

**EMMENTAL PEYNİRİNİN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE  
BAKIR KULLANIMININ ETKİSİ**

**Pamukkale Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Yüksek Lisans Tezi  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**


**Seba SABANOĞLU**

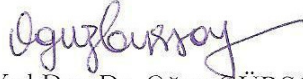
**Danışman: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON**


**Ocak, 2010  
DENİZLİ**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAY FORMU

Seba SABANOĞLU tarafından Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON yönetiminde hazırlanan “Emmental Peynirinin Bazı Özellikleri Üzerine Bakır Kullanımının Etkisi” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

  
Prof. Dr. Özer KINIK  
Jüri Başkanı

  
Yrd.Doç.Dr. Oğuz GÜRSOY  
Jüri Üyesi

  
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON  
Jüri Üyesi (Danışman)

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
27.01.10.. tarih ve 03/07 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

  
**Prof. Dr. Halil KARAHAN**  
Müdür

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam sırasında beni yönlendiren ve deneyimlerinden yararlandığım danışmam hocam sayın Prof.Dr. Ahmet Hilmi ÇON'a, Helsinki Üniversitesi'nde çalıştığım projeye katılmama sağlayan ve çalışmalarımı destekleyen hocam sayın Yrd.Doç.Dr. Oğuz GÜRSOY'a, tezimin istatistiksel analiz bölümünde bilgilerini benimle paylaşan ve destek olan hocam sayın Yrd.Doç.Dr. Yusuf YILMAZ'a ve diğer bölüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tezimin analizlerini gerçekleştirdiğim Helsinki Üniversitesi'nde projede görev almama sağlayan ve beni yönlendiren Helsinki Üniversitesi Gıda Teknolojisi Bölümü Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi Araştırma Grubu Lideri Sayın Prof.Dr. Tapani ALATOSSAVA'ya ve laboratuvar analizleri konusunda bana yol gösteren Araştırmacı Lourdes Mato RODRÍGUEZ'e teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım boyunca bana maddi ve manevi açıdan destek olan eşime ve aileme teşekkür ederim.

Seba SABANOĞLU

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza : 

Öğrenci Adı Soyadı : Seba SABANOĞLU

## ÖZET

### EMMENTAL PEYNİRİNİN BAZI ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE BAKIR KULLANIMININ ETKİSİ

Sabanoğlu, Seba  
Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği ABD  
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

Ocak 2010, 68 Sayfa

Bu çalışmada bakır katkılı (63,5 ppm) ve katkısız kontrol süttten üretilen Emmental peyniri 90 gün süreyle olgunlaştırılarak bakır katkısının starter kültürler ile Emmental peynirinin bazı özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla olgunlaştırmanın 1, 6, 30, 60 ve 90. günlerinde örnek alınarak mikrobiyolojik ve kimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyolojik analizler sonucunda Streptokoklar, Laktobasiller, *L.rhamnosus* ve propiyonik asit bakterileri üzerine bakır ilavesinin etkisinin önemsiz ( $P>0,05$ ), olgunlaşma süresinin etkisinin ise çok önemli ( $P<0,01$ ) olduğu belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince Streptokok ve Laktobasil sayısında düşüş görülürken, *L.rhamnosus* ve Propiyonik asit bakteri sayısında artış olmuştur. Olgunlaşmanın 90. gününde Streptokok, Laktobasil, *L.rhamnosus* ve Propiyonik asit bakteri sayıları sırasıyla 8,00, 8,24, 8,25 ve 8,48 log kob/g olmuştur.

Bakır ilavesinin etkisinin pH üzerine çok önemli ( $P<0,01$ ); kurumadde (KM), %12 Triklorasetik asitte çözümler azot (TCAÇA), %5 Fosfotungstik asitte çözümler azot (PTAÇA) üzerine önemli ( $P<0,05$ ) olduğu; toplam azot (TA), suda çözümler azot (SÇA) üzerine ise önemli bir etkisinin ( $P>0,05$ ) olmadığı belirlenmiştir. Olgunlaşma indekslerinden TCA ve PTA'da çözümler azota göre olgunlaşma indeksleri(TCAÇA/TA, PTAÇA/TA) üzerine çok önemli ( $P<0,01$ ) etkisi bulunurken; suda çözümler azota göre olgunlaşma indeksi (SÇA/TA) üzerine önemli bir etkisinin ( $P>0,05$ ) olmadığı belirlenmiştir. Olgunlaşma süresinin ise bu parametrelerden sadece TA üzerine önemli ( $P<0,05$ ), diğer parametreler üzerine çok önemli ( $P<0,01$ ) etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 90. gününde sırasıyla bakır katkılı ve kontrol Emmental peynirinde pH 5,90, 5,76; toplam KM %62,49, %62,60; TCAÇA %0,38, %0,47; PTAÇA %0,19, %0,20 olarak belirlenmiştir. TCAÇA/TA ve PTAÇA/TA ise sırasıyla bakır katkılıda %9,16, %4,52; kontrolde %11,57; %4,89 olarak tespit edilmiştir.

Laktik, propiyonik, asetik, pirüvik ve formik asit miktarı olgunlaşma süresince değişmiştir. 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda bakır katkılı ve kontrol Emmental peynirinde laktik, propiyonik, asetik, pirüvik ve formik asit miktarları sırasıyla 1,52, 1,98 g/kg; 5,09, 4,81 g/kg; 3,79, 4,22 g/kg; 0,06, 0,05 g/kg ve 0,81, 0,75 g/kg olarak bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Emmental peyniri, bakır katkısı, starter kültür, proteoliz, organik asit

Prof. Dr. Özer KINIK  
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON  
Yrd.Doç.Dr . Oğuz GÜR SOY

**ABSTRACT****THE EFFECT OF COPPER ADDITION ON SOME CHARACTERISTICS OF EMMENTAL CHEESE**

Sabanoğlu, Seba

M. Sc. Thesis in Food Engineering  
Supervisor: Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON

January 2010, 68 Pages

In this study, Emmental cheeses produced from milk with copper (63.5 ppm) and without copper addition were ripened for 90 days, and the effect of copper addition on the starter cultures and some characteristics of Emmental cheese were studied. Samples were taken at the 1, 6, 30, 60 and 90<sup>th</sup> days of ripening, and microbiological and chemical analyses were carried out. After the microbiological analysis streptococci, lactobacilli, *L.rhamnosus* and propionic acid bacteria counts were unaffected by copper addition ( $P>0.05$ ), whereas they were effected significantly by ripening time ( $P<0.01$ ).

During ripening, Streptococcus and Lactobacillus counts decreased but *L.rhamnosus* and propionic acid bacteria counts increased. At the 90<sup>th</sup> day of ripening logarithmic counts of Streptococcus, Lactobacillus, *L.rhamnosus* and propionic acid bacteria were 8.00, 8.24, 8.25 and 8.48 log cfu/g respectively.

Copper addition effected pH significantly ( $P<0,01$ ); total dry matter (DM), 12% Trichloroacetic acid soluble nitrogen (TCASN), 5% Phosphotungstic acid soluble nitrogen (PTASN) significantly ( $P<0.05$ ) and there was insignificant ( $P>0,05$ ) effect on the total nitrogen (TN) and water soluble nitrogen (WSN). Ripening time effected all the parameters very significantly ( $P<0.01$ ) except TN. TN was effected by ripening time significantly ( $P<0.05$ ). At the 90<sup>th</sup> day of ripening in Emmental cheese respectively with and without copper addition, the parameters were pH 5.90 and 5.76, total DM 62.49% and 62.60%, TCASN 0.38% and 0.47%, PTASN 0.19% and 0.20%. According to TCA and PTA soluble nitrogen results, ripening indices were 9.16% and 4.52%, and 11.57% and %4.89 in cheeses with copper addition and control respectively.

Lactic, propionic, acetic, pyruvic and formic acid production changed during ripening time. At 90<sup>th</sup> day in Emmental cheese with and without copper lactic, propionic, acetic, pyruvic and formic acids were 1.52 and 1.98 g/kg, 5.09 and 4.81 g/kg, 3.79 and 4.22 g/kg, 0.06 and 0.05 g/kg, and 0.81 and 0.75 g/kg respectively.

**Key words:** Emmental cheese, copper addition, starter culture, proteolysis, organic acid

Prof. Dr. Özer KINIK  
Prof. Dr. Ahmet Hilmi ÇON  
Asist. Prof. Dr. Oğuz GÜRSOY

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
Yüksek Lisans Tezi Onay Formu.....	i
Teşekkür Sayfası.....	ii
Bilimsel Etik Sayfası.....	iii
Özet.....	iv
Abstract.....	v
İçindekiler.....	vi
Şekiller Dizini.....	viii
Tablolar Dizini.....	ix
1. GİRİŞ .....	1
1.1. Peynir Yapımı.....	4
1.1.1. Süte uygulanan ön işlemler.....	5
1.1.2. Pıhtılaşma.....	7
1.1.3. Sinerez.....	7
1.1.4. Kalıplama ve tuzlama.....	8
1.1.5. Olgunlaştırma.....	9
1.2. Geleneksel Emmental Peyniri Üretimi.....	9
1.2.1. Emmental peynirinin olgunlaştırılmasında önemli parametreler.....	13
1.2.1.1. Laktik asit fermentasyonu.....	13
1.2.1.2. Propiyonik asit fermentasyonu.....	14
1.2.1.3. Proteoliz.....	17
1.2.1.4. Lipoliz.....	19
1.2.1.5. Gözenek oluşumu.....	19
1.2.1.6. Lezzet.....	20
1.2.2. Emmental peynirinde görülen hatalar.....	21
1.2.2.1. Erken şişme.....	22
1.2.2.2. Geç şişme.....	22
1.2.2.3. Bütirik asit fermentasyonu.....	23
1.3. Geleneksel Emmental Peyniri Üretim Teknolojisinde Bakırın Etkisi.....	23
2. MATERYAL VE METOT.....	28
2.1. Materyal.....	28
2.2. Metot.....	28
2.2.1. Peynir Üretimi.....	28
2.2.2. Örneklem.....	30
2.2.3. Hammaddelerde gerçekleştirilen analizler.....	30
2.2.4. Emmental peynirinde gerçekleştirilen analizler.....	30
2.2.4.1. Mikrobiyolojik analizler.....	30
2.2.4.1.1. Laktik Streptokok sayımı.....	31
2.2.4.1.2. Laktobasil sayımı.....	31
2.2.4.1.3. <i>L.rhamnosus</i> sayımı.....	31
2.2.4.1.4. Propiyonik asit bakterisi sayımı.....	31
2.2.4.2. Kimyasal analizler.....	32
2.2.4.2.1. Toplam kurumadde içeriğinin belirlenmesi.....	32
2.2.4.2.2. pH belirlenme.....	32
2.2.4.2.3. Toplam azot analizi.....	32
2.2.4.2.4. Suda çözünür azot analizi.....	33
2.2.4.2.5. Trikloroasetik asitte (%12) çözünür azot analizi.....	33
2.2.4.2.6. Fosfotungstik asitte (%5) çözünür azot analizi.....	33

2.2.4.2.7. Bakır içeriği analizi.....	34
2.2.4.2.8. Organik asit analizleri.....	34
2.2.5. İstatistiki analizler.....	34
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
3.1. Hammadde Analiz Bulguları .....	35
3.2. Çiğ Süt ve Emmental Peynirinin Bakır İçerikleri.....	36
3.3. Emmental Peynirinin Mikrobiyolojik Özellikleri.....	36
3.4. Emmental Peynirinin Kimyasal Özellikleri.....	42
3.4.1. pH, toplam kurumadde ve toplam azot içeriği.....	42
3.4.2. SÇA, TCAÇA ve PTAÇA içeriği.....	45
3.4.3. Olgunlaşma indeksi değerleri (SÇA/TA, TCAÇA/TA ve PTAÇA/TA).....	49
3.4.4. Organik asit içeriği.....	52
3.4.4.1. Laktik asit içeriği.....	52
3.4.4.2. Propiyonik asit içeriği .....	53
3.4.4.3. Asetik asit içeriği.....	54
3.4.4.4. Formik asit içeriği .....	55
3.4.4.5. Pirüvik asit içeriği .....	55
3.4.5. Mikroorganizma grupları arasındaki ilişki.....	56
3.4.6. Mikroorganizma grupları ile Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki ilişki.....	57
3.4.7. Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki ilişki.....	58
4. SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	68



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Şekil 1.1 Olgunlaştırmada kullanılan yöntemlere ve sertliklerine göre sınıflandırılmış önemli peynir çeşitleri.....	3
Şekil 1.2 Geleneksel Emmental peyniri üretim akım şeması.....	12
Şekil 2.1 Helsinki Üniversitesi, Gıda Teknolojisi Bölümü pilot tesisinde Emmental peyniri üretiminin akım şeması.....	29
Şekil 3.1 Emmental peynirinde laktik streptokok sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	39
Şekil 3.2 Emmental peynirinde laktobasil sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	40
Şekil 3.3 Emmental peynirinde <i>L.rhamnosus</i> LC-705 sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	41
Şekil 3.4 Emmental peynirinde <i>P.freudenreichii</i> sbsp. <i>freudenreichii</i> sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	41
Şekil 3.5 Emmental peynirinde pH'nın olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	43
Şekil 3.6 Emmental peynirinde toplam kuru madde (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	44
Şekil 3.7 Emmental peynirinde toplam azot (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	45
Şekil 3.8 Emmental peynirinde SÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	47
Şekil 3.9 Emmental peynirinde TCAÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	48
Şekil 3.10 Emmental peynirinde PTAÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	48
Şekil 3.11 Emmental peynirinde SÇA/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	50
Şekil 3.12 Emmental peynirinde TCAÇA/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	51
Şekil 3.13 Emmental peynirinde PTAÇA/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	51
Şekil 3.14 Emmental peynirinin laktik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	53
Şekil 3.15 Emmental peynirinin propiyonik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	53
Şekil 3.16 Emmental peyirinin asetik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	54
Şekil 3.17 Emmental peynirinin formik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	55
Şekil 3.18 Emmental peynirinin pirüvik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi .....	56

## TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1 Çiğ süt ve pastörize süt+starter karışımına uygulanan mikrobiyolojik analiz sonuçları.....	35
Tablo 3.2 Çiğ ve standardize süt ile krema ve yağsız sütün bazı özellikleri.....	35
Tablo 3.3 Emmental peyniri üretiminde kullanılan süt ve farklı olgunlaşma süresinde analiz edilen peynirlerin içerdikleri bakır miktarları.....	36
Tablo 3.4 Emmental peyniri üretiminde kullanılan starter ve destek kültürlerin sayım sonuçları ile muamele x olgunlaşma süresi interaksiyon sonuçları.....	38
Tablo 3.5 Emmental peynirinde pH, toplam kurumadde (%) ve toplam azotun (%) olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	43
Tablo 3.6 Azotlu bileşiklerin fraksiyonlarına ayrılması için kullanılan metotlar.....	46
Tablo 3.7 Emmental peynirinde SÇA (%), TCAÇA (%) ve PTAÇA (%) miktarları ve olgunlaşma süresine bağlı olarak değişim.....	47
Tablo 3.8 Emmental peynirinde SÇA/TA (%), TCAÇA/TA (%) ve PTAÇA/TA (%) değerleri ve bunların olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	49
Tablo 3.9 Emmental peynirinin formik, asetik, prüvik, laktik ve propiyonik asit içerikleri ve bunların olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi.....	52
Tablo 3.10 Mikroorganizma grupları arasında korelasyon tablosu.....	56
Tablo 3.11 Mikroorganizma grupları ile peynirin bazı kimyasal özellikleri arasındaki korelasyon tablosu.....	57
Tablo 3.12 Mikroorganizma grupları ile peynirin organik asit içeriği arasındaki korelasyon tablosu.....	58
Tablo 3.13 Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki korelasyon tablosu.....	58
Tablo 3.14 Emmental peynirinin organik asit içerikleri arasındaki korelasyon tablosu.....	59

## 1.GİRİŞ

Peynir insanoğlunun ürettiği en eski gıdalardan birisidir (Nath 1993, Gunasekaran ve Ak 2003). İlk üretiminin M.Ö. 6000-7000 yıllarında olduğu düşünülmektedir (Nath 1993). Dünyada yıllık peynir üretimi yaklaşık 15 milyon tondur. Bu miktar toplam süt üretiminin %35'ini oluşturmakta ve yıllık yaklaşık %2-3 artış göstermektedir. Yaklaşık 8 milyon ton/yıl ile başlıca peynir üretim merkezi olan Avrupa'yı, Kuzey Amerika takip etmektedir (Fox 2002).

Peynir üretiminin temelini; taze sütün çok düşük olmayan sıcaklıklarda ekşimeye bırakılması ile kazeinin topaklaşması veya karıştırılmaksızın ve sallanmaksızın bırakılması ile de jel oluşturması, takiben pıhtılaşan ya da jelleşen sütün bir süre bekletilerek peyniraltı suyunun ayrılması oluşturur. Bu işlemin hızı ısıtma ve karıştırmayla artar, peyniraltı suyu ile pıhtı ayrılmaya başlar. Elde edilen pıhtının bir bez parçasına konulup asılmasıyla peyniraltı suyu ayrılması hızlanır ve taze peynir elde edilir. Bununla birlikte süt yüzyıllardır özel pıhtılaştırıcı maddeler ve özellikle buzağı şirdeninden elde edilen ekstrakt olan rennet eklenmesiyle pıhtılaştırılır. Bu yöntem muhtemelen sütün şirdende muhafaza edilmek istenmesiyle keşfedilmiştir. Pıhtılaştırıcı madde olarak yaban enginarı çiçeği ya da incir ağacı özsuğu gibi bitkiler de kullanılabilir. Asitlendirme laktik asit bakterilerinin asit üretmesiyle gerçekleştirilmektedir. Her iki yöntemin kullanılması da çok eski tarihlere dayanmaktadır (Walstra vd 2006).

Peynir kelimesi rennetle pıhtılaştırılan ve olgunlaştırılan peynir ile birlikte asitle pıhtılaştırılan peynir, taze peynir ve hatta işlenmiş peynirleri de içeren çok geniş bir terimdir. Bu ürünlerin birçoğu FAO/WHO örgütünün (Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü) oluşturduğu tanıma uymaktadır. Bu tanıma göre: "Peynir; süt, yağsız süt, kısmi yağsız süt, krema, peyniraltı suyu kreması, tereyağı sütü ya da bunların birleştirilmesiyle oluşan maddelerin rennet ya da diğer uygun pıhtılaştırıcı ajanlarla muamelesi ve pıhtılaşma sonucu peyniraltı suyunun ayrılmasıyla elde edilen taze ya da olgunlaştırılmış katı veya yarı katı bir üründür" (Walstra vd 2006).

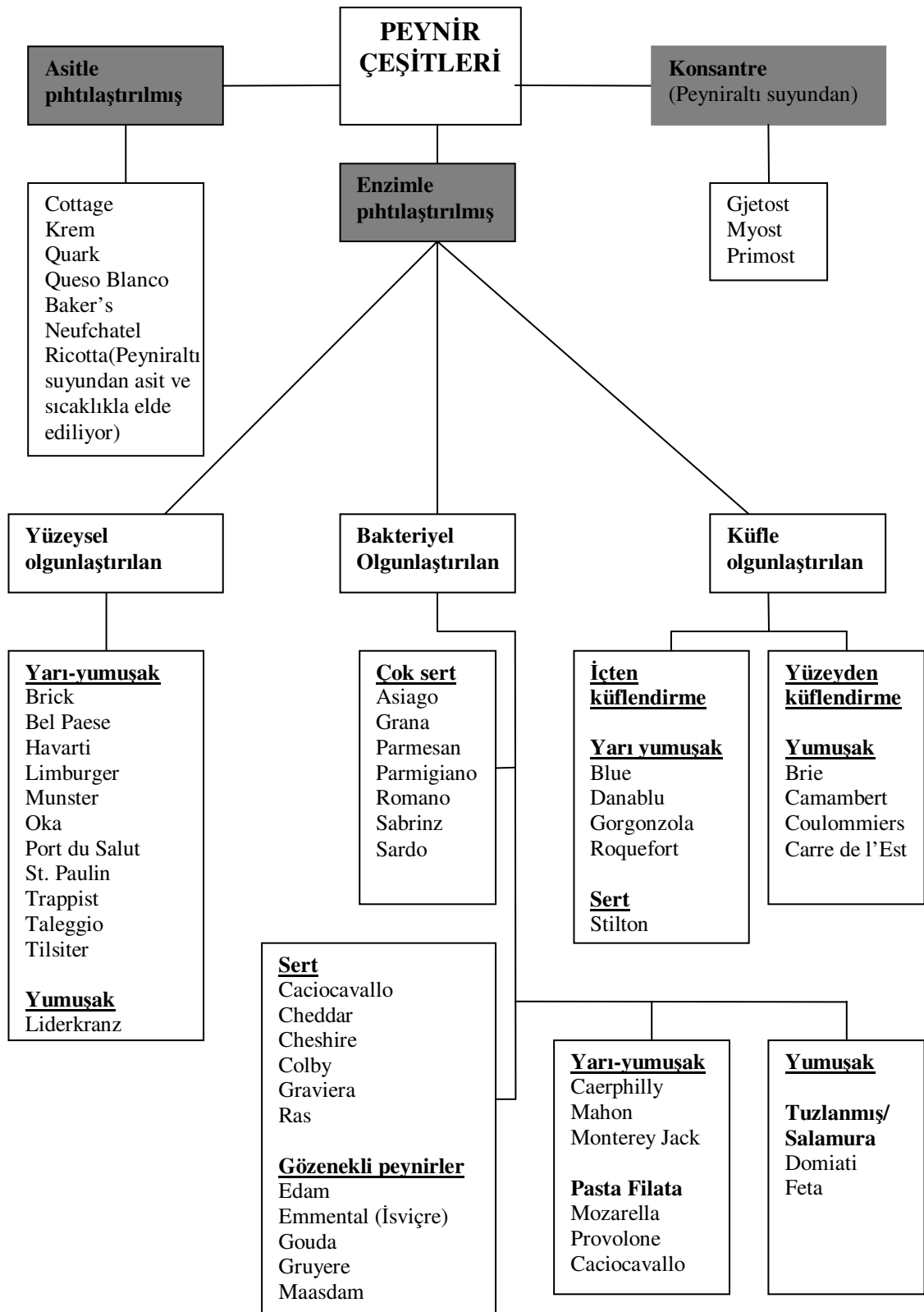
Kodeks Alimentarius Komisyonu'nun son raporunda peynir şöyle tanımlanmıştır:

- a) Sütün, yağsız sütün, kısmi yağsız sütün, kremanın, peyniraltı suyu kremasının ya da tereyağı sütünün, ya da bunların birleştirilmesiyle oluşan maddelerin, rennet ya da diğer uygun pıhtılaştırıcı maddelerle muamelesiyle ve peyniraltı suyunun pıhtıdan ayrılmasıyla ya da,
- b) Süt ve/veya süttten elde edilen diğer materyallerin sütün pıhtılaştırılması işlemini de içeren tekniklerle muamelesi sonucunda yukarıdaki tanıma uygun ürünle aynı fiziksel, kimyasal ve organoleptik karakteristiğe sahip taze ya da olgunlaştırılmış, katı ya da yarı katı bir üründür şeklinde tarif edilmektedir (Anonim 2008).

Günümüzde, peynirlere dünya çapında binlerce isim verilmiştir fakat birçoğu aynı peynir çeşidine aittir. Peynir isimleri peynirin yapıldığı bölge ve/veya şehre, dinsel inanışlara, sütün çeşidine (inek, keçi, koyun ya da manda), peynirin şekline, görünüşüne, olgunlaştırma ya da peynir çeşidine, ya da kullanılan katkı maddelerine atfedilmektedir (Tamime 1999).

Dünya’da bilinen ve adlandırılmış peynir çeşitlerinin sayısı en az 1000 olmakla birlikte (Fox ve McSweeney 1998), bazı kaynaklarda ise peynir çeşidi sayısının 400-1200 arasında olduğu belirtilmiştir (El Soda 1999). FAO/WHO’ya (Gıda Standartları Programı-Kodeks Alimentarius Komisyonu) göre, 35 peynir çeşidinin uluslararası standartları birçok devlet tarafından kabul edilmiştir. Bu çeşitler, toplam peynir üretiminin %80’ini oluşturan Cheddar, Dutch, Swiss (örneğin Emmental) ve Pasta filata (örneğin Mozzarella) (Fox ve McSweeney 1998) ile Cheshire, Gruyere, Gouda, Edam, Danbo, Fynbo, Brie, Camembert, Provolone, Cottage, mavi-damarlı çeşitler ve rendelenerek kullanılan ekstra-sert peynirleri (Tamime 1999) içermektedir.

Peynir çeşitleri peynir pıhtılaştırma yöntemine göre rennetle pıhtılaştırma (toplam üretimin %70’i), asitle pıhtılaştırma ya da asit ve sıcaklık kombinasyonuyla pıhtılaştırma (üretimin çok küçük bir kısmı) olmak üzere toplam 3 ana sınıfa ayrılmaktadır (Fox ve McSweeney 1998). Üretilen peynirler şekil, renk, tekstür ve aroma bakımından farklılık göstermektedir. Bu farklılıkların en önemli nedeni peynir yapımında kullanılan mikroorganizmalar ve peynirin olgunlaştırılma işlemi (El Soda 1999) ile üretilen bölge, üretim tekniği ve son ürünün kullanım amacıdır (Gunasekaran ve Ak 2003). Dünyada üretilen önemli peynir çeşitleri Şekil 1.1’de verilmiştir.



**Şekil 1.1** Olgunlaştırmada kullanılan yöntemlere ve sertliklerine göre sınıflandırılmış önemli peynir çeşitleri (Gunasekaran ve Ak 2003).

Asitle ya da asit ve sıcaklık kombinasyonu ile üretilen peynirler taze tüketilmekle birlikte rennetle pıhtılaştırılan peynirlerin büyük bir bölümü karakteristik lezzet, aroma

ve tekstür oluşumuyla sonuçlanan, mikrobiyolojik, biyokimyasal, kimyasal ve fiziksel değişimlerin gözlemlendiği, 3 haftadan 2 yıla varan olgunlaştırma süresinden geçer (Fox ve McSweeny 1998). Pıhtılaştırma yöntemlerinin temel prensipleri şu şekildedir:

Rennetle pıhtılaştırma: Bu yöntem birçok peynirin üretiminde kullanılmaktadır (Farkye 1999). Rennet  $\kappa$ -kazeinin ayrılmasına neden olur ve kazein misellerindeki çöküntüler kaybolur veya kısılır. Oluşan kazein makropeptidleri çözünürken para- $\kappa$ -kazein misellerde kalır. Değişen kazeine parakazein denir ve parakazein süt serumunda çözünmeden ve dağılmadan kalır. Sütte topaklaşan parakazein miselleri  $Ca^{2+}$  aktivitesinin yeterli olduğunu gösterir (Walstra vd 2006).

Asitle pıhtılaştırma: Bu yöntem sütün asitliğinin pH 4,6'ya ayarlanması ya doğrudan asit ilavesi ya da starter bakteriler tarafından asit üretimiyle gerçekleştirilir (Farkye 1999). Bu amaçla starter olarak genellikle laktik asit bakterileri kullanılır. Pıhtılaşmada bakterilerin proteolitik enzimleri de kısmen görev alabilir. Çünkü bakterilerin sahip olduğu bazı enzimler  $\kappa$ -kazeini ayırabilirler. Buna rağmen temel prensip kazeinin izoelektrik pH'ya yakın pH'da çözünmez duruma gelmesidir (Walstra vd 2006). Bu yöntem Cottage peyniri üretiminde kullanılmaktadır (Farkye 1999).

