

**DÜŞÜK LAKTOZLU PROBİYOTİK ULTRAFİLTRE
BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİ**

**MANUFACTURE OF PROBIOTIC ULTRAFILTRATED
WHITE CHEESE HAVING LOW LACTOSE**

ÇİĞDEM ESMERTAŞ

Prof. Dr. ALİ TOPCU

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2023

ÖZET

DÜŞÜK LAKTOZLU PROBİYOTİK ULTRAFİLTRE BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİ

Çiğdem ESMERTAŞ

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali TOPCU

Nisan 2023, 95 sayfa

Bu çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lactocaseibacillus casei* (LC) ve *Bifidobacterium bifidum* (BB) probiyotik suşlarının ek kültür olarak kullanıldığı düşük laktozlu probiyotik ultrafiltre (UF) beyaz peynir üretilmiştir. Üretilen peynirlerin olgunlaşma süresince (7., 30., 60., ve 90. gün) mikrobiyel, kimyasal, biyokimyasal ve duyusal özellikleri araştırılmıştır. Kontrol grubu olarak; standart UF beyaz peynir (K1) ve düşük laktozlu UF beyaz peynir (K2) üretimi yapılmıştır.

Üretimin 7. gününde, LA, LC ve BB peynirlerinde probiyotik canlı mikroorganizma sayısı sırasıyla 2.16×10^7 kob/g, 4.03×10^8 kob/g ve 1.05×10^8 kob/g olarak bulunmuştur. Olgunlaşmanın sonunda (90.gün), canlı probiyotik mikroorganizma sayısı 10^7 kob/g üzerinde tespit edilmiştir. LC ve BB peynirlerinde post asidifikasyonun (depolama süresince gelişen asitlik) fazla oldu tespit edilmiştir. Probiyotik suş kullanımı peynir örneklerinde proteolizi hızlandırmış ve toplam serbest aminoasit miktarları kontrol

peynirlerine oranla daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir ($p<0.05$). Olgunlaşma süresince probiyotik suş kullanımına bağlı olarak suda çözünmeyen fraksiyonlarına ait üre-PAGE elektroforetogramlarında görsel olarak belirgin bir farklılık gözlenmemiştir. Suda çözünen azot fraksiyonları RP-HPLC ile analiz edilmiş olup kromatogramlarda kontrol örneklerine göre görece fazla miktarda pik tespit edilmiştir. Bu diğer proteoliz sonuçlarını destekler bir durumdur. LC ve BB peynirlerinde 30. günden itibaren belirgin bir şekilde asetik asit ve laktik asit miktarlarında artış gözlenmiştir. Bu durum peynir pH'sını doğrudan etkileyerek peynirin duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilemiştir.

Düşük laktozlu peynirlerde, laktoz düzeyleri tespit edilebilir limitlerin altındadır ve galaktoz düzeyi %1.1-1.6 aralığında bulunmuştur. Serbest yağ asidi düzeyleri 90.günde LC ve BB kodlu örneklerde kısmen daha yüksek bulunmuştur. Uçucu bileşenlere PCA uygulanmış ve kontrol grubu örneklerine göre ve depolama süreçlerine bağlı olarak gruplar tespit edilmiştir. LA grubu peynir örnekleri genel anlamda yüksek kabul edilebilirlik göstermiştir. Sonuç olarak, genel değerlendirme yapıldığında gerek canlı kalma düzeyleri ve gerekse son üründeki kimyasal-biyokimyasal etkileri göz önüne alındığında *L. acidophilus*'un düşük laktozlu probiyotik UF beyaz peynir üretimi için uygun bir probiyotik ek kültür olabileceği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik peynir, Ultrafiltre peynir, β -galaktosidaz, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*

ABSTRACT

MANUFACTURE OF PROBIOTIC ULTRAFILTRATED WHITE CHEESE HAVING LOW LACTOSE

Çiğdem ESMERTAŞ

Master of Science, Department of FOOD ENGINEERING

Supervisor: Prof. Dr. Ali TOPCU

April 2023, 95 pages

In this study, low-lactose probiotic ultrafiltrated (UF) white cheese was produced by using *Lactobacillus acidophilus* (LA), *Lacticaseibacillus casei* (LC) and *Bifidobacterium bifidum* (BB) probiotic strains as adjunct culture. Microbial, chemical, biochemical and sensory properties of the cheeses produced were investigated during the ripening period (7th, 30th, 60th and 90th days). As the control group, standard UF white cheese (K1) and low-lactose UF white cheese (K2) were produced.

On the 7th day of production, the probiotic viable microorganism count in LA, LC, and BB cheeses was 2.16×10^7 cfu/g, 4.03×10^8 cfu/g and 1.05×10^8 cfu /g, respectively. At the end of the ripening period (90th day), the number of viable probiotic microorganisms was over 10^7 cfu/g. It was determined that post acidification (acidity increase during storage) was higher in LC and BB cheeses. The use of probiotic strains accelerated proteolysis in cheese samples and total free amino acid amounts were found to be higher than control

cheeses ($p < 0.05$). No visually significant difference was observed in the urea-PAGE electrophoretograms of the water-insoluble fractions due to the use of probiotic strains during maturation. Water-soluble nitrogen fractions were analyzed by RP-HPLC and relatively higher amount of peaks were detected in the chromatograms compared to the control samples. This is a situation that supports other proteolysis results. A significant increase in acetic acid and lactic acid amounts was observed in LC and BB cheeses starting from the 30th day. This situation directly affected the pH of the cheese and negatively affected the sensory properties of the cheese.

In low-lactose cheeses, lactose levels are below detectable limits and galactose level was found to be in the range of 1.1-1.6%. Free fatty acid levels were found to be slightly higher in LC and BB samples in the 90th day. PCA was applied to the volatile components and groups were determined according to the control group samples and ripening. Generally, LA cheeses showed high acceptability than other cheeses. In conclusion; it has been determined that *L. acidophilus* may be a suitable probiotic culture for the production of low-lactose probiotic UF white cheese, considering both the viability levels and the chemical-biochemical effects on the final product.

Keywords: Probiotic cheese, Ultrafiltrated Cheese, β -galaktosidase, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*

TEŞEKKÜR

Her zaman benden yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, araştırmayı ve yorum yapmayı bana öğreten başarılarını, bilime olan sevgisini, dürüstlüğünü ve vicdanını her zaman kendime örnek aldığım sevgili tez danışmanım Prof. Dr. Ali TOPCU'ya

Deneylerimin yapılması konusunda bana yardımcı olan ve deneyimlerini benimle paylaşmaktan çekinmeyen sevgili hocam Dr. Öğretim Üyesi Tuğba BULAT'a,

Tez dönemimde tanıştığım sevgili arkadaşlarım ve hocalarım Dilek KELGÖKMEN, Ece KONURALP, Melisa YALÇIN TAŞLI, Araş. Görevlisi Fuat GÖKBEL, Sattar EGBELIAN, Dr. Öğretim Üyesi Nazife Nur YAZGAN ve Esra ÜNVER'e,

Benimle deneyimleri paylaşmaktan çekinmeyen ve bana her konuda yardımcı olan sevgili müdürlerim Murat SARITEKİN ve Hulusi GÜNTER'e,

Bu çalışmayı, "2210-D Sanayiye Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Tez Bursu" kapsamında destekleyen TÜBİTAK BİDEB'e,

Araştırmam süresince sağladıkları destekten ötürü Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün tüm çalışanlarına,

Peynir örneklerinin büyük ölçekte üretilmesinde, hem maddi hem de manevi destekleriyle araştırmanın gerçekleştirilmesine büyük katkıda bulunan başta Öykü GÜVENÇ olmak üzere tüm Bahçivan personeline ve Bahçivan Gıda San. ve Tic. A.Ş.'ye,

Tezimi bitirmem konusunda beni teşvik eden hayatıma anlam katan sevgili arkadaşım İsmail ÖZMEN'e,

Her zaman yanımda olan ve beni destekleyen, elimi bırakmayan sevgili babam Halil ESMERTAŞ ve annem Satı ESMERTAŞ'a, hayatımı güzelleştiren, iyi ki benim kardeşlerim olan sevgili abim İrfan ESMERTAŞ, ablam Yasemin BULDUK ve kardeşim Elif ALGÜL'e sonsuz teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Membran Teknolojisi	3
2.1.1. Mikrofiltrasyon (MF)	5
2.1.2. Nanofiltrasyon (NF)	5
2.1.3. Ters Ozmoz (RO)	5
2.1.4. Ultrafiltrasyon (UF).....	5
2.2. UF Peynir	6
2.3. Probiyotik	7
2.3.1. Probiyotiklerin sağlık üzerine etkisi.....	8
2.3.1.1. Laktoz intoleransı	9
2.3.2. Probiyotik mikroorganizmalar	10
2.3.3. Probiyotik peynir.....	12
2.4. Peynirin Olgunlaşma Özellikleri.....	14
2.4.1. Kalıntı laktat, laktoz ve sitrat metabolizması	14
2.4.1.1. Sitrat metabolizması	16
2.4.2. Lipoliz	17
2.4.2.1. Yağ asidi katabolizması	19
2.4.3. Proteoliz	20
2.4.3.1. Aminoasit katabolizması	22
2.5. Peynirde Probiyotik İlavesinin Biyokimyasal ve Duyusal Özelliklerine Etkisi ..	23

2.5.1. Glikoliz	23
2.5.2. Lipoliz	24
2.5.3. Proteoliz	25
2.6. β -galaktosidaz enzimi	25
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	27
3.1. Materyal	27
3.2 Metot	29
3.2.1. Mikrobiyolojik analizler	29
3.2.1.1. Laktokok sayımı	29
3.2.1.2. Laktobasil sayımı	29
3.2.1.3. Bifidobakterilerin sayımı	29
3.2.2. Verim	30
3.2.3. Fizikokimyasal ve kimyasal analizler	30
3.2.3.1. Kuru madde analizleri	30
3.2.3.2. pH	30
3.2.3.3. Yağ analizi	30
3.2.3.4. Tuz	31
3.2.3.5. Protein analizleri	31
3.2.4. Proteolizin değerlendirilmesi	31
3.2.4.1. pH 4.4'te çözünür ve çözünmeyen fraksiyon ekstraksiyonu	31
3.2.4.2. pH 4.4'te suda çözünür azot tayini (SÇA)	32
3.2.4.3. %12'lik TCA'da çözünür azot tayini	32
3.2.4.4. Toplam serbest aminoasit tayini	32
3.2.4.5. RP-HPLC ile peptit profilinin belirlenmesi	33
3.2.4.6. Üre-poliakrilamid jel elektroforezi (Üre-PAGE)	33
3.2.5. Serbest Yağ Asidi Ekstraksiyonu ve Analizi	34
3.2.6. Organik asit ve şeker analizi	35
3.2.7. Uçucu Bileşiklerin Analizi	35
3.2.8. Tekstürel Analizler	36
3.2.9. Duyusal Analiz	37
3.2.10. İstatistiksel Analizler	37

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	38
4.1. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	38
4.2. Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları	42
4.3. Verim.....	46
4.4. Proteoliz	47
4.5. Serbest Yağ Asidi Analiz Sonuçları.....	56
4.6. Organik asit Analizi	61
4.4. Uçucu Bileşik Analiz Sonuçları	67
4.5. Tekstürel Analiz Sonuçları.....	71
4.6. Duyusal Analiz Değerlendirme Sonuçları.....	73
5. YORUM	76
6. KAYNAKLAR.....	81
EKLER	91
EK 1 – Peynir örnekleri için duyusal muayene değerlendirme puanları.....	91
ÖZGEÇMİŞ	95

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Yarı geçirgen membran filtrelerin temel prensibi	3
Şekil 2.2. Membran proseslerinin özellikleri ve süt endüstrisinde uygulanma alanları. ..	4
Şekil 2.3. Probiyotik mikroorganizmaların teknolojik özellikleri	8
Şekil 2.4. Peynirde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen faktörler.....	14
Şekil 4.1. Peynir örneklerindeki laktokok sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi.....	38
Şekil 4.2. Peynir örneklerindeki laktobasil sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi.....	40
Şekil 4.3. Peynir örneklerindeki <i>Bifidobacterium</i> sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi.....	41
Şekil 4.4. Peynir pH'sının olgunlaşma süresince değişimi.....	43
Şekil 4.5. Peynir örneklerinde olgunlaşma periyodu süresince verim sonuçları	46
Şekil 4.6. Peynir örneklerinin pH 4.4'te çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri (%).....	47
Şekil 4.7. Peynir örneklerinin % 12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri (%)	48
Şekil 4.8. Peynirlerin toplam serbest aminoasit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi.....	50
Şekil 4.9. Olgunlaşmanın 7. ve 30. gününe ait üre-PAGE elektroforetogramı	52
Şekil 4.10. Olgunlaşmanın 60. ve 90. gününe ait üre-PAGE elektroforetogramı	52
Şekil 4.11. Peynir örneklerinin olgunlaşmanın 7.gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	54
Şekil 4.12. Peynir örneklerinin olgunlaşmanın 7.gününde ve 214 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	54
Şekil 4.13. Peynir örneklerinin olgunlaşmanın 90.gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	55
Şekil 4.14. Peynir örneklerinin olgunlaşmanın 90.gününde ve 214 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	55
Şekil 4.15. Kısa zincirli serbest yağ asitlerinin olgunlaşma süresince değişimi.....	59
Şekil 4.16. Uzun zincirli serbest yağ asitlerinin olgunlaşma süresince değişimi	59

Şekil 4.17. Peynirlerdeki şeker ve organik asit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi	65
Şekil 4.18. Peynirlerdeki laktik asit ve pürivik asit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi	66
Şekil 4.19. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinde uçucu bileşen analizi	68
Şekil 4.20. a) Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince PC1 ayırımında etkili olan uçucu bileşenler b) Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince PC2 ayırımında etkili olan uçucu bileşenler.....	69
Şekil 4.21. Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince sertlik (N) değerlerindeki değişim	72
Şekil 4.22. Peynir örneklerinin örümcek ağı grafiği	74
Şekil 4.23. Peynir örneklerinin toplam kabul edilebilirlik değerlerindeki değişim	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. UF yağsız süttten elden edilen konsantrelerin bileşimleri.....	6
Çizelge 2.2. Farklı süt ve süt ürünlerinin laktoz içeriği.....	9
Çizelge 2.3. Farklı peynir çeşitlerinde uygulanan probiyotik suşlar	12
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan düşük laktozlu probiyotik peynir örnekleri ve kodları	28
Çizelge 3.2 Üretimde kullanılan UF retantant kimyasal analiz değerleri.....	28
Çizelge 3.3. RP-HPLC analizi için kullanılan sistemin özellikleri.....	33
Çizelge 3.4. Yağ asiti analizleri için kullanılan GC koşulları	34
Çizelge 3.5. Organik asit ve şeker analizleri için kullanılan HPLC sisteminin özellikleri ve koşulları.....	35
Çizelge 3.6. Uçucu bileşiklerin analizleri için kullanılan GC-MS koşulları	36
Çizelge 4.1. Olgunlaşma süresince peynirlerin bileşim özellikleri ve pH'ları.....	45
Çizelge 4.2 Olgunlaşmanın 30. ve 90. günündeki serbest yağ asidinin her birinin konsantrasyonu (mg/kg peynir)	57
Çizelge 4.3. Peynirlerdeki şekerler ve organik asitler konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi.....	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

Kısaltmalar

MF	Mikrofiltrasyon
UF	Ultrafiltrasyon
NF	Nanofiltrasyon
RO	Ters Ozmoz
K1	Laktoz içeren standart peynir
K2	Düşük laktozlu peynir
LC	<i>Lactobacillus acidophilus</i> kültürü içeren düşük laktozlu peynir
LA	<i>Lactocaseibacillus casei</i> kültürü içeren düşük laktozlu peynir
BB	<i>Bifidobacterium bifidum</i> kültürü içeren düşük laktozlu peynir
LAB	Laktik Asit Bakterileri
EFSA	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
QPS	Nitelikli Güvenlik Varsayımı
EMP	Emden-Meyerhof-Parnas
SYA	Serbest Yağ Asitleri
LPL	Lipoprotein lipaz
PGE	Pre-Gastrik Esteraz
GOS	Galaktooligosakkarit
A.İ.	Alıkonma indeksi
Üre-PAGE	Üre-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

SÇA	Suda Çözünür Azot
ÇA	Çözünür Azot
TCA	Trikloraasetik Asit
NSLAB	Starter Olmayan Laktik Asit Bakterileri
KM	Kuru madde
PCA	Temel Bileşen Analizi

1. GİRİŞ

1907 yılında Elie Metchnikoff “*The Prolongation of Life*” adlı kitabında probiyotik kavramı ile bizleri tanıştırmıştır. Daha sonra pek çok bakterinin (örneğin, Laktik asit bakterileri (LAB) ve *Bifidobacteria*) probiyotik özelliklere sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Probiyotik bakterilerin çoğu fermente süt ürünleri ve bitki materyalleri ile ilişkili olduğu gibi toprak, hayvan yemleri, insan ağız boşluğu ve bağırsak yolu gibi diğer habitatlarla da ilişkilidir şeklinde tanımlanmıştır (Byong, 2015). Probiyotiğin tanımının değişimi ile ilgili 2013 yılında bir rapor yayınlanmıştır ve probiyotik kavramının tanımı “yeterli miktarda alındığında konaklar üzerinde yararlı bir etki yaratan canlı mikroorganizmalar” olarak güçlendirilmiştir. Bu probiyotik bakteriler, tüketici üzerinde fizyolojik bir etkiye sahip olacak kadar yüksek miktarlarda bulunmalıdır (Hill ve ark., 2014).

Tüketicilerin sağlık ile ilgili bilinçlerinin artması fonksiyonel gıdalara olan talebin artmasını sağlamıştır (Suri ve ark., 2019). Laktoz intoleransı rahatsızlığı vücutta β -galaktosidaz enziminin yeterli üretilmediği durumlarda oluşmaktadır ve laktoz intoleransı olan insanlarda gastrointestinal rahatsızlıklar oluşmaktadır. Laktoz intoleransı bireyler için laktozu diyetten çıkarmak tek tedavi yöntemidir. Ancak laktozu diyetten çıkarmak bireylerin bağışıklık sistemini olumsuz yönde etkilemektedir ve sosyal açıdan bu durum mümkün gözükmemektedir. Laktoz intoleransı bireyler için eksojen enzimler ve probiyotik gıdaların tüketilmesi ya da ikisinin (probiyotik ve eksojen enzimler) birlikte alınması önerilmektedir (Pinto ve ark., 2019). Laktoz intoleransı için düşük laktozlu ve laktozsuz olmak üzere birçok çalışma mevcuttur. Suri ve ark. (2019) yapmış olduğu çalışmada düşük laktozlu gıdaların 100 g’da 1 g laktoz ve laktozsuz gıdaların 100 g 10 mg laktoz içermesine izin verildiği belirtilmiştir.

Süt ve süt ürünleri, piyasada bulunan en zengin probiyotik gıda kaynağı olmasının yanı sıra, en kapsamlı araştırılan gıda kategorisini de temsil etmektedir. Probiyotikler, yoğurt, peynir, dondurma, süt tatlıları, bebek mamaları gibi birçok süt ürününe dahil edilmiştir. Peynir evrensel olarak diyetlerde yaygın olarak tüketilmektedir (Shori, 2015). Peynirin yüksek yağ içeriği ve yoğun matriks yapısı, probiyotik bakterilerin sindirim kanalından geçişi esnasında yüksek koruma sağlamaktadır. Bu sebeple peynir, probiyotiklerin

sindirim sistemine ulaşabilmesi için uygun bir araç olmaktadır (De Prisco ve Mauriello, 2016).

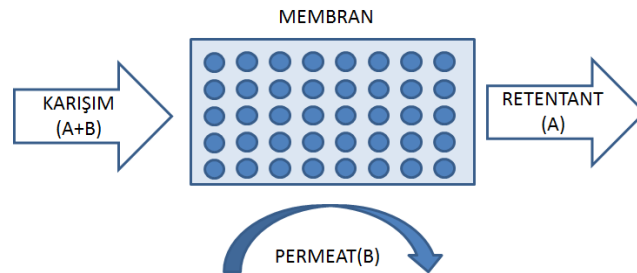
Probiyotik peynir ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur. Peynirlerde olgunlaşma süresince biyokimyasal değişimler devam etmektedir. Glikoliz, proteoliz, lipoliz olarak isimlendirilen bu biyokimyasal olaylar ürünün fiziksel, kimyasal, tekstürel ve duyuşal özelliklerini etkilemektedir. Bu çalışma kapsamında 3 farklı probiyotik bakteri ile (*Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei* ve *Bifidobacterium bifidum*) düşük laktozlu UF beyaz peynir üretilerek laktoz intolerans olan bireyler için alternatif bir ürün üretilmesi sağlanmıştır. Çalışmada, düşük laktozlu probiyotik beyaz peynirin olgunlaşma süresince mikrobiyolojik, fiziksel, biyokimyasal ve duyuşal özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Peynir, bir grup fermente süt bazlı gıda ürününün genel adıdır. Peynir yapımının birincil amacı, sütün başlıca bileşenlerini koruyarak raf ömrü uzun bir ürün elde etmektir. Aynı zamanda bu ürün oldukça besleyici olmaktadır (Fox ve ark., 2017b). Sağlıklı beslenmeye olan talep ile fonksiyonel gıdalar hayatımızdaki rolünü almıştır (Turkmen, Akal ve Özer, 2019). Probiyotik gıdalar, fonksiyonel gıdaların en hızlı büyüyen alanıdır (Shori, 2015). Peynir, dünya çapında tüketilen bir gıdadır ve diyetin ayrılmaz bir parçasını oluşturmaktadır (Gomes ve ark., 2011). Peynire probiyotik takviyesi, probiyotiklerin günlük diyet ile alımını kolaylaştırmaktadır. Dünya genelinde çok çeşitli aroma ve formlarda peynir üretimi gerçekleştirilmektedir (Fox ve ark., 2017b). Bu peynir çeşitlerinden biri olan ultrafiltre peynir (UF), özellikle Akdeniz ülkelerinde çok fazla tüketilen peynir gruplarından biridir (Miočinović ve ark., 2014).

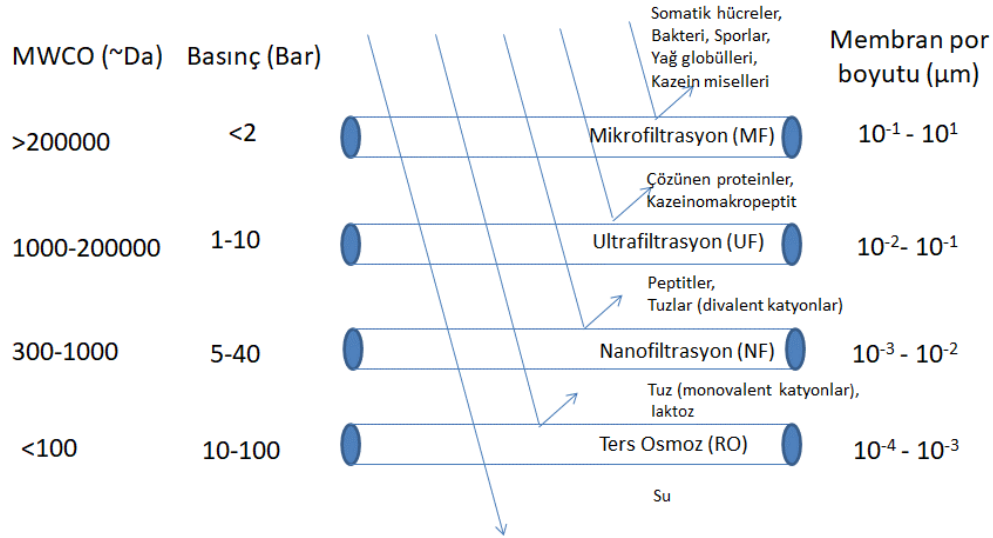
2.1. Membran Teknolojisi

Membran teknolojisi, spesifik yarı geçirgen membran filtreler ile belirli moleküler büyüklükteki bileşiklerin geçişine izin vererek ya da geçmesine engel olarak konsantrasyon hale getiren ya da fraksiyonlarına ayırma işlemlerine yardımcı olan bir teknolojidir (Kumar ve ark., 2013). Çapraz akışlı membran filtrasyonunda besleme çözeltisi basınç altında membrandan geçmeye zorlanır. Besleme çözeltisinden membranı geçen materyaller permeat, membran geçemeyen fraksiyon ise retentant olarak adlandırılır (Kılara, 2013; Kumar ve ark., 2013). Şekil 2.1’te yarı geçirgen membran filtrelerinin temel prensibi özetlenmiştir.



Şekil 2.1. Yarı geçirgen membran filtrelerin temel prensibi

Süt endüstrisinde membran teknolojisi, çeşitli ürünleri konsantre hale getirmek veya fraksiyonlarına ayırmak ve yeni ürün geliştirmek amacıyla 1960'ların sonlarında gıda endüstrisine girişinden bu yana yaygın olarak kullanılmaktadır (Pouliot, 2008; Kumar ve ark., 2013). Şekil 2.2'de membran proseslerinin özellikleri ve süt endüstrisinde uygulanma alanları verilmiştir.



Şekil 2.2. Membran proseslerinin özellikleri ve süt endüstrisinde uygulanma alanları (Pouliot, 2008; Lipnizki, 2010; Kilara, 2013; Kumar ve ark., 2013).

Süt teknolojisinde, membran proses uygulamaları 3 başlık altında toplanabilir. Bunlar; (i) santrifüj uygulamaları, evaporasyon, bakterilerin uzaklaştırılması, ve deminerilizasyon gibi temel prosesler için alternatif olarak, (ii) peynir altı suyundan yağın uzaklaştırılması, protein geri kazanımı ve ayırımı, süt yağı membran bileşenlerinin fraksiyonasyonu, sporların ve sporlu bakterilerin ayırım işlemlerinde, ve (iii) yeni süt ürünlerinin geliştirilmesinde kullanılabilmektedir (UF peynir, Uzun ömürlü süt (ESL süt), peynir altı suyu bazlı içecekler, süt ürünlerinde tekstürel modifikasyonlar vb) (Pouliot, 2008). Ters ozmoz, nanofiltrasyon, ultrafiltrasyon ve mikrofiltrasyon süt endüstrisinde en yaygın kullanılan membran prosesleridir (Marella, Muthukumarappan ve Metzger, 2013).

2.1.1. Mikrofiltrasyon (MF)

Mikrofiltrasyon 0.1-10 µm arasında gözenek boyutuna sahip membran ayırma tekniklerinden biridir ve 0.01-0.2 MPa basınç aralığında çalışmaktadır (Pouliot, 2008). Mikrofiltrasyon molekül ağırlığı 200000 Da'dan daha büyük partikülleri seçici olarak ayıran bir işlemdir (Kumar ve ark., 2013). Mikrofiltrasyon ile membran por boyutuna bağlı olarak süttten yağ globülleri, bakteriler, kazein miselleri, somatik hücreler, kümelenmiş peyniraltı suyu bileşenleri, β-kazein ve β-laktoglobulin ayırımı sağlanır (Mistry ve Maubois, 2004).

2.1.2. Nanofiltrasyon (NF)

Nanofiltrasyon 0.1-1 nm arasında gözenek boyutuna sahip membran ayırma tekniklerinden birisidir ve 1.5-3 MPa basınç aralığında çalışmaktadır (Pouliot, 2008). Nanofiltrasyon düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin (300-1000 Da) daha büyük moleküllerden ayrılması işlemidir. NF membranları tuz ve tek değerlikli (monovalent) katyonlara geçirgen iken organik bileşiklere geçirimsizdir. Süt endüstrisinde, kısmi demineralizasyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2013).

2.1.3. Ters Ozmoz (RO)

Ters ozmoz 0.1 nm'den daha küçük gözenek boyutuna sahip membran ayırma tekniklerinden birisidir ve 3-5 MPa basınç aralığında çalışmaktadır (Pouliot, 2008). Ters ozmoz membranları ile molekül ağırlığı 100 Da veya daha küçük çözünen bileşenlerin ayırımı sağlanır (Kumar ve ark., 2013). Membran, yağ, protein, laktoz ve tüm ayrışmamış minerallerin korunumu sağlanırken su ve çok az bazı iyonize minerallerin geçişine izin verir (Mistry ve Maubois, 2004).

2.1.4. Ultrafiltrasyon (UF)

Ultrafiltrasyon 1-500 nm arasında gözenek boyutuna sahip membran ayırma tekniklerinden birisidir ve 0.1-1 MPa basınç aralığında çalışmaktadır (Pouliot, 2008). Ultrafiltrasyon, 1000–200000 Da moleküler ağırlığa sahip makro molekülleri seçici olarak ayıran bir işlemdir (Kumar ve ark., 2013). Ultrafiltrasyon uygulamaları çoğunlukla

protein ve yağı konsantre hale getirmek amacıyla kullanılmaktadır. Bu uygulama ile süt ürünlerinin bileşiminde kayda değer bir değişiklik olmakta ve böylelikle geleneksel olmayan yeni ürünler üretilebilmektedir (Bintsis ve Papademas, 2018). Ultrafiltrasyon uygulaması ile su, laktoz, çözünen mineral, protein olmayan azot ve suda çözünen vitaminlerin bir kısmı permeatta toplanırken; protein ve yağ retentantta konsantre hale gelmektedir (Kumar ve ark., 2013; Bintsis ve Papademas, 2018).

2.2. UF Peynir

Peynir üretiminde membran teknolojisinin kullanımı 1970'li yılların başından bu yana uygulanmaktadır (Pouliot, 2008). UF peynir, ultrafiltrasyon ile konsantre edilmiş süttten üretilen peynirdir. Bu süreçte peyniraltı suyu bileşenlerinin tamamı ya da büyük bir kısmı peynir içerisinde kalır. Böylece peynirin verimi ve besleyici değeri artar (Bech, 1993). Retentantta mineral içeriğinin artması ile peynirin tamponlama kapasitesi de artar (Kilara ve Chvean, 2013). Böylece UF edilmeyen süte kıyasla laktik asit bakterilerinin gelişimi için daha iyi bir ortam sağlanmış olur (Khurana ve Meena, 2015). Çizelge 2.1'de UF ile farklı düzeylerde konsantre edilen yağsız süttün bileşimi verilmiştir.

Çizelge 2.1. UF yağsız süttten elden edilen konsantrelerin bileşimleri (Kilara ve Chvean, 2013)

HKF^a	%TKM^b	%Kazein	%Whey proteini	%PON^c	%Laktoz	%Kül
1 (yağsız süt)	8.5	2.8	0.28	0.17	5.1	0.74
2	12.1	5.7	0.65	0.15	5.0	0.99
3	15.5	8.4	0.91	0.20	4.7	1.26
4	18.9	11.5	1.15	0.21	4.7	1.37
5	21.8	13.8	1.41	0.30	4.5	1.70

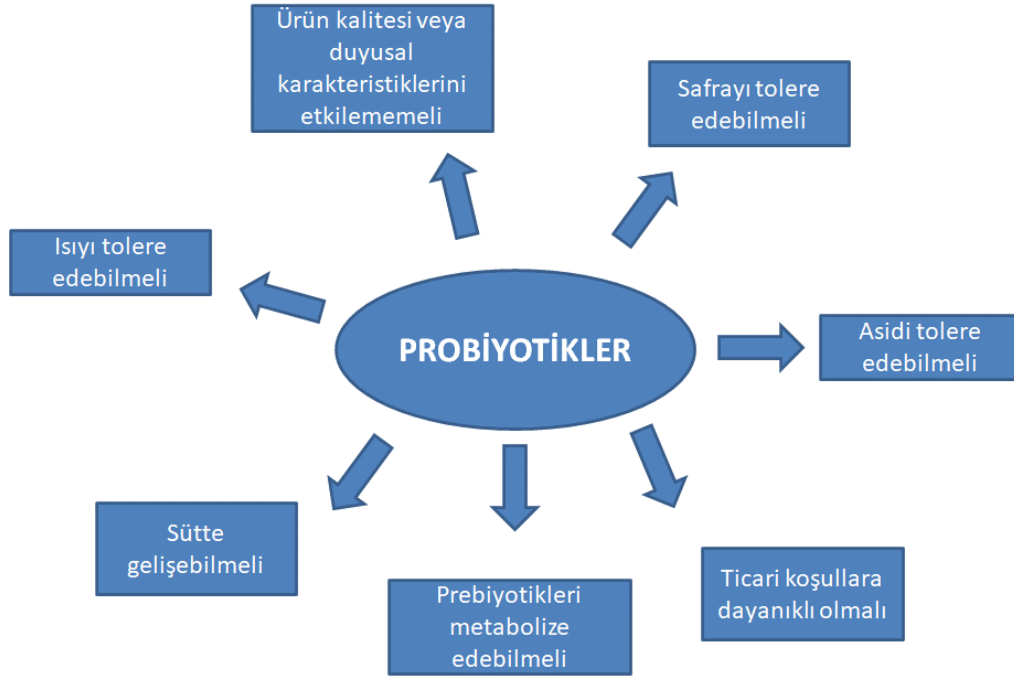
^aHacim Konsantrasyon Faktörü; ^bToplam Kuru Madde; ^c: Protein Olmayan Azot

2.3. Probiyotik

Son yıllarda sağlık ve beslenme paradigması önemli ölçüde değişmiştir. İhtiyaç duyulan temel besinleri sağlamanın ötesinde, gıda artık sağlıklı yaşamı optimize etmek için bir araç olarak görülmektedir. Bu nedenle, günümüzde insanlar, özellikle de yaşlı gruplar, sağlıklı yaşlanma konusunda daha fazla özen göstermekte ve ilaçlara güvenmeksizin sağlıklerini arttırmanın yollarını aramaktadırlar (Turkmen, Akal ve Özer, 2019). Sağlıklı beslenmeye olan talep ile fonksiyonel gıdalar hayatımızdaki rolünü almıştır. Fonksiyonel gıdalara örnek olarak probiyotik kültür içeren gıda ürünleri verilebilir (Neffe-skoci, Rzepkowska ve Szydłowska, 2018; Suri ve ark., 2019); ayrıca probiyotik gıdalar, fonksiyonel gıdaların en hızlı büyüyen alanıdır (Shori, 2015).

