acılık	5.00	8.71	7.03	0.7907	0.1250
Tuzluluk	5.75	8.44	7.35	0.6384	0.1009
Ağızda Bıraktığı His	4.40	8.19	6.83	0.8888	0.1405
Yağlılık	5.14	8.37	6.74	0.8192	0.1295
Genel Kabul Edilebilirlik	4.60	8.50	6.87	0.9015	0.1425

Çizelge 3. 7. Peynir örneklerinin duysal özelliklerine ait korelasyon değerleri (n= 40)

	Renk	Tekstür	Lezzet	Acılık	Tuzluluk	Ağızda Bıraktığı His	Yağlılık
Tekstür	0.420**						
Lezzet	0.625**	0.524**					
Acılık	0.614**	0.467**	0.689**				
Tuzluluk	0.386*	0.400*	0.548**	0.607**			
Ağızda Bıraktığı His	0.662**	0.498**	0.819**	0.740**	0.672**		
Yağlılık	0.134*	0.105	0.292*	0.508**	0.441**	0.400*	
Genel Kabul Edilebilirlik	0.721**	0.635**	0.800**	0.860**	0.644**	0.867**	0.406*

* $P < 0.05$ düzeyinde önemli ** : $P < 0.01$ düzeyinde önemli

Tuzluluk yönünden peynirler en az 5.75, en çok 8.44, ortalama 7.35 değerleri almıştır. Tuzluluk değerlerinin farklı olması, peynire ilave edilen tuz miktarının üreticinin alışkanlığına ve tecrübesine bağlı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Peynirler ağızda bıraktığı his değerleri bakımından en az 4.40, en çok 8.19, ortalama 6.83 puanlarını almıştır. Peynirlerin yağlılığına en az 5.14, en çok 8.37, ortalama 6.74 puanları verilmiştir. Genel kabul edilebilirlik değerleri en az 4.60, en çok 8.50, ortalama 6.87 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3. 5).

3. 4. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

3. 4. 1. Toplam Aerobik Mezofilik Mikroorganizma Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde belirlenen toplam aerobik, mezofilik bakteri (TAMB) sayıları Çizelge 3. 8’de ve bu değerlere ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 9’da verilmiştir. Çizelge 3. 9’un incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi TAMB sayısı en düşük 2.5×10^6 kob/g, en çok 7.0×10^8 kob/g, ortalama 1.1×10^8 kob/g olarak belirlenmiştir. Sonuçlardan peynir örneklerindeki TAMB sayısının oldukça yüksek olduğu anlaşılmaktadır. Bu sonuç, peynirlerin çiğ süttten yapılmış olması, peynirin üretim süresinin uzun olması dolayısıyla üretim süresince süttten gelen ve üretim sırasında bulaşan mikroorganizmaların hızla çoğalması, peynirlerin uygun olmayan şartlarda bekletilmesi gibi nedenlerden kaynaklanmış olabilir. Nitekim ülkemizde üretilen peynirlerin çoğunluğunun çiğ süttten işlendiği belirtilmektedir (Özalp vd 1978, Kurt vd 1991 a, Kurt vd 1991 b). Ayrıca pastörize süttten yapılan peynirlerin çiğ süttten yapılan peynirlere göre daha az mikroorganizma ihtiva ettiği belirtilmektedir (Özalp vd 1978, Şengül vd 2001). Şengül vd (2001), çiğ süttten üretilen taze Tulum

Çizelge 3. 8. Tulum peynirlerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçları

Örnek No	TAMB (kob/g)	Koliform mikroorganizma Sayısı (kob/g)	Maya-Küf Sayısı (kob/g)	<i>S. aureus</i> (kob/g)	Lipolitik mikroorganizma Sayısı (kob/g)	Proteolitik mikroorganizma Sayısı (kob/g)	LAB (kob/g)
1	2.5x10 ⁶	4.0x10 ¹	2.0x10 ⁵	< 10	5.5x10 ⁴	1.0x10 ⁴	6.0x10 ⁵
2	2.2.0x10 ⁷	4.2x10 ²	7.0x10 ⁴	< 10	3.0x10 ⁵	2.5x10 ⁴	8.0x10 ⁶
3	3.5x10 ⁶	2.5x10 ²	7.0x10 ⁴	< 10	7.0x10 ⁵	3.0x10 ⁵	2.8x10 ⁶
4	3.5x10 ⁶	2.3x10 ²	4.0x10 ⁵	< 10	9.0x10 ⁴	2.0x10 ⁵	5.0x10 ⁶
5	7.5x10 ⁶	< 10	1.5x10 ³	< 10	4.0x10 ³	1.5x10 ⁴	3.6x10 ⁵
6	7.8x10 ⁷	1.6x10 ³	3.0x10 ⁵	< 10	4.5x10 ³	6.5x10 ³	4.9x10 ⁷
7	8.0x10 ⁶	< 10	1.2x10 ⁴	< 10	7.0x10 ³	6.0x10 ³	4.0x10 ⁵
8	1.7x10 ⁷	4.5x10 ¹	8.6x10 ⁵	< 10	2.0x10 ⁴	1.3x10 ⁴	9.4x10 ⁶
9	4.5x10 ⁷	1.1x10 ²	1.5x10 ⁵	< 10	4.7x10 ⁴	2.4x10 ⁴	1.0x10 ⁷
10	8.0x10 ⁷	2.4x10 ²	1.1x10 ⁵	< 10	6.8x10 ⁴	4.0x10 ⁴	1.1x10 ⁷
11	1.3x10 ⁸	3.5x10 ⁵	2.1x10 ⁵	1.5x10 ²	4.9x10 ⁵	7.0x10 ⁵	4.3x10 ⁶
12	4.5x10 ⁸	2.0x10 ²	5.8x10 ⁵	6.5x10 ¹	4.1x10 ⁵	1.6x10 ⁶	4.3x10 ⁶
13	7.0x10 ⁷	3.5x10 ²	8.8x10 ⁴	< 10	5.8x10 ⁴	4.5x10 ⁶	7.5x10 ⁶
14	5.8x10 ⁷	5.6x10 ²	1.3x10 ⁵	< 10	2.4x10 ⁵	7.3x10 ⁵	1.0x10 ⁶
15	7.1x10 ⁷	7.6x10 ²	7.5x10 ⁴	2.0x10 ¹	6.5x10 ⁴	2.8x10 ⁶	1.2x10 ⁷
16	4.0x10 ⁶	1.9x10 ³	5.0x10 ³	1.6x10 ³	1.6x10 ⁵	5.5x10 ⁴	4.5x10 ⁵
17	6.5x10 ⁶	3.5x10 ³	1.5x10 ³	2.0x10 ³	2.7x10 ⁵	3.7x10 ⁴	7.0x10 ⁵
18	3.5x10 ⁶	3.2x10 ³	8.0x10 ³	3.2x10 ³	3.0x10 ⁴	2.1x10 ⁴	6.5x10 ⁵
19	8.0x10 ⁶	2.5x10 ²	2.5x10 ³	4.6x10 ³	4.3x10 ⁴	7.4x10 ⁴	1.1x10 ⁶
20	3.6x10 ⁸	2.6x10 ³	3.7x10 ⁴	3.1x10 ²	4.9x10 ⁵	2.8x10 ⁴	1.4x10 ⁷
21	9.5x10 ⁷	4.3x10 ³	4.6x10 ⁴	4.1x10 ²	7.6x10 ⁵	3.5x10 ⁴	1.6x10 ⁶
22	7.8x10 ⁷	8.8x10 ³	2.6x10 ⁴	5.6x10 ²	7.9x10 ⁶	6.9x10 ⁵	9.7x10 ⁶
23	9.1x10 ⁷	7.6x10 ³	8.0x10 ⁴	8.6x10 ²	8.6x10 ⁵	7.6x10 ⁵	1.3x10 ⁷
24	1.1x10 ⁸	3.1x10 ²	5.6x10 ⁵	3.8x10 ²	6.3x10 ⁵	4.9x10 ⁶	7.7x10 ⁶
25	1.5x10 ⁸	4.0x10 ²	6.9x10 ⁴	1.0x10 ²	8.7x10 ⁴	4.5x10 ⁵	7.3x10 ⁶
26	2.0x10 ⁸	5.3x10 ³	1.9x10 ⁵	6.1x10 ³	4.6x10 ⁵	4.9x10 ⁶	1.9x10 ⁷
27	1.4x10 ⁸	7.0x10 ³	4.3x10 ⁵	3.3x10 ³	9.0x10 ⁵	7.0x10 ⁵	1.9x10 ⁷
28	1.7x10 ⁸	3.5x10 ³	7.0x10 ⁴	7.0x10 ²	7.2x10 ⁵	7.1x10 ⁶	2.0x10 ⁷
29	1.1x10 ⁷	< 10	3.0x10 ⁴	< 10	4.8x10 ⁶	2.2x10 ⁶	7.5x10 ⁶
30	1.7x10 ⁷	1.0x10 ²	1.5x10 ⁴	< 10	8.0x10 ⁵	7.2x10 ⁶	2.2x10 ⁷
31	4.5x10 ⁷	4.5x10 ²	6.0x10 ⁴	< 10	1.1x10 ⁶	1.1x10 ⁶	1.8x10 ⁷
32	1.4x10 ⁷	1.0x10 ²	2.5x10 ⁴	< 10	1.3x10 ⁶	8.1x10 ⁶	3.3x10 ⁶
33	6.1x10 ⁷	< 10	3.0x10 ⁵	< 10	5.9x10 ⁶	1.6x10 ⁵	6.5x10 ⁶
34	7.0x10 ⁸	3.0x10 ²	4.5x10 ⁵	< 10	5.9x10 ⁴	6.1x10 ⁵	2.1x10 ⁷
35	1.9x10 ⁸	2.2x10 ²	5.5x10 ⁵	2.0x10 ¹	6.9x10 ⁵	7.6x10 ⁴	1.9x10 ⁷
36	7.4x10 ⁷	3.3x10 ²	2.3x10 ⁴	< 10	8.1x10 ⁴	7.2x10 ⁵	2.4x10 ⁷
37	4.8x10 ⁷	1.5x10 ²	2.7x10 ⁴	4.0x10 ²	3.9x10 ⁴	3.9x10 ⁵	1.1x10 ⁷
38	4.9x10 ⁷	3.0x10 ¹	5.6x10 ⁵	8.0x10 ¹	6.2x10 ⁵	6.4x10 ⁵	8.6x10 ⁶
39	3.8x10 ⁸	2.5x10 ²	2.6x10 ⁵	5.6x10 ²	7.6x10 ⁵	1.7x10 ⁵	3.6x10 ⁸
40	7.1x10 ⁷	3.1x10 ⁴	3.5x10 ⁴	2.5x10 ²	3.9x10 ⁴	6.0x10 ⁴	6.0x10 ⁷

TAMB: Toplam aerobik mezofilik bakteri, LAB: Laktik asit bakteri

peynirinde TAMB sayısını 1.3×10^9 kob/g, pastörize süttten üretilen taze Tulum peynirinde ise 5.7×10^8 kob/g olarak belirlemiştir. Kurt vd (1991 b) ise 26 adet Tulum peyniri üzerinde yapmış oldukları araştırmada TAMB sayısını en az 2.1×10^7 kob/g, en çok 1.55×10^{10} kob/g, ortalama ise 2.13×10^9 kob/g olarak tespit etmişlerdir. Araştırma sonuçları arasındaki bu farklılıklar peynir örneklerinin, üretim teknolojileri, olgunlaşma düzey ve şartlarının farklı olmasından kaynaklanmış olabilir.

Tulum Peyniri Standardı TS 3001 (Anonim 1989)'de Tulum peynirlerinde TAMB sayısı ile ilgili herhangi bir hüküm bulunmamaktadır.

3. 4. 2. Koliform Mikroorganizma Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde koliform bakteri sayısı < 10 kob/g - 3.5×10^5 kob/g arasında bulunmuştur (Çizelge 3. 8). Kurt vd (1991 b) tarafından Tulum peyniri üzerinde yapılmış olan bir araştırmada; en az, en çok ve ortalama koliform bakteri sayıları sırasıyla 3.75×10^2 kob/g, 2.50×10^7 kob/g, 3.20×10^6 kob/g olarak belirlenmiş olup, bu araştırmada bulunan değerlerden oldukça farklıdır. Tulum Peyniri Standardı- TS 3001 (Anonim 1989)'de Tulum peynirinde en fazla 100 adet /g koliform bakteriye izin verilmektedir. Buna göre incelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinin 8 tanesi (% 20'si) standarda uygunluk göstermektedir. Bostan ve Uğur (1992), çiğ ve pastörize süttten üretmiş oldukları Tulum peynirlerinde olgunlaşmanın 30. gününde koliform bakteri sayısını çiğ süt peynirlerinde 4.2×10^4 adet/g, pastörize süt peynirlerinde ise < 10 adet/g olarak belirlemiştir. Ancak olgunlaşmanın 90. gününde ne çiğ ne de pastörize süt peynirlerinde koliform bakteriye rastlamamışlardır. Bu durum, laktik asit bakterilerinin, peynir florasına hakim olarak, istenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonuna neden olmasından kaynaklanabilir.

Çizelge 3. 9. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik özelliklerine ait bazı istatistiki analiz sonuçları

	En az	En çok	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
TAMB	2.5×10^6	7.0×10^8	1.1×10^8	155927676	24654330
Maya-Küf	1.5×10^3	8.6×10^5	1.7×10^5	205221	32448
Lipolitik	4.0×10^3	9.0×10^5	2.9×10^5	308640	48800
Proteolitik	6.0×10^3	4.9×10^6	4.0×10^5	787186	124465
LAB	3.6×10^5	3.6×10^8	3.3×10^7	104938008	16592155

3. 4. 3. Maya-Küf Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde maya-küf sayısı en az 1.5×10^3 kob/g, en çok 8.6×10^5 kob/g, ortalama 1.7×10^5 kob/g olarak bulunmuştur (Çizelge 3. 9). Kurt vd (1991 b), Tulum peynirinde maya-küf sayısını 4.0×10^3 kob/g- 6.8×10^6 kob/g arasında ve ortalama 1.99×10^6 kob/g olarak belirlemişlerdir. Maya ve küflerin lipolitik ve proteolitik etkileri sonucunda peynirlerde arzu edilmeyen tat ve yapı oluşumuna neden oldukları belirtilmektedir (Kınık vd 1999). Tulum Peyniri Standardı'nda (Anonim 1989) Tulum peynirinde en fazla 100 adet /g maya-küf'e izin verilmektedir. Bu durumda incelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinin hiçbirisi Standarda uymamaktadır. İncelenen örneklerde yüksek sayıda maya-küf çıkması, peynir yapımında pastörize süt kullanılmaması ve hijyenik kurallara dikkat edilmediğinin bir sonucu olabilir.

3. 4. 4. *Staphylococcus aureus* Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde saptanan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) sayısı Çizelge 3. 8'de verilmiştir. İncelenen peynir örneklerinde *S. aureus* sayıları en az < 10 kob/g, en çok 6.1×10^3 kob/g olarak belirlenmiştir. Uygun olmayan muhafaza koşullarında sayının artabileceği ve bunun sonucunda insan sağlığı açısından riskli olabileceği ifade

edilmektedir (Demiret ve Karapınar 2000). Gıdalarda 1.0×10^6 adet/g'dan fazla *S. aureus*'un bulunması durumunda gıda zehirlenmelerine neden olabileceği belirtilmektedir (Frazier ve Westhoff 1978). Tulum Peyniri Standardı (Anonim 1989)'nda Tulum peynirinde *S. aureus*'un bulunmaması gerektiği belirtilmektedir. İncelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinin 19 tanesinde sayı saptanabilir sınırın altında (< 10 kob/g), diğer 21 örnekte ise 2.0×10^1 ile 6.1×10^3 kob/g arasında değişmiştir (Çizelge 3. 8).

Çizelge 3. 10. Peynir örneklerinin bazı mikrobiyolojik analiz sonuçlarına ait korelasyon değerleri (n= 40)

Mikroorganizma Grupları	TAMB	Maya-Küf	Lipolitik	Proteolitik
Maya-Küf	0.464**			
Lipolitik	0.285*	0.176*		
Proteolitik	0.063*	0.316*	0.331*	
LAB	0.141*	-0.46*	0.035*	-0.082*

* P<: 0.05 düzeyinde önemli **: P<: 0.01 düzeyinde önemli

3. 4. 5. Lipolitik Mikroorganizma Sayısı

Yağı hidrolize ederek Tulum peynirine kendine özgü tereyağı aroması kazandıran lipolitik mikroorganizmalar (*Pseudomonas*, *Geotricum*, *Aspergillus*, *Candida*, *Rhodotorula*), diğer peynirlerde istenmeyen tat ve kokulara neden olabilmektedir (Anonymous 1992). Tulum peyniri örneklerinde saptanan lipolitik bakteri sayıları Çizelge 3. 8 ve bu değerlere ait bazı istatistiki analiz sonuçlar da Çizelge 3. 9'da verilmiştir. İncelenen örneklerde en az 4.0×10^3 kob/g, en çok 9.0×10^5 kob/g, ortalama 2.9×10^5 kob/g lipolitik mikroorganizma bulunmuştur. Kurt vd (1991 b), Tulum peyniri üzerinde yapmış oldukları araştırmada en düşük lipolitik bakteri sayısını 3.25×10^4

kob/g, en fazla 2.8×10^7 kob/g, ortalama ise 2.0×10^6 kob/g olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmada bulunan değerlerden oldukça yüksek değerlerdir. TS 3001 (Anonim 1989) 'de Tulum peynirinde bulunması gereken lipolitik bakteri sayısı ile ilgili herhangi bir hüküm bulunmamaktadır. Tulum peynirinde lipolitik bakterilerin faaliyetinin fazla olması istenen bir durumdur. Zira, Tulum peynirinin kendine özgü tereyağı aromasının gelişmesinde bu bakterilerin faaliyeti esastır (Kurt vd 1991 b, Çakmakçı 1996). Ancak, lipolitik aktivitenin fazla olması durumunda tat ve aroma bozukluğu meydana gelebilmektedir.