Sıcaklık/asitle pıhtılaştırma: Sıcaklık/asit uygulaması sıcak sütün (80-90°C) pH'sının 4,6-5,3'e ayarlanmasıyla gerçekleştirilir. Bu yöntem Ricotta, Quark, Paneer ve Queso Blanco üretiminde kullanılır (Farkye 1999).

Isıtma peyniraltı suyundan "laktalbumin"i geri kazanmak için uygulanabilir. Daha sonra protein süte katılır. Yumuşak peynir üretiminde de uygulanabilir. Alternatif bir yöntem olarak peyniraltı suyundan ısıtma ile elde edilen proteince zengin pıhtı diğer peynirler gibi işlenerek peynire benzer bir ürün üretilebilir. Peyniraltı suyu ve yağsız süt karışımına laktik asit eklenmesi ve pH'nın azaltılması sonucu ısı uygulamasıyla pıhtılaştırma gerçekleştirilebilir. Pıhtı denature serum proteini içerir (Walstra vd 2006).

### 1.1. Peynir Yapımı

Ticari peynir üretiminin artmasını sağlayan en önemli faktörler 1900'lerde üretim teknolojisinde elde edilen beş gelişmedir (Nath 1993). Bunlar:

- Asitliği kontrol edebilmek için titrasyon asitliğinin kullanılması

- Bakteriyel kültürlerin “starter” olarak kullanılması
- Peynir yapımında kullanılan sütün zararlı mikroorganizmalardan arındırılması için pastörizasyon yönteminin kullanılması
- Soğukta olgunlaştırma
- İşlenmiş peynir yapımına başlanmasıdır.

Peynir yapımının temel ilkeleri sütün en kısa sürede işlenmesi, üretimin standartlaştırılması için akış şeması oluşturulması, verimi ve kaliteyi kontrol edebilmek için sütün bileşiminin ayarlanmasıdır. Peynir üretiminde birçok işlem basamağının mekanizasyon ve otomasyonu, peynir yapım işlemlerinin biraz farklılaşmasına neden olmakla birlikte temel fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik işlemler aynı kalmıştır (Walstra vd 2006). Peynir üretiminde yapılan temel işlemler aşağıda anlatılmıştır.

### 1.1.1. Süte uygulanan ön işlemler

Süte yapılacak peynir çeşidine göre aşağıda verilen ön işlemler uygulanabilmektedir.

Termizasyon: Süt bir süre soğukta bekletilecekse, sütte bulunan ısıya dayanıklı lipaz ve proteinazların aktivitesini önlemek ve psikrotrofik bakterilerin sayılarını azaltmak için 65°C’de 20 saniye ısı işlem uygulanır (Üçüncü 2004a, Walstra vd 2006). Termizasyon olarak adlandırılan bu işlem peynirde gaz oluşumuna ve kötü aromaya neden olan birçok maya ve koliformları inhibe eder. Termizasyon uygulanmış süt peynir yapımında doğrudan kullanılabilir gibi pastörize edilerek de kullanılabilir (Farkye 1999).

Kirlerin uzaklaştırılması: Filtrasyon ya da santrifügasyonla gerçekleştirilir. Süte bulaşık yabancı maddelerin ayrılması amacıyla gerçekleştirilir (Walstra vd 2006).

Sütün yağ içeriğinin ayarlanması: Hem ekonomik açıdan hem de yasal kurallara uygun üretim için gerekli bir işlemdir. Ya yağ oranı bilinen tam yağlı süt ile yağsız sütün karıştırılması, ya yağsız süte krema katılması, ya da krema ayırma seperatörleri aracılığıyla yapılır (Üçüncü 2004a). Yağsız, yarım yağlı veya tam yağlı peynir üretimlerinde standardizasyonun sağlanması amacıyla gütmektedir (Walstra vd 2006).

Sütün protein içeriğinin ayarlanması: Bu yöntem bazı üreticiler tarafından uygulanmakta ve protein içeriğinin artırılması anlamına gelmektedir. Peynircilikte bu işlem, ultrafiltre edilen yağsız sütün retentatı, yağsız sütün ya da konsantre süt ilavesiyle gerçekleştirilmektedir. Protein içeriğini artırmanın gerekçesi ekipmanların daha etkili bir şekilde kullanılması, aynı ekipmanda, aynı zamanda daha çok miktarda peynir üretiminin gerçekleştirilebilmesidir. İlâveten, sütün protein içeriğinin ayarlanması üretimin daha iyi kontrol edilmesini de sağlar (Üçüncü 2004a, Walstra vd 2006).

Pastörizasyon: Bu işlemle patojen ve zararlı mikroorganizmaların inhibisyonu hedeflenmektedir (Walstra vd 2006). İnhibe edilen bazı önemli patojen mikroorganizmalar: *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Listeria monocytogenes*, *Coxiella burnetti*, *Salmonella typhi*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens* ve *Bacillus cereus*'dur. Sütün pastörizasyonu düşük sıcaklık-kısa zaman (LTLT) yöntemiyle 62,8°C'de 30 dk ya da yüksek sıcaklık-kısa zaman (HTST) yöntemiyle 71,7°C'de 15 s ısıtma ile gerçekleştirilir. Önceleri peynir yapımı için çiğ süt kullanılırken, günümüzde üreticiler ısı işlem görmüş ya da pastörize edilmiş süt kullanmaktadırlar (Nath 1993).

Baktöfugasyon: Sütteki bakterilerin fiziksel yolla bakteri konsantrasyonu halinde ayrılmasıdır (Üçüncü 2004a). Bu işlem bazen özellikle *Clostridium tyrobutyricum* sporlarının sayısını azaltmak için kullanılır. Sporları da içeren kalıntının atılması peynirde yaklaşık %6'luk bir randıman düşüşüne sebep olur. Bu yüzden kalıntı UHT (ultra high temperature) işlemi uygulanarak tekrar peynire işlenecek süte eklenir (Walstra vd 2006).

Sütün mayalama sıcaklığına getirilmesi: Genellikle süt pastörize edildikten sonra mayalama sıcaklığı olan 30°C'ye soğutulur. Bir diğer yöntem ise pastörize sütün 5°C civarına soğutulup kullanılmadan önce tekrar 30°C'ye ısıtılmasıdır. Fakat bu sıcaklık yeterli olmamakta ve mayalama ve sinerezin geç gerçekleşmesine neden olmaktadır. Bu yüzden peynir yapımı için kullanılacak soğutulmuş pastörize süt önce 50°C'ye ısıtılır ve sonra 30°C'ye soğutulur (Walstra vd 2006).

Sütün homojenizasyonu: Bu işlem bazı peynirlerde istenmeyen, yapışkan bir tekstür ve lipolize neden olur. Ancak lipoliz, mavi-damarlı peynirlerde istenen bir durumdur.



Bu nedenle üretilecek peynir tipine göre bu işlem uygulanabilir (Walstra vd 2006). Sert tip peynirlerin üretiminde yağ sızmasından kaynaklanan kusurlar homojenizasyonla önlenebilir, olgunlaşması süresince yüksek derecede lipolizin oluşması istenen küflü peynir çeşitlerinde tipik aromanın oluşmasına yardımcı olur (Üçüncü 2004a).

*Katkı maddelerinin eklenmesi:* Peynircilikte verimi artırmak, mikrobiyal gelişmeyi sınırlandırmak ve rengi düzeltmek amacı ile değişik katkı maddeleri kullanılabilir. Pıhtılaşmayı hızlandırmak, gerekli rennet miktarını azaltmak ve sıkı bir pıhtı oluşturmak için kalsiyum klorür; bütirik asit fermentasyonu ve koliform bakteri oluşumunu engellemek için potasyum (ya da sodyum) nitrat; rengi geliştirmek için annatto ya da karoten kullanılabilir (Walstra vd 2006).

*Starter kültür eklenmesi:* Bu işlem özellikle pastörize süt kullanımında gerekli olsa da çiğ süttten peynir yapımında da kullanılmaktadır. Kullanılacak starterin tipi yapılacak peynir çeşidine bağlıdır. Bazı çeşitler için starter kültür yanında diğer mikroorganizmalar da (destek kültür) kullanılmaktadır (Walstra vd 2006). Genel kural olarak sert ve yarı sert peynirler için “yavaş asitlendiren”, yumuşak tip peynirlerde “hızlı asit geliştiren” laktik asit bakterileri kullanılır (Üçüncü 2004a).

### **1.1.2. Pıhtılaşma**

Bu işlem enzim veya asit (ya da her ikisi) ilavesiyle gerçekleştirilir. Enzim uygulamasıyla kazeinden kazeinomakropeptid dalları uzaklaşır ve oluşan parakazein miselleri topaklaşır. Asit uygulamasında ise; misellerdeki koloidal kalsiyum fosfat çözünür ve oluşan parçacıklardaki elektrik yükü nötralize olarak topaklanma meydana gelir. Meydana gelen topaklanma ile süt serumu ve yağ globüllerini saran bir ağ oluşur. Pıhtının son pH'sı peynirin sinerezini, kıvam ve olgunlaşmasını etkiler (Walstra vd 2006).

### **1.1.3. Sinerez**

Peyniraltı suyunun ayrılmasıyla jel yapı oluşmaktadır. Bu işlem genellikle pıhtının parçalara ayrılması ve pıhtı-peynirsuyu karışımının karıştırılması ile gerçekleşmektedir. Elde edilen pıhtı esas süt hacminin %10'u ile %30'u arasında değişir ve pıhtı ne kadar kuru olursa, elde edilen peynir o kadar sıkı ve dayanıklı olur (Walstra vd 2006).

Rennetle ya da asitle muamele edilen peynirde sinerez, elde edilen peynirin su içeriğinin bu aşamada belli olması nedeniyle çok önemli bir işlem basamağıdır. Sinerezin hızı işleme yöntemini etkilemekte dolayısıyla gerekli zaman ve ekipman ile birlikte peyniraltı suyunda kaybedilen yağ ve proteini de etkilemektedir. Pıhtı kesme ve haşlama işlemi ile sinerez artırılırken, eklenen tuz da pıhtıdan suyun ayrılmasını kolaylaştırmaktadır (Man 2007).

#### 1.1.4. Kalıplama ve tuzlama

Pıhtı parçacıklarının bir kalıp haline getirilmesi peynirin taşınmasını kolaylaştırır ve bir kabuk tabakası oluşarak içinin korunması sağlanır. Bu basamakta kullanılan presleme işlemi kabuk tabakasının oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Walstra vd 2006).

Peynirler üretiminde pıhtının tuzlanması geleneksel üretim yönteminin bir parçasıdır. Peynirler genellikle %1-4 tuz oranına sahiptir. Quark gibi taze peynirlerde tuzlama işlemi yapılmamaktadır. Tuz, peynire doğrudan etki ederek ya da olgunlaşmayı etkileyerek dayanıklılık, lezzet ve kıvam sağlar (Walstra vd 2006). Peynirin tuzlanmasındaki amaç tuzlamanın aşağıdaki özelliklerinden yararlanılmaktadır (Nath 1993):

1. Peynir lezzetini geliştirir. Tuzlanmamış peynir lezzetsizdir ve peynir lezzeti normal değildir. Peynir yapısı kolay bozulur.
2. Tuz sinerezi geliştirir ve peynirin su içeriğini düzenler. Su aktivitesini ( $a_w$ ) azaltır.
3. Mikrobiyal gelişmeyi ve aktiviteyi kontrol eder. Peynir yapısındaki tuz oranı %4,5'ten küçükse, peynirdeki starter olmayan mikroorganizmaların sayısı artarken istenmeyen lezzet oluşumu başlar. Cheddar peyniri için istenen tuz oranı %4,5-5,5 arasındadır. Bu tuz konsantrasyonunda starter ve starter olmayan laktobasillerin laktoz metabolizması kontrol altında tutulur.
4. Tuz konsantrasyonunun  $\alpha_{s1}$ - ve  $\beta$ -kazeinin proteoliz hızına etkisi vardır. Genellikle  $\beta$ -kazein hidrolizi tuzla geciktirilebilir.

Starter aktivitesinin inhibisyonu tuzlama yöntemine, konsantrasyonuna ve kullanılan starterin tuza hassasiyetine bağlıdır. Emmental peyniri %0,7 tuzlama oranı ile benzer peynir çeşitleri içinde en fazla tuz içeren peynir çeşididir (Man 2007).

### 1.1.5. Olgunlaştırma

Olgunlaştırma işlemi istenen peynir çeşidinin tipik lezzetini, tekstürünü (Walstra vd 2006) ve görünüşünü belirleyen, peynirde mikrobiyolojik, kimyasal ve biyokimyasal değişikliklerin görüldüğü en önemli işlem basamağıdır (Lopez vd 2006). Olgunlaştırma için peynir uygun şartlarda bir süre saklanır. Saklama koşulları peynir tipine göre değişkenlik gösterir (Walstra vd 2006).

Peynir olgunlaştırma işlemi uzun zamandır yapılıyor olsa da peynir yapımının en karmaşık aşamasıdır. Sütten kaynaklanan (örneğin plazmin ve lipaz), süte sonradan katılan (örneğin kimozin) veya mikroorganizmalardan kaynaklanan (starter bakteriler veya spesifik flora) enzimler birçok biyokimyasal reaksiyonlarda rol oynarlar. En önemli değişiklik proteinlerin parçalanması ve değişik boyutlarda peptidler, serbest aminoasitler ya da daha küçük parçalanma ürünlerinin oluşmasıdır. (Walstra vd 2006). Peynirin olgunlaşması sırasında oluşan en önemli biyokimyasal olaylar proteoliz ve lipoliz ile laktoz, laktat ve sitrat metabolizmasıdır (Lopez vd 2006).

Olgunlaştırma sırasında peynirin mikrobiyal florası da değişiklik göstermektedir. Öncelikle starter bakterilerin sayısı pıhtılaşma ve presleme sırasında  $10^6$ 'dan  $10^9$  kob/g'a kadar yükselmektedir. Starter olmayan laktik asit bakterilerin presleme ve tuzlama sırasında çok az olan sayısı da ( $10^1$ – $10^3$  kob/g) olgunlaştırma sırasında baskın ( $10^8$  kob/g) hale gelmektedir (Laht vd 2002).

### 1.2. Geleneksel Emmental Peyniri Üretimi

Birçok ülkede Emmental, Comte, Gruyere, Appenzeller, Maasdamer ve Jarbergost tipi peynirler İsviçre tipi peynir olarak üretilmektedir (Steffen vd 1993, Beuvier vd 1997). İsviçre tipi peynirlerin orijini İsviçre'deki Emmen vadisidir. Bu vadiden orijin alan Emmental peyniri İsviçre tipi peynirlerin en meşhur olanıdır ve genellikle "İsviçre peyniri" olarak tanımlanmaktadır. İsviçre tipi peynirlerin yuvarlak, düzgün ve ortadan büyüğe değişen boylarda (1-3 cm) gözenekleri vardır (Steffen vd 1993, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2007). Birçok ülkede tanınan bu peynirin özgünlüğü; iklim, jeoloji ve ülkenin bitki florasından etkilenen süte göre değişmektedir. İsviçre, Fransa ve Almanya bu peynirin en önemli üreticilerindedir (Shintu ve Caldarelli 2006).

İsviçre’de Emmental peyniri, silajla beslenmemiş olan ineklerden elde edilen çiğ süttten üretilmektedir (Bachmann vd 2002). Genellikle çiğ süttten pastörize süte göre daha yoğun aromalı peynir üretildiği ifade edilmektedir. Bunun nedeni; aminoasitlerin, yağ asitlerinin ve uçucu bileşenlerin çiğ sütte daha fazla bulunması ve çiğ süt florası içeren peynirlerin daha fazla proteolize ve propiyonik asit fermentasyonuna uğraması olarak belirtilmektedir (Beuvier vd 1997).

Çiğ süttten elde edilen, biyokimyasal olarak en fazla değişikliğe uğrayan, hijyen ve organoleptik özellikleri bakımından en fazla kabul gören peynir çeşiti olan Emmental peyniri “peynirlerin kralı” olarak adlandırılmaktadır (Lund vd 2000). Emmental peynirinin değeri kullanılan üretim teknolojisinden kaynaklanmaktadır. Sadece bazı bölgelerde, örneğin İsviçre, Fransa’nın doğusu, Avusturya ve Güney Almanya’da çiğ süt ve bakır kaplar kullanılarak geleneksel yöntemlerle üretim yapılmaktadır. Bazı tüketiciler bu geleneksel/bölgesel ürünler için çok fazla para ödemeye hazırdırlar. İsviçre Emmental peyniri en pahalı olanıdır (Pillonel vd 2005). İsviçre tipi peynir büyük tekerlekler halinde ve salamurayla tuzlanarak üretilmektedir. Büyük boyuta sahip olan peynire tuz difüzyonunun uzun sürede gerçekleşmesi tuza hassas propiyonik asit bakterilerinin iç kısımda çoğalmaları için zaman sağlamaktadır (Fox vd 2000).

İsviçre’de üretilen Emmental peynirin özellikleri şunlardır (Steffen vd 1993, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2007):

- 1) Silindirik şeklinde, sıkı ve kuru bir kabuk tabakasına sahip, 60-130 kg ağırlığında,
- 2) 1-4 cm çapında, propiyonik asit fermentasyonu ile oluşan, 1000-2000 adet yuvarlak gözenek içeren,
- 3) olgunlaşmaya bağlı aroması artan, hafif tatlımsı,
- 4) fildişinden açık sarıya değişen renklerde, hafif elastik,
- 5) silaj yemle beslenmemiş ineklerin çiğ sütünden elde edilirse sert yapıda,
- 6) preslemede ~5,2 pH’ya sahip olan ve ~53°C’ye kadar ısıtılan (kimozen aktivitesinin inaktivasyonu sağlanır),

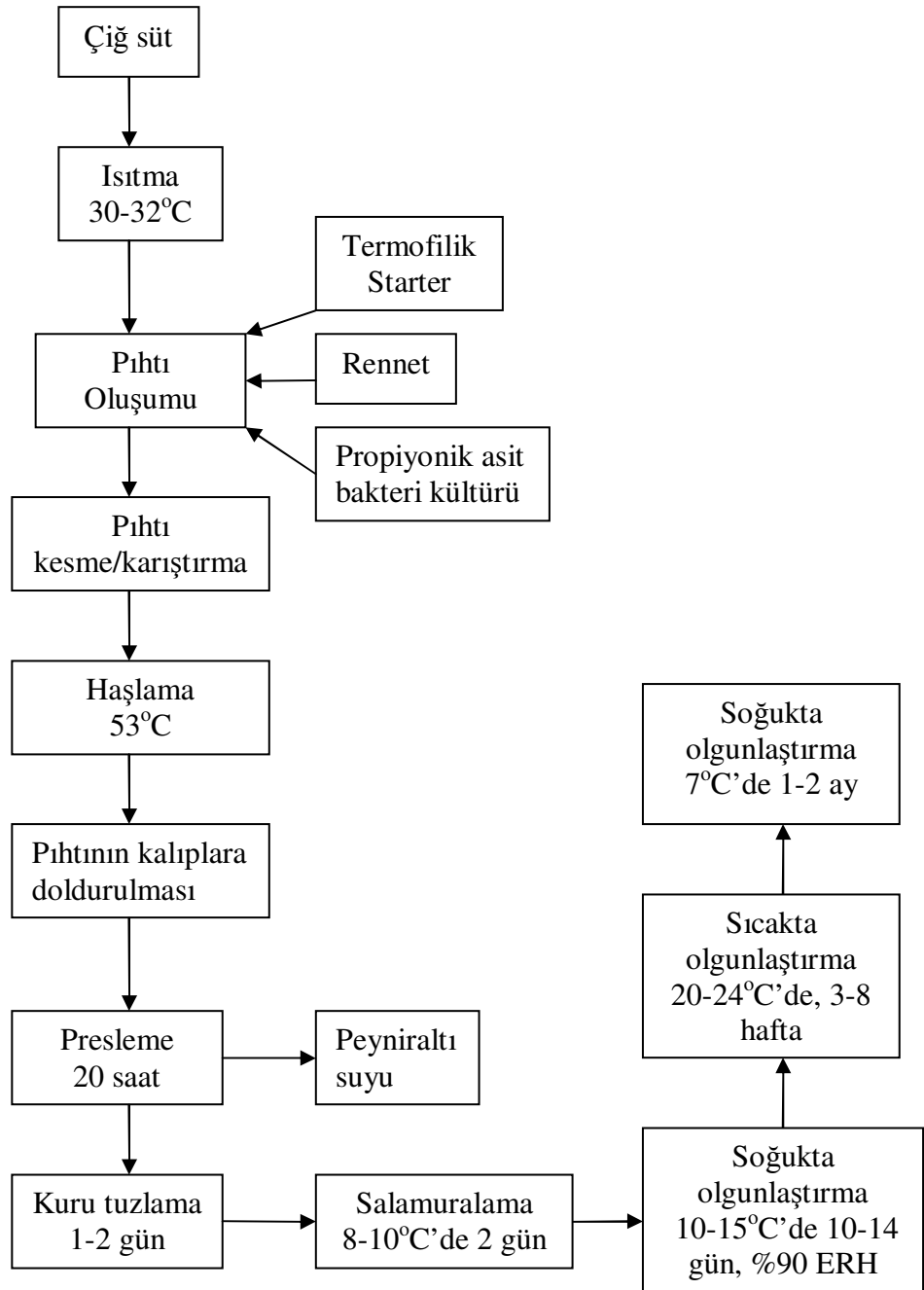
7) ılık bir odada (23°C) propiyonik asit fermentasyonu için olgunlaştırmaya bırakılan, daha sonra 13°C'de 4±8 ay olgunlaştırılan (15 aya kadar uzayabilir) bir peynirdir.

3-4 ay olgunlaştırılmış Emmental peyniri; protein parçalanma ürünleri de dahil toplam %29 protein, % 31 yağ (kuru maddede %48), %35 su (yağsız peynirde %51), %0,5 tuz (suda %1,4), %0,7 propiyonik asit ve %0,2 CO<sub>2</sub> içeriğine sahiptir (Walstra vd 2006).

Emmental peyniri üretim şeması Şekil 1.2'de verilmiştir. Buradan da takip edilebildiği gibi İsviçre Emmental peyniri pıhtı oluşumundan sonra 53°C'ye ısıtılmaktadır. Presleme ise 50°C civarında yapılmaktadır. Bu sıcaklıkta pıhtı su kaybetmekte ve istenmeyen mikroorganizmalar inhibe edilmektedir. Çiğ süt kullanılması sonucu üretimdeki sıcaklığın kontrolü İsviçre tipi peynir üretim teknolojisinin önemli bir basamağını oluşturmaktadır (Bachmann vd 2002).

İsviçre Emmental peyniri üretiminde önemli bir basamak da pıhtı-peyniraltı suyu karışımına %12-18 oranında su eklenmesidir. Bu işlem sonucunda laktik asit fermentasyonu ile düşen pH yükselir (5,2-5,3 pH) ve bu da propiyonik asit fermentasyonunu hızlandırır. Sonuçta yumuşak ve elastik bir tekstür oluşur (Jaros vd 1997, Bachmann vd 2002).

Peynirlerin preslenmesi ve sık sık ters-düz çevrilmesi sırasında pıhtı soğur ve starter organizmalar tarafından asit oluşumu başlar. Emmental peynirinde laktozun tamamen parçalanması ve monosakkarit oluşması 24 saati bulur. Kuru tuzlama basamağında günlük olarak uygulanan ters-düz çevirme işlemi ile yüzeyde kuru bir tabaka oluşumu sağlanmaktadır. Kuru tuzlamanın ardından peynir kalıpları salamuraya konur ve soğuk odada (10-15°C, %90 nem) 10-14 gün bekletilir. Takiben peynirler kuru tabakanın daha fazla kurumaması için plastik filme sarılarak sıcak bir odaya (20-24°C, %80-83 nem) aktarılır ve burada 3-8 hafta bekletilir. Burada gözenek oluşumu başlar. Son olarak peynirler 7°C'de 1-2 ay olgunlaşmaya bırakılır. (Fox vd 2000).



**Şekil 1.2** Geleneksel Emmental peyniri üretim akım şeması (Fox vd 2000).

İsviçre’de Emmental peynirinin yıllık üretimi 45.000 tondur. İsviçre tipi Emmental üretimi Avrupa Birliği’nde de önemli bir üretim payına sahiptir. Fransa 275.000 ton/yıl, Hollanda 89.400 ton/yıl, Almanya 88.300 ton/yıl, İsveç 28.400 ton/yıl, Finlandiya 26.400 ton/yıl, Avusturya 12.800 ton/yıl, Danimarka 6.600 ton/yıl ve İrlanda 5.000 ton/yıl üretim yapmaktadır. Dünyada 1997 yılında yıllık üretim 500.000 ton olmuştur (Bachman vd 2002).

## 1.2.1. Emmental peynirinin olgunlaştırılmasında önemli parametreler

### 1.2.1.1. Laktik asit fermentasyonu

Bütün peynir çeşitlerinde homofermentatif laktik asit fermentasyonu sonucunda laktozun %90'undan fazlası laktik aside dönüştürülür. Kontrollü laktik asit fermentasyonu süte termofilik ve bazen de mezofilik laktik asit bakteri kültürlerinin eklenmesiyle sağlanır. Özellikle İsviçre tipi sert peynir üretiminde starter olarak genellikle termofilik laktik asit bakterileri kullanılır. Bununla birlikte laktik asit bakterilerinin karışık kültürleri (*Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*) ve streptokoklar (*Streptococcus thermophilus*) (El Soda 1999, Gagnaire vd 2001, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004), *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus lactis* gibi mezofilik türler de kullanılmaktadır (Steffen vd 1993). *S.thermophilus* kültürü birincil laktik asit üreticisi olarak kullanılmaktadır. *L.helveticus* ikincil asit üreticisi olarak peynir pH'sını kontrol etmekte ve olgunlaşmanın ileri evrelerinde proteolize neden olarak spesifik lezzet oluşumunu sağlamaktadır (White vd 2003).

Mezofilik kültürler (laktokoklar) pıhtının 40°C üzerine ısıtılmadığı örneğin Cheddar gibi peynirlerde kullanılırken, 50-56°C'ye kadar pişirilen peynir çeşitlerinde (İsviçre ve Parmesan) termofilik kültürler kullanılmaktadır (Nath 1993).

Streptokoklar sadece L-laktik asit üretirken *L.delbrueckii* subsp. *lactis* laktozu doğrudan D-laktik asite dönüştürür. Her iki izomer de *L.helveticus* tarafından üretilir. Laktoz, laktik asit bakterilerinin süte eklenmesinden 4-6 saat sonra tamamen hidrolize olur ve laktik asit fermentasyonu 24 saat sonunda tamamen biter. Laktozun parçalanma ürünü olan galaktoz streptokoklar tarafından kullanılmaz, laktobasiller tarafından metabolize edilir (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Laktozun parçalanması Embden-Meyerhof-Parnas tarafından tanımlanan “fruktoz-1,6-difosfat” yoluyla gerçekleşmektedir. Peynirde serbest glikoz hiçbir zaman yüksek konsantrasyonlarda bulunmaz, serbest galaktoz ise erken dönemde bulunabilir (Steffen vd 1993).

Fakültatif heterofermentatif starter olmayan laktobasiller İsviçre tipi peynirde propiyonik asit fermentasyonunu yavaşlatmak (Steffen vd 1993, Kocaoglu-Vurma vd 2008) ve geç fermentasyonu önlemek (Kocaoglu-Vurma vd 2008) için kullanılır.

