



**TEREYAĞLARINDAN EKZOPOLİSAKKARİT (EPS)
ÜREten LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
İZOLASYONU VE TEREYAĞI ÜRETİMİNDE
STARTER KÜLTÜR OLARAK
KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

Halil İbrahim AKGÜL

**Danışman: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL
Doktora Tezi
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
2020
(Her hakkı saklıdır.)**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**TEREYAĞLARINDAN EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETEK LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE TEREYAĞI ÜRETİMİNDE STARTER
KÜLTÜR OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

(Isolation of Lactic Acid Bacteria Producing Exopolisaccharid (EPS) from Butters and Their
Usability as Starter Culture in Butter Production)

DOKTORA TEZİ

Halil İbrahim AKGÜL

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

Erzurum
Aralık, 2020

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI

TEREYAĞLARINDAN EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE TEREYAĞI ÜRETİMİNDE STARTER KÜLTÜR
OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL danışmanlığında, Halil İbrahim AKGÜL tarafından hazırlanan bu çalışma 29/12/2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda doktora tezi olarak **oybirliği/oy çokluğu (5/5)** ile kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı:	Prof. Dr. Atilla YETİŞEMİYEN <i>Ankara Üniversitesi</i>	İmza:
Danışman:	Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL <i>Atatürk Üniversitesi</i>	İmza:
Üye:	Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR <i>Atatürk Üniversitesi</i>	İmza:
Üye:	Prof. Dr. Mesut TAŞKIN <i>Atatürk Üniversitesi</i>	İmza:
Üye:	Doç. Dr. Enes DERTLİ <i>Yıldız Teknik Üniversitesi</i>	İmza:

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

Prof. Dr. Mehmet KARAKAN
Enstitü Müdürü

Bu çalışma BAP projeleri kapsamında desteklenmiştir.
Proje No: 2015/404

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

ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU

Doktora tezi olarak Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL danışmanlığında sunulan “Tereyağlarından Ekzopolisakkarit (EPS) Üreten Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu ve Tereyağı Üretiminde Starter Kültür Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması” başlıklı çalışmanın tarafımızdan bilimsel etik ilkelere uyularak yazıldığını, yararlanılan eserlerin kaynakçada gösterildiğini, Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından belirlenmiş olan Turnitin Programı benzerlik oranlarının aşılmadığını ve aşağıdaki oranlarda olduğunu beyan ederiz.

Tez Bölümleri	Tezin Benzerlik Oranı (%)	Maksimum Oran (%)
Giriş	%12	30
Kuramsal Temeller	%7	30
Materyal ve Yöntem	%9	35
Araştırma Bulguları ve Tartışma	%7	20
Tezin Geneli	%8	25

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

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

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı	
Halil İbrahim AKGÜL	Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL	
4.1.2021	4.1.2021	
İmza:	İmza:	

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

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

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

TEŞEKKÜR

Akademik çalışma hayatım boyunca desteğini her zaman arkamda hissettiğim, her ne çalışma yaparsam önümü açan, hakkını ödeyemeyeceğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL’e teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde bilgi ve deneyimleriyle önemli katkıları olan Sayın Doç. Dr. Enes DERTLİ ve Dr. Öğr. Üyesi Hümeysra İSPİRLİ’ye,

Çalışmanın doğru yolda ilerlemesi hususunda olumlu yönlendirmelerinden ötürü Sayın Prof. Dr. Elif DAĞDEMİR ve Sayın Prof. Dr. Mesut TAŞKIN’a,

Çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan (2015/404) Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi’ne,

Laboratuvar çalışmalarım esnasında desteğini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Murat KARAOĞLU’na, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Tuba ERKAYA KOTAN’a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bayram ÜRKEK’e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Ayla ARSLANER’e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Emin MERCAN’a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Aybike KAMİLOĞLU’na, Sayın Arş. Gör. Tuğba ELBİR’e ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kübra ÇINAR TOPÇU’ya,

Deneme tereyağı örneklerinin üretimi için krema tedariki sağlayan kıymetli arkadaşım Muammer YILDIZHAN şahsında Yıldızhan Süt Ürünleri’ne teşekkür ederim.

Desteğini her an yanımda hissettiğim, hayatımın anlamı kıymetli eşim Hatice Kübra AKGÜL’e şükranlarımı sunarım.

Halil İbrahim AKGÜL

ÖZET

DOKTORA TEZİ

TEREYAĞLARINDAN EKZOPOLİSAKKARİT (EPS) ÜRETEK LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN İZOLASYONU VE TEREYAĞI ÜRETİMİNDE STARTER KÜLTÜR OLARAK KULLANILABİLİRLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Halil İbrahim AKGÜL

Danışman: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

Amaç: Bu çalışmada geleneksel yöntemler ile üretilen tereyağlarından izole edilen EPS üreten laktik asit bakterilerinin tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılabiliirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yöntem: 30 adet Tereyağı örneğinden laktik asit bakterileri izole edilerek genotipik olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan 56 adet LAB suşunda EPS üretimi genotipik olarak tespit edilmiştir. Suşların asidifikasyon kapasiteleri, diasetil üretimi, lipolitik ve proteolitik aktiviteleri ile antibiyotik dirençliliği araştırılmıştır. Tereyağında starter kültür olarak kullanımı uygun olduğu belirlenen 5 LAB suşu ile deneme tereyağı üretimleri gerçekleştirilmiştir. Starter kültür olarak kullanılan suşların tereyağının fiziksel, kimyasal, tekstürel, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Bulgular: Geleneksel olarak üretilen tereyağlarından izole edilen LAB suşlarının %32,14'ünü *Lactococcus*, %30,36'sını *Enterococcus*, %21,43'ünü *Lactobacillus*, %14,29'unu *Streptococcus* ve %1,79'unu *Leuconostoc* cinsi bakterilerin oluşturduğu ortaya konulmuştur. Suşların teknik özelliklerinin belirlenmesi sonucunda EM1 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, EM28 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, B3 kodlu *Leuconostoc mesenteroides*, G49 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve B19 kodlu *Lactobacillus rhamnosus* LAB suşlarının tereyağı starter kültürü olarak kullanımının uygun olduğu belirlenmiştir.

Sonuç: Starter kültür olarak kullanılan LAB suşları tarafından üretilen EPS'nin tereyağının fizikokimyasal özellikleri üzerine olumsuz herhangi bir etki oluşturmadığı tespit edilmiştir. Duyusal analiz sonuçlarına göre Türk damak tadına uygun tereyağı lezzeti sağlayan starter kültür geliştirme hedefi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, araştırma sonucunda elde edilen laktik asit bakterilerinin tereyağı üretimi için uygun starter kültür olarak kullanılabileceği kanatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Tereyağı, Starter Kültür, Laktik Asit Bakterileri, EPS.

Aralık 2020, 172 Sayfa

ABSTRACT

DOCTORAL DISSERTATION

ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA PRODUCING EXOPOLISACCHARID (EPS) FROM BUTTERS AND THEIR USABILITY AS STARTER CULTURE IN BUTTER PRODUCTION

Halil İbrahim AKGÜL

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa ŞENGÜL

Purpose: In this study, it was aimed to investigate the usability of EPS-producing lactic acid bacteria isolated from butter produced by traditional methods as starter culture in butter production.

Method: Lactic acid bacteria strains were isolated from 30 butter samples and identified genotypically. EPS production in 56 identified LAB strains was investigated genotypically; the technical properties of the strains such as acidification capacity, diacetyl production, lipolytic and proteolytic activities, antibiotic resistance were investigated. Butter production was carried out using 5 LAB strains that were found to be suitable for use as starter culture in butter. The effects of the strains used on the physical, chemical, textural, microbiological and sensory properties of butter were investigated.

Findings: Of the LAB strains isolated from traditionally produced butter, were 32,14% *Lactococcus*, 30,36% *Enterococcus*, 21,43% *Lactobacillus*, 14,29% *Streptococcus* and 1,79% *Leuconostoc*. As a result of determining the technical properties of the strains, It was determined that *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* EM1, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* EM28, *Leuconostoc mesenteroides* B3, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* G49 and *Lactobacillus rhamnosus* B19 can be used as starter culture in butter.

Results: It has been determined that EPS produced by LAB strains used as starter culture does not have any negative effect on the physicochemical properties of butter. According to the results of sensory analysis, the goal of developing a starter culture that provides a butter flavor suitable for Turkish taste has been successfully achieved. As a result, it was concluded that the starter cultures developed in this study can be used as a starter culture for butter production.

Keywords: Butter, Starter Culture, Lactic Acid Bacteria, EPS.

December 2020, 172 pages

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY TUTANAĞI	i
ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
GİRİŞ.....	1
Süt Endüstrisinde Starter Kültür	3
Laktik Asit Bakterileri.....	5
Tereyağı ve Starter Kültür.....	14
KURAMSAL TEMELLER.....	18
MATERYAL VE METOD	26
EPS Üreten LAB Suşlarının İzolasyonu ve Bazı Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi ...	26
Materyal	26
Tereyağı örneklerinden LAB izolasyonu	26
Tanımlanan LAB suşlarının bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi	30
EPS Üreten LAB Suşlarının Tereyağı Üretiminde Starter Kültür Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması.....	32
Starter kültürlerin hazırlanması.....	32
Tereyağı üretimi	33
Deneme tereyağı örneklerinin kalite özelliklerinin belirlenmesi	35
İstatiksel Analizler	39
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	40
Tereyağı Örneklerinden LAB izolasyonu	40
Tanımlanan LAB Suşlarının Bazı Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	48
EPS üretimi için gerekli <i>gtf</i> ve <i>p-gtf</i> genlerinin tespiti.....	48
Asidifikasyon kapasitesi.....	51
Diasetil üretimi.....	56
Proteolitik aktivite.....	60
Lipolitik aktivite.....	62

Antibiyogram testi.....	66
Starter Kültür Olarak Kullanılacak LAB Suşlarının Seçimi ve Starter Kültür	
Kombinasyonlarının Oluşturulması	74
Deneme Tereyağı Üretimi.....	79
Krema örneklerinin biyolojik olgunlaşması.....	79
Deneme Tereyağı Örneklerinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi	82
Kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları.....	82
Asitlik (%LA)	87
pH.....	89
Su aktivitesi (a_w)	91
Erime noktası	92
Renk	94
Yağ asidi profili.....	96
Tekstür.....	123
Mikrobiyolojik analizler.....	127
Duyusal analiz.....	132
SONUÇ VE ÖNERİLER	138
KAYNAKLAR.....	140
ÖZGEÇMİŞ.....	157

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Starter Kültürlerin Sınıflandırılması	4
Tablo 2. Yaygın LAB Cinsleri ve Ayırt Edici Karakteristikleri	6
Tablo 3. Süt Ürünlerinin Fermantasyonunda Kullanılan Bazı Laktik Asit Bakterileri	7
Tablo 4. Hammadde Kremanın ve Tereyağının Bileşimi	14
Tablo 5. Tereyağı Starter Kültür Kombinasyonunda Yer Alan Bakterilerin Metabolitleri	16
Tablo 6. RAPD-PCR İçin Hazırlanan PCR Karışımı	28
Tablo 7. RAPD-PCR İçin Oluşturulan PCR Şartları	28
Tablo 8. 16s rRNA Geninin Amplifiye Edilmesi İçin Hazırlanan PCR Karışımı	29
Tablo 9. 16s rRNA Geninin Amplifiye Edilmesi İçin Hazırlanan PCR Şartları	30
Tablo 10. EPS Genlerinin Tespitinde Kullanılan Primerler ve PCR Şartları	30
Tablo 11. Deneme Tereyağı Örneklerinin Üretiminde Kullanılan Starter Kültürler	33
Tablo 12. Tereyağı Örneklerinin M17 ve MRS Agarda Gelişen Koloni Sayıları ile İzole Edilen Suşların Kodları	40
Tablo 13. Tanımlanan Suşlar ve Kodları	43
Tablo 14. Tanımlanan LAB Suşlarının Cins ve Türlerine Göre Adet ve Oranları	45
Tablo 15. Tanımlanan LAB Suşlarında EPS Geni Tespiti	49
Tablo 16. LAB Suşlarının Asidifikasyon Kapasiteleri	52
Tablo 17. Cins Bazında LAB Suşlarının Diasetil Üretme Durumları	58
Tablo 18. Tanımlanan LAB Suşlarının Diasetil Üretimi, Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri	59
Tablo 19. Tanımlanan LAB Suşlarına Uygulanan Antibiyogram Testi Sonuçları	69
Tablo 20. Cins Bazında Antibiyotiklere Karşı Direnç Gösteren LAB Suşları Sayıları	71
Tablo 21. Tereyağında Starter Kültür Olarak Kullanılmakta Olan LAB Türlerine Ait İzolatlar	75
Tablo 22. Starter Kültür Türlerine Ait Suşların Özelliklerine Göre Değerlendirilmeleri	75
Tablo 23. Seçilen 8 İzolatın Antibiyotik Direnci Durumu	77
Tablo 24. Starter Kültür Geliştirme Çalışmasında Kullanılacak İzolatlar ve Kullanım Amaçları	78
Tablo 25. Ts ₁ ve Ts ₂ Starter Kültür Kombinasyonlarının Suş Kombinasyonları ve Suşların Kombinasyondaki Oranları	78

Tablo 26. Çalışmada Kullanılan Ticari Starter Kültür ve Üretici Firma Tarafından İhtiva Ettiği Belirtilen LAB Suşları	79
Tablo 27. Kremaların Biyolojik Olgunlaştırılması Esnasında pH Seyri	80
Tablo 28. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Bazı Özelliklerin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	83
Tablo 29. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait % Asitlik Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	88
Tablo 30. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait pH Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	90
Tablo 31. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Su Aktivitesi Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	91
Tablo 32. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Erime Noktası Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	93
Tablo 33. Deneme Tereyağı Örneklerinin Renk Değerlerine Ait Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları	94
Tablo 34. Deneme Tereyağı Örneklerinin Yağ Asidi Profilleri	99
Tablo 35. Deneme Tereyağı Örneklerinin Tekstür Analizine Ait Veriler	126
Tablo 36. Deneme Tereyağı Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları	127
Tablo 37. Deneme Tereyağı Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları	132

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Laktik starter kültürlerin sitrat metabolizması	10
Şekil 2. LAB'ların genel EPS üretim mekanizması	12
Şekil 3. Bazı LAB suşlarında EPS gen kümelerinin şematik modül bileşimi	13
Şekil 4. Hyperladder I fragment boyutları ve miktarları	29
Şekil 5. Deneme tereyağı üretim akış şeması	34
Şekil 6. Duyusal analiz değerlendirme skalası	39
Şekil 7. M13 primeri kullanılarak gerçekleştirilen RAPD-PCR işleminde PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği	42
Şekil 8. 16S rRNA geni çoğaltma işleminde PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği	43
Şekil 9. Tanımlanan LAB suşlarında <i>gtf</i> geninin taranması sonucu oluşan PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği	48
Şekil 10. Tanımlanan LAB suşlarında <i>epsA</i> geninin taranması sonucu oluşan PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği	48
Şekil 11. LAB suşlarının cins bazında ortalama asitlik gelişimleri	54
Şekil 12. Potansiyel starter kültür suşlarının asitlik gelişimleri	56
Şekil 13. İzole edilen LAB suşlarına uygulanan diasetil üretim analizi	57
Şekil 14. Tanımlanan LAB suşlarına uygulanan proteolitik aktivite test örneği	61
Şekil 15. Yağ metabolizması ve yağ asitlerinden kaynaklı uçucu bileşiklerin oluşumu	63
Şekil 16. Tanımlanan lab suşlarına uygulanan lipolitik aktivite testi örneği	65
Şekil 17. Antibiyotik dirençleri açısından suşların değerlendirilmesi şeması	68
Şekil 18. LAB suşlarına uygulanan antibiyogram testi örneği	70
Şekil 19. Deneme tereyağı örneklerinin 1. tekerrür üretiminde kremaların biyolojik olgunlaşması	79
Şekil 20. Krema örneklerinin biyolojik olgunlaşma safhasında pH seyri	81
Şekil 21. Üretilen deneme tereyağı örnekleri	82
Şekil 22. Deneme tereyağı örneklerine ait kurummadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları	86
Şekil 23. Tosun (2016)'un çalışmasında elde ettiği kurummadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları	86
Şekil 24. Deneme tereyağı örneklerine uygulanan erime noktası tayini analizinden bir kesit	92
Şekil 25. K ₀ örneğine ait yağ asidi kromotogramı	97
Şekil 26. K ₁ örneğine ait yağ asidi kromotogramı	97
Şekil 27. A örneğine ait yağ asidi kromotogramı	98

Şekil 28. B örneğine ait yağ asidi kromotogramı	98
Şekil 29. K ₀ örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi.....	124
Şekil 30. K ₁ örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi.....	125
Şekil 31. A örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi	125
Şekil 32. B örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi	126
Şekil 33. Potansiyel probiyotik suş ve potansiyel probiyotik tereyağı örneğinin MRS agara inokülasyonu sonucu gelişen kolonilerin karşılaştırması	129
Şekil 34. Bir paneliste ait duyusal analiz formuna düşülmüş not	135
Şekil 35. Duyusal analiz sonuçlarının grafik olarak gösterimi	136



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

\$	: Amerikan Doları
μ	: Mikron
a_w	: Su Aktivitesi
C	: Santigrat
dk	: Dakika
g	: Gram
Gr	: Gram (Mikroorganizma boyama terimi)
kg	: Kilogram
L	: Litre
log	: Logaritma
M	: Molarite
meq	: Miliekivalent
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
N	: Normalite
N	: Newton
N.s	: Newton saniye
°	: Derece
s	: Saat
sn	: Saniye
w/w	: Ağırlık/ağırlık
v/v	: Hacim/hacim
TL	: Türk Lirası
g	: Bağlı merkezkaç kuvveti
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
Δ	: Delta

Kısaltmalar

bp	: Baz çifti
DCU	: Direct Culture Unit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
EFSA	: European Food Safety Authority
EPS	: Ekzopolisakkarit
FAME	: Yağ Asidi Metil Esteri
GC	: Gaz Kromatografisi
GRAS	: Generally Recognised As Safe
kb	: Kilobaz
KLA	: Konjuge Linoleik Asit
kob	: Koloni Oluşturan Birim
LAB	: Laktik Asit Bakterisi
Mb	: Megabaz
M.Ö.	: Milattan Önce
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RAPD-PCR	: Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
rpm	: Dakikada devir sayısı
SCI	: Science Citation Index
spp.	: Subspecies
TAMB	: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UV	: Ultraviyole

GİRİŞ

Fermente süt ürünlerinin ilk olarak ne zaman üretildiği kesin olarak bilinmemekle birlikte, elde edilen arkeolojik bulgular M.. 5000 ile 10.000 yılları arasında; yani toplayıcı-avcı yaşam biçiminden tarım ve yetiştiriciliğe geçilmesi ile fermente süt ürünlerinin de üretilmeye başlandığını göstermektedir. Neolitik dönemde insanoğlunun evcilleştirdiği hayvanlardan sağdığı sütü, hayvan işkembesine ve derisinden yaptığı tulum, topraktan işlediği mleğe koyduğu bilinmektedir. Süt, sağlıklı hayvandan sağıldığı haliyle steril kabul edilmekle birlikte, sağıldığı hayvandan, sağıcudan, sağım ortamından veya konulduğu kap gibi birçok vektörden, aralarında laktik asit bakterilerinin (LAB) de bulunduğu çeşitli mikroorganizmalar süte kontamine olmaktadır. Kuvvetle muhtemel ki; soğukta muhafazanın söz konusu olmadığı şartlarda, süte kontamine olan laktik asit bakterilerinin zamanla mikroflorayı domine etmesi; laktik asit birikimi sonrası sütün yapı ve kimyasının değişerek ilk sağılan sütten oldukça farklı yapı ve lezzette bir ürüne dönüşmesi ve bu ürünün süte nazaran dayanımının daha uzun olduğunun görülmesi, fermente süt ürünlerinin doğuşunu sağlamıştır (Pederson 1979; Fox *et al.* 2015; zer 2016).

İnsanoğlu, sütün uygun muhafazasının söz konusu olmadığı koşullarda zorunlu olarak keşfetmiş bulunduğu fermente süt ürünlerinden, teknolojinin gelişmesine ve yüksek muhafaza standartlarına erişilmesine rağmen vazgeçmemiştir. Bugün, hijyenik sağım ve muhafaza koşulları altında, soğuk zincirde ve uygun ısıl işlemle süt kendine has yapısında 1 yıla kadar korunabilmekte veya kurutularak 2 yıla kadar depolanabilmekte; her coğrafyaya ulaştırma imknı bulunmaktadır. Süt teknolojisinde sahip olunan bu kabiliyete rağmen, günümüzde ağırlığını fermente süt ürünlerinin oluşturduğu fermente gıdalar, dünya çapında tipik bir diyetin yaklaşık %30'unu oluşturmaktadır (Le Boucher *et al.* 2013; Pan *et al.* 2018). Bu durum hiç şüphesiz ki; tarih boyunca bir beslenme kültürünün oluşmasının, dünyada hala teknolojik standardın tamamen oturtulamamasının ve genel olarak fermente ürünlerin üretildikleri hammaddeden oldukça farklı yapıya, eşsiz lezzet ve aromaya sahip olmasının (Keenan 1968) bir sonucudur. Diğer taraftan 20. yüzyılın başında, bilimin fermente ürünlerin insan sağlığı üzerine olan olumlu etkilerini açıklaması, fermente ürünlerin tüketimini teşvik etmiştir. Nitekim 1907'de Metchnikoff tarafından ileri sürülen "laktik asit bakterileri içeren fermente süt ürünlerinin tüketiminin insan ömrünü önemli ölçüde uzattığı yönündeki" teori

sonucunda yoğurt moda yiyecek olarak popülerlik kazanmıştır (Metchikoff 1907; Demirci ve Şimşek 1997).

19. yüzyıl itibari ile mikroorganizmaların varlığının keşfedilmesi ve fermentasyon kimyasının açığa kavuşturulması, fermente ürünleri anlamamızı sağlamıştır. Gelişen teknoloji ile imkânlar da genişlemiş; spontan üretimi kontrol altına alarak daha sağlıklı ve standart bir fermente ürün üretim yöntemine ulaşma yolculuğu başlamıştır. Günümüzde fermentasyon tekniği kullanılarak süt ürünleri, et ürünleri, tahıl ürünleri, meyve ve sebze ürünleri, alkollü içecekler ve soya bazlı ürünler gibi fermente gıdalar küresel ölçekte büyük ticari işletmeler tarafından üretilmektedir (Wang and Fung 1996; Leroy and De Vust 2004; Pereira *et al.* 2020). Bu bağlamda, geçen yaklaşık 200 yıllık süreçte Louis Pasteur'un (1822-1895) çalışmaları, fermente gıda teknolojisinde bir milat olarak değerlendirilmektedir. Süt endüstrisinde çok önemli bir proses olan "pastörizasyon" işlemine de adını veren Pasteur, fermente gıdalardaki bu değişimin mikroorganizmaların faaliyetleri sonucunda meydana geldiğini açıklayarak starter kültür ile fermente gıda üretimi tekniğinin temellerini atmıştır. Bu çalışmalar ışığında 1860'lı yıllarda Storch, Weigman ve Cohn gibi araştırmacılar da ekşi peynir suyu ve yayık altını yeni yapılacak tereyağı ve peynir yapımında kullanmışlar ve daha iyi kalitede ürün elde etmişlerdir. Pasteur'un fermentasyon çalışmalarından 10 yıl kadar sonra 1873'te Lister, bir laktik asit bakterisinin ilk saf kültürünü üretmeyi başarmıştır (König and Fröhlich 2017). 1890 yılına gelindiğinde Danimarka'da Chr. Hansen adında süt ürünleri için starter kültür üreten ilk ticari firma kurulmuştur. 1950'li yıllarda ise liyofilizasyon tekniğinin gelişmesi sonucunda starter kültür kullanımının geniş coğrafyalara yayılmasını sağlamıştır (Tunail ve Halkman 2005).

Ülkemizde süt endüstrisinde kullanılan starter kültürler üzerine 1980'li yıllarda çalışmalar başlatılmasına rağmen, bir kaç başarılı ancak kısa süreli uygulamaya rastlamakla birlikte bu çalışmalar akâmete uğramıştır. İlk etkin sonuç olarak, 2020 yılının ilk aylarından itibaren Konya Şeker A.Ş.'nin piyasaya sürülen yoğurtlarda kendi geliştirdikleri yoğurt starter kültürünü kullanması ile elde edildiği söylenebilir. Ancak, şuan itibari ile işletmenin ticari starter kültür satışı mevcut olmayıp, sıvı olarak sadece kendi işletmelerinde kullanılmak üzere starter kültür üretimi yaptığı görülmektedir (Anonim 2020). Güncel panorama, ülkemiz süt endüstrisinin starter kültür ihtiyacının yüksek oranda yurtdışından karşılandığı ve 2019 yılında 26,465 milyon \$ değerinde starter kültür ithalatının yaptığı şeklindedir (TÜİK 2020).

Dünyada süt endüstrisinde kullanılan starter kültür pazarının 1,124 milyar \$ seviyelerinde olduğu ve özellikle Asya Pasifik bölgesinin gelişimine bağlı olarak 2027 yılında 1,670 milyar \$ seviyesine ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anonymous 2019). Dünya geneline

bakıldığında, süt endüstrisinde starter kültür ile üretimin ağırlıklı olarak Avrupa, Kuzey Amerika ve Asya Pasifik'te yapıldığı görülmektedir. Nispeten gelişmekte olan ve geri kalmış ülkelerde ise endüstri seviyesine paralel olarak starter kültür kullanımı da sınırlı ölçülerde kalmıştır. Bununla birlikte, özellikle Avrupa'da yerel lezzetlerin devamlılığının sağlanması adına starter kültür kullanılmadan geleneksel yöntemlerle üretilen birçok peynir türü yasalar ile koruma altına alınmıştır.

Süt Endüstrisinde Starter Kültür

Starter kültür, fermentasyon sürecini hızlandırarak ve yönlendirerek fermente bir gıda üretmek için hammaddeye eklenecek bir veya birden çok mikroorganizma türünün çok yüksek sayıda hücrelerini (10^{12} adet g^{-1} gibi) ihtiva eden mikrobiyal bir preparasyon olarak tanımlanabilir. Fermente gıdaların geleneksel üretimi, hammaddede doğal olarak bulunan mikrofloranın gelişmesi nedeniyle kendiliğinden fermentasyona dayanmaktadır. Dolayısıyla nihai ürünün kalitesi, hammaddenin başlangıçtaki mikrobiyal yüküne ve spektrumuna bağlıdır. Seçilmiş starter kültürlerin hammaddelere doğrudan eklenmesi, sunulan yiyeceklerin işlenmesinde bir dönüm noktası olmuş ve bu durum fermentasyon süreci üzerinde yüksek derecede kontrol ve son ürünün standardizasyonu ile sonuçlanmıştır. Uygun fizyolojik ve metabolik özelliklere sahip suşlar, doğal habitatlarından veya başarıyla fermente edilmiş ürünlerden izole edilmişlerdir (Lorey and De Vuyst 2004).

Starter kültürler, farklı kıstaslara göre farklı sınıflandırmalara tabi olmaktadır. Bu sınıflandırma Tablo 1'de verilmiştir. Ticari formlarına göre kültürler sıvı, toz ve dondurulmuş kültürler olmak üzere üçe ayrılmaktadır. Starter kültürler ilk olarak sıvı formda üretilmişlerdir. Canlılığını $5^{\circ}C$ 'de yaklaşık 1 hafta kadar koruyabilen sıvı kültürler, dayanımlarının düşük olması, yüksek kontaminasyon riskinin bulunması, karışık kültürlerde suşlar arasındaki oranın hızlı bir şekilde bozulması ve kullanıma hazırlanmasının zahmetli olması nedeniyle günümüzde yerini toz ve dondurulmuş kültürlerle bırakmaktadır. Bununla birlikte, DVS (Direct Vat Set) veya DVI (Direct Vat Inoculation) olarak bilinen yüksek konsantrasyonda üretilen toz ve dondurulmuş kültürlerin direkt kullanım kolaylığı, önemli bir tercih sebebi olmuştur. Toz kültürler, sıvı kültürlerin püskürtme veya liyofilizasyon tekniği ile kurutulmasıyla elde edilen formlardır. Toz kültürler birim kütle bazında sıvı kültürlerle nazaran çok daha yüksek sayıda mikroorganizma hücresi ihtiva etmekte ve $5^{\circ}C$ 'de 6 aya kadar $-20^{\circ}C$ 'de ise 1 yıla kadar muhafaza edilebilmektedir. Dondurulmuş kültürler ise sıvı kültürlerin -20 ile $-40^{\circ}C$ 'de veya sıvı azotta $-196^{\circ}C$ 'de dondurulması ile üretilmektedirler ve $-45^{\circ}C$ 'de 3 aya kadar, $-196^{\circ}C$ 'de ise 1 yıla kadar muhafaza edilebilmektedirler (Koçak vd 1994).

Tablo 1. Starter Kùltürlerin Sınıflandırılması (Koçak vd 1994; Atamer 2016)

Çalışma Sıcaklıklarına Göre Starter Kùltürler	İçerdikleri Mikroorganizma Suşuna Göre Starter Kùltürler	Tiplerine Göre Starter Kùltürler	Ticari Formlarına Göre Starter Kùltürler
1. Mezofilik Kùltürler	1. Tek Suşlu Kùltürler	1. O Tipi Kùltürler	1. Sıvı Kùltürler
2. Termofilik Kùltürler	2. Çok Suşlu Kùltürler	2. L Tipi Kùltürler	2. Toz Kùltürler
	3. Karışık Kùltürler	3. D Tipi Kùltürler	3. Dondurulmuş Kùltürler
		4. DL Tipi Kùltürler	

Diğer kıstaslara kısaca değinmek gerekir ise, mezofilik kùltürler 20-30°C’de, termofilik kùltürler ise 37-45°C’de optimum olarak çalışabilen mikroorganizmaları içeren kùltürleri ifade etmektedir. İçerdikleri mikroorganizma suşlarına göre sınıflandırmada ise bir türün tek bir suşundan oluşan kùltürler tek suşlu kùltürler; aynı türün farklı suşlarını içeren kùltürler çok suşlu kùltürler, birden fazla türün farklı suşlarının kombinasyonlarından oluşan kùltürler ise karışık kùltürler olarak adlandırılmaktadırlar. Burada, tek suşlu kùltürlerin fajlara karşı oldukça duyarlı olduğunu belirtmek gerekmektedir. İçerdikleri bir suş, faj dolayısıyla inaktif hale gelse dahi diğer suşların çalışmaya devam edebilmesinden dolayı çok suşlu ve karışık kùltürler faj ataklarına karşı daha dirençlidir. Tiplerine göre sınıflandırma, mezofilik kùltürlerin bir alt sınıflandırmasıdır denilebilir. Buna göre, L tipi *Leuconostoc* türü bakteri içeren, D tipi *Lactococcus diacetylactis* suşu içeren, DL tipi *Leuconostoc* ve *Lactococcus diacetylactis* suşları içeren, O tipi; aroma üreten suş içermeyen mezofilik starter kùltürler olarak ifade edilmektedir.

Kahir ekseriyeti bakteriler oluşturmakla birlikte, maya ve küf gibi mikroorganizmalar da süt endüstrisinde starter kùltür olarak kullanılabilir. Örnek vermek gerekir ise; *Penicillium roqueforti* türü küfler rokfor peyniri üretiminde, *Lactobacillus bulgaricus* ile *Streptococcus thermophilus* türü bakteriler yoğurt üretiminde starter kùltür olarak kullanılmaktadırlar. Kefir örneğinde ise *Kluyveromyces lactis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Torula kefir*, *Saccharomyces cerevisiae* türü mayalar ve *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbruecki*, *Streptococcus salivarius*, *Lactococcus lactis ssp. thermophilus*, *Lactococcus cremoris* ve *Leuconostoc mesenteroides* türü bakteriler kompleks bir karışım oluşturacak şekilde starter

kültür olarak kullanılmaktadır (Karatepe vd 2012). Hiç şüphesiz ki; starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmalar ürüne ve ürünün karakteristiklerine göre seçilmektedir.

Genel itibari ile bakıldığında, süt endüstrisinde bir starter kültürden beklenen en önemli özellik laktozdan laktik asit oluşturma yeteneğidir. Bununla birlikte, üretilecek ürüne özgü aroma ve tekstürü sağlayabilme, asitliğin yükselmesi sonucu üründe istenmeyen mikroorganizmaların inhibisyonunun yanı sıra H₂O₂, nisin, diasetil ve asetaldehit gibi bileşenleri üretmesi istenen özellikler arasında yer almaktadır. Aynı zamanda ekzopolisakkarit gibi hem ürünün yapısını geliştirebilen hem de insan sağlığına oldukça faydalı bileşenleri üretmeleri, antibiyotiklere duyarlılıkları gibi çok farklı ve geniş yelpazede özellikler starter kültür seçiminde etkili olmaktadır. Diğer taraftan, günümüzde bilim insanları probiyotik özellikte starter kültür çalışmalarına odaklanmıştır ve probiyotik ürünler oldukça popüler hale gelmiştir (Tamime *et al.* 2006; Carminati *et al.* 2010; Demirgöl ve Sağdıç 2017; Pereira *et al.* 2020).

Geleneksel olarak üretilmekte olan fermente bir gıdayı endüstriyel üretime adapte edebilmek için öncelikle o ürünün mikroflorasının çok iyi tanımlanması gerekmektedir. Fermantasyon yollarının ve bu fermantasyon etmeni hakim floranın karakterizasyonunun yapılması ve bu floranın starter kültür olarak kullanılabilirliğinin araştırılması gerekmektedir (Kırmacı 2010). Bu alanda yaklaşık 150 yıldan beri süregelen araştırmalar, süt ürünlerinde fermantasyon etmeninin ve hakim floranın laktik asit bakterileri (LAB) olduğunu net bir şekilde ortaya koymaktadır. Bugün süt endüstrisinde yoğurt, peynir, tereyağı, ayran, kefir ve bilinen 400'e yakın fermantasyon uygulanan süt ürününün üretiminde laktik asit bakterilerinden yoğun bir şekilde yararlanılmaktadır.

Laktik Asit Bakterileri

Geçen yaklaşık 150 yıllık süreçte LAB'lar üzerine 30.000'e yakın SCI kapsamında bilimsel yayın kaleme alınmış olup, bu yayınların 2.100 kadarının sadece 2019 yılına ait olduğu bildirilmektedir (Anonymous 2020). Bugün hala binlerce bilim insanın konu üzerinde yoğun olarak çalıştığı ve çok önemli keşiflerin yapıldığı; dünyada laktik asit bakterilerinin temelini oluşturduğu starter kültür pazarının milyar dolarlar seviyesinde olduğu (Anonymous 2019) göz önüne alındığında, laktik asit bakterilerinin ne derece önemli mikroorganizma grubu olduğu ortaya çıkmaktadır.

Ne yazık ki, laktik asit bakterileri için kati bir tanım ve sınıflandırma (aile bazında) yapmak mümkün değildir. Son taksonomik gelişmeler ve biriken genetik verilere bakıldığında, antik *Bacillus*-benzeri toprak organizmalarının yeni ve beslenme açısından

zengin ekolojik ortamlara adapte olmuş halini temsil ettikleri söylenebilir. Adaptasyon sürecinde birçok metabolik aktivitelerini kaybetmelerine rağmen; fermantasyon sistemleri, asit üretimi ve aside tolerans gibi etkili özellikleri, laktik asit bakterilerinin diğer mikroorganizmalarla güçlü bir şekilde rekabet edebilmelerini sağlamıştır (Wright and Axelsson 2019).

Biyolojik sınıflandırmaya göre LAB, bakteriler âleminin *Firmicutes* şubesi *Lactobacilleae* sınıfı *Lactobacillales* takımına üyedirler (Morelli 2001). Aile bazında güncel sınıflandırmaları ve bazı karakteristik özellikleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Yaygın LAB Cinsleri ve Ayırt Edici Karakteristikleri (Wright and Axelsson 2019)

Aile	Cins	Hücre Şekli	Glikozdan CO ₂ Oluşturma	10°C’de Gelişim	45°C’de Gelişim	%6,5 NaCl’de Gelişim	%18 NaCl’de Gelişim	pH 4,4’de Gelişim	pH 9,6’da Gelişim	Laktik asit izomeri
<i>Aerococcaceae</i>	<i>Aerococcus</i>	Kok (Tetrad)	-	+	-	+	-	-	+	L
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium</i>	Çubuk	±	+	-	TE	-	TE	-	L
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus</i>	Kok	-	+	+	+	-	+	+	L
	<i>Tetragenococcus</i>	Kok	-	+	-	+	+	±	+	L
	<i>Vagococcus</i>	Kok	-	+	-	-	-	TE	-	L
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus</i>	Çubuk	±	±	±	±	-	±	-	D, L, DL
	<i>Pediococcus</i>	Kok (Tetrad)	-	±	±	±	-	+	-	L, DL
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc</i>	Kok	+	+	-	±	-	±	-	D
	<i>Fructobacillus</i>	Çubuk	+	TE	TE	+	-	TE	TE	D
	<i>Oenococcus</i>	Kok	+	+	-	±	-	±	-	D
	<i>Weissella</i>	Kok*	+	+	-	±	-	±	-	D, DL
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Lactococcus</i>	Kok	-	+	-	-	-	±	-	L
	<i>Streptococcus</i>	Kok	-	-	±	-	-	-	-	L

*Bazı *Weissella* suşları çubuk şeklinde olabilmektedir. TE: Tespit edilmedi

Çoğunlukla *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* (süt, et, sebze ve tahıl ürünleri), *Lactococcus* (süt ürünleri), *Leuconostoc* (sebze ve süt ürünleri), *Oenococcus* (şarap), *Pediococcus* (sebze ve et ürünleri), *Streptococcus* ve *Weissella* (süt ürünleri) cinsi laktik asit bakterileri gıda endüstrisinde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Süt ürünlerinin fermantasyonunda kullanılan bazı laktik asit bakterileri Tablo 3’te verilmiştir.

Tablo 3. Süt Ürünlerinin Fermantasyonunda Kullanılan Bazı Laktik Asit Bakterileri

Tür/Alt tür	Kullanıldığı Ürün	Kullanım Amacı	Referans
<i>Lactococcus</i>			
<i>Lc. lactis subsp. lactis</i>	Tereyağı, bazı peynir çeşitleri ve buttermilk	Asitlik gelişimi, bakteriyosin üretimi	Broome <i>et al.</i> (2003), Wouters <i>et al.</i> (2002)
<i>Lc. lactis subsp. lactis biovar diacetylactis</i>	Tereyağı, gouda, edam, ekşi krema ve buttermilk	Asitlik gelişimi, aroma	Wood (1997), Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Lc. lactis subsp. cremoris</i>	Tereyağı, bazı peynir çeşitleri ve buttermilk	Asitlik gelişimi	Weerkam <i>et al.</i> (1996)
<i>Streptococcus</i>			
<i>Sc. thermophilus</i>	Yoğurt, bazı sert ve yarı sert peynirler	Asitlik gelişimi	Broome <i>et al.</i> (2003), Beresford <i>et al.</i> (2001)
<i>Lactobacillus</i>			
<i>Lb. acidophilus</i>	Tereyağı, bazı peynir çeşitleri, yoğurt, kefir	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Erkaya vd (2015), Brigiler-Moarco <i>et al.</i> (2007)
<i>Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus</i>	Yoğurt, grana, emmental, mozzarella, taiogga, kefir	Asitlik gelişimi	Slaterry <i>et al.</i> (2010), Acculas and Auclair (1983), Dellaglio <i>et al.</i> (1994), Kılıç (2011)
<i>Lb. delbrueckii subsp. lactis</i>	Fermente süt ve pıhtısı pişirilen sert ve yarı sert peynirler	Asitlik gelişimi	Broome <i>et al.</i> (2003), Giraffa <i>et al.</i> (2010)
<i>Lb. helveticus</i>	Çedar, kefir	Aroma, yardımcı kültür	Slaterry <i>et al.</i> (2010)
<i>Lb. casei</i>	Fermente süt ve bazı peynir çeşitleri, kefir	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Minelli <i>et al.</i> (2004), Kongo (2013)
<i>Lb. plantarum</i>	Yoğurt, bazı peynir çeşitleri, probiyotik süt	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Lb. rhamnosus</i>	Bazı peynir çeşitleri	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Coppola <i>et al.</i> (2005)
<i>Lb. brevis</i>	Beyaz peynir, kefir	Aroma	Terzic-Vidojevic <i>et al.</i> (2015), Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Lb. reuteri</i>	Çedar	Ekzopolisakkarit üretimi, yardımcı kültür	Lynch <i>et al.</i> (2014)
<i>Lb. johnsonii</i>	Yoğurt, fermente süt	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Lb. kefir</i>	Kefir	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Lb. kefiranofacies</i>	Kefir	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Leroy and De Vusyt (2004)
<i>Leuconostoc</i>			
<i>Leu. mesenteroides subsp. cremoris</i>	Tereyağı, ekşi krema, bazı taze peynirler, edam, gouda, kefir	Aroma	Weerkam <i>et al.</i> (1996), Slaterry <i>et al.</i> (2010)

Tablo 3. (Devamı)

Tür/Alttür	Kullanıldığı Ürün	Kullanım Amacı	Referans
<i>Enterococcus</i>			
<i>Ent. faecium</i>	Taze yumuşak peynir, İzmir tulum peyniri	Aroma, probiyotik karakter, yardımcı kültür	Terzic-Vidojevic <i>et al.</i> (2015), Yerlikaya ve Akbulut (2019)
<i>Ent. faecalis</i>	İran UF beyaz peyniri, cebreiro peyniri	Aroma, probiyotik karakter, yardımcı kültür	Pirouzian <i>et al.</i> (2012), Centeno <i>et al.</i> (1999)
<i>Ent. durans</i>	İzmir tulum peyniri	Probiyotik karakter, yardımcı kültür	Yerlikaya ve Akbulut (2019)
<i>Weissella</i>			
<i>W. cibaria</i>	Çedar	Ekzopolisakkarit üretimi, yardımcı kültür	Lynch <i>et al.</i> (2014)

Laktik asit bakterileri, genel olarak spor oluşturmayan, heterotrof, anaerobik ve mikroaerofilik, Gr (+), hareketsiz, aside karşı dirençleri nispeten yüksek, çubuk veya kok şeklindeki bakterilerdir. DNA'larında G+C oranı %55'in altındadır. LAB genomları, 1,23 Mb (*Lactobacillus sanfranciscensis*) ile 4,91 Mb (*Lactobacillus parakefiri*) arasında değişen küçük boyutlarla karakterize edilmektedir. Karbonhidratları homofermentatif veya heterofermentatif yolla fermente ederek ana ürün laktik asit olmakla birlikte, asetik asit, formik asit, etanol ve CO₂ üretebilmektedirler. LAB, optimum gelişme sıcaklıklarına göre mezofilik ve termofilik olarak ikiye ayrılabilir. Mezofilik LAB'lar optimum 20-30 °C'de gelişebilirken termofilik LAB'lar 30-45°C arasında optimum gelişebilmektedir. Muhtemeldir ki bu yüzden, Batı ve Kuzey Avrupa ülkelerinin ürünlerinde ağırlıklı mezofilik LAB bulunurken, subtropikal ülkelerin ürünlerinde termofilik LAB'lar bulunmaktadır. Süt ve bitkiler (sebze, meyve ve tahıl) laktik asit bakterilerinin doğal habitatlarını oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte, sıcakkanlı canlıların ağız boşluğu, bağırsak, kolon gibi mukozal yüzeylerinde de doğal olarak bulunabilmektedirler. LAB üyesi bir suş insan, bitki, hayvan ve süt ürünleri gibi çok farklı ortamlardan izole edilebilmektedir. Bu durum, LAB'ların çok geniş bir dağılım ve güçlü bir adaptasyon sergilediğini göstermektedir. LAB'ların GRAS statüsünde yer almasının yanı sıra, artan antibiyotik dirençliliği ve bu dirençliliğin patojen bakterilere aktarılabilir olması göz ardı edilmemesi gereken bir risk oluşturmaktadır (Carr *et al.* 2002; Mathur and Singh 2005; Makarova *et al.* 2006; Kılıç 2011; Özer 2016; König and Fröhlich 2017; Demirgül ve Sağdıç 2017; Hatti-Kaul *et al.* 2018; Rakhmanova *et al.* 2018; Wright and Axelsson 2019).

Laktik asit bakterileri sitokrom ve elektron taşıma proteinlerinden yoksun oldukları için oksijenli solunum aktivitesi ile enerji elde edememektedirler. Bu nedenle glikoliz

sırasında meydana gelen substrat seviyesinde fosforilasyon reaksiyonları ATP elde edilmesinin başlıca yoludur. Bazı cins ve türlerin belirli karbonhidratları nasıl kullandığı ve metabolize ettiği önemli farklılıklar gösterse de, laktik asit bakterileri genellikle metabolik çeşitlilikten yoksundurlar. Laktik asit bakterileri karbonhidratları iki yolla fermente edebilmektedir. Homofermentatif LAB'lar karbon kaynağını Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) yolu üzerinden metabolize ederek her mol heksoz için 2 mol ATP ve 2 mol piruvat üretmektedirler. Piruvat daha sonra laktat hidrojenaz ile laktata indirgenmektedir ve böylece başlangıç heksozunun %90'ından fazlası laktik aside dönüştürülmektedir. Heterofermentatif LAB'lar pentoz fosfat, Leloir yolu, fosfo ketolaz yolunu izleyerek 1 mol ATP ve en az %50 oranında laktik asit, %50-30 oranında ise etil alkol ve/veya asetik asit ile CO₂ oluşturmaktadırlar. (Hammes and Vogel 1995; Hutkins 2001; Dağdemir 2006; Madigan *et al.* 2009; Tunail 2009; Kılıç 2011).

LAB'lar, laktozu bir enerji ve karbon kaynağı olarak kullanmaya çok uygun oldukları gibi, kazeini bir nitrojen kaynağı olarak kullanmaya da iyi adapte olmuşlardır. İnorganik nitrojeni kullanamayan laktik asit bakterileri, amino asit gereksinimlerini karşılamak için proteinleri ve peptitleri metabolize edebilmektedirler. Laktik asit bakterileri, kazein alt fraksiyonlarını daha küçük parçalara indirgeyerek gelişimleri için gerekli tüm amino asitleri sağlayabilen yüksek verimli sistemlere sahiptir. Gelişim üzerine olan etkilerinin yanı sıra, laktik asit bakterilerinin sahip olduğu proteolitik aktivite özellikle peynir üretiminde olgunlaşma ve aroma üzerine son derece etkilidir (Hutkins 2001).

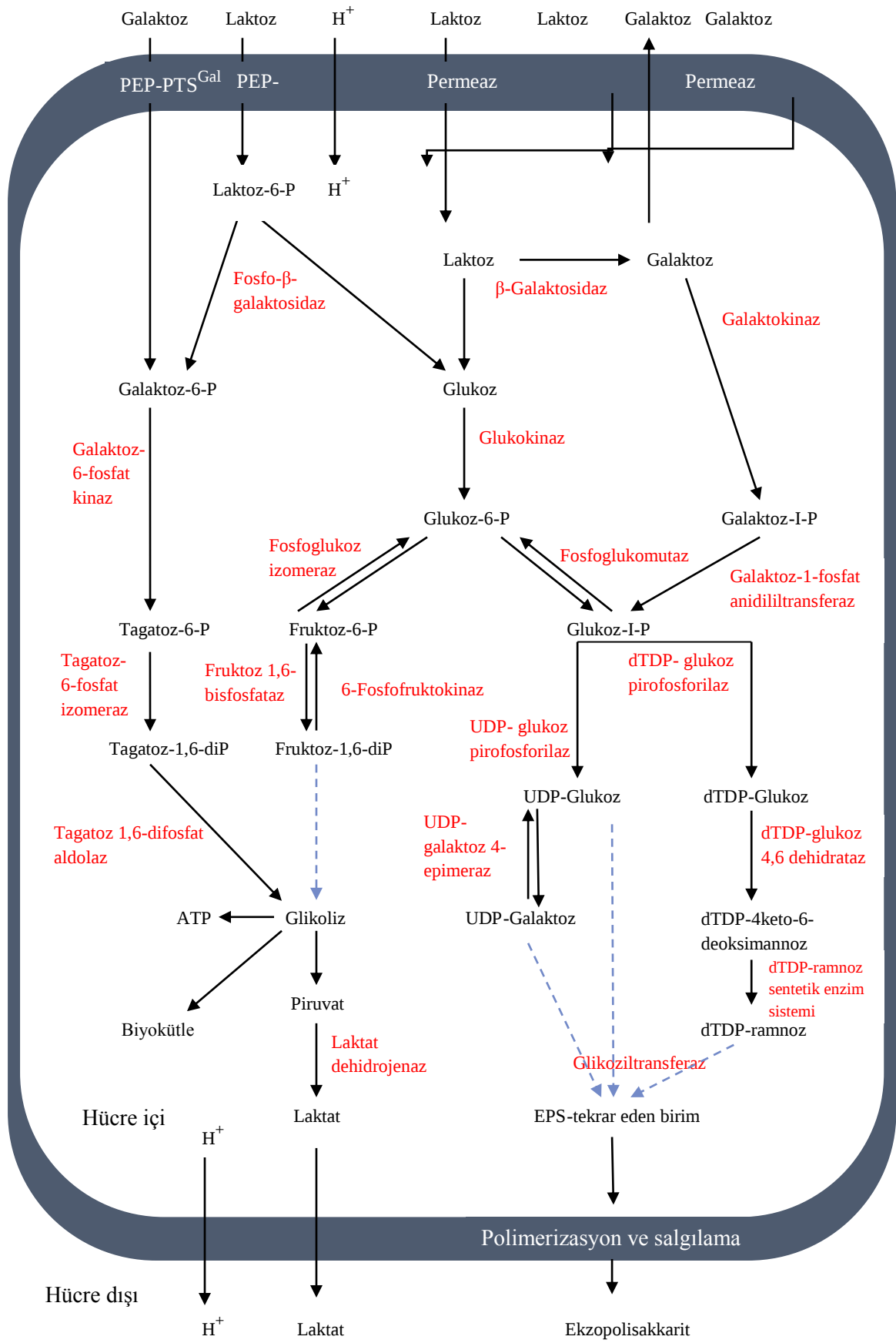
Genel itibarı ile laktik asit bakterilerinin çok düşük derecelerde lipolitik aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. Bu aktivite daha çok mono- ve digliseritler üzerine etkilidir. Bazı peynir çeşitlerinde ve tereyağında (yüksek olmamak kaydı ile) uçucu yağ asitlerinin konsantrasyonlarının artırılarak istenen karakteristik tat ve aromanın kazandırılması amacıyla lipoliz aktivitesi istenebilmektedir (Walstra *et al.* 1999; Kılıç 2011).

Diasetil (tereyağı aroması) ve asetoin/2,3-butanediol'e giden sitrat metabolizması, birçok LAB'da yaygın olmasına rağmen *Lactococcus* ve *Leuconostoc* cinsi bakteriler teknolojik açıdan önemlidir. Nitekim sitrat metabolizması (Şekil 1), süt ürünlerinde aroma ve lezzet oluşumunda en önemli faktördür. Sitrat metabolizması, NAD⁺ rejenerasyon ihtiyacına göre fazla miktarda piruvat gerektirmektedir. İhtiyaç duyulan piruvat, sütte doğal olarak bulunan (~1,5 mg/mL) sitratın parçalanması ile sağlanmaktadır. Burada önemli olan husus, sitratın hücre içine alınabilmesi için ortam pH'sının 6,0'dan düşük olması gerekmektedir (Bandell *et al* 1998; Kılıç 2011; Özer 2016; Wright and Axelsson 2019).

genellikle kendilerini kuruma, protozoalarca yıkım ve fagositoz, faj saldırıları, antibiyotik veya toksik bileşik varlığı ve ozmotik stres gibi olumsuz doğal ortam koşullarından korumak amacıyla EPS üretmektedirler. EPS'ler ayrıca hücre tanımada, yüzeylere yapışmada ve çeşitli ekosistemlerin kolonizasyonunu kolaylaştıran biyofilmlerin oluşumunda rol oynamaktadır (Whitfield and Valvano, 1993; Looijesteijn *et al.* 2001; Ruas-Madiedo *et al.* 2002).

LAB tarafından üretilen EPS'ler homopolisakkaritler ve heteropolisakkaritler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Homopolisakkaritler tek tip monosakkaritlerden oluşurken, heteropolisakkaritler oligosakkaritlerin çoklu tekrarlarından oluşan ve şeker olmayan moleküller de içerebilen biyopolimerlerdir (Ruas-Madiedo *et al.* 2002). Laktik asit bakterilerinin genel EPS üretim mekanizması Şekil 2'de verilmiştir.

Nierop Groot and Kleerebezem (2007) yapmış oldukları çalışmada *Lactococcus lactis*'te EPS biyosentezinin işlevsel *epsA* ve *epsB* genleri gerektirdiğini, ancak polisakkarit üretebilme açısından *epsC* geninin varlığına tam olarak bağlı olmadığını tespit etmişlerdir. Yapılan birçok çalışma ile laktik asit bakterilerinin EPS gen kümeleri açıklığa kavuşturulmuştur (Şekil 3).



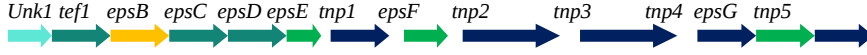
Şekil 2. LAB'ların genel EPS üretim mekanizması (Welman and Maddox (2003)'dan uyarlanmıştır.)

1 kb
→

Lactobacillus delbrueckii ssp. *bulgaricus* Lfi5 18,02 kb *hflX-orfY* AF267127.1



Lactobacillus fermentum TDS030603 11,9 kb *unk1-tnp5* AB519644.1



Lactococcus lactis ssp. *cremoris* NIZO B40 12,7 kb *epsR-orfY* AF036485.2



Streptococcus thermophilus Sfi6 15,25 kb *deoD-orf14,9* U40830.1



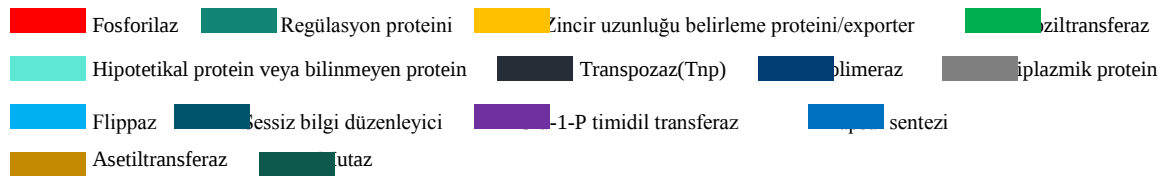
Streptococcus thermophilus Sfi39 19,97 kb *deoD-orf14,9* AF373595.1



Streptococcus thermophilus IP6757 21,56 kb *orf1-eps16* AJ289861.1



Streptococcus thermophilus IP6757 18,27 kb *deoD-orf14,9* AF454499.1



Şekil 3. Bazı LAB suşlarında EPS gen kümelerinin şematik modül bileşimi (Stingle et al.1996; Van et al. 1997; Germond, Delley et al. 2001; Lamothe et al. 2002; Pluvinet et al. 2004; Tong et al. 2009)(Zhou et al. (2019)'dan uyarlanmıştır).

EPS'leri gıda endüstrisi açısından önemli kılan özellik, gıdada tekstür ve viskozite geliştirici etkisinin bulunmasıdır. Bu özellik EPS üreten LAB'ların kullanıldığı gıdalarda, katkı maddesi kullanmaksızın jelleştirme, kıvam artırma, emülsifiye etme ve su bağlama gibi özelliklerin geliştirilmesini sağlamaktadır (Nwodo *et al.* 2012; Surayot *et al.* 2014). Gıda üretiminde kazandırdığı önemli fizikokimyasal özelliklerin yanı sıra (Caggianiello *et al.* 2016; Zannini *et al.* 2016), EPS'lerin antioksidant (Li *et al.* 2013; Rani *et al.* 2018; Xin *et al.* 2017), antibakteriyel (Abid *et al.* 2017; Jeong *et al.* 2017), kolesterol düşürücü (Korcz *et al.* 2018), immünoregülatör fonksiyon (Ren *et al.* 2016; Dinić *et al.* 2018), antitümör (Wang *et al.* 2014; Wang *et al.* 2015), antikoagülan (Hussain *et al.* 2017) ve antiviral aktivite (Nácher-Vázquez *et al.* 2015) gibi insan sağlığı açısından birçok önemli fizyolojik ve biyolojik aktiviteye sahip oldukları ortaya konulmuştur (Zhou *et al.* 2019).

Tereyağı ve Starter Kültür

Tarihte ilk bulgularına M.Ö. 8000'lerde rastlanılan tereyağı (Oğuz 1976), günümüze dek insan beslenmesinde oldukça önemli bir yere sahip olmuştur. %80'den fazla süt yağı ihtiva eden tereyağının kendine has aroması, beslenmede bir lezzet unsuru olmuş; tüketimde tercih edilmesini sağlamıştır. Her ne kadar 20. yüzyılda tereyağı üzerine sağlıksız olduğu yönünde birçok fikir ortaya atıldıysa da –ki itibarı 21. yüzyılda iade edilmiştir-, yağ asidi profilinin muazzam oluşu, vitamin ve mineral içeriğinin zenginliği ve çok besleyici olması yönüyle oldukça sağlıklı bir gıdadır. Tereyağının ve kremanın genel bileşimi Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Hammadde Kremanın ve Tereyağının Bileşimi (Chandan 1997, Atamer 2016)

Bileşen	Krema (%)	Tereyağı (%)
Yağ	36,8 – 80,0	82,1
Protein	0,7 - 2,2	1,4
Laktoz	1,0 - 3,2	
Mineral vb.	0,1 - 0,5	
Su	18,2 - 57,3	15,6
Tuz (NaCl)	-	0,9

Tereyağı tüketimi, özellikle margarinin piyasaya sürülmesiyle birlikte bir düşme eğilimine (Schaffer *et al.* 2001); 2000'li yılların başında ise değerinin iade edilmesi ile tekrar yükselme eğilimine girmiştir. 2019 yılında dünyada 10 milyon tonu aşkın; ülkemizde ise 90 bin tonun üzerinde tereyağı tüketilmiştir (Anonim 2020).