3. 4. 6. Proteolitik Mikroorganizma Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde proteolitik bakteri sayısı Çizelge 3. 8 ve bu değerlere ait bazı istatistik analiz sonuçları Çizelge 3. 9' da verilmiştir. Peynirlerde en az 6.0×10^3 kob/g, en çok 4.9×10^6 kob/g, ortalama 4.0×10^5 kob/g proteolitik bakteri bulunmuştur. Kurt vd (1991 b), aynı peynir çeşidinde proteolitik bakteri sayısını en az 1.3×10^4 kob/g, en çok 1.0×10^8 kob/g, ortalama 1.7×10^7 kob/g olarak belirlemişlerdir. Proteinleri hidrolize ederek gıdalarda arzu edilmeyen tat ve aroma kusurlarına neden olabilen proteolitik mikroorganizmaların (*Shewanella*, *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus* ve *Clostridium* cinslerine giren türler) bazı suşlarının gıda zehirlenmesi ve bazı suşlarının da peynirde kokuşma yapması nedeniyle peynirde fazla bulunması arzu edilmez. Ancak peynir üretiminde düşük proteolitik aktivite gösteren starter kültürler ve bunların belirli suşlarının kullanılması zorunludur. Diğer taraftan proteolitikler peynir üretiminde arzu edilen olgunlaşmaya ve aroma oluşumuna neden olurlar.

3. 4. 7. Laktik Asit Bakteri Sayısı

Tulum peyniri örneklerinde LAB sayısı Çizelge 3. 8 ve bunlara ait bazı istatistiki analiz sonuçları Çizelge 3. 9'da verilmiştir. Peynirlerde en az 3.6×10^5 kob/g, en çok 3.6×10^8 kob/g ve ortalama 3.3×10^7 kob/g laktik asit bakterisi bulunmuştur. Kurt vd (1991 b), Tulum peyniri üzerinde yapmış oldukları araştırmada LAB sayısını en az 1.8×10^5 kob/g, en çok 3.8×10^7 kob/g ve ortalama 8.6×10^6 kob/g olarak belirlemişlerdir. Bu araştırmada bulunan değerlere yakın değerler olduğu görülmektedir. Dığrak vd (1994) ise Tulum peynirlerinde LAB sayısını en düşük 1.3×10^7 kob/g , en çok 7.6×10^7 kob/g ortalama 1.15×10^7 kob/g olarak belirlemişlerdir. Peynirde bulunan laktik asit bakterilerinin önemli bir kısmı süttten gelmektedir. Peynire işlenecek süte starter kültür olarak homofermentatif laktik asit bakterileri ilave edilmektedir (Temelli 2000). Bunlardan özellikle *Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris* laktozu 21.1-36.7 °C'de fermente ederek % 0.75-1.05 seviyesinde laktik asit üretebilmektedir. Bunların dışında peynirde, *Streptococ*'lar, *Pediococ*'lar ve heterofermentatif *Lactobacillus*'lar da bulunmaktadır. Laktik asit bakterileri, peynir florasına hakim olarak, istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesine fırsat vermemektedir. Ancak, laktik asit bakterilerinin bazıları peynirin duyuşal özelliklerini bozucu yönde de etkili olabilmektedir (Akyüz ve Yamankaradeniz 1981). LAB sayısının yüksek olması, süttten gelen LAB yüküne ve peynirin havalandırılması sonucu bu mikroorganizmaların kontamine olmasına bağlanabilir. Tulum peynirinde LAB sayısının fazla olması arzu edilir. Aksi taktirde koliform grubu mikroorganizmaların ve özellikle proteolitik mikroorganizmaların çoğalması ve faaliyeti engellenemez. Bu durumda peynirin kokuşup bozulmasına veya insan sağlığını tehdit edebilecek düzeyde patojen grubu mikroorganizma içermesine neden olabilir.

3. 5. Deneme Tulum Peynirlerinden İdentifiye Edilen Laktik Asit Bakterileri

Gıdalarda bulunan laktik asit bakterileri *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinslerinin türlerini içermektedir (Stiles ve Holzapfel 1997). Laktik asit bakterileri peynir mikroflorasının önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Olgunlaştırılan tüm peynirlerde laktik asit bakterilerinin bir veya birkaç türü bulunmaktadır (Steele ve Ünlü 1992, Boukberi ve Ohta 1996, Konings et al. 2000, Beresford et al. 2001). Bu mikroorganizmaların süt ürünlerinde başlıca görevi laktik asit üretmektir. Ayrıca lezzet bileşenlerinin oluşumuna da katkıda bulunurlar. Oluşan laktik asit, rennetin pıhtılaştırma süresini kısaltarak pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasına yardımcı olur. Arzu edilmeyen mikroorganizmaların gelişmesini de önler (Beresford et al. 2001).

Araştırmada peynir örnekleri metot kısmında belirtildiği gibi (2. 2. 4) izolasyona hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan MRS Agar besiyerine ekim yapılmıştır. Daha sonra izolasyon gerçekleştirilmiştir. Toplam 40 adet Tulum peyniri örneğinin herbirinden 8'er adet olmak üzere LAB olduğu tahmin edilen toplam 320 koloni izole edilmiştir. Elde edilen izolatlara Gram boyama, katalaz testi, mikroskopik görünüm ve oksidaz testleri uygulanmış ve bu sonuçlara göre LAB olduğu belirlenen 240 laktik asit bakterisi MIS ile identifikasyon için, metot kısmında belirtildiği gibi (2. 2. 6. 3) hazırlanmıştır.

MIS'in uygulanması sonucunda 240 laktik asit bakteri izolatından *Lactobacillus* cinsine ait; 94 suş *Lb. parabuchneri* (% 39.17), 50 suş *Lb. bif fermentans* (% 20.83), 14 suş *Lb. buchneri* (% 5.83), 14 suş *Lb. paracasei* (5.83), 12 suş *Lb. fermentum* (% 5.0), 8 suş *Lb. suebicus* (% 3.33), 6 suş *Lb. casei* (% 2.5), 5 suş *Lb. malefermentans* (% 2.08), 4 suş *Lb.*

collinoides (% 1.66), 3 suş *Lb. cellobiosus* (% 1.25), 3 suş *Lb. coryniformis* (% 1.25), 2 suş *Lb. confusus* (*Weissella confusa*) (% 0.83), 2 suş *Lb. kefir* (% 0.83), 2 suş *Lb. vaccinostercus* (% 0.83), 1 suş *Lb. brevis* (% 0.42), 1 suş *Lb. helveticus* (% 0.42), olarak tanımlanmıştır (Çizelge 3. 11).

Tulum peynirlerinden identifiye edilen 240 laktik asit bakterisinden *Pediococcus* cinsine ait türlerin dağılımı da şu şekildedir: 11 suş *P. acidilactici* (% 4.58), 3 suş *P. parvulus* (% 1.25), 1 suş *P. pentosaceus* (% 0.42), 1 suş *P. damnosus* (% 0.42) ve 1 suş ise *P. halophilus* (*Tetragenococcus halophila*) (% 0.42) (Çizelge 3.12).

Leuconostoc cinsine ait 2 tür tanımlanmış olup 1 suş *Leu. pseudomesenteroides* (% 0.42) ve 1 suş da *Leu. oenes* (*Oenococcus oeni*) (% 0.42)'dir (Çizelge 3.12).

Genel olarak değerlendirme yapıldığında; identifiye edilen laktik asit bakterilerinin 221 suşu *Lactobacillus* (% 92.08), 17 suşu *Pediococcus* (% 7.08) ve 2 suşu da *Leuconostoc* (% 0.83) olarak tanımlanmıştır (Çizelge 3.11 ve 3. 12).

Tanımlanan laktik asit bakterileri içerisinde *Lactobacillus* türlerinin çok yüksek oranda bulunduğu belirlenmiştir. Khalid ve Marth (1990), *Lactobacillus*'ların rekabet edici özelliğe sahip olduğunu, uygun peynir ortamında gelişebileceklerini ve peynirdeki sayılarının 10^7 cob/g'dan daha fazla sayıya ulaşabildiğini, olgunlaşma süresince starter kültürlerin suşlara bağlı olarak inaktive olabileceklerini ancak *Lactobacillus* türlerinin uzun olgunlaşma süresince peynirde en baskın flora olduklarını belirtmektedirler. Olgunlaşma süresince çoğu peynir çeşidinin mikrobiyal florasının önemli bir kısmını starter olmayan laktik asit bakterileri, mezofilik *Lactobacillus* ve *Pediococcus* olduğu ve genellikle iyi sütte gelişmedikleri belirtilmektedir. Pastörize edilmiş süttten üretilen olgunlaşmış yarı sert peynirlerin (Gouda, Greve, Jarlberg) bakteri florasının % 76 sının

mezofilik *Lactobacillus* (baskın olarak *Lb. paracasei/Lb. rhamnosus*) olduğu da belirtilmektedir (Beresford et al. 2001). Aynı araştırmacılar *P. acidilactici* ve *P. pentosaceus*'un peynirde çok sık rastlanan mikroorganizmalar olduğunu da belirtmektedirler.

Mannu et al. (2000), çoğu peynirde starter olmayan laktik asit bakterilerinin mezofilik *Lactobacillus*'lar olduğunu, bu bakterilerin peynir bünyesine süttten ve peynir üretimi sırasında çevreden bulaşabileceklerini belirtmektedirler. Williams et al. (2000) da laktik asit bakteri kaynaklarının peynirin üretildiği süt, çevre ve starter kültürler olduğunu belirtmektedirler. Khalid ve Marth (1990), starter olmayan laktik asit bakterilerinin peynir aromasının gelişimindeki rollerinin tam olarak bilinmediğini, ancak proteoliz ve amino asitleri yıkımının çok iyi bilindiğini belirtmektedir. Peterson ve Marshall (1990), olgunlaşma süresince canlı kalabilen starter olmayan laktik asit bakteri sayısının oldukça fazla olduğunu, Comte ve Cheddar peynirinde harici starter olmayan laktik asit bakterilerinin çok az sayıda olduğunu bununla birlikte olgun peynirde baskın bakteri popülasyonu olduklarını ve mezofilik *Lactobacillus*'ların büyük bir çoğunluğunun özellikle pastörize olmamış süttten geldiklerini belirtmektedirler. Bu araştırmada da starter olarak kullanılmayan laktik asit bakterilerinin çok yüksek oranda çıkmasının nedeni olarak, peynir üretiminde kullanılan sütlerin pastörize edilmemiş olması ve çevreden kontaminasyon vb. söylenebilir.

Bostan vd (1992), geleneksel yöntem ile çiğ süttten üretilen ve piyasadan temin edilen Tulum peyniri üzerine yapmış oldukları araştırmada, deneysel peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilk günlerinde *Str. lactis* ve *E. faecalis*'in, olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde ise *Lb. casei*, *Lb. plantarum* ve *E. faecalis*'in çok sayıda izole edildiğini belirtmişlerdir. Ticari Tulum peynirlerinde ise, izole etmiş oldukları 426 LAB suşunun 72'sinin *E. faecium*, 48'inin *E. faecalis*, 45'inin *Str. lactis*, 64'ünün *Lb. casei* ve

42'sinin *Lb. plantarum*, 2'sinin *Lb. coryniformis*, 13'ünün *Lb. brevis*, 4'ünün *Lb. kefir*, 1'inin *Lb. buchneri* olduğunu tespit etmişlerdir. *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerine ise çok az sayıda rastlamışlardır. Deneysel taze peynir örneklerinde *Lactobacillus*'lara olgunlaşmanın başlangıcında çok az rastlanmasına rağmen, olgunlaşmanın 30., 60. ve 90. günlerinde *Lb. casei* ve *Lb. plantarum*'un elde edilen izolatların önemli kısmını oluşturduğunu, dolayısıyla bu iki mikroorganizmanın Tulum peynirlerinin olgunlaşmasında etkili olduklarını belirtmektedirler. Aynı araştırmada piyasa peynir örneklerinde bulunan sonuçların, bu çalışmada bulunan sonuçlarla çok fazla benzerlik göstermediği, zira bu araştırmada *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri belirlenmiştir. Ancak *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türlerinde bulunan sonuçların benzerlik gösterdiği anlaşılmaktadır. Çizelge 3. 11'in incelenmesinden de anlaşılabacağı gibi bu araştırmada identifiye edilmiş olan 3 cins laktik asit bakterisinden *Lactobacillus*'ların çok yüksek oranda (% 92.8) olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, *Lactobacillus*'ların Tulum peynirlerinin olgunlaşmasında etkili olduğunu göstermektedir. *Lactobacillus*'ların peynire çevreden ve ekipmanlardan bulaştığı ve zamanla çoğalarak peynirde hakim mikroorganizma grubunu oluşturduğu belirtilmektedir (Thompson ve Marth 1986).

Elortondo et al. (1998), Tulum peyniri gibi yarı sert bir peynir çeşidi olan Idiazabal peynirinden 192 laktik asit bakteri suşu identifiye etmişlerdir. Bunlardan *Lactococcus* suşlarının % 61'ini *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis*, % 30'unu *Lc. lactis* subsp. *lactis*, % 7'sini *Lc. lactis* subsp. *cremoris* ve % 2'sini *Lc. raffinolactis* olduğunu; süttten ve pıhtıdan elde edilen *Lactobacillus*'ların tamamı ile peynirden izole edilen *Lactobacillus*'ların ise % 19'unun *Lb. plantarum* olduğunu peynirde yaygın *Lactobacillus*'un ise *Lb. casei* subsp. *casei* (% 64) olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca peynirden *Leuconostoc lactis* de identifiye etmişlerdir. Medina et al. (1995), çiğ inek

sütünden starter kültür katılmadan yapılan Leon peynirinin ve peynirde starter kültür olarak kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin temelini oluşturmak için yapmış oldukları bir araştırmada *Lc.lactis* subsp. *lactis*'in bir haftalık peynirde % 85, *Lb. casei* subsp. *casei*'nin 8 haftalık peynirde % 55 ve 12 haftalık peynirde % 42.05 oranında bulunduğunu tespit etmişlerdir. Medina et al. (1995) ve Elortondo et al. (1998)'ın bulmuş oldukları sonuçlar bu araştırma ile benzerlik göstermemektedir.

Peterson ve Marshall (1990), Cheddar peynirinde starter olmayan laktik asit bakterilerinin büyük çoğunluğunun *Lactobacillus* 'ların oluşturduğunu, *Lb. casei. ssp. casei*, *Lb. plantarum* ve *Lb. brevis*'in baskın türler olduğunu belirtmektedirler. Bahsedilen araştırma sonuçları bu araştırma sonuçları ile cins seviyesinde benzerlik göstermektedir. Khalid ve Marth (1990), Cheddar peynirlerinin mikroflorasında *Pediococcus*'ların da bulunduğunu ve diğer starter mikroorganizmalarla birlikte aroma oluşumunda rol oynadıklarını belirtmektedirler.

3. 5.1. Suşların Bazı Fizyolojik ve Biyokimyasal Özellikleri

Araştırmada tanımlanan LAB suşlarına ait bazı fizyolojik ve biyokimyasal özellikler Çizelge 3. 11 ve Çizelge 3.12' de toplu olarak görülmektedir.

Tanımlanan *Lactobacillus* suşlarından *Lb. collinoides* 146 ve *Lb. collinoides* 219'un 5 °C'de geliştiği, *Lb. vaccinostrercus*'un 2 suşunun ise 5 °C'de zayıf geliştiği, geriye kalan tüm suşların 5 °C'de gelişemediği tespit edilmiştir (Çizelge 3. 11). 10 °C'de, 12 adet *Lactobacillus fermentum* suşunun tamamının ve 1 adet *Lactobacillus helveticus* suşunun gelişemediği; diğer tüm *Lactobacillus* suşlarının ise geliştiği tespit edilmiştir (Çizelge 3. 11). Ayrıca 37 °C sıcaklıkta ve hem % 2 NaCl hem de % 6.5 NaCl konsantrasyonlarında tüm suşların geliştiği tespit edilmiştir (Çizelge 3. 11).

Lb. buchneri, *Lb. fermentum*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. kefir*, *Lb. brevis*, *Lb. suebicus*, *Lb. malefermentans*, *Lb. collinoides*, *Lb. confusus*, *Lb. vaccinostercus* ve *Lb. parabuchneri* suşlarının tümü glukozdan gaz üretirken, *Lb. casei*, *Lb. paracasei*, *Lb. coryniformis*, *Lb. helveticus* ve *Lb. bif fermentans* suşlarının glukozdan gaz üretmediği tespit edilmiştir (Çizelge 3. 11). Fermente süt ürünlerinde *Lactobacillus* cinsi bakterilerin starter kültür olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (Tunail ve Köşker 1986, Temelli 2000). Bu araştırmada elde edilen fizyolojik ve biyokimyasal özellikler de dikkate alındığında *Lactobacillus*'ların Tulum peynirinde starter olarak kullanılabileceği görülmektedir.

Tanımlanan *Pediococcus* cinsine ait *P. acidilactici*, *P. parvulus*, *P. pentosaceus*, *P. damnosus*, *P. halophilus* (*Tetragenococcus halophila*) suşlarının hiçbirisi 5 °C'de gelişemezken, 10 °C ile 37 °C sıcaklıkta ve % 2 NaCl konsantrasyonunda tümünün geliştiği; % 6.5 NaCl'de *P. parvulus* 32 ve *P. parvulus* 131 hariç, tüm *Pediococcus* suşlarının geliştiği belirlenmiştir. Ayrıca *P. pentosaceus* dışında tüm suşların glukozdan gaz üretmediği de tespit edilmiştir (Çizelge 3. 12).