Genellikle bu mikroorganizmalar peynir sütünden kaynaklanır ve pastörizasyonda canlılıklarını korurlar ya da peynir yapılan ortamdan süte geçerler (Mc Sweeney 2007). Starter olmayan laktobasiller çiğ sütte doğal olarak bulunan *L.casei* ve *Lactobacillus rhamnosus* (Steffen vd 1993), *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus curvatus* ve *Lactobacillus plantarum*'u (Laht vd 2002) içerir.

Starter olmayan laktik asit bakterilerinin gelişmeleri için gerekli enerji kaynakları; glikoproteinlerin (k-kazein) enzimatik hidrolizi sonucu oluşan şekerler, süt yağı globüllerinin membranlarındaki glikoproteinlerin ve glikolipitlerin şekerleri ve ayrıca riboz-5-fosfat, N-asetilglikozamin ve glikozdur. Heksozları hemen hemen sadece laktik aside dönüştürürler (Laht vd 2002). Peynirin olgunlaşması sırasında taze peynirde bulunan sitratı da kullanırlar. Fakültatif heterofermentatif laktobasiller peynir pıhtısında bulunan 9 mmol/kg sitratın 3 mmol/kg'sini kullanabilir ve sonuçta formik asit, asetik asit ve CO<sub>2</sub> üretirler (Steffen vd 1993).

Peynirde üretilen laktik asit peynirin kalitesini birçok yönden etkilemektedir. pH'yı düşürerek koruyucu madde görevi yapmaktadır (süt 6,6-6,8 pH; olgunlaşmış peynir 5,1-5,3 pH). Kalsiyumu, parakazein-kalsiyum fosfat bileşiğinden ayırarak sinereze etki eder. Böylece peynir karakteristiği ve proteoliz de etkilenir. Laktik asit propiyonik asit fermentasyonu için de uygun bir substrattır (Steffen vd 1993).

### **1.2.1.2. Propiyonik asit fermentasyonu**

Propiyonik asit bakterileri Emmental peynirinin olgunlaşması sırasında laktatın asetat ve propiyonata dönüşmesi sonucu üretilen CO<sub>2</sub>'in tespit edilmesi ve kaynağının belirlenmesi için gerçekleştirilen çalışmalarla keşfedilmişlerdir. İlk kez E. von Freudenreich ve S. Orla-Jensen tarafından 19. Yüzyılın başında tanımlanmışlardır. İlk saf kültür Emmental peynirinden 1906 yılında izole edilmiş ve 1909 yılında Orla-Jensen tarafından *Propionibacterium* yeni bir bakteri cinsi olarak önerilmiştir (Jan vd 2007).

Birçok İsviçre tipi peynir az ya da çok propiyonik asit fermentasyonuna uğrar (Steffen vd 1993). Propiyonik asit bakterileri Gram pozitif, spor oluşturmayan, hareketsiz, kısa çubuk şeklinde, düşük oksijen konsantrasyonunda gelişebilen (anaerobik ya da aerotolerant) bakterilerdir (El Soda 1999). Geviş getiren hayvanların mide ve barsaklarında, toprakta, silajda (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004), yemde, çeşitli fermente süt ve sebze ürünlerinde, süt işletmelerinde ve atık sularda (Jan vd



2007) doğal olarak bulunabilirler. Tuza hassastırlar ve sulu fazda %5 tuz (ağırlık/hacim) gelişimlerini durdurabilir. pH 6 ve 7 arasında gelişim gösterirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 30°C olmakla birlikte 14°C'de de gelişme gösterebilirler (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004). Heterofermentatifler ve değişik karbonhidratları (glikoz, galaktoz, fruktoz ve laktoz), alkollerini (gliserol de dahil) ve organik asitleri (pürivat ve laktat) propiyonat, asetat, süksinat ve CO<sub>2</sub> karışımına dönüştürebilirler (Jan vd 2007).

Birçok aminoasit *Propionibacterium*'ların gelişimini desteklerken, pantotenik asit, biyotin, demir, magnezyum, kobalt ve maya ekstraktı gelişimi için gereklidir. Kalsiyum veya sodyum propiyonat, kalsiyum veya sodyum laktat, asetik asit ve sodyum klorür tarafından inhibe olabilmektedirler. Metabolik özellikleri ve GRAS (genellikle güvenilir kabul edilen) listesinde olmaları propiyonik asit bakterilerinin gıdalarda kullanımlarını sağlamaktadır (Jan vd 2007).

Emmental peyniri için inokulasyon miktarı çok azdır (1000 L süt içeren tank için bir kaç yüz koloni oluşturan birim). Propiyonik asit fermentasyonu üretimin başlamasından yaklaşık 30 gün sonra başlar, 20-24°C'de 7 hafta devam eder ve 10-13°C'de yavaş da olsa fermentasyonu sürer. Tüketime hazır peynirde, yaklaşık 10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> kob/g propiyonik asit bakterisi bulunur (Steffen vd 1993, El Soda 1999, Farkye 1999, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004). Propiyonik asit bakterileri peynir yapımı sırasında sütte çoğalma göstermezler, sıcak odada olgunlaşmaya bırakıldıklarında çoğalma gösterirler (Fox vd 2000, Gagnaire vd 2001).

Propiyonik asit fermentasyonu kendiliğinden oluşmakla birlikte seçilmiş propiyonik kültürlerle de oluşabilir (Beuvoir vd 1997, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004). Kendiliğinden gerçekleşen fermentasyon düzensiz gözenek oluşumuna neden olur çünkü doğal propiyonik flora geniş bir suş çeşitliliğine sahiptir (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Laktatın enerji kaynağı olarak ve aspartatın da elektron alıcısı olarak kullanımı için 3 metabolik yol tanımlanmıştır. Aspartat varlığında laktatın fermentasyonu yanında aspartatın süksinata fermentasyonu söz konusudur ve propiyonat üretimi gerçekleşmez. Sonuçta laktat propiyonattan daha fazla miktarda asetat ve CO<sub>2</sub>'e fermente olur (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Klasik propiyonik asit fermentasyonu:

3 mol laktat → 2 mol propiyonat + 1 mol asetat + 1 mol CO<sub>2</sub> + 1 mol ATP

Propiyonik asit fermentasyonu sırasında CO<sub>2</sub> bağlanmasıyla süksinat oluşumu:

3 mol laktat → (2-x) mol propiyonat + 1 mol asetat + (1-x) mol CO<sub>2</sub> + x mol süksinat

(Wood-Werkman yolu)

Propiyonik asit fermentasyonu sırasında aspartatın süksinata dönüşümü:

3 mol laktat + 6 mol aspartat → 3 mol asetat + 3 mol CO<sub>2</sub> + 6 mol süksinat + 6 mol NH<sub>3</sub> + 3 mol ATP

Emmental peyniri üretimi sırasında farklı aspartaz aktivitesine sahip kültürlerin kullanımı sonucunda farklı ürünler oluşmaktadır. Zayıf aspartaz aktivitesine sahip propiyonik bakterileri *in vitro* koşullarda dakikada 100 nmol'den daha fazla aspartatı metabolize edemezler. Bu suşlar laktatı klasik yoldan metabolize ederlerken, çok az miktarda aspartatı deamine edebilirler. Yüksek aspartaz aktivitesine sahip suşlar ise *in vitro* koşullarda dakikada 800 nmol'e kadar aspartatı metabolize edebilirler. Güçlü aspartaz aktivitesi ile propiyonik asit bakterilerinin gelişim hızı paralellik göstermekte ve sonuçta propiyonik asit bakteri sayısı ile propiyonik asit, asetik asit ve CO<sub>2</sub> konsantrasyonu artmaktadır. Yüksek aspartaz aktivitesine sahip kültürle yapılan peynirlerde gözeneklerin sayısı ve boyutu ile peynir kalıbının yüksekliği oluşan CO<sub>2</sub> nedeniyle oldukça fazladır (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Propiyonik kültürlerin peynirde kullanılması sırasında aspartatı kullanma kabiliyetleri göz önünde bulundurulmalıdır. Aşırı aspartaz aktivitesinin geç fermentasyon gibi bazı zararları olmasına rağmen orta derecede aspartaz aktivitesine sahip kültürler peynirin kalitesini olumlu etkileyerek aromasını geliştirir, düzgün gözenek oluşumunu sağlar ve olgunlaşma süresini kısaltır (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Süt pastörize edildikten sonra, peynir tanklarındaki süt çoğunlukla *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* olmak üzere propiyonik asit bakterileri ile inoküle edilir (Steffen vd 1993, Fox vd 2000, Gagnaire vd 2001, White vd 2003, Walstra vd 2006).

Propiyonik asit fermentasyonu sonucunda oluşan serbest yağ asitleri, peptidler, aminoasitler, karboniller ve bu bileşenler arasındaki reaksiyonlar sonucu (Beuquier vd

1997) karakteristik gözenek ve fındığımsı lezzet oluşur (Steffen vd 1993, Beuvier vd 1997, Thierry vd 2005).

Propiyonik asit bakterileri trigliserit hidrolizi sonucunda oluşan serbest yağ asitleri ile lösin/izolösin katabolizması sonucunda oluşan kısa zincirli yağ asitleri oluşumunda önemli rol oynamaktadırlar (Thierry vd 2005).

### 1.2.1.3 Proteoliz

Peynirdeki proteoliz, peynir üretiminden önce sütteki proteoliz, sütün enzimatik pıhtılaşması, peynir olgunlaşması sırasında meydana gelen proteoliz olmak üzere 3 kısma ayrılmaktadır (Fox 1989).

Peynir üretiminden önce sütte meydana gelen proteolizin nedeni: mikrobiyal proteinazlar ile sütte doğal olarak bulunan proteinazlardır (Fox 1989, Nath 1993). Psikrotrofik bakteriler sütün toplanmasından önce, taşınması sırasında ya da işletmede depolanması sırasında (bazı ülkelerde süt işlenmeden önce 4-5 gün düşük sıcaklıklarda depolanır) sütte baskın hale geçerler. Yüksek sayıda psikrotrofik bakteri peynir yapımında kuru maddenin azalmasına, yüksek nem içeriğine, hamur gibi bir tekstüre ve istenmeyen lezzete neden olur. Psikrotroflar tarafından üretilen lipazlar proteinazlardan daha fazla lezzet hatalarına neden olurlar. Çünkü proteinazlar suda çözünür olduklarından peyniraltı suyu ile bir kısmı peynir kitesinden uzaklaşmış olur. Fakat lipazlar yağ globülleri üzerine adsorbe olarak uzaklaşmazlar (Fox 1989).

İsviçre tipi, kuru dış tabakaya sahip peynirlerde propiyonik asit fermentasyonu dışında olgunlaşma ve lezzet oluşumunda etkili bir diğer faktör ise proteolizdir. Rennet Cheddar ve Gouda tipi peynirlerde görülen proteolizde çok önemli bir role sahiptir. İsviçre tipi peynirlerde ise pıhtının ısıtılması sırasında rennet inaktive olduğu için proteolizde önemli bir rolü yoktur. Bu peynirlerde sütte doğal olarak bulunan proteazlar ile laktik asit bakterilerinin proteolitik enzimleri önemli role sahiptir (Steffen vd 1993). Olgunlaşma sırasında laktobasillerin proteinazları ve peptidazları kazeinin parçalanmasında önemlidir. *L.helveticus* 20-30 yıl kadar önce İsviçre Emmental peyniri üretiminde kullanılan önemli starterlerdendi. Ancak aşırı peptidolitik aktivitesinden dolayı geç fermentasyona neden olduğundan günümüzde yerine *L.delbrueckii* subsp. *lactis* kullanılmaya başlanmıştır. Streptokoklar proteolizde çok az rol oynamaktadırlar (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004).

Genellikle termofilik laktobasillerin mezofiliklere göre daha güçlü proteolitik aktiviteye sahip olmalarına rağmen termofilik streptokokların protein parçalanması üzerine çok az etkisi vardır. Propiyonik asit bakterilerinin proteoliz üzerine aktiviteleri önemsiz düzeydedir. Çiğ süt işlendiğinde sütün doğal florasındaki mikroorganizmalar da proteolizde rol oynayabilmektedirler. Uzun süre soğukta depolama sonucunda çiğ sütteki psikrotrof mikroorganizmaların proteolitik enzimleri olgunlaşmayı ve lezzet gelişimini bazen etkilemektedir. Peynirdeki proteolitik enzimlerin aktivitesi su içeriği, laktik asit konsantrasyonu, pH, depolama sıcaklığı, NaCl konsantrasyonu, su aktivitesi ( $a_w$ ) ve bakır içeriğine bağlıdır (Steffen vd 1993).

Yapılan bir çalışmada görülmüştür ki Emmental peynirinde aminopeptidazlar olgunlaşmanın ilk zamanlarda starter bakterilerin parçalanması sonucu ortama salınmış, olgunlaşmanın ileri devrelerinde de aktif kalmış ve proteolizde etkili olmuştur (Gagnaire vd 2001).

Peynirdeki mikroorganizmaların proteolitik enzimleri kazeini kısa zincirli suda çözünen bileşenlere, peptonlara, polipeptidlere, peptidlere ve aminoasitlere parçalarlar. Bu metabolitler İsviçre tipi peynirde karakteristik lezzet, yapı ve tekstür gelişimini sağlar. Proteolizin genel göstergeleri suda çözünür azot (SÇA), protein olmayan azot (POA) ve çeşitli proteolitik enzimlerdir. Aminoasitler enzimatik olarak dekarboksilasyon, deaminasyon ve transaminasyonla parçanabilmekte ve ayrıca enzimatik olmayan reaksiyonlar da oluşabilmektedir (Steffen vd 1993). Protein parçalanma ürünleri peynirin olgunlaşması ile ilgili bilgi vermektedir. Olgunlaşma süresinin indeksi ve rennet ile süt proteazları tarafından meydana gelen kazein hidrolizi göstergesi olarak SÇA/TA (Suda çözünür azot/Toplam azot), olgunlaşma yoğunluğunun indeksi olarak TCAÇA/TA (Trikloroasetik asitte çözünür azot/Toplam azot) ve serbest amino asit indeksi olarak da PTAÇA/TA (Fosfotungstik asitte çözünür azot/Toplam azot) kullanılmaktadır (Tarakçı ve Küçüköner 2006, Topçu ve Saldamlı 2006).

Proteolizdeki en fazla artış peynirin ılık odada olgunlaştırılması sırasında meydana gelmekte ve peynirin sıvı fazında ölçülen proteoliz indeksi 3 kattan fazla artarak serbest aminoasitler toplam azotun yarısına kadar ulaşabilmektedir. Proteolizdeki bu artış mikroyapıda değişikliklere neden olmakta peynirde kumlu bir yapı oluşturmaktadır. Aynı zamanda Emmental peynirinde gözenekler oluşarak peynir hacmi büyümekte ve elastik yapı oluşmaktadır (Gagnaire vd 2001).

#### 1.2.1.4. Lipoliz

Olgunlaşması sırasında lipolizin orta düzeyde gerçekleştiği, lipolizin son ürünlerinin Emmental peynirinin kalite ve lezzeti üzerine etkisinin önemsiz olduğu bilinmektedir (Lopez vd 2006). Çünkü birçok laktik asit bakterisinin esterolitik ve lipolitik enzimlere sahip olmasına rağmen süt yağına karşı zayıf bir lipolitik aktivitesi vardır. Bu yüzden bakteri ile olgunlaştırılan Cheddar, Dutch tipi ve İsviçre tipi peynirlerde lipoliz çok düşük düzeydedir (Farkye 1999).

Emmental peynirindeki lipolizde propiyonik asit bakterilerinin önemli rol oynadığı, lipolizin suşa özgü olduğu ve termofilik laktobasiller ile propiyonik asit bakterileri arasındaki etkileşimlerinin lipolizi etkilediğini bildirilmiştir. Ayrıca, süte uygulanan termizasyon, mikrofiltrasyon gibi ön işlemlerin de propiyonik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen lipoliz üzerinde oldukça etkili olduğu belirtilmiştir (Chamba ve Perreard 2002).

#### 1.2.1.5. Gözenek oluşumu

Emmental peyniri uzmanlar tarafından “Peynirlerin Kralı” olarak adlandırılmaktadır (Clark 1917). Emmental peynirinin fındığımsı ve tatlımsı aromasının yanında gözenekleri de temel karakteristiğidir (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2007). Emmental peynirinin karakteristik gözenek oluşumu laktik asitin propiyonik asit bakterileri tarafından parçalanmasıyla ortaya çıkan CO<sub>2</sub> ile gerçekleşmektedir. CO<sub>2</sub> difüzyonu propiyonik asit fermentasyonundan önce, heterofermentatif laktik asit fermentasyonu sırasında oluşan bir miktar gaz ile başlamaktadır. Bunun yanı sıra CO<sub>2</sub>'nin bir kısmı da glukozdan 6-fosfoglukonat yoluyla oksidatif dekarboksilasyon sonucu oluşan laktat, asetat ya da etanol oluşumu sırasında açığa çıkmaktadır. Olgunlaşmanın sonlarına doğru gözeneklerin büyümesi propiyonik asit fermentasyonu ve kısmen de aminoasitlerin dekarboksilasyonundan kaynaklanmaktadır (Steffen vd 1993).

İsviçre tipi peynirin kalitesi, ticari değeri ve kabul edilebilirliği üzerine gözenek yapısının büyük etkisi bulunmaktadır. Her İsviçre tipi peynirin kendine özgü gözenek yapısı vardır. Gözeneklerin çapı, dağılımı ve şekli önem arz etmektedir (Rosenberg vd 1992). Düzenli gözenek oluşumu sütün kalitesi ve uygulanan ısı işlemlere, olgunlaştırma koşullarına ve propiyonik asit bakterileri türü ve inokulasyonuna bağlıdır (Rosenberg vd 1992). Bunun yanı sıra gözenek oluşumunu: CO<sub>2</sub> üretiminin yoğunluğu,

zamanı ve miktarı; CO<sub>2</sub> basıncı ve difüzyon hızı ile peynirin tekstürü ve sıcaklığı da etkilemektedir.

Peynirin depolama sıcaklığı protein ağının elastikliğini etkilemektedir. Peynir sıcaklığı ne kadar yüksekse protein de o kadar elastik yapıdadır. Gözenek oluşumu için gaz oluşum hızı kritik bir faktördür. Gaz oluşumu çok hızlı olursa, kazein ağı artan basıncı dengeleyememekte ve peynir yapısında yarıklar meydana gelmektedir. Gaz oluşumu çok yavaş olursa gözenek oluşumu da olumsuz etkilenmekte ve küçük gözenekler oluşmaktadır. Üreticiler peyniri ılık odada uzun süre bırakarak büyük gözenekli peynir oluşumunu sağlayabilmektedirler (White vd 2003).

Gözenek oluşumu uzun zaman alan bir işlemdir. Laktik asit oluşumunun ilk evrelerinde CO<sub>2</sub> oluşumu ve difüzyonu başlar. Propiyonik asit fermentasyonu ile oluşan CO<sub>2</sub>, peynir kitlesinde birikmeye başlar. Peynir üretiminden yaklaşık 20-30 gün sonra gözenekler oluşmaya başlar. En yüksek oluşum hızı yaklaşık 50 gün sonra görülür ve bu esnada gözenekler de aynı hızda büyümeye devam eder. Protein parçalanması da CO<sub>2</sub> kaynağı olarak tespit edilmiştir. Bu nedenle propiyonik asit fermentasyonu devam ederken aminoasitlerin dekarboksilasyonu ile da gaz oluşur ve gözenek sayısı ile boyutundaki artışa katkıda bulunur (Steffen vd 1993).

Ortalama 80 kg'lık bir peynir kalıbında tüketimden hemen önce toplam CO<sub>2</sub> üretimi 120 L'dir. Üretilen karbon dioksitin 60 L'si peynir kitlesinde çözülmüş olarak bulunurken, 20 L'si gözeneklerde bulunur ve diğer 40 L'si ise peynirden uzaklaşır (Steffen vd 1993, Üçüncü 2004b).

#### **1.2.1.6. Lezzet**

Peynir lezzeti kullanılan sütün özelliklerine bağlıdır. Süt veren hayvanların beslenmesinde kullanılan bitkiler, yemler ve çeşitli mineral tuzları sütün tadını etkileyerek istenmeyen lezzet oluşmasına da neden olmaktadır. Ayrıca sütün kimyasal yapısını etkileyen laktasyon ve ransiditeye neden olan lipaz gibi bazı süt enzimleri ile sütün doğal lezzeti içerisinde bulunan istenmeyen mikroorganizmalar fermentatif aktiviteleriyle doğrudan, ya da enzimatik reaksiyonlarla dolaylı olarak lezzeti etkilemektedir (Steffen vd 1993). Çiğ süttten yapılan peynirin lezzeti pastörize ya da mikrofiltre edilen süte göre daha yoğundur. Bu yüzden pastörize süte lezzet gelişimi için destek kültür eklenmesi ilgi gören bir yöntemdir. İsviçre peynirinin karakteristik

lezzetini termofilik laktik asit bakterileri ve propiyonik asit bakterileri etkilemektedir (Thierry vd 2005).

Peynir lezzeti, peynir yapımı ve olgunlaştırılması sırasında kullanılan yöntemlerden de etkilenmektedir. İsviçre’de İsviçre tipi peynir çiğ süttten yapılmaktadır. Üretimin başlangıç aşamalarında uygulanan sıcaklık ve presleme işlemi lezzet gelişimi için önemlidir. Diğer önemli faktörler; fermentasyon ve olgunlaştırma işlemi koşulları, kalıbın şekli ve boyutudur. Salamura işleminde tuz konsantrasyonu da su aktivitesini ve dolayısıyla mikrobiyal gelişmeyi etkileyerek peynir aromasını etkilemektedir (Steffen vd 1993).

Lezzet bileşenleri uçucu ve uçucu olmayan bileşenler olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Uçucu bileşenler; uçucu yağ asitleri, birincil ve ikincil alkoller, metil ketonlar, aldehitler, esterler, laktonlar, alkanlar, aromatik hidrokarbonlar, sülfür ve azot içeren çeşitli bileşenlerdir (Steffen vd 1993). Uçucu olmayan bileşenler ise peynirin karakteristik tadı ve yoğun aromasını sağlayan peptitler, peptonlar, serbest aminoasitler, aminler, tuzlar ve yağlardan oluşmaktadır (Bachmann vd 2002). Laktik asit, asetik asit, formik asit, diasetil, asetaldehit, etanol ve propiyonik asit laktoz ve sitrattan; ketonlar, laktonlar, aldehitler ve yağ asitleri ise lipitlerden oluşmaktadır (Nath 1993).

Tipik İsviçre peynirinin fındığımsı ve tatlımsı bir lezzeti vardır. Tatlılık suda çözünen bileşenlerden ve özellikle aminoasitlerden kaynaklanmaktadır (prolin ve valin). Aminoasitlere ilaveten suda çözünen yağ asitleri, propiyonik asit, tuz, magnezyum iyonları, kalsiyum iyonları, tri ve tetra peptitler de tatlılık veren bileşenlerdir. Serbest aminoasitler peynir lezzetini enzimler tarafından uçucu lezzet bileşenlerine dönüşürülmesiyle etkilemektedir (Ji vd 2004). İsviçre tipi peynirin lezzeti ayrıca furanonlar, kısa ve orta zincirli yağ asitleri, esterler, diasetil ve dallanmış zincirli aldehitler tarafından etkilenmektedir (Thierry vd 2005). Fındığımsı aroma alkilpirizinlerden kaynaklanmaktadır. Laktobasillerin ve fekal streptokokların bazı suşları İsviçre tipi peynirde biyojenik amin oluşumuna neden olabilmektedir (Nath 1993).

### **1.2.2. Emmental peynirinde görülen hatalar**

Peynir yüzeyindeki veya içindeki bazı mikroorganizmalar bazı lezzet ve tekstür hatalarına neden olmaktadır. Sütteki mikroorganizmaların hemen hemen hepsi üretim

sırasında peynire geçmekte ve peynirin gramındaki sayıları mL süttekine göre 7-11 kat artmaktadır. Bakteriyel gelişme birçok lezzet hatası oluşmasına neden olmaktadır. Tekstür hataları aşırı gaz üretimi sonucu oluşan büyük ve çok sayıdaki gözeneklerden kaynaklanmaktadır. Bu hatalardan üretimin başlarında oluşanlar erken şişme; üretimden birkaç hafta sonra oluşmaya başlayanlar ise geç şişme olarak isimlendirilmektedir (Walstra vd 2006). Başlıca Emmental peyniri hataları aşağıda verilmiştir:

### 1.2.2.1. Erken şişme

Peynirin ılık odaya girmeden önce aşırı gaz oluşumundan dolayı şişmesidir. Etmeni aşırı koliform gelişmesidir. Erken şişmenin önlenmesi için; ısıl işlem gerçekleştirilmiş süt kullanılması, hızlı ve düzenli asit gelişimi sağlanması ve üretimde hijyenik kurallara uyulması gereklidir (Kosikowski ve Mistry 1997a).

### 1.2.2.2. Geç şişme

Geç şişme *Clostridium tyrobutyricum* gibi spor oluşturan ve laktik asidi propiyonik asit yerine bütirik asit ve hidrojene fermente eden bakterilerden kaynaklanmaktadır (Wiedmann vd 1999, Lund vd 2000).

Geç şişme; peynir üretildikten bir ya da iki ay kadar belirginleşen ve önemli gözenek ve yapı hatalarına neden olan bir durumdur. Dıştan peynirin şişmesiyle içten ise aşırı şişmeye bağlı yarıkların oluşmasıyla tespit edilebilmektedir. Peynir lezzeti de genellikle normal değildir (Kosikowski ve Mistry 1997a). Peynirde yarıklarla birlikte bütirik asit kokusu da oluşmaktadır (Koreáneková vd 2000). Bütirik asit miktarının 200 µg/L veya daha fazla olduğu durumlarda lezzet hataları hissedilebilir düzeyde olmaktadır (Wiedmann vd 1999).

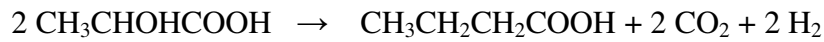
Bu hatanın oluşması için çok fazla anaerobik spora gerek yoktur. 200-300 spor/mL veya daha az spor içeren sütte de bu hataya rastlanabilmektedir (Kosikowski ve Mistry 1997a). *C.tyrobutyricum* süte silajdan ya da fekal kaynaklardan bulaşmaktadır. Laktik asidi fermente eden, spor oluşturan *Clostridium*'lar düzgün bir şekilde fermente edilmemiş silajda çok yüksek düzeylerde (>100 000 spor/g) bulunmaktadır (Wiedmann vd 1999).



Bu hatayı önlemek için pıhtı düzenli bir şekilde oluşturulup, su içeriği, pH ve tuz seviyesi optimum tutulmalıdır (Kosikowski ve Mistry 1997a). Yine süte sodyum ya da potasyum nitrat da katılabilmektedir. (Walstra vd 2006).

### 1.2.2.3. Bütirik asit fermentasyonu

Bazı *Clostridium* türleri peynirde gelişme göstermekte ve laktik asidi fermente ederek bütirik asit oluşturmaktadır. Fermentasyon sonucu peynirin pH'sında düşüş görülmektedir. Başlıca parçalanma ürünleri bütirik asit, CO<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>'dir (Walstra vd 2006):



Bütirik asit fermentasyonu tekstür ve lezzet hatalarına neden olmaktadır. İleri durumlarda yarıklar ve büyük küresel boşluklarla, çok kötü lezzet oluşabilmektedir. Bu tip hata da şişme olayı birkaç hafta hatta birkaç ay sonra ortaya çıkabilmekte ve geç şişmenin bir çeşidi olarak görülmektedir. *C.tyrobutyricum* bu hatadan sorumlu temel mikroorganizmadır ve diğer laktatı fermente den *Clostridium*'ların aksine laktozu fermente edememektedirler. *C.butyricum* da bu hataya neden olabilmektedir (Walstra vd 2006).