Probiyotikler yeterli miktarda alındığında konaklar üzerinde yararlı bir etki yaratan canlı mikroorganizmalardır (FAO/WHO, 2002). Probiyotik bakterilerin metabolik ürünleri veya hücre bileşenleri, konakçı üzerinde herhangi bir patojenik, toksik, mutajenik veya kanserojen etkiye sahip olmamalıdır. Ayrıca, gastrointestinal patojenlere karşı etkileşimde (antagonizm) olmalı ve plazmid transfer mekanizması göstermemelidir; yani suş genetik olarak stabil olmalıdır. Potansiyel probiyotikler gıdaya uygulandığında gıdanın duyuşal özellikleri olumsuz yönde etkilememelidir (Ranadheera ve ark., 2019). Klinik çalışmalara göre probiyotik ürün minimum 10^6 - 10^9 kob/g canlı probiyotik mikroorganizma içerdiği zaman konakçı üzerinde terapötik etki göstermektedir (Zieli ve ark., 2018).

Probiyotiklerin gıdaya uygulandığında tüketiciye faydalı bir etki gösterebilmesi ve gastrointestinal sisteme ulaşabilmesi için canlı olması ve oral yoldan iletilmesi gerekmektedir (Lee, 2015). Gıdalar, probiyotik mikroorganizmaların canlılığını koruyabilmesi için bir araçtır (Rolim ve ark., 2020) ve probiyotiklerin gıdada canlılık faaliyetlerini sürdürebilmesi için bazı teknolojik özelliklere sahip olması gerekmektedir (Sendra ve ark., 2016). Şekil 2.3.'te probiyotik mikroorganizmaların ana teknolojik özellikleri verilmiştir.



Şekil 2.3. Probiyotik mikroorganizmaların teknolojik özellikleri (Sendra ve ark., 2016).

Süt ve süt ürünleri, piyasada bulunan en zengin probiyotik gıda kaynağı olmasının yanı sıra, faydalı bakterilerin ilavesi için en kapsamlı araştırılan gıda kategorisini temsil etmektedir. Fermente ve fermente edilmemiş süt ürünleri, dondurmalar ve dondurulmuş tatlılar, meyve suları, yer fıstığı yağı, tahıl bazlı ürünler dahil olmak üzere çok çeşitli gıdalar probiyotikler ile zenginleştirilerek piyasaya sürülmüştür. Gıdalarda en yaygın kullanılan probiyotik mikroorganizmalar *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*’dur, aynı zamanda *Saccharomyces cerevisiae* (var. *boulardii*) de kullanılmaktadır (De Prisco ve Mauriello, 2016). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* insan gastrointestinal sisteminde kommensalizm (ortakçı) olarak bulunmaktadır. Bu sebeple *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*’un sağlıklı bağırsak florası için uygun birer kaynak olabileceği bildirilmektedir (Rolim ve ark., 2020).

2.3.1. Probiyotiklerin sağlık üzerine etkisi

Probiyotikler hastalıkları tedavi edici bir etki sağlamaktadır. Bazı probiyotiklerin ishale karşı etkinliğinin ve bağırsakta mikrobiyel dengenin sağlanmasının yanı sıra, kolon ve meme kanseri riskini azalttığı, kan basıncını düşürdüğü, lipit profillerini düşürdüğü, alerjileri ve gıda intoleransını azalttığı, patojenik bakterilerin gelişimini önlediği ve

immünomodülatör olduğu bildirilmiştir (Ahtesh, Stojanovska ve Apostolopoulos, 2018). Probiyotikler aynı zamanda laktoz intoleransı semptomlarını hafifletmekte ve bağışıklık sistemini de güçlendirmektedir (Suri ve ark., 2019).

2.3.1.1. Laktoz intoleransı

Laktoz doğada sadece sütte bulunan bir disakkarittir. β -galaktosidaz enzimi ile glukoz ve galaktoz monomerlerine dönüşmektedir (Köksel, 2016). Jejenumda bulunan β -galaktosidaz enzimi yetersizliği nedeniyle laktozun sindirilemediği ya da emilemediği durumlarda ortaya çıkan patofizyolojik durum laktoz intoleransı olarak adlandırılmaktadır ve bu durum dünya yetişkin nüfusunun %75'ini etkilemektedir (Suri ve ark., 2019).

β -galaktosidaz enziminin yetersiz üretilmesi durumunda laktoz ince bağırsakta sindirilemez ve sindirilemeyen laktoz ozmoz yoluyla bağırsaklara sıvı çeker. Buna ek olarak laktoz, kalın bağırsakta bulunan mikroorganizmalar tarafından yağ asitleri ve gazlar (karbondioksit, hidrojen ve metan) fermente edilir ve abdominal (karın) basınç artar (Troise ve ark., 2016; Parker ve Watson, 2017). Sıvı ve fermantasyon ürünleri, sulu ishal, karın ağrısı veya kramp ve şişkinlik de dahil olmak üzere laktoz intoleransı ile ilişkili gastrointestinal semptomlara neden olur (Köksel, 2016; Parker ve Watson, 2017; Suri ve ark., 2019).

Çizelge 2.2. Farklı süt ve süt ürünlerinin laktoz içeriği (Suri ve ark., 2019)

Süt ve süt ürünleri	Laktoz içeriği (g/100ml)
Yağsız süt	4.3–5.7
Az yağlı süt	3.7–5.5
Laktoz hidrolize süt	0.4–0.6
Cheddar peyniri	0.09–0.5
Cottage peyniri	1.0–3.1
Mozzarella peyniri	0.1–1.6

Laktoz intolerans bireyler için laktozu diyetten çıkarmak tek tedavi yöntemidir. Ancak, piyasada satılan birçok süt ve süt ürünü laktoz içermektedir ve Çizelge 2.2’de farklı süt ve süt ürünlerinin laktoz içeriği verilmiştir. Laktozu diyetten tamamen çıkarmak bireylerin yaşam stillerini tamamen değiştirmelerine neden olmakta ve bu durum sosyal açıdan mümkün görünmemektedir. Bunun yanı sıra süt ve süt ürünlerinin diyetten tamamen çıkartılması bireylerde süt ile alınması gereken vitamin ve mineral kaybına (özellikle Ca⁺⁺, fosfor) da neden olmaktadır (Suri ve ark., 2019). Bu sebeple ekzojen enzimler (β -galaktosidaz ve tilaktaz), probiyotik gıdalar (*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium animalis*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus acidophilus* veya *Lactobacillus rhamnosus* içeren kültürler) (Suri ve ark., 2019) ve ekzojen enzimler ile probiyotik mikroorganizmaların kombine edildiği gıdalar laktoz intoleransına sahip bireylerin beslenmesinde kullanılabilir (Pinto ve ark., 2019). Laktozsuz süt ürünlerinin üretimi ve geliştirilmesi gıda endüstrisinde hızla yaygınlaşmaktadır (Pereira ve ark., 2020).

Pinto ve ark. (2019) laktozsuz Yunan tipi yoğurtlarda enkapsülasyonun probiyotik *Bifidobacterium lactis* BB-12’nin canlılığına ve yoğurdun fizikokimyasal ve tekstürel özelliklerine olan etkisini incelemişlerdir. Pereira ve ark., (2020) prebiyotik inülinin yanı sıra probiyotik *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium lactis* BB-12 ilavesiyle hazırlanan laktoz içermeyen fermente sütlerin fizikokimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmalar sonucunda probiyotik bakterilerin depolama boyunca yüksek canlılık (10^6 kob/g üzerinde) gösterdiğini kanıtlamışlardır. Böylelikle, laktoz içermeyen probiyotik ürünlerin özellikle laktoz intoleransı olan bireyler için endüstriyel uygulamada büyük bir potansiyele sahip olabileceği gösterilmiştir (Pinto ve ark., 2019; Pereira ve ark., 2020).

2.3.2. Probiyotik mikroorganizmalar

Probiyotik mikroorganizmalar laktik asit bakterileri (LAB), *Bifidobacterium*, *Bacillus* ve mayalar olmak üzere dört gruptan oluşur. LAB, en erken keşfedilen probiyotik gruptur (Vinicius ve ark., 2018). *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. satsumensis*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus* ve *L. johnsonii*), insan ve hayvan gastrointestinal ve sindirim sistemlerinde bulunan baskın LAB grubudur.

Streptococcus, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* cinslerine ait bazı türler ve/veya kültürler probiyotik etkisi kanıtlanmış diğer LAB'dir. LAB, glukoz, fruktoz, galaktoz ve laktoz gibi çeşitli karbon kaynaklarından laktik asit ve diğer metabolitleri üretmektedir. LAB, glukoz metabolizmasına göre homofermantatif ve heterofermantatif olarak ikiye ayrılırlar. Homofermantatif LAB, Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) metabolik yolu ile sadece laktik asit üretebilirken, heterofermantatif LAB Pentoz Monofosfat metabolik yolu ile laktik asit ile birlikte CO₂, etanol ve asetik asit üretebilmektedir. Aynı zamanda LAB, gıdanın raf ömrünü ve kalitesini arttıran ikincil metabolitler (ekzopolisakkarit, enzim ve bakteriyosin gibi) de üretebilmektedir (Vinícius ve ark., 2018).

Bifidobacterium heterofermantatif, hareketsiz, katalaz-negatif ve anerobik bakterilerdir ve ayrıca glukoz, galaktoz, laktoz ve fruktozu metabolize edebilmektedir. *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. animalis*, *B. longum* ve *B. breve*, çeşitli probiyotik etkilere sahiptir ve yoğurt, süt, peynir ve diğer süt ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Vinícius ve ark., 2018).

Bacillus türleri (*B. clausii* ve *B. subtilis* gibi) gıda ve ilaç endüstrisinde probiyotik olarak da kullanılmaktadır. Bu Gram-pozitif, aerobik bakteri grubunun temel özelliği, uzun raf ömrü boyunca canlılığını korumasını sağlayan endosporları üretmesidir (Vinícius ve ark., 2018).

Mayalar, bitkiler, havadaki partiküller, gıda ürünleri ve insanların gastrointestinal sistemleri de dahil olmak üzere doğal ortamlarda yaygın olarak bulunan büyük ve heterojen bir ökaryotik mikroorganizma grubunu oluştururlar. Ayrıca antibiyotiklere karşı duyarlı değildirler ve endüstriyel işlem koşullarını (yani liyofilizasyon ve yüksek sıcaklıklar) iyi tolere edebilmektedirler. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesine (EFSA) göre *Saccharomyces boulardii*, Nitelikli Güvenlik Varsayımı (QPS) statüsüne sahiptir ve çoğunlukla probiyotik olarak kullanılmaktadır (Vinícius ve ark., 2018).

2.3.3. Probiyotik peynir

Peynirlerde probiyotik gelişimi ile ilgili yapılan birçok çalışma mevcuttur ve bu çalışmalar peynirin probiyotikler için iyi bir taşıyıcı ortam olduğunu göstermiştir (Ong ve Shah, 2009; Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011; Shori, 2015; Rolim ve ark., 2020). Çizelge 2.3.'de farklı peynirlerde uygulanan probiyotik suşlar listelenmiştir.

Çizelge 2.3. Farklı peynir çeşitlerinde uygulanan probiyotik suşlar

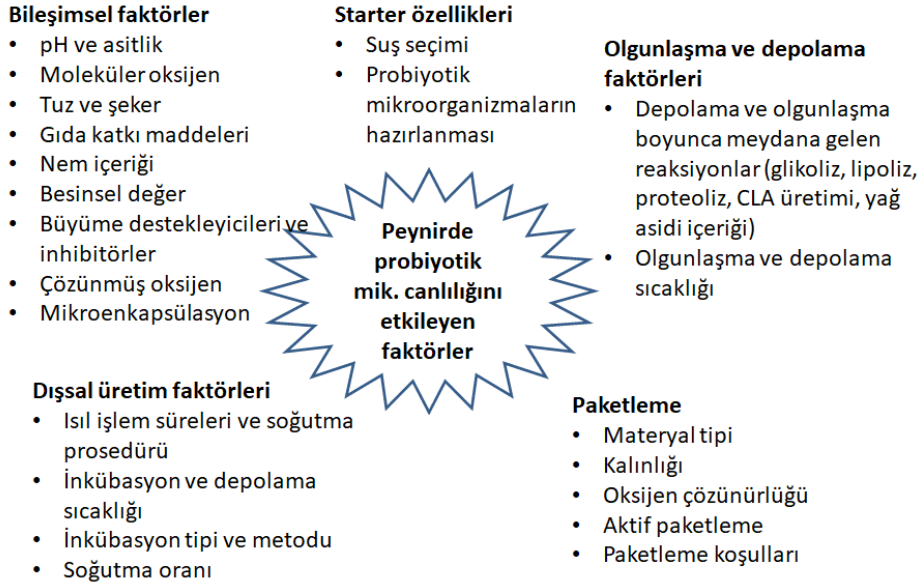
Peynir çeşidi	Uygulanan probiyotik suş	Referans
Cheddar peyniri	<i>Bifidobacterium longum</i> 1941, <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>lactis</i> LAFTI_B94 (B94), <i>Lacticaseibacillus casei</i> 279, <i>L. casei</i> LAFTI_L26 (L26), <i>Lb. acidophilus</i> LAFTI_L10 (L10) <i>Lactobacillus acidophilus</i> 4962,	(Ong ve Shah, 2009)
Cheddar peyniri	<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 27920G	(Daigle ve ark., 1999)
Cheddar peyniri	<i>L. casei</i> N87, <i>L. casei</i> N2014	(Reale ve ark., 2016)
Beyaz peynir	<i>L. acidophilus</i> 593N	(Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, 2004)
Krem peynir	<i>L. rhamnosus</i>	(Ningtyas ve ark., 2019)
Süzme peynir	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium lactis</i>	(Moghari ve ark., 2015; Jesus ve ark., 2016)
Minas Frescal peyniri	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	(Gomes ve ark., 2011)
Pasta Filata peyniri	<i>L. rhamnosus</i> GG, <i>L. acidophilus</i> LA5	(Cuffia ve ark., 2019)
Koyun peyniri	<i>Lactobacillus acidophilus</i> (La-5), <i>Bifidobacterium lactis</i> (BB-12), <i>Bifidobacterium longum</i> (BB-46)	(Albenzio ve ark., 2010)

Probiyotik mikroorganizmaların canlılığını, depolama koşullarının yanı sıra gıda matrisinin de (pH, yağ ve nem içeriği vb.) etkilediğini belirten birçok çalışma mevcuttur (Ningtyas ve ark., 2019). Peynirler, diğer fermente süt ürünlerine kıyasla görece daha

yüksek pH'a, daha katı bir kıvama, daha yüksek yağ içeriğine, daha yüksek tamponlama kapasitesine ve daha düşük oksijen seviyesine sahiptir; böylece depolama sırasında ve gastrointestinal sistemde probiyotik organizmalara daha fazla koruma sağlayabilmektedirler (Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, 2004; Ong ve Shah, 2009; Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011; Jesus ve ark., 2016; Rolim ve ark., 2020). Örneğin; 5 gram peynir mide öz suyu pH'sını 2'den 4.74'e yükseltirken, 5 gram yoğurt 3.65'e çıkarabilmektedir (Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011). Bu sebeple, peynir probiyotikler için uygun bir taşıyıcı ortamdır (Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, 2004; Ong ve Shah, 2009; Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011).

Probiyotik peynir üretiminin ön koşulu, kültürlerin uzun olgunlaşma sürelerinde hayatta kalmasıdır, bu da probiyotik peynir üretiminde probiyotik kültürleri seçerken dikkate alınması gereken bir faktördür (Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011; Sendra ve ark., 2016). Bu sebeple probiyotik mikroorganizmalar ya olgunlaşma ile gelişebilme yeteneğine sahip olmalı ya da peynir üretimi esnasında yüksek miktarda inoküle edilmelidir (Sendra ve ark., 2016). Probiyotik mikroorganizmaların tüketiciye faydalı bir etki gösterebilmesi için gıdanın son kullanma tarihine kadar canlılığını koruması ve ürünün duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilememesi gerekmektedir (Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011). Peynirlerde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen faktörler Şekil 2.4'te özetlenerek verilmiştir.

UF peynir üretiminde peynir altı suyu diğer peynirlerin aksine uzaklaştırılmamakta, bu durum retentantda probiyotik mikroorganizma kaybı olmasını engellemektedir. Böylece, peynirdeki probiyotik bakteri sayısı kontrol edilebilmektedir (Moghari ve ark., 2015). Moghari ve ark. (2015) probiyotik *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve *Bifidobacterium lactis* BB12'nin UF Feta peynirinin fizikokimyasal, proteoliz ve duyuşal özelliklerine olan etkisini incelemiştir. Probiyotiklerin 60 günlük depolama süresince yüksek canlılık aktivitesi ($>10^6$ kob/g) gösterdiklerini belirtmişlerdir.



Şekil 2.4. Peynirde probiyotik mikroorganizmaların canlılığını etkileyen faktörler (Karimi, Mortazavian ve Da Cruz, 2011).

2.4. Peynirin Olgunlaşma Özellikleri

Peynir üretiminde olgunlaşma, starter ve yardımcı kültürlerin metabolik akışı ile biyokimyasal ve mikrobiyolojik olayların birçoğunu oluşturan önemli bir teknolojik süreçtir. Peynirin lezzet ve doku karakteristikleri olgunlaşma ile gelişmektedir (Khattab ve ark., 2019). Peynir olgunlaşmasının biyokimyasını üç ana metabolik yol oluşturmaktadır (Fox ve ark., 2017a).

- 1- Kalıntı laktoz, laktat ve sitrat metabolizması
- 2- Lipoliz ve yağ asidi metabolizması
- 3- Proteoliz ve aminoasit katabolizması

2.4.1. Kalıntı laktat, laktoz ve sitrat metabolizması

Çoğu memeli türünün sütündeki ana karbonhidrat olan laktoz, glukoz ve galaktozun β -1,4 glikozidik bağı ile bağlanması ile oluşan bir disakkarittir. Sığır, manda, koyun ve keçi sütündeki laktoz konsantrasyonu sırasıyla %4.8, 4.8, 4.6 ve 4.1'dir (Fox, 2009). Laktozun sütte iki önemli fonksiyonu vardır; yeni doğan canlı için hazır enerji kaynağıdır ve süütün ozmotik basıncının %50'sinden sorumludur. Laktoz, laktik asit üreten laktik asit

bakterileri (LAB) için iyi bir karbon kaynağı olduğu için fermente süt ürünlerinin üretiminde önemli bir yere sahiptir. Laktoz; etanol, laktik, asetik ve propiyonik asitlerin olduğu çeşitli fermantasyon ürünlerinin üretimi için substrat görevi görmektedir (Fox, 2009). Peynirler, fermente süt ürünleridir ve peynir üretiminde laktozun laktata metabolize edilmesi önemlidir (McSweeney, 2004). Fermente süt ve peynir üretimi sırasında, starter bakteriler laktozu (esas olarak L) laktik aside fermente etmektedirler (Cadwallader ve Singh, 2009).

Sütte bulunan toplam laktozun %95-98'i, peynir üretiminde laktoz ve/veya laktat şeklinde peynir altı suyu ile kaybolmasına rağmen, üretim sonunda peynir pıhtısı %0.8-1.5 oranında laktoz içermektedir (McSweeney, 2004; Cadwallader ve Singh, 2009). Kalan laktoz süzülme işleminden kısa bir süre sonra farklı metabolik yollar ile laktata metabolize edilmektedir. Laktozun metabolize olduğu metabolik yol, starter kültürlerin çeşidine bağlıdır (McSweeney, 2004).

Laktik asit bakterileri homofermantatif ve heterofermantatif olarak ikiye ayrılmaktadırlar. Homofermantatif LAB, EMP metabolik yolu ile laktozu yalnızca laktik aside metabolize ederken, heterofermantatif LAB laktozu metabolize ederken laktik asit yanında aroma ve gaz oluşumunda sorumlu birçok bileşen üretmektedir. Laktoz yıkımının aktif biyokimyasal yollarındaki iki ayırt edici özellik galaktozun parçalanması ve oluşan laktik asidin mutarotasyonudur (Hettinga, 2019). Starter ve starter olmayan LAB, taze peynirlerde 1 ay içinde kalıntı laktozu metabolize etsede, peynir çok az miktarda laktoz içermektedir. Olgunlaşmanın ilk aşamalarında laktat aroma gelişimine katkıda bulunmaktadır. Ancak, asidifikasyonun aroma gelişimi üzerindeki ana etkisi dolaylıdır. Çünkü pıhtının tamponlama kapasitesi ile pH'sı etkilenir, böylece ikincil mikroflora gelişir ve olgunlaşma enzimleri aktif hale gelir (McSweeney, 2004).

Laktat, peynir olgunlaşmasına olumlu veya olumsuz katkıda bulunan bir dizi reaksiyon için önemli bir substrattır (McSweeney ve Fox, 2004). Aşağıda bu reaksiyonlar sıralanmıştır.

- 1- Birçok peynirde D-laktat, L-laktata starter olmayan laktik asit bakterileri tarafından rasemize edilmektedir. L-laktatın rasemizasyonu aroma açısından önemli değilken, D-laktat bebeklerde istenmeyen beslenme sonuçlarına neden olabilmektedir. Kalsiyum D-laktat kalsiyum L-laktata oranla daha az çözünür ve peynir yüzeyinde (özellikle kesilmiş yüzeylerde) kristalleşebilmektedir. Tüketiciler kristalleşmeyi bozulma olarak algılayabilmektedir. Bu sebeple genellikle kristal oluşumu olumsuz kabul edilmektedir (Cadwallader ve Singh, 2009).
- 2- İsviçre tipi peynirlerde laktat, karakteristik aroma ve gözenek oluşumu için *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* tarafından katabolize edilmektedir.
- 3- Yüzey küflü olgunlaşmış peynirlerde laktat, tekstür gelişimi için önemli olan CO₂ ve H₂O'ya *Penicillium camemberti* tarafından katabolize edilmektedir.
- 4- Laktat, starter olmayan laktik asit bakterilerinin bazı üyeleri tarafından (örn; *Pediococcus*) asetat ve CO₂'ye metabolize edilebilmekte, ancak bu oksidatif yol, düşük oksidasyon-redüksiyon (redoks) potansiyeli (yaklaşık -250 mV) nedeniyle peynirde nispeten düşüktür ve O₂'nin mevcudiyeti ile sınırlıdır (McSweeney, 2004).
- 5- Laktat, anaerobik koşullarda *Clostridium tyrobutyricum* tarafından metabolize edilebilmekte ve geç gaz oluşumu olarak adlandırılan kusuru oluşturmaktadır.

2.4.1.1. Sitrata metabolizması

Sığır sütü nispeten düşük seviyelerde (yaklaşık olarak 8 mM) sitrata içermektedir. Sitrataın %90'ı sütte çözünür olarak bulunmakta ve çoğu peynir altı suyu ile kaybedilmektedir. Ancak, peynirin sulu fazındaki sitrata konsantrasyonu (muhtemelen koloidal sitrata konsantrasyonunu) peynir altı suyununkinden yaklaşık olarak 3 kat daha fazladır. Sitrata, sitrata-pozitif laktokoklar ve *Leuconostoc* spp. tarafından CO₂ ve diasetile metabolize edilebilmektedir (Cadwallader ve Singh, 2009). Sitrata metabolizmasından üretilen başlıca tat-koku bileşikleri asetat, diasetil (2,3-bütandion), asetoin (3-hidroksi-2-bütanon) ve 2,3-bütandioldür. Genellikle asetoin, diasetile oranla çok daha yüksek konsantrasyonlarda (diasetilden 10-50 kat daha yüksek) üretilmektedir (Cadwallader ve Singh, 2009). Sitrata metabolizmasında CO₂ üretimi, Hollanda tipi peynirlerde gözenek oluşumundan sorumlu iken, diasetil ve asetat üretimi Hollanda tipi ve Cheddar peynirinde aroma oluşumundan

sorumludur (Cadwallader ve Singh, 2009). Cheddar peynirinde sitratın yavaşça metabolize edilmesi sonucu oluşan CO₂ peynirin tekstürünü olumsuz yönde etkilemektedir (McSweeney, 2011). 2,3-Bütandiol karakteristik meyvemsi bir aromaya sahiptir (Kilcawley ve O'Sullivan, 2018). Diasetil, kuark ve süzme peynir gibi peynir çeşitlerinde önemli bir uçucu bileşiktir (McSweeney ve Fox, 2004; Kilcawley ve O'Sullivan, 2018).

2.4.2. Lipoliz

Sığır, keçi, koyun ve manda sütünün ortalama yağ içerikleri sırasıyla 3.5, 3.5, 6.5 ve 7 g/L şeklindedir. Sütün lipit içeriği bir tür içinde, cins, bireysellik, laktasyon aşaması, yaş, hayvan sağlığı, beslenme durumu, sağım arasındaki aralık vb. nedenlerden dolayı çeşitlilik göstermektedir. Sütteki lipitlerin ~%98'ini trigliseritler (triacilgliseroller) oluştururken, %2'lik kısmını digliseritler, monogliseritler, yağ asitleri, fosfolipitler, steroller (esas olarak kolesterol) ve eser miktarda yağda çözünen vitaminler (A, D, E ve K) oluşturmaktadır (Fox, Guinee, Cogan ve McSweeney, 2017).

Lipoliz peynir olgunlaşmasında önemli biyokimyasal olaylardan biridir ve peynirin besinsel ve duyuşal özelliklerinde önemli rol oynamaktadır. Lipoliz sert İtalyan ve Blue peynirlerinde yoğun bir şekilde gerçekleşirken, Cheddar ve Gouda gibi peynirlerde olgunlaşma ile orta seviyede gerçekleşmektedir (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). Peynir yüksek miktarda yağ içeren bir gıdadır ve asit ile pıhtılaştırılan peynirler %12'ye kadar yağ içerirken; genellikle olgunlaştırılan peynirler %20-40 arasında yağ içermektedir (Singh ve Cadwallader, 2008). Süt yağı peynir olgunlaşmasında aroma gelişimi için önemli rol oynamaktadır. Yağsız süttten ya da süt yağının diğer lipitler ile değiştirildiği sütlerden yapılan peynirlerde olgunlaşma ile karakteristik aroma gelişimi olmadığı çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). Yüksek yağ içeriğine sahip tüm gıda türleri gibi, peynirde lipolitik ve oksidatif değişikliklerin olması muhtemeldir (Singh ve Cadwallader, 2008). Ancak, düşük redoks potansiyeli (-250 mV) nedeniyle peynirde lipit oksidasyonu önemli ölçüde önlenmektedir (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2004; McSweeney, 2004).

Süt yağının %98'inden fazlasını oluşturan trigliseritlerin hidrolizi, yağın temel biyokimyasal dönüşümüdür, bu da serbest yağ asitleri (SYA), di- ve mono-gliseritler ve muhtemelen gliserol üretimine yol açar (Singh ve Cadwallader, 2008). Serbest yağ asitleri (SYA'lar), tat-kokuya katkıda bulunan çeşitli uçucu bileşiklerin önemli öncülleridir (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2004). Serbest yağ asitleri, peynir aromasına katkıda bulunmakta ve özellikle C_{4:0} ve C_{12:0} arasındaki yağ asitleri spesifik tat-kokuya sahiptir (ransit, keskin, keçimsi, sabunumsu, Hindistan cevizi benzeri) (McSweeney, 2004; Singh ve Cadwallader, 2008).

Lipolitik enzimler lipazlar veya esterazlar olarak sınıflandırılabilir. Peynirde lipaz/esterazlar;

- Sütte doğal olarak bulunan enzimlerden (lipoprotein lipaz (LPL)),
- Pıhtılaştırıcılardan (rennet macunu gibi),
- Peynir mikroflorasından (starter/starter olmayan LAB ve ek kültürler) kaynaklanabilmektedir

(Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2004; Singh ve Cadwallader, 2008).

Lipoprotein lipaz sütte doğal olarak bulunan bir enzimdir ve sığır sütü 1-2 mg/L lipaz içermektedir (Fox, Guinee, Cogan ve McSweeney, 2017a). Lipoprotein lipaz pastörizasyon normlarında (78°C, 10 s) inaktif hale gelmektedir. Bu sebeple, LPL aktivitesi çiğ süttten yapılan peynirlerde daha önemli olmaktadır. Uygun koşullarda (37°C ve pH 7) sütte belirgin ransit tat oluşumuna neden olabilmektedir (McSweeney, 2004). Ticari rennet lipolitik aktiviteden arındırılmıştır. Bununla birlikte, bazı sert İtalyan (örn. Pecorino peynirleri, Provolone), Yunan ve İspanyol peynirleri üretiminde kullanılan peynir mayası macunu, güçlü bir lipolizden sorumlu karakteristik bir lipaz, pregastrik esteraz (PGE) içermektedir (Fox ve ark., 2017a). *Lactococcus* spp. ve *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*'a kıyasla daha düşük lipolitik aktiviteye sahiptir. Ancak, pastörize süttten yapılan peynirlerde uzun olgunlaşma dönemlerinde lipolitik aktivite laktokok ve laktobasilden kaynaklanmaktadır. Küf ile olgunlaştırılmış peynirlerde lipoliz esas olarak *Penicillium roqueforti* ya da *P. camemberti*' den kaynaklanmaktadır (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003).

2.4.2.1. Yağ asidi katabolizması

Lipoliz, peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen önemli biyokimyasal olaylardan birisidir. Peynirde lipoliz sonucunda açığa çıkan kısa ve orta zincirli serbest yağ asitleri peynir aromasına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, serbest yağ asitleri (SYA) metil ketonlar, esterler, laktonlar, alkanlar ve ikincil alkoller gibi tat-koku ve aroma bileşiklerinin üretimine yol açan bir dizi katabolik reaksiyon için öncül moleküldür (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003).

Yağ asidi katabolizması sonucunda;

- ✓ Metil ketonlar,
- ✓ Esterler,
- ✓ Sekonder alkoller,
- ✓ Laktonlar ve
- ✓ Aldehitler oluşmaktadır (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003).
- ✓ Yağ asidi metabolizması lipolitik sistem tarafından yağ asitlerinin serbest kalarak β -ketoasitlere okside olması ve β -ketoasitlerin bir karbonu daha az olan metil ketonlara dekarboksilasyonu ve daha sonra sekonder alkollere okside olması şeklinde özetlenebilir (Fox ve ark., 2017a).

Küflü peynirlerin tat ve aromasından doymuş n-metil ketonlar sorumludur. Metil ketonlar, küf lipazlarının (*Penicillium roqueforti*, *Penicillium camemberti* ve *Geotrichum candidum*) etkisinden dolayı oluşmaktadır (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). Laktonlar, peynirin genel tat-kokusunda önemli olabilecek güçlü bir aromaya sahiptir. Enzimatik olmayan molekül içi transesterifikasyon ile trigliseritlerden serbest bırakılarak ya da lipoliz ile serbest bırakılan keto asitlerden ve ardından hidroksi asitlere indirgenerek üretilebilmektedirler. Küflü peynirdeki laktonların konsantrasyonu yüksek lipoliz konsantrasyonundan ötürü Cheddar peynirinden daha yüksektir. Yağ asitleri ayrıca düşük bir lezzet eşiğine sahip olan ve aynı zamanda peynir aromasına katkıda bulunan S-metil tiyoesterler oluşturmak için metantiyol (metiyonin katabolizması tarafından üretilen) ile reaksiyona girebilirler (Fox ve ark., 2017a).