Bu suşların Tulum peyniri olgunlaştırma şartlarında gelişebilmeleri ile dekarboksilaz negatif olmalarına (Çizelge 3. 12) rağmen proteolitik aktivitelerinin çok yüksek olmasından (Çizelge 3. 12) dolayı starter olarak kullanılmasının uygun olmayacağı düşünülmektedir. Stiles ve Holzapfel (1997), *Pediococ*'ların değişik gıdalarda *Lactobacillus*'lar ve *Leuconostoc*'larla birlikte çok düşük sayıda bulunabileceğini belirtmektedirler. Tunail ve Köşker (1986), *Pediococ*'ların az da olsa süt ve ürünlerinde bulunabileceğini, fakat fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan bakteriler arasında *Pediococ*'ların yer almadığını belirtmektedirler. Khalid ve Marth (1990), *P. acidilactici*'nin yüksek proteolitik etkisiyle sert peynirlerin olgunlaştırılmasında rol oynadığını belirtmektedirler. Tulum peyniri yarı yumuşak bir

Çizelge 3. 11. Tulum peyniri örneklerinden identifiye edilen *Lactobacillus* suşlarının bazı biyokimyasal özellikleri

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb pb 2	-	+	+	+	+	+
Lb pb21	-	+	+	+	+	+
Lb pb26	-	+	+	+	+	+
Lb pb30	-	+	+	+	+	+
Lb pb33	-	+	+	+	+	+
Lb pb47	-	+	+	+	+	+
Lb pb50	-	+	+	+	+	+
Lb pb57	-	+	+	+	+	+
Lb pb58	-	+	+	+	+	+
Lb pb61	-	+	+	+	+	+
Lb pb62	-	+	+	+	+	+
Lb pb63	-	+	+	+	+	+
Lb pb64	-	+	+	+	+	+
Lb pb67	-	+	+	+	+	+
Lb pb71	-	+	+	+	+	+
Lb pb72	-	+	+	+	+	+
Lb pb73	-	+	+	+	+	+
Lb pb75	-	+	+	+	+	+
Lb pb76	-	+	+	+	+	+
Lb pb77	-	+	+	+	+	+
Lb pb78	-	+	+	+	+	+
Lb pb79	-	+	+	+	+	+
Lb pb80	-	+	+	+	+	±
Lb pb82	-	+	+	+	+	+
Lb pb83	-	+	+	+	+	+
Lb pb84	-	+	+	+	+	+
Lb pb85	-	+	+	+	+	+
Lb pb89	-	+	+	+	+	+
Lb pb90	-	+	+	+	+	+
Lb pb91	-	+	+	+	+	+
Lb pb94	-	+	+	+	+	+
Lb pb95	-	+	+	+	+	+
Lb pb97	-	+	+	+	+	+
Lb pb98	-	+	+	+	+	+
Lb pb99	-	+	+	+	+	+
Lb b100	-	+	+	+	+	+
Lbpb101	-	+	+	+	+	+

Çizelge 3.11. (devamı)

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb pb102	-	+	+	+	+	+
Lb pb106	-	+	+	+	+	+
Lb pb107	-	+	+	+	+	+
Lb pb109	-	+	+	+	+	+
Lb pb111	-	+	+	+	+	+
Lb pb118	-	+	+	+	+	+
Lb pb122	-	+	+	+	+	+
Lb pb137	-	+	+	+	+	+
Lb pb138	-	+	+	+	+	+
Lb pb140	-	+	+	+	+	+
Lb pb141	-	+	+	+	+	+
Lb pb142	-	+	+	+	+	+
Lb pb143	-	+	+	+	+	+
Lb pb144	-	+	+	+	+	+
Lb pb147	-	+	+	+	+	+
Lb pb148	-	+	+	+	+	+
Lb pb149	-	+	+	+	+	+
Lb pb150	-	+	+	+	+	±
Lb pb151	-	+	+	+	+	+
Lb pb152	-	+	+	+	+	+
Lb pb153	-	+	+	+	+	+
Lb pb154	-	+	+	+	+	+
Lb pb159	-	+	+	+	+	+
Lb pb160	-	+	+	+	+	+
Lb pb161	-	+	+	+	+	+
Lb pb166	-	+	+	+	+	+
Lb pb169	-	+	+	+	+	+
Lb pb172	-	+	+	+	+	+
Lb pb176	-	+	+	+	+	+
Lb pb178	-	+	+	+	+	+
Lb pb179	-	+	+	+	+	+
Lb pb180	-	+	+	+	+	+
Lb pb181	-	+	+	+	+	+
Lb pb185	-	+	+	+	+	+
Lb pb187	-	+	+	+	+	+
Lb pb192	-	+	+	+	+	+
Lb pb193	-	+	+	+	+	+
Lb pb194	-	+	+	+	+	+

Çizelge 3.11. (devamı)

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb pb195	-	+	+	+	+	±
Lb pb196	-	+	+	+	+	+
Lb pb197	-	+	+	+	+	+
Lb pb198	-	+	+	+	+	+
Lb pb199	-	+	+	+	+	+
Lb pb204	-	+	+	+	+	+
Lb pb205	-	+	+	+	+	+
Lb pb208	-	+	+	+	+	+
Lb pb209	-	+	+	+	+	+
Lb pb210	-	+	+	+	+	+
Lb pb211	-	+	+	+	+	+
Lb pb212	-	+	+	+	+	+
Lb pb213	-	+	+	+	+	+
Lb pb214	-	+	+	+	+	+
Lb pb217	-	+	+	+	+	+
Lb pb220	-	+	+	+	+	+
Lb pb224	-	+	+	+	+	+
Lb pb226	-	+	+	+	+	+
Lb pb228	-	+	+	+	+	+
Lb bf4	-	+	+	+	+	-
Lb bf5	-	+	+	+	+	-
Lb bf6	-	+	+	+	+	-
Lb bf8	-	+	+	+	+	-
Lb bf9	-	+	+	+	+	-
Lb bf11	-	+	+	+	+	-
Lb bf13	-	+	+	+	+	-
Lb bf19	-	+	+	+	+	-
Lb bf20	-	+	+	+	+	-
Lb bf23	-	+	+	+	+	-
Lb bf24	-	+	+	+	+	-
Lb bf36	-	+	+	+	+	-
Lb bf37	-	+	+	+	+	-
Lb bf41	-	+	+	+	+	-
Lb bf45	-	+	+	+	+	-
Lb bf48	-	+	+	+	+	-
Lb bf53	-	+	+	+	+	-
Lb bf54	-	+	+	+	+	-
Lb bf56	-	+	+	+	+	-

Çizelge 3.11. (devamı)

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb bf65	-	+	+	+	+	-
Lb bf66	-	+	+	+	+	-
Lb bf86	-	+	+	+	+	-
Lb bf96	-	+	+	+	+	-
Lb bf103	-	+	+	+	+	-
Lb bf105	-	+	+	+	+	-
Lb bf123	-	+	+	+	+	-
Lb bf126	-	+	+	+	+	-
Lb bf127	-	+	+	+	+	-
Lb bf128	-	+	+	+	+	-
Lb bf129	-	+	+	+	+	-
Lb bf130	-	+	+	+	+	-
Lb bf135	-	+	+	+	+	-
Lb bf136	-	+	+	+	+	-
Lb bf156	-	+	+	+	+	-
Lb bf163	-	+	+	+	+	-
Lb bf165	-	+	+	+	+	-
Lb bf167	-	+	+	+	+	-
Lb bf171	-	+	+	+	+	-
Lb bf175	-	+	+	+	+	-
Lb bf203	-	+	+	+	+	-
Lb bf207	-	+	+	+	+	-
Lb bf215	-	+	+	+	+	-
Lb bf218	-	+	+	+	+	-
Lb bf222	-	+	+	+	+	-
Lb bf227	-	+	+	+	+	-
Lb bf231	-	+	+	+	+	-
Lb bf232	-	+	+	+	+	-
Lb bf234	-	+	+	+	+	-
Lb bf236	-	+	+	+	+	-
Lb bf240	-	+	+	+	+	-
Lb b3	-	+	+	+	+	+
Lb b7	-	+	+	+	+	+
Lb b25	-	+	+	+	+	+
Lb b38	-	+	+	+	+	+
Lb b39	-	+	+	+	+	+
Lb b40	-	+	+	+	+	+

Çizelge 3.11. (devamı)

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb b42	-	+	+	+	+	+
Lb b92	-	+	+	+	+	+
Lb b124	-	+	+	+	+	+
Lb b139	-	+	+	+	+	+
Lb b145	-	+	+	+	+	+
Lb b164	-	+	+	+	+	+
Lb b182	-	+	+	+	+	+
Lb b202	-	+	+	+	+	+
Lb pc 31	-	+	+	+	+	-
Lb pc 34	-	+	+	+	+	-
Lb pc 87	-	+	+	+	+	-
Lb pc 113	-	+	+	+	+	-
Lb pc 116	-	+	+	+	+	-
Lb pc 117	-	+	+	+	+	-
Lb pc 125	-	+	+	+	+	-
Lb pc 132	-	+	+	+	+	-
Lb pc 170	-	+	+	+	+	-
Lb pc 173	-	+	+	+	+	-
Lb pc 174	-	+	+	+	+	-
Lb pc 177	-	+	+	+	+	-
Lb pc 186	-	+	+	+	+	-
Lb pc 221	-	+	+	+	+	-
Lb f10	-	-	+	+	+	+
Lb f12	-	-	+	+	+	+
Lb f27	-	-	+	+	+	+
Lb f28	-	-	+	+	+	+
Lb f74	-	-	+	+	+	+
Lb f114	-	-	+	+	+	+
Lb f120	-	-	+	+	+	+
Lb f121	-	-	+	+	+	+
Lb f184	-	-	+	+	+	+
Lb f200	-	-	+	+	+	+
Lb f223	-	-	+	+	+	+
Lb f239	-	-	+	+	+	+
Lb sue1	-	+	+	+	+	+
Lb sue43	-	+	+	+	+	+
Lb sue44	-	+	+	+	+	+
Lb sue46	-	+	+	+	+	+

Çizelge 3.11. (devamı)

Suşlar	5°C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
Lb sue49	-	+	+	+	+	+
Lb sue110	-	+	+	+	+	+
Lb sue112	-	+	+	+	+	+
Lb sue162	-	+	+	+	+	+
Lb cl6	-	+	+	+	+	-
Lb cl7	-	+	+	+	+	-
Lb c55	-	+	+	+	+	-
Lb cl19	-	+	+	+	+	-
Lb cl55	-	+	+	+	+	-
Lb c216	-	+	+	+	+	-
Lb mf81	-	+	+	+	+	+
Lb mf229	-	+	+	+	+	+
Lb mf230	-	+	+	+	+	+
Lb mf235	-	+	+	+	+	+
Lb mf238	-	+	+	+	+	+
Lb co35	-	+	+	+	+	+
Lb co93	-	+	+	+	+	+
Lb co146	+	+	+	+	+	+
Lb co219	+	+	+	+	+	+
Lb cb134	-	+	+	+	+	+
Lb cb233	-	+	+	+	+	+
Lb cb237	-	+	+	+	+	+
Lb cyf14	-	+	+	+	+	-
Lb cyf29	-	+	+	+	+	-
Lb cyf115	-	+	+	+	+	-
Lb cf52	-	+	+	+	+	+
Lb cf108	-	+	+	+	+	+
Lb kf68	-	+	+	+	+	+
Lb kf70	-	+	+	+	+	+
Lb va191	±	+	+	+	+	+
Lb va225	±	+	+	+	+	+
Lb brv190	-	+	+	+	+	+
Lb he88	-	-	+	+	+	-

Lb pb: *Lactobacillus parabuchneri*; Lb bf: *Lactobacillus bif fermentans*; Lb b :*Lactobacillus buchneri*; Lb P: *Lactobacillus paracasei*; Lb f: *Lactobacillus fermentum*; Lb sue: *Lactobacillus suebicus*; Lb c: *Lactobacillus casei*; Lb mf: *Lactobacillus malefermentans*; Lb co: *Lactobacillus collinoides*; Lb cb: *Lactobacillus cellobiosus*; Lb cyf: *Lactobacillus coryniformis*; Lb cf: *Lactobacillus confusus (Weissella confusa)*; Lb kf: *Lactobacillus kefir*; Lb va: *Lactobacillus vacciniostercus*; Lb brv: *Lactobacillus brevis*; Lb. he: *Lactobacillus helveticus*.

peynir çeşidi olduğundan *P acidilactici*'nin Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılmasının uygun olamayacağı sonucuna varılabilir.

Çizelge 3. 12. Tulum peyniri örneklerinden identifiye edilen *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının bazı fizyolojik ve biyokimyasal test sonuçları

Suşlar	5 °C'de gelişme	10 °C'de gelişme	37 °C'de gelişme	% 2'lik NaCl'de gelişme	% 6.5'lik NaCl'de gelişme	Glukozdan gaz üretimi
P ac15	-	+	+	+	+	-
P ac18	-	+	+	+	+	-
P ac51	-	+	+	+	+	-
P ac59	-	+	+	+	+	-
P ac60	-	+	+	+	+	-
P ac104	-	+	+	+	+	-
P ac133	-	+	+	+	+	-
P ac157	-	+	+	+	+	-
P ac158	-	+	+	+	+	-
P ac183	-	+	+	+	+	-
P ac189	-	+	+	+	+	-
P par32	-	+	+	+	-	-
P par131	-	+	+	+	-	-
P par168	-	+	+	+	+	-
P pen69	-	+	+	+	+	+
P dam201	-	+	+	+	+	-
P hal188	-	+	+	+	+	-
Leu.psm22	-	+	+	+	+	+
Leu. oe206	-	+	+	+	+	+

P. ac: *Pediococcus acidilactici*; *P. par*: *Pediococcus parvulus*; *P. pen*: *Pediococcus pentosaceus*; *P. dam*: *Pediococcus damnosus*; *P. hal*: *Pediococcus halophilus* (*Tetragenococcus halophila*); *Leu. psm*: *Leuconostoc pseudomesenteroides*; *Leu. oe*: *Leuconostoc oenes* (*Oenococcus oeni*).

Ayhan (2000), *Pediococcus*'ların laktozu kolay kullanamadıkları ve gelişebilmeleri için gerekli olan faktörlerin bulunmaması nedeniyle sütte iyi gelişemediklerini belirtmektedir. Aynı zamanda *P. halophilus* (*Tetragenococcus halophila*)'un yeni bir

tür olduğunu ve yüksek tuz içeren ürünlerde serbest amino asitleri dekarboksile ederek bozulmalara yol açtıklarını da ifade etmektedir.

İdentifiye edilen *Leuconostoc* suşlarından *Leu. pseudomesenteroides* ve *Leu. oenes* suşlarının 5 °C sıcaklıkta gelişmedikleri ancak, 10 °C ve 37 °C sıcaklıkta geliştikleri; % 2'lik NaCl ile % 6.5'lik NaCl konsantrasyonlarında geliştikleri, aynı zamanda her iki suşun glukozdan gaz ürettikleri tespit edilmiştir (Çizelge 3.11).

Leuconostoc'ların şeker rafinerilerinde dekstran üreterek bozulmalara, şarap üretiminde ise şarabın kalitesi için gerekli olan malolaktik fermentasyona neden olmaları ve süt ürünleri fermentasyonlarında da sitrattan aroma üretiminde rol oynamalarıyla gıda endüstrisinde önemli olduklarını belirtilmektedir (Patarata et al. 1994, Stiles ve Holzapfel 1997, Farias et al. 2000). Tunail ve Köşker (1986), fermente süt ürünlerinde starter kültür olarak kullanılan *Leuconostoc* türünün *Leu. cremoris* (*Leu. citrovorum*) olduğunu ifade etmektedirler. Temelli (2000) ise, fermente süt ürünleri teknolojisinde *Leuconostoc*'lardan *Leu. cremoris*, *Leu. lactis*, *Leu. dextranicum*, *Leu. mesenteroides*, *Leu. paramesenteroides*, *Leu. oenes*'in asit ve/veya aroma oluşturan bu cinslerinin tek, çok veya karışık suş karışımlarının starter kültür olarak kullanılabileceğini belirtmektedir.

Bu araştırmada identifiye edilen *Leuconostoc* suşlarının Tulum peynirinin depolandığı sıcaklıkta ve peynirde bulunan en yüksek tuz miktarında gelişebileceği anlaşılmaktadır (Tablo 3. 12). Ancak, heterofermentatif olmaları ve proteolitik aktivitelerinin de çok yüksek olmasından dolayı Tulum peynirinde starter olarak kullanılmasının uygun olmayacağı düşünülebilir. Buna rağmen *Leuconostoc*'ların aroma gelişiminde önem taşımalarından dolayı peynir üretiminde tek veya diğer starterlerle birlikte denendikten sonra kullanılabileceğine karar verilmelidir.

3. 5. 2. Bakterilerin Asit Üretimlerinin Belirlenmesi

Tulum peynirinden identifiye edilen laktik asit bakterilerinin asit oluşturma kapasiteleri Çizelge 3. 13 ve 3. 14’de verilmiştir. Çizelgelerin incelenmesinden de anlaşılaçağı gibi Tulum peynirinden identifiye edilen *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının 6 saatlik Δ pH ve 24 saatlik Δ pH değerlerinin birbirlerine yakın değişim göstermediğı tespit edilmiştir. Suşların 6 saatlik asit oluşturma aktivitelerinin, Δ pH olarak, *Lactobacillus* suşlarında 0.012 ile 0.43 arasında, *Pediococcus* suşlarında 0.04 ile 0.32 arasında *Leuconostoc* suşlarında ise 0.04 ile 0.22 arasında değıştiğı tespit edilmiştir.

Suşların 24 saatlik asit oluşturma aktiviteleri Δ pH olarak; *Lactobacillus* suşlarında 0.22 ile 0.95 arasında, *Pediococcus* suşlarında 0.27 ile 1.49 arasında, *Leuconostoc* suşlarında ise 0.27 ile 0.53 arasında değıştiğı belirlenmiştir.

Lactobacillus’lar asitlik yönünden suş düzeyinde değerlendirildiğı zaman, suşlar arasında çok büyük farklar olduğı görölmektedir (Çizelge 3. 13).

Araştırmada tanımlanan *Lb. parabuchneri*’nin 94 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. pb 141*’de 0.012 ve *Lb. pb 98*, *Lb. pb 107*, *111* ve *209*’da 0.25 ve *Lb. pb 95* ve *97*’de 0.30 ile *Lb. pb 98*’de 0.73 olarak belirlenmiştir.

Lb. bifementans’ın 50 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. bf 5,48*, *53,54* suşlarında 0.10 ile *Lb. bf 96*’da 0.26 ve *Lb. bf 54* ve *Lb. bf 105*’de 0.30 ile *Lb. bf 203*’de 0.79 olarak belirlenmiştir.

Lb. buchneri'nin 14 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. b* 92 'de 0.06 ile *Lb.b* 202'de 0.26 ve *Lb. b* 124'de 0.33 ile *Lb. b* 202'de 0.95 olarak tespit edilmiştir.

Lb. paracasei'nin 14 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. pc* 87 'de 0.11 ile *Lb. pc* 177'de 0.28 ve *Lb. pc* 87 'de 0.37 ile *Lb. pc* 113 'de 0.66 olarak tespit edilmiştir.

Lb. fermentum'un 12 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. f* 12'de 0.10 ile *Lb. f* 184'de 0.22 ve *Lb. f* 10'da 0.30 ile *Lb. f* 74'de 0.63 olarak belirlenmiştir.

Lb. suebicus'un 8 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. sue* 44'de 0.04 ile *Lb. sue* 49'da 0.36 ve *Lb. sue* 46'da 0.25 ile *Lb. sue* 49'da 0.76 olarak belirlenmiştir.

Lb. casei'nin 6 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. c* 17'de 0.13 ile *Lb. c* 216'da 0.21 ve *Lb. c* 17'de 0.29 ile *Lb. c* 216'da 0.50 olarak tespit edilmiştir. De Cardenas et al. (1992), suşların asit üretim miktarının peynir kalitesi için önemli olduğunu ve *Lactobacillus casei* ATCC 7469 suşunun 22 °C'de 6 saat inkübasyon sonunda Δ pH değerinin 0.5, 24 saat inkübasyon sonunda 1.5'e ulaştığını tespit etmişlerdir. Bahsedilen araştırma sonuçları bu araştırma sonuçları ile benzerlik göstermemektedir.