### 1.3. Geleneksel Emmental Peyniri Üretim Teknolojisinde Bakırın Etkisi

Geleneksel Emmental peyniri 1000-1200 kg kapasiteli (Kosikowski ve Mistry 1997a) bakır teknelerde yapılmaktadır (Mueller vd 1952, Harper ve Kristoffersen 1958, Sieber vd 2006). Üretilen peynirler 15 mg/kg'a kadar bakır içermektedir (Walstra vd 2006). İsviçre'de üretilen Emmental peynirlerinde bakır içeriği seviyesinin 7,6 ve 16,5 mg/kg arasında değiştiği belirlenmiştir (Sieber vd 2006).

Emmental peynirinde bulunan bakırın, kullanılan bakır kaplardan çözünüp peynire karıştığı ileri sürülmekte ve bakır ile paslanmaz çelik ekipmanların kullanımının Emmental peynirinin lezzet ve tekstürü üzerine etkisi zaman zaman sorgulanmaktadır. Bazı araştırmacılar iyonize bakırın peynir olgunlaşması sırasında enzimlerin aktivitesine olumlu etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Kosikowski ve Mistry 1997a). Bu nedenle bakırın lezzet gelişimine etkisi olduğuna inanılmakta ve paslanmaz çelik tanklarda üretilen peynire bakır tuzu eklendiği bildirilmektedir (Walstra vd 2006). Nitekim

Vantgal ve Hammond (1986) Avrupa orijinli peynirlerin geleneksel İsviçre tipi peynirlere göre daha ağır ve uçucu olmayan karakteristiğe sahip farklı bir lezzeti olduğunun kabul edildiğini ve bu farklılığının Avrupa'da İsviçre tipi peynir yapımında bakır teknelerin kullanılmasından ya da peynire bakır ilavesinden geldiğinin düşünüldüğünü ifade etmişlerdir.

Singh ve Kristoffersen (1971) bakır ilavesinin İsviçre tipi peynirde lezzete olan etkisini araştırmış ve 1 ppm bakır ilavesinin lezzet yoğunluğunu artırdığını ve lezzeti geliştirdiğini belirlemiştir. Buna rağmen 10 ppm bakır ilavesinin peynirde lezzet gelişimini azalttığını bildirmiştir. Fröhlich-Wyder ve Bachmann (2004) tarafından ise 7,62-12,7 mg/kg (120 ve 200  $\mu$ mol/kg) bakır içeriğinin optimum seviyede olduğu ve bunun da bakır kaplardan süte geçtiği bildirilmiştir.

Hlynka vd (1942) yaptıkları çalışmada pankreatik lipaz eklenmiş süttten elde edilen Cheddar peynirlerinde bakır ilavesinin lipaz üzerine etkisini duyuusal analizlerle belirlemiştir. Bakır ilave edilmiş süttten elde edilen pıhtıda bakır ilave edilmemiş peynir pıhtısına göre daha az acı tat hissedilmiş olmasına rağmen, 2 haftalık peynirlerde bakır ilave edilmiş peynirde pıhtıdan daha fazla acı tat hissedilmiştir. Sonuç olarak pıhtıda hissedilmeyen fakat 2 haftalık peynirde hissedilen acı tadın, peynirdeki oksidasyon-redüksiyon potansiyeline bağlı olarak lipazın faaliyetinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Bakırın bazı oksidoredüktazların yapısında bulunabildiği ve istenmeyen reaksiyonlarda katalist olarak davrandığı için olumsuz etkileri bulunabileceği ise Sieber vd (2006) tarafından bildirilmiştir.

Harper ve Kristoffersen (1958) bakır kaplarda üretilen İsviçre tipi peynirlerin gözenek ve tekstür yapısının paslanmaz çelik kaplarda üretilenlere göre daha düzgün olduğunu ve paslanmaz çelik kaplarda üretilen peynirlerin gözeneklerinin yuvarlak çok yarık şeklini andırdığını belirtmişlerdir. Bakırın propiyonik asit fermentasyonunu engellediği bildirilen aktif sülfidril gruplarıyla (-SH) reaksiyona girerek ortama (-S<sup>-</sup>) ve hidrojen sülfür salınımını azalttığı ve böylece paslanmaz çelik kaplarda üretilen peynirlerden daha iyi bir propiyonik asit fermentasyonunun gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Yapılan bir başka çalışmada bakırın İsviçre tipi ve Cheddar peynirinde lezzete olan etkisi aktif sülfidril gruplarının farklı bakır miktarlarıyla olan ilişkisiyle belirlenmiştir. İsviçre tipi peynirde 0,5-15 ppm bakır ilavesinin aktif sülfidril gruplarıyla herhangi bir ilişkisi olmadığı, buna karşın Cheddar peynirinde 1 ppm bakır katkısının bile olgunlaşma sırasında aktif sülfidril gruplarının oluşumunu engellediği görülmüştür (Kristoffersen 1967).

Peynir üretiminde kullanılan bakırın propiyonik asit bakterilerini inhibe etme etkisinin görüldüğü (Frank ve Marth 1999) ve propiyonik asit bakterilerinin bakıra hassas oldukları da bildirilmiştir (Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2007, Jan vd 2007). Fröhlich-Wyder vd (2002) sitrat metabolizması sonucu, kompleks halde bulunan bakırın ortamda serbest hale geçtiğini ve sitrat ve bakırın birlikte propiyonik asit bakterileri üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Jimeno vd (1995) yaptıkları çalışmada peyniraltı suyundaki iyonik bileşenleri içeren MRS broth'da sitrat fermentasyonu ile oluşan asetat ve format varlığında artan bakır konsantrasyonunun (0-1,8 mmol/L CuSO<sub>4</sub>) propiyonik asit bakterileri üzerinde inhibe edici etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca Rice ve Miscall (1923) tarafından da rennetin aktivitesinin bakır tarafından yavaşlatıldığı ve dolayısıyla pıhtı oluşma hızının yavaşladığı belirtilmiştir.

Mueller vd (1952) İsviçre peynirindeki mikrobiyal flora üzerine bakırın etkisini besiyeri ve peynir ortamında ayrı ayrı incelemiştir. Besiyeri ortamına *S.thermophilus* ve *L.casei* için 0-16 ppm arasında bakır, *L. bulgaricus* için ise 0-20 ppm arasında bakır ilavesi yapılmıştır. *S.thermophilus* üzerine 2-4 ppm bakırın etkisinin önemsiz olduğu görülmüştür. *L.casei* gelişiminin 2 ppm bakır varlığında olumlu; 4-16 ppm bakır eklenmesinde ise olumsuz etkilendiği ortaya konulmuştur. *L.bulgaricus* üzerine ise 20 ppm'e kadar bakır eklenmesinin etkisi olmadığı belirlenmiştir. Peynirde titrasyon asitliğinin eklenen bakıra paralel olarak azaldığı ve bu etkinin *S.thermophilus* üzerine olan etkiyle tutarlılık gösterdiği belirtilmiştir. 0-8 ppm arası bakır konsantrasyonu 3 *P.shermanii* kültürünün gelişimini olumsuz etkilemiştir. Aynı şekilde uçucu asit ve CO<sub>2</sub> üretimi de olumsuz etkilenmiştir. Aynı mikroorganizmalarla peynir örneğinde çalışma yapıldığında 0-0,5 ve 7,8-8 ppm arası bakır konsantrasyonunun peynirin kimyasal özelliklerini ve fiziksel görünüşünü etkilemediği, 18 ppm bakır konsantrasyonunun ise peynirin kalitesini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir.

Maurer vd (1974a) İsviçre peyniri üretiminde kullanılan mikroorganizmalar üzerine bakırın etkisini besiyeri ortamında araştırmıştır. Çalışmada propiyonik asit bakterilerinin 4 suşu, *L.bulgaricus*'un 3 suşu, *S.thermophilus* ve laktik kültürlerin karışık suşları kullanılmıştır. Karışık kültürlerin suşlarında 3. saate kadar bakırın herhangi bir etkisi görülmemiş fakat inkübasyondan 3 saat sonra 8 ve 16 ppm'lik bakırın mikroorganizma gelişimine olumsuz etki yaptığı görülmüştür. *S.thermophilus*'un karışık kültürden daha hassas olduğu bildirilmiştir. 8 saat inkübasyon sonunda 2 ppm bakır, *S.thermophilus*'un sayısını azaltmış ve 16 saat sonunda 16 ppm bakır uygulanmış besiyerinde kontrol besiyerine göre mikroorganizmanın ancak %4'ü sayılabilmektedir. 24 saat sonunda 16 ppm bakır içeren besiyerinde *L.bulgaricus* sayısı kontrole göre 2 log daha az bulunmuştur. Kontrolde 72 saat sonunda propiyonik asit bakterileri artmış fakat 48 saat sonunda bakır eklenmiş besiyerinde sayı kontrole göre azalmıştır.

Maurer vd (1974b) ise bakırın etkisini İsviçre tipi peynirde çalışmıştır. Proteolizi belirlemek amacıyla serbest tirozin miktarını analiz etmişlerdir. Bakır içeren ticari İsviçre peynirinde proteoliz kontrole göre daha fazla gerçekleşmiştir. Asetik ve propiyonik asit miktarı ise bakırla değişiklik göstermemiştir.

Rodríguez ve Alatossava (2008) starter ve destek kültürler üzerine bakırın etkisini besiyeri ortamında toplam 13 adet laktik asit bakteri ve propiyonik asit bakterisi suşu kullanarak araştırmışlardır. Bakıra en hassas bakteri türü *S.thermophilus* olarak belirlenmiştir. 3 Lactobacillus türü içerisinde bakıra dirençli olan türler artan sırayla: *L.rhamnosus*, *L.helveticus* ve *L.delbrueckii* olmuştur. *Propionibacterium* P131 suşu, 15 ve 30 ppm bakır varlığında tamamen inhibe olmuştur.

Bakır, birçok enzim için kofaktör olmakla birlikte bazı Lactobacillus peptidazlarının metaloproteazları için inhibitördür. Örneğin *L.helveticus*'un bazı suşları peynirde acılığı azaltmak için ve lezzet gelişimini desteklemek için destek kültür olarak kullanılmakta ve bu suşların aminopeptidazlarının bakırla inhibe olduğu düşünülmektedir (Christensen vd 1995).

Konu ile ilgili olarak yapılan ve yukarıda özetlenen çalışma sonuçları göstermiştir ki: Emmental peynirinin son kalitesi çiğ sütte ve peynirde bulunan farklı bakır miktarlarından etkilenebilmektedir. Literatürde bu konuyla ilgili sınırlı kaynak

bulunmakta ve bu konunun aydınlatılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle bakır içeren ve içermeyen süt kullanılarak ve/veya üretilen peynire bakır tuzu katılarak bakırın üretilen peynirin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine etkisinin araştırılmasının gerekli olduğu düşünülmüştür.

Bu düşünceden hareketle planlanan çalışmanın amacı: paslanmaz çelik tanklarda bakır katkılı ve bakır katkısız süttten üretilen Emmental peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine bakırın etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaçla belirli konsantrasyonda bakır sülfat ilave edilmiş süt ile edilmemiş süttten üretilen peynirlerden farklı zamanlarda numune alınarak, üretimde önem taşıyan mikroorganizmaların gelişimi, organik asit üretimi ve protein parçalanması üzerine bakırın etkisi belirlenerek, peynirin olgunlaşma sürecindeki etkisinin aydınlatılması hedeflenmiştir.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Materyal

Araştırma materyali olan Emmental peynirleri Helsinki Üniversitesi, Gıda Teknolojisi Bölümü pilot süt tesisinde üretilmiştir. Hammadde süt Finlandiya'da bulunan bir çiftlikten temin edilmiştir. *S.thermophilus* T101, *L.helveticus*'un 3 suşunu içeren K16 kültürü, *L.rhamnosus* LC-705 ve *P.freudenreichii* sbsp. *freudenreichii* P131 suşları Valio Ltd.'den, CaCl<sub>2</sub> ve rennet ise pilot süt tesisinden temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer katkıları; CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O (Merck), maya ekstraktı (Merck), laktoz (Merck), agar (Merck), tripton (Fluka), Na-laktat (Fluka), β-gliserofosfat (Alfa-Aesar), vancomycin (Sigma), M17 agar (LAB M) ve MRS agar (LAB M) ticari firmalardan satın alınmıştır. Kimyasal analizlerde kullanılan sodyum tiyosülfat 5-fosfat, NaOH, borik asit, metilen mavisi, metilen kırmızısı, HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Trikloroasetik asit ve fosfotungstik asit de (Merck, Fluka veya Sigma marka) mahalli ticari firmalardan temin edilmiştir.

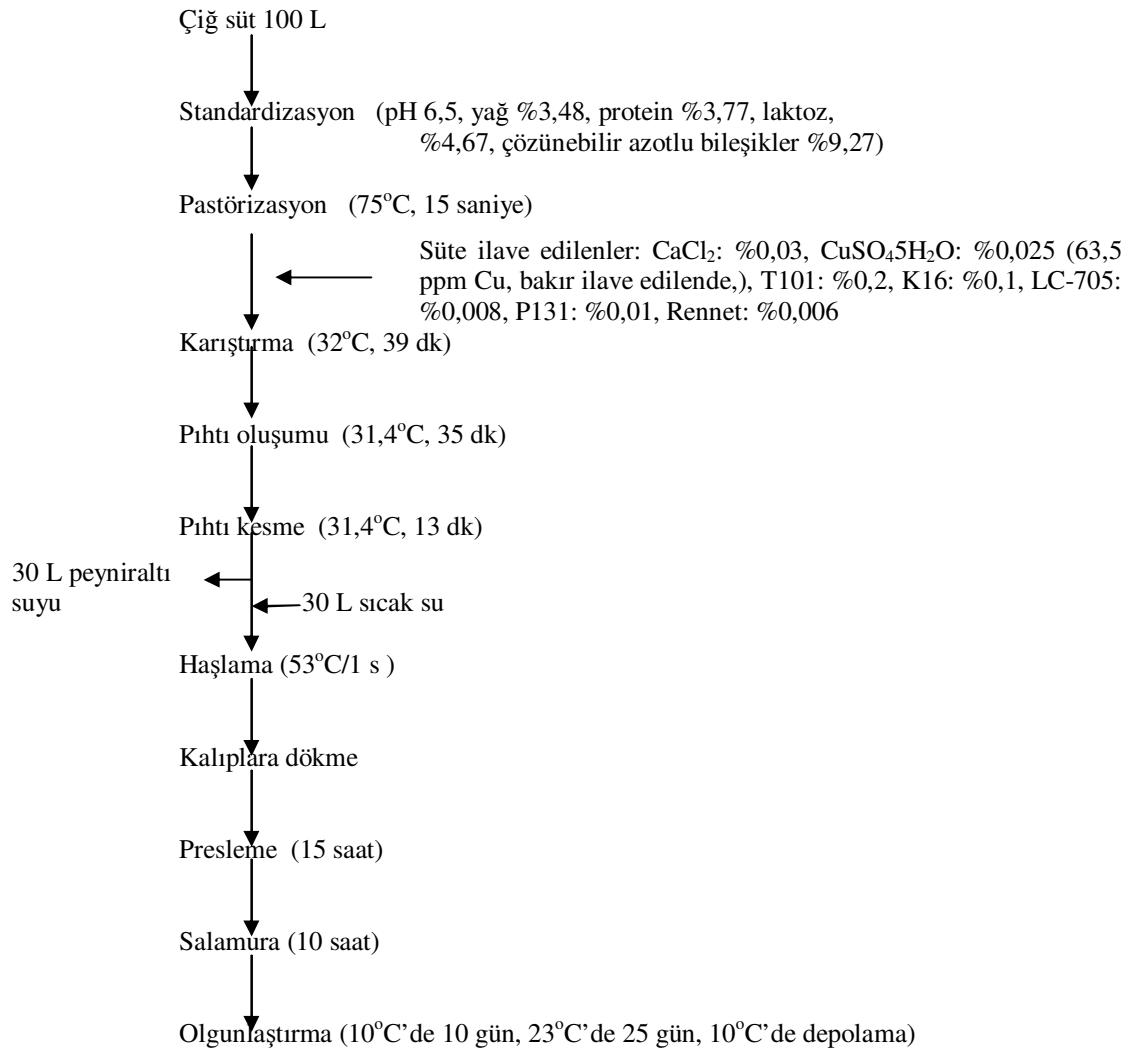
### 2.2. Metot

#### 2.2.1. Peynir Üretimi

Emmental peyniri üretimi iki farklı peynir teknesinde, birisine bakır sülfat çözeltisi (CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O) ilave edilmiş, diğerine ise edilmemiş süttten gerçekleştirilmiştir. Her bir tekneden 4,5 kg peynir üretilmiştir.

Emmental peyniri üretimi için süt standardize edildikten sonra 75°C'de 15 sn pastörize edilerek çiğ süt florası inhibe edilmiştir. Pastörize süt 32°C'ye soğutulduktan sonra karıştırılırken önce %0,03 CaCl<sub>2</sub> ve %0,025 CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O (peynir teknesinin birisine 63,5 ppm Cu) sonra %0,2 *S.thermophilus* T101 suşu, %0,1 *L.helveticus*'un 3 suşunu içeren K16 kültürü, %0,008 *L.rhamnosus* LC-705 suşu ve %0,01 *P.freudenreichii* sbsp. *freudenreichii* P131 suşu ilave edilmiştir. Takiben %0,006 rennet

ilave edilerek karıştırmaya devam edilmiştir (Toplam 39 dk). Mayalanmış süt pıhtı oluşunu için 35 dakika bekletilmiştir. Oluşan pıhtı 13 dakika süresince kesme işlemine tabi tutulmuştur. Süre sonunda 30 L peyniraltı suyu uzaklaştırılmış ve takiben tekneye 30 L sıcak içme suyu eklenmiştir. Ardından 53°C’de toplam 1 saat haşlama ve karıştırma işlemi uygulanmıştır. Kalıplara dökülen pıhtı 15 saat preslenmiş ve elde edilen taze peynir kalıbı salamurada 10 saat bekletildikten sonra 10°C’de 10 gün bekletilmiştir. Takiben vakum ambalajlanan peynirler propiyonik asit fermentasyonunun oluşması için yaklaşık 23°C’de 25 gün olgunlaştırılmıştır. Propiyonik asit fermentasyonu istenilen düzeyde gerçekleştirildikten sonra 10°C’lik soğuk odaya alınmış ve olgunlaştırmaya 90 gün daha devam edilmiştir. Üretimde gerçekleştirilen işlemler Şekil 2.1’de özetlenmiştir.



**Şekil 2.1** Helsinki Üniversitesi, Gıda Teknolojisi Bölümü pilot tesisinde Emmental peyniri üretiminin akım Şeması

### 2.2.2. Örnekleme

Peynirin kimyasal ve mikrobiyolojik özelliğini belirlemek için 1, 6, 30, 60 ve 90 günlük peynirlerden örnek alınarak analiz edilmiştir. Ayrıca çiğ süt, pastörize süt ve starter kültür eklenmiş pastörize sütte de mikrobiyolojik ve bazı kimyasal analizler yapılmıştır.

Peynir örnekleri her seferinde peynir kalıbının 1/5'lik parçasından, geleneksel örnek alma aleti kullanılarak alınmıştır. Mikrobiyolojik analizler için örnek alınırken aseptik koşullar sağlanmış ve örnek alma işlemi ve analizler aynı gün gerçekleştirilmiştir. Su içeriği analizi için de aynı gün alınan örnekler kullanılmıştır. Organik asit analizi için uygun miktarda rendelenmiş peynir, kahverengi ve ağzı kapalı şişelere konularak azot uygulanmış ve -80°C'de dondurulmuştur. Böylece oksidasyonun engellenmesi amaçlanmıştır. Diğer kimyasal analizler için ise yeterli miktarda alınan numune -20°C'de dondurulmuştur. pH ölçümü ise peynir yapımı ve olgunlaştırma süresince her örnek alma aşamasında gerçekleştirilmiştir.

### 2.2.3. Hammaddelerde Gerçekleştirilen Analizleri

Peynir üretiminde kullanılan çiğ ve standardize süt ile krema ve yağsız sütün mikrobiyolojik ve bazı kimyasal özellikleri (% yağ, % protein, % laktoz ve % çözünebilir azotlu bileşikler içeriği) saptanmıştır. Peynir yapımı için kullanılan hammaddelerin temel kimyasal kompozisyonu <sup>TM</sup> Minor (FOSS, Analytical A/S Denmark) kullanılarak, Cu içeriği ve mikrobiyolojik özellikleri ise aşağıda verilen ve Emmental peynirinde de kullanılan yöntemlerle belirlenmiştir.

### 2.2.4. Emmental Peynirinde Gerçekleştirilen Analizler

#### 2.2.4.1. Mikrobiyolojik analizler

Aseptik şartlarda rendelenmiş peynirden 10 g örnek alınmış ve 90 mL IDF 122:2001(E) standardına uygun hazırlanan sodyum sitrat çözeltisiyle (pH 7,5) karıştırılmıştır. 3 dakika stomakerde işlem görmüş ve ilk seyreltme elde edilmiştir. Pepton-tuz çözeltisiyle (pH 7) IDF 122:2001(E) standardına göre 10<sup>-8</sup> oranına kadar dilüsyonlar hazırlanmıştır (Anonim 2001). Her bir mikroorganizma sayımı için aşağıda verilen yöntemlere göre uygun ardışık dilüsyonlardan paralelli olarak ekimler gerçekleştirilmiştir.



#### 2.2.4.1.1. Laktik Streptokok sayımı

Laktik streptokok sayımı M17 agarda (LAB M) dökme agar yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Besiyeri son laktoz konsantrasyonu %1,5 olan bir ortam elde etmek amacıyla %10'luk (ağırlık/hacim) filtre (spor boyu 0,45 µm; Scheleicher & Schuell, Dassel, Germany) ile sterilize edilmiş laktoz (Merck) çözeltisi ile desteklenmiştir. Uygun dilüsyonlardan 1 mL alınarak eritilmiş 15 mL M17 agarla karıştırılmıştır. Katılaştıran M17 agar petripleri aerobik ortamda 37±1°C'de 48±2 saat inkübasyona bırakılmış ve her petrideki koloni oluşturan birimler (kob) sayılmıştır (Rodriguez ve Alatossava 2008).

#### 2.2.4.1.2. Laktobasil sayımı

Laktobasil sayımı MRS agarda (LAB M) yayma yöntemle yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınıp katı besiyerinin yüzeyine yayılarak ekim gerçekleştirilmiştir. Petripler 37±1°C'de 48-72±2 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmıştır. Anaerobik ortam BBL (Baltimore Biological Laboratory) gaz paketi kullanılarak oluşturulmuştur. Her bir petride kob sayımı yapılmıştır (Anonim 1991).

#### 2.2.4.1.3. *L.rhamnosus* sayımı

*L.rhamnosus* sayımı 50 mg/L vankomisin (Sigma) içeren MRS agar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınmış ve katı MRS vancomycin içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır. Petripler 37±1°C'de 48-72±2 saat anaerobik koşullarda inkübasyona bırakılmış ve petriplerdeki kob sayılmıştır (Coeuret vd 2003).

#### 2.2.4.1.4. Propiyonik asit bakterisi sayımı

Propiyonik asit bakterisi sayımı Na-laktat agar besiyerinde yayma yöntemle yapılmıştır. Uygun dilüsyonlardan 100 µL alınarak katı Na-laktat besiyeri üzerine yayma ekim yapılmıştır. Ekim yapılan petripler 30±1°C'de 5 gün anaerobik koşullarda (BBL sistemi kullanılarak) inkübasyona bırakılmış ve kob sayımı yapılmıştır (Vedamuthu vd 1992).

Na-laktat agar besiyeri kompozisyonu 1 L besiyeri için: 5,0 g Tripton (Fluka); 10,0 g Maya ekstraktı (Merck); 10,0 g β-gliserofosfat (Alfa-Aesar); 16,8 mL %50'lik Na-

laktat (Fluka); 16,5 g Agar (Merck) içermektedir. Tartılan ve çözüldürülen besiyeri 121°C’de 15 dk sterilize edilmiş ve pH 7,2±0,2’ye ayarlanmıştır.

#### 2.2.4.2. Kimyasal analizler

##### 2.2.4.2.1. Toplam kurumadde içeriğinin belirlenmesi

10 g temiz kum ve cam çubuk behere konularak kurutma fırınında yaklaşık 102±2°C’de 1 saat kurutulmuş ve desikatörde soğutularak darası ( $m_0$ ) alınmıştır. Beher içerisine 5 g rendelenmiş peynir 4 ondalıklı olarak hassas terazide tartılmış ( $m_1$ ) ve cam çubuk kullanılarak peynir beher içindeki kumla iyice karıştırılmıştır. 102±2°C’deki kurutma fırınına konularak tamamen kuruması sağlanmıştır. 16-18 saat sonra etüvden çıkarılan örnekler desikatörde soğutulmuş 1. tartım yapılmış ve ardından tekrar kurutularak 1-2 saat aralıklarla tekrar tartımlar yapılmıştır. Tartım sonuçlarına bakılarak sabit tartım gerçekleştiğinde elde edilen değer “ $m_2$ ” olarak alınmıştır. Eğer son tartımda bir öncekine göre değer artışı varsa; oksidasyon olduğu göz önüne alınarak bir önceki tartım sonucu alınmıştır. Toplam kurumadde içeriği aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Ardö 2007).

$$\text{Toplam Kurumadde (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1} \times 100$$

##### 2.2.4.2.2. pH belirlenmesi

Peynirdeki hidrojen iyonlarının aktivitesinin belirlenmesi için iğne elektrotlu pH metre (Eutech Ins., Oakton Ins., IL., USA) kullanılmıştır. pH 4,00 ve 7,00’deki tampon çözeltilerle kalibre edilmiş elektrot peynir kalıplarına daldırılmış ve ölçülen değer sabitlendiğinde kaydedilmiştir (Ardö 2007).

##### 2.2.4.2.3. Toplam azot analizi

Filtre kağıdı üzerine analitik tartıda 0,5 g peynir örneği tartılmış ve filtre kağıdı ile birlikte Kjeldahl tüplerine konulmuştur. Kjeldahl tüpüne bir tablet katalizör ve 12 mL sülfürik asit (%95’lik) konularak iyice karıştırılmıştır. Yakma işlemi 375°C’de örnekler parlak yeşil renk alana kadar 1,5-2 saat süreyle Kjeldahl Yakma Ünitesinde (Digestion system 20, 1015 Digester, Tecator, Foss 2001, Sweeden) gerçekleştirilmiştir. Örnekler 3 paralelli olarak hazırlanmış ve her bir yakma işlemi için 2’şer şahit örnek hazırlanmıştır.

