

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**YUMURTA VE MİKROBİYAL LİZOZİMİN İZMİR TULUM PEYNİRİ
NİTELİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Handan ERKAN ŞAHİN

SÜT TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2023**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

YUMURTA VE MİKROBİYAL LİZOZİMİN İZMİR TULUM PEYNİRİ NİTELİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Handan ERKAN ŞAHİN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ayşe GÜRSOY

Eş Danışman: Doç. Dr. Filiz YILDIZ AKGÜL

Bu araştırmada, yumurta ve mikrobiyal lizozim olmak üzere iki farklı enzim preparatının İzmir Tulum peynirinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır. İlk aşamada, lizozim enzim preparatlarının sütteki katım oranları belirlenmiş (yumurta lizozimi 40 ppm; mikrobiyal lizozim 10 ppm) ve ikinci aşamada bu oranlar kullanılarak peynir üretimi yapılmıştır. Çiğ süt ve pastörize süt kontrol grupları da dahil olmak üzere 6 çeşit Tulum peyniri üretilmiştir. Depolamanın çeşitli günlerinde (1., 30., 60., 90. ve 120. gün) fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır.

Araştırma sonuçlarına göre her iki enzim preparatı peynirlerin pH değerini etkilememiştir, ancak mikrobiyal lizozim katkılı peynirlerde titrasyon asitliği miktarı düşük çıkmıştır. Yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim kullanılan peynirlerde kurumadde oranı düşük yağ oranı ise yüksek çıkmıştır. Lizozim enzim katkılı peynirlerde suda çözünen azot miktarı diğer peynirlere göre daha yüksektir. Serbest yağ asitleri arasında palmitik asit ve stearik asit miktarı lizozim preparatlarından etkilenmezken, sütün pastörize edilip edilmemesinden etkilenmiştir. Serbest yağ asitleri depolama süresince artma gösterirken depolamanın son gününde azalmıştır. Peynir örneklerinde 30 uçucu bileşen belirlenmiştir ve lizozim enzim preparatlarının yağ asidi oluşumunu etkilemediği ancak bütirik asit metil esteri oluşumunu artırdığı, oktanoik asit metil esteri oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Mikrobiyolojik açıdan laktik asit bakterilerini etkilemeyen lizozim enzimleri, maya ve küf oluşumunu önlemiş ve koliform bakteri içeriğini azaltmıştır. Sporlu bakteriye rastlanmamıştır.

Sonuçta, farklı lizozim enzim preparatlarının peynir üretiminde fiziksel ve kimyasal özellikleri çok fazla etkilemediği ancak mikrobiyolojik açıdan önemli farklılıklara yol açtığı belirlenmiştir. Lizozim enzimleri doğal kaynaklı antimikrobiyal maddeler olarak peynir üretiminde kullanılabilir. Bu çalışmada, tavuk yumurtasından elde edilen lizozimin yanı sıra mikrobiyal lizozimin de peynir üretiminde kullanılabilirliği değerlendirilmiştir.

Eylül 2023, 206 sayfa

Anahtar Kelimeler: İzmir Tulum, lizozim, biyokimyasal analizler, mikrobiyoloji, enzim

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

EFFECT OF EGG AND MICROBIAL LYSOZYME ON THE PROPERTIES OF IZMIR TULUM CHEESE

Handan ERKAN ŞAHİN

Ankara University

Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Dairy Technology

Supervisor: Prof. Ayşe GÜRSOY,

Co-supervisor: Assoc. Prof. Filiz YILDIZ AKGÜL

In this study, the effect of two different enzyme preparations, egg and microbial lysozyme on the physical, chemical and microbiological properties of Izmir Tulum cheese was investigated. In the first stage, lysozyme enzyme preparations were added to milk at specified rates (40 ppm for egg lysozyme; 10 ppm for microbial lysozyme) and in the second stage, cheese production was carried out using these rates. Six types of Tulum cheese were produced including raw milk and pasteurized milk control groups. Physical, chemical and microbiological analyses were conducted on various storage days (1st, 30th, 60th, 90th and 120th days).

According to the research findings, both enzyme preparations did not affect the pH value of the cheeses. However, microbial lysozyme-added cheeses had lower levels of titratable acidity. In cheeses using egg lysozyme and microbial lysozyme, the dry matter contents were lower while the fat ratios were higher. The amount of soluble nitrogen in lysozyme-added cheeses was higher than in other cheeses. Among the free fatty acids, the amounts of palmitic acid and stearic acid were not affected by the lysozyme preparations or pasteurization of milk. While free fatty acids increased during storage, they decreased on the last day of storage. A total of 30 volatile components were identified in cheese samples and lysozyme enzyme preparations did not affect the formation of fatty acids but increased the formation of butanoic acid methyl ester and reduced the formation of octanoic acid methyl ester. Microbiologically, lysozyme enzymes did not affect lactic acid bacteria but showed antifungal properties against yeast and mold formation and reduced coliform bacteria content. No spore-forming bacteria were detected.

In conclusion, different lysozyme enzyme preparations had limited effects on the physical and chemical properties of cheese production but led to significant microbiological differences. Lysozyme enzymes can be used as natural antimicrobial agents in cheese production. This study evaluated the usability of both egg white-derived lysozyme and microbial lysozyme in cheese production.

September 2023, 206 pages

Key Words: Izmir Tulum, lysozyme, biochemical analysis, microbiology, enzyme

TEŞEKKÜR

Doktora çalışmalarım sırasında değerli bilgi, destek ve katkılarını esirgemeyen sevgili danışman hocam Prof. Dr. Ayşe GÜRSOY'a,

Bu tezin konu seçiminden yürütülmesine kadar değerli bilgi, tecrübe ve zamanını benimle her zaman içtenlikle paylaşan, beni her zaman yönlendiren, moral ve motivasyon kaynağı sevgili eş danışman hocam Doç. Dr. Filiz YILDIZ AKGÜL'e,

Tezin yürütülmesi aşamasında değerli bilgilerini paylaşarak katkı ve önerilerde bulunan değerli hocalarım Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı Emekli Öğretim Üyesi Prof. Dr. Atilla YETİŞEMİYEN'e, Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Zehra GÜLER'e,

Tez çalışmam kapsamında peynir üretimini yaptığımız Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Süt İşletmesi çalışanlarına, deneysel çalışmalarım sırasında destek ve yardımlarından dolayı Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi – TARBIYOMER çalışanlarına,

İstatistik hesaplamaları konusunda destek olan Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarımsal Yapılar ve Sulama Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. İsmail TAŞ'a,

Çalışmalarım sırasında ümit veren ve destek olan tüm iş arkadaşlarım ve üstatlarıma,

Tüm hayatım boyunca yardım ve desteklerini esirgemeyen gölgesi bile yeter dediğim canım ailem hem annem hem öğretmenim Emine ERKAN'a, babam İsa ERKAN'a ve kız kardeşim Doç. Dr. Kadriye ERKAN TURAN ve ailesine,

Beni her zaman motive eden ve destekleyen sevgili eşim Ali ŞAHİN'e,

“Annecim lütfen artık benimle ilgilen” diyen dünyalar güzeli kızım Ceylin İpek ŞAHİN'e

Tez çalışmam süresince desteklerini hissettiğim herkese,

En içten duygularıyla teşekkür ederim.

Handan ERKAN ŞAHİN
Ankara, Eylül 2023

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 Peynirin Tanımı, Tarihçesi ve Sınıflandırılması	4
2.2 Tulum Peyniri ve Üretim Yöntemleri	6
2.3 Tulum Peyniri ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar	10
2.3.1 Tulum peynirinin kimyasal ve biyokimyasal özellikleri.....	10
2.3.2 Tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri	18
2.4 Peynirlerde Görülen Geç Şişme	22
2.5 Geç Şişme Önleme Yöntemleri	26
2.6 Lizozim ve Kimyasal Yapısı	28
2.7 Lizozimin Elde Edilmesi	32
2.8 Lizozimin Etki Mekanizması	33
2.9 Lizozimin Antibakteriyal Aktivitesi	36
2.10 Lizozimin Antifungal Aktivitesi.....	38
2.11 Lizozimin Gıda Sanayinde Kullanım Olanakları	40
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	48
3.1 Materyal.....	48
3.1.1 Çiğ süt.....	48
3.1.2 Peynir mayası	48
3.1.3 Lizozim	48
3.1.4 Mikroorganizmalar	49
3.1.5 Kaya tuzu ve salamura	49

3.1.6 Ambalaj materyali	49
3.2 Yöntem	49
3.2.1 Üretiminde kullanılacak lizozim enzim preparatlarının konsantrasyonlarının in vitro koşullarda belirlenmesi	49
3.2.1.1 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde örneklerin hazırlanması	50
3.2.1.2 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi	51
3.2.1.3 Farklı lizozim preparatlarının farklı konsantrasyonlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesi	51
3.2.2 Tulum peyniri üretimi	52
3.2.3 Çiğ sütte yapılan fiziksel ve kimyasal analizler	57
3.2.3.1 pH tayini.....	57
3.2.3.2 Titrasyon asitliği tayini	57
3.2.3.3 Kurumadde oranı.....	57
3.2.3.4 Yağ oranı.....	57
3.2.3.5 Toplam azot ve protein oranı	57
3.2.4 Tulum peynirlerinde yapılan fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal analizler	58
3.2.4.1 pH tayini.....	58
3.2.4.2 Titrasyon asitliği.....	58
3.2.4.3 Kurumadde içeriği	58
3.2.4.4 Yağ tayini ve kurumaddede yağ miktarı	59
3.2.4.5 Tuz tayini ve kurumaddede tuz tayini	59
3.2.4.6 Toplam azot (TN) ve protein.....	59
3.2.4.7 Suda çözünen azot (SÇA) miktarının belirlenmesi	59
3.2.4.8 Olgunlaşma katsayısı	60
3.2.4.9 Randıman.....	60
3.2.4.10 Serbest yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi	60
3.2.4.11 Uçucu bileşenlerinin tespiti	62
3.2.5 Çiğ sütte ve peynirlerde mikrobiyolojik analizler.....	63
3.2.5.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (kob/ml-g)	63
3.2.5.2 Toplam Koliform (kob/ml-g).....	63
3.2.5.3 <i>E. coli</i> (kob/ml-g)	64

3.2.5.4 Küf, maya (kob/ml-g).....	64
3.2.5.5 Laktik asit bakterileri (kob/ml-g).....	64
3.2.5.6 Sporlu mikroorganizma sayımı (koloni oluşturan birim/ml-g).....	64
3.2.6 İstatistik analizleri.....	64
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	65
4.1 Lizozim Enzim Preparatlarının Antimikrobiyal Aktivitesi.....	65
4.1.1 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi.....	65
4.1.2 Farklı lizozim preparatlarının farklı konsantrasyonlarının maya ve küf üzerine olan antifungal aktivitesinin belirlenmesi.....	68
4.2 Üretimde Kullanılan Sütün Özellikleri.....	70
4.2.1 Sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	70
4.2.2 Sütün mikrobiyolojik özellikleri.....	71
4.3 Peynir Örneklerine Ait Fiziksel, Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikler.....	72
4.3.1 pH değerleri.....	72
4.3.2 Titrasyon asitliği (%LA) değerleri.....	76
4.3.3 Kurumadde (%) değerleri.....	79
4.3.4 Yağ (%) değerleri.....	82
4.3.5 Kurumaddede yağ (%) değerleri.....	85
4.3.6 Tuz (%) değerleri.....	87
4.3.7 Kurumaddede tuz (%) değerleri.....	89
4.3.8 Protein (%) değerleri.....	92
4.3.9 Toplam azot (TN) değerleri.....	95
4.3.10 Suda çözünen azot (SÇA) değerleri (%).....	97
4.3.11 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayıları.....	100
4.3.12 Peynir örneklerinin randıman değerleri.....	102
4.3.13 Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri içeriği.....	102
4.3.13.1 Bütirik asit (C ₄) miktarı.....	104
4.3.13.2 Kaproik asit (C ₆) miktarı.....	108
4.3.13.3 Kaprilik asit (C ₈) miktarı.....	112
4.3.13.4 Kaprik asit (C ₁₀) miktarı.....	114
4.3.13.5 Laurik asit (C ₁₂) değeri.....	117
4.3.13.6 Miristik asit (C ₁₄) değeri.....	119

4.3.13.7 Palmitik asit (C ₁₆) değeri	122
4.3.13.8 Stearik asit (C _{18:0}) değeri	125
4.3.13.9 Oleik asit (C _{18:1}) değeri	127
4.3.13.10 Linoleik asit (C _{18:2}) değeri	131
4.3.14 Peynir örneklerinin uçucu bileşenleri	133
4.3.14.1 Yağ asitleri	135
4.3.14.2 Esterler	138
4.3.14.3 Ketonlar ve Aldehitler	141
4.3.14.4 Hidrokarbonlar	142
4.3.14.5 Alkoller	144
4.3.14.6 Terpenler	145
4.3.14.7 Diğer uçucu bileşenler	147
4.4 Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri	148
4.4.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi	148
4.4.2 Peynir örneklerinde maya-küf sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi	152
4.4.3 Laktobasil bakteri sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi	155
4.4.4 Laktokok sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi	159
4.4.5 Koliform grubu bakteri sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi	162
4.4.6 <i>E. coli</i> sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi	165
4.4.7 Sporlu mikroorganizma sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi	167
5. SONUÇ	169
KAYNAKLAR	176
EKLER	201
EK 1 FFA Standart Kromatogram	202
EK 2 Çiğ Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı	202
EK 3 Çiğ Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı	203
EK 4 Çiğ Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı	203
EK 5 Pastörize Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı	204

EK 6 Pastörize Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin	
1. Gün Kromatogramı	204
EK 7 Pastörize Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin	
1. Gün Kromatogramı	205
ÖZGEÇMİŞ.....	206

SİMGELER DİZİNİ

AgNO ₃	Gümüş nitrat
Al ₂ O ₃	Alüminyum oksit
CO ₂	Karbondioksit
H ₂	Hidrojen
H ₂ SO ₄	Sülfürik asit
KOH	Potasyum hidroksit
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
Na ₂ -EDTA	Etilendiamin tetraasetik disodyum
Na ₂ SO ₄	Sodyum sülfat
Abs	Absorbans
Da	Dalton
eV	Elektronvolt
g	Gram
°	Derece
°C	Santigrat
%	Yüzde
dk	Dakika
kg	kilogram
Kob	Koloni oluşturma birimi
L	Litre
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
µg	Mikrogram
mg	miligram
log	Logaritma
MPa	Megapaskal
McF	Mac-Farland
N	Normalite
ng	Nanogram
nm	Nanometre
pI	İzoelektrik nokta
ppm	milyonda bir
psi	inç kareye pound cinsinden uygulanan kuvvet
rpm	1 dakikadaki dönüş
s	Saniye
vd.	ve diğerleri
w/w	Ağırlıkça yüzde

Kısaltmalar

<i>A. flavus</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
<i>A. niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>
AB	Avrupa Birliği

AFM1	Aflatoksin M1
<i>C. butyricum</i>	<i>Clostridium butyricum</i>
<i>C. tyrobutyricum</i>	<i>Clostridium tyrobutyricum</i>
CCA	Chromocult Coliform Agar
CL	Kitosan-Lizozim
DTT	DL-Dithiothreitol
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Birliği
FFA	Serbest Yağ Asidi
FID	Alev İyonizasyon Dedektörü
GC-MS	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi
GRAS	Genel Olarak Güvenli Kabul Edilebilir
HEWL	Tavuk Yumurtası Beyazı Lizozimi
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
IDF	Uluslararası Sütçülük Federasyonu
KM	Kurumadde
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
LA	Laktik Asit
LAB	Laktik Asit Bakterileri
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
LPS	Laktoperoksidaz Sistemi
MAP	Modifiye Atmosfer Paketleme
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
MPN	En Muhtemel Sayım
MRS Agar	de MAN, ROGOSA and SHARPE
NAM	N-asetilmuramikasit
NAG	N-asetilglukozamin
NSLAB	Starter Olmayan Laktik Asit Bakteri
<i>P. fluorescens</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
PTA	Fosfotungustik Asit
PCA	Plate Count Agar
PDA	Potato Dextrose Agar
PFGE	Pulsed field gel electrophoresis
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>S. cerevisiae</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
SÇA	Suda Çözünen Azot
SN	Çözünen Azot
Spp.	Subspecies
Ssp.	Subspecies
TMAB	Toplam Mezofilik Aerobik Bakteri
TCA	Trikloroasetik Asit
TGK	Türk Gıda Kodeksi
TN	Toplam Azot
TS	Türk Standartı
TSC	Tryptose Sulfite Cyclocerine

TÜİK
UF
VRBA
QS
WHO

Türkiye İstatistik Kurumu
Ultrafiltrasyon
Violet Red Bile Agar
Quantum Satis (belirlenmemiş miktar)
Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Türkiye’de Tulum peyniri üretimi yoğun olarak yapılan iller	7
Şekil 2.2 Tulum peynirinin endüstriyel üretim akım şeması	9
Şekil 2.3 Gouda peynirinde geç şişmeye bağlı oluşan gözenekli yapı	22
Şekil 2.4 Grana peynirinde geç şişmeye bağlı oluşan gözenekli yapı	23
Şekil 2.5 <i>C. tyrobutyricum</i> gelişime bağlı oluşan gözenekli yapı.....	23
Şekil 2.6 Lizozimin <i>C. tyrobutyricum</i> üzerindeki litik aktivitesi.....	27
Şekil 2.7 Tavuk lizoziminin birincil yapısı, tersiyer yapısı ve lizozim aktivitesinden sorumlu aminoasitlerin bulunduğu aktif bölge	30
Şekil 2.8 Tavuk yumurtası beyazından elde edilen lizozimin (HEWL) yapısı.....	31
Şekil 2.9 Lizozimin substrat bağlama bölgesinin şematize gösterimi	31
Şekil 2.10 Lizozimin NAM (N-asetilmuramikasit) ve NAG (N-asetilglukozamin) arasındaki glikozidik bağı hidrolizlemesinin şematik görünümü.....	33
Şekil 2.11 Lizozimin etki mekanizmaları	34
Şekil 2.12 Lizozimin Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerindeki etkisinin şematik görünümü	37
Şekil 2.13 Maya hücresinin yapısı	39
Şekil 3.1 Tulum peyniri üretim şeması	53
Şekil 3.2 Üretimin yapıldığı işletmede yer alan proses tankları	55
Şekil 3.3 Pıhtı oluşumunun takibi	55
Şekil 3.4 Tulum peyniri örneklerinin 1.günü	56
Şekil 3.5 Tulum peyniri örneklerinin 120. günü	56
Şekil 4.1 Yumurta lizoziminin antibakteriyal aktivitesi (log kob/ml, 24 saat)	66
Şekil 4.2 Mikrobiyal lizozimin antibakteriyal aktivitesi (log kob/ml, 24 saat)	67
Şekil 4.3 <i>S. cerevisiae</i> üzerine yumurta lizoziminin antifungal etkisi	68
Şekil 4.4 <i>S. cerevisiae</i> üzerine mikrobiyal lizoziminin antifungal etkisi	68
Şekil 4.5 <i>A. flavus</i> üzerine yumurta lizoziminin antifungal etkisi	69
Şekil 4.6 <i>A. flavus</i> üzerine mikrobiyal lizoziminin antifungal etkisi	69
Şekil 4.7 Peynir örneklerinde depolama süresince pH değişimi.....	74
Şekil 4.8 Peynir örneklerinde titrasyon asitliği (%LA) değerlerinin depolama süresince değişimi	77

Şekil 4.9 Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerlerinin depolama süresince değişimi	80
Şekil 4.10 Peynir örneklerine ait yağ değerlerinin (%) depolama süresince değişimi	83
Şekil 4.11 Peynir örneklerine ait kurumaddede yağ değerlerinin (%) depolama süresince değişimi	86
Şekil 4.12 Peynir örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişim	88
Şekil 4.13 Peynir örneklerinin kurumaddede tuz (%) içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişim	90
Şekil 4.14 Peynir örneklerinin protein (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim	94
Şekil 4.15 Peynir örneklerinin TN (%) değerlerinin depolama süresince değişimi.....	97
Şekil 4.16 Peynir örneklerinin SÇA değerlerinin depolama süresince değişimi (%) ...	100
Şekil 4.17 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarının depolama süresince değişimi	102
Şekil 4.18 Peynir örneklerinin bütirik asit (C ₄) miktarının depolama süresince değişimi	106
Şekil 4.19 Peynir örneklerinin kaproik asit (C ₆) değerlerinin depolama süresince değişimi	111
Şekil 4.20 Peynir örneklerinin kaprilik asit (C ₈) değerlerinin depolama süresince değişimi	113
Şekil 4.21 Peynir örneklerinin kaprik asit (C ₁₀) değerlerinin depolama süresince değişimi	116
Şekil 4.22 Peynir örneklerinin laurik asit (C ₁₂) değerlerinin depolama süresince değişimi	118
Şekil 4.23 Peynir örneklerinin miristik asit (C ₁₄) değerlerinin depolama süresince değişimi	121
Şekil 4.24 Peynir örneklerinin palmitik asit (C ₁₆) değerlerinin depolama süresince değişimi	124
Şekil 4.25 Peynir örneklerinin stearik asit (C _{18:0}) değerlerinin depolama süresince değişimi	127
Şekil 4.26 Peynir örneklerinin oleik asit (C _{18:1}) değerlerinin depolama süresince değişimi	130
Şekil 4.27 Peynir örneklerinin linoleik asit (C _{18:2}) değerlerinin depolama süresince değişimi	133

Şekil 4.28 Peynir örneklerine ait TMAB sayısının olgunlaşma süresince değişimi	151
Şekil 4.29 Peynir örneklerine ait maya-küf sayısının olgunlaşma süresince değişimi .	154
Şekil 4.30 Peynir örneklerine ait laktobasil bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi	157
Şekil 4.31 Peynir örneklerine ait laktokok bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi	161
Şekil 4.32 Peynir örneklerine ait koliform grubu bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi	164
Şekil 4.33 Peynir örneklerine ait <i>E. coli</i> bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi	166

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Lizozimin çeşitli kaynakları ve miktarı	29
Çizelge 3.1 Lizozim ve kullanım konsantrasyonları.....	50
Çizelge 4.1 Farklı lizozim preparatlarının artan konsantrasyonlarda laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal etkisi	65
Çizelge 4.2 Çiğ inek sütünün fizikokimyasal özellikleri, n=3*	71
Çizelge 4.3 Çiğ inek sütünün mikrobiyolojik özellikleri, n=3	72
Çizelge 4.4 Peynir örneklerinin pH değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	73
Çizelge 4.5 Peynir örneklerinin titrasyon asitliği (%LA) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	76
Çizelge 4.6 Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	79
Çizelge 4.7 Peynir örneklerinin yağ (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3.....	83
Çizelge 4.8 Peynir örneklerinin kurumaddede yağ (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	85
Çizelge 4.9 Peynir örneklerinin tuz (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3.....	88
Çizelge 4.10 Peynir örneklerinin kurumaddede tuz (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3.....	90
Çizelge 4.11 Peynir örneklerinin protein (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	92
Çizelge 4.12 Peynir örneklerinin TN (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3	95
Çizelge 4.13 Peynir örneklerinin suda çözünen azot (SÇA) değerleri (%) ve depolama süresince değişimi, n=3*	98
Çizelge 4.14 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayıları ve depolama süresince değişimi, n=3	101
Çizelge 4.15 Peynir örneklerinin bütirik asit (C ₄)değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	105
Çizelge 4.16 Peynir örneklerinin kaproik asit (C ₆) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	109
Çizelge 4.17 Peynir örneklerinin kaprilik asit (C ₈) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	112
Çizelge 4.18 Peynir örneklerinin kaprik asit (C ₁₀) değerlerinin depolama süresince ...	114
değişimi (ppm), n=3*	114
Çizelge 4.19 Peynir örneklerinin laurik asit (C ₁₂) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	117

Çizelge 4.20 Peynir örneklerinin miristik asit (C ₁₄) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	120
Çizelge 4.21 Peynir örneklerinin palmitik asit (C ₁₆) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	123
Çizelge 4.22 Peynir örneklerinin stearik asit (C _{18:0}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	126
Çizelge 4.23 Peynir örneklerinin oleik asit (C _{18:1}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	129
Çizelge 4.24 Peynir örneklerinin linoleik asit (C _{18:2}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*	132
Çizelge 4.25 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen yağ asitleri, µg/g	135
Çizelge 4.26 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen esterler, µg/g	138
Çizelge 4.27 Tulum peyniri örneklerinde oluşan ketonlar ve aldehitler, µg/g	142
Çizelge 4.28 Tulum peyniri örneklerinde oluşan hidrokarbonlar, µg/g	143
Çizelge 4.29 Tulum peyniri örneklerinde oluşan alkoller, µg/g	144
Çizelge 4.30 Tulum peyniri örneklerinde oluşan terpenler, µg/g	146
Çizelge 4.31 Tulum peyniri örneklerinde oluşan diğer uçucu bileşenler, µg/g	147
Çizelge 4.32 Peynir örneklerinde TMAB Sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3	149
Çizelge 4.33 Peynir örneklerinde maya-küf sayıları ve depolama süresince değişimi, n=3	153
Çizelge 4.34 Peynir örneklerinde laktobasil sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*	156
Çizelge 4.35 Peynir örneklerinde laktokok sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*	160
Çizelge 4.36 Peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*	162
Çizelge 4.37 Peynir örneklerinde <i>E. coli</i> sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3	165
Çizelge 4.38 Peynir örneklerinde sporlu mikroorganizma sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*	168

1. GİRİŞ

Ülkemizde, dünya çapında bilinen ve tanınan peynirlerin yanı sıra farklı özelliklere ve tiplere sahip peynirler üretilmektedir, bu da ülke hatta yöre halkının zevklerine hitap etmektedir. Türkiye, peynir çeşitleri açısından oldukça zengindir. Ülkemizde üretilen peynirler arasında önemli bir yere sahip olan Tulum peyniri, üretim miktarı açısından Beyaz ve Kaşar peynirlerinden sonra üçüncü sırayı almaktadır (Güven vd. 2002, Tekinşen ve Uçar 2006, Kara 2012, Tekinşen ve Akar 2017). Trakya Bölgesi hariç olmak üzere ülkemizin birçok yöresinde üretilen Tulum peyniri özellikle Elazığ, Tunceli, Bingöl, Erzincan ve Erzurum'a özgü bir peynir çeşididir (Kurt vd. 1991, Tarakçı vd. 2005). Bu peynir beyaz veya krem renginde olup yüksek kurumadde ve yağ oranına sahiptir. Plastik kıvamıyla kolay dağılmayan bir yapıya sahiptir ve ağıza alındığında kendine has tereyağı aromasını hissettirir. Yarı sert olup homojen bir dokusu vardır ve belirgin bir asidik tada sahiptir (Kurt vd. 1991, Çakmakçı vd. 2008, Sert ve Akın 2008). Tulum peynirleri üretim bölgelerine bağlı olarak Erzincan (Şavak), Divle, Çimi Tulum gibi farklı yöresel isimlerle de anılmaktadır (Tarakçı vd. 2005, Sancak vd. 2018). Ege Bölgesi'nde yaygın olarak üretilen salamuralı Tulum peynirleri İzmir Tulum peyniri olarak da bilinmekte olup üretim ve özellikleri açısından Erzincan Tulum peynirinden farklılık gösterir (Tarakçı vd. 2005, Sancak vd. 2018). Ege Bölgesi'nde tulumun maliyetli olması ve salamura işleminin korunabilmesi amacıyla içi laklı tenekeler kullanılmaktadır (Tarakçı vd. 2005, Sancak vd. 2018).

Tulum peyniri olgunlaştırılarak tüketilen bir peynir çeşididir. Sert ve yarı sert peynirlerde depolama süresince görülen en büyük sorun bütirik asit fermentasyonu sonucu oluşan ve geç şişme olarak adlandırılan, peynirlerde tat-aroma ve yapı bozukluğuna sebep olan bir problemdir. Bu tip peynirlerin olgunlaşma sürecinde, *Clostridium* cinsi anaerobik spor oluşturan bakteriler peynirde bir takım organik asitler (bütirik ve asetik asit) ve gazlar (H₂ ve CO₂) gibi istenmeyen metabolitler üretmektedir. Bu ürünler peynirde şişme, düzensiz göz oluşumu, yarıklar ve tat bozukluğu gibi kabul edilemez kalite kusurlarına yol açmaktadır. Söz konusu durum peynir üretimi için yüksek ekonomik öneme sahip bir problemdir (Elferink vd. 2000, Lycken ve Borch 2006, Garde vd. 2012, Brandle vd. 2016, Turchi vd. 2016, Cankurt ve Sağdıç 2019). Clostridiumlar sağım sırasında yani üretim

sürecinin başında süte bulaşabileceği gibi düşük kaliteli silajın hayvanlara yedirilmesi sonucu da bulaşı oluşabilmektedir (Vissers vd. 2007, Reindl 2014).

Günümüzde, gıda sanayisinde özellikle doğal kaynaklı antimikrobiyal komponentlerin kullanıldığı biyo-koruma metotlarına olan ilginin gün geçtikçe artmasıyla birlikte (Meyer vd. 2002, Sudağdan ve Aydın 2013, Aminlari vd. 2014) doğal enzimlerin (lizozim) gıdalarda kullanım potansiyeli de artış göstermektedir (Proctor vd. 1988, Öztürkcan ve Acar 2017). Lizozim enzimi diğer bir adı ile muramidaz enzimi ilk olarak 1922'de Alexander Fleming tarafından keşfedilmiş olup yumurta beyazı albümininden tespiti yapılmış antimikrobiyal bir maddedir. Birleşmiş Milletlere bağlı FAO (Gıda ve Tarım Örgütü) ve WHO (Dünya Sağlık Örgütü) 1993 yılında, lizozimin toksik olmadığını bildirmiş olup Almanya, İtalya, Fransa, Japonya, İngiltere ve Avusturya gibi birçok ülke lizozimin gıdalarda kullanımına izin vermiştir (Anonymous 1993a). Bunun yanında lizozim, Kanada ve Amerika Birleşik Devletleri'nde nisin gibi 'GRAS' (Generally Recognised as Safe) statüsünde yer almaktadır. Ayrıca lizozim ticari olarak kullanım alanına sahip olan tek antimikrobiyal enzim olarak bilinmektedir (Meyer vd. 2002, Öztürkcan ve Acar 2017).

Enzim, Gram pozitif bakterilerde hücre zarının en önemli yapısı olan peptidoglikan tabakadaki β -1,4-glikozidik bağları hidrolize ederek hücre zarının yapısal bütünlüğünün bozulmasına sebep olmaktadır. Bu nedenle lizozim *C. tyrobutyricum*'un neden olduğu geç şişme kusurunu önlemek için peynir üretiminde koruyucu olarak kullanılabilir (Wasserfall ve Teuber 1979, Hughey ve Johnson 1987, Losso vd. 2000, Ávila vd. 2014). Böylece, lizozim nitrat kullanımına alternatif bir uygulama olarak karşımıza çıkmıştır. Fransa 1981 yılında peynir üretiminde endüstriyel olarak lizozimin uygulanmasına izin veren ilk ülke olmuştur (Yaygın 1989). Lizozime mevcut AB mevzuatına (Avrupa Parlamentosu ve 95/2 / EC sayılı Avrupa Parlamentosu ve Konsey Direktifi No.) ve Codex Alimentarius'a (Codex Standard 283 1978) göre peynirde koruyucu madde (E-1105) olarak kullanımına izin verilmektedir. Peynirlerde kullanım miktarı 50-350 mg/kg olarak belirtilmektedir (Schneider vd. 2010, Schneider vd. 2011).

Lizozimin antibakteriyal aktivitesi üzerine yoğun çalışmalar yapılmış olmasına rağmen antifungal etkisi ve laktik asit bakterilerine olan antibakteriyal etkisi üzerinde çalışmalar sınırlı sayıdadır (Wang ve ark., 2012). Bu amaç doğrultusunda yapılan bu tez çalışmasında geleneksel peynirler arasında büyük yer tutan İzmir Tulum peynirinde antimikrobiyal koruyucu olarak lizozim kullanımı hedeflenmiştir. Yapılan literatür çalışmalarında, Tulum peynirinde lizozim kullanımına yönelik çalışma ise neredeyse yoktur. Bu çalışma ile yumurta lizozimi yanında mikrobiyal lizozim enzimi de deneme kapsamında yer alarak, starter kültür olarak çok fazla kullanılan laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* ve ürünlerde bozulmaya sebep olan *Aspergillus flavus* küfü ile *Saccharomyces cerevisiae* mayası üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi araştırılarak iki çeşit lizozim uygulamasının karşılaştırılması yapılmıştır.

Deneme iki aşamalı olarak yürütülmüştür:

- Birinci aşamada firmadan temin edilen ticari yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin antimikrobiyal aktivitesi invitro koşullarda incelenmiştir.
- İkinci aşamada ise invitro koşullarda belirlenen konsantrasyonda yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim kullanılarak İzmir Tulum peynirleri üretilmiştir. Üretilen Tulum peynirleri 120 gün süre ile depolanmış ve analiz edilmiştir.

Depolama boyunca peynirlerde meydana gelen fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve biyokimyasal özelliklerdeki değişim incelenerek lizozim preparatlarının kendi içerisinde karşılaştırılması yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Peynirin Tanımı, Tarihçesi ve Sınıflandırılması

Peynir, sütün peynir mayası veya starter kültür kullanılarak pıhtılaştırılması, peyniraltı suyunun uzaklaştırılması ve pıhtının farklı şekillerde işlenmesi sonucu elde edilen besleyici değeri yüksek bir süt ürünüdür. Peynir üretiminde peynir mayası kullanılabildiği gibi zararsız organik asitler ve peynir çeşidine göre değişik aroma maddeleri de kullanılabilmektedir. Taze olarak veya farklı sıcaklık, süre ve nem koşullarında olgunlaştırılmasıyla tüketime hazır hale getirilmektedir (Koçak 1994, Yetişmeyen 1995, Üçüncü 2004a, Kaynar 2011).

Peynirin 8000 yıl önce Mezopotamya Ovasında Fırat ve Dicle nehirleri arasında kalan “Bereketli Hilal” olarak bilinen bölgede (Hayaloğlu ve Güven 2014) uzun bir yolcuğa çıkan Arap bir tüccar tarafından sütün, koyun işkembesinden yapılan kese içerisine konulduğu ve peynire dönüştüğünün rastlantı sonucu bulunduğu rivayet edilmektedir. Kesenin astarında bulunan peynir mayası, güneş ısıyla etkisini göstererek sütün pıhtılaşmasını sağlamış olup sütün teleme ve peyniraltı suyuna dönüştürmüştür. Medeniyetin ilerlemesiyle birlikte peynir yapma sanatının geliştiği ve Akdeniz havzası üzerinden dünyanın geri kalanına yayıldığı bildirilmektedir (Farnworth 2008). Diğer taraftan, sütün önceleri rastlantı sonucu daha sonra da ekşitilmesiyle peynir üretiminin ilk yapıldığı bölgenin Avrasya olduğu iddia edilmektedir (Ünsal 1997).

Peynir, dünyada hemen her toplum tarafından sevilerek tüketilen ve geleneksel süt ürünleri içerisinde besleyici değeri yüksek, farklı aroma ve tekstürde bulunan bir grup fermente süt ürünüdür (Oğuz ve Andiç 2019). Üretimde kullanılan sütün türünden üretim yöntemindeki farklılıklara göre değişen zengin çeşitliliğe sahip olan peynirin (Oğuz ve Andiç 2019, Koçak 2015) dünyada çeşit sayısı farklı kaynaklarda 1000, 2000 ve 4000 olarak farklı bir şekilde belirtilmektedir (Koçak 2015).