Tereyağı geleneksel yöntemlerle süt ve yoğurttan elde edilir iken, endüstriyel üretimde ekseriyetle süttten çekilen kremadan üretilmektedir. Elbette ki, starter kültür kullanmaksızın tereyağı üretmek mümkündür. Conn (1889), tereyağı yapımında olgunlaştırılmış krema kullanılmasının avantajlarını, yayıkaltı suyunun tereyağından daha kolay ayrılması, tereyağının kalitesini daha iyi muhafaza etmesi ve iyileştirilmiş tereyağı aroması elde edilmesi olarak sıralamıştır. 19. yüzyılda krema, spontan olarak kendiliğinden ekşitilerek, ayran (taze veya önceki günden) veya ekşi krema ilave ederek olgunlaştırılmış; ancak genellikle kontaminasyonla ilgili sorunların ortaya çıktığı belirtilmiştir. Daha sonraları, asit üreten sıvı kültürler üretilmiş, ancak sıvı kültürlerin elverişsiz koşullarda uzun süre taşınması sorunu 1890'larda toz formda kültür üretimine geçişin yolunu açmıştır (Knudsen 1931). Vilhelm Storch (1893) tarafından, olgunlaştırılmış kremadan kültürlenmiş tereyağı için geliştirilmiş bir üretim prosedürü, krema veya süt üzerinde 70-80°C arasında ısıtıl işlem uygulanarak, taze ürünlerden elde edilen belirli aroma üreten bakteri türlerinin saf bir kültürünün eklenmesi yoluyla patent alınmıştır. Storch 1893 yılında, kültürlenmiş tereyağının aromasının ineklerin tükettiği yemden ziyade bakterilerin etkisinden kaynaklandığını bildirmiştir. 1919'dan önce kullanılan kültürler genellikle saf *Streptococcus* kültürlerinden oluşmaktaydı (Hammer and Babel 1943). 1919'da, 3 ayrı çalışma (Boekhout and Ott de Vries 1919; Hammer and Bailey 1919; Storch 1919), diğer kültürlerin de tereyağı üretiminde kullanılabileceğini göstermiştir. Michaelian *et al.* (1933), sitrik asidi fermente eden *Streptococcus* suşlarının diasetil üretimlerinde asiditenin çok büyük etkiye sahip olduğunu keşfetmiştir. Bu gözlem, aroma ve tat oluşumunun neden olgunlaşmanın geç evrelerinde oluştuğunu ve diasetil üretiminin çok daha hızlı bir şekilde gerçekleştirilebileceğinin anlaşılmasını sağlamıştır. 1950'lerin başlarında, *Streptococcus diacetylactis* (şimdiki adı *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*) ve *S. diacetylactis* ile *Leu. cremoris* bir arada kullanılmaya başlanmıştır. Badings and Galesloot (1962), Hollanda'da *Leuconostoc cremoris*'in tereyağı üretiminde aroma üretici starter kültür olarak kullanıldığını bildirmiştir. (Aryana and Olson 2017).

Bugün tereyağı üretiminde *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* suşlarının bir arada bulunduğu starter kültürler kullanılmaktadır (Frede 2002). Bu bakterilerden *Lactococcus lactis* ssp. *Lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* asit üreticileri olarak; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* ise aroma üreticileri olarak yer almaktadır. Tipik bir tereyağı starter kültürü mezofilik DL kültürler sınıfına girmektedir. Tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılan LAB'ların metabolizmaları sonucu oluşturdukları metabolitler Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Tereyağı Starter Kültür Kombinasyonunda Yer Alan Bakterilerin Metabolitleri (Nielsen and Ullum 1989)

	Laktik asit fermantasyonu		Sitrik asit fermantasyonu
	Laktik asit	Laktik asit, CO ₂ , etanol	Diasetil, CO ₂ , asetik asit, aseton, asetaldehit vb.
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	+		
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	+		
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	+		+
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>cremoris</i>		+	+

Süt endüstrisinin 20. yüzyılda gelişimi ile birlikte fermente süt ürünleri üretiminde starter kültür suşları kullanan ve geleneksel üretimi günümüzde çok düşük oranlarda kalan gelişmiş ülkelerde farklı doğal suşlara rastlamak oldukça sınırlı hale gelmiştir. Ancak ülkemiz gibi geleneksel üretimin hala yaygın olarak devam ettiği ülkelerde, endüstriyel üretimde kullanılmak üzere, gelişen tüketici taleplerine göre istenen özellikleri sağlayabilecek yeni doğal suşların tanımlanabilme ihtimali oldukça yüksektir (Özkalp vd 2007).

Günümüzde gıda teknolojisi çalışmaları, gıdaların raf ömrünün uzatılmasına, lezzet, görünüm ve tekstürünün geliştirilmesine ve besleyicilik fonksiyonunun yanında sağlığa olumlu etkilerinin de artırılmasına yoğunlaşmıştır. Katkı maddesi ilavesi bir gıdanın yapısının, raf ömrünün ve besleyiciliğinin geliştirilmesi için yoğun olarak uygulanan yöntemlerden biridir. Ancak, halk sağlığı endişeleri gıdalarda katkı maddesi kullanımını baskılamış; yönetimlerce katkı maddesi kullanımına dair birçok kısıtlama ve yasak getirilmiştir. Diğer taraftan, sağlıklı beslenme algısı geliştikçe, birçok tüketici diyetlerini iyileştirmek için fonksiyonel gıda arayışını yoğunlaştırmıştır. Daha az kalori, daha fazla lif, bitki proteini, daha az tuz ve daha az katkı maddesi tüketicilerin daha sağlıklı bir diyetle yönelik talepleri haline gelmiştir (Roman *et al.* 2017; Nionelli *et al.* 2018). Bu durum araştırmacıları, bir gıdayı katkı ilave etmeden geliştirmenin farklı yollarına itmiştir.

Son yapılan çalışmalar da EPS üretiminin bu özellikler açısından önemli olabileceğini göstermiştir (Fanning *et al.* 2012; Dertli vd 2013). Tereyağı üretiminde kullanılacak starter kültürün tereyağı üretimine uygunluğunun yanı sıra EPS üreten suşlar arasından seçimi, tereyağı üretim teknolojisi açısından bir yenilik teşkil edecek olup, tereyağının sürülebilirlik gibi yapısal özelliklerini ve sağlığa olumlu etkisini geliştirebileceği öngörülmektedir.

Diğer taraftan süt endüstrisinde yoğun bir şekilde starter kültür kullanılmasına rağmen, ülkemiz starter kültür geliştirilmesi ve üretilmesi açısından oldukça geride kalmıştır. Yurtdışından ithal edilen starter kültürler ise ülkemize maddi külfet getirmekle birlikte bu starter kültürler ile üretilen ürünlerin Türk damak tadına uygun olduğu da pek de söylenememektedir. Bu açıdan, yeni LAB suşlarının izolasyonu ve bu suşların starter kültür özelliklerinin araştırılması memleketimiz için son derece önemlidir.

Bu çalışma, memleketimizin bahsi geçen husustaki açığına çözüm üretilmesine katkıda bulunmak bilinci ile gerçekleştirilmiştir. Nitekim, iç pazardaki bu boşluğun doldurulması ve sonrasında dış pazarda rakipleri ile rekabet edebilir ve dünyada belli bir pazar payı elde edebilir prestijli ürünlerin üretilmesi için öncelikle güçlü bir şekilde araştırma-geliştirme faaliyetlerinde bulunmak gerekmektedir.



KURAMSAL TEMELLER

Starter kültürlerin icadından tereyağı endüstrisinde güncel kullanım durumuna kadarki tarihsel süreç ve bu süreçte meydana gelen bilimsel ve teknolojik gelişim giriş kısmında aktarılmıştır. Yapılan çalışmanın literatürde hangi konumu karşıladığının mukayase edilebilmesi, milli ve evrensel literatüre nasıl bir katkı sağlayabileceğinin ve konunun daha iyi anlaşılabilmesi adına, son yirmi yıllık süreçte dünyada ve ülkemizde süt ve süt ürünlerinde laktik asit bakterisi izolasyonu, izole edilen laktik asit bakterilerinin karakteristik özelliklerinin belirlenmesi ve ülkemizde tereyağı ve süt ürünlerinde kullanılan starter kültürler üzerine gerçekleştirilen çalışmalardan tez konusu ile yakın ilişkisi olduğu düşünülenler bu bölümde verilmiştir.

Şengül (2001), Tulum peynirinden izole ve identifiye ettiği LAB'ların starter kültür özelliklerini araştırdığı çalışmasında, izole ettiği 240 adet LAB suşunun %92,08'inin *Lactobacillus*, %7,08'inin *Pediococcus* ve %0,83'ünün *Leuconostoc* cinsine ait suşlar olduğunu; *Lactobacillus* cinsi suşların ΔpH_{65} değerinin 0,012-0,43 arasında; *Leuconostoc* cinsi suşların ΔpH_{65} değerinin 0,04-0,22 arasında; ΔpH_{245} değerlerini ise sırasıyla 0,22-0,95 ve 0,27-0,53 arasında gerçekleştiğini ve tanımlanan tüm suşların proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmiştir.

Sağdıç vd (2002) yapmış oldukları çalışmada, Türkiye'nin farklı illerinden temin ettikleri 20 farklı yayık tereyağı örneğinden, tereyağında starter kültür olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla doğal laktik asit bakterileri izolasyonu yapmışlardır. 85 farklı LAB suşunun izole edildiği çalışmada, LAB suşlarının %21,2'sini *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, %4,7'sini *Streptococcus* ssp., %20'sini *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, %15,3'ünü *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, %2,3'ünü *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, %18,8'ini *Enterococcus faecium*, %7,1'ini *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, %4,7'sini *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* ve %5,9'unu *Leuconostoc paramesenteroides* olarak tanımlamışlardır. İzole edilen LAB'dan seçtikleri suşlardan 4 farklı kombinasyonda kültür oluşturmuşlardır. Araştırmada 1'i kültürsüz kontrol örnek, 1'i ticari starter kültür (Wiesby Probat 505) kullanılarak ve 4'ü türetilen 4 farklı kombinasyondan olmak üzere toplam 6 farklı deneme tereyağı üretmişlerdir. Çalışma sonucunda *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*'tan oluşan kombinasyonla üretilen deneme tereyağlarının en iyi organoleptik karakteristiklere sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Bakırcı vd (2002), 4 farklı ticari starter kültürün tereyağının bazı özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinde kültür çeşidi, depolama sıcaklığı ve süresinin titrasyon asitliğini, hidrolitik ve oksidatif acılaşmayı ve diasetil içeriğini etkilediğini tespit etmişlerdir.

Özkalp (2006), doğal tip *Lactococcus lactis* suşlarının starter kültür potansiyellerini araştırdığı çalışmasında çiğ sütlerden izole ettiği 50 adet *Lactococcus* suşunun 30 adedini *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 15 adedini *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve 4 adedine de *L. lactis* subsp. *cremoris* olarak tanımlamıştır. Araştırma sonucunda, yalnız *L. lactis* subsp. *lactis* MBL9 suşunun yüksek düzeyde, diğer 49 suşun ise düşük düzeyde laktik asit ürettiğini; 15 adet *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* suşu içerisinde 5 adedinin (MBLD5, MBLD7, MBLD17, MBLD21 ve MBLD54) yüksek, 3 adedinin orta (MBLD10, MBLD51 ve MBLD55) ve 7 adedinin ise düşük (MBLD4, MBLD19, MBLD29, MBLD35, MBLD36, MBLD59 ve MBLD63) düzeyde diasetil üreticisi olduğunu tespit etmiştir. Diğer taraftan, test edilen suşların 11 adedinin (*L. lactis* subsp. *Lactis* MBL8, MBL9, MBL44, MBL60, MBL61 ve MBL64, *L. lactis* subsp. *cremoris* MBL38, *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* MBLD5, MBLD17, MBLD21 ve MBLD63) yüksek, kalan 39 adedinin ise düşük düzeyde proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmiştir.

Kacem ve Karam (2006), deve sütünden imal edilen yöresel bir tereyağı olan shmen'den LAB izolasyonu yapmışlardır. Çalışmada tereyağı örneklerinden 181 adet LAB suşu izole etmişlerdir. Bu suşların 18'ini *L. lactis* ssp. *cremoris*, 22'sini *L. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, 35'ini *E. faecium*, 40'ını *L. plantarum*, 35'ini *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, 40'ını *L. paracasei* ssp. *paracasei*, 9'unu *Leu. pseudomesenteroides* ve 12'sini *Leu. gelidum* olarak tanımlamışlardır.

Dağdemir (2006), Salamura beyaz peynirden izole ettiği LAB suşlarının bazı özelliklerini inceleyerek seçtiği suşların starter kültür olarak kullanılma imkanını araştırmıştır. İzole ettiği LAB'ların %46,62'sinin *Lactobacillus*, %45,50'sinin *Enterococcus*, %4,49'unun *Pediococcus*, %1,68'inin *Lactococcus* ve %1,68'inin *Leuconostoc* cinsi suşlardan oluştuğunu; tür bazından en fazla *Enterococcus faecalis* (44 suş), *Enterococcus faecium* (32 suş) ve *Lactobacillus fermentum* (35 suş) türü suşların olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca *Enterococcus* suşlarının proteolitik aktivitelerinin genel olarak *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* suşlarından daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Çalışmada *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Enterococcus faecalis* ve *Lactobacillus casei* türlerinden seçtiği teknik özellikleri uygun suşları deneme peynir üretiminde test etmiş ve

izole ettiği *Enterococcus faecalis* (E.fs 3) ve *Lactobacillus casei* (Lb. Ca 85) suşlarının yarım yağlı beyaz peynirde starter ve yardımcı kültür olarak kullanılabileceğini ortaya koymuştur.

Idoui ve Karam (2008), Cezayir'e ait geleneksel bir tereyağı eşidinde LAB izolasyonu yaptıkları çalışmada *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* cinsine ait 27 LAB suşu izole etmişler ve bazı teknik özelliklerini incelemişlerdir. Bu çalışmalarında, izole edilen LAB suşlarının laktik asit üretim kapasitelerinin düşük, proteolitik aktivitesinin ise iyi seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum* olarak tanımlanan iki suşun EPS üretebilme yeteneğinde olduğunu belirtmişlerdir.

Idoui et al. (2009), yapmış oldukları çalışmada koyun sütünden maml geleneksel bir tereyağından 26 LAB suşu izole etmişler ve tereyağında *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis* suşlarının baskın olduğunu belirlemişlerdir. Çalışma sonucunda LAB suşlarının laktik asit üretim kapasitelerinin genel itibari ile düşük, proteolitik aktivitesinin ise bazı suşlarda iyi seviyede olduğunu tespit etmişlerdir. EPS üretiminin ise sadece *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum* suşu tarafından gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır.

Kırmacı (2010), Urfa peynirlerinden izole ettiği LAB'ların starter kültür olarak kullanım olanaklarını incelediği çalışmasında, 143 izolatın %48,95'inin *Enterococcus* spp., %40,55'inin *Lactococcus* spp., %9,10'unun *Lactobacillus* spp., %0,69'unun *Streptococcus* spp., %0,69'unun ise *Leuconostoc* spp. türüne ait olduğunu belirlemiştir. Baskın tür olarak tespit edilen enterokokların %40,0'nın *Enterococcus faecium*, %32,8'inin *E. durans*, %18,5'inin *E. faecalis*; laktokokların % 62,71'inin *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, %30,50'sinin ise *Lactococcus garvieae* olduğunu tespit etmiştir. Teknik zellikler belirlendikten sonra 3 laktokok izolatu (*Lactococcus lactis* spp. *lactis* suş no:62, *Lactococcus garvieae* suş no:44, *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* suş no:63) starter kültür olarak kullanarak Urfa peyniri üretmiştir. Duyusal değerlendirmeler sonucunda deneme peynirinin geleneksel olarak üretilen peynirlerden görünüş, renk ve koku yönünden daha üstün olduğunu; ancak aroma yönünden daha zayıf olduğunu belirlemiştir.

Omafuvbe and Enyioha (2011), Nijerya'da geleneksel olarak üretilen şişe yoğurtlarından izole ettikleri LAB suşlarının bazı teknik özelliklerini belirlemişlerdir. *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* ve *Enterococcus* cinsine ait toplamda 22 LAB suşu izole etmişlerdir. Suşların asidifikasyon kapasitesinin 6 saat sonunda ΔpH 0,03-0,56 arasında değiştiğini; %77'sinin EPS üretebilme kabiliyetine sahip olduğunu; 13 suşun proteolitik aktivite; 4 suşun ise lipolitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Çalışma sonucunda izole etmiş oldukları *S. thermophilus* (2L₃), *L. casei* (1₁), *L. fermentum*

(C_{1R}, 3L₄) ve *L. cremoris* (2B₂) suşlarının potansiyel starter kültür olarak kullanılabilecek güçlü karakteristiklere sahip olduklarını ortaya koymuşlardır.

Bao *et al.* (2011) tarafından yapılan bir çalışmada, geleneksel yak sütü ürünlerinden LAB izolasyonu yaptıkları çalışmada yak sütünden mamül tereyağından *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus coryniformis* ssp. *torquens*, *Lactobacillus fermentum*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides*, *Enterococcus durans* suşlarını içeren 7 adedi çubuk, 4 adedi kok olmak üzere 11 adet LAB suşu izole etmişlerdir.

Bettache *et al.* (2012), Cezayir'in geleneksel bir tereyağı çeşidi dhan'dan LAB izolasyonu yaptıkları çalışmada *Lactobacillus* (35 suş), *Lactococcus* (13 suş), *Leuconostoc* (8 suş) ve *Enterococcus* (20 suş) cinsine ait LAB suşu tanımlamış ve bu suşların proteolitik, lipolitik aktiviteleri ile antibiyotik dirençlerini incelemişlerdir.

Manav ve Yetişemiyen (2013), yapmış oldukları çalışmada üç farklı starter kültürün %18 yağlı kremanın bazı kalite parametrelerine etkisini incelemişlerdir. Probat 322 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*), FD-DVS CHN-22 (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc*) ve RT1-A (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*) starter kültürleri ile sırasıyla A, B ve C krema örneklerini üretmişlerdir. Çalışma sonucunda, A örneğinde hızlı ve yoğun tat-aroma geliştiğini ancak yapı özelliklerinin yeterince gelişmediğini; B örneğinin yapı, tat ve koku bakımından A örneğinden daha yüksek duyuşal beğeni topladığını ve C örneğinin yapı özelliklerinin iyi geliştiğini tespit etmişlerdir.

Erkaya vd (2015) yapmış oldukları çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 ve *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 suşlarını yardımcı kültür olarak kullanarak tereyağı üretmişlerdir. Tereyağlarının 60 günlük depolama süresince bazı kimyasal, mikrobiyolojik ve duyuşal özellikleri ile yağ asidi kompozisyonlarını incelemişlerdir. Çalışma sonucunda, pH, asitlik ve peroksit değerlerinin probiyotik suş ilavesinden anlamlı derecede etkilendiğini, doymuş yağ asidi oranlarının depolama süresince probiyotik tereyağlarında kontrol tereyağına göre daha yüksek olduğunu, oleik asit oranının ise daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Diğer taraftan bu çalışma sonucunda, günde 25 g probiyotik tereyağı tüketiminin probiyotik etki sağlayabileceği belirtilmiştir.

Fgiuri *et al.* (2015), deve sütünden izole ettikleri 60 adet LAB suşunda asidifikasyon kapasitesi, sitrat kullanımı, EPS üretimi, lipolitik ve proteolitik aktivite ile antibiyotik direnci

gibi teknik özelliklerini araştırmışlardır. Yüksek asidifikasyon kapasitesi, proteolitik aktivite ve EPS üretimi gösteren 2 *Lactococcus lactis* suşu seçilerek bu suşların, aralarında yöresel bir tereyağı olan smenin de bulunduğu bazı süt ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirliğini test etmişlerdir. Çalışma sonucunda izole edilen suşların starter olarak kullanıldığı süt ürünlerinin kontrol üretimlerine göre daha düşük pH'a ve daha düşük toplam bakteri sayısına sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Handa ve Sharma (2016), yapmış oldukları çalışmada ev yapımı tereyağından izole ettikleri *Lactobacillus delbreuckii* ssp. *bulgaricus* F18 suşunun probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmalarında yüksek pH ve safra konsantrasyonuna tolerans, antimikrobiyal aktivite, antibiyotik direnci ve hücre yüzey hidrofobikliği gibi testler sonucunda *Lactobacillus delbreuckii* ssp. *bulgaricus* F18'in iyi bir probiyotik olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Garmasheva (2016), Ukrayna'da geleneksel olarak üretilen 31 farklı fermente süt ürününden koloni morfolojilerini dikkate alarak toplamda 950 suş izole etmiştir. Genotipik tanımlama işleminin ardından suşların %60'ının *Enterococcus*, %27'sinin *Lactococcus*, %6'sının *Lactobacillus*, %3,5'inin *Leuconostoc* ve %3'ünün *Pediococcus* cinsine ait olduğunu tespit etmiştir. Aynı zamanda ekşi kremadan izole ettiği LAB suşlarının %70'ini *Enterococcus*, %24'ünü *Lactococcus*, %4'ünü *Lactobacillus* ve %2'ini *Leuconostoc* cinsi suşların oluşturduğunu bildirmiştir. Diğer taraftan, çalışmada izole ettiği *Leuconostoc* cinsi LAB'ların yaklaşık %88'ini MRS agar besiyerinden izole etmiştir.

Tosun (2016), EPS üreten LAB'dan oluşan ticari starter kültür (Danisco Bulk Set Y 621) ve ticari tereyağı starter kültürü (Probat 222) kullanarak tereyağı, yayık tereyağı ve kaymak üretmiş ve kontrol olarak üretilen örneklerle karşı deneme üretimlerinin bazı kimyasal, duyuşal ve mikrobiyal özelliklerini incelemiştir. Araştırmada EPS üreten LAB'dan oluşan ticari starter kültür kullanılan tereyağının sürülebilirliğinin daha iyi olduğunu; bütirik asit ve diasetil miktarının daha fazla olduğunu tespit etmiştir. Araştırma sonucunda, EPS üreten LAB suşlarının kaymak ve tereyağının tekstürel ve duyuşal özelliklerini geliştirdiği vurgulanmıştır.

Fgiuri *et al.* (2017), çiğ deve sütünden 29 farklı suş izole etmişler ve karakteristik özelliklerini tespit ettikleri 10 adet LAB suşunun yoğurt üretiminde starter kültür olarak kullanımını test etmişlerdir. Suşların asitlik geliştirme, proteolitik ve lipolitik aktivite, EPS üretimi gibi özelliklerini belirlemişler ve 4 LAB suşundan iki farklı starter kültür kombinasyonu oluşturarak yoğurt üretmişlerdir. Seçilen 10 farklı LAB suşunun karakteristik özelliklerinin incelendiği bu çalışmada, suşların asitlik gelişimlerini 6. saatte ΔpH 0,25-0,75

aralığında, 24. saatte ise ΔpH 0,50-1,00 olarak tespit etmişlerdir. Aynı zamanda, test edilen tüm suşların lipolitik ve proteolitik aktiviteye sahip olduğunu ve 10 suştan 6'sının EPS üretebilme kabiliyetine sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Rahmati (2017), İran'ın geleneksel süt ürünlerinden izole ettiği LAB suşlarının bazı teknik özelliklerini belirlemiş ve starter kültür olarak kullanım imkanlarını incelemiştir. 7 *Lactobacillus casei* ve 5 *Lactobacillus plantarum* suşunun teknik özellikleri incelenmiş ve *L. casei* AKL2, DDL2 ile *L. plantarum* SYL5, ACL4 suşlarının starter kültür olarak kullanılmaya uygun karakteristik özelliklere sahip olduğunu bildirmiştir. Diğer taraftan, 12 suşun tamamının proteolitik aktivite; 4'ünün lipolitik aktivite gösterdiğini; 5 suşun ise 6 saat içerisinde süt asitliğini izoelektrik noktaya getirdiğini ortaya koymuştur.

Karaca vd (2018), kefir starter kültürü ile ürettikleri tereyağı örneklerinin starter kültür kullanılmadan ürettikleri kontrol tereyağı örneklerine karşı bazı özellikler açısından test etmişlerdir. Çalışma sonucunda mikrobiyolojik ve duysal karakteristiklerin kefir starter kültürü kullanılan tereyağında daha iyi olduğunu ve kefir starter kültürünün tereyağı üretiminde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Yu et al. (2018), Rusya'da üretilen ekşi krema ve tereyağı örneklerinin mikrobiyotasını ve metabolitlerini inceledikleri araştırmalarında, *Enterococcus casseliflavus* (2 suş), *E. italicus* (2 suş), *E. faecium* (2 suş), *Lactobacillus fermentum* (2 suş), *Lactobacillus paracasei* (1 suş), *Lactobacillus plantarum* (7 suş), *Lactobacillus curvatus* (1 suş), *Lactococcus lactis* (16 suş), *Lactococcus garvieae* (2 suş), *Leuconostoc mesenteroides* (3 suş), *Leuconostoc garlicum* (2 suş), *Leuconostoc lactis* (1 suş), *Pediococcus acidilactici* (2 suş), *Streptococcus thermophilus* (4 suş) ve *Weissella hellenica* (1 tür) suşlarını içeren 7 farklı cinse ve 15 tür/alt türe ait 48 LAB suşu izole etmişlerdir.

Masalam et al. (2018) yapmış olduğu çalışmada, Suudi Arabistan'da çiğ süttten ve yerel olarak üretilen 13 farklı fermente süt ürününden koloni morfolojisi farklılıklarına göre 93 suş izole etmiş; gram boyama, katalaz ve sitokrom oksidaz aktivite testlerinin ardından 14 farklı türde toplam 46 LAB suşu genotipik olarak tanımlamışlardır. Söz konusu çalışmada tanımlanan LAB suşlarının *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Weissella* cinsine ait olduğu bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda izole ettikleri *Lactobacillus casei* MSJ1, *Lactobacillus casei* Dwan5, *Lactobacillus plantarum* EyLan2 ve *Enterococcus faecium* GailBawZir8 suşlarının önemli potansiyel probiyotik karakteristik özelliklere sahip olduklarını belirtmişlerdir.

Tsisaryk et al. (2018), *Lactococcus lactis* (1 suş), *Leuconostoc mesenteroides* (2 suş) ve *Lactobacillus plantarum* (4 suş) suşları olmak üzere toplamda 7 LAB suşunun tereyağında

starter kültür olarak kullanılabilirliğini araştırmak amacıyla suşların optimum sıcaklık, asit oluşturma, süt pıhtılaşma aktivitesi ve antibiyotik direnci gibi özelliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *L. lactis* ssp. *lactis* IMAU32258, *L. plantarum* WCFS1, *Leu. mesenteroides* ssp *mesenteroides* SWU99202' nin tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Shangguan *et al.* (2019), Moğolistan'da üretilen süt ürünlerinden EPS üreten LAB suşu izolasyonu yaptıkları çalışmalarında, süt ürünlerinden 66 adet LAB suşu izole etmişlerdir. Araştırma sonucunda *Lb. plantarum* (2 suş), *Lb. fermentum* (2 suş), *Lb. helveticus* (1) ve *P. acidilactici* (1 suş) türlerine ait toplam 5 LAB suşunun yüksek EPS üretme kapasitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Bellinazo *et al.* (2019), *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşlarından oluşan ticari probiyotik kültür *L. casei* ve çalışma ekibi tarafından izole edilen *Lactobacillus casei* CSL3 suşu ile biskinin tereyağı üretiminde kullanılmasını araştırmışlardır. Çalışmada 60 günlük depolama süresince *L. casei*'nin en az 10^6 kob/g oranında bulunduğunu ve bu sayının probiyotik tereyağı için kabul edilebilir seviyede olduğunu ortaya koymuşlardır. Duyusal analiz sonuçlarına göre farklı denemeler arasında genel görünümde anlamlı bir farkın olmadığını; kabuledilebilirliğinin ise tüm denemelerde %70'in üzerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Yıldız (2019), yoğurttan izole edilen LAB suşlarının starter kültür olarak kullanım imkanını ve EPS üretimlerini incelemiş ve 99 adet LAB suşunun EPS üretimini ve asidifikasyon kapasitesini araştırmıştır. *Streptococcus* cinsi suşların asidifikasyon kapasitesinin 24 saat sonunda %0,32 ile %1,10 arasında; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarının ise 24 sonunda %0,71 ile %1,14 arasında laktik asit ürettiğini; *Streptococcus thermophilus* suşlarından 2 tanesinin (%3,4), *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarından ise 26 tanesinin (%63,4) EPS üretimini genotipik olarak belirlemiştir.

Anlı vd (2020), yoğurttan ve kefirde tereyağı üreterek bu iki ürün arasındaki farklılıkları ortaya koymuşlardır. 2 aylık depolama periyodu sonucunda bazı kimyasal özellikler ile duysal özellikler arasında benzerlikler olmakla birlikte kefirde üretilen tereyağının yoğurt tereyağına göre daha fonksiyonel özelliklere sahip olabileceği belirtmişlerdir.

Rahman *et al.* (2020), Bangladeş'te lokal marketlerden temin ettikleri tereyağı ve peynir örneklerinden LAB izole etmişler ve bu izolatların teknik özelliklerini belirledikten sonra seçtikleri *Lactobacillus xylosus* suşunun probiyotik özelliklerini incelemişlerdir.

Çalışma sonucunda *Lactobacillus xylosus* suşunun probiyotik olarak kullanım potansiyelinin bulunduğunu belirlemişlerdir.

Zarei *et al.* (2020) tarafından yapılan çalışmada yoğurt, hamur, peynir ve tereyağından izole ettikleri 6 adet LAB suşunu probiyotik özellikleri açısından incelemişlerdir. Araştırma sonucunda, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *L. lactis* ssp. *lactis* olarak tanımladıkları iki suşun en yüksek probiyotik karakterde olduğunu tespit etmişlerdir.

Gündoğdu vd (2020), ticari yoğurt starter kültürü kullanarak ürettikleri yoğurtlardan ve çiğ süt kremasından izole edilen *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* 4366 ve *Leu. mesenteroides* subsp. *cremoris* 20200 suşlarını kullanarak tereyağı üretmişler ve bu suşların farklı varyasyonlarının kontrol tereyağı üretimine karşı bazı özelliklerini test etmişlerdir. Çalışma sonucunda kremadan üretilen tereyağlarının yoğurttan üretilen tereyağlarına göre daha yüksek sayıda uçucu bileşene sahip olduğunu belirlemişlerdir. Diğer taraftan, duyusal analiz sonucunda ise en yüksek puanları kontrol üretime karşı starter kültür ile üretilen tereyağı örneklerinin aldığını tespit etmişlerdir.

MATERYAL VE METOD

EPS Üreten LAB Suşlarının İzolasyonu ve Bazı Teknik Özelliklerinin Belirlenmesi

Materyal

Bayburt, Gümüşhane ve Erzurum illerinden geleneksel yöntemlerle üretilmiş toplam 30 tereyağı örneği toplanarak steril kaplara konulmuş ve vakit kaybetmeksizin soğuk zincir muhafazası altında Bayburt Üniversitesi Gıda Bölümü Gıda Teknolojisi Laboratuvarı'na getirilerek mikrobiyolojik ekim çalışmalarına başlanmıştır.

Tereyağı örneklerinden LAB izolasyonu

Temin edilen tereyağı örneklerinden -5. dilüsyona kadar seyreltme işlemi yapılmıştır. Daha sonra -3. ve -5. dilüsyonlardan MRS ve M17 agarlara ekim yapılmış ve ekim yapılan petrilere 35°C'de aerobik ve anaerobik koşullarda 24-48 saat süreyle inkübasyon işlemi uygulanmıştır.

İnkübasyonun ardından gelişen koloniler, koloni morfolojisi farklılıkları gözlemsel olarak değerlendirilerek seçime tabi tutulmuştur. Farklılığı gözlemlenen koloniler steril öze ile alınarak daha önceden hazırlanmış 1 mL M17 broth ve MRS broth içeren ependorf tüplere inoküle edilmiştir. 24-48 saat süreyle inkübasyona tabi tutulduktan sonra saflaştırılmak üzere MRS ve M17 agar besiyerlerine çizme usulü ile ekilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından gelişen saf kültürler tekrar sıvı besiyerlerine inoküle edilmiş ve inkübasyonun ardından gram boyama testine tabi tutulmuştur.

Gram boyama amacıyla öncelikle besiyerlerindeki kolonilerden bir öze dolusu lam üzerine aktarılmış ve lamın üzerine ince bir film tabakası halinde yayılmıştır. Lamın oda sıcaklığında kurumasının ardından fiksasyon amacıyla lamın alt yüzü üç kez bunzen beki alevinden geçirilmiştir. Gram boyama amacıyla fikse edilmiş lamın üzerine kristal viyole boyası damlatılıp 1 dakika beklendikten sonra iyot-lugol çözeltisi damlatılarak 1-2 dakika tutulmuş, distile su ile yıkanarak iyot-lugol çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Lamın üzerine daha sonra %96'lık etil alkol damlatılmış ve 10-15 sn beklendikten sonra distile su ile yıkanmıştır. Karşıt boya olarak safranin damlatıldıktan sonra 20-30 saniye bekletilmiştir. Daha sonra lam oda sıcaklığında kurutularak mikroskop ile incelenmiştir. Mor renkli bakteriler LAB türü olabileceği öngörülerek, Gram (+) olarak seçilmiş ve pembe-kırmızı renkli bakteriler ise Gram (-) olarak değerlendirilerek çalışmadan çıkarılmıştır.

Gram (+) olduğu belirlenen suşlar tekrar sıvı besiyerinde geliştirildikten sonra, %40'lık gliserol ile 1:1 oranında toplamı 1 mL olacak şekilde steril ependorf tüplere konulmuştur. Bu şekilde her suştan 5 adet tüp hazırlanarak stok olmak üzere -80°C'de muhafaza altına alınmıştır.

LAB suşlarının moleküler metotlarla tanımlanması

DNA izolasyonu

Stok kültürden alınan izolatlar sıvı MRS ve M17 besiyerinde ardı ardına 2 kere geliştirilerek gençleştirme sağlanmıştır. Gelişen kültürlerden ependorf tüpe 1'er mL alınmıştır ve 7000 g' de 10 dakika santrifüje tabi tutulmuştur. Supernatant uzaklaştırıldıktan sonra tüp iğerisine 450 µL TE (Tris EDTA) ilave edilerek hücrelerin hafif çalkalama ile homojen bir karışım oluşturması sağlanmıştır. Daha sonra üzerlerine 50 µL %10'luk SDS (Sodyum dodesil sülfat) ve 2 µL Proteinaz K ilave edilip vortekslendikten sonra 37°C'de 1 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon işlemini takiben tüplere 0,5 mL fenol:kloroform:isoamil alkol (25:24:1) karışımından ilave edilip tüpler 2-3 kez alt üst edilmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemin ardından tüpler 7000 g' de 10 dakika 4°C'de santrifüje tabi tutulmuştur. Santrifüjün ardından oluşan viskoz jel tabaka otomatik pipet yardımıyla yeni bir ependorf tüpe alınmıştır. Bu tüplere, tekrar 0,5 mL fenol:kloroform:isoamil alkol (25:24:1) karışımından ilave edilip tüpler 2-3 kez alt üst edilmiş ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Bu işlemin ardından tüpler 7000 g' de 10 dakika 4°C'de santrifüje tabi tutulmuştur ve oluşan viskoz jel tabaka tekrar yeni bir ependorf tüpe alınmıştır. Daha sonra 5 M sodyum asetat çözeltisinden 50 µL tüplere ilave edilip hafifçe karıştırılmıştır. Tüplere 1 mL izopropanol ilave ettikten sonra tüpler hafifçe 2-3 kere alt üst edilerek DNA iplikçiklerinin oluşması sağlanmıştır. Bu işlemin ardından 3000 g' de 10 dakika santrifüj uygulanmış ve oluşan süpernatant uzaklaştırılmıştır. Kalan pelletin üzerine 0,5 mL %70'lik etanol ilave edildikten sonra hafif çalkalanmış ve tekrar 3000 g' de 10 dakika santrifüj uygulanmıştır. Santrifüj işleminin ardından oluşan süpernatant uzaklaştırılmış ve geriye kalan etanolün buharlaşması için tüpler 35°C'de yaklaşık 5 dakika bekletilmıştır. Son olarak tüplere 100 µL ultra saf su ilave edilerek izole edilmiş olan DNA'ların süspanse olması sağlanmıştır.

DNA izolasyonu bu yöntem ile gerçekleştirilemeyen suşlarda EcoPURE® Genomic DNA Kiti (Ecotech, Erzurum) kullanılarak DNA izolasyonu sağlanmıştır.

RAPD-PCR analizi ile suşların genotipik farklılığının tespiti

Elde edilen DNA örneklerine daha önce tanımlanmış M13 primeri (5`- GAG GGT GGC GGT TCT) (Dertli vd 2016) kullanılarak RAPD (Rastgele Artırılmış Polimorfik DNA) PCR uygulanıp suşların genom farklılıkları tespit edilmiştir. RAPD-PCR için hazırlanan karışım ve PCR şartları sırasıyla Tablo 6. ve Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 6. RAPD-PCR İçin Hazırlanan PCR Karışımı

Bileşen	Miktar (Örnek başına)
H ₂ O	9,41875 µL
5X PCR Buffer	1,25 µL
dNTP mix	1 µL
Primer – M13	0,5 µL
DNA	0,3 µL
Taq polimez	0,03125 µL

Tablo 7. RAPD-PCR İçin Oluşturulan PCR Şartları

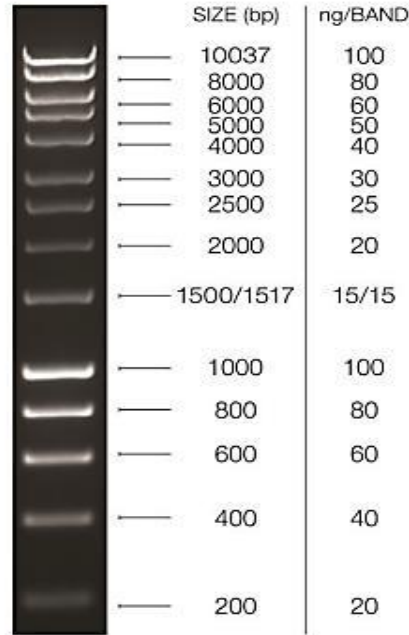
Denatürasyon	94°C 2 dk.	
Denatürasyon	94°C 1 dk.	} 40 döngü
Bağlanma	42°C 20 sn.	
Uzama	72°C 2 dk.	
Son uzama	72°C 10 dk.	

RAPD-PCR sonucunda benzer gen yapısına sahip suşlar arasından bir tanesi seçilmiş ve böylelikle farklı gen yapısına sahip suşlar belirlenmiştir.

Agaroz jel elektroforezi

PCR ürünlerinin kontrolü amacıyla 0,5X Tris borat EDTA (TBE) tamponuna %1 oranında agaroz ilave edilmiş ve kaynatıldıktan sonra soğutulularak jel hazırlanmıştır. PCR örnekleri jel kuyucuklarına aktarılmadan önce loading buffer ile boyanmıştır. Boyanan örneklerden 10 µL alınarak kuyucuklara aktarılmıştır. DNA boyutlayıcısı olarak her jelde 5µL Hyperladder I (Bioline UK) (Şekil 4) kullanılmıştır. Elektroforez işleminin ardından jel, 1mg/L derişimde etidyum bromid çözeltisinde 30 dakika boyunca tutularak DNA

parçacıklarının boyanması sağlanmıştır. Boyama işleminin ardından jel durulandıktan sonra UV Transilluminatör (Cleaver) kullanılarak UV ışık altında görüntülenmiştir.



Şekil 4. Hyperladder I fragment boyutları ve miktarları

16S rRNA bölgesinin PCR ile amplifikasyonu

16S olarak adlandırılan rRNA geni bakteriler için parmak izi bölgesi olarak nitelendirilmekte ve bakterilerin sınıflandırılması ile tanımlanması 16S gen bölgesine göre yapılmaktadır.

16S rRNA bölgesinin amplifikasyonu amacıyla daha önce tanımlanmış AMP-F (GAGAGTTTGATYCTGGCTCAG) ve AMP-R (AAGGAGGTGATCCARCCGCA) (Baker *et al.* 2003) primerleri kullanılmıştır. Örneklerin 16S rRNA geninin amplifiye edilmesi için hazırlanan karışım ve uygulanan şartlar sırasıyla Tablo 8 ve Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 8. 16S rRNA Geninin Amplifiye Edilmesi İçin Hazırlanan PCR Karışımı

Bileşen	Miktar (Örnek başına)
H ₂ O	37,875 µL
5X PCR Buffer	5 µL
dNTP mix	4 µL
Primer 1 – AMP-F	1 µL
Primer 2 – AMP-R	1 µL
DNA	1 µL
Taq polimez	0,125 µL

Tablo 9. 16S rRNA Geninin Amplifiye Edilmesi İçin Hazırlanan PCR Şartları

Denatürasyon	95°C 2 dk.	
Denatürasyon	95°C 30 sn.	25 döngü
Bağlanma	55°C 20 sn.	
Uzama	72°C 30 sn.	
Son uzama	72°C 5 dk.	

Dizi analizi

Görüntüler neticesinde seçilen örneklerin PCR ürünlerinin saflaştırılması ve DNA konsantrasyonunun belirlenerek sekanslama işleminin gerçekleştirilmesi amacıyla, DNA örnekleri Medsantek Ltd.Şti'ye gönderilmiştir.

Tanımlanan LAB suşlarının bazı karakteristik özelliklerinin belirlenmesi**EPS üretimi için gerekli *gtf* ve *p-gtf* genlerinin tespiti**

İzole edilen LAB türlerinde EPS üretiminin araştırılması amacıyla *gtf* ve *p-gtf* genleri PCR analizi ile tespit edilmiştir. Bu amaçla kullanılan primerler ve PCR şartları Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. EPS Genlerinin Tespitinde Kullanılan Primerler ve PCR Şartları

Primer	Sekans (5'-3')	Hedef gen	Hedef gen boyutu(bp)	PCR şartları	Referans
<i>epsA</i> F	TAGTGACAACGGTTGTACTG	Transkripsiyon düzenleyici	800	94°C 15sn 40°C 30sn 72°C 1dk 35 defa	(Low <i>et al.</i> 1998)
<i>epsA</i> R	GATCATTATGGACTGTCAC				
<i>gtf</i> F	GAYAAYSIAAYCCIRYIGTIC	<i>gtf</i>	660	95°C 30sn 42°C 45sn 72°C 1dk 35 defa	(Palomba <i>et al.</i> 2012)
<i>gtf</i> R	ADRTCICCRTARTAIIVYKIG				
<i>epsB</i> F	CGTACGATTCGTACGACCAT	Zincir uzunluğu	1150	94°C 30sn 94°C 45sn 46°C 1dk 72°C 1dk 35 defa	(Dertli vd 2016)
<i>epsB</i> R	TGACCAGTGACACTTGAAGC				

Y = C veya T; R = A veya G; W = A veya T; K = G veya T; S = C veya G; M = A veya C; V = A, C veya G; N = A, C, G veya T; I = inozin

Asidifikasyon kapasitesi

Suşların asidifikasyon kapasitesi %10'luk sterilize edilmiş rekonstitüe yağsız süt kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla aktiveleştirilen suşlar %1 oranında yağsız sütlere inoküle edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon periyodunda pH metre (Mettler-Toledo AG, 8603

Schwerzenbach, Switzerland) ile pH ölçümü yapılarak sonuçlar Δ pH 6, 12 ve 24 saat olarak verilmiştir (Arıcı vd 2004).

Diasetil üretimi

Aktifleştirilmiş 24 saatlik kültürler 10 mL %10'luk sterilize edilmiş rekonstitüe yağsız süte %1 oranında inoküle edilmiş ve 30°C'de 24 saat boyunca inkübasyona tabi tutulmuştur. Gelişimin ardından 1 mL kültür, 0,5 mL α -naftol (%1 w/v) ve 0,5 mL KOH (%16 w/v) içeren ependorf tüpe alınmıştır. Daha sonra tüpler 30°C'de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Tüpün üst kısmında kırmızı halka oluşumu diasetil üretimini ifade etmektedir. Sonuçlar rengin yoğunluğuna göre niteliksel olarak negatif (-), zayıf (+), iyi (++) ve güçlü (+++) olarak tanımlanmıştır (King 1948; Rodriguez *et al.* 2019).

Lipolitik aktivite

LAB suşlarının lipolitik aktivitelerini belirlemek amacıyla Tribütirin Agar (TBA) (Merck) kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri 121°C'de 15 dakika sterilize edildikten sonra soğutulmaya bırakılmıştır. 80°C'ye soğuduğunda besiyerine %1 oranında tribütirin (Fluka, Buchs, Switzerland) ilave edilmiştir. Daha sonra yeterince soğuyan besiyeri, steril petri kaplarına her birine 20 mL olacak şekilde dökülmüştür. Petri kaplarında donan besiyerlerine 9 mm çapında kuyucuklar açılarak aktifleştirilmiş ve 24 saatlik LAB suşları bu kuyucuklara inoküle edilmiştir. Bu işlemin ardından petri kutuları 30°C'de 6 gün inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonucunda kuyucukların etrafında oluşan zonlar ölçülerek sonuçlar milimetre cinsinden verilmiştir (Kenneally *et al.* 1998).

Proteolitik aktivite

Proteolitik aktivitenin belirlenmesi amacıyla Kalsiyum kazeinat agar (CCA) (Merck) kullanılmıştır. Hazırlanan besiyeri otoklavda sterilize edildikten sonra soğumaya bırakılmış ve ardından petri kutularına dökülmüştür. Daha sonra besiyerlerine 8 mm çapında kuyucuklar açılmış ve aktifleştirilmiş 24 saatlik LAB suşları bu kuyucuklara inoküle edilmiştir. İnkübasyonun ardından petri kutuları 30°C'de 2 gün inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonucunda kuyucukların etrafında oluşan zonlar ölçülerek sonuçlar milimetre cinsinden verilmiştir (Kamiloğlu 2016).

Antibiyogram testi

Antibiyogram testi, antibiyotik difüzyon diskleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla geliştirilen LAB suşları 10^7 kob/mL olacak şekilde ayarlanarak 100 µL MRS ve M17 agara yayma yöntemi ile ekilmiştir. Ardından antibiyotik diskleri petri kutularına yerleştirilmiştir. Araştırmada ampisilin 10 µg (AMP10), kloramfenikol 30 µg (C30), eritromisin 15 µg (E15), kanamisin 30 µg (K30), penisilin 10 µg (P10), streptomisin 10 µg (S10), tetrasiklin 30 µg (TE30), vankomisin 30 µg (VA30), oksasilin 1 µg (OX1) ve gentamisin 10 µg (CN10) (Liofilchem, Italy) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Antibiyotik uygulanan petriler 37°C’de 24 saat inkübasyon sonucunda oluşan inhibisyon zonları tespit edilmiştir.

EPS Üreten LAB Suşlarının Tereyağı Üretiminde Starter Kültür Olarak Kullanılabilirliğinin Araştırılması

Starter kültürlerin hazırlanması

Teknik özellikleri belirlenen LAB suşları arasından tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılması kararlaştırılan suşlardan 2 farklı starter kültür kombinasyonu (TS₁ ve TS₂) hazırlanmıştır.

Starter kültür olarak kullanılacak suşların inokülasyon sayıları, inoküle edilecekleri kremanın gramında her bir suş 10^7 kob olacak şekilde hesaplanmış ve bu hesaba göre kremalara inokülasyon gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, starter kültür olarak kullanılması kararlaştırılan suşlar 10 mL sıvı besiyerlerinde ard arda 2 kez geliştirilerek aktifleştirilmiştir. Bu esnada suşlar katı besiyerlerine de ekim yapılarak sayım işlemi yapılmış ve son olarak suşlar 3. kez 100 ile 500 mL arasında sıvı besiyerlerinde geliştirilerek inokülasyon için yeterli bakteri sayısı elde edilmiştir.

Kullanılacak her bir suş için sıvı besiyerlerinin hesaplanan miktarları 5000 rpm’de 10 dakika oda sıcaklığında santrifüjlenmiş ve süpernatant uzaklaştırılmıştır. Pelletin üzerine 50 mL steril saf su ilave edildikten sonra hafifçe vortekslenmiştir. 5000 rpm’de 10 dakika oda sıcaklığında santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. Yıkama amacıyla yapılan bu işlem bir kez daha tekrarlanmıştır. Son olarak çalışma sonucunda oluşturulan 2 farklı starter kültür kombinasyonunun içerdikleri suşlar bir araya toplanmış ve 20 mL steril saf suda çözdürülerek TS₁ ve TS₂ starter kültürleri inokülasyona hazır hale getirilmiştir.

Starter kültür ile üretilen kontrol tereyağı (K₁ örneği) üretiminde kullanılan ticari starter kültür (Choozit Probat 322 LYO 100 DCU, Danisco) ise üretici talimatı dikkate

alınarak 1 DCU miktarında tartıldıktan sonra 20 mL steril saf suda çözündürülerek inokülasyona hazır hale getirilmiştir.

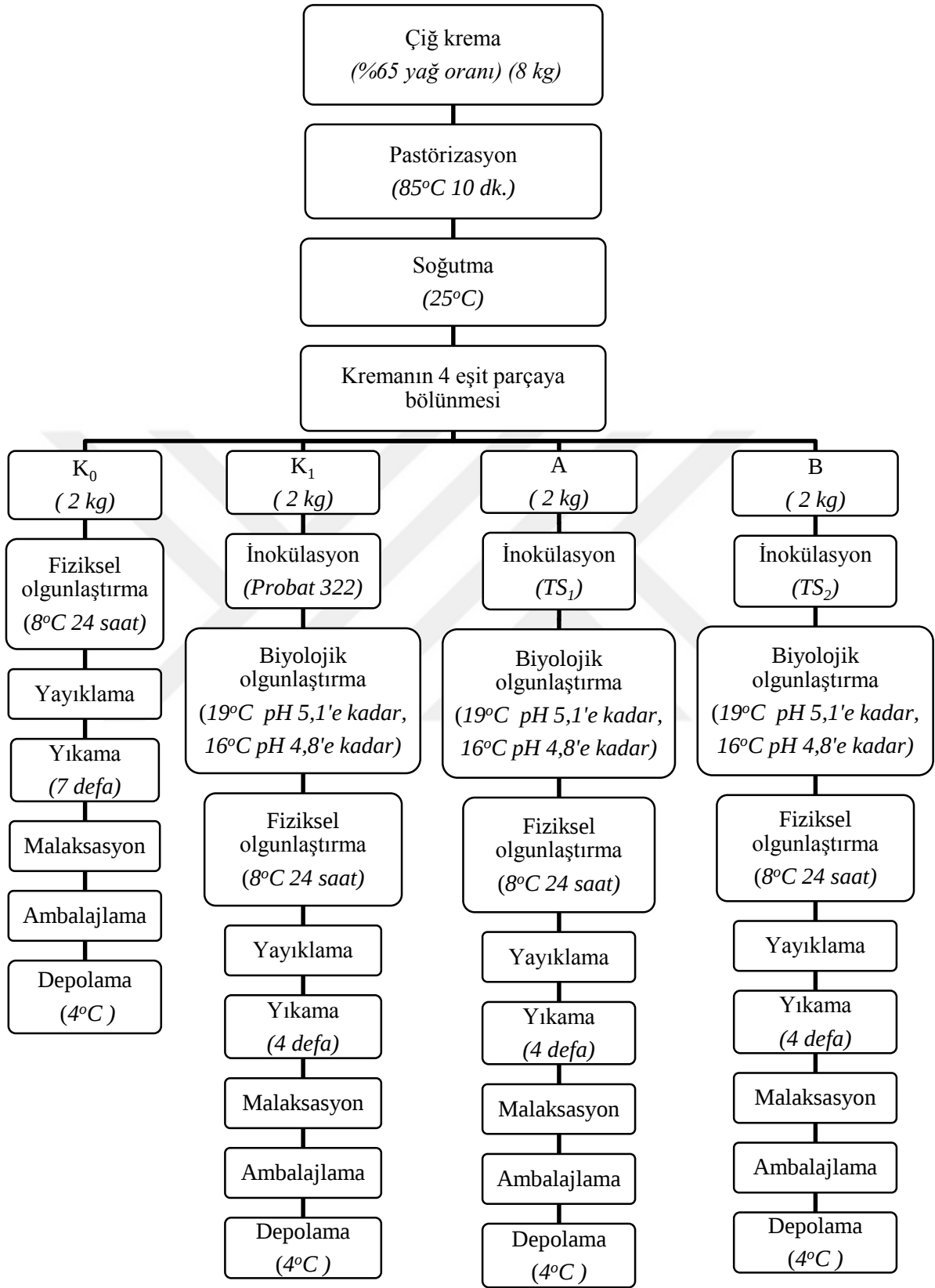
Tereyağı üretimi

TS₁ ve TS₂ kullanılarak üretilen 2 tereyağı grubu (A ve B) ile kontrol olarak ticari starter kültür (Choozit Probat 322 LYO 100 DCU, Danisco) kullanılan (K₁) ve starter kültür kullanılmayan (K₀) 2 tereyağı grubu olmak üzere toplam 4 tereyağı grubu 3 paralelli ve 2 tekerrürlü olarak üretilmiştir. Deneme tereyağı örnekleri kodları ve kullanılan starter kültürler Tablo 11’de verilmiştir. Tereyağı üretim prosesi Şekil 5’deki gibidir.

Tablo 11. Deneme Tereyağı Örneklerinin Üretiminde kullanılan Starter Kültürler

Deneme Tereyağı Kodu	Starter Kültür	Açıklama
K ₀	-	Geliştirilen starter kültürlerin karşılaştırılması amacıyla starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği
K ₁	Choozit Probat 322 LYO 100 DCU, Danisco	Geliştirilen starter kültürlerin karşılaştırılması amacıyla ticari starter kültür ile üretilen kontrol tereyağı örneği
A	TS ₁	Geliştirilen TS ₁ starter kültürünün kullanıldığı tereyağı örneği
B	TS ₂	Geliştirilen TS ₂ starter kültürünün kullanıldığı tereyağı örneği

Tereyağlarının üretiminde kullanılan hammadde %65 yağlı çiğ krema (pH 6,65 ve 6,70) iki tekerrür için 8’er kilogram olarak Bayburtova Süt Ürünleri’nden temin edilmiştir. Tereyağı üretimi Bayburt Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Süt Teknolojisi ve Gıda Teknolojisi Laboratuvarları’nda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5. Deneme tereyağı üretim akış şeması

Krema pastörizasyon işleminin ardından 25°C'ye soğutulmuş ve 2'şer kilogramlık 4 eşit parçaya bölünmüştür. Starter kültür kullanılmayan kontrol krema örneği (K₀) biyolojik olgunlaştırma olmaksızın derhal 8°C'de fiziksel olgunlaştırmaya alınmıştır. Diğer 3 krema örneğine (K₁, A ve B) starter kültür inokülasyonları yapılarak biyolojik olgunlaştırma safhasına geçilmiştir.

Deneme tereyağı üretimi yaz dönemine denk geldiği için biyolojik olgunlaştırma işleminde yaz metodu ısı programı (19-16-8) uygulanmıştır. Olgunlaşmanın takibi pH metre (Mettler-Toledo AG, 8603 Schwerzenbach, Switzerland) kullanılarak ayrı küçük kaplara konulan krema örnekleri üzerinden sağlanmıştır. Uygun sıcaklık şartlarını sağlamak amacıyla klima bulunan iki laboratuvar 19 ve 16°C'ye sabitlenmiş ve kremler pH 5,1'e ulaşınca kadar 19°C olan laboratuvarda tutulmuş; daha sonra 16°C'ye ayarlanan laboratuvara alınarak pH 4,8'e ulaşınca kadar burada olgunlaşması sağlanmıştır. pH 4,8'e ulaşan krema örnekleri 8°C'deki buzdolabına alınmıştır.

Buzdolabında 8°C'de 24 saat kalarak fiziksel olgunlaşmasını tamamlayan krema örnekleri, etanolla dezenfekte edilmiş kap ve malzemeler kullanılarak ortam sıcaklığının 20°C olduğu koşullarda yayıklama, yıkama ve malaksasyon işlemlerine tabi tutulmuştur.

Tereyağlarının yıkanması aşamasında, yıkama suyu olarak patojen mikroorganizmalardan arı ticari içme suyu (Doyum, Erzurum) kullanılmıştır. Starter kültür kullanılmayan tereyağı örneği (K₀), 7 kez (her seferinde 500 mL 4°C su ile) yıkandığında yıkama suyu berraklaşırken; starter kültür kullanılan tereyağı örnekleri (K₁, A ve B) 4 kez yıkandığında yıkama suyu berrak hale gelmiştir. Yayıklama, yıkama ve malaksasyon işlemleri her bir örnek için 20 ile 45 dakika arasında gerçekleştirilmiştir. İşlemin ardından tereyağı örnekleri streç filme sarıldıktan sonra kilitli polistren poşetlere konulmuştur. Tereyağı örnekleri üretimin ardından 10 gün süre ile +4°C' de muhafaza edilmiştir.

Deneme tereyağı örneklerinin kalite özelliklerinin belirlenmesi

Üretilen tereyağı örneklerinin kalite özelliklerini belirlemek için gerçekleştirilen analizler 3 paralelli olarak yürütülmüştür.

Kurumadde (%)

Deneme tereyağı örneklerinde kurumadde analizi gravimetrik yöntem ile gerçekleştirilmiş ve sonuçlar % (w/w) olarak verilmiştir (Kurt vd 1995).

Yağ (%)

Tereyağı örneklerinin yağ oranı Gerber metodu ile belirlenmiş ve sonuçlar % (v/v) olarak verilmiştir (Kurt vd 1995).

Asitlik

Tereyağı örneklerinin asitliği titrimetrik olarak belirlenmiş ve laktik asit cinsinden % asitlik olarak verilmiştir (Metin 2009).

pH tayini

Tereyağı örneklerinin pH değerleri pH metre (Mettler-Toledo AG, 8603 Schwerzenbach, Switzerland) kullanılarak belirlenmiştir (Kosikowski 1982).

Su aktivitesi

Tereyağı örneklerinin su aktivite (a_w) değerleri LabMaster-aw (Novasina AG, Switzerland) marka su aktivite ölçüm cihazı kullanılarak ölçülecektir. Cihaz ölçüm öncesi standart çözeltilerle standardize edildikten sonra cihazın standart kaplarına yaklaşık 3 g örnek konulup cihaz haznesine yerleştirilmiş ve örneklerin su aktivite değerleri belirlenmiştir (Fındık 2011).

Erime noktası

Tereyağı örneklerinin erime noktaları (Kurt vd 1995)'e göre belirlenmiş ve sonuçlar °C cinsinden verilmiştir.

Renk tayini

Renk yoğunluğu ölçümleri Minolta Colorimetre cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Renk yoğunluklarının ölçümü ve sonuçların değerlendirilmesi, Uluslararası Aydınlatma Komisyonunun (CIELAB; Comission Internationale de l'Eclairage) formülüne göre yapılmıştır. Bu formül, üç boyutlu renk ölçümünü esas almakta olup; L; 0=siyahtan 100=beyaza kadar olan örneğin açıklık-koyuluk, -a değeri yeşil, +a değeri kırmızı, -b değerleri mavi, +b sarı renk yoğunluklarını ifade etmektedir (Elgün vd 2002).

