

**Beyaz Peynirden İzole Edilen *Enterococcus faecium* HZ'nin
Aroma Üretme Kapasitesinin ve Beyaz Peynirde Starter
Kültür Olarak Potansiyelinin Belirlenmesi**

Program Kodu: 1002

Proje No: 118O500

Proje Yürütücüsü:

Prof. Dr. Yahya Kemal AVŞAR

Araştırmacılar :

Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM,

Doç. Dr. Şebnem BUDAK ÖZTÜRKÖĞLU

Bursiyer :

Müge ARKADAŞ

EYLÜL 2019

HATAY

ÖNSÖZ

Ülkemizde peynir endüstrisinde karşılaşılan en önemli sorunlardan birisi de starter kültür kullanımıdır. Geleneksel olarak çiğ süttten üretilen peynirlerin hem gıda güvenliği hem de karakteristik lezzet özelliklerini kazanması için maliyetli olan uzun bir olgunlaşma süresine (en az 3 ay) gereksinim duyulmaktadır. Peynirlerin pastörize süttten üretilmesi durumunda ise üretim için dışardan starter kültür adı verilen tanımlanmış suşlardan oluşan laktik asit bakterileri kullanılmak zorundadır. Ülkemizde kullanılan starter kültürler yurt dışından ithal edildiği kendi yöresel peynirlerimizden izole edilmediğinden, kullanımı durumunda yöresel peynirlerimizde istenen karakteristik lezzet elde edilememektedir. Her iki durumda üreticiler hem maliyet artıcı hem de ürün karakteristiği açısından yetersiz durumlar ile karşılaşmaktadırlar. Bu yüzden gıda güvenliği açısından ısıt işleml görmüş süttlerden üretilen peynirlerde karakteristik lezzeti oluşturacak, depolama süresini azaltacak yöresel ürünlerden izole edilmiş gıda güvenliği açısından risk oluşturmeyen bakterilere ihtiyaç vardır.

Çiğ süttten üretilen yöresel peynirler üzerinde yapılan çalışmalar da enterokokların yöresel ürünleri mikroflorasında önemli bir yer tuttuğu gösterilmiştir. Ancak enterokokların aroma üzerine etkisi tam olarak ortaya konmamıştır. Bu çalışmada daha önce Devlet Planlama Teşkilatı tarafından desteklenen bir projede, patojen olmayan ve enterosin üreten *Enterococcus faecium* HZ'nin Beyaz peynirlerde aroma üretme kapasitesine ve starter kültür olarak kullanım potansiyeline bakılmıştır. Araştırma sonuçları *Enterococcus faecium* HZ'nin peynir üretiminde yardımcı starter olarak kullanıldığı durumda, peynirde başlangıç asitliğini arttırdığını ve bundan kaynaklı olarak muhtemelen pıhtının kasılmasını teşvik ederek daha fazla sinerezin meydana gelmesine neden olduğu düşünülmektedir. Nitekim, *Enterococcus faecium* HZ'nin sisteme girmesi ile kontrol grubuna göre (K-peyniri) %laktik asit içeriğinde %50 artış, %kurumadde içeriğinde ise yaklaşık %5 kadar bir artışa neden olmuştur. Uçucu bileşenler profili açısından ise, *Enterococcus faecium* HZ'nin aromaya özellikle hekzanoik ve oktanoik asitler üreterek katkıda bulunduğu saptanmıştır

Bu araştırma, Tübitak 1002 Destek Programı kapsamında 118O500 numaralı proje ile desteklenmiştir. Çalışma, 15 Ağustos 2018 tarihinde başlamış ve 15 Nisan 2019 tarihinde tamamlanmıştır. Araştırmada Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi ve Ankara Üniversitesi öğretim üyeleri birlikte çalışmışlardır.

İÇİNDEKİLER TABLOSU

Önsöz	i
İÇİNDEKİLER TABLOSU	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
3. 3. GEREÇ ve YÖNTEM	6
3.1. Beyaz Peynir Üretimi	6
3.2. Beyaz Peynirin Genel Bileşim Analizleri	7
3.3. Uçucu Bileşiklerin Belirlenmesi	7
3.4. Aroma Aktif Bileşiklerin Belirlenmesi	8
3.4.1. Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu	8
3.4.2. Gaz kromatografisi/Olfaktometri Analizleri	9
3.4.3. Aroma Ekstraksiyon Dilüsyon Analizi (AEDA)	10
3.5. Duyusal Testler	10
3.6. Mikrobiyolojik Analizler	10
3.6.1. Bakteri Kültürleri ve Besiyerleri	10
3.6.2. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizler İçin Hazırlanması	10
3.6.3. Toplam Aerobik Mezofil Bakteri Sayımı	11
3.6.4. Laktik Asit Bakter Sayımı	11
3.6.5. <i>Enterococcus</i> Sayımı	11
3.6.6. <i>Lactococcus</i> spp. Sayımı	11

3.6.7. Toplam Koliform Sayımı	11
3.6.8. Fekal Koliform Sayımı	12
3.6.9. Koagülaz Pozitif <i>Staphylococcus aureus</i> Sayımı	12
3.6.10. Toplam Maya-Küf Sayımı	12
3.6.11. Peynirde Bakteriyosin Aktivitesinin Belirlenmesi	12
3.7. Tekstür Analizleri.....	13
4.BULGULAR ve TARTIŞMA	14
4.1. Genel Bileşim Analizleri	14
4.2.Uçucu Bileşen Profili	14
4.2.1. Alkoller	18
4.2.2. Alkanlar	20
4.2.3. Asitler	20
4.2.4.Aldehitler	20
4.2.5. Ketonlar	23
4.2.6. Esterler	23
4.2.7. Laktonlar	23
4.2.8. Diğer Bileşikler	27
4.3. Aroma Aktif Bileşenler	27
4.4. Duyusal Testler	32
4.5. Mikrobiyolojik Analizler	32
4.6. Peynir Örneklerinde Bakteriyosin Aktivitesinin Belirlenmesi	36
4.7. Tekstür analizleri.....	

5.SONUÇ	39
6.KAYNAKLAR	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Beyaz peynir üretimi. a, pastörize sütün mayalanması; b, telemenin baskıya alınması; c, baskıdan çıkarılan Beyaz peynirin salamurada bekletilmesi; d, peynirlerin vakum paketlenmesi; e, f) peynirlerin tartılması.	6
Şekil 3.2. Beyaz peynir numunelerinin yağ analizleri.....	7
Şekil 3.3. Beyaz peynir numunelerinin tuz analizleri	7
Şekil 3.4. Uçucu bileşenler solvent ekstraksiyon ve vakum distilasyon tekniği ile ekstrakte edilmesi	9
Şekil 3.5. Gaz kromatografisi-olfaktometri cihazı (Shimadzu GC2010, Japonya)	9
Şekil 3.6. Tekstür profil analiz cihazı (Texture Profile Analyzer, Stable MicroSystem, UK).	13
Şekil 4.1. Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca %titrasyon asitliği (a), %kurumadde (b), %protein (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peyniri; E, ticari kültür ve <i>E. faecium</i> HZ kullanılarak üretilen Beyaz peynir.....	15
Şekil 4.2. Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca %yağ(a), %kurumadde yağ (b), ve %kül (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peyniri; E, ticari kültür ve <i>E. faecium</i> HZ kullanılarak üretilen Beyaz peynir.....	16
Şekil 4.3 Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca; %tuz (a), %kurumadde tuz (b), ve %nemde tuz (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peyniri; E, ticari kültür ve <i>E. faecium</i> HZ kullanılarak üretilen Beyaz peynir.	16
Şekil 4.4. . Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen Beyaz peynirlerde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen duysal (renk ve görünüş, yapı ve tekstür, tat ve koku) özellikler	32
Şekil 4.5. <i>Enterococcus faecium</i> HZ içeren peynir örneklerine ait MRS besiyerinde gelişen kolonilerin <i>Lactobacillus plantarum plantarum</i> 'a karşı inhibitör	36
Şekil 4.6. <i>Enterococcus faecium</i> HZ içeren peynir örneğinin <i>Lactobacillus plantarum plantarum</i> 'a karşı inhibitör etkisi	37

Şekil 4.7. Peynir filtratlarının antibakteriyel aktiviteleri. (a) Kontrol peynir örneği filtratının *Lactobacillus plantarum*'a karşı inhibitör aktivitesi; (b) *E. faecium* HZ içeren peynir örneği filtratının *Lactobacillus plantarum*'a karşı inhibitör aktivitesi37

Şekil 4.8 Ticari starter kültür ile üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari starter kültür ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen tekstürel özellikleri 38

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1. Gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazının fırın sıcaklık programı.	8
Tablo 3.2. Gaz kromatografisi-olfaktometri (GC-O) cihazının fırın sıcaklık programı	9
Tablo 4.1. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen alkol grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)	19
Tablo 4.2. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen alkan grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)	21
Tablo 4.3. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen asitler ve bağıl miktarları (n=2)	22
Tablo 4. 4. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen aldehit grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)	 23
Tablo 4. 5. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen keton grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)	25
Tablo 4. 6. Ti Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen esterler ve bağıl miktarları (n=2)	25
Tablo 4.7. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen laktonlar ve bağıl miktarları (n=2.)	28

Tablo 4. 8. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)	29
Tablo 4. 9. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince saptanan aroma-aktif bileşiklerin alıkonma indeksleri (retention index, RI) ve aroma ekstraksiyon dilüsyon analiz (AEDA) sonuçları	30
Tablo 4. 10. Ticari laktik asit bakteriler ve <i>Entereoccus faecium</i> HZ kullanılarak üretilen peynirlerde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince saptanan aroma-aktif bileşiklerin alıkonma indeksleri (retention index, RI) ve aroma ekstraksiyon dilüsyon analiz (AEDA) sonuçları.....	31
Tablo 4.11. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen toplam mezofil aerobik bakteri içeriği	33
Tablo 4.12. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen <i>Lactobacillus</i> içeriği	33
Tablo 4.13. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen <i>Lactococcus</i> içeriği	34
Tablo 4.14. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen <i>Enterococcus</i> içeriği	34
Tablo 4.15. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen toplam koliform sayımı.....	35
Tablo 4.16. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde	

buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen <i>Staphylococcus</i> spp. içeriği	35
Tablo 4.17. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ <i>Enterococcus faecium</i> HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen maya-küf içeriği	36

ÖZET

Bu araştırmada Devlet Planlama Teşkilatı destekli bir projede kapsamında (2002K120270 nolu proje) Türkiye'de üretilen salamura Beyaz peynirlerinden izole edilen patojen olmayan, enterosin HZ üreten *Enterococcus faecium* HZ bakterisinin Beyaz peynirlerde aroma üretme kapasitesine ve starter kültür olarak kullanılma potansiyeline bakılmıştır. Bu amaçla ticari laktik asit starter kültürü (K-peyniri) ve ticari laktik asit starter kültürü+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen Beyaz peynirlerin buzdolabı sıcaklığında üç aylık olgunlaşma periyodunda genel bileşim, uçucu bileşen profili, aroma aktif bileşiklerin profili, duyusal, mikrobiyolojik ve tekstürel değişimler belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, yardımcı starter kültür olarak *E. faecium* HZ ilavesinin, E-peynirinde K-peynirine kıyasla, sinerezini artırarak kurumaddesini ve kurumaddeyi oluşturan bileşenlerin (yağ, protein, kül) oranlarını artırdığı belirlenmiştir. E-peynirlerinde, K-peynirlerine nazaran daha fazla sayıda, özellikle lipoliz ve fermentasyon kaynaklı uçucu bileşen ve aromaya katkıda bulunan aroma aktif bileşenlerin sayısı da daha fazla bulunmuştur. Özellikle hekzanoik, oktanoik ve dekaonik asitler sadece E-peynirinde tespit edilmiştir. Bu değişimlere paralel olarak tat ve aroma açısından E-peyniri, K-peynirinden daha yüksek puanlar almıştır. Mikrobiyolojik açıdan ise *E. faecium* HZ tarafında üretilen enterosinin başta *Lactobacillus*'lar olmak üzere koliform grubu bakterileri inhibe ettiği gözlenmiştir. Sonuç olarak *E. faecium* HZ starter kültür olarak kullanımının Beyaz peynirlerin duyusal ve mikrobiyolojik kalitesini iyileştirdiği gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enterococcus faecium* HZ, Beyaz peynir, aroma, enterosin, olfaktometre

ABSTRACT

In this study, aroma producing capacity and possible use as a starter culture of non pathogenic *Enterococcus faecium* HZ producing enterocin HZ that was isolated from Beyaz cheese within a Project funded by State Planning Organization (Project no 2002K120270) was determined in Beyaz cheese. For this purpose, Beyaz cheese with commercial lactic acid bacteria (K-cheese) or with commercial lactic starter culture+*Enterococcus faecium* HZ (E-cheese) were produced and ripened for three months days at refrigerated conditions and changes in general composition, volatile and aroma active compounds, organoleptic, microbiological and textural changes during ripening period were monitored.

Results obtained indicated that usage of *E. faecium* HZ incresed the syneresis in E-cheese compared to that of K-cheese, resulting in higher total solids and components that formed total solids (fat, protein, ash). , E-cheese had more variety of volatiles and aroma active compounds in particular to lipolysis and fermentation than those of K-cheese. Hexanoic, octanoic, deconoic acids were only detected in E-cheese. In parallel to those changes, the organolaptic properties of E-cheese were found to be superior to K-cheese. In terms of microbiological changes, it was observed that entrosin produced by *E. faecium* HZ inhibited *Lactobacillus* as well as coliform bacteria. As a result, it was observed use of *E. faecium* HZ as a starter culture improved the organoleptic and microbiological quality of Beyaz cheese.

Key Words: *Enterococcus faecium* HZ, Beyaz cheese, aroma, enterocin, olfactometre

1. GİRİŞ

Enterokoklar, fermente süt ürünlerinde dominant mikrobiyal popülasyonu oluşturan laktik asit bakterisi (LAB) (Giraffa vd., 1997) grubunda yer alan, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik özelliklere sahip mikroorganizmalardır (Hardie ve Whiley, 1997; Moreno vd., 2006). Bu mikroorganizmalar asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizmaları, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıdaların üretiminde oldukça önemlidir (Andrighetto vd., 2001; Sarantinopoulos vd., 2001; Giraffa, 2003; Franz vd., 2003; Foulquie Moreno vd., 2006; Ogier, 2008). *Enterokokların* diğer bakterilere göre proteolitik aktivitelerinin etkinliğinden kaynaklı olarak bazı süt ürünlerinin üretiminde daha olumlu rol oynadıkları bilinmektedir (Gómez-Sala vd., 2013; Worsztynowicz vd., 2019). LAB'nin proteolitik sistemi, hücre dışı salgılanan ve yüzeye bağlı proteinaz, peptid taşıyıcıları ve çeşitli hücre içi peptidazlardan oluşur (Law ve Haandrikman, 1997; Liu vd., 2010). Bakteriyel büyüme için gerekli peptidlerin ve amino asitlerin üretilmesinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, bu bakterilerin salgıladığı yüzey enzimleri, süt endüstrisinde kilit bir rol oynayan moleküller olarak kabul edilir, çünkü bunlar sayesinde fermente ürünler, benzersiz organoleptik özellikler kazanır (Broadbent ve Steele, 2007; González vd., 2010; Hernández-Ledesma vd., 2011; Worsztynowicz vd., 2019)

Enterokok, çiğ veya pastörize süttten, Yunanistan, İtalya, İspanya ve Portekiz gibi Akdeniz ülkelerinde üretilen geleneksel Avrupa peynirlerinin mikrobiyasında bulunan bir laktik asit bakterisidir (Bhardwaj vd., 2008). *Enterokok* suşları sitrat metabolizması yoluyla asetaldehit, asetoin ve diasetil oluşturmaları, süt yağının hidrolizi ile yağ asitlerini metil keton ve tioesterlere dönüştürme özellikleri nedeniyle (Tsakalidou vd., 1993; Giraffa, 2003; Beresford ve Williams, 2004), Cheddar, Feta, Mozzarella, Cebreiro, Venaco ve Hispanico gibi peynirlerde olgunlaşma ve aroma gelişimine katkıda bulunurlar (Tsakalidou vd., 1993; Centeno vd., 1999; Ogier ve Serror, 2008). Peynirde olgunlaşma ve lezzet gelişimindeki rolü sebebiyle, istenen teknolojik ve metabolik aktiviteye sahip enterokok suşlarının belirlenerek geleneksel Avrupa peynirlerinde starter kültür olarak kullanılması gerektiği önerilmektedir (Franz vd., 2003). Bu özelliklerinin yanı sıra, *Enterokokların*, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı olmaları, düşük pH da yaşayabilmeleri ve yüksek enzimatik aktiviteleri nedeniyle (Giraffa vd., 1997), ülkemizde geleneksel peynirlerinde starter kültür olarak kullanılabileceği önerilmektedir (Göncüoğlu vd., 2009; İşleyici ve Akyüz, 2009; Alp ve Öner, 2014; Kara ve Akkaya, 2015). Ayrıca bakteriyosin üretme yetenekleri sayesinde gıdanın bozulmasını sağlayan ve gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan mikroorganizmaları inhibe etme özelliği gösterdiği bildirilmektedir (Tagg vd., 1976; Ray ve Daeschel 1992; Klaenhammer, 1993; Hoover ve Steenson, 1993; De Vuyst ve Vandamme, 1994; Jack vd., 1995).