2.4.3. Proteoliz

Proteoliz, peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen önemli ve karmaşık biyokimyasal olaylardan birisidir ve çoğu peynir çeşidinde gereklidir (Fox ve ark., 2017a).

Proteoliz ile,

1. Peynir tekstürü;
 - i. Protein matriksinin hidrolizi,
 - ii. Peptit bağlarının hidrolizi sonucu serbest kalan yeni karboksilik asit ve amino grupları tarafından su bağlanmasındaki değişiklikler (su aktivitesinde azalma) ve,
 - iii. Dolaylı olarak proteoliz sonucu açığa çıkan amino asitlerden amonyak salınmasının neden olduğu pH'daki artış yoluyla gelişmektedir.
2. Peynir aroması;
 - i. Doğrudan kısa zincirli peptit ve aminoasitlerin üretimi,
 - ii. Dolaylı olarak önemli uçucu lezzet bileşikleri üreten bir dizi katabolik reaksiyon için substrat görevi gören amino asitlerin serbest bırakılması ve,
 - iii. Çiğneme sırasında tat-koku bileşiklerinin peynir matrisinden salınmasını kolaylaştırarak gelişmektedir (Upadhyay ve ark., 2004).

Olgunlaşma sırasında peynirdeki proteoliz; proteinazlar ve peptidazlar tarafından katalize edilmektedir. Peynirdeki proteolitik enzimler:

- Sütten (plazmin, katepsin D, somatik hücre proteinazları),
- Pıhtılaştırıcılardan (kimoziin, pepsin, mikrobiyel ve bitkisel kaynaklı proteinazlar),
- Starter LAB'den,
- Starter olmayan LAB'den,
- İkincil kültürlerden (*P. camemberti*, *P. roqueforti*, *Propionibacterium* spp., *Brevibacterium lines* vb.) ve,
- Ekzojen proteinaz ve peptidazlardan kaynaklanabilmektedir (Upadhyay ve ark., 2004).

Peynirde kazeinlerin ilk hidrolizi pıhtılaştırıcı enzimler, plazmin ve somatik hücre proteinazları (örn., katepsin D) ile gerçekleşmektedir. Hidroliz ile büyük ve orta büyüklükte peptitler oluşmaktadır. Küçük peptitlerin ve amino asitlerin oluşumu mikrobiyel proteinazlar ve peptidazlar aracılığı ile olmaktadır (McSweeney, 2004). Pıhtılaştırıcı enzimler kullanılan pıhtılaştırıcının tipine (kimoziin, pepsin, küf kaynaklı proteinazlar, bitkisel kaynaklı proteinazlar) bağılı olarak proteolizi etkilemektedir (Upadhyay ve ark., 2004) ve pıhtılaştırıcılar esas olarak birincil proteolizden, yani suda veya pH 4.6'da çözümlür azot oluşumundan sorumludur (McSweeney, 2011). Peynir yapımında kimoziinin temel rolü, κ -kazeinin Phe₁₀₅ ve Met₁₀₆ bağıını spesifik olarak hidrolize ederek sütlü pıhtılaştırmaktır (Sousa, Ardö ve McSweeney, 2001). Geleneksel sığıır rennetinde ana proteinaz kimoziin (EC 3.4.23.4) (%88-94), geriye kalan proteinaz ise sığıır pepsinidir (EC 3.4.23.1) (Fox ve ark., 2017a).

Süt doğıal olarak bir dizi proteinaz (plazmin, katepsin D vb.) içermektedir. Plazmin (optimum 37°C ve pH 7.5) sütlü bulunan önemli proteinazlardan biridir ve esas olarak olgunlaşmış peynirlerde β -kazeinin sınırlı hidrolizinden sorumludur. β -kazein, γ -kazeinler olarak bilinen polipeptitlere ve sütlü proteoz-pepton fraksiyonuna katkıda bulunan daha küçük peptitlere hidrolize olmaktadır. Plazmin, plazminojen, plazminojen aktivatörleri ve plazmin inhibitörleri sütlü bir arada bulunmaktadır. Plazmin sütlü plazminojen formundadır ve plazmin aktivatörleri ile plazmin formuna dönüşmektedir. Plazmin ayrıca olgunlaşma sırasında peynirdeki α ₂-kazeinin hidrolizinden de sorumludur (McSweeney, 2011).

Peynir üretiminde yaygın olarak kullanılan starter kültürler, mezofilik *Lactococcus* ve *Leuconostoc* türleri ile termofilik *Lactobacillus* türleri ve *Streptococcus thermophilus*'tur (Sousa, Ardö ve McSweeney, 2001). LAB, birçok mikroorganizmaya kıyasla zayıf proteolitik aktiviteye sahip olmasına rağmen sütlüki büyümlerini desteklemek için çeşitli proteolitik sisteme (hücre dışı ile ilgili proteinaz (CEP, lactocepın, PrtP), hücre içi oligopeptidaz (PepO) ve (PepF), en az üç tane genel aminopeptidaz (PepN, PepC, PepG), glutamil aminopeptidaz (PepA), pirolidon karboksilat peptidaza (PCP), lösil aminopeptidaz (PepL), prolildipeptidil aminopeptidaz (PepX), prolin iminopeptidaz

(PepI), aminopeptidaz P (PepP), prolinaz (PepR, PepQ), genel dipeptidazlar (PepV, PepD, PepDA), genel tripeptidaz (PepT) ve ayrıca peptit ve aminoasit taşıma sistemlerine) sahiptirler. Bu proteolitik sistemler LAB'nin, az miktarda kısa zincirli peptit ve aminoasit içeren sütte yüksek sayılara (10^9 - 10^{10} kob/mL) ulaşmasını sağlamak için gereklidir (Sousa, Ardö ve McSweeney, 2001). Cheddar ve diğer birçok peynirin olgunlaşması sırasında, starter laktokok popülasyonunda azalma meydana gelmekte ve starter olmayan laktik asit bakterileri baskın bakteri popülasyonu haline gelmektedir. Peptidolitik starter olmayan LAB, peynir üretiminde aroma profilini yönetmek ve aroma oluşumunu hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır (Sousa, Ardö ve McSweeney, 2001).

Birçok peynir çeşidi karakteristik değişiklikler üretmek (yüzey olgunlaşması, CO₂, propiyonik asit ya da asetat üretimi vb.) için ikincil mikroflora içerir. İkincil mikroorganizmalar bakteri (*Agrococcus*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Brachybacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Propionibacterium*, *Staphylococcus* ve *Micrococcus* spp.), maya (*Kluyveromyces marxianus* ve *Debaryomyces hansenii*) ve küfleri (*Geotrichum candidum*, *P. camemberti* ve *P. roqueforti*) kapsamaktadır (Fox ve ark., 2017).

2.4.3.1. Aminoasit katabolizması

Peynir, şarap, sucuk gibi fermente gıdalarda aminoasitlerin metabolize edilmesi aroma oluşumunda önemli bir yer tutmaktadır (Ardö, 2006). Aminoasitler peynir aromasına doğrudan tatlı (Gly, Ser, Thr, Ala, Pro), ekşi (His, Glu, Asp) veya bitter (Arg, Met, Val, Leu, Phe, Tyr, Ile, Trp) tat vererek katkı sağlamaktadırlar (McSweeney, 2017). Olgunlaşma ile yarı sert peynirlerde aminoasit bileşimi değişmektedir. Örneğin olgunlaşma süresince *Lactobacillus helveticus* eklenen peynirlerde lösin ve fenilalanin aminoasitleri diğer aminoasitlere nispeten azalma göstermektedir. Bu durum peynir proteinlerinin bazı kısımlarının daha kolay hidrolize olması ya da mikroorganizmaların basit metabolik aktiviteleri için farklı aminoasitlere ihtiyaç duymasından kaynaklanmaktadır (Ardö, 2006).

Aminoasit katabolizması transaminaz ve eliminasyon reaksiyonları olmak üzere iki ana aşamada gerçekleşmektedir (McSweeney, 2017). Transaminaz reaksiyonları, aminotransferaz ile aminoasitlerden amino grubunun uzaklaştırılmasını kapsamaktadır. Amino gruplarının uzaklaştırılması ile her aminoasitten spesifik bir α -ketoasit üretilmektedir. Dallı zincirli aminositlerden üretilen α -ketoasitlerin peynirimsi bir tada sahip olduğu bilinmektedir (Ardö, 2006). Eliminasyon reaksiyonları α -ketoasitler aldehit, alkol ve karboksilik asitlere metabolize edilmektedir (Ardö, 2006; McSweeney, 2017). Eliminasyon reaksiyonları ile başlatılan reaksiyonlar, özellikle metiyoninin yan zincirinden uçucu kükürtlü bileşiklerin üretiminde önemlidir (McSweeney, 2017).

2.5. Peynirde Probiyotik İlavesinin Biyokimyasal ve Duyusal Özelliklerine Etkisi

Üretim ve/veya depolama boyunca probiyotikler kültür ve kültürlerin metabolik aktivitesine bağlı olarak glikoliz, lipoliz ve proteoliz yolu ile peynirin tadını, aromasını, tekstürünü ve duysal özelliklerini etkilemektedirler (Moghari ve ark., 2015; Rolim ve ark., 2020). Probiyotiklerin peynirin duysal özelliklerine olan etkisini Moghari ve ark. (2015) depolama süresi boyunca üretilen aroma bileşikleri ile pozitif yönde ilişkilendirmişlerdir. Probiyotik peynir üretiminde, probiyotik kültürün konsantrasyonu peynirin duysal özelliklerini etkilemektedir. Örneğin, Gomes ve ark. (2011) yapmış oldukları bir çalışmada Minas peynirine iki farklı konsantrasyonda (%0.8 ve % 0.4 (a/h)) *L. acidophilus* inoküle etmişlerdir. Tüketiciler %0.4 (a/h) oranında inoküle edilen probiyotik peyniri tat ve tekstür bakımından kabul ederken, % 0.8 (a/h) oranında inoküle edilen probiyotik peyniri reddetmişlerdir (Gomes ve ark., 2011). Böylelikle, yeni bir probiyotik gıda geliştirilirken probiyotiklerin gıdanın duysal özelliklerine olan etkisine dikkat edilmelidir; çünkü gıdanın duysal özellikleri ürünün tüketiciler tarafından kabul edilebilirliğini doğrudan etkilemektedir (Rolim ve ark., 2020).

2.5.1. Glikoliz

Probiyotikler gıda matriksindeki laktoz konsantrasyonunu glikoliz ile değiştirerek kültüre bağlı olarak laktik, asetik ve propiyonik asitler gibi farklı organik asitler üretebilmektedirler (Rolim ve ark., 2020). Albenzio ve ark., (2010) koyun peynirinde 7. gün sonunda kalıntı laktoz kullanımına bağlı olarak laktik asit üretiminin *Lactobacillus*

acidophilus La-5 içeren peynirde kontrol peynirine oranla daha fazla olduğunu gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada, 30 günlük olgunlaşma süresi sonunda *Bifidobacterium* içeren peynirdeki laktik asit konsantrasyonu azalırken eş zamanlı olarak asetik asit konsantrasyonu artış göstermiştir. Bu durum laktik asidin asetik aside oksidasyonu ya da *Bifidobacterium*'un metabolizması sonucu asetik asit üretmesi ile ilişkilendirilmiştir (Albenzio ve ark., 2010). *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* içeren probiyotik Minas peynirlerinde asetik asit üretimi gözlenmiştir. Peynirlerde üretilen asetik asit üretimi kültür konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak artış göstermiştir (Gomes ve ark., 2011).

Belirgin asidik tat ve kırılğan doku, tüketiciler tarafından probiyotik Kalari peynirinin kabulünün azalmasına yol açan temel özellikler olarak kabul edilmiştir. Probiyotik peynirlerde glikoliz yolu ile oluşan asitler farklı aromalar ile peynirin duysal özelliklerine katkı sağlamaktadır. Asetik asit keskin sirke tadından sorumlu iken birçok fermente gıda ürünü için ana aroma kaynağı olan laktik asit ferahlatan ekşi tattan sorumludur. Probiyotik bakterilerin peynirin duysal özelliklerine olan etkisi göz önüne alındığında, duysal testler yeni probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde önemini korumaktadır (Rolim ve ark., 2020).

2.5.2. Lipoliz

Genelde lipaz olarak adlandırılan bakteriyel lipolitik esterazlar peynirdeki başlıca lipolitik ajanlardan biridir. Probiyotik kültürler uzun, orta ve kısa zincirli yağ asitleri üretebilirler. Örneğin, koyun peynirinde orta ve uzun zincirli yağ asitleri varlığı *Lactobacillus acidophilus* La-5, kısa zincirli yağ asitleri varlığı *Bifidobacterium lactis* BB-12, *Bifidobacterium longum* (BB-46) probiyotik suşlarının varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Rolim ve ark., 2020). *L. casei* 01 suşu içeren Minas peynirinde yüksek sayıda orta ve uzun zincirli serbest yağ asitleri oluşmuştur. Serbest yağ asitleri peynirlerin önemli aroma bileşenlerindedir ve probiyotik aracılı esterazlar peynirdeki aroma gelişimine katkıda bulunabilmektedir (Rolim ve ark., 2020). Rodrigues ve ark., (2012) *Lacticaseibacillus casei*-01 ve *Bifidobacterium lactis* B94 probiyotik suşlarının peynirin serbest yağ asidi profili üzerindeki etkisini araştırmışlardır. *Lacticaseibacillus casei* 01 probiyotik suşu inoküle edilen simbiyotik peynirlerde kısa zincirli serbest yağ asitlerinde

(C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0} ve C_{10:0}) önemli ölçüde artış olmuştur. *Bifidobacterium lactis* B94 probiyotik suşu inoküle edilen simbiyotik peynirlerde doymamış serbest yağ asitlerinde (CLA, ALA ve GLA) probiyotik *Lactocaseibacillus casei* 01 suşuna oranla daha belirgin artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Rodrigues ve ark., 2012).

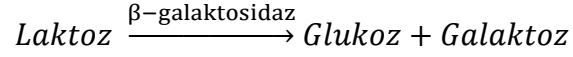
2.5.3. Proteoliz

Peynirlere probiyotik ilavesi toplam serbest aminoasit içeriğini arttırmaktadır ve düşük pH, daha fazla proteoliz ve organik asit üretimine neden olmaktadır (Gomes ve ark., 2011). Albenzio ve ark., (2010) *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Bifidobacterium lactis* BB-12, *Bifidobacterium longum* BB-46 probiyotik kültürlerinin koyun peynirinde olgunlaşma boyunca peynirin biyokimyasal karakteristiklerine olan etkisini incelemişlerdir. Bu probiyotik bakterilerin proteolitik aktivitesine bağlı olarak peynirde serbest aminoasit miktarında artış olmuştur. Asp, Glu, Ala, Tyr ve Phe aminoasitleri probiyotik peynirlerde önemli ölçüde daha fazladır. *Bifidobacterium* içeren probiyotik peynirlerde Leu, Gly, ve Asn aminoasitleri en yüksek seviyede bulunmaktadır (Albenzio ve ark., 2010).

2.6. β -galaktosidaz enzimi

β -galaktosidaz (laktaz), oligosakkaritler ve polisakkaritlerdeki β -glikozik bağlarının hidrolizini katalizleyen bir enzimdir (Lu ve ark., 2020). Laktaz (β -D-galaktosidaz; β -D-galaktozid galaktohidrolaz, E.C.3.2.1.23) doğada yaygın olarak bulunmaktadır ve bitkiler (badem, şeftali, kayısı, elma), hayvan organları, bakteriler ve mantarlar gibi farklı kaynaklardan izole edilebilmektedir. İlk olarak 1950'de süt ürünlerinde uygulanması önerilmiştir (Harju, Kallioinen ve Tossavainen, 2012).

Günümüzde β -galaktosidaz, gıda endüstrisinde kullanılan önemli enzimlerden birisidir (Harju, Kallioinen ve Tossavainen, 2012). Laktoz, β -galaktosidaz enzimi varlığında glukoz ve galaktoza hidrolize olmaktadır. Bu özellik, birçok gıda endüstrisinde laktozu parçalamak, süt ve süt ürünlerinin sindirilebilirliğini, tatlılığını, çözünürlüğünü ve lezzetini iyileştirmek için kullanılmıştır (Lu ve ark., 2020).



Dünya popülasyonlarının çoğu çocukluktan sonra ince bağırsakta β -galaktosidaz aktivitelerinin bir kısmını kaybeder (Harju, Kallioinen ve Tossavainen, 2012). Süt ürünlerinde laktozun azaltılması, dünya nüfusunun yarısından fazlasında yaygın olan laktoz intoleransı semptomlarının hafifletilmesine yardımcı olmaktadır (Lu ve ark., 2020). Laktoz intoleransından muztarip insanların ihtiyaçlarını karşılamak için son yıllarda laktozsuz taze süt ürünleri üretmeye yönelik yeni teknolojiler geliştirilmiştir (Harju, Kallioinen ve Tossavainen, 2012).

Düşük laktozlu gıdalara olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışmada kapsamında; laktoz intoleransı bireyler için düşük laktozlu probiyotik UF beyaz peynir üretilmesi ve bu peynirlerin raf ömrü boyunca mikrobiyolojik, fiziksel, biyokimyasal ve duyuşsal özelliklerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

Peynir üretimi Bahçivan Gıda San. ve Tic. A.Ş.'de yapılmıştır ve peynir üretimi için gerekli hammaddeler ve ekipmanlar aynı şekilde Bahçivan Gıda San. Ve Tic. A.Ş.'den temin edilmiştir. Düşük laktozlu probiyotik UF beyaz peynir üretimi esnasında laktoz hidrolizi β -galaktosidaz enzimi (Ha-Lactase 5200 IMCU 5200, Chr. Hansen) ile gerçekleştirilmiş ve üretimde kullanılan starter kültürü (*Lactococcus lactis*, Sacco MWO 032) ek kültür olarak 3 farklı probiyotik kültürden biri ilave edilmiştir. Çalışmada probiyotik kültür olarak *Lactobacillus acidophilus* LA-5® (Chr. Hansen), *Bifidobacterium bifidum* BB-12® (Chr. Hansen) ve *Lacticaseibacillus casei* 431® (Chr. Hansen) kullanılmıştır. Bu çalışmada starter ve probiyotik ek kültürler UF retentant da 10^7 cfu/g olacak miktarda inoküle edilmiştir.

Aşağıda düşük laktozlu UF peynir üretim aşaması özetlenmiştir.

- Çiğ sütün kalite kontrolü
- Ön işlemler (klarifikasyon, standardizasyon, vb.)
- Sütün pastörizasyonu (72-74 °C, 15 s)
- Ultrafiltrasyon işlemi (50-55 °C , 30-32 retentant briks)
- Homojenizasyon (100 bar 50-55 °C)
- Pastörizasyon (80-82 °C, 20-30 s)
- β -galaktosidaz enzimi ilavesi (%0.15)
- İnokülasyon sıcaklığına soğutma (30-33 °C)
- Starter kültür ve probiyotik kültür ilavesi
- Pıhtılaştırıcı enzim (Marzyme 55, Danisco, 800 IMCU) ilavesi (20 dk'da pıhtılaştırma işlemi gerçekleştirecek miktarda)
- Peynir kalıbına doldurma
- İnkübasyon tüneline pıhtılaşma (20 dk, 30-35 °C)
- %2 tuz ilavesi
- Hermetik paketlenme
- İnkübasyon (31-32 °C, 12-18 saat, son pH 4.7-4.8 olana kadar)
- Depolama (6-8 °C)

Çizelge 3.1’de çalışmada kullanılan peynir örnekleri ve kodları verilmiştir. Çalışmada laktozlu ve düşük laktozlu olmak üzere iki tane kontrol örneği kullanılmıştır. Kontrol örneklerine probiyotik kültür ilavesi olmamıştır. Laktozlu UF peynire üretim aşamasında β -galaktosidaz enzimi ilave edilmemiştir. Peynir üretimleri 2 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Çizelge 3.2’de üretimde kullanılan retantantın kimyasal analiz sonuçları verilmiştir (Bahçivan firmasında Foss cihazı ile yapılmış ölçüm sonuçları).

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan düşük laktozlu probiyotik peynir örnekleri ve kodları

Peynir örneği:	Örnek Kodu
UF peynir	K1
Düşük laktozlu UF peynir	K2
Düşük laktozlu probiyotik UF peynir (<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-5)	LA
Düşük laktozlu probiyotik UF peynir (<i>Lacticaseibacillus s casei</i> 431)	LC
Düşük laktozlu probiyotik UF peynir (<i>Bifidobacterium bifidum</i> BB-12)	BB

Çizelge 3.2 Üretimde kullanılan UF retantant kimyasal analiz değerleri

Bileşim	Miktar
Kuru madde	%32.2
Yağ	%14.2
Protein	%11.5
Laktoz	%5.4
Yağsız kuru madde	%17.9
pH	6.60

3.2 Metot

3.2.1. Mikrobiyolojik analizler

Olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde her bir peynir örneği için rastgele örnekleme yapılmış ve ilgili analizlerde kullanılmıştır. Analiz için aseptik koşullarda steril stomacher poşetlerine 10 g peynir örneği alınmıştır ve üzerlerine 90 mL steril trisodyum sitrat solüsyonu (2 g/100 mL) ilave edilmiştir. Stomacherda (Stomacher 400, Seward Laboratory, London, UK) 1-2 dakika homojenizasyon işlemi uygulanmıştır. Elde edilen homojenizatın steril tuz çözeltisi (%0.85, a/h) kullanılarak uygun dilüsyonları hazırlanmıştır (Bulat, 2017).

3.2.1.1. Laktokok sayımı

Starter laktokok sayımı için M17 agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. İnokülasyon dökme plak yöntemi ile gerçekleştirilmiş ve inokülasyon yapılan besiyerleri 30 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir (Bulat, 2017; Bulat ve Topcu, 2019). İnkübasyon sonunda 30 ile 300 arasında koloni içeren kültürlerin sayımı gerçekleştirilmiş ve peynirlerin içerdiği canlı starter laktokok sayısı kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.2. Laktobasil sayımı

Laktobasil sayımı için Rogosa agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. İnokülasyon çift katlı dökme plak yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. İnokülasyonu takiben besiyerleri 37°C'de 60 saat anerobik ortamda inkübe edilmiştir (Bulat, 2017; Bulat ve Topcu, 2021). İnkübasyon sonunda 30 ile 300 arasında koloni içeren kültürlerin sayımı gerçekleştirilmiş ve peynirlerin içerdiği canlı laktobasil sayısı kob/g olarak verilmiştir.

3.2.1.3. Bifidobakterilerin sayımı

Bifidobakterilerin sayımı için MRS agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. İnokülasyon çift katlı dökme plak yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bifidobakterilerin MRS agarda canlılıklarını koruyabilmeleri amacıyla MRS agar besiyerinde bazı modifikasyonlar yapılmıştır. MRS besiyerine %0.05 cys-HCl ilave edilmiştir. İnokülasyonu takiben

besiyerleri 37°C' de 60 saat inkübe edilmiştir (Vinderola ve Reinheimer, 1999; Castele ve ark., 2006; Karimi, Mortazavian ve Amiri-Rigi, 2012). İnkübasyon sonunda 30 ile 300 arasında koloni içeren kültürlerin sayımı gerçekleştirilmiş ve peynirlerin içerdiği canlı *Bifidobacterium* sayısı kob/g olarak verilmiştir.

3.2.2. Verim

Peynir numuneleri için verim hesaplamaları aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır

$$\text{Verim (\%)} = \frac{m(\text{peynir})}{m(\text{retentant}) + m(\text{starter miks}) + m(\text{tuz})} \times 100$$

m(peynir) = Peynir kütlesi, g; m(peynir)= Kullanılan dolum retentant kütlesi, g

m(starter miks)= retentanta eklenen starter miks miktarı, g; (tuz)= eklenen tuz miktarı, g;

3.2.3. Fizikokimyasal ve kimyasal analizler

3.2.3.1. Kuru madde analizleri

7, 30, 60, 90. günde, her bir peynir örneği için örnekleme yapılmış olup 2 tekrarlı olacak şekilde analiz yapılmıştır. Kuru madde, yaklaşık 5 saat boyunca 103°C'de fırın kurutma yöntemiyle belirlenmiştir (IDF, 1982).

3.2.3.2. pH

Ölçümler için kombine cam elektrotlu bir dijital pH metre (Radiometer Analytical, Fransa) kullanılmıştır. Elektrot doğrudan tamamen ezilmiş ve homojen hale gelen peynir kütlesine daldırılmıştır ve sabit bir değere ulaşıldıktan sonra pH değeri okunmuştur.

3.2.3.3. Yağ analizi

Yağ analizi sonuçları, Gerber yöntemi ile Van Gulik bütirometresi kullanılarak belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999).

3.2.3.4. Tuz

Peynir örneklerinin tuz miktarı 0.1 N AgNO₃ potansiyometrik titrasyon ile belirlenmiştir (Fox, 1963).

3.2.3.5. Protein analizleri

IDF metoduna göre Kjeldahl yöntemi ile toplam azotlu maddeler tayini yapılmıştır. Elde edilen % toplam azotlu madde değeri 6.38 faktörü ile çarpılarak % protein değeri hesaplanmıştır (IDF, 1993).

3.2.4. Proteolizin değerlendirilmesi

3.2.4.1. pH 4.4'te çözümlü ve çözümlenmeyen fraksiyon ekstraksiyonu

Kuchroo ve Fox, (1982)'a göre bazı modifikasyonlar yapılarak pH 4.4'te çözümlü ve pH 4.4'te çözümlenmeyen fraksiyon ekstraksiyonu yapılmıştır. Ezilerek homojen hale gelen peynir örneğinden 7 g alınmıştır ve üzerine 35 mL oda sıcaklığında deiyonize su ilave edilmiştir. Bu karışıma 1 dakika süre ile 10000 rpm'de homojenizasyon (Heidolph Silent Crusher M, Germany) işlemi uygulanmıştır. Homojenizatların pH'sı 4.4'e 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak getirilmiştir. Daha sonra homojenizatlara 40 °C'de 1 saat inkübasyon işlemi uygulanmıştır. Ardından 5000 g'de 4-6 °C'de 30 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Yağ fazı uzaklaştırıldıktan sonra Whatman No:113 filtre kağıdı ile filtrasyon yapılmıştır.

pH 4.4'te çözümlü fraksiyon;

- pH 4.4'te suda çözümlü azot tayini (SÇA)
- %12'lik TCA'da çözümlü azot tayini (%12 TCA'da ÇA),
- Toplam serbest aminoasit tayini
- RP-HPLC ile peptit profili analizi için ayrılmıştır.

Analiz anına kadar peynir örnekleri -20 °C’de depolanmıştır. pH 4.4’te çözünmeyen fraksiyon ise liyofilize edilerek üre-poliakrilamid jel elektroforezi (üre-PAGE) hazırlanmıştır (Bulat ve Topcu, 2019)

3.2.4.2. pH 4.4’te suda çözünür azot tayini (SÇA)

Kjeldahl yöntemi ile pH 4.4’te suda çözünür fraksiyonunun azotlu madde tayini Ardö ve Polychroniadou (1999)’a göre yapılmıştır. Suda çözünür fraksiyonunun çözünür azotlu (pH 4.4’te ÇA bazında) maddeler bazında olgunlaşma indeksi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Bulat ve Topcu, 2019).

$$\text{Olgunlaşma indeksi (pH 4.4'te ÇA bazında)} = \frac{\text{pH 4.4'te ÇA}}{\text{Toplam Azot}} \times 100$$

3.2.4.3. %12’lik TCA’da çözünür azot tayini

pH 4.4’te çözünür fraksiyon ile %24’lük TCA (trikloroasetik asit (Merck)) çözeltisi 1:1 oranında karıştırılmış ve 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra 25 °C’de 10000 g’de 5 dakika santrifüj edilmiş ve Whatman No: 1 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen süpernatanta Kjeldahl yöntemi ile azotlu madde tayini yapılmıştır (Ardö ve Polychroniadou, 1999). %12’lik çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Bulat ve Topcu, 2019).

$$\text{Olgunlaşma indeksi (%12 TCA'da ÇA bazında)} = \frac{\%12 \text{ TCA'da ÇA}}{\text{Toplam Azot}} \times 100$$

3.2.4.4. Toplam serbest aminoasit tayini

Peynir örneklerinde toplam serbest aminoasit miktarını belirlemek için trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) yöntemi Ardö ve Polychroniadou, (1999)’a göre kullanılmıştır. Ölçümler Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spektrofotometre (Shanghai, China) ile gerçekleştirilmiştir. Kalibrasyon eğrisini oluşturmak için 0.05-0.50 mM aralığında lösin (Leu) kullanılmıştır. Sonuçlar mg Leu/g peynir olarak ifade edilmiştir.

3.2.4.5. RP-HPLC ile peptit profilinin belirlenmesi

pH 4.4'te suda çözünür fraksiyon % 0.2 TFA içeren deiyonize su ile 1:1 oranında karıştırılmıştır. Ardından, 20000 g'de, 25 °C'de 15 dakika süreyle santrifüjlenmiştir. Süpernatant 0.45 µm filtreden süzülerek HPLC vialine aktarılmış ve analize alınmıştır. Bu analiz için ThermoFinnigan SpectraSystem HPLC sistemi (ThermoFinnigan Inc., CA, USA) kullanılmıştır. Çizelge 3.3'te kullanılan sistemin özellikleri verilmiştir.

Çizelge 3.3. RP-HPLC analizi için kullanılan sistemin özellikleri

Sampler:	AS3000 model oto örnekleyici (otosampler) (örnek enjeksiyon miktarı 100 µL, kolon sıcaklığı 30°C)
Degazer:	SCM 1000
Pompa:	P4000 gradient pompa
Dedektör:	UV6000LP DAD

Kromatografik ayırım, Phenomenex jupiter C18 (250x4.6 mm, 5µm, 300 Å) (Phenomenex, Torrance, CA, USA) RP-HPLC kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A olarak, % 0.1 TFA içeren deiyonize su ve mobil faz B olarak, % 0.1 TFA içeren far UV grade asetronitril (Merck) kullanılmıştır. Ölçümler 214 ve 280 nm'de yapılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde ChromQuest 5.0 yazılımı kullanılmıştır. Elüsyon gradient olarak gerçekleştirilmiştir (Bulat ve Topcu, 2019).

3.2.4.6. Üre-poliakrilamid jel elektroforezi (Üre-PAGE)

Olgunlaşma sürecinde starter kültür ve farklı probiyotik ek kültür uygulaması sonucu peynirlerde oluşan proteoliz düzeylerinin elektroforetik olarak saptanmasında Andrews (1983), Shalabi ve Fox, (1987) ve Bulat ve Topcu, (2019) tarafından geliştirilen elektroforez yöntemi kullanılmıştır.

Liyofilizasyon işlemi ile kurutulmuş pH 4.4'te çözünmeyen fraksiyon örneklerinden 10 mg alınarak 1 mL örnek hazırlama tamponunda çözündürülmüştür. Analizde, standart olarak sodyum kazeinat kullanılmıştır. Hazırlanan bu numunelerden jellere 8 µL örnek

yüklenmiştir. Çalışmalarda Protean II XI dikey jel ünitesi kullanılmıştır (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK).

Örnekler jellere yüklenmeden önce 280 V'da 40 dakika ön yürütme yapılmıştır. Örnekler jelle yüklendikten sonra, 300 V sabit voltaj ile yürütme yapılmıştır. Yürütme tamamlandıktan sonra, jeller tespit çözeltisinde 60 dakika bekletilmiştir. Ardından, jeller Blakesley, (1977) tarafından geliştirilen yöntemle boyanmıştır.

3.2.5. Serbest Yağ Asidi Ekstraksiyonu ve Analizi

Peynir örneklerinde bulunan serbest yağ asitlerinin analizi bazı modifikasyonlarla De Jong ve Badings (1990) ve Bulat ve Topcu, (2020)'ya göre yapılmıştır. Peynir örneklerinden ekstrakte edilen serbest yağ asitleri ThermoScientific TRACE GC ULTRA model GC sistemi (USA) ile analiz edilmiştir. GC sistemi, model AI 3000 bir otosampler ve alev iyonlaşma dedektöründen (FID) oluşmakta ve ChromQuest 5.0 yazılımı ile kontrol edilmektedir. Analiz koşulları Çizelge 3.4'de verilmiştir. Sonuçlar mg serbest yağ asidi/kg peynir olarak verilmiştir.