Tekstür analizi

Tereyağı örneklerinin dokusal özelliklerini belirlemek için, sürülebilirlik analizi Sert ve Mercan (2020) tarafından açıklandığı gibi bir tekstür analiz cihazı (TA.XTPlus, Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu analizde prob olarak TTC Spreadability Rig (Stable Micro Systems) kullanılmıştır. Bu prob, erkek ve dişi iki parçadan oluşmaktadır. Analizden önce, erkek koni probu dişi koniye göre kalibre edilmiştir. Tereyağı numunesi, dişi koniye konulduktan sonra hava kabarcıklarını ortadan kaldırmak amacıyla hafif baskı uygulanmıştır. Düz bir test alanı elde etmek için, fazla numune dişi koniden bir bıçakla kazınmıştır. Dişi konideki tereyağı, sabit ölçüm sıcaklığını (4°C) sağlamak için 4 ° C'de 1 gün tutulmuştur. Prob, 3,0 mm s⁻¹ hızla numune yüzeyinden 2 mm derinliğe kadar daldırılmıştır. Sertlik (N) ve Work of shear (N.s) değerleri sırasıyla maksimum penetrasyon kuvveti ve ortalama alandan elde edilmiştir. Analiz, numuneler buzdolabından 4°C sıcaklıktan çıkarıldıktan hemen sonra oda sıcaklığında (24°C) gerçekleştirilmiştir.

Deneme tereyağı örneklerinin yağ asidi profilinin belirlenmesi

Tereyağı örneklerinden 50 mg tartılarak temiz tüplere aktarılmış ve üzerine 1,5 mL 2M NaOH ilave edilmiştir. Sonra tüplere nitrojen gazı doldurularak 1 saat süreyle 80°C sıcaklığa tabi tutulmuş, böylece sabunlaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi takiben soğumaya bırakılan örnekler üzerine 2 mL BF₃ (Brontrifluoride methanol %25'lik) ilave edilerek tüplere tekrar nitrojen doldurulmuş ve 80°C de yarım saat daha bekletilmiştir. Sürenin bitmesinden sonra örnekler tekrar soğumaya terk edilmiştir. Soğuyan örneklerin üzerine 1 mL hekzan ilave edilip vortekslelendikten sonra 1 mL ultra saf su ilave edilerek tekrar vortekslenmiştir. Daha sonra tüp içerisindeki hekzan tabakası alınarak sodyum sülfat içeren yeni tüplere aktarılıp 1 mL hekzan daha ilave edilerek tekrar vortekslenmiştir. Üstte kalan hekzan tabakası 2 mL'lik GC viyallerine aktarılıp viyallere nitrojen gazı doldurulmuştur. (Metcalf ve Schmitz, 1961). Bütün bu işlemler tamamlandıktan sonra viyaller gaz kromatografisi (GC)'ne analizler için yerleştirilmiştir.

Tereyağı örneklerinden elde edilen yağın yapı taşlarını oluşturan yağ asitlerine ayırtırmak için yağ asidi metil esterlerine ayrılarak (FAME) HP (Hewlet Packard) Agilent 6890N model GC ile analiz edilmiştir. Her bir yağ asidi retention time (RT, alıkonma zamanı)'ları yağ asitleri karışım standartlarının (Supelco 37 component FAME mix, Cat No: 47885-U) RT'leri ile mukayese edilerek belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Tereyağı örneklerinde koliform grubu mikroorganizma sayısının belirlenmesi amacıyla VRB agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Öncelikle petrilere uygun dilüsyonlardan 1 mL aktarılmış ve VRB agar sterilize edilip soğutulduktan sonra petri kutularına 15'er mL aktarılmıştır. Homojen dağılımın sağlanması amacıyla kontrollü olarak salınım sağlanmış ve besiyerinin katılaşması beklenmiştir. Petriler 35°C'de 2 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonucunda gelişen koloniler sayılmış ve sonuçlar log kob/g olarak belirtilmiştir.

Deneme tereyağı örneklerinde toplam aerobik mezofilik mikroorganizma sayısını tespit etmek amacıyla PCA (Oxoid CM0325) besiyerine yayma yöntemi ile uygun dilüsyonlardan ekim yapılmış ve 30±1°C'de 2 gün süreyle inkübasyon sonucunda gelişen koloniler sayılarak TAMB sayısı belirlenmiştir. Sonuçlar log₁₀ kob/g olarak belirtilmiştir.

MRS agar ve M17 agar (Oxoid CM0361) kullanılarak tereyağı örneklerinde LAB sayımı yapılmıştır. Ekimin ardından MRS agar bulunan petriler için anaerobik şartlar sağlanmıştır ve 35±1°C'de 3 gün süreyle altında inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonucunda gelişen koloniler sayılmış ve log kob/g olarak belirtilmiştir.

Tereyağı örneklerinde maya ve küf sayılarının belirlenmesi amacıyla tartarik asitle pH'sı 3,5'e ayarlanmış Potato Dextrose Agardan (PDA, Oxoid CM0139) petri kutularına 15'er mL aktararak katılaşması tamamlanan petrilere uygun dilüsyonlardan inokülasyon yapılmıştır. Yayma işleminin ardından petriler 25°C'de 7 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonucunda gelişen koloniler sayılarak sonuçlar log kob/g olarak belirtilmiştir.

Duyusal analiz

Tereyağı örneklerinin duyusal değerlendirmesinde Şekil 6'da yer alan skala kullanılmıştır. Duyusal panel sigara kullanmayan 16 panelistten oluşturulmuştur.

Panelist ismi	Değerler					Örnekler			
Renk	9-8	7-6	5-4	3-2	1				
Tekstür	9-8	7-6	5-4	3-2	1				
Koku	9-8	7-6	5-4	3-2	1				
Lezzet	9-8	7-6	5-4	3-2	1				
Acı tat	Hiç yok 9-8	Yok 7-6	Çok az 5-4	Çok 3-2	Tüketilemez 1				
Genel kabul edilebilirlik	9-8	7-6	5-4	3-2	1				

Not: Belirtmek istenilen bir husus varsa belirtiniz

Şekil 6. Duyusal analiz değerlendirme skalası

İstatiksel Analizler

Elde edilen verilerin analizinde SPSS version 24.0 istatistik paket programı (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) kullanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Tereyağı Örneklerinden LAB izolasyonu

Toplam 30 farklı geleneksel olarak üretilmiş tereyağı örneğinden MRS ve M17 agara yapılan ekimler sonucunda koloni morfolojisi farklılıkları gözlemsel olarak tespit edilen 306 suş izole edilmiştir. Tereyağı örneklerinde MRS ve M17 agarda gelişen koloni sayıları ile izole edilen suşların kodları Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. Tereyağı Örneklerinin M17 ve MRS Agarda Gelişen Koloni Sayıları ile İzole Edilen Suşların Kodları

Tereyağı Örneği	Menşei	LAB _{MRS} (log kob/g)	MRS agardan izole edilen suşların kodu	LAB _{M17} (log kob/g)	M17 agardan izole edilen suşların kodu
1	Bayburt	5,42	B14, B15	5,77	B1, B2, B3, B4
2	Bayburt	6,13	B15	6,82	B5, B6
3	Bayburt	6,39	B16, B17	7,23	B7, B8, B9
4	Bayburt	7,58	B18, B19	7,61	B10, B11
5	Bayburt	7,60	B22, B23, B24	7,79	B12, B13, B20, B21
6	Bayburt	6,74	B25	6,99	B33, B34
7	Bayburt	6,19	B26	6,34	B35, B36, B37, B38
8	Bayburt	7,28	B27, B28	7,35	B39, B40
9	Bayburt	7,33	B29, B30, B31	7,46	B41, B42
10	Bayburt	6,45	B32	6,71	B43, B44, B45, B46
11	Erzurum	7,19	ES1, ES2, ES3, ES4, ES5, ES6, ES7, ES8, ES9, ES10	7,82	EM1, EM2, EM3, EM4, EM5
12	Erzurum	6,04	ES11, ES12, ES13, ES14, ES15, ES16, ES17, ES18, ES19, ES20	6,35	EM6, EM7, EM8, EM9, EM10
13	Erzurum	7,48	ES21, ES22, ES23, ES24, ES25, ES26, ES27, ES28, ES29, ES30	7,61	EM11, EM12, EM13, EM14, EM15
14	Erzurum	7,68	ES31, ES32, ES33, ES34, ES35, ES36, ES37, ES38, ES39, ES40	8,28	EM16, EM17, EM18, EM19, EM20, EM51, EM52, EM53

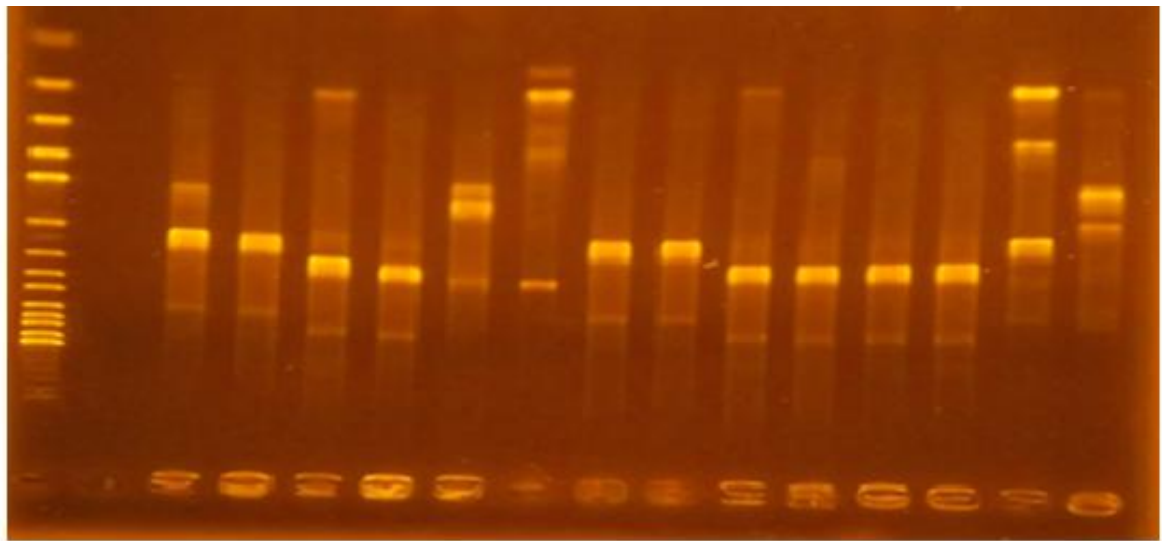
Tablo 12. (Devamı)

Tereyağı Örneği	Menşei	LAB_{MRS} (log kob/g)	MRS agardan izole edilen suşların kodu	LAB_{M17} (log kob/g)	M17 agardan izole edilen suşların kodu
15	Erzurum	6,22	ES41, ES42, ES43, ES44, ES45, ES46, ES47, ES48, ES49, ES50	6,40	EM21, EM22, EM23, EM24, EM25
16	Erzurum	7,29	ES51, ES52, ES53, ES54, ES55, ES56, ES57, ES58, ES59, ES60	7,97	EM26, EM27, EM28, EM29, EM30
17	Erzurum	5,80	ES61, ES62, ES63, ES64, ES65, ES66, ES67, ES68, ES69, ES70	5,88	EM31, EM32, EM33, EM34, EM35
18	Erzurum	7,29	ES71, ES72, ES73, ES74, ES75, ES76, ES77, ES78, ES79, ES80	7,56	EM36, EM37, EM38, EM39, EM40
19	Erzurum	6,33	ES81, ES82, ES83, ES84, ES85, ES86, ES87, ES88, ES89, ES90	6,82	EM41, EM42, EM43, EM44, EM45
20	Erzurum	6,98	ES91, ES92, ES93, ES94, ES95, ES96, ES97, ES98, ES99, ES100	7,44	EM46, EM47, EM48, EM49, EM50
21	Gümüşhane	<100	-	7,77	G1, G2, G3, G4, G5, G6, G7 G8, G9, G10, G11, G12, G13, G14, G52, G53, G54, G55, G56
22	Gümüşhane	5,89	G73, G74, G75, G76, G77, G78, G79, G80	7,31	G15, G16, G17, G18, G19, G20, G21
23	Gümüşhane	6,18	G81, G82, G83, G84, G85, G86, G87, G88, G89, G90	7,46	G22, G23, G24, G25, G26
24	Gümüşhane	5,48	G91, G92, G93, G94, G95	6,14	

Tablo 12. (Devamı)

Tereyağı Örneği	Menşei	LAB _{MRS} (log kob/g)	MRS agardan izole edilen suşların kodu	LAB _{M17} (log kob/g)	M17 agardan izole edilen suşların kodu
25	Gümüşhane	6,02	G96, G97, G98, G99	5,91	G27, G28
26	Gümüşhane	5,39	G100, G101, G102, G103, G104	5,88	G29, G30, G31
27	Gümüşhane	6,42	G105, G106, G107, G108, G109, G110, G111, G112, G113	7,45	G32, G33, G34, G35, G36
28	Gümüşhane	<100	-	5,48	G37-G39
29	Gümüşhane	5,51	G114, G115, G116, G117, G118, G119	5,70	G40, G41, G42, G43, G44
30	Gümüşhane	5,42	G120, G121, G122, G123	7,80	G45, G46, G47, G48, G49, G50, G51

İzole edilen toplam 306 suşa gram boyama metodu uygulanmış, gram (-) olduğu tespit edilen suşlar (43 adet) çalışmadan çıkarılmıştır. Gram (+) olduğu belirlenen suşlarda DNA izolasyonuna geçilmiş ve DNA örnekleri genotipik farklılıkların tespit edilmesi amacıyla M13 primeri kullanılarak RAPD-PCR işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 7). RAPD-PCR işleminin ardından genotipik olarak benzer olan suşlar (206 adet) elenmiş; farklılığı tespit edilen suşlar çalışmanın devamı için seçilmiştir.

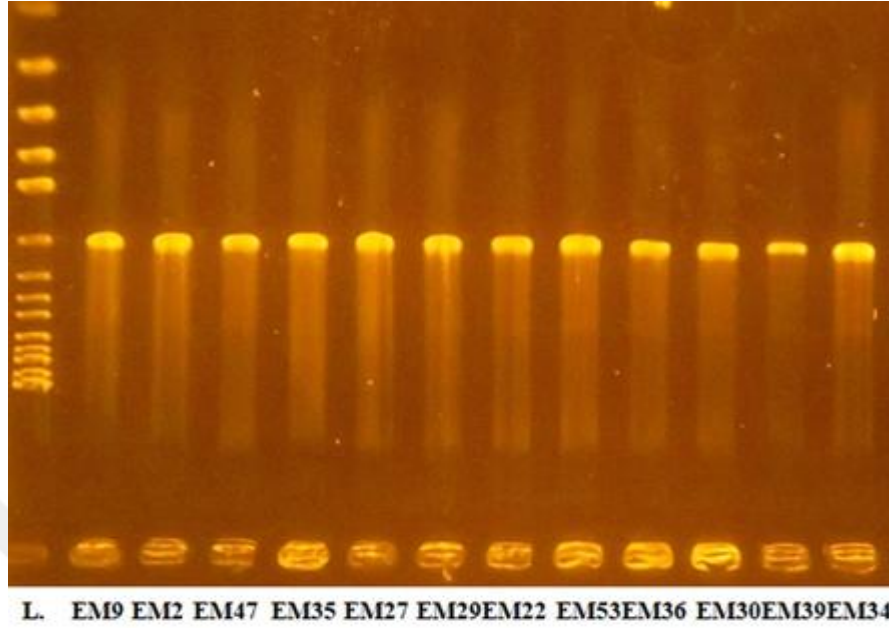


Lad. K. EM22 EM21 EM20 EM19 EM18 EM17 EM16 EM15 EM14 EM13 EM12 EM11 EM10 EM9

Şekil 7. M13 primeri kullanılarak gerçekleştirilen RAPD-PCR işleminde PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği (L: Ladder, K: Negatif kontrol)

Tereyağı örneklerinden izole edilen toplam 306 adet suş, gram boyama ve RAPD-PCR işleminin ardından elenmiş ve 57 suş çalışmanın devamı için seçilmiştir.

Seçilen 57 adet suşa PCR ile 16S rRNA geni çoğaltma işlemi uygulanmıştır (Şekil 8).



Şekil 8. 16S rRNA geni çoğaltma işleminde PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği

İzolatlara ait çoğaltılmış 16S rRNA genleri saflaştırılmak ve dizi analizine tabi tutulmak üzere Medsantek Ltd. Şti.'ye gönderilmiştir. Dizi analizi sonucu izolatların DNA dizilimleri BLAST uygulamasına yüklenmiş ve tanımlama işlemi yapılmıştır. Tanımlanan suşlar ve kodları Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13. Tanımlanan Suşlar ve Kodları

Sıra	Kodu	Adı
1	B2	<i>Enterococcus faecium</i>
2	B3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
3	B5	<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>
4	B7	<i>Enterococcus faecalis</i>
5	B9	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
6	B19	<i>Lactobacillus paracasei</i>
7	B43	<i>Streptococcus thermophilus</i>
8	EM10	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>
9	EM16	<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>
10	EM6	<i>Enterococcus faecium</i>
11	EM5	<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>

Tablo 13. (Devamı)

Sıra	Kodu	Adı
12	EM28	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
13	EM1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
14	EM40	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
15	EM51	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
16	EM52	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
17	EM18	<i>Enterococcus faecalis</i>
18	EM30	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
19	EM36	<i>Enterococcus faecalis</i>
20	EM53	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
21	EM34	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
22	EM32	<i>Enterococcus durans</i>
23	EM45	<i>Streptococcus thermophilus</i>
24	EM49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
25	EM35	<i>Streptococcus macedonicus</i>
26	EM39	<i>Rothia kristinae</i>
27	EM9	<i>Enterococcus faecium</i>
28	EM20	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
29	EM47	<i>Enterococcus faecalis</i>
30	EM27	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
31	EM29	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
32	ES63	<i>Lactobacillus plantarum</i>
33	ES82	<i>Lactobacillus paracasei</i>
34	ES90	<i>Lactobacillus paracasei</i>
35	ES1	<i>Lactobacillus plantarum</i>
36	ES83	<i>Lactobacillus fermentum</i>
37	ES54	<i>Lactobacillus fermentum</i>
38	ES42	<i>Lactobacillus fermentum</i>
39	ES8	<i>Lactobacillus paracasei</i>
40	ES80	<i>Lactobacillus fermentum</i>
41	ES66	<i>Lactobacillus fermentum</i>
42	G49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
43	G94	<i>Enterococcus faecalis</i>
44	G8	<i>Enterococcus durans</i>

Tablo 13. (Devamı)

Sıra	Kodu	Adı
45	G28	<i>Enterococcus faecalis</i>
46	G2	<i>Streptococcus parauberis</i>
47	G30	<i>Streptococcus thermophilus</i>
48	G11	<i>Enterococcus durans</i>
49	G15	<i>Streptococcus thermophilus</i>
50	G27	<i>Streptococcus thermophilus</i>
51	G40	<i>Enterococcus faecalis</i>
52	G31	<i>Enterococcus lactis</i>
53	G26	<i>Streptococcus thermophilus</i>
54	G18	<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>
55	G24	<i>Enterococcus faecalis</i>
56	G29	<i>Enterococcus faecalis</i>
57	G17	<i>Enterococcus faecalis</i>

Tanımlanan suşlardan LAB olmayan ve starter kültür olarak kullanılmayan EM39 kodlu *Rothia kristinae* suşu çalışmadan çıkarılmıştır. Bu şekilde geri kalan 56 suş ile çalışmaya devam edilmiştir.

İzole edilen LAB'ların dağılım ve oranları Tablo 13'te verilmiştir. Buna göre izole edilen LAB suşlarının %32,14'ünü *Lactococcus*, %30,36'sını *Enterococcus*, %21,43'ünü *Lactobacillus*, %14,29'unu *Streptococcus* ve %1,79'unu *Leuconostoc* cinsi bakteriler oluşturmaktadır. Tanımlanan LAB'lar 5 farklı cins ve 15 farklı tür/alttür içermektedir (Tablo 14).

Tablo 14. Tanımlanan LAB Suşlarının Cins ve Türlerine Göre Adet ve Oranları

İzole edilen suşlar	Adet	Oran (%)
<i>Lactococcus</i>	18	32,14
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	10	17,86
<i>Lactococcus lactis ssp. cremoris</i>	6	10,71
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis</i>	2	3,57

Tablo 14. (Devamı)

İzole edilen suşlar	Adet	Oran (%)
<i>Enterococcus</i>	17	30,36
<i>Enterococcus faecalis</i>	10	17,86
<i>Enterococcus faecium</i>	3	5,36
<i>Enterococcus durans</i>	3	5,36
<i>Enterococcus lactis</i>	1	1,79
<i>Lactobacillus</i>	12	21,43
<i>Lactobacillus fermentum</i>	5	8,93
<i>Lactobacillus paracasei</i>	4	7,14
<i>Lactobacillus plantarum</i>	2	3,57
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	1	1,79
<i>Streptococcus</i>	8	14,29
<i>Streptococcus thermophilus</i>	6	10,71
<i>Streptococcus parauberis</i>	1	1,79
<i>Streptococcus macedonicus</i>	1	1,79
<i>Leuconostoc</i>	1	1,79
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	1,79

İzole edilip tanımlanan suşlar, izole edildikleri tereyağı örneklerinin üretildikleri yöre bazında değerlendirildiklerinde, Bayburt'ta üretilen tereyağı örneklerinden izole edilen LAB suşlarının 2'sinin *Lactobacillus*, 2'sinin *Enterococcus*, 1'inin *Lactococcus*, 1'inin *Streptococcus* ve 1'inin *Leuconostoc* cinsi laktik asit bakterileri oldukları; Erzurum'da üretilen tereyağı örneklerinden izole edilen suşların 15'inin *Lactococcus*, 10'unun *Lactobacillus*, 6'sının *Enterococcus* ve 2'sinin *Streptococcus* cinsi oldukları; Gümüşhane'de üretilen tereyağı örneklerinden izole edilen suşların 9'unun *Enterococcus*, 5'inin *Streptococcus* ve 2'sinin *Lactococcus* cinsi laktik asit bakterileri oldukları belirlenmiştir. Bu açıdan bakıldığında, LAB suşlarının yöreye göre baskınlık ve çeşitlilik bakımından farklılık arz ettiği tespit edilmiştir.

Sağdıç vd (2002), yayık tereyağlarından LAB suşunun izole edildiği çalışmalarında, LAB suşlarının %21,2'sini *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, %4,7'sini *Streptococcus* ssp., %20'sini *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, %15,3'ünü *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, %2,3'ünü *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, %18,8'ini *Enterococcus faecium*, %7,1'ini *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*, %4,7'sini

Leuconostoc mesenteroides ssp. *mesenteroides* ve %5,9'unu *Leuconostoc paramesenteroides* olarak tanımlamışlardır.

Karam ve Kacem (2006), deve sütünden mamül geleneksel tereyağı çeşidi shmenden izole ettikleri LAB'ları *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides* ve *Enterococcus faecium* olarak tanımlamıştır. Idoui ve Karam (2008), Cezayir'e ait geleneksel bir tereyağı çeşidi olan dhandan, LAB izolasyonu yaptıkları çalışmada *Lactococcus*, *Lactobacillus* ve *Leuconostoc* cinsine ait 27 LAB suşu izole etmişlerdir.

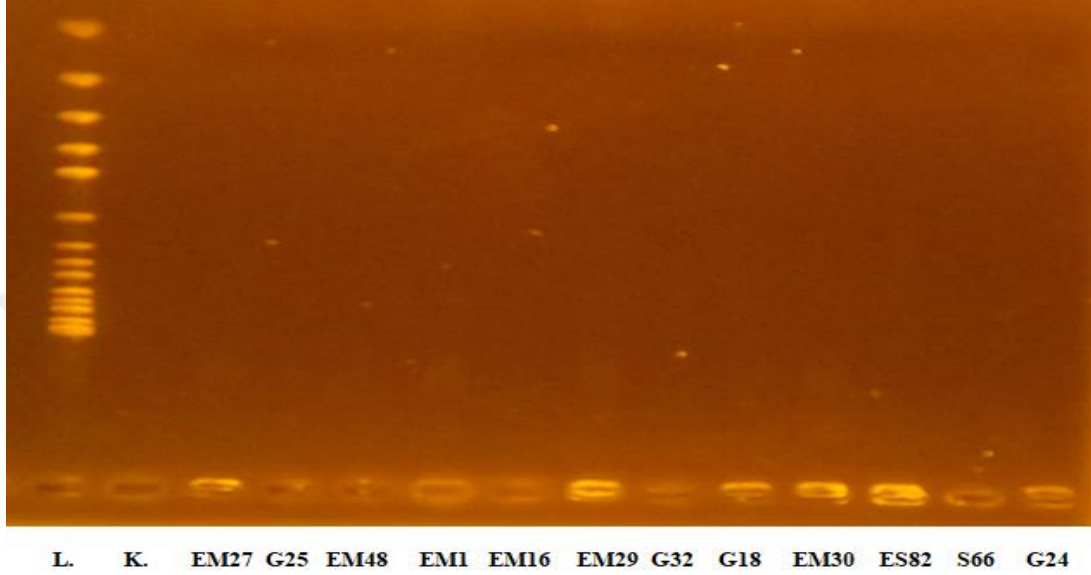
Yu et al. (2018), Rusya'da üretilen ekşi krema ve tereyağlarından *Enterococcus casseliflavus*, *E. italicus*, *E. faecium*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus garvieae*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc garlicum*, *Leuconostoc lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Streptococcus thermophilus* ve *Weissella hellenica* türlerine ait LAB suşları izole etmişlerdir. Masalam et al. (2018), 13 yerel fermente süt ürününden 93 suş izole etmiş ve gram boyama, katalaz ve sitokrom oksidaz aktivite testlerinin ardından 14 farklı türde toplam 46 LAB suşu tanımlamışlardır. Söz konusu çalışmada tanımlanan LAB suşlarının *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Weissella* cinsine ait olduğu bildirilmişlerdir.

Genel itibari ile bakıldığında, tereyağı örneklerinden LAB izolasyon işleminin oldukça başarılı ve verimli bir şekilde gerçekleştirildiği söylenebilir. Özellikle tereyağında starter kültür olarak kullanılmakta olan türlerin tamamının izole edilebilmesi, çalışmanın sağlıklı ve hedeflendiği şekilde yürütülebilmesi açısından son derece önemlidir. Diğer taraftan güçlü probiyotik karaktere sahip olduğu bilinen *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus* türlerinin de izole edilmesi çalışmaya ayrı bir boyut kazandırmıştır. Nitekim EPS üreten LAB suşlarından starter kültür üretme fikri ile beraber, bahsi geçen probiyotik bakterilerinden de çalışmaya dahil ederek potansiyel probiyotik tereyağı starter kültürü (starter kültür seçim başlığında daha detaylı açıklanacaktır) geliştirme fikri de ortaya çıkmıştır.

Tanımlanan LAB Suşlarının Bazı Karakteristik Özelliklerinin Belirlenmesi

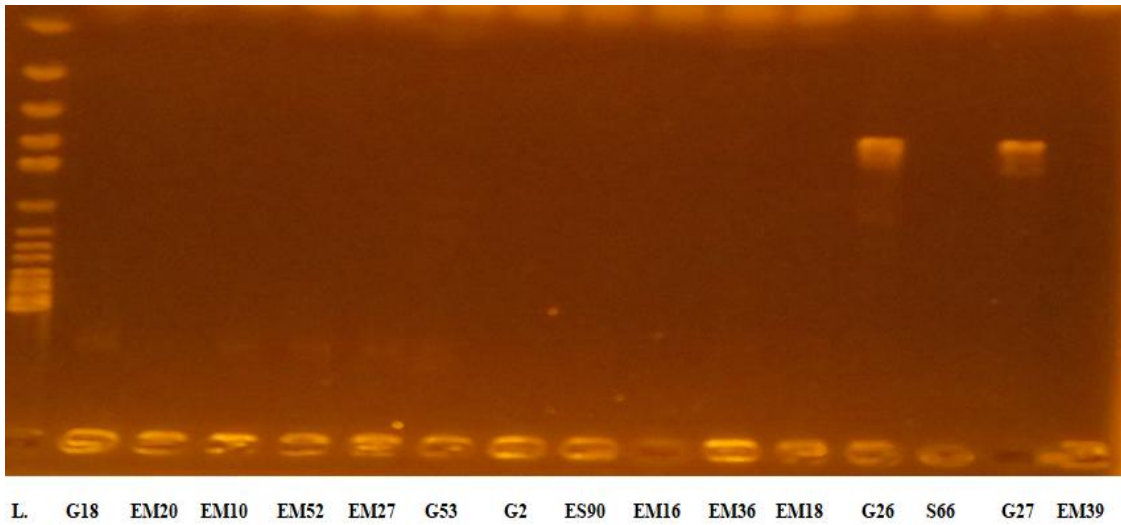
EPS üretimi için gerekli *gtf* ve *p-gtf* genlerinin tespiti

Tanımlanan tüm laktik asit bakterilerinde EPS üretiminin tespiti, ilgili primerler kullanılarak (Tablo 10) *gtf*, *epsA* ve *epsB* genlerinin PCR ile taranmasıyla sağlanmıştır (Şekil 9 ve Şekil 10). İzole edilen LAB suşlarının EPS gen analiz sonuçları Tablo 13’te verilmiştir.



Şekil 9. Tanımlanan LAB suşlarında *gtf* geninin taranması sonucu oluşan PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği (L: Ladder, K: Negatif kontrol)

Tanımlanan 56 adet LAB suşunun hiçbirinde *gtf* genine rastlanmamıştır. Bununla birlikte 11 LAB izolatında *epsA* geni, 24 izolatta ise *epsB* geni tespit edilmiştir. Sadece 4 izolatta *epsA* ve *epsB* geni bir arada tespit edilmiştir (Tablo 15).



Şekil 10. Tanımlanan LAB suşlarında *epsA* geninin taranması sonucu oluşan PCR ürününü gösteren agaroz jel görüntüsü örneği (L: Ladder)

Tablo 15. Tanımlanan LAB Suşlarında EPS Geni Tespiti

Sıra	Kodu	Adı	EPS Geni		
			<i>gtf</i>	<i>EpsA</i>	<i>EpsB</i>
1	B2	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-
2	B3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	-	-	+
3	B5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
4	B7	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
5	B9	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	-	+	+
6	B19	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-	+
7	B43	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	+
8	EM10	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
9	EM16	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
10	EM6	<i>Enterococcus faecium</i>	-	-	-
11	EM5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
12	EM28	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
13	EM1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
14	EM40	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
15	EM51	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
16	EM52	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
17	EM18	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
18	EM30	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
19	EM36	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
20	EM53	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
21	EM34	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	-	-	+
22	EM32	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-
23	EM45	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	-
24	EM49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
25	EM35	<i>Streptococcus macedonicus</i>	-	-	+
26	EM9	<i>Enterococcus faecium</i>	-	+	-
27	EM20	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
28	EM47	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
29	EM27	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
30	EM29	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	+
31	ES63	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	-	-
32	ES82	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-	-
33	ES90	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-	+
34	ES1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	-	-
35	ES83	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-

Tablo 15. (Devamı)

Sıra	Kodu	Adı	EPS Geni		
			<i>gtf</i>	<i>EpsA</i>	<i>EpsB</i>
36	ES54	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
37	ES42	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
38	ES8	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-	-
39	ES80	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
40	ES66	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
41	G49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	-	-	+
42	G94	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
43	G8	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-
44	G28	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	+
45	G2	<i>Streptococcus parauberis</i>	-	-	-
46	G30	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	-
47	G11	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-
48	G15	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	-
49	G27	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	+
50	G40	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
51	G31	<i>Enterococcus lactis</i>	-	+	-
52	G26	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	+	-
53	G18	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	+
54	G24	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-
55	G29	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	+	-
56	G17	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-

Pittet *et al.* (2011), izole ettikleri 153 adet LAB suşunda *gtf* genini araştırdıkları çalışmalarında test edilen suşların sadece 6'sında *gtf* geni tespit etmişlerdir. Çalışmada, test edilen *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Oenococcus* cinsi LAB izolatlarının (99 suş) hiçbirinde *gtf* geni tespit edilmemiş, *gtf* geni tespit edilen suşların ise *Pediococcus* cinsine ait olduğunu belirlemişlerdir. İspirli (2016), tulum peynirlerinden LAB izolasyonu yaptığı çalışmasında potansiyel EPS üreticisi olarak seçtiği 8 farklı LAB suşunda EPS genlerini araştırmıştır. Çalışma sonucunda izolatların hiçbirinde *gtf* geni tespit edilemezken, 3 izolatta *epsA*, 3 izolatta ise *epsB* geni tespit etmiştir.

Literatüre bakıldığında, laktik asit bakterilerinin geniş bir kesiminin heteropolisakkarit (HePS) üretiklerinin tespit edildiği görülmektedir (Şanlıbaba ve Çakmak 2016). *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus*

acidophilus, *Lactobacillus helveticus* ve *Streptococcus thermophilus*'un önemli HePS üreticileri oldukları bildirilmektedir (Bajpai *et al.* 2016). Bununla birlikte, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Weisalla*, *Pediococcus* ve *Oenococcus* cinsine ait birçok suşun homopolisakkarit (HoPS) ürettiği bildirilmiştir (Notararigo *et al.* 2013). *Leuconostoc* cinsi laktik asit bakterileri HoPS üreticisi olarak bilinmekle birlikte, Zeidan *et al.* (2017) bazı *Leuconostoc* suşlarının HePS üretimi için gerekli genleri ihtiva ettiğini rapor etmiştir. Diğer taraftan, Poulsen *et al.* (2020) tarafından bir *Leuconostoc* suşunun HePS salgıladığı ilk defa tespit edilmiştir.

Bakterilerin EPS üretiminin tespiti için genetik tarama işlemi kesin bir yeterlilik sağlamamakla birlikte ilk eleme için oldukça kullanışlı bir yöntemdir (Van der Meulen *et al.* 2007). Diğer taraftan yapılan genetik taramanın sonuçları, literatürde yer alan süt ürünlerinden izole edilen LAB'lar üzerine yapılan EPS geni taramaları ile benzer sonuçlar vermiştir.

Asidifikasyon kapasitesi

Starter kültürler hakkında verilen bilgilerde daha önce değinildiği üzere, potansiyel bir starter kültür suşundan beklenen en önemli özellik asitlik geliştirme yeteneğidir. Gerek inoküle edilen ürünün tekstürüne ve lezzetine olan etkisinden ötürü, gerekse de patojen mikroorganizmalara karşı sağladığı güçlü antimikrobiyal etkiden ötürü LAB'ların laktik asit oluşturma yeteneği, starter kültür çalışmalarında istenen en önemli karakteristik özelliktir. Şöyle de izah etmek mümkündür ki; asitlik geliştirme yeteneği zayıf bir suş, diğer önemli karakteristikleri (aroma oluşturma, lipolitik ve proteolitik aktivite, EPS üretimi gibi) uygun olsa dahi yardımcı kültür olmanın ötesine geçemeyecektir. Diğer taraftan, tereyağında güçlü asidifikasyon kapasitesine sahip suşların seçimi, aroma oluşumu ve yayıkaltının etkin uzaklaştırılması için de son derece kritiktir. Nitekim, tereyağında diasetil oluşumunu etkileyen en önemli faktör asitliktir. Sitrata metabolize edebilen *Lactococcus* ve *Leuconostoc* cinsi LAB'lar, pH 6,0 ile 4,5 arasında sitrattan yararlanabilmekte ve diasetil oluşumu ise pH 5,4'ün altına düşünce başlamaktadır (Atamer 2016). Aynı şekilde, deneme tereyağlarının üretimi safhasında da açık şekilde görüldüğü üzere, asitlik artışı yayıkaltının tereyağından ayrılmasını kolaylaştırmaktadır. Bu sebeplerden ötürü bu çalışmada, izole edilen bütün LAB suşlarının asidifikasyon kapasitesinin belirlenmesinin yanı sıra tereyağında asit geliştirici türler olarak kullanılan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* suşlarının güçlü şekilde laktik asit üretmeleri suş seçiminde oldukça önemli rol oynamıştır.

İzole edilen 56 adet LAB suşunun, %10'luk yağsız rekonstitüe sütte asidifikasyon kapasitesi 6., 12. ve 24. saatteki pH değişimleri üzerinden belirlenmiş ve sonuçları Tablo

16'da verilmiştir. Tereyağında asitlik geliştirici starter kültür olarak kullanılan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* türüne ait izolatlar 24 saat sonunda asitlik gelişiminde ΔpH 0,460 (EM51) ve ΔpH 2,290 (EM34) gibi büyük farklılıklar sergilemişlerdir.

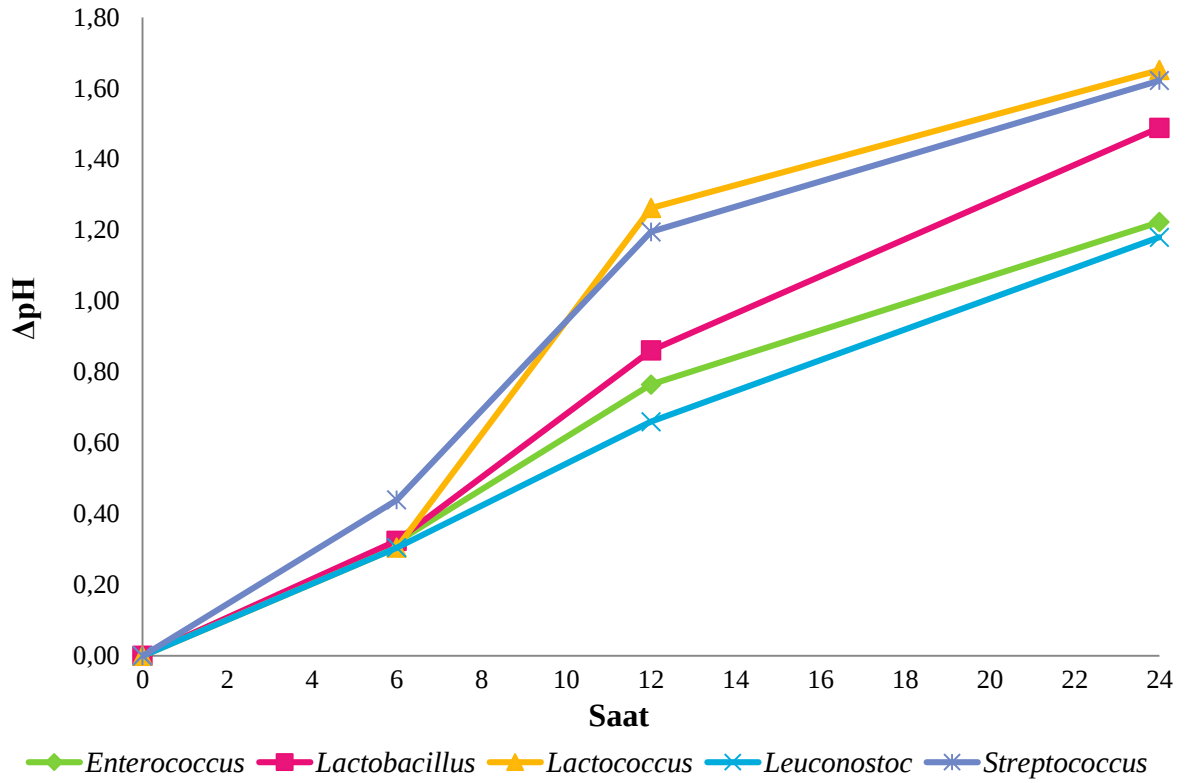
Tablo 16. LAB Suşlarının Asidifikasyon Kapasiteleri

			Asitlik gelişimi			
Sıra	Kod	Tür	$\Delta\text{pH}_{6\text{s}}$	$\Delta\text{pH}_{12\text{s}}$	$\Delta\text{pH}_{24\text{s}}$	
Enterococcus			Ortalama	0,321	0,765	1,223
1	EM32	<i>Enterococcus durans</i>	0,300	0,705	0,985	
2	G8	<i>Enterococcus durans</i>	0,410	0,770	1,010	
3	G11	<i>Enterococcus durans</i>	0,080	0,340	0,805	
4	B7	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,285	0,650	1,275	
5	EM18	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,330	0,565	1,250	
6	EM36	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,470	1,455	1,760	
7	EM47	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,185	0,405	0,725	
8	G94	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,320	1,155	1,825	
9	G28	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,050	0,975	1,695	
10	G40	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,355	0,575	0,820	
11	G24	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,545	1,450	1,815	
12	G29	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,125	0,245	0,755	
13	G17	<i>Enterococcus faecalis</i>	0,520	0,650	0,955	
14	EM6	<i>Enterococcus faecium</i>	0,350	0,760	1,315	
15	EM9	<i>Enterococcus faecium</i>	0,345	0,775	0,810	
16	B2	<i>Enterococcus faecium</i>	0,305	0,650	1,160	
17	G31	<i>Enterococcus lactis</i>	0,480	0,875	1,825	
Lactobacillus			Ortalama	0,324	0,861	1,488
18	ES83	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,560	0,835	1,070	
19	ES54	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,445	0,740	0,950	
20	ES42	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,635	0,825	1,355	
21	ES80	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,505	0,680	1,180	
22	ES66	<i>Lactobacillus fermentum</i>	0,220	0,810	0,955	
23	B19	<i>Lactobacillus paracasei</i>	0,190	0,630	1,795	
24	ES82	<i>Lactobacillus paracasei</i>	0,065	1,520	2,475	
25	ES90	<i>Lactobacillus paracasei</i>	0,080	0,635	1,640	
26	ES8	<i>Lactobacillus paracasei</i>	0,410	0,830	1,960	
27	ES63	<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,440	0,890	1,510	
28	ES1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	0,165	1,450	1,780	
29	B9	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0,175	0,485	1,190	
Lactococcus			Ortalama	0,305	1,262	1,651
30	B5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,280	0,650	1,075	
31	EM16	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,300	1,070	1,890	
32	EM28	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,445	2,020	2,265	

Tablo 16. (Devamı)

Sıra	Kod	Tür	Asitlik gelişimi		
			$\Delta\text{pH}_{6\text{s}}$	$\Delta\text{pH}_{12\text{s}}$	$\Delta\text{pH}_{24\text{s}}$
33	EM40	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,445	1,870	2,215
34	EM52	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,245	0,510	0,830
35	G18	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	0,210	1,390	2,205
36	EM10	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,285	1,935	2,210
37	EM5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,075	0,885	1,595
38	EM1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,515	1,870	2,200
39	EM30	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,635	2,055	2,265
40	EM53	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,175	0,655	0,920
41	EM49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,385	2,000	2,220
42	EM20	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,130	0,490	0,830
43	EM27	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,170	0,530	0,920
44	EM29	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	0,030	0,760	1,195
45	EM51	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-0,015	0,180	0,460
46	EM34	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	0,810	2,070	2,290
47	G49	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	0,365	1,780	2,140
Leuconostoc		Tek suş	0,305	0,660	1,180
48	B3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	0,305	0,660	1,180
Streptococcus		Ortalama	0,439	1,195	1,622
49	EM35	<i>Streptococcus macedonicus</i>	0,700	1,260	1,670
50	G2	<i>Streptococcus parauberis</i>	0,335	0,520	0,885
51	B43	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,270	0,765	1,200
52	EM45	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,290	1,265	1,700
53	G30	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,695	2,025	2,325
54	G15	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,620	1,350	1,875
55	G27	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,210	1,175	1,770
56	G26	<i>Streptococcus thermophilus</i>	0,395	1,200	1,550

İzole edilen LAB'ların cins bazında ortalamalarına bakıldığında en yüksek asitlik gelişimi ortalamasına 6 saatlik gelişim sonucunda ΔpH 0,439 ile *Streptococcus* cinsi LAB'ların sahip olduğu; 12 ve 24 saatlik gelişimlerde ise sırasıyla ΔpH 1,262 ve ΔpH 1,651 ile *Lactococcus* cinsi LAB'ların sahip olduğu görülmektedir (Şekil 11). Her ne kadar bu çalışmada *Enterococcus* ve *Streptococcus* cinsine ait bir suş starter olarak öngörülmemiş olsa da, starter kültür olarak kullanılmakta olan bu cinslere ait suşların karakteristik özelliklerinin tespiti, bundan sonraki çalışmalar için güçlü bir zemin teşkil etmesi yönüyle oldukça önemlidir.



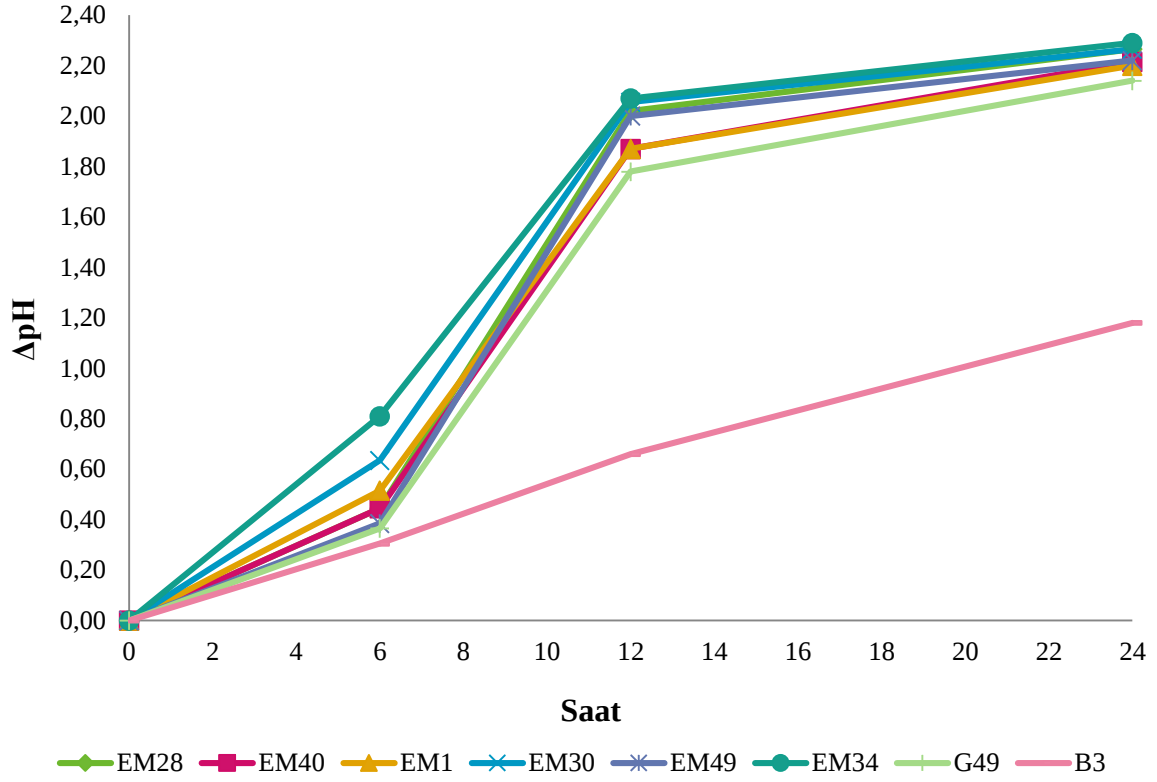
Şekil 11. LAB suşlarının cins bazında ortalama asitlik gelişimleri

Şengül (2001), tulum peyniri örneklerinden izole ettiği LAB'ların starter kültür potansiyellerini incelediği çalışmasında *Lactobacillus* cinsi suşların ΔpH_{6s} değerini 0,012-0,43 arasında; *Leuconostoc* cinsi suşların ΔpH_{6s} değerini ise 0,04-0,22 arasında ΔpH_{24s} değerlerini ise sırasıyla 0,22-0,95 ve 0,27-0,53 değerleri arasında tespit etmiştir. Dağdemir (2006), peynir örneklerinden LAB izolasyonu yaptığı suşların bazı teknik özelliklerini belirlediği çalışmasında *Enterococcus* cinsine ait suşların ΔpH_{6s} değerini 0,10-1,11 aralığında, ΔpH_{24s} değerini ise 0,35-2,22 değerleri arasında; *Lactobacillus* cinsine ait suşların ΔpH_{6s} değerini 0,08-0,38 aralığında, ΔpH_{24s} değerini ise 0,28-1,32 arasında tespit etmiştir. Omafuvbe ve Enyioha (2011), Nijerya fermente bir süt ürünü örneklerinden izole ettikleri LAB suşlarının asidifikasyon kapasitelerini tespit ettikleri çalışmalarında 6 saat sonunda en düşük ΔpH değerine sahip suşun ΔpH 0,03 ile *Lactobacillus plantarum* suşu olduğunu; en yüksek ΔpH değerine sahip suşun ise ΔpH 0,56 ile *Lactobacillus fermentum* suşu olduğunu belirlemişlerdir. Fgiuri *et al.* (2017), çiğ deve sütünden izole ettikleri LAB suşlarında asitlik gelişimleri 6. saatte ΔpH 0,25-0,75 aralığında, 24. saatte ise ΔpH 0,50-1,00 olarak tespit etmişlerdir. Kırmacı vd (2016), Urfa peynirlerinden izole ettikleri 138 LAB suşunda ortalama pH değişimlerini *Enterococcus* suşlarında ΔpH_{6s} 0,88-1,00 ΔpH_{24s} 1,89-2,14; *Lactococcus*

suşlarında ΔpH_{6s} 0,92-1,25 ΔpH_{24h} 2,06-2,24; *Lactobacillus* suşlarında ise ΔpH_{6s} 0,74-0,88 ΔpH_{24s} 1,86-2,09 değerleri arasında bulmuşlardır.

Türler bazında benzer sonuçları Herrores *et al.* (2003), Badis *et al.* (2004) ve Gonzalez *et al.* (2010) da beyan etmişlerdir. Herrores *et al.* (2003), yapmış oldukları çalışmada *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetylactis*'in, inkübasyon süresi boyunca *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşlarına benzer bir asitleştirme kapasitesi gösterdiğini; *Leuconostoc* suşlarının ise *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşlarından anlamlı derecede daha düşük asidifikasyon kapasitesine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Nitekim kendilerinin de işaret ettiği üzere *Leuconostoc* cinsi LAB'ların laktoz metabolizması *Lactococcus* cinslerinden daha düşüktür (Garvie 1984). Badis *et al.* (2004) ise bu çalışmada elde edilen sonuçlarla benzer şekilde, mezofilik suşların (*Lactococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*) termofilik suşlara (*Streptococcus*, *Lactobacillus*) göre daha yavaş asitlik geliştirmeye başladığını; 18. saatten sonra ise mezofilik suşların asitlik geliştirmeleri hızlanarak toparlandığını tespit etmişlerdir. Gonzalez *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada *Lactococcus* cinsi LAB'ların asidifikasyon kapasitesinin *Leuconostoc* ve *Lactobacillus* cinsi LAB'lardan daha yüksek olduğunu beyan etmişlerdir.

LAB suşlarının asidifikasyon kapasitesinin belirlenmesinin sonucunda, tereyağında starter kültür olarak kullanılmakta olan türler bazında, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* türüne ait EM28 ve EM40; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* türüne ait EM1, EM30 ve EM49; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* türüne ait EM34 ve G49 kodlu suşlar, asidifikasyon kapasitesi açısından potansiyel starter kültür olarak öne çıkmaktadır. Diğer taraftan tereyağında starter olarak kullanılmakta olan dördüncü tür *Leuconostoc mesenteroides*'ten bu çalışmada tanımlanan tek izolat olan B3 kodlu suşun da asidifikasyon seviyesinin nispeten daha düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Potansiyel starter kültür suşlarının asitlik gelişimleri (EM28, EM40: *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, EM1, EM30, EM49: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, EM34, G49: *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, B3: *Leuconostoc mesenteroides*)

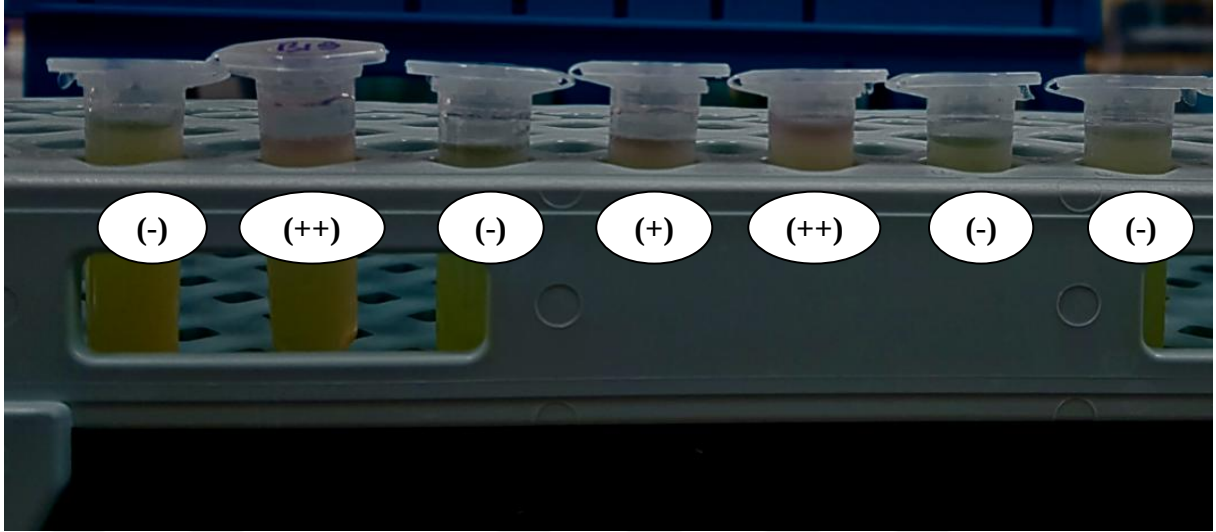
Diasetil üretimi

Yaklaşık 100 yıldır (Shmalfuss and Barthmeyer 1928; van Niel *et al.* 1929; Michaelian *et al.* 1933) tereyağının karakteristik aromasının laktik asit bakterilerinin sitrat metabolizması sonucu ortaya çıkan diasetilden kaynaklandığını biliyoruz. Kaliteli bir tereyağının 0,7-2,5 mg/kg seviyesinde diasetil içeriğine sahip olması beklenmektedir.

Tereyağında diasetil üretimi ve üretilen diasetilin uçucu özellikte olmasından dolayı muhafazası birçok faktöre bağlıdır. Starter kültür kombinasyonlarında sitratı metabolize edebilen suşların bulunması diasetil üretimi için ön koşuldur. Dolayısıyla, bu çalışmada sitratı metabolize ederek diasetil üretebilen *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* suşlarının tespit edilmesi kritik öneme sahiptir.

İzole edilen 56 adet LAB suşunun diasetil üretim durumu kalitatif olarak King (1948)'a göre tespit edilmiştir (Şekil 13). Pozitif suşlarda kırmızı halkanın renk yoğunluğuna göre sınıflandırma yapılmış ve belirgin ancak zayıf halka oluşumu için +, orta seviyede halka oluşumu için ++, güçlü halka oluşumu için ise +++ şeklinde sınıflandırma yapılmıştır. Buna göre izole edilen LAB suşlarının 35'inde diasetil üretimi tespit edilememiştir. Diğer taraftan,

suşların 12'sinde zayıf, 7'sinde orta, 2'sinde ise güçlü seviyede diasetil üretimi tespit edilmiştir. 56 LAB suşunun diasetil testine ait sonuçlar Tablo 18'de verilmiştir.



Şekil 13. İzole edilen LAB suşlarına uygulanan diasetil üretim analizi

Özkalp (2006), doğal tip *Lactococcus lactis* suşlarının starter kültür potansiyellerini araştırmıştır. Çalışmada 15 adet *L. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* suşu içerisinde 5 adedinin (MBLD5, MBLD7, MBLD17, MBLD21 ve MBLD54) yüksek, 3 adedinin orta (MBLD10, MBLD51 ve MBLD55) ve 7 adedinin ise düşük (MBLD4, MBLD19, MBLD29, MBLD35, MBLD36, MBLD59 ve MBLD63) düzeyde diasetil üreticisi olduğunu tespit etmiştir. Nikolic *et al.* (2008), yerel bir peynir çeşidinden LAB izolasyonu yaptıkları çalışmada 48 *Lactobacillus* cinsi LAB suşundan 39'unun diasetil üretebildiğini, izole edilen 5 *Lactococcus lactis* spp. *lactis* suşunun ve 2 *Enterococcus* suşunun diasetil üretmediğini tespit etmişlerdir. Franciosi *et al.* (2009), çiğ inek sütünden 17 farklı türde toplam 124 LAB suşu izole ettikleri çalışmalarında 14 *Lactococcus lactis* spp. *lactis* suşundan 10'unun; 11 *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* suşundan 5'inin; 9 *Streptococcus thermophilus* suşundan 7'sinin; 16 *Enterococcus faecalis* suşundan 13'ünün diasetil üretebilme kabiliyeti olduğunu tespit etmişlerdir. Gaglio *et al.* (2014), İtalya'nın geleneksel bir peynir çeşidinden LAB izole ettikleri çalışmalarında 74 adet LAB suşunu tanımlamış ve bazı teknik özelliklerini incelemişlerdir. Sonuç olarak diasetil üretimi analizinde toplamda 31 LAB suşunun diasetil üretebildiğini tespit etmişler ve 17 *Leuconostoc* suşunun 8'inin diasetil ürettiğini bildirmişlerdir. Domingos-Lopes *et al.* (2017), izole ettikleri ve tanımladıkları 6 LAB suşunun (5 adet *Lactobacillus paracasei* ve 1 adet *Leuconostoc mesenteroides* suşu) bazı teknik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında 3 adet *Lactobacillus paracasei* suşunun yüksek diasetil üretme yeteneğine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Camara *et al.* (2019), yerel bir peynir çeşidinden starter kültür potansiyeli olan LAB izolasyonu yapmış oldukları çalışmada,

27 adet *Enterococcus faecalis* suşundan 25'inin diasetil üretim kabiliyeti olduğunu bildirmişlerdir. Margalho *et al.* (2020), Brezilya'da geleneksel olarak üretilen peynirlerden izole ettikleri 220 adet LAB suşunun bazı karakteristiklerini belirledikleri çalışmalarında *Lactobacillus*, *Lactococcus* ve *Pediococcus* cinslerine ait LAB'ların diasetil üretim kabiliyetlerini test etmişlerdir. 89 LAB suşunun güçlü, 42 LAB suşunun orta seviyede ve 57 LAB suşunun zayıf seviyede diasetil üretebilme kabiliyetine sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Söz konusu çalışmada *Lactococcus* suşlarında diasetil üretim kapasitesine sahip olmadıklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, suşların diasetil üretim kabiliyeti verileri cins bazında Tablo 17'de verilmiştir. Genel itibari ile değerlendirildiğinde, elde edilen sonuçların literatürde yer alan verilerle uyumluluk içinde olduğu söylenebilir. Diasetil üretimi, aynı türün farklı suşlarında farklılıklar sergileyebilmektedir. Dolayısıyla, suşların diasetil üretim kabiliyetinin yanı sıra üretim seviyesinin tespiti de starter kültür seçiminde oldukça önemlidir.