Distilasyon işlemi için yakma işlemi tamamlanmış Kjeldahl tüplerine 100 mL alkali çözeltisi (Sodyum tiyosülfat 5-fosfat %5, NaOH %30) konulmuş ve Kjeldahl Distilasyon Ünitesine (Kjeltec System 1002, Distilling Unit, Tecator, Foss2001, Sweeden) bağlanmıştır. Titrasyon için 25'er mL borik asit çözeltisi (%4) konulmuş distilat toplama erlenmayeri de yerleştirilmiştir. Distilasyon işlemi erlenmayerdeki son hacim 125 mL olana kadar devam ettirilmiştir. Toplanan distilat üzerine 5 damla indikatör (%0,1 metilen mavisi ve %0,03 metilen kırmızısı karışımı) konulmuş ve 0,1 N HCl ile titre edilmiştir. Her bir örnek için harcanan HCl hesaplamada kullanılmak amacıyla kaydedilmiştir. Sonuç aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır (Anonim 2002).

$$\text{Toplam Azot (\%)} = [1,4008 \times (V_s - V_b) \times M] / W$$

$V_s$  : Örnek için harcanan HCl'nin hacmi(mL)  
 $V_b$  : Kör için harcanan HCl'nin hacmi (mL)  
 $M$ : Titrasyonda kullanılan HCl'nin molaritesi  
 $W$ : örneğin ağırlığı (g)

#### 2.2.4.2.4. Suda çözünen azot analizi

10 g rendelenmiş peynir 40°C'deki 50 mL deiyonize su ile karıştırılmış ve stomakerde 5 dk homojenize edilmiştir. Örnekler 40°C'de 1 saat bekletilmiş ve 10.000 devir/dk hızda 4°C'de 30 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra örnekler cam yünü filtreden süzülmüştür. (Ardö 1999). Süzüntüden 5 g örnek alınarak "2.2.4.2.3. Toplam azot analizi" başlığında verilen işlemler uygulanmıştır. Bütün örnekler 2'şer paralelli hazırlanmış ve her birinden 2'şer tane alınarak analiz edilmiştir.

#### 2.2.4.2.5. Trikloroasetik asitte (%12) çözünen azot analizi

Suda çözünebilir azot fraksiyonundan 25 mL alınarak %24'lük 25 mL TCA ile karıştırılmıştır. Örnekler oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiş ve Whatman No. 40 filtre kağıdından filtre edilmiştir. Filtrattan paralelli olarak 5 g örnek alınmış ve "2.2.4.2.3. Toplam azot analizi" başlığında verilen işlemler uygulanmıştır (Ardö 1999).

#### 2.2.4.2.6. Fosfotungstik asitte (%5) çözünen azot analizi

Suda çözünebilir azot fraksiyonundan 10'ar mL alınmış ve 7 mL 3,95 mol/L sülfürik asit çözeltisi ve 3 mL %33 PTA (PTA'nın son konsantrasyonu %5) ile karıştırılmıştır. Karışım 4°C'de bir gece bekletilmiş ve Whatman No.40 filtre

kağıdından filtre edilmiştir. Ekstraktan 5 g örnek paralelli olarak alınmış ve daha önce “2.2.4.2.3. Toplam azot analizi” başlığında verilen işlemler uygulanmıştır (Ardö 1999).

#### **2.2.4.2.7. Bakır İçeriği Analizi**

Bakır içeriği analizi İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES- Thermo Jarrell Ash- IRIS Advantage) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 6-10 g peynir örneği 10 ml konsantre nitrik asitte parçalanmış ve 1-2 ml örnek kalana kadar evapore edilmiştir. Örnekler 50 mL’lik balon jöjeye konulmuştur. ICP-OES ile ölçüm yapılmadan önce filtre edilmiştir. Ölçüm 327,2 nm’de yapılmış ve her bir analizde 2 kör ve 1-3 şahit numune örneklerle birlikte analiz edilmiştir. Şahit örnek olarak ARC/CL süt tozu, ARC/CL buğday unu ve ARC/CL diet kullanılmıştır (Kumpulainen ve Paakki 1987).

#### **2.2.4.2.8. Organik Asit Analizleri**

Organik asit analizi, yüksek basınç sıvı kromatografisi (HPLC) (Hewlett Packard 1090 Series II) cihazı ile Rezex RFQ-fast Fruit+(8%) 100 \* 7,8 mm kolon ve DAD dedektör kullanılarak 210 nm dalga boyunda, Phenomex HPLC Column Check Standards ID No:14749’a göre yapılmıştır. Örnekler paralelli olarak analiz edilmiş ve Kontrol standartları her analiz başı ve sonu ile her 5-10 örnek arasında ölçülmüştür.

Genel metotta verilen suda çözündürme ve seyreltme işlemleri, Mulin ve Emmons (1997) ve Akalın vd (2002) tarafından peynirler için uygulanan 1 dk homojenizasyon (Ystral gmbh ile) ve 0,20 µm filtreden süzme işlemi ile modifiye edilmiştir.

#### **2.2.5. İstatistiki analizler**

Çalışmada elde edilen kimyasal analiz sonuçları varyans analizi ile; mikrobiyolojik sayım sonuçları ise verilere logaritmik transformasyon uygulandıktan sonra Kruskall-Wallis yöntemi ile MINITAB programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bakır ve olgunlaşma süresi interaksyonu ise SAS 9 programı kullanılarak belirlenmiştir.

### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

#### 3.1. Hammadde Analiz Bulguları

Emmental peyniri üretiminde kullanılan sütün mikrobiyolojik kalitesini ortaya koymak için çiğ ve pastörize edilip starter kültür eklenmiş sütte mikrobiyolojik analizler yapılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.1’de özetlenmiştir.

**Tablo 3.1** Çiğ süt ve pastörize süt+starter karışımına uygulanan mikrobiyolojik analiz sonuçları

Örnek	Peynir Tankı	Mikroorganizma sayısı (log kob/mL)				
		Streptokok	Laktobasil	<i>L.rhamnosus</i>	Propiyonik asit bakterisi	TAMB**
Çiğ süt		Y*	Y	Y	Y	5,78
Pastörize süt+starter	1	6,46	6,46	6,73	5,85	Y
Pastörize süt+starter	2	6,49	6,34	6,63	5,45	Y

\*: Y: Analiz yapılmadı, \*\*: TAMB: Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri

Emmental peyniri üretiminde kullanılan çiğ ve standardize süt ile krema ve yağsız sütün bazı kimyasal özellikleri saptanmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.2** Çiğ ve standardize süt ile krema ve yağsız sütün bazı kimyasal özellikleri

Hammadde	Yağ (%)	Protein (%)	Laktoz (%)	Çözünabilir azotlu bileşikler (%)
Çiğ süt	4,07	3,68	4,56	9,12
Standardize süt	3,48	3,77	4,67	9,27
Krema	38,92	1,79	2,34	5,73
Yağsız süt	0	3,89	4,78	9,27

Çalışmada kullanılan sütün standardize edildiği değerler literatür verileri ile oldukça benzerdir. Beuvier vd (1997) yaptıkları çalışmada; İsviçre tipi peynir üretimi için %2,9-3,2 yağ içeren süt kullanılmışlar ve süt yağı/protein oranını 1 olarak ayarlamışlardır. Kosikowski ve Mistry (1997b) tarafından da geleneksel Emmental peyniri üretiminde %3 yağ içeriğine sahip süt kullanılmıştır.

### 3.2. Çiğ Süt ve Emmental Peynirinin Bakır İçerikleri

Çalışmada etkisi incelenen bakır katkısının miktarını belirlemek için gerçekleştirilen bakır analizleri Finlandiya'daki özel bir laboratuvar olan MTT'ye yaptırılmıştır. Peynir üretim aşamasında kontrol süt doğrudan bakır ilaveli süt ise %0,025  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (yaklaşık 63,5 ppm Cu) katılarak denemelerde kullanılmıştır. Her iki süt ve bundan elde edilen peynirlerin bakır içerikleri Tablo 3.3'de verilmiştir.

**Tablo 3.3** Emmental peyniri üretiminde kullanılan süt ve farklı olgunlaşma süresinde analiz edilen peynirlerin içerdikleri bakır miktarları

Örnek	Olgunlaşma Süresi (gün)	Bakır İçeriği (ppm)
Çiğ süt	-	0,1
Bakır ilaveli süt	-	0,4
Kontrol Emmental Peyniri	1	0,9
Bakır ilaveli Emmental Peyniri	1	4,3
Kontrol Emmental Peyniri	30	1,0
Bakır ilaveli Emmental Peyniri	30	4,2
Kontrol Emmental Peyniri	90	1,0
Bakır ilaveli Emmental Peyniri	90	4,2

Analiz sonuçlarından da izlenilebildiği gibi süte ilave edilen Cu miktarı dikkate alındığında, analiz sonucu sütte ve peynirlerde süte katılan orandan çok az bakır bulunmuştur. Bakır ilaveli Emmental peynirinde yaklaşık 4,2 ppm olan bakır içeriği; bakır ilavesi olmayan süttten yapılan kontrol Emmental peynirinde yaklaşık 1,0 ppm civarında bulunmuştur. Maurer vd (1974b) çalışmalarında bakır içermeyen süttten elde edilen peynirin 1,0-1,8 ppm, 25 ppm bakır içeren süttten elde edilen peynirin de 3,3-3,9 ppm bakır içerdiğini tespit etmişlerdir. Bakır ilavesiz süttten üretilen peynirden elde edilen veriler çalışmada elde edilen verilerle tam benzerlik göstermektedir. Cu ilaveli örneklerde süttten peynire geçen Cu oranı iki çalışmada da benzer şekilde düşük olmakla birlikte bu oran yapılan çalışmada Maurer vd (1974b) tarafından verileden daha düşük bulunmuştur.

### 3.3. Emmental Peynirinin Mikrobiyolojik Özellikleri

Emmental peyniri üretiminde standardize ve pastörize edilmiş süte birincil starter olarak *S.thermophilus* T101 suşu, destek ve starter olmayan laktik asit bakterileri olarak da *L.helveticus*'un 3 suşunu içeren K16 kültürü, *L.rhamnosus* LC-705 suşu ve

*P.freudenreichii* sbsp. *freudenreichii* P131 suşu eklenmiştir. Birincil starter kültür dışında eklenen *L.helveticus* peynir pH'sının kontrol edilmesini ve olgunlaştırmanın ileri evrelerinde proteolizi gerçekleştirerek lezzet bileşiklerinin oluşmasını sağlayarak peynir kalitesini iyileştirmek amacıyla Finlandiya'da destek kültür olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. *L.rhamnosus* LC-705 suşu propiyonik asit oluşumunu düzenleyerek *Clostridium*'ların neden olduğu fermentasyonu engellemesi; propiyonik asit bakteri suşu ise İsviçre tipi peynire özgü olan propiyonik asit fermentasyonunu gerçekleştirerek tipik Emmental peyniri özelliklerinin elde edilebilmesi amacıyla çalışmada kullanılmıştır. İlave edilen starter ve destek kültürlerin beklenen faydayı sağlayabilmesi peynirde olgunlaşma süresince canlı kalması ve metabolik faaliyetlerinin devam etmesine bağlıdır. Bu nedenle bakır katkılı ve katkısız süttten üretilen Emmental peynirinde bakır katkısının kullanılan mikroorganizmalar üzerine etkisi araştırılmıştır.

Starter ve destek kültür kullanılarak üretilen bakır katkılı ve katkısız Emmental peynirinde olgunlaşma süresince starter kültür olarak kullanılan mikroorganizmaların sayım sonuçlarına istatistiki analiz uygulanarak elde edilen ortalama mikroorganizma sayıları ile muamele x olgunlaşma süresi interaksyonu sonuçları Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Emmental peynirinde bulunan laktik streptokok sayısı, kontrol örneklerinde 7,77-8,74 log kob/g arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 7,69 - 8,62 log kob/g arasında değişmektedir (Tablo 3.4). Bununla birlikte, yapılan istatistiki analiz bakır ilavesinin Emmental peynirinde streptokok sayısı üzerine istatistiki anlamda önemli etkisinin olmadığını ( $P>0,05$ ) göstermiştir. Mueller vd (1952) tarafından optik yoğunluk yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada da benzer bir sonuç bulunmuş ve besiyeri ortamı olarak kullanılan süte 2 ve 4 ppm bakır ilavesinin Emmental peyniri üretimi için kullanılan *S.thermophilus* üzerine inhibe edici etki göstermediği bildirilmiştir.

Rodríguez ve Alatossava (2008) tarafından da *S.thermophilus*'un 15 ppm bakır içeren besiyeri ortamında anaerobik koşullarda 24 s inkübasyon sonunda tamamen inhibe olduğu, aerobik koşullarda sadece yaklaşık 0,2 log kob/mL düşüş olduğu saptanmıştır. Rodríguez ve Alatossava (2008) tarafından yapılan çalışmada kullanılan bakır konsantrasyonunun yüksek olmasına rağmen aerob şartlarda inhibisyon etkisinin düşük olması çalışma sonuçlarını tam olarak desteklememektedir. Bu farklılık gelişme ortamındaki farklılıklar ile metot ve kullanılan suşların farklılığından kaynaklanabilir.

**Tablo 3.4** Emmental peyniri üretiminde kullanılan starter ve destek kültürlerin sayım sonuçları ile muamele x olgunlaşma süresi interaksyon sonuçları

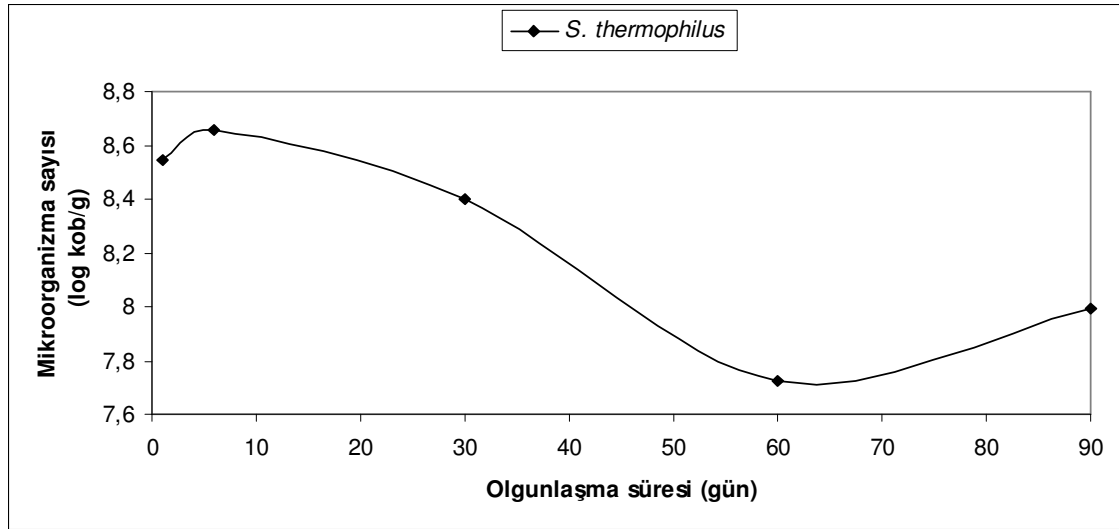
Olgunlaşma süresi (gün)	Muamele	Mikroorganizma sayısı (log kob/g)			
		Streptokok	Laktobasil	<i>L.rhamnosus</i>	Propiyonik asit bakterisi
1	Cu İlaveli	8,62±0,017 ab*	8,42±0,130 ab	8,16±0,183 bc	6,41±0,015 ef
	Kontrol	8,47±0,154 bc	8,39±0,421 ab	8,11±0,302 c	6,50±0,117 f
6	Cu İlaveli	8,57±0,129 ab	8,40±0,177 ab	8,33±0,183 abc	6,29±0,169 f
	Kontrol	8,74±0,055 a	8,56±0,064 a	8,39±0,122 ab	6,46±0,083 ef
30	Cu İlaveli	8,47±0,228 bc	8,36±0,134 abc	8,41±0,183 a	8,40±0,091 b
	Kontrol	8,33±0,090 c	8,25±0,114 bc	8,38±0,197 ab	8,00±0,111 cd
60	Cu İlaveli	7,69±0,051 e	7,69±0,109 d	7,83±0,096 d	7,91±0,093 d
	Kontrol	7,77±0,057 e	8,14±0,040 c	8,21±0,137 abc	8,11±0,210 c
90	Cu İlaveli	7,98±0,135 d	8,25±0,101 bc	8,24±0,063 abc	8,63±0,062 a
	Kontrol	8,01±0,066 d	8,23±0,058 bc	8,26±0,070 abc	8,32±0,143 b

\*: Muamele x olgunlaşma süresi interaksyonunu istatistiki olarak önemli olan parametrelerde yapılan analiz sonuçları, aynı sütundaki istatistiki anlamda farklı olan gruplar farklı harflerle işaretlenerek gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden P<0,05 düzeyinde farklıdır.

Maurer vd (1974a) *S.thermophilus*'un karışık laktik kültürden daha hassas olduğunu bildirmiştir. 2 ppm bakır ilavesi 8 saat inkübasyon sonunda, *S.thermophilus* sayısını azaltmış, 16 ppm bakır uygulanmış besiyerinde 16 saat sonunda kontrol besiyerindeki mikroorganizma sayısının ancak %4'ü belirlenmiştir. Buna rağmen inkübasyonun 16. saatinden 48. saatine kadar *S.thermophilus* bakırın etkisine adapte olmuş ve *S.thermophilus* sayısında hızla artış meydana gelmiştir.

Olgunlaşma süresince ise streptokok sayısında yaklaşık 0,5 log kob/g düzeyinde bir düşüş meydana geldiği (Şekil 3.1) ve bu düşüşün istatistiki olarak da çok önemli (P<0.01) olduğu saptanmıştır.

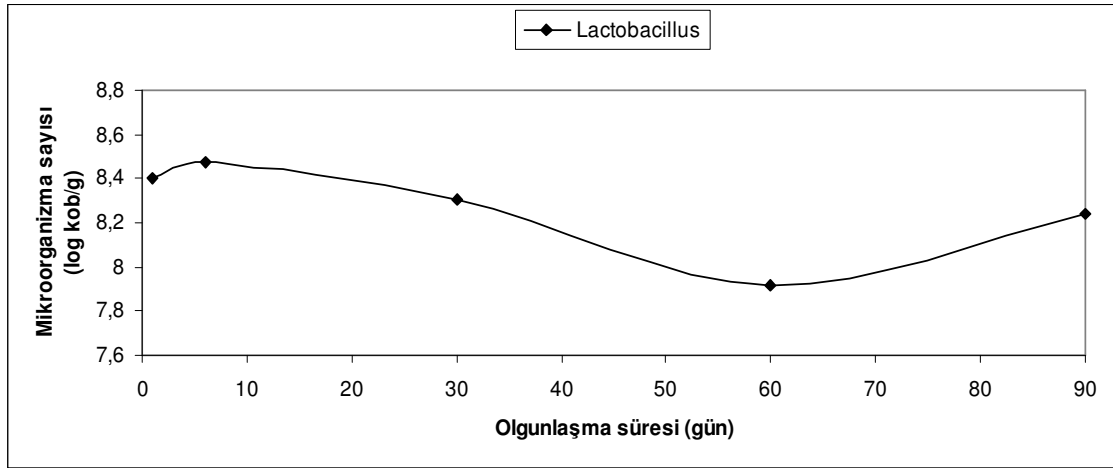




**Şekil 3.1** Emmental peynirinde laktik streptokok sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Çalışmada olgunlaşma süresine bağlı olarak elde edilen yaklaşık 0,5 log kob/g düzeyinde olan ve istatistiki anlamda da önemli bulunan düşüş, Rodríguez ve Alatossava (2008) tarafından 15 ppm bakır içeren besiyeri ortamında gerçekleştirilen çalışmada çok daha kısa sürelerde saptanmıştır. *S.thermophilus* sayısı (başlangıç sayısı 5,8 log kob/mL) olgunlaşma süresine (24, 48 ve 72 saat) bağlı olarak giderek azalmış ve anaerobik koşullarda 24 saat inkübasyon sonucunda canlı hücre kalmazken; aerobik koşullarda belirtilen inkübasyon sürelerinde sırasıyla yaklaşık 0,2, 0,3 ve 2,0 log kob/mL düşüş belirlenmiştir. Ancak bu çalışmadaki bakır oranının çok yüksek olduğu gözden kaçırılmamalıdır.

Çalışmada laktobasil sayısı olgunlaşma günlerine göre kontrol örneklerinde 8,14-8,56 log kob/g arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 7,69-8,42 log kob/g arasında değişmiştir (Tablo 3.4). Örneklerin laktobasil sayısı üzerine de bakır ilavesinin belirgin bir etkisinin olmadığı ( $P>0,05$ ), olgunlaşma süresinin ise yaklaşık 0,17 log kob/g düzeyinde istatistiki olarak çok önemli bir düşüşe ( $P<0,01$ ) neden olduğu belirlenmiş ve Şekil 3.2’de grafik halinde gösterilmiştir.



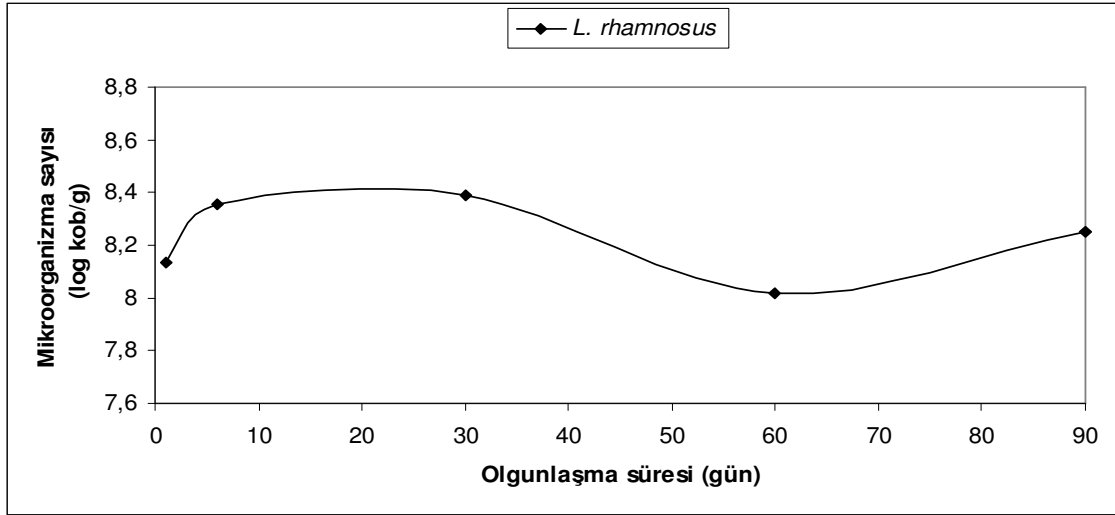
**Şekil 3.2** Emmental peynirinde laktobasil sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Rodríguez ve Alatossava (2008) 3 *Lactobacillus* türünde bakıra karşı direnci en azdan en fazlaya doğru: *L.rhamnosus*, *L.helveticus* ve *L.delbrueckii* olarak saptamıştır. Mueller vd (1952) süt ortamında *L.casei*'nin gelişiminin 2 ppm bakır varlığında desteklendiğini, *L.bulgaricus*'un da 20 ppm bakır varlığında olumsuz etkilendiğini bildirmiştir. *Lactobacillus* sp. 302 suşunun ise 2, 4 ve 8 ppm bakır varlığında desteklendiğini, fakat 16 ppm bakır konsantrasyonunda inhibe edildiğini bildirmiştir. Araştırmacılar çalışmalarında bakteri gelişiminin gözlenmesi için optik yoğunluk yöntemini kullanmışlardır. Çalışmada kullanılan peynirlerdeki bakır konsantrasyonu dikkate alındığında; laktobasiller için çalışma sonuçları ile literatür verileri arasında bakır katkısının etkisi açısından farklılık bulunmadığı söylenebilir.

Maurer vd (1974a) İsviçre peyniri üretiminde kullanılan mikroorganizmalar üzerine bakırın etkisini araştırmıştır. Propiyonik bakterilerin 4 suşu, *L.bulgaricus*'un 3 suşu, *S.thermophilus* ve laktik kültürlerin karışık suşları kullanılmıştır. Karışık kültürlerin suşlarında 3. saate kadar bakırın herhangi bir etkisi görülmemiş fakat inkübasyondan 3 saat sonra 8 ve 16 ppm'lik bakırın mikroorganizma gelişimine olumsuz etki yaptığı görülmüştür. 16 saat sonunda 16 ppm bakır içeren besiyerindeki mikroorganizma sayısı kontrol besiyerine oranla yarı yarıya azalma göstermiştir. 24 saat sonunda 16 ppm bakır içeren besiyerinde *L.bulgaricus* sayısı kontrole göre 2 log daha az bulunmuştur.

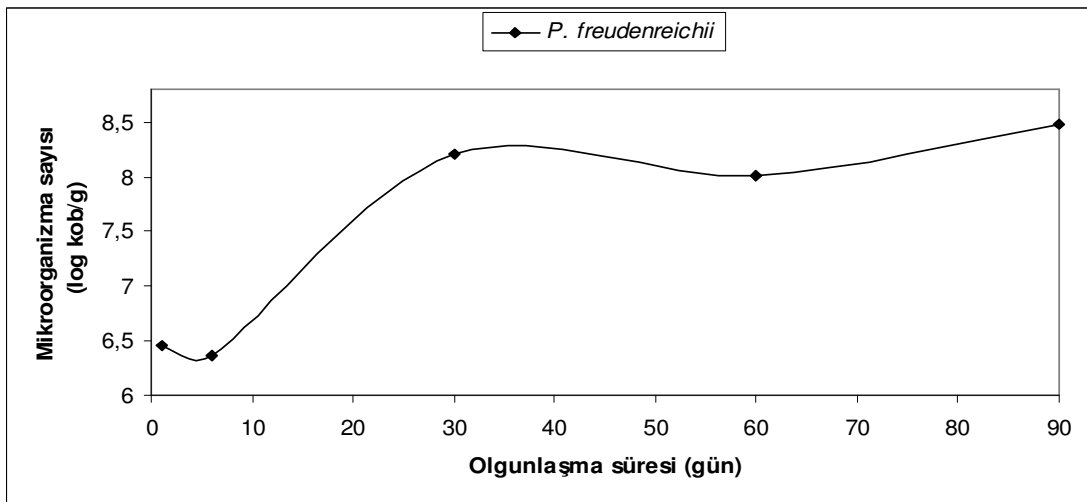
*L.rhamnosus* sayısının kontrol örneklerinde 8,11-8,38 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 7,83-8,41 arasında değiştiği (Tablo 3.4) ve bakır ilavesinin önemli bir etkisinin olmadığı ( $P>0.05$ ) saptanmıştır. Olgunlaşma süresinin etkisi ise çok önemli ( $P<0,01$ ) bulunmuş ve olgunlaşma süresine göre değişen sayının olgunlaşma süresi

sonunda yaklaşık 0,2 log kob/g arttığı saptanmıştır. *L.rhamnosus* sayısı üzerine olgunlaşmanın etkisi Şekil 3.3’de gösterilmiştir.



**Şekil 3.3.** Emmental peynirinde *L.rhamnosus* LC-705 sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Propiyonik asit bakteri sayısı da kontrol örneklerinde 6,46-8,32 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 6,29-8,63 arasında değişmiş (Tablo 3.4), fakat istatistiki anlamda bakır ilavesinin propiyonik asit bakterileri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı ( $P>0,05$ ) tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresinin propiyonik asit bakteri sayısı üzerine de çok önemli etkiye sahip ( $P<0,01$ ) olduğu saptanmıştır. Olgunlaşma süresine göre propiyonik asit bakteri sayısında meydana gelen değişim Şekil 3.4’te grafik halinde gösterilmiştir.