Karakuş'un (1994) yapmış olduğu çalışmada *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* türlerinin asit oluşturma aktivitelerinin çok yavaş olduğu (Δ pH=0.06 - 0.32) belirlenmiştir. Bu araştırma sonuçları ile mukayese edildiğinde, sonuçların benzer olmadığı ortaya çıkmaktadır. Requena et al. (1991) keçi sütünden yapılan ve yarı sert bir peynir çeşidi

olan Majorero peynirinden izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının özelliklerini çalıştıkları araştırmada, 6 saatlik inkübasyon sonunda asit üretimlerini (% laktik asit cinsinden) *Lactobacillus casei* IFPL 936 suşunda 0.04 ve *Lb. casei* IFPL 725 suşunda ise 0.03 olarak belirlemişlerdir. Aynı araştırmada *Lb. plantarum* IFPL 722 suşunda 0.07 ve *Lb. plantarum* IFPL 729 suşunda ise 0.03 olarak tespit etmişlerdir.

Vignolo et al. (1988), 13 adet *Lb. plantarum* ve 5 adet *Lb. casei* suşunun farklı sıcaklık ve farklı tuz konsantrasyonlarında asit oluşturma kapasitesini incelemişlerdir. 30 °C'de 5 günlük inkübasyon sonunda Δ pH değerlerinin 2.15 ile 3.00 arasında olduğunu ve çoğu suşların 30 °C'de maksimum asit üretimi ortaya koyduklarını belirlemişlerdir. *Lb. casei* suşlarında en yüksek asit üretimi, titrasyon asitliği cinsinden, 25 °C'de *Lb. casei* GV 422'de 0.744 ve farklı tuz konsantrasyonlarından % 3 NaCl'de 30 °C'de *Lb. casei* GV 811'de 0.420 olarak belirlemişlerdir. Durlu-Özkaya (2001), *Lactobacillus* suşlarının 6 saatlik inkübasyon sonunda Δ pH değerlerinin çok düşük (0.00 ile 0.20), 24 saatlik inkübasyon sonunda ise Δ pH değerlerinin 1.00 ile 1.60 düzeyinde olduğunu tespit etmiştir.

De Giori et al. (1985) tarafından yapılan bir araştırmada, Tafi peynirinden tanımlanan *Lb casei* suşlarının asit oluşturma hızlarının bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde yavaş asit (Δ pH<1.0) oluşturdıkları belirlemiştir.

Lb. malefermentans'ın 5 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. mf* 229'da 0.06 ile *Lb. mf* 81'de 0.25 ve *Lb. mf* 229'da 0.22 ile *Lb. mf* 235'de 0.60 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Lb. collinoides'in 4 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. co 35*'de 0.08 ile *Lb. co 146*'da 0.21 ve *Lb. co 93*'de 0.30 ile *Lb. co 146*'da 0.75 olarak belirlenmiştir.

Lb. cellobiosus'un 3 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. cb 237*'de 0.15 ile *Lb. cb 134*'de 0.24 ve *Lb. cb 237*'de 0.71 ve *Lb. cb 134* ile *Lb. cb 233*'te 0.74 olarak belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Lb. coryniformis'in 3 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. cyf 29*'da 0.08 ile *Lb. cyf 115*'de 0.24 ve *Lb. cyf 29*'da 0.26 ile *Lb. cyf 115*'de 0.49 olarak belirlenmiştir.

Lb. confusus'un (*Weissella confusa*) 2 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. cf 52*'de 0.07 ile *Lb. cf 108*'de 0.17 ve *Lb. cf 52*'de 0.30 ile *Lb. cf 108*'de 0.59 olarak belirlenmiştir.

Lb. kefir'in 2 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. kf 68*'de 0.15 ile *Lb. kf 170*'de 0.19 ve *Lb. kf 68*'de 0.52 ile *Lb. kf 70*'de 0.74 olarak belirlenmiştir.

Lb. vaccinostercus'un 2 suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak, en düşük ve en yüksek değerler *Lb. va 225*'de 0.13 ile *Lb. va 191*'de 0.43 ve *Lb. va 225*'de 0.57 ile *Lb. va 191*'de 0.94 olarak belirlenmiştir.

Araştırmada tanımlanan 1 adet *Lb. brevis* suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değerleri Δ pH olarak 0.22 ve 0.69 olarak belirlenmiştir. 1 adet *Lb. helveticus* suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değeri en düşük ve en yüksek değerler Δ pH olarak sırasıyla 0.05 ve 0.24 olarak belirlenmiştir.

Suş düzeyinde değerlendirme yapıldığında 6 saatlik asit oluşturma özelliği, ΔpH olarak, 11 adet *Pediococcus acidilactici* suşunda en düşük değer *P. ac 18*'de 0.09, en yüksek değer ise *P. ac 15* suşunda 0.21 olarak, 24 saatlik asit oluşturma özelliği ise en düşük *P. ac 18*'de 0.31, en yüksek değer ise *P. ac 59*'da 0.44 olarak belirlenmiştir.

Pediococcus parvulus'un 3 suşunda 6 saatlik en düşük değer *P. par 168*'de 0.20 , en yüksek değer ise *P. par 32*'de 0.25 ve *P. par 131*'de 0.25, 24 saatlik asit oluşturma özelliği ise en düşük *P. par 131*'de 0.45 ve *P. par 168*'de 0.45, en yüksek değer ise *P. par 32*'de 0.61 olarak belirlenmiştir (izelge 3. 14).

Araştırmada identifiye edilen sadece 1 adet *P. damnosus*, 1 adet *P. halophilus* ve 1 adet *P. pentosaceus* suşunda 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değeri en düşük ve en yüksek olarak sırasıyla ΔpH olarak, 0.04 ve 0.27, 0.25 ve 0.65 ve 0.32 ve 1.49 olarak belirlenmiştir.

Araştırmada tanımlanan tüm suşlar arasında 24 saatlik asit oluşturma değeri en yüksek *P. pentosaceus* suşunda belirlenmiştir (izelge 3. 13).

Leuconostoc'lar suş düzeyinde değerlendirildiğinde 6 saatlik ve 24 saatlik asit oluşturma değeri sırasıyla ΔpH olarak, *Leu. psm*'de 0.04 ve 0.27, *Leu. oe*'de ise 0.22 ve 0.53 olarak belirlenmiştir (izelge 3. 14).

Lactobacillus ve *Leuconostoc* suşlarının tamamının, *Pediococcus* suşlarının ise 1 tanesi hariç (*P. pen 69*) Karakuş (1994)'un kullandığı kriterlere göre yavaş asit ($\Delta pH < 1.0$) oluşturduğu, *P. pentosaceus*'un ise orta düzeyde ($1.0 < \Delta pH < 1.50$) asit ürettiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte *Lactobacillus* suşlarından *Lb. b 202*, *Lb. vac 191* ile *Pediococcus* suşlarından *P. damnosus 201*'in diğerlerine oranla daha yüksek bir değerde ($\Delta pH = 0.80$) asit oluşturma aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Suşların

hiçbirinde yüksek düzeyde asit ($\Delta pH > 1.50$) oluşturma aktivitesi belirlenmemiştir (Çizelge 3. 13 ve 3. 14). Ancak daha kapsamlı bir araştırma ile suş sayısının artırılarak daha aktif suşların elde edilebilmesi sağlanabilir.

Lactobacillus suşlarının 24 saatlik ΔpH değerleri incelendiğinde en yüksek asit oluşturma özelliğine *Lb b202*'nin sahip olduğu ($\Delta pH = 0.95$) tespit edilmiştir. *Pediococcus* suşlarında *P pen 69* ($\Delta = 1.49$), *Leuconostoc* suşlarında ise *Leu. oenes 206* ($\Delta pH = 0.53$) olduğu tespit edilmiştir. Yapılan farklı çalışmalarda da genellikle *Lactobacillus* suşlarının yavaş asit oluşturdıkları belirtilmektedir (De Giori et al.1985, Karakuş 1994, Durlu –Özkaya 2001).

Suşların asit üretim miktarı peynirin kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Üretim başlangıcında aşırı asitlik gelişiminin kötü kaliteli, çok acı tat ve kolayca ufalanabilen bir yapıya sahip peynir elde edilmesine sebep olduğu, yavaş asit üreten suşların ise acılık oluşumuna neden olmayacağı belirtilmektedir (de Cardenas et al. 1992).

Karakuş (1994) ve Durlu-Özkaya (2001)'nin belirttiği kriterlere göre, bu çalışmada elde edilen tüm *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* suşları yavaş asit geliştirdiklerinden dolayı, Tulum peyniri üretiminde starter kültür olarak kullanılmaları önerilebilir. Ancak bu niteliğe sahip suşların peynirde acılaşmaya neden olabileceği gözönüne alınarak, tek veya karışık kültür olarak kullanılacak suşların peynir üretiminde denendikten ve asitlik yanında diğer özelliklerin de dikkate alındıktan sonra stater kültür olarak seçilmesinin daha uygun olacağı söylenebilir. Bunların yanısıra karışık kültürlerde mikroorganizmaların simbiyotik ilişki sonucu daha hızlı asit oluşturabilecekleri de unutulmamalıdır.

3. 5. 3. Suşların Proteolitik Aktivite Değerleri

Tulum peynirlerinden tanımlanan suşların proteolitik aktivite değerleri (PAD) Çizelge 3.13 ve 3. 14’de verilmiştir. Çizelge 3.13’den de görüldüğü gibi *Lactobacillus* suşlarının PAD de birbirinden önemli derecede farklılık göstermiştir.

Lactobacillus suşlarında en düşük PAD *Lb. sue 162* (35 µg tirosin /ml), en yüksek PAD ise *Lb b 3* (98 µg tirosin /ml) suşunda belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Suş düzeyinde değerlendirme yapıldığında araştırmada identifiye edilen 94 adet *Lb. parabuchneri* suşunda en düşük PAD *Lb. pb 143*, *Lb. pb 151* ve *Lb. pb 196* suşunda (49.0µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. pb 208* suşunda (89.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir.

Araştırmada tanımlanan 50 adet *Lb. bifementans* suşundan en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. bf 167* ve *Lb. bf 227* suşunda (48.0µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. bf 136* suşunda (78.0 µg tirosin /ml) tespit edilmiştir (Çizelge 3. 13).

İdentifiye edilen 14 adet *Lb. buchneri* suşundan en düşük PAD *Lb. b 119* suşunda (39.0 µg tirosin /ml), en yüksek PAD ise *Lb. b3* suşunda (98.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir. İdentifiye edilen tüm suşlar içerisinde en yüksek PAD *Lb. buchneri* suşları göstermiştir (Çizelge 3.13).

İdentifiye edilen 14 adet *Lb. paracasei* suşundan en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. pc 125* suşunda (49.0 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. pc 170* suşunda (66.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir.

Çizelge 3. 13. *Lactobacillus* suşlarının asidifikasyon, dekarboksilaz aktivite ve proteolitik aktivite değerleri

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb pb2	0.12	0.40	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb21	0.11	0.40	-	-	-	+	+	58.0
Lb pb26	0.11	0.40	-	-	-	+	+	79.0
Lb pb30	0.12	0.44	-	-	-	+	+	69.0
Lb pb33	0.13	0.46	-	-	-	+	+	66.0
Lb pb47	0.14	0.44	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb50	0.14	0.40	-	-	-	+	+	66.0
Lb pb57	0.11	0.36	-	-	-	+	+	88.0
Lb pb58	0.15	0.40	-	-	-	+	+	86.0
Lb pb61	0.20	0.60	-	-	-	+	+	74.0
Lb pb62	0.20	0.60	-	-	-	+	+	69.0
Lb pb63	0.11	0.40	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb64	0.12	0.40	-	-	-	+	+	80.0
Lb pb67	0.12	0.38	-	-	-	+	+	76.0
Lb pb71	0.14	0.38	-	-	-	+	+	69.0
Lb pb72	0.15	0.48	-	-	-	+	+	58.0
Lb pb73	0.18	0.50	-	-	-	+	+	64.0
Lb pb75	0.18	0.50	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb76	0.18	0.52	-	-	-	+	+	86.0
Lb pb77	0.10	0.35	-	-	-	+	+	84.0
Lb pb78	0.10	0.35	-	-	-	+	+	88.0
Lb pb79	0.12	0.38	-	-	-	+	+	76.0
Lb pb80	0.13	0.52	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb82	0.12	0.40	-	-	-	+	+	71.0
Lb pb83	0.14	0.40	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb84	0.14	0.41	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb85	0.11	0.38	-	-	-	+	+	59.0
Lb pb89	0.14	0.41	-	-	-	+	+	69.0
Lb pb90	0.12	0.40	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb91	0.12	0.38	-	-	-	+	+	72.0
Lb pb94	0.10	0.32	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb95	0.08	0.30	-	-	-	+	+	80.0
Lb pb97	0.17	0.30	-	-	-	+	+	86.0
Lb pb98	0.25	0.73	-	-	-	+	+	57.0
Lb pb99	0.17	0.38	-	-	-	+	+	69.0

Çizelge 3. 13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb pb100	0.16	0.42	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb101	0.14	0.42	-	-	-	+	+	59.0
Lb pb102	0.14	0.47	-	-	-	+	+	61.0
Lb pb106	0.20	0.58	-	-	-	+	+	84.0
Lb pb107	0.25	0.60	-	-	-	+	+	83.0
Lb pb109	0.24	0.60	-	-	-	+	+	64.0
Lb pb111	0.25	0.62	-	-	-	+	+	69.0
Lb pb118	0.16	0.41	-	-	-	+	+	71.0
Lb pb122	0.12	0.47	-	-	-	+	+	58.0
Lb pb137	0.15	0.51	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb138	0.15	0.48	-	-	-	+	+	71.0
Lb pb140	0.12	0.32	-	-	-	+	+	86.0
Lb pb141	0.012	0.63	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb142	0.17	0.41	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb143	0.11	0.32	-	-	-	+	+	49.0
Lb pb144	0.12	0.38	-	-	-	+	+	74.0
Lb pb147	0.09	0.30	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb148	0.13	0.40	-	-	-	+	+	59.0
Lb pb149	0.15	0.38	-	-	-	+	+	71.0
Lb pb150	0.11	0.41	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb151	0.11	0.32	-	-	-	+	+	49.0
Lb pb152	0.11	0.32	-	-	-	+	+	57.0
Lb pb153	0.14	0.38	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb154	0.14	0.44	-	-	-	+	+	84.0
Lb pb159	0.15	0.46	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb160	0.13	0.43	-	-	-	+	+	57.0
Lb pb161	0.13	0.38	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb166	0.12	0.36	-	-	-	+	+	61.0
Lb pb169	0.11	0.32	-	-	-	+	+	74.0
Lb pb172	0.12	0.32	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb176	0.11	0.34	-	-	-	+	+	84.0
Lb pb178	0.13	0.36	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb179	0.15	0.36	-	-	-	+	+	70.0
Lb pb180	0.15	0.40	-	-	-	+	+	64.0
Lb pb181	0.15	0.38	-	-	-	+	+	59.0

Çizelge 3. 13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb pb185	0.14	0.36	-	-	-	+	+	54.0
Lb pb187	0.14	0.36	-	-	-	+	+	59.0
Lb pb192	0.11	0.32	-	-	-	+	+	66.0
Lb pb193	0.10	0.34	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb194	0.10	0.35	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb195	0.10	0.36	-	-	-	+	+	88.0
Lb pb196	0.12	0.38	-	-	-	+	+	49.0
Lb pb197	0.12	0.36	-	-	-	+	+	78.0
Lb pb198	0.10	0.36	-	-	-	+	+	59.0
Lb pb199	0.12	0.40	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb204	0.12	0.44	-	-	-	+	+	81.0
Lb pb205	0.10	0.38	-	-	-	+	+	88.0
Lb pb208	0.18	0.51	-	-	-	+	+	89.0
Lb pb209	0.25	0.58	-	-	-	+	+	80.0
Lb pb210	0.24	0.56	-	-	-	+	+	76.0
Lb pb211	0.22	0.54	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb212	0.22	0.56	-	-	-	+	+	61.0
Lb pb213	0.21	0.59	-	-	-	+	+	71.0
Lb pb214	0.18	0.50	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb217	0.10	0.41	-	-	-	+	+	80.0
Lb b220	0.11	0.38	-	-	-	+	+	54.0
Lb pb224	0.10	0.36	-	-	-	+	+	61.0
Lb pb226	0.12	0.38	-	-	-	+	+	68.0
Lb pb228	0.18	0.44	-	-	-	+	+	64.0
Lb bf4	0.14	0.51	-	-	-	+	-	66.0
Lb bf5	0.10	0.45	-	-	-	+	-	58.0
Lb bf6	0.16	0.50	-	-	-	+	-	54.0
Lb bf8	0.15	0.48	-	-	-	+	-	69.0
Lb bf9	0.15	0.52	-	-	-	+	-	75.0
Lb bf11	0.17	0.49	-	-	-	+	-	59.0
Lb bf13	0.18	0.55	-	-	-	+	-	66.0
Lb bf19	0.16	0.48	-	-	-	+	-	64.0
Lb bf20	0.16	0.50	-	-	-	+	-	55.0
Lb bf23	0.14	0.44	-	-	-	+	-	69.0
Lb bf24	0.14	0.46	-	-	-	+	-	74.0
Lb bf36	0.13	0.42	-	-	-	+	-	64.0