Tablo 17. Cins Bazında LAB Suşlarının Diasetil Üretim Durumları

Diasetil üretimi	<i>Enterococcus</i> (17 suş)	<i>Lactobacillus</i> (12 suş)	<i>Lactococcus</i> (18 suş)	<i>Streptococcus</i> (8 suş)	<i>Leuconostoc</i> (1 suş)
yok (-)	6 suş	10 suş	15 suş	4 suş	-
zayıf (+)	5 suş	1 suş	2 suş	4 suş	-
	(B7, EM18, G28, EM6, EM9)	(ES82)	(EM34, G49)	(B43, EM45, G15, G26)	-
orta (++)	4 suş	1 suş	1 suş	-	1 suş
	(G94, EM36, EM32, B2)	(B19)	(B5)	-	(B3)
güçlü (+++)	2 suş (G24, G31)	-	-	-	-

Tereyağında aroma geliştirici starter kültürler olarak kullanılan *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* türlerinden bu çalışmada izole edilen EM34 ve G49 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* suşları zayıf seviyede; B3 kodlu *Leuconostoc mesenteroides* suşunun ise orta seviyede diasetil üretim kabiliyetine sahip olduğu belirlenmiştir. İzole edilebilen tek *Leuconostoc mesenteroides* suşu olan B3 kodlu suşun orta seviyede diasetil üretebilme özelliğinin bulunması, bu çalışma için bir şans faktörü sayılabilir. Şayet, B3 kodlu suş diasetil üretebilme kabiliyetine sahip

olmasaydı; ya yeniden izolasyon çalışmasına gerek duyulabilirdi ya da farklı bir türde suş ikame olarak starter kültür seçilebilirdi.

Tablo 18. Tanımlanan LAB Suşlarının Diasetil Üretimi, Proteolitik ve Lipolitik Aktiviteleri

Sıra	Kodu	Türü	Diasetil Üretimi	Proteolitik Aktivite ¹ (mm)	Lipolitik Aktivite ² (mm)
1	B2	<i>Enterococcus faecium</i>	++	-	16,0
2	B3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	++	-	17,5
3	B5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	++	-	17,5
4	B7	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	13,5	18,5
5	B9	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	-	-	-
6	B19	<i>Lactobacillus paracasei</i>	++	12,0	-
7	B43	<i>Streptococcus thermophilus</i>	+	-	-
8	EM10	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	16,5
9	EM16	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-
10	EM6	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-	16,0
11	EM5	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
12	EM28	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-
13	EM1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
14	EM40	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-
15	EM51	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
16	EM52	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-
17	EM18	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	16,0	17,0
18	EM30	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	13,5	15,5
19	EM36	<i>Enterococcus faecalis</i>	++	14,0	17,0
20	EM53	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
21	EM34	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	+	-	-
22	EM32	<i>Enterococcus durans</i>	++	-	17,0
23	EM45	<i>Streptococcus thermophilus</i>	+	-	-
24	EM49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
25	EM35	<i>Streptococcus macedonicus</i>	-	-	-
26	EM9	<i>Enterococcus faecium</i>	+	-	17,0
27	EM20	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
28	EM47	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	15,5	16,0
29	EM27	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
30	EM29	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	-	-	-
31	ES63	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	9,5	16,5
32	ES82	<i>Lactobacillus paracasei</i>	+	11,5	-
33	ES90	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	-	-
34	ES1	<i>Lactobacillus plantarum</i>	-	-	16,0
35	ES83	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
36	ES54	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
37	ES42	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-

Tablo 18. (Devamı)

Sıra	Kodu	Türü	Diasetil Üretimi	Proteolitik Aktivite ¹ (mm)	Lipolitik Aktivite ² (mm)
38	ES8	<i>Lactobacillus paracasei</i>	-	12,0	-
39	ES80	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
40	ES66	<i>Lactobacillus fermentum</i>	-	-	-
41	G49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	+	-	-
42	G94	<i>Enterococcus faecalis</i>	++	13,5	16,5
43	G8	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	16,5
44	G28	<i>Enterococcus faecalis</i>	+	-	-
45	G2	<i>Streptococcus parauberis</i>	-	13,5	17,0
46	G30	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	-	17,5
47	G11	<i>Enterococcus durans</i>	-	-	-
48	G15	<i>Streptococcus thermophilus</i>	+	-	-
49	G27	<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	-	-
50	G40	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	14,5	16,5
51	G31	<i>Enterococcus lactis</i>	+++	-	-
52	G26	<i>Streptococcus thermophilus</i>	+	-	-
53	G18	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-
54	G24	<i>Enterococcus faecalis</i>	+++	16,0	17,5
55	G29	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	14,5
56	G17	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	17,0

Proteolitik aktivite

Proteoliz, birçok fermente süt ürününün üretilmesinde yer alan en önemli biyokimyasal süreçlerden biri olarak kabul edilmektedir (Fox 1989). Peynir üretiminde kazeinin proteolizinin çok önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Nitekim, proteolizden kaynaklanan aminoasitler, çeşitli alkoller, aldehitler, asitler, esterler ve kükürt bileşikler gibi bileşikler peynirde belirli tat bileşiklerinin başlıca öncüleridir (Smit *et al.* 2005). Bununla birlikte, hidrofobik peptitlerin yani prolin yönünden zengin peptitlerin birikmesinden kaynaklanan acı tat, gouda ve çedar peynirlerinin imalatında ciddi bir kalite sorunudur (Smukowski *et al.* 2003). Hücre zarı proteinazları, acı peptitlerin üretiminde önemli bir rol oynamaktadır (Visser *et al.* 1986; Rodriguez *et al.* 1996; Broadbent *et al.* 2002). Buna ek olarak, peptidaz aktivitesinden yoksun LAB suşlarının kullanımı, PepN, PepX, PepO2 ve PepO3 gibi peptidazların acı peptitlerin degradasyonunda rol oynadığını da göstermiştir. Dolayısıyla bu peptidazlar süt ürününün organoleptik kalitesini direkt olarak etkilemektedir (Meyer and Spahni 1998, Chen and Steele 1998; Chen *et al.* 2003; Christensen and Steele 2003; Sridhar *et al.* 2005; Savijoki *et al.* 2006).

Tereyağı üretiminde aroma oluşumunun sitrat metabolizması ve kısmi lipolitik aktivite yolu ile sağlanması hedeflenmektedir. LAB'lar tarafından tereyağında cereyan edecek proteolitik aktivite, sonucunun önceden kestirilemeyeceği acı tat oluşumu gibi olumsuz organoleptik niteliklere neden olabilir. Bu yüzden, starter kültür olarak seçilecek suşların proteolitik aktiviteden yoksun olması önemli bir seçim kriteridir.

İzole edilen LAB suşlarına uygulanan proteolitik aktivite testinde Kalsiyum Kazeinat Agar besiyerine kuyu yöntemiyle suşlar inoküle edilmiş ve inkübasyon sonucu oluşan proteolitik aktivite zonları ölçülmüştür (Şekil 14).



Şekil 14. Tanımlanan LAB suşlarına uygulanan proteolitik aktivite test örneği

Analiz sonucunda, tanımlanan 56 adet LAB suşundan 13 tanesinin proteolitik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek proteolitik aktiviteyi *Enterococcus faecalis* türü suşların sergilediği görülmektedir. Türler bazında, proteolitik aktivite gösteren 13 suşun, 7 adedi *Enterococcus faecalis* (B7, EM18, EM36, EM47, G94, G40, G24), 3 adedi *Lactobacillus paracasei* (B19, ES82, ES8) ve 1'er adedi *Lactobacillus plantarum* (ES63), *Streptococcus parauberis* (G2) ve *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (EM30) suşundan oluşmaktadır. Proteolitik aktivite testine ait sonuçlar Tablo 18'de verilmiştir.

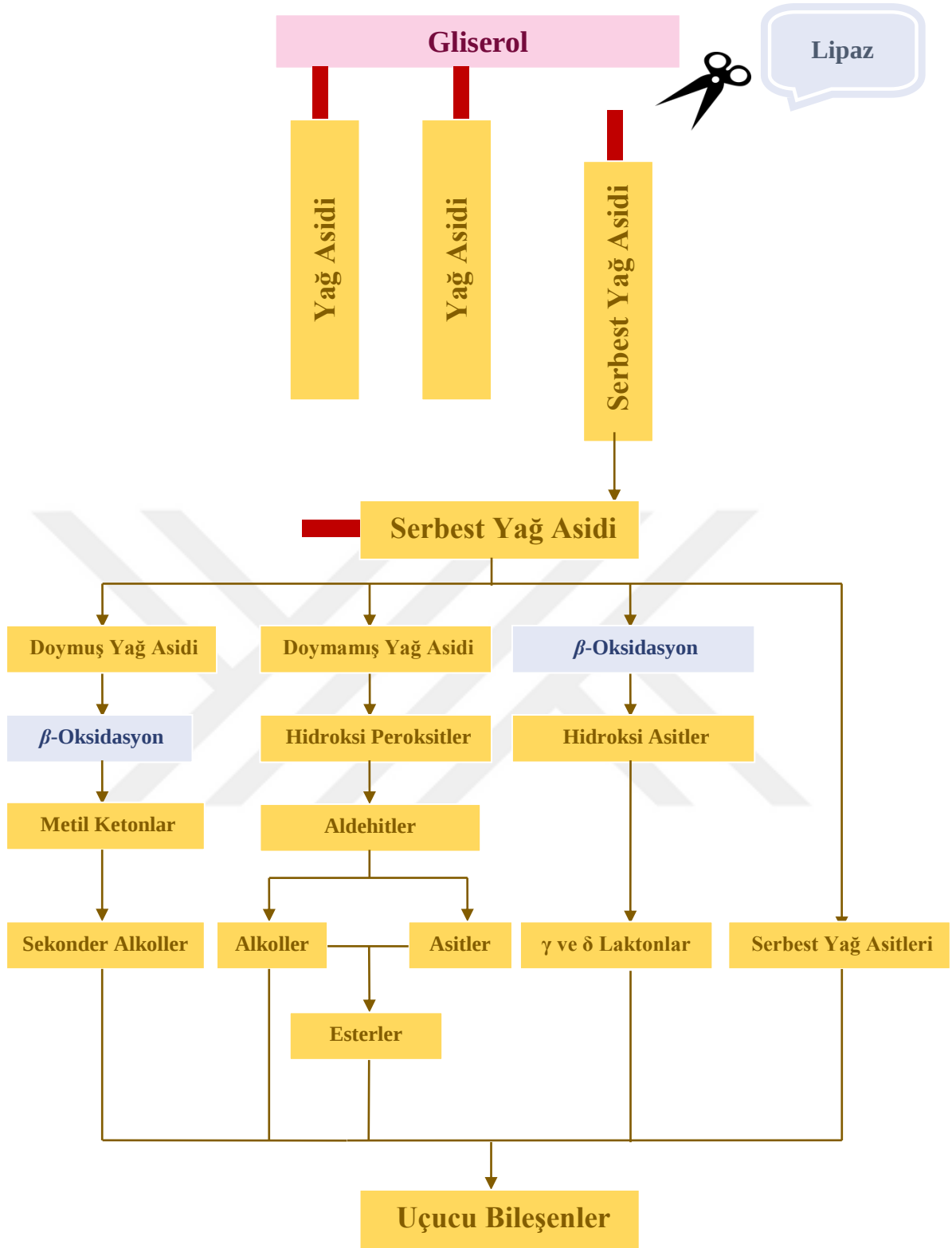
Moulay et al. (2006), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, biovar. *diacetylactis* türleri ve *Enterococcus* cinsine ait laktik asit bakterilerinin proteolitik aktivitelerini inceledikleri çalışmalarında, *Lactococcus lactis* suşlarının yüksek proteolitik aktiviteye sahip olduklarını bildirmişlerdir. Idou ve Karam (2008), Cezayir'in geleneksel bir tereyağı çeşidinden LAB izolasyonu yaptıkları suşların bazı karakteristiklerini inceledikleri

alışmalarında, tanımladıkları 8 LAB'dan 7'sinin (3 *Lactobacillus plantarum*, 1 *Lactobacillus curvatus*, 1 *Lactococcus lactis* ssp *cremoris*, 1 *Leuconostoc lactis*, 1 *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*) proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Omafuvbe ve Enyioha (2011), Nijerya'da üretilen fermente bir süt ürünü örneklerinden izole ettikleri LAB suşlarının bazı teknik özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada tanımladıkları 22 LAB suşunun 13'ünün proteolitik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Junior *et al.* (2015), keçi sütünden izole ettikleri 50 adet LAB suşunun 19'unda proteolitik aktivite tespit ettiklerini beyan etmişlerdir. Fgiuri *et al.* (2016), çiğ deve sütünden izole ettikleri 60 adet LAB suşundan 10 tanesinin teknik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında 5 *Lactococcus lactis*, 2 *Lactobacillus plantarum*, 1 *Lactococcus pentosus*, 1 *Lactobacillus brevis* ve 1 *Pediococcus pentosaceus* suşunun proteolitik aktivitelerini 15-21 mm arasında inhibisyon zonu oluşturduğunu tespit etmişlerdir. Petrut *et al.* (2018), Romanya'da çeşitli fermente gıdalardan izole ettikleri 130 adet LAB'ın bazı teknik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında izole edilen suşların %12'sinin proteolitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Silva *et al.* (2020), süt ve süt ürünlerinden izole ettiği 27 adet laktik asit bakterisinin bazı teknik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, suşların %48,65'inin proteolitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Suşların proteolitik aktivite analizi sonuçları bu çalışma açısından değerlendirildiğinde, starter kültür olarak kullanılan türlere ait suşların genel itibari ile proteolitik aktivite sergilemediği tespit edilmiştir. Ancak, EM30 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* suşunun proteolitik aktiviteye sahip olduğu ve bundan dolayı starter olarak kullanılamayacağı ortaya konulmuştur.

Lipolitik aktivite

Starter kültürlerle ait lipazların aktif hale gelmeden önce süt yağının kısmen hidrolize edilmesi gerektiğinden ötürü, lipolitik aktivite sonucu tereyağlarında bulunan uçucu yağ asitlerinin ve laktonların oluşmasına neden olan lipazların, laktik asit bakterilerinden ziyade sütün kendisinde doğal olarak bulunan lipazlar olma ihtimali oldukça yüksektir (Şekil 15) (Stadhouders and Veringa 1973). Reiter ve Sharpe (1971), peynir üretiminde kullanılan sütün serbest yağ asidi içeriğinin, sağım, besleme rejimi ve sürünün yöntemine göre lipolitik bakteri sayısından oldukça bağımsız olarak değiştiğini tespit etmiş olup, bu durumun aynı zamanda üretilen peynire de yansıdığını ifade etmiştir. Diğer taraftan, kullanılan laktik asit bakterilerinin lipolitik karakterde olmasına rağmen, peynirdeki serbest yağ asidi seviyelerine katkılarının doğal süt lipazına göre daha az olduğunu bildirmiştir.



Şekil 15. Yağ metabolizması ve yağ asitlerinden kaynaklı uçucu bileşiklerin oluşumu (Molimard and Spinnler 1996'dan uyarlanmıştır.)

Laktik asit bakterileri genel itibari ile lipolitik aktivite sergilememektedir. Lipolitik aktiviteye sahip LAB suşları ise *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Acinetobacter* ve *Candida* gibi mikroorganizmalara kıyasla oldukça zayıf lipolitik aktivite sergilemektedir (Meyers *et al.* 1996).

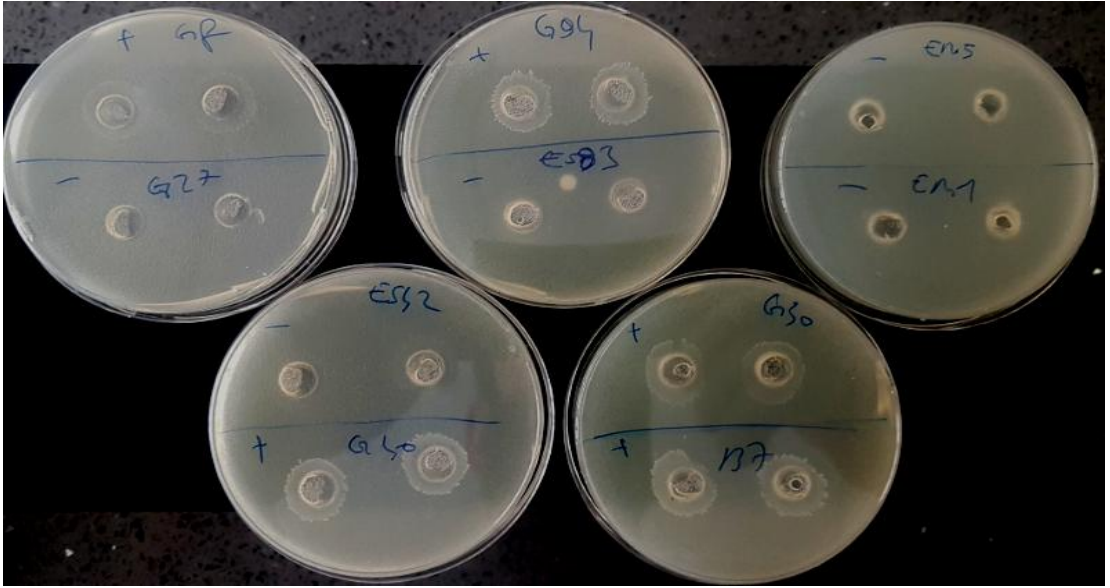
Lipidlerin hidrolizi sonucu oluşan serbest uçucu yağ asitleri birçok fermente gıda için temel lezzet bileşenidir. Serbest uçucu yağ asitleri bazı fermente ürünlerde arzu edilen karakteristik lezzet veya baskın olmayan tat notaları sağlarken; bazı ürünlerde istenmeyen veya daha az istenen tat oluşumuna neden olmaktadır (Brennand *et al.* 1989).

1890 yılında Conn, tereyağı aromasının kremanın olgunlaşması esnasında oluşan uçucu yağ asitlerinden kaynaklandığını belirtmiştir. Diasetilin tereyağının karakteristik aroması olduğu ise 1929'da van Niel ve arkadaşlarının çalışmalarıyla ortaya çıkmıştır (Babel and Hammer 1944; Lindsay 1965). Günümüze gelen süreçte, lipoliz sonucu oluşan uçucu yağ asitlerinin uygun miktarlarının tereyağı aromasında istenen tat notaları oluşturduğunu bilinmektedir.

Bütirik ve kaproik asit gibi uçucu yağ asitleri, 10 mg/kg'nin altındaki konsantrasyonlarda beğenilen aroma sağlamaktadırlar (Brennand *et al.* 1989; Katz *et al.* 2002). Diğer taraftan bütirik ve kaproik asit ile ransit tat arasında, kısa zincirli yağ asitlerinin istenmeyen ransit tat oluşumundaki rolünü açıklayacak şekilde pozitif güçlü korelasyon bulunmaktadır (McDaniel *et al.* 1969). Tereyağında bütirik ve kaproik asitin sırasıyla 35 mg/kg ve 26 mg/kg ve üzerinde miktarlarda bulunması ransit tat hissedilmesine sebep olduğu rapor edilmiştir (McNeill *et al.* 1986). Dallanmış kısa zincirli yağ asitleri, peynir benzeri tatlarla ilişkiliyken, 4. karbonundan dallanma gösteren 8 ve 9 karbonlu yağ asitlerinin keçi ve koyun benzeri aroma notalarına; düz tek sayılı ve 7-11 karbonlu doymamış yağ asitleri ise genel olarak mumsu ve sabunsu aroma notalarına sahip olduğu bilinmektedir (Brennand *et al.* 1989).

Bu çalışmada, izole edilen laktik asit bakterilerinin lipolitik aktivite durumlarının starter kültür seçimindeki etkisi yukarıda verilen bilgiler ışığında değerlendirilmiş ve bunun sonucunda seçilecek starter kültürlerin ransit tada neden olmayacak; ancak beğenilen aroma notasını oluşturacak seviyede lipolitik aktiviteye sahip olması kriter olarak belirlenmiştir.

Tanımlanan 56 adet LAB suşunun lipolitik aktivitelerini belirlemek amacıyla, suşlar tributirin agara kuyu yöntemiyle inoküle edilmiş ve inkübasyon sonucunda zon oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 16).



Şekil 16. Tanımlanan LAB suşlarına uygulanan lipolitik aktivite testi örneği

İzole edilen LAB suşlarına uygulanan lipolitik aktivite testi sonucunda 56 suştan 22'sinin lipolitik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 18). İzole edilen LAB'ların %39,29'unda lipolitik aktivite tespit edilmiştir. Cins bazında tanımlanan 17 *Enterococcus* suşundan sadece 3'ü (G11, G28 ve G31) lipolitik aktivite göstermezken diğer 14 suş lipolitik aktivite göstermiştir. *Lactococcus* cinsi suşlarda 3 (B5, EM10 ve EM30), *Lactobacillus* cinsi suşlarda 2 (ES63 ve ES1), *Streptococcus* cinsi suşlarda 2 (G2, G30) ve 1 *Leuconostoc* suşunda (B3) lipolitik aktivite tespit edilmiştir. İzole edilen LAB suşları arasında lipolitik aktivite gösteren suşların %63,64'ünü *Enterococcus* cinsi suşlar oluşturmuştur. Genel olarak proteolitik aktivite gösteren suşların lipolitik aktiviteye de sahip olduğu söylenebilir.

Omafuvbe ve Enyioha (2011), izole ettikleri LAB'ların teknik özelliklerini inceledikleri çalışmalarında 22 LAB suşundan 4'ünde lipolitik aktivite tespit etmişlerdir. Yüce (2017), Peynirden ve yoğurttan izole ettiği LAB'ların teknik özelliklerini incelediği çalışmasında, 101 adet LAB suşundan 41'inde lipolitik aktivite tespit etmiştir. Petrut *et al.* (2018), Romanya'da fermente gıdalardan LAB izolasyonu yaptıkları çalışmalarında, izole ettikleri 130 LAB suşunun %15'inin lipolitik aktivite gösterdiğini beyan etmişlerdir. Camara *et al.* (2019), Pico peynirlerinden izole ettikleri LAB suşlarının teknik özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, 27 LAB suşunun hiç birinde lipolitik aktivite tespit etmediklerini bildirmişlerdir.

Tanımlanan LAB suşlarının sergiledikleri lipolitik aktivite, starter kültür olarak kullanılmakta olan LAB türleri açısından değerlendirildiğinde, B5 (17,5 mm zon çapı) kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, EM10 (16,5 mm zon çapı) ve EM30 (15,5 mm zon çapı) kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ile B3 (17,5 mm zon çapı) kodlu *Leuconostoc*

mesenteroides suşlarının lipolitik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Daha önce, bu çalışmada hazırlanacak starter kültür kombinasyonun düşük lipolitik aktiviteye sahip olmasının hedeflendiği belirtilmişti. Lipolitik aktiviteye sahip birden fazla suşun starter kültür kombinasyonunda yer alması halinde, serbest uçucu yağ asitlerinin tereyağındaki ransit tat meydana getiren eşik değerleri (bütirik asit için 35mg/kg ve kaproik asit için 26mg/kg) aşacağı öngörüsünden yola çıkarak lipolitik aktivite gösteren suşların (B5, EM10, EM30 ve B3) starter kültür kombinasyonunda bir arada bulunma ihtimali azalmıştır. Dolayısıyla, izole edilebilen tek *Leuconostoc mesenteroides* türü olan B3 kodlu suş starter kültür kombinasyonunda yer aldığı takdirde, diğer lipolitik aktivite gösteren potansiyel starter suşların (B5, EM10 ve EM30) starter kültür kombinasyonunda yer alma ihtimali oldukça düşmüştür. Elbette tek bir özellik değil; suşların araştırılan tüm karakteristik özelliklerinin optimumu, son tahlilde hangi suşun kombinasyonda yer alacağı hususunda dikkate alınmıştır.

Antibiyogram testi

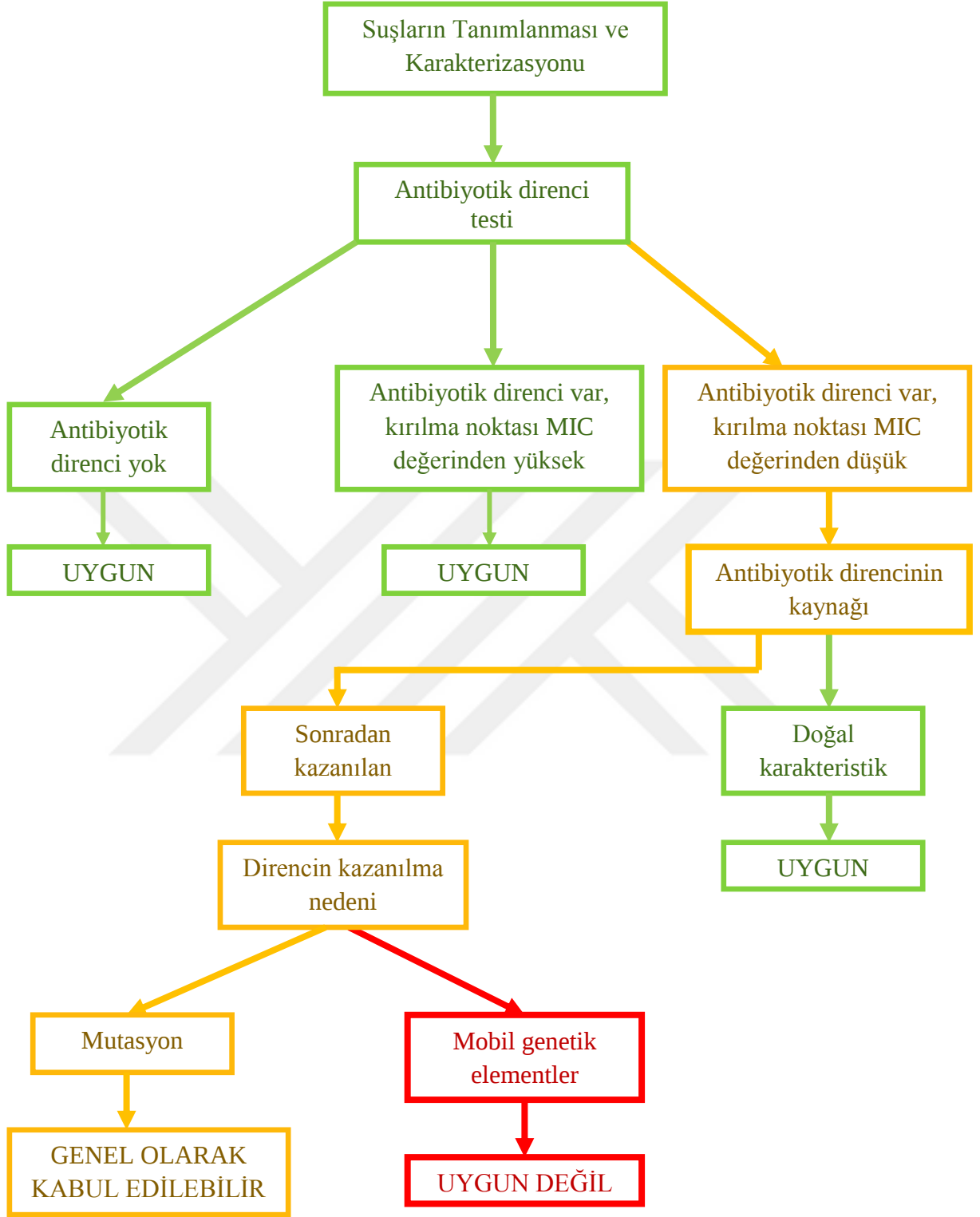
Yaklaşık 70 yıl önce, mikrobiyal hastalıkların tedavisi için antibiyotikler piyasaya sürülmüştür. Her yeni antimikrobiyal bileşiğin eklenmesinden kısa bir süre sonra, mikroorganizmalarda antimikrobiyal direncin ortaya çıktığı gözlemlenmiştir (Levy, 1997). Sorunun büyüklüğü, bakterilerin direnç karakterlerini yatay olarak diğer bakterilere transfer etme olasılığı ve dirençli bakterilere karşı muazzam bir seçici baskı yaratan antibiyotik kullanımının (aşırı ve yanlış kullanım) artmasıyla önemli ölçüde artmaktadır (Levy, 1992). Antibiyotik direncinin, antibiyotik çağından önce izole edilen bakterilerde nadiren meydana geldiği gösterilmiştir (Hughes ve Datta, 1983). Scott (2002), farklı konakçılardan çeşitli bakteri türlerinde aynı direnç genlerinin olduğunu tespit etmiş ve gen transferinin gastrointestinal sistem bakterileri arasında ve gastrointestinal sistem bakterileri ile patojenik bakteriler arasında yaygın olarak meydana geldiği sonucuna varmıştır. Geline nokta, insan sağlığını tehdit eden çoğu patojenik bakterinin yakında bilinen tüm antibiyotiklere dirençli olacağı korkusu ile karşı karşıyayız (Mathur and Singh 2005).

Laktik asit bakterileri, fermente yiyecek ve içeceklerin üretiminde ve tüketiminde uzun ve güvenli bir kullanım geçmişine sahiptir (Wood and Holzapfel 1995; Caplice and Fitzgerald 1999; Lorey and de Vuyst 2004). Araştırmalar göstermektedir ki, antibiyotik direncinin mevcudiyeti starter kültürler için kritik bir sorun değildir, ancak göz ardı edilemeyecek ciddi bir endişe oluşturmaktadır. Starter kültür suşları, yeni genleri alma ve direnç genlerini diğer suşlara transfer etme konusunda oldukça yeteneklidir. Türler arası antibiyotik direnci transferi sık karşılaşılan bir durumdur. Diğer taraftan gıda üretimi ve depolama koşulları ile bağlantılı stres faktörü nedeniyle antibiyotik direnci profilinin

genişlemesi de mümkündür. Bu nedenle, suşların antibiyotik direncine odaklanmaktan ziyade, direnç kaynağının tespit edilerek antibiyotik direnç genlerini hareketli genetik elementler üzerinde barındıran bakteriler gıda üretiminde dağıtılmamalı veya kullanılmamalıdır (Şekil 17) (Zarzecka *et al.* 2020).

Bu çalışmada, tanımlanan tüm LAB suşlarına 10 farklı antibiyotik uygulanarak suşların dirençleri test edilmiştir. Hedef olarak ise, mümkün olduğu kadar antibiyotik direnci bulunmayan suşların seçilerek starter kültür kombinasyonlarında yer alması belirlenmiştir. Bu bağlamda, diğer tüm özellikleri uygun olan bir türe ait suşların arasından, antibiyotik direnci bulunmayan veya en düşük olan suşun seçilmesi planlanmıştır. Diğer taraftan ciddi derecede antibiyotik direnci bulunan suşlar tespit edilir ise diğer karakteristik özellikleri starter kültür olarak kullanımı için uygun olsa dahi kullanımı mümkün değildir.





Şekil 17. Antibiyotik dirençleri açısından suşların değerlendirilmesi şeması (EFSA 2012 ve Zarzecka *et al.* 2020’den uyarlanmıştır. MIC: mikroorganizma inhibisyon konsantrasyonu)

İzole edilen 56 LAB suşu, ampisilin 10µg (AMP10), kloramfenikol 30µg (C30), eritromisin 15µg (E15), kanamisin 30µg (K30), penisilin 10µg (P10), streptomisin 10µg (S10), tetrasiklin 30µg (TE30), vankomisin 30µg (VA30), oksasilin 1µg (OX1) ve gentamisin

10µg (CN10)'e karşı disk difüzyon yöntemi ile antibiyogram testine tabi tutulmuştur (Şekil 18). LAB suşlarının antibiyogram test sonuçları Tablo 19'da verilmiştir.

Tablo 19. Tanımlanan LAB Suşlarına Uygulanan Antibiyogram Testi Sonuçları

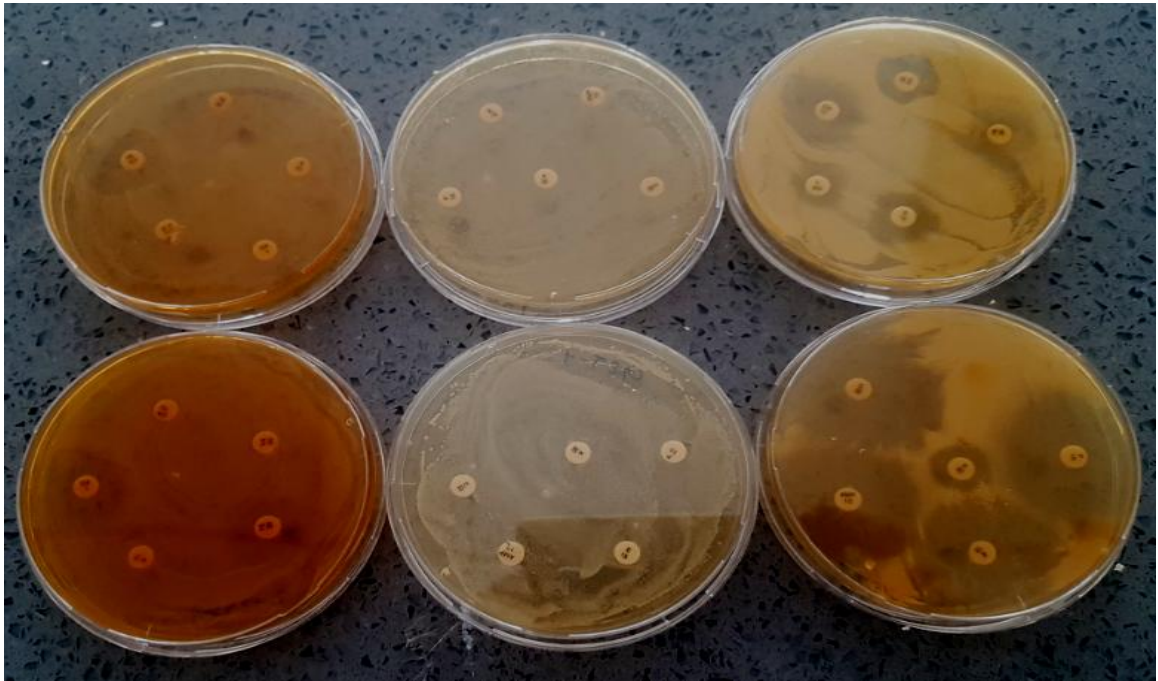
Sıra	Kodu	Adı	Antibiyotik direnci									
			AMP 10	C 30	E 15	K 30	P 10	S 10	TE 30	VA 30	OX 1	CN 10
1	B2	<i>E. faecium</i>	-	-	D	-	-	D	-	-	-	-
2	B3	<i>Leu.mesenteroides</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D
3	B5	<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	-	-	D	D	-	D	-	-	-	D
4	B7	<i>E. faecalis</i>	-	-	D	D	-	D	-	D	D	-
5	B9	<i>Lb. rhamnosus</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	D	D
6	B19	<i>Lb. paracasei</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	D	D
7	B43	<i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	EM10	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	-	-	ZD	-	-	-	-
9	EM16	<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	-	-	-	ZD	-	ZD	-	-	ZD	D
10	EM6	<i>E. faecium</i>	-	-	D	D	-	D	-	-	D	D
11	EM5	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	D	-	-	D	D	-	D	ZD
12	EM28	<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
13	EM1	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	D	-	-	D	ZD	D	D	-	D	D
14	EM40	<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	-	D	D	D	-	D	-	-	D	D
15	EM51	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	D	D	D	D	D	D	D
16	EM52	<i>L. lactis ssp. cremoris</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	D	D
17	EM18	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	D	-	D	D	-	D	D
18	EM30	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	ZD	-
19	EM36	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	D	-	D	-	-	D	D
20	EM53	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-
21	EM34	<i>L. lactis ssp. lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
22	EM32	<i>E. durans</i>	-	-	D	D	D	D	D	-	D	D
23	EM45	<i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
24	EM49	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	D	D	D	D	D	D	D
25	EM35	<i>S. macedonicus</i>	-	-	-	D	-	D	-	-	-	D
26	EM9	<i>E. faecium</i>	-	-	-	ZD	-	D	-	-	D	D
27	EM20	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	D	ZD	-	D	D	-	D	D
28	EM47	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	D	-	D	-	-	D	D
29	EM27	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	ZD	ZD
30	EM29	<i>L. lactis ssp. lactis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
31	ES63	<i>Lb. plantarum</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	D	D
32	ES82	<i>Lb. paracasei</i>	-	-	-	D	D	D	-	D	D	D
33	ES90	<i>Lb. paracasei</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	D	D
34	ES1	<i>Lb. plantarum</i>	-	-	-	ZD	-	ZD	-	-	-	-
35	ES83	<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	-	-	D	-	D	D	D
36	ES54	<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37	ES42	<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	--	D
38	ES8	<i>Lb. paracasei</i>	-	D	D	D	-	D	D	D	D	D

(D: Dirençli, ZD: Zayıf dirençli -: Direnç yok)

Tablo 19. (Devamı)

Sıra	Kodu	Adı	Antibiyotik direnci									
			AMP 10	C 30	E 15	K 30	P 10	S 10	TE 30	VA 30	OX 1	CN 10
39	ES80	<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	D	-	D	-	D	-	D
40	ES66	<i>Lb. fermentum</i>	-	-	-	D	-	D	-	ZD	-	D
41	G49	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	-	D	D	D	D	D	ZD	D	D	D
42	G94	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	ZD	-	-	-	-	-	-
43	G8	<i>E. durans</i>	-	-	-	D	-	D	D	D	D	D
44	G28	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45	G2	<i>S. parauberis</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	-	D
46	G30	<i>S. thermophilus</i>	-	D	D	D	D	D	D	-	-	D
47	G11	<i>E. durans</i>	-	-	-	-	-	-	-	D	D	-
48	G15	<i>S. thermophilus</i>	-	-	D	D	-	D	-	-	-	-
49	G27	<i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-	-	ZD	-	-	-	-
50	G40	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	D	-	-	-	D	D	D
51	G31	<i>E. lactis</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-
52	G26	<i>S. thermophilus</i>	-	-	-	-	-	D	D	-	D	D
53	G18	<i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	-	-	-	-	-	ZD	-	-	-	-
54	G24	<i>E. faecalis</i>	-	-	-	D	-	D	-	-	D	D
55	G29	<i>E. faecalis</i>	D	-	D	D	D	D	D	D	D	D
56	G17	<i>E. faecalis</i>	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D

(D: Dirençli, ZD: Zayıf dirençli, -: Direnç yok)

**Şekil 18.** LAB suşlarına uygulanan antibiyogram testi örneği

Test sonuçlarına göre, LAB suşlarının %7,16'sının ampisiline, %10,74'ünün kloramfenikole, %26,85'inin eritromisine, %50,12'sinin kanamisine, %16,11'inin penisiline, %46,54'ünün streptomisine, %25,06'sının tetrasikline, %34,11'inin vankomisine,

%53,7'sinin oksasiline ve %64,44'ünün ise gentamisine dirençli olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan tam bir direnç göstermemekle birlikte, bazı suşlar bazı antibiyotiklere karşı zayıf direnç göstermiştir. Cins bazında suşların antibiyotiklere karşı direnç durumları Tablo 20'de verilmiştir.

Tablo 20. Cins Bazında Antibiyotiklere Karşı Direnç Gösteren LAB Suşları Sayıları

		<i>Ent.</i> (17 suş)	<i>Lc.</i> (18 suş)	<i>Lb.</i> (12 suş)	<i>St.</i> (8 suş)	<i>Leu.</i> (1 suş)	Toplam (56 suş)
Ampisilin 10µg (AMP10)	<i>d</i>	2	2	-	-	-	%7,16
	<i>zd</i>	-	-	-	-	-	-
Kloramfenikol 30µg (C30)	<i>d</i>	1	3	1	0	-	%10,74
	<i>zd</i>	-	-	-	-	-	-
Eritromisin 15µg (E15)	<i>d</i>	6	6	1	2	-	%26,85
	<i>zd</i>	-	-	-	-	-	-
Kanamisin 30µg (K30)	<i>d</i>	11	7	9	3	-	%50,12
	<i>zd</i>	2	2	1	-	-	%8,95
Penisilin 10µg (P10)	<i>d</i>	3	4	1	1	-	%16,11
	<i>zd</i>	-	1	-	-	-	%1,79
Streptomisin 10µg (S10)	<i>d</i>	13	11	10	5	-	%46,56
	<i>zd</i>	-	2	1	1	-	%8,95
Tetrasiklin 30µg (TE30)	<i>d</i>	5	6	1	2	-	%25,06
	<i>zd</i>	-	1	-	-	-	%1,79
Vankomisin 30µg (VA30)	<i>d</i>	6	4	9	-	-	%34,11
	<i>zd</i>	-	-	1	-	-	%1,79
Oksasilin 1µg (OX1)	<i>d</i>	13	9	7	1	-	%53,70
	<i>zd</i>	-	3	-	-	-	%5,37
Gentamisin 10µg (CN10)	<i>d</i>	11	10	9	4	1	%64,44
	<i>zd</i>	-	2	-	-	-	%3,58

(**d:** dirençli, **zd:** zayıf dirençli)

Tanımlanan LAB suşları arasında B43, EM28, EM45, EM29, ES54 ve G28 kodlu suşlar test edilen hiçbir antibiyotiğe karşı direnç göstermemiştir. Bununla birlikte B3 kodlu LAB suşu sadece gentamisine, EM53 ise sadece streptomisine direnç göstermiş; EM10 sadece streptomisine, EM30 sadece oksasiline, G94 sadece kanamisine ve G27 ile G28 de sadece streptomisine zayıf direnç göstermiştir. Bir diğer ifadeyle, izole edilen LAB suşlarının %23,27 gibi yüksek bir oranının antibiyotik hassasiyetinin çok yüksek seviyede olduğu

söylenbilir. Bu durum, izolasyonun yapıldığı örnek evreninin hala doğal kaldığının bir göstergesi olarak nitelendirilebilir.

Hummel *et al.* (2007), *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinslerine ait 45 adet starter kültür olarak kullanılan LAB suşlarının antibiyotik dirençlerini araştırmışlardır. Çalışmalarında eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin veya β -laktam dirençlerinin insidansının düşük (<%7); aksine, aminoglikozid (gentamisin ve streptomisin) ve siprofloksasin dirençlerinin %70'in üzerinde olduğunu ve bu da suşların doğal karakteristk özelliklerinden kaynaklanan dirençler olabileceğini beyan etmişlerdir.

Belletti *et al.* (2009), doğal peyniraltı suyu starter kültürlerinden ve olgunlaştırılmış grana padano ve parmigiano reggiano peynirlerinden izole edilen 141 adet *Lb. helveticus*, *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. rhamnosus* ve *Lb. casei* türüne ait *Lactobacillus* cinsi suşların antibiyotik dirençlerini araştırmışlardır. Penisilin G, ampisilin, amoksisilin, oksasilin, sefalotin, sefuroksim, vankomisin, gentamisin, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, ko-trimoksazol ve nitrofurantoin olmak üzere 13 farklı antibiyotiğe karşı duyarlılıklarını test etmişler ve suşların ampisiline (%100), amoksisiline (%98), tetrasikline (%98), eritromisine (%97) ve penisiline (%90) karşı duyarlı olduğunu; gentamisine (%85), vankomisine (%69) ve oksasiline (%46) ise yüksek direnç gösterdiklerini bildirmişlerdir.

Ahi (2011), *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* cinsi suşlardan oluşan 22 adet LAB suşunun bazı teknik özelliklerini incelediği çalışmasında, test ettiği suşların tamamının kanamisine, %91'inin streptomisine, %73'ünün gentamisine, %50'sinin vankomisine karşı dirençli olduğunu; diğer taraftan tamamının tetrasikline ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğunu tespit etmiştir. Ayrıca, suşların %36'sının penisiline karşı orta derecede; %64'ünün ise yüksek seviyede duyarlı olduğunu, ampisiline karşı ise suşların %14'ünün dirençli olduğunu tespit etmiştir.

Terkuran vd (2014), yapmış oldukları çalışmalarında gıdalardan izole ettikleri 51 adet *Enterococcus* suşuna ait laktik asit bakterisinde, bir izolat dışında, enterokokların hiçbirinin vankomisine dirençli olmadığını ve *van(A)* ve *van(B)* direnç genleri taşımadığını bildirmişlerdir. Guo *et al* (2017), 33 adet *Lactobacillus* cinsine ait 3 farklı türde (*Lb. helveticus*, *Lb. plantarum* ve *Lb. casei*) laktik asit bakterisinin antibiyotik dirençlerini araştırmışlardır. Tüm suşların vankomisine dirençli, ancak gentamisin, linezolid, neomisin, eritromisin ve klindamisine duyarlı olduğunu; tetrasiklin, kanamisin, siprofloksasin, streptomisin, kinupristin/dalfopristin, trimetoprim, ampisilin, rifampisin ve kloramfenikole duyarlılıkların ise farklılık sergilediğini tespit etmişlerdir. Uyguladıkları PCR analizinin

sonucunda, *van(X)*, *van(E)*, *gyr(A)* ve *tet(M)* genlerini taşıyan 19 vankomisin, 10 siprofloksasin ve 1 tetrasikline dirençli LAB olduğunu beyan etmişlerdir.

Erginkaya vd (2018), piyasada satılan süt ürünlerinden izole ettiği 57 adet LAB suşunun antibiyotik dirençlerini test etmişlerdir. Çalışmada 46 adet *Lactobacillus* suşunun %58'inin vankomisine, %10,8'inin eritromisine, %4,3'ünün tetrasikline, %28'inin gentamisine; 10 adet *Streptococcus* suşunun %40'ının vankomisine, %10'unun eritromisine, %10'unun kloramfenikole ve %20'sinin gentamisine; izole edilen 1 adet *Enterococcus* suşunun ise vankomisin ile eritromisine dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Lactobacillus cinsine ait birçok tür starter kültür üretiminde kullanılmaktadır. Literatüre göre, starter kültürlerin üretiminde kullanılan *Lactobacillus* cinsinin tüm türleri çeşitli antibiyotik sınıflarına doğal olarak dirençlidir. Yayınlanan verilere göre, *Lactococcus* suşlarının antibiyotik direnci yaygın bir problem oluşturmamaktadır (Zarzecka *et al.* 2020). *Leuconostoc* cinsi ise diğer cinslere göre daha az çalışılmış ve hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Florez *et al.* (2016), geleneksel İtalyan ve İspanyol peynirlerinden izole edilen *Leuconostoc* ve *Weissella* cinsi suşlarda farklı antibiyotiklere direnç tespit etmişlerdir. Vankomisin, kloramfenikol ve trimetoprim'e karşı olan direnç gibi bazı dirençlerin, bu cinslerin karakteristik özellikleri olabileceğini beyan etmişlerdir.

Diğer taraftan, laktik asit bakterilerinin kendi aralarında ve patojenlere antibiyotik direnç geninin transferi, laboratuvar ortamında in vitro koşullarda birçok araştırmacı tarafından (Doucet-Populaire *et al.* 1992; Gruzza *et al.* 1993, 1994; Igimi *et al.* 1996; Perreten *et al.* 1997; Licht *et al.* 2002; Toomey *et al.* 2009; Nawaz *et al.* 2011; Van Reenen and Dicks 2011) bildirilmesine rağmen, özellikle *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* ve *Leuconostoc* cinsine ait laktik asit bakterilerinin gıda matrisinde ve in vivo koşullarda patojenlere antibiyotik direnç geni transfer ettiğine dair literatürde kesin bir veriye rastlanamamıştır (Toomey *et al.* 2009; Egervarn *et al.* 2010; Drago *et al.* 2011; Huddleston 2014).

Van Boeckel *et al.* (2014) yaptıkları çalışmada, 2000 yılında küresel çapta insanların antibiyotik tüketiminin 54.083.964.813 adet standart birime (hap, kapsül veya ampul) ulaştığını ve 2010 yılına kadar %36 oranında artarak 73.620.748.816 adet standart birime ulaştığını göstermişlerdir. Aynı yazarlar, insanların tüketiminden daha yüksek olduğu kabul edilen, eti gıda olarak tüketilen hayvanlarda antibiyotik kullanımının 2010 yılında 63 milyon kg'ın üzerinde olduğunu; ayrıca kullanımı azaltmaya yönelik son girişimlere rağmen önümüzdeki yıllarda büyük ölçüde artacağını (van Boeckel *et al.* 2015) tahmin etmektedirler. Böylesine yüksek ve sürekli artan antibiyotik kullanımı, doğal dengenin önüne geçerek,

maruz kalınan tüm ortamlarda bakteri popülasyonları üzerinde sürekli artan bir direnç geliştirme durumuna sebep olmaktadır (von Wintersdodorff *et al.* 2016).

Son tahlilde, tıp alanında antibiyotik direnci açısından alarm zillerinin çaldığı (Zaman *et al.* 2017) âşikardır; ancak laktik asit bakterilerinin bilinçsiz ve yüksek miktarda antibiyotik kullanımına nazaran çok daha masum oldukları düşünülmektedir.

Starter Kültür Olarak Kullanılacak LAB Suşlarının Seçimi ve Starter Kültür Kombinasyonlarının Oluşturulması

Gelinen noktada, geleneksel olarak üretilen 30 tereyağı örneğinden laktik asit bakteri izolasyonu yapılmış ve bu işlemin sonucunda izole edilen 56 adet LAB suşu tanımlanmıştır. Tanımlama işleminin ardından LAB suşlarının bazı karakteristik özellikleri incelenmiştir. Bu aşamada, özellikleri belirlenen suşlardan tereyağında starter kültür olarak kullanımı uygun olan suşlar seçilerek starter kültür kombinasyonları oluşturulmuştur.

Suşların seçiminde öncelik, tereyağında hâlihazırda kullanılmakta olan LAB türlerine (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* suşları) verilmiştir. Tereyağında starter olarak kullanılmakta olan LAB türlerinin seçiminde ise EPS genlerinin mevcudiyeti, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* suşları için güçlü asidifikasyon kapasitesine sahip olması, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* suşları için diasetil üretebilme kabiliyeti, tüm türler için proteolitik aktiviteye sahip olmamak ve olabildiğince antibiyotik direncinin düşük olması kriter olarak belirlenmiştir. Lipolitik aktivitenin, geliştirilecek starter kültürde düşük seviyede olması istendiği için, kombinasyonlarda yer alacak suşların kümülatif lipolitik aktivite seviyeleri düşük olacak şekilde seçim yapılmıştır.

Tanımlanan LAB suşlarının %33,93'ünü tereyağında starter kültür olarak kullanılmakta olan türler oluşturmuştur. Bu çalışmada izole edilen tereyağında starter kültür olarak kullanılmakta olan LAB türlerine ait suşlar Tablo 21'de verilmiştir.

Tablo 21. Tereyağında Starter Kültür Olarak Kullanılmakta Olan LAB Türlerine Ait İzolatlar

	İzolat Adedi	Suş Kodları
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	10	EM10, EM5, EM1, EM30, EM53, EM49, EM20, EM27, EM29, EM51
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	6	B5, EM16, EM28, EM40, EM52, G18
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	2	EM34, G49
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	B3

İzole edilen ve tereyağında starter kültür olarak kullanılmakta olan türlere ait 19 LAB suşu EPS geni bulundurma, asidifikasyon kapasitesi, diasetil üretimi, lipolitik ve proteolitik aktivite üzerinden yapılan değerlendirmeye tabi tutulmuştur. Bunun sonucunda 11 suş (EM5, EM10, EM30, EM53, EM20, EM27, EM29, EM51, EM16, B5, EM52) elenmiş ve 8 suş (EM1, EM49, EM28, EM40, G18, EM34, G49, B3) bu özellikler açısından uygun bulunmuştur.

Bahsi geçen toplam 19 izolatın EPS gen ihtiva etme, asit geliştirme, diasetil üretimi, proteolitik ve lipolitik aktivite durumları yönünden değerlendirilmeleri Tablo 22’de verilmiştir.

Tablo 22. Starter Kültür Türlerine Ait Suşların Özelliklerine Göre Değerlendirilmeleri

<i>Lll</i>	Durum	<i>Llc</i>	Durum	<i>Llld</i>	Durum	<i>Lm</i>	Durum
EM1	EPS geni mevcut, asidifikasyon kapasitesi güçlü, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi yok; UYGUN	EM28	EPS geni mevcut, asidifikasyon kapasitesi güçlü, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi yok; UYGUN	EM34	EPS geni mevcut, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi mevcut; UYGUN	B3	EPS geni mevcut, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi mevcut; UYGUN
EM5	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ	EM16	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ	G49	EPS geni mevcut, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi mevcut; UYGUN		

(*Lll*; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Llc*; *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Llld*; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lm*; *Leuconostoc mesenteroides*)

Tablo 22. (Devamı)

<i>Lll</i>	Durum	<i>Llc</i>	Durum	<i>Llld</i>	Durum	<i>Lm</i>	Durum
EM10	EPS geni tespit edilmedi, lipolitik aktivite mevcut; ELENDİ	B5	Düşük asidifikasyon kapasitesi, lipolitik aktivite mevcut; ELENDİ				
EM30	EPS geni tespit edilmedi, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut; ELENDİ	EM40	EPS geni mevcut, asidifikasyon kapasitesi güçlü, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi yok; UYGUN				
EM53	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ	EM52	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ				
EM49	EPS geni mevcut, asidifikasyon kapasitesi güçlü, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi yok; UYGUN	G18	EPS geni mevcut, asidifikasyon kapasitesi güçlü, lipolitik ve proteolitik aktivite mevcut değil, diasetil üretimi yok; UYGUN				
EM20	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ						
EM27	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ						
EM29	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ						
EM51	Düşük asidifikasyon kapasitesi; ELENDİ						

(*Lll*; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Llc*; *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Llld*; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Lm*; *Leuconostoc mesenteroides*)

Seçilen 8 izolatın antibiyotik dirençleri değerlendirildiğinde, EM28, G18 ve B3 Kodlu suşların test edilen antibiyotiklere karşı yüksek hassasiyet gösterdiği, EM34 kodlu suşun ise tüm antibiyotiklere karşı dirençli olduğu görülmektedir (Tablo 23). Tüm özellikler bazında, *L. lactis* ssp. *cremoris* türü için EM28 ve *Leuconostoc mesenteroides* türü için B3 kodlu suşlar öne çıkmaktadır. Ancak, *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* türleri için diğer tüm özellikleri uygun olan suşların antibiyotik

dirençlerinin hedeflenenden yüksek olduğu görülmektedir. Örnek evrenin doğal yapısının bozulmamış olmasından ve LAB'ların patojenlere gen transferi üzerine yeterli veri bulunmamasından yola çıkarak, bu türlerde izole edilen suşlar arasında direnci en düşük suşların seçilmesi kararlaştırılmıştır.

Tablo 23. Seçilen 8 İzolatın Antibiyotik Direnci Durumu

Adı	Kodu	Antibiyotik Direnci									
		AMP10	C30	E15	K30	P10	S10	TE30	VA30	OX1	CN10
<i>L. lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	EM28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	EM40	-	D	D	D	-	D	-	-	D	D
	G18	-	-	-	-	-	ZD	-	-	-	-
<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	EM1	D	-	-	D	ZD	D	D	-	D	D
	EM49	D	-	-	D	D	D	D	D	D	D
<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	EM34	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D
	G49	-	D	D	D	D	D	ZD	D	D	D
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D

(D: Dirençli, ZD: Zayıf dirençli, -: Direnç yok)

Tüm karakteristik özelliklerin sonuçları, tereyağında starter olarak kullanılmakta olan LAB türleri açısından değerlendirildiğinde, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* türü için EM28; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* türü için EM1; *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* türü için G49 ve *Leuconostoc mesenteroides* türü için B3 kodlu suşlar starter kültür geliştirilmesi amacıyla seçilmiştir.

Diğer taraftan B19 kodlu *Lactobacillus rhamnosus* suşu, gerek genotipik olarak gerekse de gözlemsel olarak EPS üretimi ile oldukça dikkat çekmiştir. İncelenen diğer karakteristik özelliklerinin de tereyağında kullanımına engel teşkil etmediği belirlenmiştir. Bununla birlikte, her ne kadar bu çalışmada probiyotik karakteristikleri araştırılmasa da *Lactobacillus rhamnosus* türü suşların probiyotik olarak gıdalarda güvenli olarak sıklıkla kullanılması (Vinderola *et al.* 2019), EPS üreten LAB suşları ile tereyağı starter kültürü geliştirme fikrinin yanında, EPS üreten ve potansiyel probiyotik tereyağı starter kültürü geliştirme fikrini de doğurmuştur.

Son tahlilde EM1, EM28, B3, G49 ve B19 kodlu LAB suşları, tereyağı starter kültürü geliştirmek amacıyla seçilmiştir. Seçilen suşların türleri ve kullanım amaçları Tablo 24’de verilmiştir.

Tablo 24. Starter Kültür Geliştirme Çalışmasında Kullanılacak İzolatlar ve Kullanım Amaçları

Suş Kodu	Tür	Kullanım amacı
EM1	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>	Asitlik gelişimi, EPS üretimi
EM28	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>	Asitlik gelişimi, EPS üretimi
G49	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>	Aroma, EPS üretimi
B3	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	Aroma, EPS üretimi
B19	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Potansiyel probiyotik karakter, EPS üretimi

Seçilen suşların starter kültür olarak kullanılabilirliğinin test edilebilmesi amacıyla 2 farklı starter kültür kombinasyonunun hazırlanması kararlaştırılmıştır. Buna göre, ilk kombinasyon tez konusu olan EPS üreten LAB suşlarının starter kültür olarak test edileceği; ikinci kombinasyon ise EPS üreten LAB suşlarından potansiyel probiyotik starter kültür geliştirilmesinin test edileceği kombinasyon olacaktır. Bu amaçla TS₁ ve TS₂ olarak adlandırılan iki farklı starter kültür kombinasyonun suş kombinasyonları ve suşların kombinasyondaki oranları Tablo 25’de verilmiştir.