**Şekil 3.4** Emmental peynirinde *P.freudenreichii* sbsp. *freudenreichii* sayısının olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Çalışmada hem kontrol hem de bakır katkılı Emmental peynirinde elde edilen propiyonik asit bakteri sayısı, çeşitli araştırmacılar tarafından (Steffen vd 1993, El Soda 1999, Farkye 1999, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004) tüketime hazır Emmental peynirinde rapor edilen  $10^8$ - $10^9$  kob/g sonucundan biraz daha düşüktür. Mueller vd (1952) tarafından optik yoğunluk yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen çalışmada ise 0, 0,5, 2,4 ve 8 ppm bakır içeren sütte 3 farklı propiyonik asit bakteri suşunun ortamdaki gelişme hızının artan bakır konsantrasyonuna paralel olarak yavaşladığı belirlenmiştir. Araştırmanın 13. günü sonunda oluşan uçucu asit ve CO<sub>2</sub> miktarı bütün bakır konsantrasyonları için aynı miktarda tespit edilmiştir. Sonuç olarak farklı konsantrasyonlardaki bakırın asetik asitin propiyonik asite dönüşüm oranını etkilemediği görülmüştür. Mueller vd (1952) tarafından elde edilen bu sonuçlar çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Rodríguez ve Alatossava (2008) tarafından 15 ve 30 ppm bakır içeren besiyeri ortamında yapılan çalışmada ise *Propionibacterium* P131 suşu inhibe olmuştur.

Daha önce de belirtildiği gibi Emmental peynirinde kullanılan starterler üzerine bakırın etkisiyle ilgili literatür çok sınırlıdır ve bu çalışmalar laboratuvar ortamında yapıldığından sonuçlar besiyeri ortamına göre değişmektedir. Peynir yapımında kullanılan farklı işlem basamaklarının da sonuçlarda etkili olabileceği düşünülmelidir.

### **3.4 Emmental Peynirinin Kimyasal Özellikleri**

#### **3.4.1. pH, toplam kurumadde ve toplam azot içeriği**

Emmental peynirinde kontrol ve bakır içeren örneklerde ölçülen pH, toplam kurumadde içeriği ve toplam azot içeriği ortalamaları Tablo 3.5’de özetlenmiştir.

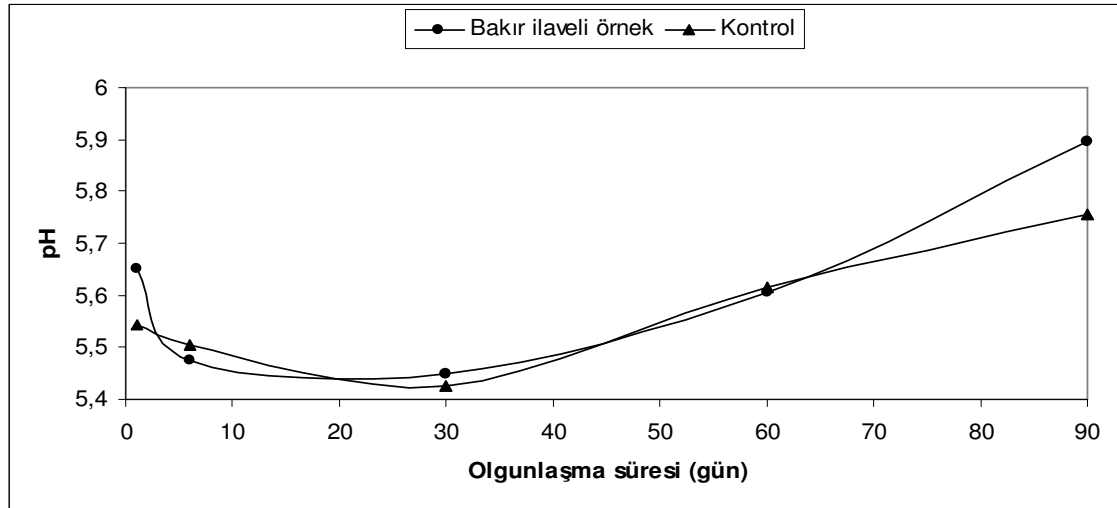
Peynirlerde pH değeri; kontrol örneklerinde 5,42-5,76 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 5,45-5,90 arasında değişmiştir (Tablo 3.6). İstatistik analiz sonucunda bakır ilavesinin ve olgunlaşma süresinin her ikisinin de pH üzerine etkisinin çok önemli ( $P<0,01$ ) olduğu saptanmıştır ve bakır ilave edilen ve edilmeyen sütün yapılan peynirlerde pH’nın değişimi Şekil 3.5’te gösterilmiştir.

**Tablo 3.5** Emmental peynirinde pH, toplam kurumadde (%) ve toplam azotun (%) olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Olgunlaşma süresi (gün)	Muamele	pH	Toplam Kurumadde (%)	Toplam Azot (%)
1	Cu İlaveli	5,65±0,000 c*	60,21±0,338 e	4,10±0,031 c
	Kontrol	5,55±0,029 e	60,74±0,182 d	4,30±0,120 a
6	Cu İlaveli	5,48±0,017 fg	61,00±0,286 d	4,10±0,050 bc
	Kontrol	5,50±0,006 f	60,96±0,216 d	4,10±0,056 bc
30	Cu İlaveli	5,45±0,034 gh	61,52±0,151 c	4,16±0,058 b
	Kontrol	5,42±0,029 h	61,98±0,171 b	4,10±0,040 bc
60	Cu İlaveli	5,61±0,017 d	61,87±0,382 bc	4,26±0,078 a
	Kontrol	5,62±0,006 cd	61,73±0,272 bc	4,14±0,037 bc
90	Cu İlaveli	5,90±0,017 a	62,49±0,050 a	4,12±0,015 bc
	Kontrol	5,76±0,052 b	62,6±0,451 a	4,10±0,037 bc

\*: Emmental peynirinde pH, toplam kurumadde ve toplam azot ile olgunlaşma süresi arasındaki ilişki aynı sütundaki istatistiki anlamda farklı olan gruplar farklı harflerle işaretlenerek gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden P<0,05 düzeyinde farklıdır.

Bakır ilavesinin istatistiki anlamda pH üzerine farklı bulunduğu sonucun aksine, Mueller vd (1952) tarafından İsviçre tipi peynirde yapılan ve 0,0-0,5 ppm'den 7,5-8,0 ppm'e kadar bakır içeriğinin 7 ve 88 günlük peynir pH'sında önemli değişikliğe (0,05-0,15 pH) yol açmadığı bildirmiştir.



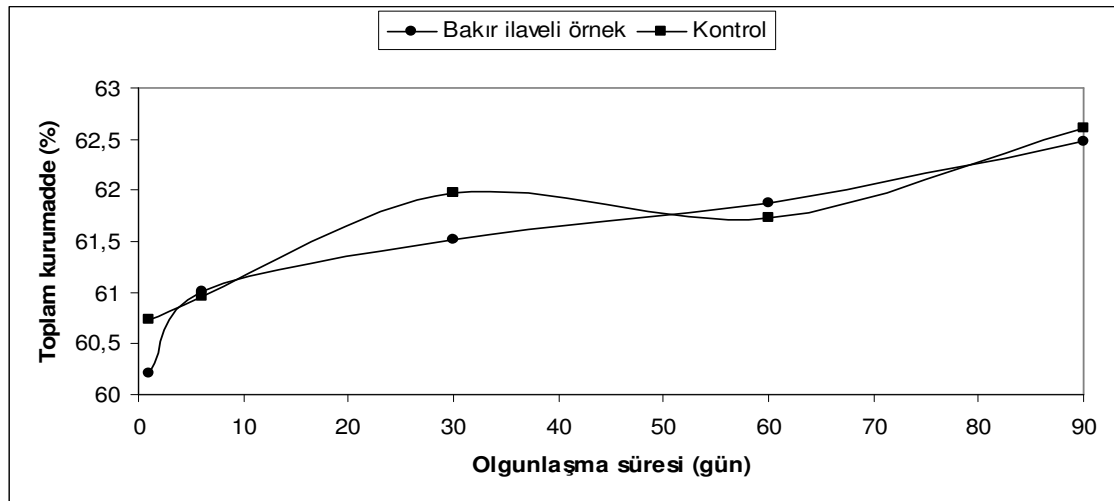
**Şekil 3.5** Emmental peynirinde pH'nın olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Olgunlaştırma günlerine bağlı olarak kontrol ve bakır ilaveli örneklerde 30. güne kadar düşüş eğiliminde olan pH daha sonra yükselmiş ve 90. günde en yüksek değere çıkmıştır. Bu beklenen bir durumdur. Çünkü olgunlaşmanın başlangıçlarında laktik asit miktarı laktoz parçalanmasına bağlı olarak artmakta ve pH düşmektedir. 30. günden

sonra yoğun olarak gerçekleşen propiyonik asit fermentasyonu sonucu ortamda laktik asit azalırken asetik ve propiyonik asit birikmeye başlamaktadır. Laktik, asetik ve propiyonik asitin pKa değerlerinin sırasıyla 3,08, 4,75 ve 4,87 olması nedeni ile laktik asit pH değerini asetik ve propiyonik aside göre daha fazla düşürmektedir (Beresford vd 2001).

Peynir salamura ve soğuk odaya konulmadan önce peynir pH'sı protein yapısında etkili olmaktadır. Düzenli bir gözenek oluşumu için 1 günlük peynirde pH'nın 5,2-5,5 civarında olması istenen bir durumdur. Üretilen CO<sub>2</sub> miktarı pH'ya bağlı olarak artmaktadır (Kocaoglu-Vurma vd 2008). Çalışmada elde edilen pH değerleri bu aralığın üst sınırının biraz daha üzerindedir.

Çalışmada peynir örneklerinin kurumadde içeriklerinin kontrol örneklerinde %60,74-62,60 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise %60,21-62,49 arasında değiştiği (Tablo 3.6) belirlenmiştir. İstatistiki analiz sonucunda bakır içeriğinin kurumadde üzerine etkisinin önemli (P<0,05), olgunlaşma süresinin etkisinin ise çok önemli (P<0,01) olduğu saptanmıştır. Farklı peynirlerin olgunlaşma süresinde kurumadde içeriğinin değişimi Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

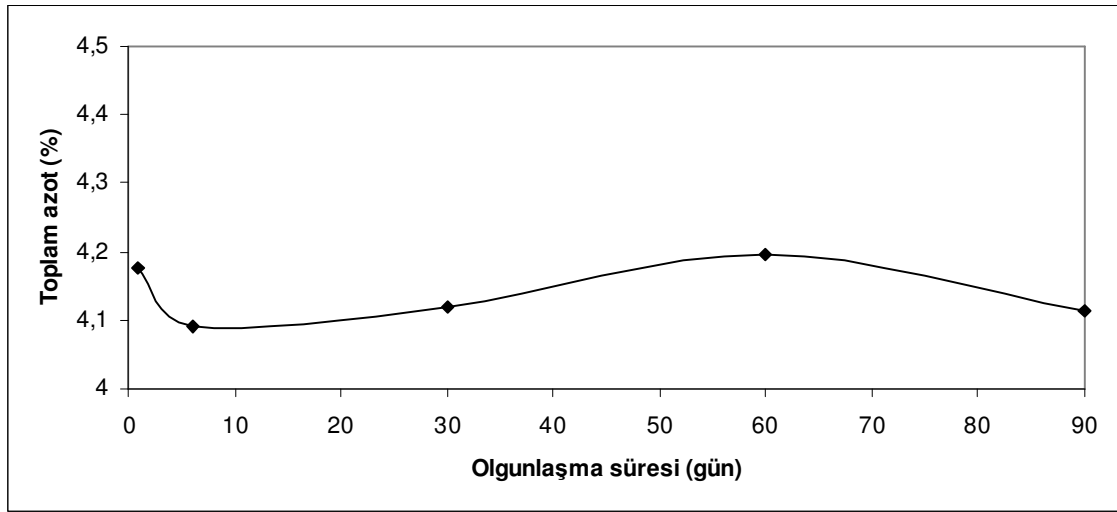


**Şekil 3.6** Emmental peynirinde toplam kuru madde (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Olgunlaşma süresi boyunca toplam kuru madde içeriği yaklaşık %2'lik bir artış göstermiştir. Bunun nedeni peynirlerden peyniraltı suyu ayrılması ve evaporasyon olarak düşünülebilir.

Toplam azot içeriği kontrol örneklerinde 4,10-4,30 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 4,10-4,26 arasında değişmiştir (Tablo 3.6). İstatistik analiz sonucunda bakırın toplam azot üzerine etkisinin önemsiz ( $P>0,05$ ), olgunlaşma süresinin etkisinin ise önemli ( $P<0,05$ ) olduğu saptanmıştır. Peynirdeki toplam azot içeriğinin olgunlaşma süresindeki değişimi Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

Örneklerin toplam azot içeriği en düşük olarak 6. günde saptanmıştır. 30, 60 ve 90. günde daha yüksek değerler belirlenmiştir.



**Şekil 3.7** Emmental peynirinde toplam azot (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

### 3.4.2. SÇA, TCAÇA ve PTAÇA içeriği

Peynirlerde azotlu bileşiklerin farklı fraksiyonlarının izlenmesi proteolizin daha iyi görülmesi ve olgunlaşmanın belirlenmesi için yöntemler geliştirilmesi açısından kullanılan önemli bir uygulamadır (Rohm vd 1996). Materyal ve metot kısmında belirtilen fraksiyonlarına ayırma yöntemlerinden her biri, peynirdeki farklı aktivitelerin bir göstergesi olmakta ve farklı peynirlerde farklı özellikleri belirlemek amacıyla kullanılabilirler. Tablo 3.6 peynirdeki N’lu bileşiklerinin fraksiyonlarına ayrılması için kullanılan metotları göstermektedir (Ardö 1999).

**Tablo 3.6** Azotlu bileşiklerin fraksiyonlarına ayrılması için kullanılan metotlar

Ayırma Yöntemi	Ayrılacak Bileşen
Su	Proteinler (kazeinlerin bir çoğu dahil), bütün peptidler, aminoasitler ve daha küçük azotlu bileşikler (aminler, üre ve amonyum gibi)
pH 4,4-4,6'da asitlendirme	Proteinler (kazeinlerin bir çoğu dahil), bütün peptidler, aminoasitler ve daha küçük azotlu bileşikler (aminler, üre ve amonyum gibi)
%12 TCA (trikloroasetik asit)	Orta boy ve küçük boy peptidler, aminoasitler ve daha küçük azotlu bileşikler (aminler, üre ve amonyum gibi)
%5 PTA (fosfotungstik asit)	Çok küçük peptidler, aminoasitler ve amonyak dahil küçük azotlu bileşikler

Peynir çeşidi ve özellikleri bu yöntemlerden birinin seçilmesinde etkilidir. Azotlu bileşiklerin ekstraksiyonu pH ile etkilenmektedir. Yüksek pH'ya sahip peynirlerde SÇA daha fazla görülmektedir. Bu yüzden olgunlaşması sırasında pH'da değişiklik görülen peynirlerde su yerine pH 4,6'daki çözeltileri kullanmak daha uygundur (Sousa vd 2001). Su, en fazla kullanılan ekstrakt çözeltisi ve SÇA da proteoliz indeksi olarak en fazla kullanılan bileşendir (Polychroniadou vd 1999). SÇA bileşiklerinin alt fraksiyonlara ayrılması için TCA kullanımı geleneksel bir yöntemdir (Rohm vd 1996). İstenen ayırma derecesine göre %2'den %12'ye (ağırlık/hacim) farklı konsantrasyonlarda TCA çözeltisi kullanılmaktadır. TCA konsantrasyonu ne kadar fazlaysa, çözünebilir peptid miktarı o kadar azdır ( Polychroniadou vd 1999).

Kazein hidrolizi peynir olgunlaştırmada meydana gelen en önemli olaydır ve birçok peynirin duyuşal özelliklerinin gelişmesinde önemli rolü vardır. Olgunlaşma sırasında oluşan peptidler suda veya diğer çözücülerde az ya da çok çözünür olabilirler (Polychroniadou vd 1999). Peynirin proteoliz derecesi peynir fraksiyonlarının azot içeriği analiz edilerek belirlenmektedir. Her fraksiyonun azot içeriği peynirdeki bazı değişik aktivitelerin ölçümünü sağlamaktadır (Ardö 1999).

Bu bilgiler ışığında çalışmada farklı fraksiyonlardaki toplam azot miktarının olgunlaşma sürecinde değişimi belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.7'de verilmiştir.

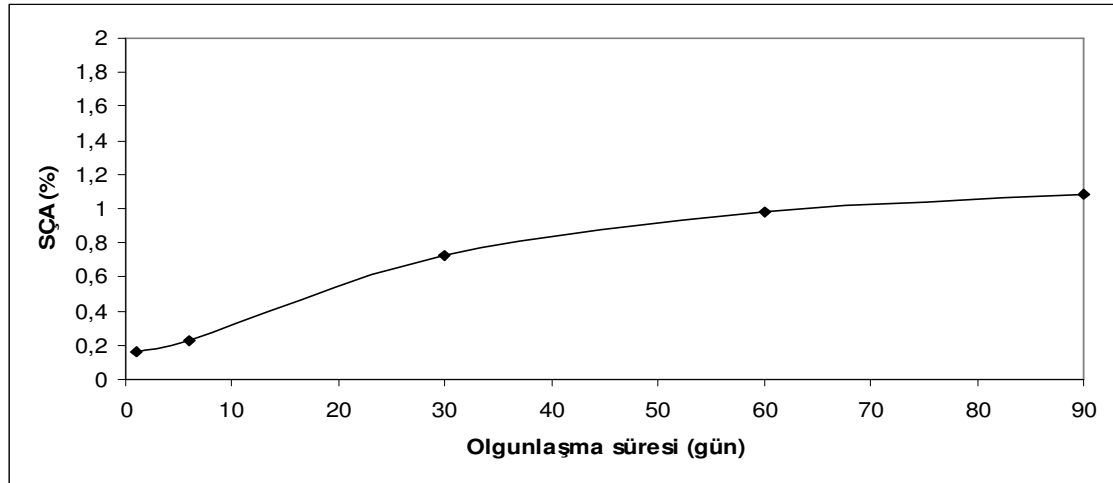


**Tablo 3.7** Emmental peynirinde SÇA (%), TCAÇA (%) ve PTAÇA (%) miktarları ve olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Örnek	Olgunlaşma süresi (gün)	SÇA(%)	TCAÇA(%)	PTAÇA(%)
Cu İlaveli	1	0,20±0,039 e*	0,054±0,032 e	0,025±0,018 d
Kontrol	1	0,12±0,017 f	0,03±0,032 e	0,026±0,006 d
Cu İlaveli	6	0,22±0,007 e	0,057±0,024 e	0,018±0,060 d
Kontrol	6	0,23±0,030 e	0,049±0,009 e	0,021±0,003 d
Cu İlaveli	30	0,71±0,045 d	0,19±0,009 d	0,077±0,050 c
Kontrol	30	0,74±0,062 d	0,20±0,010 d	0,087±0,003 c
Cu İlaveli	60	1,00±0,070 bc	0,37±0,012 c	0,15±0,008 b
Kontrol	60	0,96±0,043 c	0,43±0,036 b	0,20±0,023 a
Cu İlaveli	90	1,04±0,014 b	0,38±0,027 c	0,19±0,042 a
Kontrol	90	1,125±0,056 a	0,47±0,048 a	0,20±0,008 a

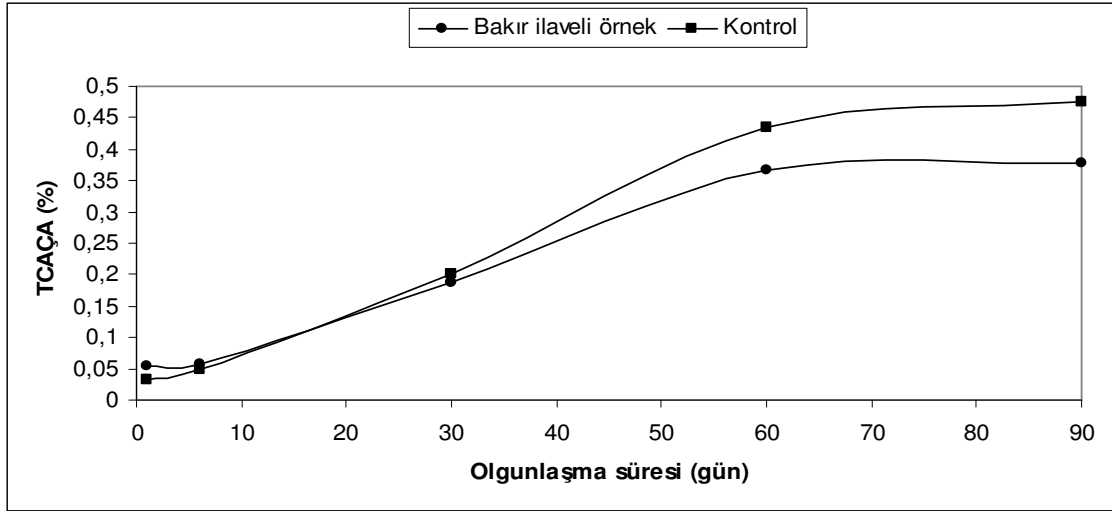
\*: Emmental peynirinde SÇA, TCAÇA ve PTAÇA ile olgunlaşma süresi arasındaki ilişki, aynı sütundaki istatistiki anlamda farklı olan gruplar farklı harflerle işaretlenerek gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden  $P<0,05$  düzeyinde farklıdır.

SÇA kontrol örneklerinde 0,12-1,125 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 0,2-1,04 arasında değişmiştir. İstatistiki analiz sonucunda bakır ilavesinin SÇA üzerine etkisinin önemsiz ( $P>0,05$ ), olgunlaşma süresinin etkisinin ise çok önemli ( $P<0,01$ ) olduğu saptanmıştır. Olgunlaşma süresinde SÇA içeriğinin değişimi Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



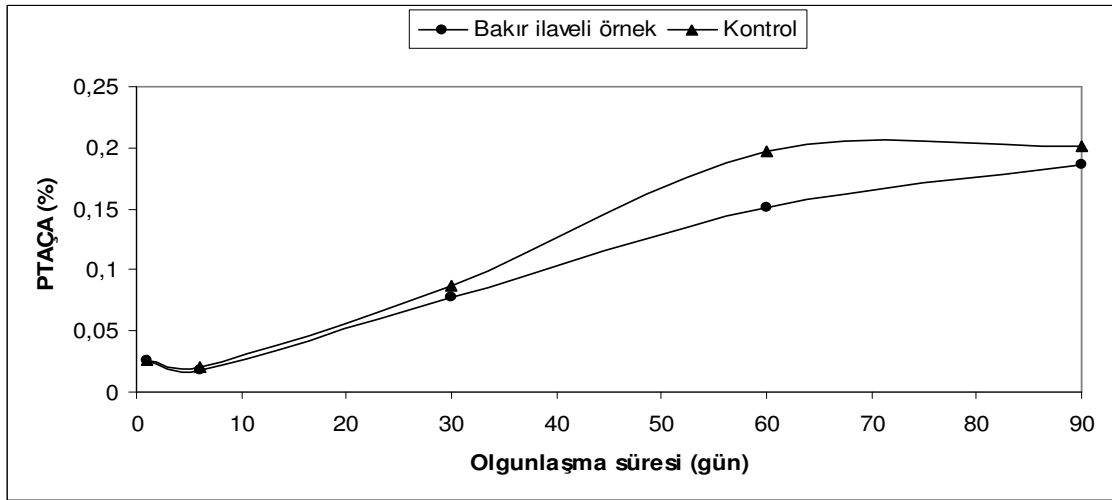
**Şekil 3.8** Emmental peynirinde SÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

TCAÇA kontrol örneklerinde 0,03-0,47 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 0,054-0,38 arasında değişmiştir. İstatistik analiz sonucunda bakırın TCAÇA üzerine etkisinin önemli ( $P<0,05$ ), olgunlaşma süresinin etkisinin ise çok önemli ( $P<0,01$ ) olduğu saptanmıştır. Olgunlaşma süresinde kontrol ve bakır ilaveli peynirlerde TCAÇA içeriğinin değişimi Şekil 3.9’da gösterilmiştir.



**Şekil 3.9** Emmental peynirinde TCAÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

PTAÇA kontrol örneklerinde 0,021-0,2 arasında, bakır ilaveli örneklerde ise 0,018-0,19 arasında değişmiştir. İstatistik analiz sonucunda bakırın PTAÇA üzerine etkisinin önemli ( $P < 0,05$ ), olgunlaşma süresinin etkisinin ise çok önemli ( $P < 0,01$ ) olduğu saptanmıştır.



**Şekil 3.10** Emmental peynirinde PTAÇA (%) içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Şekil 3.8, 3.9 ve 3.10'dan görüldüğü gibi SÇA, TCAÇA ve PTAÇA fraksiyonları her iki peynir örneğinde de olgunlaşma süresinin 6. gününden 60. gününe kadar daha hızlı artmış, 60. günden sonra artış hızı düşmekle birlikte 90. günde daha yüksek bulunmuştur. SÇA, TCAÇA ve PTAÇA fraksiyonlarında depolama sürecinde artış

olması, özellikle küçük moleküllü azotlu bileşenleri içermeleri nedeni beklenen bir sonuçtur.

Çalışmada, TCAÇA ve PTAÇA fraksiyonlarının bakır ilavesinden de etkilendiği ve bu fraksiyonların kontrol örneklerinde daha yüksek bulunduğu belirlenmiştir. Maurer vd (1974 b) çalışmanın aksine, geleneksel yöntemlerle üretilen İsviçre tipi peynirde bakırın proteolize olan etkisini gösteren serbest tirozin miktarını tespit ederek gerçekleştirdiği çalışmasında: 0,9-7,2 ve 0,4-5,5 ppm arasında bakır içeren İsviçre tipi peynirlerde proteolizin bakır artışıyla paralel olarak arttığını bildirmiştir.

### 3.4.3. Olgunlaşma indeksi değerleri (SÇA/TA, TCAÇA/TA ve PTAÇA/TA )

Olgunlaşma indeksi değerleri toplam azot içerisinde yüzde SÇA, TCAÇA ve PTAÇA miktarını gösterir. Bu değerler olgunlaşmanın hangi aşamada olduğunu göstergeleridir. Toplam azot içerisinde bulunan peptid ve aminoasit miktarları hakkında bilgi verir. Tablo 3.8 olgunlaşma indeksi değerlerini göstermektedir.