Dünyada peynir ticaretinde çeşitliliğin fazla olmasından dolayı yaşanan sorunlar, peynirlerin sınıflandırılmasının gerekli olduğunu gündeme getirmiştir. Gerek Dünyada

peynir türlerinin çeşitliliği gerekse bir ülkede bölgesel ve yöresel farklılıklar hem sınıflandırmada hem de peynir için uluslararası kabul görmüş standartların geliştirilmesinin zor olduğunu göstermiştir. Bu kapsamda Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF), Dünya Sağlık Örgütü (WHO) ve Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından çalışmalar yürütülmüştür. Gelineen noktada, IDF'e göre 500'den fazla peynir çeşidi bulunmaktadır. WHO ve FAO da peynirleri taze, olgunlaşmış ve küflü peynirler olmak üzere üç ana sınıfta kategorize etmektedir (Üçüncü 2004b, Fuquay vd. 2011, Koçak 2015).

Günümüze kadar standart bir sınıflandırması yapılamayan peynir, genel olarak temel kriterler göz önünde bulundurularak sınıflandırılmıştır (Akın 2010, Koçak 2015). Buna göre peynirler pıhtının elde edilme yöntemine, peynirin kurumadde ve yağ içeriğine, kullanılan starter kültüre, peynirin tekstürüne, üretimde kullanılan süt çeşidine ve üretim teknolojisine göre sınıflandırılmaktadır.

Codex Alimentarius Peynir Genel Standardında çeşit adı ile anılmayan peynirler için sertlik ve olgunlaşma durumu göz önünde bulundurularak bir sınıflandırma yapılmaktadır. Peynirler sertlik durumları göz önüne alındığında ekstra sert, sert, yarı sert ve yumuşak olmak üzere 4 ana grupta toplanmakla birlikte olgunlaşma durumlarına göre de olgunlaşmış, küfle olgunlaşmış, olgunlaşmamış ve salamurada olarak belirtilmektedir (Anonymous 1973).

Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (Tebliğ No: 2015/6) ise kurumaddeye yağ ve nem miktarına göre bir sınıflandırma yapılmaktadır. Yağ içeriklerine göre tam yağlı ($45 \leq$), yarım yağlı ($25 \leq$ süt yağı < 45), az yağlı ($10 \leq$ süt yağı < 25) ve yağsız (< 10); nem içeriklerine göre ekstra sert ($nem < 49$), sert ($49 \leq nem < 57$), yarı sert ($57 \leq nem < 64$), yarı yumuşak ($64 \leq nem < 70$) ve yumuşak ($nem \geq 70$) olarak sınıflandırılmaktadır (Anonim 2015).

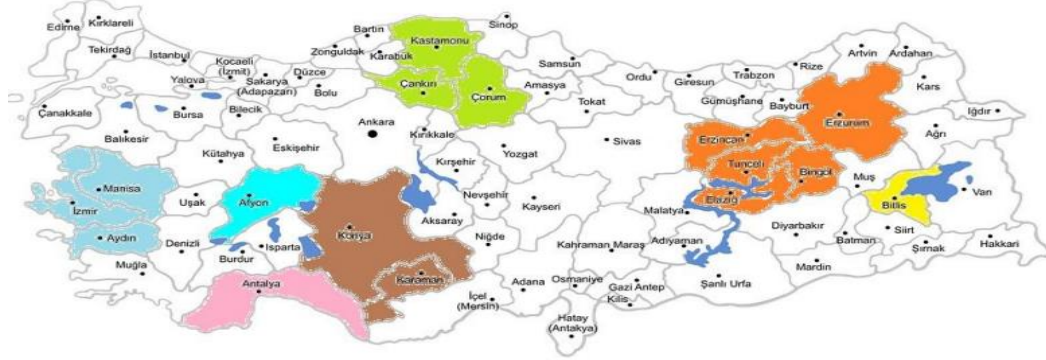
2.2 Tulum Peyniri ve Üretim Yöntemleri

Ülkemizde bölgesel ve yöresel koşullardaki farklılıklar, kültürel zenginlikler, çevresel koşullardaki değişiklikler, hayvan tür ve ırklarındaki çeşitlilikler, farklı üretim yöntemleri, kullanılan ambalaj materyalinin çeşidi, olgunlaştırma ve uygulanan değişik tuzlama yöntemleri sonucu çeşitli yöresel peynir üretimi yapılmaktadır (Tekinşen ve Elmalı 2006). Ülkemizde her biri kendine özgü farklı özelliklere sahip 130'dan fazla yöresel ve bölgesel peynir çeşidi bulunmakla birlikte Beyaz peynir ve Kaşar peynirinden sonra en çok bilinen ve tercih edilen peynir çeşitleri arasında Tulum peyniri yer almakta ve üretim miktarı yönünden Beyaz ve Kaşar peynirinden sonra üçüncü sırada yer almaktadır (Güven vd. 2002, Kamber 2005, Tekinşen ve Elmalı 2006, Erdem ve Patır 2017, Karabekmez- Erdem 2021).

Ülkemizde üretilen peynirlerin %60'ını Beyaz peynir, %17'sini Kaşar peyniri, %12'sini Tulum ve Mihaliç Peyniri, kalan %11'ini de diğer yerel peynirler oluşturmaktadır (Kamber 2015, Karabey vd. 2018). Peynir çeşitliliği bakımından zengin olan ülkemizde Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) Aralık 2020 tarihli verilerine göre inek peyniri 2020 yılı Ocak-Aralık aylarında toplam 739.774 ton, diğer peynirler (keçi, manda, koyun ve karıştırılmış sütlerden üretilmiş peynir çeşitleri) ise 27.173 ton olarak üretimi açıklanmıştır (Anonim 2021, Akgün ve Kök Taş 2022). Ülkemizde inek ve diğer türlerden elde edilen toplam çiğ süt miktarı 2021 yılı verilerine göre 23.200.306 ton olarak belirlenmiş olup yine aynı yıl 735.733 ton inek peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir (Anonim 2022).

Tulum peyniri, Türklerin Orta Asya'dan günümüze kadar peyniri daha uzun süre muhafaza edebilmek amacıyla oğlak, kuzu, koyun veya keçi derisinden yapılan tulumlara basarak üretmiş oldukları bir peynir çeşididir. Kendine özgü tat ve aroması olan Tulum peyniri beyaz ve kremi renkte, yağ oranı yüksek, ufalanan yapıda ve yarı-sert özellikte olmakla beraber sindirimi kolay ve besleyici değeri yüksektir (Durlu-Özkaya ve Gün 2007, Erdem ve Patır 2017, Karabekmez-Erdem 2021).

Ülkemizde genellikle köy ve kasabalarda yer alan aile çiftliklerinde Tulum peyniri üretimi yapılmaktadır. Türk halkı tarafından sevilerek tüketilen Tulum peynirine talebin artmasıyla neredeyse 25 yıl önce modern işletmelerde de üretim yapılmaktadır. (Sancak vd. 2018, Dağdemir 2000). Üretimin yoğun olarak yapıldığı iller ülkemiz haritasında gösterilmektedir (Şekil 2.1).



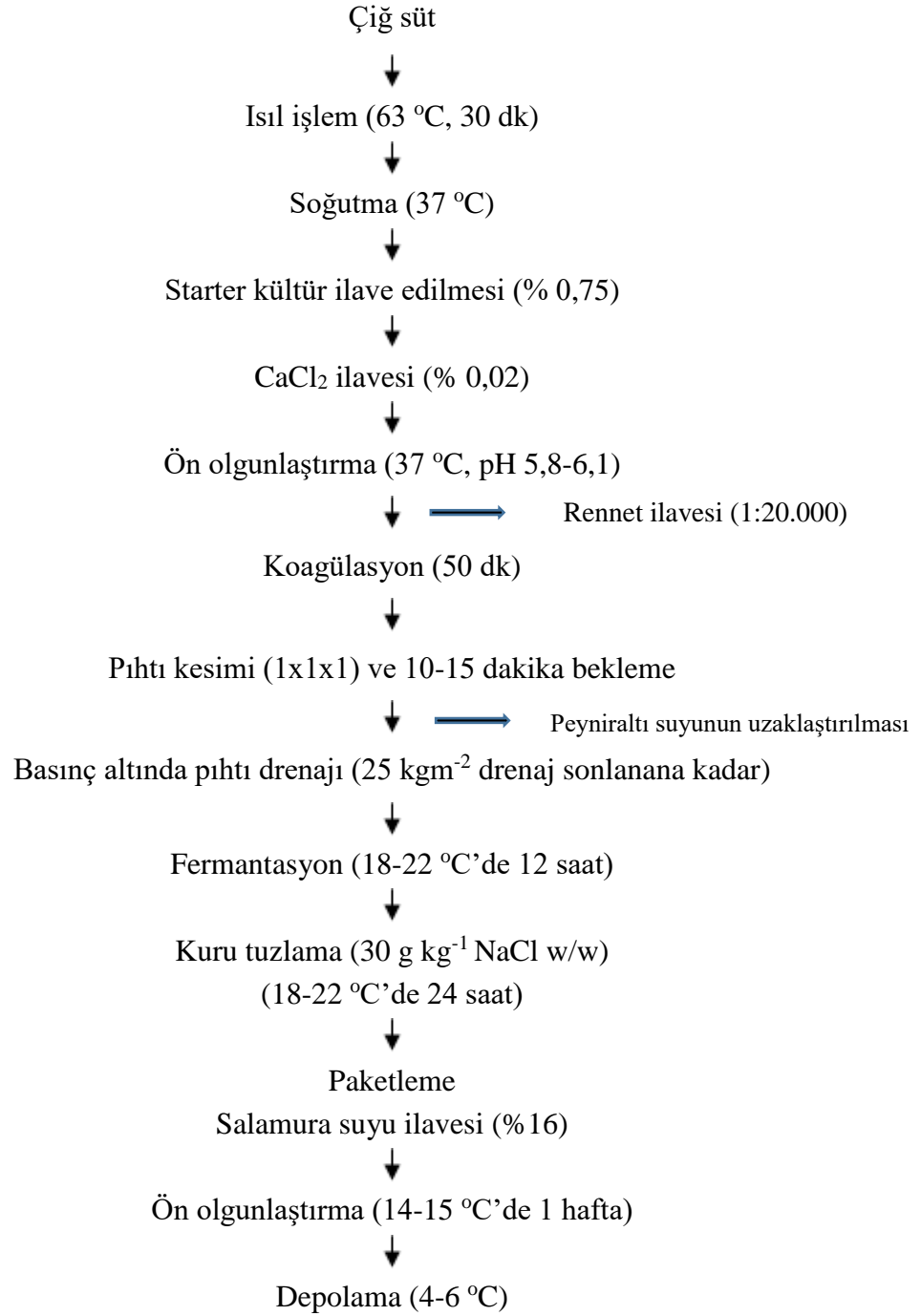
Şekil 2.1 Türkiye’de Tulum peyniri üretimi yoğun olarak yapılan iller (Sancak vd. 2018)

Ülkemize has bir peynir çeşidi olan Tulum peyniri, üretiminde kullanılan sütün türü, üretim yöntemi, telemenin kesilmesi, tuzlanması, ambalajlama şekli ve olgunlaştırma şartlarına bağlı olarak farklı tat ve yapıda olmaktadır (Morul ve İşleyici 2012, Tekinşen ve Akar 2017). Türkiyede 30 farklı Tulum peyniri üretilmekle beraber üretim tekniğine göre kuru ve salamuralı Tulum peyniri olmak üzere iki farklı grupta toplanmaktadır. Kuru Tulum peyniri; Orta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri’nde başlıca Erzincan, Erzurum ve Tunceli de Şavak Tulum peyniri, Kastamonu, Çorum ve Çankırı’da Kargı Tulum peyniri, Karaman ve Konya’da Divle Tulum peyniri, Orta Anadolu’yu Akdeniz’e bağlayan Toros yaylalarında Çimi Tulum peyniri yaygın olarak üretilmekte; Ege Bölgesinde özellikle İzmir, Aydın ve Manisa illerinde ise üretim yöntemi ve özellikleri açısından diğer Tulum peynirlerinden farklılık gösteren İzmir Tulum peyniri veya salamuralı Tulum peyniri üretilmektedir (Patır vd. 1995, Tarakçı vd. 2005, Kamber ve Terzi 2007, Kara ve Akkaya 2015, Tekinşen ve Akar 2017, Sancak vd. 2018). Muğla’nın Milas ilçesinde ise peynir “Kazıklı Peyniri” olarak bilinmekte ve üretiminde sadece koyun sütü kullanılmaktadır. İzmir Tulum peyniri sevilerek tüketilen bir peynir çeşidi olduğu için son yıllarda artık sadece yöresel bir peynir olmayıp yukarıda belirtilen bölge ve iller dışında bazı büyük illerde de üretimi yapılmaktadır. İzmir Tulum peyniri

ambalajlamada kullanılan malzemeye göre “Teneke Tulum” veya “Salamura Tulum” peyniri olarak adlandırılmaktadır. Her iki durumda da üretim yöntemi aynıdır. İzmir Tulum peyniri üretiminde özellikle koyun sütü tercih edilse de genelde koyun, keçi ve inek sütü karışımı kullanılmaktadır. Sütün bol olduğu Mart ve Temmuz ayları arası üretim için uygun dönem olarak düşünülmektedir (Kamber 2008).

İzmir Tulum peynirinin son yıllarda büyük işletmeler tarafından modern makine ve ekipmanlar kullanılarak üretimi yapılmasına rağmen küçük işletmeler tarafından da geleneksel yöntemler kullanılarak üretim gerçekleştirilmektedir. Geleneksel yöntemde süt, kazanların üzerine yerleştirilen filtre bezleri ile kaplanmış dikdörtgen şekilli ahşap çerçeveli tel eleklerden süzülme ve rennetin ilave edileceği mayalama sıcaklığına ısıtılmaktadır. Mayalama işleminde her 100 kg süte 10–20 g ticari peynir mayası (Maya kuvveti, 1:15.000 veya 1:20.000) eklenmektedir. Peynir mayası eklendiğinde sıcaklık ve pıhtılaşma süresi, çevre sıcaklığı ve peynir üreticisinin uzmanlığına göre sırasıyla 27°C ila 37°C ve 40 ila 60 dakika arasında değişim göstermektedir. Bu dönemde, “kıрма” olarak bilinen tahta uçlu çubuklar kullanılarak pıhtı nohut büyüklüğünde parçalara ayrılmaktadır. Parçalama işleminden sonra pıhtı kazanın dibine çökene kadar yaklaşık 15 dakika beklenmektedir. Daha sonra her iki el kullanılarak çöken pıhtı kazan içinde tek bir parça halinde toplanmakta ve bir kenevir bezine toplu olarak aktarılmaktadır. Kenevir bezi ya tavana asılmakta (Askı Tulum) veya üzerine bir ağırlık konularak (Baskı Tulum) sıvının akması sağlanmaktadır. İlk yöntem daha çok Ödemiş, Bayındır ve Tire yöresinde kullanılmaktadır. Son yıllarda, peyniraltı suyunun daha hızlı boşaltılması için ağırlıkların kullanıldığı presleme yöntemi daha çok tercih edilmektedir. Peyniraltı suyunun tamamı uzaklaştırıldığında olgunlaşmamış peynir bloklar halinde kesilerek keçi derisinin daha önce budanmış ve yıkanmış tüylü tarafına veya bir teneke içine yerleştirilir. Derilerin doldurulmasında peynir parçalarının çevresinde hava kalmamasına özen gösterilir. Deri paketlenildiğinde açıklık ip ile sıkıca sabitlenir. Oda sıcaklığında 7-15 gün tutulduktan sonra tulum soğuk hava deposuna alınır. Bununla birlikte hayvan derisine genellikle salamura suyu eklenmez. Teneke Tulum peyniri söz konusu olduğunda, tenekeler kuru tuzlu peynirle doldurulur, ardından kapatılır ve peynirin sıvısını bırakması için 1-2 gün bekletilir. Salamura Tulum peyniri ismi bu şekilde teneke veya tulumda toplanan salamuradan gelmektedir. Tenekeler kapatılmadan önce salamuranın durumu ve tuz

içeriği kontrol edilerek gerekirse peynirin üzerini örtecek kadar %12-16'lık salamura suyu ilave edilir. Peynir 4–6°C'de soğuk hava deposunda yaklaşık 90 gün olgunlaştırılır (Şekil 2.2). Son yıllarda keçi derisini bulmakta yaşanan zorluk ve yüksek maliyetli olması nedeniyle teneke ambalajlar daha yaygın olarak kullanılmaktadır (Kamber 2008, Atilla 2015, Sancak vd. 2018).



Şekil 2.2 Tulum peynirinin endüstriyel üretim akım şeması (Kamber 2008)

İzmir Tulum peynirini geleneksel diğer Tulum peynirlerinden ayırt edici bir özellik olgunlaştırılması için tulumun içi değil traşlanmış kılılı tarafının kullanılması, Anadolu'daki diğer Tulum peynirlerinin ise tulumun kılısız tarafında olgunlaştırma işleminin yapılmasıdır. Ayrıca İzmir Tulum peynirinin kalıplar halinde olması geleneksel Tulum peynirlerinin ise tek parça halinde olması diğer ayırt edici bir özelliktir. İzmir Tulumu Beyaz peynire göre daha sert ve daha tuzlu olmakta ayrıca peynirin üzerinde toplu iğne başı büyüklüğünde yayılmış gözenekler bulunmaktadır (Atilla 2015).

2.3 Tulum Peyniri ile İlgili Yapılan Bazı Çalışmalar

Ülkemizde Trakya Bölgesi dışında yaygın olarak üretilen Tulum peynirleri karakteristik tat ve aroması nedeniyle tüketiciler tarafından sevilerek tüketilen ve her geçen gün daha fazla talep edilen bir peynir çeşididir. Üretim genellikle aile çiftlikleri veya küçük işletmelerde yapılması ve üretimde standart bir yöntemin kullanılmamasından ötürü peynirlerin kimyasal, biyokimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri farklılık göstermekte ve standart bir kalite yakalanamamaktadır (Sert ve Akın 2008, Kamber 2015).

2.3.1 Tulum peynirinin kimyasal ve biyokimyasal özellikleri

Tulum peyniri üretiminde standart bir yöntem olmamasından dolayı peynirlerin kimyasal ve biyokimyasal özelliklerinde farklılıklar olabilmektedir. Ancak TGK Peynir Tebliği'ne göre Tulum peynirinde nem miktarı en çok %45, salamurada olgunlaştırılan peynirlerde ise nem miktarı en çok %60 ve Tulum peynirinde kurumaddede tuz miktarı en çok %5, salamurada olgunlaştırılan peynirlerde ise kurumaddede tuz miktarı en çok %7,5 olarak net bir şekilde belirlenmiştir (Anonim 2015).

Akın ve Ayar (2000) Konya piyasasında satışa sunulan 25 adet Tulum peyniri örneğini kimyasal açıdan incelemişlerdir. Analiz sonucunda kimyasal bileşimlerin ortalama değerleri; kurumadde %48-61; yağ %20-31; protein %15-25; tuz %4,9-5,8; kül %7,20-7,49 ve titrasyon asitliği (%laktik asit cinsinden) 1,75-2,28 olarak belirlemişlerdir. Üretimde kullanılan süt ve ambalaj materyalinin farklılığından kaynaklı peynirlerin

kimyasal bileşimlerinde dikkate değer değişkenliklerin olduğuna dikkati çekmişlerdir. Peynirlerin %kurumadde miktarları ve asitlik değerleri dışında analiz edilen diğer kimyasal özelliklerinin TS-3001 Tulum peyniri standardında belirtilen kriterlerle uyum içerisinde olduğu rapor edilmiştir.

Ateş ve Patır (2001) yaptıkları bir çalışmalarında, çiğ süt ve farklı starter kültür kombinasyonları kullanarak pastörize süttten Tulum peyniri üretimi gerçekleştirmişler ve söz konusu örnekleri kimyasal açıdan incelemişlerdir. Peynir örneklerinin tamamında asitlik miktarının olgunlaşmanın sonuna kadar sürekli olarak artarak 90. günde en yüksek düzeye ulaştığı, pH değerlerinin ise olgunlaşma boyunca sürekli azaldığı bildirilmiştir. Örneklerdeki nem miktarlarının olgunlaşmanın başlangıcından itibaren sürekli olarak azaldığı, tuz miktarlarının ise olgunlaşma süresince yükseldiği rapor edilmiştir.

Kılıç vd. (2002) tarafından yapılan bir araştırmada pastörize keçi sütünden Çimi peyniri üretimi yapılarak 90 gün olgunlaştırmaya tabi tutulmuş ve ortalama %kurumadde 61,23; %tuz 5,72; %kurumadde tuz 9,38, %yağ 27,29; %kurumaddede yağ 44,54; %protein 24,81; °SH 61,77; pH 4,99 değerinde olduğu rapor edilmiştir.

Güler ve Uraz (2003) Ankara piyasasında farklı süpermarketlerden temin ettikleri 20 adet Tulum peyniri üzerinde çalışmışlardır. Peynirlerin toplam kurumadde değeri %57,62; titre edilebilir asitlik %2,69; pH değeri 4,57; kurumaddede yağ %51,64; kurumaddede tuz % 7,27 olarak belirlemişlerdir. Peynir örneklerinde; toplam azot (TN) %3,34; suda çözünen azot (SÇA) %0,59; olgunlaşma indeksi %17,73; tirozin değeri %1,17 mg/g; asit derecesi değeri 8,01 mgKOH/g; uçucu yağ asitleri 31,55 ml 0.1 N NaOH/100 g olarak belirlemişlerdir. Ayrıca, peynirlerin ortalama serbest yağ asitleri içeriği (mg/kg peynir)'ne bakıldığında bütirik asit 750; kaproik asit 625; kaprilik asit 733; kaprik asit 1846, laurik asit 1536; miristik asit 2717; palmitik asit 5608; stearik asit 2210; oleik asit 4999 ve toplam serbest yağ asidi 21027 olarak rapor etmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre örneklerde büyük farklılıklar olduğunu belirten araştırmacılar, bulunan sonuçların da Türk Standartları Enstitüsü Tulum peyniri Standartı, TS 3001'e uymadığını ifade etmişlerdir.

Güler (2004) tarafından yapılan bir çalışmada Ankara piyasasından temin edilen ve en az üç ay olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde sentetik kılıfların aroma ve lipoliz üzerine etkisi araştırılarak bulgular keçi derisinde ambalajlanmış Tulum peynirleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmada örnekler arasında lipoliz oranı bakımından büyük bir varyasyonun olduğu ve Tulum peyniri aroma profilinde kaprik asidin en önemli yağ asidi olduğu ifade edilmiştir.

Yılmaz vd. (2005) Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırmışlardır. Mikrobiyal lipazın peynirlerde toplam kurumadde, tuz, yağ, toplam nitrojen, pH ve titrasyon asitliği değerlerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığını ancak, asitlik indeksinin (mgKOHgyağ^{-1}) kontrol örneğe göre daha yüksek olduğunun dikkati çektiğini bildirmişlerdir. Mikrobiyal lipaz eklenen peynir örneklerinde uzun zincirli yağ asitlerinin baskın olduğunu ve en fazla palmitik asit ($\text{C}_{16:0}$), oleik asit ($\text{C}_{18:1}$) ve miristik asit ($\text{C}_{14:0}$) bulunduğunu belirtmişlerdir.

Koçak vd. (2005) Ankara piyasasında satışa sunulan 42 adet Tulum peynirinin proteoliz düzeylerini incelemişlerdir. Tulum peynirlerine ait TN, SÇA, %12 TCA da çözünen azot, proteoz-pepton azotu ve fosfotungustik asitte çözünen azotun ortalama miktarlarını sırasıyla %3,416, %0,598, %0,444, %0,155 ve %0,239 olarak belirlemişlerdir.

Hayaloğlu vd. (2007a) çiğ koyun sütünden üretilen Erzincan Tulum peynirini plastik ve deri tulumunda 150 gün olgunlaştırmaya tabi tutarak olgunlaştırmada kullanılan farklı ambalaj materyallerinin peynirin kimyasal özelliklerine olan etkisini incelemişlerdir. Peynirlerin aroma bileşenlerinin aynı olduğunu konsantrasyonlarının ise farklı olduğunu belirlemişler ve ambalajlama materyalinin peynirlerde proteinlerin parçalanması üzerine önemli bir etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca tulumda olgunlaştırılan peynirlerde bir dizi farklı uçucu bileşen analiz ettiklerini belirtmişler ve bu duruma tulumun nem ve hava geçirgenliğinin neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Karagözlü vd. (2009) keçi sütü kullanılarak üretilen bazı Çimi Tulum peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresi boyunca kimyasal bileşimlerini incelemişlerdir. Çimi Tulum peynirinin toplam kurumadde içeriği %57,73; yağ miktarı %30,01; tuz içeriği %3,51;

protein miktarı %22,27; SÇA miktarı %2,92 ve laktik asit içeriği %1,75 olarak belirlenmiştir. Peynirlerin olgunlaşma süresi boyunca toplam kurumadde, yağ, tuz, protein, SÇA ve serbest yağ asitleri içeriğinin arttığı dikkati çekmiştir. Aynı süre zarfında toplam kurumadde içerisinde bulunan yağ ve tuz oranının ise azaldığı rapor edilmiştir. Bu peynirlerin yağ asitleri bileşimi (%) 90 günlük olgunlaşma sonunda belirlenmiştir ve ilk sırayı %31,73 ile oleik asit alırken, onu %24,19 ile palmitik asit ve %13,19 ile stearik asidin izlediği ifade edilmiştir.

Koca (2009) İzmir Piyasasında satışa sunulan ve inek sütü kullanılarak üretilen 20 adet İzmir Teneke Tulum peynirlerinin kimyasal özelliklerini incelemiştir. Yapılan analiz sonucunda İzmir Teneke Tulum peynir örneklerinin kurumadde oranı %49,92-53,84, kurumaddede yağ oranı %39,81-56,06, kurumaddede tuz oranı %3,54-9,41, protein oranı %19,14-25,56, titrasyon asitliği %0,31-1,22 süt asidi, pH 4,75-5,43 arasında bulunmuştur.

Dinkçi vd. (2012) Kargı piyasasında satışa sunulan 6 Tulum peynirinin kimyasal özellikleri üzerine araştırma yapmışlardır. Peynir örneklerinin kurumaddesi %61,91 ile %70,34 değerleri arasında değişmektedir. Yağ oranları %17,83 ile %22,83 arasında belirlenmiştir. Peynir örneklerinin kurumadde ve yağ oranlarında dikkate değer bir farklılık olduğu bunun da yaz aylarında üretim yapan üreticilerin standart bir yöntem kullanmaması ve değişik kaynaklardan elde edilen sütün farklı oranlarda karıştırılıp kullanılması sonucu olabileceği belirtilmektedir. Peynir örneklerinin protein miktarları %20,81–%22,09 arasında, tuz miktarları ise %4,37 ve %4,21 arasında değişkenlik göstermektedir. Örneklerin laktik asit cinsinden titre edilebilir asitlik değerlerine bakıldığında en yüksek ve en düşük asitlik değerinin %0,79 ve %0,44 olduğu görülmektedir. Söz konusu farklılığın streptokok, laktobasil ve toplam bakteri sayıları ile doğru orantılı bir şekilde olduğu ifade edilmektedir. Bakteri sayısı ve asitlik değerlerindeki farklılığın temelinde üretimde kullanılan çiğ sütün mikroflorasından kaynaklandığı belirtilmektedir. Peynir örneklerinin TN değerlerinin %3,26 ile %3,46 arasında olduğu belirtilmektedir. Kargı Tulum peyniri örneklerinin olgunlaşma indeksi değerlerinin %6,95 ila %24,97 arasında değiştiği belirtilmektedir. Suda çözünen azot değerlerinde gözlemlenen farklılıkların doğal olarak olgunlaşma indeksinde de görüldüğü

ifade edilmektedir. Peynirlerin farklı olgunlaşma düzeylerinde olmasının söz konusu analiz sonuçlarına da yansıtıldığı bir göstergesi olarak belirtilmektedir.

Hayaloğlu ve Karabulut (2013a) yaptıkları bir çalışma kapsamında peynir çeşitleri içerisinde yer alan 8 adet Divle Tulum peynirinin kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Peynir örneklerinin pH değerleri 5,03-6,20; toplam kurumadde %66,62-%56,52; tuz miktarı %3,13-%1,73; kurumaddede tuz miktarı %5,26-%2,59; yağ miktarı %28,50-%22,25; kurumaddede yağ miktarı %47,56-%39,36; toplam protein %35,63-%24,73 değerleri arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Ayrıca peynir örneklerinde; ortalama SÇA değerinin $21,47 \pm 4,16$, %12'lik TCA'da çözünen azot değerinin $12,29 \pm 2,54$ ve %5'lik fosfotungustik asitte çözünen azot (PTA-SN) değerinin $2,72 \pm 0,55$ arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir.

Kara ve Akkaya (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, Afyonkarahisar ilinde üretilen ve satışa sunulan 25 adet Afyon Tulum peyniri'nin fizikokimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Fizikokimyasal analizlerde kurumadde, yağ, protein, kül, tuz, asitlik (% LA), pH ve aw değerleri sırasıyla ortalama %53,69; %25,68; %22,48; %4,62; %4,02; %0,51; 5,27 ve 0,85 olarak saptanmıştır. Sonuç olarak kimyasal analiz bulgularına göre Afyon Tulum peynirlerinde farklılıkların dikkati çektiği belirtilerek üretimde bir standartlaşmaya gidilmesinin önemini vurgulamışlardır.

Öztürkoğlu-Budak vd. (2016) Divle Tulum peynirinde üretim ve olgunlaşma aşamalarında uçucu bileşenlerin oluşumunu inceleyerek asit, alkol, keton, ester ve terpen gibi 110 bileşenin varlığını ortaya çıkarmışlardır. Araştırmacılar, bu bileşiklerin varlığının ve konsantrasyonlarının üretim ve olgunlaşma aşamalarında farklılık gösterdiğini ve farklı üreticiler tarafından yapılan peynirlerde bu özelliklerde az da olsa farklılık olduğunu belirlemişlerdir. Çalışmanın bulguları peynirde ayrıca tespit edilen en büyük grubun karboksilik asitler olduğunu ve asit ve ketonların bağıl oranının olgunlaşmanın 90. gününe kadar arttığını, alkol düzeylerinin ise olgunlaşmanın ilk 30 gününde önemli ölçüde arttığını göstermektedir. Eterler ise olgunlaşmanın sonuna kadar hacim olarak artmaya devam etmekte ve araştırmacılar 2-bütanol, 2-bütanon, 2-heptanon,

etil bütanoat, α pinen ve toluenin peynirin karakteristik aromasına muhtemelen en fazla katkıda bulunan bileşikler olduğunu bildirmektedir.

Akpınar vd. (2017) yapmış oldukları bir araştırmada, İzmir Tulum peynirinin fiziksel, kimyasal ve aroma bileşenlerini içeren bazı özelliklerini incelemişlerdir. Analize alınan toplam 37 adet peynirin 21 adeti inek sütünden, 16 adeti ise inek, koyun ve keçi sütü karışımından oluşmaktadır. İnek sütü kullanılarak üretilen 21 peynir örneğinin pH, titrasyon asitliği, kurumadde içeriği, yağ ve kurumaddede yağ, tuz ve kurumaddede tuz, TN, protein, SÇA, trikloroasetik asitte çözünen azot, proteoz-pepton azotu değerleri aralıkları aşağıdaki gibidir: pH 4,11-4,92; titrasyon asitliği %0,522-%1,408; kurumadde içeriği %49,920-%68,648; yağ %17,50-%30,50; kurumaddede yağ %35,06-%51,98; tuz %2,340-%4,563; kurumaddede tuz %3,75-%5,26; TN %3,29-%4,29; protein %20,99-%27,37; SÇA %0,47-%1,21; TCA'da çözünen azot %0,32-%0,91 değerleri olarak belirlenmiştir. Ayrıca, inek, koyun ve keçi sütü karışımlarından elde edilen toplam 16 peynir örneği için bu değerler sırasıyla aşağıdaki aralıklarda bulunmuştur: pH 4,01-4,75; titrasyon asitliği %0,86-%1,447; kurumadde içeriği %54,587-%71,854; yağ %24,00-%32,00; kurumaddede yağ %33,59-%52,71; tuz %1,872-%5,265; kurumaddede tuz %3,02-%9,65; TN %3,37-%4,31; protein %21,50-%27,50; SÇA %0,56-%1,29; TCA'da çözünen azot %0,34-%1,03; proteoz-pepton azotu %0,12-%0,60 ve aroma maddesi profillerinin İzmir Tulum peynirlerinde üretimde kullanılan süt çeşidi ve yöntemle bağlı olarak değiştiği belirtilmiştir.

Erdem ve Patır (2017), Elazığ ilinde tüketime sunulan 40 adet Tulum peynirini kimyasal açıdan incelemişlerdir. Yapılan kimyasal analizlerde ortalama pH değeri 5,10; asitlik (% laktik asit cinsinden) %1,80; kurumadde %54,94; yağ %27,35; kurumaddede yağ %49,09; kül %3,37; aw 0,93; tuz %3,29 olarak bulunmuştur.

Tekin ve Güler (2019), çiğ koyun sütü ile üretilen Tulum peynirlerinde olgunlaştırma materyalinin peynirlerin glikoliz, lipoliz ve proteoliz özellikleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada keçi derisi ve plastik ambalaj materyalinde olgunlaştırılan peynirlerin kimyasal bileşim, organik asit, serbest yağ asidi ve serbest amino asit bakımından önemli farklılıklar olduğunu belirlemişlerdir. Keçi derisinde

olgunlaştırılan peynirlerin protein, yağ ve tuz miktarları plastik ambalaj kullanılanlar olarak olgunlaştırılan peynirlerden daha yüksek, nem oranının ise daha düşük olduğu bildirilmiştir. Olgunlaşma süresince 90 ve 180 gün keçi derisinde olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde toplam organik asit ve toplam serbest yağ asidi miktarı plastik ambalajda olgunlaştırılan peynirlerden daha yüksek, toplam serbest aminoasit içeriğinin ise daha düşük olduğu belirtilmiştir. Olgunlaşmanın sonu olan 270. günde ise olgunlaştırma materyalinin toplam serbest yağ asitleri içeriği, toplam organik asit ve toplam serbest aminoasit üzerinde önemli bir etki göstermediği bildirilmiştir.

Evren ve Şıvgın (2021) yaptıkları bir araştırmada, Samsun piyasasında deri ve plastik bidonda satışa sunulan Tulum peynirlerinin kalite özellikleri üzerine çalışmalarda bulunmuşlardır. Bu kapsamda, 35 adet deri Tulum peyniri ve 28 adet plastik bidon Tulum peynirinde fiziksel ve kimyasal açıdan incelemelerde bulunmuşlardır. Yapılan çalışma sonucunda kurumadde açısından deri Tulum peynir örneklerinin 16 adetinin (%46), plastik bidon Tulum peyniri örneklerinin ise 5 adetinin (%18) TGK Peynir Tebliğine uygun bulunduğu belirlenmiştir. Peynir örnekleri yağ miktarı yönünden TGK Peynir Tebliği kapsamında değerlendirmeye alındığında deri Tulum peynir örneklerinin 9 adedi (%26) yarım yağlı, 26 adedi (%74) az yağlı, plastik bidon Tulum peyniri örneklerinin ise tamamı (%100) az yağlı peynir grubunda sınıflandırılmıştır. Tuz miktarına göre yapılan değerlendirmede, 3 adet deri Tulum peyniri sınır değer üzerinde yer almıştır (%9). Analiz sonuçlarına göre yapılan genel değerlendirmede deri ve plastik olmak üzere farklı ambalaj materyali kullanılan peynirlerin fiziksel ve kimyasal açıdan dikkate değer farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Üretimde hem standart bir yöntem kullanılmaması hem de farklı ambalaj materyalleri kullanımı sonucu yapılan analizlerde farklılıklar olduğu ve Tulum peyniri üretiminde güvenilir gıda tüketimi için bir üretim standardının olması gerektiği vurgulanmıştır.