Bir bakterinin starter kültür olarak kullanılmasının gereklerinden biri patojen olmaması diğeri ise aroma üretme yeteneğinin olmasıdır. Bu açıdan düşünüldüğünde hem Avrupa'da (Giraffa, 2002, 2003; Moreno vd., 2006) hem de ülkemizde (Karakuş vd., 1992) üretilen geleneksel peynirlerde dominant enterokok suşlarının *E. faecalis*, *E. durans* ve *E. faecium* oldukları görülmektedir. Bu bakteriler, fekal kontaminasyon indikatörü olması yanında fırsatçı patojenler olarak enfeksiyonlara da sebebiyet verebilmektedir (Morrison vd., 1997; Franz vd., 2003). Bu neden ile starter kültür olma özelliğindeki enterokok suşlarının tespitinde seçilen suşların patojen olmaması gerekmektedir (Klare vd., 2003).

Çiğ süt ve peynirdeki mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu açığa çıkan enzimler peynirde doku ve tat oluşumuna katkıda bulunurlar (Beresford ve Williams, 2004; Ercan vd., 2014). Ancak, artisanal peynirlerin endüstriyel ölçekte yapımı sırasında peynirin doğal mikroflorası değişebilmekte hatta elemine olmaktadır. Bu nedenle özellikle artisanal peynirlerin kendine özgü tat ve aromasını veren mikroflorasındaki mikrobiyel çeşitliliğin ortaya konulması gerekmektedir (Franz vd., 2003; Torres-Llanez vd., 2006; Ballesteros vd., 2006; Ercan vd., 2014). Peynir üretiminde gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla yapılan ısıtma işlemi çiğ sütün mikroflorasını yıkıma uğratmakta, sonradan ilave edilen ticari starter kültürler ise peynirin kendine özgü tat ve aromanın oluşmasında yetersiz kalmaktadır. Bu neden ile peynir endüstrisinde, özellikle de ülkemizdeki geleneksel peynirlerin gıda güvenliğini sağlayacak şekilde ve karakteristik özelliklerini verecek ve yerli peynirlerden izole edilmiş starter kültürleri ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu araştırmanın amacı, Devlet Planlama Teşkilatı destekli bir proje kapsamında yerel peynirlerimizden izole edilen, patojen olmayan, bakteriyosin üreten ve sütte iyi bir gelişme gösterebilen *Enterococcus faecium* HZ'nin aroma aktif bileşikler üretme kapasitesini olfaktometrik teknikler ile ölçülmesi ve Beyaz peynirde starter kültür olarak kullanım olanağının belirlenmesidir. Şu ana kadar peynirler üzerinde yapılan çalışmalar uçucu bileşikler üzerine yoğunlaşmıştır. Ancak uçucu bileşikler ile aroma aktif bileşikler birbiriyle karıştırılmaktadır. Her aroma aktif bileşik uçucu olmasına karşın her uçucu bileşen aroma aktif değildir. Uçucu bileşenler arasından aroma aktif olanlar ancak olfaktometrik teknikler ile ayırt edilebilmektedir. Geleneksel peynirler için ihtiyaç duyulan starter kültür belirleme çalışmaları bakımından ve enterokokların ülkemiz peynir endüstrisinin starter kültür ihtiyacını karşılama olanaklarının belirlenmesi yönünde yapılacak bu çalışma önem arz etmektedir.

2.LİTERATÜR ÖZETİ

Çiğ süt ve peynirdeki mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri sonucu açığa çıkan enzimler peynirde doku ve tat oluşumuna katkıda bulunurlar (Ercan vd., 2014; Beresford ve Williams, 2004). Ancak, artisanal peynirlerin endüstriyel ölçekte yapımı sırasında peynirin doğal mikroflorası değişebilmekte hatta elemine olmaktadır. Bu nedenle özellikle artisanal peynirlerin kendine özgü tat ve aromasını veren mikroflorasındaki mikrobiyel çeşitliliğin ortaya konulması gerekmektedir (Franz vd., 2003; Ballesteros vd., 2006; Torres-Llanez vd., 2006; Ercan vd., 2014). Peynir üretiminde gıda güvenliğinin sağlanması amacıyla yapılan ısıtma işlemi çiğ sütün mikroflorasını yıkıma uğratmakta, sonradan ilave edilen ticari starter kültürler ise peynirin kendine özgü tat ve aromanın oluşmasında yetersiz kalmaktadır. Bu neden ile peynir endüstrisinde, özellikle de ülkemizdeki geleneksel peynirlerin gıda güvenliğini sağlayacak şekilde ve karakteristik özelliklerini verecek ve yerli peynirlerden izole edilmiş starter kültürleri ihtiyaç bulunmaktadır.

Ülkemizde geleneksel peynirler üzerinde yapılan çalışmalar, Enterokokların bu peynirlerin mikroflorasında yaygın olarak bulunduğunu göstermektedir. Nitekim;

- Van Otlı peynirinde $2,31 \pm 1,87$ log kob/g düzeyinde (İşleyici ve Akyüz, 2009),
- Afyonkarahisar'da üretilen Tulum peynirlerinde %25,30 düzeyinde (Kara ve Akkaya, 2015),
- Isparta yöresine ait Dolaz peynirinde ortalama $3,25 \pm 1,80$ log kob/g düzeyinde (Şimşek ve Sağdıç, 2006),
- Elazığ yöresine ait Tomas peynirinden elde edilen 45 izolattın 16 tanesinin *Enterococcus faecium* olduğu (Korucu, 2012),
- Kaşar, Manyas, Sepet, Kelle, Mihaliç, Tulum gibi geleneksel 34 adet peynirden 66 adet *Enterococcus* spp. izole edildiği (Toğay vd., 2016),
- 11 farklı (Beyaz, Kasar, Tulum, Ezine, Antep, Sürk, Lor, Van Otlı, Civil, Orgu ve Dil) 99 peynir örneğinden toplam 139 enterokok suşu izole edildiği (Kürekçi vd., 2016),
- Burdur il merkezindeki semt pazarlarından temin edilen 100 adet salamura beyaz peynir örneğinin %20'sinde 103 kob/g oranında enterokok izole edildiği (Kurşun vd., 2008),
- Geleneksel "Çömlek Peyniri" inde 59 adet enterokok suşunun izole edildiği (Bulut, 2003),
- Taze ve olgun beyaz peynirden izole edilen 348 izolattan 111 tanesinin *E. faecalis* ve 73 ününde *E. faecium* olduğu bildirilmiştir (Karakuş vd., 1992).

- Isparta ve Ankara’da farklı marketlerden toplanan 20 adet tulum peynirinden izole edilen laktik asit bakterilerinin %32,7 sinin Enterokok olarak tespit ettiklerini bildirmişlerdir (Öner vd., 2004).

Bilindiği üzere; Enterokoklar, fermente süt ürünlerinde dominant mikrobiyal popülasyonu oluşturan laktik asit bakteri (LAB) (Giraffa vd., 1997) grubunda yer alan, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen, fakültatif anaerobik özelliklere sahip mikroorganizmalardır (Hardie ve Whiley, 1997; Moreno vd., 2005). Bu mikroorganizmalar asitlik, proteoliz ve lipolitik aktiviteleri, sitrat metabolizmaları, probiyotik özellikleri ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal aktiviteye sahip proteinleri sentezleme yeteneklerinden dolayı fermente gıdaların üretiminde önemli olduğu bildirilmiştir (Andrighetto vd., 2001; Sarantinopoulos vd., 2001; Franz vd., 2003; Giraffa 2003; Foulque Moreno vd., 2006; Ogier, 2008).

Enterokok suşlarının sitrat metabolizması yoluyla asetaldehit, asetoin ve diasetil oluşturmaları, süt yağının hidrolizi ile yağ asitlerini metil keton ve tioesterlere dönüştürme özellikleri nedeniyle (Tsakalidou vd., 1993; Giraffa, 2003; Beresford ve Williams 2004), Cheddar, Feta, Mozarella, Cebreiro, Venaco ve Hispanico gibi peynirlerde olgunlaşma ve aroma gelişimine katkıda bulundukları düşünülmektedir (Tsakalidou vd., 1993; Centeno vd., 1999; Oiger ve Serror, 2008). Peynirde olgunlaşma ve lezzet gelişimindeki rolü sebebiyle, istenen teknolojik ve metabolik aktiviteye sahip enterokok suşlarının belirlenerek geleneksel Avrupa peynirlerinde starter kültür olarak kullanılması gerektiği önerilmektedir (Franz vd., 2003). Bu özelliklerinin yanı sıra, Enterokokların, yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanıklı olmaları, düşük pH da yaşayabilmeleri ve yüksek enzimatik aktiviteleri nedeniyle (Giraffa vd., 1997), ülkemizde geleneksel peynirlerinde starter kültür olarak kullanılabileceği önerilmektedir (Göncüoğlu vd., 2009; İşleyici ve Akyüz, 2009; Alp ve Öner, 2014; Kara ve Akkaya, 2015). Ayrıca bakteriyosin üretme yetenekleri sayesinde gıdanın bozulmasını sağlayan ve gıda kaynaklı hastalıklara sebep olan mikroorganizmaları inhibe etme özelliği gösterdiği bildirilmektedir (Tagg vd., 1976; Ray ve Daeschel 1992; Klaenhammer 1993; Hoover ve Steenson 1993; De Vuyst ve Vandamme 1994; Jack vd., 1995).

Bir bakterinin starter kültür olarak kullanılmasının gereklerinden biri patojen olmaması diğeri ise aroma üretme yeteneğinin olmasıdır. Bu açıdan düşünüldüğünde hem Avrupa’da (Giraffa, 2002; 2003; Moreno vd., 2006) hem de ülkemizde (Karakuş vd., 1992) üretilen geleneksel peynirlerde dominant enterokok suşlarının *E. faecalis*, *E. durans* ve *E. faecium* oldukları görülmektedir. Bu bakteriler, fekal kontaminasyon indikatörü olması yanında fırsatçı patojenler olarak enfeksiyonlara da sebebiyet verebilmektedir (Morrison vd., 1997; Franz vd., 2003). Bu neden ile starter kültür olma özelliğindeki enterokok suşlarının tespitinde seçilen suşların patojen olmaması gerekmektedir (Klare vd., 2003).

Türkiye'deki peynirlerin olfaktometrik teknikler kullanılarak aroma profili üzerinde değişik çalışmalar yapılmıştır. Bu kapsamda TÜBİTAK destekli çalışmalar ile Tulum, Kars kaşarı, Ezine ve İzmir peynirlerinin (Avşar vd., 2009), Ezine peynirinin (Karagül-Yüceer vd., 2007; Yüceer vd., 2009), Sepet peynirinin (Ercan vd., 2011; Guneser ve Yuceer, 2011), Mihaliç peynirinin (Aday ve Karagül-Yüceer, 2014) ve Beyaz peynirin (Sezen-Demirci, 2012) aroma profili olfaktometrik teknikler ile ortaya konmuş; ancak, ülkemizde çiğ süttten üretilen peynirlerin mikrobiyasında bulunan enterokokların aroma profiline katkısı olfaktometrik teknikler kullanılarak henüz gösterilmemiştir.

Ülkemizde Devlet Planlama Teşkilatı destekli bir proje kapsamında (2002K120270 nolu proje) çiğ süttten elde edilen salamura beyaz peynirlerden izole edilen *Enterococcus faecium* HZ'nin patojen olmaması, enterosin üreterek gıda güvenliğine katkıda bulunması ve sütte iyi bir gelişim göstermesi bakımından iyi bir starter kültür adayı olarak gerekli şartları taşıdığı bildirilmektedir (Yıldırım vd., 2014). Ancak, bu suşun aroma üretme kapasitesi ve peynir aromasına olan katkısı olfaktometrik teknikler ile henüz gösterilmemiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

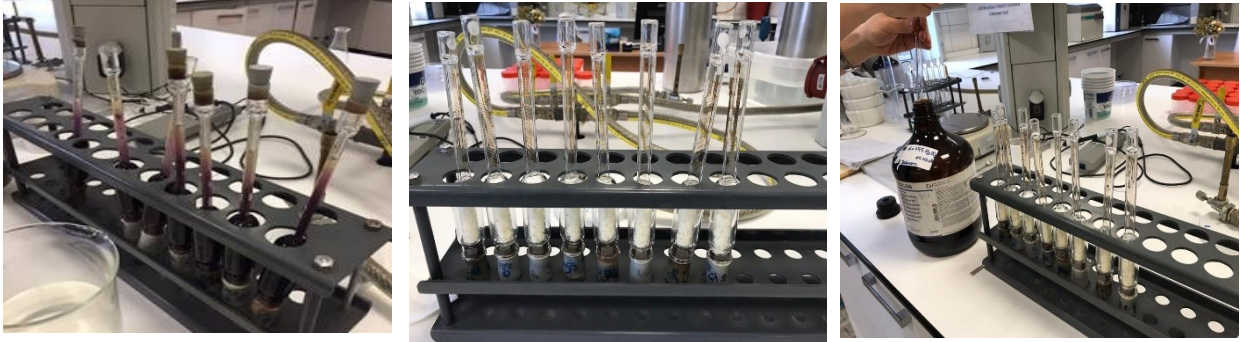
3.1. Beyaz Peynir Üretimi

Beyaz peynir üretimi Ankara Üniversitesi Süt İşletme Tesisinde pastörize süt kullanılarak üretilmiştir. Beyaz peynir üretimi için tavsiye edilen *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ve *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*'den oluşan ticari kültür ve buzağı kaynaklı enzim (MYSECOREN, Maysa Gıda, İstanbul) kullanılmış ve Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden temin edilen *Enterococcus faecium* HZ kültürü (%1 oranında) eklenmiştir.



Şekil 3.1. Beyaz peynir üretimi. a, pastörize sütün mayalanması; b, telemenin baskıya alınması; c, baskıdan çıkarılan Beyaz peynirin salamurada bekletilmesi; d, peynirlerin vakum paketlenmesi; e, f) peynirlerin tartılması.

3.2. Beyaz Peynirin Genel Bileşim Analizleri



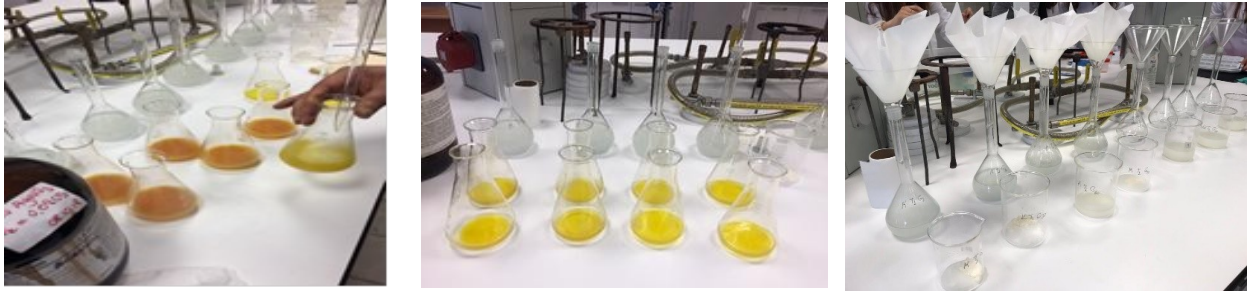
Peynirde; kurumadde, yağ, protein ve tuz analizleri TS591 (Beyaz peynir standardına) göre yapılmıştır. Üretimi yapılan beyaz peynirden olgunlaşma boyunca 1. 30. 60. ve 90. günlerde alınan örneklerin tuz içeriği TS 591’de belirtilen Mohr yöntemine göre yapılarak (Anonim, 2006) kurumadde’de %tuz içeriği hesaplanmıştır. Yağ içeriği Gerber yöntemiyle belirlenerek (Anonim, 2006) kurumadde’de % yağ içeriği hesaplanmıştır. Toplam kurumadde içeriği Gravimetrik yöntemle tayin edilmiştir (Anonim, 2006). Toplam protein içeriği ise Gripon vd. (1975)’e göre belirlenmiştir. Titrasyon yöntemiyle % laktik asit cinsinden belirlenmiş ve Soxhlet Henkel ($^{\circ}\text{SH}$) biriminden hesaplanmıştır (Anonim, 2006).