Çizelge 3.4. Yağ asidi analizleri için kullanılan GC koşulları

Kolon tipi	FFAP kolon (30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm)
Akış hızı	2 mL/dak
Taşıyıcı faz	Helyum
Enjeksiyon sıcaklığı	250°C
Split oranı	20:1
Dedektör	FID, 260°C
Ayırım sıcaklığı	Kolon sıcaklığı 90 °C'den başlatılmış ve bu sıcaklıkta 1 dak beklendikten sonra 240 °C'ye çıkarılmıştır (7°C/dak) ve bu sıcaklıkta 15 dak sabit tutulmuştur.

3.2.6. Organik asit ve şeker analizi

3 g peynir örneği 30 mL 0.013 N sülfürik asit ile homojenize edilmiştir. Elde edilen çözelti daha sonra 4-6 °C'de 15000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Yağ tabakası uzaklaştırılarak süpernatant Whatman No 1 filtre kağıdı ile süzülmüştür. 20 µL örnek SpectraSystem HPLC'ye (Thermo-Finnigan Inc., CA) enjekte edilmiştir. Kromatogramlar, ChromQuest 5.0 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sitrik, pirüvik, laktik, formik ve asetik asit ölçümleri 210 nm, orotik, ürik asit ve asetoin ölçümleri 280 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Analizler izokratik olarak gerçekleştirilmiştir (Bulat ve Topcu, 2020). Ayırımında, birlikte çıkan organik asit piklerinin hesaplanması Zeppa, Conterno ve Gerbi, (2001)'ye uygun olarak yapılmıştır.

Standart olarak kullanılan sitrik asit, laktik asit, pirüvik asit, formik asit, ürik asit, orotik asit, asetik asit, asetoin, laktoz, galaktoz ve glukoz Sigma, Fluka ve Merck firmalarından tedarik edilmiştir. Organik asit ve şeker analizleri için kullanılan HPLC sisteminin özellikleri ve koşulları Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Organik asit ve şeker analizleri için kullanılan HPLC sisteminin özellikleri ve koşulları

Kolon tipi:	Rezex ROA H ⁺ kolon (300X7.8 mm. ID)
Kolon sıcaklığı:	65 °C
Mobil faz:	0.013 N H ₂ SO ₄
Akış hızı:	0.50 mL/dakika
Dedektör:	Photo-diode Array (PDA) 210 nm ve 280 nm, (organik asit analizi için)
Dedektör	Refractive index (RI), (şeker analizi için):

3.2.7. Uçucu Bileşiklerin Analizi

Peynir örneklerinin uçucu bileşiklerini ekstrakt etmek için SPME (Solid Phase Microextraction) yöntemi kullanılmıştır. Bu amaçla, 20 ml'lik viallere 3'er g peynir örneği alınmıştır ve iç standart ilave edilmiştir (2-metil-3-heptanon, 20 ppm 80 µL ve 2-metil pentanoik asit 200 ppm 80 µL). SPME fiber olarak DVB / CAR / PDMS (50/30 µm, 1 cm StableFlex fiber, divinilbenzen / Karboksen / polidimetilsiloksan, Supelco,

Bellefonte, PA, ABD) kullanılmıştır. Bu analiz için Thermo Scientific ISQ-QD GC-MS sistemi (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılmıştır. Fiber, 45°C’de 30 dk. dengeye getirilmiş vial içinde 30 dakika tepe boşluğunda tutulmuş (45°C’de) ve uçucu maddelerin adsorplanması sağlanmıştır (Bulat ve Topcu, 2020). Tanımlama için WILEY, NIST kütüphaneleri ve dış standart kullanılmıştır. Sonuçlar uçucu bileşik pik alanı/internal standart pik alanı olarak verilmiştir. GC-MS sistem özellikleri ve uçucu bileşenlerin saptanması için koşullar Çizelge 3.6.’de verilmiştir.

Çizelge 3.6. Uçucu bileşiklerin analizleri için kullanılan GC-MS koşulları (Bulat ve Topcu, 2020).

Desorpsiyon	SPME fiber 260°C’de 5 dk
Dedektör	ISQ-QD MS
Enjektör	Splitless mode
Kolon	TR-WaxMS kolon (60 m uzunluk x 0,25 mm iç çap x 0,25 µm film kalınlığı, Thermo Fisher Scientific, Bellefonte PA, USA)
Kütle aralığı	25-350 m/z (kütle/yük)
Taşıyıcı gaz	Helyum, 1 mL/dk akış hızında
Sıcaklık programı	40 °C’de 10 dakika beklemeden sonra, 5 °C/dk hızla artarak 250 °C’ye çıkmıştır. Bu sıcaklıkta 10 dk. bekletilmiştir.

3.2.8. Tekstürel Analizler

Peynir örnekleri 25 mm çap ve 20 mm yüksekliğe sahip silindir halinde kesilerek, oda sıcaklığında Enstrümental tekstür profil analizi (TPA), TA Plus Texture Analyzer (Ametek Lloyd Ins. Ltd., UK) aleti kullanılarak analiz edilmiştir. Olgunlaşma süresince peynirin sertlik özellikleri incelenmiştir. Aletin 10 mm çapındaki silindir probunun hızı 0.5 mm/s’ye ve sıkıştırma oranı % 33 olarak belirlenmiştir (Topcu ve Saldamli, 2006; Bulat, 2017). Tekstür analizinde iki ardışık sıkıştırma işlemi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen grafikten, peynir kitlesine ait tekstür analiz parametresi sertlik olarak belirlenmiştir ve Hardness (Sertlik), örneğe birinci sıkıştırmada uygulanan maksimum kuvvet (N) olarak açıklanmıştır (Tunick, 2000).

3.2.9. Duyusal Analiz

UF beyaz peynirlerin duyusal değerlendirilmesi 5 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Peynirler, görünüş, yapı, koku, tat, toplam kabul edilebilirlik ve acılık derecesi açısından EK 1’de verilen duyusal değerlendirme puanları ile değerlendirilmiştir. Hedonik test tekniği toplam kabul edilebilirlik düzeyleri için uygulanmıştır. Peynirlerin acılık düzeyleri 4 puan üzerinden değerlendirilmiştir ve 0 puan acılaşmanın olmadığını ifade etmekte iken 4 puan acılaşmanın maksimum olduğunu ifade etmek için kullanılmıştır.

3.2.10. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde SPSS 16.programı kullanılmıştır. Çalışmada yapılan analizler 2 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. ANOVA, varyanslar arasındaki farklılığın önem kontrolü için kullanılmıştır. Sonuçlar, Duncan oklu karşılaştırma testleri kullanılarak $P < 0.05$ nemlilik düzeyinde değerlendirilmiştir.

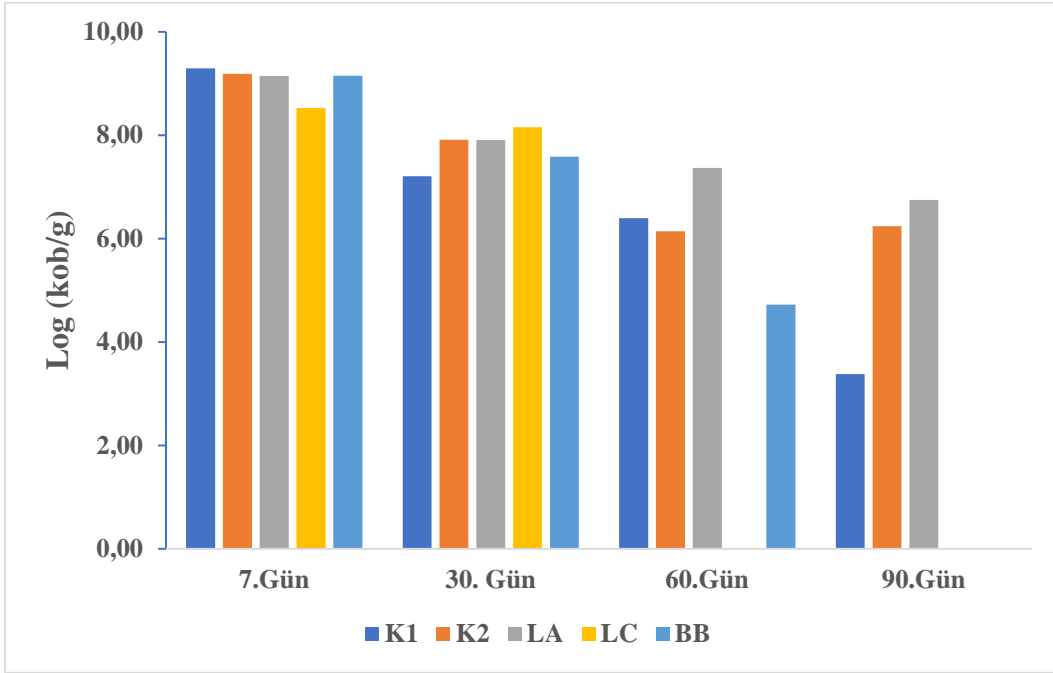
Uçucu bileşenlerin değerlendirilmesi Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) Solo 8.1 (Eigenvector Research, Inc.) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Preprocessing işleminde önce veriler uçucu bileşiğe ait pik alanının internal standardın pik alanına oranı şeklinde düzenlenmiştir. Verilere, mean center preprocessing uygulanmıştır.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde farklı probiyotik kültürler ile üretilen düşük laktozlu UF peynirin deney sonuçları verilmiş olup detaylı bir şekilde incelenmiştir.

4.1. Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Peynir örneklerinde 90 günlük olgunlaşma süresince, starter laktokok, *L. acidophilus*, *L. casei* ve *B. bifidum*'un canlılıklarındaki değişim incelenmiştir. Starter laktokoklar 7 gün olgunlaşma süresinde K1, K2, LA, LC ve BB peynirlerinde hızla üreyerek sırasıyla 1.99×10^9 , 1.55×10^9 , 1.40×10^9 , 3.41×10^8 ve 1.41×10^9 ulaşmıştır.



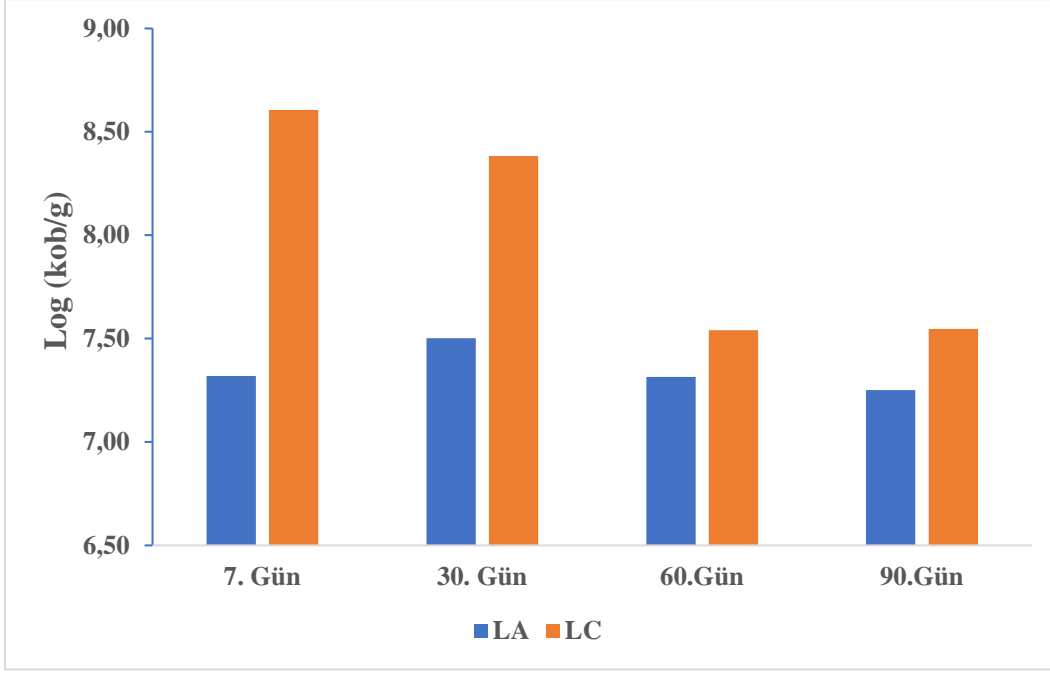
Şekil 4.1. Peynir örneklerindeki laktokok sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

Streptokoklar, laktokoklar ve diğer LAB 4.5-4.7 pH aralığında canlı kalabilmekte ve gelişebilmektedirler. pH değerinin düşmesi ile bakteri hücresi zarar görerek bakteri gelişimini sınırlandırmaktadır (Huntkins ve Nannen, 1993). Bulat ve Topcu, (2019); Eghbalian, (2017) ve Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, (2004) yapmış oldukları çalışmalarda starter laktik asit bakterilerin olgunlaşma süresince azaldığını

gözlemlemişlerdir. Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün (2004) bu sonucu peynir pH'sı ile ilişkilendirmişlerdir ve düşük peynir pH'sının, *Lactococcus*'un canlılığını negatif yönde etkilediğini belirtmişlerdir. Ong ve Shah, (2009) yapmış oldukları çalışmada laktokok mikroorganizma sayısının olgunlaşma süresince azalmasını düşük pH, fermente edilebilir karbonhidratın azalması ve yüksek tuz konsantrasyonunu ile ilişkilendirmiştir. Şekil 4.1'de peynir örneklerinde olgunlaşma süresince laktokokların log kob/g cinsinden canlı mikroorganizma sayısındaki değişimi verilmiştir. Olgunlaşma süresince laktokok canlı mikroorganizma sayısı azalmaktadır ve daha önceki yapılan çalışmalar bu sonucu desteklemektedir.

Daha önceki yapılan çalışmalarda kullanılan kontrol örneklerinde *Lactococcus*'un canlı mikroorganizma sayısının 90 günde 5-6 log kob/g olduğunu belirtilmiştir (Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, 2004; Eghbalian, 2017; Bulat ve Topcu, 2019). K1 peynirinde 90. günde canlı laktokok sayısı 3.38 log kob/g (2.45×10^3 kob/g)'dır. Bu sonuç daha önce yapılan çalışmalara göre farklılık göstermektedir. Tuz konsantrasyonu peynirde mikrobiyel gelişim, enzimatik aktivite ve proteolizi etkilemektedir (Ong ve Shah, 2009). K1 peynirinin kimyasal analiz sonuçları incelendiğinde 30. gün ve 90. günde kuru maddede % tuz miktarları diğer peynirlere oranla daha fazladır (Çizelge 4.1). 30. günden itibaren K1 peynirinde laktokokların azalması bu durum ile ilişkilendirilebilir. Ayrıca, K2 peynirinde β -galaktosidaz enzimi ile laktoz, glukoz ve galaktoza parçalanmıştır. Bu sebeple, K2 peynirinde glukoz ve galaktoz şekeri K1'e oranla daha fazladır (Çizelge 4.3). K2 peynirinde K1 peynirine oranla fermente edilebilir karbonhidratların daha fazla olması laktokokların daha uzun süre canlı kalmasını sağlayabileceği düşünülmektedir.

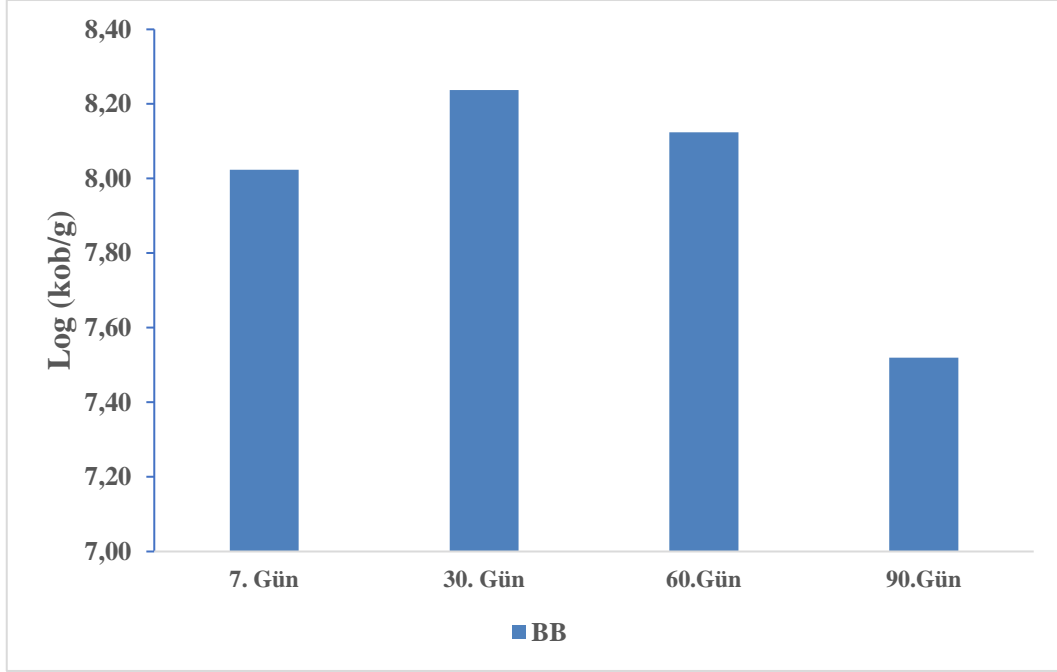
LC peynirinde 60. ve 90. günde ve BB peynirinde 90. günde laktokok saptanamamıştır. 60. günden itibaren düşük laktozlu UF peyniri ve kontrol örnekleri arasındaki farklılık önemli bir şekilde artmaktadır ($p < 0.05$). LC ve BB peynirinin pH değeri olgunlaşma süresince önemli düzeyde düşüş göstermektedir. Bu durum starter laktokokların canlılığını olumsuz yönde etkilemektedir.



Şekil 4.2. Peynir örneklerindeki laktobasil sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

Şekil 4.2 ve Şekil 4.3 incelendiğinde *L. casei*'nin düşük laktozlu peynir ortamına *L. acidophilus* ve *B. bifidum*'a oranla daha hızlı uyum sağlayarak 8.61 log kob/g'a ulaştığı görülmektedir. Kontrol örneklerinde olgunlaşma süresince laktobasil saptanmamıştır. Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, (2004) yapmış oldukları çalışmada *L. acidophilus* içeren probiyotik beyaz peynir üretmişlerdir. Olgunlaşma süresince probiyotik mikroorganizma sayısının azaldığını ve canlı *L. acidophilus* sayısının 90 günde 6-7 log kob/g olduğunu belirtmişlerdir. Bu çalışma kapsamında, olgunlaşma süresince LA peynirindeki canlı *L. acidophilus* sayısı 7.50 log kob/g ile 7.25 log kob/g arasında değişim göstermektedir ve canlı mikroorganizma sayısı olgunlaşma süresince önemli düzeyde değişmemektedir. Laktobasillerin en iyi asidik koşullarda gelişebildiği bilinmektedir (Kasımoğlu, Göncüoğlu ve Akgün, 2004). LC peynirlerinin pH değeri olgunlaşma süresince probiyotik kültürlerin ürettiği metabolitlere bağlı düşüş göstermektedir. Düşük pH peynir ortamında *L. casei* ve *L. acidophilus* 90 günlük olgunlaşma süresince 7 log kob/g üzerinde canlılıklarını sürdürmektedir. LA ve LC peynirlerinde 7. günden itibaren laktobasil canlı mikroorganizma sayıları arasında önemli düzeyde farklılık gözlenmektedir ($p < 0.05$). LC peynirinde probiyotik mikroorganizma sayısı LA peynirine oranla daha fazladır. Aynı zamanda, düşük laktozlu probiyotik peynirlerde *L. casei*

olgunlaşma süresince önemli düzeyde azalırken; *L. acidophilus* stabil kalmaktadır. Bu durum peynir pH'sı ve tuz konsantrasyonundan kaynaklı olabilir. LC peynirinde *L. casei*'nin gelişimine bağlı olarak pH değerinde önemli düzeyde düşüş göstermiştir.



Şekil 4.3. Peynir örneklerindeki *Bifidobacterium* sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

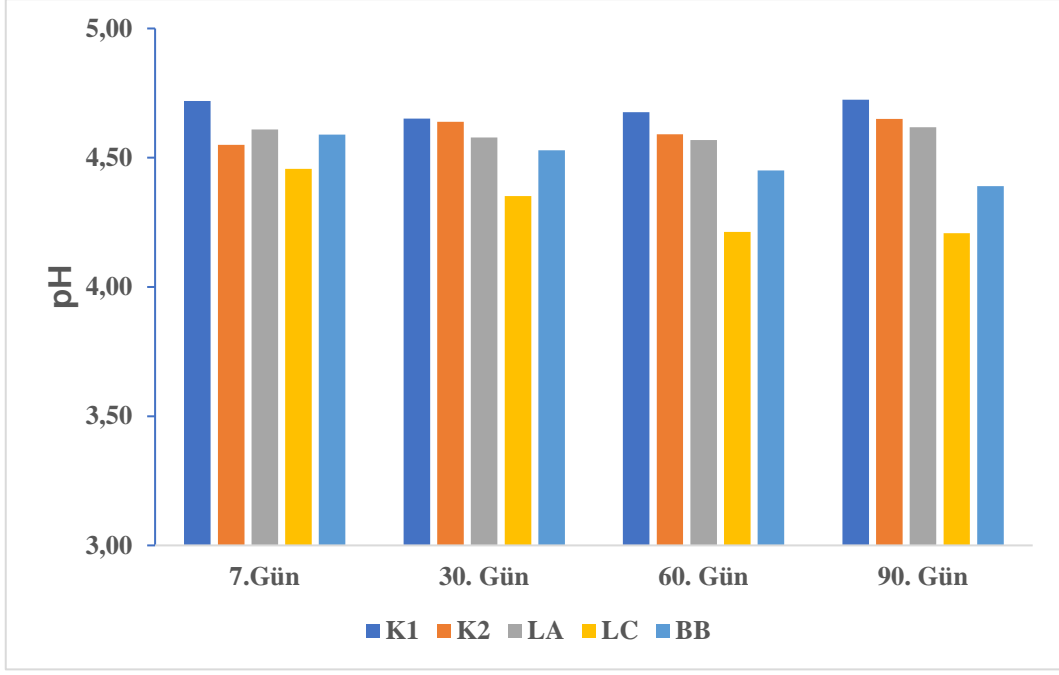
Düşük laktozlu UF probiyotik peynirinde *Bifidobacterium* sayımı için MRS-cys agar besiyeri kullanılmıştır. Kontrol örneğinde *Bifidobacterium* üremesi gözlenmemiştir. BB'de olgunlaşma periyodu sonunda probiyotik mikroorganizması sayısı 7.5 log kob/g üzerindedir. *B. bifidum* 90 günlük olgunlaşma süresince canlılığını korumaktadır.

Cheddar peynirinde, Phillips, Kailasapathy ve Tran (2006), 32 hafta olgunlaşma süresince *Bifidobacteria*'nın 7 log kob/g üzerinde canlılığını sürdürdüğünü ve Ong, Henriksson ve Shah, (2007b) ise 6 ay olgunlaşma süresince *B. longum* 1941 ve *B. lactis* LAFTI B94'ün 8 log kob/g olduğunu belirtmişlerdir. Moghari ve ark. (2015), UF Feta peynirinde *B. lactis* BB-12 ve *L. acidophilus* LA5'in 60. gün raf ömrü süresince probiyotik mikroorganizmaların canlılıklarının 8 log kob/g'dan, 6 log kob/g a düştüğünü göstermişlerdir. Bu çalışma kapsamında 90 gün raf ömrü süresince *Bifidobactreium* sayısı

8.02 log kob/g dan 7.52 log kob/g'a düşmüştür. Düşük laktozlu probiyotik peynirde Moghari ve ark., (2015)'nin yapmış olduğu çalışmaya göre probiyotik canlı mikroorganizma sayısının fazla olması fermente edilebilir şeker sayısının daha fazla olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Daha önceki yapılan çalışmalarda *Bifidobacterium*' un peynirde canlılığını sürdürebildiği gözükmektedir ve düşük laktozlu UF beyaz peynirinin *Bifidobacterium* için iyi bir taşıyıcı olduğu görülmektedir.

4.2. Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları

Peynir pH'sı jel sineresisini, peynir nem içeriğini, bakteri gelişimini, enzim aktivitesini ve peynirin tekstürünü etkilemektedir (Bulat ve Topcu, 2019). Peynir örneklerinin pH değeri 7. günde 4.72 ile 4.46 iken 90.günde 4.72 ile 4.21 arasındadır. LC peynirinin pH değeri 7. günden itibaren diğer peynirlere oranla daha düşüktür (4.46). LC ve BB peynirlerinde olgunlaşma ile peynir pH'sı kademeli olarak düşüş göstermektedir. *L. casei* ve *B. bifidum*'un 60. günde peynir pH'sı üzerindeki etkisi önemli düzeyde artmaktadır ($p<0.05$). Ong ve Shah (2009) Cheddar peynirinde olgunlaşma sıcaklığının probiyotik mikroorganizmalar üzerine olan etkisini incelediklerinde *L. casei* içeren peynir pH'sının diğer probiyotik kültür içeren peynir örneklerine göre daha düşük olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu çalışma kapsamında elde edilen veriler bu sonucu desteklemektedir. K2 peynirinin pH değeri K1 peynirine oranla daha düşüktür. LA peyniri ile kontrol peynirinin (K2) pH'sı arasında önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Genel olarak peynir örneklerinin pH değeri incelendiğinde düşük laktozlu peynir örneklerinin pH değerinin daha düşük olduğu görülmektedir (Şekil 4.4). Bu durumun K2 peynirinde β -galaktosidaz enzimi kullanımına bağlı olarak fermente edilebilir şeker miktarının K1 peynirine kıyasla daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Aynı zamanda fermente edilebilir şeker miktarının fazla olması laktokokların K2 peynirinde K1 peynirine kıyasla daha fazla gelişmesini sağlayarak peynir pH'sının düşmesine neden olmuştur



Şekil 4.4. Peynir pH'sının olgunlaşma süresince değişimi

Çizelge 4.1'de olgunlaşma süresince peynir örneklerinin kimyasal analiz sonuçları verilmiştir. Peynir örneklerinin % KM değerleri %33.77 ile %35.68 arasında değişmektedir. LC ve BB peynirinde olgunlaşma süresince kuru madde değerlerinde kademeli olarak artış gözlenmiştir. LC ve BB peynirinde pH ve kuru madde değerleri ters orantılı olarak değişim göstermektedir. Bulat ve Topcu, (2019) UF beyaz peynirinde yapmış olduğu çalışmada kuru madde ve pH değerlerinin ters orantılı olarak değişim göstermesini pH düşüşüne bağlı olarak sineresisin peynir kuru maddesini arttırdığı ile ilişkilendirmişlerdir. Yapılan çalışma bizim yapmış olduğumuz çalışma ile uyusmaktadır. Peynir örneklerinde % KM'de yağ miktarı %44.05 ile %52.87 arasında değişmektedir.

% KM'de tuz değeri %4.93 ile %6.21 arasında değişmektedir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliğine (2015/16) göre salamurada olgunlaştırılan peynirlerin % KM'de tuz oranı en fazla %7.5 olması gerekmektedir. Düşük laktozlu probiyotik UF peynirlerin % KM'de tuz oranları Türk Gıda Kodeksine göre uygundur. Tuz konsantrasyonu peynirde mikrobiyel gelişim, enzimatik aktivite ve proteolizi etkilemektedir (Ong ve Shah, 2009). 90. günde K1 peynirinin %KM'de tuz oranı diğer peynirlere oranla daha fazladır ($p < 0.05$). KM'de tuz miktarları genel olarak incelendiğinde düşük laktozlu peynirlerde

daha az olduğu gör÷lmektedir. %Tuz konsantrasyonları incelendiğinde peynir örnekleri arasında önemli bir farklılık gözlenmemektedir. %KM'de tuz oranı arasındaki farklılık peynir örneklerinin kuru maddelerindeki değişimden kaynaklanmaktadır.

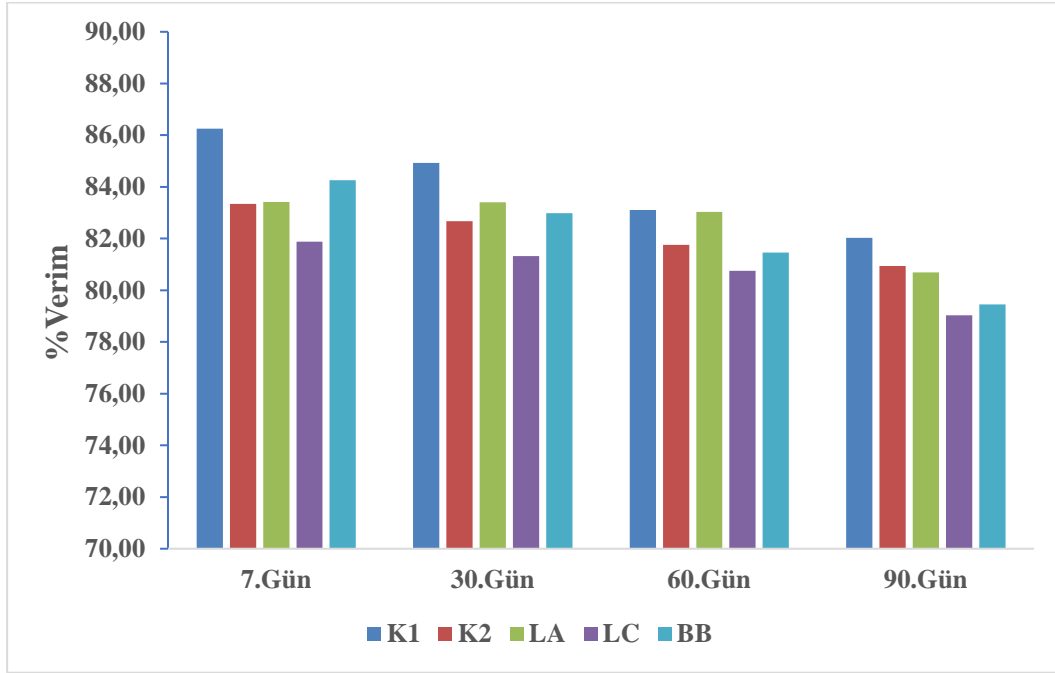
%KM'de protein değeri %30.90 ile 34.51 arasında değişmektedir. UF peynirinde probiyotik kültür kullanımının peynirin protein değeri üzerine önemli/belirgin bir etkisi gözlenmemiştir.

Çizelge 4.1. Olgunlaşma süresince peynirlerin ortalama bileşim özellikleri ve pH'ları

	Olgunlaşma Süresi (Gün)	K1	K2	LA	LC	BB
pH	7	4.72 ^d	4.55 ^{ab}	4.61 ^{bc}	4.46 ^a	4.59 ^b
	30	4.65 ^d	4.64 ^d	4.58 ^c	4.35 ^a	4.53 ^b
	60	4.68 ^d	4.59 ^c	4.57 ^c	4.21 ^a	4.45 ^b
	90	4.72 ^d	4.65 ^c	4.62 ^c	4.21 ^a	4.39 ^b
% KM	7	34.04 ^a	34.67 ^a	33.99 ^a	34.78 ^a	33.77 ^a
	30	34.82 ^b	34.22 ^a	34.90 ^b	35.02 ^b	34.23 ^a
	60	34.97 ^{ab}	34.72 ^{ab}	34.43 ^a	35.68 ^b	34.64 ^{ab}
	90	34.11 ^a	34.80 ^{ab}	35.14 ^{ab}	35.44 ^b	35.15 ^{ab}
% Yağı/KM	7	47.10	51.05	47.74	52.58	47.80
	30	46.08	46.95	45.70	48.39	49.75
	60	48.61	49.17	52.87	50.12	51.28
	90	45.15	49.46	44.05	47.02	47.16
% Tuz/KM	7	5.36	5.48	5.48	5.34	5.35
	30	6.21 ^b	5.73 ^{ab}	4.93 ^a	5.37 ^{ab}	5.63 ^{ab}
	60	5.30 ^{ab}	5.23 ^a	5.75 ^b	5.15 ^a	5.18 ^a
	90	5.90 ^c	5.28 ^{ab}	5.48 ^b	5.10 ^a	5.10 ^a
% Protein/KM	7	33.55	32.99	32.81	31.76	32.59
	30	33.34	31.74	30.90	31.68	33.87
	60	32.59	32.71	32.30	31.73	33.10
	90	34.11	33.29	31.94	34.51	34.10

4.3. Verim

Şekil 4.5'te Düşük laktozlu UF probiyotik peynirin olgunlaşma süresince verim sonuçları verilmiştir. K1, K2, LA, LC ve BB örneklerinde verim oranı %79.03 ile %86.25 arasında değişmektedir. Düşük laktozlu UF peynirlerinde K1 örneğine oranla verim daha düşüktür. Olgunlaşma periyodu boyunca peynir örneklerindeki verim azalmaktadır.