Rençber ve Çelik (2021), oğlak derisi ve plastik olmak üzere iki farklı ambalaj materyalinde olgunlaştırılan Muş Tulum peynirini kimyasal açıdan incelemiştir. Çalışmada çiğ koyun sütü kullanılmış ve peynir örnekleri 6 ± 2 °C'de 4 ay süre ile olgunlaştırılmıştır. Deri tulumda olgunlaştırılan peynirin ortalama kurumadde oranı, yağ miktarı, KM'de yağ, protein, kül, tuz ve KM'de tuz miktarları sırasıyla; %68,84; %35,61;

%51,76; %26,41; %6,38; %5,12; %7,43 olarak belirlenmiştir. Plastik materyal kullanılarak olgunlaştırılan Muş Tulum peynirinde ise yine aynı kimyasal analizler yapılmış ve sonuçları sırasıyla; %60,05; %33,38; %55,60; %22,39; %3,77; %2,96; %4,97 olarak belirlenmiştir. Deri tulumunda olgunlaştırılan peynirin ortalama kurumaddesi ve yağ oranı plastik ambalaj materyali kullanılan peynire oranla daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca, plastik materyal kullanılan peynirin KM'de yağ oranı deri tulumu kullanılan peynire göre daha yüksek bulunmuştur. Deri tulumda olgunlaştırılan peynirin tuz oranı plastik ambalaj materyalinde olgunlaştırılana göre daha yüksek bulunmuştur. Protein ve kül içerikleri bakımından da deri tulumunda olgunlaştırılan peynirlerin sahip olduğu değerlerin plastik materyale göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Plastik materyalde olgunlaştırılan peynir örneğinin lipoliz seviyesi, deri tulumda olgunlaştırılan peynire oranla daha yüksek bulunmuştur. Deri tulumda olgunlaştırılan peynirin TCA-SN oranı plastik materyalde olgunlaştırılan peynire göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca her iki ambalaj materyali kullanılarak olgunlaştırılan peynir örneklerinin pH 4,6'da çözünen azot oranlarının birbirine yakın bulunduğu ifade edilmiştir.

Tekin ve Güler (2021), çiğ koyun sütü kullanılarak üretilen ve 270 gün boyunca olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde olgunlaştırma materyalinin (keçi tulumu ve plastik materyal) Tulum peynirlerinin uçucu profili üzerine olan etkisini incelemiştir. Peynirlerin uçucu fraksiyonlarında bütirik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, etanol, etil asetat, etil bütanoat, etil hekzanoat, 2-bütanol, 2-bütanon ve 2-heptanonun baskın bileşikler olduğu bildirilmiştir. Peynirlerin olgunlaşmasının ilk 180 gününde en fazla etanol bulunurken 270 gün olgunlaşmada keçi tulumu kullanılan peynirlerde 2-heptanon, plastik materyalde olgunlaştırılan peynirlerde ise 2-bütanol ve 2-bütanonun baskın bileşikler olduğu belirtilmiştir.

Atalay (2023), İzmir Tulum peyniri üretiminde dolmuş salamurasında şarap posası kullanarak yaptığı araştırmasında peynir örnekleri 180 gün boyunca olgunlaştırılarak salamurada kullanılan posaların aroma bileşenleri, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarları üzerine olan etkisini araştırmıştır. Suda çözünen azot ve %12'lik TCA'da çözünen azot değerleri incelendiğinde peynir örneklerinde proteolizin hızlı bir şekilde arttığı ve salamurasında beyaz şarap posası bulunan peynir örneğinde olgunlaşma

süresi sonunda en yüksek değere ulaştığı tespit edilmiştir. Fenolik madde miktarı salamurasında beyaz şarap posası bulunan peynir örneğinde daha yüksek değerlerde saptanmıştır. Peynirlerde olgunlaşma boyunca serbest yağ asitleri kompozisyonunda bütirik asit miktarının diğerlerinden daha yüksek düzeyde bulunduğu ayrıca aroma bileşenleri kapsamında 41 uçucu bileşen tespit edildiği bildirilmiştir.

2.3.2 Tulum peynirinin mikrobiyolojik özellikleri

Peynir üretiminde kullanılan sütün mikrobiyolojik özelliği, süte uygulanan ısı işlem, üretimde kullanılan starter kültürler, üretim sırası ve sonrasında olası kontaminasyonlar ve depolama koşulları peynirin mikrobiyal kalitesini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (Little vd. 2008, Litopoulou-Tzanetaki ve Tzanetakis 2011, Tekinşen ve Akar 2017).

TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne (Anonim 2011a) göre tüm peynirlerin (eritme peyniri hariç) 25 g'ında *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes* bulunmamalı; koagulaz pozitif Stafilokokların ise maksimum 10^3 kob/g düzeyinde bulunmasına izin verilmektedir. Ayrıca, starter kültür kullanılarak veya kullanılmadan üretilen peynirlerde toplam mezofilik canlı bakteri sayımının yapılmasına sütte doğal olarak bulunan bakterilerin üremesi nedeniyle gerek görülmemiştir. Yine aynı yönetmelikte peynirlerdeki *E. coli* bakteri sayısı hususunda herhangi bir sınırlama bulunmazken, "ısı işlem uygulanmış süt veya peyniraltı suyundan üretilen peynirler"de incelenen 5 örnekten (n) ikisinde (c) izin verilen maksimum (M) *E. coli* sayısı 10^3 kob/g şeklinde sınırlandırılmıştır.

Kılıç vd. (2002) yaptıkları bir araştırmalarında üretimde pastörize keçi sütü kullanarak Çimi peyniri üretmişler ve 90 gün olgunlaştırmaya tabi tutmuşlardır. Olgunlaştırma süreci sonunda yapılan mikrobiyolojik analizlerde patojen mikroorganizma bulunmadığı tespit edilmiştir. Koliform grubu bakteriler olgunlaşmanın ilk günlerinde peynirlerde $7,1 \times 10^3$ adet/g iken 60. günde $6,1 \times 10^2$ adet/g'a düşmüştür. Üretim esnasında hijyen ve sanitasyon koşullarına dikkat edildiğinden 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda patojen bakteri

tespitinin yapılamadığı ve saprofit mikroorganizma sayısının 10^2 adet/g düzeyinde tespit edildiği bildirilmiştir.

Öner vd. (2005) yapmış oldukları bir araştırmada starter kültür kullanımı ile Tulum peyniri üretmişler ve kültür kullanımının peynir kalitesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Ayrıca elde edilen veriler ışığında Tulum peyniri üretimi için uygun starter kültür karışımını belirlemeye çalışmışlardır. Söz konusu araştırmada starter kültür olarak *Lactobacillus plantarum* 1, *Lactobacillus plantarum* 48, *Lactococcus lactis* 57, *Enterococcus faecalis* 40'ın farklı oranlardaki karışımlarını kullanarak çiğ süttten peynir üretimi yapmışlardır. Peynirlerin 90 günlük olgunlaşma süreciyle toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını 7,25-7,97 log kob/g; laktobasil 7,32-7,5 log kob/g; laktokok 7,71-8,15 log kob/g; koliform 1,73-5,02 log kob/g; *S. aureus* < 10-2,35 log kob/g; enterokok 6,71-7,38 log kob/g; psikrofilik mikroorganizma < 10 log kob/g; maya ve küf 4,22-5,49 log kob/g olarak belirlemişlerdir.

Ceylan vd. (2007) yapmış oldukları bir araştırmada, geleneksel Tulum peyniri üretim yönteminde modifikasyon yaparak hem gıda güvenilirliğini sağlamaya çalışmışlar hem de üretim süresini 10-12 günden 2 güne kısaltmayı amaçlamışlardır. Yapılan çalışmada koyun sütü 65°C 30 dk pastörize edilmiş ve süte %0,5 oranında starter kültür ilavesiyle Tulum peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir. Peynirler deri, plastik ve seramik ambalajlarda 90 gün olgunlaştırılmaya bırakılmıştır. Olgunlaşma sürecinde belirli aralıklarla (2, 30, 60, 90 gün) peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda geleneksel yöntem ve modifiye yöntem kullanılarak üretilen peynirler arasında mikrobiyolojik açıdan önemli farklılıklar bulunmuştur. Araştırmacılar aynı zamanda deri ambalaj materyalinin fekal kontaminasyona yol açması ihtimaline karşın hijyenik koşullara uygun ambalaj materyalleri kullanımının araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Karagözlü vd. (2009) üretiminde keçi sütü kullanılan bazı Çimi Tulum peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresi boyunca mikrobiyolojik özelliklerini incelemişlerdir. Çimi peynirinde 8,361 log kob/g toplam bakteri tespit edilmiştir. Ayrıca, 7,301 log kob/g laktobasil; 7,278 log kob/g streptokok; 0,176 log kob/g enterokok; 5,716 log kob/g

koliform; 1,623 log kob/ g maya; psikrofilik grup için 7,000 log kob/g; lipolitik bakteriler için 7,000 log kob/g; stafilokok için 4,173 log kob/g tespit edilmiştir. Elde edilen veriler ışığında, tek başına keçi sütü kullanılarak geleneksel koşullarda standart bir ürün elde etmenin zorlukları anlaşılabilir olarak olası sağlık tehditleri gözlemlenmiş ve bu nedenle tüketilmesinin uygun bulunmadığı belirlenmiştir. Ancak söz konusu peynir tüketiciler tarafından sıklıkla tercih edildiği için standart endüstriyel üretim şartlarının belirlenmesi gerekliliği üzerinde durulmuştur.

Büyükyörük ve Soyutemiz (2010) yaptıkları bir çalışmada starter kültür ilave etmeden geleneksel yöntemle üretilmiş İzmir Tulum peynirinden *Lactococcus* cinsine ait starter bakterilerin izolasyonunu birtakım fenotipik testler ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) kullanarak yapmaya çalışmışlardır. Bu amaçla, Aydın İli ve çevresinden elde edilen 90 adet peynir örneğinden tipik özellik gösteren kolonileri saflaştırmışlar ve uygulanan biyokimyasal testler sonucunda elde edilen izolatlardan 36 tanesinin fenotipik değerlendirmeler sonucunda pozitif sonuç verdiğini bildirmişlerdir. Ancak uygulanan PZR tekniğinden sonra 90 izolatın ancak 29 tanesinin (%32,8) *Lc. lactis spp. lactis* ve *Lc. lactis spp. cremoris* açısından pozitif olduğunu saptamışlardır.

İşleyici vd. (2011) yaptıkları bir araştırmada Karaman ve Konya illerinde halk pazarları ve marketlerde satışa sunulan 55 adet Divle Tulum peynirinin Aflatoksin M1 (AFM1) yönünden analizlerini yapmışlardır. Analize alınan tüm peynir örneklerinin Türk Gıda Kodeksi'nde peynirler için verilen maksimum değerin (500 ng/kg) altında AFM1 içerdiğini belirterek halk sağlığı açısından bir tehdit oluşturmadığını raporlamışlardır.

Dinkçi vd. (2012) Kargı piyasasında satışa sunulan 6 Tulum peynirini mikrobiyolojik yönden incelemişlerdir. Tulum peynirlerinin streptokok sayısının 6,95–7,51 log kob/g; laktobasil sayısının 7,19–7,56 log kob/g; maya-küf miktarının da 5,54–7,24 log kob/g arasında değişim gösterdiği rapor edilmiştir. Üretim yöntemindeki farklılıklar ve üretimde kullanılan çiğ sütün özelliklerinin peynirin mikrobiyal yapısını etkilediği belirtilmiştir.

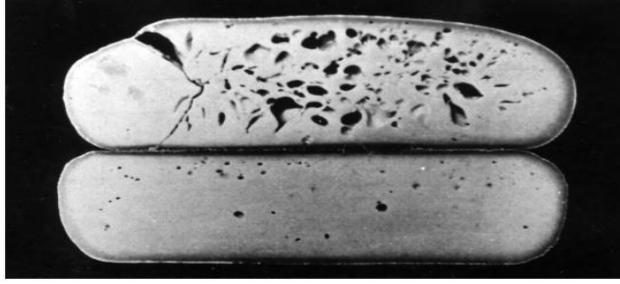
Kara ve Akkaya (2015) tarafından yapılan çalışmada, Afyonkarahisar ilinde üretilen ve satışa sunulan 25 adet Afyon Tulum peyniri'nin mikrobiyolojik özellikleri ile peynirde bulunan laktik asit bakterilerini araştırmışlardır. Toplam aerob mezofilik bakteri, MRS Agarda üreyen laktik asit bakterileri, *Lactococcus* spp., *Enterobacteriaceae*, koliform, *E. coli*, enterokok, mikrokok/stafilokok, maya/küf, proteolitik bakteri, lipolitik bakteri ve psikrofilik bakteri sayıları ortalama olarak sırasıyla 6,60; 6,36; 5,72; 2,19; 1,23; 0,65; 2,08; 2,91; 2,75; 2,55; 2,94 ve 3,92 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Afyon Tulum peyniri örneklerinden %53,01 *Lactobacillus* spp., %12,04 *Lactococcus* spp., %8,43 *Leuconostoc* spp., %1,20 *Pediococcus* spp. ve %25,30 *Enterococcus* spp. izole edilmiştir. En yüksek olarak %15,66 oranında *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* tanımlaması yapılmıştır. Üretimde standart bir yöntem uygulanmamasından ötürü örneklerde mikrobiyolojik açıdan önemli farklılıklar gözlemlendiği belirtilmiştir.

Rençber ve Çelik (2021) oğlak derisi ve plastik ambalaj materyalinde olgunlaştırılan Muş Tulum peynirini mikrobiyolojik açıdan incelemişlerdir. Çalışmada çiğ koyun sütü kullanılarak peynir üretimi yapılmış ve örnekler $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 4 ay süre ile olgunlaştırılmıştır. Deri tulum kullanılan peynirde LAB ve koliform grubu bakteri sayıları, plastik materyalde olgunlaştırılan peynire göre daha yüksek, maya-küf sayısı ise daha düşük olarak belirlenmiştir. Koliform grubu bakteri sayısının her iki ambalaj materyalinde olgunlaştırılan peynirlerde depolamanın 4. ayında önemli bir azalma gösterdiği belirlenmiştir.

Atalay (2023) tarafından, üzüm posası içerisinde olgunlaştırmanın İzmir Tulum peynirinin mikrobiyolojik özelliklerine olan etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada peynir örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısının 9,02 log kob/g- 8,46 log kob/g olarak, toplam maya küf sayısının ise 4,67 log kob/g-4,94 log kob/g arasında değişim gösterdiği bildirilmiştir. Peynir örneklerinde belirlenen toplam canlı bakteri değerlerindeki yüksekliğin üretimde kullanılan sütün çeşidi ve mikrobiyal yükünden olgunlaşma salamurasında kullanılan üzüm posalarına kadar farklı faktörlerden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir.

2.4 Peynirlerde Görülen Geç Şişme

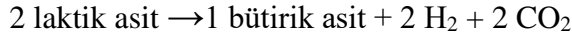
Gouda, Edam (Klijn vd. 1995), Emmental, Provolone (Cocolin vd. 2004, Bassi vd. 2015), Kaşar, Tulum gibi çeşitli yarı sert ve sert peynirlerde yine benzer şekilde salamurada tuzlanan peynir çeşitlerinde görülen depolamanın ilerlemesini takiben anormal şekilde şişme, yarık, çatlak ve istenmeyen tat-aroma bozuklukları olarak bilinen geç şişme olayı peynir üretiminde ciddi problemler çıkartmaktadır (Şekil 2.3). Üreticiler için ekonomik kaybın yanında halk sağlığını da tehdit etmektedir. Araştırmacılar geç şişmeye neden olan bakterilerin *Clostridium* cinsi Gram pozitif, sporlu ve anaerob mikroorganizmalar olduğunu belirlemişlerdir.



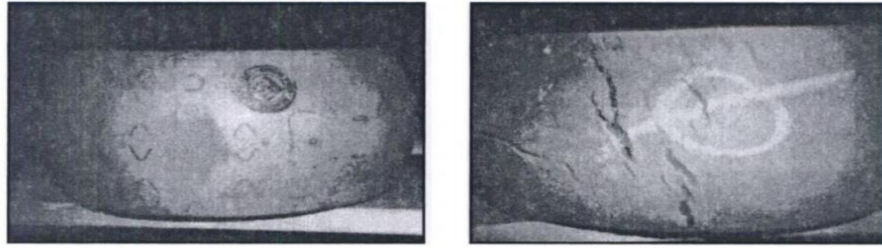
Şekil 2.3 Gouda peynirinde geç şişmeye bağlı oluşan gözenekli yapı (Driehuis vd. 2003)

Çoğu türü zorunlu anaerob olmasına rağmen oksijene toleransları büyük ölçüde değişen *Clostridium* cinsi mikroorganizmalar enerjilerini genellikle karbonhidratlar ve proteinler gibi organik bileşiklerin fermantasyonundan sağlamaktadır. Karbonhidratları fermente eden sakkarolitik clostridiumlar, silajdan düzenli olarak izole edilen türler olan *C. tyrobutyricum* ve *C. butyricum*'u içermektedir. Geçmişten günümüze yapılan çalışmaların çoğunda, silajda bulunan ve çiğ süte bulaşan *Clostridium*'ların peynirde geç şişmeyle ilgili problemlerde direkt olarak etkili olduğu raporlanmıştır (Gibson 1965, Goudkov ve Sharpe 1965, Bottazzi vd. 1993, Lycken ve Borch 2006, Garde vd. 2011, Reindl vd. 2014, Driehuis vd. 2016). Ayrıca silajda bulunan *Clostridium* cinsi bakteriler sütün kalitesini bozar. Bunun nedeni, klostridial sporların bir süt ineğinin sindirim sisteminden geçişte hayatta kalabilmesidir. Silajda bulunan klostridial sporlar, dışkı ve memenin fekal kontaminasyonu yoluyla süte aktarılır. Aside toleranslı *C. tyrobutyricum*, süt endüstrisi için en problem oluşturan türdür. Karbonhidrat fermentasyonuna ek olarak *C.*

tyrobutyricum, aşağıdaki genel reaksiyona göre laktik asidi (CH₃CHOH-COOH) bütirik asit (CH₃CH₂CH₂-COOH), H₂ ve CO₂'ye indirgeyebilir: *Clostridium* bakterilerinin çoğu bütirik asitten başta bütanol, etanol, aseton ve izopropanol üretirler (Elferink vd. 2000).

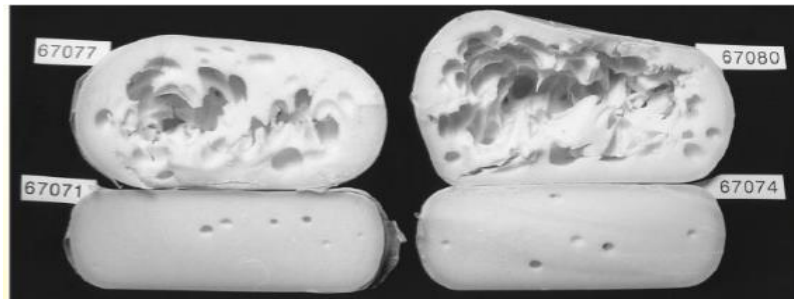


Bütirik asit fermantasyonu silaj ve peynirlerdeki sadece laktik asit fermantasyonunu engellemekle kalmaz, aynı zamanda Emmental, Grana, Gouda ve Parmesan gibi sert ve yarı sert peynirlerde "geç şişme" denilen peynir kusuruna neden olan önemli bir gaz üretiminden de sorumludur (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Grana peynirinde geç şişmeye bağlı oluşan gözenekli yapı (Losso vd. 2000)

Clostridial gelişme ve akabinde karbonhidrat fermantasyonu sonucu, peynirlerin iç kısmında büyük hasarlı dokular meydana gelerek, gaz üretimi sonucu peynirde çatlak, yarık ve gözenekli yapıya neden olmaktadır (Şekil 2.5). Ayrıca bütirik asitten dolayı peynirde hoş olmayan koku da meydana gelmektedir (Elferink vd. 2000).



Şekil 2.5 *C. tyrobutyricum* gelişime bağlı oluşan gözenekli yapı (Klijn vd. 1995)

Bottazzi vd. (1993), Grana peynirinde yaptıkları bir araştırmada, sütte uygulanan ısıl işlem sonrası rennin enzimi ilavesi akabinde ilk 20-30 saat içerisinde *C. tyrobutyricum* sporlarının yeniden vejetatif forma geçerek bütirik asit fermentasyonunu başlattığını ve peynirde geç şişme probleminin meydana geldiğini bildirmişlerdir. Ancak, peynir üretiminde lizozim enzimi ilavesi sonucu söz konusu enzimin vejetatif hücreler üzerindeki litik etkisi sonucu, olgunlaşma periyodunda adı geçen mikroorganizmanın ne sporlarının ne de vejetatif hücrelerinin saptanmadığını ifade etmişlerdir. Bottazzi ve arkadaşları, peynir üretiminde kullanılan lizozimin üretimin ilk saatlerinde aktif olduğunu ve tüm olgunlaşma süresi boyunca biyolojik olarak aktif olmayan antiklostridik ajan olarak kabul edilmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Lycken ve Borch (2006) yaptıkları araştırmalarında, peynir üretimi yapan bir fabrikada normal kalite kontrol işlemi sırasında 37 °C'de 1 hafta depolamada bozulmuş olan 42 adet peynir örneğinde spor oluşturan bakterileri izole etmek, tanımlamak ve karakterize etmeyi amaçlamışlardır. Yapılan çalışmada, peynir örneklerindeki tipik bozulma belirtilerinin gaz üretimi ve kötü koku olduğu ifade edilerek 35 adet peynirde *Clostridium* spp. izole ettiklerini bildirmişlerdir. Bakterilerin tanımlanması sonucunda söz konusu izolatların *Clostridium sporogenes*, *Clostridium cochlearium* ve *Clostridium tyrobutyricum* olduğunu rapor etmişlerdir.

Garde vd. (2011) bazı Manchego peynir fabrikalarında zaman zaman *Clostridium* varlığına bağlı geç şişme kusurunun tespit edilmesi ve peynir üretiminde önemli kayıplara neden olmasından dolayı Manchego koyun ırkından elde edilen sütte clostridial sporların oluşumunu araştırmak ve İspanyol peynirleri arasında en iyi bilinen Manchego peynirinde geç şişme problemine neden olan *Clostridium* cinsi bakterileri tanımlamak ve karakterize etmek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. Laktat fermente eden klostridial sporların varlığını tespit etmek amacıyla 55 fabrikadan bir yıl boyunca toplanan 194 çiğ koyun sütü numunesinde ve geç şişme kusurlu 57 Manchego peynirinde araştırma yapıldı. Analiz edilen süt numunelerinin %97'sinde spor tespit edildiği ve özellikle yaz aylarında üretilen sütlerde daha yüksek sayımlara ulaşıldığı ve en fazla geç şişme kusurlu peynirin yaz aylarında üretilen Manchego peynirlerinde tespit edildiği belirtilmiştir. Söz konusu kusurlu peynirlerden elde edilen 223 izolat sırasıyla %78,9; %10,3; %9,0 ve %1,8'i

Clostridium sporogenes, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium tyrobutyricum* ve *Clostridium butyricum* olarak tanımlanmıştır. Dört *Clostridium* tipi suşun, nisin A ve nisin Z'ye karşı yüksek bir hassasiyet göstermesi nedeniyle nisin üreten LAB, Manchego peynirinde geç şişme kusurunu önlemek için en iyi seçim olarak düşünüldüğü belirtilmektedir.

Garde vd. (2012) bir yıl boyunca 17 fabrikadan geç şişme kusurlu 45 Manchego peynir örneğini toplayarak, 223 *Clostridium* cinsi bakteri izolasyonu yapmışlar ve tanımlamada PFGE (Pulsed field gel electrophoresis) kullanmışlardır. Yapılan tanımlamada 23 *Clostridium beijerinckii*, 4 *Clostridium butyricum*, 176 *Clostridium sporogenes* ve 20 *Clostridium tyrobutyricum* oldukları rapor edilmiştir.

Reindl vd. (2014) yaptıkları bir araştırmada, Avusturya ve Bavyera'da (Almanya) 127 keçi sütü tedarikçisinden temin ettikleri slaj beslemesi yapılan 144 çiğ örnek ve slaj beslemesi yapılmayan 70 çiğ örnekte *Clostridium* sayımı yapmışlardır. Yapılan çalışmada silajlı ve silajsız yem kullanan tedarikçilerden temin edilen sütlerde clostridial çiğ süt mikrobiyotasında belirgin farklılıklar belirlendi. Çiğ sütlerde en sık rastlanan 2 tür olan *C. tyrobutyricum* ve *C. sporogenes* silaj besleyen tedarikçilerin örneklerinden elde edilen 288 izolatin %84,7'sini oluşturduğu belirtildi. Buna karşılık, silaj beslemesi yapmayan tedarikçilerden alınan örneklerde, bu türler 54 izolatin sadece %46,3'ünde tespit edilmiştir. Geç şişme kusuru için en önemli tür olan *C. tyrobutyricum*, silajlı ve silajsız yem kullanan tedarikçilerin süt örneklerinden elde edilen *Clostridium* izolatlarının sırasıyla %45,5 ve %13,0'ını temsil ettiği rapor edilmiştir. Çiğ süte bulaşan *Clostridium* sporlarının hayvan beslemede kullanılan silaj kaynaklı olabileceği ve bu sorunun önüne geçmek için silaj hijyeninin önem arz ettiği ifade edilmektedir.

Driehuis vd. (2016) yaptıkları bir çalışmada, Hollanda'da bulunan 24 süt çiftliğinden temin ettikleri 96 çiğ süt, 155 silaj örneği, 39 inek dışkısı örneği ve 6 toprak örneğinde bütirik asit bakteri sporları tespit etmişlerdir. *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium beijerinckii* ve *Paenibacillus* spp. olmak üzere üç ana popülasyon tespit edildi. Araştırma sonuçları, üç spor popülasyonunun aynı kaynakları ve sütün aynı kontaminasyon yolunu paylaştığını göstermektedir. *Clostridium* türlerinin aksine, *P. polymyxa* izolatlarının

laktatı bütirata fermente edemediği ve. *P. polymyxa* sporlarının peynir kusurlarına muhtemelen neden olmadığı ifade edilmektedir.

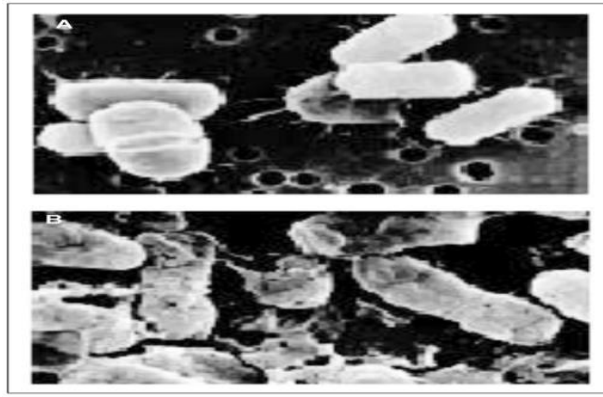
Turchi vd. (2016) yaptıkları bir araştırmada, İtalya'nın Toskana Bölgesinde yer alan Grosseto Eyaletinde 2014 sonbaharından 2015 yazına kadar 4 farklı koyundan toplanan 527 çiğ süt örneğinde en muhtemel sayım (MPN) yöntemini kullanarak *Clostridium* cinsi mikroorganizmaları izole etmeye çalışmışlardır. Analiz edilen 527 koyun sütü örneğinin %99'unda gaz üreten *Clostridium* cinsi bakteriler bulundu. PZR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) kullanarak yaptıkları çalışmada bu bakterilerin peynirde geç şişme problemine neden olan *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium beijerinckii*, *Clostridium sporogenes* ve *Clostridium perfringens* olduğunu rapor etmişlerdir. Mevsimler arasındaki değişkenlik ile ilgili olarak, sonbahar ve yaz aylarında toplanan numunelerin, kış ve ilkbaharda toplananlardan önemli ölçüde daha yüksek spora rastlanmıştır.

2.5 Geç Şişme Önleme Yöntemleri

Geç şişme ile mücadele yöntemlerine bakıldığında, ilk olarak ahırdaki hijyen ve silaja dikkat etmenin yanında kimyasal madde uygulaması gelmektedir. Süt geç şişme görülebilecek bir peynir çeşidine işlenecekse, hayvan beslemede çoğu zaman silaj yasaklanmıştır. Ayrıca, ahır ve besleme koşulları ile sağımda hijyen sütte *Clostridium* spor sayısını etkilediği için özellikle üzerinde durulmuştur (Zucali vd. 2015). Ucuz ve kolay bir yöntem olduğu için peynir üretiminde nitrat kullanımı birçok ülkede kullanılsa da peynirin olgunlaşması sırasında nitratın parçalanması sonucu nitritlerin oluşması ve besinlerle reaksiyona girerek kanserojen bir madde olan nitrozaminlere dönüşmesi nedeniyle uygulamada miktar sınırlamasına gidilmiştir.

Peynirde geç şişme olayını önlemek için ülkemizde sert, yarı sert ve yarı yumuşak peynirler ile peynir analoglarında sodyum nitrat (E-251) ve potasyum nitrat (E-252) kullanımına izin verilmekte ve süte ilave edilebilecek miktarın en fazla 150 mg/kg olabileceği belirtilmektedir (Anonim 2013).

Kimyasal koruyucu maddelerin insan sağlığı üzerinde istenmeyen etkileri nedeniyle tüketicilerin doğal koruma yöntemleri kullanılmış ürünlere olan ilgisi her geçen gün artmaktadır (Branen ve Davidson 2004, Tornuk vd. 2011, Aminlari vd. 2014, Cankurt ve Sağdıç 2019). Söz konusu yöntemler kapsamında geç şişme mücadele yöntemleri içinde baktofügasyon, membran filtrasyon sistemleri ve lizozim enziminin kullanımı yer almaktadır. Avrupa'da Edam ve Gouda peynirlerinde *C. tyrobutyricum* gelişiminin önlenerek geç şişme probleminin ortadan kaldırılması (Şekil 2.6) amacıyla 20-35 mg/lt oranında lizozim kullanılmaktadır (Davidson vd. 2005).



Şekil 2.6 Lizozimin *C. tyrobutyricum* üzerindeki litik aktivitesi (Aminlari vd. 2014)

A Lizozim ortamda mevcut değil, B Lizozim varlığında

Yapılan literatür çalışmalarında Clostridium türleri ve geç şişmeye neden olan *Clostridium* spor sayısının, farklı peynir türleri arasında önemli ölçüde değişebileceği bilinmektedir. Örneğin Grana peynirinde *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium butyricum* ve *Clostridium beijerinckii* tespit edilmiştir (Cocolin vd. 2004, Bassi vd. 2015). Benzer şekilde, *C. tyrobutyricum*, *C. beijerinckii* ve *C. sporogenes* bakterileri Emmental, Gruyere, Comte ve Beaufort peynirlerinde bulunmuştur (Le Bourhis vd. 2005). Ayrıca, *C. tyrobutyricum* yarı sert olan Colonia peynirinden de izole edilmiş olup (Quiberoni vd. 2008) Brezilya'da işlenmiş peynirde *C. sporogenes* tespit edilmiştir. Bu sonuçlara dayanarak, *C. tyrobutyricum* genellikle geç şişmenin ana nedeni olarak kabul edilmektedir. Ancak pıhtısı haşlanan peynirlerde birden fazla *Clostridium* türünün varlığı, *Clostridium* türler ve/veya suşlar arasında sinerjistik etkiler olduğuna işaret etmektedir (Klijn vd. 1995, Le Bourhis vd. 2007).

Ismail ve Pierson (1990) *Clostridium botulinum*'un spor oluşumu ve gelişiminin engellenmesi için sarımsak, soğan, tarçın, kekik, yabani mercanköşk, karabiber, karanfil ve yenibahar yağlarının etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Libra'n vd. (2013) peynirde *E. coli*'nin neden olduğu erken şişme ve *C. tyrobutyricum*'un neden olduğu geç şişme problemini önlemek için aromatik bitki özlerinin potansiyel uygulaması kapsamında bir çalışma yapmışlardır. Yapılan çalışmada *C. tyrobutyricum* ve *E. coli* gelişimini *Lavandula angustifolia* Mill. olarak bilinen İngiliz lavantası ve *Lavandula hybrida* olarak isimlendirilen hibrit lavanta'nın uçucu yağlarının engellediği ifade edilmektedir. Ancak, *Lavandula angustifolia* Mill.'in hem sulu ekstraktının hem de uçucu yağının bu bakteriler üzerinde etkili olduğu saptanmış ve İngiliz lavantasının her iki bakterinin de gelişimini engelleyen tek bitki olduğu rapor edilmiştir.

Cankurt ve Sağdıç (2019) blok tip eritme peynirinde *C. tyrobutyricum* ve toplam maya-küf sayıları üzerine bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin su ekstraktlarının ve uçucu yağlarının etkisini incelemişlerdir. Tıbbi aromatik bitki olarak kekik, nane ve sarımsak seçilerek bu bitkilerin su ekstraktları ve uçucu yağlarının etkileri incelemeye konu olmuştur. Kekik ve nane uçucu yağının *C. tyrobutyricum* üzerinde, su ekstraktları ve nisine göre daha etkili olduğu ancak sarımsak yağı ve su ekstraktının söz konusu bakterinin gelişimini artırıcı yönde etki ettiği saptanmıştır. Nane uçucu yağı ile yapılan çalışmada *C. tyrobutyricum* sayısı 4,35 log kob/g olarak en düşük, kekik uçucu yağında 4,27 log kob/g, sarımsak su ekstraktlı peynirde ise 6,09 log kob/g olarak en yüksek düzeyde belirlenmiştir. Küf (*A. niger*) gelişiminin önlenmesi açısından da söz konusu tıbbi ve aromatik bitkilerin uçucu yağlarının su ekstraktlarına nazaran daha etkili olduğu rapor edilmiştir.

2.6 Lizozim ve Kimyasal Yapısı

Lizozim, kanatlı yumurtasından, memeli sütüne, balıkların yapısından çeşitli meyve ve sebzelere kadar geniş bir yayılım gösteren doğal bir koruyucu enzimdir (Lie vd. 1989, Meyer vd. 2002, Balfry ve Iwana 2004, Saurabh ve Sahoo 2008). Doğada yaygın olarak bulunan lizozimin çeşitli kaynakları ve miktarları Çizelge 2.1'de verilmektedir (Le'snierowski ve Kijowski 2007).