Şekil 3.2. Beyaz peynir numunelerinin yağ analizleri

Şekil 3.3. Beyaz peynir numunelerinin tuz analizleri

3.3. Uçucu Bileşiklerin Belirlenmesi

Uçucu bileşikler statik tepe boşluğu katı faz mikroekstraksiyonu ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (headspace-solidphase-microextraction/gas chromatography-massspectrometre, HS-SPME/GC-MS) tekniği kullanılarak belirlenmiş ve iç



standart kullanılarak miktarı bağıl olarak hesaplanmıştır (Sulejmani ve Hayaloğlu, 2017). Örneklerin uçucu bileşen analizleri GC-MS ile (Lee vd., 2003)'e göre gerçekleştirilmiştir. 5 g örnek 20 ml viallere alınıp, üzerlerine 5 ml NaCl çözeltisi ilave edilmiş (10 %, w/v) ve 10 µL IS (81 ppb; metanol içerisinde 2 metil-3 heptanon ve 2-metil pentanoik asit) eklenerek, 50°C'de 30 dk ısıtıcı karıştırıcıda karıştırılmıştır. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu, solventsiz ekstraksiyon tekniği olan SPME ile gerçekleştirilmiştir. 75 µm carboxen/ polidimetil siloksan fiber (CAR/PDMS, Supelco, PA, USA) 50 °C'de 30 dakika headspace koşullarına maruz bırakılmış ve bu süre sonunda fiberin aroma maddelerini tutması sağlanarak, cihaza enjekte edilmiştir.

Analizde kullanılan GC/MS'in analiz koşulları aşağıda verilmiştir;

Kolon: DB-Wax (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 240 °C

He gazı akış hızı: 1.0 ml/dk

Splitless Inlet

Dedektör Sıcaklığı: 250 °C

Scan mode: 35-500 m/z at 5.19 scans/s

Fırın sıcaklık programı Tablo 3.1.'de verilmiştir.

Tablo 3.1. Gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) cihazının fırın sıcaklık programı.

Artış	Sıcaklık (°C)	Bekleme (dakika)
	50	10

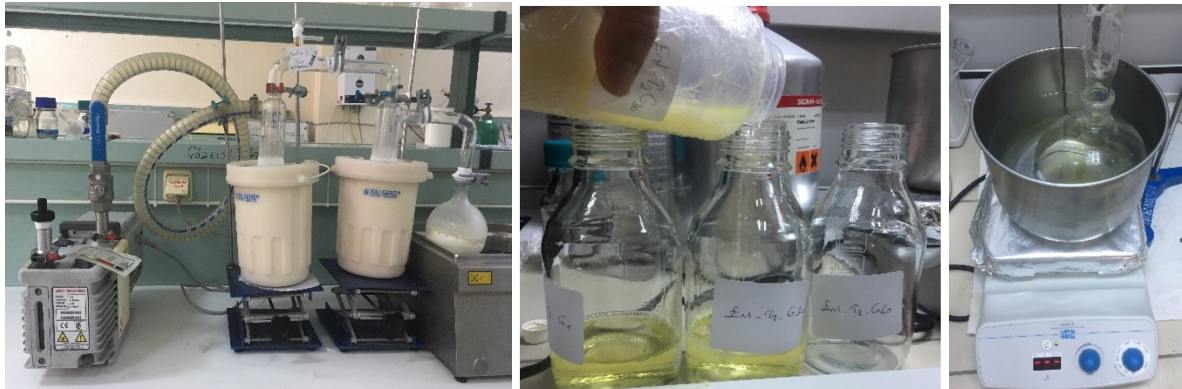
5°C/dk	110	-
10°C/dk	240	-
	250	15 dakika

Uçucu bileşenlerin belirlenmesinde n-alkan serisi kullanılarak Kovat's indeksi hesaplanmıştır (van Den Dool ve Kratz, 1963). Bağlı miktarları, elde edilen pik alanlarından ve GC-MS cihazındaki Wiley 7 ve NIST0.5 kütüphaneleri ile referans standart maddelerin oransal miktarları kullanılarak hesaplanmıştır.

3.4. Aroma Aktif Bileşiklerin Belirlenmesi

3.4.1. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu

Uçucu bileşenler solvent ekstraksiyon ve vakum distilasyon tekniği kullanılarak Avsar ve ark (2004)'de belirtildiği gibi belirlenmiştir. Uçucu bileşiklerin belirlenmesinde 100 g peynir kullanılmıştır. Peynirler 3 kez sırasıyla 250, 150 ve 100 mL dietil eter ile ekstrakte edilip, santrifuj edildikten ve hacmi bir geri soğutucu yardımıyla yaklaşık 120 mL ye düşürüldükten sonra bir balon içinde sıvı azot ile dondurulup aşağıda gösterilen düzenek kullanılarak 10^{-3} torr'da 2 saat oda sıcaklığında 2 saat ise 40C'lik su banyosunda ekstrakte edilmiştir (Şekil 3.4). Elde edilen ekstrakt azot gazı altında 250µL ye konsantre edilmiş ve koklamalarda kullanılmıştır.



Şekil 3.4. Uçucu bileşenlerin solvent ekstraksiyon ve vakum distilasyon tekniği ile ekstrakte edilmesi.

3.4.2. Gas kromatografisi/Olfaktometri Analizleri

Uçucu bileşenler arasından aroma aktif olanlar gaz kromatografisi-olfaktometri tekniği kullanılarak belirlenmiştir. Bunun için gaz kromatografisi (Shimadzu GC2010, Japonya) ve el yapımı koklama portu kullanılmıştır (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Gaz kromatografisi-olfaktometri cihazı (Shimadzu GC2010, Japonya)

Koklamalar esnasında alıkonma süresi ve koku tanımı yapılmıştır. Alıkonma indeksinden n-alkan serisi kullanılarak Kovats indeksi hesaplanmış, referans madde ile karşılaştırılarak aroma aktif madde tanımlanmış ve GC/MS sonuçları ile karşılaştırılmıştır. GC/MS de belirlenemeyen ancak GC/O ile belirlenen bileşikler tentatif olarak belirlenmiştir. Aroma aktif bileşikler en az 60 saat deneyimi olan 2 panelist tarafından yapılan koklamalar ile belirlenmiştir. Analizde kullanılan GC/O'ın analiz koşulları aşağıda verilmiştir;

Kolon: DB-Wax (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 240 °C

Azot gazı akış hızı: 1.0 ml/dk

Splitless/zplitt Inlet

Dedektör Sıcaklığı: 250 °C

Fırın sıcaklık programı Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2. Gaz kromatografisi-olfaktometri (GC-O) cihazının fırın sıcaklık programı.

Artış	Sıcaklık	Bekleme
	40°	5 dakika
10°C/dk	200°	15 dakika

3.4.3. Aroma Ekstraksiyon Dilüsyon Analizi (AEDA):

Her bir aroma aktif bileşenin toplam aromaya katkısı belirlemek için peynir ekstraksiyonları $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{25}$, $\frac{1}{125}$, $\frac{1}{625}$ ve $\frac{1}{3125}$ oranlarında seyreltilerek koklanmış ve kokunun son alındığı dilüsyon Flavor Dilüsyon Faktör (FDF) olarak $\log_5 FDF$ olarak ifade edilmiştir. Ekstraktların dilüsyonu cihaz üzerinde split mod kullanılarak yapılmıştır (Deibler vd., 1999).

3.5. Duyusal Testler

Peynirlerin renk, görünüm, tat ve koku özellikleri hedonik skala kullanılarak Anonim (2006)'ya göre belirlenmiştir.

3.6. Mikrobiyolojik Analizler

3.6.1. Bakteri Kùltürleri ve Besiyerleri

Peynir üretiminde kullanılacak bakteriyosin üretici *Enterococcus faecium* HZ'nin ile bakteriyosin aktivite testinde kullanılacak *Lactobacillus plantarum* DSM 2601 (enterosin HZ bakteriyosinine en duyarlı olan bakteri) Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Fakùltesi Gıda Mühendisliğı Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM'ın kùltür koleksiyonundan temin edilmiştir. *Enterococcus faecium* HZ ile *Lactobacillus plantarum* DSM 2601 % 20 gliserol içeren de Mann Rogosa Sharpe (MRS) besiyerinde -80°C'de muhafaza edilmişlerdir. Bakteriler iki kez aktifleştirildikten sonra kullanılmışlardır. *Enterococcus faecium* HZ ve *Lactobacillus plantarum* DSM 2601 MRS besiyerinde 32°C'de 18 saat inkübasyon koşullarında geliştirilmişlerdir.

3.6.2. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analizler İçin Hazırlanması

Toplam aerobik mezofil bakteri, toplam koliform ve fekal koliform, *Staphylococcus aureus* ve maya-kùf sayımlarında kullanılacak peynir örnekleri aşağıda belirtildiğı şekilde hazırlanmıştır. Peynir örneklerinden aseptik koşullarda steril stomacher poşetler içine 10 g tartılmış ve %2'lik steril sodyum sitrat çözeltisinden 90 mL eklenip stomacher (IUL 707/470 Instruments, İspanya) kullanılarak 2-3 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Hazırlanan 10-1'lik homojenizattan, içlerinde 9 ml %0,1'lik peptonlu su bulunan steril deney tüplerinde desimal dilüsyonlar hazırlanmıştır (Skinner ve Lovelock, 1973).

3.6.3 Toplam Aerobik Mezofil Bakteri Sayımı

Besiyeri olarak Plate Count Agar (PCA) (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan petri kutularına 0,1 mL aktarılıp yayma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Petriler 30°C'de 24-48 saat süre ile inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda gelişen koloniler sayılıp sonuç kob/g olarak ifade edilmiştir (FDA-BAM online, 2001a).

3.6.4. Laktik Asit Bakteri Sayımı

Besiyeri olarak de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS) kullanılmıştır. Dilüsyonlardan yayma plak yöntemiyle ekim yapılmış ve petriler 30±2°C'de 24-48 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon işlemi sonunda petri kutularında gelişen koloniler sayılarak sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (ISO 15214, 1998).

3.6.5. *Enterococcus* Sayımı

Kanamycin Aesculin Azide (KAA, Oxoid) agar besiyeri kullanılmış ve dilüsyonlardan yayma plak yöntemiyle ekim yapıldıktan sonra petriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (Foulquie' Moreno vd., 2003).

3.6.6. *Lactococcus* spp. Sayımı

M17 agar besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Yayma plak yöntemiyle ekim yapılan petri kutuları 28-30°C'de 48 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur ([Terzaghi ve Sandine, 1975](#)).

3.6.7. Toplam Koliform Sayımı

Toplam koliform analizi en muhtemel sayım (EMS) yöntemi (3 tüplü) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. EMP yönteminde durham tüpü içeren Lauryl Sulphate Tryptose Broth (LSTB) (Merck, Almanya) bulunan 3 tüpe hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL ilave edilmiş ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon işlemi sonunda gaz pozitif tüpler belirlenmiş ve EMS tablosu kullanılarak koliform bakteri sayısı kob/g olarak belirlenmiştir. Olasılık testi sonuçlarını kanıtlamak için tüm gaz pozitif tüplerden durham tüpü içeren Brilliant Green Bile Broth (Merck, Almanya) besiyerine öze ile inokülasyon yapılmış ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda EMS tablosu kullanılarak ilk dilüsyonun 1 mL'sinde bulunan kanıtlanmış koliform bakteri sayısı saptanmıştır. Bu değer ilk seyreltmenin dilüsyon faktörü ile çarpılarak örneğin 1 gramında bulunan kanıtlanmış koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır. Koliform bakteri sayımı projede belirtilmemesine karşın Violet Red Bile Agar (VRBA) kullanılarak 37°C'de 24-48 saat inkübasyon koşullarında da gerçekleştirilmiştir ([Anonim, 2005](#); [FDA-BAM online, 2013](#)).

3.6.8. Fekal Koliform Sayımı

Toplam koliform analizinde pozitif sonuç veren LSTB tüplerinden içerisinde durham tüpü bulunan *Escherichia coli* (EC) broth'a öze ile ekim yapılarak 45±0,5°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda gaz oluşumu gözlenen tüpler belirlenmiş ve EMS tablosu kullanılarak ilk dilüsyonun 1 mL'sinde bulunan olası fekal koliform bakteri sayısı saptanmıştır. Bu değer ilk dilüsyon faktörü ile çarpılarak gıdanın 1 gramında bulunan olası fekal koliform bakteri sayısı hesaplanmıştır ([Anonim, 2005](#); [FDA-BAM online, 2013](#)).

3.6.9. Koagulaz Pozitif *Staphylococcus aureus* Sayımı

Hazırlanan dilüsyonlardan Baird Parker Agar (Merck, Almanya) içeren petri kutularına plak yayma yöntemi ile ekim yapılmış ve 37oC'da 24 saat inkübasyon işlemine tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonunda etrafı saydam zonlu siyah parlak koloniler sayılmıştır. Sonuçlar kob/g olarak ifade edilmiştir. Petrilerden 5'er adet koloni alınarak Gram boyama ve koagulaz doğrulama testlerine tabi tutulmuşlardır ([FDA-BAM online, 2001c](#); [ISO 6888-1, 2004](#)).

3.6.10. Toplam Maya-küf Sayımı

Maya-küf sayımında sterilize edilmiş %10 tartarik asit ilave edilen Potato Dextrose Agar (PDA) (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Hazırlanmış dilüsyonlardan 0,1 mL alınıp PDA içeren petri kutularına aktarılmış ve 28°C'de 4-5 gün süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda gelişen tüm koloniler toplam maya-küf olarak sayılıp sonuçlar kob/g olarak ifade edilmiştir ([Harrigan, 1998](#); [FDA-BAM online, 2001b](#)).

3.6.11. Peynirde Bakteriyosin Aktivitesinin Belirlenmesi

Peynirde bakteriyosin aktivite testi iki şekilde gerçekleştirilecektir. Birinci yöntemde steril koşullarda stomaker poşetine tartılan 5 g peynir örneğine 0,02 N HCl'den 5 mL ilave edildikten sonra 3 dk homojenize edilmiştir. Santrifüj (4°C'de 10000 × g'de 10 dk) işleminden sonra filtrat kısmı alınarak pH değeri 1N NaOH ile 6,0'ya ayarlanmış ve 70°C'de 5 dk ısıtılma işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlemlerin ardından agar spot yöntemi ile bakteriyosin aktivitesi belirlenmiştir ([Munoz ve ark., 2004](#)). Bakteriyosin aktivitesinin belirlenmesinde indikatör bakteri olarak *Lactobacillus plantarum* DSM 2601 (enterosin KP bakteriyosinine en duyarlı olan bakteri) kullanılmıştır. İkinci yöntemde ise steril koşullarda tartılan 1 g peynir örneği *Lactobacillus plantarum* DSM 2601 içeren yumuşak agarlı MRS overlay agarın üzerine konulmuş ve 30°C'de 24 saat inkübasyon işlemine bırakılmıştır. İnkübasyon işleminin sonunda petride berrak zon oluşup oluşmadığı belirlenmiştir.

3.7. Tekstür Analizleri

Peynirlerin olgunlaşma boyunca Texture Profile Analzyer (Stable MicroSystem, UK) cihazı kullanılarak ve iki döngülü kompresyon testi yapılarak tekstür profil özellikleri belirlenmiştir ([Avsar, 2010](#)).



Şekil 3.6. Tekstür profil analiz cihazı (Texture Profile Analyzer, Stable MicroSystem, UK).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Genel Bileşim Analizleri

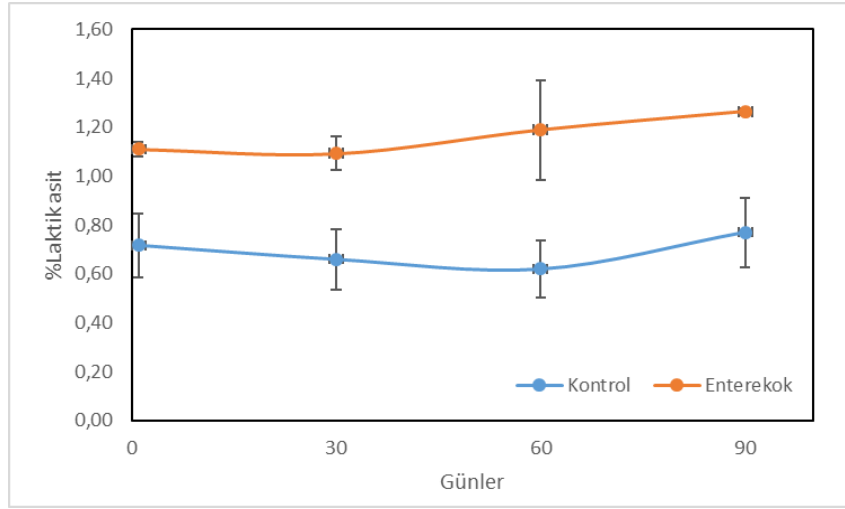
Araştırmada ticari LAB ile üretilen kontrol peynirleri (K-Peyniri) ile ticari LAB + *Enterococcus faecium* HZ kombinasyonu ile üretilen peynirlerin (E-Peyniri) vakum paketlenildikten sonra 90 günlük depolama süresince genel bileşimlerinde meydana gelen değişimler sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'de verilmiştir.