Tablo 25. TS₁ ve TS₂ Starter Kültür Kombinasyonlarının Suş Kombinasyonları ve Suşların Kombinasyondaki Oranları

Starter kültür kodu	İçerdiği LAB suşları	Suşların kültürdeki oranı	Hedeflenen çıktı
TS ₁	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> EM1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> EM28 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> G49 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> B3	1:1:1:3	EPS üreten starter kültür
TS ₂	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> EM1 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> EM28 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> G49 <i>Leuconostoc mesenteroides</i> B3 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> B19	1:1:1:3:1	EPS üreten ve potansiyel probiyotik starter kültür

Çalışmada geliştirilen starter kültürlerin karşılaştırılabilmesi amacıyla kontrol olarak ticari bir tereyağı starter kültürü (Choozit Probat 322 LYO 100 DCU, Danisco) kullanılmıştır. Kullanılan ticari kültürün ihtiva ettiği kombinasyon Tablo 26’da verilmiştir.

Tablo 26. Çalışmada Kullanılan Ticari Starter Kültür ve Üretici Firma Tarafından İhtiva Ettiği Belirtilen LAB suşları

Marka	İçerdiği LAB suşları
Choozit	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i>
Probat 322	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>cremoris</i>
LYO 100 DCU,	<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i>
Danisco	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>

Deneme Tereyağı Üretimi

Krema örneklerinin biyolojik olgunlaşması

Geliştirilen starter kültürlerin (TS₁ ve TS₂) test edilmesi amacıyla deneme tereyağı üretimleri yapılmıştır. Bu amaçla TS₁ starter kültürü kullanılarak üretilen deneme tereyağı örneği A, TS₂ starter kültürü kullanılarak üretilen deneme tereyağı örneği B olarak adlandırılmıştır. Kontrol örneği olarak ise starter kullanılmadan üretilen K₀ ve ticari starter kültür kullanılarak üretilen K₁ deneme tereyağı örnekleri üretilmiştir. K₀ tereyağı örneğinin üretiminde, starter kültür kullanılmamasından ötürü, krema örneğine biyolojik olgunlaştırma uygulanmaksızın fiziksel olgunlaştırma safhasına geçilmiş; K₁, A ve B deneme tereyağı örneklerinde ise krema örneklerine biyolojik olgunlaştırma işlemi uygulanmıştır. Şekil 19’daki resim, deneme örneklerinin biyolojik olgunlaşması esnasında alınmıştır.



Şekil 19. Deneme tereyağı örneklerinin 1. tekerrür üretiminde kremaların biyolojik olgunlaşması

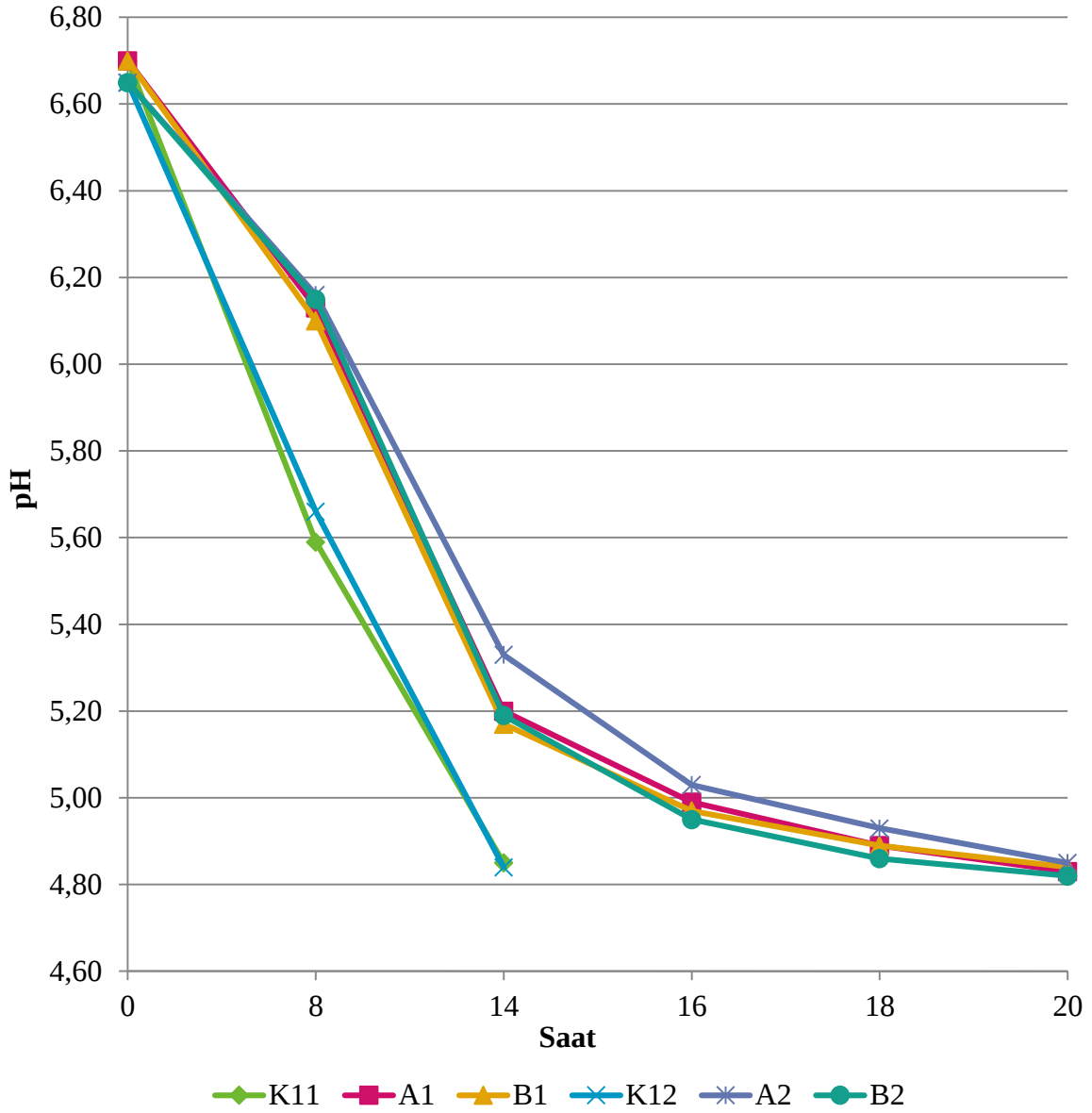
Kremaların biyolojik olgunlaşma safhasının takibi pH üzerinden, ayrı küçük kaplarda bulunan krema örnekleri ölçümlenerek yapılmıştır. Krema örneklerinin pH durumları biyolojik olgunlaşma esnasında Tablo 27’deki gibi seyretmiştir.

Tablo 27. Kremaların Biyolojik Olgunlaştırılması Esnasında pH Seyri

Saat	1. Tekerrür			2. Tekerrür		
	K ₁₁	A ₁	B ₁	K ₁₂	A ₂	B ₂
0	6,70	6,70	6,70	6,65	6,65	6,65
ΔS_2	6,43	6,57	6,58	*	*	*
ΔS_4	6,16	6,44	6,42	*	*	*
ΔS_6	5,93	6,31	6,27	*	*	*
ΔS_8	5,59	6,13	6,10	5,66	6,16	6,15
ΔS_{10}	5,16	5,90	5,84	*	*	*
ΔS_{12}	4,92	5,57	5,50	*	*	*
ΔS_{14}	4,85	5,20	5,17	4,84	5,33	5,19
ΔS_{16}	-	4,99	4,97	-	5,03	4,95
ΔS_{18}	-	4,89	4,89	-	4,93	4,86
ΔS_{20}	-	4,83	4,84	-	4,85	4,82

*1. Tekerrürden edinilen tecrübe ile 2. tekerrürde krema örneklerinde pH takip periyotları esnetilmiştir. (**K₁₁**: K₁ örneğinin 1. tekerrür üretimi, **A₁**: A örneğinin 1. tekerrür üretimi, **B₁**: B örneğinin 1. tekerrür üretimi, **K₁₂**: K₁ örneğinin 2. tekerrür üretimi, **A₂**: A örneğinin 2. tekerrür üretimi, **B₂**: B örneğinin 2. tekerrür üretimi).

Biyolojik olgunlaşma safhası, krema örneklerinde pH yaklaşık 4,85’e geldiğinde sonlandırılmıştır. Örneklerde tekerrürler arasında pH ve süre bakımından anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Bununla birlikte K₁ örneğinin biyolojik olgunlaşma süresi A ile B örneklerinden anlamlı bir şekilde farklıdır ($p<0,05$). Ticari starter kültür kullanılan K₁ örneği biyolojik olgunlaşma safhasını 14. saatte tamamlarken; geliştirilen TS₁ ve TS₂ ile üretilen A ve B örnekleri biyolojik olgunlaşmayı 20. saatte tamamlamıştır. Ticari starter kültür ile olgunlaştırılan krema, geliştirilen starter kültürler ile olgunlaştırılan kremalardan 6 saat daha erken biyolojik olgunlaşma safhasını tamamlamıştır. Krema örneklerinin biyolojik olgunlaşma safhasına ait diyagram Şekil 20’de verilmiştir.



Şekil 20. Krema örneklerinin biyolojik olgunlaşma safhasında pH seyri

K₁ örneğinin biyolojik olgunlaşma aşamasını diğer tüm parametreler aynı iken A ve B örneklerinden 6 saat gibi daha kısa sürede tamamlaması, ticari starter kültürün geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürlerle karşı sağladığı önemli bir avantaj olarak nitelendirilebilir. Tereyağı örneklerine uygulanan mikrobiyolojik analiz sonuçlarında da görüleceği üzere incelenen tüm bakteri gruplarının sayıları K₁, A ve B arasında önemli bir farkın olmadığı da göz önünde bulundurulduğunda, ticari starter kültürün ihtiva ettiği suşların asidifikasyon kapasitesinin TS₁ ve TS₂ starter kültürünün ihtiva ettiği suşların asidifikasyon kapasitesinden oldukça yüksek olduğu söylenebilir.

Endüstriyel açıdan bakıldığında, bir prosesin kısa sürmesi önemli bir avantaj olarak değerlendirilebilir. Ancak literatüre bakıldığında (Atamer 2016), biyolojik olgunlaşma işleminde önerilen ideal süresinin 20 ile 24 saat arasında olduğu görülmektedir. Bu bağlamda,

biyolojik olgunlaşmayı 20. saatte tamamlayan TS₁ ve TS₂ starter kültürleri ideale uygun iken, biyolojik olgunlaşmayı 14. saatte tamamlayan ticari starter kültür, önerilen ideal süreye uygun değildir. Bu açıdan bakıldığında, idealden yüksek asidifikasyon kapasitesine sahip starter kültür ile üretilmiş tereyağları, soğuk zincir muhafazasının dışına çıktığı durumlarda yüksek asidifikasyon sergileyeceği için, gerek endüstriyel ölçekte depolama, nakil gibi proseslerde gerekse tüketim ortamlarında risk altında olacaktır. Nitekim, yüksek asidifikasyon kapasitesine sahip starter kültür ile üretilmiş tereyağlarının, ortam sıcaklığında bulunduğu süre boyunca hızlı asidifikasyon sonucu tadı giderek ekşiyecek beğenilen skaladan uzaklaşacaktır.

Deneme Tereyağı Örneklerinin Bazı Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi

Bu çalışmada, geliştirilen starter kültürlerin test edilmesi amacıyla K₀, K₁, A ve B olmak üzere 4 farklı tereyağı grubu 3 paralelli ve 2 tekerrürlü olarak üretilmiştir. Üretilen deneme tereyağı örnekleri Şekil 21’de verilmiştir. Deneme tereyağlarında gerçekleştirilen kurumadde, yağ, % asitlik, pH, su aktivitesi, erime noktası ve tekstür analizleri 3 paralelli; yağ asidi profili analizi 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 21. Üretilen deneme tereyağı örnekleri

Kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları

Yapılan analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin kurumadde (%) değerleri ortalama olarak K₀ örneği için %83,33, K₁ örneği için %82,38, A örneği için %82,98 ve B örneği için %82,71 olarak belirlenmiştir. Deneme tereyağı örneklerinin yağ oranları %80,83

ile %81,50 arasında değişirken; yağsız kurumadde oranları %2,15 ile %1,38 arasında değişmiştir. Deneme tereyağı örneklerinin kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları üzerine tanımlayıcı istatistik analiz verileri Tablo 28’de verilmiştir.

Tablo 28. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Bazı Özelliklerin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
Kurumadde (%)	K ₀	83,33±0,38 ^b	82,65	83,76	0,16
	K ₁	82,38±0,42 ^a	81,80	82,94	0,17
	A	82,98±0,46 ^{ab}	82,46	83,64	0,19
	B	82,71±0,28 ^{ab}	82,23	82,94	0,11
Yağ (%)	K ₀	81,50±0,45 ^a	81,00	82,00	0,18
	K ₁	81,00±0,55 ^a	80,00	81,50	0,22
	A	80,83±0,93 ^a	80,00	82,00	0,38
	B	80,92±0,58 ^a	80,00	81,50	0,24
Yağsız kurumadde (%)	K ₀	1,83±0,33 ^a	1,39	2,31	0,14
	K ₁	1,38±0,67 ^a	0,73	2,49	0,27
	A	2,15±0,51 ^a	1,42	2,86	0,23
	B	1,80±0,57 ^a	1,42	2,77	0,20

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter kullanılan kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü kullanılan tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü kullanılan tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu (p<0,05), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını (p>0,05) ifade etmektedir.

Şengül vd (1998), Trabzon tereyağlarının bazı kalite özelliklerini belirledikleri çalışmalarında, 15 adet Trabzon tereyağı örneğinin kurumadde oranını en düşük %81,97, en yüksek %92,95 ve ortalama %87,13 olarak belirlemişlerdir. Örneklerin yağ oranlarını en düşük %79,50, en yüksek %87,50 ve ortalama %82,63 olarak; en düşük yağsız kurumadde oranını %2,47, en yüksek yağsız kurumadde oranını ise %6,95 olarak tespit etmişlerdir. Sağdıç vd (2002), izole ettikleri LAB suşlarının starter kültür olarak kullanımını test ettikleri çalışmalarında üretmiş oldukları 6 farklı deneme tereyağı örneğinin kurumadde oranlarını %84,17-84,51 değerleri arasında; yağ oranlarını %82,1 ile %82,8 arasında; yağsız kurumadde oranlarını ise %1,40 ile %2,16 arasında belirlemişlerdir.

Bakırcı vd (2002), farklı starter kültürlerin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, 4 farklı ticari starter kültür ile üretilen tereyağı örneklerinin kurumadde oranlarını %85 ile %86 arasında; yağ oranlarını ise %82 ile %83 arasında tespit

ederken; tereyağı örneklerinin kurumadde oranları arasında starter kültür kullanımına bağlı olarak anlamlı bir farkın olmadığını beyan etmişlerdir. Kesler (2008), probiyotik starter kültür ve lif ilavesiyle üretmiş olduğu tereyağı örneklerinde kurumadde miktarlarını en düşük %69 ve en yüksek %95,7 olarak belirlemiştir. Altun vd (2011), piyasada mevcut tereyağlarının bazı özelliklerini araştırdığı çalışmasında tereyağı örneklerinin kurumadde oranını %58,64-86,98 değerleri arasında; yağ oranını en düşük %51,50, en yüksek %83,20 ve ortalama %74,11 olarak; yağsız kurumadde oranını en düşük %0,74, en yüksek %13,1 ve ortalama %4,65 olarak bulmuşlardır.

Erkaya vd (2015), ticari starter kültür ve iki probiyotik suş ile üretmiş oldukları 3 farklı tereyağı örneğinin kurumadde oranlarını %85,33, %86,33 ve %84,63 olarak; yağ oranlarını ise %84 ile %85 arasında tespit etmişlerdir. Tosun (2016), ticari EPS üreten starter kültürleri tereyağı örneklerinde test ettiği çalışmasında, starter kullanılmayan kontrol tereyağının kurumadde oranını %85,20, EPS üreten starter kültür ile üretilen tereyağının kurumadde oranını %82,90, ticari starter kültür ile üretilen tereyağının kurumadde oranını %84,37 ve EPS üreten ve üretmeyen ticari starter kültürün birlikte kullanıldığı tereyağı örneğinin kurumadde oranını %83,98 olarak belirlemiştir. Yağ oranlarını ise en düşük %80, en yüksek %82,13; yağsız kurumadde oranını ise en düşük %2,74, en yüksek %3,85 olarak tespit etmiştir.

Gündoğdu vd (2020), yapmış olduğu çalışmada farklı starter kültür kullandıkları kremadan üretmiş oldukları 4 farklı tereyağı örneğinin kurumadde oranlarını %85,82, %83,67, %85,33 ve %83,83 olarak; yağ oranlarını %80,5 ile %82,25 arasında; yağsız kurumadde oranlarını ise %2,98 ile %3,69 arasında belirlemiştir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmalarında 30 adet tereyağı örneğinde kurumadde oranını en düşük %68,37, en yüksek %91,28 ve ortalama olarak %81,10 değerinde; yağ oranını en düşük %41,13, en yüksek %85 ve ortalama %78,43; yağsız kurumadde oranlarını ise %0,45 ile %27,45 arasında bulmuşlardır. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasında satılmakta olan tereyağlarının kalite değerlerini araştırdıkları çalışmalarında, 30 tereyağı örneğinin kurumadde oranını en düşük %74,57, en yüksek %90,67 ve ortalama %82,81 olarak; yağ oranlarını ise %62,50 ile %78,93 arasında yağsız kurumadde oranlarını %0,55 ile %6,18 arasında belirlemiştir.

Bu çalışmada üretilen deneme tereyağı örneklerinin kurumadde oranlarının Şengül vd (1998), Kesler (2008), Altun (2011), Akgül vd (2020a) ve Akgül vd (2020b)'nin bildirmiş olduğu değerler ile uyumluluğu olduğu; Sağdıç (2002), Bakırcı (2002), Erkaya vd (2015) ile Gündoğdu vd (2020)'nin bildirmiş olduğu değerlerden düşük olduğu görülmektedir.

Deneme tereyağı örnekleri yağ oranları açısından değerlendirildiğinde, elde edilen sonuçların Şengül vd (1998), Altun (2011), Tosun (2016), Gündoğdu vd (2020), Akgül vd (2020a) ve Akgül vd (2020b)'nin bildirmiş olduğu değerler ile uyumlu olduğu; Sağdıç (2002), Bakırcı (2002) ve Erkaya vd (2015)'nin bildirmiş olduğu değerlerden düşük olduğu belirlenmiştir.

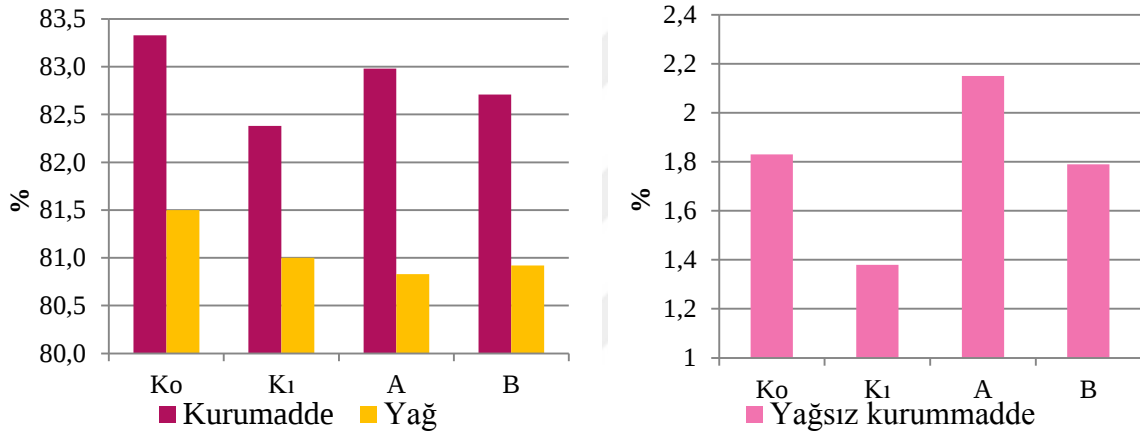
Elde edilen yağsız kurumadde oranlarının Sağdıç (2002), Altun (2011), Erkaya vd (2015), Akgül vd (2020a) ve Akgül vd (2020b)'nin bildirmiş olduğu değerler ile uyumlu olduğu; Şengül vd (1998), Tosun (2016) ve Gündoğdu vd (2020)'nin bildirmiş olduğu değerlerden ise düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

İstatistiki olarak deneme tereyağı örneklerinin kurumadde oranları açısından K_1 örneği ile K_0 örneği arasında anlamlı bir fark ($p<0.05$) bulunmuştur. Tosun (2016) yapmış olduğu çalışma sonucunda en yüksek kurumadde oranını starter kullanılmayan kontrol tereyağında (%85,20), en düşük kurumadde oranını ise EPS üreten starter kültür ile üretilen tereyağında (%82,90) tespit etmiş ve starter kültür kullanılmadan üretilen kontrol örneği ve EPS üreten starter kültür ile üretilen tereyağı örneği arasında anlamlı bir fark tespit etmiştir. Tosun bu sonucu, EPS'in su tutma özelliğine bağlamıştır.

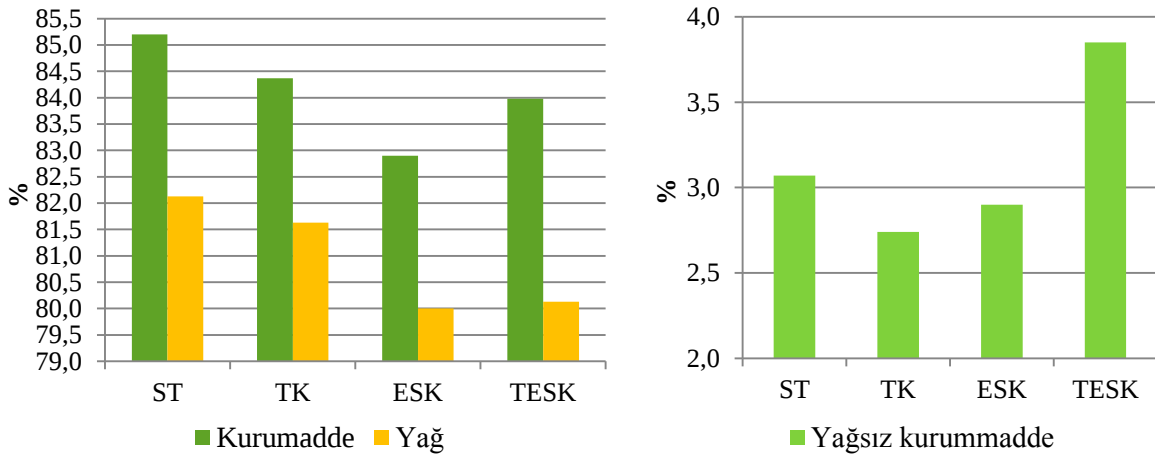
K_0 örneği ile K_1 örneği arasında oluşan anlamlı farklılığı, starter kültür kullanılmayan tereyağlarının yıkanma işleminin zorluğuna bağlamak mümkündür. Asitliğin yükselmediği durumda kremanın yağ dışındaki fraksiyonlarının yağ fazından ayrılması güçleşmektedir. Nitekim Tosun (2016) da en yüksek kurumadde oranına, kontrol olarak üretilen starter kültür kullanılmayan tereyağının sahip olduğunu beyan etmiştir. Dolayısıyla, kültürlü ve kültürsüz tereyağı üretimi, kurumadde oranları üzerinde anlamlı bir farklılık oluşturmuştur. A ve B örneklerinin K_1 örneğinde olduğu gibi K_0 örneği ile anlamlı bir fark oluşturmaması ise, EPS'in belirli bir ölçüde kurumadde oranı üzerine etki gösterdiğinin; ancak söz konusu etkinin bu çalışmada kurumadde oranları arasında anlamlı bir fark oluşturacak seviyede olmadığına bir göstergesidir. Bu durumu açıklayabilmek için örneklerin kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranlarının durumunu ayrı ayrı değerlendirmek gerekmektedir.

EPS'in süt ürünlerinin bileşimleri üzerine asıl etkisi yağsız kurumadde miktarı üzerine olmaktadır. EPS, suyu bağlama kabiliyetinden ötürü hem yağsız kurumadde içerisindeki bağlı su oranını arttırmakta, hem de toplam kitledeki serbest su miktarını arttırmaktadır ve bu durum tekstürel özelliklerin gelişmesinde son derece önemlidir (Hassan 2008). Bu çalışma özelinde EPS'ten bağımsız olarak, A ve B örneklerinin yağsız kurumadde ve kurumadde oranlarının asitlik gelişiminden ötürü K_0 örneğinden daha düşük; K_1 örneği ile benzer seviyelerde olması beklenen bir sonuçtu. Ancak A ve B örneklerinde EPS

bulunmasından ötürü, bu örneklerin hem yağsız kurumadde miktarları K_1 örneğinden yüksek; K_0 örneğinden ise benzer ve yüksek seviyede, hem de yağ oranları K_0 ve K_1 örneklerine göre daha düşük bulunmuştur. Bu durum Şekil 22’de daha açık bir şekilde görülmektedir. Kuvvetle muhtemel ki, EPS hem kitledeki serbest su oranını, hem de yağsız kurumaddedeki bağlı su miktarını arttırmıştır. Tam olarak benzer sonucu Tosun (2016) da bildirmiştir. Tosun (2016), EPS üreten starter kültürler ile üretilen tereyağı örneklerinde yüksek yağsız kurumadde miktarları tespit ederken (%3,85 ve %2,9), starter kültür kullanılmayan kontrol örneğinde (%3,07) EPS’li tereyağı örneklerine benzer olduğunu belirlemiştir. EPS üretmeyen ticari starter kültür ile üretilen tereyağı örneğinde ise en düşük oranda (%2,74) yağsız kurumadde miktarı tespit etmiş; en düşük yağ oranına sahip örneklerin EPS’li tereyağı örneklerinin olduğunu bildirmiştir (Şekil 23).



Şekil 22. Deneme tereyağı örneklerine ait kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları (K_0 : starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, K_1 : Ticari starter kullanılan kontrol tereyağı örneği, A: Geliştirilen TS_1 kültürü kullanılan tereyağı örneği, B: Geliştirilen TS_2 kültürü kullanılan tereyağı örneği)



Şekil 23. Tosun (2016)'un çalışmasında elde ettiği kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları (ST: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı, TK: ticari tereyağı starter kültürü tereyağı, ESK: EPS üreten ticari starter kültürü tereyağı, TESK: EPS üreten + Ticari tereyağı starter kültürü tereyağı)

Bu noktada, K_0 örneğinin K_1 'den daha fazla oranda yağsız kurumadde içermesinin sebebinin, asitlik gelişmemesinden ötürü yağsız fraksiyonların yağ kitlesinden ayrılmasının güçleşmesi olduğu söylenebilir. A ve B örneğinin K_1 örneğinden daha fazla miktarda yağsız kurumadde içermesinin sebebinin ise EPS'in yağsız kurumadde içerisindeki bağlı su miktarını arttırmasının olduğu düşünülmektedir. A ve B örneklerinin yağ oranlarının K_0 ve K_1 örneklerinden daha düşük olmasının sebebi ise EPS'in toplam kitle içerisindeki serbest su miktarını arttırması olarak açıklanabilir.

Son tahlilde, bu çalışma özelinde EPS'nin tereyağının kurumadde miktarı üzerine etkili olduğu; ancak bu etkinin anlamlı bir fark oluşturacak şekilde olmadığı görülmektedir. Bu durumun, EPS'nin hem yağsız kurumadde içerisindeki bağlı su miktarını; hem de tüm kitledeki serbest su miktarını arttırmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan, EPS'nin moleküler boyut (zincir uzunluğu ve moleküler kütle) ve yapı (monosakkarit bileşimi, glikozidik bağların türü ve gücü ile dallanma derecesi, türü ve uzunluğu) gibi özellikleri (de Vuyst *et al.* 2003) ile tereyağı içerisindeki EPS miktarı bu etkide ve etkinin derecesinde son derece önemlidir. EPS'nin bu özelliklerinin ve olası etkilerinin araştırılması ise başlı başına ayrı bir tez konusudur.

Yapılan korelasyon analizi sonucunda, beklenildiği üzere, deneme tereyağı örneklerinin kurumadde oranları ile yağ oranları arasında $p<0,01$ düzeyinde pozitif yönlü bir ilişki tespit edilmiştir. Bu ilişki, yağ oranındaki artış ile kurumadde oranının da artmasının doğal bir sonucudur. Dikkat çekici olan ilişki ise, kurumadde oranları ile asitlik (%) arasındaki $p<0,05$ düzeyindeki negatif yönlü; kurumadde oranları ile pH değerleri arasındaki $p<0,01$ düzeyindeki pozitif yönlü ilişkidir. Deneme tereyağı örneklerinin kurumadde oranları ile asit değerleri arasındaki bu güçlü korelasyon, asitliği gelişmeyen kremada yağsız kurumadde bileşenlerinin ayrılmasındaki güçlüğün istatistikî tezahürüdür.

Asitlik (%LA)

Deneme tereyağı örneklerinin laktik asit cinsinden % asitlik oranları %0,191 ile %0,325 arasında bulunmuştur. K_0 örneği en düşük asitlik oranına sahip örnek olurken; K_1 örneğinin ortalama %0,325, A örneğinin ortalama %0,312 ve B örneğinin ortalama %0,311 laktik asit oranına sahip olduğu belirlenmiştir. İstatistik analiz sonucunda K_0 örneğinin asitlik oranının K_1 , A ve B örneklerinin asitlik oranlarından anlamlı şekilde farklı olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir. K_1 , A ve B örnekleri arasında ise istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$). Deneme tereyağı örneklerinin laktik asit cinsinden yüzde asitlik

değerleri üzerine gerçekleştirilen tanımlayıcı istatistik analiz sonuçları Tablo 29’da verilmiştir.

Tablo 29. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait % Asitlik Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
Asitlik (%LA)	K ₀	0,191±0,024 ^a	0,167	0,216	0,010
	K ₁	0,325±0,025 ^b	0,302	0,360	0,010
	A	0,312±0,018 ^b	0,292	0,333	0,007
	B	0,311±0,038 ^b	0,274	0,351	0,016

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter kullanılan kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü kullanılan tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü kullanılan tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

Şengül vd (1998), Trabzon tereyağlarının bazı karakteristik özelliklerini inceledikleri çalışmada örneklerin asitlik oranlarını en düşük %0,22, en yüksek %1,47 ve ortalama %0,57 olarak bulmuşlardır. Bakırcı vd (2002), farklı starter kültür kullanımının ve farklı depolama sıcaklıklarının tereyağların bazı karakteristik özelliklerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin depolamanın 3.gününde laktik asit cinsinden asit oranlarını %0,07 ile %0,09 arasında tespit etmişlerdir. Sağdıç vd (2002), izole ettikleri LAB suşların tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılabilirliklerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin %0,14 ile %0,29 arasında laktik asit içerdiklerini bildirmişlerdir. Kesler (2008), farklı probiyotik kültür kullanımının depolama süresine bağlı olarak tereyağının fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerindeki etkisini incelediği çalışmada 5 farklı formülasyonda ürettiği tereyağı örneklerinin % asitlik değerlerinin %0,11 ile %1,42 arasında olduğunu ve formülasyonların asitlik değeri üzerinde önemli bir fark oluşturduğunu tespit etmiştir.

Fındık (2011), Van piyasasına sunulan tereyağları üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada 10 adet tereyağı örneğinin en düşük ve en yüksek % asitlik değerini %0,17 ve %2,18 olarak tespit etmiştir. Erkaya vd (2015), probiyotik tereyağı üretimi yaptıkları çalışmalarında, üretmiş oldukları 3 farklı tereyağı örneğinin de depolamanın 2.gününde %0,36 oranında laktik asit içerdiğini tespit etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada starter kullanılmayan kontrol tereyağı örneğinin asitlik oranını %0,15, starter kültür kullanılan örneklerin asitlik oranını ise %0,20 ile %0,25 arasında tespit etmiştir. Inchech *et al.* (2017), Güney Azerbaycan’da geleneksel olarak üretilen tereyağlarının kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında, tereyağı örneklerinin laktik asit miktarlarını %0,47 ile %4,54

olarak belirlemişlerdir. Gündoğdu vd (2020), farklı starter kültürler kullanarak üretmiş oldukları tereyağı örneklerinde asitlik değerlerini %0,13 ile %0,38 arasında belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı özelliklerini araştırdıklarını çalışmalarında, tereyağı örneklerinin laktik asit miktarlarını %0,32 ile %3,37 arasında tespit ederken, örneklerin ortalama olarak %0,86 oranında asitliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasındaki tereyağlarının kalite özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, tereyağı örneklerinin %0,21 ile %0,84 arasında laktik asit içerdiğini, örneklerin ortalama %0,47 oranında laktik asit ihtiva ettiğini tespit etmişlerdir.

Elde edilen veriler literatür ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile uyumluluk sergilediği, Şengül vd (1998), Bakırcı vd (2002), Sağdıç vd (2002), Kesler (2008) ve Akgül vd (2020b)'nin bulmuş olduğu değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

K₀ örneği ile K₁, A ve B örnekleri arasında belirlenen istatistiki olarak anlamlı fark ($p < 0,05$), K₀ örneğinin üretiminde starter kültür kullanılmaması; K₁, A ve B örneklerinin üretiminde ise starter kültür kullanılması ile açıklanabilir. Haliyle, K₀ örneğinde asitlik gelişmezken diğer 3 tereyağı örneğinde asitlik gelişmiş ve starter kültür kullanılmayan ile kullanılan örnekler arasında anlamlı bir fark oluşmuştur. K₁ örneği ile A ve B örnekleri arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark ($p > 0,05$) meydana gelmemesi ise her 3 starter kültürün de benzer ölçüde asitlik geliştirdiği anlamına gelmektedir.

Yapılan asitlik tayininin sonuçları ve bu sonuçların istatistiksel ilişkileri, geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürlerinin başarısını betimleyen ilk belirgin göstergelerdir. Zira, bir starter kültürden beklenen en önemli karakteristik asitlik gelişimi sağlayabilmesidir. Geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürleri kullanılarak üretilen A ve B tereyağı örneklerinde, starter kültür kullanılmayan K₀ örneğinden istatistiki açıdan anlamlı ölçüde ($p < 0,05$) yüksek asitlik gelişimi, geliştirilen starter kültürlerin tereyağı matrisine uyumlu olduğunu ve seçilen suşların beklenen gelişimi göstererek karakteristiklerini ortaya koyduklarını göstermektedir. A ve B örnekleri ile ticari starter kullanılarak üretilen K₁ örneğinin asitlik oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmaması ($p > 0,05$) ise, geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürlerinin bir ticari starter kültür kadar güçlü asitlik gelişimi sergileyebildiklerini ve bu açıdan başarılı olduklarının delilidir. Nitekim asitlik gelişimi açısından hedeflenen başarı kriteri de tam olarak bu durum idi.

pH

Yapılan pH tayini sonucunda deneme tereyağı örneklerinin pH değerlerinin ortalama olarak K₀ örneğinde 6,598, K₁ örneğinde 4,850, A örneğinde 4,793 ve B örneğinde 4,798

olduğu tespit edilmiştir. Üretilen tereyağı örneklerinin pH değerleri üzerine yapılan tanımlayıcı istatistik analiz sonuçları Tablo 30’da verilmiştir.

Tablo 30. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait pH Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
pH	K ₀	6,598±0,063 ^b	6,540	6,680	0,026
	K ₁	4,850±0,034 ^a	4,800	4,890	0,014
	A	4,793±0,005 ^a	4,790	4,800	0,002
	B	4,798±0,054 ^a	4,740	4,860	0,022

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

İstatistiki açıdan K₀ örneğinin pH değerinin K₁, A ve B örneklerinin pH değerlerinden anlamlı şekilde farklı olduğu ($p<0,05$) belirlenmiştir. K₁, A ve B örneklerinin pH değerleri arasında ise istatistiki açıdan anlamlı bir fark tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Sağdıç vd (2002), izole ettikleri LAB suşlarının starter kültür olarak kullanılabilirliğini inceledikleri çalışmalarında kontrol tereyağı örneğinin pH’ını 6,87 olarak belirlerken, starter kültür ile ürettiği tereyağı örneklerinde pH değerlerini 4,50 ile 5,23 arasında tespit etmiştir. Erkaya vd (2015), probiyotik tereyağı üretimi yaptığı çalışmada, tereyağı örneklerinin pH değerlerini depolamanın 2. gününde 5,05 ile 5,16 arasında bulmuşlardır. Gündoğdu vd (2020), kremadan üretilen tereyağı örneklerinin pH değerlerini 4,67 ile 5,65 arasında belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), 30 adet Trabzon tereyağının pH değerlerinin 3,28 ile 4,87 arasında olduğunu ve ortalama olarak 3,99 pH değerine sahip olduklarını beyan etmişlerdir. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasında bulunan 30 tereyağı örneğinin pH değerlerini 3,20 ile 4,71 değerleri arasında, ortalamanın ise 3,88 değerinde olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait pH değerleri, daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen verilerle kıyaslandığında, starter kültür kullanılmadan üretilen tereyağı örneği olan K₀’ın pH değerinin Sağdıç vd (2002)’nin bildirdiği sonuç ile; starter kültür ile üretilen örnekler bazında ise Sağdıç vd (2002), Gündoğdu vd (2020) ve Akgül vd (2020a) ile uyumlu olduğu; Erkaya vd (2015)’in elde ettiği sonuçlardan düşük olduğu ve Akgül vd (2020b)’nin bildirdiği sonuçlardan yüksek olduğu anlaşılmaktadır.

Deneme tereyağı örneklerinin pH değerlerinin istatistiki olarak analizi, örneklerin pH değerlerinin ilişkisinin % asitlik değerlerinin ilişkisiyle uyumluluk göstermektedir. Bu durum,

yapılan çalışmada elde edilen sonuçların tutarlılığı bakımından önemli bir göstergedir. Türk Standartlar Enstitüsü'nün TS 1331 kodlu Tereyağı Standardı'na göre pH değeri açısından üretilen deneme tereyağı örneklerinden K₀ örneği tatlı krema tereyağı; K₁, A ve B örnekleri ise ekşi krema tereyağları sınıfına girmektedir. Bu durum da, çalışmanın tutarlılığının ve hedeflendiği şekilde sonuçlar elde edildiğinin bir diğer göstergesidir.

Su aktivitesi (a_w)

Deneme tereyağı örneklerinin su aktivite değerlerinin yapılan analiz sonucunda ortalama olarak K₀ örneğinde 0,942, K₁ örneğinde 0,939, A örneğinde 0,947 ve B örneğinde 0,946 olduğu belirlenmiştir. İstatistiki açıdan tereyağı örneklerinin su aktivitesi değerleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Tereyağı örneklerin su aktivitesi değerleri üzerine yapılan tanımlayıcı istatistik analizi sonuçları Tablo 31'de verilmiştir.

Tablo 31. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Su Aktivitesi Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
Su aktivitesi (a_w)	K ₀	0,942±0,004 ^a	0,938	0,945	0,001
	K ₁	0,939±0,008 ^a	0,931	0,947	0,003
	A	0,947±0,002 ^a	0,945	0,949	0,001
	B	0,946±0,008 ^a	0,938	0,958	0,003

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyayağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

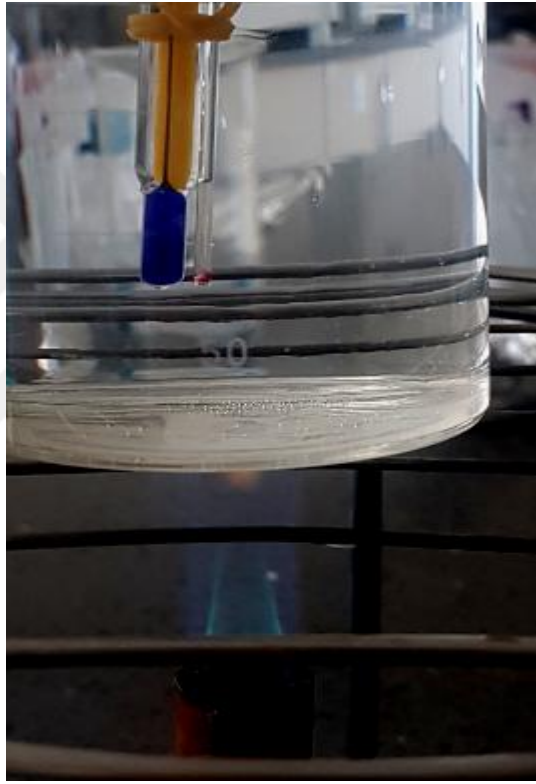
Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında su aktivitesini ortalama 0,790 olarak tespit etmişlerdir. Altun vd (2011), Van piyasasında bulunan tereyağlarının bazı özelliklerini inceledikleri çalışmalarında örneklerin a_w değerlerini 0,87 ile 1,00 değerleri arasında; ortalama ise 0,97 olarak belirlemişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada ürettikleri tereyağı örneklerinin a_w değerlerini 0,958 ile 0,968 arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzonda üretilen tereyağlarının bazı özelliklerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin a_w değerlerini 0,830 ile 0,940 arasında ve ortalama 0,920 olarak belirlemişlerdir.

Elde edilen sonuçlar litetatürdeki çalışmalardaki sonuçlar ile kıyaslandığında, genel itibari ile uyumluluk içerisinde oldukları görülmektedir. Bununla birlikte Samet-Bali *et al.* (2009)' ve Akgül vd (2020a)'nin elde ettiği sonuçlardan yüksek; Sert ve Mercan (2020)'ın

elde ettiği sonuçlardan ise düşüktür. Yapılan istatistiki analiz sonucunda, kültür kullanımının veya kullanılan kültür çeşidinin tereyağının a_w değeriinde anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Erime noktası

Deneme tereyağı örneklerinin erime noktalarının belirlemesi amacıyla yapılan analiz sonucunda örneklerin erime noktalarının ortalama olarak K_0 örneğinde $29,17^{\circ}\text{C}$, K_1 örneğinde $28,79^{\circ}\text{C}$, A örneğinde $29,00^{\circ}\text{C}$ ve B örneğinde $28,92^{\circ}\text{C}$ olduğu belirlenmiştir. İstatistiki açıdan tereyağı örneklerinin erime noktaları değeriileri arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Erime noktası tayininde kullanılan düzenek Şekil 24’de verilmiştir.



Şekil 24. Deneme tereyağı örneklerine uygulanan erime noktası tayini analizinden bir kesit

Tereyağı örneklerin erime noktası değeriileri üzerine yapılan tanımlayıcı istatistik analizi sonuçları Tablo 32’de verilmiştir.

Tablo 32. Deneme Tereyağı Örneklerine Ait Erime Noktası Değerlerinin Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
Erime noktası (°C)	K ₀	29,17±0,26 ^a	29,00	29,50	0,11
	K ₁	28,79±0,68 ^a	28,00	30,00	0,28
	A	29,00±0,52 ^a	28,50	29,75	0,21
	B	28,92±0,61 ^a	28,00	29,50	0,25

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyayağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

Şengül vd (1998), Trabzon tereyağlarının bazı kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmalarında erime noktası sıcaklıklarını 31 ile 35°C arasında ve ortalama erime noktası sıcaklığının 32,6°C olduğunu tespit etmişlerdir. Sağdıç vd (2002), izole ettikleri LAB'ların starter kültür olarak kullanılabilirliğini araştırdıkları çalışmalarında kültür kullanılmayan ve kültür kullanılan tereyağı örneklerinin erime noktalarını 31,5 ile 32,5 °C arasında belirlemişler ve kültür kullanımının veya farklı kültür kullanımının tereyağının erime noktasında anlamlı bir farklılığa neden olmadığını beyan etmişlerdir. Tosun (2016), EPS üreten ticari starter kültürlerin tereyağında kullanımını araştırdığı çalışmada, en yüksek erime noktasına kültür kullanılmayan tereyağı ile ticari tereyağı starter kültürü kullanılan tereyağında (31,70°C ve 32,25°C), üretiminde EPS üreten ticari starter kültür kullanılan tereyağlarının erime noktalarının ise istatistiki olarak anlamlı şekilde ($p<0,05$) daha düşük (30,90 ve 31,10°C) olduğunu tespit etmiştir. Akgül vd (2020a), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin erime noktalarını 26,30 ile 33,00°C arasında; ortalama ise 29,77°C olarak tespit etmişlerdir.

Analiz sonucunda elde edilen veriler literatürde yer alan veriler ile karşılaştırıldığında Şengül vd (1998), Sağdıç vd (2002) ve Tosun (2016)' un elde ettiği değerden düşük olduğu; Akgül vd (2020a)' in ortaya koyduğu değerler ile de uyumlu olduğu görülmektedir.

Erime noktası, tereyağının tüketimini etkileyen önemli bir parametredir. Tereyağının yağ asidi profili başta olmak üzere, tereyağına uygulanan işlemler ve depolama koşulları gibi birçok faktör erime noktasını etkileyebilmektedir. Bu çalışmada tereyağı üretiminde starter kültür kullanımının ve farklı starter kültür kullanımının tereyağının erime noktası üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı belirlenmiştir.

Renk

Deneme tereyağı örneklerinin renk değerlerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan analiz sonucunda, *L* değeri ortalama K₀ örneği için 83,97, K₁ örneği için 84,78, A örneği için 85,10 ve B örneği için 84,38 olarak belirlenmiştir. *a* değeri ortalama K₀ örneği için -3,60, K₁ örneği için -3,80, A örneği için -3,51 ve B örneği ise -3,64 olarak tespit edilmiştir. *b* değeri ise ortalama sırasıyla 21,12; 21,88; 21,34 ve 21,97 olarak belirlenmiştir. Renk değerleri üzerinde starter kültür kullanımı ve farklı starter kültür kullanma açısından istatistiki olarak anlamlı bir tespit edilememiştir ($p>0,05$). Deneme tereyağı örneklerinin renk değerlerine ait tanımlayıcı istatistik analiz sonuçları Tablo 33'te verilmiştir.

Tablo 33. Deneme Tereyağı Örneklerinin Renk Değerlerine Ait Tanımlayıcı İstatistik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
<i>L</i>	K ₀	83,97±1,32 ^a	82,56	86,23	0,54
	K ₁	84,78±0,82 ^a	84,06	86,34	0,33
	A	85,10±1,49 ^a	83,52	86,92	0,61
	B	84,38±2,10 ^a	82,08	88,14	0,86
<i>a</i>	K ₀	-3,60±0,34 ^a	-3,87	-2,94	0,14
	K ₁	-3,80±0,17 ^a	-4,01	-3,58	0,07
	A	-3,51±0,18 ^a	-3,69	-3,24	0,08
	B	-3,64±0,23 ^a	-3,87	-3,24	0,09
<i>b</i>	K ₀	21,12±1,54 ^a	18,54	22,58	0,63
	K ₁	21,88±1,22 ^a	20,26	23,34	0,50
	A	21,34±1,72 ^a	19,39	23,84	0,70
	B	21,97±2,46 ^a	17,90	23,72	1,00

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyayağı örneği. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

Shukla *et al.* (1994), yapmış oldukları çalışmada kontrol olarak kullandıkları piyasadan temin edilmiş örnekte *L* değerini 88,67, *a* değerini -1,07 ve *b* değerini 24,12 olarak belirlerken ürettikleri deneme tereyağı örneklerinde ise renk değerlerini sırası ile 84,08, -1,95 ve 30,85 olarak tespit etmişlerdir. Krause *et al.* (2008), dondurularak (-20°C) veya soğutulmuş olarak (5°C) depolamanın tereyağının bazı parametrelerine etkisini incelediği

çalışmalarında, renk değerleri üzerine depolama sıcaklığı farklılığının istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığını bildirmişlerdir. Çalışma sonucunda *L* değerlerinin 76,62-79,74, *a* değerlerinin -3,02-(-)3,69 ve *b* değerlerinin 12,11-14,26 aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), hayvan beslenmesinde farklı diyet uygulamasının tereyağının bazı özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında diyetin keten tohumu içermesinin tereyağının renk özelliklerinde anlamlı bir farklılığa neden olmadığını belirtmişlerdir. Renk analizi sonucunda *L* değerlerinin 92,9-93,4 aralığında, *a* değerlerinin -2,63 ile -2,68 ve *b* değerlerinin 16,3-17,0 aralığında olduğunu tespit etmişlerdir. Tosun (2016), EPS üreten ticari starter kültür kullanımının tereyağının bazı özelliklerine etkisini incelediği çalışmasında deneme tereyağı örneklerinin *L*, *a* ve *b* değerlerini sırasıyla 88,20-89,57, 1,85-2,31 ve 20,52-22,72 değerleri arasında değiştiğini ve starter kültür kullanma ve farklı starter kültür kullanma açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark olmadığını tespit etmiştir ($p>0,05$). Sert ve Mercan (2020), kremaya termosonifikasyon uygulamasının tereyağının bazı kalite parametreleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında kontrol tereyağlarının *L*, *a* ve *b* değerlerini sırasıyla 85,45-81,37, -2,59-(-)2,96 ve 14,98-18,68 değerleri arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı özelliklerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin *L*, *a* ve *b* değerlerini sırasıyla 72,08-88,22, -4,42-(-)0,89 ve 21,73-45,12 değerleri arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Bu çalışma sonucunda elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait renk değerleri literatürde yer alan çalışmalar ile karşılaştırıldığında sonuçların genel itibari ile literatür ile uyumluk sergilediği değerlendirilmektedir. *L* değeri açısından bakıldığında, sonuçların Shukla *et al.* (1994), Tosun (2016) ve Hurtaud *et al.* (2010)'un elde ettiği değerlerden düşük; Krause *et al.* (2008)'un elde ettiği değerden yüksek olduğu; *a* değerinin Shukla *et al.* (1994), Tosun (2016), Hurtaud *et al.* (2010) ve Sert ve Mercan (2020)'ın elde ettiği değerlerden düşük olduğu; *b* değerinin Shukla *et al.* (1994)'un elde ettiği değerlerden düşük; Krause *et al.* (2008), Hurtaud *et al.* (2010) ve Sert ve Mercan (2020)'ın elde ettiği değerlerden ise yüksek olduğu belirlenmiştir.

Tereyağının doğal sarı rengi, temelde yemden kaynaklanan ve iyi işlenmiş tereyağının karakteristik mikro yapısı ile birlikte yağda çözünen karotenden kaynaklanmaktadır (Göktürk vd 2002). Tereyağının rengi üzerine yapılan birçok çalışmada (Göktürk vd 2002; Frede 2011; Kashaninejad *et al.* 2017) A vitamini ve E vitamini içeriği, mevsim, işleme, saklama süresi ve koşulları gibi birçok faktörün tereyağının rengini etkileyebileceği bildirilmiştir. Bu çalışmada elde edilen veriler ise tereyağı üretiminde starter kültür kullanımı ile farklı starter

kültür kullanımının ve EPS'in tereyağının rengini istatistiki açıdan anlamlı ölçüde etkilemediğini ($p>0,05$) ortaya çıkarmaktadır.

Yağ asidi profili

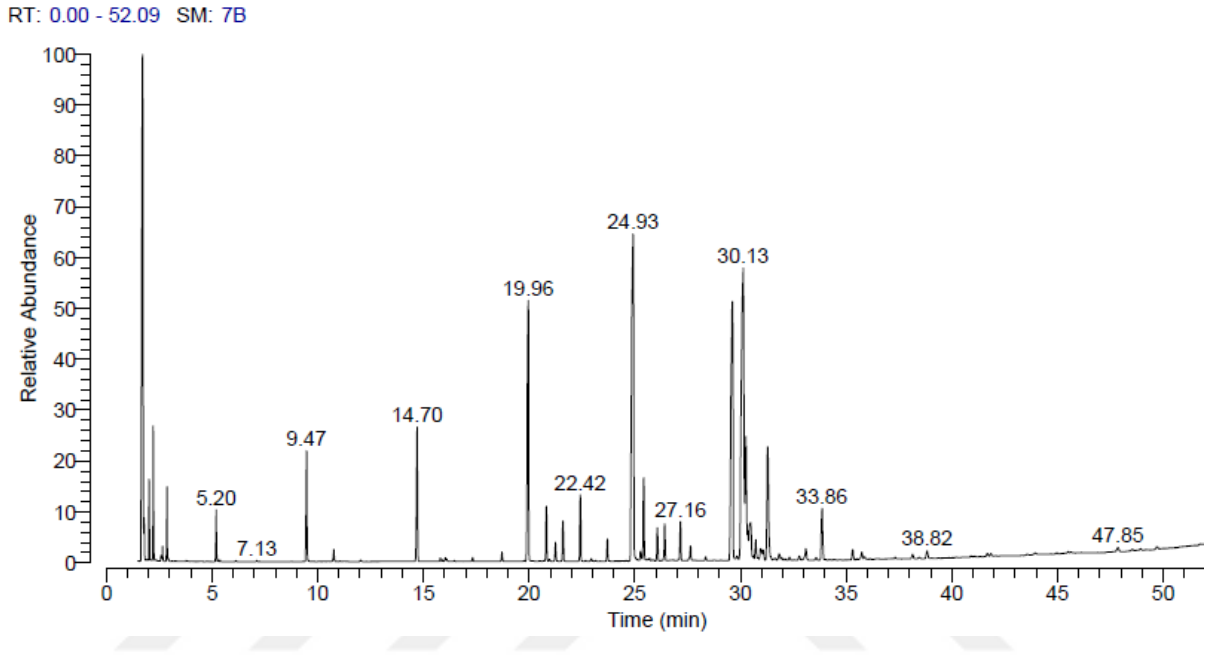
Gaz kromatografisi ile sütte ilk olarak 15 makro yağ asidi belirlenmiş ve daha sonra kapilar kolonlarının geliştirilmesiyle birlikte Herb *et al.* (1962) 45, Ryhage (1967) 56 minör yağ asidinin varlığını kanıtlamış; Reiser (1969) süt yağının en az 125 yağ asidinden oluştuğu görüşünü ileri sürmüştür (Ergin 1979).

Bugün bilinen haliyle süt yağı, 400 farklı yağ asidi içeren çeşitlilik yönünden oldukça zengin bir yapıya sahiptir (Ledoux *et al.* 2005; Moate *et al.* 2007). Ancak bu yağ asitlerinin ekseriyeti eser miktarlarda bulunmaktadır. Süt yağının bileşiminin %99'undan fazlasını ise başta oleik asit ($C_{18:1}$), palmitik asit ($C_{16:0}$) ve stearik asit ($C_{18:0}$) olmak üzere bütirik asit ($C_{4:0}$), kaproik asit ($C_{6:0}$), kaprilik asit ($C_{8:0}$), kaprik asit ($C_{10:0}$), laurik asit ($C_{12:0}$), miristik asit ($C_{14:0}$), miristoleik asit ($C_{14:1}$), palmitoleik asit ($C_{16:1}$) ve linoleik asit ($C_{18:2}$) gibi yağ asitleri oluşturmaktadır (Metin 2010).

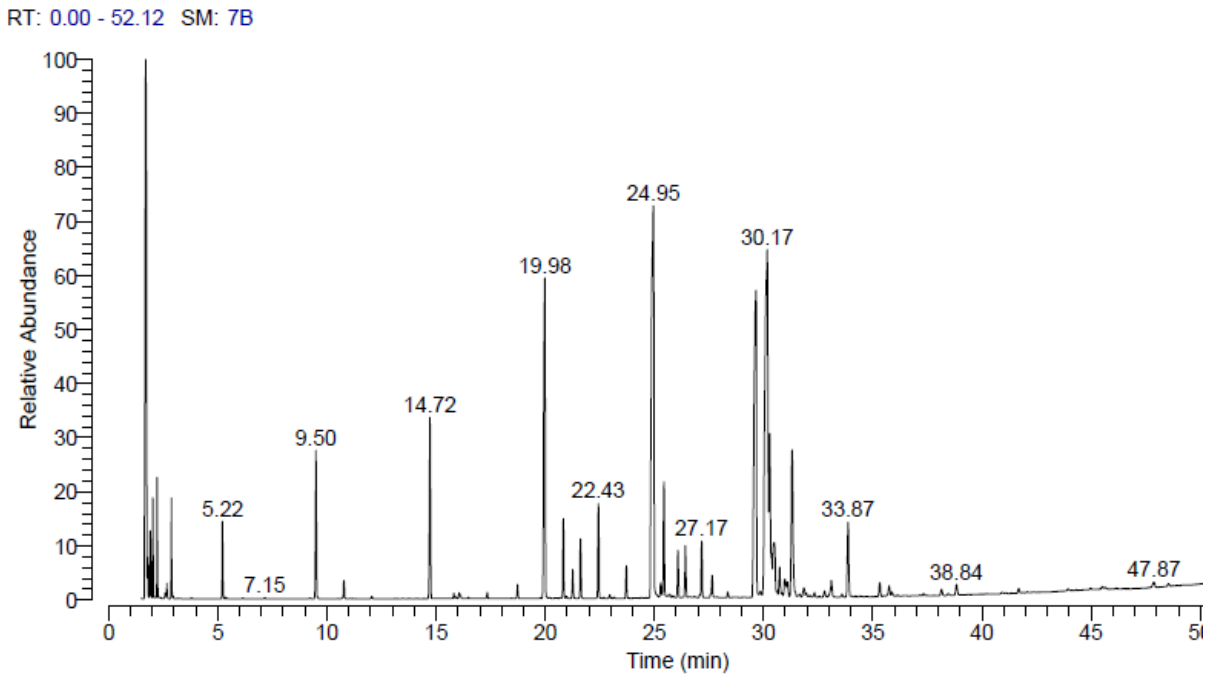
Süt yağında bulunan yağ asitleri 3 farklı kaynaktan süte geçmektedir. Kısa zincirli yağ asitleri ($<C_{15}$ ve C_{16} 'nın bir kısmı) hayvanın meme bezlerinde üretilirken, yağ asitlerinin büyük bölümü (C_{16} 'nın bir kısmı ve $\geq C_{17}$) diyet lipidlerinden ve rezerv yağ dokusundan sentezlenmektedir (Bauman *et al.* 2006; Nafikov and Beitz, 2007; Harvatine *et al.* 2009). Tek karbon sayılı ve dallanmış zincirli yağ asitleri ile doymamış yağ asitlerinin trans-izomerleri ise hayvanın işkembesinde bulunan bakteri florası tarafından sentezlenmektedir (Keeney 1962; Samkova *et al.* 2012). Bu açıdan bakıldığında süt yağının yağ asidi profilinin diyet, hayvanın durumu ve işkembede bulunan bakteri florası olmak üzere 3 ana etkenden etkilendiği söylenebilir. Bu etkenleri daha kapsamlı olarak ele aldığımızda diyet tipi, periyodu ve miktarı, hayvan cinsi, ırkı, yaşı, laktasyon süreci, hastalık, stres ve yaşam koşulu, işkembe bakteri florasının spektrumu ve yoğunluğu gibi çok sayıda ve geniş yelpazede faktörün süt yağının yağ asidi profili üzerine etkili olduğu söyleyebilir. Tüm bu etkenler dikkate alındığında, yağ asidi profilinin değişkenliği oldukça olası hâle gelmektedir. Bu çalışmada ise hammadde kremada bahsi geçen tüm parametrelerin eş olduğu kabul edilerek, tereyağı üretiminde starter kültür kullanımının ve EPS üreten starter kültür kullanımının tereyağının yağ asidi profiline etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

Yapılan analiz sonucunda tereyağı üretiminde starter kültür kullanımının ve farklı starter kültür kullanımının tereyağının yağ asidi profilini istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkilemediği tespit edilmiştir.