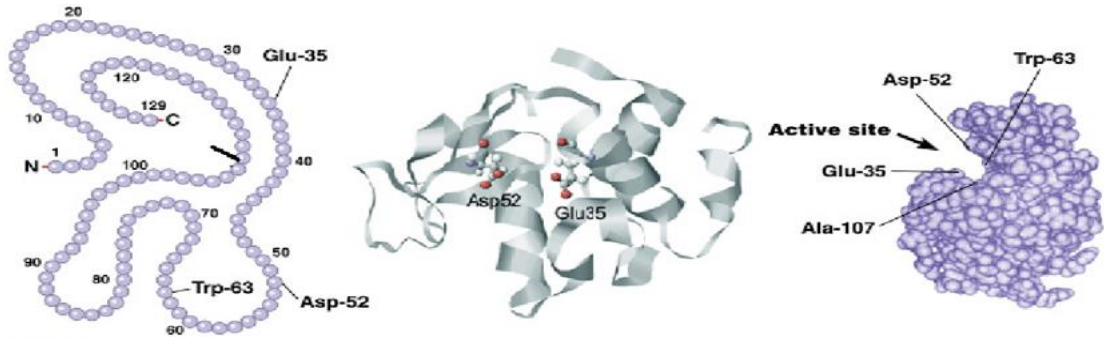
Çizelge 2.1 Lizozimin çeşitli kaynakları ve miktarı (Le'snierowski ve Kijowski 2007)

Lizozim kaynağı	Lizozim miktarı
Tavuk yumurtası beyazı	2500-3500 µg/ml
Ördek yumurtası beyazı	1000-1300 µg/ml
Kaz yumurtası beyazı	500-700 µg/ml
Göz yaşı	3000-5000 µg/ml
İnsan sütü	55-75 µg/ml
İnek sütü	10-15 µg/ml
Dalak	50-160 mg/ml
Timus	60-80 mg/ml
Pankreas	20-35 mg/ml
Karnabahar suyu	25-28 µg/ml
Papaya suyu	8-9 µg/ml
Lahana suyu	7-8 µg/ml

Günümüze kadar hayvanlar aleminde aminoasit dizilimi ve yapısal özelliklerindeki (tersiyer yapı) farklılıklardan dolayı üç tip lizozim varlığı bilinmektedir. Bunlardan ilki; tavuk yumurtası beyazından elde edilen ve tavuk lizozimi olarak belirtilen “c tipi” lizozimdir. Yapısında 129 aminoasit bulunmaktadır. İnsanların gözyaşı, tükürük, çeşitli vücut salgıları ve dokularında bulunan lizozim de “c tipi” olarak adlandırılmaktadır. İnsan lizozimi tavuk yumurtasından izole edilen lizozimden daha yüksek antibakteriyal aktivite ve termal stabilite göstermesine rağmen, mevcut kaynaklarının sınırlı olması kullanımını da sınırlı hale getirmiştir (Khorshidian vd. 2022). İkincisi, kaz yumurtasından elde edilen “g tipi” lizozim olup molekül ağırlığı 21 kDa’dur. Yapısında 185 aminoasit bulunmaktadır (Ragland ve Criss 2017, Le’snierowski ve Yang, 2021). Kaz veya kuğu gibi birçok su kuşu türünün yumurta beyazında lizozim hem “c” hem de “g” formlarında yer almaktadır (Hindenburg vd. 1974, Le’snierowski ve Yang 2021). Lizozimin “g tipi” kategorisinde ayrıca devekuşu, siyah kuğu ve bazı balık türleri de bulunmaktadır (Khorshidian vd. 2022). Yapısında sistein ve triptofan az miktarda bulunduğu için ısı uygulamalara karşı kararlı yapıda değildir. Hayvanlar aleminde yapılan kapsamlı araştırmalar neticesinde son zamanlarda keşfedilen üçüncü lizozim, “omurgasız tipi” (“i-tipi”) lizozim olarak kategorize edilmiştir. Yapısında 123 aminoasit bulunmaktadır (Nilsen ve Myrnes 2001, Callewaert ve Michiels 2010, Le’snierowski ve Yang 2021). Omurgasız tipi lizozim “g tipi” lizozimden daha küçük yapıdadır. Bu tip lizozim nematod, yumuşakça, böcekler, kabuklular, derisidikenli ve halkalı solucan yapısında tanımlanmıştır (Khorshidian vd. 2022). Bununla birlikte üzerinde en çok araştırma

yapılan lizozim tipi tavuk yumurtasından elde edilen c-tipi lizozim olmuştur (Le'snierowski ve Yang 2021).

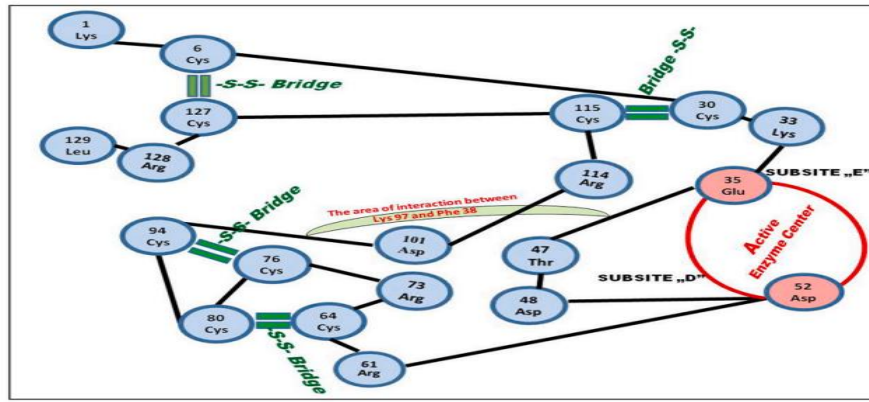
İlk olarak Philips (1966) tarafından tavuk yumurtasından elde edilen enzimin üç boyutlu yapısı belirlenmiştir. Aktif merkezi derin bir çukurda bulunan lizozim molekülü, uzun bir α -sarmal ile birbirine bağlı globüler bir proteindir. Muramidaz veya N-asetilmuramikhidrolaz olarak da bilinen yumurta lizozimi (E.C.3.2.1.17), bakteriyostatik aktiviteye sahip bir hidrolaz enzimi olup birincil yapısı tek bir polipeptid zincirinde sıralı 129 amino asitten oluşmuştur ve molekül ağırlığı 14,307 Da' dır (Şekil 2.7). Temel bir protein olan lizozimin izoelektrik noktası (pI) 10-11 değerindedir (Losso vd. 2000, Mine vd. 2004, Le'snierowski ve Kijowski 2007, Vilcacundo vd. 2018).



Şekil 2.7 Tavuk lizoziminin birincil yapısı, tersiyer yapısı ve lizozim aktivitesinden sorumlu aminoasitlerin bulunduğu aktif bölge (Held ve Van Smaalen 2014, Gálvez vd. 2020)

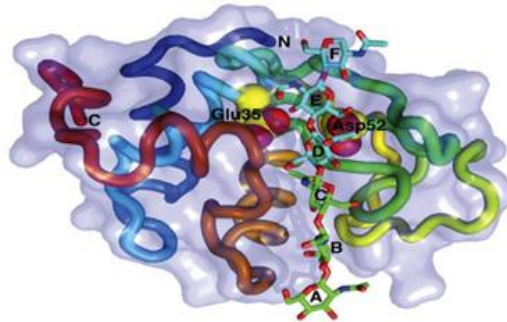
Lizozimin N terminalinde lizin aminoasidi, C terminalinde ise lösin aminoasidi bulunmaktadır. Enzim yapısında 6.-127., 30.-115., 64.-80. ve 76.- 94. sistein aminoasitleri arasında çapraz bağlı dört adet disülfür köprüsü (Şekil 2.8) bulunmaktadır. Bu köprülerden dolayı polipeptid zincir yapısı düz değildir (Proctor ve Cunningham 1988). Polipeptid zincir birbirine α -heliks ile bağlanan α ve β domain veya lobundan oluşmaktadır. Polipeptid zincirin α lobunda N ve C terminal segmentleri (1-39 ve 101-129 rezidüleri) yer alırken, β lobunda 40 tan 85'e kadar olan rezidüleri bulunmaktadır. Bu loblar birbirine lizin97 (Lys97) ve fenilalanin38 (Phe38) interaksyonu ile bağlanmıştır (Şekil 2.8). Bu aminoasitlerin interaksyonu sonucu enzimin monomer formu kendi içinde hidrofobik, yüzeyinde ise hidrofilik özellik göstermektedir. Enzimin aktif merkezi α - ve

β lobları arasında derin bir çukurda yer almaktadır. Aktif merkez enzimin katalitik aktivitesinde önemli role sahip glutamik asit 35 (Glu35) ve aspartat 52 (Asp52) aminoasitlerinden oluşmaktadır. Glu-35, glikozidik oksijene bir proton vererek oksonyum-karbonyum iyonlarını oluşturur ve substratın C–O bağına parçalar. Karbonyum iyonu, negatif yüklü Asp52 rezidüsü ile etkileşime girer ve glikozil ara maddesi oluşur. Daha sonra çevresinde bulunan H₂O, karbonyum iyonu ile birleşecek bir hidroksil iyonu sağlar ve lizozim glikosil-enzim ara maddesinden herhangi bir değişime uğramadan ayrılırken substrat hidrolize olur (Khorshidian vd. 2022).



Şekil 2.8 Tavuk yumurtası beyazından elde edilen lizozimin (HEWL) yapısı (Le'snierowski ve Kijowski 2007)

Lizozim yapısı itibariyle, amino-şeker birimlerinden ibaret altı adet substrat bağlayabilme kapasitesinde olup bağlanma noktaları A ve F olarak gösterilmektedir (Voet vd. 2022). Glu35 ve Asp52, D ve E substrat bağlama noktaları arasında bulunan katalitik gruplardır (Şekil 2.9).



Şekil 2.9 Lizozimin substrat bağlama bölgesinin şematize gösterimi (Voet vd. 2022)

2.7 Lizozimin Elde Edilmesi

Doğada lizozim yaygın olarak bulunmasına rağmen her kaynak lizozimin endüstriyel ekstraksiyonu için uygun değildir. Örneğin, insan gözyaşından endüstriyel boyutta lizozim üretimi zor olmasına rağmen, bu enzim açısından gözyaşı kadar zengin olmayan tavuk yumurtası lizozim üretimi için en kolay ve en ekonomik kaynak olarak bilinmektedir. Bir yumurta 0,3-0,4 g lizozim içermekte ve bu kaynaktan enzim elde etmek için çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Endüstriyel üretim için doğrudan presipitasyon ve kristalizasyon, membran teknikleri, iyon değişim kromatografisi ve afinite varyantı dahil olmak üzere çeşitli kromatografik yöntemler kullanılmaktadır (Le'snierowski ve Yang, 2021).

Doğrudan kristalizasyon, tavuk yumurtası beyazından lizozim elde edilmesinde kullanılan ve yaklaşık 80 yıl önce geliştirilen klasik bir yöntemdir (Alderton vd. 1945). Yüksek saflıkta bir enzim preparatı elde etmek için enzim kristalizasyonu işlemi birkaç kez tekrar edilmelidir. Doğrudan kristalizasyon ile tavuk yumurtası beyazından %40-90 kazanım sağlanabilmektedir (Le'snierowski ve Cegielska-Radziejewska 2012, Le'snierowski ve Yang 2021).

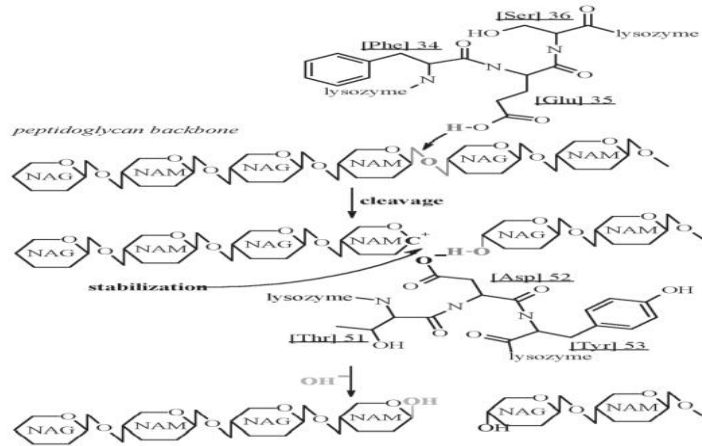
Lizozimin molekül ağırlığının az olması, moleküler şekli ve izoelektrik noktası gibi spesifik fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı, enzimi yumurta beyazından ayırmak için membran teknikleri özellikle de ultrafiltrasyon (UF) uygulanmıştır. Ancak, enzimin negatif yüklü yumurta beyazı proteinlerine, özellikle de ovomusin'e elektrostatik olarak bağlanma yeteneğinden dolayı kuvvetli bir yapı oluşmakta ve lizozimin membrandan ayrılması önemli ölçüde azalmakla beraber %4-20 kazanım sağlanabilmektedir (Kato vd. 1976, Lu vd. 2006).

Diğer bir yöntem afinite kromatografisi olup ayırma çözeltisindeki substrat (lizozim) ile seçilen adsorbanın ligandları arasındaki spesifik etkileşimlerden yararlanılmaktadır. Lizozim izolasyonu için kullanılan ilk adsorban kitindir. Afinite kromatografisi yüksek maliyetli ve zaman alıcı bir yöntem olduğu için lizozimin endüstriyel boyutta üretimi için tercih edilmemektedir (De Oliveira vd. 2019).

Lizozim molekülünün elektrostatik özelliklerini kullanan başka bir kromatografik yöntem olan iyon değişim kromatografisi hem uygun maliyetli olması hem de hızlı sonuç vermesi açısından birincil yöntem olarak kullanılmaktadır (Le'snierowski ve Cegielska-Radziejewska 2012). İyon değişim kromatografisi ile tavuk yumurtası beyazından %85-95 kazanım elde edilebilmektedir (Le'snierowski ve Yang 2021).

2.8 Lizozimin Etki Mekanizması

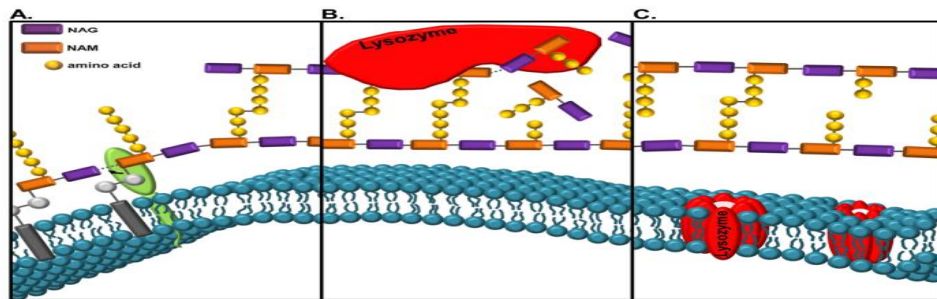
Lizozim (E-1105) ticari olarak kullanım alanına sahip olan tek antimikrobiyal enzim olarak da bilinmektedir (Meyer vd. 2002, Öztürkcan ve Acar 2017). Lizozimin bakteriler üzerinde farklı antimikrobiyal etki mekanizmaları bulunmaktadır. Bu mekanizmalardan birincisi, gram pozitif bakterilerde hücre duvarının yapısında bulunan peptidoglikan tabakadaki N-asetilmuramikasit (NAM) ile N-asetilglukozamin (NAG) arasındaki $\beta(1\rightarrow4)$ glikozidik bağı hidrolize uğratarak zar yapısının bütünlüğünü bozmasıdır (Şekil 2.10). Bu kapsamda, *Micrococcus* spp., *Sarcina* spp., *C. tyrobutyricum*, *Clostridium thermosaccharolyticum*, *Bacillus stearothermophilus* ve *Bacillus coagulans* gibi bazı Gram pozitif bakteriler, yumurta lizozimi etkisiyle güçlü bir şekilde parçalanmaktadır (Khorshidian vd. 2022).



Şekil 2.10 Lizozimin NAM (N-asetilmuramikasit) ve NAG (N-asetilglukozamin) arasındaki glikozidik bağı hidrolizlemesinin şematik görünümü (Masschalck ve Michiels 2003)

Enzimin etki mekanizmasında hidrofobik bölgede bulunan Glu35 protonlanarak bir proton donörü olarak katalizlemeye katılmasına rağmen, hidrofilik kısımda bulunan Asp52 ayrılmış formda bulunarak bir nükleofil (elektron çifti veren) olarak görev yapmaktadır. Glu35, bir proton glikozidik oksijene aktarır ve D şeker rezidüsünün C1'i ve oksijen arasındaki bağı parçalar. Böylece, D halkasının C1'inden oksijenin ayrıldığı yerde pozitif yüklü bir karbon iyonu (C⁺) meydana gelir. Bu karbon iyonu H₂O molekülünden difüze olan bir hidroksil iyonu (OH⁻) ile birleşinceye kadar negatif yüklü Asp52 rezidüsü ile interaksiyonu sonucu stabil hale gelir. Bu şekilde reaksiyon tamamlanmış olur. Ayrıca, Glu35 tarafından verilen protonun yerine H₂O molekülü bir H⁺ iyonu verir. Sonuç olarak lizozim molekülü peptidoglikan tabakayı (Şekil 2.11A) hasara uğrattığı bakteri hücre duvarını (Şekil 2.11B) bırakarak reaksiyondan ayrılır (Masschalck ve Michiels 2003). Bu mekanizma hücre duvarının kısmen uzaklaştırılması (sferoplast) ve sonunda bakteriyoliz (bakterinin parçalanması) ile karakterize edilmektedir (Şekil 2.11B).

İkinci mekanizma, lizozimin litik aktivitesinden bağımsız olan katyonik aktivitesidir. Katyonik bir protein olarak lizozim, yapısında bulunan protein ve bakteri membran yapısında bulunan fosfolipidler arasında meydana gelen elektrostatik interaksiyonlar sonucu membran yapıda gözenekler oluşmaktadır. Dolayısıyla peptidoglikan hidrolizi olmaksızın membrandan sızıntılar oluşmakta ve hücre lizisine neden olmaktadır (Khorshidian vd. 2022). Bakterinin katyonik ölümü Şekil 2.11C'de görüldüğü üzere lizozimin Gram negatif bakteri hücre membran yapısında meydana getirdiği hasar nedeniyle olmaktadır (Ragland ve Criss 2017).



Şekil 2.11 Lizozimin etki mekanizmaları (A. Peptidoglikan tabakanın oluşumu, B.- Lizozimin litik aktivitesi, C. Lizozimin katalitik aktivitesi) (Ragland ve Criss 2017)

Üçüncü mekanizma ise otolizin (bir hücrenin kendi enzimleriyle kendini yok etmesi) indüksiyonu olarak belirtilmektedir (Masschalk vd. 2002). Konuya dair yapılan çalışmaların ışığında, lizozimin antimikrobiyal aktivitesinin muramidaz aktivitesinden bağımsız olduğu ve lizozimin yapısal özelliklerinden kaynaklandığını düşündürmektedir (Laible ve Gemaine 1985, Ibrahim vd. 2001, Masschalk vd. 2002)

Lizozimin enzimatik reaksiyon hızı elde edildiği kaynağa göre farklılık göstermekle beraber pH, sıcaklık ve ozmotik basınç gibi çevresel faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Enzimin farklı koşullarda oldukça stabil olması, onun koruyucu olarak kullanıldığında etkinliğine de değer katmaktadır. Kurutulmuş toz formülasyonlarda lizozim, 30°C sıcaklıkta uzun bir süre (>6 ay) litik aktivitesini kaybetmeden depolanabilir. HEWL, Cys rezidüleri 6-127, 30-115, 64-80 ve 76-94 arasında sırasıyla dört disülfid bağına (-S-S-) sahip olması nedeniyle molekül oldukça kompakt hale gelmekte ve önemli ölçüde ısıya dayanıklı bir hal almaktadır (Masschalck ve Michiels 2003).

Lizozim enzimatik aktivitesini maksimum pH 5 dolaylarında göstermektedir (Shahmohammadi 2017). Lizozimin pH 4,5'te 100°C'de 3 dk veya pH 5,3'te 100°C'de 30 dk ısı işleme tabi tutulması sonucu enzimatik aktivitesinde herhangi bir kayıp olmadığı belirlenmiştir. Ancak, pH 7,9'da, 70°C'de 30 dk ısı işleme maruz bırakıldığında %25 aktivite kaybı olduğu rapor edilmiştir (Masschalck ve Michiels 2003).

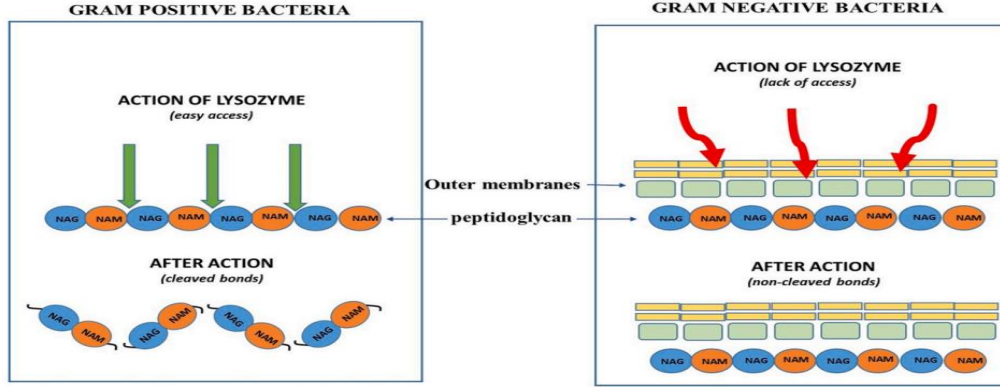
HEWL'nin yapısındaki dört disülfid bağı varlığı, yapısında sırasıyla bir ve iki disülfid bağı bulunan ovalbümin ve β laktoglobulin ile karşılaştırıldığında daha yüksek basınca olan direncini açıklamaktadır. Lizozimin ısı kararlılığında olduğu gibi, basınç kararlılığı da ortam pH'sına bağlı olarak değişmektedir. Şöyleki, 600 MPa basınç altında 40°C'de 30 dk boyunca pH 3,7'de enzim denatürasyona uğramazken, pH 7,0'da enzimin ikincil ve üçüncül yapısında küçük hasarlar meydana geldiği belirlenmiştir. Yukarıda belirtilen her iki pH değerinde, 300 MPa ve 32°C'de 30 dk süreyle basınç uygulaması sonucu enzimin denatürasyona uğramadığı belirtilmektedir (Tedford vd. 1999).

2.9 Lizozimin Antibakteriyal Aktivitesi

Lizozimin antibakteriyal aktivitesine dair Fleming tarafından yapılan bir araştırmada lizozime duyarlı *Micrococcus lysodeikticus* gözyaşı ile muamele edilmiş ve enzimin antibakteriyal etkisi keşfedilmiştir (Proctor ve Cunningham 1988).

Biyolojik korumada son derece önemli olan, lizozimin Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyal etkisidir. Bu enzimin doğal formu Gram pozitif bakterilerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan tabakadaki (N-asetilmuramikasit ve N-asetilglukozamin arasındaki bağ) β -(1,4) bağlarını hidrolize uğratan bir monomerdur. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının sadece peptidoglikan tabakadan oluşması bu bakteriyi lizozime karşı duyarlı hale getirmektedir (Losso vd. 2000, Kroll vd. 2012, Le'snierowski ve Yang 2021). Buna karşılık, Gram negatif bakterilerin hücre duvar yapısında bulunan peptidoglikan tabakanın lipoprotein ve lipopolisakkarit ile çevrili olması yapıyı enzim için karmaşık hale getirmektedir (şekil 2.12) (Le'snierowski ve Yang 2021). Çünkü bu durumda lizozimin peptidoglikan tabakaya ulaşabilmesi için önünde açması gereken bir engel yer almaktadır. Lizozim etilendiamin tetraasetik asit (EDTA), aprotinin, organik asitler veya karbonhidratlara bağlı olarak kullanıldığında bu engeli aşarak peptidoglikan tabakaya ulaşabilmekte ve Gram negatif bakteriler üzerinde de antimikrobiyal etkisini gösterebilmektedir (Yalçın 1985, Losso vd. 2000). Ayrıca nisin, sodyum laktat, butil paraben ve trisodyum fosfatla da lizozim aktivitesinin artış gösterdiği bildirilmektedir (Le'snierowski 2015). Lizozimin Gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyal etkisini geliştirmek için enzimin termal yolla veya kimyasal kullanılarak denature edilmesi, yüksek basınç, ultrafiltrasyon, elektrik titreşimleri, γ -ışınlama, polisakkaritler ve doymuş yağ asitlerinin lizozime kovalent bağlanmasıyla enzim yapısında meydana gelen modifikasyon ve C-terminal hidrofobik peptitlerin genetik modifikasyonla lizozime bağlanması gibi çeşitli yöntemler geliştirilmektedir (İbrahim 2003, Lesnierowski vd. 2009, Vilcacundo vd. 2018). Yapılan bir çalışmada Gram negatif bakterilerin dış zarı dendronize gümüş nanopartiküllerinin kullanımı ile hasara uğratarak lizozimin peptidoglikan tabakaya ulaşması sağlanmış ve enzimin böylece hücre ölümünü gerçekteşirdiği belirlenmiştir. Bu nedenle lizozim gibi litik enzimlerin Gram negatif bakteriler üzerinde de etkisini gösterebilmesi için söz konusu

enzimlerin dendritik gümüş nanopartiküller gibi membran bozucu ajanlarla birleştirilip kullanılması önerilmektedir (Ciepluch vd. 2019).



Şekil 2.12 Lizozimin Gram pozitif ve Gram negatif bakteri üzerindeki etkisinin şematik görünümü (Le'snierowski ve Yang, 2021)

HEWL'nin doğal formunun *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus stearothermophilus*, ve *Clostridium tyrobutyricum*'a antibakteriyal aktivitesi olduğu (Abdou vd. 2007, Vilcacundo vd. 2018); modifiye HEWL'nin ise *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Listeria innocua*, *E. coli*, *E. coli K12*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri*, *E. coli O157:H7*, *Pseudomonas aeruginosa* karşı etkili olduğu belirtilmektedir (Aminlari vd. 2014, Vilcacundo vd. 2018)

Lizozimin monomer (temel) yapısının modifikasyonundan sonra meydana gelen dimer yapının Gram negatif bakteriler üzerinde bakteriyostatik etki oluşturduğu bildirilmektedir. Tavuk yumurtasından elde edilen doğal lizozim ve modifiye edilmiş formlar, özellikle gıda depolamada, tıp, farmakoloji ve veterinerlik alanlarında oldukça değerli koruyucu özelliklere sahiptir. Lizozim monomerinin yapısını değiştiren spesifik modifikasyonlar sonucunda farklı derecelerde oligomerizasyon ve farklı hidrofobikliğe sahip yeni bir enzim formuyla lizozimin Gram-negatif bakterilere, virüslere ve diğer mikroorganizmalara karşı etkisinin önemli ölçüde arttığı belirtilmektedir. Lizozimin yeni oligomerik formlarının gıda endüstrisinde, tıpta ve veterinerlik alanında kullanımı için olanaklar tartışılmaktadır (Le'snierowski ve Yang 2021).

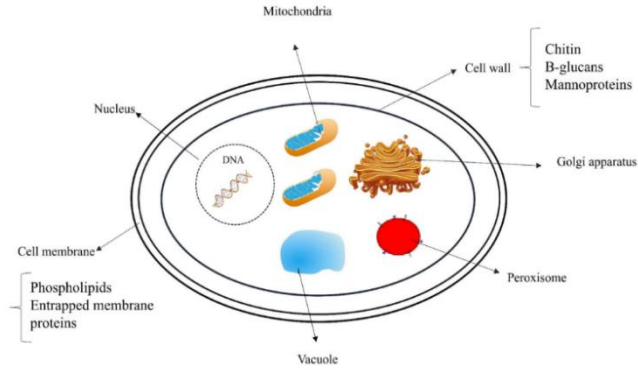
Vilcacundo vd. (2018) tarafından yapılan bir araştırmada, HEWL'nin termal ve kimyasal işlemlerle modifiye edilerek Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyal etkisi incelenmiştir. Yapılan alışmada HEWL pH 6,0 ve pH 7,0'da ısıtılarak denatüre edilmiştir. Kimyasal denatürasyonda ise DL-Dithiothreitol (DTT) kullanılarak HEWL ile 1.0, 1.5, 2.0, and 4.0 saat muamele edilmiştir. HEWL'nin ısıyla ve kimyasalla denatürasyonu sonucu oluşan oligomer yapıların antibakteriyal aktivitesini geniş spektrumda artırdığı belirlenmiştir. şöyleki, pH 6,0'da ısıyla denatüre HEWL ve kimyasal olarak denatüre HEWL'nin, Gram negatif bakterilere (*Escherichia coli* ATCC 25922) karşı antibakteriyal etkisinin arttığı gözlenmiştir. HEWL'nin 120 °C ve pH 6,0'da denaturasyonu sonucu *E. coli* gelişiminin %78,20'sini inhibe ettiği, HEWL/DTT uygulamasının 4 saat süreyle yapılmasının ardından *E. coli* gelişiminin %68,75'inin inhibe edildiği rapor edilmiştir. HEWL'nin pH 6.0 ve pH 7.0'da ısıyla ve DTT ile kimyasal olarak denatürasyonu sonucu (DTT ile 1.0, 1.5, 2.0 ve 4.0 saat) Gram pozitif bakterilere (*Staphylococcus carnosus* CECT 4491T) karşı da aktif olduğu belirlenmiştir. Hem ısı uygulaması hem de kimyasalla denaturasyona uğrayan HEWL'nin bakteriler üzerindeki artan antimikrobiyal etkisi bakteri hücre duvarlarının tahrip olması ve ölümlerinin gerçekleşmesiyle kendini göstermiştir.

Sonuç olarak yapılan çalışmalar ısı, ditiyotreitil (DTT) veya bölgeye yönelik mutageniz kullanılarak lizozimin tam veya kısmi denatürasyona uğratılması, enzimatik olmayan antimikrobiyal özelliklerinden dolayı Gram-negatif ve Gram-pozitif bakterilere karşı bakterisidal etkisinin azalmadığını göstermiştir. Denatüre lizozimin bakterisidal aktivitesi, katyonik özelliklerine ve yapısındaki konformasyonel değişiklikler nedeniyle yüzeyindeki hidrofobik amino asit kalıntılarının artmasıyla ilişkilendirilmektedir (Khorshidian vd. 2022).

2.10 Lizozimin Antifungal Aktivitesi

Lizozimin özellikle antibakteriyal etkisi kapsamlı bir şekilde araştırılmış olsa da (Philips 1967) son zamanlarda yapılan çalışmalarda, bu enzimin antifungal aktivitesinin olduğu da belirlenmiştir (Razavi-Rohani ve Griffiths 1999). Maya hücre duvarının ana bileşenlerini mannoprotein, β -(1,3) - β -(1,6) glukanlar ve kitin oluşturmaktadır (şekil

2.13). Lizozimin kitinaz aktivitesi güçlü olmadığından mayaya karşı aktivitesi zayıf olmaktadır (Dadkhodaze vd. 2021).



Şekil 2.13 Maya hücresinin yapısı (Dadkhodaze vd. 2021)

Lizozimin, enzimatik aktivitesinden ziyade yüküyle ilişkili olarak *Aspergillus niger* ve *Penicillium* gibi küflere karşı belirgin bir antifungal etkisinin olduğu rapor edilmiştir (Feng vd. 2017). Bu durum, maya ve küf hücre çeperinde bulunan ve önemli polisakkaritlerden olan kitin varlığı ile açıklanmıştır. Dolayısıyla lizozimin muramidaz aktivitesi yanında kitinaz aktivitesi olduğu da belirlenmiştir (Manikandan vd. 2015, Zhou vd. 2017).

Razavi-Rohani ve Griffiths (1999) tarafından yapılan bir araştırmada lizozimin tek olarak ve eşit konsantrasyonda EDTA ile birleştirilmesi sonucu pH 5,6 da potato dekstrose agar kullanılarak bazı maya ve küfler üzerindeki minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) belirlenmiştir. Lizozimin 9530 µg/ml'ye kadar olan miktarlarında *Fusarium graminearum* PM162 ve *Aspergillus ochraceus* MMI 84 üzerine herhangi bir antifungal aktivitesi belirlenmemiştir. Ancak ortamda lizozim+EDTA varlığında MIC değerinin oldukça azaldığı dikkati çekmektedir. *Candida lipolitica* 1591 dışında diğer küf ve mayalar için MIC değerlerinin 94-960 µg/ml arasında değiştiği belirlenmiştir.

Lizozimin farklı pH'larda hem tek başına hem de EDTA ile kombinasyonunun yine aynı maya ve küfler üzerinde antifungal etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada farklı ortam pH'larında (3,5; 5,6;7) tek başına kullanıldığında ortam pH'larındaki değişimin lizozimin

antifungal aktivitesini etkilemediği bildirilmiştir. Ancak EDTA ile kombinasyonu kullanıldığında pH'daki değişimin lizozimin antifungal aktivitesini oldukça etkilediği belirtilmiştir. Yapılan çalışmada söz konusu kombinasyonun pH 5,6'da en fazla aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Razavi-Rohani ve Griffiths 1999).

Lizozimin pH 5,6'da ortamda bulunan farklı NaCl (5,10,15,20 %) konsantrasyonlarında etkisine bakılmıştır. Ortamdaki su aktivitesinin azaldığı %20 NaCl varlığında <12 µg/ml lizozim kullanıldığında tüm organizmaların inhibe olduğu ifade edilmektedir. Ortamda NaCl varlığında bir de EDTA eklendiğinde sinerjistik etkinin olduğu ve dolayısıyla her organizma için MIC değerinin dikkate değer şekilde azaldığı rapor edilmiştir (Razavi-Rohani ve Griffiths 1999).

Lizozimin aktif maddelerle birleştirilmesi sonucu antifungal bir ajan olarak etki ettiği rapor edilmektedir (Hernández-Téllez vd. 2017, Wu vd. 2018, Galvez vd. 2020). Kitosan gibi biopolimerik moleküller bakteri ve fungusların zar ve hücre duvarında bulunan bileşenlerle etkileşime girerek gelişimlerini önlemektedir (Sotelo-Boyas vd. 2016, Galvez vd. 2020). Lizozim ve kitosan kombinasyonu ile lizozimin antifungal etki alanı da artmaktadır. Söz konusu kombinasyon tarım, gıda işleme ve muhafaza yöntemlerinde mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla çözelti, film, lif, hidrojel, mikro ve nanopartiküller şeklinde materyaller geliştirmek için kullanılmaktadır (Wu vd. 2018). Bu nedenle, lizozim tek başına veya kitosan ile birlikte kullanıldığında küf ve maya hücrelerinde bulunan farklı biyopolimer ve peptitler üzerine etki ederek hücre ölümü veya hücrenin anormal büyümesiyle sonuçlanabilecek antifungal aktiviteye neden olabileceği düşünülmektedir (Galvez vd. 2020).

2.11 Lizozimin Gıda Sanayinde Kullanım Olanakları

Yumurta lizozimi bakteriyostatik etkiye sahip olması, insan tüketiminde toksik olmaması, kolay temin edilebilir olması nedeniyle gıda koruyucusu olarak istenilen özelliklere sahiptir (Masschalck and Michiels 2003, Naidu 2003). Bu nedenle lizozim, peynir yapımında *C. tyrobutyricum*'un neden olduğu geç şişme kusurlarını önlemek için koruyucu bir ajan olarak kullanılmaktadır (Wasserfall ve Teuber 1979, Pellegrino ve

Tirelli 2000, Meyer vd. 2002, Schneider vd. 2010, Schneider vd. 2011, Vilcacundo vd. 2018). Amerika Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ‘yumurta lizozimi’ ni peynirde oluşabilecek söz konusu problemin önlenmesinde kullanımını genel olarak güvenli (GRAS: Generally Recognised as Safe) olarak kabul etmektedir. Ancak, FDA yumurta beyazına duyarlı olabilecek bireyleri peynirde yumurta lizoziminin varlığına karşı uyarmak için etiketlemeyi önermektedir. Ayrıca söz konusu enzimin bu amaçlanan kullanımı Danimarka, Fransa, Almanya, İtalya ve İspanya dahil olmak üzere birçok ülkede onaylanmıştır. Ülkemizdeki olgunlaştırılmış peynirlerde lizozim kullanım miktarına quantum satis (QS) olarak izin verilmektedir (Anonim 2013).