Çizelge 3. 13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb bf37	0.13	0.49	-	-	-	+	-	69.0
Lb bf41	0.13	0.48	-	-	-	+	-	54.0
Lb bf45	0.12	0.48	-	-	-	+	-	74.0
Lb bf48	0.10	0.42	-	-	-	+	-	61.0
Lb bf53	0.10	0.42	-	-	-	+	-	64.0
Lb bf54	0.10	0.30	-	-	-	+	-	56.0
Lb bf56	0.18	0.50	-	-	-	+	-	61.0
Lb bf65	0.11	0.40	-	-	-	+	-	74.0
Lb bf66	0.11	0.40	-	-	-	+	-	49.0
Lb bf86	0.11	0.40	-	-	-	+	-	61.0
Lb bf96	0.26	0.73	-	-	-	+	-	76.0
Lb bf103	0.21	0.60	-	-	-	+	-	60.0
Lb bf105	0.11	0.30	-	-	-	+	-	59.0
Lb bf123	0.16	0.45	-	-	-	+	-	62.0
Lb bf126	0.20	0.55	-	-	-	+	-	59.0
Lb bf127	0.20	0.56	-	-	-	+	-	54.0
Lb bf128	0.18	0.48	-	-	-	+	-	68.0
Lb bf129	0.11	0.44	-	-	-	+	-	49.0
Lb bf130	0.11	0.42	-	-	-	+	-	68.0
Lb bf135	0.12	0.44	-	-	-	+	-	71.0
Lb bf136	0.16	0.49	-	-	-	+	-	78.0
Lb bf156	0.15	0.47	-	-	-	+	-	51.0
Lb bf163	0.14	0.50	-	-	-	+	-	64.0
Lb bf165	0.21	0.50	-	-	-	+	-	54.0
Lb bf167	0.15	0.48	-	-	-	+	-	48.0
Lb bf171	0.20	0.55	-	-	-	+	-	62.0
Lb bf175	0.16	0.47	-	-	-	+	-	58.0
Lb bf203	0.08	0.79	-	-	-	+	-	71.0
Lb bf207	0.18	0.50	-	-	-	+	-	72.0
Lb bf215	0.20	0.50	-	-	-	+	-	66.0
Lb bf218	0.20	0.58	-	-	-	+	-	64.0
Lb bf222	0.21	0.58	-	-	-	+	-	51.0
Lb bf227	0.21	0.57	-	-	-	+	-	48.0
Lb bf231	0.11	0.44	-	-	-	+	-	59.0
Lb bf232	0.18	0.48	-	-	-	+	-	68.0
Lb bf234	0.18	0.50	-	-	-	+	-	74.0

Çizelge 3. 13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb bf236	0.11	0.44	-	-	-	+	-	66.0
Lb bf240	0.12	0.44	-	-	-	+	-	61.0
Lb b3	0.22	0.44	+	-	-	+	-	98.0
Lb b7	0.20	0.42	+	-	-	+	-	81.0
Lb b25	0.20	0.40	+	-	-	+	-	83.0
Lb b38	0.15	0.45	+	-	-	+	-	85.0
Lb b39	0.12	0.36	+	-	-	+	-	86.0
Lb b40	0.18	0.44	+	-	-	+	-	86.0
Lb b42	0.17	0.43	+	-	-	+	-	76.0
Lb b92	0.06	0.34	+	-	-	+	-	88.0
Lb b124	0.11	0.33	+	-	-	+	-	73.0
Lb b139	0.10	0.54	+	-	-	+	-	76.0
Lb b145	0.13	0.39	+	-	-	+	-	78.0
Lb b164	0.16	0.42	+	-	-	+	-	80.0
Lb b182	0.18	0.39	+	-	-	+	-	83.0
Lb b202	0.26	0.95	+	-	-	+	-	84.0
Lb pc31	0.20	0.51	-	-	-	+	-	51.0
Lb pc 34	0.18	0.47	-	-	-	+	-	56.0
Lb pc 87	0.11	0.37	-	-	-	+	-	59.0
Lb pc 113	0.28	0.66	-	-	-	+	-	52.0
Lb P116	0.25	0.53	-	-	-	+	-	61.0
Lb pc 117	0.19	0.48	-	-	-	+	-	64.0
Lb pc 125	0.20	0.48	-	-	-	+	-	49.0
Lb pc 132	0.19	0.61	-	-	-	+	-	54.0
Lb pc 170	0.18	0.40	-	-	-	+	-	66.0
Lb pc 173	0.27	0.46	-	-	-	+	-	50.0
Lb pc 174	0.22	0.48	-	-	-	+	-	58.0
Lb pc 177	0.28	0.54	-	-	-	+	-	54.0
Lb pc 186	0.18	0.51	-	-	-	+	-	61.0
Lb pc 221	0.17	0.51	-	-	-	+	-	62.0
Lb f10	0.15	0.30	-	-	-	+	-	50.0
Lb f12	0.10	0.61	-	-	-	+	-	48.0
Lb f27	0.12	0.55	-	-	-	+	-	58.0
Lb f28	0.16	0.52	-	-	-	+	-	54.0
Lb f74	0.21	0.63	-	-	-	+	-	58.0
Lb f114	0.12	0.52	-	-	-	+	-	46.0

Çizelge 3. 13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb fl20	0.14	0.50	-	-	-	+	-	49.0
Lb fl21	0.20	0.58	-	-	-	+	-	54.0
Lb fl84	0.22	0.52	-	-	-	+	-	49.0
Lb f200	0.21	0.56	-	-	-	+	-	51.0
Lb f223	0.21	0.51	-	-	-	+	-	54.0
Lb f239	0.20	0.58	-	-	-	+	-	47.0
Lb sue1	0.15	0.38	-	-	-	+	-	37.0
Lb sue43	0.20	0.56	-	-	-	+	-	69.0
Lb sue44	0.04	0.34	-	-	-	+	-	54.0
Lb sue46	0.05	0.25	-	-	-	+	-	48.0
Lb sue49	0.36	0.76	-	-	-	+	-	39.0
Lb sue110	0.12	0.38	-	-	-	+	-	44.0
Lb sue112	0.18	0.40	-	-	-	+	-	49.0
Lb sue162	0.15	0.43	-	-	-	+	-	35.0
Lb c16	0.16	0.34	-	-	-	-	-	68.0
Lb c17	0.13	0.29	-	-	-	-	-	56.0
Lb c55	0.16	0.42	-	-	-	-	-	45.0
Lb c119	0.15	0.40	-	-	-	-	-	39.0
Lb c155	0.16	0.42	-	-	-	-	-	46.0
Lb c216	0.21	0.50	-	-	-	-	-	44.0
Lb mf81	0.25	0.46	-	-	-	-	-	48.0
Lb mf229	0.06	0.22	-	-	-	-	-	51.0
Lb mf230	0.14	0.52	-	-	-	-	-	58.0
Lb mf235	0.17	0.60	-	-	-	-	-	46.0
Lb mf238	0.19	0.42	-	-	-	-	-	49.0
Lb co35	0.08	0.54	-	-	-	-	-	88.0
Lb co93	0.15	0.30	-	-	-	-	-	81.0
Lb co146	0.21	0.75	-	-	-	-	-	78.0
Lb co219	0.15	0.50	-	-	-	-	-	82.0
Lb cb134	0.24	0.74	-	-	-	-	-	48.0
Lb cb233	0.22	0.74	-	-	-	-	-	51.0
Lb cb237	0.15	0.71	-	-	-	-	-	59.0
Lb cyf14	0.15	0.45	-	-	-	-	-	76.0
Lb cyf29	0.08	0.26	-	-	-	-	-	72.0
Lb cyf115	0.24	0.49	-	-	-	-	-	79.0
Lb cf52	0.07	0.30	-	-	-	-	-	47.0

Çizelge 3.13. (devamı)

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6 saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
Lb cf108	0.17	0.59	-	-	-	-	-	49.0
Lb kf68	0.15	0.52	-	-	-	-	-	58.0
Lb kf70	0.19	0.74	-	-	-	-	-	76.0
Lb va191	0.43	0.94	-	-	-	-	-	54.0
Lb va225	0.13	0.57	-	-	-	-	-	58.0
Lb brv190	0.22	0.69	-	-	-	+	-	58.0
Lb he88	0.05	0.24	-	-	-	+	-	50.0

Tanımlanan 12 adet *Lb. fermentum* suşunda ise en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. f 114* suşunda (46 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. f 27* ve *Lb. f 74* suşunda (58.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3.13).

Lb. suebicus'un 8 adet suşunda en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. sue 162* suşunda (35 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. sue 43* suşunda (69.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Tulum peyniri örneklerinden identifiye edilen 6 adet *Lb. casei* suşundan PAD en düşük suş *Lb. c 119* (39.0 µg tirosin /ml), en yüksek PAD *Lb. c 16* (68.0 µg tirosin /ml) olarak belirlenmiştir. Durlu-Özkaya (2001), *Lb. casei* suşlarında en düşük PAD 37.4 µg tirosin /ml, en yüksek değeri ise 57.3 µg tirosin /ml olarak belirlemiştir. Bu sonuç araştırmada elde etmiş olduğumuz sonuçlardan daha düşüktür. Frey et al. (1986) *Lb. casei* suşunun PAD 46.9 mikromol/min/mg protein olarak belirlemiştir.

Vignolo et al. (1988), *Lb. plantarum*'un 13 suşu ve *Lb. casei*'nin 5 suşunun farklı sıcaklık ve farklı tuz konsantrasyonlarında asit üretim kapasitesi ve proteolitik aktivitelerini incelemişlerdir. Proteolitik aktivitenin 40 °C'de maksimum seviyeye

ulaştığını ve bu değerleri 5.2 mg % tirosin ile 10 mg % tirosin arasında belirlemişlerdir. 30 °C'de ve % 3 NaCl içeren ortamda en yüksek proteolitik aktivite *Lb. pantarum* GV 417 (5.4 mg % tirosin) ve en düşük değeri ise *Lb. plantarum* GV 420 suşunda (3.4 mg % tirosin) belirlenmiş olup, ayrıca tüm suşların proteolitik aktivitelerinde yaklaşık % 80'lik bir azalmanın % 5 NaCl konsantrasyonunda gerçekleştiğini belirlemişlerdir. De Giori et al. (1985), *Lb. casei*'nin 10 farklı suşunun proteolitik aktivitesini incelemiş oldukları bir araştırmada 37 °C'de 14 saatlik inkübasyon sonucunda proteolitik aktiviteyi (mg tirosin /100 ml TCA) 4 suшта 0.1, 3 suшта 0.9, 2 suшта 2.6 ve 1 suшта 2.0 olarak belirlemişlerdir.

Requena et al. (1991) keçi sütünden yapılan ve yarı sert bir peynir çeşidi olan Majorero peynirinden izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Lactococcus*'un özelliklerini çalışmışlardır. Proteolitik aktivite testleri sonucunda; *Lb. plantarum*'un çok düşük (4.9 µg tirosin /ml) proteolitik aktivite gösterdiği, *Lc. lactis subsp. lactis*'in ise proteolitik aktivitesinin (52.4 µg tirosin /ml) *Lb. casei*'den (30.5 µg tirosin /ml) daha yüksek olduğunu saptamışlardır.

Lee et al. (1986), *Lb. casei* suşlarının *Lactococcus* starter suşlarına göre enzimatik donanımlarının daha zengin olduğunu, özellikle peptidaz ve esteraz gibi enzim sistemlerinin peynirde arzulanan tat ve aroma gelişimine önemli katkılarda bulunduğunu belirtmektedirler.

Lb. malefermentans'ın 5 adet suşundan en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. mf* 235 suşunda (46 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. mf* 230 suşunda (58.0 µg tirosin /ml) tespit edilmiştir (Çizelge 3. 13).

Lb. collinoides'in 4 adet suşundan en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. co 146* suşunda (78 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. co 35* suşunda (88.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir.

Peynir örneklerinden tanımlanmış edilen 3 adet *Lb. cellobiosus* suşunda en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. cb 134* suşunda (48 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. cb 237* suşunda (59.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

3 adet *Lb. coryniformis* suşunda en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. cyf 29* suşunda (72.0 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. cyf 115* suşunda (79.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Lb. confusus'un (*Weissella confusa*) 2 adet suşundan en düşük PAD *Lb. cf 52* suşunda (47 µg tirosin /ml), en yüksek PAD ise *Lb. cf 108* suşunda (49 µg tirosin /ml) tespit edilmiştir.

Tanımlanmış edilen 2 adet *Lb. kefir* suşunda en düşük PAD *Lb. kf 68* suşunda (58 µg tirosin /ml), en yüksek PAD ise *Lb. kf 70* suşunda (76.0 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3. 13).

Lb. vaccinostercus'un 2 adet suşundan en düşük proteolitik aktivite değeri *Lb. va 191* suşunda (54.0 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *Lb. va 225* suşunda (58.0 µg tirosin /ml) tespit edilmiştir.

Peynir örneklerinden tanımlanmış edilen 1 adet *Lb. brevis* suşunda PAD 58.0 µg tirosin /ml olarak tespit edilmiştir.

İdentifiye edilen 1 adet *Lb. helveticus* suşunda PAD 50.0 µg tirosin /ml olarak belirlenmiştir. Frey et al. (1986), *Lb. helveticus* suşlarının PAD ise 95.8 ile 142.5 mikromol/min/mg protein olarak belirlemişlerdir. Herbert et al. (2000), doğal fermente olmuş sert peynirden identifiye etmiş oldukları *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* ve *Lb. helveticus*'un 5 suşunun proteolitik aktivitesini çalıştıkları araştırmada, proteolitik aktivitenin suşlar arasında çok farklı olduğunu ve *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* suşlarının *Lb. helveticus* suşlarından daha yüksek PAD sahip olduğunu saptamışlardır. Araştırmalarında *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* suşlarının PAD en düşük 392 ±19 µg / ml glisin, en fazla 522 ±25 µg / ml glisin olarak, *Lactobacillus helveticus* suşlarında ise PAD en düşük 18 ±1 µg / ml glisin, en fazla 299 ±14 µg / ml glisin olarak belirlenmiştir.

Karakuş (1994)'un belirtmiş olduğu kriterlere göre değerlendirme yapıldığında tüm *Lactobacillus* suşlarının kuvvetli proteolitik aktiviteye (PAD > 20.0) sahip olduğu görülmektedir (Çizelge 3. 13).

Araştırmada tanımlanan *Pediococcus* suşlarının proteolitik aktivite değerleri (PAD) Çizelge 3.14'de görülmektedir. Çizelge 3.14'den de görüldüğü gibi *Pediococcus* suşlarında en düşük PAD *P. halophilus* (*P. hal* 188) (48.0 µg tirosin /ml), en yüksek değer *P. pentosaceus* (*P. pen* 69) da (102 µg tirosin /ml) belirlenmiştir.

Suş düzeyinde değerlendirme yapıldığında 11 adet *P. acidilactici* suşunda en düşük değer *P. ac* 15 (54.0 µg tirosin /ml), en yüksek değer ise *P. ac* 157 (74.0 µg tirosin /ml) suşunda belirlenmiştir. Khalid ve Marth (1990) tarafından yapılan bir araştırmada, *P. acidilactici*'nin proteolitik aktiviteye sahip olması nedeniyle sert peynirlerin olgunlaşmasında rol oynadığı ifade edilmektedir. Bu araştırmada *Pediococcus* suşlarının PAD yüksek bulunmuştur. Bundan dolayı yarı sert bir peynir çeşidi olan Tulum peyniri

üretiminde proteolitik aktivite yönünden *Pediococcus* suşlarının starter kültür olarak kullanılmasının uygun olmayacağı ortaya çıkmaktadır.

P. parvulus'un 3 adet suşunda en düşük PAD 51.0 µg tirosin /ml, en yüksek değer ise 58.0 µg tirosin /ml olarak belirlenmiştir. Araştırmada identifiye edilen sadece 1 adet *P. damnosus* suşunda PAD 72.0 µg tirosin /ml, 1 adet *Pediococcus halophilus* suşunda 48 µg tirosin /ml ve 1 adet *Pediococcus pentosaceus* suşunda ise (102.0 µg tirosin /ml olarak tespit edilmiştir (Çizelge 3. 14).

Çizelge 3. 14 *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının asidifikasyon, dekarboksilaz aktivite ve proteolitik aktivite değerleri

Suşlar	Asidifikasyon		Dekarboksilaz Aktivite					Proteolitik Aktivite (µg tirosin/ml)
	ΔpH (6saat)	ΔpH (24 saat)	Histidin	Fenilalanin	Ornitin	Tirosin	Triptofan	
P ac15	0.21	0.36	-	-	-	-	-	54.0
P ac18	0.09	0.31	-	-	-	-	-	57.0
P ac51	0.14	0.38	-	-	-	-	-	61.0
P ac59	0.11	0.44	-	-	-	-	-	64.0
P ac60	0.10	0.32	-	-	-	-	-	66.0
P ac104	0.11	0.38	-	-	-	-	-	58.0
P ac133	0.16	0.36	-	-	-	-	-	71.0
P ac157	0.12	0.34	-	-	-	-	-	74.0
P ac158	0.14	0.37	-	-	-	-	-	56.0
P ac183	0.17	0.34	-	-	-	-	-	62.0
P ac189	0.17	0.34	-	-	-	-	-	72.0
P par32	0.25	0.61	-	-	-	-	-	58.0
P par131	0.25	0.45	-	-	-	-	-	51.0
P par168	0.20	0.45	-	-	-	-	-	52.0
P pen69	0.32	1.49	-	-	-	-	-	102.0
P dam201	0.04	0.27	-	-	-	-	-	72.0
P hal188	0.25	0.65	-	-	-	-	-	48.0
Leupsm22	0.04	0.27	-	-	-	-	-	49.0
Leu oe206	0.22	0.53	-	-	-	-	-	72.0

Araştırmada, *Leuconostoc* cinsine ait sadece iki suş tanımlanmıştır. PAD en düşük *Leu. psm 22*'de (49 µg tirosin /ml), en yüksek *Leu. oe 206*'da (72 µg tirosin /ml) belirlenmiştir (Çizelge 3.13).

Araştırmada identifiye edilen *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının proteolitik aktivite değerlerinin çok farklı olduğu (Çizelge 3. 14), Karakuş (1994)'un belirtmiş olduğu kriterlere göre değerlendirme yapıldığında, tamamının kuvvetli proteolitik aktiviteye (PAD > 20.0) sahip olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 3. 14).

Karakuş (1994)'a göre değerlendirme yapıldığında *Lactobacillus* suşlarının tamamının kuvvetli proteolitik aktiviteye (PAD > 20.0) sahip olduğu ortaya çıkmaktadır (Çizelge 3. 13).

Lactobacillus'ların proteolitik enzim sistemi; süt proteinlerini, özellikle kazeini peptitlere parçalayan ve daha sonra hücre içi peptidazlar ile amino asitlere parçalayan proteazlardan oluşur. Laktobasillerin oldukça yüksek aminopeptidaz, dipeptidaz ve proteazlara sahip olmalarından dolayı da bu bakterilerin peynirin olgunlaşmasını hızlandırmak için ilave starter kültür olarak kullanılmasının uygun olabileceği ve özellikle *Lb. casei* suşlarının *Lactococcus* starter suşları ile mukayese edildiğinde enzimatik donanımlarının daha zengin olduğu belirtmektedir (Frey et al.1986). De Giori et al. (1985) ve Vignolo et al. (1988), Tafi peynirinden izole etmiş oldukları *Lactobacillus* suşlarının 30 °C'de 14 saat inkübasyon sonucunda oluşturdukları proteoliz ürünlerinin lactokoklardan daha az olduğunu, bununla birlikte bazı suşlarının ise yüksek aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Durlu-Özkaya (2001)'nın, *Lactobacillus*'larda bulmuş olduğu en düşük proteolitik aktivite değeri bile Karakuş (1994)'un belirtmiş olduğu kriterlere göre daha fazla proteolitik aktiviteye sahiptir. Bu

sonuçlar bu araştırmada *Lactobacillus* suşlarında bulunan proteolitik aktivite değerleri ile uyum göstermektedir.