İstatistiksel analizler, E-peynirinin %kurumadde, %yağ, %protein, %nemde tuz ve %la değerlerinin K-peynirinin değerlerinden önemli derecede yüksek olduğunu göstermiştir ($p>0,05$). Bu durumun, E-peynirinde *Enterococcus faecium* HZ varlığından dolayı daha yüksek bir asitlik oranına sahip olmasından ($p<0,05$) ve bu durumun üretim süresince pıhtıda meydana gelen kasılmayı arttırdığı ve daha fazla oranda sinereze yani peynir suyu kaybına neden olduğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer yandan, ürünlerin salamura tuzlanmadan sonra vakum paketlenmesiyle dış çevre ile ilgili olarak bir madde alışverişinde bulunmadığından üretilen peynirlerin depolama süresince belirlenen genel bileşim değerlerinden %km, %yağ, %kurumadde yağ, %protein, %nemde tuz, %kül ve %la üzerinde önemli bir değişim saptanmamıştır ($p>0,05$). Depolama boyunca sadece %tuz ve %serumda tuz değerlerindeki fark önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Önemli değişimin peynirlerde depolamanın ilk ayı içinde meydana geldiği ve ileriki dönemlerde (30., 60. ve 90. günlerde) stabil kaldığı gözlenmiştir. Bu durumun tuzun peynir içindeki dağılımın asitlik, su ve tuz gradiyenti gibi birçok faktörün etkisinden kaynaklanan kompleks bir olay olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Üretilen peynirleri Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğine göre yarı-sert, olgunlaştırılmış, tam yağlı peynir olarak sınıflandırmak mümkündür. Bu araştırmada elde edilen veriler [Karagül-Yüceer vd. \(2007\)](#) tarafından bildirilen ve salamurada olgunlaştırılan Ezine peynir bileşimi ile de (%kurumadde, %48,2-56,9; %kurumaddede yağ %49,3-58,8; %kurumaddede tuz, 5,6-11,9; %lakitk asit, 0,73-2,13) uyumlu bulunmuştur.

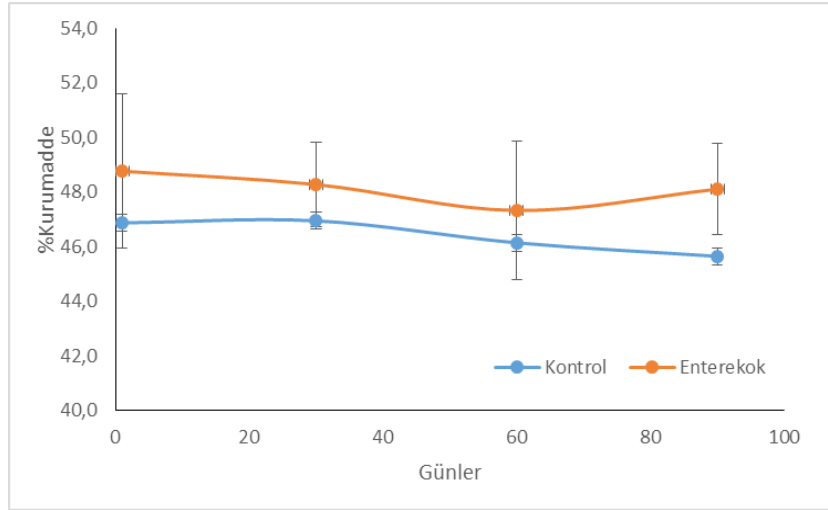
4.2. Uçucu Bileşen Profili

Araştırmada K ve E peynirlerinde belirlenen uçucu bileşenler ve bunlara ait bağlı ortalamalar'e görüleceği üzere sekiz ayrı kimyasal sınıf altında verilmiştir (Tablo 4.1-4.8). Tablolardan görüleceği üzere olgunlaşma boyunca bazı bileşenlerin miktarları sürekli olarak artış gösterir iken, bazı bileşenlerde önce azalma sonradan artış ve bazılarında ise sürekli azalma gözlenmiştir. Bu durum peynirde uçucu bileşenlere ait mekanizmaların dinamik olduğunu göstermektedir.

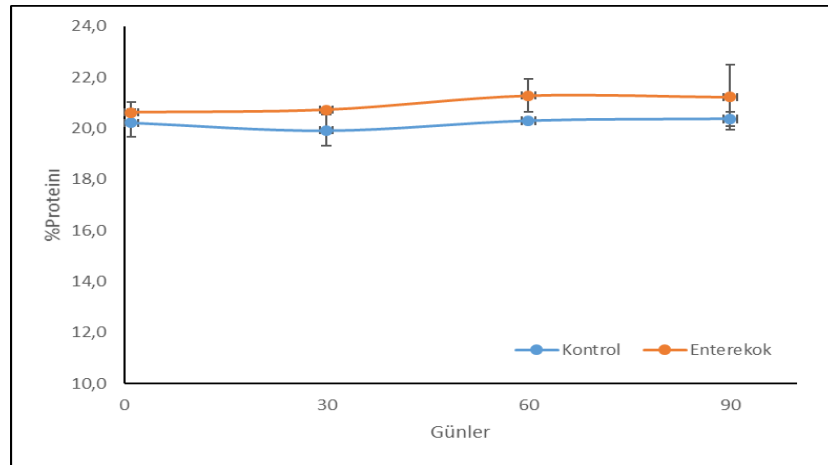
a.



b.

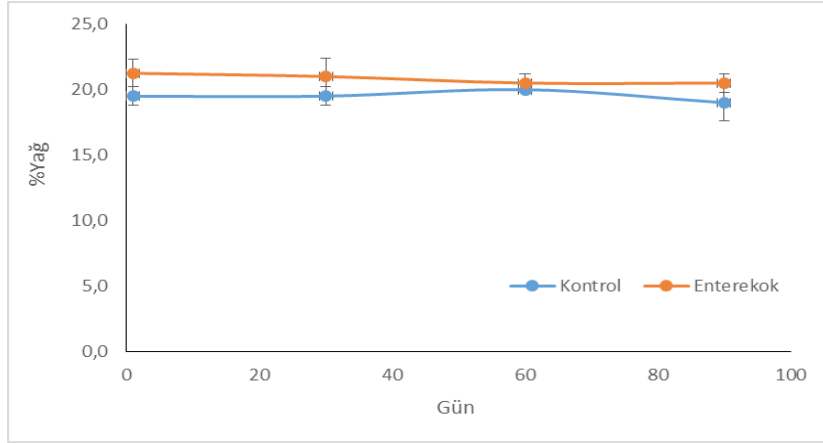


c.

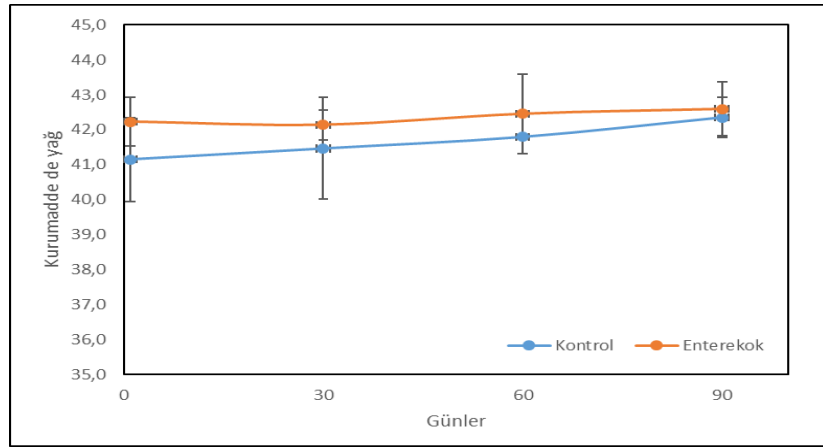


Şekil 4.1. Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca %titrasyon asitliği (a), %kurumadde (b), %protein (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peynir; E, ticari kültür ve *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynir.

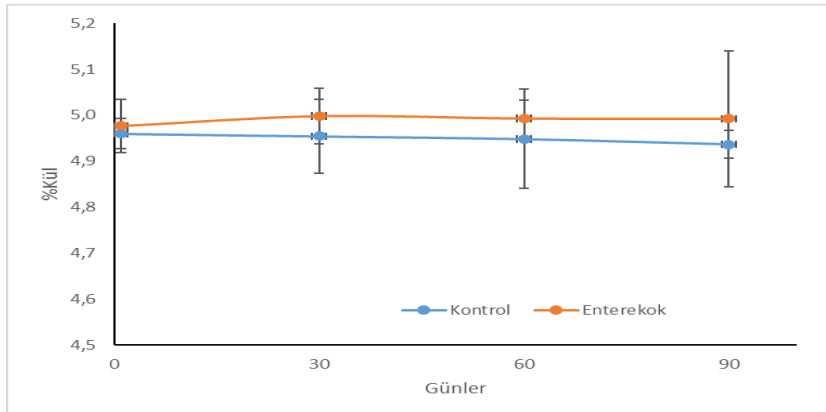
a.



b.

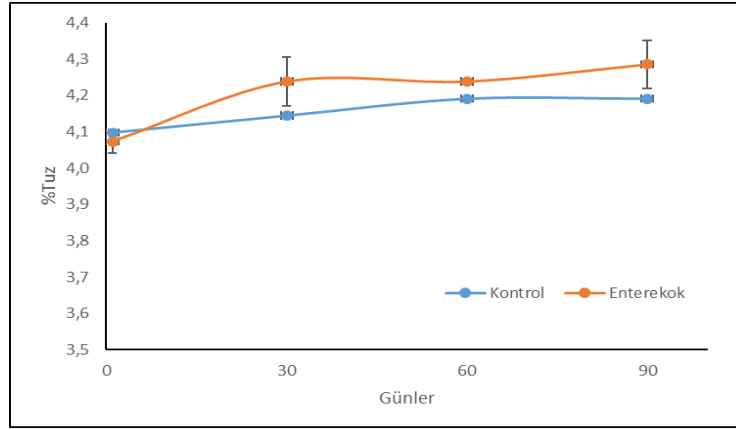


c.

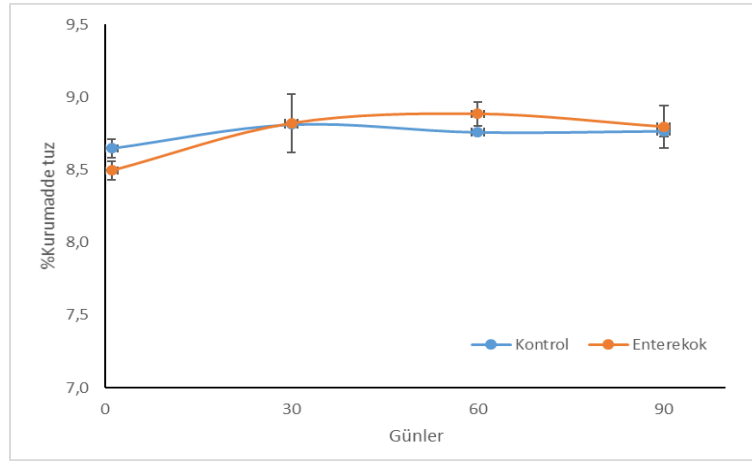


Şekil 4.2. Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca %yağ(a), %kurumadde yağ (b), ve %kül (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peynir; E, ticari kültür ve *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynir.

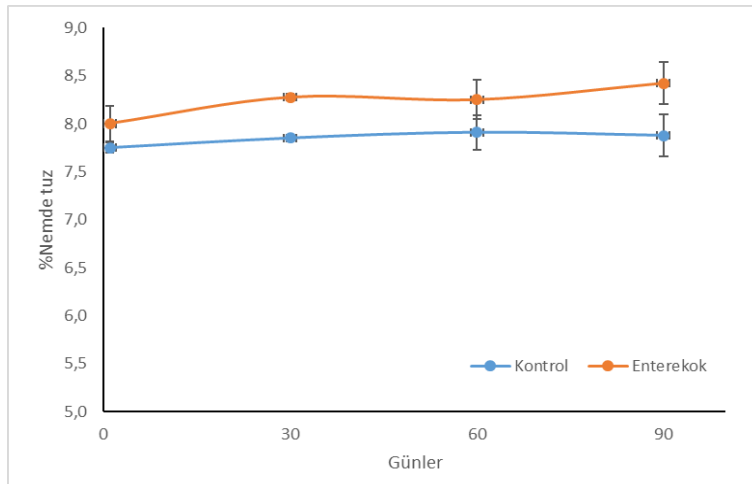
a.



b.



c.



Şekil 4.3. Peynir örneklerinde 90 günlük depolama boyunca; %tuz (a), %kurumadde tuz (b), ve %nemde tuz (c) değerlerindeki değişimler. K, ticari starteri kullanılarak üretilen Beyaz peynir, kontrol peynir; E, ticari kültür ve *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynir.

Araştırmada peynirlerde;

- 15 alkol, 18 alkan, 12 asit, 10 aldehit, 11 keton, 9 ester, 4 lakton ve 4 diğer olmak üzere toplam 83 uçucu bileşik belirlenmiştir.
- Bu bileşiklerin 60'ı (7 aldehit, 9 keton, 14 alkan, 13 alkol, 7 ester, 5 asit, 4 lakton ve 1 diğer) K-peynirinde, 73'ü (9 aldehit, 10 keton, 12 alkan, 13 alkol, 8 ester, 12 asit, 4 lakton ve 5 diğer) E-peynirinde tespit edilmiştir.
- *Enterococcus faecium* HZ kullanımı (E-peyniri) en çok lipolitik sistem üzerinde etkili olmuş ve K-Peynirinde saptanamayan kısa ve orta uzunluktaki yağ asitlerinin serbest hale geçmesinden sorumlu olduğu görülmüştür (Tablo 4.6).
- *Enterococcus faecium* HZ kullanımının bir diğer etkisi ise peynir aromasında önemli bir bileşen olan laktoz metabolizması sonucu ortaya çıkan 3-hidroksibutan-2-on (asetoin) bağıl miktarının K-peynirine göre olgunlaşmanın her aşamasında iki kat daha fazla tespit edilmiş olmasıdır.
- K-peynirinde en çok belirlenen ilk üç uçucu grup sırasıyla alkoller, alkanlar, aldehitler oluşturur iken, E-peynirinde alkoller, aldehitler ve asitler olmuştur.

Sezen-Demirci (2012), Ankara piyasasında satılan inek sütünden üretilen Beyaz peynirlerde yüksek vakum distilasyon tekniği kullanarak 43 uçucu bileşen belirlemişlerdir. Ancak bu bileşenler arasında alkan bulunmamaktadır. Bu araştırmada bulunan uçucular bağıl miktarlarına göre en çoktan en aza doğru sırasıyla alkoller, alkanlar, asitler, esterler, ketonlar, aldehitler ve diğer bileşikler şeklinde sıralanmıştır.

4.2.1. Alkoller

Araştırmada miktarca en çok miktarda alkoller belirlenmiştir (Tablo 4.1). Peynirde alkoller; laktoz fermentasyonu, metil ketonların indirgenmesi, amino asit metabolizması ve linoleik veya linolenik asidin parçalanması gibi farklı metabolik yollarla oluşabilmektedir (Molimard ve Spinnler, 1996). Bu araştırmada, birincil, ikincil, dallanmış, fenolik, kükürt içeren ve doymamış olmak üzere farklı alkoller tespit edilmiştir. Alkoller arasından ise sırasıyla fenetilalkol ve 3-metilbutan-1-ol miktar açısından en çok belirlenen alkol olmuşlardır. Bu iki alkol aynı zamanda K-peynirinde, E-peynirinde daha fazla belirlenmiştir. Benzer şekilde alkol miktarı her iki peynirde de dalgalanmalar gösterse bile K-peynirinde E-peynirine nazaran daha yüksek miktarda belirlenmiştir. Bu durumun kullanılan *E. faecium*'un bu molekülün oluşmasının bir şekilde baskıladığı speküle edilebilir. Peynirlerin aromasına alkolik, şarabımsı, meyvensi olarak katkıda bulunan alkoller, geleneksel peynirlerimizden Beyaz (Sezen-Demirci, 2012), Tulum (Hayaloğlu vd., 2007), Küflü peynir (Hayaloğlu vd., 2008) ve Kaşar (Hayaloğlu, 2009) da tespit edilmiştir.