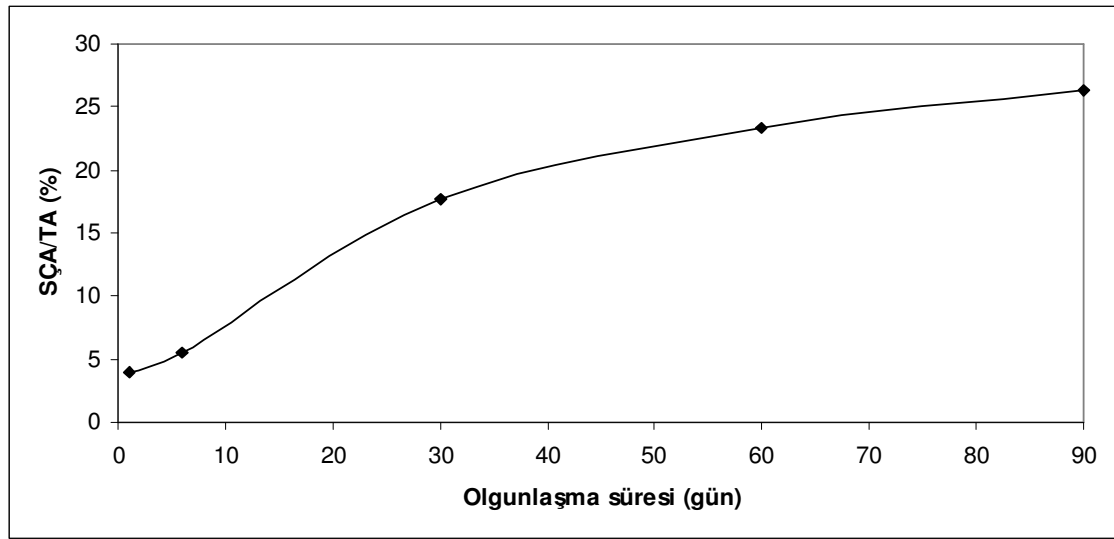
**Tablo 3.8** Emmental peynirinde SÇA/TA (%), TCAÇA/TA(%) ve PTAÇA/TA (%) değerleri ve bunların olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Örnek	Olgunlaşma süresi (gün)	SÇA/TA (%)	TCAÇA/TA (%)	PTAÇA/TA (%)
Cu ilaveli	1	4,97±0,961 e*	1,33±0,783 e	0,60±0,455 d
Kontrol	1	2,86±0,418 f	0,80±0,772 e	0,60±0,147 d
Cu ilaveli	6	5,37±0,219 e	1,38±0,598 e	0,44±0,148 d
Kontrol	6	5,68±0,685 e	1,20±0,212 e	0,51±0,073 d
Cu ilaveli	30	17,00±1,263 d	4,50±0,264 d	1,87±0,150 c
Kontrol	30	18,23±1,518 d	4,93±0,229 d	2,14±0,062 c
Cu ilaveli	60	23,49±1,295 c	8,64±0,294 c	3,54±0,14 b
Kontrol	60	23,26±1,179 c	10,50±0,801 b	4,77±0,597 a
Cu ilaveli	90	25,20±0,368 b	9,16±0,680 c	4,52±1,029 a
Kontrol	90	27,43±1,350 a	11,57±1,129 a	4,89±0,238 a

\*: Emmental peynirinde SÇA/TA, TCAÇA/TA ve PTAÇA/TA ile olgunlaşma süresi arasındaki ilişki, aynı sütundaki istatistiki anlamda farklı olan gruplar farklı harflerle işaretlenerek gösterilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen değerler birbirinden P<0,05 düzeyinde farklıdır.

Emmental peynirinde SÇA/TA olgunlaşma indeksi bakır ilavesinden istatistiki anlamda etkilenmemiştir (P>0,05). Ancak olgunlaşma süresinden çok önemli olarak etkilenmiştir (P<0,01). Kontrol örneğinde başlangıçta 2,86±0,418 olan değer, 90 günlük depolama sonucunda 27,43±1,350 değerine ulaşmıştır. Kontrol ve bakır ilaveli

örneklerin ortalama değerleri kullanılarak yapılan analiz sonucu SÇA/TA olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi Şekil 3.11’de verilmiştir.

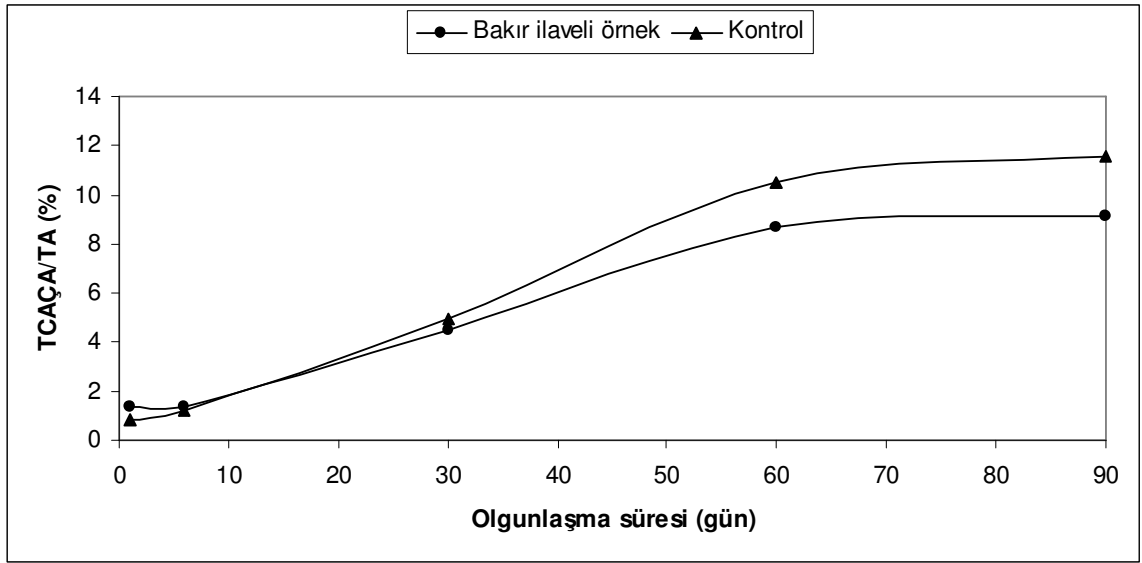


**Şekil 3.11** Emmental peynirinde SÇA/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Grafikten görüldüğü gibi olgunlaşma sürecinde SÇA/TA olgunlaşma indeksi değeri artış göstermiştir. Bu beklenen bir sonuçtur. Nitekim, Beuvier vd (1997) tarafından pastörize süttten yapılan Emmental peynirinde gerçekleştirilen ve olgunlaşma indeksi olarak aranan SÇA/TA değeri de 1. günde belirlenen 3,3’ten 90. günde 18,6’ya yükselmiştir.

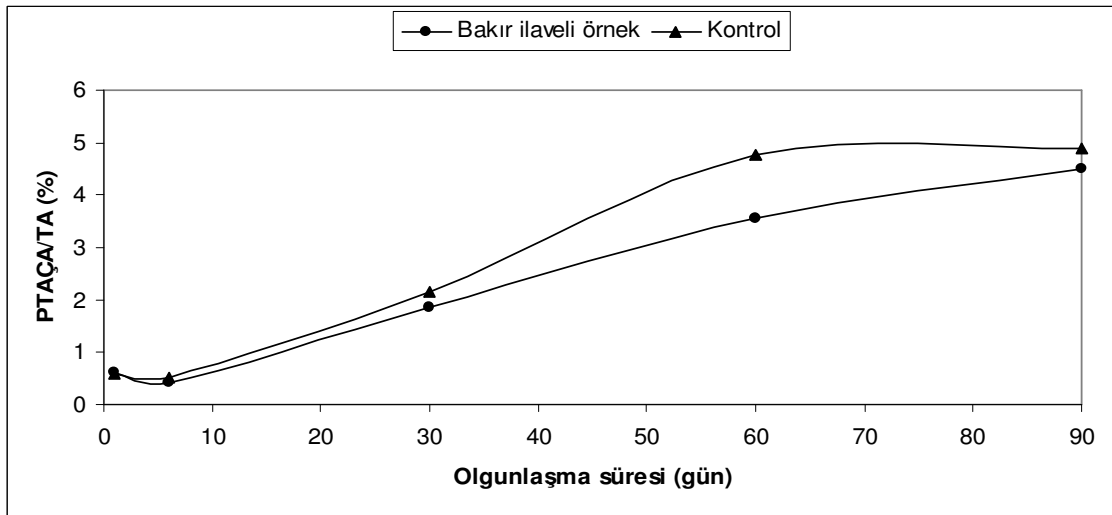
TCAÇA/TA olgunlaşma indeksi hem bakır ilavesinden hem de olgunlaşma süresinden istatistiki anlamda önemli olarak etkilenmiştir ( $P < 0,01$ ). bakır ilaveli ve kontrol örneklerinde olgunlaşma süresine göre TCAÇA/TA olgunlaşma indeksinin değişimi Şekil 3.12’de verilmiştir.

Kontrol ve bakır ilaveli örneklerin her ikisinde de olgunlaşma sürecinde TCAÇA/TA olgunlaşma indeksi değeri artış göstermiştir. Gerek artış hızı gerekse de ulaşılan son değer kontrol örneğinde daha yüksek olarak saptanmıştır. Bu durum beklenen bir sonuçtur. TCAÇA/TA kontrol örneğinde 0,80-11,57 arasında, bakır katkılı örnekte ise 1,33-9,16 arasında değişmiştir (Tablo 3.8)



**Şekil 3.12** Emmental peynirinde TCAÇ/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

PTAÇ/TA olgunlaşma indeksi de hem bakır ilavesinden hem de olgunlaşma süresinden istatistiki anlamda önemli olarak etkilenmiştir ( $P < 0,01$ ). Olgunlaşma süresine göre PTAÇ/TA olgunlaşma indeksinin bakır ilaveli ve kontrol örneklerinde değişimi Şekil 3.13’de verilmiştir.



**Şekil 3.13** Emmental peynirinde PTAÇ/TA (%) olgunlaşma indeksinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Her iki peynir örneğinde de olgunlaşma sürecinde PTAÇ/TA olgunlaşma indeksi değeri artış göstermiştir. Bu değerdeki artış kontrol örneğinde daha yüksek olmuştur. Bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde Beuvier vd (1997) tarafından pastörize süttten

yapılan Emmental peynirinde PTAÇA/TA analiz sonucu 1. günde 0,54 iken 90. günde 3,90 olarak bulunmuştur.

#### 3.4.4. Organik asit içeriği

Emmental peynirinin olgunlaşması sırasında meydana gelen en önemli olaylar laktik asit ve propiyonik asit fermentasyonlarıdır. Laktik asit ve propiyonik asit fermentasyonu sonucu oluşan organik asitler Tablo 3.9’da verilmiştir.

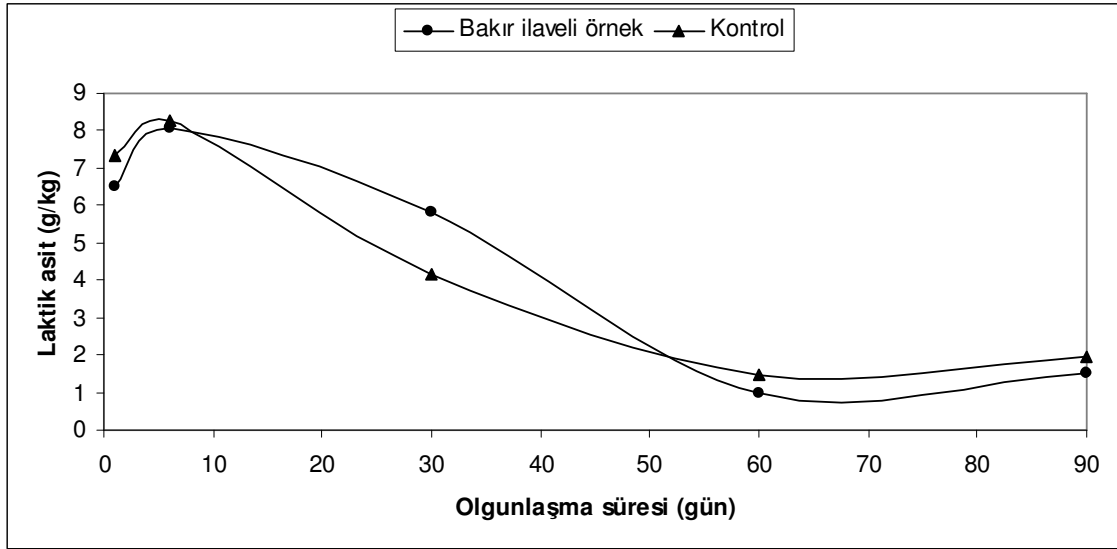
**Tablo 3.9** Emmental peynirinin formik, asetik, prüvik, laktik ve propiyonik asit içerikleri ve bunların olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Örnek	Olgunlaşma zamanı (gün)	Laktik asit (g/kg)	Propiyonik asit (g/kg)	Asetik asit (g/kg)	Pirüvik asit (g/kg)	Formik asit (g/kg)
Cu ilaveli	1	6,51	0	0	0,06	0
Kontrol	1	7,33	0	0	0,08	0
Cu ilaveli	6	8,07	0	0	0,06	0
Kontrol	6	8,25	0	0	0,05	0
Cu ilaveli	30	5,82	1,57	1,65	0,72	0,17
Kontrol	30	4,14	2,38	2,09	0,79	0,21
Cu ilaveli	60	0,96	5,07	3,81	0,05	0,46
Kontrol	60	1,46	4,92	3,99	0,06	0,60
Cu ilaveli	90	1,52	5,09	3,79	0,06	0,81
Kontrol	90	1,98	4,81	4,22	0,05	0,75

Tablo 3.9’den da görüldüğü gibi örneklerde 1. ve 6. gün tespit edilmeyen propiyonik, formik ve asetik asit, 30, 60 ve 90. günde tespit edilmiştir. Bu asitlerin varlığı peynirlerde gerçekleşen propiyonik asit fermentasyonuna bağlanmaktadır. Pirüvik ve laktik asit ise beklenildiği gibi örneklerde 1. günden itibaren belirlenmiştir. Prüvik asit miktarı olgunlaşma süresince 0,02 g/kg değişirken, laktik asit miktarı önemli düzeyde (~6 g/kg) düşmüştür. Örneklerin CU ilavesi ve depolama zamanına göre organik asit içeriklerindeki değişimler aşağıda ayrı ayrı tartışılmıştır.

##### 3.4.4.1. Laktik Asit İçeriği

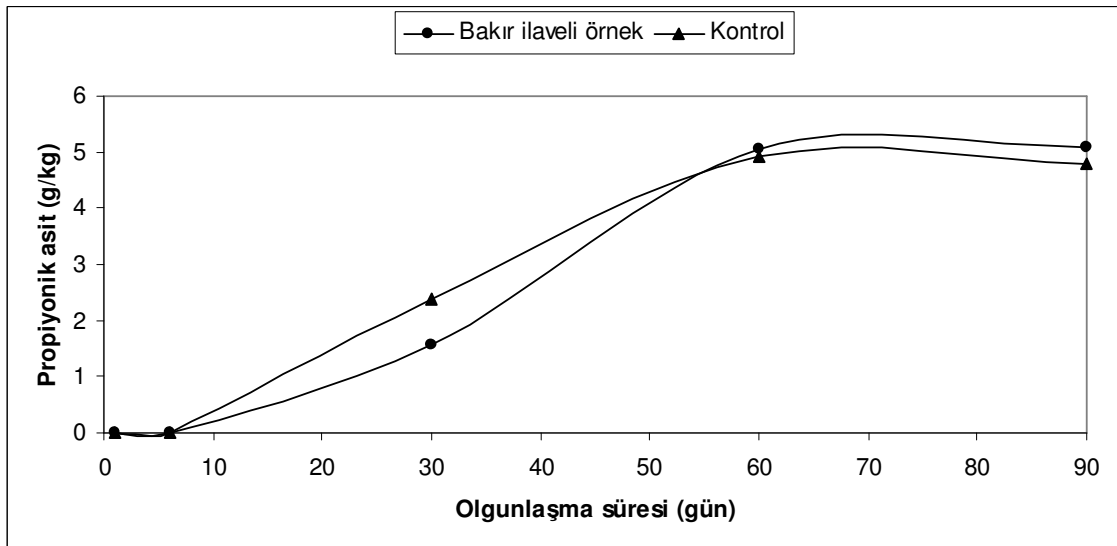
Emmental peynirinde olgunlaşma süresince laktik asit miktarındaki değişim Şekil 3.14’de gösterilmiştir. Laktik asit miktarı, 6. günde artmış ve en yüksek seviyede belirlenmiştir. Olgunlaşmanın 30 ve 60. günlerinde ise önemli düzeyde düşüş göstermiştir. Bu durum propiyonik asit bakterileri tarafından laktik asitin substrat olarak kullanılmasına bağlanmıştır. Nitekim propiyonik asit oluşum grafiğinde (Şekil 3.15) görülen propiyonik asit miktarındaki değişim bu tezimizi desteklemektedir.



**Şekil 3.14** Emmental peynirinin laktik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

#### 3.4.4.2. Propiyonik Asit İçeriği

Propiyonik asit üretiminde olgunlaşma süresince meydana gelen değişim Şekil 3.15’de gösterilmiştir. Propiyonik asit üretimi 6. günden sonra başlamış ve 60. günde en yüksek değerine ulaşmıştır. Örneklerde propiyonik asit oluşumu beklenildiği gibi laktik asit oluşumu ile paralel ancak ters bir ilişki göstermiştir. Peynir örneklerinin propiyonik asit bakteri sayıları da asit üretimine paralel olarak 30. günde önemli düzeyde artmıştır.

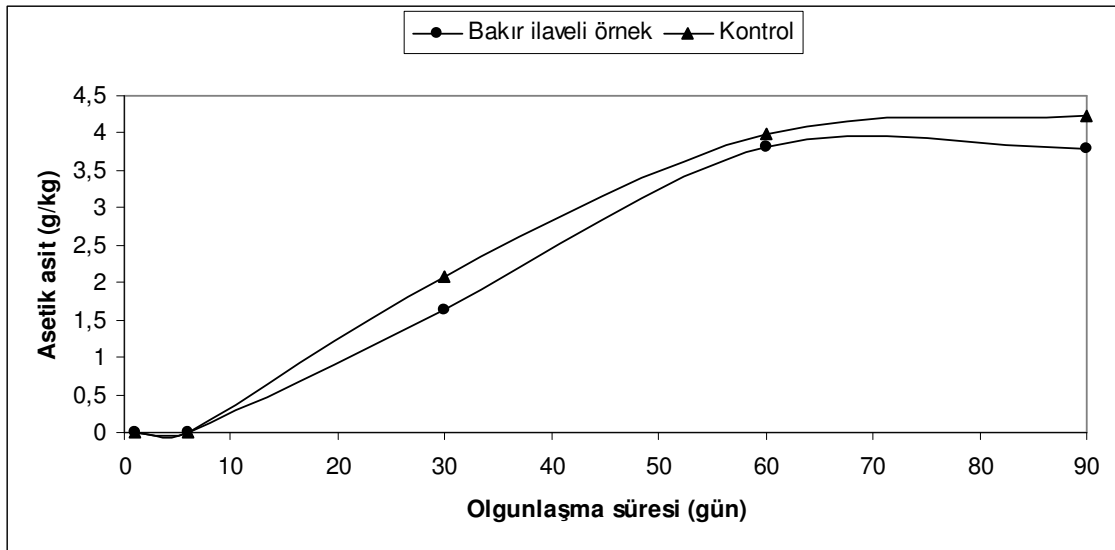


**Şekil 3.15** Emmental peynirinin propiyonik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Başlangıç günlerinde tespit edilmeyen propiyonik asit miktarındaki artışın, 30. günde önemli düzeye çıkması ve 60. günde yapılan analizde de en yüksek değere ulaşmış olması literatürlerde (Steffen vd 1993, El Soda 1999, Farkye 1999, Fröhlich-Wyder ve Bachmann 2004) propiyonik asit fermentasyonu üretimin başlamasından yaklaşık 30 gün sonra başlar ve 20-24°C’de 7 hafta devam eder şeklindeki bilgiler ile paralellik göstermektedir.

### 3.4.4.3. Asetik Asit İçeriği

Olgunlaştırma günlerine göre Emmental peynirinin asetik asit içeriğindeki değişim Şekil 3.16’da görülmektedir. Emmental peynirinde 6. günde tespit edilemeyen asetik asit takip eden günlerde propiyonik asit miktarı ile paralel olarak 60. güne kadar hızlı şekilde artmıştır. 90. günde kontrol örneğinde 60. güne göre az bir artış belirlenirken, bu durum bakır ilaveli örnekte tespit edilmemiştir. Asetik asit miktarındaki artış da propiyonik asit kısmında tartışıldığı gibi olgunlaşma günlerinde artan propiyonik asit bakterileri ve bununla ilişkili propiyonik asit fermentasyonuna bağlanmıştır.



**Şekil 3.16** Emmental peynirinin asetik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

Maurer vd (1974b) tarafından 1 ile 11 ppm arasında bakır eklenmesinin 90 günlük Iowa tipi İsveç peynirinde asetik asit değişimi üzerine etki göstermediği bildirilmiştir. Bu sonuç çalışma sonuçlarını desteklememektedir. Thierry vd (2005) tarafından da Emmental peynirinde farklı propiyonik asit bakteri suşlarının kullanılmasının uçucu bileşenler üzerine etkisi araştırılmış ve 2 aylık olgunlaşma süresi sonunda bakır

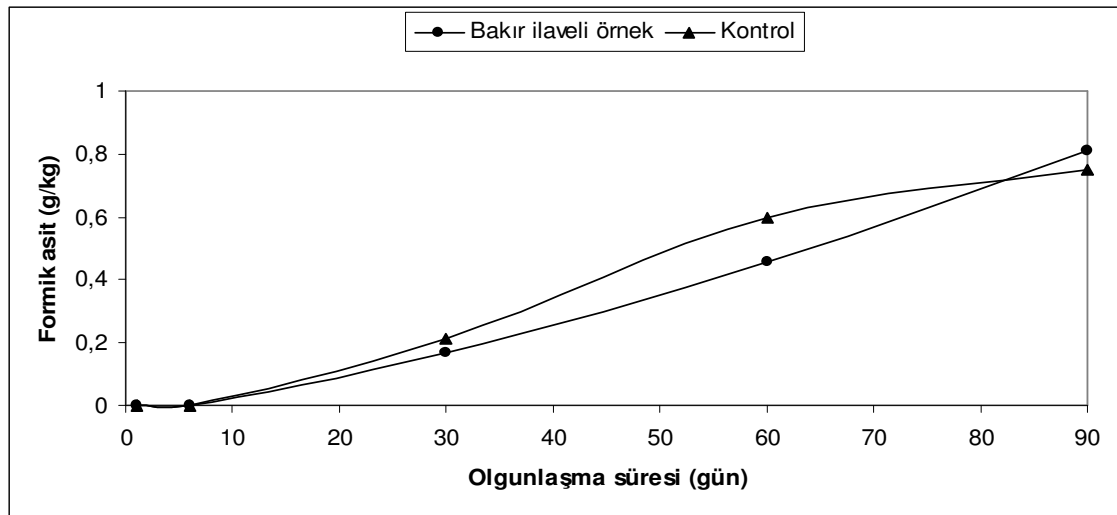


içermeyen Emmental peynirinde asetik asit miktarı 2,63-2,77 g/kg ve arasında bulunmuştur. Elde edilen bu değerler çalışmada belirlenen değerlerden daha düşüktür. Bu durum denenen şuşların farklılığından ve olgunlaştırma şartlarından kaynaklanmış olabilir.

#### 3.4.4.4. Formik Asit İçeriği

Emmental peynirde olgunlaşma günlerine göre formik asidin değişimi de Şekil 3.17’de gösterilmiştir.

Emmental peynirinde 6. günde tespit edilemeyen formik asit de 30. günde önemli miktarda tespit edilmiş ve 90. güne kadar düzenli bir artış göstermiştir. Bu asidin miktarındaki artış da propiyonik ve asetik asitte olduğu gibi propiyonik asit bakterilerinin sayısındaki artışa bağlanmalıdır. Bu asitlerin üretimi ile arasındaki önemli farklılık formik asit miktarının 90. güne kadar benzer artış hızını sürdürmüş olmasıdır.

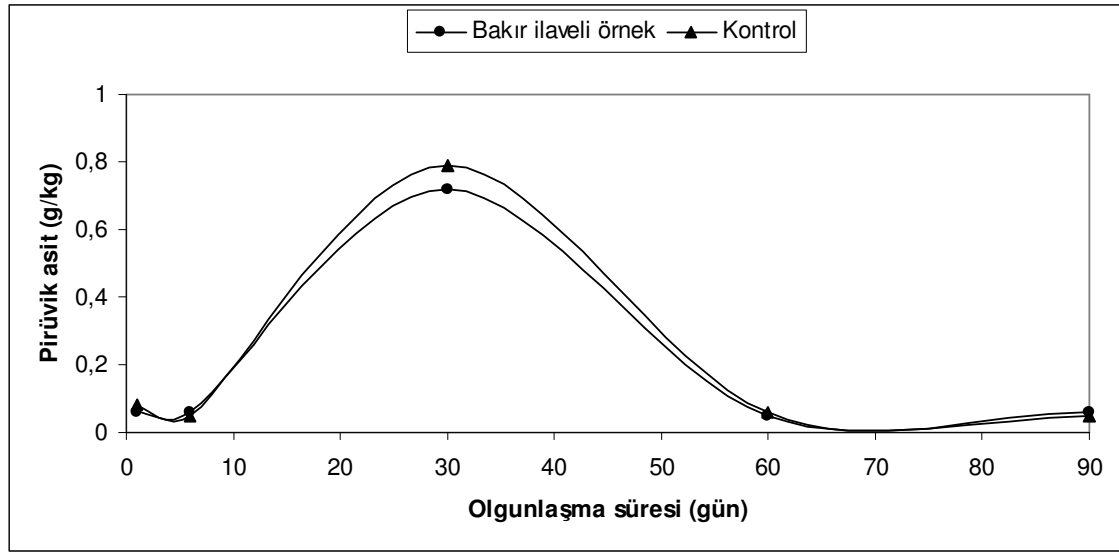


**Şekil 3.17** Emmental peynirinin formik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

#### 3.4.4.5. Pirüvik Asit İçeriği

Emmental peynirinin olgunlaşma süresine bağlı olarak pirüvik asit içeriğindeki değişim ise Şekil 3.18’de görülmektedir. Pirüvik asit içeriği 30. günde en yüksek seviyede iken 60. günde en düşük seviyede görülmektedir.

Bilindiği gibi propiyonik asit fermentasyonunun başında laktat dehidrogenaz ile laktik asit pirüvik aside dönüştürülmekte ve pirüvik asit de daha sonra propiyonik asit, asetik asit ve CO<sub>2</sub>'ye dönüşmektedir. Ortamda artan pirüvik asidin nedeni olarak *L.rhamnosus* görülmektedir (Weinrichter vd 2004). Bu yargı çalışmada *L.rhamnosus* sayısının en yüksek olarak 30. gün belirlenmiş olması (Tablo 3.4) sonucu ile de desteklenmektedir. Pirüvik asit miktarının 30. günden sonra azalırken, buna karşılık olarak propiyonik, asetik ve formik asit miktarının artış göstermesi de (Şekil 3.15, 3.16, 3.17) bu literatür verisi ile paralellik göstermektedir.



**Şekil 3.18** Emmental peynirinin pirüvik asit içeriğinin olgunlaşma süresine bağlı olarak değişimi

### 3.4.5. Mikroorganizma grupları arasındaki ilişki

Çalışmada mikroorganizma gruplarının birbirleri üzerine etkisi, logaritmik olarak transforme edilen sayım sonuçları üzerinden mikroorganizma grupları arasında korelasyon analizi gerçekleştirilerek belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.10'da verilmiştir.

**Tablo 3.10** Mikroorganizma grupları arasında korelasyon tablosu

	Streptokoklar	Laktobasiller	<i>L.rhamnosus</i>
Laktobasiller	0,780**		
<i>L.rhamnosus</i>	0,530**	0,755**	
Propiyonik asit bakterileri	-0,687**	-0,421**	0,006

\*\* : P<0.01 düzeyinde önemli

Laktik streptokoklar ile laktobasil ve *L.rhamnosus*, laktobasil ile de *L.rhamnosus* arasında çok önemli ve pozitif yönde bir ilişki bulunurken, propiyonik asit bakterileri ile

hem streptokoklar hem de laktobasiller arasında yine çok önemli ancak ters yönlü bir ilişki saptanmıştır ( $P<0,01$ ). *L.rhamnosus* ile propiyonik asit bakterileri arasında ise istatistiki anlamda önemli bir ilişki bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ).