Peynir retiminde starter kültür olarak kullanılacak laktik asit bakterilerinin seçiminde, teknolojik yönden önem taşıyan asit oluşturma kabiliyetleri yanında proteolitik aktiviteleri de birinci derecede göz önüne alınması gereken özelliktir. Frey et al. (1986) da, olgunlaştırılmanın hızlandırılması amacıyla starter kültür olarak kullanılacak *Lactobacillus* suşlarında yüksek peptidaz ve proteaz aktivite, nispeten düşük beta-galaktosidaz aktivite, düşük asit oluşturma aktivitesi, kolay çoğalabilmeleri ve peynirde arzu edilmeyen aroma üretmemesi gibi kriterlerin göz önüne alınması gerektiğini belirtmektedirler.

Peynir çeşidine bağlı olarak suşlarda proteolitik aktivitenin düşük veya yüksek olması istenir. Olgunlaştırılan sert peynirler için yüksek proteolitik aktiviteye sahip suşlar kullanılırken, olgunlaştırılmadan tüketilen taze peynirlerde düşük proteolitik aktiviteye sahip suşlar tercih edilir. Tulum peyniri yapımında kullanılan suşlar üzerinde çok az sayıda araştırma yapılmış olmasından dolayı, starter kültür olarak kullanılacak suşlar ve suşların proteolitik aktiviteleri kesin olarak belli değildir. Ancak, proteolitik aktivitesi yüksek suşlardan oluşan karışık bir kültürün olgunlaşma süresinin sonunda peynirlerde acı bir lezzet oluşturacağı için yüksek proteolitik aktiviteye sahip suş kullanılmaması gerekmektedir. Araştırmada elde edilen suşların proteolitik aktivite değerleri yüksek olduğundan dolayı, proteolitik aktivitesi düşük suşlarla karışık kültür olarak denendikten sonra starter kültür olarak kullanılmasına karar verilmesinin uygun olacağı düşünülmektedir.

3. 5.4. Suşların Dekarboksilaz Aktivite Değerleri

Aminlerin, amino asit dekarboksilaz enzimlerinin etkisiyle gıdalarda meydana gelen düşük molekül ağırlıklı organik bileşikler olduğu ve bitki, hayvan ve mikroorganizmaların metabolik faaliyeti sonucu meydana geldiği belirtilmektedir (Ordenez et al. 1997). Aminlerin önemli bir grubunu teşkil eden nitrozaminlerin, kanserojenik özelliklerinden dolayı daha fazla inceleme konusu olduğu (Ordenez et al. 1997), uçucu olmayan aminler grubunda yer alan biogen aminlerin insan ve hayvanlarda birtakım fizyolojik etkilere yol açmaları nedeniyle önem taşıdığı vurgulanmaktadır. Aminlerin asıl ilgi çeken özelliklerinin toksik oldukları ve birçok gıda zehirlenmesine yol açtıkları belirtilmektedir (Chang et al. 1985).

Bakteriler, dekarboksilaz pozitif özellikleri, serbest amino asit varlığı, dekarboksilaz sentezi ve dekarboksilaz aktivitenin gelişmesine imkan veren şartlarda, gıdalarda bulunan histidin, tirosin, triptofan, lizin, ornitin, arginin, fenilalanin gibi amino asitleri dekarboksile ederek histamin, tiramin, triptamin, kadaverin, putresin, spermin, feniletilamin gibi biogen aminleri oluşturmaktadırlar (Voigt ve Eitenmiller 1977, Santos 1996).

Biogen aminler düşük moleküler ağırlığa sahip biyolojik olarak aktif olan organik bileşiklerdir. Biogen amin içeriği yüksek gıdalar tüketildiğinde, yüksek tansiyon, baş ağrısı, ateş, yüksek kan basıncı, kusma, mide ağrısı, terleme ve ülser gibi bir takım rahatsızlıklara yol açarlar (Koehler ve Eitenmiller 1978, Edwards ve Sandine 1981, Joosten ve Olieman 1986, Chander et al. 1989, Schneller et al. 1997, Shalaby 1997, Valsamaki et al. 2000, Lonvaud-Funel, 2001). Biogen aminlerin meyve ve sebze gibi ürünlerin bünyesinde bulunduğu düşünülmesine rağmen, depolama ve olgunlaştırma boyunca mikrobiyal faaliyetin bir sonucu da olduğu belirtilmektedir (Santos 1996).

Biogen aminler putresin, kadaverin, spermin ve spermidin gibi alifatik, tiramin ve feniletilamin gibi aromatik veya histamin ve triptamin gibi heterosiklik yapıda olabilirler. Poliamin, putresin, spermin ve kadaverin gibi aminler canlı hücrelerin elzem bileşenleridir. Aynı zamanda nükleik asit fonksiyonunun düzenlenmesi, protein sentezi ve muhtemelen de membranların stabilizasyonunda önemlidirler (Maijala et al. 1993).

Khalid ve Marth (1990), tiramin, histamin ve triptamin biogen aminlerinin olgunlaşmış peynirde bulunabileceğini belirtmektedir. Fermente süt ürünleri üretiminde kullanılan starter kültürlerin bazıları yüksek miktarda amin oluşturabilir. Fermente süt ürünleri üretiminde starter kültür olarak kullanılan *Lactobacillus*'ların dekarboksilaz üretimlerinin istenmediği belirtilmektedir (Chander et al. 1989).

Bu çalışmada identifiye edilen suşların dekarboksilaz aktivitesini belirlemek için histidin, fenilalanin, ornitin, tirosin ve triptofan amino asitleri kullanılmıştır. İdentifiye edilen *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının dekarboksilaz aktiviteleri farklı olmuştur (Çizelge 3.13 ve 3. 14).

Araştırmada tanımlanan *Lactobacillus* suşlarının dekarboksilaz aktivite değerlerine bakıldığı zaman suşlar arasında farklılıklar olduğu görülmektedir (Çizelge 3. 13). Çizelge incelendiğinde *Lb. buchneri* suşlarının tamamı histidin ve tirosin dekarboksilaz aktivitesine, *Lb. parabuchneri*'nin tüm suşlarının ise tirosin ve triptofan dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu anlaşılmaktadır. Durlu-Özkaya (2001) da *Lactobacillus*'ların farklı biogen aminleri iz miktarda oluşturduklarını belirlemiştir.

Lb buchneri'nin peynirde histamin zehirlenmesinden sorumlu olduğu, bu nedenle de üzerinde en fazla çalışılan bakteri olduğu belirtilmektedir (Joosten ve Van Boekel 1988, Sumner et al. 1990, Stratton et al. 1991, Stratton et al. 1992). Leuschner et al. (1998),

Lb. buchneri'nin fenilalanini dekarboksile ettiğini ve daha etkili bir şekilde de histidini dekarboksile ettiğini belirlemişlerdir.

Beutling (1996), *Lb. buchneri* suşlarının peynirde histamin, spermidin, putresin oluşturduğu ve aynı zamanda triptamin oluşumunun da yavaş bir şekilde seyrettiğini ve peynir üretiminde kaliteli süt kullanılmasıyla amin oluşumunun düşeceğini, peynirde amin oluşumundan proteolizin de önemli bir etkiye sahip olduğunu belirtmektedir. Khalid ve Marth (1990), Swiss peynirinden izole edilen ve histidin'den histamin üreten *Lb. buchneri*'nin bir suşunun histamin zehirlenmesine neden olduğunu belirtmektedir. Joosten (1988), Gouda peynirinde *Lb. buchneri*'nin histamin üretme kapasitesinin çok iyi bilindiğini ve olgunlaşma sıcaklığı, pH ve tuz konsantrasyonunun peynirde histamin üretimi için etkili olduğunu belirtmektedir. Aynı araştırmacı 21 °C'de 1 yıllık olgunlaşma süresi sonunda histamin miktarını 6.8 mmol histamin / kg, 9 °C'de ise 2.2 mmol / kg histamin olarak belirlerken; iki haftalık olgunlaşma süresi sonunda pH 5.39 iken histamin miktarını 6.5 mmol histamin / kg, pH 5.19 da ise bu değeri 3.4 mmol histamin / kg olarak belirlemiştir. Joosten ve Northolt (1989), Gouda peynirinden izole etmiş oldukları starter olmayan *Lb. buchneri* ve *Lb. brevis* suşlarının tirozin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduklarını ve bu sonuca göre peynirde biogen amin üretiminden sorumlu olabileceklerini belirtmektedirler.

Straub et al. (1995) tarafından yapılan bir araştırmada, proteolizisi hızlandırmak için *Lb. buchneri*'nin histidin dekarboksilaz pozitif suşunun inokülasyonunu denedikleri bir kombinasyonda son üründe histamin miktarının önemli miktarda arttığını, buna ilaveten *Lb. buchneri*'nin bozulma yapan mikroorganizma olduğunu ve fermente gıdalarda istenmediği de belirtilmektedir.

Araştırmada *Lactobacillus* suşlarından *Lb. casei*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. confusus* (*Weissella confusa*), *Lb. kefir*, *Lb. coryniformis*, *Lb. malefermentans*, *Lb. collinoides* ve *Lb. vaccinostrercus*' un hiçbirinin histidin, fenilalanin, ornitin, tirosin ve triptofan dekarboksilaz aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir (Çizelge 3. 14).

Leuschner et al. (1998), *Lb. brevis*'in feniletilamin ve tiramin üretmediğini belirlemişlerdir. Durlu-Özkaya vd. (1999), bazı laktik asit bakterilerinin biogen amin üretimi miktarı üzerine yapmış oldukları araştırmada, 1 adet *Lb. lactis*, 3 adet *Lb. casei* ve 14 adet *Lb. plantarum* suşunda Joosten-Northold medium (JNM) kullanarak dekarboksilaz aktivitesini test etmişlerdir. Araştırma sonucunda suşların hiçbirinin histidin, lisin, ornitin ve triptofan üzerine dekarboksilaz aktiviteye sahip olmamalarına rağmen, HPLC ile biogen amin belirlemesi sonucunda suşların çoğunun düşük oranlarda biogen amin ürettiğini belirlemişlerdir. Ayrıca *Lactobacillus* kültürlerinin hiçbirinde triptamin bulamazlarken, diğer aminleri çok düşük konsantrasyonlarda belirlemişlerdir. Durlu-Özkaya (2001) da yapmış olduğu araştırmada dekarboksilaz testinin biogen amin oluşturan suşların belirlenmesinde bir gösterge olmadığı gibi hem yanlış pozitif hem de yanlış negatif sonuçlara neden olduğunu belirlemiştir.

Araştırmada *Lactobacillus* suşlarından *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. suebicus*, *Lb. helveticus* ve *Lb. bifementans* suşlarının tamamında tirosin dekarboksilaz pozitif olarak belirlenmiştir. Edwards ve Sandine (1981), *Lactobacillus*, *Pediococcus*, ve *Leuconostoc* cinslerinin biogen amin üretebileceğini belirtmektedir. Taylor et al. (1982), Swiss peynirinde *Lactobacillus*'ların histidin dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğunu belirtmektedir. Shalaby (1997) de *Lactobacillus*'ların amino asit dekarboksilaza sahip olduğunu belirtmektedir.

Araştırmada *Lb. casei* suşlarının dekarboksilaz aktivitesi negatif olarak belirlenmiştir. Durlu-Özkaya (2001) da yapmış olduğu araştırmada *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* suşlarının tamamının triptofan, fenilalanin, ornitin, lizin, histidin ve tirosin dekarboksilaz negatif olarak belirlemiştir. Chander et al. (1989), *Lactobacillus*'ların bazı fermente süt ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanıldıkları için, dekarboksilaz aktiviteye sahip olmalarının istenmediğini bildirilmektedirler. Voigt ve Eitenmiller (1977), starter kültür olarak kullanılan bakterilerin dekarboksilaz aktiviteye sahip olmaması gerektiğini belirtmektedir.

Araştırmada *Pediococcus* suşu olarak tanımlanan 11 adet *P. acidilactici*, 3 adet *P. parvulus*, 1 adet *P. pentosaceus*, 1 adet *P. damnosus* ve 1 adet *P. halophilus* (*Tetragenecoccus halophila*) ve *Leuconostoc* olarak tanımlanan 1 adet *Leu. pseudenteroides* ve 1 adet *Leu. oenes* (*Oenococcus oeni*) suşlarının hiçbirisinde histidin, fenilalanin, ornitin, tirosin ve triptofan dekarboksilaz aktivitesi belirlenememiştir (Çizelge 3.14). Yani suşların tamamı dekarboksilaz negatiftir. Voigt ve Eitenmiller (1977), süt ürünleri ile ilgili bakterilerin histidin ve tirosin dekarboksilaz üretimini incelediği bir araştırmada 2 adet *Leu. cremoris* suşunun dekarboksilaz aktivitesiye sahip olduğunu saptamışlardır. Ayrıca *Leu. cremoris* kullanıldığı durumlarda çok az da olsa tirosin ve histidin dekarboksilaz enziminin ortaya çıkabileceğini belirtmektedirler. Sonuç olarak starter kültür üreticilerinin bakteri suşlarını seçerken tirosin ve histidin dekarboksilaz enzimlerini elemine etmek için çalışmaları gerektiğini ve starter kültür olarak kullanılan bakterilerin tirosin ve histidin dekarboksilaz aktiviteye sahip olmamaları gerektiğini belirtmektedirler.

Joosten ve Northolt (1989) tarafından, Dekarboksilaz Agar kullanılarak alınan sonuçlarla, HPLC ile belirlenen biogen amin tür ve düzeyleri arasında bir ilişki saptanamadığı belirtilmektedir (Durlu-Özkaya, 2001). Durlu-Özkaya (2001) ise, yapmış

olduğu araştırmada dekarboksilaz testinin biogen amin oluşturan suşların belirlenmesinde bir gösterge olmadığı gibi hem yanlış pozitif hem de yanlış negatif sonuçlara neden olabileceğini belirlemiştir. Bu nedenle *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türlerinde dekarboksilaz aktivite durumununun tam olarak belirlenebilmesi için çok daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu söylenebilir.

Bununla birlikte araştırmada elde edilen suşlar dekarboksilaz aktivite yönünden değerlendirildiğinde, dekarboksilaz negatif özelliğe sahip olan suşlar (*Lb. casei*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. confusus* (*Weissella confusa*), *Lb. kefir*, *Lb. coryniformis*, *Lb. malefermentans*, *Lb. collinoides* ve *Lb. vaccinofermentans*) Tulum peyniri için starter kültür olarak önerilebilir. Ancak bu suşların diğer özellikleri de göz önüne alınması gerekmektedir.

4. SONUÇLAR

1. Araştırmada, incelenen 40 adet Tulum peyniri örneğinin kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özelliklerinin birbirinden çok farklı olduğu belirlenmiştir. Bu farklılıklar Tulum peynirinin üretiminde standart bir üretim metodunun kullanılmadığı, peynirlerin olgunlaştırma süre ve şartlarının farklı olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır.
2. Tulum peynirinden identifiye edilen laktik asit bakterilerinden (*Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc*) % 92.08'ini *Lactobacillus* suşları oluştururken, % 7.08 'ini *Pediococcus* suşları, % 0.83'ini *Leuconostoc* suşları oluşturmuştur.
3. Asit üretimi bakımından *P. pentosaceus* suşu hariç, tüm suşların yavaş asit oluşturduğu belirlenmiştir. *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* suşları asit üretimi bakımından değerlendirildiğinde; Tulum peyniri üretiminde asit üretimi yüksek farklı kültürlerle karışık kültür olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.
4. Proteolitik aktivite değeri (PAD) yönünden değerlendirildiğinde, identifiye edilmiş olan *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının tamamının yüksek PAD sahip olduğu saptanmıştır. Yarı sert bir peynir çeşidi olan Tulum peyniri üretiminde düşük proteolitik aktiviteye sahip suşların kullanılmasının uygun olacağı düşünülürse, araştırmada tanımlanan *Lactobacillus* suşlarının PAD düşük suşlarla miks kültür olarak kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.
5. Araştırmada tanımlanmış olan *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarının hiçbirinde dekarboksilaz aktivite belirlenmemiştir.

6. *Lactobacillus* suşlarından *Lb. casei*, *Lb. cellobiosus*, *Lb. confusus* (*Weissella confusa*), *Lb. kefir*, *Lb. malefermentans*, *Lb. coryniformis*, *Lb. collinoides*, ve *Lb. vaccinofermentans* 'un hiçbirinde dekarboksilaz aktivite belirlenememiştir. Bu suşların diğer özellikleri de dikkate alınarak starter kültür seçimi yapılabilir.
7. Araştırmada *Lactobacillus* suşlarından *Lb. paracasei*, *Lb. fermentum*, *Lb. brevis*, *Lb. suebicus*, *Lb. helveticus* ve *Lb. bifementans* suşlarının tamamında tirozin dekarboksilaz pozitif, *Lb. buchneri* suşlarının tirozin ve histidin dekarboksilaz pozitif, *Lb. parabuchneri* suşlarının ise triptofan ve tirozin dekarboksilaz pozitif aktiviteye sahip olması nedeniyle Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılmasının uygun olmayacağı ortaya çıkmaktadır.
8. Peynirde önemli biogen amin olan ve zehirlenmelere yol açan histamini, sadece *Lb. buchneri*'nin oluşturduğu saptanmıştır.
9. Suşların dekarboksilaz aktivitesini kesin olarak belirlemek için araştırmada kullanılan yöntem dışında kantitatif yöntemlerin de kullanılmasının uygun olacağı sonucuna varılmıştır.
10. Tanımlanan suşlarından sadece *P. parvulus* % 6.5 NaCl' de gelişemezken, diğer tüm suşların hem % 2.5 NaCl ve hem de % 6.5 NaCl'de gelişebildiği belirlenmiştir. Bu sonuç, suşların tuza karşı toleranslarının iyi olduğunu göstermektedir.
11. Tanımlanan laktik asit bakteri suşlarından betabakterium grubuna giren *Lb. fermentum* ile thermobakterium grubuna giren *Lb. helveticus* dışında diğer tüm suşların Tulum peynirinin olgunlaştırma sıcaklığında gelişebildiği saptanmıştır.