Doğal bir gıda koruyucusu olarak tüm dünyada büyük ilgi gören lizozim (Proctor ve Cunningham 1988, Cegielska-Radziejewska ve Szablewski 2013) iyi üretim uygulamaları kapsamında gıda işlemede kullanılabilir (Anonymous 1993a). Japonya, lizozimin endüstriyel kullanım çeşitliliği konusunda dünyaya öncülük etmektedir (Losso vd. 2000). Birçok ülkede lizozim birçok gıda türünde (sebzeler, deniz ürünleri, soya fasulyesi ürünleri, et ürünleri ve yarı sert peynirler dahil olmak üzere) koruyucu olarak ve farmasötik ürünlerin bir bileşeni olarak kullanılmaktadır (Cunningham vd. 1991, Losso vd. 2000, Naidu 2000, Gill ve Holley 2003). Lizozim gıda sanayinde sakız ve şekerleme gibi pek çok gıda maddesinin de yapısına girerek market raflarında tüketiciyle buluşturulmaktadır. Söz konusu doğal koruyucunun ayrıca et, şarap, taze meyve ve sebze, deniz ürünleri ve yem endüstrisinde potansiyel uygulamaları da gün geçtikçe artış göstermektedir. (Naidu 2000, Meyer vd. 2002, Cunningham vd. 2009, Vilcacundo vd. 2018). Şarap üretiminde mikrobiyal gelişimin kontrol altında tutularak asetik asit ve biyojen amin içeriğindeki artışın önlenmesi amacıyla kullanılan lizozim, balık ve diğer deniz ürünlerinde de bakteriyel enfeksiyona neden olan “Edwardsiellosis” türüne karşı kullanılmaktadır (Losso vd. 2000). Ayrıca bebek beslenme formüllerine lizozim eklenerek söz konusu formüllerin anne sütüne daha yakın olması amaçlanmaktadır (Cunningham vd. 2009).

Antibakteriyal aktivitesine ek olarak, lizozimin belirli virüsleri etkisiz hale getirdiği, memeli hücrelerinin düzgün çalışmasına yardımcı olduğu, antibiyotiklerin etkilerini güçlendirdiği, bağışıklık sistemini kuvvetlendirdiği ve anti-inflamatuar etki gösterdiği

belirlenmiştir (Le ´snierowski 2015, Ragland ve Criss 2017, Wu vd. 2019, Le ´snierowski ve Yang 2021). Farmakolojide lizozimin yara iyileştirici kremlerde, göz damlalarında ve antikanser ilaçlarında yaygın olarak kullanılması onu önemli bir enzim haline getirmektedir (Ghosh ve Cui 2000, Shahmohammadi 2017, Khorshidian vd. 2022).

Lizozim en fazla tavuk yumurtası beyazında bulunduğu için genellikle yumurtadan ekstrakte edilmektedir. Biyoteknolojik çalışmaların ilerlemesine paralel olarak lizozim biyoteknolojik yollarla mikroorganizmalardan da elde edilmiştir. Yapılan literatür araştırmalarında biyoteknolojik yöntemle elde edilen mikrobiyal lizozim ile ilgili araştırmaya rastlanmamıştır. Genellikle yumurtadan elde edilen lizozimin mikroorganizmalar özellikle de sporlu mikroorganizmalar üzerine olan bakteriyostatik etkisi araştırılmıştır. Tulum peyniri ile yapılmış pek çok çalışma olmasına karşın bu peynirde lizozim kullanımı ve depolama süresince meydana gelebilecek biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin incelendiği ve ayrıca biyoteknolojik yolla elde edilen mikrobiyal lizozimin de karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bester ve Lombard (1990), lizozimin çeşitli konsantrasyonlarının *C. tyrobutyricum* sporlarının çimlenmesi ve vejetatif hücrelerinin büyümesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada ayrıca dört laktobasil, dört koliform bakteri ve dört peynir starter kültürünün büyüüp gelişmesi üzerine lizozimin etkisini incelemişlerdir. Lizozimin 250 birim/ml ve daha yüksek konsantrasyonlarında *C. tyrobutyricum*'un BZ15 ve C611 izolatlarının vejetatif büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir. Lizozim 250 birim/ml konsantrasyonda *C. tyrobutyricum*'un spor çimlenmesini maksimum düzeyde uyardığı, C611 izolatında bu etkinin daha belirgin olarak gözlemlendiği bildirilmiştir. Lactobacillus izolatlarından biri lizozimden etkilenmezken diğer üç izolat 500 ila 1000 birim/ml lizozim tarafından inhibisyona uğratılmıştır. Koliform izolatlarının üçü lizozimin 1000 birim/ml konsantrasyonunda inhibe olurken, dördüncü grubun gelişimi uyarılmıştır. Lizozimin 2500 birim/ml konsantrasyonundan dört starter kültürün de aktivitesini etkilemediği rapor edilmiştir.

López-Pedemonte vd. (2003) çiğ süttten üretilen peynirlere inoküle edilen *Bacillus cereus* ATCC 9139 sporlarının yüksek hidrostatik basınç uygulamasına (60 MPa/210 min/30 °C

+ 400 Mpa/15 min/30 °C) duyarlılığında lizozim veya nisin'in etkisini araştırmışlardır. Lizozimin (22,4 mg/l süt), *Bacillus* sporlarının yüksek hidrostatik basınç uygulamasına duyarlılığını etkilemediği ancak nisin (1,56 mg/ml) varlığında sporların duyarlılığını önemli ölçüde artırdığı rapor edilmiştir.

Duan vd. (2007) yapmış oldukları bir araştırmalarında Mozzarella peynirinin yüzey kaplamasında kitosan-lizozim (CL) kompozit filmlerini film, laminasyon, kaplama olmak üzere 3 farklı formda uygulayarak mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Peynirlere 10^4 kob/g miktarında *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* veya *Pseudomonas fluorescens* veya 10^2 kob/g miktarında küf ve maya inoküle edilmiştir. Daha sonra peynirler vakum ambalajlama yapılarak 10 °C'de depolama gerçekleştirilmiştir. Depolamanın 1., 7. ve 14. günlerinde bakteri gelişimleri, 10. 20. ve 30. günlerinde ise maya ve küf gelişimleri gözlenmiştir. Depolama süresince herhangi bir koruyucu işlem uygulanmayan peynirde inoküle edilen bakterilerin canlı kaldığı ancak depolama süresince çoğalamadığı tespit edilmiştir. Koruyucu işlem uygulanmış peynirde, *E. coli*, *P. fluorescens* ve *L. monocytogenes* sayılarında depolama süresince azalma olduğu dikkati çekmiştir. Koruyucu işlem uygulanmamış peynirde küf ve maya sayısının 30 günlük depolama sonucu arttığı, küf gelişiminin CL film ile kaplanmış peynirde tamamiyle inhibe edildiği, tüm CL paketleme uygulamalarının da maya sayısında azalmayla sonuçlandığı rapor edilmiştir. Test edilen 3 CL paketleme uygulaması arasında, CL filmlerin, lamine filmlere ve kaplamalara göre daha yüksek kitosan ve lizozim konsantrasyonu nedeniyle en yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Lizozimin kitosan bazlı filmlere dahil edilmesinin, filmlerin ve kaplamaların *P. fluorescens* ve *L. monocytogenes*'e karşı antimikrobiyal etkisini arttırdığı rapor edilerek CL filmler ve kaplamaların, üretim sonrası peynirin mikrobiyal bulaşısını kontrol altına almak ve böylece ürünün mikrobiyal güvenilirliğini artırmak için uygulanabileceği belirtilmektedir.

Scharfen vd. (2007) in-vitro elde edilen insan lizoziminin (270 µg/ml) transgenik keçi sütünden üretilen peynirlerde laktik asit bakterilerin aktivitesi üzerindeki etkisini araştırmış ve lizozimin transgenik keçi sütünde bulunan laktik asit bakteri gelişimine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını belirlemişlerdir.

Amiri vd. (2008) peynir pıhtısında *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı lizozimin doğal formu, ısıtma işlemi görmüş modifiye formu ve dekstranla olan konjugasyonunun (400 µg/ml) antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada hem doğal formda olan hem de modifiye edilen lizozimin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı 400 µg/ml düzeyinde etkili olduğunu bulmuşlardır. Ancak, dekstranla olan konjuge formun *E. coli* üzerinde doğal ve modifiye formdan daha etkili olduğu hatta peynirin 40 günlük depolama sürecinde *E. coli* sayısında 3 log'luk bir azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Lizozimin dekstranla konjuge edilmesinin *E. coli* üzerine antibakteriyal etkinliğini artırdığı ancak söz konusu uygulamanın *S. aureus* üzerinde herhangi bir değişime neden olmadığı ifade edilmiştir.

Sinigaglia vd. (2008) tarafından Mozzarella peynirinin bozulmasına neden olan mikroorganizmalara karşı lizozim ve etilendiamin tetraasetik disodyum tuzunun (Na₂-EDTA) etkinliği araştırıldı. Mozzarella peynirleri, lizozim (0.25 mgmL⁻¹) ve farklı miktarlarda Na₂-EDTA (10, 20 ve 50 mmol L⁻¹) içeren seyreltilmiş tuzlu salamura suyuna konularak paketlenmiş ve 8 gün boyunca 4 °C'de muhafaza edildi. Lizozim ve Na₂-EDTA'nın, depolamanın ilk 7 günü boyunca koliform ve *Pseudomonas*'ların büyümesini önemli ölçüde inhibe ettiği, laktik asit bakterileri üzerinde ise antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlendi. Bu çalışmanın sonuçları, lizozim ve Na₂-EDTA kullanılarak hazırlanan peynir salamura suyunun Mozzarella peynirinin raf ömrünü uzattığını ortaya koymuştur.

Conte vd. (2011) Burrata peynirinin paketlenmesinde lizozimin çeşitli konsantrasyonları (125, 250 ve 500 mg/kg)'nın Na₂-EDTA (50 mM) ile karışımının modifiye atmosfer paketlemede (MAP) (95:5 CO₂:N₂) peynirin mikrobiyolojik ve duyu kalitesi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Lizozim/Na₂-EDTA ve MAP kombinasyonunun koliformlar ve *Pseudomonas* spp. üzerine antimikrobiyal etkisinin en yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Özellikle lizozimin en yüksek konsantrasyonunda (500 mg/kg) MAP ile kombinasyon halinde lizozim/Na₂-EDTA kullanımının Burrata peynirinin raf ömrünü uzattığı ve peynirde bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı etkili bir strateji olarak kabul edilebileceği sonucuna varmışlardır. Ancak paketleme stratejisi ne olursa olsun, depolama sırasında peynirin duyu kalitesinde azalma olduğu da ifade edilmiştir.

Rossi vd. (2012) lizozimin alerjen olması nedeniyle yaşları 25-50 arasında değişen yumurtaya duyarlı 25 yetişkin üzerinde yaptıkları araştırmalarında 155 mg/kg civarında lizozim içeren Grana Padano ve lizozim içermeyen Trentin Grana peyniri (lysozyme-free) yetişkinlere 30 g olacak şekilde verilerek aç karnına ve peynir tüketiminden 1 saat sonra kan örnekleri alınarak IgA, total IgE, lizozim, ovomukoid ve ovalbumine özgül IgE düzeyleri ölçüldü. Lizozim içeren peynirin tüketiminden sonra yetişkinlerde ne bir yan etki ne de immünolojik bir reaksiyon gelişmediği belirtilerek söz konusu enzimin peynir mikrobiyotasını ve sonuç olarak bakteriyal proteolizi etkileyebileceği belirtilmektedir. Araştırmalarında tüketime sunulan 121,1 mg/kg lizozim içeren peynirin protein miktarı 31,91 g/100 g; 130,3 mg/kg lizozim içeren örneğin ise protein miktarı 32,90 g/100 g'dır. Araştırmamızda da yumurta lizozimi içeren peynir örneğinin protein içeriği kontrol örneğe göre daha yüksek tespit edilmiş olup Rossi vd. (2012) ile uyum içerisinde dir.

Hamdani vd. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada yumurta lizoziminin antimikrobiyal aktivitesi üzerine guar gum ile konjugasyonunun etkisini araştırmışlardır. Lizozimin guar gum polisakariti ile yaptığı konjugasyon sonucu iki gram pozitif (*Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus*) ve iki gram negatif patojene (*E. coli* ve *Salmonella*) karşı antimikrobiyal etkisinde gram negatif bakterileri önemli ölçüde inhibe ettiği ve gram pozitif patojenlere karşı da aktivitesinin önemli ölçüde arttığı belirlendi.

Doosh ve Abdul-Rahman (2014) manda sütünden Irak yumuşak peyniri yapımında peynir pıhtısına yumurta lizozimi (250 ve 300 mg/kg) ilave etmişler ve 6 °C'de 15 günlük depolama süresince peynirin mikrobiyal ve duyuşal özelliklerini incelemişlerdir. Lizozim katkılı peynirlerde, lizozim ilave edilmeden üretilen kontrol örneğine kıyasla 15 günlük depolama sürecinde toplam bakteri, psikrofilik bakteri, maya ve küf gelişiminin önlendiğini belirlemişlerdir. Ayrıca, 3 günlük depolamadan sonra, özellikle 300 mg/kg lizozim ilave edilmiş numuneler tekstür, tat ve acılık bakımından kontrol örneğinden daha çok beğenilerek daha yüksek puanlar almıştır. Bu durumun, depolama sürecinde peynirde lipoliz ve proteolizden sorumlu olan psikrotrofik bakteriler başta olmak üzere bakteri üremesini önleyen lizozimin antimikrobiyal aktivitesine bağlı olduğu ifade edilmiştir.

Haniyah vd. (2016) Gouda peynirinin lizozim içeren kompozit yenilebilir film ile ambalajlanarak mikrobiyal gelişimi kontrol altına almaya çalışmışlardır. Yapılan araştırmada 8 hafta olgunlaştırma sürecine tabi tutulan Gouda peynirinde lizozim içeren ambalaj materyali sayesinde hem peynir yüzeyinde hem de peynirin iç kısmında mikrobiyal gelişimin engellendiği bildirilmiştir.

Mehyar vd. (2017) lizozim (%60 (w/w) lizozim/kitosan çözeltisi) içeren kitosan kaplamanın Hellim peynirinin raf ömrü, mikrobiyal ve duyuşal özellikleri üzerindeki etkisini araştırmış ve kaplamanın peynirin raf ömrünü uzattığını belirlemişlerdir. Söz konusu kaplamanın peynirin duyuşal özellikleri üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir.

Al-Baarri vd. (2018) lizozim ve laktoperoksidaz sistemlerinin Endonezya yumuşak peynirinde raf ömrüne olan etkisini araştırmışlardır. Araştırmada; steril saf su, lizozim, laktoperoksidaz sistemi (LPS) ve lizozim-LPS kombinasyonu ile muamele edilen peynirlerin mikrobiyolojik özellikleri oda sıcaklığında 18 saat boyunca değerlendirilmiştir. Steril saf su kullanılan kontrol örnekleri diğerleriyle karşılaştırıldığında henüz ilk saatte en yüksek bakteri sayısına sahip olduğu saptanmıştır. Lizozim ile muamele edilmiş peynir numunesinin toplam bakteri sayısı en düşük olarak belirlenmiştir. Ayrıca, işlem gören numunelerde mikrobiyal gelişimin 8 saatte inhibe edildiği görülmüştür. Endonezya yumuşak peynirleri üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktivite, LPS-lizozim kombinasyonu ve ardından lizozime daldırılan peynirde belirlemişlerdir. Lizozimin antimikrobiyal aktivitesini, bakteri ve fungusların hücre duvar yapısını hasara uğratma kabiliyetiyle açıklamışlardır.

Sözbilen ve Yemenicioğlu (2020) tarafından yürütölen bir araştırmada, *Listeria innocua* üzerine lizozim-nisin kombinasyonunun (500– 15.6 µg/ml) optimum aktivitesi üzerindeki pH ve sıcaklığın etkisini incelemişlerdir. Lizozim ve nisin kombinasyonunun pH 4,5 ve 6'da ısıtılmasıyla *L. innocua* üzerindeki antimikrobiyal etkinin en yüksek olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, lizozim-nisin kombinasyonunun 50 °C'de antimikrobiyal aktivitesinin pH'a bağlı olmadığını belirlemişlerdir. Bu bağlamda, sütün 50 °C'de ısıtılmasıyla sırasıyla nisin ve lizozim aktivitesinin %73 ve %63 korunduğunu

bulmuşlardır. Çiğ süttten geleneksel peynir üretiminde lizozim ve nisin katkılı süttün 50 °C'de ısıı işleme tabi tutulmasının hem gıda güvenilirliği açısından hem de aroma gelişimi için uygulanabileceği sonucuna varmışlardır. Ayrıca, pH aralığının 2,5-4'ten 4,50-6,50'ye değişmesinin lizozim aktivitesinde bir artışa neden olduğunu da bildirmişlerdir. Bu nedenle araştırmacılar, lizozimin antimikrobiyal etkisini gösterebilmesi için gıda maddelerinin pH değerinin de dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşama üretimde kullanılan yumurta ve mikrobiyal lizozimin in vitro koşullarda antimikrobiyal ve antifungal özellikleri belirlenerek İzmir Tulum peyniri üretiminde kullanılacak konsantrasyon belirlenmiştir. İkinci aşama ise in vitro koşullarda belirlenen konsantrasyonlar kullanılarak İzmir Tulum peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir. Denemenin ilk aşaması Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (ADÜ-TARBİYOMER), ikinci aşaması ise Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Entegre Süt İşletmesinde gerçekleştirilmiştir.

3.1 Materyal

3.1.1 Çiğ süt

Peynirlerin üretiminde Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Zootekni Bölümü Hayvancılık İşletmesinden temin edilen çiğ inek sütü kullanılmıştır.

3.1.2 Peynir mayası

Peynirlerin üretiminde Chr. Hansen firmasına ait NATUREN® MANDRA hayvansal peynir mayası (1/16.00 kuvvetinde rennet) kullanılmıştır.

3.1.3 Lizozim

Denemede kullanılan yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim enzimleri FMI Gıda Kimya İthalat-İhracat Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti (İzmir)'den temin edilmiştir. Mikrobiyal lizozim *Streptomyces* spp. bakterisinin fermentasyonu sonucu elde edilmiştir (Anonim 2018a).

3.1.4 Mikroorganizmalar

Termofilik laktik asit bakterileri Yo-Flex Express 1 Maysa, (İstanbul), *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) Pakmaya (İstanbul) firmasından ve *Aspergillus flavus* (*A. flavus*) ise ATCC 9643 2'li stik (01182P) Sigma (USA) firmasından temin edilmiştir.

3.1.5 Kaya tuzu ve salamura

Peynirlerin tuzlanması ve salamuranın hazırlanmasında kullanılan kaya tuzu piyasadan satın alma yoluyla temin edilmiştir.

3.1.6 Ambalaj materyali

Ay Plastik (İzmir) firmasından temin edilen 500 g'lık polietilen ağzı kapaklı kaseler peynirlerin ambalajlanmasında kullanılmıştır.

3.2 Yöntem

3.2.1 Üretiminde kullanılacak lizozim enzim preparatlarının konsantrasyonlarının in vitro koşullarda belirlenmesi

Ticari olarak temin edilen lizozim enzimleri aşağıdaki Çizelge 3.1'de verilen konsantrasyonlarda (20, 30, 40 ppm; 2, 8, 10 ppm) laktik asit bakterileri, maya ve küf üzerine olan antimikrobiyal etkisi in vitro koşullarda araştırılmıştır. Öncelikle lizozim enziminin antibakteriyel etkisini in vitro koşullarda belirlemeye yönelik yöntem araştırması yapılmıştır. Farklı lizozim preparatlarının artan dozajlarda farklı konsantrasyonlarının laktik asit bakterileri (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*), maya (*S. cerevisiae*) ve küf (*A. flavus*) üzerindeki antibakteriyel aktivitesini araştırmaya yönelik olarak antimikrobiyal duyarlılık testlerinden mikro dilüsyon tekniği uygulanmıştır. Gözle görünür bir bulanıklığın olmadığı en düşük antibakteriyel ajan konsantrasyonu, Minimum İnhibitör

Konsantrasyonu (MİK) belirlenmiştir (Aytar vd. 2019, Eucast 2014, Sümerkan ve Gökahmetoğlu 2020) ve uygun dilüsyonlardan agarlı besiyerine ekim yapılmıştır.

Çizelge 3.1 Lizozim ve kullanım konsantrasyonları

Lizozim Kaynağı	Kullanım Konsantrasyonu, ppm	Mikroorganizma Türü
Yumurta Lizozimi	20	<u>Laktik asit bakterileri</u> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ve
	30	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	40	<u>Maya</u> <i>S. cerevisiae</i> <u>Küf</u> <i>A. flavus</i>
Mikrobiyal Lizozim	2	<u>Laktik asit bakterileri</u> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> ve
	8	<i>Streptococcus thermophilus</i>
	10	<u>Maya</u> <i>S. cerevisiae</i> <u>Küf</u> <i>A. flavus</i>

3.2.1.1 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde örneklerin hazırlanması

Laktik asit bakterileri MRS Broth (De Man, Rogosa And Sharpe) besiyerinde 37°C’de 48 saat anaerobik koşullarda aktive edilmiştir. Laktik asit bakterilerinin konsantrasyonları spektrofotometrede 0,5 Mac-Farland (McF) olacak şekilde ayarlanmıştır. *S. cerevisiae* mayası Malt extract broth besiyerinde 25 °C’de 96 saat süreyle aktive edilmiştir. Yine konsantrasyon spektrofotometrede 0,5 Mac-Farland (McF) olacak şekilde ayarlanmıştır. *Aspergillus flavus* küfü Potato Dextrose Agar (PDA) katı besiyeri üzerine bir öze yardımıyla inoküle edilmiş ve 25°C’de 96 saat süreyle aktivasyonu gerçekleştirilmiştir. Oluşan hifler steril ringer çözeltisi içine alınarak 0,5 McF (yaklaşık 10⁸ kob/mL) olacak şekilde dilüsyon ayarlanmıştır.

Lizozim enzim preparatları ise mikrodilüsyon tüplerinde konsantrasyonları yumurta lizozimi için 20, 30 ve 40 ppm; mikrobiyal lizozimin ise 2, 8, 10 ppm şeklinde stok çözeltiden hazırlanmıştır (Anonim 2018b).

3.2.1.2 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi

Laktik asit bakterileri olarak *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterileri kullanılmıştır. İçinde MRS Broth bulunan 96 well plate üzerine 10^3 , 10^4 , 10^5 ve 10^6 kob/mL laktik asit bakterisi ekilmiş ve üzerine yumurta lizoziminden 20, 30 ve 40 ppm; mikrobiyal lizozimden 2, 8 ve 10 ppm konsantrasyonlarda inoküle edilmiştir. 37 °C'de 48 saat süreyle anaerobik ortamda inkübe edilmiştir. 96 well plate'ler 24 saat inkübasyon sonucunda plate okuyucu spektrofotometrede (Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate, USA) 600 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri yapılmıştır. İnhibisyon (%) hesaplaması içerisinde bakteri bulunmayan kuyucukların absorbans değeri diğer grupların absorbans değerinden çıkarılarak yapılmıştır.

3.2.1.3 Farklı lizozim preparatlarının farklı konsantrasyonlarının antifungal aktivitesinin belirlenmesi

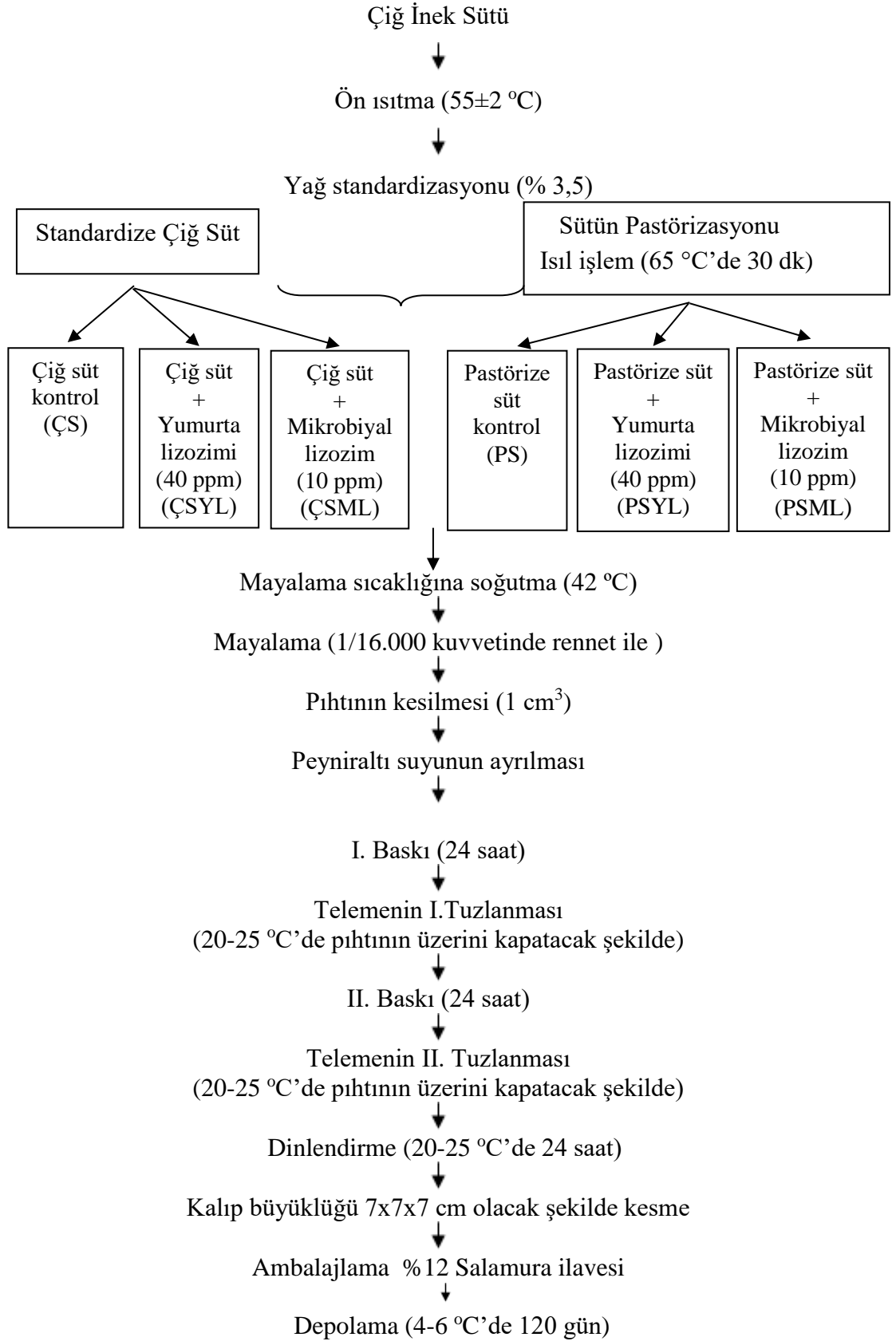
Malt Extract Broth besiyerinde *S. cerevisiae* mayası 25 °C'de 96 saat süre ile aerobik ortamda aktif hale getirilmiştir. 0,5 McF (yaklaşık 10^8 kob/mL) olacak şekilde dilüsyonu ayarlanmış ve bu dilüsyondan besiyerine ekim yapılmıştır. Yumurta lizoziminden 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonda mikrobiyal lizozimden ise 8, 10, 15 ve 20 ppm konsantrasyonlarda 96 well plate aktarılmıştır. Kontrol amaçlı natamisin 10 ppm düzeyinde uygulanmıştır. 25 °C'de 48 saatlik inkübasyon sonucu platelerde oluşan bulanıklığa göre Malt Extract Agar besiyerine ekim yapılmış ve yine 25 °C'de 48 saatlik inkübasyon sonucu oluşan koloniler değerlendirilmiştir.

Aspergillus flavus küfü Potato Dextrose Agar besiyerine bir öze yardımıyla aktarılmış ve hif oluşumu için 25°C'de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan hifler steril ringer

çözeltisi içine alınarak 0,5 McF (yaklaşık 10^8 kob/mL) olacak şekilde dilüsyon ayarlanmıştır. Maya için uygulanan prosedürler aynen uygulanmış olup 96 kuyucuklu plate içine besiyeri olarak Potato Dextrose Broth kullanılmış ve oluşan koloniler sayılmıştır.

3.2.2 Tulum peyniri üretimi

Tulum peyniri üretiminde, lizozim enziminin farklı preparatlarının **laktik asit bakterileri, maya ve küf** üzerine olan antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde in vitro koşullarda yapılan çalışmalar sonucuna göre yumurta lizoziminden 40 ppm, mikrobiyal lizozimden 10 ppm kullanımına karar verilmiştir. Bu dozajlar dikkate alınarak Tulum peyniri üretimi aşağıda verilen üretim şemasına göre gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Tulum peyniri üretim şeması (Koca 1996'nın önerdiği yöntemde bazı modifikasyonlar yapılarak üretim yapılmıştır)

Örnek kodlamaları aşağıdaki gibidir:

ÇS : Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri (Kontrol)

ÇSYL : Çiğ süttten üretilen yumurta lizozimi katkılı Tulum peyniri (40 ppm)

ÇSML : Çiğ süttten üretilen mikrobiyal lizozim katkılı Tulum peyniri (10 ppm)

PS : Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri (Kontrol)

PSYL : Pastörize süttten üretilen yumurta lizozimi katkılı Tulum peyniri (40 ppm)

PSML : Pastörize süttten üretilen mikrobiyal lizozim katkılı Tulum peyniri (10 ppm)

Tulum peyniri üretiminde çiğ süt, ikinci grupta ise pastörize süt kullanılmıştır. Her iki grup için çiğ inek sütü 55 ± 2 °C’de ön ısıtma işlemine tabi tutulmuştur (Şekil 3.1). Ardından %3,5 yağ standardizasyonu yapılmıştır. Yağ standardizasyonu yapılan çiğ süte lizozim ilavesi yapılmadan kontrol grubu Tulum peyniri olarak üretim gerçekleştirilmiştir. Çiğ süte 40 ppm düzeyinde yumurta lizozimi ve çiğ süte 10 ppm düzeyinde mikrobiyal lizozim ilavesi yapılarak üretim akım şemasında belirtildiği üzere sürece devam edilmiştir.

Pastörize süt kullanılan Tulum peyniri örnekleri de benzer şekilde üretilmiştir. Standardize edilen çiğ inek sütü 65 °C’de 30 dk ısıtma işlemine tabi tutularak pastörize edilmiştir. Pastörize süte lizozim ilavesi yapılmadan kontrol grubu olarak, pastörize süte 40 ppm düzeyinde yumurta lizozimi ve yine pastörize süte 10 ppm düzeyinde mikrobiyal lizozim ilavesi yapılarak Tulum peyniri üretimleri gerçekleştirilmiştir.

Hem birinci grup hem de ikinci grup peynir üretimlerinde kontrol gruplar ve lizozim katkılı örnekler mayalama sıcaklığı olan 42 °C’ye soğutulmuştur. Soğutulmuş sütler peynir teknesine alınmıştır. Ardından sütlere pıhtılaştırıcı enzim (1/16.000 kuvvetinde buzağı renneti, şirden; Christen Hansen, İstanbul) ilave edilmiş ve 30 dk sonrasında pıhtı 1 cm × 1 cm × 1 cm boyutlarında kesilmiştir (Şekil 3.3). Pıhtı kesimi yapıldıktan sonra peynirler baskıya alınarak peyniraltı suyunun ayrılması sağlanmıştır. Peynirlerde acı suyun uzaklaştırılması amacıyla peynir yüzeylerine I. ve II. tuzlama olarak kuru tuzlama yapılmıştır. Birinci baskı sonrasında I. tuzlama, II. baskı sonrasında da II. kuru tuzlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Akabinde 20-25 °C’de 24 saat dinlendirmeye bırakılmış olup

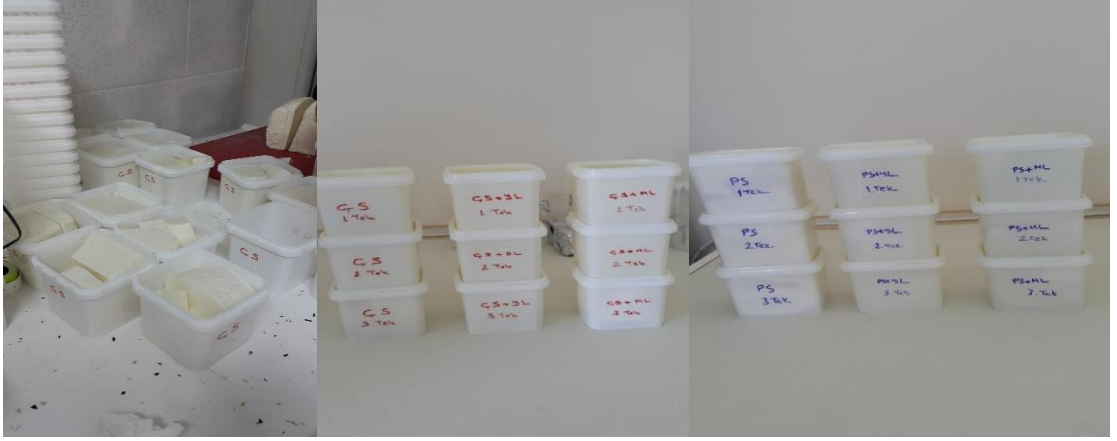
dinlendirme sonrasında peynirler eşit büyüklükte kalıplar (7x7x7 cm) şeklinde kesilmiştir. Ardından, 500 g'lık plastik ambalajlara aktarılarak üzerine %12 tuz içeren salamura ilave edilmiştir. Sonrasında plastik ambalajların kapakları sıkıca kapatılarak Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Süt İşletmesi soğuk hava deposuna (4°C) alınarak 4 ay süre zarfında olgunlaştırılmıştır. Üretim 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve depolamanın 1., 30., 60., 90., 120. günlerinde fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4, Şekil 3.5).



Şekil 3.2 Üretimin yapıldığı işletmede yer alan proses tankları



Şekil 3.3 Pıhtı oluşumunun takibi



Şekil 3.4 Tulum peyniri örneklerinin 1.günü



Şekil 3.5 Tulum peyniri örneklerinin 120. günü

3.2.3 Çiğ sütte yapılan fiziksel ve kimyasal analizler

3.2.3.1 pH tayini

Çiğ süt pH değerleri birleşik elektrotlu Orion 3 Star marka pH metre kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.3.2 Titrasyon asitliği tayini

Çiğ sütte asitlik, alkali titrasyon yöntemiyle belirlenmiş olup sonuçlar % laktik asit cinsinden verilmiştir (Anonim 1994).

3.2.3.3 Kurumadde oranı

Çiğ sütün kurumaddesi, belirli miktardaki örneğin 100 ± 2 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulması ile gravimetrik olarak belirlenmiştir. Sonuçlar % kurumadde olarak ifade edilmiştir (IDF 1982).

3.2.3.4 Yağ oranı

Çiğ sütte yağ miktarı Gerber yöntemine göre % yağ olarak belirlenmiştir (Anonim 1994).

3.2.3.5 Toplam azot ve protein oranı

Çiğ sütün protein miktarı, Kjeldahl yöntemi kullanılarak bulunan toplam azot miktarının 6.38 faktörü ile çarpılarak belirlenmiştir (IDF 1993).

3.2.4 Tulum peynirlerinde yapılan fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal analizler

Üretimi yapılan İzmir Tulum peyniri örneklerinin analizi Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tarımsal Biyoteknoloji ve Gıda Güvenliği Uygulama ve Araştırma Merkezi (ADÜ-TARBIYOMER)'de gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.1 pH tayini

Peynir örneklerinin pH değerleri birleşik elektrotlu Orion 3 Star marka pH metre kullanılarak ölçülmüştür. pH ölçümleri peynirin 3 farklı kısmından yapılmıştır (Polychroniadou vd. 1994).

3.2.4.2 Titrasyon asitliği

Peynirlerin titrasyon asitliği değerleri TS 591 Beyaz Peynir Standardı'nda belirtilen alkali titrasyon yöntemi ile belirlenmiş ve sonuç % laktik asit cinsinden verilmiştir (Anonim 2006).

$$\% \text{Laktik asit} = [0,1 * F * 0,09 * (V1 - V2)] / m * 100$$

3.2.4.3 Kurumadde içeriği

Peynir örneklerinde kurumadde içeriği, gravimetrik yöntemle TS EN ISO 5534 "Peynir ve işlenmiş peynir - toplam kurumadde içeriğinin belirlenmesi" metoduna göre hesaplanmıştır. Söz konusu yöntem ile 3-5 g peynir örneği 100±2 °C'de etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuş olup gravimetrik olarak (% w/w) kurumadde içeriği belirlenmiştir (Anonymous 2004).