GC-MS kullanılarak gerçekleştirilen analiz sonucunda, deneme tereyağı örneklerinin yağ asidi profilleri Tablo 34'deki gibi belirlenmiştir. Tereyağı üretiminde starter kültür kullanımı ile farklı starter kültür kullanımının yağ asidi profilinde istatistiki olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı ($p>0,05$) ortaya konulmuştur. Deneme tereyağı örneklerine ait kromotogramlar Şekil 25, 26, 27 ve 28'de verilmiştir.

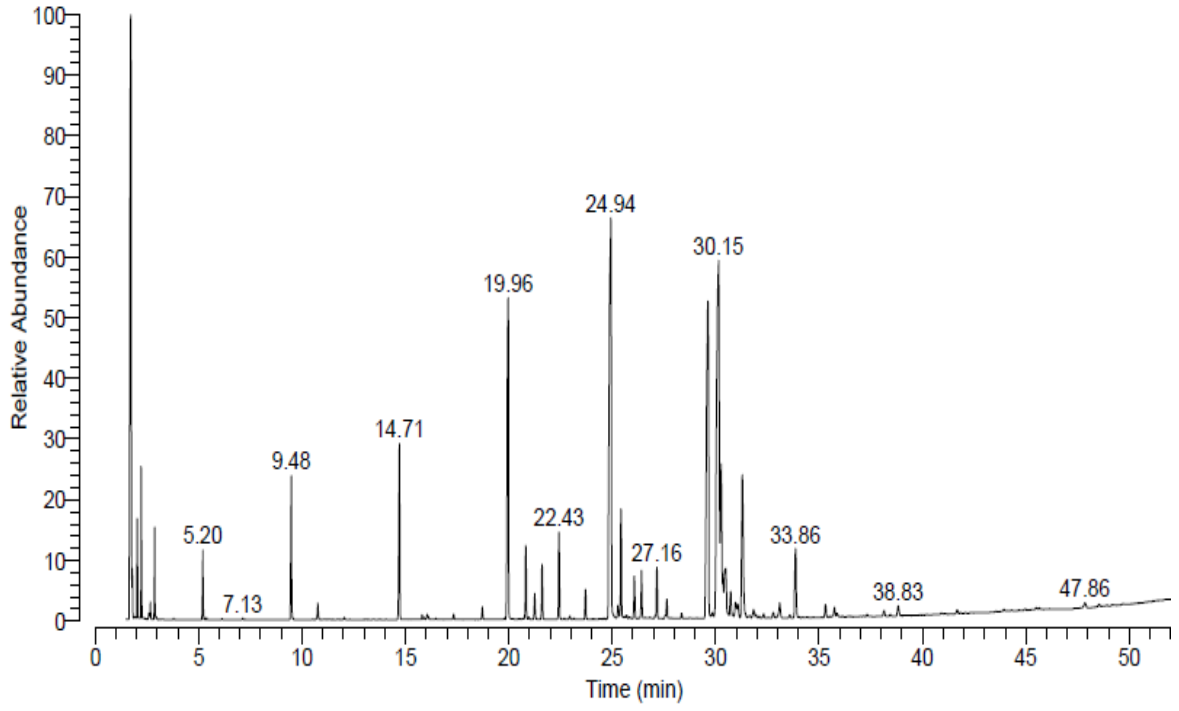


Şekil 25. K₀ örneğine ait yağ asidi kromotogramı



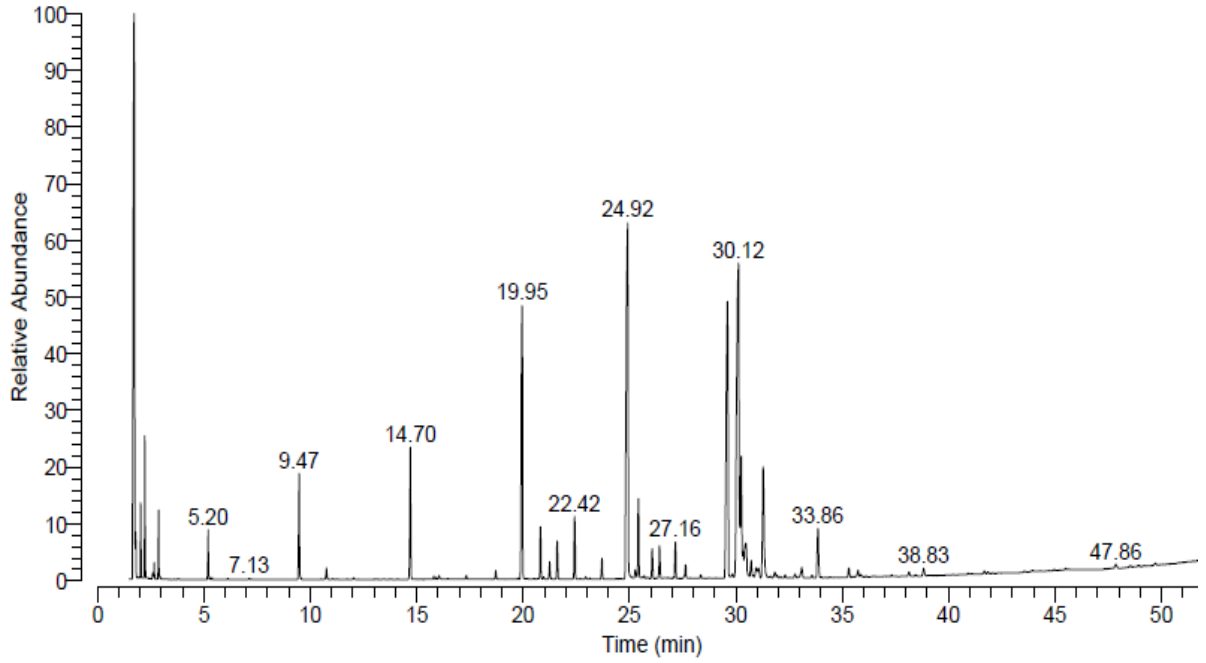
Şekil 26. K₁ örneğine ait yağ asidi kromotogramı

RT: 0.00 - 52.11 SM: 7B



Şekil 27. A örneğine ait yağ asidi kromotogramı

RT: 0.00 - 52.09 SM: 7B



Şekil 28. B örneğine ait yağ asidi kromotogramı

Tablo 34. Deneme Tereyağı Örneklerinin Yağ Asidi Profilleri

Yağ Asidi		Örnek	Ortalama (%)	Standart sapma	Standart Hata	En az (%)	En çok (%)
Bütirik asit	C _{4:0}	K ₀	1,44	0,16	0,12	1,32	1,55
		K ₁	1,47	0,09	0,07	1,40	1,53
		A	1,54	0,06	0,05	1,49	1,58
		B	1,60	0,16	0,12	1,48	1,71
		Ort.	1,51	0,12	0,04	1,32	1,71
Kaproik asit	C _{6:0}	K ₀	1,45	0,18	0,13	1,32	1,57
		K ₁	1,62	0,04	0,02	1,59	1,64
		A	1,58	0,01	0,01	1,57	1,58
		B	1,64	0,17	0,12	1,52	1,76
		Ort.	1,57	0,12	0,04	1,32	1,76
Kaprilik asit	C _{8:0}	K ₀	1,26	0,04	0,03	1,23	1,28
		K ₁	1,47	0,06	0,05	1,42	1,51
		A	1,39	0,03	0,02	1,37	1,41
		B	1,44	0,26	0,19	1,25	1,62
		Ort.	1,39	0,13	0,05	1,23	1,62
Kaprik asit	C _{10:0}	K ₀	3,65	0,06	0,04	3,61	3,69
		K ₁	3,95	0,24	0,17	3,78	4,12
		A	3,88	0,16	0,11	3,77	3,99
		B	3,89	0,50	0,36	3,53	4,24
		Ort.	3,84	0,25	0,09	3,53	4,24
Laurik asit	C _{12:0}	K ₀	4,52	0,06	0,04	4,48	4,56
		K ₁	4,72	0,08	0,05	4,66	4,77
		A	4,66	0,01	0,01	4,65	4,67
		B	4,66	0,30	0,22	4,44	4,87
		Ort.	4,64	0,14	0,05	4,44	4,87
Tridekanoik asit	C _{13:0}	K ₀	0,14	0,00	0,00	0,14	0,14
		K ₁	0,15	0,00	0,00	0,15	0,15
		A	0,14	0,01	0,01	0,13	0,14
		B	0,15	0,01	0,01	0,14	0,16
		Ort.	0,14	0,01	0,00	0,13	0,16

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği.

Tablo 34. (Devamı)

Yağ asidi	Örnek	Ortalama (%)	Standart sapma	Standart Hata	En az (%)	En çok (%)
Miristik asit	K ₀	11,81	0,13	0,09	11,71	11,90
	K ₁	11,64	0,21	0,15	11,49	11,79
	A	11,82	0,18	0,13	11,69	11,94
	B	11,81	0,09	0,06	11,74	11,87
	Ort.	11,77	0,14	0,05	11,49	11,94
Miristoleik asit	K ₀	1,70	0,05	0,04	1,66	1,73
	K ₁	1,91	0,04	0,03	1,88	1,93
	A	1,83	0,03	0,02	1,81	1,85
	B	1,86	0,28	0,20	1,66	2,05
	Ort.	1,82	0,14	0,05	1,66	2,05
Pentadekanoik asit	K ₀	0,57	0,05	0,04	0,53	0,60
	K ₁	0,65	0,03	0,02	0,63	0,67
	A	0,62	0,01	0,01	0,61	0,63
	B	0,63	0,06	0,05	0,58	0,67
	Ort.	0,62	0,05	0,02	0,53	0,67
Sarkinik asit	K ₀	1,23	0,04	0,03	1,20	1,26
	K ₁	1,40	0,01	0,01	1,39	1,40
	A	1,40	0,10	0,07	1,33	1,47
	B	1,35	0,20	0,14	1,21	1,49
	Ort.	1,34	0,11	0,04	1,20	1,49
Palmitik asit	K ₀	21,48	0,28	0,20	21,28	21,67
	K ₁	21,09	0,11	0,07	21,01	21,16
	A	21,30	0,06	0,04	21,26	21,34
	B	21,13	0,23	0,16	20,97	21,29
	Ort.	21,25	0,22	0,08	20,97	21,67
İzopalmitik asit	K ₀	0,63	0,02	0,02	0,61	0,64
	K ₁	0,70	0,06	0,04	0,66	0,74
	A	0,68	0,06	0,04	0,64	0,72
	B	0,68	0,18	0,13	0,55	0,80
	Ort.	0,67	0,08	0,03	0,55	0,80

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği.

Tablo 34. (Devamı)

Yağ asidi	Örnek	Ortalama (%)	Standart sapma	Standart Hata	En az (%)	En çok (%)
Palmitoleik asit	K ₀	0,32	0,01	0,01	0,31	0,33
	K ₁	0,37	0,01	0,01	0,36	0,37
	C _{16:1 cis 7} A	0,36	0,01	0,01	0,35	0,36
	B	0,36	0,45	0,32	0,04	0,68
	Ort.	0,35	0,17	0,06	0,04	0,68
	K ₀	2,62	0,16	0,11	2,51	2,73
	K ₁	2,83	0,06	0,04	2,79	2,87
	C _{16:1 cis 9} A	2,77	0,06	0,04	2,72	2,81
	B	2,75	0,16	0,12	2,63	2,86
	Ort.	2,74	0,12	0,04	2,51	2,87
Margarik asit	K ₀	1,14	0,01	0,01	1,13	1,15
	K ₁	1,28	0,05	0,04	1,24	1,31
	C _{17:0} A	1,19	0,10	0,07	1,12	1,26
	B	1,22	0,21	0,15	1,07	1,37
	Ort.	1,21	0,10	0,04	1,07	1,37
Anteizo margarik asit	K ₀	1,05	0,04	0,03	1,02	1,07
	K ₁	1,08	0,00	0,00	1,08	1,08
	C _{17:0 ante} A	1,11	0,04	0,03	1,08	1,14
	B	1,13	0,18	0,13	1,00	1,25
	Ort.	1,09	0,08	0,03	1,00	1,25
Stearik asit	K ₀	16,47	0,53	0,38	16,09	16,84
	K ₁	16,31	0,47	0,34	15,97	16,64
	C _{18:0} A	16,03	0,01	0,01	16,02	16,03
	B	16,01	0,81	0,57	15,43	16,58
	Ort.	16,20	0,46	0,16	15,43	16,84
Oleik asit	K ₀	24,47	0,35	0,25	24,22	24,72
	K ₁	22,80	0,19	0,14	22,66	22,93
	C _{18:1 cis 9} A	23,51	0,34	0,24	23,27	23,75
	B	23,37	2,16	1,53	21,84	24,90
	Ort.	23,54	1,06	0,37	21,84	24,90

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği.

Tablo 34. (Devamı)

Yağ asidi	Örnek	Ortalama (%)	Standart sapma	Standart Hata	En az (%)	En çok (%)
Linoleik asit	K ₀	2,21	0,13	0,10	2,11	2,30
	K ₁	2,41	0,07	0,05	2,36	2,46
	A	2,36	0,05	0,04	2,32	2,39
	B	2,34	0,19	0,14	2,20	2,47
	Ort.	2,33	0,12	0,04	2,11	2,47
Konjuge linoleik asitler	K ₀	0,36	0,05	0,04	0,32	0,39
	K ₁	0,44	0,01	0,01	0,43	0,44
	A	0,41	0,00	0,00	0,41	0,41
	B	0,42	0,05	0,04	0,38	0,45
	Ort.	0,40	0,04	0,01	0,32	0,45
γ -Linolenik asit	K ₀	0,50	0,01	0,01	0,49	0,50
	K ₁	0,55	0,04	0,03	0,52	0,58
	A	0,54	0,05	0,04	0,50	0,57
	B	0,54	0,12	0,09	0,45	0,62
	Ort.	0,53	0,06	0,02	0,45	0,62
İzononadekan oik asit	K ₀	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	K ₁	0,14	0,01	0,01	0,13	0,15
	A	0,07	0,09	0,07	0,00	0,13
	B	0,08	0,11	0,08	0,00	0,15
	Ort.	0,07	0,08	0,03	0,00	0,15
Araşidik asit	K ₀	0,42	0,03	0,02	0,40	0,44
	K ₁	0,43	0,01	0,01	0,42	0,44
	A	0,38	0,06	0,04	0,34	0,42
	B	0,43	0,04	0,03	0,40	0,45
	Ort.	0,41	0,04	0,01	0,34	0,45
Araşidonik asit	K ₀	0,57	0,00	0,00	0,57	0,57
	K ₁	0,64	0,00	0,00	0,64	0,64
	A	0,49	0,13	0,09	0,40	0,58
	B	0,43	0,33	0,23	0,20	0,66
	Ort.	0,53	0,16	0,06	0,20	0,66

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği.

Bütirik asit (C_{4:0})

Adından da anlaşılacağı üzere bütirik asit, tereyağına özgü bir yağ asididir. Düşük karbon sayısı uçucu olma özelliği sağlarken, aromatik karakteristiği özellikle lipolitik aktivitenin ileri safhalarında tereyağında ransit tat olarak karşımıza çıkmaktadır (Collins *et al.* 2003; Kondyli *et al.* 2003; Georgala *et al.* 2004; Poveda and Cabezas 2006).

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin bütirik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %1,44, K₁ örneğinde %1,47, A örneğinde %1,54 ve B örneğinde %1,60 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin bütirik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Şengül vd (2003), Trabzon tereyağlarının yağ asidi kompozisyonunu belirledikleri çalışmalarda, C_{4:0} oranını en düşük %1,86, en yüksek %3,10 ve ortalama %2,13 olarak tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağının yağ asidi kompozisyonunu araştırdıkları çalışmalarında C_{4:0} oranını yaz, kış ve ilkbaharda sırasıyla ortalama %3,16, %3,35 ve %3,12 olarak belirlemişlerdir. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada, tereyağlarında C_{4:0} oranını %4,70 ve %5,09 olduğunu bildirmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin bütirik asit miktarlarının %3,24 ile %3,28 arasında olduğunu bildirmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağının bazı kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmalarında C_{4:0} oranını %1,98 olarak tespit etmişlerdir. Rutkowska ve Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağlarının yağ asidi profillerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin C_{4:0} oranlarının %2,2 ile %2,9 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağlarının yağ asidi kompozisyonlarını araştırdıkları çalışmalarında C_{4:0} oranını en az %1,81, en çok %2,17 ve ortalama %1,94 olarak belirlemişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin C_{4:0} oranını %2,64 ile %2,71 arasında belirlemiştir. O'calligan *et al.* (2016), farklı beslenme sistemlerinin tereyağının bazı parametreleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin C_{4:0} oranının %3,33 ile %3,81 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Putjens *et al.* (2017), Hollanda'da 3 farklı beslenme şekli (konvansiyonel, organik ve mera) ile yetiştirilen hayvanların sütünden elde edilen tereyağlarının bazı özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, C_{4:0} oranını konvansiyonel, organik ve mera beslenme sisteminde üretilen tereyağlarında ortalama olarak sırasıyla %3,99, %4,02 ve %3,99 olarak belirlemişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin C_{4:0} oranını %0,27 ile %0,33 arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı

örneklerinin C_{4:0} oranının %0,13 ile %0,73 arasında; ortalamanın ise %0,47 olduğunu beyan etmişlerdir.

Elde edilen veriler literatür ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile C_{4:0} oranının literatürdeki verilerden düşük olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, Sert ve Mercan (2020) ile Akgül vd (2020)'nin elde etmiş olduğu sonuçlardan yüksek olduğu belirlenmiştir.

Kaproik asit (C_{6:0})

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %1,45, K₁ örneğinde %1,62, A örneğinde %1,58 ve B örneğinde %1,64 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin kaproik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Şengül vd (2003), Trabzon tereyağlarının yağ asidi kompozisyonunun araştırıldığı çalışmalarında örneklerin en düşük ve en yüksek kaproik asit miktarını %2,21 ve %3,37 olarak, ortalama ise %2,72 olarak tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında kaproik asit miktarının mevsimlere bağlı olarak %2,16 ile %2,35 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. Kesler (2008), çalışmasında tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarını %2,02 ile %2,18 değerleri arasında bulmuştur. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında kaproik asit miktarının ortalama %1,21 olduğunu belirtmişlerdir. Rutkowska ve Adamska (2011), Polonya'nın kuzydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarlarının %1,6 ile %2,3 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. O'calligan *et al.* (2016), farklı beslenme sistemlerinin tereyağının bazı parametreleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin kaproik asit oranının %1,98 ile %1,72 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Tosun (2016), EPS üreten starter kültürlerin tereyağında kullanımını araştırdığı çalışmasında deneme tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarının %1,73 ile %1,77 arasında değiştiğini tespit etmiştir. Özcan vd (2016), Trabzon'da üretilen tereyağlarının kaproik asit oranlarının %1,43 ile %1,66 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'ın farklı illerinden temin ettikleri 12 tereyağı örneğinin kaproik asit miktarlarının %0,32 ile %2,5 arasında olduğunu belirtmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmalarında tereyağı örneklerinin kaproik asit oranının %2,33 ile %2,39 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarını %0,46 ile %0,56 arasında belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının kaproik asit oranlarının %0,16 ile %0,95 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Deneme tereyağı örneklerinin kaproik asit miktarları literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile uyumluluk içinde olduğu görülmekle birlikte, Şengül vd (2003), Ledoux *et al.* (2005), Kesler (2008) ve Pustjens *et al.* (2017)'un tespit ettiği değerlerden düşük; Sert ve Mercan (2020) ve Akgül vd (2020a)'nin bulmuş olduğu değerlerden ise yüksek olduğu görülmektedir.

Kaprilik asit (C_{8:0})

Deneme tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %1,26, K₁ örneğinde %1,47, A örneğinde %1,39 ve B örneğinde %1,44 olarak tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin kaprilik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), yılın farklı dönemlerinde topladıkları Fransız tereyağı örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada kaprilik asit miktarlarının %1,42 ile %1,56 arasında olduğunu ortaya koymuşlardır. Şengül vd (2003), Trabzon tereyağlarının yağ asidi kompozisyonlarını araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarını en düşük %5,70, en yüksek %8,81 ve ortalama %6,84 olarak bulmuşlardır. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında kaprilik asit miktarının mevsimlere bağlı olarak %1,32 ile %1,45 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarını %1,42 ve %1,35 olarak bulmuşlardır. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarını %1,25 ile %1,35 arasında olduğunu tespit etmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında kaprilik asit miktarının %2,80 olduğunu rapor etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarının %1,0 ile %1,4 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. O'calligan *et al.* (2016), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin kaprilik asit oranlarını %0,97 ile %1,06 arasında bulmuşlardır. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarının %1,05 ile %1,07 arasında değiştiğini bildirmiştir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağlarının kaprilik asit miktarlarının %0,94 ile %1,1 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada kaprilik asit oranlarını %1,36 ile %1,40 arasında bulmuşlardır. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'ın farklı illerinden temin ettikleri 12 tereyağı örneğinin kaprilik asit miktarlarının %0,23 ile %1,20 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. Sert ve Mercan (2020), termosonikasyon uygulamasının tereyağının bazı özellikleri üzerine etkisini inceledikleri çalışmalarında deneme tereyağı örneklerinin kaprilik asit miktarlarını %0,82 ile %0,92 arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon

tereyağlarının bazı kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin kaprilik asit oranlarının %0,29 ile %1,19 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Kaprilik asit miktarları üzerine elde edilen veriler literatürdeki çalışmalarda elde edilen veriler ile kıyaslandığında, genel itibari ile uyumluluk sergilediği görülmektedir. Bununla birlikte elde edilen sonuçların Şengül vd (2003) ve Samet-Bali *et al.* (2009)'un tespit ettiği değerlerden düşük; Tosun (2016), Özcan vd (2016), O'calligan *et al.* (2016), Incheh *et al.* (2017), Sert ve Mercan (2020) ve Akgül vd (2020a)'nin bulmuş olduğu değerlerden ise yüksek olduğu görülmektedir.

Kaprik asit (C_{10:0})

Deneme tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %3,65, K₁ örneğinde %3,95, A örneğinde %3,88 ve B örneğinde %3,89 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin kaprik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Şengül vd (2003) yapmış oldukları çalışmada, Trabzon tereyağlarının kaprik asit miktarını %12,45 ile %17,62 arasında ve ortalama %14,82 olarak bulmuşlardır. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında kaprik asit miktarını %2,90 ile %3,25 değerleri arasında bulmuşlardır. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kaprik asit miktarını kontrol örneğinde %2,85 olarak belirlemişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarını %2,78 ile %3,05 değerleri arasında bulmuştur. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında kaprik asit miktarını ortalama %0,31 olarak tayin etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), hayvan diyetinin tereyağının bazı özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinde kaprik asit miktarını %3,32 ile %4,33 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Rutkowska and Adamska (2011) yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarlarının %2,1 ile %3,3 arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Tosun (2016) EPS üreten starter kültürlerin tereyağı üretiminde kullanımını araştırdığı çalışmada, üretmiş olduğu deneme tereyağı örneklerinin kaprik asit oranlarının %2,32 ile %2,37 arasında olduğunu bildirmiştir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağı örneklerinin kaprik asit oranlarının %2,15 ile %2,63 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. O'calligan *et al.* (2016), yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarının %2,20 ile %2,37 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'ın farklı illerinden temin ettikleri 12 tereyağı örneğinin kaprik asit miktarlarının %0,84 ile %1,84 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarının %3,13 ile %3,25 arasında olduğunu

beyan etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada, deneme tereyağı örneklerinin kaprik asit oranlarını %1,20 ile %1,48 arasında belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin kaprik asit miktarlarının %0,34 ile %3,25 arasında olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait kaprik asit verileri daha önce yapılmış olan çalışmalar ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile literatürde yer alan verilerden bir derece yüksek olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, Şengül vd (2003)'nin elde etmiş olduğu sonuçlardan oldukça düşüktür.

Laurik asit (C_{12:0})

Deneme tereyağı örneklerinin laurik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %3,65, K₁ örneğinde %3,95, A örneğinde %3,88 ve B örneğinde %3,89 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin laurik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağları üzerine yapmış oldukları çalışmada laurik asit miktarını %3,50 ile %3,99 değerleri arasında bulmuşlardır. Şengül vd (2003), Trabzon tereyağı örneklerinin laurik asit miktarlarını %2,81 ile %8,87 arasında ve ortalama %4,78 olarak tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında laurik asit miktarını %3,20 ile %3,62 değerleri arasında bulmuşlardır. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağı örneğinde laurik asit miktarını %3,19, balıkyağı ve ayçiçekyağı ile destekledikleri diyet ile besledikleri hayvanların sütlerinden imal edilen tereyağı örneklerinde ise %2,92 olarak tespit etmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinde laurik asit miktarının %3,23 ile %3,57 değerleri arasında olduğunu belirtmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında laurik asit miktarının %3,30 olduğunu bildirmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Kuzeydoğu Polonya'da üretilen tereyağı örneklerinin laurik asit miktarının %2,50 ile %3,70 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. O'calligan *et al.* (2016), besleme sisteminin tereyağların bazı özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında tereyağı örneklerinin laurik asit oranlarının %2,52 ile %2,74 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin laurik asit oranlarının %2,73 ile %2,79 arasında değiştiğini rapor etmiştir. Özcan vd (2016), yapmış oldukları çalışmada Trabzon tereyağı örneklerinin laurik asit oranlarını %2,79 ile %3,32 arasında bulmuşlardır. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sistemlerinden elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde laurik asit miktarının %3,78 ile %4,05

arasında değerlerde değiştiğini tespit etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağı örneklerinin laurik asit oranlarının %0,66 ile %2,45 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin laurik asit oranlarını %1,32 ile %1,50 arasında belirlemişlerdir. Akgül (2020a), Trabzon tereyağlarında laurik asit miktarının %1,68 ile %4,36 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır.

Deneme tereyağı örneklerinin sahip olduğu laurik asit miktarları, tereyağının yağ asidi profilini belirlemeye yönelik daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, bir uyumluluk içerisinde olduğu söylenebilir. Bununla birlikte, Tosun (2016), Incheh *et al.* (2017) ve Sert ve Mercan (2020)'ın elde etmiş olduğu değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Tridekanoik asit (C_{13:0})

Tridekanoik asit, doğada ilk olarak hindistan cevizi yağından izole edilmiştir (Jantzen and Witgert, 1939). Tereyağında ise ilk tespiti 1955 yılında Shorland ve arkadaşları tarafından yapılmıştır (Shorland *et al.* 1955). Erime noktası 41°C olan (Metin 2011) tridekanoik asit süt yağının minör bileşenlerindendir. Deneme tereyağı örneklerinin tridekanoik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,14, K₁ örneğinde %0,15, A örneğinde %0,14 ve B örneğinde %0,15 değerlerinde tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin tridekanoik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağları üzerine yapmış oldukları çalışmada laurik asit miktarını %0,10 ile %0,11 değerleri arasında bulmuşlardır. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında tridekanoik asit miktarının tüm örneklerde %0,11 değerinde olduğunu bulmuşlardır. Hurtaud *et al.* (2010), hayvan diyetinin tereyağının bazı özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinde tridekanoik asit miktarını %0,09 ile %0,15 arasında tespit etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada tüm deneme tereyağı örneklerinin tridekanoik asit oranlarını %0,21 olarak belirlemiştir. O'calligan *et al.* (2016), besleme sisteminin tereyağların bazı özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında tereyağı örneklerinin tridekanoik asit oranlarının %0,04 ile %0,05 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Özcan vd (2016), yapmış oldukları çalışmada Trabzon tereyağı örneklerinin tridekanoik asit oranlarını tüm örneklerde %0,09 olarak bulmuşlardır.

Deneme tereyağı örneklerinin tridekanoik asit oranları, literatürde bulunan veriler ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile uyumluluk sergilediği görülmektedir.

Miristik asit (C_{14:0})

Deneme tereyağı örneklerinin miristik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %11,81, K₁ örneğinde %11,64, A örneğinde %11,82 ve B örneğinde %11,81 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin miristik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), yılın farklı dönemlerinde topladıkları Fransız tereyağı örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada miristik asit oranının %11,03 ile %12,08 değerleri arasında olduğunu belirlemişlerdir. Şengül vd (2003), yapmış olduğu çalışmada Trabzon tereyağı örneklerinin miristik asit miktarını %9,26 ile %14,55 arasında ve ortalama %11,80 olarak tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında miristik asit miktarını %9,63- %10,44 değerleri arasında bulmuşlardır. Jones *et al.* (2005), kontrol tereyağı örneğinde miristik asit miktarını %10,91 olarak tespit etmişlerdir. Ortiz-Gonzalez *et al.* (2007), modifiye ettikleri süt örneklerinden ürettikleri tereyağları üzerine yaptıkları çalışmada miristik asit miktarının kontrol tereyağında %10,34 olduğunu belirlemişlerdir. Kesler (2008), tereyağı örnekleri üzerinde yaptığı araştırmada miristik asit miktarının %11,29 ile %12,69 arasında olduğunu bulmuştur. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında miristik asit miktarının %11,38 olduğunu belirtmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin miristik asit değerlerinin %10,6 ile %12,4 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Kuzeydoğu Polonya'da üretilen tereyağı örneklerinin miristikasit miktarının %9,7 ile %11,8 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağlarının yağ asidi profilini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin miristik asit miktarlarının %10,75 ile %12,00 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Tosun (2016), EPS üreten starter kültürlerin tereyağı üretiminde kullanımını araştırdığı çalışmasında, deneme tereyağı örneklerinin miristik asit değerlerini %10,41 ile %10,56 arasında tespit etmiştir. O'calligan *et al.* (2016), yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin miristik asit oranlarının %7,74 ile %8,36 arasında olduğunu belirlemişlerdir. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağı örneklerinin miristik asit oranlarının %6,82 ile %11,23 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin miristik asit değerlerini %11,75 ile %12,00 arasında belirlemişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin miristik asit oranlarının %8,97 ile %9,20 arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağı örneklerinin miristik asit oranlarının %3,40 ile %14,42 arasında değiştiğini ve ortalamanın %10,77 olduğunu beyan etmişlerdir.

Deneme tereyağı örneklerinin sahip oldukları miristik asit değerleri, daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen verilerle karşılaştırıldığında, genel itibari ile uyumluluk sergilediği; O'calligan *et al.* (2016) ile Sert ve Mercan (2020)'ın elde etmiş olduğu verilerden ise yüksek olduğu görülmektedir.

Miristoleik asit ($C_{14:1}$ cis 9)

Deneme tereyağı örneklerinin miristoleik asit miktarları ortalama olarak K_0 örneğinde %1,70, K_1 örneğinde %1,91, A örneğinde %1,83 ve B örneğinde %1,86 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin miristik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Wolff *et al.* (1995) yapmış oldukları çalışmada, Fransız tereyağlarında miristoleik asit miktarlarının mevsimlere bağlı olarak %0,88 ile %1,12 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ortiz-Gonzalez *et al.* (2007), modifiye ettikleri süt örneklerinden ürettikleri deneme tereyağı örneklerinde yaptıkları analizde miristoleik asit miktarının kontrol tereyağında %1,31 olduğunu belirlemişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin miristoleik asit miktarını %1,06-%1,11 değerleri arasında bulmuştur. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında miristoleik asit miktarını %1,14 olarak tespit etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010) yapmış oldukları çalışmalarında, kontrol tereyağının miristoleik asit miktarının %1,21 olduğunu ortaya koymuşlardır. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağlarının bazı özelliklerini inceledikleri çalışmalarında, tereyağı örneklerinin miristoleik asit oranlarının %0,9 ile %1,3 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Oeffner *et al.* (2013), yapmış oldukları çalışmada kontrol örneğinde miristoleik asit miktarının %1,12 olduğunu tespit etmişlerdir. O'calligan *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin miristoleik asit miktarlarının %0,70 ile %0,82 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Özcan vd (2016), yapmış oldukları çalışmada Trabzon tereyağlarının miristoleik asit oranlarının %1,49 ile %1,82 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin miristoleik asit oranlarını %1,51 ile %1,56 arasında belirlemiştir. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin miristoleik asit oranlarının %1,03 ile %1,08 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin miristoleik asit miktarının %0,84 ile %1,55 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının miristoleik asit oranlarının %0,25 ile %1,85 arasında değiştiğini ve ortalamanın %1,32 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Deneme tereyağı örneklerinin miristoleik asit değerleri literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, elde edilen verilerin genel itibari ile literatürde yer alan verilerden az bir miktar yüksek olduğu görülmektedir.

Pentadekanoik asit (C_{15:0})

Pentadesilik asit olarak da adlandırılan pentadekanoik asit, doğada nadir olarak rastlanmasına rağmen süt yağında en yaygın bulunan tek karbon sayılı yağ asitlerinden biridir (Jost 2007). Tereyağı, pentadekanoik asitin insan diyeti için temel kaynağıdır. Bu yüzden pentadekanoik asit tereyağı tüketiminin bir göstergesi olarak genellikle bir marker olarak kullanılmaktadır (Smedman *et al.* 1999). Deneme tereyağı örneklerinin pentadekanoik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,57, K₁ örneğinde %0,65, A örneğinde %0,62 ve B örneğinde %0,63 değerlerinde tespit edilmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin pentadekanoik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), yılın farklı dönemlerinde topladıkları Fransız tereyağı örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada pentadekanoik asit oranının %1,13 ile %1,20 değerleri arasında olduğunu belirlemişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında pentadekanoik asit miktarının %0,96 ile % 0,99 değerleri arasında olduğunu bulmuşlardır. Hurtaud *et al.* (2010), hayvan diyetinin tereyağının bazı özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinde pentadekanoik asit miktarını %0,90 ile %1,14 arasında tespit etmişlerdir. Erkaya vd (2015) probiyotik tereyağı üretimi yaptıkları çalışmada, deneme tereyağı örneklerinin pentadekanoik asit oranlarının %1,53 ile %1,61 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Özcan vd (2016), yapmış oldukları çalışmada Trabzon tereyağlarının pentadekanoik asit oranlarının %1,07 ile %1,46 arasında değiştiğini belirlemişlerdir. O'calligan *et al.* (2016), yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin pentadekanoik asit oranlarının %0,81 ile %1,00 arasında olduğunu belirlemişlerdir.

Deneme tereyağı örneklerinin pentadekanoik asit oranlarının genel itibari ile literatürde bulunan verilerden daha düşük olduğu görülmektedir.

Sarkinik asit (C_{15:0 anteiso})

Sütte bulunan diğer tek karbon sayılı ve dallanmış zincirli yağ asitleri gibi sarkinik asidin de kaynağının 1962'den beri (Keeney *et al.* 1962) memeli işkembesinde bulunan bakteriyel flora olduğu kabul edilmektedir. Sarkinik asit üzerine literatürde detaylı bilgi bulunmamakla birlikte, in vitro koşullarda meme kanser hücrelerine karşı aktivite gösterdiğine dair (Wongtangintharn *et al.* 2004) çalışmalar mevcuttur. Analiz sonucunda

deneme tereyağı örneklerinin sarkinik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %1,23, K₁ örneğinde %1,40, A örneğinde %1,40 ve B örneğinde %1,35 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin sarkinik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995) Fransız tereyağları üzerine yapmış olduğu çalışmada, tereyağı örneklerinin sarkinik asit miktarını mevsimsel olarak %0,37 ile %0,67 değerleri arasında bulmuşlardır. Hurtaud *et al.* (2010), sağmal hayvanlarda farklı beslenme sistemlerinin tereyağının yağ asidi kompozisyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol tereyağının sarkinik asit oranını %0,43 olarak beyan etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen sarkinik asit değerlerinin literatürde yer alan verilerden yüksek olduğu görülmektedir.

Palmitik asit (C_{16:0})

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %21,48, K₁ örneğinde %21,09, A örneğinde %21,30 ve B örneğinde %21,13 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin palmitik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağı örneklerinde palmitik asit miktarının %27,05 ile %33,34 değerleri arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Şengül vd (2003), Trabzon tereyağlarında palmitik asit oranlarını %19,74 ile %32,98 arasında ve ortalamayı %26,50 olarak belirlemişlerdir. Bobe *et al.* (2003), yağ asidi kompozisyonunun tereyağı tekstürü üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının %25,32 ile %30,83 değerleri arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağı örneklerinde palmitik asit oranlarının %22,27 ile %26,24 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmalarında kontrol tereyağı örneğinin ortalama palmitik asit oranını %30,50 olarak rapor etmişlerdir. Ortiz-Gonzalez *et al.* (2007), modifiye ettikleri süt örneklerinden ürettikleri tereyağları üzerine yaptıkları çalışmada palmitik asit oranının %31,68 olduğunu tespit etmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının %31,22 ile %33,89 olduğunu bildirmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında palmitik asit oranının ortalama %32,04 olarak beliremişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağı örneğinin palmitik asit oranının %32,7 olduğunu tespit etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının mevsimsel olarak %25,7 ile %34,6 arasında değiştiğini rapor

etmişlerdir. Erkaya vd (2015) probiyotik tereyağı üretimi yaptıkları çalışmada, deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının %36,98 ile %38,7 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Özcan vd (2016), yapmış oldukları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının %30,43 ile %34,24 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Tosun (2016), EPS ürete starter kültürlerin tereyağı üretiminde kullanılabilirliğini araştırdığı çalışmasında üretmiş olduğu deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarını %30,39 ile 31,28 arasında değiştiğini bulmuştur. O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı beslenme sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde palmitik asit oranını %18,42 ile %23,87 arasında tespit etmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017) yapmış oldukları çalışmalarında, tereyağı örneklerin palmitik asit oranlarının %29,66 ile %31,77 değerleri arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarının %33,85 ile %39,92 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranlarını %28,14 ile %29,08 arasında belirlemişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının palmitik asit oranlarının %28,84 ile %43,50 arasında değiştiğini, ortalamanın ise %35,15 olduğunu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada üretilen deneme tereyağı örneklerinin palmitik asit oranları literatürdeki veriler ile karşılaştırıldığında, Ledoux *et al.* (2005) ve O'calligan *et al.* (2016)'ın elde ettiği sonuçlar ile uyumlu olduğu ancak genel itibari ile değerlendirildiğinde düşük olduğu görülmektedir. Erime noktası 62,6°C olan palmitik asit, süt yağında %13,0 ile %52,0 değerleri arasında; ortalama olarak ise %28,75 değerinde bulunabilmektedir (Metin 2011). Bununla birlikte, palmitik asit oranı mevsimsel olarak değişim göstermekte ve yaz aylarında üretilen tereyağlarında en düşük oranlarda bulunabilmektedir.

İzopalmitik asit (C_{16:0} iso)

İzopalmitik asit veya 14-metilpentadekanoik asit, inek sütünde ve tereyağı gibi süt ürünlerinde bulunan 16 karbonlu dallı doymuş bir yağ asididir. Özellikle geniş getiren hayvanların içkembesinde bulunan bakteriler tarafından sentezlenmektedir (Kaneda 1991). Deneme tereyağı örneklerinin izopalmitik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,63, K₁ örneğinde %0,70, A örneğinde %0,68 ve B örneğinde %0,68 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin stearik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağlarının izopalmitik asit oranını mevsime bağlı olarak %0,24 ile %0,29 değerleri arasında belirlemişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız

tereyağı örneklerinde izopalmitik asit oranının %0,22 ile %0,25 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), sağmal hayvanlarda farklı beslenme sistemlerinin tereyağının yağ asidi kompozisyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol tereyağının izopalmitik asit oranını %1,65 olarak beyan etmişlerdir.

Bu çalışma sonucunda belirlenen deneme tereyağı örneklerinin izopalmitik asit oranları tereyağının yağ asidi kompozisyonu üzerine daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen izopalmitik asit oranları ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile elde edilen verilerin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Palmitoleik asit (C_{16:1} cis 7 + C_{16:1} cis 9)

Bu çalışmada palmitoleik asidin iki farklı yapı izomeri tespit edilmiştir (C_{16:1} cis 7 ve C_{16:1} cis 9). Yapı izomerleri aynı kapalı formüle sahip olup, çift bağın farklı karbon zincirinde bulunmasından ötürü farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan bileşiklerdir.

Deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit C_{16:1} cis 7 oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,32, K₁ örneğinde %0,37, A örneğinde %0,36 ve B örneğinde %0,36; C_{16:1} cis 9 izomeri ise ortalama olarak K₀ örneğinde %2,62, K₁ örneğinde %2,83, A örneğinde %2,77 ve B örneğinde %2,75 değerlerinde tespit edilmiştir. Deneme tereyağı örneklerinin toplam palmitoleik asit oranları ise K₀ örneğinde %2,94, K₁ örneğinde %3,20, A örneğinde %3,13 ve B örneğinde %3,11 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin palmitoleik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995) Fransız tereyağları üzerine yapmış olduğu çalışmada, tereyağı örneklerinin palmitoleik asit miktarını mevsimsel olarak %0,20 ile %0,37 değerleri arasında bulmuşlardır. Şengül vd (2003), Trabzon tereyağlarının palmitoleik asit miktarını %0,86 ile %7,42 arasında olduğunu, ortalamanın ise %2,22 olduğunu bildirmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağı örneklerinde palmitoleik asit miktarını %1,11 ile %1,20 değerleri arasında değiştiğini bulmuşlardır. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağı örneğinin palmitoleik asit miktarını %2,13 olarak tespit etmişlerdir. Ortiz-Gonzalez *et al.* (2007), yapmış oldukları çalışmada palmitoleik asit miktarının %1,49 olduğunu bildirmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit miktarının %1,29-%1,64 değerleri arasında olduğunu tespit etmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında palmitoleik asit miktarının %1,92 olduğunu tespit etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), sağmal hayvanlarda farklı beslenme sistemlerinin tereyağının yağ asidi kompozisyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol tereyağının palmitoleik asit oranını %1,65 olarak beyan etmişlerdir. Rutkowska and Adamska

(2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağlarının yağ kompozisyonlarını araştırdıkları çalışmalarında, deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarının mevsimsel olarak %1,2 ile %1,9 değerleri arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Erkaya vd (2015), yapmış oldukları çalışmalarında deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarını %1,89 ile %1,92 arasında bulmuşlardır. O'calligan *et al.* (2016), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarının %1,03 ile %1,16 değerleri arasında olduğunu bildirmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada, deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarını %1,33 ile %1,43 arasında bulmuştur. Incheh *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarının %0,42 ile %2,41 değerleri arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Özcan vd (2016), tarbzon tereyağlarının bazı özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarının %1,16 ile %1,67 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin palmitoleik asit miktarının %1,56 ile %1,72 değerleri arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin palmitoleik asit oranlarını %0,74 ile %0,95 arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının palmitoleik asit oranlarının %0,21 ile %1,94 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Genel itibari ile değerlendirildiğinde, bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait palmitoleik asit değerlerinin lietatürde yer alan çalışmalarda elde edilen değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Margarik asit ($C_{17:0}$)

Margarik asit, süt yağının yaklaşık %0,61'ini ve geviş getiren et yağının yaklaşık %0,83'ünü oluşturmaktadır. Pentadekanoik asit ile birlikte, insanların deri altı yağ dokusundaki margarik asit içeriği, yüksek süt ürünleri tüketen popülasyonlardaki uzun süreli süt yağı alımının iyi bir biyolojik belirteci olarak kabul edilmektedir (Wolk *et al.* 1998). Deneme tereyağı örneklerinin margarik asit oranları ortalama olarak K_0 örneğinde %1,14, K_1 örneğinde %1,28, A örneğinde %1,19 ve B örneğinde %1,22 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin margarik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağlarının margarik asit oranlarını mevsime bağlı olarak %0,51 ile %0,70 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağı örneklerinde margarik asit oranının %0,41 ile %0,49 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), sağmal hayvanlarda farklı beslenme sistemlerinin

tereyağının yağ asidi kompozisyonuna etkisini inceledikleri çalışmalarında, kontrol tereyağının margarik asit oranını %0,43 olarak beyan etmişlerdir. O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde margarik asit oranını %0,41 ile %0,48 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağı örneklerinin margarik asit oranlarının %0,51 ile %0,87 arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait margarik asit değerlerinin genel itibari ile literatürde belirtelen değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Anteizomargarik asit (C_{17:0} ante)

Anteizomargarik asit, sarkinik asit ile birlikte birçok bakteride membran lipidlerinin ana bileşenini oluşturmaktadır (Kaneda 1991). Yağ asidi zincirinin 3. karbonundan dallanma gösteren anteizomargarik asitin, süt yağında bulunan diğer dallanmış yağ asitleri gibi memeli işkembesinin bakteri florası tarafından sentezlendiği kabul edilmektedir. Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin anteizomargarik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %1,05, K₁ örneğinde %1,08, A örneğinde %1,11 ve B örneğinde %1,13 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak tereyağı örneklerinin anteizomargarik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağlarının anteizomargarik asit oranlarını mevsime bağlı olarak %0,45 ile %0,56 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Literatürde tereyağlarının yağ asidi profili üzerine yapılan çalışmalarda anteizomargarik asit üzerine yeterli veri bulunmamakla birlikte, bu çalışmada elde edilen verilen Wolff *et al.* (1995)'in elde ettiği verilerden yüksek olduğu görülmektedir.

Stearik asit (C_{18:0})

Deneme tereyağı örneklerinin stearik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %16,47, K₁ örneğinde %16,31, A örneğinde %16,03 ve B örneğinde %16,01 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin stearik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağlarının stearik asit oranını mevsime bağlı olarak %8,95 ile %10,96 değerleri arasında belirlemişlerdir. Bobe *et al.* (2003), yağ asidi profilinin tereyağı tekstürü üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %12,94 ile %15,08 değerlerinde olduğunu belirlemişlerdir. Şengül vd (2003) yapmış oldukları çalışmada, Trabzon tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarını %2,68 ile

%12,16 arasında ve ortalama %8,90 olarak tespit etmişlerdir. Jones *et al.* (2005) yapmış oldukları çalışmada, kontrol tereyağının stearik asit oranını %8,95 olarak bildirmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağı örneklerinde stearik asit oranının %6,41 ile %7,48 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %11,30 ile %13,42 değerleri arasında olduğunu tespit etmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus’da geleneksel şekilde üretilen tereyağı örneklerinde stearik asit oranını ortalama %18,80 olarak tespit etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada tereyağının stearik asit miktarının %7,80 ile %9,00 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya’nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinde stearik asit oranlarının mevsimsel olarak %8,4 ile %11,7 değerleri arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Erkaya vd (2015) probiyotik tereyağı üretimini araştırdıkları çalışmalarında, deneme tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %8,69 ile %9,02 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. O’calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde stearik asit oranını %6,50 ile %7,06 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinde stearik asit oranlarının %11,67 ile %11,77 arasında olduğunu bildirmiştir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %10,60 ile %12,7 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan’da üretilen tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %7,3 ile %11,8 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarının %10,11 ile %10,33 arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), kremaya termosonikasyon uygulanmasının tereyağının bazı özelliklerine etkisini inceledikleri çalışmalarında, üretilen deneme tereyağı örneklerinin stearik asit oranlarını %20,22 ile %20,45 değerleri arasında bulmuşlardır. Akgül vd (2020a), Trabzon tereyağlarının stearik asit oranının %5,00 ile %19,52 arasında değiştiğini; ortalamanın ise %14,19 olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu çalışma sonucunda belirlenen deneme tereyağı örneklerinin stearik asit oranları tereyağının yağ asidi kompozisyonu üzerine daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen stearik asit oranları ile karşılaştırıldığında, Samet-Bali *et al.* (2009) ile Akgül vd (2020a)’nin elde etmiş olduğu sonuçlarla uyumlu olduğu; Sert ve Mercan (2020)’nin elde ettiği sonuçlardan düşük olduğu; genel itibari ile değerlendirildiğinde ise literatürdeki verilerden yüksek olduğu görülmektedir.

Oleik Asit ($C_{18:1}$ cis 9)

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin oleik asit oranları ortalama olarak K_0 örneğinde %24,47, K_1 örneğinde %22,80, A örneğinde %23,51 ve B örneğinde %23,31 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak tereyağı örneklerinin oleik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağlarının oleik asit oranlarını mevsime bağlı olarak %19,16 ile %19,67 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Şengül vd (2003), Trabzon tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarını %3,42 ile %15,85 değerleri arasında; ortalamayı ise %10,24 olarak bulmuşlardır. Bobe *et al.* (2003), yağ asidi kompozisyonunun tereyağı tekstürü üzerine etkisini inceledikleri çalışmada tereyağı örneklerinin oleik oranını %21,53 ile %31,05 değerleri arasında değiştiğini belirlemişlerdir. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağının oleik asit oranının %23,09 olduğunu rapor etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında oleik asit oranlarının %12,01 ile %13,75 değerleri arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarını %22,04 ve %24,50 değerleri arasında bulmuştur. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında oleik asit oranını %21,62 olarak beyan etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), yapmış oldukları çalışmada oleik asit oranlarının %18,3 ile %24,2 değerleri arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Erkaya vd (2015), yapmış oldukları çalışmalarında deneme tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarını %20,53 ile %22,9 değerleri arasında bulmuşlardır. O'calligan *et al.* (2016) yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarının %11,79 ile %13,79 değerleri arasında olduğunu bildirmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarını %23,87 ile %27,1 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada, deneme tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarını %26,63 ile %27,42 değerleri arasında bulmuştur. Incheh *et al.* (2017), Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağlarında oleik asit oranının %21,3 ile %31,4 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada, tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarının %17,22 ile %18,24 arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarının %33,40 ile %34,50 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Akgül vd (2020a), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin oleik asit oranlarının %21,25 ile %38,97 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen oleik asit verileri, literatürde yer alan çalışmalardaki veriler ile kıyaslandığında genel itibari ile bir uyumluk içerisinde olduğu; bununla birlikte Sert ve Mercan (2020)'ın elde etmiş olduğu değerden düşük; Wolff *et al.* (1995), Şengül vd (2003),

Ledoux *et al.* (2005), O'calligan *et al.* (2016) ve Pustjens *et al.* (2017)'in elde etmiş olduğu değerlerden ise yüksek olduğu görülmektedir.

Linoleik asit (C_{18:2} cis 9,12)

Deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %2,21, K₁ örneğinde %2,41, A örneğinde %2,36 ve B örneğinde %2,34 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin linoleik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %1,74 ile %2,10 değerleri arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Şengül *et al.* (2003), Trabzon tereyağı örneklerinin iz miktarda linoleik asit içerdiğini belirlemişlerdir. Bobe *et al.* (2003), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarını %3,47 ve %3,61 olarak belirlemişlerdir. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağının linoleik asit oranının %2,11 olduğunu tespit etmişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında linoleik asit oranlarının %0,76 ile %1,07 değerleri arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Kesler (2008), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %1,49 ile %2,40 değerleri arasında değiştiğini bildirmiştir. Samet-Bali *et al.* (2009), geleneksel Tunus tereyağında linoleik asit oranının %2,41 olduğunu bildirmiştir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %2,20 ile %3,23 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinde linoleik asit oranlarının mevsimsel olarak %1,0 ile %1,5 arasında değiştiğini beyan etmişlerdir. Erkaya vd (2015), probiyotik tereyağı üretimi yaptıkları çalışmalarında, deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarını %0,63 ile %0,74 arasında tespit etmişlerdir. Tosun (2016), EPS üreten starter kültürlerin tereyağı üretiminde kullanımını araştırdığı çalışmasında, deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %2,28 ile %2,33 değerleri arasında olduğunu beyan etmiştir. O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde linoleik asit oranını %0,47 ile %1,23 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağlarının linoleik asit oranlarının %1,39 ile %2,31 arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), yapmış olduğu çalışmada Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağlarının linoleik asit oranlarının %1,37 ile %6,82 değerleri arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %1,45 ile %1,51 arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Sert ve Mercan (2020), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarını

%2,25 ile %2,63 değerleri arasında bulmuşlardır. Akgöl vd (2020a), Trabzon tereyağlarının bazı kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmada, tereyağı örneklerinin linoleik asit oranlarının %0,98 ile %7,26 değerleri arasında değiştiğini ve ortalamanın %2,10 olduğunu ortaya koymuşlardır.

Bu alışma sonucunda belirlenen deneme tereyağı örneklerinin linoleik asit oranları tereyağının yağ asidi kompozisyonu üzerine daha önce yapılmış çalışmalarda elde edilen linoleik asit oranları ile karşılaştırıldığında, Ledoux *et al.* (2005), Rutkowska and Adamska (2011), Erkaya vd (2015), O'calligan *et al.* (2016), Pustjens *et al.* (2017)'in elde etmiş olduğu değerlerden yüksek; Bobe *et al.* (2003)' in elde etmiş olduğu değerlerden ise düşük olduğu; genel itibari ile değerlendirildiğinde ise literatür ile uyum sergilediği gürölmektedir.

Konjuge linoleik asitler (KLA)

Konjuge linoleik asit (KLA) terimi, iki çift bağın her birinin cis veya trans konfigürasyonunda olabileceği bir çift bağ sistemi içeren linoleik asidin (C_{18:2} cis9,12) konumsal ve geometrik izomerlerini tanımlamaktadır. 18 karbon zinciri boyunca farklı konumlar en yaygın ve sağlıkla ilişkili aktif izomerlerin cis9,trans11-CLA ve trans10,cis12-KLA olduğu 28 farklı olası izomerin (Banni 2002) bulunabileceğini güröstermektedir (Yang *et al.* 2015). KLA, ilgi çekici biyolojik faydaları nedeniyle son yıllarda yoğun bir şekilde çalışmaktadır. KLA için açıklanan ana sağlık etkileri arasında karsinogenez, ateroskleroz, inflamasyon, obezite, diyabetin yanı sıra büyümeyi teşvik eden ve kemik oluşumunu destekleyen özellikler bulunmaktadır (Park *et al.* 1997; Belury 2002; Tricon *et al.* 2004; Jaudszus *et al.* 2005; Valeille *et al.* 2006; Park *et al.* 2010; Bergamo *et al.* 2014; Kim *et al.* 2014; Yang *et al.* 2015).

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin konjuge linoleik asit miktarları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,36, K₁ örneğinde %0,44, A örneğinde %0,41 ve B örneğinde %0,42 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin konjuge linoleik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağı örneklerinde KLA miktarını mevsimlere bağlı olarak %0,38 ile %0,74 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Dıraman (2004), İzmir'de tüketime sunulan süt ürünleri üzerinde yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin KLA oranlarını %0,43 ile %0,73 değerleri arasında bulmuştur. Jones *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada kontrol tereyağının KLA miktarını %0,53 olarak bulmuşlardır. Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağı örnekleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada KLA oranlarının %0,45 ile %0,80 değerleri arasında olduğunu bildirmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış

oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin KLA oranlarının %0,61 ile %0,74 arasında olduğunu tespit etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinde KLA oranlarının mevsimsel olarak %0,3 ile %1,3 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Erkaya vd (2015), yapmış oldukları çalışmada üretilen deneme tereyağı örneklerinin KLA oranlarının %0,84 ile %0,99 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada kremadan üretilen tüm tereyağı örneklerinin KLA miktarının %0,40 değerinde olduğunu beyan etmiştir. O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde KLA oranını %0,67 ile %1,87 değerleri arasında tespit etmişler ve KLA oranının diyetle bağlılığını ortaya koymuşlardır. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin KLA oranlarının %0,54 ile %0,86 arasında olduğunu beyan etmişlerdir. Akgül vd (2020a), yapmış oldukları çalışmada Trabzon tereyağı örneklerinin KLA oranlarının %0,15 ile %1,32 arasında değiştiğini ortaya koymuşlardır.

Bu çalışmada elde edilen KLA değerleri literatürde yer alan çalışmalardaki değerler ile karşılaştırıldığında, genel itibari ile bir uyumluk içerisinde olduğu; bununla birlikte Hurtaud *et al.* (2010), Erkaya vd (2015), O'calligan *et al.* (2016) ve Pustjens *et al.* (2017)'ın elde etmiş olduğu değerden düşük olduğu görülmektedir.

γ -Linolenik asit ($C_{18:3}$ n-6)

Esansiyel yağ asitlerinden olan γ -linolenik asit birçok fizyolojik işlev için gereklidir ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkisi ile bilinmektedir. Bununla birlikte bazı araştırmacılar sağlık üzerindeki olumsuz etkileri, özellikle proinflamatuvar yanıtı önlemek için diyetle n-6 çoklu doymamış yağ asidi alımını azaltmayı önermektedirler (Hamazaki and Okuyama 2003; Simopoulos 2008; Ailhaud 2008; Czernichow *et al.* 2010).

Deneme tereyağı örneklerinin γ -linolenik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,50, K₁ örneğinde %0,55, A örneğinde %0,54 ve B örneğinde %0,54 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin γ -linolenik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Ledoux *et al.* (2005), Fransız tereyağında γ -linolenik asit oranını ortalama %0,02 olarak bildirmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin γ -linolenik asit oranlarının %0,23 ile %0,67 arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Rutkowska and Adamska (2011), Polonya'nın kuzeydoğusunda üretilen tereyağı örneklerinde γ -linolenik asit oranlarının mevsimsel olarak %0,33 ile %0,63 arasında değiştiğini

bildirmişlerdir. Erkaya vd (2015), probiyotik tereyağı üretimi yaptıkları çalışmalarında deneme tereyağı örneklerinin γ -linolenik asit oranlarının %2,01 ile %2,16 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada deneme tereyağı örneklerinin γ -linolenik asit oranlarının %1,06 ile %1,12 arasında olduğunu rapor etmiştir. O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinde γ -linolenik asit oranını %0,03 ile %0,05 değerleri arasında tespit etmişlerdir. Özcan vd (2016), Trabzon tereyağlarında γ -linolenik asit oranını en yüksek %0,45 oranında tespit ettiğini bildirmiştir. Incheh *et al.* (2017), yapmış olduğu çalışmada Güney Azerbaycan'da üretilen 12 tereyağı örneğinden sadece bir tanesinde %0,42 oranında γ -linolenik asit bulmuşlardır. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin γ -linolenik asit oranlarının %0,01 ile %0,05 arasında olduğunu rapor etmişlerdir.