12. Araştırmada tanımlanan laktik asit bakteri suşlarının starter özelliklerinin çok farklı olduğu belirlenmiştir. *Leuconostoc* olarak sadece 2 suş tanımlanmış olup bu suşların heterofermentatif olmalarından dolayı Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılamayacakları, bununla birlikte *Leuconostoc*'ların aroma gelişiminde önem taşımaları nedeniyle diğer suşlarla kombine edilerek miks kültür olarak denenebileceği sonucuna varılmıştır.
13. *Pediococcus* suşlarının tamamının dekarboksilaz negatif olmalarının yanında, PAD yüksek ve asit üretimlerinin düşük olmalarından dolayı miks kültür olarak denenebileceği sonucuna varılmıştır.
14. Değişik özellikleri belirlemiş olan suşların toksikolojik özelliklerinin de kesinlikle belirlenmesi gerektiği kanaati ortaya çıkmıştır.
15. Duyusal değerlendirme sonucunda beğenilen peynir örneklerinden tanımlanan bazı laktik asit bakterilerinin starter kültür olarak kullanılabilmesi için, duysal değerlendirmenin yeterli olmadığı, aynı zamanda diğer özelliklerinin de uygun olması gerektiği sonucuna varılmıştır.
16. Araştırmada Tulum peynirinde araştırılan üç cins laktik asit bakterisinden *Lactobacillus* suşlarının ön plana çıktığı ve aynı zamanda starter özelliklerinin de çok farklı olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte tanımlanan *Lactobacillus* suşlarının tüm özellikleri gözönüne alınarak, değişik kombinasyonları ve diğer suşlarla miks kültür olarak denendikten sonra kültür olarak kullanılmasına karar verilebileceği sonucuna varılmıştır.

Ayrıca çalışmada elde edilen sonuçlara göre, Tulum peynirinde starter kültür olarak kullanılacak LAB'nin tam olarak belirlenebilmesi için diğer laktik asit bakterilerin de izole ve identifiye edildikten sonra daha ileri araştırmalara ihtiyaç olduğu kanaatine de varılmıştır.



KAYNAKLAR

- Abel, K., De Schmertzing H. and Peterson J. L. 1963. Classification of microorganisms by analysis of chemical composition. I. Feasibility of utilization gas choromatography. J. Bacterial. 85, 1039-1044.
- Akyüz, N., 1978. Isının, Kültür kullanımının ve ambalaj işleminin Kaşar peyniri kalite, tad ve aromasına etkisi ezrine araştırmalar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Doçentlik Tezi (Yayınlanmamış), Erzurum.
- Akyüz, N., 1981. Erzincan (Şavak) Tulum peynirlerinin yapılışı ve bileşimi. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Derg., 12 (1), 85-112.
- Akyüz, A. ve Yamankaradeniz R., 1981. Bazı yabancı peynirlerin aroma oluşumunda etkin olan mikroorganizmalar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg., 12 (2-3), 97-103.
- Alpar, A., Atamer M., Yetişmeyen A., Görgülü B., Karahan A. ve Korukluoğlu M., 1986. Beyaz peynir yapımında pastörizasyonun ve kültür kullanımının peyniraltı suyu bileşimine etkisi. Gıda, 10 (1), 11-18.
- Al-Zoreky, N. and Sandine W. E., 1991. *Lactococcus* genus: A selective and differential agar medium. J. Food Sci., 56 (6), 1729-1734.
- Anonim, 1978. Peynirde Yağ Miktarı Tayini (Van Gulik Metodu) (TS 3046). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 1981. Çiğ Süt Standardı. (TS-1018). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 1983. Beyaz Peynir Standardı (TS-591). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 1989, Tulum Peyniri Standardı (TS 3001). Türk Standartları Enstitüsü, Necatibey Cad. No: 112, Bakanlıklar, Ankara.
- Anonim, 1990. Süt ve Mamülleri Sanayii. VI. Beş Yıllık Kalkınma Planı Ö.İ.K. Raporu. DPT. No: 2239, Ankara.

- Anonim, 1999. Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer). T. C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü. Necatibey Cad. No:114, Ankara.
- Anonim, 2000. Devlet Planlama Teşkilatı VIII. Beş Yıllık (2001-2005) Kalkınma Planı Süt Sanayii Özel İhtisas Komisyonu Raporu, Ankara.
- Anonymous, 1988. International Dairy Federation (IFD) Standard, Qestionnarie, 689 x D., D-Doc 177.
- Anonymous, 1992. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 3rd Edition, (Edited by Vanderzant, C. and Splittstoesser, D. F.) American Public Health Association, Washington D.C. USA, 1218.
- Anonymous, 1995. The Oxoid Manual. 7th Edition. Compiled by E. Y. Bridson (Primer Technical Director of Oxoid). C. pyright © 1995 by Unipathh Ltd. 199.
- Anonymous, 1997. Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (LAB) International Dairy Federation (IFD) Standard, Standard of Identify, 149 A.
- Anonymous, 1999. MIDI Manual. Newark, DE, 19713, USA.
- Antila, P., Antila V., Mattila J. and Hakkarainen H., 1984 a. Biogenic amines in cheese. I. Determination of biogen amines in Finnish cheese using high performance liquid chromatography. *Milchwissenschaft*, 39 (2), 81-85.
- Antila, P., Antila V., Mattila J. and Hakkarainen H., 1984 b. Biogenic amines in cheese. II. Factors influencing the formation of biogenic amines, with particular reference to the quality of the milk used in cheese making. *Milchwissenschaft*, 39 (7), 400-404.
- Arıcı, M. ve Şimşek O., 1991. Kültür kullanımının Tulum peynirlerinin duyuşal, fizikse-kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerine etkisi. *Gıda*, 16 (1), 53-62.
- Arthur, M. K., Fox P. F. and Daly C., 1978. Proteolysis in Cheddar cheese: role of coagulant and starter bacteria. *J. Dairy Res.*, 45, 465-477.
- Ayhan, K., 2000. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları-Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar (Genişletilmiş 2. Baskı). 37-80, Ankara.

- Bakırcı, İ., 2000. Peynirde biyogen amin oluşumu ve etkili faktörler. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri (VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı), 328-336, Tekirdağ.
- Beresford, T. P., Fitzsmmons N. A., Brennan N. L. and Cogan T. M., 2001. Recent advances in cheese microbiology. *Int. Dairy J.*, 11, 259-274.
- Beukes, E. M., Bester B. H. and Mostert J. F., 2001. The microbiology of South African fermented milks. *Int. J. Microbiol.*, 63, 189-197.
- Beutling, D. M., 1996. Biogen Amine in der Ernährung-Springer Verlag-Berlin
- Bilgehan, H., 1992. Klinik Mikrobiyolojik Tanı. Barış Yayınları. Şafak Matbaacılık. İzmir, 680.
- Bostan, K., 1991. Değişik ambalaj içinde bulunan Tulum peynirlerinin duysal, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. II: Milli Süt Ürünleri Sempozyumu. Trakya Üniv. Ziraat Fak. Yay. No: 125, 249-253, Tekirdağ.
- Bostan, K. ve Uğur M., 1992. Tulum peynirlerinde starter kültür kullanımı üzerine bir araştırma. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 17 (2), 97-110.
- Bostan, K. ve Uğur M. ve Çiftçioğlu G., 1992. Tulum peynirinde laktik asit bakterileri ve küf florası. *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 17 (2), 111-118.
- Boukberi, K. and Ohta Y., 1996. Identification of lactic acid bacteria from Algerian traditional cheese, El-Klila. 1996. *J. Sci. Food Agric.*, 70, 501-505.
- Brown, B.J. and Leff L. G., 1996. Comparison of fatty acid methyl ester analysis with the use of API 20 E and NFT strips for identification of aquatic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2183-2185.
- Centeno, J. A., Cepeda J. L. and Rodriguez-Otero., 1996. Lactic acid bacteria isolated from Arzua cows' milk cheese. *Int. Dairy J.*, 6, 65-78.
- Certel, M., 1990. Makarnalık (Tr. durum) ve ekmeklik (Tr. aestivum) buğdaylardan farklı ısıtma işlem uygulamalarıyla üretilen bulgur ve ürünlerinin fiziksel, kimyasal ve duysal özellikleri (Doktora tezi). Atatürk Üniv. Ziraat Fak., Erzurum.

- Chander, M., Batish V. K., Babu S. and Singh S., 1989. Factors affecting amines production by a selected strain of *Lactobacillus bulgaricus*. J. Food Sci., 54 (4), 940-942.
- Chang, S. F., Ayers J. M. and Sandine W. E., 1985. Analysis of cheese for histamin, tyramin, triptamine, histidine, tyrosine, and tyrtophane. J. Dairy Sci., 68, 2840-2846.
- Cogan, T. M., 1980. Les levins lactiques mesophiles. Lait, 60, 397-425
- Cogan, T. M. and Daly C., 1987. Cheese Starter Cultures, In: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. Vol: 1, Ed. By F. Fox. Elsevier App. Sci., Publ., London and New York.
- Collins, C. H. and Layne P. M., 1984. Microbiological Methods. Butterworth and Co (Publishers) Ltd. London, 450.
- Coşkun, H., 2000. Peynirlerin olgunlaşmasında starterlerin rolü. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri (VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı), 47-56, Tekirdağ.
- Creamer, L. K. and Olson N. F., 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. J. Food Sci., 47, 631-636.
- Çakmakçı, S. ve Şengül M., 1995. Peynirde acı tat oluşumu, etki eden faktörler ve kontrolü. Atatürk Üniv. Ziraat. Fak. Derg., 26 (3), 385-399.
- Çakmakçı, S., 1996. Peynir lezzeti ve oluşumu. Gıda, 21 (4), 261-268.
- Çelik, C., 1981. Çeşitli starter kültürleri kullanarak salamura beyaz peynirin (Edirne Tipi) Standardizasyonu üzerine araştırmalar. TÜBİTAK-Proje No: VHAG-488, Ankara.
- Çon, A. H., 1995,.Sucuktan Bacteriosin Benzeri Antimikrobiyal Metabolit Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve İdentifikasyonu ve Çeşitli Gıda Zararlısı ve/veya Gıda Kaynaklı Patojen Bakterilere Karşı Antagonistik Aktivite Araştırılması (Doktora Tezi.). Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.

- Decallone, J., Delmee M., Wauthoz P., Liout M. E. and Lambert R., 1991. A rapid procedure for the identification of lactic acid bacteria based on gas chromatographic analysis of the celluler fatty acids. J. Food Prot., 54 (3), 3, 217-224.
- De Cardenas, I. L. B., de Partillo M. C. P., de Rivadeneria M. C. R., Medina R. and Oliver G., 1992. Effect of growt temperature on lactic acid aroma compound production by *Lactobacillus casei*. Microbiologie Aliments Nutrition, 10, 349-358.
- De Giori, G.S., de Valdez G. F., De ruiz Holgado A. P. and Oliver G., 1985. Effect of pH and temperature on the proteolytic of lactic acid bacteria. J. Dairy Sci., 68, 2160-2164.
- De Llano, D. G., Polo M. C. and Ramos M., 1995. Study of proteolysis in Artisanal cheeses: High performance liquid chromatography of peptides. J. Dairy Sci., 78, 1018-1024.
- Del Pozo, P. F., Gaya P., Medina M., Rodriguez-Marin M. A. and Nunez M., 1988. Changes in the microflora of La Serena ewes' milk cheese during ripening. J. Dairy Res., 55, 449-455.
- Demiret, N. N. ve Karapınar M., 2000. Süt ürünlerinde *Staphylococcus aureus*. Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri (VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı), 78-85, Tekirdağ.
- Dığrak, M., Yılmaz Ö. ve Özçelik S., 1994. Elazığ kapalı çarşısında satışa sunulan Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel-kimyasal özellikleri. Gıda, 16 (6), 381-387.
- Durlu-Özkaya, F., Alichanidis E., Litopoulou-Tzanetaki E. ve Tunail N., 1999. Determination of biogen amin content of Beyaz cheese and biogen amine production ability of sopme lactic acid bacteria. Milchwissenschaft, 54, 680-682
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan K. ve Özkan G., 2000. Biogenic amine determination in Tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC). Milchwissenschaft, 55 (1), 27-28.

- Durlu-Özkaya, F., 2001. Salamura Beyaz peynirlerden izole edilen bazı laktokok, enterokok ve laktobasil suşlarının proteolitik aktivite, bakteriyosin etkinliği ve biogen amin oluşumu açısından karşılaştırılması.(Doktora Tezi). Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Dzieak, J., 1987. Rapid methods for microbiological analysis of food. Food Technol, 41, 56-73.
- Edwards, S. T and Sandine W., 1981. Public health significance of amines in cheese. J. Dairy Sci., 64, 2431-2438.
- Elliker, P. R., Anderson A. W. and Hanneson G., 1956. An Agar Culture Medium for Lactic Acid Streptococci and Lactobacilli. J. Dairy Sci, 39, 1611-1612.
- Elortondo, F. J. P., Echobarrian P. A., Albisu M. and Barcina Y., 1998. Indigenous lactic acid bacteria in Idiazabal Ewes' milk cheese. Int. Dairy J., 8, 725-732.
- El-Sayed, M. M., 1996. Biogen amines in processed cheese available in Egypt. Int. Dairy J., 6, 1079-1086.
- Eralp, M. ve Kaptan N., 1970. Antalya ili genel sütçülüğü ile süt mamülleri üzerine incelemeler. Ankara Üniv. Ziraat. Fak Yay. No: 436, 539
- Eralp, M., 1974. Peynir Teknolojisi. Ankara Üniv. Ziraat. Fak. Yay. No: 533, Ders Kitabı: 178. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
- Farias, M. E. and De Nadra M. C. M., 2000. Purification and partial characterization of *Oenococcus oeni* exoprotease. FEMS Microbiological Letters ,185, 26-266.
- Folkertsma, B. and Fox P. F., 1992. Use of Cd-ninhydrin to assess proteolysis in cheese during ripening. J. Dairy Res., 59, 217-224.
- Fontecha, J., Pelaez C., Jaurez M., Reguena T., Gomez, C. and Ramos M., 1990. Biochemical and microbiological characteristics of Artisanal hard goat's cheese. J. Dairy Sci., 73, 1150-1157.
- Fox, P.F., 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. J. Dairy Sci., 72, 1379-1400.

- Fraizer, W. C. and Westhoft D. C., 1978, Food Microbiology (3. th Edition), McGraw-
- Frey, J. P., Marth E. H., Johnson M. E. and Olson N. F., 1986. Peptidase and protease of Lactobacilli associates with cheese. *Milchwissenschaft*, 41, 622-624.
- Garvie, E. I., 1986. *Pediococcus*. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, ed Sneath A. H. O., Mair, S. H., Sharpe, M. E., Holt, G. R. Williams and Wilkins, Baltimore, USA, 1043-1080, 1209-1235.
- Gilliland, S. E., 1988. Bacteria Starter Cultures For Foods. CRC Press,Inc, Boca Rotion.
- Gobetti, M., Folkertsma B., Fox P. F., Corsetti A. and Smavvhi., 1999. Microbiology and biochemistry of Fossa (pit) cheese. *Int. Dairy J.*, 9, 763-773.
- Gönç, S., 1974. Divle tulum peynirinin teknolojisi ve bileşimi üzerine araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 11 (3).
- Guinee, T.F. and Fox P.F., 1987. Studies on Romano type cheese; general proteolysis. *Dairy Sci. Abstr.*, 49, 6019.
- Güneş, T. ve Albayrak M., 1994. AT karşısında Türkiye peynirlerinin pazarlanmasında ambalajlama hizmetleri. *Her Yönüyle Peynir (İkinci Baskı)*. Trakya Üniv. Tekirdağ Ziraat Fak. Yay. No: 125, Tekirdağ.
- Gürbüz, F., 1993. Minitab Inc. 3081 Enterprise Drive State Collage, PA 16801- 3008 814-238-3280, Copyright [C] 1993, Minitab Inc.
- Güven. M. ve Konar A., 1994. İnek sütünden üretilen ve farklı materyallerde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinin fiziksel, kimyasal ve duyusal özellikleri. *Gıda*, 19 (5), 287-293.
- Haack, S. K., Garchow H., Odelson D. A., Forney L. and Klug M. J., 1994. Accuracy, reproducibility and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacteriol communities, *Appl. Environ. Microbiol.*, 60 (7), 2483-2493.
- Hammes, W. P. and Tichaczek P. S., 1994. The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. *Z Lebensm Unters Forsch*, 198, 193-201.

- Hartman, P. A. and La Grang W. S., 1985. Coliforms Bacteria. In: Richardson, G. H. (Ed). Standard Methods for The Examination of Dairy Products, (APHA), 173-186, Washington, D. C.
- Hebert, E. M., Raya R. R., Tailliez P. and De Giori G. S., 2000. Characterization natural isolates of *Lactobacillus* strains to be used as starter cultures in dairy fermentation. Int. J. Microbiol., 59, 19-27.
- Holzappel, H. W. and Schillinger U., 1992. The genus *Leuconostoc*. In: The *Prokaryotes* (2nd ed), eds Balows. A. Truper, H. G., Dworkin, M., Harder, W. and Schleifer, K. Springer-Verlag. New York, USA, 1508-1534.
- Hosona, A., Tanabe T. and Otani T., 1989. Binding properties of lactic acid bacteria from fermented kefir milk with mutagenic amino acid phyrolyzates. Milchwissenschaft, 45, 647.
- İzmen, E.R., 1939. Türkiye Mihalıç Tulum ve Beyaz peynirlerin terkipleri. Y.Z.E. Çalışmaları: 86, Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
- Jay, J. M., 1992. Modern Food Microbiology. 4th ed., An Avl Book, New York, NY.
- Joosten, H. M. L. J. and Olieman C., 1986. Determination of biogen amines in cheese and some other food products by high-performance liquid chromatography in combination with thermo-sensitized reaction detection. J. Chromatography, 356, 311-319.
- Joosten, H. M. L. J. and Northolt M. D., 1987. Conditions allowing the formation of biogen amines in cheese. II. Decarboxylative properties of some non-starter bacteria. Neth. Milk Dairy J., 41 (3), 259-280.
- Joosten, H. M. L. J., 1988. Conditions allowing the formation of biogen amines in cheese. 3. Factors influencing the amounts formed. Neth. Milk Dairy J., 41, 329-357.
- Joosten, H. M. L. J. and van Boekel., 1988. Conditions allowing the formation of biogen amines in cheese. 4. A study of kinetics of histamine formation in an infected Gouda cheese. Neth. Milk Dairy J., 42, 3-24.