### 3.4.6. Mikroorganizma grupları ile Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki ilişki

Çalışmada mikroorganizma grupları ile peynirin bazı kimyasal özellikleri ve organik asit miktarları arasındaki korelasyon belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.11 ve 3.12’de verilmiştir.

**Tablo 3.11** Mikroorganizma grupları ile peynirin bazı kimyasal özellikleri arasındaki korelasyon tablosu

	pH	SÇA (%)	PTAÇA (%)	TCAÇA (%)
<b>Laktobasiller</b>	-0,174	-0,569**	-0,527**	-0,574**
<b>Streptokoklar</b>	-0,495**	-0,830**	-0,849**	-0,867**
<i>L.rhamnosus</i>	-0,236	-0,132	-0,188	-0,224
<b>Propiyonik asit bakterileri</b>	0,384*	0,922**	0,824**	0,830**

\*:  $P<0,05$  düzeyinde önemli \*\*:  $P<0,01$  düzeyinde önemli

Laktobasil ve Streptokoklar ile SÇA, PTAÇA ve TCAÇA arasında çok önemli ve ters yönde bir ilişki ( $P<0,01$ ) bulunmuştur. pH ile Laktobasiller arasındaki önemsiz ( $P>0,05$ ), Streptokoklar arasında ise çok önemli ( $P<0,01$ ) ve ters yönlü ilişki bulunmuştur.

Propiyonik asit bakterileri ile SÇA, TCAÇA ve PTAÇA arasında pozitif yönlü ve çok önemli ( $P<0,01$ ); pH ile pozitif yönlü ve önemli bir ilişki ( $P<0,05$ ) bulunmaktadır. *L.rhamnosus* ile peynirin kimyasal özellikleri arasında önemli bir ilişki görülmemektedir ( $P>0,05$ ).

Örneklerin protein fraksiyonları ile Laktobasil ve Streptokok sayıları arasındaki ters ilişki depolamanın ilerlemesiyle laktik bakterilerin sayısında meydana gelen düşüşten çok, protein parçalanmasına bağlanmalıdır. Propiyonik asit bakterilerinin sayısının olgunlaştırma süresince ve özellikle 30. günden sonra artması protein fraksiyonları ile ilişkisinin laktik bakterilerin aksine pozitif çıkmasına neden olmuştur.

Mikroorganizma grupları ile organik asitler arasındaki ilişkinin gösterildiği Tablo 3.12 incelendiğinde: Laktobasiller ve streptokoklar ile propiyonik, asetik ve formik asit arasında ters yönlü ve çok önemli bir ilişki bulunmaktadır ( $P<0,01$ ). Laktik asit ile

pozitif yönlü ve çok önemli bir ilişki bulunurken ( $P<0,01$ ), pirüvik asitle önemli bir ilişki bulunmamaktadır ( $P>0,05$ ). Bu sonuçlar beklenen bir durumdur. Çünkü, laktik asit bakterilerinin temel metaboliti laktik asittir.

**Tablo 3.12** Mikroorganizma grupları ile peynirin organik asit içeriği arasındaki korelasyon tablosu

	Organik Asitler				
	Laktik	Propiyonik	Asetik	Formik	Pirüvik
Laktobasiller	0,663**	-0,629**	-0,601**	-0,454**	0,072
Streptokoklar	0,921**	-0,916**	-0,896**	-0,817**	0,187
<i>L.rhamnosus</i>	0,332*	-0,273	-0,224	-0,157	0,363*
Propiyonik asit bakterileri	-0,821**	0,842**	0,874**	0,820**	0,366*

\*:  $P<0,05$  düzeyinde önemli \*\*:  $P<0,01$  düzeyinde önemli

*L.rhamnosus* ile laktik ve pirüvik asit arasında pozitif yönlü ve önemli bir ilişki ( $P<0,05$ ); propiyonik, asetik ve formik asit ile arasında ise önemsiz ilişki bulunmaktadır ( $P>0,05$ ).

Propiyonik asit bakterileri ile propiyonik, asetik ve formik asit arasında pozitif yönlü ve çok önemli ( $P<0,01$ ) bir ilişki bulunurken, laktik asit ile ise yine çok önemli ( $P<0,01$ ) fakat ters yönlü ve ilişki vardır. Pirüvik asit ile de pozitif yönlü ve önemli bir ilişki bulunmaktadır ( $P<0,05$ ). Tespit edilen bu durum propiyonik asit bakterilerinin laktik asiti metabolize ederek propiyonik asit üretimi gerçekleştirmelerine bağlanabilir.

### 3.4.7. Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki ilişki

Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri ile organik asit miktarlarının kendi aralarındaki korelasyonlar da belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.13 ve 3.14'de verilmiştir.

**Tablo 3.13** Emmental peynirinin bazı kimyasal özellikleri arasındaki korelasyon tablosu

	pH	KM (%)	TA (%)	SÇA (%)	PTAÇA (%)
KM (%)	0,424**				
TA (%)	-0,030	-0,016			
SÇA (%)	0,502**	0,884**	0,023		
PTAÇA (%)	0,630**	0,821**	0,019	0,936**	
TCAÇA (%)	0,583**	0,807**	0,034	0,956**	0,966**

\*\* :  $P<0,01$  düzeyinde önemli

pH ile kurumadde, SÇA, PTAÇA ve TCAÇA arasında pozitif yönlü ve çok önemli bir ilişki ( $P<0,01$ ) bulunurken, toplam azot ile arasında istatistiki açıdan önemsiz ( $P>0,05$ )

bir ilişki bulunmaktadır. pH değeri ile çözünen azotlu bileşiklerdeki paralel artış proteolitik parçalanmaların pH değerinde yükşelişe neden olacağı bilgisi ile paralellik göstermektedir. pH değerinin toplam azotlu madde ile arasında ilişki bulunmaması da beklenen bir sonuçtur.

Kurumadde ile SÇA, PTAÇA ve TCAÇA arasında pozitif yönlü ve çok önemli bir ilişki ( $P<0,01$ ); kurumadde ile toplam azot arasında ise önemsiz ( $P<0,05$ ) bir ilişki görülmektedir. Çalışmada farklı kurumaddeye sahip peynir örneklerinin denenmemiş olması nedeni ile birbirine çok yakın kurumaddeye sahip örnekler arasındaki değişimin tartışılmasının uygun olmayacağı düşünülerek sonuçlar tartışılmamıştır.

Toplam azot ile SÇA, PTAÇA ve TCAÇA arasında istatistiki olarak önemli bir ilişki görülmemektedir ( $P<0,05$ ). SÇA ile PTAÇA ve TCAÇA arasında ve yine PTAÇA ile TCAÇA arasında pozitif yönlü ve çok önemli bir ilişki bulunmaktadır ( $P<0,01$ ). Çözünebilen azot miktarları arasında pozitif yönlü ve çok önemli ilişkinin olması bunların proteoliz sonucu meydana gelen ürünler olması nedeni ile beklenen bir sonuçtur. Dolayısıyla birisi artarken diğerlerinin de artması beklenir.

Emmental peynirinin içerdiği bazı organik asitler arasındaki korelasyon tablosu (Tablo 3.14) incelendiğinde laktik asit ile propiyonik, asetik ve formik asit arasında ters yönlü ve çok önemli ( $P<0,01$ ); propiyonik asit ile asetik ve formik asit arasında pozitif yönlü ve çok önemli ( $P<0,01$ ) ve asetik asit ile formik asit arasında pozitif yönlü ve çok önemli ( $P<0,01$ ) bir ilişki bulunduğu görülmektedir.

**Tablo 3.14** Emmental peynirinin organik asit içerikleri arasındaki korelasyon tablosu

	<b>Laktik Asit</b>	<b>Propiyonik Asit</b>	<b>Asetik Asit</b>	<b>Pirüvik Asit</b>
<b>Propiyonik Asit</b>	-0,984**			
<b>Asetik Asit</b>	-0,974**	0,993**		
<b>Pirüvik Asit</b>	0,070	-0,098	-0,033	
<b>Formik Asit</b>	-0,914**	0,952**	0,950**	-0,185

\*\* :  $P<0.01$  düzeyinde önemli

Laktik asit ile propiyonik asit ile asetik ve formik asit arasındaki ters yönlü ilişki daha önce de ifade edildiği gibi propiyonik asit bakterilerinin metabolizmalarına bağlanabilir. Bu beklenen bir durumdur. Propiyonik asit ile birlikte asetik ve formik asit miktarının artması da aynı nedenledir ve birbirini destekler sonuçlardır.

#### 4. SONUÇ

Bu çalışmada bakır ilavesinin Emmental peynirinin bazı mikrobiyolojik ve kimyasal özelliklerine etkisi 90 günlük olgunlaşma süresince araştırılmıştır. Bakır ilaveli peynirlerde Streptokoklar, Laktobasiller, *L.rhamnosus* ve propiyonik asit bakterileri önemli ölçüde etkilenmemişlerdir ( $P>0,05$ ). Olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle Streptokok ve Laktobasil sayılarında çok önemli bir azalma ( $P<0,01$ ) görülürken, *L. rhamnosus* ve propiyonik asit bakterilerinin sayısında çok önemli düzeyde artış ( $P<0,01$ ) görülmüştür.

Peynirlerin pH değerleri üzerine hem bakır ilavesi hem de olgunlaşma süresi çok önemli etkide bulunmuştur ( $P<0,01$ ). Kontrol peynirde, bakır ilave edilen süttten üretilen peynire göre 90. günde pH değeri daha düşük, olgunlaşma indeksi değerleri ise daha yüksek olarak belirlenmiştir. Peynirlerde toplam kurumadde bakır ilavesinden önemli düzeyde ( $P<0,05$ ), olgunlaşma süresinden de çok önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) etkilenmiştir. 90. gün sonunda başlangıca göre toplam kurumadde yaklaşık %2'lik bir artış meydana gelmiştir.

Toplam azot, bakır ilavesinden önemli düzeyde etkilenmemiş ( $P>0,05$ ), olgunlaşma süresinden ise etkilenmiştir ( $P<0,05$ ). SÇA ve SÇA/TA bakır ilavesinden önemli düzeyde etkilenmemiştir ( $P>0,05$ ). Olgunlaşma süresinden ise çok önemli düzeyde etkilenmiş ( $P<0,01$ ) ve olgunlaşma süresi boyunca artış göstermiştir. TCAÇA ve PTAÇA değerleri de bakır ilavesinden önemli düzeyde ( $P<0,05$ ), olgunlaşma süresinden de çok önemli düzeyde ( $P<0,01$ ) etkilenmiştir. TCAÇA ve PTAÇA proteoliz artışına bağlı olarak 90. güne kadar artış göstermiştir. TCAÇA/TA ve PTAÇA/TA değerleri üzerine hem bakır ilavesi hem de olgunlaşma süresi çok önemli etkide bulunmuştur ( $P<0,01$ ).

Emmental peynirinin organik asit içeriklerinden laktik asit miktarı olgunlaşma süresi boyunca azalırken, propiyonik, asetik asit ve formik asit miktarı 6. günden

itibaren artmıştır. Pirüvik asit ise olgunlaşma süresi sonunda başlangıç miktarıyla hemen hemen aynı düzeyde belirlenmiştir.

Sonuç olarak bakır ilavesi Emmental peynirini mikrobiyolojik açıdan etkilememiştir. Ancak, bazı kimyasal özellikleri üzerine önemli etkide bulunmuştur. Bunlar içerisinde özellikle peynir aromasında etkili olan düşük moleküllü azotlu bileşenler üzerine etkisi, bakır katkısının son ürün lezzeti üzerine etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Bu durum dikkate alınarak Emmental peynirine bakır ilavesi çalışmalarına;

1. Farklı konsantrasyonlarda bakır ilavesinin Emmental peynirinin mikrobiyolojik ve kimyasal özellikleri üzerine etkisinin belirlenmesi ve uygun konsantrasyonun tespiti,
2. Bakır ilavesinin neden olduğu proteoliz ürünlerindeki farklılığın lezzet ve aroma üzerine etkisinin ortaya konulabilmesi için aroma bileşenleri analizlerinin yapılması,
3. Duyusal testler ile de bakır ilavesinin etkisinin organoleptik olarak belirlenerek peynir aroması üzerine olan etkisinin ortaya konulması,

yönünde devam edilmesi uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

- Akalin, A., Gönc, S., Akbas, Y. (2002) Variation in Organic Acids Content During Ripening of Pickled White Cheese. *J. Dairy Sci.* 85:1670-1676.
- Anonim (1991) Lactic Acid Starters. Standard of Identity. IDF Standard 149.
- Anonim (2001) Milk and Milk Products-General Guidance for the Preparation of Test Samples, Initial Suspensions and Decimal Dilutions for Microbiological Examination. International Standard. ISO 8261, IDF 122.
- Anonim (2002) Determination of Nitrogen (Total) in Cheese, AOAC Official Method 2001.14
- Anonim (2008) Codex Standard 283-1978, Codex General Standard for Cheese.
- Ardö, Y. (1999) Evaluating Proteolysis by Analysing the N Content of Cheese Fraction, in: Ardö Y. (Ed.), *Bulletin IDF 337*, Chemical Methods for Evaluating Proteolysis in Cheese Maturation, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, Part 2, 4-9.
- Ardö, Y. (2007) *Manual of PhD Course-Ripening of Northern European Cheeses*. Department of Food Science. Faculty of Life Science. University of Copenhagen, Denmark
- Bachmann, H.P., Bütikofer, U. and Isolini, D. (2002) *CHEESE /Swiss Type Cheese*. Encyclopedia of Food Microbiology, Carl A. Batt, Pradip D. Patell, *Academic Press*, London, pp:363-371.
- Beresford, T. P., Fitzsimons, N. A., Brennan, N. L., Cogan, T. M. (2001) Recent advances in cheese microbiology. *International Dairy Journal*. 11:259-274.
- Beuvier, E., Berthaud, K., Cegarra, S., Dasen, A., Pochet, S., Solange, B. and Duboz, G. (1997) Ripening and Quality of Swiss-type Cheese Made from Raw, Pasteurized or Microfiltered Milk. *Int. Dairy Journal*. 7:311-323.
- Chamba, J.F., and Perreard, É. (2002) Contribution of Propionic Acid Bacteria to Lipolysis of Emmental Cheese. *Lait*. 82:33-44.
- Clark, W. M. (1917) On the Formation of Eyes in Emmental Cheese. *J. Dairy Sci.* 1(2):91-113.
- Christensen, J. F., Din-llii, L., Palva, A. and Steele J. L. (1995) Sequence Analysis, Distribution and Expression of an Aminopeptidase N- Encoding Gene from *Lactobacillus helveticus* CNRZ32. *Gene*. 155, 89-93.
- Coetret, V., Dubernet, S., Bernardeau, M., Gueuen, M., Vernoux, J., P. (2003) Isolation, Characterisation and Identification of Lactobacilli Focusing Mainly on Cheeses and Other Dairy Products. *Lait*. 83:269-306.



- El Soda, M.(1999) CHEESE/Role of Specific Groups of Bacteria. Encyclopedia of Food Microbiology Carl A. Batt, Pradip D. Patell, *Academic Press*, London, p: 393-396.
- Farkye, N.Y. (1999) CHEESE/Microbiology of Cheese Making and Maturation. Encyclopedia of Food Microbiology, Carl A. Batt, Pradip D. Patell, *Academic Press*, London, p:381-386.
- Fox, P. F. (1989) Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. *J. Dairy Sci* 72: 1379-1400.
- Fox, P. F. and McSweeney, P.L.H. (1998) Chemistry and Biochemistry of Cheese and Fermented Milks. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Chapter 10, *Saint Edmundsbury Press Ltd.*, Great Britain, pp :379-436.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M. and McSweeney, P.L.H. (2000) Principal Families of Cheese. *Funtamentals of Cheese Science*. *Aspen*, Gaithersburg, Maryland: pp:404-408.
- Fox, P.F. (2002) CHEESE/Overview. Encyclopedia of Food Microbiology Carl A. Batt, Pradip D. Patell, *Academic Press*, London, pp: 252-261.
- Frank, J.F. and Marth, E. H. (1999) Fermentations. Fundamentals of Dairy Chemistry. 3<sup>rd</sup> edition, Noble P. Wong, *Aspen*, Maryland, pp:674- 681.
- Fröhlich-Wyder, M.T., Bachmann, H.P. and Gerard Casey, M. (2002) Interaction Between Propionibacteria and Starter /Non-starter Lactic Acid Bacteria in Swiss-Type Cheeses. *Lait* 82: 1-15.
- Fröhlich-Wyder, M.T. and Bachmann, H.P. (2004) Cheese with Propionic Acid Fermentation, *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, 2, 3<sup>rd</sup> edition, Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., T.P., Guinee, *Elsevier Ltd.*, London, 142-156.
- Fröhlich-Wyder, M.T. and Bachmann, H.P. (2007) Swiss Cheese. Cheese Problems Solved. P.L.H.McSweeney, *Woodhead Publishing Ltd.*, England, 246- 267.
- Gagnaire, V., Molle, D., Herrouin, M. and Leonil, J. (2001) Peptides Identified During Emmental Cheese Ripening: Origin and Proteolytic Systems Involved. *J. Agric. Food Chem.* 49, 4402-4413.
- Gunasekaran, S. and Ak., M.M. (2003) Cheese Making-an Overview. *Cheese Rheology and Texture*. 1:1-29.
- Harper, W.J., Kristoffersen, T. (1958) Manufacture and Technology of Swiss Cheese. *Journal of Dairy Science and Technology*. 41(1): 208-213.
- Hlynka, I., Hood, E. G., Gibson, C. A. (1942) The Effect of Copper on Lipase Activity in Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*. 25(11): 923-924.

- Jan, G., Lan, A. and Leverrier, P. (2007) Dairy Propionibacteria as Probiotics. Functional Dairy Products. Vol:2, Maria Saarela, **Woodhead Publishing Ltd.**, England, pp:165-194.
- Jaros, D., Ginzinger, W., Tschager, E., Mayer, H.K. and Rohm, H. (1997) Effects of Water Addition on Composition and Fracture Properties of Emmental Cheese. **Lait**. 77:467-477.
- Ji, T., Alvarez, V.B. and Harper, W.J. (2004) Influence of Starter Culture Ratios and Warm Room Treatment on Free Fatty Acid and Amino Acid in Swiss Cheese. **J. Dairy Sci.** 87:1986–1992.
- Jimeno, J., Lazaro, M.J. and Sollberger, H. (1995) Antagonistic Interactions Between Propionic Acid Bacteria and Non Starter Lactic Acid Bacteria. **Lait**. 75:401-413.
- Kocaoglu-Vurma, N.A., Harper, W.J., Drake, M.A. and CourTAey, P.D. (2008) Microbiological, Chemical, and Sensory Characteristics of Swiss Cheese Manufactured with Adjunct *Lactobacillus* Strains Using a Low Cooking Temperature. **J. Dairy Sci.** 91:2947–2959.
- Koreáneková, B., Kottferova, J. and Korenek, M. (2000) The Fate of Added Nitrate Used in the Manufacture of Emmental Cheese. **Food Additives and Contaminants**, 17(5): 373-377.
- Kosikowski, F. V., Mistry, V.V. (1997a) Cheese with Eyes. Cheese and Fermented Milk Products. Vol:1, Chapter 14, Origins and Principles, 3<sup>rd</sup> edition, **F.V.Kosikowski, L.L.C.**, Connecticut, pp:226-239.
- Kosikowski, F. V., Mistry, V.V. (1997b) Cheese with Eyes. Cheese and Fermented Milk Products. Vol:2 Chapter 10, 3<sup>rd</sup> edition, **F.V.Kosikowski, L.L.C.**, Connecticut, pp:108-114.
- Kristoffersen, T. (1967) Interrelationships of Flavor and Chemical Changes in Cheese. **J. Dairy Sci.** 50(3): 279-284.
- Laht, T. M., Kask, S., Elias, P., Adamberg, K., Paalme, T. (2002) Role of Arginine in the Development of Secondary Microflora in Swiss-type Cheese. **Int. Dairy Journal** 12: 831–840.
- Lopez, C., Maillard, M.B., Briard-Bion, V., Camier, B. and Hannon, J.A. (2006) Lipolysis During Ripening of Emmental Cheese Considering Organization of Fat and Preferential Localization of Bacteria. **J. Agric. Food Chem.** 54, 5855-5867.
- Lund, B.M., Baird-Parker, T.C., Gould, G.W. (2000) Fermented Milk Products. The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol:1, **Aspen**, Maryland, pp:548-551.
- Man, C.M.D. (2007) Technological Functions of Salt in Food Products. Reducing Salt in Foods. David Kilcast, Fiona Angus, **Woodhead Publishing Ltd.**, England, pp:155- 173.

- Maurer, L., Reinbold, G.W. and Hammont, E.G. (1974 a) Effect of Copper on Microorganisms in the Manufacture of Swiss Cheese. *J. Dairy Sci.* 58(11):1630-1636.
- Maurer, L., Reinbold, G.W. and Hammont, E.G. (1974 b) Effect of Copper on the Characteristics of Swiss-type Cheeses. *J. Dairy Sci.* 58(5): 645-650.
- Mc Sweeney, P.L.H. (2007) The Microbiology of Cheese Ripening. Cheese Problems Solved. P. L. H. McSweeney, *Woodhead Publishing Ltd.*, England. pp:117-118.
- Mueller, H.F., Nelson, W.O. and Wood, W.A. (1952) The Effect of Copper Upon the Activity of Bacteria Associated with Swiss Cheese Manufacture *J. Dairy Sci.* 35(11): 929- 936.
- Mullin, W., Emmons, D. (1997) Determination of Organic Acid in Cheese, Milk and Whey by High Performance Liquid Chromatography. *Food Research International.* 30:147-151.
- Nath, K.R. (1993) Cheese. Dairy Science and Technology Handbook. Y. H. Hui, *Wiley-VCH*, California, pp:180-221.
- Pillonel, L., Badertscher, R., Casey, M., Meyer, J., Rossmann, A., Schlichtherle-Cerny, H., Tabacchi, R. and Bosset, J.O. (2005) Geographic Origin of European Emmental Cheese: Characterisation and Descriptive Statistics. *Int. Dairy Journal*, 15:547-556.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A. and Paschaloudis, N. (1999) Effect of Time, Temperature and Extraction Method on the Trichloroacetic Acid-Soluble Nitrogen of Cheese. *Int. Dairy Journal.* 9: 559-568.
- Rice, F.E. and Miscall, J. (1923) Copper in Dairy Products and Its Solution in Milk Under Various Conditions. *J. Dairy Sci.* 6(4): 261-277.
- Rodríguez, L.M. and Alatosava, T. (2008) Effect of Copper Supplement on Growth and Viability of Strains Used as Starters and Adjunct Cultures for Emmental Cheese Manufacture. *Journal of Applied Microbiology.* 105: 1098-1106.
- Rohm, H., Jaros, D., Rockenbauer, C., Riedler-Hellrigl, M., Uniacke-Lowe, T. and Fox, P.F. (1996) Comparison of Ethanol and Trichloroacetic Acid Fractionation for Measurement of Proteolysis in Emmental Cheese. *Int. Dairy Journal.* 6:1069-1077.
- Rosenberg, M., McCarthy, M. and Kauten, R. (1992) Evaluation of Eye Formation and Structural Quality of Swiss-Type Cheese by Magnetic Resonance Imaging. *J. Dairy Sci.* 75:2083-2091.
- Shintu, L. and Caldarelli S. (2006) Toward the Determination of the Geographical Origin of Emmentaler Cheese via High Resolution MAS NMR: A Preliminary Investigation. *J. Agric. Food Chem.* 54: 4148-4154.
- Sieber, R., Rehberger, B., Schallet, F. and Gallman, P. (2006) Technological Aspects of Copper in Milk Products and Health Implications of Copper. *ALP Science.* 493:1-15.

- Singh, V. K., Kristoffersen, T. (1971) Accelerated Ripening of Swiss Cheese Curd. *Journal of Dairy Science and Technology*. 54(3): 349-354.
- Sousa, M.J., Ardö, Y. and Mc Sweeny P.L.H. (2001) Advances in the Study of Proteolysis During Cheese Ripening. *Int. Dairy Journal*. 11:327-345.
- Steffen, C., Eberhard, P., Bosset, J.O. and Rüeegg, M. (1993) Swiss-Type Varieties. Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Vol 2: Major Cheese Groups, 2<sup>nd</sup> Edition, P. F. Fox, **CHAPMAN&HALL**, London, pp:83-106.
- Tamime, A. Y. (1999) *CHEESE* /Cheese in the Marketplace. Encyclopedia of Food Microbiology Carl A. Batt, Pradip D. Patell, **Academic Press**, London, p:372-380.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E. (2006) Changes on Physicochemical, Lipolysis and Proteolysis of Vacuum-Packed Turkish Kashar Cheese During Ripening. *Journal of Central European Agriculture*. 7(3): 459-464.
- Thierry, A., Maillard, M.B, Richoux, R., Kerjean, J.R. and Lortal, S. (2005) *Propionibacterium freudenreichii* Strains Quantitatively Affect Production of Volatile Compounds in Swiss Cheese. *Lait*. 85; 57-74.
- Topçu, A., Saldamlı, İ. (2006) Proteolytical, Chemical, Textural and Sensorial Changes During the Ripening of Turkish White Cheese Made of Pasteurized Cows' Milk. *Int. J. Food Properties*. 9:665-678.
- Üçüncü, M. (2004a) A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi, Cilt 1, **Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri**, İzmir, 543s.
- Üçüncü, M. (2004b) A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi, Cilt 2, **Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri**, İzmir, 691s.
- Vantgal, A., Hammond, E. G. (1986) Correlation of the Flavor Characteristics of Swiss-Type Cheeses with Chemical Parameters. *J. Dairy Sci.*. 69(12): 2982-2993.
- Vedamuthu, E.R., Raccach, M., B.A., Seitz, E.W. and Reddy, M.S. (1992) Acid Producing Microorganisms. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 225-238. **APHA**, Whashington, D.C.
- Walstra, P., Wouters, J.T.M. and Geurts, T.J. (2006) Cheese Varieties. Dairy Science and Technology. 2<sup>nd</sup> edition. **Taylor & Francis Group**, Boca Raton, pp:719-722.
- Weinrichter, B., Sollberger, H., Ginzinger, W., Jaros, D., Rohm, H. (2004) Adjunct Starter Properties Affect Characteristic Features of Swiss-type Cheeses. *Nahrung/Food*. 48(1): 73-79.
- White, S.R., Broadbent, J. R., Oberg, C. J. and McMahon, D. J. (2003) Effect of *Lactobacillus helveticus* and *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* Combinations on Propensity for Split Defect in Swiss Cheese. *J. Dairy Sci.* 86: 719-727.

Wiedmann, M, Boor K. J., Eisgruber, H. and Zaadhoff, K-J. (1999) *CLOSTRIDIUM/ Clostridium tyrobutyricum*. Encyclopedia of Food Microbiology, Carl A. Batt, Pradip D. Patell, *Academic Press*, London, pp:451-457.

## ÖZGEÇMİŞ

Seba SABANOĞLU 1984 yılında İstanbul Kadıköy’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Gebze’de tamamladıktan sonra 2002-2006 yıllarında Pamukkale Üniversitesi’nde lisans öğrenimine devam etti. 2006-2008 yılları arasında özel bir vakıf aşevinde sorumlu yönetici olarak görev aldı. Aynı zamanda 2007 yılında yüksek lisans öğrenimine Pamukkale Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’de başladı. Yüksek lisans tez çalışmasını yapmak üzere Finlandiya’da Helsinki Üniversitesi Gıda Teknolojisi Bölümü’nde 6 ay projede görev aldı. Halen bir özel sektör kuruluşunda gıda mühendisi olarak görev yapmaktadır.