Şekil 4.5. Peynir örneklerinde olgunlaşma periyodu süresince verim sonuçları

Peynir örneklerinde verim değerleri arasındaki farklılık 90. Günde önemli derecede artmaktadır ($p < 0.05$). Düşük laktozlu UF peynir örneklerinde olgunlaşma süresince probiyotik kültür kullanımına bağlı olarak pH değerlerinde düşüş gözlenmektedir. Peynir verimi düşük laktozlu peynirlerde kontrol peynirine (K1) kıyasla daha düşüktür. Bu durum peynir pH'sındaki düşüğe bağlı olarak peynirlerde sineresisin artmasından kaynaklanmaktadır. K1 ve K2 peynirlerinde β -galaktosidaz enziminin peynir verimine olan etkisi incelendiğinde β -galaktosidaz enzimi peynir verimini negatif yönde etkilemektedir. Peynir verimi 7. günden itibaren %86.25'den düşüktür.

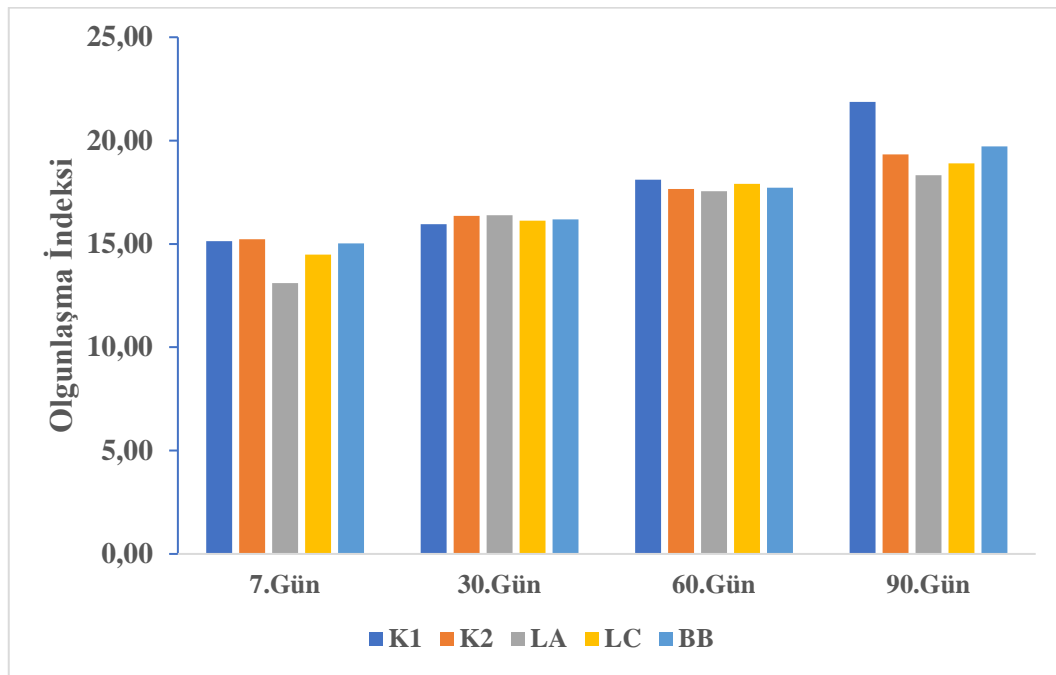
4.4. Proteoliz

Peynir örneklerinde proteoliz suda çözümlü azot (SÇA), % 12'lik TCA'da suda çözümlü azot, Üre-PAGE elektroforez, SÇA'da RP-HPLC ve serbest aminoasit (SAA) analizleri ile incelenmiştir.

pH 4.4'te Suda Çözümlü Azot (SÇA) analizi

Şekil 4.6'da peynir örneklerinin pH 4.4'te çözümlü azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri % cinsinden verilmiştir. Peynir örneklerinde SÇA sonuçları 13.10 ± 0.17 ile 21.88 ± 0.29 arasında değişmektedir.

Yüksek pH ve nem içeriği UF peynirinde pH 4.6'da SÇA oluşumunu arttırmaktadır ve SÇA rennet aktivitesi sonucunda oluşmaktadır ve birincil proteolizi etkilemektedir (Bulat ve Topcu, 2019). Peynir örneklerinin SÇA değişimleri incelendiğinde olgunlaşma süresince kontrol örneklerinde daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bunun sebebi kontrol örneklerinin yüksek pH ve nem içeriği olabilir.

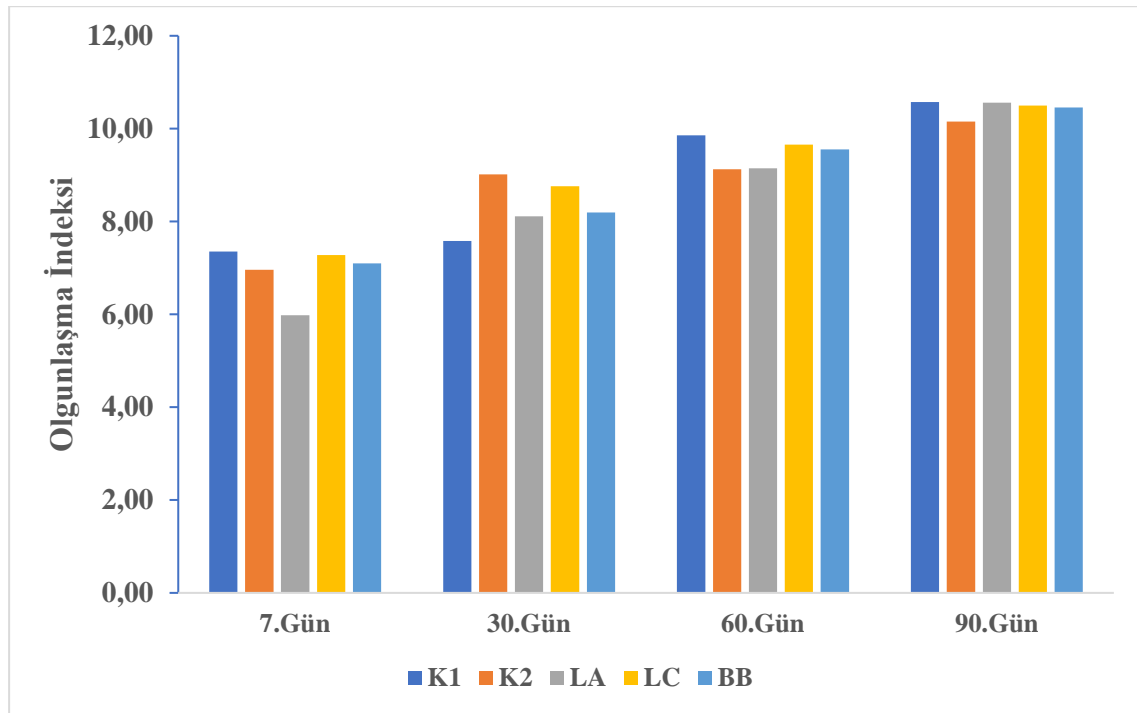


Şekil 4.6. Peynir örneklerinin pH 4.4'te çözümlü azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri (%)

SÇA değerleri olgunlaşma süresince çalışmada kullanılan probiyotik kültür ve β -galaktosidaz enzimi kullanımına bağlı olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Olgunlaşma süresince tüm peynir örneklerinde SA miktarlarında artma gözlenmiştir ($p<0.05$). Bu sonucu Eghbalian, (2017) ile Bulat ve Topcu, (2019)'nun yapmış oldukları çalışmalar desteklemektedir.

%12'lik TCA'da A analizi

Laktik asit bakterilerinin peptidaz ve proteinaz aktivitesi %12 TCA'da A ve toplam serbest aminoasit konsantrasyonunu etkilemektedir (Bulat ve Topcu, 2019). Şekil 4.7'de düşük laktozlu probiyotik UF peynirlerin pH 4.4'te %12 TCA'da çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri verilmiştir. Peynir rneklerinde %12 TCA'da A sonuçları 5.98 ± 0.11 ile 10.58 ± 0.14 arasında değişmektedir. %12'lik TCA'da çözünür azot miktarı olgunlaşma ile peynir örneklerinde artış göstermiştir ($p<0.05$).



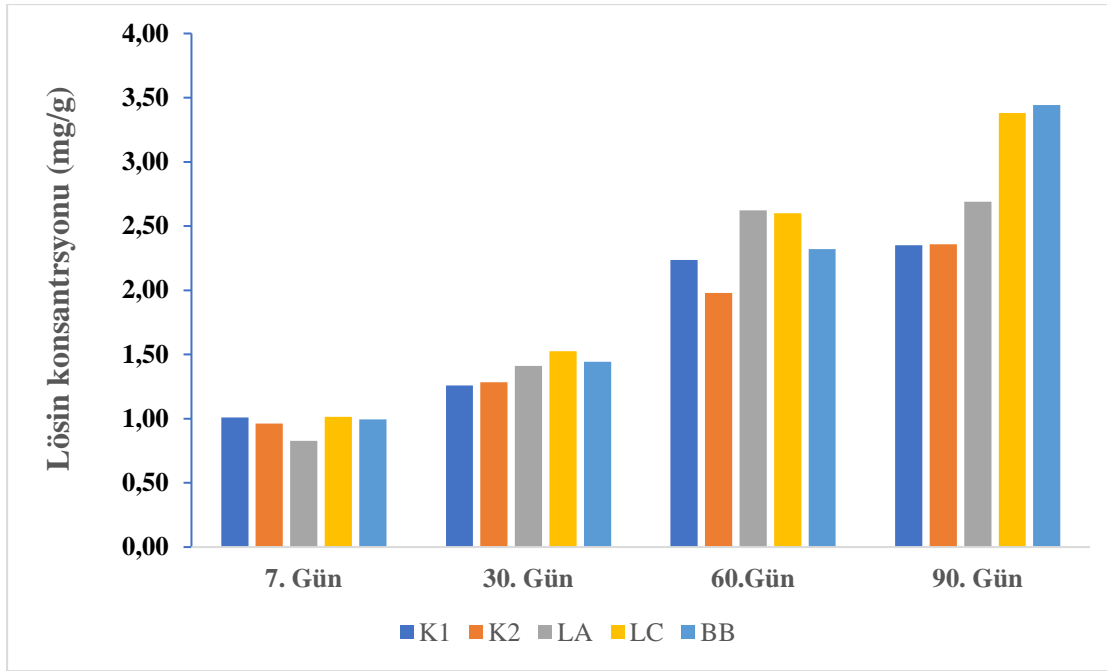
Şekil 4.7. Peynir rneklerinin %12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değerleri (%)

Düşük laktozlu peynir örneklerinde (K2, LA, LC ve BB) %12'lik TCA'da ÇA miktarları 30. günde önemli düzeyde artmıştır ($p<0.05$). Ancak 30 günden itibaren peynir örneklerinin %12'lik TCA'da ÇA miktarlarında önemli bir farklılık gözükmemektedir. K2 örneğinde %12'lik TCA'da çözünür azot miktarı β -galaktosidaz enzimi kullanımına bağlı olarak 30. günde önemli düzeyde artmaktadır ($p<0.05$).

Serbest aminoasit analizi

Peynirde proteoliz iki aşamada gerçekleşmektedir. Birincil proteoliz ve birincil proteolizin metabolitlerinin kullanılması ile ikincil proteoliz oluşmaktadır. İkincil proteoliz olayında proteinler ve uzun zincirli peptitler kısa zincirli peptitlere ve serbest aminoasitlere dönüşmektedir. Peynirde istenilen ve istenmeyen aroma bileşenlerinin oluşumu için kısa zincirli peptitlerin oluşumu önemlidir. Serbest aminoasitlerin oluşumu peynirde karakteristik aroma gelişimi için temel olaylardan biridir. Prolin, Serin, Alanin, Glisin, ve Treonin tatlı tattan, Histamin, Glutamat, ve Aspartik asit ekşi tattan sorumlu iken, Lösin, Fenilalanin, Metionin, Arjinin, ve Valin bitter tattan sorumludur. Aminoasitler peynir aromasına direk olarak katkıda bulunmazlar birçok aroma aktif bileşenin oluşumunu sağlarlar. Serbest aminoasitler aminotransferaz enzimi ile α -keto asitlere parçalanır ve organik aroma bileşenlerini oluştururlar (Tekin ve Hayaloglu, 2023)

Şekil 4.8'de peynir örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest aminoasit miktarlarındaki değişim verilmiştir. Olgunlaşma süresince peynirlerde toplam serbest aminoasit miktarlarında artma gözlenmiştir. Bulat, (2011), Eghbalian, (2017) ve Ong, Henriksson ve Shah, (2007b)'ın yapmış oldukları çalışmalar bu veriyi desteklemektedir. Probiyotik kültür kullanımı UF peynir örneklerinde toplam serbest aminoasit miktarı üzerinde önemli düzeyde farklılık oluşturmuştur ($p<0.05$). Troise ve ark. (2016), düşük laktozlu sütte β -galaktosidaz enziminin proteolitik yan etkisini incelediklerinde β -galaktosidaz enzimi kullanımının toplam serbest aminoasit miktarını arttırdığını gözlemlemişlerdir. Bizim yapmış olduğumuz çalışmada K1 ve K2 peynirlerinde serbest aminoasit miktarları arasında önemli bir farklılık görülmemektedir.



Şekil 4.8. Peynirlerin toplam serbest aminoasit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi

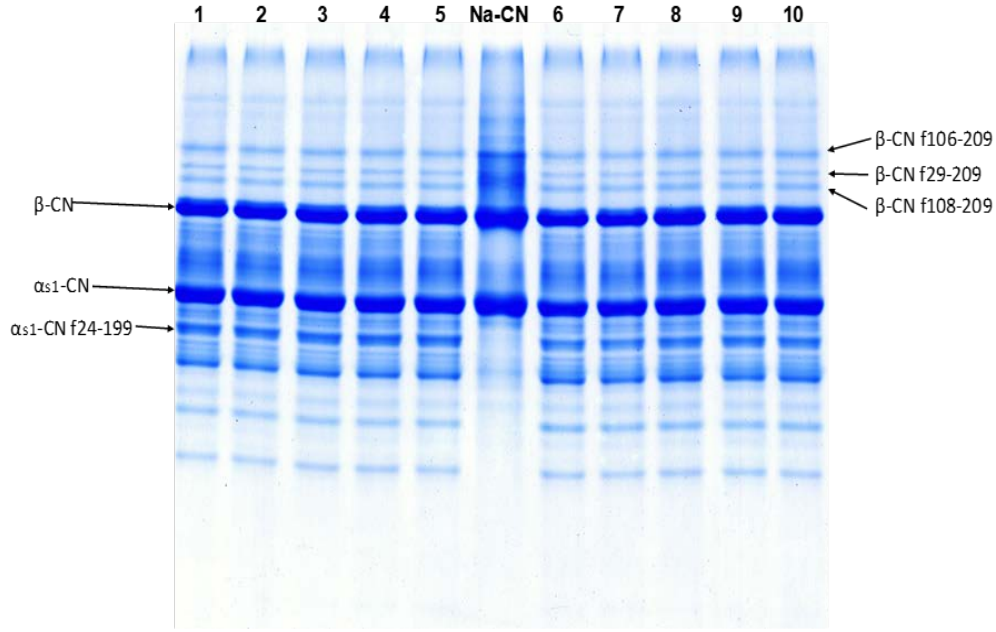
Peynirlere probiyotik ilavesi toplam serbest aminoasit içeriğini arttırmaktadır ve düşük pH, daha fazla proteoliz ve organik asit üretimine neden olmaktadır (Gomes ve ark., 2011). Ong, Henriksson ve Shah (2007b), *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. paracasei* ve *Bifidobacterium* probiyotik kültürlerin cheddar peynirinin organik asit profilleri ve proteolize olan etkisini incelemişlerdir. Yapmış oldukları çalışmada *L. casei*'nin yüksek proteolitik aktivitesi sonucunda en fazla toplam aminoasit ürettiğini, *L. casei*'yi sırasıyla *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium*'un takip ettiğini belirtmişlerdir. K1, K2, LA, LC ve BB peynirlerinin 90. günde toplam aminoasit miktarları sırasıyla 2.35, 2.35, 2.68, 3.37 ve 3.43 mg lösün / g peynirdir. Yapmış olduğumuz çalışmada yüksek proteolitik aktivite sebebi ile en fazla aminoasiti *L. casei*, daha sonra *B. bifidum* ve *L. acidophilus* üretmiştir. *L. casei* ve *B. bifidum* bakterileri 90. günde toplam serbest aminoasit miktarını önemli düzeyde arttırdığı gözükmemektedir ($p < 0.05$).

Üre PAGE elektroforez analizi

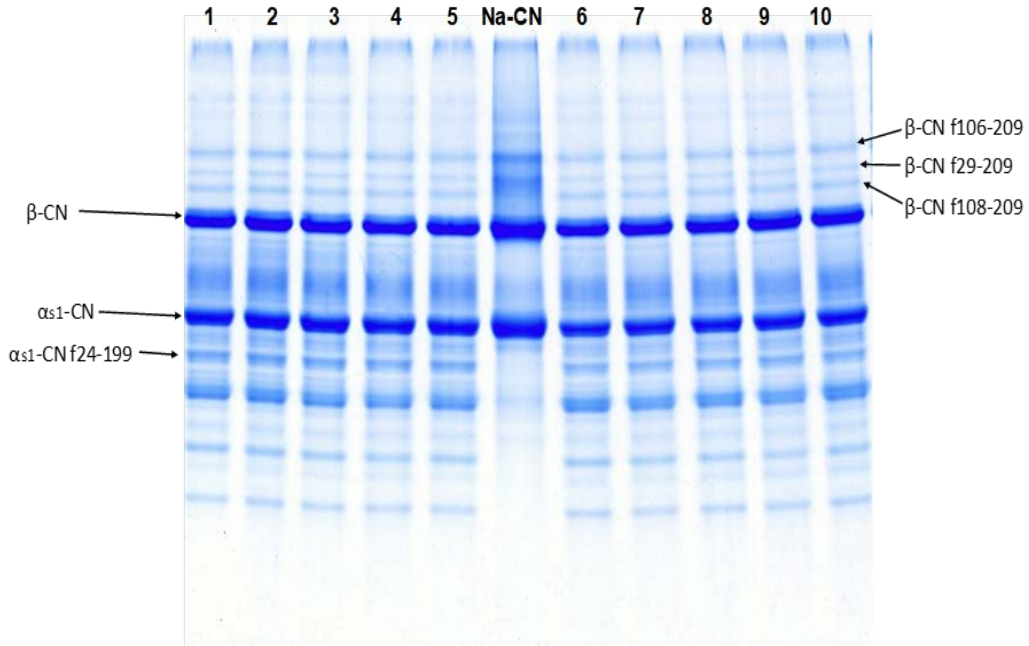
Peynirlerde olgunlaşma süresince proteoliz olayı ile kazein parçalanması meydana gelmektedir. α -s₁ kazeinin hidrolizinden kalıntı pıhtılaştırıcı enzimler sorumludur ve α -s₁ kazeinin hidrolizi sonucunda 2 fraksiyon oluşmaktadır. Bunlar α -s₁ kazein (f24-199) ve α -s₁ kazein (f1-23)'dir. α -s₁ kazein (f24-199), α -s₁ kazein-I olarak da adlandırılmaktadır (Verdini, Zorrilla ve Rubiolo, 2004). Düşük laktozlu probiyotik UF peynirlerinde olgunlaşma boyunca proteolizin etkisi Üre-PAGE elektroforez analizi ile incelenmiştir ve peynirlerin Üre-PAGE elektroforetogramları Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Ong, Henriksson ve Shah, (2007b) *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. paracasei* ve *Bifidobacterium* spp. ile üretilen cheddar peynirinde probiyotik kültürlerin proteolize etkisini incelemişlerdir. α s₁-kazeinin hidrolizinin probiyotik peynirlerde daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bulat ve Topcu, (2019), UF beyaz peynirinde, olgunlaşma süresince α -s₁ kazeinin belirgin bir şekilde parçalandığını göstermişlerdir. Peynir örneklerinde Şekil 4.9 ve Şekil 4.10 incelendiğinde olgunlaşma süresince proteolizin devam ettiği görülmektedir. Bu sonuç daha önceki yapılan çalışmalar ile desteklenmektedir. Ancak daha önceki çalışmaların aksine peynir örneklerine probiyotik kültür ilave edilmesi peynir örneklerinin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarında gözle görülür belirgin bir farklılık yaratmamıştır.

Zhao ve ark., (2017) laktaz enziminin depolama boyunca β -kazein ve β -laktoglobulini parçalayarak bitter peptitleri oluşturduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuç β -galaktosidazın proteolitik aktivitesinin olgunlaşma süresince devam ettiğini göstermektedir. Şekil 4.9 ve Şekil 4.10 incelendiğinde peynir örneklerinde β -kazein ve β -kazeinin alt fraksiyonları arasında önemli bir farklılık gözükmemektedir.



Şekil 4.9. Olgunlaşmanın 7. ve 30. gününe ait üre-PAGE elektroforetogramı (Bantların tanımlanması Bulat ve Topcu, (2019) göre yapılmıştır.) (1:K1-7. gün, 2:K2-7. gün, 3:LA-7. gün, 4:LC-7. gün, 5:BB-7. gün; 6:K1-30. gün, 7:K2-30. gün, 8:LA-30. gün, 9:LC-30. gün, 10:BB-30. gün).



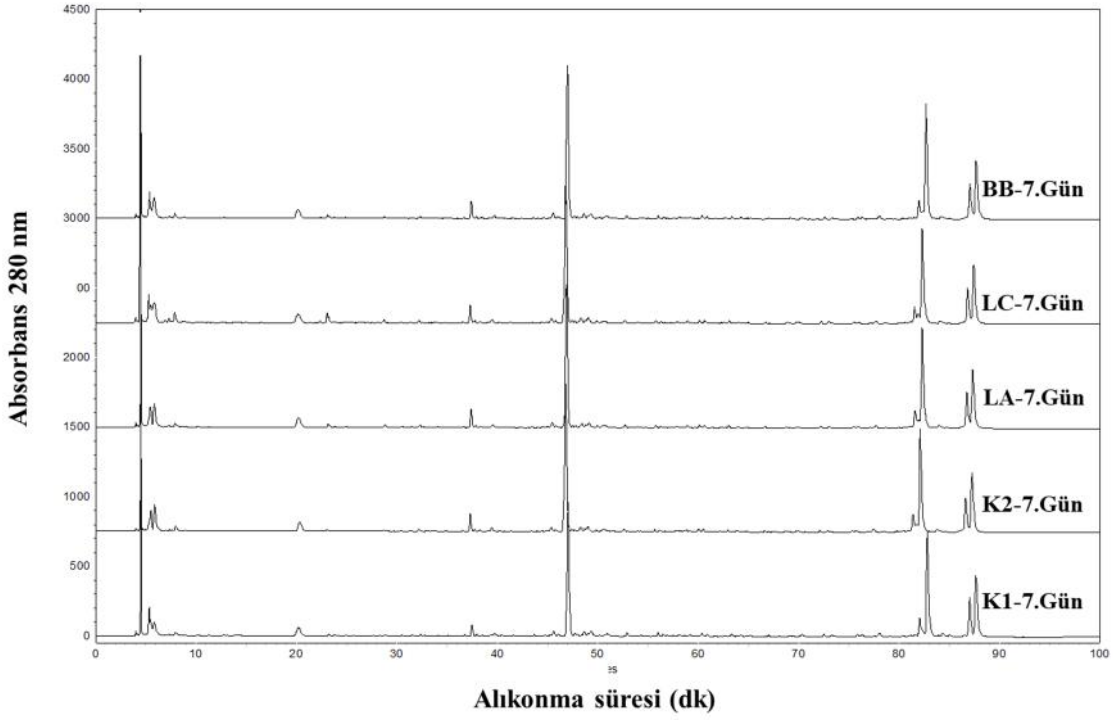
Şekil 4.10. Olgunlaşmanın 60. ve 90. gününe ait üre-PAGE elektroforetogramı (Bantların tanımlanması Bulat ve Topcu, (2019) göre yapılmıştır.) (1:K1-60. gün, 2:K2-60. gün, 3:LA-60. gün, 4:LC-60. gün, 5:BB-60. gün; 6:K1-90. gün, 7:K2-90. gün, 8:LA-90. gün, 9:LC-90. gün, 10:BB-90. gün).

SÇA fraksiyonlarının RP-HPLC ile analizi

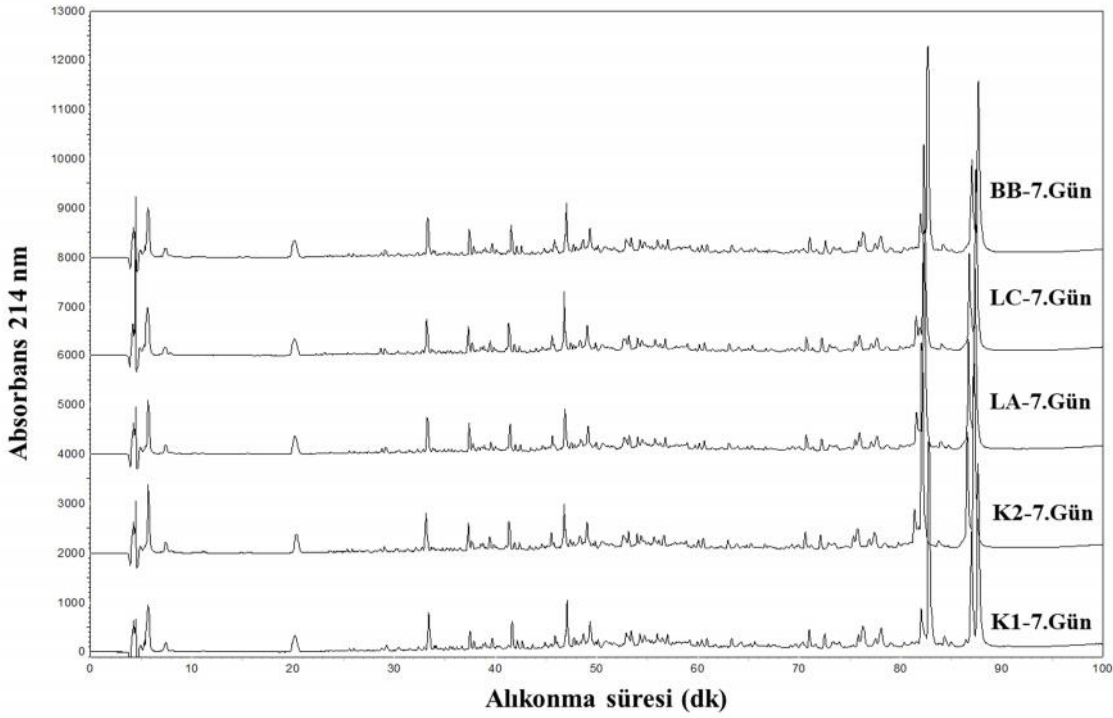
Peynir örneklerinin pH 4.4'te çözümlü fraksiyonlarının RP-HPLC profilleri, 214 nm ve 280 nm'de olgunlaşma süresince incelenmiştir. Şekil 4.11, 4.12, 4.13, 4.14'te, C18 RP-HPLC kolonu kullanılarak elde edilen pH 4.4'te çözümlü azotlu maddelerin, 7. ve 90.gün kromatogramları görülmektedir.

Kromatogramlarda yaklaşık, 19.5, 36.5. dakikalarda gelen pikler, sırasıyla, fenilalanin ve triptofan aminoasitlerine karşılık gelirken, yaklaşık 80. dakikaya kadar gelen pikler α 1- ve β -kazeinlerin degradasyonu sonucu oluşan peptitlere aittir. 82 ve 85. dakikalarda gelen pikler sırasıyla α -laktalbumin ve β -laktoglobulin peynir altı suyu proteinleridir (Bulat ve Topcu, 2019). Peynir örneklerinde triptofan ve fenilalanin aminoasitleri olgunlaşma süresince artma gösterirken; α -laktalbumin proteininde azalmalar gözlenmiştir. Fenilalanin bitter karakteristikte bir aminoasittir. Fenilalaninin, olgunlaşma süresince özellikle LC ve BB peynirlerinde *L. casei* ve *B. bifidum* probiyotik ek kültür kullanımına bağlı olarak gözle fark edilebilir derecede arttığı gözükmektedir.

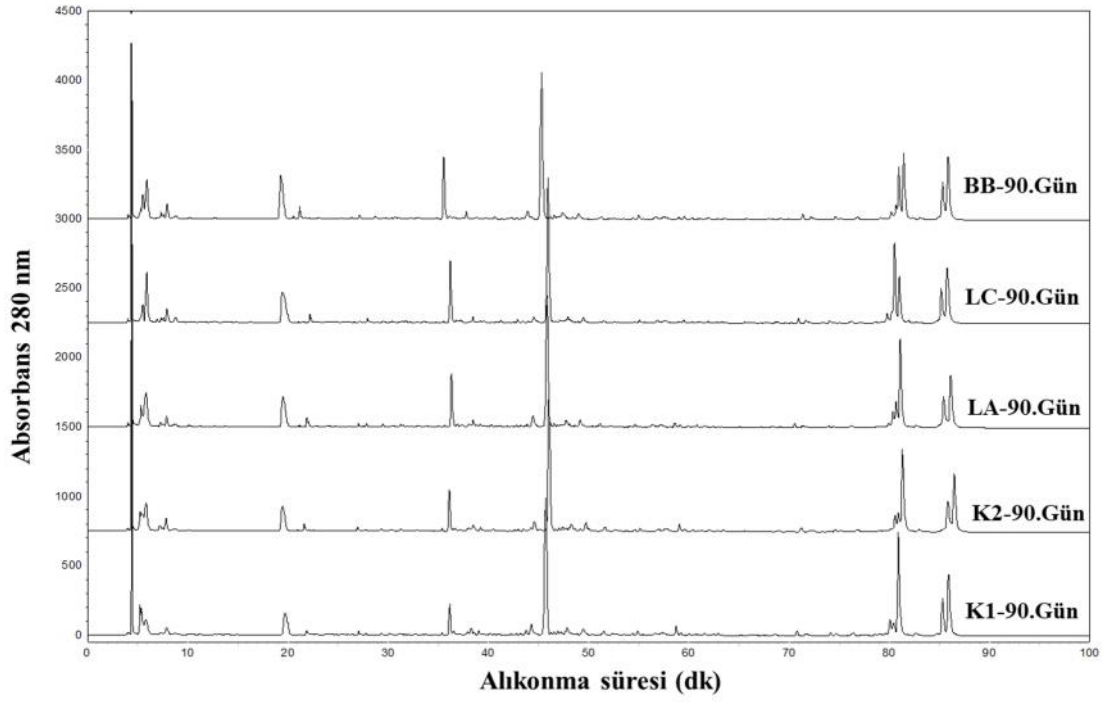
Peynir örneklerinin RP-HPLC kromatogramlarında birçok pik gözlenmiştir. Olgunlaşma süresince kazein üzerindeki proteolitik etki nedeniyle pik yüksekliklerinde ve sayısında artış gözlenmiştir. Bu sonucu Eghbalian (2017) ve Bulat ve Topcu (2019)'nun çalışmaları desteklemektedir. Hidrofobik peptitler peynirde bitter tadın oluşumundan sorumludur (Eghbalian, 2017). Kromatogramlarda 37. dakikaya kadar gelen pikler hidrofilik, 37. dakikadan sonra gelen pikler ise hidrofobik karakterdeki peptitlere aittir. 37. dakikadan sonra gelen pikler kimozin ve plazmin etkisi ile oluşan peptitleri, 37. dakikadan önce gelen pikler olgunlaşma boyunca starter kültürlerin peptidazlarının etkisi ile oluşan daha küçük peptitler ve aminoasitleri temsil etmektedir (Bulat ve Topcu, 2019; Yıldırım-Elikoglu, Vural ve Erdem, 2021). Şekil 4.12 ve 4.14 incelendiğinde LA, LC ve BB peynirlerinde 37. dakikadan önce gelen pik yüksekliklerinde kontrol peynirlerine oranla belirgin bir artış gözlenmiştir. Bu durumun peynirlere ek kültür olarak probiyotik kültür ilave edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



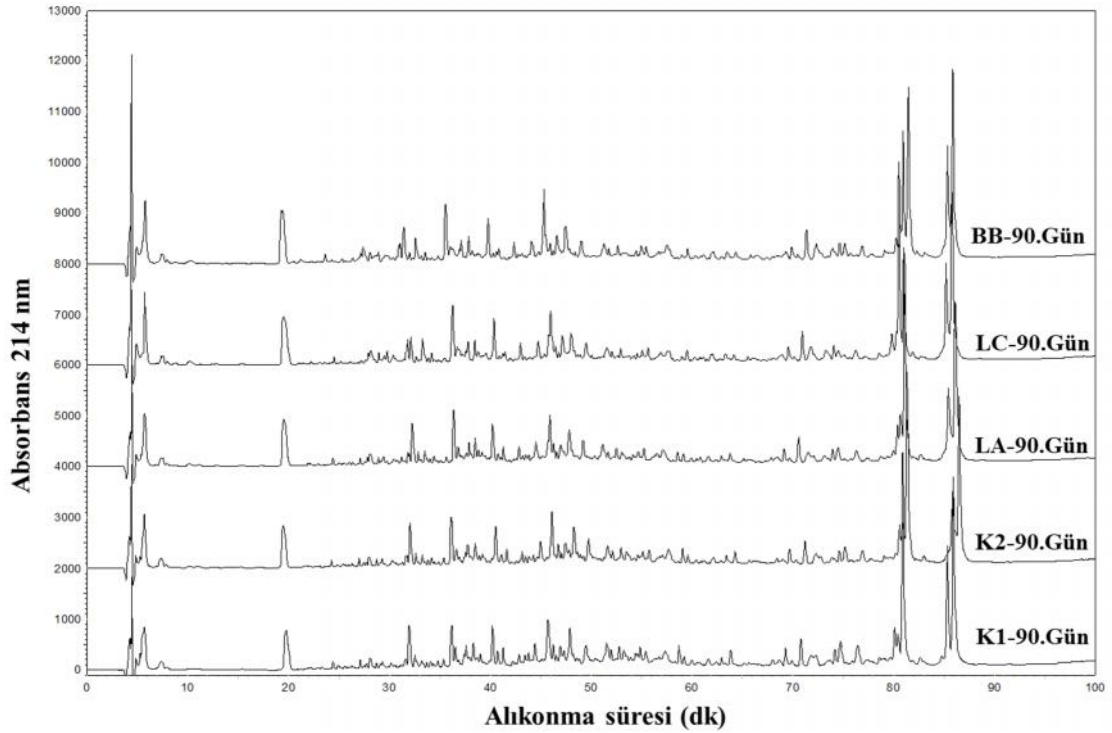
ekil 4.11. Peynir örneklerinin olgunla manın 7.gününde ve 280 nm’de RP-HPLC kromatogramları



ekil 4.12. Peynir örneklerinin olgunla manın 7.gününde ve 214 nm’de RP-HPLC kromatogramları



ekil 4.13. Peynir örneklerinin olgunla manın 90.gününde ve 280 nm’de RP-HPLC kromatogramları



ekil 4.14. Peynir örneklerinin olgunla manın 90.gününde ve 214 nm’de RP-HPLC kromatogramları

4.5. Serbest Yağ Asidi Analiz Sonuçları

Bütanoik asit (C_{4:0}), Hekzanoik asit (C_{6:0}), Oktanoik asit (C_{8:0}), Dekanoik asit (C_{10:0}), Dodekanoik asit (C_{12:0}), Tetradekanoik asit (C_{14:0}), Hekzdekanoik asit (C_{16:0}), Oktadekanoik asit (C_{18:0}), cis Oktadekanoik asit (C_{18:1}), cis-9,12 Oktadekanoik asit (C_{18:2}) ve cis-9,12,15 Oktadekanoik asit (C_{18:3}) peynirde temel ve önemli serbest yağ asitleridir (SYA).