3.2.4.4 Yağ tayini ve kurumaddede yağ miktarı

Peynir örneklerindeki yağ oranı 0-40 ölçekli peynir bütirometreleri kullanılarak Gerber yöntemi ile belirlenmiştir (Anonymous 2008). Kurumaddedeki yağ miktarları, peynirlerin yağ oranının toplam kurumaddeye oranlanması yoluyla % olarak hesap edilmiştir.

3.2.4.5 Tuz tayini ve kurumaddede tuz tayini

Tuz oranları Mohr titrasyon yöntemine göre, hazırlanan örneğin ayarlı 0.1 N AgNO₃ ile titrasyonu sonucu belirlenmiştir (Bradley vd. 1993). Sonuçlar % (w/w) olarak ifade edilmiştir. Kurumaddede tuz oranı örneklerin tuz oranının toplam kurumaddeye oranlanması sonucunda % olarak saptanmıştır.

3.2.4.6 Toplam azot (TN) ve protein

Peynir örneklerindeki toplam azot (TN) ve protein miktarları Mikro Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir (Anonymous 1993b). Protein oranı, bulunan azot miktarının 6,38 katsayısı ile çarpılmasıyla hesaplanmıştır.

3.2.4.7 Suda çözünen azot (SÇA) miktarının belirlenmesi

20 g peynir örneği 40 °C'lik 40 mL su ile karıştırılarak Stomacher cihazı kullanılarak 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize edilen karışım aynı sıcaklıkta 1 saat su banyosunda tutulduktan sonra +4°C' de 3000 g' de 30 dakika santrifüj (Eppendorf Marka, 5810 R Model santrifüj, Hamburg, Germany) edilmiştir. Santrifüjlemeden sonra, üst kısımdaki yağ tabakası bir spatül ile uzaklaştırılarak, sıvı kısım filtre kağıdından (Whatman No 42) süzümüştür (Kuchroo ve Fox 1982). Daha sonra, filtrattan 10 mL alınarak, Mikro Kjeldahl metodu ile SÇA oranı saptanmıştır (Anonymous 2003).

$$\text{“\% S\c{C}A (w/w) = [1.4 x (V1-V0) x N x F] / m”}$$

V₁: Örnek için harcanan HCl, ml

V₀: Kör denemede harcanan HCl, ml

N: HCl'nin standart volumetrik çözeltisinin normalitesi

F: HCl çözeltisinin faktörü

m: Örnek miktarı, g

3.2.4.8 Olgunlaşma katsayısı

Suda çözünen azot içeriğinin toplam azota oranı olarak ifade edilen olgunlaşma katsayısı aşağıdaki formül yoluyla hesaplanmıştır (Venema vd. 1987).

$$\text{(Suda çözünen azota göre) Olgunlaşma indeksi = S\c{C}A / TN x 100}$$

3.2.4.9 Randıman

Peynir örneklerinin randımanı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{“Randıman (\%) = [Ham peynir miktarı / Süt miktarı] x 100”}$$

3.2.4.10 Serbest yağ asitleri kompozisyonunun belirlenmesi

Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri profilinin belirlenmesinde Güler (2008) ve Deeth vd. (1983) tarafından bildirilen yöntemler küçük modifikasyonla kullanılmıştır. Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri tayininde, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ile donatılmış bir gaz kromatografisi (Agilent 6890N, Agilent Technologies, ABD) kullanılmıştır. Yağ asitleri HP-FFAP kolonu ile ayrılmıştır (J&W 19091F – 433, Agilent Technologies, ABD; 30 m×0.25 mm i.d; 0.25 µm film kalınlığı).

GC koşulları şu şekilde ayarlanmıştır:

Enjeksiyon hacmi 2 mikrolitre ve GC fırınının sıcaklığı 120 °C ile başlanmış olup dakikada 10 °C artış ile 230 °C ye ulaşılmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 230 °C olarak belirlenmiştir.

Taşıyıcı gaz olarak azot kullanılmış ve akış hızı 1 ml/dk olarak belirlenmiştir.

Split oranı 1:10 olarak ayarlanmıştır. Yağ asidi tanımlaması için sample olarak alınan C₄, C₆, C₈, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆, C₁₈, C_{18:1}, C_{18:2} yağ asitleri standartları (Sigma-Aldrich, Almanya) 50, 100, 150, 200 ve 250 ppm konsantrasyonlarda eter içinde hazırlanmış ve GC'ye enjekte edilmiştir. Daha sonra standardın kurvesi çizilerek eğimi R²:0,99128 olarak bulunmuştur. Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri sonuçları kurve kullanılarak ppm olarak hesaplanmıştır.

Analize başlamadan önce, serbest yağ asitlerinin peynirden ayrıştırılması için her bir örnek için 1 gram nötral alüminyum oksit, alüminyum oksitin deaktivasyonu için kullanılmak üzere bir behere tartılmıştır. Her 1 gram nötral alüminyum oksit için 50 µL su eklenerek cam bir çubukla karıştırılmış ve deaktivasyon için kapatılmış bir şekilde 2 saat bekletilmiştir. Homojen bir karışım elde etmek için örnek iyice karıştırılmış ve 50 mL'lik şilifli erlene, 0.1 mg hassasiyetle tam 2.5 g hassas tartım yapılmıştır. Üzerine 2.5 g Na₂SO₄ ekledikten sonra, 5 mL iç standart (heptanoik asit, C7) ve 300 µL H₂SO₄ ilave edilerek 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra her örnek için 5 mL hexan çözeltisi eklenmiş ve ağız sıkıca kapatılarak 1 dakika karıştırılmıştır. Erlenin ağız kısmı parafilmle kapatılarak buharlaşma olmadığından emin olunmuş ve örnekler 1 saat bekletilmiştir.

Örnekler beklerken, Biorad ekstraksiyon kolonuna (Poly-Prep®, 2 ml besleme hacmi, 0,8x4 cm) önceden deaktivasyon işleminden geçirilmiş 1 g Al₂O₃ tartılmıştır. Her bir kolon, 5 mL hexan/dietileter çözeltisi ile yıkanmıştır. İçerisinde 0.5 mL hexan/dietileter çözeltisi kalan Biorad kolonu cam test tüpünün üzerine yerleştirilmiştir. Daha sonra 1 saat bekletilen örneklerin üzerindeki sıvı kolondan akıtılmıştır. Örnek, kolondan iki kez geçirildikten sonra kolon, hexan/dietileter ile iki kez yıkanmıştır. Kolonlar 5 psi basınçlı hava ile kurutulmuştur. Kurumuş alüminyum oksit, kolondan santrifüj tüpüne aktarılmış ve üzerine 2 mL %6'lık eter formik asit eklenerek 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj

edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra berrak kısım pastör pipetiyle viallere aktarılmıştır. Örnekler, viallarda gaz kromatografisi cihazına enjekte edilinceye kadar -18 °C'de saklanmıştır. Son olarak, yukarıda belirtilen GC koşullarında, viallerden kolona 2 µL enjeksiyon yapılmıştır. Standart çözeltilere ait ve örneklerin serbest yağ asitleri bileşimini gösteren kromatogramlar Eklerde verilmiştir.

3.2.4.11 Uçucu bileşenlerinin tespiti

Peynir örneklerinden 1. 60. ve 120. günü örneklerinde uçucu bileşenlerinin tespiti için gaz kromatografi sistemine enjeksiyonları ve uçucu bileşenlerin tanımlanması ve alıkonma sürelerinin belirlenmesinde Whetstone vd. (2003) metodu kullanılmıştır.

Peynirlerde bulunan uçucu bileşenlerin ekstraksiyonunda, Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME) yöntemi kullanılmıştır (Stashenko ve Martinez 2007). Tulum peyniri örneklerinden 10'ar gram 40 mL'lik amber viallere tartılmış, 1 g NaCl (örnek miktarının %10'u) ve 10 µL internal standard (81 ppm, 2 metil 3-heptanon)) ilave edilmiştir. Viallerin ağzı sıkıca kapatılarak analiz edilinceye kadar -18 °C derin dondurucuda saklanmıştır. Vialler Gaz kromatografisi sistemine enjeksiyonundan önce SPME ekstraksiyon düzeneğinde 40 °C de 30 dakika uçucu bileşenlerin dengelenmesi için bekletilmiştir. Ardından, 50/30 µm Divinylbenzene/ Carboxen/ Polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS, Agilent, USA) fiber üzerine uçucu bileşenlerin adsorpsiyonu için fiber ile birlikte aynı sıcaklıkta 30 dk daha bekletilmiş ve sonrasında GC (GK)'e enjeksiyon yapılmıştır.

Uçucu bileşenlerin ayrımında, kütle spektrometresinde tanımlanması için, üzerinde kütle spektrometresi (mass spectrometer) ve alev iyonlaşma dedektörü (flame ionization detector, FID) bulunan Agilent marka GC 7890A (Agilent, USA) gaz kromatografisi kullanılmıştır. SPME yöntemi ile fiber üzerine adsorbe olan uçucu bileşenlerin fiberden enjeksiyon bloğuna desorpsiyonu, manuel olarak splitless modunda yapılmış 250 °C' de fiber 10 dk desorpsiyon için tutulmuştur. DB Wax kolonda (122-7032, Agilent Technologies, ABD; 30 m×0,25 mm i.d; 0,25 µm film kalınlığı) ayrılan uçucu bileşenler, GC5975 C MSD kütle spektrometresinde 30-300 m/z aralığında taranarak belirlenmiştir.

Gaz kromatografisinde kolon sıcaklık programı; 40°C'de 5 dakika bekletme, 10°C'lik artışla 100°C'ye ısıtma, 20°C'lik artışla 200°C'ye ısıtma ve bu sıcaklıkta 10 dakika bekletme şeklinde uygulanmıştır. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında NIST/Flavournet kütüphanelerinde (2009) tarama yapılmıştır. Uçucu bileşenlerin miktarları, örneklerin ekstraksiyonu sırasında kullanılan iç (internal) standart olan 100 ppm 2-methyl-3-heptanone (Sigma-Aldrich, USA) alanları ve uçucu bileşenlerin gaz kromatografisinde elde edilen alanları kullanılarak aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Relatif Miktar } (\mu\text{g/kg}) = \frac{\text{Uçucu bileşenin alanı}}{\text{İç standartın alanı}} \times \text{Düzeltilme faktörü (0,81)}$$

3.2.5 Çiğ sütte ve peynirlerde mikrobiyolojik analizler

Çiğ süt örneklerinin ve Tulum peynirlerinin mikrobiyolojik analizleri standart kültürel sayım yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir (Halkman ve Ayhan 2000). Sonuçlar logaritmik olarak verilmiştir (log kob/ml-g).

3.2.5.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (kob/ml-g)

Plate Count Agar (PCA) besiyerine ekim yapılarak 32 °C'de 48 saat inkübasyon sonucu oluşan tüm koloniler sayılmıştır.

3.2.5.2 Toplam Koliform (kob/ml-g)

Chromocult Coliform Agar (CCA) besiyerine ekim yapılarak 37 °C'de 24 saat inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

3.2.5.3 E. coli (kob/ml-g)

Violet Red Bile Agar (VRBA) besiyerine çift kat dökme kültür yöntemiyle ekim yapılarak 37 °C’de 24 saat anaerobik inkübasyon sonucu oluşan vişne renkli koloniler sayılmıştır.

3.2.5.4 Küf, maya (kob/ml-g)

Patoto Dextrose Agar (PDA) besiyerine ekim yapılarak 25 °C’de 96 saat aerobik inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

3.2.5.5 Laktik asit bakterileri (kob/ml-g)

MRS Agar ve M17 Agar besiyerine çift kat dökme kültür yöntemiyle ekim yapılarak 37°C’de 48 saat anaerobik inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır.

3.2.5.6 Sporlu mikroorganizma sayımı (koloni oluşturan birim/ml-g)

Tryptose Sulfite Cyclocerine Agar (TSC) besiyerine çift kat dökme kültür yöntemiyle ekim yapılmış, 37 °C’de 48 saat anaerobik inkübasyon sonucu oluşan koloniler sayılmıştır. Öncesinde ise hazırlanan dilüsyonlara 85 °C’de 5 dakika su banyosunda ısıtılma işlemi uygulanmıştır.

3.2.6 İstatistik analizleri

Lizozim enziminin farklı preparatlarının kullanılması ile üretilen Tulum peynirlerinin özellikleri arasındaki farkı ve depolama süresinin (1., 30., 60., 90. ve 120. gün) etkilerini belirlemek amacıyla tek yönlü varyans analizi (One-way Anova) uygulanmıştır. SPSS (24 versiyon, IBM) istatistik paket programı kullanılmıştır. Varyans analizi sonucunda önemli olan veriler Duncan testine göre çoklu karşılaştırma $P<0,05$ düzeyinde test edilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Aşağıda ilk olarak denemenin birinci aşaması olan yumurta ve mikrobiyal lizozim enziminin antimikrobiyal özelliklerine ilişkin veriler sunulmuştur. Daha sonra konsantrasyonu belirlenen lizozim enzimleri kullanılarak üretilmiş olan İzmir Tulum peynirlerinin 120 günlük depolama süresince fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimleri araştırılmıştır.

4.1 Lizozim Enzim Preparatlarının Antimikrobiyal Aktivitesi

4.1.1 Farklı lizozim preparatlarının değişik konsantrasyonlarının antibakteriyal aktivitesinin belirlenmesi

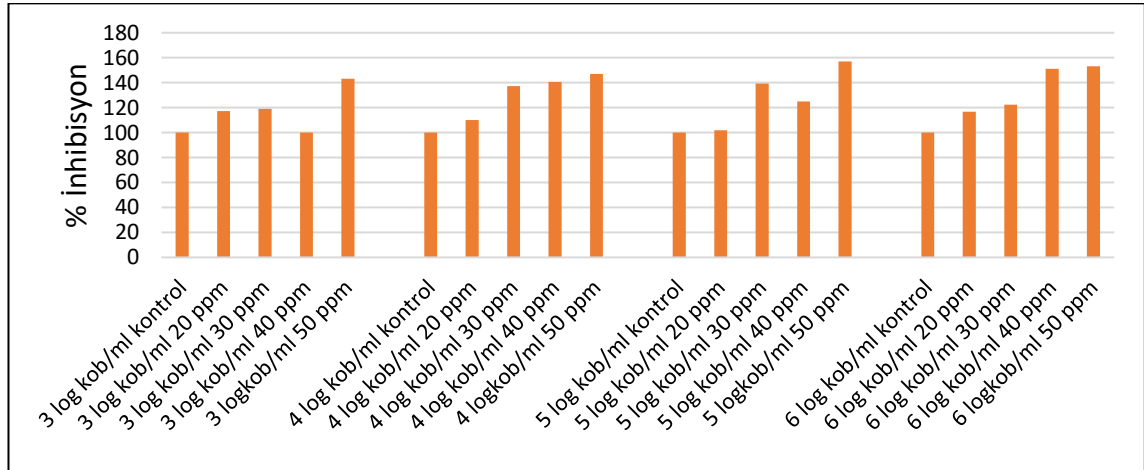
Yumurta lizozimi (YL) ve mikrobiyal lizozim (ML) preparatlarının artan konsantrasyonlarda laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal etkisinin belirlenmesi amacıyla 24 saat inkübasyon sonucunda 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülmüş ve canlı hücre oranı hesaplanmış, Çizelge 4.1’de ve Şekil 4.1- 4.2’de sonuçlar verilmiştir.

Çizelge 4.1 Farklı lizozim preparatlarının artan konsantrasyonlarda laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal etkisi

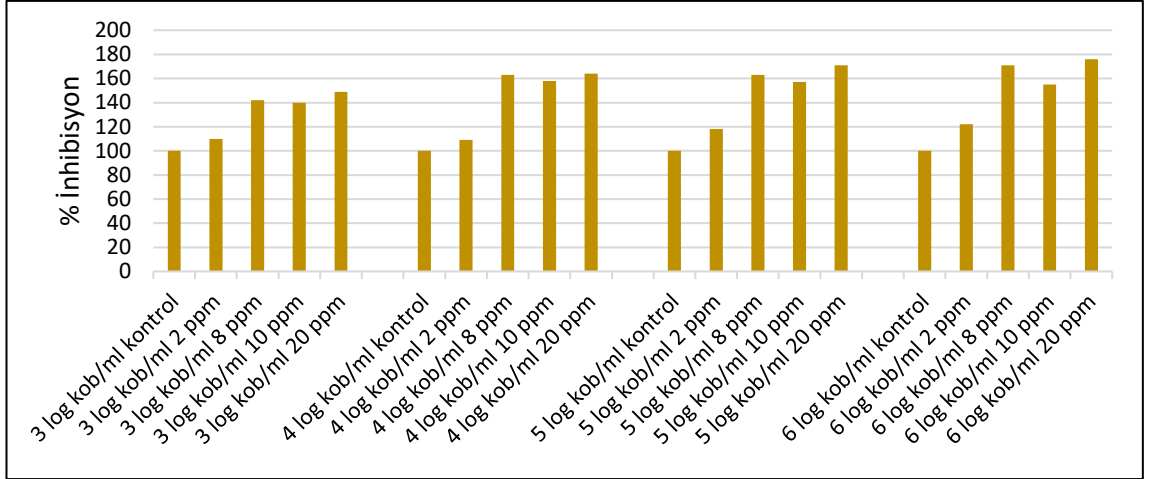
YL ve ML Konsantrasyonları		Laktik asit bakteri konsantrasyonu (37 °C’de 24 saat)			
		10 ³ kob/ml	10 ⁴ kob/ml	10 ⁵ kob/ml	10 ⁶ kob/ml
Kontrol	Absorbans	0,089	0,088	0,087	0,088
	Canlı hücre	100	100	100	100
20 ppm	Absorbans	0,245	0,23	0,213	0,244
	Canlı hücre	117	110	101	116
30 ppm	Absorbans	0,249	0,287	0,291	0,256
	Canlı hücre	119	137	139	122
40 ppm	Absorbans	0,304	0,287	0,261	0,316
	Canlı hücre	100	140	124	151

Çizelge 4.1 Farklı lizozim preparatlarının artan konsantrasyonlarda laktik asit bakterileri üzerine olan antibakteriyal etkisi (devam)

YL ve ML Konsantrasyonları		Laktik asit bakteri konsantrasyonu (37 °C'de 24 saat)			
		10 ³ kob/ml	10 ⁴ kob/ml	10 ⁵ kob/ml	10 ⁶ kob/ml
50 ppm	Absorbans	0,299	0,307	0,328	0,32
	Canlı hücre	143	146	156	153
2 ppm	Absorbans	0,11	0,109	0,118	0,122
	Canlı hücre	110	109	118	122
8 ppm	Absorbans	0,142	0,163	0,163	0,171
	Canlı hücre	142	163	163	171
10 ppm	Absorbans	0,14	0,158	0,157	0,155
	Canlı hücre	140	158	157	155
20 ppm	Absorbans	0,149	0,164	0,171	0,176
	Canlı hücre	149	164	171	176



Şekil 4.1 Yumurta lizoziminin antibakteriyal aktivitesi (log kob/ml, 24 saat)



Şekil 4.2 Mikrobiyal lizozimin antibakteriyal aktivitesi (log kob/ml, 24 saat)

Yukarıda belirtilen konsantrasyonlarda gerek yumurta lizoziminin gerekse mikrobiyal lizozimin laktik asit bakterileri üzerinde antibakteriyal etkisinin olmadığı saptanmıştır.

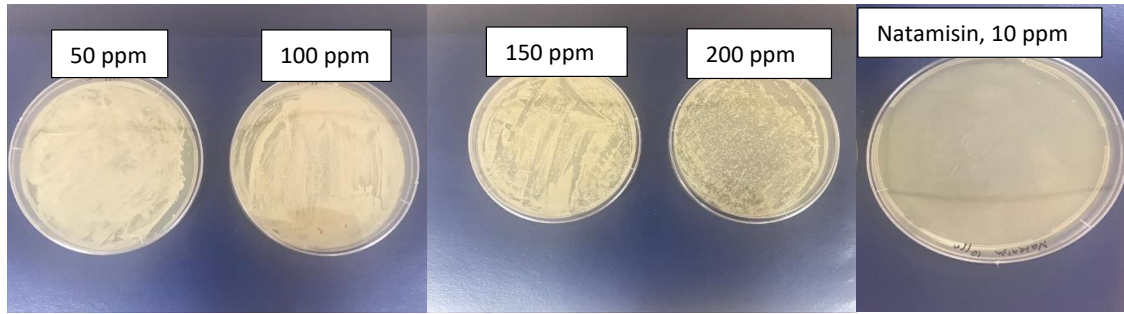
Lizozim 20-35 mg/L oranında starter kültür aktivitesini etkilemezken, *C. tyrobutyricum*'un peynirde gelişimini önlemektedir (Davidson vd. 2005).

Şaraplardan izole edilen laktik asit bakterileri üzerine lizozimin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, lizozimin laktik asit bakterilerine olan etkisinde tür ve suşun önemli olduğu ve bazı laktobasil suşlarının, 1000 ve 2000 mg/L gibi yüksek lizozim konsantrasyonlarında hayatta kalarak lizozime karşı oldukça dirençli olduğu bulunmuştur (Dias vd. 2015).

İtalyan sert peynirinin starter kültürlerinde lizozime karşı yüksek duyarlılığa sahip birçok suş bulunmuştur oysa Carini vd. (1985) bu peynirlerin üretiminde kullanılan lizozim konsantrasyonlarında birçok laktik asit bakterisinin etkilenmediğini belirtmiştir. Ayrıca, Gouda peyniri üretiminde kullanılan starterin lizozime çok dirençli olduğunu düşünmüştür (Brandle vd. 2016). Ayrıca benzer sonuçlar Sinigaglia vd. (2008), Mucchetti vd. (2009), Conte vd. (2011) ve Solieri vd. (2014) tarafından da rapor edilmiş olup bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

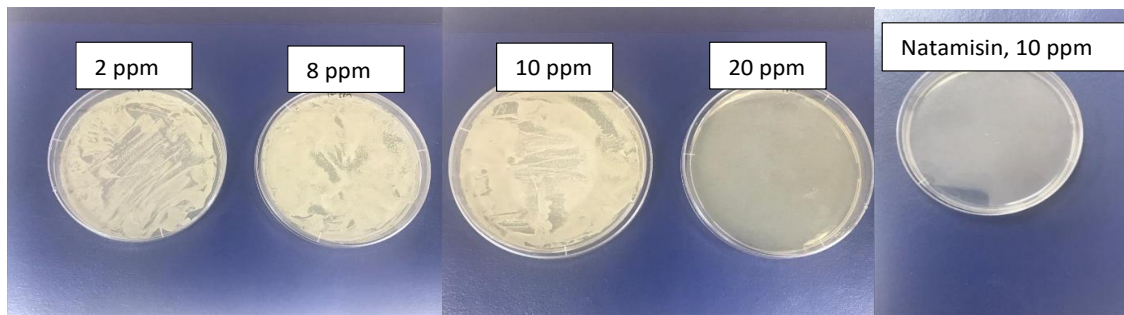
4.1.2 Farklı lizozim preparatlarının farklı konsantrasyonlarının maya ve küf üzerine olan antifungal aktivitesinin belirlenmesi

Yumurta lizozimi ve mikrobiyolojik lizozimin *S. cerevisiae* üzerine olan antifungal etkisi aşağıda verilmiştir (Şekil 4.3). *S. cerevisiae* üzerine yumurta lizozimi 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonlarında uygulanmasına rağmen maya gelişiminin olduğu gözlemlenerek yumurta lizoziminin söz konusu maya üzerinde antifungal aktivite göstermediği saptanmıştır.



Şekil 4.3 *S. cerevisiae* üzerine yumurta lizoziminin antifungal etkisi

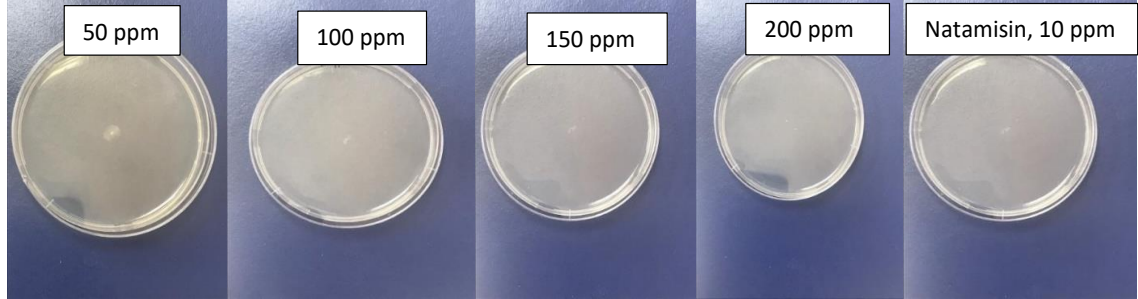
S. cerevisiae üzerine mikrobiyal lizozim 2, 8, 10 ve 20 ppm düzeylerinde uygulanmış olup 10 ppm e kadar tüm petrilerde üreme olduğu sadece 20 ppm konsantrasyonda antifungal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 *S. cerevisiae* üzerine mikrobiyal lizoziminin antifungal etkisi

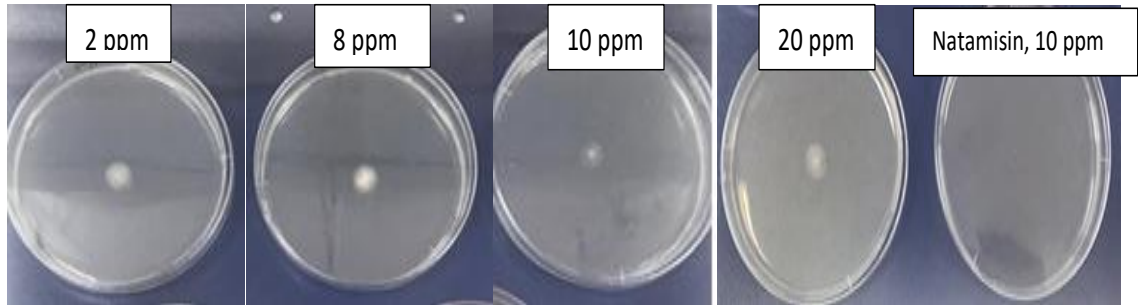
A. flavus üzerine yumurta lizozimi 50, 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonlarında uygulanmış olup 50 ppm'den sonra antifungal etki gösterdiği saptanmıştır. Uygulanan

diğer konsantrasyonlarda, 100, 150 ve 200 ppm, ise küf gelişimi görülmemiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5 A. *flavus* üzerine yumurta lizoziminin antifungal etkisi

Benzer sonuçlar mikrobiyal lizozimde de elde edilmiştir (Şekil 4.6). Mikrobiyal lizozimin *A. flavus* üzerine antifungal etkisi görsellerde belirlense de 20 ppm'in üzerinde çalışılması gerektiği düşünülmektedir.



Şekil 4.6 A. *flavus* üzerine mikrobiyal lizoziminin antifungal etkisi

Üstüncöl (2006) lizozimin *A. flavus* ve *A. parasiticus* küflerinin gelişimi üzerinde etkisini araştırdığı çalışmasında 0-500 ve 1500 ppm konsantrasyonda lizozim enzimi kullanımının küfler üzerinde herhangi bir etkiye neden olmadığını bildirmiştir.

Razavi-Rohani ve Griffiths (1999) lizozimin tek başına *Aspergillus flavus* MM3 üzerine olan antifungal aktivitesinde Minimum İnhibisyon Miktarının ($\mu\text{g/ml}$)>9530 iken, eşit

konsantrasyonda EDTA ile birleştirilmesi sonucu oluşan sinerjistik etkiyle MİK değerinin 94 olarak saptandığını rapor etmişlerdir.

Mayalar, yarı-sert, yumuşak, küflü ve salamurada olgunlaştırılanlar peynirler gibi farklı tip peynirlerin mikrobiyotasında önemli bir yere sahip olup peynir üretiminde destek kültür olarak kullanılabilir. Peynirlerden izole edilen maya türlerinin çeşitlilik göstermesine rağmen *S. cerevisiae*'nın en sık rastlanılan mayalar arasında yer aldığı belirtilmektedir (Kesenkaş ve Akbulut 2006, Yalçın vd. 2011). Gonçalves vd. (2020), Frescal peynirinde tespit edilebilir AFM1 (Aflatoksin M1) seviyesini azaltmak için katkı maddesi olarak LAB'ler ve *S. cerevisiae*'yı kullanmişlar ve peynirin raf ömrü üzerinde herhangi bir olumsuz etkiye sahip olmadığını belirlemişlerdir. Ayrıca *S. cerevisiae*'nın, AFM1'i bağlamak için yüksek bir kapasite gösterdiğini ve pH değişimlerine karşı oldukça dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu mayanın süt ürünlerinde kullanımı ile ilgili ileri çalışmalar yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Aflatoksinler, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus* ve *Aspergillus nomius* gibi küfler tarafından üretilen toksik maddelerdir. Süt ve ürünlerinde en sık rastlanan türü aflatoksin M1'dir. Süt ve ürünlerinde aflatoksin M1 düzeyinin azaltılması konusunda çeşitli çalışmalar olmasına rağmen toksinin detoksifikasyonu ile ilgili daha fazla çalışma yapılmasına gereksinim bulunmaktadır (Mehenkaş 2019). Tarafımızdan yapılan araştırmada da lizozimin *S. cerevisiae* üzerinde antifungal etki göstermediği ve süt ürünlerinde söz konusu maya ve lizozimin birlikte kullanılarak peynirde bozulmaya ya da halk sağlığını tehdit edici oluşumların önlenmesine yönelik olarak sinerjistik etkinin artırılabilceği düşünölmektedir.

4.2 Üretimde Kullanılan Sütün Özellikleri

4.2.1 Sütün fiziksel ve kimyasal özellikleri

Peynir üretiminde kullanılan hammadde çiğ inek sütünün fiziksel ve kimyasal özellikleri Çizelge 4.2'de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.2 Çiğ inek sütünün fizikokimyasal özellikleri, n=3*

Özellikler	Değerler
pH	6,56±0,00
Titrasyon Asitliği, %LA	0,164±0,002
Kurumadde, %	12,16±0,06
Yağ, %	3,53±0,05
Protein, %	3,05±0,02
Kül,%	0,706±0,01
Özgül Ağırlık, Laktodansimetre	1,031±0,001

Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliğine göre; çiğ inek sütündeki toplam protein miktarının en az %2,9; asitlik değerinin 0,135-0,20; yoğunluk değerinin en az 1,028 ve yağ oranının ise en az %3,5 olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim 2019). Peynir üretiminde kullanılan çiğ sütün özelliklerinin Tebliğe uygun olduğu saptanmıştır. Ayrıca literatürde inek sütü için bulunan veriler ile uyum içerisindedir (Baran ve Adıgüzel 2020, Karaman ve Akalın 2013, Say ve Güzeler 2008).

4.2.2 Sütün mikrobiyolojik özellikleri

Hammadde inek sütünün mikrobiyolojik analiz sonuçları standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.3’de görülmektedir. Çiğ sütün toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) içeriği ortalama 6,415±0,216 log kob/g olarak belirlenmiştir. Toplam bakteri olarak bilinen bu mikroorganizmalar çiğ süt kalitesinde, depolama sırası ve sonrasında ise ürün kalitesinde önemlidir (Üzüm 2006). Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği’nde çiğ inek sütü için 30 °C’deki koloni sayısının (her mililitrede) ≤ 100.000 kob ml olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim 2011b). Bu çalışmada elde edilen değer yüksek bulunmuştur. Bilindiği gibi çiğ sütün kalitesini etkileyen pek çok faktör vardır. Bu faktörlerin arasında hayvanın türü, yemleme, hayvanın sağlığı, sağım arası mesafe ve sağım şekli, laktasyon ve hatta hayvanın

bulunduğu çiftliğin küçük veya büyük işletme kapasitesinde olması yer almaktadır (Baran ve Adıgüzel 2020).

Türk Gıda Kodeksi Hayvansal Gıdalar İçin Özel Hijyen Kuralları Yönetmeliği'nde çiğ süt için maya-küf, koliform ve *E. coli* için herhangi bir sınırlama yoktur. Gerek maya-küf gerekse *E. coli* kontaminasyonun göstergesidir. Maya ve küf sağım ve ahır koşullarının temiz ve havadar olup olmadığını belirtmektedir. Koliform ve *E. coli* ise fekal bulaşmayı ifade etmektedir. Bu mikroorganizmalar ısı işlem ile inaktif hale gelseler bile ürün kalitesini etkilemektedir. Bu çalışmada belirlenen çiğ sütün mikrobiyolojik kriterleri Baran ve Adıgüzel (2020) ile Göncü vd. (2017) değişik zamanlarda ve yerlerde yapmış oldukları çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Çizelge 4.3 Çiğ inek sütünün mikrobiyolojik özellikleri, n=3

Özellikler	Değerler
TMAB, log kob/ml	6,415±0,216
Maya-Küf, log kob/ml	5,358±0,111
Laktobasil sayısı, log kob/ml	5,710±0,226
Laktokok sayısı, log kob/ml	5,916±0,078
Koliform mo sayısı, log kob/ml	2,893±0,089
<i>E. coli</i> , log kob/ml	1,816±0,06
Sporlu mo sayısı, log kob/ml	0,100±0,173

4.3 Peynir Örneklerine Ait Fiziksel, Kimyasal ve Biyokimyasal Özellikler

4.3.1 pH değerleri

Tulum peyniri örneklerinin pH değerlerine ait ortalama değerler ve depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.4'de standart hatalarıyla birlikte verilmiş ve pH değişimini daha rahat analiz etmek amacıyla Şekil 4.7 oluşturulmuştur.

Çizelge 4.4 Peynir örneklerinin pH değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	5,75±0,16 Bbc**	5,80±0,12 Ac	5,55±0,11 Aab	5,43±0,13 Aa	5,41±0,04 Aa	5,58±0,02 c
ÇSYL	5,45±0,09 Aab	5,87±0,11 ABd	5,77±0,09 Bcd	5,33±0,04 Aa	5,60±0,18 ABbc	5,60±0,02 c
ÇSML	5,49±0,10 Aa	5,90±0,14 ABb	5,95±0,01 Cb	5,54±0,10 ABa	5,61±0,09 ABa	5,69±0,02 bc
PS	6,11±0,07 Cd	5,82±0,07 Ac	5,85±0,06 BCc	5,35±0,02 Aa	5,63±0,06 ABb	5,75±0,02 ab
PSYL	6,11±0,06 Cb	6,04±0,03 Bb	5,79±0,03 Ba	5,75±0,17 Ba	5,63±0,14 ABa	5,86±0,02 a
PSML	6,06±0,13 Cb	6,01±0,03 Bb	5,85±0,04 BCab	5,62±0,28 ABa	5,76±0,20 Bab	5,86±0,02 a

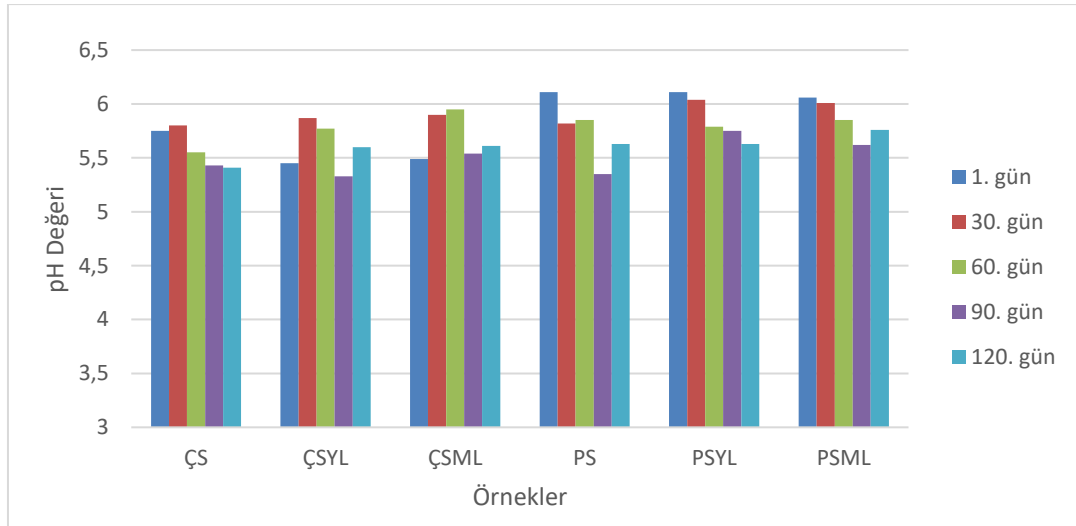
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin pH değerleri Çizelge 4.4’de görüldüğü gibi 5,33 (90. gün ÇSYL) ile 6,11 (1. gün PS ve PSYL) arasında değişmiş ve depolama süresince dalgalı bir seyir izlediği görülmüştür. Olgunlaşmanın ilk gününde taze Tulum peyniri örneklerinde en yüksek pH değeri 6,11 ile PS ve PSYL örneklerinde, en düşük pH değeri ise 5,45 ile ÇSYL örneğinde saptanmıştır. Olgunlaşma süresi sonunda en yüksek pH değerini 5,76 PSML örneğinde, en düşük pH değeri ise 5,41 olarak ÇS örneğinde belirlenmiştir.