Tablo 4.1. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde(E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen alkol grubu bileşikler ve bağlı miktarları (n=2) ^{1,2,3}

K-Peynir					E-Peynir			
µg/kg								
Bileşik	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1 Ethyl alcohol	0,74±0,85	1,69± 1,95	2,91± 1,05	4,27± 8,53	4,55± 4,35	4,43± 4,65	2,96± 3,41	7,34± 8,88
2 2-Butanol (CAS)	0	0	0	0,35±0,41	0	0,10±0,20	0,20±0,23	0,01±0,01
3 2-Methyl-1-propanol	0,51±1,02	1,78±2,07	1,75±2,03	0	0,32±0,63	0,19±0,39	0	1,34±1,58
4 3-Methylbutan-1-ol	24,99±24,89	23,75±74,66	20,27±19,05	14,74±15,16	20,70±31,35	10,33±5,54	8,71±4,49	14,41±23,40
5 3-Methyl-3-buten-1-ol	0,20±0,24	0,26±0,31	0,29±0,34	0,42±0,25	0,08±0,17	0,12±0,16	0,08±0,09	0,16±0,19
6 1-Pentanol	0	0	0	0	0,03±0,06	0	0	0
7 2-Heptanol	0	0	0	0,22±0,16	0	0	0	0,17±0,24
8 2-Methyl-2-buten-1-ol	0	0	0	0,19±0,38	0,04±0,08	0,08±0,13	0	0
9 1-Hexanol	0	0	0	0,41±0,53				
10 2-Butanol, 2,3-dimethyl	1,01±0,08	0,46±0,57	0,81±0,62	0,76±0,39	5,48±9,29	0,48±0,32	0,32±0,37	0,34±0,68
11 2-ethyl-1-hexanol	0,38±0,20	0,65±0,35	0,37±0,24	0,34±0,09	3,32±5,67	0,48±0,20	0,33±0,07	0,34±0,25
12 2,3-Butanediol	0	0	0	0	0	0,65±0,74	0,40±0,46	0
13 3-(Methylthio)-1-propanol	0,80±1,03	5,86±6,85	2,32±2,86	0	0,26±0,32	0,08±0,15	0	0,05±0,10
14 Benzyl alcohol	0	0	0,16±0,19	0,18±0,36	0,49±0,97	0	0	0,04±0,08
15 Phenethyl alcohol	23,80±26,92	24,31±67,53	27,73±65,97	75,78±132,28	15,49±30,59	5,31±6,08	3,53±3,54	26,14±30,69
TOPLAM	55,7	58,8	56,7	97,7	51,2	22,3	16,5	50,3

¹ Bağlı miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağlı miktar = Bağlı miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

4.2.2. Alkanlar

Araştırmada peynirlerde miktarca en çok belirlenen ikinci grup bileşik alkanlardır (Tablo 4.2). Alkanlar yağ asitlerinin oksidasyonundan kaynaklandığı gibi yemden de gelebilmektedir (Sulejmani, 2018; Carbonell vd., 2002; Kondyli vd., 2002). Bu araştırmanın aksine Sezen- Demirci (2012) Beyaz peynirde herhangi bir hidrokarbon rapor etmemiştir. Yüksek miktarda alkan varlığının kullanılan starter kültürün hidrolitik etkisinden ve süt hayvanının beslenmesinden kaynaklanabileceği ileri sürülebilir.

4.2.3. Asitler

Bu araştırmada saptanan K ve E peynirleri arasındaki en belirgin fark serbest yağ asitlerinde görülmüştür (Tablo 4.3). Pentanoik, hekzanoik, oktanoik, nonanoik, dekanolik ve dodekanoik asitler sadece E-peynirinde saptanmıştır. E-peynirindeki yüksek ve farklı çeşitlerdeki serbest yağ asitleri varlığı *E. faecium* HZ'nin lipolitik aktivitesine atfedilebilir.

Yağ asitleri birçok peynir çeşidinde bulunan dominant uçucu bileşiklerdir. Asitler peynirde direk olarak da aromaya katkıda bulundukları gibi, metilketonlar, alkoller, esterler ve laktonlar gibi diğer aromatik bileşiklerin de öncül maddesidirler (McSweeney ve Sousa, 2000). Araştırmada saptanan 2 ve 6 karbonlu yağ asitleri ise genellikle laktozun ve amino asitlerin parçalanması sonucu mikroorganizma faaliyeti ile ortaya çıkmaktadır. Kısa zincirli yağ asitleri ketonların, esterlerin ve aldehitlerin oksidasyonu sonucu da oluşabilmektedir (Brennand vd.,1989; Molimard ve Spinnler, 1996). Bilindiği üzere, 4 veya daha fazla karbonlu yağ asitlerinin genel olarak sütteki trigliseridlerin lipoliz olması sonucu ortaya çıkmaktadır (Urbach, 1993). Lipoliz, genellikle çiğ süt kullanıldığı takdirde sütün kendi lipaz enzimi ve/veya mikrobiyel lipaz enzimi ile meydana gelmektedir.

4.2.4. Aldehitler

Tablo 4.4'de görüleceği üzere deneme peynirlerinde 10 değişik aldehit bulunmuştur. Bunlar arasında da 3-metilbutilaldehit ve fenilasetaldehit her iki peynirde de en çok miktarda saptanan aldehitler olmuşlardır. Bilindiği üzere aldehitler çoğunlukla aminoasitlerin transaminasyonu sonucu oluşan imitlerin dekarboksilasyonu, amino asitlerin Strecker degradasyonu veya doymamış yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile oluşabilmektedir (Urbach, 1995; Molimard ve Spinnler, 1996). Aldehitler, çoğunlukla ara bileşik olarak davranırlar ve peynirlerde hızlıca alkollere veya asitlere dönüşebilirler (Hayaloglu vd., 2007).

Tablo 4.2. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde(E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen alkan grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

K-Peynir					E-Peyniri				
µg/kg									
1	Bileşik	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
2	n-Heptane	20,02±21,47	26,96±31,15	26,14±12,05	16,48±22,01	5,56±8,29	2,38±2,75	0	12,82±14,82
3	Toluene	0,13±0,15	0,26±0,30	0,41±0,59	0,19±0,39	0,25±0,29	0,36±0,11	0,37±0,14	0,41±0,44
4	p-ksilen	0	0	0	0	0	0,04±0,07	0,07±0,08	0
5	2-methyl decane	0,16± 0,18	0,47± 0,94	0,16± 0,32	0	0	0	0	0
6	Nonane	0,52± 0,61	0,28± 0,56	0,32± 0,37	0,57± 0,66	0	0,27± 0,33	0,21± 0,24	0
7	2,2,4,6,6-pentamethyl heptane,	12,12±8,16	17,47±10,07	13,78±3,54	9,59±5,54	10,58±7,76	4,20±1,73	4,38±0,69	5,47±4,39
8	3-methyl nonane	1,32±0,92	2,23±1,50	1,60±0,71	1,62±0,86	1,43±1,10	0,92±0,14	1,07±0,31	0,85±0,76
9	n-Decane	2,81±1,76	5,16±2,83	3,68±1,64	3,63±2,29	4,71±0,90	2,33±0,37	2,52±0,83	2,24±1,80
10	4,6-dimethyl undecane	0,65±0,51	0,26±0,31	0,47±0,67	0,15±0,17	0,29±0,57	0	0,23±0,46	0
11	2-methyl decane	0	0	0	0,12±0,25	0	0	0	0
12	2,3,5-trimethyl decane	0	0	0	0,12±0,24	0	0	0	0
13	3-methyl undecane	0	0	0	0	0	0	0,23±0,46	0,34±0,68
14	9-methyl nonadecane	0	0	0	0	0	0	0	0
15	n-Dodecane	2,38±1,76	2,23±1,67	2,46±2,03	2,71±2,50	2,20±1,50	0,84±0,30	0,78±0,15	0,91±1,05
16	3-methyl tridecane	0,42±0,48	0,71±0,92	0	0,21±0,42	0	0	0	0
17	tetradecane	0,82±0,66	0,78±0,70	0,74±0,60	0	0,94±0,27	0,23±0,26	0,20±0,23	0,38±0,44
18	3,5-Dimethyldodecane	0,05±0,10	0,14±0,27	0,09±0,17	0,07±0,14	0,36±0,43	0,06±0,12	0	0
TOPLAM		45,5	63,7	51,3	36,2	26,8	11,6	10,1	23,4

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Tablo 4.3. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde(E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen asitler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

Bileşik	K-Peyniri				E-Peyniri			
	µg/kg							
	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1 Asetik asit	2,01±0,76	9,85±10,26	2,70±1,90	18,60±19,54	0,66±0,77	6,00±6,51	5,16±5,66	10,25±10,02
2 Formik asit	0	0	0	0	0,42±0,41	0	0	0
3 Propanoik asit	0,29±0,33	0,04±0,08	0,23±0,28	0,39±0,46	0,27±0,24	0,39±0,52	0,22±0,26	0,48±0,80
4 2-Metil propanoik asit, -	0,70±0,83	3,19±4,01	0,45±0,53	1,88±3,06	0,37±0,68	0	0	1,22±1,54
5 Butanoik asit	0	0	0,82±1,65	4,36±1,52	0,70±1,40	2,15±2,48	2,49±2,88	3,51±4,83
6 3-metil butanoik asit	3,08±3,73	8,13±33,15	0,49±0,58	4,35±8,12	3,17±4,65	0,86±1,72	0,00±0,00	3,01±3,84
7 Pentanoik asit	0	0	0	0	0	0,36±0,72	0,72±0,83	0
8 Hekzanoik asit	0	0	0	0	3,90±7,79	3,17±3,66	3,21±3,71	0,75±0,92
9 Oktanoik asit	0	0	0	0	0,28±0,34	3,24±3,58	2,72±3,14	3,47±6,93
10 Nonanoik asit	0	0	0	0	3,19±4,96	1,17±0,61	0,26±0,30	0,06±0,13
11 Dekanoik asit	0	0	0	0	0,09±0,18	3,13±3,23	2,09±2,10	3,21±6,43
12 Dodekanoik asit	0	0	0	0	2,17±2,72	0,55±0,64	0,44±0,51	0
TOPLAM	6,08	21,21	4,69	29,58	12,28	21,02	17,31	25,96

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

4.2.5. Ketonlar

Benzer şekilde Tablo 4.5’de bu araştırmada belirlenen ketonlar verilmiştir. Ketonlar arasında aromatik bir uçucu olması ile 3-hidroksi-2-bütanon miktarı dikkati çekmektedir. Bu bileşik laktik asit bakterileri tarafından sitrat metabolizması yoluyla meydana gelen ve diasetil-redükdaz enzimi vasıtasıyla indirgenerek oluşan “tereyağ” aroması veren bir ketondur (Urbach, 1993; Curioni ve Bosset, 2002) ve E peynirinde K peynirine nazaran yaklaşık dört kat daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada belirlenen ketonlara geleneksel peynirlerimizden Erzincan Tulum (Hayaloglu vd., 2007; Avşar vd., 2009), Küflü peynir (Hayaloglu vd., 2008) ve Kars Kaşarı (Avşar vd., 2009; Hayaloğlu, 2009) ve Beyaz peynir (Gürsoy, 2005) de tespit edilmiştir. Ancak, bu çalışmada belirlenen keton çeşidi diğer geleneksel peynirlerimiz ile karşılaştırıldığında oldukça azdır. Nitekim, Küflü peynirde 20 (Hayaloğlu vd., 2008), Erzincan Tulum peynirinde 12 (Hayaloglu vd., 2007), Kars Kaşar peynirinde ise 16 (Hayaloglu, 2009) keton belirlenmiştir.

4.2.6. Esterler

Deneme peynirlerinde esterlerin bağıl miktarlarının dalgalanma gösterdiği görülmektedir (Tablo 4.6). Esterlere peynirlerin uçucu bileşenler kısmında sıklıkla rastlanır. Özellikle metil ve etil esterler yumuşak peynirlerde yüksek konsantrasyonda bulunur (Adda vd., 1982; Karahadian vd., 1985). Esterler, yağ asitleri ile alkollerin birleşmesinden veya alkolisiz yoluyla meydana gelmektedir Laktoz fermentasyonu veya amino asit katabolizması ile de esterifikasyon reaksiyonları oluşmaktadır (Bosset ve Liardon, 1985).

Mikroorganizma faaliyeti sonucu ortaya çıkan bu bileşikler, içinde bulundukları gıdanın aromasına ‘meyvemsi’ flavor/note olarak katkıda bulunurlar (Gatfield, 1988; Maarse, 1991; Liu vd., 2004). Peynirlerde tespit edilen çoğu esterlin “meyvemsi” veya “çiçeğimsi” lezzet hissi verdikleri ve duyuşal algılanma eşiklerinin düşük olduğu bildirilmektedir (Molimard ve Spinnler, 1996). Özellikle etil esterler peynirde “meyvemsi” kokuyu oluşturur. Bu komponentler, peynirlerde yağ asitleri ve aminlerden kaynaklı keskin ve acımsı aromayı azaltmak yönünde katkıda bulunurlar (Gallois ve Langlois, 1990).

4.2.7. Laktonlar

Araştırmamızda, peynir örneklerinde 4 lakton tespit edilmiştir (Tablo 4.7). Peynir örneklerinde eseri miktarda bulunan laktonlar, hidroksi yağ asitlerinin kendi molekülü içinde ester oluşturması ile meydana gelmiş halkalı yapıdaki bileşiklerdir. Süt ürünlerinde genellikle 5 ve 6 kenarlı halkalardan oluşan γ - ve δ -laktonlar bulunur (Curioni ve Bosset, 2002). Laktonlar genellikle γ - ve δ -hidroksi yağ asitlerinden oluşur.

Tablo 4. 4 Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen aldehit grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

Bileşik	K- Peyniri				E- Peyniri			
	μg/kg							
	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1 Pentanal	0,48± 0,45	2,71± 3,70	0	0	1,10± 2,20	0	0	0
2 İzobutiraldehit	1,64± 3,27	0,60± 1,19	0	0	0	0	0	0
3 3-Metilbutiraldehit	15,53± 14,63	7,08± 2,93	12,99±8,94	4,60± 6,16	10,00±16,44	4,07± 5,81	2,65± 1,54	5,81± 8,61
4 Hekzanal	0	0	0	0	0,14±0,27	0	0	0
5 Metiyonal	0,59±0,69	0,24±0,27	0,49±0,63	0	0,34±0,45	0,31±0,39	0,23±0,26	0±0,13
6 Benzaldehit	0	0,16±0,18	0,24±0,29	0,42±0,57	0,62±0,17	0,14±0,17	0,13±0,15	0±0,19
7 2-Fenilpropanal	0	0	0,13±0,25	0,47±0,94	13,92±18,97	0	0	0
8 Fenilasetaldehit	0	12,47±12,88	15,93±8,51	12,45±9,95	7,88±15,76	3,01±3,77	2,14±2,47	13,45±15,53
9 Oktadekanal	0	0	0	0	0,36±0,56	0	0	0
10 2-(Metiltiyo)-2-fenilpropanal	0	0	0	0	0,99±1,98	0	0	0
TOPLAM	18,2	23,3	29,8	17,9	35,3	7,5	5,1	19,4

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (μg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Tablo 4. 5. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen keton grubu bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

K-Peyniri					E-Peyniri				
µg/kg									
Bileşik		Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1	2-Proapanon	0	0	0	0	0,41± 0,81	0	0,84± 0,96	2,15± 2,50
2	2-Butanone	1,42± 0,49	1,96± 2,26	3,24± 0,48	6,96± 2,81	0,57± 1,15	0,62± 0,84	0,35± 0,41	1,03± 1,23
3	3-methyl-2-butanone	0	0	0	0	0±0,19	0	0,17±0,35	0
4	2-Pentanone	0,77±0,26	1,03±0,71	1,49±0,39	1,33±0,85	0,59±0,74	0,22±0,44	0,44±0,51	0,85±0,67
5	2,3-Pentanedione	0,12±0,14	0	0	0,03±0,05	0	0	0	0
6	2-Heptanone	0,69±0,15	1,40±0,32	0,54±0,69	0,43±0,51	0,40±0,79	0,90±0,60	1,29±0,15	0,61±1,21
7	2-Octanone	0	0	0	0,05±0,10	0,16±0,32	0,08±0,16	0,16±0,18	0,0±0,30
8	Cyclohexanone	0,38±0,26	0,31±0,36	0,56±0,58	0,61±0,31	0,45±0,32	0,52±0,17	0,39±0,03	0,33±0,40
9	3-hydroxy-2-butanone	2,46±0,81	0,51±0,65	0,75±0,61	0,60±0,66	4,99±4,42	1,13±1,14	2,09±1,50	3,04±4,07
10	2-Nonanone	0,28±0,20	0,57±0,38	0,89±0,71	0,89±0,40	0,17±0,33	0,47±0,09	0,39±0,06	1,63±1,89
11	2-Undecanone	0	0	0,12±0,24	0,05±0,10	0	0,16±0,19	0,12±0,14	0,20±0,39
TOPLAM		6,1	5,8	7,6	10,9	7,7	3,2	6,2	9,8

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Tablo 4. 6. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ *Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen esterler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

Bileşik	K-Peyniri				E-Peyniri			
	µg/kg							
	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1 Methyl acetate	1,36±0,64	2,80± 0,71	1,65± 1,91	5,39± 4,67	0	0,87± 1,01	0,77± 0,88	0
2 Methyl butanoate	0	0	0	0	0	0	0	0,71±1,43
3 Ethyl butanoate	0	0	0	0,40±0,46	0	0	0	0,00±0,00
4 Methyl hexanoate	0	1,88±0,06	0,34±0,69	0,14±0,27	0	0,14±0,20	0,06±0,07	0
5 Ethyl hexanoate	0	0	0	0,10±0,11	0	0	0	0,61±1,07
6 Methyl octanoate	0	1,66±0,81	0	0	0,33±0,38	0	0	0
7 Methyl decanoate	0	1,31±0,38	0,31±0,39	0,11±0,21	0	0	0	0,40±0,52
8 Methyl dodecanoate	0	0	0,08±0,15	0,04±0,07	1,95±3,90	0	0	0,04±0,09
9 Methyl hexadecanoate	0	0	0	0	0,75±0,89	0	0	0,11±0,23
TOPLAM	1,36	7,65	2,38	6,16	3,03	1,00	0,83	1,17

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Bu moleküller stabildirler ve aromaya ‘hindistan cevizi’ veya ‘şeftalimsi’ bir aroma verirler (Curioni ve Bosset, 2002). Hidroksi asitlerin memede oksidasyon yoluyla oluşması laktonların taze sağılmış sütte bulunmasına neden olur. Çiğ sütte sadece δ -dekalakton bulunmaktadır. Ancak laktonlar, süt ürünlerinde lipoliz ile serbest hale geçmiş yağ asitlerinden eş zamanlı olarak oluşabilirler. Nitekim δ -dekalakton’un peynir olgunlaşması esnasında miktarının arttığı gözlemlenmiştir (Urbach, 1995). Bu bileşiklerin varlığına geleneksel peynirlerimizden Erzincan Tulum (Hayaloğlu vd., 2007) ve Küflü peynirde (Hayaloğlu vd., 2008) rastlanmamış olup sadece Kars Kaşar peynirinde iki lakton (butirilakton ve δ -hekzalakton) bulunduğu rapor edilmiştir (Hayaloğlu, 2009).