Lipoliz peynir olgunlaşması süresince önemli biyokimyasal olaylardan biridir. Lipoliz ile SYA, peynir aromasını doğrudan etkilemektedir. Kısa zincirli serbest yağ asitleri (C_{4:0}, C_{6:0} ve C_{8:0}) kolayca hidrolize olur ve suda çözünürler. Algılanma eşikleri oldukça düşüktür ve birçok peynirde karakteristik aroma bileşenlerinin gelişimi için önemlidir. Yüksek miktarda kısa zincirli serbest yağ asitleri *Lactobacillus*' un yüksek esteraz aktivitesi ile ilişkilendirilebilir. Peynir matrisinde asitlerin yüksek miktarda varlığı starter ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin varlığı ile doğrudan ilgili olabilir (Tekin ve Hayaloglu, 2023).

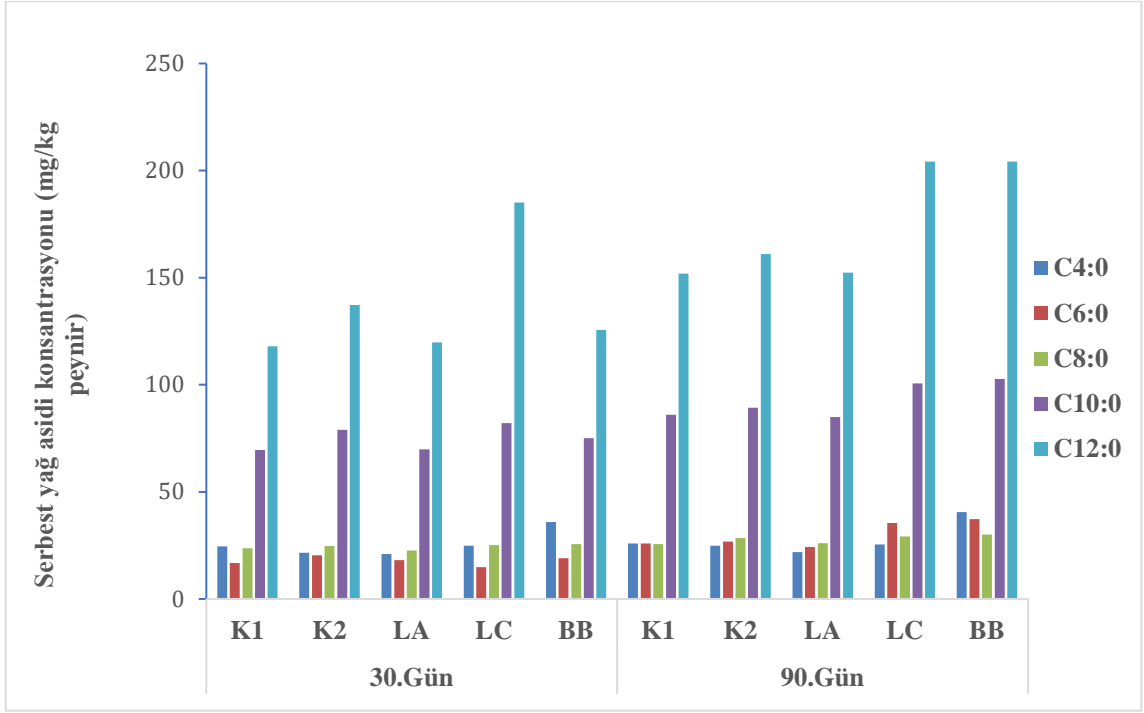
Peynir örneklerinde bütanoik asit ve diğer kısa zincirli serbest yağ asitleri, uzun zincirli yağ asitlerine oranla daha az miktardadır (Çizelge 4.2). Bu durum peynir örneklerinde zayıf lipolitik aktivite olduğunu göstermektedir (Kondyli ve ark., 2002; Tekin ve Hayaloglu, 2023). Rolim ve ark. (2020) yapmış olduğu çalışmada *Bifidobacterium lactis* BB-12 ve *Bifidobacterium longum* BB-46 kültürlerinin koyun peynirinde kısa zincirli SYA'ları arttırdığını; *Lactobacillus acidophilus* LA-5'in ise uzun zincirli SYA'ları arttırdığını belirtmişlerdir. Çizeleğe 4.2 incelendiğinde BB peynirinde kısa zincirli SYA'ların; LC peynirinde ise uzun zincirli SYA'ların diğer peynirlere kıyasla daha fazla olgusu görülmektedir.

Çizelge 4.2 Olgunlaşmanın 30. ve 90. günündeki serbest yağ asidinin her birinin konsantrasyonu (mg/kg peynir)

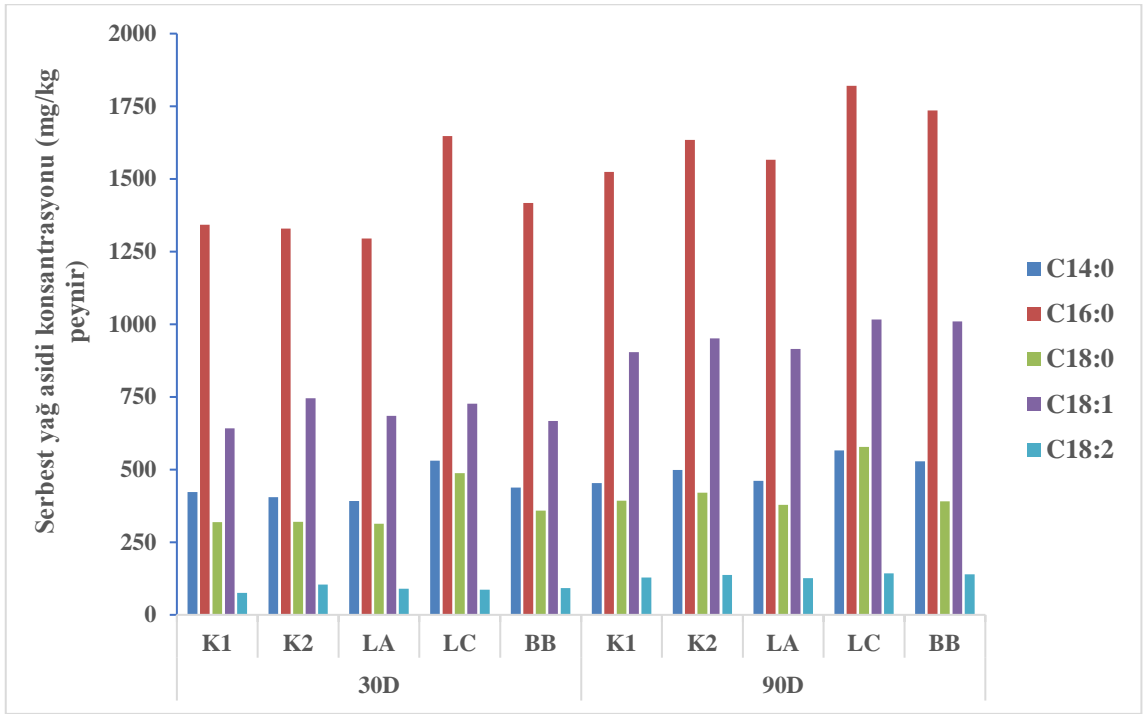
<i>Yağ asidi</i>					
<i>30.gün</i>	K1	K2	LA	LC	BB
C _{4:0}	24.62±2.67 ^a	21.63±0.60 ^a	21.00±0.23 ^a	24.83±21 ^a	35.94±2.04 ^b
C _{6:0}	16.81±0.67 ^b	20.42±1.06 ^d	18.08±0.89 ^{bc}	14.86±0.56 ^a	19.08±0.32 ^{cd}
C _{8:0}	23.63±0.47 ^{ab}	24.70±1.21 ^{ab}	22.59±0.55 ^a	25.16±1.07 ^{ab}	25.56±1.38 ^b
C _{10:0}	69.57±1.60 ^a	79.03±4.10 ^{ab}	69.80±0.01 ^a	82.06±5.66 ^b	75.03±3.80 ^{ab}
C _{12:0}	118.03±3.24 ^a	137.23±11.40 ^a	119.73±2.63 ^a	185.05±20.33 ^b	125.54±7.07 ^a
C _{14:0}	422.85±39.80 ^a	404.96±13.03 ^a	392.11±6.75 ^a	530.20±58.52 ^b	438.11±28.05 ^a
C _{16:0}	1342.03±119.40 ^a	1328.87±79.65 ^a	1295.33±7.98 ^a	1747.71±39.60 ^b	1416.94±84.55 ^a
C _{18:0}	319.38±50.48 ^a	319.62±4.33 ^a	313.67±13.38 ^a	487.69±71.38 ^b	358.47±11.92 ^a
C _{18:1}	641.39±26.41 ^a	715.58±33.54 ^b	684.95±28.66 ^{ab}	726.67±19.83 ^b	667.49±9.10 ^{ab}
C _{18:2}	75.73±9.90 ^a	104.22±10.80 ^b	89.83±3.51 ^{ab}	86.64±11.09 ^{ab}	91.61±4.52 ^{ab}

Çizelge 4.2. (devamı)

<i>90.gün</i>	K1	K2	LA	LC	BB
C _{4:0}	25.89±2.02 ^a	24.85±3.61 ^a	21.92±0.02 ^a	25.49±1.28 ^a	40.54±1.64 ^b
C _{6:0}	25.93±2.95 ^a	26.76±0.97 ^a	24.33±3.63 ^a	35.51±1.47 ^b	37.25±2.26 ^b
C _{8:0}	25.60±0.57 ^a	28.48±1.64 ^b	26.01±0.41 ^a	29.22±0.43 ^b	30.11±0.60 ^b
C _{10:0}	85.97±0.52 ^a	89.20±0.05 ^a	85.00±3.62 ^a	100.70±3.74 ^b	102.72±7.07 ^b
C _{12:0}	151.88±12.44 ^a	160.98±11.16 ^{ab}	152.38±21.88 ^a	204.17±7.43 ^b	204.22±23.07 ^b
C _{14:0}	453.52±11.73 ^a	499.07±47.95 ^{ab}	460.94±3.16 ^a	566.16±50.09 ^b	528.21±42.07 ^{ab}
C _{16:0}	1523.64±28.12 ^a	1634.4±141.73 ^{ab}	1566.41±35.25 ^a	1820.13±78.60 ^b	1735.56±58.22 ^{ab}
C _{18:0}	392.60±53.37 ^a	420.11±90.50 ^a	378.60±7.25 ^a	577.33±86.04 ^b	390.34±6.65 ^a
C _{18:1}	904.21±53.71 ^a	951.06±32.81 ^a	915.13±110.58 ^a	1015.75±106.15 ^a	1010.00±51.02 ^a
C _{18:2}	128.16±8.76 ^a	136.77±5.53 ^a	126.08±14.87 ^a	142.56±33.60 ^a	139.48±15.64 ^a



Şekil 4.15. Kısa zincirli serbest yağ asitlerinin olgunlaşma süresince değişimi



Şekil 4.16. Uzun zincirli serbest yağ asitlerinin olgunlaşma süresince değişimi

Peynirde en bol bulunan serbest yağ asitleri C_{16:0} ve C_{18:0}'dır (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). Peynir örneklerimizin sonuçları bu veriyi desteklemektedir (Çizelge 4.2, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16)..K1 ve K2 peynirlerinin olgunlaşma süresince SYA miktarları karşılaştırıldığında önemli düzeyde bir farklılık olmadığı görülmektedir, bu sonuç doğrultusunda laktaz enziminin lipoliz olayını önemli ölçüde etkilemediği görülmüştür.

Pastörize edilen peynirlerde lipaz enzimi (psikrofilik bakteri lipazları hariç) ısı işlem ile denatüre olmaktadır. Bu sebeple peynirlerde lipolitik aktivite, starter kültür ve ek kültürler aracılığı ile gerçekleşmektedir (Kondyli ve ark., 2002). Peynir örneklerinde lipoprotein lipaz enzimi pastörizasyon işlemi ile inaktif hale geldiği kabul edildiğinde lipoliz yardımcı kültürler ile olmaktadır. Çalışmamızda peynir örnekleri yapılırken pastörize edilmiş süt kullanılmakta olup proses esnasında ayrıyeten lipoprotein lipaz enzimi kullanılmamıştır. LA, LC ve BB peynir örneklerinde serbest yağ asitleri arasındaki farklılık farklı probiyotik kültür kullanımına bağlı olmaktadır.

Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te düşük laktozlu probiyotik UF peynirinde C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0}, C_{10:0}, C_{12:0}, C_{14:0}, C_{16:0}, C_{18:0}, C_{18:1} ve C_{18:2} serbest yağ asitlerinin olgunlaşma süresince değişimleri verilmiştir. Olgunlaşma süresince serbest yağ asitlerinin arttığı ve probiyotik kültür kullanımının SYA miktarını pozitif yönde etkilediği görülmektedir.

Probiyotik bakterilerin sahip olabileceği esterazlar peynirdeki aroma gelişimine katkıda bulunabilir (Rolim ve ark., 2020). Rodrigues ve ark., (2012) *Lactobacillus casei*-01 ve *Bifidobacterium lactis* B94 probiyotik kültürlerinin peynirin serbest yağ asidi profili üzerindeki etkisini araştırmışlardır. *Lactobacillus casei*-01 probiyotik suşu inoküle edilen simbiyotik peynirlerde kısa zincirli serbest yağ asitlerinde (C_{4:0}, C_{6:0}, C_{8:0} ve C_{10:0}) önemli ölçüde artış gözlenmiştir. *Bifidobacterium lactis* B94 probiyotik suşu inoküle edilen simbiyotik peynirlerde doymamış serbest yağ asitlerinde (CLA, ALA, VE GLA) probiyotik *Lactobacillus casei*-01 suşuna oranla daha belirgin artış olduğunu gözlemlemişlerdir (Rodrigues ve ark., 2012). K1, K2, LA, LC ve BB peynirlerinin serbest yağ asidi miktarları karşılaştırıldığında LC ve BB peynirlerinde toplam serbest yağ asidi miktarının daha fazla olduğu görülmektedir (p<0.05). Bu durum *L. casei* ve *B. bifidum*

probiyotik kültürlerin lipolitik aktivitesinin fazla olduğunu göstermekte olup daha önce yapılan çalışmalar bu sonucunu desteklemektedir.

4.6. Organik asit Analizi

K1 peynirinde olgunlaşma süresince laktoz miktarında önemli düzeyde değişim olmamıştır. ve laktoz konsantrasyonu 1.58 ± 0.08 ile 1.77 ± 0.03 arasında değişmektedir. Bu durum, starter kültürlerin laktozun tamamını metabolize edemediğini göstermektedir. Aynı zamanda K1 peynirinde galaktoz ve glukoz miktarları olgunlaşma süresince incelendiğinde starter kültürlerin glukozun tamamını metabolize ettiği ve laktoz fermantasyonu sonucunda galaktoz üretmediği görülmektedir. Düşük laktozlu gıdalarda 100 g üründe en fazla 1 g laktoz içermesine izin verilmektedir (Suri ve ark., 2019). Çalışma kapsamında üretilen edilen düşük laktozlu peynirlerin laktoz konsantrasyonu %1'in altındadır. Ultrafiltre peynir üretiminde düşük laktozlu peynir üretimi için üretim esnasında β -galaktosidaz enziminin ilave edilmesinin gerektiği görülmektedir. Düşük laktozlu peynirlerde laktozun glukoz ve galaktoza parçalanmasından ötürü glukoz ve galaktoz konsantrasyonunda 7. günde artma gözlenmiştir. Glikoliz, peynir aromasını etkileyen temel biyokimyasal olaylardan birisidir. Laktoz, LAB tarafından laktik aside dönüşür ve peynir pH'sının düşmesine neden olur (Ong, Henriksson ve Shah, 2007a). K1 ve düşük laktolu peynirlerin pH değerleri karşılaştırıldığında düşük laktozlu peynirlerin pH değeri K1 peynirine oranla daha düşüktür. Düşük laktozlu peynirlerde starter ve probiyotik kültürler laktozun parçalanma ürünlerini metabolize ettiği ve peynir pH sınır önemli düzeyde düştüğü gözlemlenmiştir. LC peynirinde glukoz konsantrasyonu olgunlaşma süresinin başında azalmaya başlamıştır ve 30. günde tükenmiştir. *L.casei*, glukozu metabolize ederek peynir örneklerinde asetik asit ve laktik asit konsantrasyonunu arttırdığı görülmektedir.

Çizelge 4.3. Peynirlerdeki şekerler ve organik asitler konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi

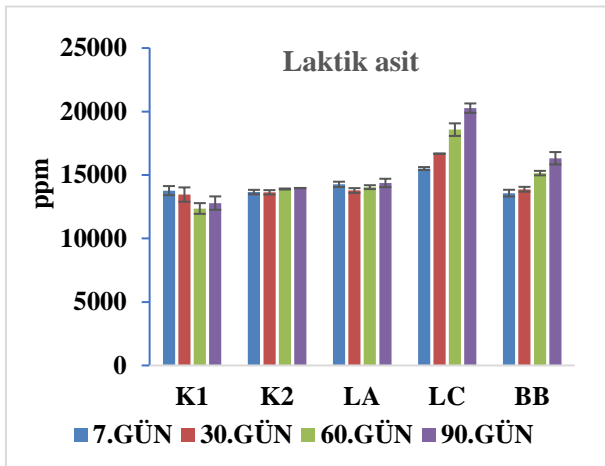
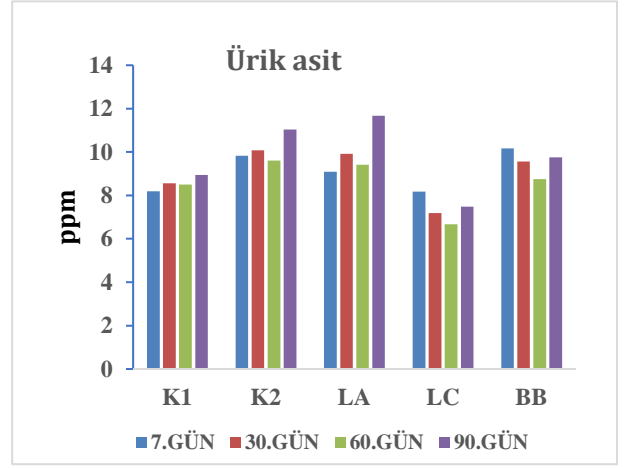
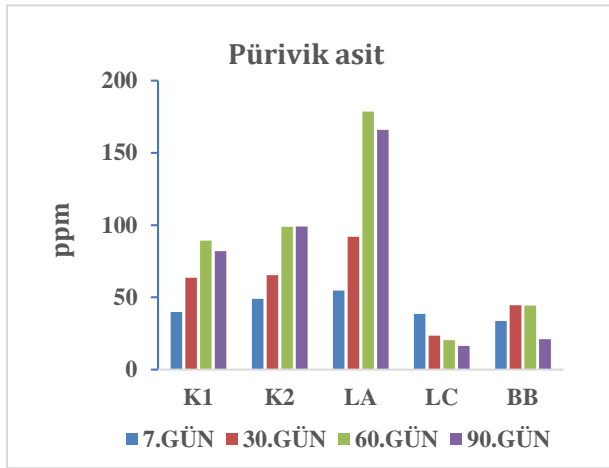
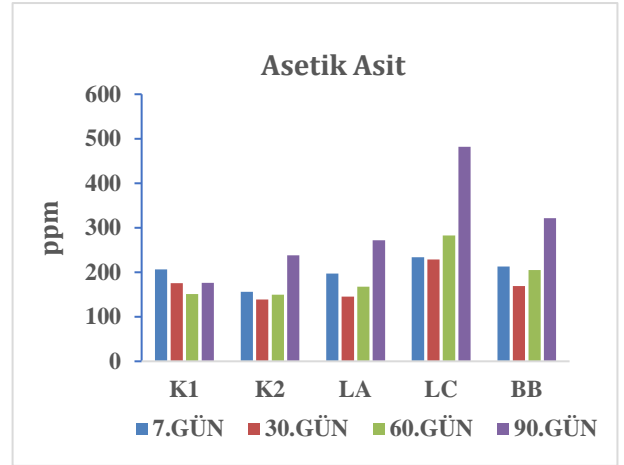
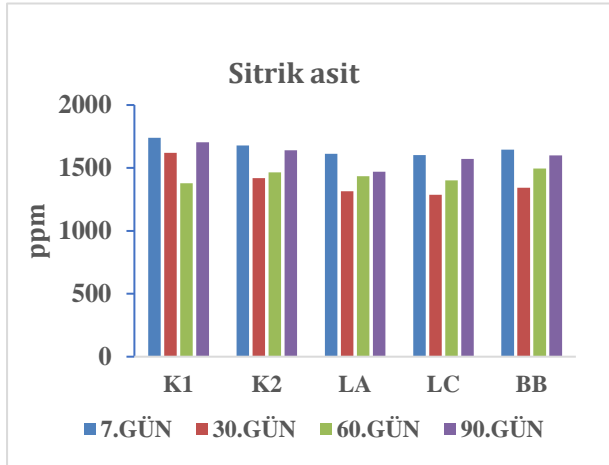
Olgunlaşma Süresi (Gün)	K1	K2	LA	LC	BB
<i>Sitrik asit (ppm)</i>					
7	1739.01±21.97 ^d	1679.47±7.70 ^c	1613.17±11.65 ^{ab}	1601.65±3.76 ^a	1645.80±21.83 ^{bc}
30	1619.60±19.43 ^d	1419.03±13.86 ^c	1315.57±6.82 ^{ab}	1287.75±21.03 ^a	1343.48±3.35 ^b
60	1378.29±61.20 ^a	1464.04±27.60 ^{ab}	1433.86±16.31 ^{ab}	1400.23±11.61 ^a	1495.58±20.89 ^b
60	1704.49±48.56 ^d	1640.31±3.40 ^{cd}	1469.74±42.80 ^a	1570.91±63.87 ^{ab}	1600.09±11.23 ^{bc}
<i>Pirüvik asit(ppm)</i>					
7	39.98±10.57 ^{ab}	48.96±3.28 ^{ab}	54.67±3.93 ^b	38.52±6.11 ^a	33.77±0.45 ^a
30	63.67±9.11 ^b	65.32±16.82 ^b	91.96±4.72 ^c	23.56±1.62 ^a	44.55±3.32 ^{ab}
60	89.33±9.19 ^c	98.71±2.30 ^c	178.65±4.24 ^d	20.33±1.14 ^a	44.39±0.68 ^b
90	82.06±31.37 ^b	99.13±2.12 ^b	165.98±12.80 ^c	16.41±0.45 ^a	21.03±2.91 ^a

Çizelge 4.3. (devamı)

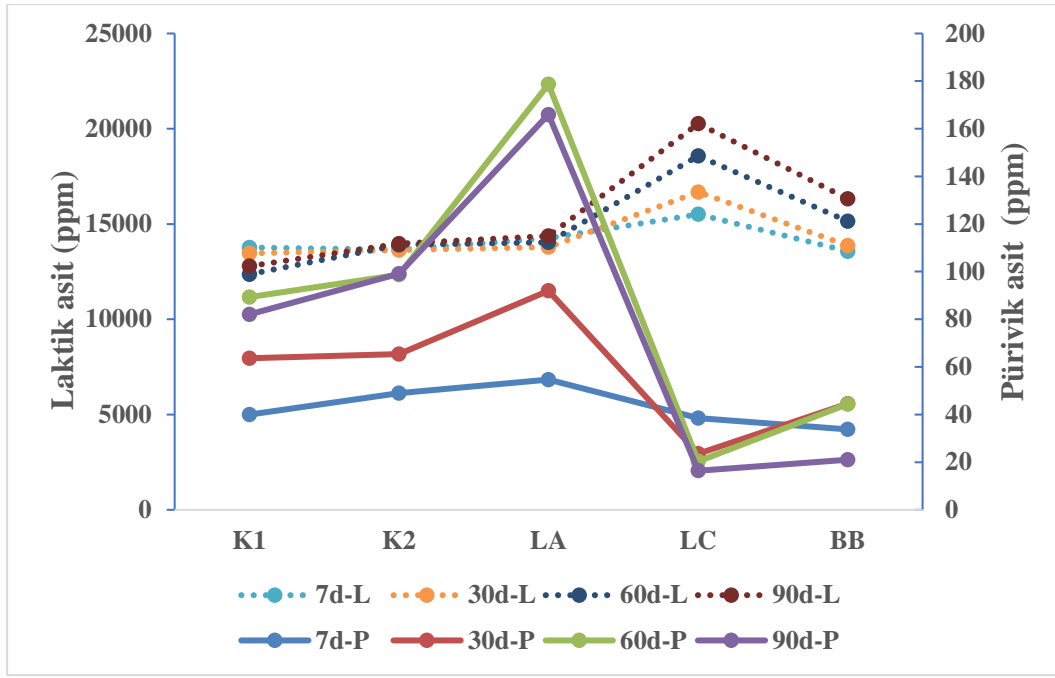
<i>Laktik asit (ppm)</i>					
7	13769.28±359.32 ^{ab}	13656.36±176.24 ^{ab}	14262.90±210.08 ^b	15509.15±116.27 ^c	13572.82±264.80 ^a
30	13458.60±565.76 ^a	13634.74±173.65 ^a	13780.38±185.86 ^a	16678.79±15.00 ^b	13875.60±192.27 ^a
60	12363.28±422.42 ^a	13897.79±39.53 ^b	14044.00±151.61 ^b	18573.20±496.37 ^c	15149.59±176.69 ^d
90	12788.43±526.91 ^a	13967.38±13.84 ^b	14374.55±330.45 ^b	20266.80±370.90 ^c	16320.60±486.73 ^d
<i>Ürik asit (ppm)</i>					
7	8.19±0.03 ^a	9.83±0.08 ^{bc}	9.08±0.09 ^b	8.17±0.37 ^a	10.17±0.23 ^c
30	8.56±0.00 ^b	10.08±0.58 ^c	9.91±0.09 ^c	7.19±0.31 ^a	9.57±0.38 ^c
60	8.50±0.25 ^b	9.60±0.08 ^b	9.42±0.41 ^b	6.67±1.05 ^a	8.76±0.42 ^b
90	8.94±0.46 ^b	11.04±0.13 ^c	11.68±0.63 ^c	7.48±0.13 ^a	9.75±0.23 ^b
<i>Asetik asit (ppm)</i>					
7	206.65±42.06 ^a	155.78±33.6 ^{ab}	197.42±2.52 ^{ab}	233.91±25.06 ^b	212.95±20.99 ^{ab}
30	175.25±32.50 ^a	138.67±2.55 ^a	145.29±12.38 ^a	228.62±3.34 ^b	169.05±6.82 ^a
60	151.18±1.46 ^a	149.86±32.32 ^a	167.36±25.77 ^a	282.61±24.21 ^b	204.81±0.35 ^a
90	176.61±1.79 ^a	238.26±6.99 ^a	272.23±73.38 ^a	481.63±104.91 ^b	321.40±119.12 ^{ab}

Çizelge 4.3. (devamı)

Laktoz (%)					
7	1.77±0.03 ^b	0.01±0.01 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.01±0.01 ^a
30	1.68±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
60	1.58±0.08 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.01±0.01 ^a
90	1.64±0.02 ^b	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
Glukoz (%)					
7	0.00±0.00 ^a	0.19±0.01 ^c	0.16±0.03 ^c	0.05±0.02 ^b	0.23±0.00 ^d
30	0.00±0.00 ^a	0.18±0.00 ^c	0.17±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	0.13±0.02 ^b
60	0.00±0.00 ^a	0.21±0.02 ^c	0.21±0.00 ^c	0.00±0.00 ^a	0.11±0.00 ^b
90	0.00±0.00 ^a	0.17±0.00 ^b	0.09±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a
Galaktoz (%)					
7	0.05±0.00 ^a	1.61±0.01 ^c	1.61±0.00 ^c	1.56±0.00 ^b	1.60±0.02 ^c
30	0.06±0.01 ^a	1.60±0.02 ^d	1.60±0.02 ^d	1.48±0.02 ^b	1.53±0.00 ^c
60	0.06±0.01	1.59±0.03 ^a	1.61±0.02 ^a	1.30±0.10 ^a	1.58±0.02 ^a
90	0.05±0.00 ^a	1.58±0.01 ^d	1.55±0.01 ^d	1.17±0.04 ^b	1.47±0.00 ^c



Şekil 4.17. Peynirlerdeki şeker ve organik asit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi



Şekil 4.18. Peynirlerdeki laktik asit ve pürivik asit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi

Ong, Henriksson ve Shah, (2007b) *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. paracasei* ve *Bifidobacterium* sp. probiyotik kültürler ile üretilen cheddar peynirinde peynirin proteolitik ve organik asit profiline olan etkisini araştırmışlardır. Asetik asit konsantrasyonu *L. casei* ve *Bifidobacterium* kültürleri içeren peynirlerde önemli düzeyde daha fazla olduğunu gözlemlemişlerdir. LC ve BB peynirlerinde, *Bifidobacterium* ve *L. casei* probiyotik kültürleri asetik asit üretilmesini pozitif yönde etkilemişlerdir. Ayrıca, çalışmada kullanılan peynir örnekleri incelendiğinde laktik asit miktarının LC peynirinde, diğer peynirlere oranla daha fazla olduğu görülmektedir ($p < 0.05$). Aynı şekilde çalışmada LA ve K2 peynirlerinin asetik asit konsantrasyonları arasında önemli bir farklılık gözükmemektedir. Bu durum *L. acidophilus*'un metabolik ürün olarak asetik asit üretmediğini göstermektedir. Ayrıca K2 ve LA peynirlerinde galaktoz miktarlarında önemli düzeyde bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sonuç, *L. acidophilus*'un galaktozu metabolize edemediğini göstermektedir.