Genel itibari ile değerlendirildiğinde bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait γ -linolenik asit değerlerinin literatürde yer alan çalışmalarda elde edilen değerler ile uyumlu olduğu; Ledoux *et al.* (2005), O'calligan *et al.* (2016), ve Pustjens *et al.* (2017)'un elde etmiş olduğu değerler yüksek; Erkaya vd (2015) ve Tosun (2016)'un elde etmiş olduğu değerlerden ise düşük olduğu görülmektedir.

İzononadekanoik asit (C_{19:0} iso)

Analiz sonucunda, K₀ örneğinde izo nonadekanoik asit tespit edilememiş iken, K₁ örneğinde %0,14, A örneğinde %0,07 ve B örneğinde %0,08 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin bütirik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Araşidik asit (C_{20:0})

Deneme tereyağı örneklerinin araşidik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,42, K₁ örneğinde %0,43, A örneğinde %0,38 ve B örneğinde %0,43 değerlerinde belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin araşidik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

Wolff *et al.* (1995), Fransız tereyağı örneklerinde araşidik asit oranlarını mevsimlere bağlı olarak %0,10 ile %0,15 değerleri arasında belirlemişlerdir. Ledoux *et al.* (2005), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin araşidik asit oranlarının %0,10 ile %0,12 değerleri arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Hurtaud *et al.* (2010), yapmış oldukları çalışmada deneme tereyağı örneklerinin araşidik asit oranlarının %0,047 ile %0,070 arasında olduğunu

rapor etmişlerdir. Incheh *et al.* (2017), yapmış olduğu çalışmada Güney Azerbaycan'da üretilen tereyağlarının araşidik asit oranlarının %0,49 ile %0,77 değerleri arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), farklı beslenme sisteminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin araşidik asit oranlarının %0,07 ile %0,15 arasında olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada elde edilen deneme tereyağı örneklerine ait araşidik asit değerlerinin, Incheh *et al.* (2017)'in elde edilen değerler ile uyumlu olduğu; genel itibari ile değerlendirilğinde ise literatürde belirtelen değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Araşidonik asit (C_{20:4})

Analiz sonucunda deneme tereyağı örneklerinin araşidonik asit oranları ortalama olarak K₀ örneğinde %0,57, K₁ örneğinde %0,67, A örneğinde %0,49 ve B örneğinde %0,43 olarak belirlenmiştir. İstatistiksel olarak örneklerin araşidonik asit oranları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir (p>0,05).

O'calligan *et al.* (2016), sağmal hayvanlardan farklı diyet sistemlerinde elde edilen sütlerden üretilen tereyağı örneklerinin birinde araşidik asit tespit edemez iken diğer iki örnekte %0,07 oranında araşidonik asit tespit etmişlerdir. Pustjens *et al.* (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin araşidonik asit oranlarının %0,09 ile %0,11 arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Elde edilen sonuçların literatürde bildirilen değerler ile kıyaslandığında yüksek olduğu görülmektedir.

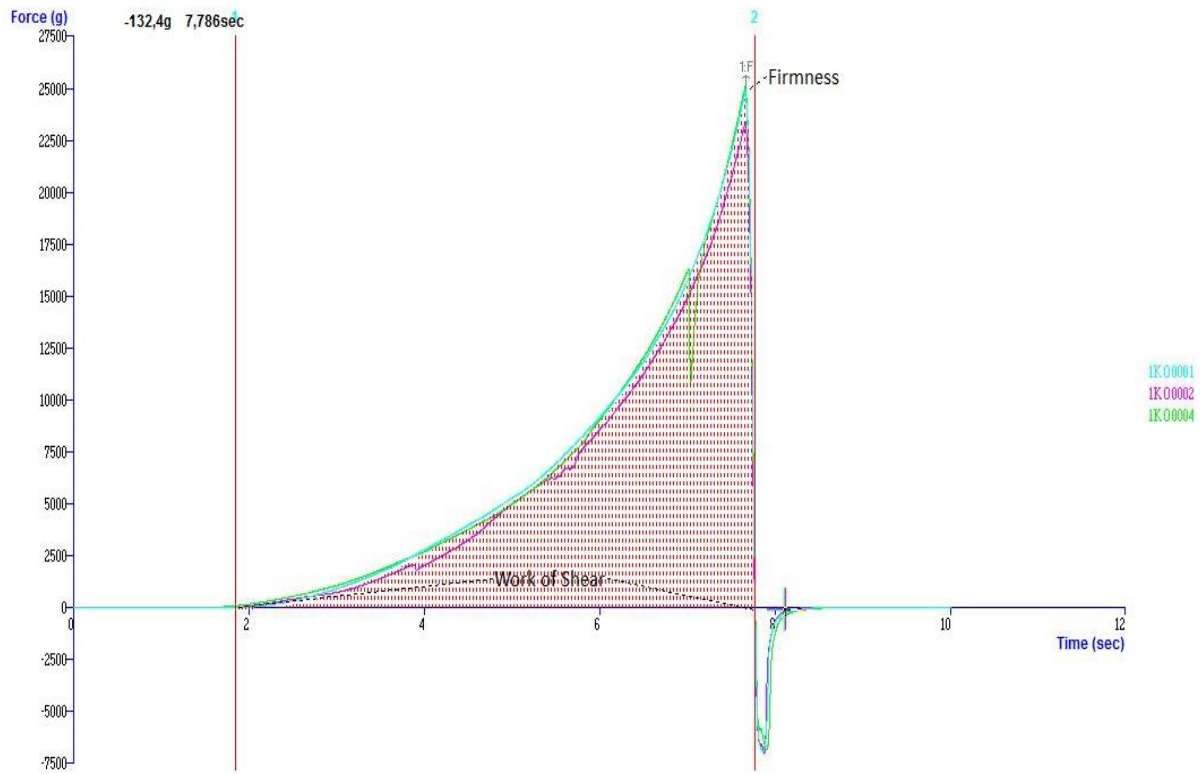
Tekstür

Tereyağı, benzersiz bir tada sahip yüksek kaliteli bir doğal ürün olarak kabul edilmekle birlikte buzdolabı sıcaklığında sürülebilirliğinin düşük olduğu iyi bilinmektedir ve bu özellik onu sürülebilir süt ürünlerine ve sofraya margarinerine nazaran tüketiciler tarafından tercih edilirliliğini olumsuz yönde etkilemektedir (Fearon 2011).

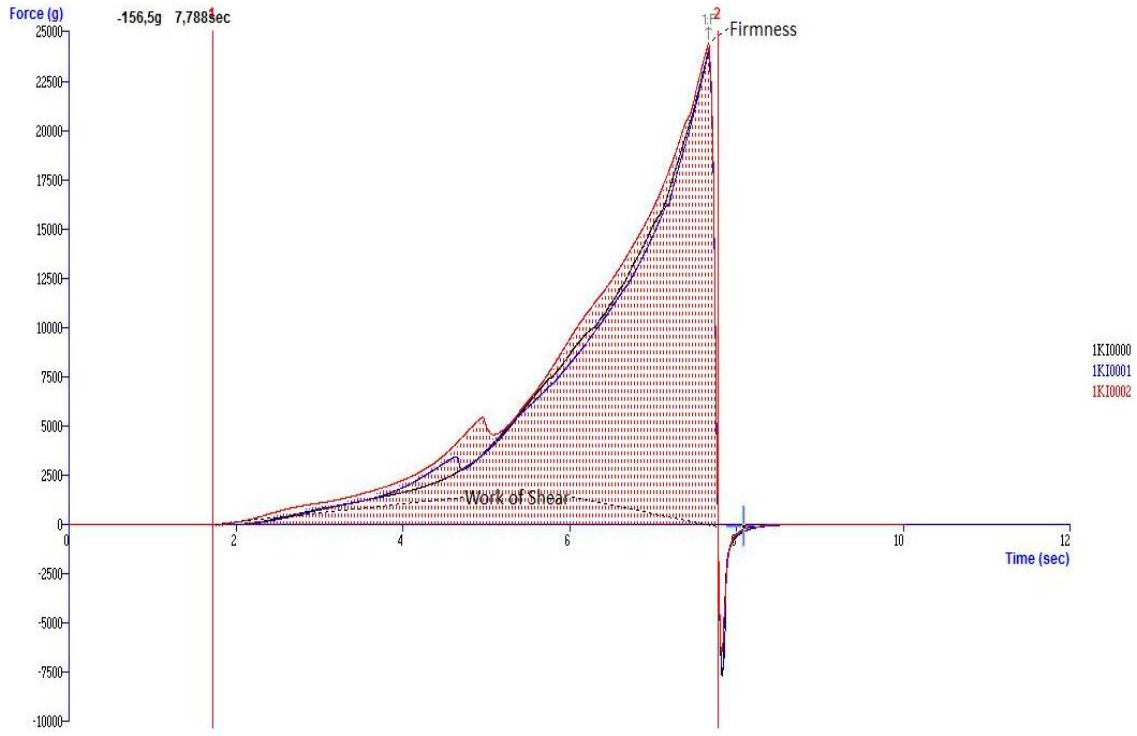
Tereyağının sürülebilirlik özelliğini etkileyen en önemli parametre hammadde olarak kullanılan süt veya kremanın yağ asidi profilidir (De Man *et al.* 1979). Nitekim erime noktası nispeten yüksek olan uzun zincirli doymuş yağ asitlerinin yüksek oranda mevcudiyeti, tereyağının daha sert olmasına sebebiyet vermektedir ki; bu durum sürülebilirliğin azalması olarak karşımıza çıkmaktadır. Keza, doymamış yağ asitlerinin daha yüksek oranda mevcudiyeti, tereyağının daha yumuşak olmasını sağlamakta ve böylelikle sürülebilirlik seviyesi artmaktadır. Ancak, doymamış yağ asitlerinin yüksek oranda bulunması tereyağının sürülebilirliğini geliştirirken hızlı oksidasyon riskini de beraberinde getirmektedir.

Tereyağının tekstürel özelliklerinin yağ asidi profiline bağlılığını gözler önüne seren en belirgin durum, yaz mevsiminde ve kış mevsiminde üretilen tereyağlarının sürülebilirlik özelliklerinin birbirinden anlamlı ölçüde farklı olmasıdır. Doymuş yağ asidi oranı daha yüksek olan kış mevsiminde üretilen tereyağları daha sert olurken, doymamış yağ asidi oranı nispeten yüksek olan yaz döneminde üretilen tereyağları daha yumuşak yapıda olmaktadır. Bu kısımda şu noktaya da temas etmek yerindedir ki; süt yağının yağ asidi profilinin yaz ve kış mevsiminde farklılık arz etmesi, hayvanın beslenme diyetinde meydana gelen farklılığın bir sonucudur. Diğer taraftan, tereyağı üretiminde uygulanan proseslerde kremanın soğutulma hızı, kristalizasyon sıcaklığı, olgunlaşma hızı ve verimliliği gibi koşullar da tereyağının tekstürel özelliklerini etkilemektedir (Ceylan ve Özcan 2020).

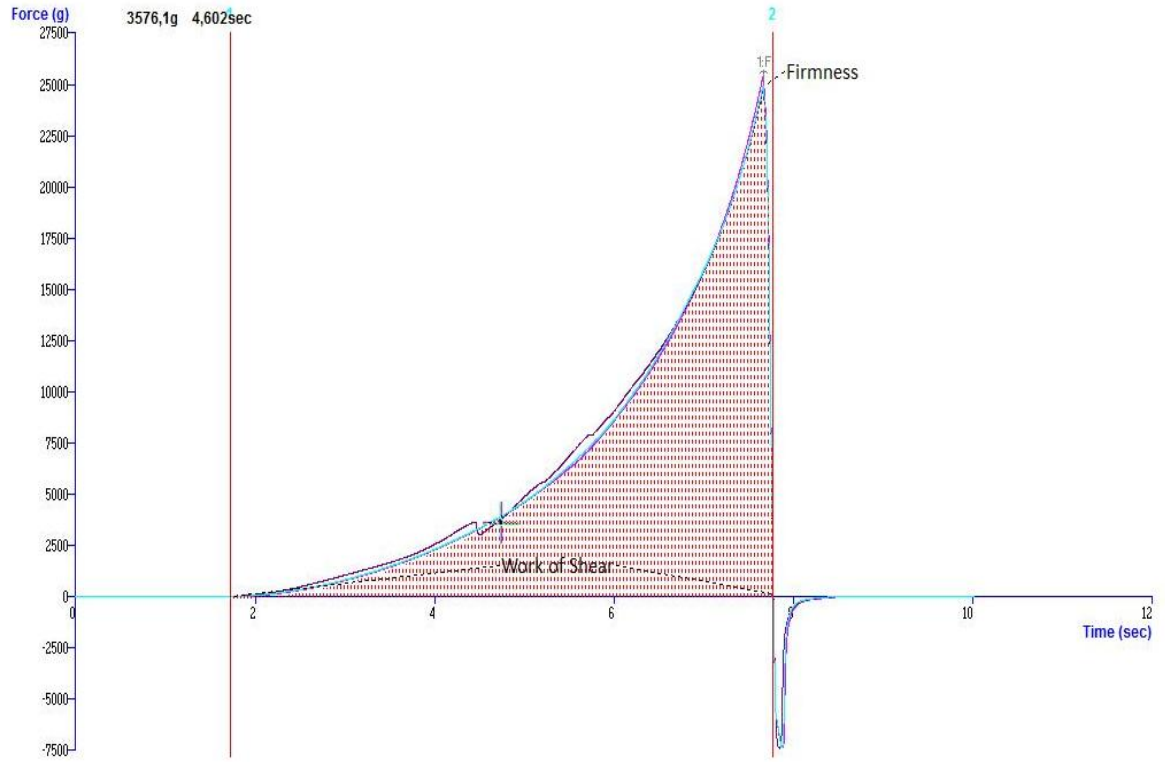
Deneme tereyağı örneklerine sürülebilirlik probu (spreadability rig) kullanılarak tekstür analizi uygulanmıştır. Örneklere ait ölçüm eğrileri Şekil 29, 30, 31 ve 32’de verilmiştir.



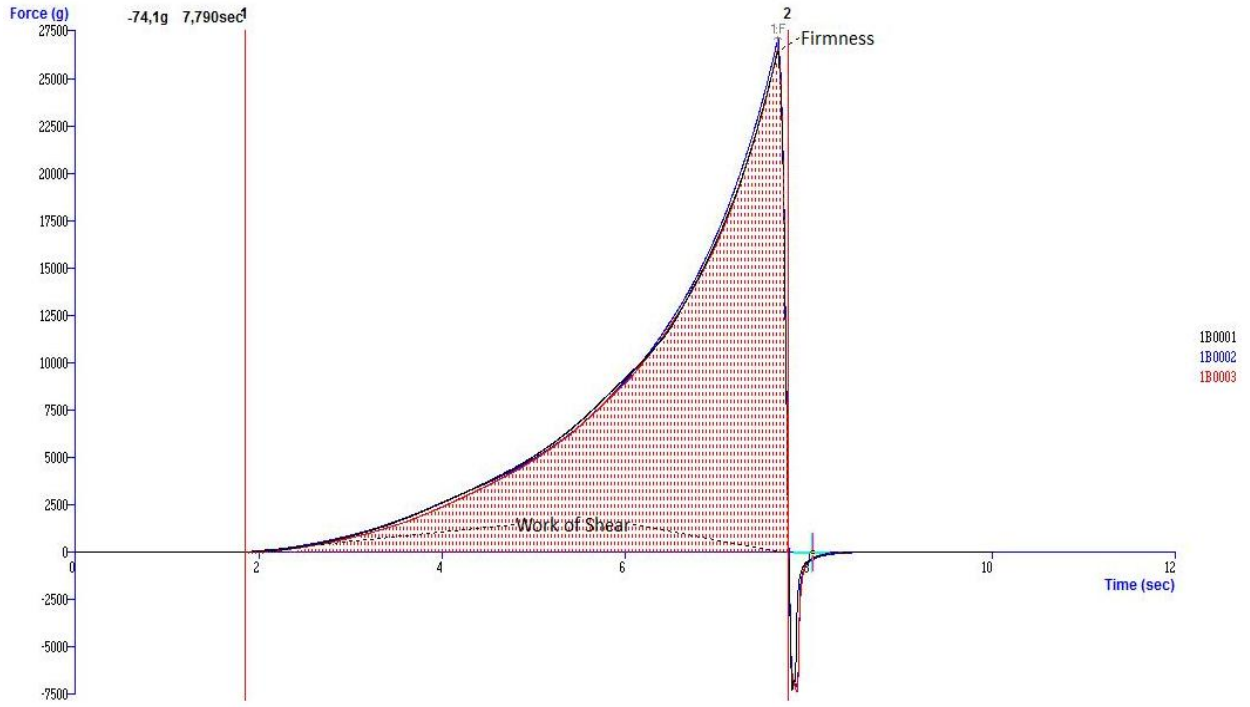
Şekil 29. K₀ örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi



Şekil 30. K₁ örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi



Şekil 31. A örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi



Şekil 32. B örneğine ait tekstür ölçüm eğrisi

Yapılan tekstür analizine ait sonuçlar Tablo 35’te verilmiştir. İstatistiksel olarak deneme tereyağı örneklerinin tekstür özellikleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0,05$).

Tablo 35. Deneme Tereyağı Örneklerinin Tekstür Analizine Ait Veriler

				Ortalama için 95% güven aralığı			
	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Alt sınır	Üst sınır	En az	En çok
Firmness N	K ₀	253,4183 ^a	16,49706	6,73490	236,1057	270,7309	229,59 272,43
	K ₁	258,0750 ^a	24,04436	9,81607	232,8420	283,3080	235,02 289,45
	A	259,9267 ^a	16,36264	6,68002	242,7551	277,0982	242,93 280,41
	B	263,7550 ^a	6,55170	2,67472	256,8794	270,6306	258,29 276,01
Work of shear N.s	K ₀	404,0617 ^a	29,32936	11,97366	373,2824	434,8409	364,74 448,06
	K ₁	400,9483 ^a	41,65327	17,00488	357,2359	444,6608	350,30 440,87
	A	402,1083 ^a	21,19799	8,65405	379,8624	424,3543	379,47 427,00
	B	412,2667 ^a	17,60932	7,18897	393,7868	430,7465	395,15 437,63

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada tereyağı örneklerinin work of shear değerlerini 11419,54 ile 22871,34 g değerleri arasında olduğunu bildirmiştir. Sert ve Mercan

(2020), kremaya uygulanan termosinaksyon işleminin tereyağının bazı özellikleri üzerine etkilerini inceledikleri çalışmada tereyağı örneklerinin sertliğini 129,10 ile 262,75 N değerleri arasında; work of shear değerini ise 176,29 ile 326,14 N.s değerleri arasında bulmuşlardır. Bu çalışmada elde edilen sertlik değerleri Sert ve Mercan (2020)'ın elde ettiği değerler ile uyumlu olduğu; work of shear değerlerinin ise Tosun (2016) ve Sert ve Mercan (2020)'ın bildirdiği değerlerden yüksek olduğu görülmektedir.

Yapılan tekstür analizi sonucunda, tereyağı üretiminde starter kullanımının ve kullanılan starter kültürün EPS üretiminin tereyağının sürülebilirlik özelliğini olumlu veya olumsuz şekilde anlamlı ölçüde etkilemediği tespit edilmiştir. Bu noktada EPS üreten starter kültür kullanımının tereyağının sürülebilirlik özelliğini geliştireceği yönündeki beklentinin karşılanmadığı görülmektedir.

Mikrobiyolojik analizler

Üretilen deneme tereyağı örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizlerin sonucu Tablo 36'da verilmiştir. Buna göre, deneme tereyağı örneklerinin hiçbirinde koliform grubu bakteri ile maya ve küf belirlenememiştir. Örneklerde bulunan TAMB sayıları 2,91 ile 8,70 log kob g⁻¹ arasında, MRS agarda gelişen LAB sayısı 1,94 ile 8,49 log kob g⁻¹ arasında ve M17 agarda gelişen LAB sayısı 2,93 ile 8,68 log kob g⁻¹ arasında tespit edilmiştir.

Tablo 36. Deneme Tereyağı Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
Koliform	K ₀		<10 kob g ⁻¹		
	K ₁		<10 kob g ⁻¹		
	A		<10 kob g ⁻¹		
	B		<10 kob g ⁻¹		
TAMB	K ₀	2,91±0,03 ^a	2,89	2,94	0,01
	K ₁	8,70±0,23 ^b	8,45	8,93	0,10
	A	8,61±0,16 ^b	8,37	8,79	0,07
	B	8,64±0,28 ^b	8,27	8,87	0,12

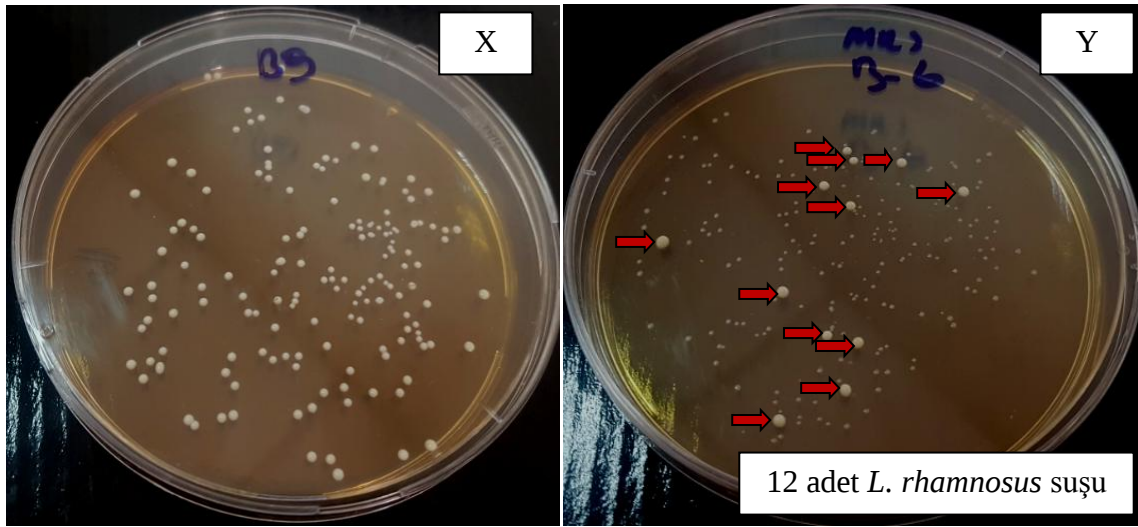
K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu (p<0,05), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını (p>0,05) ifade etmektedir.

Tablo 36. (Devamı)

		Ortalama	En az	En çok	Standart hata
LAB _{MRS}	K ₀	1,94±0,34 ^a	1,70	2,18	0,24
	K ₁	8,49±0,05 ^b	8,43	8,55	0,02
	A	8,48±0,10 ^b	8,36	8,56	0,05
	B	8,48±0,15 ^b	8,31	8,65	0,07
LAB _{M17}	K ₀	2,93±0,09 ^a	2,83	2,99	0,05
	K ₁	8,68±0,25 ^b	8,37	8,89	0,11
	A	8,63±0,16 ^b	8,41	8,75	0,07
	B	8,50±0,13 ^b	8,36	8,65	0,06
Maya ve küf	K ₀	<10 kob g ⁻¹			
	K ₁	<10 kob g ⁻¹			
	A	<10 kob g ⁻¹			
	B	<10 kob g ⁻¹			

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu (p<0,05), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını (p>0,05) ifade etmektedir.

Diğer taraftan, Şekil 33’de görüleceği üzere potansiyel probiyotik starter kültür geliştirilmesini test etmek amacıyla üretilen B kodlu deneme tereyağı örneğinde gerçekleştirilen mikrobiyolojik analiz sonucunda, bir gıdanın probiyotik olarak niteledirilmesi için ihtiva etmesi gereken en az probiyotik canlı sayısı olan 10⁷ kob g⁻¹ sayısını sağladığı tespit edilmiştir. Bu durum seçilen suşun beklenildiği gibi uyum sergilediğinin ve inokülasyon esnasında yapılan hesaplamaların doğruluğunun ve çalışmanın tutarlılığının bir göstergesidir.



Şekil 33. Potansiyel probiyotik suş ve potansiyel probiyotik tereyağı örneğinin MRS agara inokülasyonu sonucu gelişen kolonilerin karşılaştırması (X: B9 Kodlu *Lactobacillus rhamnosus* saf suşu, Y: B Kodu ile üretilen deneme tereyağı örneğinin -6. dilüsyonundan MRS agara gerçekleştirilen ekim sonucu gelişen koloniler)

Koliform sayısı

Deneme tereyağı örneklerinin -1. dilüsyonlarından gerçekleştirilen ekimler sonucunda hiçbir tereyağı örneğinde koliform grubu bakteri kolonisi gelişimi tespit edilememiştir. Bu durum, pastörizasyon işleminin etkin yapıldığının ve üretim esnasında hijyen kurallarına riayet edildiğinin; dolayısıyla mikrobiyal kontaminasyonun bulunmadığının bir göstergesidir.

Üretilen tereyağı örneklerinde koliform grubu bakteri bulunmaması beklenen ve hedeflenen bir sonuçtu. Nitekim eğer örneklerde koliform grubu bakteri belirlenmiş olsaydı, bu pastörizasyon işleminin kusurlu olduğu veya örneklerin mikrobiyal kontaminasyona maruz kaldığı anlamına gelecek ve bu yüzden söz konusu durumlar tekrar gözden geçirilerek tereyağı üretimleri tekrarlanacaktı.

TAMB sayısı

Yapılan analiz sonucunda ortalama olarak K₀ örneğinde 2,91, K₁ örneğinde 8,70, A örneğinde 8,61 ve B örneğinde 8,64 log kob g⁻¹ TAMB bulunduğu belirlenirken K₀ örneğinin içerdiği TAMB sayısı açısından K₁, A ve B örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olduğu (p<0,05); K₁, A ve B örnekleri arasında ise anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).

Erkaya vd (2015), probiyotik tereyağı üretimini test ettikleri çalışmalarında, üretmiş oldukları deneme tereyağı örneklerinin TAMB sayısının 6,60 ile 7,16 log kob g⁻¹ arasında değiştiğini rapor etmişlerdir. Tosun (2016), yapmış olduğu çalışmada ürettiği deneme tereyağı örneklerinin 6,33 ile 7,38 log kob g⁻¹ arasında TAMB ihtiva ettiğini bildirmiştir. Akgül vd

(2020a), Trabzon tereyağlarının bazı kalite parametrelerini araştırdıkları çalışmalarında 30 tereyağı örneğinin içerdiği TAMB sayısının 4,67 ile 7,86 log kob g⁻¹ değerleri arasında olduğunu ortaya koymuşlardır. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasında satılmakta olan tereyağlarının bazı kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında tereyağı örneklerinin 5,65 ile 7,96 log kob g⁻¹ TAMB ihtiva ettiğini belirlemişlerdir.

Her ne kadar TAMB sayısı mikrobiyolojik kalitenin bir göstergesi olarak nitelense de (İnal 1990; Gökçe vd 2010; Tavlaş Hocalar 2011), bu durumun yalnızca starter kültür kullanmaksızın üretilen tereyağları için kayda değer olduğu aşikârdır. Nitekim starter kültür ilave edildiği durumda, tereyağının PCA besiyerinde ekimi sonucunda özellikle kok biçimli laktik asit bakterileri de koloni gelişimi gösterdiğinden, doğal olarak TAMB sayısı yüksek olmaktadır. Bu örnek üzerinden değerlendirildiğinde, yüksek TAMB sayısının düşük kalite göstergesi olduğunu söylemek mümkün değildir.

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde, genel itibari ile literatürde yer alan veriler ile uyumluluk sergilediği görülmektedir. Bununla birlikte, starter kültür kullanılmaksızın üretilen K₀ örneğinin düşük TAMB sayısına sahip olması etkin pastörizasyonun bir belirteci olduğu söylenebilir. Söz konusu örneğin koliform sayısı (<10 log kob g⁻¹) da dikkate alındığında, mevcut TAMB sayısının (2,91 log kob g⁻¹) pastörizasyondan kurtulan patojen olmayan aerobik mezofilik bakterilerden kaynaklandığı söylenebilir. Diğer taraftan, K₁, A ve B örneklerinin TAMB sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmaması, starter kültür geliştirme çalışması açısından, seçilen suşların uyumluluk sergilediğini ve tereyağı örneği içerisinde tam olarak hedeflenen sayılara ulaşıldığının bir göstergesidir.

MRS agarda gelişen LAB sayısı

Deneme tereyağı örneklerinin MRS agara ekimi sonucunda ortalama olarak K₀ örneğinde 1,94, K₁ örneğinde 8,49, A örneğinde 8,48 ve B örneğinde 8,48 log kob g⁻¹ LAB bulunduğu tespit edilmiştir. K₀ örneğinin içerdiği LAB sayısı açısından K₁, A ve B örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olduğu (p<0,05); K₁, A ve B örnekleri arasında ise anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir (p>0,05).

Fındık (2011), Van piyasasında satışa sunulan 10 adet tereyağı örneğinde MRS agarda gelişen LAB sayısını 4,00 ile 6,99 log kob g⁻¹ değerleri arasında bulmuştur. Fındık ve Andıç (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarını 4,0 ile 7,0 log kob g⁻¹ değerleri arasında tespit etmişlerdir. Akgül vd (2020a), yapmış oldukları çalışmada 30 tereyağı örneğinin MRS agarda gelişen LAB sayısının 3,78 ile 7,55

log kob g^{-1} değerleri arasında olduğunu bildirmişlerdir. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasında satılmakta olan tereyağlarının bazı kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında inceledikleri tereyağı örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayılarını 4,65 ile 7,49 log kob g^{-1} değerleri arasında belirlemişlerdir.

Deneme tereyağı örneklerinin MRS agarda gelişen LAB sayıları literatürde yer alan veriler ile kıyaslandığında, K_0 örneğinin düşük sayıda; K_1 , A ve B örneklerinin ise literatür ile uyumlu ölçüde MRS agarda gelişen LAB'a sahip olduğu söylenebilir.

M17 agarda gelişen LAB sayısı

Üretilen tereyağı örneklerinin M17 agara ekimi sonucunda ortalama olarak K_0 örneğinde 2,93, K_1 örneğinde 8,68, A örneğinde 8,63 ve B örneğinde 8,20 log kob g^{-1} LAB bulunduğu tespit edilmiştir. K_0 örneğinin içerdiği LAB sayısı açısından K_1 , A ve B örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olduğu ($p<0,05$); K_1 , A ve B örnekleri arasında ise anlamlı bir farklılığın bulunmadığı tespit edilmiştir ($p>0,05$).

Fındık (2011), yapmış olduğu çalışmada 10 adet tereyağı örneğinin M17 agarda gelişen LAB sayısını en düşük 5,58 en yüksek ise 7,01 log kob g^{-1} olarak bildirmiştir. Fındık ve Andıç (2017), yapmış oldukları çalışmada tereyağı örneklerinin M17 agarda gelişen LAB sayılarının 5,6 ile 7,0 log kob g^{-1} değerleri arasında olduğunu rapor etmişlerdir. Akgül vd (2020a), yapmış oldukları çalışmada 30 tereyağı örneğinin M17 agarda gelişen LAB sayısının 4,30 ile 7,67 log kob g^{-1} değerleri arasında olduğunu ortaya koymuşlardır. Akgül vd (2020b), Erzurum piyasasında satılmakta olan tereyağlarının bazı kalite parametrelerini inceledikleri çalışmalarında inceledikleri tereyağı örneklerinin M17 agarda gelişen LAB sayılarını 5,30 ile 8,08 log kob g^{-1} değerleri arasında olduğunu beyan etmişlerdir.

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, K_0 örneğinin pastörizasyon işleminden ve starter kültür kullanılmamasından ötürü düşük seviyede M17 agarda gelişen LAB sayısına sahip olduğu; K_1 , A ve B örneklerinin ise starter kültür kullanımından ötürü yüksek seviyede M17 agarda gelişen LAB sayısına sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, K_1 , A ve B örneklerinin literatürde yer alan veriler ile uyumlu seviyede M17 agarda gelişen LAB sayısına sahip olduğu söylenebilir.

Maya ve küf sayısı

Üretilen deneme tereyağı örneklerinin -1. dilüsyonlarından gerçekleştirilen ekimler sonucunda hiçbir tereyağı örneğinde maya veya küf kolonisi gelişimi tespit edilememiştir. Bu durum koliform grubu bakterilerde olduğu gibi, pastörizasyon işleminin etkin şekilde

gerçekleştirildiğinin ve mikrobiyal kontaminasyonun bulunmadığının bir göstergesidir. Bu açıdan bakıldığında, hedeflenen sonuç hiçbir tereyağı örneğinde maya veya küf kolonisinin gelişmemesiydi ve bu hedefe ulaşıldığı görülmektedir.

Duyusal analiz

Deneme tereyağı örnekleri renk, tekstür, koku, lezzet, acı tat ve genel kabul edilebilirlik kriterleri açısından duysal analize tabi tutulmuştur. İlgili kriterler panelistler tarafından her tereyağı örneği için beğeni durumuna göre 1 ile 9 arasında puanlanmıştır. Deneme tereyağı örneklerine ait duysal analiz sonuçları Tablo 37’de verilmiştir.

Tablo 37. Deneme Tereyağı Örneklerinin Duyusal Analiz Sonuçları

			Ortalama için %95 güven aralığı	
			Alt sınır	Üst sınır
	Ortalama			
Renk	K ₀	7,56 ^a ±0,964	7,05	8,08
	K ₁	7,63 ^a ±0,957	7,11	8,14
	A	7,75 ^a ±0,931	7,25	8,25
	B	7,56 ^a ±1,031	7,01	8,11
Tekstür	K ₀	8,06 ^a ±1,237	7,40	8,72
	K ₁	7,94 ^a ±1,389	7,20	8,68
	A	8,00 ^a ±1,095	7,42	8,58
	B	8,00 ^a ±1,461	7,22	8,78
Koku	K ₀	6,81 ^a ±1,424	6,05	7,57
	K ₁	6,50 ^a ±1,673	5,61	7,39
	A	7,50 ^a ±1,751	6,57	8,43
	B	7,31 ^a ±1,401	6,57	8,06
Lezzet	K ₀	7,00 ^a ±1,633	6,13	7,87
	K ₁	7,38 ^a ±0,719	6,99	7,76
	A	7,69 ^a ±1,302	6,99	8,38
	B	7,75 ^a ±1,342	7,04	8,46

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu (p<0,05), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını (p>0,05) ifade etmektedir.

Tablo 37. (Devamı)

		Ortalama için %95 güven aralığı		
		Ortalama	Alt sınır	Üst sınır
Acı tat	K ₀	8,31 ^a ±0,873	7,85	8,78
	K ₁	7,94 ^a ±1,181	7,31	8,57
	A	7,63 ^a ±1,455	6,85	8,40
	B	8,31 ^a ±0,946	7,81	8,82
Genel kabul edilebilirlik	K ₀	7,06 ^a ±1,879	6,06	8,06
	K ₁	7,56 ^a ±1,153	6,95	8,18
	A	7,75 ^a ±1,125	7,15	8,35
	B	7,94 ^a ±1,436	7,17	8,70

K₀: starter kültür kullanılmayan kontrol tereyağı örneği, **K₁:** Ticari starter ile üretilen kontrol tereyağı örneği, **A:** Geliştirilen TS₁ kültürü ile üretilen tereyağı örneği, **B:** Geliştirilen TS₂ kültürü ile üretilen tereyağı örneği. Aynı sütündeki farklı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ($p<0,05$), aynı harfler örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını ($p>0,05$) ifade etmektedir.

Genel itibarı ile değerlendirildiğinde, duyu analizi sonucunda renk ve tekstür kriterlerinde tereyağı örneklerinin birbirleri ile benzer puan ortalamalarına sahip oldukları; koku, lezzet, acı tat ve genel kabul edilebilirlik kriterlerinde ise ortalama puanların farklılık arz ettiği görülmektedir. Bununla birlikte tüm kriterlerde, örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıkların oluşmadığı da tespit edilmiştir. Örneğin, koku kriterinde K₁ örneği ile A örneği arasında 1 puanlık önemli bir fark bulunmasına rağmen bu farklılık istatistiki olarak anlam kazanamamıştır. Bunun nedeni, genel beğeni belirli bir ortalamaya tekabül etse dahi, bir panelistin yüksek puan verdiği duruma, başka bir panelist aksi yönde puan verebilmekte ve böylelikle istatistiki açıdan bir tutarsızlık meydana gelebilmektedir. Ancak yine de, deneme tereyağı örneklerinin elde ettiği ortalama puan değerleri gerçekleştirilen çalışma hakkında önemli işaretler sunmaktadır.

Analiz sonucunda renk kriterinde K₀ örneğinin 7,56, K₁ örneğinin 7,63, A örneğinin 7,75 ve B örneğinin 7,56 ortalama puan aldığı belirlenmiştir. Duyu analizi sonucunda deneme tereyağı örneklerinin renk kriterinde sahip olduğu ortalama puanların birbirine yakın oluşu, entümantal olarak gerçekleştirilen renk tayini analizinde de örneklerin renklerinde anlamlı bir farklılığın bulunmaması ile tutarlılık oluşturmuştur. Renk tayini analizinde de belirtildiği üzere, starter kültür kullanımının veya EPS üreten starter kültür kullanımının tereyağının rengine bir farklılık meydana getirmediği duyusal olarak da ortaya konulmuştur.

Renk kriterine benzer şekilde aynı durum tekstür kriterinde de cereyan etmiştir. Panelistlerin vermiş oldukları puanların ortalamaları (en düşük 7,94, en yüksek 8,06), tekstürel özellikleri bakımından deneme tereyağı örneklerinin birbirine yakın oldukları sonucuna ulaşılmasını sağlamıştır. Buna paralel olarak, enstrümantal olarak gerçekleştirilen tekstür analizinde de deneme tereyağı örneklerinin tekstürel özelliklerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmediği ilgili bölümde belirtilmiştir. Bu açıdan bakıldığında, farklı kriterlerde hem duyuşal hem de enstrümantal olarak aynı sonuçlara ulaşılması gerçekleştirilen duyuşal analizin sağlıklı olduğunun ve çalışmanın tutarlılığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.

Koku kriteri incelendiğinde tereyağı örneklerinden en düşük puan ortalamasına ticari starter kültür ile üretilen K₁ örneği (6,50) sahip olurken, en yüksek ortalamaya ise geliştirilen TS₁ starter kültürü ile üretilen A örneği (7,50) sahip olmuştur. K₀ ve B örnekleri ise sırası ile 6,81 ve 7,31 ortalama puanlar almışlardır. Bilindiği üzere koku, uçucu bileşen varlığına bağlı bir parametredir. Dolayısıyla duyuşal analiz öncesinde oluşan beklenti starter kültür kullanılmadan üretilen K₀ örneğinin K₁, A ve B örneğine nispeten daha az aromaya sahip olacağı yönündeydi. K₁, A ve B örneklerinin arasındaki olası aroma farklılığı ise çalışmanın başarısını belirleyecek son derece önemli bir kriter olarak öne çıkmaktaydı. Nitekim çalışmanın önemli bir hipotezi de ithal starter kültüre alternatif olarak Türk damak tadına uygun bir starter kültür geliştirmek olduğu için geliştirilen starter kültürlerin duyuşal analizde sınıfı geçmesi gerekmektedir. Bu açıdan bakıldığında, geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürleri kullanılarak üretilen A ve B örneklerinin her ikisinin de koku kriterinde K₁ örneğinden yüksek ortalamaya sahip oluşu, çalışmanın hedeflendiği şekilde başarıya ulaştığının açık bir işareti olarak nitelendirilebilir. Genel temayülde K₁ örneğinin nispeten daha az aromatik olan K₀ örneğinden de düşük puana sahip oluşu, yüksek olasılıkla K₁ örneğinin rayihasının Türk damak tadına daha uygun olan A ve B örneklerinin varlığında damak tadına daha yabancı olarak algılanmasından kaynaklanmaktadır.

Lezzet kriterinde, en düşük ortalama puana starter kültür kullanılmadan üretilen K₀ örneğinin (7,00), en yüksek ortalama puana ise geliştirilen TS₂ starter kültürü ile üretilen B örneğinin (7,75) sahip olduğu; K₁ ve A örneklerinin ise sırası ile 7,38 ve 7,69 ortalama puana sahip olduğu belirlenmiştir. Duyuşal analiz sonucunda lezzet kriterinde en yüksek puan ortalamalarına A ve B örneklerinin sahip oluşu, çalışmanın duyuşal olarak hedeflenen başarıya ulaştığını kesin bir şekilde ortaya koymaktadır. Nitekim koku ve lezzet açısından, geliştirilen starter kültürler ile üretilen tereyağı örnekleri en yüksek puan ortalamalarına sahip

olmuşlardır. Bu sonuç, geliştirilen starter kültürlerin hedeflenen duyuşsal beğeniyi sağladığının açık bir göstergesidir.

Lezzet hususunda daha dikkat çekici bir durum, bir panelistin duyuşsal analiz formuna düştüğü notta yer almaktadır (Şekil 34). Panelist, duyuşsal analizde **147 ile kodlanan K₁ örneğinin, marka adı da belirterek “margarin tadına benzer bir tad ile aromalandırılmış olabileceğini”** beyan etmiştir. Bu durum, ithal starter kültürün Türk damak tadına uyumlu olmamasının bir sonucudur. Panelist, K₁ örneğindeki rayihayı tespit etmiş ancak, bu tadı A ve B örneğine nazaran yabancı olarak algılamış ve bunu margarin tadı olarak ifade etmiştir. Halbuki, örneklerin hammadde ve üretim prosesleri tamami ile eştir; yalnızca starter kültür farklılığı mevcuttur. Aynı şekilde benzer algının hissedildiği, duyuşsal analiz sonunda panelistler ile yapılan söyleşiler esnasında bazı panelistlerce de dile getirilmiştir.

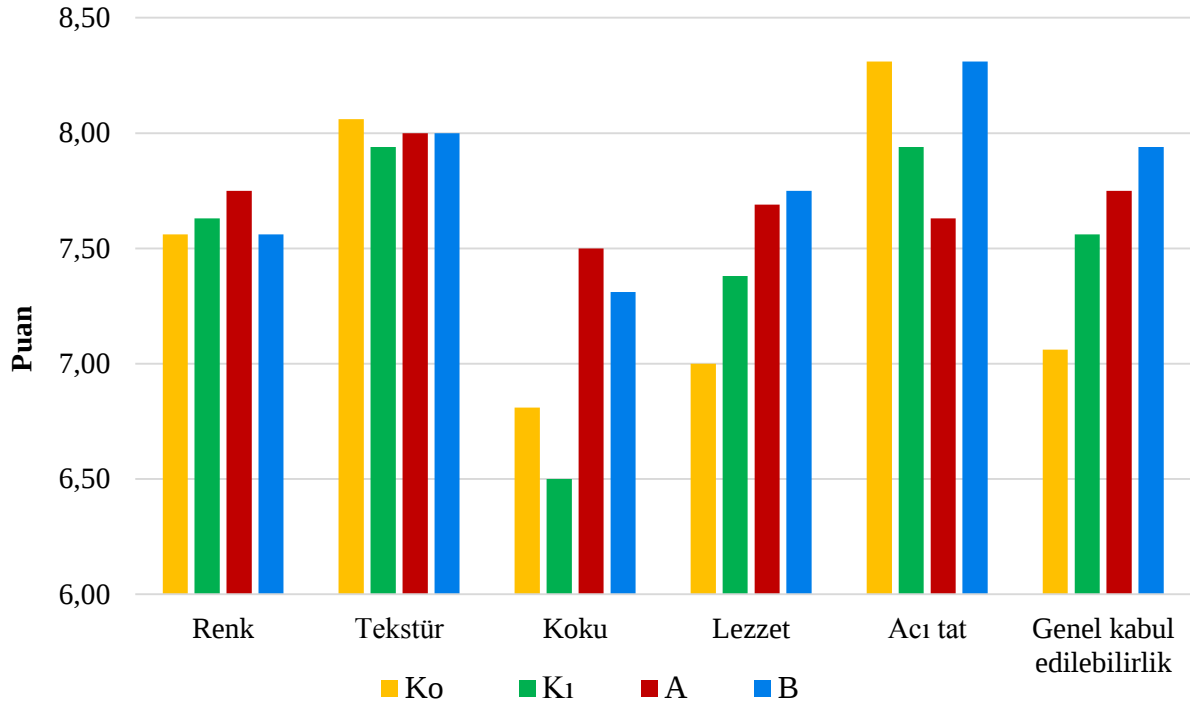
edilebilirlik	9-8	7-6	5-4	3-2	1	0			
Not: Belirtmek istenilen bir husus varsa belirtiniz									
Not: 147 nolu numune besel margarin yağı tadı gibi aromalandırılmış									

Şekil 34. Bir paneliste ait duyuşsal analiz formuna düşülmüş not

Deneme tereyağı örnekleri arasından acı tat kriterinde en düşük puan ortalamasına sahip olan örnek 7,63 ortalama ile A örneği olurken, en yüksek puan ortalamasına sahip örnekler 8,31 ortalama puan ile K₀ ve B örneklerinin olduğu görülmektedir. Burada, A örneğinin sahip olduğu acı tadın, zaten lipolitik aktivite kısmında belirtildiği üzere hedeflenen bir tad olduğuna değinmek gerekmektedir. Nitekim, bu acı tad kimi panelist tarafından oldukça beğenilirken, kimi panelist tarafından da tercih edilmemiştir. Netice olarak, bazı panlistlerce söz konusu acı tad benimsenmese de A örneğinin sahip olduğu ortalama puanın (7,63) kabul edilebilir seviyede olduğu kesin bir şekilde söylenebilir. Dikkat çekici olan durum ise, starter kültür kullanılarak üretilen 3 tereyağı örneği olan K₁, A ve B örneklerinden K₁ ve A örneğinde acı tad teşhis edilirken, B örneğinde hiçbir panelistin acı tad teşhis etmemiş olmasıdır. B örneğinin A ve K₁ örneğinden tek farklı yanı, starter kültür olarak kullanılan 4 farklı türdeki suşa ek olarak potansiyel probiyotik özellik kazandırmak adına bir suş daha fazla içermesidir. Bu durum, *Lb. rhamnosus* suşu ilavesinin meydana gelen veya gelebilecek acı tadı baskıladığını göstermektedir. Ancak, bunu nasıl sağladığının açıklanması araştırılmaya muhtaçtır.

Genel kabul edilebilirlik kriterine bakıldığında, panelistler tarafından en beğenilen örneklerin geliştirilen TS₁ ve TS₂ starter kültürü ile üretilen A ve B örneklerinin olduğu görülmektedir. Örneklerin sahip oldukları puan ortalaması üzerinden bakıldığında en yüksek

beğeniye 7,94 puan ile B örneğinin sahip olduğu, B örneğini 7,75 puan ile A örneğinin izlediği, K₁ örneğinin 7,56 ortalama puan ile A ve B örneğinden daha az beğenildiği, K₀ örneğinin ise 7,06 ortalama puan ile en az beğeniye sahip olduğu görülmektedir (Şekil 35). B örneğinde *Lb. rhamnosus* suşunun varlığının acı tadı baskılamış olması, genel kabul edilebilirlikte B örneğini A örneğinin bir adım önüne taşımış olduğu düşünülmektedir. Nitekim, duyuşal analiz sonunda panelistler ile yapılan söyleşilerde B örneğinin diğer örneklerden daha yumuşak hoş bir aromaya sahip olduğu ifade edilmiştir.



Şekil 35. Duyusal analiz sonuçlarının grafik olarak gösterimi

Son tahlilde, gerçekleştirilen duyuşal analizin çalışmanın başarıya ulaştığına dair önemli veriler sunduğunu söylemek mümkündür. Duyusal analizde renk ve tekstür kriterlerinde elde edilen sonuçların enstürmantal analizler sonucunda elde edilen sonuçlar ile uyumlu oluşu, gerçekleştirilen duyuşal analizin güvenilirliğini teyit etmiştir. Güvenilirliği enstürmantal olarak desteklenen duyuşal analiz sonucunda aroma, lezzet ve genel kabul edilebilirlik açısından, geliştirilen TS₁ ve TS₂ suşları ile üretilen A ve B örneklerinin beğeni toplayarak diğer örneklerin önünde yer alması, ortaya atılan hipotezin kanıtlandığının ve Türk damak tadına uygun starter kültür geliştirilmesi adına önemli bir adım atıldığının bilimsel bir göstergesidir. Nitekim diğer bütün parametreleri uygun olan bir çalışmada, duyuşal analiz sonucunda beğeni sağlanamaz ise çalışmanın başarısından söz etmek pek de mümkün değildir. Duyusal analiz sonucunda bir örnek diğer örneklerden daha düşük beğeniye sahip olsa dahi kabul edilebilir puan seviyelerinde beğeni alırsa, başarıya ulaşıldığı fikri

benimsendiği düşünöldüğönde, bu çalışmada geliştirilen starter költürler ile üretilen örneklerin diğer örneklerden daha fazla beğenilmesi önemli bir başarı olarak nitelendirilebilir.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada, geleneksel olarak üretilen tereyağlarından izole edilen EPS üreten LAB suşlarının tereyağında starter kültür olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. Temin edilen 30 adet tereyağı örneğine bakteri izolasyon işlemi uygulanmış ve 56 adet LAB suşu tanımlanmıştır. Starter kültür olarak uygunluklarının tespit edilmesi amacıyla, izole edilen ve tanımlanan LAB suşlarının bazı teknik özellikleri belirlenmiş ve bunun sonucunda EM1 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, EM28 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, B3 kodlu *Leuconostoc mesenteroides*, G49 kodlu *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* ve B19 kodlu *Lactobacillus rhamnosus* LAB suşları tereyağı starter kültürü geliştirmek amacıyla seçilmiştir. Seçilen suşlar ile deneme tereyağı üretimleri gerçekleştirilmiş ve suşların üretilen tereyağının fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. Starter kültür olarak kullanılan suşların tereyağının fizikokimyasal özellikleri üzerine olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Duyusal analiz verileri ise, Türk damak tadına uygun tereyağı lezzeti sağlayan starter kültür geliştirme hedefinin başarıyla gerçekleştirildiğini göstermektedir. Bu açıdan değerlendirildiğinde her ne kadar tereyağının sürülebilirlik gibi fiziksel özelliklerinin geliştirilmesi hedefine ulaşılmasa da bu çalışmanın starter kültür geliştirme konusunda memleketimiz açısından önemli bir çalışma olduğu söylenebilir. Bununla birlikte;

1. Geleneksel olarak üretilen tereyağlarından izole edilen LAB suşlarının %32,14'ünü *Lactococcus*, %30,36'sını *Enterococcus*, %21,43'ünü *Lactobacillus*, %14,29'unu *Streptococcus* ve %1,79'unu *Leuconostoc* cinsi bakterilerin oluşturduğu belirlenmiştir.
2. Tanımlanan 56 adet LAB suşunun hiçbirinde *gtf* genine rastlanmamıştır. Bununla birlikte 11 LAB izolatında *epsA* geni, 24 izolatta ise *epsB* geni tespit edilmiştir. Sadece 4 izolatta *epsA* ve *epsB* geni bir arada tespit edilmiştir.
3. İzole edilen LAB'ların cins bazında ortalamalarına bakıldığında en yüksek asitlik gelişimi ortalamasına 6 saatlik gelişim sonucunda ΔpH 0,439 ile *Streptococcus* cinsi LAB'ların sahip olduğu; 12 ve 24 saatlik gelişimlerde ise sırasıyla ΔpH 1,262 ve ΔpH 1,651 ile *Lactococcus* cinsi LAB'ların sahip olduğu belirlenmiştir.
4. İzole edilen 56 adet LAB suşundan 35'inde diasetil üretimi tespit edilemezken, 12'sinde zayıf, 7'sinde orta, 2'sinde ise güçlü seviyede diasetil üretimi tespit edilmiştir.

5. Tanımlanan 56 adet LAB suşundan 13 tanesinin proteolitik aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. En yüksek proteolitik aktiviteyi *Enterococcus faecalis* türü suşların sergilediği belirlenmiştir. Türler bazında, proteolitik aktivite gösteren 13 suşun, 7 adedi *Enterococcus faecalis* (B7, EM18, EM36, EM47, G94, G40, G24), 3 adedi *Lactobacillus paracasei* (B19, ES82, ES8) ve 1'er adedi *Lactobacillus plantarum* (ES63), *Streptococcus parauberis* (G2) ve *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (EM30) suşundan oluşmaktadır.

6. 56 adet LAB suşundan 22 tanesinde lipolitik aktivite tespit edilmiştir. Cins bazında tanımlanan 17 *Enterococcus* suşundan sadece 3'ü (G11, G28 ve G31) lipolitik aktivite göstermezken diğer 14 suş lipolitik aktivite göstermiştir. *Lactococcus* cinsi suşlarda 3 (B5, EM10 ve EM30), *Lactobacillus* cinsi suşlarda 2 (ES63 ve ES1), *Streptococcus* cinsi suşlarda 2 (G2, G30) ve 1 *Leuconostoc* suşunda (B3) lipolitik aktivite tespit edilmiştir. İzole edilen LAB suşları arasında lipolitik aktivite gösteren suşların %63,64'ünü *Enterococcus* cinsi suşlar oluşturmuştur.

7. İzole edilen LAB suşlarının %7,16'sının ampisiline, %10,74'ünün kloramfenikole, %26,85'inin eritromisine, %50,12'sinin kanamisine, %16,11'inin penisiline, %46,54'ünün streptomisine, %25,06'sının tetrasikline, %34,11'inin vankomisine, %53,7'sinin oksasiline ve %64,44'ünün ise gentamisine dirençli olduğu tespit edilmiştir.

8. Tereyağı üretiminde starter kültür kullanımının tereyağının kurumadde oranı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkili olduğu; yağ ve yağsız kurumadde oranlarında ise istatistiksel olarak anlamlı ölçüde etkili olmadığı, EPS'nin tereyağının kurumadde, yağ ve yağsız kurumadde oranları üzerine etkili olduğu, ancak bu etkinin istatistiksel olarak anlam kazanamadığı belirlenmiştir.

9. Tereyağı üretiminde starter kültür kullanımının veya farklı starter kullanımının tereyağının su aktivitesi, erime noktası, renk, yağ asidi profili ve sürülebilirlik gibi özellikleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı tespit edilmiştir.

Bu araştırma sonucunda, izole edilen laktik asit bakterilerinin tereyağı üretiminde starter kültür olarak kullanılabileceği kanaatine varılmıştır. Bununla birlikte elde edilen suşların liyofilizasyon direnci, suşlar tarafından üretilen EPS'lerin karakterizasyonu gibi özelliklerin araştırılmasının ve aynı zamanda elde edilen suşların farklı süt ürünlerinde starter kültür olarak denenmesinin de yararlı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abid Y., Azabou S., Jridi M., Khemakhem I., Bouaziz M., Attia H., 2017. Storage stability of traditional Tunisian butter enriched with antioxidant extract from tomato processing by-products. *Food Chemistry*, 233, 476–482.
- Ahi, S., 2011. Bazı laktik asit bakterilerinin Ekzopolisakkarit (eps) üretimi ile antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması. Y. Lisans Tezi. Fen Bilimleri Ens., Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Ailhaud, G., 2008. Omega-6 fatty acids and excessive adipose tissue development. *World Rev Nutr Diet* 98, 51–61.
- Akgül, H.İ., Şengül, M., Ürkek, B., Kotan, T.E., 2020a. Determination of physicochemical and microbiological properties and fatty acid composition of butter produced in Trabzon, Turkey. *Acta Scientiarum. Technology*, 43(1), e48905.
- Akgül, H.İ., Şengül, M., Ürkek, B., Kotan, T.E., Gürbüz, Z., 2020b. Some physicochemical and microbiological properties of butter produced in Erzurum. *Journal of Food Safety and food quality-archiv fur lebensmittelhygiene*, 71(1), 21-26.
- Altun, İ., Andıç, S., Tunçtürk, Y., Çeçen, A., Fındık, O., 2011. Van piyasasından temin edilen tereyağlarının bazı kimyasal özellikleri. *Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg* 17(4): 645-648.
- Anlı, E.A., Şanlı, T., Şenel, E., 2020. Yoğurt ve kefir kullanılarak üretilen tereyağlarının bazı özelliklerinin incelenmesi. *Gıda*, 45(3), 461-472.
- Anonim, 2020. Yoğurtta yerli maya dönemi, <https://sutdunyasi.com/haberler/dosya/yogurtta-yerli-maya-donemi/>, (13.12.2020).
- Anonymous, 2019. Global Market Study on Starter Cultures: Ever-increasing Demand from Dairy Industry Driving Market Growth, <https://www.persistencemarketresearch.com/market-research/starter-culture-market.asp>, (13.12.2020).
- Anonymous, 2020. Web of science, <https://www.webofknowledge.com>, (13.12.2020)
- Arici, M., Bilgin, B., Sağdıç, O., Özdemir, C., 2004. Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. *Food Microbiology*, 21(1), 19-24.
- Aryana, K.J., Olson, D.W., 2017. A 100-Year Review: Yogurt and other cultured dairy products. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 9987-10013.
- Atamer, M., 2016. Tereyağı teknolojisi. Sidas medya, İzmir.
- Badings, H. T. and Galesloot, T.E., 1962. Studies on the flavour of different types of butter starters with reference to the defect “yoghurt flavour” in butter. *Proc. 16th Intern. Dairy Congr.*, Vol. B, 199.
- Badis, A., Guetarni, D., Boudjema, B.M., Henni, D.E., Kihal, M., 2004. Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiology*, 21(5), 579-588.
- Bajpai, V.K., Rather, I.A., Majumder, R., Shukla, S., Aeron A., 2016. Exopolysaccharide and lactic acid bacteria: Perception, functionality and prospects. *Bangladesh J Pharmacol* 11: 1-23.
- Baker, G.C., Smith, J.J., Cowan, D.A., 2003. Review and re-analysis of domain-specific 16S primers. *Journal of microbiological methods*, 55(3), 541-555..
- Bakırcı, İ., Çelik S., Özdemir C., 2002. The effects of commercial starter culture and storage temperature on the oxidative stability and diacetyl production in butter. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 177-181.
- Bandell, M., Lhotte, M.E., Marty-Teyssset, C., Veyrat, A., Prévost, H., Dartois, V., Lolkema, J.S., 1998. Mechanism of the Citrate Transporters in Carbohydrate and Citrate Cometabolism in *Lactococcus* and *Leuconostoc* Species. *Applied and environmental microbiology*, 64(5), 1594-1600.
- Banni, S., 2002. Conjugated linoleic acid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 13(3), 261-266.