4.2.8. Diğer Bileşikler

Araştırmada 2 terpen (limonen ve α -pinen) 1 heterosiklik bileşik (tiyazol) ve 1 kükürtlü bileşik (dimetil sülfon) olmak üzere 4’de diğer bileşik belirlenmiştir (Tablo 4.8). Bu bileşiklerin hayvanın beslenmesinden kaynaklandığı bildirilmektedir.

4.3. Aroma Aktif Bileşenler

Kontrol (K-peyniri) ve *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen (E-peynirlerin) aroma aktif bileşenleri, bu bileşenlerin aromaya katkısı (Flavor Dilüsyon Faktör) ve koku tanımları sırasıyla Tablo 4.9 ve Tablo 4.10’da verilmektedir.

Tablo 4.9’de görüldüğü üzere, aroma aktif bileşiklerin sayısı, koku tanımları ve aromaya katkısı olgunlaşma süresince artmaktadır. K-peynirinde olgunlaşma süresince 13 aroma aktif bileşik toplam aromaya katkıda bulunmakta, bunlar arasında ise etilbutanoat, pentan-2,3-dion, 3-metil-butan-1-ol, metilsulfanilpropanal (metiyonal), asetik asit, butanoik asit, 3-metilbutanoik asit ve 2-feniletanol en önemli aroma aktif bileşikler olduğu görülmektedir.

Tablo 4.10’de ise, E-peynirinde belirlenen aroma aktif bileşikler, koku tanımları ve aroama katkıları olgunlaşma süresince verilmiştir. Tablodan görüleceğe üzere, E-peynirinde aroma aktif bileşiklerin sayısında artış görülmüş ve 16 bileşiğin aromaya katkıda bulunduğu saptanmıştır. Bu bileşikler hekzanoik ve oktanoik asitlerin yanısıra 3-metilbutil butanoat esteridir. Ayrıca E-peynirlerinde 3-hidroksibutan-2-on (acetoin) daha kuvvetli bir şekilde hissedilmiştir.

Tablo 4.7. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+ *Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen laktonlar ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

Bileşik	K-Peyniri				E-Peyniri			
	Gün 1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün 1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
	µg/kg							
1 δ-Octalactone	0,23±0,20	0,47±0,32	0,28±0,33	0,63±0,18	1,07±1,09	0,39±0,16	0,42±0,18	0,64±0,74
2 δ-Nonalactone	0,27±0,54	0,13±0,26	0	0	1,28±1,90	0	0,58±1,16	0
3 δ-Decalactone	0,31±0,44	1,31±0,30	1,58±1,52	1,59±0,31	1,29±1,90	1,86±0,65	0,69±0,79	2,43±2,86
4 δ-Dodecalactone	0,08±0,16	0,43±0,05	0,49±0,44	0,38±0,30	0,34±4,26	0,51±0,11	0,51±0,11	0,77±0,85
TOPLAM	0,89	2,31	2,35	2,60	3,98	2,7	2,2	3,8

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Tablo 4. 8. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ ile üretilen peynirlerinde(E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen diğer bileşikler ve bağıl miktarları (n=2)^{1,2,3}

Bileşik	K-Peyniri				E-Peyniri			
	µg/kg							
	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90	Gün1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
1 Limonen	0	0	0	0	0	0,19±0,00	0	0
2 α-Pinene	0	0	0	0	0,35±0,41	0,14±0,16	0,36±0,16	0,19±0,38
3 Tiyazol	0	0	0	0	0,11±0,21	0,51±0,88	0	0,06±0,75
4 Dimetil sulfon	0,25±0,12	0,19±0,13	0,11±0,21	0,13±0,16	0	0,23±0,26	0	0,06±0,12
TOPLAM	0,25	0,19	0,11	0,13	0,46	1,47	0,36	0,31

¹ Bağıl miktarlar DB-wax kolon kullanılarak elde edilen pik alanlarından hesaplanmıştır.

² Değerler iki enjeksiyon ortalamasıdır (ortalama±standart hata).

³ Bağıl miktar = Bağıl miktar (µg/kg) = (Aroma aktif maddenin alanı/iç standardın alanı) x iç standardın miktarı x düzeltme faktörü

Tablo 4. 9. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen Kontrol peynirinde (K-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince saptanan aroma-aktif bileşiklerin alıkonma indeksleri (retention index, RI) ve aroma ekstraksiyon dilüsyon analiz (AEDA) sonuçları

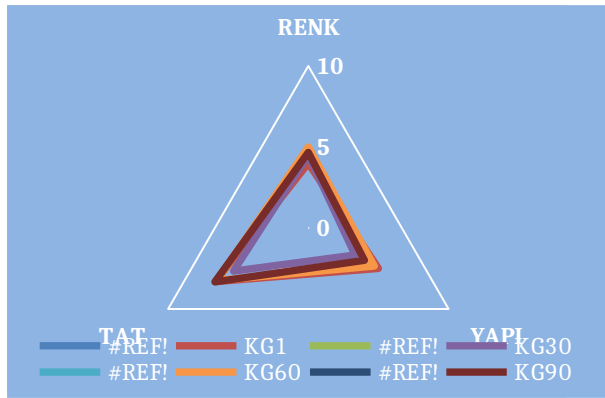
Bileşik ¹	CAS#	Koku tanımı ²	DP-Wax	RI _{REF}	K-Peyniri			
					Log ₅ FDF			
					Gün 1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
Butan-2,3-dion	431-03-8	tereyağı	980	980	-	-	1	1
Etil butanoat	105-54-4	ananas	1044	1043	3	3	3	4
Pentan-2,3-dion	600-14-6	tereyağımsı	1059	1055	-	3	1	4
Heptan-2-on	110-43-0	Muz benzeri, meyvemsi	1186	1187	-	-	1	1
3-metilbutan-1-ol	123-51-3	viski, malt, kimyasal	1219	1220	-	1	4	5
Etil hekzanoat	123-66-0	floral	1224	1224	-	1	1	1
Pentan-1-ol	71-41-0	Kimyasal	1234	1255	-	1	1	1
3-Hidroksibutan-2-on (acetoin)	513-86-0	Tereyağ, yoğurt	1298	1297	-	-	1	1
Methylsulfanylpropanal (methional)	3268-49-3	Et suyu, fırında patates		1458	2	4	4	5
Asetik asit	64-19-7	Sirke	1466	1450	3	4	4	5
Bütanoik asit	107-92-6	Acımuş tereyağı		1619	3	3	4	5
3-metil bütanoik asit	503-74-2	Kirli ayak kokusu		1665	3	4	4	5

Tablo 4. 10. Ticari laktik asit bakteriler ve *Entereoccus faecium* HZ kullanılarak üretilen peynirlerde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince saptanan aroma-aktif bileşiklerin alıkonma indeksleri (retention index, RI) ve aroma ekstraksiyon dilüsyon analiz (AEDA) sonuçları.

Bileşik ¹	CAS#	Koku tanımı ²	DB-Wax	RI _{REF}	E-Peyniri			
					Log ₅ FDF			
					Gün 1	Gün 30	Gün 60	Gün 90
Butan-2,3-dion	431-03-8	tereyağı	980	980	0	0	0	0
Etil butanoat	105-54-4	ananas	1044	1043	0	3	3	3
Pentan-2,3-dion	600-14-6	tereyağımsı	1059	1055	0	1	1	1
Metil hekzanoat	106-70-7	meyve, ferah, ananas		1202	0	1	1	0
3-metilbutan-1-ol	123-51-3	viski, malt, kimyasal	1219	1220	0	1	3	4
Etil hekzanoat	123-66-0	floral	1224	1224	-	1	1	1
3-metilbutil butanoate	106-27-4	Meyvemsi, yeşil muz		1266	0	-	1	-
3-Hidroksibutan-2-on (acetoin)	513-86-0	Tereyağ, yoğurt		1297	3	1	2	2
Methylsulfanylpropanal (methionol)	3268-49-3	Et suyu, fırında patates		1458	2	4	4	5
Asetik asit	64-19-7	Sirke		1450	2	4	4	5
Bütanoik asit	107-92-6	Acımiş tereyağı		1619	3	3	4	5
2-fenilaset aldehit	122-78-1	Bal, çimen, tatlı		1636	-	1	1	1
3-metil bütanoik asit	503-74-2	Kirli ayak kokusu		1665	3	4	3	4
Hexanoic acid	142-62-1	Keçi peyniri, asit		1832	1	1	1	1
Oktanoik asit					-	0	1	1

4.4. Duyusal Analizler

Şeki 4.4'de K ve E peynirlerinde depolama süresi boyunca belirlenen duyusal özellikleri (renk ve görünüş, yapı ve tekstür, kakı ve koku) verilmektedir. Şekilden de görüleceğe üzere, en büyük değişimler ve farklılıklar yapı ve tekstür ve tat ve koku özelliklerinde belirlenmiştir. Yapı ve tekstür giderek yumuşamaya başladığından depolama boyunca başlangıç değerlerinden daha düşük puan alır iken, tat ve koku artan aroma aktif bileşiklerin sayı ve çeşidine bağlı olarak artan bir eğilim göstermiştir. Ancak, tat ve koku puanları E-peynirinde depolamanın ikinci ayında itibaren belirgin bir şekilde K-peynirinden daha yüksek çıkmıştır. Bu durumun *E. faecium* HZ tarafından üretilen aroma aktif bileşiklerden kaynaklandığı ileri sürülebilir. Benzer sonuçlar [Göncüoğlu vd. \(2009\)](#) tarafından da bildirilmiştir. *Enterococcus faecium* sitrat ve glukoz metabolizması ile aromayı arttırdığı önceki çalışmalarda rapor edilmiştir ([Vaningelgem vd., 2009](#)).



a.

Şekil 4.4. Kontrol peynirinde (K-peyniri) (a) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen Beyaz peynirlerde (b) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen duyusal (renk ve görünüş, yapı ve tekstür, tat ve koku) özellikler.

4.5. Mikrobiyolojik analizler

Ticari peynir kültürü (K-peyniri), ticari peynir kültürü ve *Enterococcus faecium* HZ (E) birlikte kullanılarak üretilen (E-peyniri) Beyaz peynir örneklerin toplam mezofil aerobik bakteri

içerikleri Tablo 11'de verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere K-peynirinin toplam bakteri içeriğinin depolama süresince arttığı, 6,46 log kob/g'dan 8,42 log kob/g'a ulaştığı belirlenmiştir ($p<0,05$). E.-peynirinde ise depolamanın ilk 30 gününde sayısında önemli bir değişimin olmadığı (7,25 log kob/g'dan 7,41 log kob/g arttığı), depolamanın 30'uncu gününde itibaren toplam mezofil bakteri sayısında bir azalmanın (7,41 log kob/g'dan 6,73 log kob/g'a düştüğü) olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Ayrıca, E-peyniri K-peynirinden depolama başında daha yüksek oranda TAMB içerir iken, $<0,05$) depolamanın sonunda durum tersine dönmüştür ($p<0,05$). Bu değişimin ortama hâkim olan *E. faecium* HZ'nin inhibitör etkisinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Tablo 4.11. Ticari laktik asit bakteri kullanılarak üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari laktik asit bakterisi+*Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen toplam mezofil aerobik bakteri içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	6,46±0,44 ^{aA}	7,66±0,29 ^{bB}	8,05±0,56 ^{cC}	8,42±0,18 ^{cE}
E-peyniri	7,25±0,05 ^{aB}	7,41±0,21 ^{abB}	6,93±0,07 ^{bD}	6,73±0,09 ^{ba,D}

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Beyaz peynir örneklerinin *Lactobacillus* içeriği incelendiğinde K-peynirinin *Lactobacillus* içeriğinin (7,59 log kob/g) E-peynirinden (5,63 log kob/g) daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.12). E kodlu peynir örneğinde *Lactobacillus* sayısının düşük olmasının temel nedenin *E. faecium* HZ'un *Lactobacillus*'lara karşı kuvvetli inhibitör etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Peynir örneklerinin *Lactobacillus* içeriklerinin depolama işlemi süresince arttığı belirlenmiştir. Kontrol örneğinde 7,59 log'dan 8,51 log'a; *E. faecium* HZ içeren örnekte 5,63 log'dan 6,67 log'a arttığı belirlenmiştir.

Tablo 4.12. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen *Lactobacillus* içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	7,59±0,13 ^{aA}	8,01±0,09 ^{bB}	8,37±0,22 ^{cBC}	8,51±0,14 ^{cC}
E-peyniri	5,63±0,07 ^{aA}	8,07±0,07 ^{bB}	8,47±0,13 ^{cC}	8,67±0,06 ^{cC}

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Peynir örnekleri *Lactococcus* sayısı açısından incelendiğinde başlangıç aşamasında örnekler arasında 1 log'luk farkın olduğu, diğer bir ifade K-peynirinde 6,06 log iken E-peynirinde 7,08 log olduğu tespit edilmiştir (Tablo 4.13) ($p<0,05$). Depolama süresince K-peynirinde *Lactococcus* sayısında belirli bir düzeyde artış olduğu (6,06 log'dan 8,49 log'a arttığı) ($p<0,05$), E-peynirinde ise depolamanın 30'uncu gününe kadar artış (7,08 log'dan 8,46 log'a), ancak 30'uncu günden sonra *Lactococcus* sayısında bir azalış (8,46 log'dan 7,53 log'a) olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynirlerde *Lactobacillus* ve *Lactococcus* sayısının yüksek olmasının nedeni *E. faecium* HZ bakterisinin M17 ve özellikle MRS besiyerinde iyi gelişme yeteneğine sahip olması ile açıklanabilir. Ayrıca her iki besiyerinde yüksek düzeyde bakteriyosin üretme aktivitesine de sahiptir (Yildirim vd., 2014).

Tablo 4.13. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen *Lactococcus* içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	6,06±0,06 ^{aA}	7,52±0,09 ^{bCE}	8,35±0,18 ^{cD}	8,49±0,08 ^{cD}
E-peyniri	7,08±0,15 ^{aB}	8,46±0,12 ^{bD}	8,13±0,06 ^{bD}	7,53±0,10 ^{dE}

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden $p<0,05$ düzeyinde farklıdır.

Beyaz peynir örnekleri *Enterococcus* içeriği açısından irdelendiğinde gerek kontrol gerekse *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynirlerde *Enterococcus* tespit edilememiştir. *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynirlerde *Enterococcus* tespit edilmemesinin nedeni yapılan çalışmada *E. faecium* HZ'nin kanamisine duyarlı olmasından kaynaklanmaktadır (Tablo 4.14). Süt ürünlerinden izole edilen *E. faecalis* ve *E. faecium*'un bazı suşlarının *E. faecium* HZ gibi kanamisine duyarlı oldukları bildirilmiştir (Batish ve Ranganathan, 1986; Giraffa vd., 1997).

Tablo 4.14. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen *Enterococcus* içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	1>	1>	1>	1>
E-peyniri	1>	1>	1>	1>

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Peynir örneklerinin toplam koliform içeriği hem EMS hem de VRBA kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.15'da verilmiştir. Tablodan da görüldüğü üzere her iki yöntemle elde edilen sonuçların birbirleriyle uyumlu olduğu, kontrol örneğinin (K-peyniri) toplam koliform içeriğinin *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynir örneğinden yüksek olduğu (p<0,05) ve depolama süresince koliform sayısının her iki örnekte azaldığı bulunmuştur (p<0,05) (

VRBA agarda yapılan ekim sonuçlarında *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynirde koliform bakteri tespit edilebilir limitin altında (1 log <) olduğu bulunmuştur. *E. faecium* HZ içeren peynir örneğinde koliform bakteri sayısının düşük çıkmasının nedeni söz konusu bakterinin üretmiş olduğu bakteriyosin gibi antimikrobiyal bileşiklerden kaynaklandığı tahmin edilmektedir.