Wang ve ark. (2009), soy ve sığır sütünde *L. casei* Zhang'ın fermentasyon karakteristiklerini incelemişlerdir ve çalışmanın sonucunda *L. casei* Zhang'ın glukoz,

riboz, mannoz, fruktoz, galaktoz, sükröz, maltoz ve sorbitolü metabolize ettiğini ancak arabinoz, ksiloz, melibioz, rafinoz ve laktozun metabolize edilmesinin sınırlı düzeyde olduğunu belirtmişlerdir. LC peynirinde glukoz tamamen metabolize edilmiş iken galaktozun metabolize edilmesi sınırlı düzeydedir. Bu sonuç Wang ve ark. (2009) yapmış olduğu çalışmayı desteklemektedir.

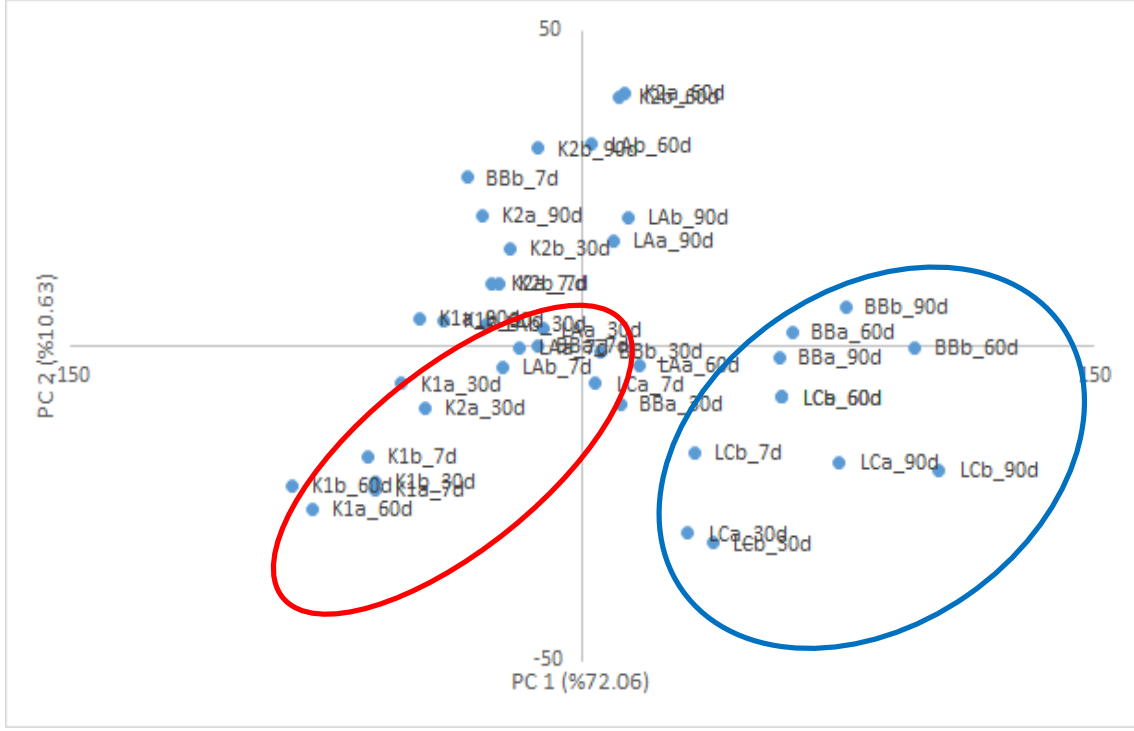
Heterofermentatif LAB, glukoz fosfoketolaz metabolik yolu ile glukozu pürivik asit üzerinden laktik asit, etanol ve CO₂'e metabolize etmektedir. Pürivik asit şeker metabolizmasının ara metabolitlerinden biridir (Wang ve ark., 2021). Peynir örneklerinde laktik asit konsantrasyonu pürivik asit konsantrasyonunun azalması ile artmaktadır (Şekil 4.18). Aynı şekilde olgunlaşma süresince K1, K2 ve LA peynirlerinde pürivik asit birikmiştir ve laktik asit konsantrasyonunda olgunlaşma süresince önemli bir değişim gözlenmemiştir. Şekil 4.18'de peynir örneklerinde pürivik asit ve laktik asit konsantrasyonlarının değişimi verilmiştir.

4.4. Uçucu Bileşik Analiz Sonuçları

Bileşen denklik teorisine göre peynir aroması, çeşitli aroma bileşenlerinin doğru konsantrasyon ve oranlardaki kombinasyonları ile oluşmaktadır. Uçucu lezzet bileşenleri, peynir olgunlaşma süresince 3 farklı metabolik yol ile oluşmaktadır. Sözü edilen metabolik biyokimyasal yollar aşağıdaki gibidir (McSweeney ve Sousa, 2000; Hassan, Abd El-Gawad ve Enab, 2012).

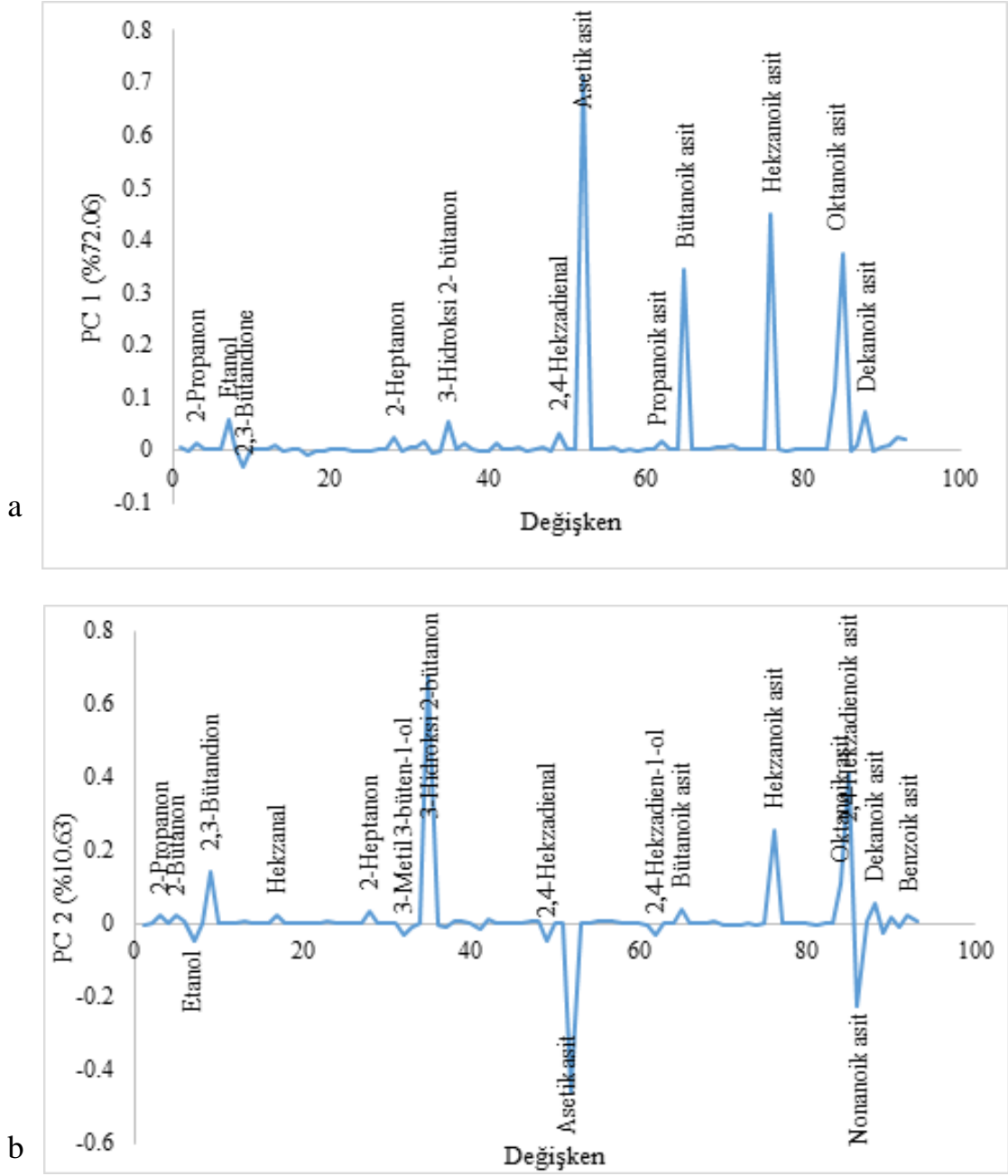
- 1- Kazein parçalanması (proteoliz),
- 2- Serbest yağ asitlerinin açığa çıkması (lipoliz),
- 3- Kalıntı laktoz ve sitrat metabolizması.

Olgunlaşma süresince peynir örneklerindeki uçucu lezzet bileşenlerindeki değişimler SPME- GC-MS ile tespit edilmiştir.



Şekil 4.19. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinde uçucu bileşen analizi

Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince uçucu bileşenleri arasındaki farklılık Temel Bileşen Analiz (PCA) yöntemi ile istatistik yapılarak belirtilmiştir. Yapılan PCA analizinde peynir örneklerinin olgunlaşma süresine göre birbirlerinden ayrıldığı gözükmemektedir ve peynir örneklerinin gruplandırılması Şekil 4.19’da verilmiştir. Kontrol peynirleri (K1 ve K2) PCA analizinde 7. gün olgunlaşma süresindeki peynir gruplarına yakın yer almıştır. Ancak LC ve BB peynirlerinin uçucu bileşenleri kontrol peynirlerine göre farklılık göstermektedir. Peynir örneklerinde probiyotik kültür kullanımı uçucu bileşen oluşumunu etkilediği Şekil 4.19’da gözükmemektedir.



Şekil 4.20. a) Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince PC1 ayırımı etkili olan uçucu bileşenler b) Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince PC2 ayırımı etkili olan uçucu bileşenler

Şekil 4.20a ve Şekil 4.20b’de sırasıyla PC1 ve PC2 deki ayırımı etkili olan uçucu bileşenler verilmiştir. PC 1 de 2-propanon, etanol, 2,3-bütandion, 2 heptanon, 3-hidroksi 2-bütanon, 2,4-hekzadienal, asetik asit, propiyonik asit, bütanoik asit, hekzaonik asit, oktaoik asit ve dekaonik asit etkili olan uçucu bileşenlerdir. PC2 ayırımında etkili olan

uçucu bileşenler ise 2-propanon, 2-bütanon, etanol, 2,3 bütandion, hekzanal, 2-heptanon, 3-metil 3-büten 1-ol, 3-hidroksi 2-bütanon, 2,4-hekzadienal, asetik asit, 2,4 heksadien 1-ol, bütanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, 2,4 heksadienoik asit, nonanoik asit, dekanıoik asit, ve benzoik asittir.

Asitler, aldehitler, esterler, ketonlar, laktonlar ve sülfür bileşenleri peynirde olgunlaşma süresince oluşan temel aroma bileşenleridir. Probiyotik peynirlerde glikoliz yolu ile oluşan asitler farklı aromalar ile peynirin duyuşsal özelliklerine katkı sağlamaktadır (Rolim ve ark., 2020) ve asetik asit, bütanoik asit, hekzanoik asit ve oktanoik asit peynirlerde en bol bulunan uçucu bileşenlerdir (Tekin ve Hayaloglu, 2023). Yapmış olduğumuz çalışmada asetik asit, propiyonik asit, bütanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, 2,4 heksadienoik asit ve dekanıoik asit en bol bulunan karboksilik asitlerdir. Çalışmamızda kullanılan peynirlerin aroma sonuçları karşılaştırıldığında en bol bulunan aroma bileşenleri asitler ve daha sonra alkollerdir. Tekin ve Hayaloglu, (2023) peynirlerde karboksilik asit üretiminin starter kültür ve ek kültür kaynaklı olduğunu belirtmişlerdir. Peynir örneklerinin uçucu bileşen açısından gruplanmasında üretilen karboksilik asitlerin etkili olduğu görülmektedir (Şekil 4.20a). Bu durum peynir örneklerinde farklı probiyotik kültür kullanımından kaynaklı olduğu düşünölmektedir.

Ong ve Shah (2009), cheddar peynirinde olgunlaşma sıcaklığının probiyotik mikroorganizmalar üzerine olan etkisini incelediklerinde *L. casei* sp. ve *Bifidobacterium* sp. inoküle edilen peynirlerde asetik asit konsantrasyonunun kontrol peynirlerine oranla daha yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada, asetik asit, PC1 ve PC2'nin ayırımında yoğun bir şekilde etkili olan uçucu bileşenlerden biridir. Şekil 2.19'da LC ve BB peynirlerinin farklı bir grup olarak birleşmesi olgunlaşma süresince diğer peynirlere oranla daha fazla asetik asit üretmesi olabilir. Bu sonucu organik asit analizi sonuçları da desteklemektedir (Çizelge 4.3).

Metil ketonlar önemli SYA'ı metabolitidir. Serbest yağ asitleri az miktarda buldukları zaman CO₂ okside olabilir ya da düşük miktarda ketonlara dönüşebilirler. Kısa zincirli SYA'leri peynir örneklerinde uzun zincirli SYA'lerine oranla daha düşük miktardadır (Collins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). Olgunlaşma süresince SYA metil ketonlara

dönüşmektedir. 2-propanon, 2-bütanon, 2,3-bütandion, 2 heptanon, 3-hidroksi 2-bütanon düşük laktozlu probiyotik ve kontrol peynirlerinin PCA analizinde ayrılmasında etkili olan keton bileşenleridir. 3-hidroksi 2-bütanon (asetoin) PC2 ayırımında etkili olan ana bileşenlerdendir. Alkan 2-on'lar ikincil alkollere indirgenebilir. *Lactobacillus* türleri, aspartik asit üzerinden aminotransferaz aktivitesi sonucunda oksaloasetat formundan diasetil ve asetoin üretebilmektedirler.

Aldehitler, düşük algılanma eşikleri nedeniyle peynir aroması üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir ve peynirde geçici bileşiklerdir çünkü hızla birincil alkollere indirgenirler veya ilgili asitlerine oksitlenirler. Benzaldehit, Strecker reaksiyonu yoluyla fenilalaninden türetilen fenilasetaldehitin oksidasyonu ile üretilebilir (Kondyli, Pappa ve Svarnas, 2016). Hekzanal ve 2,4 heksandial, düşük laktozlu probiyotik ve kontrol peynirlerinin PCA analizinde ayrılmasında etkili olan aldehit bileşenleri iken, 3-metil 3-büten 1-ol ve 2,4 heksadien 1-ol ise alkol bileşenleridir.

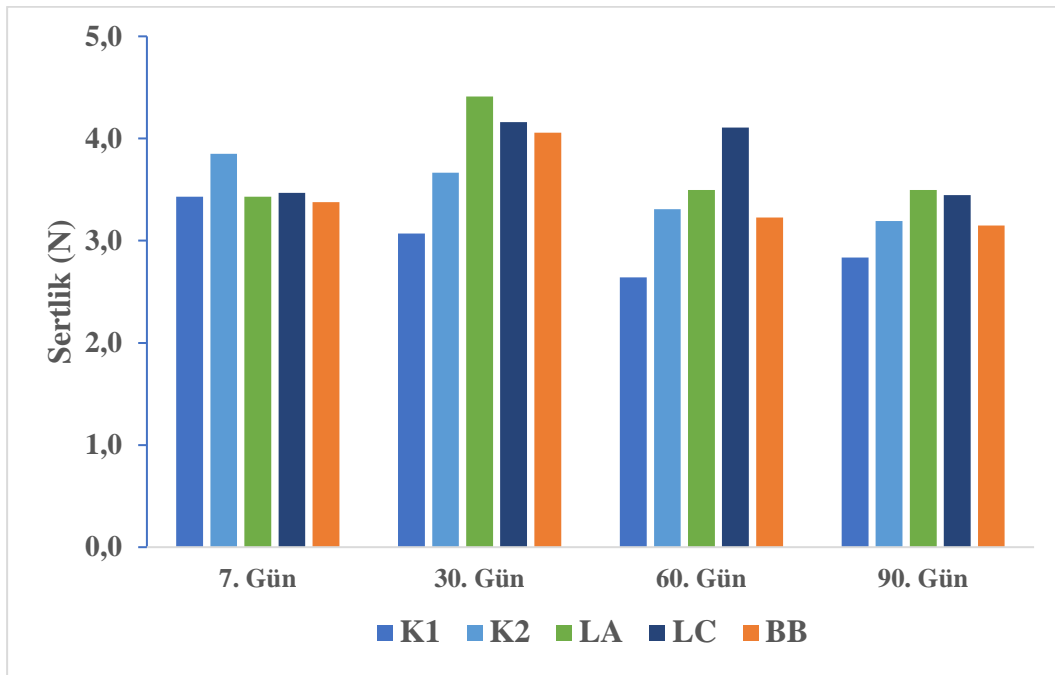
SYA'ları metil ketonların, esterlerin, ikincil alkollerin, laktonların ve alkanların öncü bileşenleridir. Asitler ile alkollerin esterifikasyonu sonucunda yüksek aromatik özelliğe sahip olan esterler oluşmaktadır. Esterler, peynirde meyvemsi tattan sorumludur. Laktonlar, su varlığında hidroksi asitlerin moleküller içi esterifikasyonu sonucunda oluşmaktadır. Laktonların peynirde varlığı yüksek düzeyde lipoliz olduğunu göstermektedir. (Tekin ve Hayaloglu, 2023). Düşük laktozlu probiyotik ve kontrol peynirlerinde PCA ayırımında esterler ve laktonlar etkili olmamıştır. Peynir örneklerinde oluşan esterler ve laktonlar eser miktardadır.

4.5. Tekstürel Analiz Sonuçları

Peynirdeki ana yapı oluşturuucu bileşen, içinde yağ küreciklerinin hapsediği kazein matrisidir; su veya serum hem kazeine bağlıdır hem de matrisin boşluklarını doldurmaktadır. Bu ağ yapısı, protein, yağ ve suyun nispi içeriğinden ve ayrıca depolama sırasında neredeyse sürekli olarak meydana gelen biyokimyasal faaliyetlerden kritik olarak etkilenmektedir (Gunasekaran ve Ak, 2003). Düşük laktozlu probiyotik UF

peynirlerinde 90 gün olgunlaşma süresi boyunca sertlik değerlerindeki değişimler Şekil 4.21’de incelenmiştir.

Sertlik, örneğe birinci sıkıştırımda uygulanan maksimum kuvvettir (N) (Tunick, 2000). Şekil 4.21’da peynir örneklerinde olgunlaşma süresince sertlik değerlerindeki değişim verilmiştir. Peynir örneklerinde sertlik değerleri 4.41 N ile 2.64 N arasında değişmektedir. Olgunlaşma ile peynir örneklerinin sertlik değerlerinde artma ve azalmalar gözlenmiştir; ancak 90. günde peynir örneklerindeki sertlik değeri 7. güne göre azalma göstermiştir. Kontrol peynirlerinde (K1 ve K2) sertlik değerleri olgunlaşma boyunca genel olarak azalma görülmektedir. Eghbalian, (2017) ve Bulat, (2017)’ın yapmış olduğu çalışmalar sonuçlarımızı desteklemektedir.



Şekil 4.21. Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince sertlik (N) değerlerindeki değişim

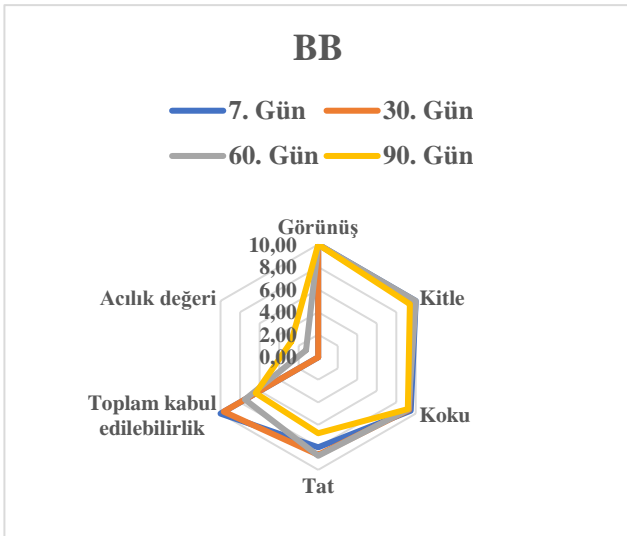
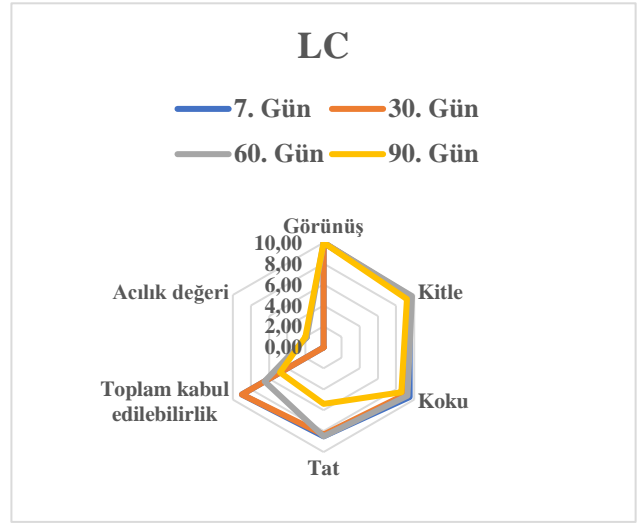
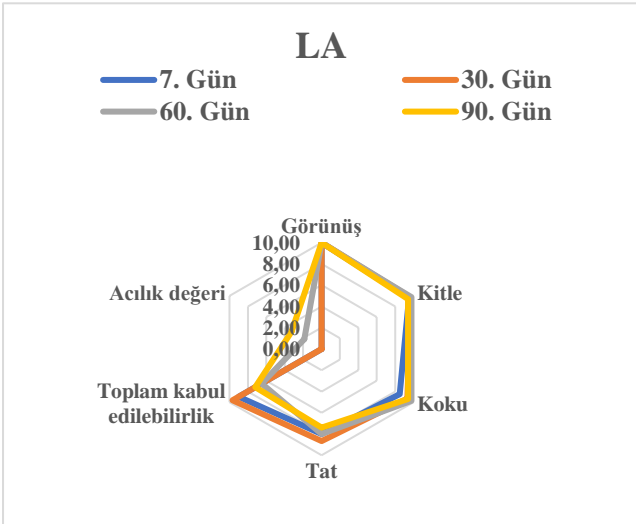
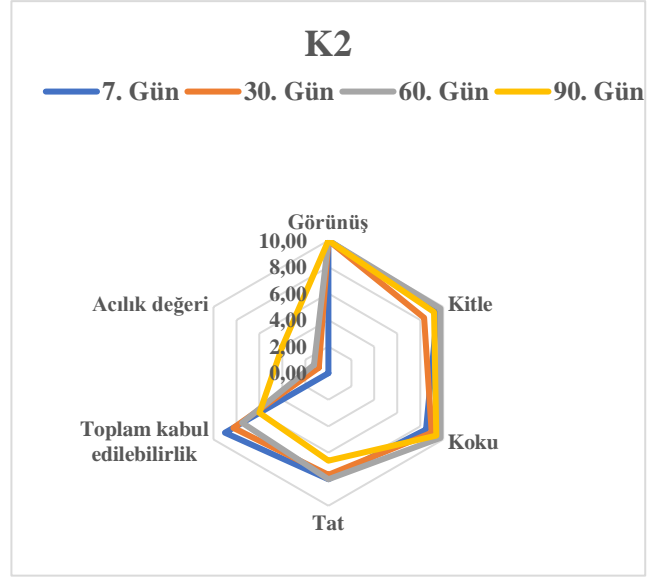
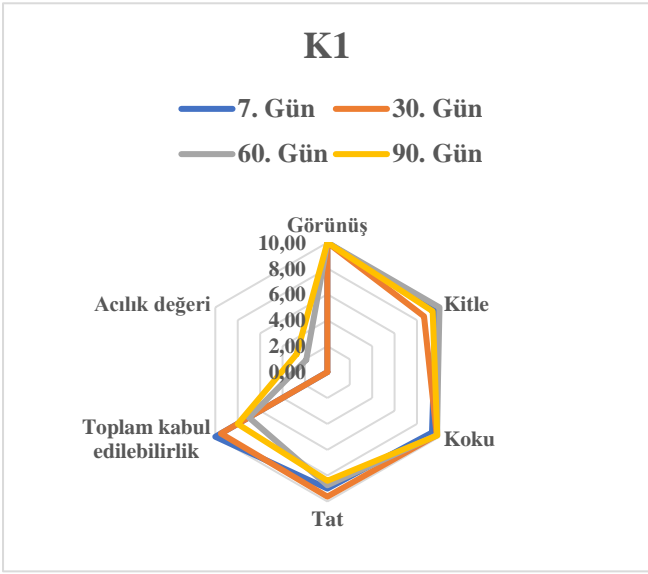
Olgunlaşma süresince peynirde meydana gelen dokusal değişikliklerin iki aşamada meydana geldiği düşünülmektedir. Olgunlaşmanın ilk iki haftasında α -s₁ kazeinin yaklaşık olarak %20’si hidrolize edilir ve kazein ağı büyük ölçüde zayıflar. Ortaya çıkan α -s₁-I peptidi peynirin yumuşamasına neden olur. Bu peptit olgunlaşmanın ilk aşamasında tüm peynirlerde bulunur. Olgunlaşmanın ikinci haftasından itibaren proteolitik değişimler

kademeli olarak artar. Bu aşamada her peptit bölünürken, iki yeni iyonik grup üretilir. Bu gruplar, protein zincirlerinin çözünmesini artırarak peynir matriksindeki serbest su miktarını azaltır. Böylece cheddar tipi peynir yaşlandıkça sertleşir (Gunasekaran ve Ak, 2003). *L. casei* ile üretilen cheddar peynirinde olgunlaşma periyodunca sertlik değerlerinde azalma olduğunu belirtmişlerdir (Ong, Henriksson ve Shah, 2007b). Bu sonucu bizim çalışmamızda desteklemektedir.

4.6. Duyusal Analiz Değerlendirme Sonuçları

Farklı probiyotik mikroorganizma kullanımının düşük laktozlu UF peynirlerinin duyusal özelliklerine olan etkisini incelemek için 7., 30., 60, ve 90. günde peynir örneklerine duyusal analiz yapılmıştır. Bu amaçla Hacettepe Üniversitesi yüksek lisans öğrencileri ve öğretim görevlilerinden oluşan 6 kişilik bir grup tadım yapmıştır. Peynir örneklerinin duyusal değerlendirilmesinde kullanılan şablon Ek 1’de verilmiştir. Düşük laktozlu UF peynir örneklerine ait görünüş, kitle, koku, tat ve kabul edilebilirlik özelliklerine ilişkin duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 4.22’te verilmiştir.

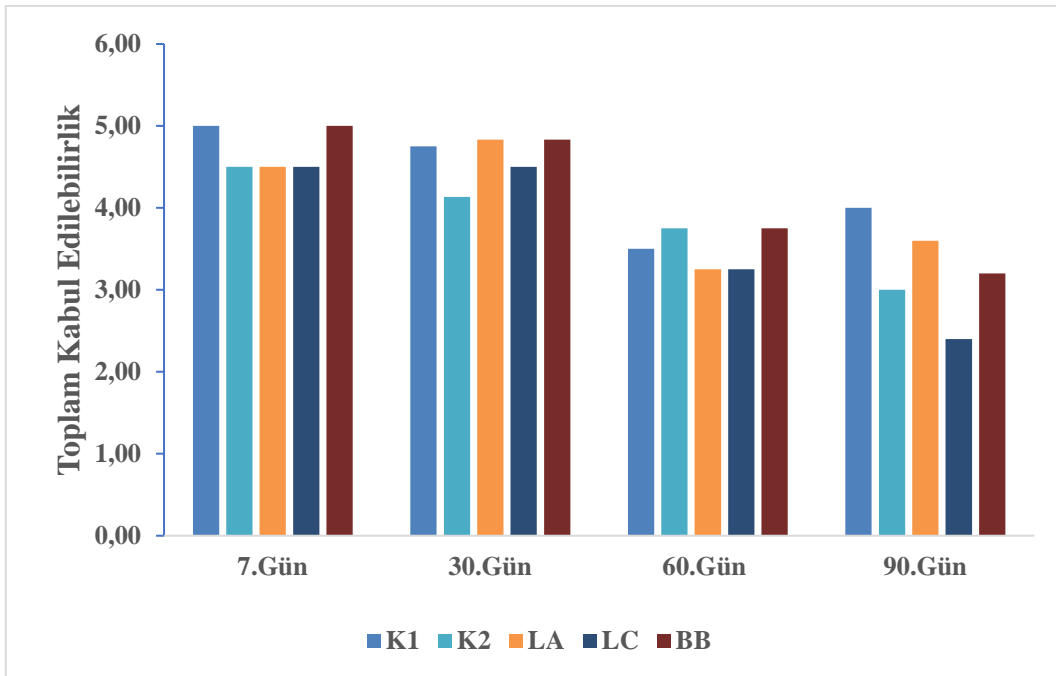
Şekil 4.22 incelendiğinde probiyotik kültür ve β -galaktosidaz enzimi kullanımı peynir örneklerinin koku, kitle ve görüşünde önemli düzeyde bir farklılık oluşturmamaktadır ve β -galaktosidaz ve probiyotik kültür kullanımına bağlı olarak olgunlaşmanın başından itibaren peynir örneklerinin tat, acılık değeri ve toplam kabul edilebilirlik değerlerinde farklılık gözlenmiştir.



Şekil 4.22. Peynir örneklerinin örümcek ağı grafiği

Asetat, peynirlerde probiyotik bakteriler (*Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*) veya starter bakterilerin metabolik aktivitesi sonucunda yüksek konsantrasyonlarda oluşabilir. Asetat peynir aromasına katkı sağlar ancak yüksek konsantrasyonu peynirlerde istenmeyen tat oluşumuna neden olabilir. Bifidobakter, fruktoz 6-fosfat metabolik yolu ile glukoz metabolizmasının son ürünü olarak asetik asit üretirler. Bu fermentasyon metabolik yolu sonucunda 2 mol glukozdan 3 mol asetik asit ve 2 mol laktik asit oluşmaktadır (Karimi, Sohrabvandi ve Mortazavian, 2012). LC ve BB peynirlerinde olgunlaşma süresince önemli düzeyde laktik asit ve asetik asit üretimi olmuştur. Bu sonuç peynirlerde 60. günden itibaren duyusal olarak da algılanmıştır ve peynirlerde oluşan rahatsız edici tat peynirin kabul edilebilirliğini olumsuz yönde etkilemiştir.

Peynir örneklerinin toplam kabul edilebilirlik değerlerindeki değişim Şekil 4.23'te verilmiştir. Olgunlaşma ile LC ve BB örneklerinin toplam kabul edilebilirliğinde önemli düzeyde azalmalar gözlemlenmiştir ($p < 0.05$). Düşük laktozlu probiyotik peynirlerin toplam kabul edilebilirliği 60. günden itibaren belirgin bir şekilde önemli düzeyde azalmaktadır. LA peynirinin duyusal analiz sonuçları incelendiğinde kontrol peynirine (K2) en yakın peynir olduğu görülmektedir.



Şekil 4.23. Peynir örneklerinin toplam kabul edilebilirlik değerlerindeki değişim

5. YORUM

Bu çalışmada 3 farklı probiyotik kültür ile düşük laktozlu probiyotik beyaz peynir üretilmiştir. Farklı probiyotik kültürlerin (*L. acidophilus*, *L. casei* ve *B. bifidum*) 90 günlük olgunlaşma süresince peynirin mikrobiyolojik, fiziksel, kimyasal, biyokimyasal ve duyuşal özelliklerine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışmada laktozlu ve düşük laktozlu olmak üzere 2 farklı kontrol peyniri mevcuttur. Araştırma sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Klinik çalışmalara göre probiyotik ürün minimum 6-8 log kob/g probiyotik canlı mikroorganizma içerdiği zaman konakçı üzerinde terapötik etki göstermektedir (Zieli ve ark., 2018). LA, LC ve BB peynirlerinde olgunlaşma süresince probiyotik mikroorganizma sayısı en düşük 7.25 log kob/g olarak tespit edilmiştir. UF peynir, salamurası ile muhafaza edilen bir peynir türüdür. Üretim esnasına peynirde mineral kaybı olmamaktadır. Bu durum peynirin tamponlama kapasitesini arttırarak mikroorganizmaların canlılığını koruyabilmesi için iyi bir ortam oluşturabilmektedir. Probiyotik mikroorganizmalar starter kültüre ek olarak 7 log kob/g olacak şekilde ilave edildiğinde 90. günde peynirlerde probiyotik mikroorganizma sayısı 7 log kob/g'ın üzerinde tespit edilmiştir. Düşük laktozlu probiyotik peynir üretiminde ilave edilen 7 log kob/g sayısı son üründe hedef sayının tutturulması için yeterli olduğu tespit edilmiştir. Probiyotik mikroorganizmalar raf ömrü boyunca peynir örneklerinde canlılıklarını koruduğu görülmektedir.
- *L. acidophilus* diğer probiyotik kültürlerle (*L. casei* ve *B. bifidum*) göre peynirde canlılığını stabil bir şekilde korumaktadır. LC peynirinde *L. casei* 90 gün olgunlaşma süresi sonunda 1 log kob/g oranında azalma göstererek raf ömrü sonunda 7.25 log kob/g olacak şekilde canlılığını sürdürmüştür. LC ve BB peynirinde probiyotik mikroorganizma sayısı 30. günden itibaren belirgin bir şekilde azalmaya başlamıştır. Aynı şekilde peynir örneklerinde 30. günden itibaren asetik asit ve laktik asit konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak peynir pH'sında önemli düzeyde düşüşler gözlenmiştir ($p < 0.05$). Bu durum LC ve BB peynirlerinin olgunlaşma süresince duyuşal olarak kabul edilebilirliğinde olumsuz yönde etkilemektedir.