- Joosten, H. M. L. J. and Northolt M. D., 1989. Detection, growth, and amine-producing capacity of Lactobacilli in cheese. *Appl. Environ Microbiol.*, 55, 2356-2359.
- Kamaly, K. M. and Marth E. H., 1989. Enzyme activities of lactic Streptococci and their role in maturation of cheese: a review. *J. Dairy Sci.*, 72, 1945-1966.
- Kaptan, N., 1969. Süt ve Mamülleri Uygulama Kılavuzu. Ankara Üniv. Basımevi, Ankara.
- Karacabey, A. ve Uraz D., 1974. Türkiye’de Yapılan Muhtelif Tip Peynirler ve Özellikleri. Ankara Çayır Mer’a ve Zootečni Araştırma Enst. Yay. No: 44, Ankara.
- Karaibrahimoğlu, Y. ve Üçüncü M., 1988. Erzincan Tulum peynirinin işlem ve ürün parametrelerinin belirlenmesi. *Ege Üniv. Müh. Fak. Derg.*, Seri B, 6 (2), 79-97.
- Karakuş, M., 1994. Beyaz peynirden izole edilen laktik asit bakterilerinin asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri. *Gıda*, 19 (4), 237-241.
- Katsiari, M. C., Alichanidis E., Voutsinas L. P. and Roussias I. G., 2001. Proteolysis in reduced sodium Kefalograviera cheese made by partial replacement of NaCl with KCl. *Food Chem.*, 73, 31-34.
- Kelly, M., Fox P. F. and McSweeney P. L. H., 1996. Effect of salt-in-moisture on proteolysis in cheddar cheese. *Milchwissenschaft*, 51 (9), 498-501.
- Khalid, N. M. ve Marth E.H., 1990. Lactobacilli-their enzymes and role in ripening and spoilage of cheese. A Review. *J. Dairy Sci.*, 73, 2669-2648.
- Kınık,Ö., Ergüllü E. ve Akbulut N., 1999. Sepet peyniri üretimi ve kimi özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*, 24 (3), 151-161
- Klara, A. and Shahani K. M., 1978. Lactic fermentation of dairy foods and their biological significance. *J. Dairy Sci.*, 61, 1793-1800.
- Koburger, J. A. and Marth E. H., 1984. Yeasts and Molds. In: Speck, M. L.(Ed). *Compendium of Methods For The Microbiological Examination of Food* (APHA), 197-201, Washington D:C

- Koehler, P. E. and Eitenmiller R. R., 1978. High pressure liquid chromatographic analysis of tyramin, phenylethylamine and tryptamine in sausage, cheese and chocolate. *J. Food Sci.*, 43, 1245-1247.
- Konings, W. N., Kok J., Kuipers O. P. and Poolman B., 2000. Lactic acid bacteria: The bugs of the new millennium. *Current Opinion in Microbiol.*, 3, 276-282.
- Kosikowski, F., 1978. *Cheese and Fermented Milk Foods*. Michigan Edwards, Brotherds, Inc., 711.
- Kurt, A., 1969. Dondurulmuş Laktik Asit Kültürlerinin Aktiviteleri, Pastörize İnek Sütünden Beyaz Peynir Yapılışı ve Olgunluk Derecesinin Belirtilmesi Üzerinde Araştırmalar. Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum, 73.
- Kurt, A. ve Öztekin L., 1984. Şavak Tulum peynirinin yapım tekniği üzerine araştırmalar. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ziraat Fak. Derg., 15 (3-4), 65-77.
- Kurt, A., Çakmakçı S., Çağlar A. ve Akyüz N., 1991 a. Erzincan Tulum (Şavak) peynirinin yapılışı, duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine bir araştırma. *Gıda*, 16 (5), 295-300.
- Kurt, A., Çağlar A., Çakmakçı S. ve Akyüz N., 1991 b. Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik özellikleri. *Doğa-Tr. J. of Veterinary and Animal Sci.*, 16 (1), 41-50.
- Kurt, A., Çakmakçı S. ve Çağlar A., 1993. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi. Atatürk Üniv. Yay. No: 252/d. Ziraat Fak. Yay No: 18 (Genişletilmiş 5. Baskı), Erzurum.
- Kurt, A., 1994. Süt Teknolojisi. Atatürk Üniv. Yay. No: 573. Ziraat Fak. Yay. No: 252, Erzurum.
- Küfrevioğlu, Ö. İ., Akdağ R., Şahin F., Pirim İ., Çiftçi M., Polat F., Özmen İ. ve Oral B., 1999. Uygulamalı Moleküler Biyoloji Teknikleri Kursu (13-24 Eylül), Biyoteknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Atatürk Üniv., Erzurum.
- Laborda, M. A. and Rubiolo A. C., 1999. Proteolysis of Fynbo cheese with NaCl/KCl and ripened at two temperatures. *J. Food Sci.*, 64 (1), 33-36.

- Lawrence, R. C., Creamer L. K. and Gilles J., 1987. Texture development during cheese ripening. Symposium: Cheese Ripening Technology. J. Dairy Sci, 70, 1748-1760.
- Layne, J., 1995. Improving cheese flavour. In 4th Cheese Symposium, National Dairy Products Research Centre, Moore Park, 46-50. Fermoy Co. Cork
- Lee, J. S. and Kraft A. A., 1984. Proteolytic Microorganisms. In: Speck, M. L. (Ed). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods (APHA), 155-159, Washington, D. C.
- Lee, B. H., Hache S. and Simard R. E., 1986. A rapid method for differentiation of dairy lactic acid bacteria by enzyme systems. J. Industrial Microbiology, 1, 209-217.
- Lee, B. H., Laleye L. C., Simard R. E., Munsch M. H. and Holley R. A., 1990. Influence of homofermentative Lactobacilli on the microflora and soluble nitrogen components in Cheddar cheese. J. Food Sci., 55 (2), 391-397
- Lemieux, L. and Simard R. E., 1991. Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. Lait, 71, 599-639.
- Leuschner, R. G. K., Kurihara R. and Hammes W. P., 1998. Effect of proteolysis on formation of biogenic amines by *Lactobacilli* during Gouda cheese ripening. International J. Food Microbiol., 44, 15-20.
- Lipski, A., Klatte S., Bendinger B. and Altendorf K., 1992. Differentiation of Gram negative, nonfermentative bacteria isolated from biofilters on the basis of fatty acid composition, quinone system and physiological reaction profiles, Appl. Environ. Microbiol., 58 (6), 2053-2063.
- Litopoulou-Tzanetaki, E., 1990. Changes in numbers and kinds of lactic acid bacteria during ripening of Kefalotyri cheese. J. Food Sci., 55, 111-113.
- Lonvaud-Funel, A., 2001. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. FEMS Microbiol. Letters, 199, 9-13.
- Lopez-Diaz, T. M., Alonso C., Santos J., Garcia M. L. and Moreno B., 1995. Microbiological changes during manufacture and ripening of a naturally ripened blue cheese (Valdeon, Spain). Milchwissenschaft, 50 (7), 381-384.

- Maijala, R. I., Eerola S. H., Aho M. A. and Him J. A., 1993. The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amine in meat. *J. Food Prot.*, 50, 125-129.
- Maijala, R., 1994. Histamine and tyramine production by a *Lactobacillus* strain subjected to external pH decrease. *J. Food Prot.*, 25 (3), 259-262.
- Mannu, L., Comunian R. and Scintu M. F., 2000. Mesophilic lactobacilli in Fiore cheese: PR-identification and evaluation during cheese ripening. *Int. Dairy J.*, (10), 383-389.
- McDonald, L. C., McFeeters R. F., Daeschel M. A. and Fleming H. P., 1987. A differential medium for the enumeration of homofermentative and heterofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, June, 1382-1384.
- Medina, M. L. R., Tornodija M. E., Carballo J. and Sarmiento R. M., 1995. Microbiological study of Leon raw-milk cheese a Spanish craft variety. *J. Food Prot.*, 57(9), 998-1006.
- 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.
- Olson, N. F., 1990. The Impact of Lactic Acid Bacteria on Cheese Flavour. *FEMS Microbiol. Reviews*, 87, 131-138.
- Ordenez, A. I., Ibanez F. C., Torre P. and Barcina Y., 1997. Formation of biogen amines in Idiazabal ewes'-milk cheese: Effect of ripening, pasteurization, and starter. *J. Food Prot.*, 60 (11), 1371-1375.
- Özalp, E., Kaymaz Ş. ve Akşehirli E., 1978. Erzincan Tulum peynirinde Enterotoksijenik Stafilokok'lar ve Salmonella'lar yönünden araştırma. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 25 (11), 55-61.
- Özalp, E., 1988. Süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler. *Ankara Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 35 (1), 55-61.

- Patarata, L., Pimentel M. S., Pot B., Kersters K. and Faia A. M., 1994. Identification of lactic acid bacteria isolated from Portuguese wines and musts by SDS-PAGE. J. Appl. Bacteriol., 76, 288-293.
- Penttonen, R., Ling W. H., Hanninen O. and Eerola E., 1992. An uncooked vegan diet shifts the profile of human fecal microflora computerized analysis of direct stool sample gas-liquid chromatography profiles of bacterial cellular fatty acids, Appl. Environ. Microbiol., 58 (11), 3660-3666.
- Peterson, S.D. and Marshall R. T., 1990. Nonstarter lactobacilli in Cheddar cheese: A Review. J. Dairy Sci., 1395-1410.
- Pouillet, B., Huertas M., Sanchez A., Caceres P. and Larriba G., 1993. Main lactic acid bacteria isolated during of Casar de Cacares cheese. 1993. J. Dairy Sci., 60, 3-127.
- Requena, T., Pelaez C. and Desmazeaud M. J., 1991. Characterization of lactococci and lactobacilli isolated from semi hard goats' cheese. J. Dairy Res., 58, 7-145.
- Santos, M. H. S., 1996, Biogen amines: their importance in foods. Food Microbiology. 29, 13-231.
- Sasser, M. M., 1990. Identification of bacteria by gas chromatography of cellular fatty acids, MIDI, Technical Note 101, New York, USA.
- Schneller, R., Good P. and Jenny M., 1997. Influence of pasteurization milk, raw milk and different ripening cultures on biogenic amine concentrations in semi-soft cheeses during ripening. Z Lebensm Unters Forsch A, 204, 265-272.
- Scolari, G., Vescovo M. ve Rossi G., 1996. Substrate models for studies on peptidolytic activity *Lactobacillus casei*. Int. Dairy Sci., (6), 921-935.
- Scott, R., 1986. Cheese Making Practice (2nd ed) Elsevier App. Sci. Publ., London and New York.
- Sert, S., 1992. Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Notları. Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ders Yay. No: 138, Erzurum.
- Shalaby, A. R., 1997. Significance of biogen amines to food safety and human health. Food Research International, 29, 675-690.

- Sharpe, M. E., Frayer T. F. and Smith D.G., 1966. Identification of Lactic Acid Bacteria. 'In: Identification Methods for Microbiologist, Part A, Eds. B. M. Gibbs and F. A. Skinner, Academic Presss, 245 , New York.
- Smith, J. L. and Alford J. A., 1984. Lipolitic Microorganisms. In: Compendium of Methods for The Microbiological Examination of Foods, 148-153, Washington, D.C.
- Speck, M. L., 1976. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Assosiation. Washington, D. C., 701
- Stead, D. E., Sellwood J. E., Wilson J. and Viney I., 1992. Evaluation of a commercial microbiology identification system based on fatty acid profillers for rapid, accurate identification of plant pathogenic bacteria, J. Appl. Bacteriol.,72, 315-321.
- Steele, J. L. and Ünlü G., 1992. Impact of lactic asit bacteria on cheese flavor development. Food Technol., November, 128-135.
- Stiles, M. E. and Holzapfel W. H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. Int. J. Food Microbiol., 36, 1-29.
- Stoakes, L., John M. A., Lannigan R., Schieven B.C., Ramos M., Hardley D. and Hussain Z., 1994. Gas-liquid chromatography of cellular fatty acids for identification of *Staphylococcus*. J. Clinical Microbiology. 1908-1910
- Stratton, S. S., Hutkins R. W. and Taylor S. L., 1991. Biogen amines in cheese and other fermented foods: a review. J. Food Prot., 54, 460-470.
- Stratton, S. S., Hutkins R. W. Sumner S. S. and Taylor S. L., 1992. Histamine and histamine-producing bactria in retail Swiss and low-salt cheeses. J. Food Prot., 55, 435-439.
- Straub, B. W., Kicherer M., Scihilcher S. M., Hammes W. P., 1995. The formation of biogenic amines by fermentation organism. Z. Lebensm Unters-Forsch. 201, 79-82.

- Sumner, S. S., Roche F. and Taylor S. L., 1990. Factor controlling histamine production in Swiss cheese inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J. Dairy Sci.*, 73, 3050-3058.
- Sürmeli, G., Tunail N. ve Köşker Ö., 1982. Laktik asit bakterilerinin izolasyonunda kullanılan besiyerlerinin karşılaştırılması üzerinde araştırmalar. *Gıda*, 7 (1), 3-9.
- Şahin, I., 1990. Mikrobiyolojiye Giriş. Eser Matbaası, 237, Samsun
- Şahin, F., 1999. Mikrobiyal tanıda yeni bir dönem: Mikrobiyal identifikasyon sistem. *Medikal Trend Bulten*, 2 (15), 22-23.
- Şahin, F., Küfrevioğlu Ö. İ., Çiftçi M. ve Özbek A., 2000. Mikrobiyal identifikasyon sistem (MIS) kullanarak mikroorganizmaların yağ asitleri profillerine göre tanımlanması. XIV. Ulusal Kimya Kongresi. 10-15 Eylül 2000, Diyarbakır.
- Şengül, M., 1995. Çiğ ve pastörize inek sütünden yapılan ve farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan tulum peynirlerinin bazı kalite kriterlerinin tespiti (Yüksek lisans tezi). Atatürk Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Şengül, M., Türkoğlu H., Çakmakçı S. ve Çon A. H., 2001. Effects of casing materials and ripening period on some microbiological properties of Tulum cheese. *Pakistan J. Biological Sci.*, 4 (7), 854-857.
- Taylor, S. L., Keefe T. F., Windham E. S. and Howell J. F., 1982. Outbreak of histamine poisoning associated with consumption of Swiss cheese. *J. Food Prot.*, 45, 455-457.
- Tekinşen, O. C. ve Çelik C., 1979. Şavak peynirinde *Staphylococ*'lar ve *Micrococ*'lar. *Ankara Üniv. Vet. Fakültesi Derg.*, 3-4, 47-63.
- Tekinşen, O. C., 2000. Süt Ürünleri Teknolojisi. Baskı: Selçuk Üniv. Basımevi. ISBN: 975-95678-1-7, Konya.
- Temelli, S., 2000. Süt ve et endüstrisinde starter kültürlerin önemi. *Dünya Gıda Derg.*, 6 (6), 70-72

- Thompson, T. L. and Marth E. H., 1986. Changes in Parmesan cheese during ripening: microflora, coliforms, enterococci, anaerobs, propionibacteria and staphylococci. *Milchwissenschaft*, 41, 201-205.
- Töral, A. R., 1969. Elazığ bölgesi peynirlerde kimyasal araştırmalar. Güven Matbaası, Ankara.
- Tunail, N. ve Köşker Ö., 1986. Süt Mikrobiyolojisi. Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No:966, Ankara.
- Uraz, T. ve Şimşek B., 1998. Ankara piyasasında satışa sunulan Beyaz peynirlerin proteoliz düzeylerinin belirlenmesi. *Gıda*, 23 (5), 371-375.
- Vale, S. and Gloria M. B. A., 1998. Biogen amines in Brazilian cheeses. *Food Chem.*, 63 (3), 343-348.
- Valsamaki, K., Michaelidou A., and Polychroniadou A., 2000. Biogen amine production in Feta cheese. *Food Chem.*, 71, 259-266.
- Van Den Berg, D. J. C., Smits A., Pot, B., Ledebeor A. M., Kersters K., Verbakel J. M. A. and Verrips T., 1993. Isolation, screening and identification of lactic acid bacteria from traditional food fermentation processes and culture collections. *Food Biotechnology*, 7 (3), 189-205.
- Vaughan, E. E., Caplice E., Looney R., O' Rourke N., Coveney H., Daly C. and Fitzgerald G. F., 1994. Isolation from food sources, of lactic acid bacteria that produced antimicrobials. *J. Appl. Bacteriol.*, 76, 118-123.
- Vignolo, G. M., De Ruiz Holgado A. P. and Oliver G., 1988., Acid production and proteolytic activity of *Lactobacillus* strains isolated from dry sausages. *J. Food Prot.*, 51(6), 481-484.
- Visser, S., 1993. Proteolytic enzymes and their relation to cheese ripening and flavor: An Overview.(Symposium: Proteolytic enzymes and cheese ripening). *J. Dairy Sci.*, 76, 329-350.
- Voigt, M. N. and Eitenmiller R. R., 1977. Production of tyrosine and histidine decarboxylase by dairy-related bacteria. *J. Food Prot.*, 40, 241-245.

- Voigt, M. N. and Eitenmiller R. R., 1978. Role of histidine and tyrosine decarboxylase and mono and diamine oxidase in amine built-up in cheese. *J. Food Prot.*, 41, 182-186.
- Williams, A. G., Withers S. E. and Banks J. M., 2000. Energy sources of non starter lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese. *Int. Dairy J.*, 10, 17-23.
- Wisniewska, K., Reps, A., Jarmuc I. and Babuchowski A., 1991. An influence of salt content in Cheddar on the extent of their proteolysis. *Dairy Sci. Abstr.*;53, 6314
- Yaygın, H., 1971 Salamuralı tulum peynirlerinin yapılışı ve özellikleri üzerine araştırmalar. *Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 8 (1), 91-124.
- Yetişmeyen, A. ve Deveci O., 2000. Üçüncü bin yılın başında Türkiye süt sektörünün durumu ve Avrupadaki konumu. *Süt Mikrobiyolojisi ve Katkı Maddeleri. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı.* 2-18, Tekirdağ.
- Zhang, X. B. and Ohta Y., 1990. Antimutagenicity and binding of lactic acidbacteria from Chine cheese to mutagenic pyrolyates. *J. Dairy Sci.*, 75, 958-961.

ÖZGEÇMİŞ

Trabzon'da 1970 yılında doğdu. İlk, orta, lise öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 1986 yılında girdiği Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü'nden 1990 yılında mezun oldu. Ekim 1992-Eylül 1995 yılları arasında, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans öğrenimini tamamladı.

Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde 1993 yılından beri Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır. Evli ve bir çocuk babasıdır.