Tablo 4.15. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen toplam koliform sayısı (kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
EMS yöntemi				
K-peyniri	4,6×10 ² aA	1,21×10 ¹ bBD	3,3×10 ¹ cC	0,92×10 ¹ dD
E-peyniri	1,5×10 ¹ aBCD	0,64×10 ¹ aBD	<0,30 ^{cE}	<0,30 ^{cC}
VRBA				
K-peyniri	2,43±0,07 ^a	2,16±0,14 ^a	1,70±0,16 ^b	1,16±0,13 ^c
E-peyniri	1>	1>	1>	1>

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

BPA besiyerinde yapılan analiz sonucunda kontrol ve *E. faecium* HZ'li peynir örneklerinin *Staphylococcus* spp. içermediği belirlenmiştir (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen *Staphylococcus* spp. içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	1>	1>	1>	1>
E-peyniri	1>	1>	1>	1>

¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

Beyaz peynir örneklerinin maya-küf analiz sonucu Tablo 4.17'de sunulmuştur. Depolamanın 1'inci gününde tespit edilebilir limitin altında olduğu, ancak depolama süresinin uzamasıyla birlikte hem kontrol hem de *E. faecium* HZ'li peynir örneğinde arttığı, depolamanın 90'uncu gününde maya sayısının 2,91 ve 2,96 log kob/g'a ulaştığı belirlenmiştir.

Yapılan analiz sonucunda 90 günlük depolama işlemi süresince peynir örneklerin hiçbirinde küf tespit edilmemiştir.

Tablo 4.17. Kontrol peynirinde (K-peyniri) ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerinde buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen maya-küf içeriği (log kob/g).^{1,2,3}

Örnek	Depolama Süresi (Gün)			
	1	30	60	90
K-peyniri	1>	1,96±0,04 ^{aA}	2,30±0,09 ^{aA}	2,71±0,08 ^{bB}
E-peyniri	1>	1,99±0,07 ^{aA}	2,25±0,07 ^{aA}	2,67±0,12 ^{bB}

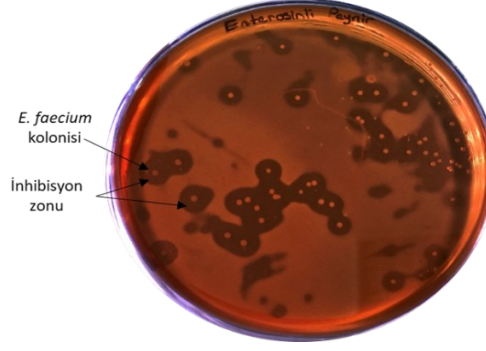
¹ K: kontrol peynir, ticari starter kültür kullanılarak üretilen Beyaz peynir; E: ticari starter kültür ve *E. faecium* HZ'nin birlikte kullanılarak üretilen Beyaz peynir.

² a, b, c, d; Aynı satırda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

³ A, B, C, D, E; Aynı sütunda farklı harflerle üstel gösterilen değerler birbirinden p<0,05 düzeyinde farklıdır.

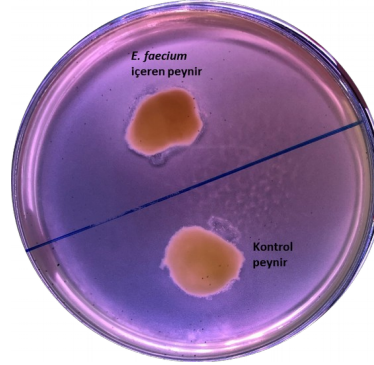
4.6. Peynir Örneklerinde Bakteriyosin Aktivitesinin Belirlenmesi

Starter kültür olarak *E. faecium* HZ kullanılarak üretilen peynir örneğinde depolama süresince *E. faecium* HZ'nin aktivitesini koruduğu belirlenmiştir. Depolamanın 90'nıncı gününde M17 agar besiyerinde yapılan ekim sonucunda gelişen kolonilerin üzerine *L. plantarum* içeren yumuşak besiyeri konulmuş ve 32°C'de gece boyunca inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda kolonilerin etrafında berrak zonların oluştuğu belirlenmiştir (Şekil 4.5).

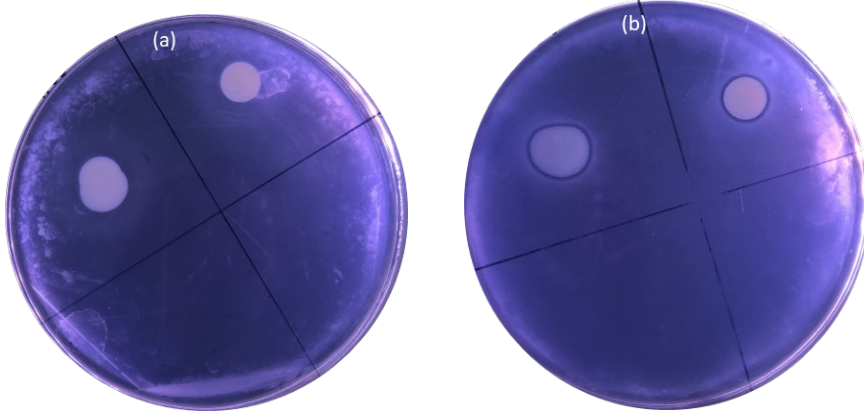


Şekil 4.5. *Enterococcus faecium* HZ içeren peynir örneklerine ait MRS besiyerinde gelişen kolonilerin *L. plantarum*'a karşı inhibitör.

Ayrıca indikatör bakteri (*L. plantarum*) içeren yumuşak agar üzerine konulan *E. faecium* HZ'li peynir örneğinin etrafında berrak zon oluşurken, kontrol örneğinde oluşmamıştır (Şekil 4.6). *E. faecium* HZ kullanılan peynirden elde edilen filtrat da *L. plantarum* karşı inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Şekil 4.7). İnhibitör aktivite testleri *E. faecium* HZ'nin peynirde depolama işlemi süresince aktivitesini koruduğunu ve ayrıca bakteriyosinini ürettiğini göstermiştir. Yıldırım vd. (2014) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *E. faecium* HZ'nin MRS besiyeri ve sütte gelişip enterosin üretme yeteneğine sahip olduğunu belirtmişlerdir.



Şekil 4.6 *Enterococcus faecium* HZ içeren peynir örneğinin *Lactobacillus. plantarum*'a karşı inhibitör etkisi.

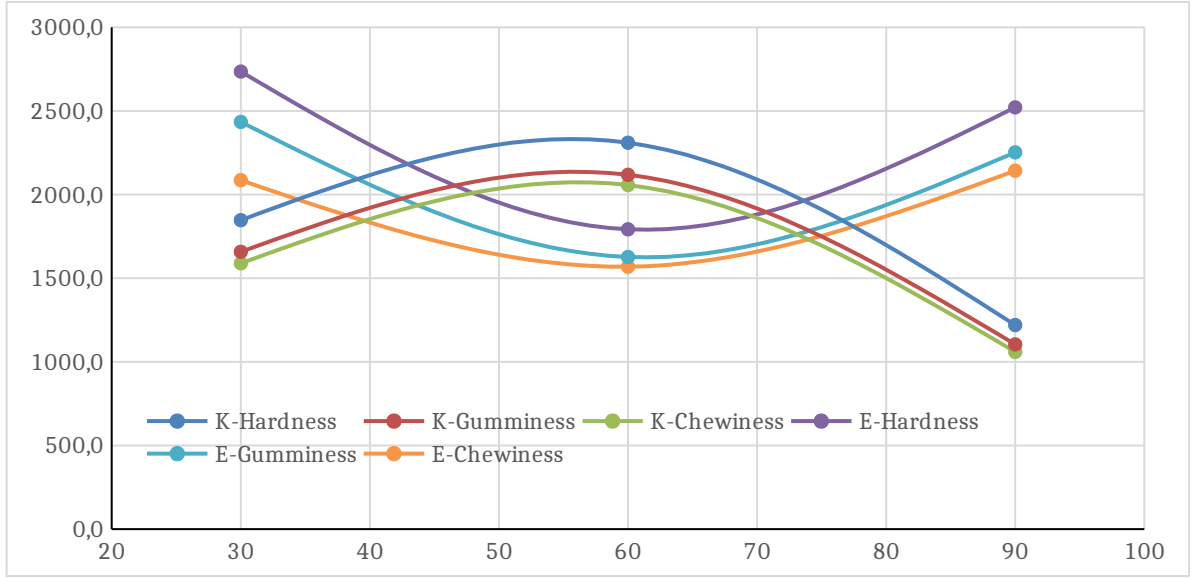


Şekil 4.7 Peynir filtratlarının antibakteriyel aktiviteleri. (a) Kontrol peynir örneği filtratının *Lactobacillus. plantarum*'a karşı inhibitör aktivitesi; (b) *Enterococcus. faecium* HZ içeren peynir örneği filtratının *Lactobacillus. plantarum*'a karşı inhibitör aktivitesi

4.7. Tekstür Analizleri

Şekil 4.8'de depolamanın 30., 60. ve 90. Günlerde K- ve E-peynirindeki sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik ile ilgili tekstür profilindeki değişimler gösterilmektedir. Şekilden görüleceği üzere depolama boyunca K peynirinde sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik önce artış sonra azalış gösterir iken E-peynirinde önce azalış sonra artış görülmüştür.

Bu durum daha önce genel bileşim kısmında tartışıldığı gibi E-peynirinde başlangıç asitliğinin yüksek olmasından dolayı pıhtının kasılması ve daha sert bir yapıya bürünmesinden ve tuz alımından kaynaklanıp, daha sonra tuzun bünyede dağılması ile yapının gevşemesi ve serum sızması ile yeniden sertleşmesi ile speküle edilebilir. K-peynirinde ise başlangıç nem içeriğinin daha yüksek olması ile daha düşük sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerine sahip olması, tuzun bünyede dağılması ve serum sızması ile yapının sertleşmesi, gelişen proteoliz ile de tekrar yapının zayıflaması şeklinde tartışılabilir.



Şekil 4.8 Ticari starter kültür ile üretilen kontrol peynirinde (K-peyniri) ve ticari starter kültür ve *Enterococcus faecium* HZ (E-Peyniri) ile üretilen peynirlerde (E-peyniri) buzdolabı koşullarında 90 günlük olgunlaşma süresince belirlenen tekstürel özellikleri.

5. SONUÇ

Bu araştırmada sadece ticari laktik asit bakteri (LAB) kullanılarak kontrol (K-peyniri) ve ticari LAB+%1 oranında *Enterococcus faecium* HZ kullanılarak Beyaz peynir üretilmiş (E-peyniri) ve 90 günlük olgunlaşma süresi boyunca, genel bileşim, uçucu bileşenler, aroma aktif bileşikler, mikrobiyolojik, duyu ve tekstürel değişimler belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar:

- Genel bileşim açısından değerlendirildiğinde; E-peynirinin depolama başlangıcında titre edilebilir asitlik düzeyi K-peynirine göre yaklaşık %60, kurumadde içeriği yaklaşık %5, protein içeriği yaklaşık olarak %1, yağ içeriği yaklaşık %1, kül içeriği yaklaşık %1 ve nemde tuz içeriği yaklaşık %2 daha yüksek bulunmuştur. Bu farklılıklar depolama boyunca korunmuştur.
- Uçucu bileşenler açısından değerlendirildiğinde; E-peyniri oluşan uçucu bileşen sayısı (73), K-peynirinin uçucu bileşen sayısından (60) daha fazla bulunmuştur. Özellikle serbest yağ asitleri bakımından E-peynirinde 12 asit, K-peynirinde ise 5 asit belirlenmiştir. Miktar açısından K-peynirinde en çok belirlenen ilk üç uçucu grup sırasıyla alkoller, alkanlar, aldehitler oluşturur iken, E-peynirinde alkoller, aldehitler ve asitler olmuştur.
- Aroma profili açısından değerlendirildiğinde; olfaktometrik analizler K-peynirinin aromasına 12, E-peynirinin aromasına ise 15 aroma aktif bileşiğin katkıda bulunduğunu göstermiştir.
- Duyusal açıdan değerlendirildiğine; E-peynirinin özellikle tat ve koku puanları depolanın ikinci ayından itibaren belirgin bir şekilde K-peynirindendaha yüksek çıkmıştır. Bu durumun *E. faecium* HZ tarafından üretilen aroma aktif bileşiklerden kaynaklandığı ileri sürülebilir.
- Mikrobiyolojik açıdan değerlendirildiğinde;
 - o E-peyniri olgunlaşmanın başında K-peynirinden yaklaşık 1 log kob/g total aerobik mezofilik bakteri içermiş ancak olgunlaşmanın sonuna doğru E-peynirinin total aerobik mezofilik bakteri sayısında azalma, K-peynirinde ise artma görülmüştür. Olgunlaşma sonunda K-peyniri, E-peynirinden yaklaşık olarak 1,5 log kob/g daha fazla bakteri içermiştir. E-peynirindeki azalmanın *Enterococcus faecium* HZ tarafından üretilen enterosin ile ilgili olduğu ve enterosinin özellikle koliform bakterilerin baskılandığı ve gıda güvenliği açısından daha kabul edilebilir bir ürün ürettiğini göstermiştir.
 - o E-peyniri, olgunlaşmanın başında K-peynirinden yaklaşık 2 log kob/g daha az *Lactobacillus* içermiştir. Bu durumun daha önce de bahsedildiği üzere

E. faecium HZ'un *Lactobacillus*'lara karşı kuvvetli inhibitör etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

- o *Lactococcus* sayımı açısından değerlendirildiğinde E-peyniri olgunlaşmanın başında K-peynirinden yaklaşık 1 log kob/g daha fazla bakteri içermiş ancak olgunlaşmanın sonuna doğru E-peynirinin *Lactococ* bakteri sayısında azalma, K-peynirinde ise artma görülmüştür. Olgunlaşma sonunda K-peyniri, E-peynirinden yaklaşık olarak 1 log kob/g daha fazla bakteri içermiştir.
- o Toplam koliform sayısı K-peyniri E-peynirinden 1 log kob/g daha fazla sayıda koliform içermiş. Bu durumun *E. faecium* HZ'un ürettiği entorosinin inhibitör etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.
- o Örneklerin hiçbirinde *Staphylococcus* spp. ve küf tespit edilmemiştir.
- Tekstürel açıdan değerlendirildiğinde ise; E-peyniri, olgunlaşmanın başında ve sonunda, K-peynirinden daha yüksek sertlik, çiğnenebilirlik ve sakızımsılık özellikler göstermiştir.

Sonuç olarak Türk Beyaz peynir salamurasından izole edilen *Enterococcus faecium* HZ nin ticari bir yerli kültür olarak kullanılması için uygun bir suş olduğu ve ticarileştirilmesi için gerekli çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmalar içerisinde bu suşun diğer peynirlerdeki etkisi, değişik formlarda (liyofilize, -18°C) muhafazasını rar ömrü ve aktivitesine etkisi araştırılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Adda, J., Gripon, J.C. and Vassal, L., 1982. "The chemistry of flavour and texture generation in cheese". *Food Chemistry*, 9(1-2), 115-129.
- Aday, S. and Karagul Yuceer, Y., 2014. "Physicochemical and sensory properties of Mihalic Cheese", *International Journal of Food Properties*, 17(10), 2207-2227.
- Alp, D., Öner, Z. 2014. "Bazı laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlilikleri ve aroma maddeleri oluşturma özelliklerinin belirlenmesi", *GIDA/The Journal of Food*, 39(6), 331-337.
- Andrighetto, C., Knijff, E., Lombardi, A., Torriani, S., Vancanneyt, M., Kersters, K., Swings, J., Dellaglio, F., 2001. "Phenotypic and genetic diversity of *Enterococci* isolated from Italian cheeses", *Journal of Dairy Research*, 68, 303– 316.
- Anonim, 2005. "Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları", Ed: A.K. Halkman, Başak Matbaacılık Ltd. Şti. Ankara, 358 sayfa.
- Anonymous. 2006. "TS 591 Beyaz Peynir Standardı", Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Akdemir-Evrendilek, G. and Eştürk, O., 2009. "The Determination of Aroma Profile of Economically Important Traditional Cheese (Erzincan Tulum Cheese, Ezine Beyaz Cheese, Kars Kaşar Cheese, İzmir Tulum Cheese) and the Use of Aroma Active Agents Determining of Its Originally/Quality. TÜBİTAK Carrier Project, Project no.104-O-530.
- Avsar, Y.K., 2010. "Milk fat globule size, powder hydration time, para-k-casein content and textural properties of recombined white-brined cheese produced by direct recombination system". *Journal of Food Processing and Preservation*, 34, 223-240.
- Ballesteros C, Poveda J.M, Gonzalez-Vinas M.A and Cabezas. L., 2006. "Microbiological, biochemical and sensory characteristics of artisanal and industrial Manchego cheeses", *Food Control*, 17, 249–255.
- Batish, V.K., Ranganathan, B., 1986. "Antibiotic susceptibility of deoxyribonuclease-positive enterococci isolated from milk and milk products and their epidemiological significance", *International Journal of Food Microbiology*, 3, 6, 331-337.
- Beresford T. and Williams, A., 2004. "The Microbiology of Cheese Ripening". In *Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology*, pp 287–317. Fox P F, McSweeney P L H, Cogan T M and Guinee T, eds. California: Elsevier Academic Press.
- Bhardwaj, A., Malik, R. K., Chauhan, P. 2008. "Functional and safety aspects of enterococci in dairy foods", *Indian Journal of Microbiology*, 48(3), 317-325.
- 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.
- Bosset, J.O. and Liardon, R., 1985. aroma composition of Swiss Gruyere cheese. III. Relative changes in the content of alkaline and neutral volatile components during ripening. *LWT-Food Science Technology*.18, 178-185.
- Broadbent, J. R., Steele, J. L. 2007. "Proteolytic Enzymes of Lactic Acid Bacteria and Their Influence on Bitterness in Bacterial-Ripened Cheeses", 193-204, *Flavor of Dairy*