Çiğ süttten üretilen (ÇS) ve lizozim katkılı örneklerin (ÇSYL ve ÇSML) 30. günde pH değerlerinde bir miktar artış görülmüştür. Bilindiği gibi aktüel asitlik olarak değerlendirilen pH değeri hidrojen iyon konsantrasyonunun logaritmik olarak gösterimidir. Serbest hidrojen iyonu ile dengede bulunan serbest bazik bileşikler, serbest nötral tampon bileşikleri, proteine bağlı asidik ve bazik gruplar ile mikroorganizmaların aktivitesine bağlı olarak gelişen laktik asit gibi serbest organik asitlerden oluşmaktadır (Öztek 1985, Doğan 2011). Sütün pastörize edilmesi ve lizozim enzimi katılması

peynirde mikroorganizma gelişimini engellediği için pH değerlerinde bir azalış görülmemiş olup aksine bir miktar artış gösterdiği saptanmıştır. Saptanan bu pH değerindeki artışın, aminoasitlerin deaminasyonu sonucu oluşan NH₃ üretimi ve laktik asit bakterilerinin metabolizması sonucu üretilen CO₂'den kaynaklandığı bildirilmektedir. Ayrıca bulunan sonuç, çiğ süt kullanılan lizozim ilaveli peynirlerde toplam bakteri sayısının (TMAB) azalması ile sonuçlanan mikrobiyolojik analizle de uyum içindedir. Şöyleki, TMAB sayısının azalmasına paralel olarak CO₂ üretimi azalmış ve pH değerinde az bir değişimle sonuçlanmıştır. Benzer bulgu, 18 saat lizozim muamelesine tabi tutulan Dangke peynirinde de (pH 6,72-6,77) saptanmıştır (Al-Baarri vd. 2018). Pastörize süttten üretilen ve lizozim katkılı örneklerde de pH değerlerindeki düşüş yavaş olmuştur.



Şekil 4.7 Peynir örneklerinde depolama süresince pH değişimi

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin pH değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen (ÇS, ÇSYL, ÇSML) ve pastörize süttten üretilen (PS, PSYL, PSML) peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde lizozim enzimleri pH değerini etkilememiştir. Çizelge 4.4'den de görüldüğü üzere çiğ süt ve pastörize süttten üretilen peynir örnekleri kendi içinde benzerdir. Ancak çiğ süt ve pastörize süttten üretilen peynir örneklerinin grup ortalamaları karşılaştırıldığında istatistik olarak farklı çıkmıştır ve bu fark $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir

örneklerinin içerdiği mikroorganizma sayısına bağlı olarak pH değerlerinin pastörize süttten üretilen peynirlere göre daha düşük çıkması beklenen bir durumdur.

Koca (1996) salamuralı İzmir Tulum peynirinde yaptığı bir çalışmada örneklerin pH değerinin 4,64-4,93 arasında değiştiğini bildirmiştir. Benzer şekilde Gökvalı (1980) da salamuralı Tulum peynirinde yaptığı çalışmada pH'nın 5,37-5,03 arasında olduğunu ifade etmiştir. Ankara piyasasından toplanan 42 adet Tulum peynirinde ortalama pH değerinin 4,76 olduğu saptanmıştır (Koçak vd. 1996). Yine Ankara piyasasından toplanan 20 adet Tulum peynirinde yapılan başka bir çalışmada da pH değerinin 4,28-4,96 arasında olduğu bildirilmiştir (Güler ve Uraz 2003).

Kara ve Akkaya (2015) tarafından yapılan bir araştırmada, Afyonkarahisar ilinde üretilen ve satışa sunulan 25 adet Afyon Tulum peyniri'nin pH değerini ortalama 5,27 olarak belirlemiştir. Morul ve İşleyici (2012) 50 adet Divle Tulum peynirinin ortalama pH değerini $5,42 \pm 0,61$ olarak belirlemişlerdir. Ayar vd. (2006), Tulum peynirlerinde pH değerini 5,36 olarak saptamıştır. Tarakçı vd. (2005) inek sütünden üretilen Tulum peynirinin pH değerini 5,38 olarak saptamışlardır. Erdem ve Patır (2017), Elazığ ilinde tüketime sunulan 40 adet Tulum peynirinin pH değerini $5,10 \pm 0,40$ olarak bildirmişlerdir. Hayaloğlu ve Karabulut (2013a) yaptıkları bir çalışma kapsamında peynir çeşitleri içerisinde yer alan 8 adet Divle Tulum peynirinin pH değerinin 5,03-6,20 arasında değişim gösterdiğini raporlamışlardır. Koca (2009) İzmir Piyasasında satışa sunulan ve inek sütü kullanılarak üretilen 20 adet İzmir Teneke Tulum peynirinin pH değerlerinin 4,75-5,43 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. İzmir Tulum peyniri örneklerinde pH değerleri ayrıca Tulukoğlu vd. (2020) 5,50-5,77; Akpınar vd. (2017) 4,11-4,92; Yerlikaya ve Akbulut (2019) 4,84-5,05; Koca ve Metin (1998) tarafından 4,48-4,93 aralığında olduğu saptanmıştır.

Çalışmada üretilen Tulum peynir örneklerinin pH değerlerinin yapılan farklı araştırmalarla bulunan değerlerin bazıları ile benzerlik gösterirken bazıları ile farklı olduğu belirlenmiştir. Bu farklılığın üretimde kullanılan süttün türünden üretim yöntemine kadar çeşitli faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer taraftan, Endonezya'da üretilen

geleneksel yumuşak tip Dangke peyniri oda sıcaklığında 8 saat süre ile bekletilerek 6,22-6,77 arasında değişim gösteren pH ölçümleri alınmıştır. Lizozimin peynirlerin pH değerlerine olan etkisini incelemek amacıyla Dangke peynirleri lizozim çözeltisinde 8 saat bekletilmiş ve başlangıçta 6,72 olan pH değerinin 8 saat sonunda 6,77 olduğu saptanarak lizozim kullanımının peynirlerin pH değerinde istatistiksel olarak farklılık oluşturmadığı ifade edilmiştir (Al-Baarri vd. 2018). Bizim bulgularımızda da çiğ süttten üretilen ve pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde lizozim enzimlerinin pH değerini etkilemediği kendi içlerinde benzer olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.4).

4.3.2 Titrasyon asitliği (%LA) değerleri

Tulum peynir örneklerinin titrasyon asitlik değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.5’de ve Şekil 4.8’de verilmiştir. Peynir örneklerinin titrasyon asitlik değerlerinin laktik asit (%LA) cinsinden 0,318 ile 0,828 arasında değişim gösterdiği ve depolama süresince söz konusu değerlerin hem arttığı hem de azaldığı belirlenmiştir. Olgunlaşmanın ilk gününde taze Tulum peyniri örneklerinde en yüksek asitlik oranı ÇS örneğinde (0,585) saptanmıştır. En düşük asitlik oranı da %0,477 ile PSML örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma sonunda en yüksek asitlik oranı %0,828 ile PS örneğinde, en düşük asitlik oranı %0,552 ile PSML örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.5 Peynir örneklerinin titrasyon asitliği (%LA) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

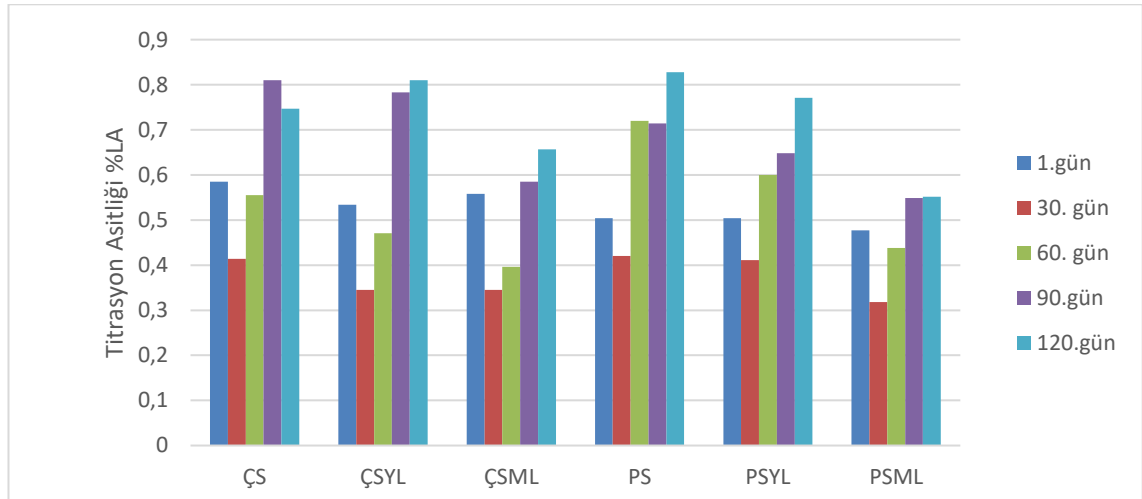
Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	0,585±0,009 Eb**	0,414±0,032 Ba	0,555±0,014 Cb	0,810±0,009 Fd	0,747±0,009 Cc	0,622±0,006 a
ÇSYL	0,534±0,014 Cc	0,345±0,014 Aa	0,471±0,036 Bb	0,783±0,009 Ed	0,810±0,009 Dd	0,588±0,006 b
ÇSML	0,558±0,018 Db	0,345±0,037 Aa	0,396±0,048 Aa	0,585±0,009 Bb	0,657±0,009 Bc	0,508±0,006 c
PS	0,504±0,018 Bb	0,420±0,032 Ba	0,720±0,024 Dc	0,714±0,009 Dc	0,828±0,009 Dd	0,577±0,006 b

Çizelge 4.5 Peynir örneklerinin titrasyon asitliği (%LA) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3 (devam)

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
PSYL	0,504±0,009 Bb	0,411±0,036 Ba	0,600±0,050 Cc	0,648±0,009 Cc	0,771±0,014 Cd	0,586±0,006 b
PSML	0,477±0,009 Ab	0,318±0,005 Aa	0,438±0,050 ABb	0,549±0,009 Ac	0,552±0,029 Ac	0,466±0,006 d

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).



Şekil 4.8 Peynir örneklerinde titrasyon asitliği (%LA) değerlerinin depolama süresince değişimi

Tulum peynir örneklerinin 1. gün titrasyon asitlik değerleri birbirinden farklıdır (p<0,05) ve lizozim katkıli örneklerin (ÇSYL, ÇSML, PSYL, PSML) kontrol gruplara (ÇS, PS) benzer ve daha düşük çıktığı belirlenmiştir. Bu durum peynir üretiminde kullanılan lizozimin mikroorganizma gelişimini inhibe ederek asitlik gelişiminin engellenmesi olarak düşünülmektedir. Peynir örneklerinin her grubunda 30. gün titrasyon asitliği değerlerinde 1. güne göre azalma meydana gelmiştir. Meydana gelen azalma, lizozim katkıli örneklerde daha dikkat çekici olmuştur. Bu durum, lizozimin mikrobiyal gelişimi engellemesi sonucu asitlik gelişiminin az olması şeklinde düşünülmektedir. Ayrıca,

pastörize sütten üretilen mikrobiyal lizozim katkılı peynirin (PSML) titrasyon asitlik değeri 30. günde 0,318 olarak belirlenmiş olup pastörize süt kullanılan yumurta lizozimi katkılı peynirin (PSYL) 30. günde titrasyon asitliği değeri olan 0,411'den daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumda, mikrobiyal lizozimin mikroorganizmalar üzerine yumurta lizoziminden daha çok etki ederek asitlik gelişimini daha fazla engellediği ve sonuç olarak %LA değerinin daha düşük çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir. Peynir örneklerinin her grubunda depolamanın 60., 90. ve 120. gününde %LA değerlerinde artış olduğu saptanmıştır. Bu durumda depolamanın ilk 30 gününde lizozimin %LA değerleri üzerinde etkisini en yüksek seviyede gösterdiği, daha sonrasında ise etkisinin azalması sonucu ortamda gelişen laktik asit bakterilerinin laktik asit üretimini artırması olarak düşünülmektedir.

Titrasyon asitliği değerleri üzerinde hem lizozim kullanımının hem de depolamanın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.5). Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde depolama süresince örnek ortalamaları arasındaki fark $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Lizozim katkılı Tulum peyniri örneklerinin %LA değerleri lizozim içermeyen örneklere göre daha düşük çıkmıştır. Bunun nedeni lizozimin mikroorganizma gelişimini engellemesi ve dolayısıyla %LA değerinin yükselmemesidir. Bu noktada, yumurta lizoziminin peynir örneklerinin titrasyon asitliği değeri üzerine mikrobiyal lizozim kadar etkili olmadığı düşünülmektedir.

Kara ve Akkaya (2015) tarafından yapılan bir araştırmada, Afyonkarahisar ilinde üretilen ve satışa sunulan 25 adet Afyon Tulum peynirinin titre edilebilir asitlik değerini ortalama 0,51 olarak saptamışlardır. Dinkçi vd. (2012) Kargı piyasasında satışa sunulan 6 Tulum peynir örneğinin %LA değerlerinin en yüksek %0,79 ve en düşük %0,44 olduğunu belirlemişlerdir. Yerlikaya ve Akbulut (2019), İzmir Tulum peynirlerinde olgunlaşma süresince titrasyon asitliğinin %0,45 ila 0,77 aralığında değişim gösterdiğini saptamışlardır. Akpınar vd. (2017) yapmış oldukları bir araştırmada inek sütü kullanılarak üretilen 21 adet İzmir Tulum peynirinde titrasyon asitliği değerlerinin %0,522-1,408 arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Koca (2009) İzmir Piyasasında satışa sunulan ve inek sütü kullanılarak üretilen 20 adet İzmir Teneke Tulum peynirinde

titrasyon asitliği değerlerini %0,31-1,22 arasında belirlemiştir. Koca ve Metin (1998) İzmir Tulum peynirlerinde titrasyon asitliklerinin %0,699 ila 0,956 aralığında değişim gösterdiğini belirlemiştir. Yapılan başka bir çalışmada 8 °C’de 18 gün depolanan ve farklı oranlarda lizozim (%0,08; %0,10; %0,12) kullanılan Cottage peynirinde lizozimin titrasyon asitliği üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Lizozim kullanılan peynirlerde depolama sırasında %LA’nın 0,270’den 0,369’a kadar yükseldiğini dolayısıyla lizozimin laktik asit oluşumunu engellemediği ancak kontrol örneğe (%0,477) göre miktarının daha az olduğu bildirilmektedir. Lizozim kullanılan peynirlerde titrasyon asitliğinin daha yavaş yükseldiği saptanmış olup depolama sırasında peynirlerdeki biyokimyasal reaksiyonların (yağ ve proteinlerin) sonucu asidik grupların artarak laktik asit miktarının artışına neden olduğu rapor edilmiştir (Urbienė ve Sasnauskaitė 2010). Çalışmada üretilen Tulum peynir örneklerinin %asitlik değerlerinin literatürden elde edilen bilgilerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

4.3.3 Kurumadde (%) değerleri

Peynir örneklerinde su dışında kalan bileşenler kurumaddeyi oluşturmakla birlikte büyük bir kısmı protein, yağ, tuz ve mineral maddelerden az miktarda ise laktoz ve diğer bileşenlerden oluşmaktadır (Demirci 1996). Peynirin besinsel değerini, raf ömrünü ve duyuşsal özelliklerini etkilemektedir (Yetişmeyen vd. 2001).

Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.6’da ve Şekil 4.9’da verilmiştir.

Çizelge 4.6 Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

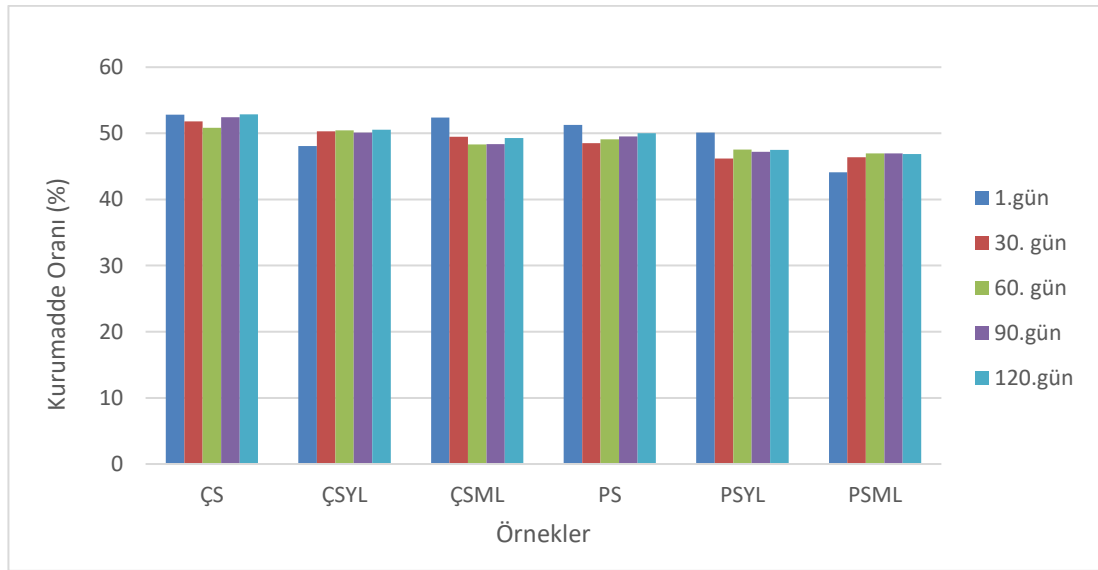
Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	52,84±0,55 Eb**	51,78±0,67 Dab	50,84±1,66 Ca	52,43±0,63 Dab	52,88±0,32 Db	52,15±0,203 a
ÇSYL	48,10±0,18 Ba	50,32±0,31 CDb	50,46±0,85 Cb	50,10±1,16 Cb	50,54±0,75 Cb	49,90±0,203 b

Çizelge 4.6 Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3 (devam)

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
ÇSML	52,38±0,92 Eb	49,48±1,32 BCa	48,32±0,35 ABa	48,36±1,02 ABa	49,28±0,32 Ba	49,56±0,203 b
PS	51,29±0,36 Dc	48,51±0,50 Ba	49,09±0,67 BCab	49,51±0,75 BCab	49,99±0,31 BCb	49,68±0,203 b
PSYL	50,13±0,11 Cc	46,16±0,27 Aa	47,53±0,72 ABb	47,22±0,46 Ab	47,52±0,38 Ab	47,71±0,203 c
PSML	44,12±0,55 Aa	46,36±1,43 Ab	46,96±1,32 Ab	46,94±0,92 Ab	46,89±0,18 Ab	46,25±0,203 d

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sütunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).



Şekil 4.9 Peynir örneklerinin kurumadde (%) değerlerinin depolama süresince değişimi

Peynir örneklerinin %kurumadde değerlerinin 44,117 ile 52,878 arasında değişim gösterdiği görülmektedir (Çizelge 4.6). Olgunlaşmanın ilk gününde taze Tulum peyniri örneklerinde en yüksek kurumadde oranı %52,839 ile ÇS örneğinde, en düşük kurumadde

oranı da %44,117 ile PSML örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma sonunda en yüksek kurumadde oranı %52,878 ile ÇS örneğinde, en düşük kurumadde oranı %46,886 ile PSML örneğinde saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (Anonim 2015)'e göre salamurada olgunlaştırılan peynirlerde nem miktarının en çok %60 olması gerektiği belirtilmiş olup peynir örneklerinin nem değerlerinin söz konusu tebliğe uygun olduğu saptanmıştır.

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin pH değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Grup ortalamalarına bakıldığında çiğ süttten üretilen peynirin (ÇS) %kurumadde değeri 52,151 olup en yüksek düzeyde olduğu görülmektedir. Lizozim katkılı örneklerin (ÇSYL, ÇSML) grup ortalamalarının (%49,902; %49,564) daha az olduğu dikkati çekmektedir. Aynı durum pastörize süttten üretilen peynir grubu için de geçerlidir. Pastörize süttten üretilip lizozim katkılı olmayan örneğin (PS) kurumadde içeriği %49,677 iken lizozim ilave edilen pastörize süttten üretilen peynir (PSYL ve PSML) örneklerinde 47,712-46,252 düzeyinde belirlenmiştir. Lizozim ilavesi gerek yumurta lizozimi olsun gerekse mikrobiyal lizozim olsun örneklerde KM'nin daha düşük çıkmasına sebep olduğu düşünülmektedir. Bu durum istatistiksel olarak da önemli çıkmıştır.

Peynir örneklerinin depolama süresi boyunca grup ortalamalarında farklılıklar olduğu görülmektedir. Bu fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Görülen bu değişikliklerin peynirin gözenekli yapısından meydana gelebileceği gibi peynirdeki tuz geçişinden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Üretimde salamurada tuzlama da yapıldığı için peynirdeki tuz geçişinden ileri gelebileceği gibi peynir kitesinden de dışa olan protein ve yağ geçişinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde farklı depolama günlerinde örnekler arası fark önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Yani her bir peynir örneği kendi içinde farklı depolama günlerinde farklı kurumadde değerlerine sahip olmuştur.

Koca ve Metin (1998) İzmir Tulum peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma sonunda kurumadde içeriklerini ortalama olarak %50,26 ila 57,17 aralığında saptamışlardır. Kara

ve Akkaya (2015) tarafından yapılan bir araştırmada, Afyonkarahisar ilinde üretilen ve satışa sunulan 25 adet Afyon Tulum peyniri'nin kurumadde miktarını ortalama %53,69 olarak bildirmişlerdir. Koca (2009) İzmir Piyasasında satışa sunulan ve inek sütü kullanılarak üretilen 20 adet İzmir Teneke Tulum peynirinde % kurumadde değerlerini % 49,92-53,84 arasında değişim gösterdiğini belirlemiştir. Akpınar vd. (2017) yapmış oldukları bir araştırmada, inek sütü kullanılarak yapılan 21 adet İzmir Tulum peynirinin kurumadde içeriklerinin %49,920-68,648 değerleri arasında değişim gösterdiğini bildirmişlerdir. Tulukoğlu vd. (2020) İzmir Tulum peynirleri ile yapılan çalışmalarında kurumadde değerlerinin 48,13-59,41 aralığında değişim gösterdiğini saptamışlardır. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar söz konusu araştırmalarla elde edilen sonuçlara yakınlık gösterirken Morul ve İşleyici (2012), Tarakçı ve Durmuş (2016), Erdem ve Patır (2017) araştırmacıların elde ettiği sonuçlardan düşük bulunmuştur.

4.3.4 Yağ (%) değerleri

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin yağ (%) değerleri ve depolama süresince meydana gelen değişiklikler Çizelge 4.7 ve Şekil 4.10'da verilmiştir.

Peynir örneklerinde yağ değerleri %28,82 ila %27,22 arasında değişmiştir (Çizelge 4.7). Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin %yağ değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur.

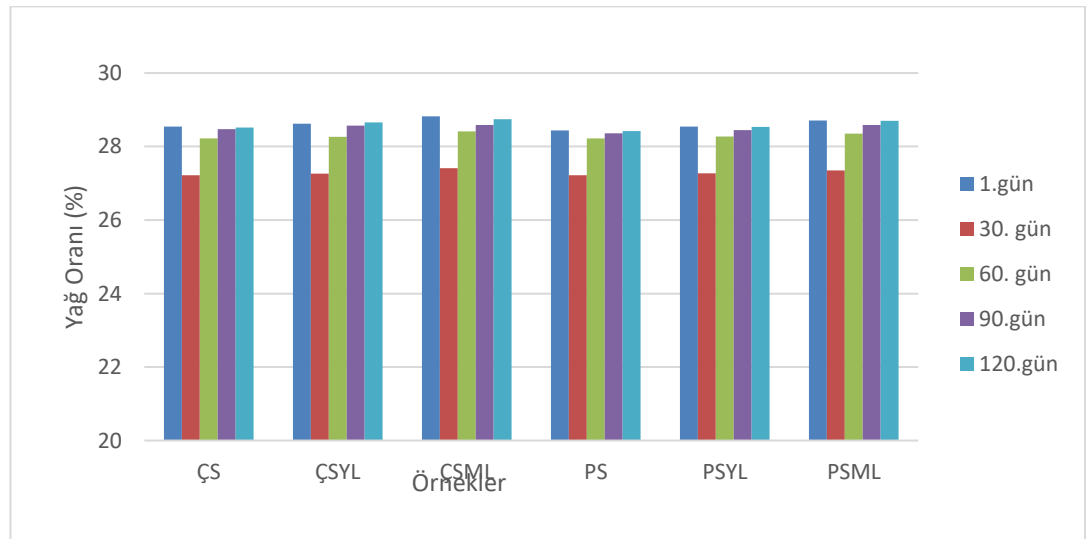
Peynir örneklerinde genel ortalamaya bakıldığında %28 yağ miktarı belirlenmiştir. Bu noktada, üretime başlamadan önce yağ standardizasyonunun yapılmış olması ve KM'de %28'e ayarlanmış olmanın etkisi görülmektedir. Depolamanın ilk gününde taze Tulum peyniri örneklerinde en yüksek yağ oranı %28,82 ile ÇSML örneğinde, en düşük yağ oranı da %28,44 ile PS örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma sonunda en yüksek yağ oranı %28,74 ile ÇSML örneğinde, en düşük yağ oranı %28,42 ile PS örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.7 Peynir örneklerinin yağ (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	28,54±0,03 Bc**	27,22±0,09 Aa	28,22±0,09 Ab	28,47±0,12 ABc	28,52±0,08 Bc	28,19±0,01 c
ÇSYL	28,62±0,01 Cc	27,26±0,05 ABa	28,26±0,05 ABb	28,57±0,08 Bc	28,66±0,06 Cc	28,27±0,01 b
ÇSML	28,82±0,02 Ee	27,41±0,01 Ca	28,41±0,01 Cb	28,59±0,07 Bc	28,74±0,06 Cd	28,39±0,01 a
PS	28,44±0,02 Ac	27,22±0,10 Aa	28,22±0,10 Ab	28,36±0,02 Ac	28,42±0,03 Ac	28,13±0,01 d
PSYL	28,54±0,02 Bd	27,27±0,05 ABa	28,27±0,05 ABb	28,45±0,04 Ac	28,53±0,01 Bd	28,21±0,01 c
PSML	28,71±0,01 Dd	27,35±0,01 BCa	28,35±0,01 BCb	28,59±0,03 Bc	28,70±0,03 Cd	28,33±0,01 a

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sütunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).



Şekil 4.10 Peynir örneklerine ait yağ değerlerinin (%) depolama süresince değişimi

Örnek grup ortalamaları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇS, ÇSYL ve ÇSML örneklerinin birbirinden farklı çıktığı ve bu farkın da istatistik olarak önemli olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). Aynı fark PS, PSYL ve PSML örneklerinde de görülmektedir. Hem çiğ süttten üretilen peynir gruplarında hem de pastörize süttten üretilen peynir gruplarında farklı lizozim kullanımının örneklerde %yağ değerlerinde artışa neden olduğu düşünülmektedir. Ancak ÇSML ve PSML örneklerinin grup ortalamaları birbirine benzer olup diğer örnek gruplarından farklılık göstermektedir. Bu duruma çiğ süttten üretilen peynirin mikrobiyal içeriğinin, olgunlaşma derecesinin ve tuzlamanın etkisi olduğu düşünülmektedir.

Peynir örneklerinde depolamanın 30. gününde tüm örneklerin yağ oranlarında azalma saptansa da olgunlaşmanın ilerlemesiyle beraber artışların olduğu belirlenmiştir. Depolama süresince örneklere ait %yağ değerlerinde artışın lipolize bağlı olduğu düşünülmektedir ($p < 0,05$).

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinde ortalama yağ değerleri (%) 28,13-28,39 aralığında olup Kurt vd. (1991) 28,20; Dığrak vd. (1994) 27,76; Akın ve Ayar (2000) 20-31; Kılıç vd. (2002) 27,29; Yetişmeyen (2005) $31,48 \pm 0,82$; Tarakçı ve Durmuş (2016) 21-43; Erdem ve Patır (2017) $27,35 \pm 6,85$; Sancak vd. (2018) $31,231 \pm 3,783$ tarafından bulunan sonuçlarla yakınlık göstermekte, Yılmaz vd. (2005) 27,25-29,50 tarafından belirlenen değer aralığında yer almaktadır. Ayrıca İzmir Tulum peyniri ile yapılan çalışmalarda yağ oranları Akpınar vd. (2017) 17,50-30,50 aralığında; Yerlikaya ve Akbulut (2019) %22,25-24,50 aralığında; Akan (2020) %23; Koca ve Metin (1998) 25,00-30,75 aralığında saptanmıştır. Çalışmamızda kullanılan örneklerin yağ değerleri literatürden elde edilen verilerle benzerlik göstermektedir. Ayrıca araştırma sonucumuzda, mikrobiyal lizozim ilave edilerek üretilen ÇSML ($28,39 \pm 0,01$) ve PSML ($28,33 \pm 0,01$) örneklerinde yağ miktarı araştırmada üretilen diğer örneklerden daha yüksek tespit edilmiş olup Martini vd. (2019) araştırmasıyla uyum içerisindedir.

4.3.5 Kurumaddede yağ (%) değerleri

Peynir örneklerinin kurumaddede yağ (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.8 ve Şekil 4.11’de verilmiştir.

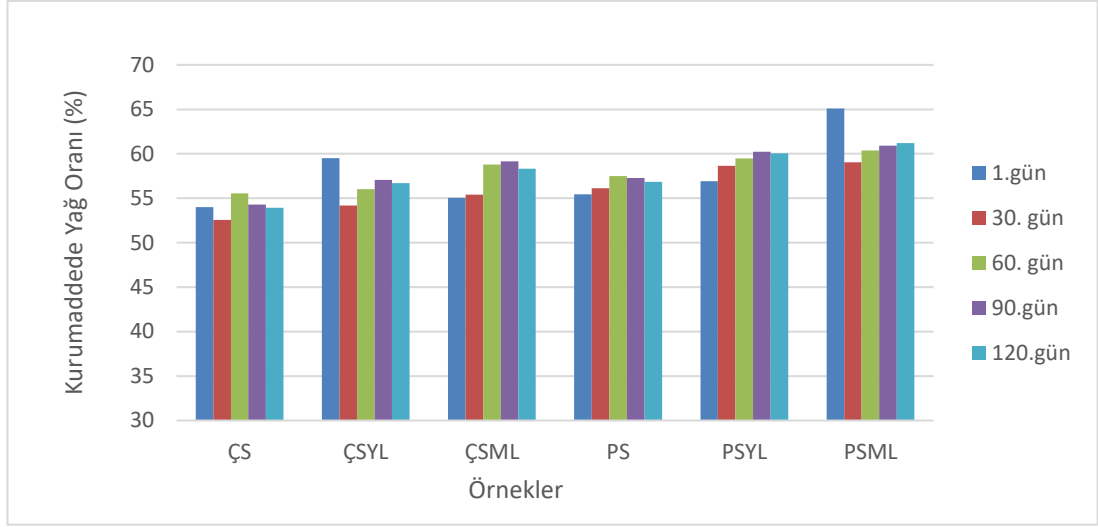
Peynir örneklerinde kurumaddede yağ değerlerinin %65,08 ile %52,58 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.8). Olgunlaşmanın ilk gününde taze Tulum peyniri örneklerinde en yüksek kurumaddede yağ oranı %65,08 ile PSML örneğinde, en düşük kurumaddede yağ oranı da %54,01 ile ÇS örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma sonunda en yüksek kurumaddede yağ oranı %61,22 ile PSML örneğinde, en düşük kurumaddede yağ oranı %53,93 ile ÇS örneğinde saptanmıştır. Araştırmamız için üretilen peynir örneklerinin tümü Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’ne göre tam yağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Kurumaddede yağ oranı $45 \leq$ süt yağı).

Çizelge 4.8 Peynir örneklerinin kurumaddede yağ (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	54,01±0,58 Aab**	52,58±0,77 Aa	55,56±1,89 Ab	54,30±0,63 Aab	53,93±0,25 Aab	54,07±0,24 d
ÇSYL	59,51±0,23 Dc	54,18±0,42 ABa	56,02±0,95 Ab	57,06±1,45 Bb	56,72±0,94 Bb	56,69±0,24 c
ÇSML	55,04±0,96 ABa	55,42±1,48 Ba	58,80±0,44 BCb	59,14±1,20 CDb	58,33±0,27 Cb	57,34±0,24 c
PS	55,44±0,42 Ba	56,12±0,37 Bab	57,49±0,66 ABc	57,29±0,84 BCc	56,86±0,30 Bbc	56,64±0,24 c
PSYL	56,93±0,09 Ca	58,64±0,31 Cb	59,49±0,87 BCbc	60,25±0,61 Dc	60,05±0,50 Dc	59,06±0,24 b
PSML	65,08±0,80 Eb	59,03±1,84 Ca	60,39±1,72 Ca	60,92±1,22 Da	61,22±0,30 Ea	61,32±0,24 a

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir ($p<0,05$). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir ($p<0,05$).



Şekil 4.11 Peynir örneklerine ait kurumaddede yağ değerlerinin (%) depolama süresince değişimi

Örneklerin KM'deki yağ içeriği %yağ oranındaki değişime benzer bir eğilim göstermektedir. Bu analiz sonucunda da örnek ortalamaları arasında ÇSYL (%56,69), ÇSML (%57,34) ve PS'den üretilen peynirler (%56,64) birbirine benzer çıkarken PSML (%61,32) örneği en yüksek KM'de yağ içeriğine sahip olmuştur. Bu durumda PSML örneğinin %yağ içeriğiyle paralel olarak kurumaddede de yağ içeriğinin yüksek olduğunu görmekteyiz. Genel ortalama grup ortalamaları itibariyle ÇSYL, ÇSML ve PS örnekleri birbirine benzerken diğer örnekler PSYL, PSML ve ÇS farklı çıkmıştır ve bu fark $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur

Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksiyonu önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Yani her bir peynir örneği kendi içinde farklı depolama günlerinde KM'de farklı yağ değerlerine sahip olmuştur. Peynir örneklerinin kurumaddede miktarlarında meydana gelen değişimlerin % kurumaddede yağ değerlerinde farklılıklara neden olduğu düşünülmektedir. Tüm peynir örneklerinde depolamanın 30. gününde %yağ içeriğinde olduğu gibi bir azalma görülmüştür. Peynir örneklerinin 30. günde %yağ miktarının azalmasına paralel olarak KM'deki yağ miktarının da düşük çıktığı bu durumun lipoliz ya da tuzlamadan kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Depolamanın 30., 60., 90., 120. günlerinde değişiklikler olduğu görülmektedir. Depolama süresince meydana gelen bir takım biyokimyasal reaksiyonlar, proteoliz, lipoliz, tuzlamanın bu

değişime etki ettiği düşünülmektedir. Bu nedenle örneklerin hem KM'de yağ içeriğinde hem de %yağ içeriğinde bir takım azalma ya da artmalar olabileceği düşünülmektedir.