- Düşük pH ve fermente edilebilen karbonhidratın azalmasına bağlı olarak kontrol ve düşük laktozlu UF peynirinde laktokok sayısında olgunlaşma süresince azalma gözlenmiştir. *L. casei* ve *B. bifidum* içeren düşük laktozlu probiyotik UF peynirinde laktokok canlı mikroorganizma sayısı önemli düzeyde farklılık göstermektedir ($p<0.05$). Düşük pH, laktokokların canlılığını sürdürmesine izin vermemektedir. Bu sebeple LC peynirinde 60. günden itibaren; BB peynirinde ise 90. günden itibaren laktokok tespit edilememiştir. Düşük pH aynı zamanda probiyotik mikroorganizmaların 30. günden itibaren azalmasına neden olmuştur. Bu açıdan seçilen ek probiyotik kültürlerin post asidifikasyona olası etkilerine dikkat edilmelidir.
- Peynirin pH değeri probiyotik kültürlerin canlılığı için önemli bir kriterdir. Laktokoklar ve LAB, pH 4.5-4.7 arasında canlılığını sürdürmekte ve gelişebilmektedirler. pH düşüşü LAB'ın gelişimi üzerinde stres oluşturmaktadır. LC ve BB peynirlerin pH değeri olgunlaşma periyodunda önemli derecede düşüş göstermiştir. 90. günde peynir pH sı sırasıyla LA, LC ve BB'de 4.62, 4.20 ve 4.39'dur. Düşük pH değerine rağmen düşük laktozlu UF peyniri *L. casei* ve *B. bifidum*'un tüketicilere ulaşabilmesi için iyi bir taşıyıcı olduğunu göstermektedir. β -galaktosidaz enzimi ile laktoz glukoz ve galaktoza parçalanmıştır. Bu durum fermente edilebilen şeker miktarının artmasını sağlamıştır. Böylece mikrobiyel aktiviteye bağlı olarak peynir pH'sında K2 peynirinde K1 peynirine oranla daha fazla düşüş gözlenmiştir. Düşük laktozlu probiyotik UF peynirin pH değeri, olgunlaşma süresince probiyotik mikroorganizmaların laktik asit ve diğer organik asitleri üretmesi sebebi ile kontrol peynirine (K2) oranla önemli düzeyde düşüş göstermiştir ($p<0.05$). Aynı zamanda K2 peynirinde fermente edilebilen şeker miktarının K1'e kıyasla daha fazla olması starter laktokokların daha iyi gelişebilmesi için bir ortam oluşturmuştur.
- pH peynirde birçok olayı etkileyen önemli bir parametredir. Peynir pH'sındaki değişim ürünün tekstürel, duyuşal, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerini etkilemektedir. pH düşüşüne bağlı olarak proteinlerin su tutma kapasitesi azalmakta ve üründe sineresis dediğimiz su salma olayı oluşmaktadır. Peynir

örneklerinde olgunlaşma süresince pH düşüşüne bağlı olarak nem kaybı olmuştur ve peynirlerin % KM oranlarında artış gözlenmiştir. Bu UF beyaz peynirlerde randıman açısından olumsuz bir durumdur.

- Birincil proteoliz suda çözünür azot oluşumundan sorumludur. Peynir örneklerinde olgunlaşma süresince SÇA azot miktarları incelendiğinde düşük laktozlu probiyotik UF peynirde probiyotik kültür kullanımının birincil proteolizi etkilemediği görülmektedir. Olgunlaşma ile pıhtılaştırıcı enzimler kazeini parçalayarak orta ve küçük boyutlu peptitler oluşturmaktadır. Bu parçalanma reaksiyonu sonucunda SÇA miktarında artma gözlenmiştir ve bu durum olgunlaşma süresince pıhtılaştırıcı enzimlerin aktivitesinin devam ettiğini göstermektedir. K2 örneğinde %12'lik TCA'da çözünür azot miktarı β -galaktosidaz enzimi kullanımına bağlı olarak 30. günde önemli düzeyde artmaktadır ($p<0.05$). Ticari enzim preparatı; β -galaktosidaz ve düşük düzeyde proteaz ihtiva etmektedir (Enzim preparatının teknik özelliklerinde bildirilmektedir). Olgunlaşma süresince probiyotik kültürlerin peptidaz aktivitesi devam ettiği için toplam serbest aminoasit miktarında önemli düzeyde artış olmuştur ve bu durum probiyotik kültür kullanımına bağlı olarak ikincil proteolizde artış olduğunu göstermektedir (Şekil 4.8) ($p<0.05$). Bu durum uçucu organik bileşenlerin olgunlaşma süresince artmasını katkıda bulunmuş olabilir. Olgunlaşma süresince probiyotik kültür kullanımına bağlı olarak α -s1 kazein ve β -kazein fraksiyonlarında gözle görünür belirgin bir farklılık gözlenmemiştir.
- LC ve BB peynirlerinde SYA miktarı kontrol ve LA peynirine kıyasla önemli ölçüde daha fazladır ($p<0.05$). Bu durum LC ve BB peynirlerinde lipolizin probiyotik kültür kullanımına bağlı olarak arttığını göstermektedir. Peynir örneklerinde çoklu doymamış yağ asitleri özellikle, palmitik asit (C16:0) diğer SYA'larına kıyasla daha fazladır. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinde SYA miktarı ve dolayısıyla lipoliz olayında artış gözlenmiştir. Düşük laktozlu probiyotik UF peynirinde SYA miktarı (mg/kg peynir) Çizelge 4.2'de verilmiştir. K1 ve K2 peynirlerinde olgunlaşma süresince SYA miktarlarında önemli düzeyde farklılık gözlenmemektedir. Bu durum laktaz enzimi kullanımının SYA miktarını önemli düzeyde etkilemediğini göstermektedir.

- β -galaktosidaz enziminin vücutta yetersiz üretilmesi durumunda bireylerde gastrointestinal semptomlarına neden olmaktadır. Laktoz intoleransı olarak adlandırılan bu rahatsızlığın tek tedavi yöntemi laktozun diyetten çıkarılmasıdır. K1 peynirinde olgunlaşma süresince laktoz miktarında önemli düzeyde bir değişim olmamıştır. Ultrafiltrasyon ile peynir üretimi esnasında laktozun bir kısmı permeatta kalmakta ve olgunlaşma süresince starter kültür tarafından metabolize edilmesine rağmen tamamen uzaklaştırılamamaktadır. Bu sebeple düşük laktozlu UF peyniri üretiminde β -galaktosidaz enzimi ile laktozun uzaklaştırılması gerekmektedir. Düşük laktozlu peynirlerin laktoz konsantrasyonunun %1'in altında olması gerekmektedir. Bu çalışma kapsamında üretilen düşük laktozlu peynirlerin laktoz konsantrasyonu %1'in altındadır.
- Olgunlaşma süresince glikoliz, lipoliz ve proteoliz olayı sonucunda uçucu aroma bileşenleri oluşmaktadır. Bu çalışma kapsamında peynir örnekleri arasında ayırım sağlayan uçucu bileşenler 2-propanon, 2-bütanon, hekzanal, etanol, 2,3-bütandion, 2 heptanon, 3-metil 3-büten 1-ol, 3-hidroksi 2-bütanon, 2,4-hekzadienal, 4 hekzadien 1-ol, asetik asit, propiyonik asit, bütanoik asit, hekzaonik asit, oktanoik asit, dekanıoik asit ve benzoik asittir. Peynirlerde olgunlaşma süresi uçucu bileşenlerin ayırımında etkili bir faktördür. Bu durum glikoliz, lipoliz ve proteolize bağlı olarak değişimlerin olgunlaşma süresince devam ettiğini göstermektedir. LC ve BB peynirlerinde *L. casei* ve *B. bifidum* kullanımı uçucu bileşen analizini önemli ölçüde etkilemektedir (Şekil 4.19).
- Peynirin pH'sı ve olgunlaşma boyunca devam eden proteoliz peynirin tekstürel özelliklerini etkilemektedir. Peynir örneklerinde 60. günde pH düşüşü olmakla birlikte sertlik değerlerinde azalma gözlenmiştir. Peynir örneklerinde olgunlaşma süresince proteolizin devam etmesi 90. günde peynir örneklerinin sertlik değerlerinin azalmasına ve sürülebilir özelliklerinin artmasını sağlamaktadır. Probiyotik kültür ve β -galaktosidaz enzimi kullanımı peynir örneklerinin görünüşünde önemli düzeyde bir farklılık oluşturmamıştır. Ancak olgunlaşma süresince kalıntı β -galaktosidaz enziminin proteolitik aktivitesi devam etmektedir

ve bu durum düşük laktozlu peynir örneklerinde acı tadın oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir. Peynirlerin olgunlaşma süresince kabul edilebilirlik değerleri incelendiğinde LC ve BB peynirlerinde yoğun ekşi tat ve kırılğanlığının fazla olması kabul edilebilirliğinin önemli düzeyde azalmasına neden olmuştur. LA peynirinde olgunlaşma süresince pH değerinin kontrol peynirleri ile önemli düzeyde farklılık oluşturmaması duysal olarak kabul edilebilirliğini önemli düzeyde arttırmıştır. Aynı zamanda raf ömrü süresince probiyotik canlı mikroorganizma sayısının 7 log kob/g'ın üzerinde olması *L. acidophilus*'un düşük laktozlu probiyotik UF beyaz peyniri için iyi bir taşıyıcı olduğunu göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

- Ahtesh, F. B., Stojanovska, L., Apostolopoulos, V., Anti-hypertensive peptides released from milk proteins by probiotics, 115 (2018) 103–109.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., Marino, R., Trani, A., Faccia, M., Biochemical patterns in ovine cheese: Influence of probiotic strains, Journal of Dairy Science, 93(8) (2010) 3487–3496.
- Andrews, A. T., Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins, Journal of Dairy Research, 50 (1983) 45–55.
- Ardö, Y., Flavour formation by amino acid catabolism, Biotechnology Advances, 24(2) (2006) 238–242.
- Ardö, Y., Polychroniadou, A., Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg, 1999.
- Bech, A. M., Characterising ripening in UF-cheese, International Dairy Journal, 3 (1993) 329–342.
- Bintsis, T., Papademas, P., An Overview of the Cheesemaking Process in Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics, Papademas, P. and Bintsis, T. (Eds.), John Wiley & Sons Ltd., USA, p. 120–156., 2018.
- Bulat, T., Beyaz Peynir Üretiminde Probiyotik *Enterococcus faecium*'un Ek Kültür Olarak Kullanımı ve Bunun Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara., 2011.
- Bulat, T., Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyelinin Ultrafiltre Beyaz Peynirin Olgunlaşma Süreci Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara., 2017.
- Bulat, T., Topcu, A., The effect of oxidation-reduction potential on the characteristics of UF white cheese produced using single strains of *Lactococcus lactis*, LWT - Food Science and Technology, 109 (2019) 296–304.
- Bulat, T., Topcu, A., Oxidation-reduction potential of UF white cheese: Impact on organic acids, volatile compounds and sensorial properties, Lwt-Food Science and Technology, 131 (2020) 109770.

- Bulat, T., Topcu, A., Influences of oxidation-reduction potential on kefir: Microbial counts, organic acids, volatile compounds and sensory properties, *Lwt-Food Science and Technology*, 144 (2021) 111195.
- Byong H. L., Other Organism-Based Processes and Products in Fundamentals of food Biotechnology, 2. Baskı, John Wiley&Sons, p.313-397, 2015.
- Cadwallader, K. R., Singh, T., Flavours and Off-Flavours in Milk and Dairy Products, in *Advanced Dairy Chemistry: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, Fox, P. F. and McSweeney, P. L. H. (Eds.), Vol. 3, 3. Baskı, Springer, New York, p. 631–690, 2009.
- Castele, S. Van de., Vanheuverzwijn, T., Ruysen, T., Assche, P. Van., Swings, J., Huys, G., Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starters, *International Dairy Journal*, 16 (2006) 1470–1476.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H., Wilkinson, M. G., Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge, *International Dairy Journal*, 13 (2003) 841–866.
- Collins, Y. F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M. G., Lipolysis and Catabolism of Fatty Acids in Cheese Chemistry, Physics and Microbiology, Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. (eds.), Vol 1, 3. Baskı,Elsevier Academic Press, UK, p. 373–389, 2004
- Cuffia, F., George, G., Godoy, L., Vinderola, G., Reinheimer, J., Burns, P., In vivo study of the immunomodulatory capacity and the impact of probiotic strains on physicochemical and sensory characteristics: Case of pasta filata soft cheeses, *Food Research International*, 125 (2019) 1–9.
- Daigle, A., Roy, D., Vuilleumard, J. C., Production of probiotic cheese (Cheddar-like cheese) using enriched cream fermented by *Bifidobacterium infantis*, *Journal of Dairy Science*, 82 (1999) 1081–1091.
- De Prisco, A., Mauriello, G., Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool, *Trends in Food Science and Technology*, 48 (2016) 27–39.
- Eghbalian, S., Utilization of Commercial Adjunct Culture in the Manufacture of Ultrafiltrated White Cheese and its Effect on the Cheese Properties, *Yüksek Lisans tezi, Hacettepe*

Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara., **2017.**

FAO/WHO., Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Canada., **2002.**

Fox, P. F., Potentiometric determination of salt in cheese, *Journal of Dairy Science*, 46 (**1963**) 744–745.

Fox, P. F., Lactose: Chemistry and Properties in *Advanced Dairy Chemistry: Lactose, Water, Salts and Minor Constituents*, Fox, Patrick F. and McSweeney, P. L. H. (eds.), Vol. 3, 3. Baskı, Springer, New York, p. 1–16, **2009.**

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening in Fundamentals of Cheese Science*, 2nd ed., Springer, New York, p. 391–442, **2017a.**

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening in Fundamentals of Cheese Science*, 2. Baskı, Springer, New York, p. 1–10, **2017b.**

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening in Fundamentals of Cheese Science*, 2. Baskı, Springer, New York, p. 71–104. **2017.**

Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening in Fundamentals of Cheese Science*, 2. Baskı, Springer, New York, p. 333–390, **2017.**

Gomes, A. A., Braga, S. P., Cruz, A. G., Cadena, R. S., Lollo, P. C. B., Carvalho, C., Amaya Farfan, j., Fariha, J. A. F., Bolini, H. M. A., Effect of the inoculation level of *Lactobacillus acidophilus* in probiotic cheese on the physicochemical features and sensory performance compared with commercial cheeses, *Journal of Dairy Science*, 94 (**2011**) 4777–4786.

Gunasekaran, S., Ak, M., *Cheese Texture*, in *Cheese Rheology and Texture* CRC Press, London, p. 299–330, **2003.**

Harju, M., Kallioinen, H., Tossavainen, O., Lactose hydrolysis and other conversions in dairy products: Technological aspects, *International Dairy Journal*, 22 (**2012**) 104–109.

Hassan, F. A. M., Abd El-Gawad, M. A. M., Enab, A. K. Flavour compounds in cheese (review), *International Journal of Academic Research*, 4 (**2012**) 169–181.

- Hettinga, Kasper, A., Lactose in the dairy production chain, in Lactose, Paques, M. and Lindner, C. (eds.) Elsevier, UK, p. 231–266, **2019**.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R. B., Flint, H. J., Salminen, S., Calder P. C., Sanders, M. E., The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic, Consensus Statement, p. 506-514, **2015**.
- Huntkins, R. W., Nannen, N. L, pH Homeostasis in Lactic Acid Bacteria, Journal of Dairy Science, 76 (**1993**) 2354–2365.
- IDF, Cheese and processed cheese. Determination of the total solids content. Standard 4A. Brussels, Belgium, **1982**.
- IDF, Milk and milk products. Determination of nitrogen content and crude protein calculation Kjeldahl principle. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, **1993**.
- Jesus, A. L. T., Fernandes, M. S., Kamimura, B. A., Prado-Silva, L., Silva, R., Esmerino, E., A., Cruz, A. G., Sant’Ana, A. S., Growth potential of *Listeria monocytogenes* in probiotic cottage cheese formulations with reduced sodium content, Food Research International, 81 (**2016**) 180–187.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M., Amiri-Rigi, A., Selective enumeration of probiotic microorganisms in cheese, Food Microbiology, 29 (**2012**) 1–9.
- Karimi, R., Mortazavian, A. M., Da Cruz, A. G, Viability of probiotic microorganisms in cheese during production and storage: A review, Dairy Science and Technology, 91 (**2011**) 283–308.
- Kasımoğlu, A., Göncüoğlu, M., Akgün, S., Probiotic white cheese with *Lactobacillus acidophilus*, International Dairy Journal, 14 (**2004**) 1067–1073.
- Khattab, A. R., Guirguis, H., Tawfik, S. M., Farag, M. A., Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment, Trends in Food Science and Technology, 88 (**2019**) 343–360.
- Khurana, S., Meena, G. S., Effect of ultrafiltration of milk and inoculum level on titratable acidity and pH in dahi, Indian Journal Dairy Science, 67 (**2015**) 477-481.
- Kilara, A., Principles of dairy processing in Manufacturing Yogurt and Fermented Milks, Chandan, R. C. ve Kilara, A. (eds.), 2nd ed., John Wiley & Sons, Inc, UK, p. 95–113,

2013.

- Kilara, A., Chandan, R. C., Greek-style yogurt and related products, in *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Chandan, R. C. ve Kilara, A. (eds.), 2. Baskı, John Wiley & Sons, Inc, UK, p. 297–317, **2013**.
- Kilcawley, K., O’Sullivan, M., Cheese Flavour Development and Sensory Characteristics in *Global Cheesemaking Technology*, Papademas, P., Bintsis, T. (eds.), John Wiley & Sons Ltd., UK, p. 45–64, **2018**.
- Köksel, H., Karbonhidratlar in *Gıda Kimyası, Saldamlı, İ.* (ed.). 5. Baskı. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları, p. 47–133, **2016**.
- Kondyli, E., Katsiari, M. C., Masouras, T., Voutsinas, L. P., Free fatty acids and volatile compounds in low-fat Feta-type cheese made with commercial adjunct cultures, *International Dairy Journal*, 79 , (**2002**) 199–205.
- Kuchroo, C. N., Fox, P. F., Fractinization of the water soluble nitrogen from Cheddar cheese: chemical methods, *Milchwissenschaft*, 37, (**1982**) 651–653.
- Kumar, P., Sharma, N., Ranjan, R., Kumar, S., Bhat, Z. F., Jeong, D. K., Perspective of Membrane Technology in Dairy Industry A Review, 26 (**2013**) 1347–1358.
- Lee, B. H., Other Organism-Based Processes and Products, in *Fundamentals of Food Biotechnology 2. Baskı*, Wiley Blackwell, UK, p. 384–397., **2015**.
- Lipnizki, F., Cross-Flow Membrane Applications in the Food Industry in *Membrane Technology*, Peinemann, K. V., Nunes, C. S., Giorno, L. (eds.), Vol. 3, Weinheim Wiley-VCH, p. 1–24., **2010**.
- Lu, L., Guo, L., Wang, K., Liu, Y., Xiao, M., β -Galactosidases: A great tool for synthesizing galactose-containing carbohydrates, *Biotechnology Advances*. Elsevier, 39, (**2020**) 107465.
- Marella, C., Muthukumarappan, K., Metzger, L. E., Application of Membrane Separation Technology for Developing Novel Dairy Food Ingredients, *Journal of Food Processing & Technology*, 04, **2013**.
- McSweeney, P. L. H, Biochemistry of Cheese Ripening, in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Fuquay, J., Fox, P. F., Mcsweeney, P. L. H. (eds.). 2. Baskı, Elsevier, UK, p. 667–674, **2011**.

- McSweeney, P.L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology*, Vol. 1, 3. Baskı, General Aspects. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Elsevier Academic Press, London, p. 379–386, **2017**.
- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., *Metabolism of Residual Lactose and of Lactate and Citrate in Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T.), Vol. 1, 3. Baskı, , Elsevier Academic Press, UK, p. 361–371, **2004**.
- McSweeney, P. L. H., Sousa, M. J., *Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review*, *Lait*, 80 (**2000**) 293–324.
- McSweeney, P.L.H., *Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology*, Vol. 1, 3. Baskı, General Aspects. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Elsevier Academic Press, London, p. 347–360, **2004**.
- Miočinović, J., Radulovic, Z., Paunovic, D., Miloradovic, Z., Trpkovic. G., Radovanovic, M., Pudja, P., *Properties of low-fat ultra-filtered cheeses produced with probiotic bacteria*, *Archives of Biological Sciences*, 66 (**2014**) 65–73.
- Mistry, V. V., Maubois, J. L., *Application of Membrane Separation Technology to Cheese Production Overview in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology*, Vol. 1, 3. Baskı, General Aspects. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Elsevier Academic Press, London, p. 261–285, **2004**.
- Moghari, A. A., Razavi, S., Ehsani, M., Mousavi, M., *Development and Critical Quality Characterization of Functional UF-Feta Cheese by Incorporating Probiotic Bacteria*, *Journal of Food Processing and Preservation*, 39 (**2015**) 599–605.
- Neffe-skoci, K., Rzepkowska, A., Szydłowska, A., *Trends and Possibilities of the Use of Probiotics in Food Production, in Alternative and Replacement Foods*, (**2018**) 65–94.
- Ningtyas, D. W., Bhandrai, B., Bansal, N., Prakash, S., *The viability of probiotic Lactobacillus rhamnosus (non-encapsulated and encapsulated) in functional reduced-fat cream cheese and its textural properties during storage*, *Food Control*, 100 (**2019**) 8–16.
- Ong, L., Henriksson, A., Shah, N. P., *Chemical analysis and sensory evaluation of Cheddar cheese produced with Lactobacillus acidophilus, Lb. casei, Lb. paracasei or*

- Bifidobacterium sp., *International Dairy Journal*, 17 (2007a) 937–945.
- Ong, L., Henriksson, A., Shah, N. P., Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. paracasei*, *Lb. casei* or *Bifidobacterium sp.*, *International Dairy Journal*, 17 (2007b) 67–78.
- Ong, L., Shah, N. P., Probiotic Cheddar cheese: Influence of ripening temperatures on survival of probiotic microorganisms, cheese composition and organic acid profiles, *LWT Food Science and Technology*, 42 (2009) 1260–1268.
- Parker, A. M., Watson, R. R., Lactose Intolerance in Nutrients in Dairy and Their Implications for Health and Disease, Watson, R. R., Collier, Robert, J., Preedy, V. (Eds.), Elsevier, UK, p. 205–211, 2017.
- Pereira, J. A., Pinto, S. S., Dias, C. O., Viera, P. T., Riberiro, D. H. B., Amboni, R. D. M. C., Fritzen-Freire, C. B., Potentially symbiotic fermented milk: A preliminary approach using lactose-free milk, *LWT-Food Science and Technology*, 118 (2002) 1–4.
- Phillips, M., Kailasapathy, K., Tran, L., Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium sp.*, *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese, *International Journal of Food Microbiology*, 108 (2006) 276–280.
- Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Dias, C. O., Amboni, R. D. M. C., A potential technological application of probiotic microcapsules in lactose-free Greek-style yoghurt, *International Dairy Journal*, 97 (2019) 131–138.
- Pouliot, Y., Membrane processes in dairy technology-From a simple idea to worldwide panacea, *International Dairy Journal*, 18 (2008) 735–740.
- Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Baines, S. K., Balthazar, C. F., Cruz, A. G., Esmerino, E. A., Freitas, M. Q., Pimentel, T. C., Wittwer, A. E., Naumovski, N., Graça, J. S., Sant’Ana, A. S., Ajlouni, S, Vasilijevic, T., Probiotics in Goat Milk Products : Delivery Capacity and Ability to Improve Sensory Attributes, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, p. 1–16, 2019.
- Reale, A., Ianniello, R. G., Ciocia, F., Renzo, T. D., Boscino, F., Ricciardi, A., Coppola, R., Parente, E., Zotta, T., McSweeney, P. L. H., Effect of respirative and catalase-positive *Lactobacillus casei* adjuncts on the production and quality of Cheddar-type cheese, *International Dairy Journal*, 63 (2016) 78–87.

- Robert W. Blakesley., A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie brilliant blue G250, *Analytical Biochemistry*, 82 (1997) 580–582.
- Rodrigues, D., Rocha-Santos, T. A. P., Gomes, A. M., Goodfellow, B. J., Freitas, A. C., Lipolysis in probiotic and synbiotic cheese: The influence of probiotic bacteria, prebiotic compounds and ripening time on free fatty acid profiles, *Food Chemistry*, 131 (2012) 1414–1421.
- Rolim, F. R. L., Neto, O. C. F., Oliveira, M. E. G., Oliveira, C. J. B., Queiroga, R. C. R. E., Cheeses as food matrixes for probiotics: In vitro and in vivo tests, *Trends in Food Science and Technology*, 100, (2020) 138–154.
- Sendra, E., Sayas-Barbera, E., Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J. A., Effect of Food Composition on Probiotic Bacteria Viability in Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics, Watson, R., Preedy, V. (Eds.), 1. Bask1, Elsevier Inc., UK, p. 247–269, 2016.
- Shalabi, S., Fox, P., Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods, *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11(2) (1987) 135–151.
- Shori, A. B., The potential applications of probiotics on dairy and non-dairy foods focusing on viability during storage, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4 , (2015) 423–431.
- Singh, T. K., Cadwallader, K. R., in *Cheese*, Chandan, R. C., Dairy Processing & Quality Assurance, Wiley Blackwell, USA, p. 273–307, 2008.
- Singh, T. K., Drake, M. A., Cadwallader, K. R., Flavor of Cheddar Cheese: A Chemical and Sensory Perspective, *Comprehensive Reviews, Food Science and Food Safety*, 2 , (2003) 166–189.
- Sousa, M. J., Ardö, Y., McSweeney, P. L. H., Advances in the study of proteolysis during cheese ripening, 11 (2001) 327–345..
- Suri, S., Kumar, V., Prased, R., Tanwar, B., Goyal, A., Kaur, Y., Gat, Y., Kumar, A., Kaur, j., Singh, D., Considerations for development of lactose-free food, *Journal of Nutrition and Intermediary Metabolism*, 15 (2019) 27–34.
- Tekin, A., Hayaloglu, A. A., Understanding the mechanism of ripening biochemistry and flavour development in brine ripened cheeses, *International Dairy Journal*, 137 (2023) 105508.

- Topcu, A., Bulat, T., Özer, B., Process design for processed Kashar cheese (a pasta-filata cheese) by means of microbial transglutaminase: Effect on physical properties, yield and proteolysis, *Lwt-Food Science and Technology*, 125 (2020) 109226.
- Topçu, A., Saldamli, I., Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Turkish white cheese made of pasteurized cows milk, *International Journal of Food Properties*, 9 (2006) 665–678.
- Troise, A. D., Bandini, E., Donno, R., D., Meijer, G., Trezzi, M., Fogliano, V., The quality of low lactose milk is affected by the side proteolytic activity of the lactase used in the production process, *Food Research International*, 89 (2016) 514–525.
- Tunick, M. H., Rheology od Dairy Foods that Gel, Stretch, and Fracture, *Journal of Dairy Science*, 83 , (2000) 1892–1898.
- Turkmen, N., Akal, C., Özer, B., Probiotic dairy-based beverages: A review, *Journal of Functional Foods*, 53, (2019) 62–75.
- Upadhyay, V. K., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Fox, P. F., Proteolysis in Cheese during Ripening in Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology, , Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T.), Vol. 1, 3. Baskı, , 3. Baskı, Elsevier Ltd, UK, p. 391–433, 2004.
- Verdini, R. A., Zorrilla, S. E., Rubiolo, A. C., Characterisation of soft cheese proteolysis by RP-HPLC analysis of its nitrogenous fractions. Effect of ripening time and sampling zone, *International Dairy Journal*, 14 (2004) 445–454.
- Vinderola, C. G., Reinheimer, J. A., Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria, *International Dairy Journal*, 9 (1999) 497–505.
- Vinícius, G., Oliveria, B., Junior, A. I. M., Thomaz-Soccal, V., Soccal, C., How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria, *Biotechnology Advances*. Elsevier, 36 (2018) 2060–2076.
- Wang, J., Guo, Z., Zhang, Q., Yan, L., Chen, W., Liu, X-M., Zhang, H-P., Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage, *Journal of Dairy Science*, 92 (2009) 2468–2476.
- Wang, Y., Wu, j., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., Geng, W., Metabolism Characteristics of Lactic Acid Bacteria and the Expanding Applications

in Food Industry,” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9 (2021) 1–19.

Yildirim-Elikoglu, S., Vural, H., Erdem, Y. K., Effect of phenolic compounds on the activity of proteolytic enzymes during rennet induced coagulation of milk and ripening of miniature cheese, *LWT - Food Science and Technology*-, 136 (2021) 110337.

Zeppa, G., Conterno, L., Gerbi, V., Determination of organic acids, sugars, diacetyl, and acetoin in cheese by high-performance liquid chromatography, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, (2021) 2722–2726.

Zhao, D., Le, T. T., Nielsen, S. D., Larsen, L. B., Effect of Storage on Lactase-Treated β -Casein and β -Lactoglobulin with Respect to Bitter Peptide Formation and Subsequent in Vitro Digestibility, *Agriculture and Food Chemistry*, 65 (2017) 8409–8417.

Zielinska, D., Oldak, A., Rzepkowska, A., Zielinski, K., Enumeration and Identification of Probiotic Bacteria in Food Matrices in *Advances in Biotechnology for Food Industry*, Holban A., M., Grumezescu, A. M. (Eds.), Associated Press, p. 167–196, 2018.

EKLER

EK 1 – Peynir örnekleri için duyuşal muayene değerlendirme puanları

DEğERLENDİRME KRİTERLERİ	PUAN
DIŞ GÖRÜNÜM VE RENK	
Kendine özgü düzgün parlak beyaz, homojen ve düzgün prizmatik görünümlü bozulmamış kalıp	10
Mat. Soluk beyaz renk ve kesit yüzeyinde birkaç delik ve gözenek	9
Homojen olmayan görünüm	8
Bir örnek olmayan renk dağılımı	7*
Düzgün olmayan prizmatik görünüm	6*
Parçalanmış çatlak kalıp, fazla sayıda delik ve gözenek, esmerimsi ve anormal renk, küflü görünüm	≤ 5
TAT	
Kendine özgü tat	10
Maya tadı veya pişmiş tat	9
Tuzlu tat	8
Ekşi tat	7*
Tatlımsı veya yavan tat	6*
Metalik, küflü, acı, ransit veya amonyak tadı	≤ 5
KOKU	
Kendine özgü koku	10
Mayamsı koku	9
Ekşimsi koku	8
Küfumsü koku	7*
Yabancı, hayvansal koku, yem veya ot kokusu	≤ 6
YAPI	
Düzgün, pürüzsüz, lekesiz, homojen kesit, fazla sert veya fazla yumuşak olmayan	10
Kuru ve sert yapı	9
Dağılılabilen yapı	8
Lekeli kesit	7*
Kaygan yapı	6*
Kumlu, elastiki, yumuşak ve ıslak, yarı ve çatlak, erimiş yapı	≤ 5
TOPLAM KABUL EDİLEBİLİRLİK	
Çok beğendim	5
Tüketebilirim	4
Düzeltilmeli	3
Hiç beğenmedim	1-2
ACILIK DERESESİ	
Acılık yok	0
Çok az acı	1
Belirgin acılık	2
Çok acılık	3
Aşırı acılık	4