- Products, Editor K. R. Caldwell, M. A. Drake, and R. J. McGorin, American Chemical Union, USA.
- Bulut, Ç. 2003. "Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese", Master's thesis, İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Carbonell, M., Nuñez, M., Fernández-García, E., 2002. "Evolution of the volatile components of ewe raw milk La Serena cheese during ripening. Correlation with flavour characteristics", *Le Lait*, 82, 6, 683-698.
- Centeno, J.A., Menendez, S., Hermida, M., Rodriguez-Otero, J.L., 1999. "Effects of the addition of *Enterococcus faecalis* in Cebreiro cheese manufacture", *International Journal of Food Microbiology*, 48, 97–111.
- Curioni, P. M. G., Bosset, J. O., 2002. "Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry." *International Dairy Journal*, 12, 12, 959-984.
- De Vuyst, L., Vandamme, E. J. 1994. "Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria". London, England: Blackie Academic & Professional.
- Deibler KD, Acree T, Lavin E.H. 1999. "Solid phase microextraction application in gas chromatography olfactometry dilution analysis", *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 1616–1618.
- Ercan, D., Korel, F., Orşahin, H. 2014. "Microbiological quality of artisanal Sepet cheese", *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 384-393.
- Ercan, D., Korel, F., Yüceer, Y.K. and Kınık, Ö., 2011. "Physicochemical, textural, volatile, and sensory profiles of traditional Sepet cheese", *Journal of Dairy Science*, 94(9), 4300-4312.
- FDA-BAM online, 2001a. Aerobic Plate Count. In "FDA's Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Chapter 3, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>, Son erişim tarihi: 06 Kasım 2017.
- FDA-BAM online, 2001b. Yeasts, Molds and Mycotoxins In "FDA's Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Chapter 18, <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071435.htm>, Son erişim tarihi: 07.11.2017.
- FDA-BAM online, 2001c. *Staphylococcus aureus*. In "FDA's Bacteriological Analytical Manual" 8th Edition, Revision A, Chapter 12. <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm071429.htm>, Son erişim tarihi: 07.11.2017.
- FDA-BAM online,, 2013. Enumeration of *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. In "FDA's Bacteriological Analytical Manual, Edition 8, Revision A, 1998, Chapter 4. <http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm>, Son erişim tarihi: 06.11.2017.
- Foulquie Moreno, M.R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., De Vuyst, L., 2006. "The role and application of enterococci in food and health", *International Journal of Food Microbiology*, 106, 1–24.

- Foulquie' Moreno, M.R.; Rea, M.C.; Cogan, T.M.; De Vuyst, L. 2003. "Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in Cheddar cheese manufacture", *International Journal of Food Microbiology*, 81,73-84.
- Franz, C. M., Stiles, M. E., Schleifer, K. H., Holzapfel, W. H. 2003. "*Enterococci* in foods—a conundrum for food safety", *International Journal of Food Microbiology*, 88(2), 105-122.
- Gallois, A. and Langlois, D., 1990. "New results in the volatile odorous compounds of French cheeses". *Le Lait*, 70(2), 89-106.
- Gatfield, I.L., 1988. "Production of flavor and aroma compounds by biotechnology", *Food Tech.*, 42, 169.
- Giraffa, G., 2002. *Enterococci* from foods. *FEMS microbiology reviews*, 26(2), 163-171.
- Giraffa, G. 2003. "Functionality of enterococci in dairy products", *International Journal of Food Microbiology*, 88, 215– 222.
- Giraffa, G., Carminati, D., Neviani, E. 1997. "*Enterococci* isolated from dairy products: a review of risks and potential technological use", *Journal of Food Protection*, 60, 732-738.
- Gómez-Sala, B., Recio, I., Campo, R. D., Hernández, P. E. 2013. "*Enterococcus faecalis* strains from food, environmental, and clinical origin produce ACE-inhibitory peptides and other bioactive peptides during growth in bovine skim milk. *International Journal of Food Microbiology*, 166, 93-101.
- González, 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.
- Göncüoğlu, M., Bilir Ormanlı, F. S., Kasımoğlu Doğru, A. 2009. "Beyaz peynir üretiminde *Enterococcus faecium*'un starter kültür olarak kullanılması". *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 56, 249-254.
- Gripon, J.C., Desmazeaud, M.J., Lebars, D. and Bergere, J.L. 1975. "Study of the role of microorganisms and enzymes during cheese ripening", *Le Lait*, 55 (548), 502-516.
- Guneser, O. and Yuceer, Y.K., 2011. Characterisation of aroma-active compounds, chemical and sensory properties of acid-coagulated cheese: Circassian cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4), 517-525.
- Gürsoy, O., 2005. "Bazı probiyotik bakterilerin destek kültür olarak beyaz peynir üretiminde kullanımı". *Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi*, İzmir.
- Hardie, J.M., Whiley, R.A., 1997. "Classification and overview of the genera *Streptococcus* and *Enterococcus*", *Society for Applied Bacteriology Symposium Series* 26, 1S– 11S.
- Harrigan, W.F., 1998. "Laboratory Methods in Food Microbiology", 3rd ed., San Diego, Academic Press, p.532.
- Hayaloglu, A.A., 2009. "Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese", *International Journal of Food Science & Technology*, 44(7), 1388-1394.

- Hayaloglu, A.A., Brechany, E.Y., Deegan, K.C. and McSweeney, P.L.H., 2008. "Characterization of the chemistry, biochemistry and volatile profile of Kuflu cheese, a mould-ripened variety", *LWT-Food Science and Technology*, 41(7).1323-1334.
- Hayaloglu, A.A., Cakmakci, S., Brechany, E.Y., Deegan, K.C. and McSweeney, P.L.H., 2007. "Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags", *Journal of Dairy Science*, 90(3), 1102-1121.
- Hernández-Ledesma, B, del Mar Contreras, M., Recio, I, 2011. Antihypertensive peptides: production, bioavailability and incorporation into foods", *Advanced Colloid Interface Science*, 165, 23–35.
- Hoover, D.G., Steenson, L.R. 1993. "Bacteriocins of lactic Acid Bacteria". Academic Press Inc, San Diego, CA.
- Isleroglu, H., Yildirim, Z., Tokatlı, M., Öncül, N., Yildirim, M. 2012. "Partial characterisation of enterocin KP produced by *Enterococcus faecalis* KP, a cheese isolate", *International Journal of Dairy Technology*, 65 90–97.
- ISO 15214:1998, 1998. "International Organization for Standardization, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria-colony count technique at 30°C", ISO 15214:1998, İsviçre.
- ISO 6888-1:1999, 2004. "International Organization for Standardization, Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species).
- İşleyici, Ö., Akyüz, N. 2009. "Van ilinde satışa sunulan Otlı peynirlerde mikrofloranın ve laktik asit bakterilerinin belirlenmesi", *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 20(2), 59-64.
- Jack, R.W., Tagg, J.R. and Ray, B. 1995. "Bacteriocins of Gram-positive bacteria. Microbiological Reviews, 59, 171-200.
- Kara, R., Akkaya, L. 2015. "Afyon tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fiziko-Kimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi" *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 15,1, 1-6.
- Karagul-Yuceer, Y, Isleten, M., Uysal-Pala, C., 2007. "Sensory characteristics of Ezine cheese", *Journal of Sensory Studies*, 22 (1), 49-65.
- Karahadian, C., D. Josephson, B., Lindsay, R. C., 1985. "Contribution of *Penicillium* sp. to the flavors of Brie and Camembert cheese." *Journal of Dairy Science*, 68, 8, 1865-1877.
- Karakuş, M., Borcaklı, M., Alperden, İ. 1992. Beyaz peynirin olgunlaşma sürecinde laktik asit bakterileri. *GIDA/The Journal of Food*, 17(6), 363-369.
- Klaenhammer, T.R. 1993. "Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS (Federation of European Microbiological Societies)", *Microbiological Reviews*, 12, 39-86.
- Klare I, Konstabel C, Badstübner D, Werner G, Witte W. 2003. "Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*", *International Journal of Food Microbiology*, 88, 269-290.

- Kondyli, E., Katsiari, M.C., Masouras, T., Voutsinas, L.P., 2002. "Free fatty acids and volatile compounds of low-fat Feta-type cheese made with a commercial adjunct culture", *Food Chemistry*, 79, 2, 199-205.
- Korucu, D. 2012. "Tomas Peynirinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlanması", Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ.
- Kurşun, Ö., Kırdar, S. S., Kale, A. S. A., Güner, A., ABD, B. 2008. "Burdur'da tüketime sunulan beyaz salamura peynirlerin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi". *Türkiye*, 10. Gıda Mühendisliği Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 817-820.
- Kürekci, C., Önen, S. P., Yipel, M., Aslantaş, Ö., Gündoğdu, A. 2016. "Characterisation of phenotypic and genotypic antibiotic resistance profile of enterococci from cheeses in Turkey", *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 352.
- Law, J., Haandrikman, A., 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*, 7(1), 1-11.
- Lee, J.H., Diono, R., Kim, G.Y., Min, D.B. 2003. "Optimization of solid phase microextraction analysis for the headspace volatile compounds of Parmesan cheese", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(5); 1136-1140.
- Liu, D., Zhu, Y., Beefink, R., Ooijkaas, L., Rinzema, A., Chen, J. and Tramper, J., 2004. "Chinese vinegar and its solid-state fermentation process". *Food reviews International*, 20(4), 407-424.
- Liu, M., Bayjanov, J.R., Renckens, B., Nauta, A. and Siezen, R.J., 2010. The proteolytic system of lactic acid bacteria revisited: a genomic comparison. *BMC genomics*, 11(1), p.36.
- Mottram, D.S. and Maarse, H., 1991. "Volatile compounds in foods and beverages". *New York: Marcel Dekker*, pp.107-177.
- McSweeney, P.L., Sousa, M.J., 2000. "Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review", *Le Lait*, 80, 3, 293-324.
- Molimard, P. and Spinnler, H.E., 1996. "Compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties", *Journal of Dairy Science*, 79(2), 169-184.
- Moreno, M. F., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., and De Vuyst, L. 2006. "The role and application of enterococci in food and health", *International Journal of Food Microbiology*, 106(1), 1-24.
- Morrison, D., Woodford, N., Cookson, B. 1997. "Enterococci as emerging pathogens of humans". *Journal of Applied Microbiology*, 83(S1).
- Munoz, A., Maqueda, M., Galvez, A., MartiNez-Bueno, M., Rodriguez, A., Valdivia, E. 2004. "Biocontrol of psychrotrophic enterotoxigenic *Bacillus cereus* in a nonfat hard cheese by an Enterococcal Strain–Producing Enterocin AS-48", *Journal of Food Protection*, 67 (7), 1517–1521.
- Ogier, J. C., Serror, P. 2008. "Safety assessment of dairy microorganisms: the Enterococcus genus", *International Journal of Food Microbiology*, 126(3), 291-301.

- Öner, Z., Sağdıç, O., Şimşek, B. 2004. "Lactic acid bacteria profiles and tyramine and tryptamine contents of Turkish tulum cheeses", *European Food Research and Technology*, 219(5), 455-459.
- Ray, B. and Daeschel, M.A. 1992a. "Food Biopreservatives of Microbial Origin", CRC Press Inc., Boca Raton, FL.
- Sarantinopoulos, P., Andrighetto, C., Georgalaki, M.D., Rea, M.C., Lombardi, A., Cogan, T.M., Kalantzopoulos, G., Tsakalidou, E. 2001. "Biochemical properties of enterococci relevant to their technological performance". *International Dairy Journal*, 11, 621–647.
- Sezen-Demirci, F. 2012. "Beyaz Peynirde Aroma Profilinin Karakterizasyonu", Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Doktora Tezi, Ankara.123s.
- Şimşek, B., Sağdıç, O., 2006. "Isparta ve Yöresinde Üretilen Dolaz (Tort) Peynirinin Bazı Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri". *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(3), 346-351.
- Skinner, F.A.; Lovelock, D.W. 1973. "Sampling—Microbiological Monitoring of Environments" Academic Press, London.
- Sulejmani, E., 2018." Changes in volatile compounds, microstructure and texture of Sharri cheese during maturation". *Journal of Nutrition and Food Technology*, 1, 1, p.00003.
- Tagg, J.R., Dajani, A.S., Wannamaker, L.W. 1976. "Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriology Reviews*, 40; 722-756.
- Terzaghi, B.E., Sandine, W.E., 1975. "Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages", *Applied Microbiology*, 29, 807-813.
- Toğay, S. Ö., Mustafa, A. Y., Altunatmaz, S. S. 2016. "Antimicrobial activity potential of *Enterococcus* spp. isolated from some traditional Turkish cheeses", *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(5), 765-770.
- Torres-Llanaez, M.J., Vallejo-Cordoba, B, Diaz-Cinco, M.E., Mazorra-Manzano M.A., Gonzalez-Córdova A.F., 2006. "Characterization of the natural microflora of artisanal Mexican Fresco cheese", *Food Control*, 17, 683–690.
- Tsakalidou, M.E., Tsilibari, V., Georgalaki, M., Kalantzopoulos, G., 1993. "Esterolytic activities of *Enterococcus durans* and *Enterococcus faecium* strains isolated from Greek cheese", *Netherland Milk Dairy Journal*, 145–150.
- Urbach, G., 1993. "Relations between cheese flavour and chemical composition", *International Dairy Journal* 3, 4-6, 389-422.
- Urbach, G, 1995."Contribution of lactic acid bacteria to flavour compound formation in dairy products", *International Dairy Journal*, 5, 8, 877-903.
- Vaningelgem, F., Ghijssels, V., Tsakalidou, E., De Vuyst, L. 2006. "Cometabolism of citrate and glucose by *Enterococcus faecium* FAIR-E 198 in the absence of cellular growth", *Applied Environmental Microbiology*, 72, 319-326.
- Van den Dool, H. and Kratz, P.D., 1963. "A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography", *Research*.

- Worsztynowicz, P., Schmidt, A. O., Białas, W., Grajek, W. 2019. "Identification and partial characterization of proteolytic activity of *Enterococcus faecalis* relevant to their application in dairy industry", *Acta Biochimica Polonica*, 66(1), 61-69.
- Yildirim, Z., Bilgin, H., Isleroglu, H., Tokatli, K., Sahingil, D., Yildirim, M. 2014. "Enterocin HZ produced by a wild *Enterococcus faecium* strain isolated from a traditional, starter-free pickled cheese". *Journal of Dairy Research*, 81(2), 164-172.
- Yuceer, Y.K., Tuncel, B., Guneser, O., Engin, B., Isleten, M., Yasar, K., Mendes, M., 2009. Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine cheese. *Journal of Dairy Science*, 92(9), 4146-4157.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Prof. Dr. YAHYA KEMAL AVŞAR
Proje No:	118O500
Proje Başlığı:	Beyaz Peynirden İzole Edilen Enterococcus faecium HZ'nin Aroma Aktif Üretme Kapasitesinin ve Beyaz Peynirde Starter Kültür Olarak Potansiyelinin Belirlenmesi
Proje Türü:	1002 - Hızlı Destek
Proje Süresi:	8
Araştırmacılar:	ZELİHA YILDIRIM, ŞEBNEM BUDAK
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	HATAY MUSTAFA KEMAL Ü.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	15/08/2018 - 15/04/2019
Onaylanan Bütçe:	30685.0
Harcanan Bütçe:	30684.97
Öz:	Bu araştırmada Devlet Planlama Teşkilatı destekli bir projede kapsamında (2002K120270 nolu proje) Türkiye'de üretilen salamura Beyaz peynirlerinden izole edilen patojen olmayan, enterosin HZ üreten Enterococcus faecium HZ bakterisi kullanılmıştır. Proje kapsamında Enterococcus faecium HZ ile üretilen beyaz peynirlerin üç aylık olgunlaşma periyodunda genel bileşim, mikrobiyolojik ve uçucu bileşen analizleri yapılarak, aroma aktif bileşikler ürete kapasitesi ve salamura peynirlerin aromasını zenginleştirmedeki katkısının olgunlaşma periyodu boyunca olfaktometrik teknikler ile ortaya konulmuştur. Böylece, ülkemizde ilk kez olarak enterosin üreten bir enterokok suşunun aromaya katkısı olfaktometrik teknikler ile belirlenmiştir. Sonuçlar, ticari laktik asit starter kültürü ve E. faecium HZ ile üretilen peynirlerin, sadece ticari starter kültür ile üretilen peynirlere nazaran daha fazla sayıda uçucu ve aromatik bileşen içerdiği, duyuşal özelliklerinin daha yüksek ve kabul edilebilir olduğunu, mikrobiyolojik açıdan ise daha güvenli olduğunu göstermiştir.
Anahtar Kelimeler:	Enterococcus faecium HZ, salamura beyaz peynir, aroma, enterosin, olfaktometre
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Hayır