- Bao, Q., Liu, W., Yu, J., Wang, W., Qing, M., Chen, X., Sun, T., 2012. Isolation and identification of cultivable lactic acid bacteria in traditional yak milk products of Gansu Province in China. *The Journal of general and applied microbiology*, 58(2), 95-105.
- Bauman, D.E., Mather, I.H., Wall, R.J., Lock, A.L., 2006. Major advances associated with the biosynthesis of milk. *J. Dairy Sci.* 89, 1235-1243.
- Belletti, N., Gatti, M., Bottari, B., Neviani, E., Tabanelli, G., Gardini, F., 2009. Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two Italian hard cheeses. *Journal of food protection*, 72(10), 2162-2169.
- Bellinazo, P.L., Vitola, H.R.S., Cruzen, C.E.D.S., Braun, C.L.K., Hackbart, H.C.D.S., da Silva, W.P., Fiorentini, A.M., 2019. Probiotic butter: Viability of *Lactobacillus casei* strains and bixin antioxidant effect (*Bixa orellana* L.). *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(9), e14088.
- Belury, M.A., 2002. Dietary conjugated linoleic acid in health: physiological effects and mechanisms of action. *Annual review of nutrition*, 22(1), 505-531.
- Beresford, T.P., Fitzsimons, N.A., Brennan, N.L., Cogan, T.M., 2001. Recent advances in cheese microbiology. *International dairy journal*, 11(4-7), 259-274.
- Bergamo, P., Luongo, D., Miyamoto, J., Cocca, E., Kishino, S., Ogawa, J., Rossi, M., 2014. Immunomodulatory activity of a gut microbial metabolite of dietary linoleic acid, 10-hydroxy-cis-12-octadecenoic acid, associated with improved antioxidant/detoxifying defences. *Journal of functional foods*, 11, 192-202.
- Bettache, G., Fatma, A., Miloud, H., Mebrouk, K., 2012. Isolation and identification of lactic acid bacteria from Dhan, a traditional butter and their major technological traits. *World Applied Sciences Journal*, 17(4), 480-488.
- Bin Masalam, M.S., Bahieldin, A., Alharbi, M.G., Al-Masaudi, S., Al-Jaouni, S.K., Harakeh, S.M., Al-Hindi, R.R., 2018. Isolation, molecular characterization and probiotic potential of lactic acid bacteria in Saudi raw and fermented milk. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.
- Briggiler-Marcó, M., Capra, M. L., Quiberoni, A., Vinderola, G., Reinheimer, J. A., Hynes, E., 2007. Nonstarter *Lactobacillus* strains as adjunct cultures for cheese making: in vitro characterization and performance in two model cheeses. *Journal of Dairy Science*, 90(10), 4532-4542.
- Bobé, G., Hammond, E.G., Freeman, E., Lindberg, G.L., Beitz, D.C., 2003. Texture of butter from cows with different milk fatty acid compositions. *J. Dairy Sci.* 86: 3122-3127.
- Boekhout, F.W.J. and Ott de Vries, J.J., 1919. Aromabildner bei der Rahmsauierung. *Centbl. f. Bakt*, 2, 373-382.
- Brennand, C.P., Ha, J.K., Lindsay, R.C., 1989. Aroma properties and thresholds of some branched- chain and other minor volatile fatty acids occurring in milkfat and meat lipids 1. *Journal of Sensory Studies*, 4(2), 105-120.
- Broadbent, J.R., McMahon, D.J., Welker, D.L., Oberg, C.J., Moineau, S., 2003. Biochemistry, genetics, and applications of exopolysaccharide production in *Streptococcus thermophilus*: a review. *Journal of dairy science*, 86(2), 407-423.
- Caggianiello, G., Kleerebezem M., Spano G., 2016. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Appl Microbiol Biotechnol*, 100, 3877–3886.
- Camara, S.P., Dapkevicius, A., Riquelme, C., Elias, R.B., Silva, C.C.G., Malcata, F.X., Dapkevicius, M.L.N.E., 2019. Potential of lactic acid bacteria from Pico cheese for starter culture development. *Food Science and Technology International*, 25(4), 303-317.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G.F., 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International journal of food microbiology*, 50(1-2), 131-149.

- Carminati, D., Giraffa, G., Quiberoni, A., Binetti, A., Suárez ve V., Reinheimer, J., 2010. Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations. *Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications* Edited by Fernanda Mozzi, Raúl R. Raya and Graciela M. Vignolo Blackwell Publishing, p.177-192.
- Carr, F.J., Chill, D., Maida, N., 2002. The lactic acid bacteria: a literature survey. *Critical reviews in microbiology*, 28(4), 281-370.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Hermida, M.A., Rodríguez-Otero, J.L., 1999. Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture. *International journal of food microbiology*, 48(2), 97-111.
- Ceylan, O. and Özcan, T., 2020. Effect of the cream cooling temperature and acidification method on the crystallization and textural properties of butter. *LWT*, 132, 109806.
- Chen, Y.S. and Steele, J.L., 1998. Genetic characterization and physiological role of endopeptidase O from *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9), 3411-3415.
- Chen Y.S., Christensen, J.E., Strickland M., Steele J.L., 2003. Identification and characterization of *Lactobacillus helveticus* PepO2, an endopeptidase with post-proline specificity. *Appl Environ Microbiol* 69:1276–1282
- Christensen J.E. and Steele, J.L., 2003. Impaired growth rates in milk of *Lactobacillus helveticus* peptidase mutants can be overcome by use of amino acid supplements. *J Bacteriol* 185:3297–3306.
- Collins Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal* 13; 841-866.
- Conn, H.W., 1889. Bacteria in milk, cream and butter. 2nd Annu. Rep. Storrs School, 136.
- Coppola, R., Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Salzano, G., Sorrentino, E., 2005. Antibiotic susceptibility of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *Le Lait*, 85(3), 193-204.
- Czernichow, S., Thomas, D., Bruckert, E., 2010. n-6 Fatty acids and cardiovascular health: a review of the evidence for dietary intake recommendations. *British Journal of Nutrition*, 104(6), 788-796.
- Dağdemir, E., 2006. Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılabilme imkânları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- De Almeida Junior, W.L.G., da Silva Ferrari, Í., de Souza, J.V., da Silva, C.D.A., da Costa, M.M., Dias, F.S., 2015. Characterization and evaluation of lactic acid bacteria isolated from goat milk. *Food Control*, 53, 96-103.
- De Vuyst, L., Zamfir, M., Mozzi, F., Adrian, T., Marshall, V., Degeest, B., Vaningelgem, F., 2003. Exopolysaccharide-producing *Streptococcus thermophilus* strains as functional starter cultures in the production of fermented milks. *International Dairy Journal*, 13(8), 707-717.
- Dellaglio, F., de Roissart, H., Torriani, S., Curk, M.C., Janssens, D., 1994. Caractéristiques générales des bactéries lactiques. In: de Roissart, H., Luquet, F.M. (Eds.), *Bactéries Lactiques*. Loriga, Uriage, France, pp. 25 – 116.
- Demirci, M. and Şimşek, O., 1997. Süt İşleme Teknolojisi, Hasad Yayıncılık Ltd Şti., İstanbul.
- Demirgöl, F. and Sağdıç, O., 2017. Laktik starter kültür üretim teknolojisi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7(11), 27-37.
- Dertli, E., Colquhoun, I.J., Gunning, A.P., Bongaerts, R.J., Le Gall, G., Bonev, B.B., Mayer, M.J. Narbad, A., 2013. Structure And Biosynthesis Of Two Exopolysaccharides Produced By *Lactobacillus Johnsonii* F19785. *J Biol Chem*, 288, 31938-51.

- Dertli, E., Mercan, E., Arıcı, M., Yılmaz, M. T., Sağdıç, O., 2016. Characterisation of lactic acid bacteria from Turkish sourdough and determination of their exopolysaccharide (EPS) production characteristics. *LWT-Food Science and Technology*, 71, 116-124.
- Diraman, H., 2004. İzmir ilinde satılan bazı süt ürünlerindeki yağ asitlerinin cis trans izomerleri ve konjuge linoleik asit düzeylerinin kapilar gaz kromatografik yöntem ile belirlenmesi üzerine bir çalışma. *Gıda*. 29(5): 381-389.
- Dinçer, E. and Kıvanç, M., 2018. Lipolytic activity of lactic acid bacteria isolated from turkish pastırma. *Anadolu University of Sciences & Technology-C: Life Sciences & Biotechnology*, 7(1).
- Dinic, M., Pecikoza, U., Djokic, J., Stepanovic-Petrovic, R., Milenkovic, M., Stevanovic, M., Lukic, J., 2018. Exopolysaccharide produced by probiotic strain *Lactobacillus paraplantarum* BCGG11 reduces inflammatory hyperalgesia in rats. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1.
- Domingos-Lopes, M.F.P., Nagy A., Stanton C., Ross P.R., Gelencsér E., Silva C.C.G., 2017. Immunomodulatory Activity Of Exopolysaccharide Producing *Leuconostoc Citreum* Strain Isolated From Pico Cheese. *Journal Of Functional Foods*, 33, 235–243.
- Doucet-Populaire, F., Trieu-Cuot P., Andremont A., Courvalin P., 1992. Conjugal transfer of plasmid DNA from *Enterococcus faecalis* to *Escherichia coli* in digestive tracts of gnotobiotic mice. *Antimicrob Agents Chemother* 36:502–504.
- Drago, L., Rodighiero V., Mattina R., Toscano M., De Vecchi E., 2011. *In vitro* selection and transferability of antibiotic resistance in the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938. *J Chemother Florence Italy*. 23(6):371–373.
- EFSA, 2012. European Food Safety Authority Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10, 1-10.
- Egervarn, M., Lindmark H., Olsson J., Roos S., 2010. Transferability of a tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 97(2):189–200.
- Elgün, A., Ertugay, Z., Certel, M., Kotancilar, H. G., 2002. Guide book for analytical quality control and laboratory for cereal and cereal products.
- Ergin, G., 1979. Süt yağındaki minör yağ asitleri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 10(1-2).
- Erginkaya, Z., Turhan E.U., Tatlı D., 2018. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from traditional Turkish fermented dairy products. *IJVR*, 19, 53-56.
- Erkaya, T., Ürkek, B., Doğru Ü., Çetin B., Şengül M., 2015. Probiotic Butter: Stability, Free Fatty Acid Composition And Some Quality Parameters During Refrigerated Storage. *International Dairy Journal*, 49, 102-110.
- Fanning, S., Hall, L. J., Cronin, M., Zomer, A., Macsharry, J., Goulding, D., Motherway, M.O., Shanahan, F., Nally, K., Dougan, G., Van Sinderen, D., 2012. Bifidobacterial surface-exopolysaccharide facilitates commensal-host interaction through immune modulation and pathogen protection. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 109, 2108-13.
- Fearon, A.M., 2011. Butter and butter products, In: *Dairy ingredients for food processing*, Ed: Chandan, R.C., Kilara, A., Wiley-Blackwell, Iowa.
- Fguiri, I., Ziadi, M., Atigui, M., Arroum, S., Khorchani, T., 2015. Biochemical and molecular identification of lactic acid bacteria isolated from camel milk in Tunisia. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 716-720.
- Fguiri, I., Ziadi, M., Atigui, M., Ayeb, N., Arroum, S., Assadi, M., Khorchani, T., 2016. Isolation and characterisation of lactic acid bacteria strains from raw camel milk for potential use in the production of fermented Tunisian dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 69(1), 103-113.

- Fındık, O., 2011. Van'da piyasaya sunulan bazı tereyağları ile bu tereyağlardan elde edilen sadeyağların bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin karşılaştırılması. Yüksek lisans Tezi. Yüzüncü Yıl Üniv. Fen Bil. Enst., Van.
- Fox, P.F., 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *Journal of Dairy science*, 72(6), 1379-1400.
- Fox P.F., Uniacke-Lowe T., McSweeney P.L.H., O'Mahony J.A., 2015. *Chemistry and Biochemistry of Fermented Milk Products*. In: *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Springer, London, 547-567.
- Franciosi, E., Settanni, L., Cavazza, A., Poznanski, E., 2009. Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International dairy journal*, 19(1), 3-11.
- Frede, E., 2002. Butter, The Product and its Manufacture.
- Frede, E., 2011. Butter and other milk products, properties and analysis. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 2nd ed, 506–51.
- Gaglio, R., Scatassa, M. L., Cruciata, M., Miraglia, V., Corona, O., Di Gerlando, R., Settanni, L., 2014. In vivo application and dynamics of lactic acid bacteria for the four-season production of Vastedda-like cheese. *International journal of food microbiology*, 177, 37-48.
- Garmasheva, I., 2016. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Ukrainian traditional dairy products. *AIMS Microbiol*, 2(3), 372-387.
- Garvie, E.I., 1984. Separation of Species of the Genus *Leuconostoc* and Differentiation of the *Leuconostocs* from Other Lactic Acid Bacteria. In *Methods in microbiology* (Vol. 16, pp. 147-178). Academic Press.
- Georgala, A., Moschopoulou, E., Aktypis, A., Massouras, T., Zoidou, E., Kandarakis, I. and Anifantakis, E. 2005. Evolution of lipolysis during the ripening of traditional Feta cheese. *Food Chemistry*, 93; 73-80.
- Germond, J.E., Delley, M., D'Amico, N., Vincent, S.J., 2001. Heterologous expression and characterization of the exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus* Sfi39. *European Journal of Biochemistry*, 268(19), 5149-5156.
- Giraffa, G., Chanishvili, N., Widyastuti, Y., 2010. Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in microbiology*, 161(6), 480-487.
- Gonzalez, L., Sacristán, N., Arenas, R., Fresno, J.M., Tornadijo, M.E. 2010. Enzymatic activity of lactic acid bacteria (with antimicrobial properties) isolated from a traditional Spanish cheese. *Food microbiology*, 27(5), 592-597.
- Gökçe, R., Aslanalp, Y., Herken, E.N., 2010. Microbiological quality of karın butter, a traditionally manufactured butter from Turkey. *Grasas y Aceites*, 61(2).
- Göktürk S., Sezgin, E., Yildirim Z., Atamer, M., 2002. Effects of season on vitamins A and E contents and colour of Turkish butter, *Nahrung-Food*, 46, 54-55.
- Gruzza, M., Langella P., Duval-Iflah Y., Ducluzeau R., 1993. Gene transfer from engineered *Lactococcus lactis* strains to *Enterococcus faecalis* in the digestive tract of gnotobiotic mice. *Microb Releases*, 2:121–125.
- Guo, H., Pan, L., Li, L., Lu, J., Kwok, L., Menghe, B., Zhang, W., 2017. Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *Journal of food science*, 82(3), 724-730.
- Gündoğdu, E., Çakmakçı, S., Hayaloğlu, A.A., 2020. Effects of starter culture and storage on volatile profiles and sensory characteristics of yogurt or cream butter. *Mljekarstvo/Dairy*, 70(3).
- Hamazaki, T. and Okuyama, H., 2003. The Japan Society for Lipid Nutrition recommends to reduce the intake of linoleic acid. A review and critique of the scientific evidence. *World Rev Nutr Diet* 92, 109–132.

- Hammer, B.W. and Bailey, D.E., 1919. The volatile acid production of starters and of organisms isolated from them. Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Research Bulletin, 4(55), 1.
- Hammer, B. W. and Babel, F.J., 1944. Bacteriology of butter cultures: A review. J. Dairy Sci. 26:83–168.
- Hammes, W.P. and Vogel, R.F., 1995. The genus *Lactobacillus*. In: Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H. (Eds.), *The Lactic Acid Bacteria. The Genera of Lactic Acid Bacteria*, vol. 2, Blackie Academic & Professional, Glasgow, UK, 19–54.
- Handa, S., and Sharma, N., 2016. In vitro study of probiotic properties of *Lactobacillus plantarum* F22 isolated from chhang–A traditional fermented beverage of Himachal Pradesh, India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 14(1), 91-97.
- Harvatine, K.J., Boisclair, Y.R., Bauman, D.E., 2009. Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal* 3, 40-54.
- Hassan, A.N., 2008. ADSA Foundation Scholar Award: Possibilities and challenges of exopolysaccharide-producing lactic cultures in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1282-1298.
- Hatti-Kaul, R., Chen, L., Dishisha, T., Enshasy, H.E., 2018. Lactic acid bacteria: From starter cultures to producers of chemicals. *FEMS microbiology letters*, 365(20), fny213.
- Herb, S.F., Magidman, P., Luddy, F.E., Riemenschneider, R.W., 1962. Fatty acids of cows' milk. B. Composition by gas- liquid chromatography aided by other methods of fractionation. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 39(3), 142-146.
- Herreros, M.A., Fresno, J.M., Prieto, M.G., Tornadijo, M.E., 2003. Technological characterization of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese). *International Dairy Journal*, 13(6), 469-479.
- Huddleston, J.R., 2014. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infection and drug resistance*, 7, 167.
- Hughes, V.M. and Datta, N., 1983. Conjugative plasmids in bacteria of the 'pre-antibiotic' era. *Nature*, 302(5910), 725-726.
- Hummel, A.S., Hertel, C., Holzapfel, W.H., Franz, C., 2007. Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 730–739.
- Hurtaud, C., Faucon, F., Couvreur, S., Peyraud, J.L., 2010. Linear relationship between increasing amounts of extruded linseed in dairy cow diet and milk fatty acid composition and butter properties. *J. Dairy Sci.* 93: 1429-1443.
- Hussain, A., Zia, K.M., Tabasum, S., Noreen, A., Ali, M., Iqbal, R., Zuber, M., 2017. Blends and composites of exopolysaccharides; properties and applications: A review. *International journal of biological macromolecules*, 94, 10-27.
- Hutkins, R.W., 2001. Metabolism of starter cultures. *Food science and technology-new york-marcel dekker*, 207-242.
- Idoui, T. and Karam, N.E., 2008. Lactic acid bacteria from Jijel's traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y Aceites*, 59(4), 361-367.
- Idoui, T., Boudjerda, J., Leghouchi, E., Karam, N.E., 2009. Lactic acid bacteria from "Sheep's Dhan", a traditional butter: Isolation, identification and major technological traits. *Grasas y aceites*, 60(2), 177-183.
- Ghasemloy Incheh, K.H., Forouzan, S.H., Hassanzadazar, H., Banafshehchin, E.L., Aminzare, M., Mozafarian, E.L., Hashemi, M., 2017. A survey on the quality of traditional butters produced in West Azerbaijan province, Iran. *International Food Research Journal*, 24(1), 327-332.
- Igimi, S., Ryu C.H., Park S.H., Sasaki Y., Sasaki T., Kumagai S., 1996. Transfer of conjugative plasmid pAMB1 from *Lactococcus lactis* to mouse intestinal bacteria. *Lett Appl Microbiol* 23:31–35.
- İnal T., 1990. Süt ve Süt Ürünleri Hijyen ve Teknolojisi. Final Ofset A8, 579-685, İstanbul.

- İspirli, H., Dertli E., 2016. Isolation and identification of exopolysaccharide producer lactic acid bacteria from Turkish yogurt. Turkish yogurt. J Food Process Preserv., 42, e13351.
- İspirli, H., 2016. Erzincan tulum peynirinden laktik asit bakterilerinin (lab) izolasyonu, moleküler metotlarla tanımlanması ve ekzopolisakkarit (eps) üretim potansiyellerinin genetik olarak belirlenmesi. Y.Lisans Tezi. Fen Bilimleri Ens., Bayburt Üniversitesi, Bayburt.
- Jantzen, E. and Witgert, H., 1939. Der Nachweis geradzahliges und ungeradzahliges Fettsäuren bei der Analyse von Kokosöl. Fette und Seifen, 46(9), 563-569.
- Jaudszus, A., Foerster, M., Kroegel, C., Wolf, I., Jahreis, G., 2005. Cis-9, trans-11-CLA exerts anti-inflammatory effects in human bronchial epithelial cells and eosinophils: comparison to trans-10, cis-12-CLA and to linoleic acid. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1737(2-3), 111-118.
- Jeong, D., Kim, D.H., Kang, I.B., Kim, H., Song, K.Y., Kim, H.S., Seo, K.H., 2017. Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir. Food Control, 78, 436-442.
- Jones, E.L., Shingfield, K.J., Kohen, C., Jones, A.K., Lupoli, B., Grandison, A.S., Beever, D.E., Williams, C.M., Calder, P.C., Yaqoob, P., 2005. Chemical, physical and sensory properties of dairy products enriched with CLA. J. Dairy Sci. 88: 2923-2937.
- Jost, R., 2007. Ullman's Encyclopedia of Industrial Chemistry - Milk and Dairy Products. Wiley-VCH, Weinheim.
- Kashaninejad, M., Razavi, S.M.A., Tehrani, M.M., Kashaninejad, M., 2017. Effect of extrusion conditions and storage temperature on texture, colour and acidity of butter. Int J Dairy Technol, vol. 70(1), 102-109.
- Kamiloğlu, A., 2016. Yerel *Lactobacillus plantarum* suşlarının antagonistik aktiviteleri ile teknolojik özelliklerinin belirlenmesi ve fermente sucuk üretiminde *Listeria monocytogenes*'in gelişimine etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi. Fen Bilimleri Ens., Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Kaneda, T., 1991. Iso-and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 55(2), 288-302.
- Karaca, Y., Gün, İ., Seydim, A.C., Guzel-Seydim, Z.B., 2018. Production and quality of kefir cultured butter. Mljekarstvo/Dairy, 68(1).
- Karatepe, P., Yalçın, H., Patır, B., Aydın, I., 2012. Kefir ve kefirin mikrobiyolojisi. Elekt Mikrobiyol Derg, 10(1), 1-10.
- Katz, M., Medina, R., Gonzalez, S., Oliver, G. 2002. Esterolytic and lipolytic activities of lactic acid bacteria isolated from ewe's milk and cheese. Journal of food protection, 65(12), 1997-2001.
- Keenan, T.W. and Bills, D.D., 1968. Metabolism of volatile compounds by lactic starter culture microorganisms. A review. Journal of Dairy Science, 51(10), 1561-1567.
- Keeney, M., Katz, I., Allison, M.J., 1962. On the probable origin of some milk fat acids in rumen microbial lipids. J. Am. Oil Chem. Soc. 39, 198-201.
- Kenneally, P.M., Leuschner, R.G., Arendt, E.K., 1998. Evaluation of the lipolytic activity of starter cultures for meat fermentation purposes. Journal of Applied Microbiology, 84(5), 839-846.
- Kesler, Y., 2008. Tereyağına probiyotik kültür ve lif ilavesiyle fonksiyonel özellik kazandırılması. Yüksek lisans tezi, Erciyes Üniv. Fen Bil. Enst., Kayseri.
- Kılıç, S., 2011. Peynir starter kültürleri. In: Peynir biliminin temelleri. Ed. Hayaloğlu, A.A., Özer B. Sidas yayınları, İzmir, 121-168.
- Kırmacı, H.A., 2010. Geleneksel urfa peynirinde yer alan laktik asit bakterilerinin izolasyonu, moleküler karakterizasyonu ve starter kültür olarak kullanım olanakları. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Ens., Harran Üniversitesi, Şanlıurfa.

- Kırmacı, H.A., Özer, B.H., Akçelik, M., Akçelik, N., 2016. Identification and characterisation of lactic acid bacteria isolated from traditional Urfa cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 69, 301-307.
- Kim, J., Park, Y., Park, Y., 2014. trans-10, cis-12 CLA promotes osteoblastogenesis via SMAD mediated mechanism in bone marrow mesenchymal stem cells. *Journal of functional foods*, 8, 367-376.
- King, N., 1948. Modification of Voges-Proskauer test for rapid colorimetric determination of acetyl methyl carbimol plus diacetyl in butter. *Dairy Ind*, 13(860), e866.
- Knudsen, S., 1931. 18. Starters. *Journal of Dairy Research*, 2(2), 137-163.
- Koçak, C., Yetişemiyen A., Atamer M., 1994. Süt endüstrisinde starter kültürler. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi yayınları no:1362 derleme:62, Ankara.
- Kondyli, E., Massouras, T., Katsiari, M.C., Voutsinas L.P., 2003. Free fatty acids and volatile compounds in low-fat Kefalograviera-type cheesemade with commercial adjunct cultures. *International Dairy Journal*, 13;47-54.
- Kongo, J.M., 2013. Lactic acid bacteria as starter-cultures for cheese processing: past, present and future developments. *Lactic Acid Bacteria-R&D for Food, Health and Livestock Purposes*, 1-22.
- Korcz, E., Kerényi, Z., Varga, L., 2018. Dietary fibers, prebiotics, and exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: potential health benefits with special regard to cholesterol-lowering effects. *Food & function*, 9(6), 3057-3068.
- Kosikowski, F.V., 1982. Characteristics of cottage cheese from water and permeate reconstituted retentates. *Journal of Dairy Science*, 65(9), 1705-1714.
- König, H. and Fröhlich, J., 2017. Lactic Acid Bacteria: König H, et al.(eds.), *Biology of Microorganisms on Grapes. Must and in Wine*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Krause, A.J., Miracle, R.E., Sanders, T.H., Dean, L.L., Drake, M.A., 2008. The effect of refrigerated and frozen storage on butter flavor and texture. *J. Dairy Sci.* 91,455–465.
- Kurt, A., Çakmakçı, S., Çağlar, A., 1995. Süt ve Mamülleri Muayene ve Analiz Metodları Rehberi. Atatürk Üniversitesi Ziraat Yayınları No: 18, 106-124 s, Erzurum.
- Lamothe, G., Jolly, L., Mollet, B., & Stingle, F. (2002). Genetic and biochemical characterization of exopolysaccharide biosynthesis by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. *Archives of microbiology*, 178(3), 218-228.
- Le Boucher, C., Courant, F., Jeanson, S., Chereau, S., Maillard, M.B., Royer, A.L., Lortal, S. 2013. First mass spectrometry metabolic fingerprinting of bacterial metabolism in a model cheese. *Food chemistry*, 141(2), 1032-1040.
- Ledoux, M., Chardigny, J. M., Darbois, M., Soustre, Y., Sebedio, J. L., Laloux, L., 2005. Fatty acid composition of French butters, with special emphasis on conjugated linoleic acid (CLA) isomers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 409–425.
- Leroy, F. and De Vuyst, L., 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology*, 15(2), 67-78.
- Levy, S.B., 1992. Active efflux mechanisms for antimicrobial resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 36(4), 695.
- Levy, S.B., 1997. Antibiotic resistance: an ecological imbalance. In *Ciba Found Symp.* Vol. 207, No. 1-9, 1-9.
- Licht, T.R., Laugesen D., Jensen L.B., Jacobsen B.L., 2002. Transfer of the pheromone-inducible plasmid pCF10 among *Enterococcus faecalis* microorganisms colonizing the intestine of mini-pigs. *Appl Environ Microbiol* 68:187–193
- Limsowtin, G.K.Y., Broome, M.C., Powell, I., 2003. Lactic acid bacteria, taxonomy. *Encyclopedia of Dairy Sciences* Vol. 3. Roginski H, Fuquay JW, Fox PF eds.
- Lindsay, R.C., 1965. Flavor chemistry of butter culture. *Doktora Tezi*. Oregon State University, Oregon.

- Looijesteijn, P. J., Trapet, L., de Vries, E., Abee, T., Hugenholtz, J., 2001. Physiological function of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis*. *International journal of food microbiology*, 64(1-2), 71-80.
- Low, D., Ahlgren, J.A., Horne, D., McMahon, D.J., Oberg, C.J., Broadbent, J.R., 1998. Role of *Streptococcus thermophilus* MR-1C capsular exopolysaccharide in cheese moisture retention. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(6), 2147-2151.
- Lynch, K.M., McSweeney, P.L., Arendt, E.K., Uniacke-Lowe, T., Galle, S., Coffey, A. 2014. Isolation and characterisation of exopolysaccharide-producing *Weissella* and *Lactobacillus* and their application as adjunct cultures in Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 34(1), 125-134.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., Clark, D.P., 2009. *Clark Brock Biology of Microorganisms*, 12th Edn. San Francisco, CA: Pearson Benjamin Cummings.
- Nafikov, R.A. and Beitz, D.C., 2007. Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *J. Nutr.* 137, 702-705.
- Makarova, K., Slesarev, A., Wolf, Y., Sorokin, A., Mirkin, B., Koonin, E., Shakhova, V. 2006. Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(42), 15611-15616.
- Manav, H. and Yetişemeyen, A., 2013. Değişik starter kültürlerin ve depolama süresinin fermente kremlerin bazı fiziksel, kimyasal ve duyuşal nitelikleri üzerine etkisi. *Gıda ve yem bilimi teknolojisi dergisi*, (13).
- Margalho, L.P., Feliciano, M.D.E., Silva, C.E., Abreu, J.S., Piran, M.V.F., Sant'Ana, A.S. 2020. Brazilian artisanal cheeses are rich and diverse sources of nonstarter lactic acid bacteria regarding technological, biopreservative, and safety properties—Insights through multivariate analysis. *Journal of Dairy Science*, 103(9), 7908-7926.
- Mathur, S. and Singh, R., 2005. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *International journal of food microbiology*, 105(3), 281-295.
- McDaniel, M.R., Sather, L.A., Lindsay, R.C., 1969. Influence of free fatty acids on sweet cream butter flavor. *Journal of Food Science*, 34(3), 251-254.
- McNeill, G.P., O'Donoghue, A., Connolly, J.F., 1986. Quantification and identification of flavour components leading to lipolytic rancidity in stored butter. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 1-10.
- Metcalf, L.D. and Schmitz, A.A., 1961. The rapid preparation of fatty acid esters for gas chromatographic analysis. *Analytical Chemistry*, 33(3), 363-364.
- Metchnikoff, E. 1908. *The Prolongation of Life*. G. P. Putnam's Sons, New York, NY.
- Metin, M., 2009. *Süt ve Mamulleri Analiz Yöntemleri*. EÜ, Ege Meslek Yüksekokulu Yay. No: 24, İzmir.
- Metin, M., 2011. *Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*. Ege Üniversitesi Rektörlük Yayınları, 2010/1.
- Meyer, J., Spahni A., 1998. Influence of X-prolyl-dipeptidylaminopeptidase of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* on proteolysis and taste of Swiss Gruyère cheese. *Milchwissenschaft* 53:449–453.
- Meyers, S.A., Cuppett, S.L., Hutkins, R.W., 1996. Lipase production by lactic acid bacteria and activity on butter oil. *Food microbiology*, 13(5), 383-389.
- Michaelian, M.B., Farmer, R.S., Hammer, B.W., 1933. The relationship of acetylmethylcarbinol and diacetyl to butter cultures. *Iowa Agriculture and Home Economics Experiment Station Research Bulletin*, 12(155), 1.
- Minelli, E.B., Benini, A., Marzotto, M., Sbarbati, A., Ruzzente, O., Ferrario, R., Dellaglio, F., 2004. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *International Dairy Journal*, 14(8), 723-736.
- Moate, P.J., Chalupa, W., Boston, R.C. and Lean, I.J., 2007. Milk fatty acids. I. variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *J. Dairy Sci.*, 90, 4730–4739.

- Molimard, P. and Spinnler, H.E., 1996. Compounds involved in the flavour of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties. *J. Dairy Sci.* 79: 169–184.
- Morelli, L., 2001. Taxonomy and physiology of lactic acid bacteria, effects and function on nutrition. Report of a joint FAO/WHO expert consultation on evaluation on health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with lactic acid bacteria.[Online.] Food and Agricultural Organization of the United Nations, New York, NY.
- Moulay, M., Aggad, H., Benmechernene, Z., Guessas, B., Henni, D.E., Kihal, M., 2006. Cultivable lactic acid bacteria isolated from Algerian raw goat's milk and their proteolytic activity. *World J Dairy Food Sci*, 1(1), 12-18.
- Mourad, K. and Nour-Eddine, K., 2006. Physicochemical and microbiological study of “shmen”, a traditional butter made from camel milk in the Sahara (Algeria): isolation and identification of lactic acid bacteria and yeasts. *Grasas y Aceites*, 57(2), 198-204
- Nacher-Vázquez, M., Ballesteros, N., Canales, Á., Saint-Jean, S.R., Pérez-Prieto, S.I., Prieto, A., López, P., 2015. Dextrans produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydrate polymers*, 124, 292-301.
- Nawaz, M., Wang, J., Zhou, A., Ma, C., Wu, X., Moore, J.E., Xu, J., 2011. Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Current microbiology*, 62(3), 1081-1089.
- Nespolo, C.R., Sehn, C.P., Pinheiro, F.C., Stefani, L.M., 2020. Lactic acid bacteria with antimicrobial, proteolytic and lipolytic activities isolated from ovine dairy products. *Food Science and Technology*, 40, 293-299.
- Nielsen, E.W. and Ullum, J.A., 1989. *Dairy technology*, 2. DTD.
- Nierop Groot, M. N. and Kleerebezem, M., 2007. Mutational analysis of the *Lactococcus lactis* NIZO B40 exopolysaccharide (EPS) gene cluster: EPS biosynthesis correlates with unphosphorylated EpsB. *Journal of applied microbiology*, 103(6), 2645-2656.
- Nikolic, M., Terzic-Vidojevic, A., Jovcic, B., Begovic, J., Golic, N., Topisirovic, L., 2008. Characterization of lactic acid bacteria isolated from Bukuljac, a homemade goat's milk cheese. *International journal of food microbiology*, 122(1-2), 162-170.
- Nionelli, L., Montemurro M., Pontonio E., Verni M., Gobetti M., Rizzello C. G., 2018. Pro-technological and functional characterization of lactic acid bacteria to be used as starters for hemp (*Cannabis sativa* L.) sourdough fermentation and wheat bread fortification. *International Journal of Food Microbiology*, 279, 14–25.
- Notararigo, S., Nacher-Vázquez, M., Ibarburu, I., Werning, M. L., de Palencia, P. F., Dueñas, M. T., Prieto, A., 2013. Comparative analysis of production and purification of homo- and hetero-polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Carbohydrate polymers*, 93(1), 57-64.
- Nwodo, U.U., Green, E., Okoh, A.I., 2012. Bacterial exopolysaccharides: functionality and prospects. *International journal of molecular sciences*, 13(11), 14002-14015.
- O'Callaghan, T.F., Faulkner, H., McAuliffe, S., O'Sullivan, M. G., Hennessy, D., Dillon, P., Ross, R.P., 2016. Quality characteristics, chemical composition, and sensory properties of butter from cows on pasture versus indoor feeding systems. *Journal of Dairy Science*, 99(12), 9441-9460.
- Oeffner, S.P., Qu, Y., Just, J., Quezada, N., Ramsing, E., Keller, M., Cherian, G., Goddick, L., Bobe, G., 2013. Effect of flaxseed supplementation rate and processing on the production, fatty acid profile and texture of milk, butter and cheese. *J. Dairy Sci.* 96:1177-1188.
- Oğuz, B., 1976. Türkiye halkının kültür kökenleri: Tarım, hayvancılık, meteoroloji (Vol. 2, No. 2). Doğu-Batı.

- Omafuvbe, B.O. and Enyioha, L.C., 2011. Phenotypic identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from selected commercial Nigerian bottled yoghurt. *African Journal of Food Science*, 5(6), 340-348.
- Ortiz-Gonzalez, G., Jimenez-Flores, R., Bremmer, D.R., Clark, J.H., DePeters, E.J., Schmidh, S.J., Drackley, J.K., 2007. Functional properties of butter oil made from bovine mil with experimentally altered fat composition. *J. Dairy Sci.* 90: 5018-5031.
- Özcan, T., Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., Cetin, K., Delikanli, B., 2016. Evaluation of fatty acid profile of Trabzon butter. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 7(3), 190.
- Özer, B.H., 2016. Fermente süt ürünleri, probiyotik organizmalar ve peynir. In: *Gıda biyoteknolojisi* Ed. Aran, N., Nobel yayıncılık, Ankara, 198-238.
- Özkalp, B., Özden, B., Tuncer, Y., Şanlıbaba, P., Akçelik, M., 2007. Technological characterization of wild-type *Lactococcus lactis* strains isolated from raw milk and traditional fermented milk products in Turkey. *Le Lait*, 87(6), 521-534.
- Palomba, S., Cavella, S., Torrieri, E., Piccolo, A., Mazzei, P., Blaiotta, G., Pepe, O., 2012. Polyphasic screening, homopolysaccharide composition, and viscoelastic behavior of wheat sourdough from a *Leuconostoc lactis* and *Lactobacillus curvatus* exopolysaccharide-producing starter culture. *Applied and environmental microbiology*, 78(8), 2737-2747.
- Pan, L., Yu, J., Mi, Z., Mo, L., Jin, H., Yao, C., Menghe, B., 2018. A metabolomics approach uncovers differences between traditional and commercial dairy products in Buryatia (Russian Federation). *Molecules*, 23(4), 735.
- Park, Y., Albright, K. J., Liu, W., Storkson, J. M., Cook, M.E., Pariza, M.W., 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32(8), 853-858.
- Park, Y., Albright, K. J., Storkson, J. M., Liu, W., Pariza, M.W., 2010. Effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on spontaneously hypertensive rats. *Journal of Functional Foods*, 2(1), 54-59.
- Pederson, C.S., 1979. *Microbiology of food fermentation*. Avi publishing, Connecticut, 1-29.
- Perreten, V., Schwarz F., Cresta L., Boeglin M., Dasen G., Teuber M., 1997. Antibiotic resistance spread in food. *Nature*. 389(6653):801–802.
- Petrut, S.M., Sarbu, I., Corbu, V.M., Pelinescu, D., Iftime, O., Vassu-Dimov, T., 2019. Screening of lactic acid bacteria from spontaneously fermented products of Romania.
- Pittet, V., Morrow, K., Ziola, B. 2011. Ethanol tolerance of lactic acid bacteria, including relevance of the exopolysaccharide gene *gtf*. *Journal of the American Society of Brewing Chemists*, 69(1), 57-61.
- Pluvinet, A., Charron-Bourgoin, F., Morel, C., Decaris, B., 2004. Polymorphism of *eps* loci in *Streptococcus thermophilus*: sequence replacement by putative horizontal transfer in *S. thermophilus* IP6757. *International dairy journal*, 14(7), 627-634.
- Poulsen, V.K., Koza, A., Al-Nakeeb, K., Oeregaard, G., 2020. Screening for texturing *Leuconostoc* and genomics behind polysaccharide production. *FEMS microbiology letters*, 367(20), fnaa179.
- Poveda, J.M. and Cabezas, L., 2006. Free fatty acids composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics. *Food Chemistry*, 95; 307-311.
- Pustjens, A.M., Boerrigter-Eenling, R., Koot, A.H., Rozijn, M., Van Ruth, S.M., 2017. Characterization of retail conventional, organic, and grass full-fat butters by their fat contents, free fatty acid contents, and triglyceride and fatty acid profiling. *Foods*, 6(4), 26.
- Rahmati, F., 2017. Characterization of *Lactobacillus*, *Bacillus* and *Saccharomyces* isolated from Iranian traditional dairy products for potential sources of starter cultures. *AIMS microbiology*, 3(4), 815.

- Rahman, M.A., Talukder, A., Das, S. C., Hossain, I., Devnath, P., Bhowmik, S., Rahman, M.M., 2020. *Lactobacillus xylosus* isolated from butter showed potentiality to be used as probiotic and biopreservative. *Asian Journal of Medical and Biological Research*, 6(1), 27-37.
- Rakhmanova, A., Khan, Z.A., Shah, K., 2018. A mini review fermentation and preservation: role of Lactic Acid Bacteria. *MOJ Food Process Technol*, 6(5), 414-417.
- Rani, R.P., Anandharaj, M., Ravindran, A.D., 2018. Characterization of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus gasseri* FR4 and demonstration of its in vitro biological properties. *International journal of biological macromolecules*, 109, 772-783.
- Rasouli Pirouzian, H., Hesari, J., Farajnia, S., Moghaddam, M., Ghiassifar, S., 2012. Effects of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*, isolated from traditional Lighvan cheese, on physicochemical and sensory characteristics of Iranian UF white cheese. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(5), 1023-1034.
- Reiser, R., 1969. Nutritional inferiority of filled versus natural milk with special reference to fatty constituents. *Journal of Dairy Science*, 52(7), 1127-1129.
- Reiter, B. and Sharpe, M.E., 1971. Relationship of the microflora to the flavour of Cheddar cheese. *Journal of Applied Bacteriology*, 34(1), 63-80.
- Ren, C., Zhang, Q., De Haan, B.J., Zhang, H., Faas, M.M., De Vos, P., 2016. Identification of TLR2/TLR6 signalling lactic acid bacteria for supporting immune regulation. *Scientific reports*, 6, 34561.
- Rodríguez J., Requena T., Goudédranche H., Maubois J.L., Juárez M., 1996. Accelerated ripening of reduced fat semi-hard cheese from a mixture of cow's, goat's and ewe's ultrafiltrated milk by using a Lac-Prt-strain of lactococci. *Lait* 76:513–522.
- Roman, S., Sánchez-Siles, L.M., Siegrist, M., 2017. The importance of food naturalness for consumers: Results of a systematic review. *Trends in food science & technology*, 67, 44-57.
- Ruas-Madiedo. P., Hugenholtz, J., Zoon, P., 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 163–171.
- Ruiz Rodríguez, L.G., Mohamed, F., Bleckwedel, J., Medina, R., De Vuyst, L., Hebert, E.M., Mozzi, F., 2019. Diversity and functional properties of lactic acid bacteria isolated from wild fruits and flowers present in Northern Argentina. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1091.
- Rutkowska, J. and Adamska, A., 2011. Fatty acid composition of butter originated from North-Eastern region of Poland. *Polish journal of food and nutrition sciences*, 61(3), 187-193.
- Ryhage, R., 1967. Identification of fatty acids from butterfat using a combined gas chromatograph-mass spectrometer. *Journal of Dairy Research*, 34(2), 115-121.
- Sağdıç, O., Arıcı, M., Şimşek, O., 2002. Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt. *Food Microbiology*, 19(4), 303-312.
- Saitou, N. and Nei, M., 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Samet-Bali, O., Ayadi, M.A., H. Attia, H., 2009. Traditional Tunisian butter: physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. *Food Sci. and Tech.*, 42, 899-905.
- Samkova, E., Spicka, J., Pesek, M., Pelikanova, T., Hanus, O., 2012. Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review. *South African Journal of Animal Science*, 42(2), 83-100.
- Savijoki, K., Ingmer, H., Varmanen, P., 2006. Proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Applied microbiology and biotechnology*, 71(4), 394-406.

- Schaffer, B., Szakaly, S., Lorinczy, D., 2001. Melting properties of butter fat and the consistency of butter. Effect of modification of cream ripening and fatty acid composition. *Journal of thermal analysis and calorimetry*, 64(2), 659-669.
- Scott, K.P., 2002. The role of conjugative transposons in spreading antibiotic resistance between bacteria that inhabit the gastrointestinal tract. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(12), 2071-2082.
- Sert, D. and Mercan, E. 2020. Characterisation of physicochemical, microbiological, thermal, oxidation properties and fatty acid composition of butter produced from thermosonicated cream. *International Dairy Journal*, 109, 104777.
- Shangguan, W., Chen, H., Li, Y., Wang, Z., Guo, H., Meng, J., 2019. Screening and Identification of New Types of Exopolysaccharides-Producing Lactic Acid in the Inner Mongolia Dairy Products. *Acta Universitatis Cibiniensis. Series E: Food Technology*, 23(2), 75-84.
- Shmalfuss, H. and Barthmeyer H., 1928. Diacetyl ein Stoffwechselprodukt? *Biochem. Ztschr.*, 216: 330-335.
- Shorland, F.B., Gerson, T., Hansen, R.P., 1955. Branched-chain fatty acids of butterfat. 7. Investigation of the C13 acids. *Biochemical Journal*, 61(4), 702-704.
- Shukla, A., Bhaskar, A.R., Rizvi, S.S.H, Mulvaney, S.J., 1994. Physicochemical and rheological properties of butter made from supercritically fractioned milk fat. *J. Dairy Sci.* 77: 45-54.
- Simopoulos, A.P., 2008 The importance of the omega-6/omega3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Exp Biol Med (Maywood)* 233, 674–688.
- Slattery, L., O’Callaghan, J., Fitzgerald, G.F., Beresford, T., Ross, R.P., 2010. Invited review: *Lactobacillus helveticus*—a thermophilic dairy starter related to gut bacteria. *Journal of dairy science*, 93(10), 4435-4454.
- Sridhar, V.R., Hughes, J.E., Welker, D.L., Broadbent, J.R., Steele, J.L., 2005. Identification of endopeptidase genes from the genomic sequence of *Lactobacillus helveticus* CNRZ32 and the role of these genes in hydrolysis of model bitter peptides. *Applied and environmental microbiology*, 71(6), 3025-3032.
- Smedman, A.E., Gustafsson, I.B., Berglund, L.G., Vessby, B.O., 1999. Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors. *The American journal of clinical nutrition*, 69(1), 22-29.
- Smith, A.H., Zoetendal, E., Mackie, R.I., 2005. Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. *Microbial ecology*, 50(2), 197-205.
- Smukowski, M., Wendorff, W.L., Ping, Y., Rao, R.D., 2003. Impact of cheese defects on US graded cheeses. *J. Dairy Sci*, 86(Suppl 1), 364.
- Stadhouders, J. and HA, V., 1973. Fat hydrolysis by lactic acid bacteria in cheese.
- Stingle F., Neeser, J. R., Mollet, B., 1996. Identification and characterization of the eps (exopolysaccharide) gene cluster from *Streptococcus thermophilus* Sfi6. *Journal of Bacteriology*, 178(6), 1680–1690.
- Surayot, U., Wang, J., Seesuriyachan, P., Kuntiya, A., Tabarsa, M., Lee, Y., You, S., 2014. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: structural analysis, molecular weight effect on immunomodulation. *International journal of biological macromolecules*, 68, 233-240.
- Şanlıbaba, P. and Çakmak, G.A., 2016. Exopolysaccharides production by lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Open Access*, 2(1000115).
- Şengül, M., Çakmakçı, S., Ünsal, M., 1998. Trabzon tereyağlarının bazı fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tespiti. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu. Milli Prodüktivite Merkezi Yayınları. Yayın No: 621. Ankara, 230-244.

- Şengül, M., 2001. Tulum peynirinden izole ve identifiye edilen bazı laktik asit bakterileri suşlarının starter kültür özellikleri ve peynirlerin bazı özelliklerinin tespiti. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Ens., Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Şengül, M., Ünsal, M., Çakmakçı, S., 2003. Trabzon tereyağlarının yağ asidi kompozisyonunun tespiti. Süt Endüstrisinde Yeni Eğilimler Sempozyumu. 22-23 Mayıs, 2003, Bornova, İzmir. 363-365.
- Tahmas Kahyaoğlu, D., 2014. İnek, koyun ve keçi sütlerinden üretilen tereyağlarında depolama süresince uçucu bileşikler, oksidasyon stabilitesi ve diğer bazı kalite kriterlerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Fen Bilimleri Ens., Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Tavlaş Hocalar, B., 2011. Tereyağı Teknolojisi. Ege Üniversitesi M.Y.O. Yayınları No: 22, 1-3 s, İzmir.
- Tamime, A.Y., Skriver, A., Nilsson, L.E., 2006. Starter Cultures. Fermented Milks, Edited by Dr Adnan Tamime, p.11-52.
- Terkuran, M., Erginkaya, Z., Emel, Ü., Güran, M., Kizilyildirim, S., Gökce, U. Köksal, F., 2014. The relationship between virulence factors and vancomycin resistance among Enterococci collected from food and human samples in Southern Turkey. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 61(2), 133-140.
- Terzić-Vidojević, A., Tonković, K., Pavunc, A. L., Beganović, J., Strahinić, I., Kojić, M., Gregurek, L., 2015. Evaluation of autochthonous lactic acid bacteria as starter cultures for production of white pickled and fresh soft cheeses. LWT-Food Science and Technology, 63(1), 298-306.
- Tong, D., Fukuda, K., Sugai-Bannai, M., Takakuwa, N., Motoshima, H., Urashima, T. 2009. Characterization and expression analysis of the exopolysaccharide gene cluster in *Lactobacillus fermentum* TDS030603. Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan, 73(12), 2656–2664.
- Toomey, N., Monaghan, A., Fanning, S., Bolton, D.J., 2009. Assessment of antimicrobial resistance transfer between lactic acid bacteria and potential foodborne pathogens using in vitro methods and mating in a food matrix. Foodborne pathogens and disease, 6(8), 925-933.
- Tosun, F., 2016. Ekzopolisakkarit üreten laktik kültürlerin tereyağı, yayık tereyağı ve kaymağın kalite özelliklerine etkisi. Doktora tezi. Fen Bilimleri Ens., Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Tricon, S., Burdge, G.C., Kew, S., Banerjee, T., Russell, J.J., Grimble, R.F., Yaqoob, P., 2004. Effects of cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12 conjugated linoleic acid on immune cell function in healthy humans. The American journal of clinical nutrition, 80(6), 1626-1633.
- Tsisaryk, O.Y., Slyvka, I.M., Musiy, L.Y., Kuschnir, I.I., 2018. Selection of lactic acid bacteria isolated from natural ecosystems for production of cultured butter for herodietic use. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені СЗ Гжицького, 20(85).
- Tunail, N. and Halkman, A.K., 2005. Starter Kültür Teknolojisi Ders Notları (basılmamış). Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü ders notları.
- Tunail, N., 2009. Mikrobiyoloji. Danone Enstitüsü Derneği.
- TÜİK, 2020. Dış ticaret verileri, <https://data.tuik.gov.tr/Kategori/GetKategori?p=dis-ticaret-104&dil=1>, (13.12.2020).
- Urbach, G., 1995. Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products. International Dairy Journal, 5(8), 877-903.
- Vaille, K., Ferezou, J., Parquet, M., Amsler, G., Grippo, D., Quignard-Boulange, A., Martin, J.C., 2006. The natural concentration of the conjugated linoleic acid, cis-9, trans-11, in milk fat has antiatherogenic effects in hyperlipidemic hamsters. The Journal of nutrition, 136(5), 1305-1310.

- van Boeckel, T.P., Gandra, S., Ashok, A., Caudron, Q., Grenfell, B.T., Levin, S.A., 2014. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect. Dis.* 14, 742–750.
- van Boeckel, T.P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B.T., Levin, S.A., Robinson, T.P., 2015. Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 112, 5649–5654.
- van Kranenburg, R., Vos, H. R., Van Swam, I. I., Kleerebezem, M., De Vos, W. M., 1999. Functional analysis of glycosyltransferase genes from *Lactococcus lactis* and other gram-positive cocci: complementation, expression, and diversity. *Journal of Bacteriology*, 181(20), 6347-6353.
- van der Meulen, R., Grosu-Tudor, S., Mozzi, F., Vaningelgem, F., Zamfir, M., de Valdez, G.F., De Vuyst, L. 2007. Screening of lactic acid bacteria isolates from dairy and cereal products for exopolysaccharide production and genes involved. *International journal of food microbiology*, 118(3), 250-258.
- van Niel, C. B., Kluyver, A. J., Derx, H. G., 1929. Über das Butteraroma. *Biochem. Ztschr.*, 210: 234-251.
- van Reenen, C.A. and Dicks, L.M., 2011. Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities? A review. *Archives of microbiology*, 193(3), 157-168.
- Vedamuthu, E., 2006. Starter cultures for yogurt and fermented milks. In: *manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Ed. R. Chandan . Blackwell Publishing, 89-155, Oxford, UK
- Vinicius De Melo Pereira, G., De Carvalho Neto, D.P., Junqueira, A., Karp, S.G., Letti, L.A., Magalhães Júnior, A.I., Soccol, C.R., 2020. A review of selection criteria for starter culture development in the food fermentation industry. *Food Reviews International*, 36(2), 135-167.
- Visser, S., Exterkate, F.A., Slangen, C.J., de Veer, G.J., 1986. Comparative study of action of cell wall proteinases from various strains of *Streptococcus cremoris* on bovine α 1-, β -, and κ -casein. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(5), 1162-1166.
- von Wintersdorff, C.J., Penders, J., van Niekerk, J.M., Mills, N.D., Majumder, S., van Alphen, L.B., Wolffs, P.F., 2016. Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in microbiology*, 7, 173.
- Walstra, P., Geurts, T.J., Noomen, A., Jellema, A., van Boekel, M., 1999. *Dairy Technology, principles of milk properties and process*. Marcel Dekker, New York, 727.
- Wang, J. and Fung, D.Y., 1996. Alkaline-fermented foods: a review with emphasis on pidan fermentation. *Critical Reviews in Microbiology*, 22(2), 101-138.
- Wang, K., Li, W., Rui, X., Chen, X., Jiang, M., Dong, M., 2014. Characterization of a novel exopolysaccharide with antitumor activity from *Lactobacillus plantarum* 70810. *International journal of biological macromolecules*, 63, 133-139.
- Wang, J., Zhao, X., Yang, Y., Zhao, A., Yang, Z., 2015. Characterization and bioactivities of an exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* YW32. *International journal of biological macromolecules*, 74, 119-126.
- Wang, X., Shao, C., Liu, L., Guo, X., Xu, Y., Lu, X., 2017. Optimization, partial characterization and antioxidant activity of an exopolysaccharide from *Lactobacillus plantarum* KX041. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 1173-1184.
- Weerkamp, A.H., Klijn, N., Neeter, R., Smit, G., 1996. Properties of mesophilic lactic acid bacteria from raw milk and naturally fermented raw milk products. *Nederlands melk en Zuiveltijdschrift*, 50(2), 319-332.
- Welman, A.D. and Maddox, I.S., 2003. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in biotechnology*, 21(6), 269-274.

- Whitfield, C. and Valvano, M.A., 1993. Biosynthesis and expression of cell-surface polysaccharides in gram-negative bacteria. In *Advances in microbial physiology* (Vol. 35, pp. 135-246). Academic Press.
- Wolff, R.L., Bayard, C.C., Fabien, R.J., 1995. Evaluation of sequential methods for the determination of butterfat composition with emphasis on trans-18:1 acids: Application to the study of seasonal variations in French butters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 72:1471–1483.
- Wolk, A., Vessby, B., Ljung, H., Barrefors, P., 1998. Evaluation of a biological marker of dairy fat intake. *The American journal of clinical nutrition*, 68(2), 291-295.
- Wongtangintharn, S., Oku, H., Iwasaki, H., Toda, T., 2004. Effect of branched-chain fatty acids on fatty acid biosynthesis of human breast cancer cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 50(2), 137-143.
- Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H., 1995. *The lactic acid bacteria*, vol. 2. The genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Wood, B.J.B., 1997. *Microbiology of fermented foods*. London: Blackie Academic & Professional.
- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., Smit, G., 2002. Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12, 91–109.
- Wright, A.V. and Axelsson, L., 2019. Lactic acid bacteria: An introduction. In: *Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects*, fifth edition. Ed: Vinderola, G., Ouwehand, A.C., Salminen, S., Wright, A.V., Crc pres, Boca raton, FL, 1-16.
- Yang, B., Chen, H., Stanton, C., Ross, R.P., Zhang, H., Chen, Y.Q., Chen, W. (2015). Review of the roles of conjugated linoleic acid in health and disease. *Journal of Functional Foods*, 15, 314-325.
- Yerlikaya, O. and Akbulut, N., 2019. Potential use of probiotic *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains in Izmir Tulum cheese as adjunct culture. *Journal of food science and technology*, 56(4), 2175-2185.
- Yıldız, S., 2019. Yoğurt kaynaklı laktik asit bakterilerinin starter kültür ve ekzopolisakkarit üretim özelliklerinin incelenmesi. Y. Lisans Tezi. Fen Bilimleri Ens., Atatürk Üniversitesi, Erzurum.
- Yu, J., Mo, L., Pan, L., Yao, C., Ren, D., An, X., Liu, W., 2018. Bacterial microbiota and metabolic character of traditional sour cream and butter in Buryatia, Russia. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2496.
- Yüce, S., 2017. Peynir ve yoğurtlardan izole edilmiş olan laktik asit bakterilerinin bazı teknolojik özelliklerinin araştırılması. Y. Lisans Tezi, Fen Bilimleri Ens., Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur.
- Zaman, S.B., Hussain, M.A., Nye, R., Mehta, V., Mamun, K.T., Hossain, N., 2017. A review on antibiotic resistance: alarm bells are ringing. *Cureus*, 9(6).
- Zannini, E., Waters, D.M., Coffey, A. Arendt, E.K., 2016. Production, properties, and industrial food application of lactic acid bacteria-derived exopolysaccharides. *Applied microbiology and biotechnology*, 100(3), 1121-1135.
- Zarei, F., Nateghi, L., Zarei, M., 2020. Isolation and identification of probiotic bacteria with potential of Gamma Amino Butyric Acid production from traditional dairies in Iran. *Human, Health and Halal Metrics*, 1(1), 21-28.
- Zarzecka, U., Zadernowska, A., Chajęcka-Wierzchowska, W., 2020. Starter cultures as a reservoir of antibiotic resistant microorganisms. *LWT*, 109424.
- Zeidean, A.A., Poulsen V.K., Janzen T., Buldo P., Derkx P.M.F., Oregaard G., Neves A.R., 2017. Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 41, 168–200.
- Zhang, L., Liu, C., Li, D., Zhao, Y., Zhang, X., Zeng, X., Li, S., 2013. Antioxidant activity of an exopolysaccharide isolated from *Lactobacillus plantarum* C88. *International Journal of Biological Macromolecules*, 54, 270-275.

Zhou, Y., Cui, Y., Qu, X., 2019. Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, bioactivity and associations: A review. *Carbohydrate polymers*, 207, 317-332.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı ve Soyadı:	Halil İbrahim AKGÜL
Doğum Tarihi:	9 Ağustos 1985
Doğum Yeri:	Kelkit/GÜMÜŞHANE
Adres:	Bayburt Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Dede Korkut Külliyesi Merkez/BAYBURT
E-mail:	hiakgul@bayburt.edu.tr
Eğitim	
Lise:	Köse Lisesi
Lisans:	Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Yüksek lisans:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doktora:	Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce:	KPDS: 68,75
Yayınlar	
1. Ürkek, B., Şengül, M., Akgül, H.İ., Kotan, T.E., 2019. Antioxidant Activity, Physicochemical and Sensory Characteristics of Ice Cream Incorporated with Sloe Berry (<i>Prunus spinosa</i> L.). <i>International Journal of Food Engineering</i>, 15(11-12). 2. Akgül, H.İ., Şengül, M., Ürkek, B., Kotan, T.E., 2020. Determination of physicochemical and microbiological properties and fatty acid composition of butter produced in Trabzon, Turkey. <i>Acta Scientiarum. Technology</i>, 43(1), e48905. 3. Akgül, H.İ., Şengül, M., Ürkek, B., Kotan, T.E., Gürbüz, Z., 2020. Some physicochemical and microbiological properties of butter produced in Erzurum. <i>Journal of food safety and food quality-archiv fur lebensmittelhygiene</i>, 71(1), 21-26.	