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinde kurumaddede ortalama yağ değerleri (%) 54,07-61,32 aralığında saptanmıştır. Saptanan değerler Kurt vd. (1991) 52,77; Kılıç vd. (2002) 44,54; Güler ve Uraz (2003) 51,64 değerlerinden yüksek olup; Yetişmeyen (2005) 56,15 aralığında; Sancak vd. (2018) %52,530±5,192 tarafından bulunan sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

4.3.6 Tuz (%) değerleri

Tuz peynirin dayanıklılığını artırmakta, ürüne tad vermekte ve peynirlerde olgunlaşma, kıvam ve randıman üzerinde etkili olmaktadır (Yetişmeyen vd. 2001, Karagözlü vd. 2008).

Peynir örneklerinin tuz (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.9 ve Şekil 4.12'de verilmiştir.

Tulum peynirlerinin tuz değerleri %3,71 ile 4,88 arasında değişmiştir (Çizelge 4.9). Olgunlaşmanın ilk gününde peynir örneklerinde en yüksek tuz oranı %4,51 ile ÇSML örneğinde, en düşük tuz oranı da %3,83 ile PSML örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma sonunda en yüksek tuz oranı %4,73 ile ÇSML örneğinde, en düşük tuz oranı %4,20 ile PSYL örneğinde saptanmıştır.

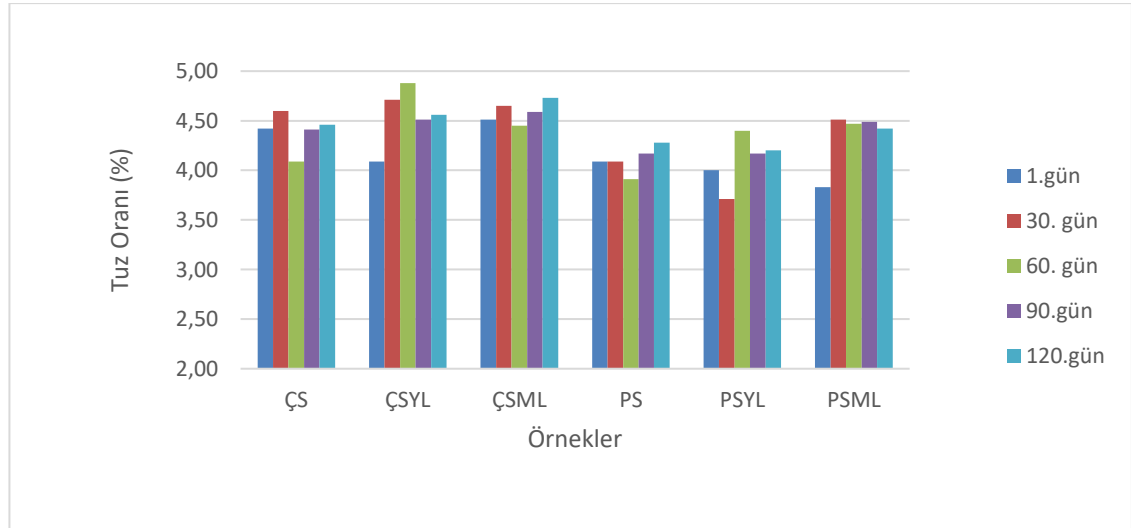
Peynir örneklerinin istatistik sonuçlarına bakıldığında örnekler arasında ve depolama günlerinde fark olduğu ($p<0,05$) görülmektedir. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde çiğ süttten üretilen peynir örneğinin (ÇS) %tuz miktarının 4,39, ÇSYL 4,54 ve ÇSML 4,58 örneklerine benzer olduğu saptanmış olup fark istatistik olarak önemli değildir. Pastörize süttten üretilen peynir gruplarına bakıldığında PS örneğinin %tuz miktarı 4,10 ve PSYL 4,09 birbirine benzer çıkmışken PSML örneğinin 4,34 olarak yüksek çıktığı belirlenmiş olup fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$).

Çizelge 4.9 Peynir örneklerinin tuz (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	4,42±0,05 Cb**	4,60±0,06 Cb	4,09±0,24 ABa	4,41±0,08 Ab	4,46±0,06 ABb	4,39±0,04 ab
ÇSYL	4,09±0,04 Ba	4,71±0,08 Cb	4,88±0,11 Cb	4,51±0,49 Aab	4,56±0,46 ABab	4,54±0,04 a
ÇSML	4,51±0,04 Ca	4,65±0,11 Ca	4,45±0,24 Ba	4,59±0,15 Aa	4,73±0,15 Ba	4,58±0,04 a
PS	4,09±0,10 Bab	4,09±0,26 Bab	3,91±0,11 Aa	4,17±0,12 Aab	4,28±0,12 Ab	4,10±0,04 c
PSYL	4,00±0,01 Bb	3,71±0,15 Aa	4,40±0,27 Bc	4,17±0,07 Abc	4,20±0,06 Abc	4,09±0,04 c
PSML	3,83±0,07 Aa	4,51±0,10 Cb	4,47±0,26 Bb	4,49±0,12 Ab	4,42±0,04 ABb	4,34±0,04 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).



Şekil 4.12 Peynir örneklerinin tuz içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişim

Peynir örneklerinde %tuz içeriği depolamanın ilerlemesine paralel olarak 60., 90. ve 120. günde birbirine benzer çıkmıştır. Bu durum, peynir üretiminde kuru tuzlama da yapılması sonucu 1. günde peynir kitlesi içinde tuz emiliminin fazla olması ve daha sonra sabit kalarak depolamanın diğer günlerinde değişiklik olmaması şeklinde düşünülmektedir. Ayrıca tuz miktarının depolamanın ilerleyen günlerinde yavaş yükselmesinde peynirde nem miktarının azalması, depolama sıcaklığı, pH ve protein miktarındaki değişimler etkili olabilir (Ateş ve Patır 2001, Yerlikaya 2012).

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinde ortalama olarak tuz değerleri (%) 4,09-4,58 aralığında belirlenmiştir. Saptanan değerler Akın ve Ayar (2000) 4,9-5,8; Kılıç vd. (2002) 5,72 değerlerinden düşük olup Ayar vd. (2006) 4,09; Dinkçi vd. (2012) 4,37-4,21; tarafından saptanan değerlerle yakınlık göstermiştir. Sonuçlarımız ayrıca Kurt vd. (1991) 3,44; Dığrak vd. (1994) 3,44; Tarakçı vd. (2005) 3,57; akır (2011) 2,48; Tarakçı ve Durmuş (2016) 2,48-3,93 tarafından bulunan sonuçlardan ise daha yüksek olarak saptanmıştır. Araştırma sonuçlarımız İzmir Tulum peynirinin olgunlaşma aşamasında Yerlikaya ve Akbulut (2019) tarafından %2,93-5,86; Koca ve Metin (1998) tarafından %2,42-5,46 belirlenmiş olan değerler aralığında yer almaktadır. Araştırma sonucumuzda, mikrobiyal lizozim ilave edilerek üretilen SML (4,58±0,04) ve PSML (4,34±0,04) örneklerinde tuz miktarı diğer örneklerden daha yüksek tespit edilmiş olup Doosh ve Abdul-Rahman (2014)'ın araştırmasıyla uyum içerisindedir.

4.3.7 Kurumaddede tuz (%) değerleri

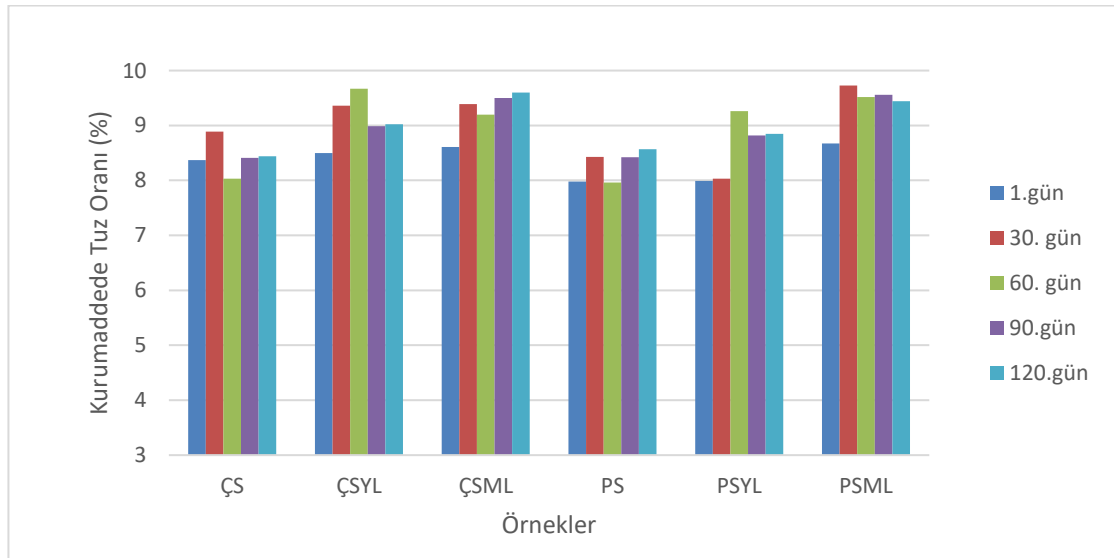
Peynir örneklerinin kurumaddede tuz (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim izelge 4.10'da ve Şekil 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.10 Peynir örneklerinin kurumaddede tuz (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	8,37±0,03 Bb**	8,89±0,00 BCc	8,03±0,27 Aa	8,41±0,09 Ab	8,44±0,10 Ab	8,42±0,08 b
ÇSYL	8,50±0,06 BCa	9,36±0,20 CDab	9,67±0,14 Bb	8,99±0,79 ABCab	9,02±0,79 ABCab	9,10±0,08 a
ÇSML	8,61±0,07 CDa	9,39±0,29 CDb	9,20±0,49 Bb	9,50±0,26 BCb	9,60±0,26 Cb	9,26±0,08 a
PS	7,98±0,14 Aa	8,43±0,62 ABa	7,96±0,23 Aa	8,42±0,26 Aa	8,57±0,21 Aa	8,26±0,08 b
PSYL	7,99±0,03 Aa	8,03±0,27 Aa	9,26±0,50 Bb	8,82±0,18 ABb	8,85±0,08 ABb	8,59±0,08 b
PSML	8,67±0,05 Da	9,73±0,17 Db	9,52±0,54 Bb	9,56±0,12 Cb	9,44±0,08 BCb	9,38±0,08 a

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).



Şekil 4.13 Peynir örneklerinin kurumaddede tuz (%) içeriklerinde depolama süresince meydana gelen değişim

Peynir örneklerinin kurumadede tuz değerlerinin %7,96 ila 9,73 arasında değişim gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4.10). Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde çiğ süttten üretilen peynir örneğinin (ÇS) kurumadede tuz % miktarının 8,42, ÇSYL 9,10 ve ÇSML 9,26 olduğu belirlenmiş olup fark istatistiksel olarak önemlidir. Pastörize süttten üretilen peynir gruplarına bakıldığında PS örneğinin kurumadede % tuz miktarı 8,26 ve PSYL 8,59 birbirine benzer çıkmışken PSML örneğinin 9,38 olarak yüksek çıktığı belirlenmiştir ve bu fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Değişimlerin % tuz miktarıyla benzer eğilim gösterdiği saptanmıştır.

Peynir örneklerinde depolamanın 1. gününde belirlenen kurumadede % tuz içeriği 30. günde arttığı görülmüştür. Bu fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Ancak depolamanın ilerlemesine paralel olarak 30., 60., 90. ve 120. günde peynir örneklerinin kurumadede ortalama tuz değerleri birbirine benzer çıkmıştır. Bulunan sonuçların peynir örneklerinin depolama günleri % tuz miktarları ortalamalarıyla uyumlu olduğu görülmektedir.

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin kurumadede ortalama tuz değerleri (%) 8,26-9,38 olarak saptanmıştır. Saptanan değerler Kurt vd. (1991) 6,56; Güler ve Uraz (2003) 7,27; Yetişmeyen (2005) 4,13; Kılıç vd. (2002) 9,38; Tarakçı ve Durmuş (2016) 3,78-6,20; Çakır (2011) 3,57-6,03 tarafından bulunan değerlerden yüksek bulunmuştur. Araştırma sonuçlarımız İzmir Tulum peynirinde olgunlaşma döneminde kurumadede tuz değerleri Koca (1996) 4,26-10,93 tarafından bulunan değerler aralığında yer almaktadır. Koca (2009) İzmir Tulum peyniri ile yaptığı araştırmasında örneklerin kurumadede tuz oranlarını 3,54-9,41 olarak belirlemiş olup sonuçlarımız belirlenen aralıkta yer almaktadır. Tulukoğlu vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada İzmir Tulum peynirlerinin kurumadede tuz değerlerinin 8,63-9,80 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (Anonim 2015)'ne göre, salamurada olgunlaştırılan peynirlerde kurumadede tuz oranının en çok %7,5 olabileceği belirtilmektedir. Tuz peynirin sıvı fazında çözünen bir madde olması nedeniyle peynirdeki miktarı peynir yapısındaki nem miktarına göre bir başka değişle kurumadede

içeriğine göre etkilenmektedir. İzmir Tulum peynirinde olgunlaşma ile beraber kurumadde miktarının azalma eğiliminde olması sonucu kurumaddedeki tuz miktarının artış eğiliminde olduğu belirtilmektedir (Tulukoğlu vd. 2000). Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin kurumadde tuz miktarı da TGK Peynir Tebliği (Anonim 2015)’ne göre yüksek çıkmıştır.

4.3.8 Protein (%) değerleri

Peynir örneklerinin protein (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.11 ve Şekil 4.14’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Peynir örneklerinin protein (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	16,51±1,60 BCb**	15,68±1,44 CDab	14,85±1,24 Ca	15,79±0,42 CDab	16,73±0,40 Bb	15,91±0,16 ab
ÇSYL	16,26±0,24 Ba	16,07±0,54 Da	15,88±0,85 Da	16,33±0,85 Da	16,78±0,84 Ba	16,26±0,16 a
ÇSML	15,95±0,12 Bc	15,13±0,03 BCb	14,30±0,05 BCa	15,18±0,14 BCb	16,07±0,23 ABc	15,32±0,16 b
PS	16,44±0,14 BCc	14,69±0,57 ABb	12,95±1,00 Aa	13,78±0,05 Aab	14,60±1,09 Ab	14,49±0,16 c
PSYL	17,41±0,40 Cc	15,67±0,15 CDb	13,92±0,11 ABCa	14,53±0,82 ABab	15,14±1,76 ABb	15,33±0,16 b
PSML	14,72±1,09 Aab	14,21±0,39 Aab	13,71±0,32 ABa	14,69±1,00 Bab	15,68±2,31 ABc	14,60±0,16 c

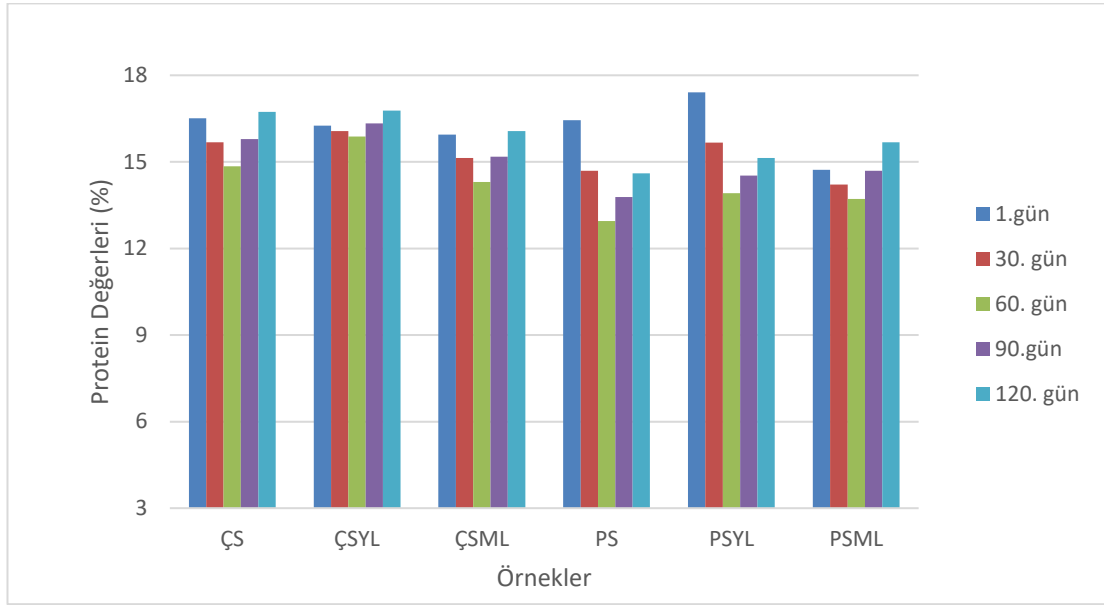
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Olgunlaşmanın ilk gününde peynir örneklerinde en yüksek protein miktarı %17,41 ile PSYL örneğinde, en düşük protein miktarı da %14,72 ile PSML örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin %protein değerlerinde artış ve azalışlar olmakla beraber olgunlaşma sonunda en yüksek protein oranı %16,78 ile ÇSYL örneğinde, en düşük protein miktarı %14,60 ile PS örneğinde saptanmıştır. Olgunlaşma ile protein miktarındaki azalmanın proteoliz sonucu proteinlerin peptit ve aminoasitlere parçalanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca çeşitli araştırmalarda salamurada olgunlaştırılan peynirlerde olgunlaşma süresi bitiminde protein miktarlarının başlangıç değerlerinden daha düşük olduğu bildirilmiştir. Bu durumun kalıntı rennet, plazmin ve starter olan veya olmayan bakterilerin enzimatik aktiviteleri sonucu kazeini parçalamaları ve suda çözünür özellikteki maddelerin oluşarak salamura suyuna geçmesiyle ilişkilendirilmiştir (Hayaloğlu 2003, Akan 2020).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin %protein miktarlarındaki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSYL'nin %protein miktarı 16,26, ÇS 15,91 ve ÇSML 15,32 örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL'nin % protein miktarı 15,33 olarak PS 14,49 ve PSML 14,60 örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik açıdan önemlidir ($p < 0,05$). Yumurta lizozimi katılan peynir örneklerinde protein miktarının ÇS ve PS örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmış olup sonucumuz Doosh ve Abdul-Rahman (2014) tespiti ile uyum içerisindedir. Söz konusu araştırmacılar manda sütünden Irak yumuşak peyniri yapımında peynir pıhtısına yumurta lizozimi (250 ve 300 mg/kg) ilave etmişler ve 6 °C'de 15 günlük depolama süresince peynirin mikrobiyal ve kimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda 250 mg/kg lizozim ilavesiyle peynirde %18,90 protein miktarı, 300 mg/kg lizozim ilavesinde ise peynirde %19,65 protein tespit edilmiş olup lizozim katılmadan üretilen kontrol grup peynirde ise %18,5 protein belirlemişlerdir. Bu durumun, depolama sürecinde peynirde lipoliz ve proteolizden sorumlu olan psikrotrofik bakteriler başta olmak üzere bakteri üremesini önleyen lizozimin antimikrobiyal aktivitesine bağlı olduğu ifade edilmiştir (Doosh ve Abdul-Rahman 2014). Ayrıca peynir örneklerindeki tuz miktarının da etkili olabileceği ön

görülmektedir. Lizozimin etkisiyle mikroorganizma (toplam koliform, Pseudomonas) içeriğinin azalması (Sinigaglia vd. 2008) dolayısıyla mikroorganizma tarafından parçalanmış protein miktarının daha az olması sonucu kontrol örneğe göre lizozim ilaveli örneklerde protein içeriğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Doosh ve Abdul-Rahman 2014). Lizozimin peynir mikrobiyotasını ve sonuç olarak bakteriyal proteolizi etkileyebileceği bildirilmiştir (Rossi vd. 2012).



Şekil 4.14 Peynir örneklerinin protein (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim

Peynir örneklerinin depolama süresi boyunca protein değerleri farklı olup bu fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Depolama süresince protein değerlerinde olgunlaşmanın ilerlemesiyle artış ve azalışlar görülmüştür. Görülen bu değişiklikler olgunlaşmanın ilerlemesiyle proteolitik aktiviteye bağlı olarak proteinlerin yapıtaşlarına parçalanması olarak düşünülmektedir. Tulukoğlu vd. (2020) farklı kültürler kullanılarak üretilen İzmir Tulum peyniri örneklerinin olgunlaşma süresince protein miktarlarında artış ve azalmalar olduğunu belirlemişlerdir. Peynir örneklerindeki protein miktarındaki azalmada proteoliz sonucu oluşan küçük moleküllerin salamuraya geçmesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Halıcı Demir 2021).

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin ortalama protein değerlerinin (%) 14,49-16,26 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Saptanan değerler Akın ve Ayar (2000) 15-25 tarafından belirlenen değerler aralığında olup Koca (2009) 19,14-25,56; Dinkçi vd. (2012) 20,81-22,09; Akpınar vd. (2017) 24,48; Rençber ve Çelik (2021) 22,39 tarafından belirlenen değerlerden daha düşüktür. Tulukoğlu vd. (2020) peyniraltı suyu kültürü kullanarak ürettikleri İzmir Tulum peynirlerinde olgunlaşma süresinde protein miktarlarında artış ve azalmaların olduğunu saptamışlardır.

4.3.9 Toplam azot (TN) değerleri

Peynir örneklerinin toplam azot (%) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.12 ve Şekil 4.15’de verilmiştir.

Çizelge 4.12 Peynir örneklerinin TN (%) değerleri ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	2,59±0,26 BCb**	2,46±0,23 CDab	2,33±0,19 Ca	2,47±0,07 CDab	2,62±0,06 Bb	2,49±0,02 ab
ÇSYL	2,55±0,04 Ba	2,52±0,08 Da	2,49±0,13 Da	2,56±0,13 Da	2,63±0,13 Ba	2,54±0,02 a
ÇSML	2,50±0,02 Bc	2,37±0,01 BCb	2,24±0,01 BCa	2,38±0,02 BCb	2,52±0,04 ABc	2,40±0,02 b
PS	2,58±0,02 BCc	2,30±0,09 ABb	2,03±0,16 Aa	2,16±0,01 Aab	2,29±0,17 Ab	2,27±0,02 c
PSYL	2,73±0,06 Cc	2,46±0,02 CDb	2,18±0,02 ABCa	2,28±0,13 ABab	2,37±0,28 ABb	2,40±0,02 b
PSML	2,31±0,17 Aab	2,23±0,06 Aab	2,15±0,05 ABa	2,30±0,16 Bab	2,46±0,36 ABb	2,28±0,02 c

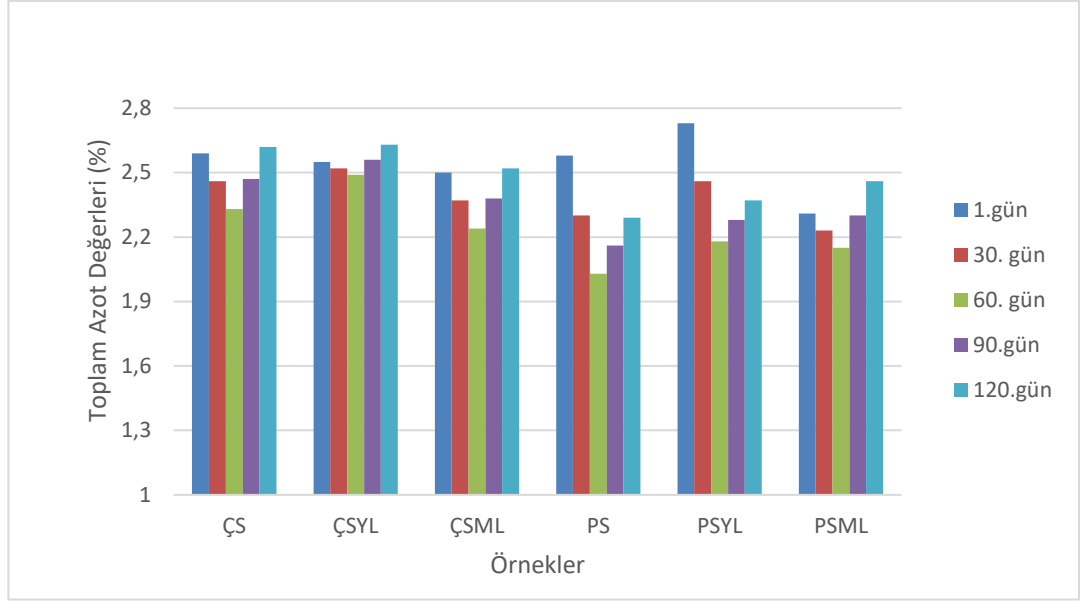
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Olgunlaşmanın ilk gününde peynir örneklerinde en yüksek TN miktarı %2,73 ile PSYL örneğinde, en düşük TN miktarı da %2,31 ile PSML örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin % TN değerlerinde genel olarak azalış olmakla beraber olgunlaşma sonunda en yüksek TN miktarı %2,63 ile ÇSYL örneğinde, en düşük TN miktarı %2,29 ile PS örneğinde saptanmıştır. Toplam azot miktarı peynirlerde hem protein miktarını hem de proteoliz oranını belirlemede kullanılan önemli bir parametredir (Koçak vd. 1997). Yapılan çalışmalarda peynirlerdeki TN miktarının olgunlaşma sürecinde kazeinin uğradığı enzimatik hidroliz sonucu (Özer vd. 2002, Yerlikaya ve Karagözlü 2014) bazı azot bileşiklerinin salamuraya difüzyonu nedeniyle düştüğü belirtilmektedir (Hayaloğlu vd. 2002, Halıcı Demir 2021).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin %TN miktarlarındaki değişim $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSYL'nin %TN miktarı 2,54, ÇS 2,49 ve ÇSML 2,40 örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL'nin %TN miktarı 2,40 olarak PS 2,27 ve PSML 2,28 örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik açıdan önemlidir ($p<0,05$). Yumurta lizozimi katılan peynir örneklerinde %TN miktarlarının ÇS ve PS örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmış olup sonucumuz Doosh ve Abdul-Rahman (2014) tespiti ile uyum içerisindedir. Lizozim peynir mikrobiyotasını ve sonuç olarak bakteriyal proteolizi etkileyebilmektedir (Rossi vd. 2012).

Peynir örneklerinin TN miktarı depolama süresi boyunca değişiklik göstermiştir ($p<0,05$). Depolamada tüm örneklerde bir azalma görülmüştür. 120. günde ise azalmalar ile birlikte artmalarda olmuştur. Hayaloğlu vd. (2002) tarafından salamurada olgunlaştırılan peynirlerde TN miktarının depolamanın ilerlemesiyle bazı azot bileşiklerinin salamuraya geçişinden dolayı azaldığı bildirilmiştir. Öner ve Sarıdağ (2018) tarafından peynirlerde olgunlaşmanın ilerlemesiyle protein parçalanmasından dolayı peynirin TN içeriğinin azaldığı belirtilmiştir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.15 Peynir örneklerinin TN (%) değerlerinin depolama süresince değişimi

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin ortalama TN (%) değerlerinin 2,27-2,54 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Saptanan değerler Güler ve Uraz (2003) 3,34; Koçak vd. (2005) 3,416; Dinkçi vd. (2012) 3,26-3,46; Akpınar vd. (2017) 3,84 tarafından belirlenen değerlerden daha düşüktür. Literatür çalışmalarında da görüldüğü üzere peynir örneklerinde TN değerlerindeki farklılığın sütün kimyasal bileşimi, peynirdeki kurumadde miktarı ve proteoliz derecesi gibi etkenlerden kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Öner ve Sarıdağ 2018, Halıcı Demir 2021).

4.3.10 Suda çözünen azot (SÇA) değerleri (%)

Peynir örneklerinin suda çözünen azot (SÇA) değerlerinde (%) depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.13 ve Şekil 4.16'da verilmiştir. En yüksek SÇA değeri depolamanın 120. günü ÇSML (%0,96) örneğinde en düşük SÇA değeri ise depolamanın 1. günü PS (%0,20) örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.13 Peynir örneklerinin suda çözünen azot (SÇA) değerleri (%) ve depolama süresince değişimi, n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	0,24±0,03 Aa**	0,27±0,00 Aab	0,31±0,03 Ab	0,38±0,01 Ac	0,45±0,06 Ad	0,32±0,01 d
ÇSYL	0,32±0,07 Ba	0,36±0,08 Ba	0,39±0,09 Ba	0,49±0,07 Bb	0,59±0,05 Bc	0,42±0,01 c
ÇSML	0,40±0,03 Ca	0,46±0,03 Cb	0,52±0,03 Cc	0,74±0,00 Dd	0,96±0,02 De	0,61±0,01 a
PS	0,20±0,02 Aa	0,24±0,01 Aab	0,28±0,00 Ab	0,37±0,04 Ac	0,45±0,07 Ad	0,30±0,01 d
PSYL	0,33±0,03 Ba	0,36±0,02 Bab	0,40±0,02 Bb	0,59±0,01 Cc	0,78±0,04 Cd	0,49±0,01 b
PSML	0,38±0,01 Ca	0,40±0,01 Ba	0,42±0,01 Ba	0,57±0,05 Cb	0,73±0,09 Cc	0,50±0,01 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

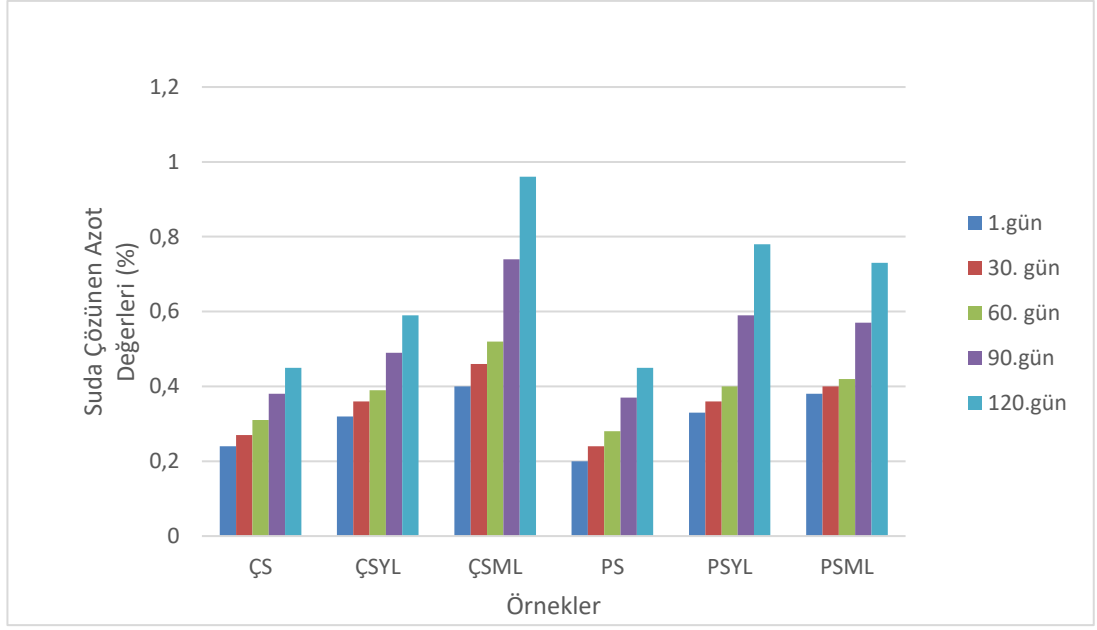
Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Olgunlaşmanın ilk gününde peynir örneklerinde en yüksek SÇA miktarı %0,40 ile ÇSML örneğinde, en düşük SÇA miktarı da %0,20 ile PS örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin % SÇA değerlerinde artış olmakla beraber olgunlaşma sonunda en yüksek miktar %0,96 ile ÇSML örneğinde, en düşük miktar %0,45 ile ÇS ve PS örneğinde saptanmıştır. Suda çözünen azot oranı peynirlerde proteoliz ve olgunlaşmanın göstergesi olarak değerlendirilen önemli bir parametredir. Kazeinin hidrolize uğraması sonucu meydana gelen düşük molekül ağırlıklı azot fraksiyonlarının düzeyini göstermektedir (Koçak vd. 1997).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin %SÇA miktarlarındaki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSML ve ÇSYL'nin SÇA miktarları sırasıyla 0,61 ve 0,42 olup ÇS 0,32 örneğinden daha yüksek

değerdedir ve fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL ve PSML'nin %SÇA miktarları sırasıyla 0,49 ve 0,50 olarak PS 0,30 değerinden yüksek olup fark istatistik açıdan önemlidir ($p<0,05$). Peynir üretiminde farklı formlarda lizozim kullanımının peynir grupları arasında farklılığa neden olduğu saptanmıştır. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Hayaloğlu vd. (2002) tarafından salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolamanın ilerlemesiyle bazı azot bileşiklerinin peynirin yapısından salamuraya geçişinden dolayı peynir yapısındaki toplam azot miktarının azaldığı buna eşlik eden suda çözünen azot miktarının ise arttığı belirtilmiştir.

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin ortalama SÇA (%) değerlerinin 0,30-0,61 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Saptanan değerlerin Güler ve Uraz (2003) 0,59; Koçak vd. (2005) 0,598 tarafından saptanan değerlere yakın olduğu saptanmıştır. Yerlikaya ve Akbulut (2019) tarafından yapılan İzmir Tulum peyniri ile ilgili çalışmada örneklerin SÇA (%) değerlerinin olgunlaşma sonunda 0,464-0,602 aralığında değiştiğini saptamışlardır. Akan (2020) tarafından İzmir Tulum peyniri ile ilgili yaptığı çalışmada olgunlaşma sonunda SÇA (%) değeri 0,52 olarak belirlenmiştir. Akpınar vd. (2017) tarafından ise İzmir Tulum peynirinde olgunlaşma sonunda SÇA (%) değerlerinin 0,47-1,21 aralığında değişim gösterdiği saptanmıştır. Tuz konsantrasyonu, depolama sıcaklığı, olgunlaşma süresi ve diğer koşulların suda çözünebilir azot oranını etkileyebileceği belirtilmiştir (Hayaloğlu vd. 2002).



Şekil 4.16 Peynir örneklerinin SÇA değerlerinin depolama süresince değişimi (%)

4.3.11 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayıları

Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarında depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.14 ve Şekil 4.17’de verilmiştir. En yüksek olgunlaşma katsayısı depolamanın 120. günü ÇSML (38,23) örneğinde en düşük ise depolamanın 1. günü PS (7,60) örneğinde saptanmıştır.

Olgunlaşmanın ilk gününde peynir örneklerinde en yüksek olgunlaşma katsayısı 16,71 ile PSML örneğinde, en düşük ise 7,60 ile PS örneğinde belirlenmiştir. Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarında artış olmakla beraber olgunlaşma sonunda en yüksek katsayı 38,23 ile ÇSML örneğinde, en düşük katsayı 17,02 ile ÇS örneğinde saptanmıştır. Lizozim proteolitik bir enzimdir. Mikrobiyal lizozimin proteolitik aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Peynir örneklerinde olgunlaşma katsayılarındaki artış depolama süresince proteolitik aktivitenin sürekliliğini göstermektedir. Proteoliz olayı starter ve starter olmayan mikroorganizmalardan, sütün doğal mikrobiyotasından, olası kontaminasyonlardan ve renin enziminden etkilenmektedir (Öztürk 2015, Halıcı Demir 2021).

Çizelge 4.14 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayıları ve depolama süresince değişimi, n=3

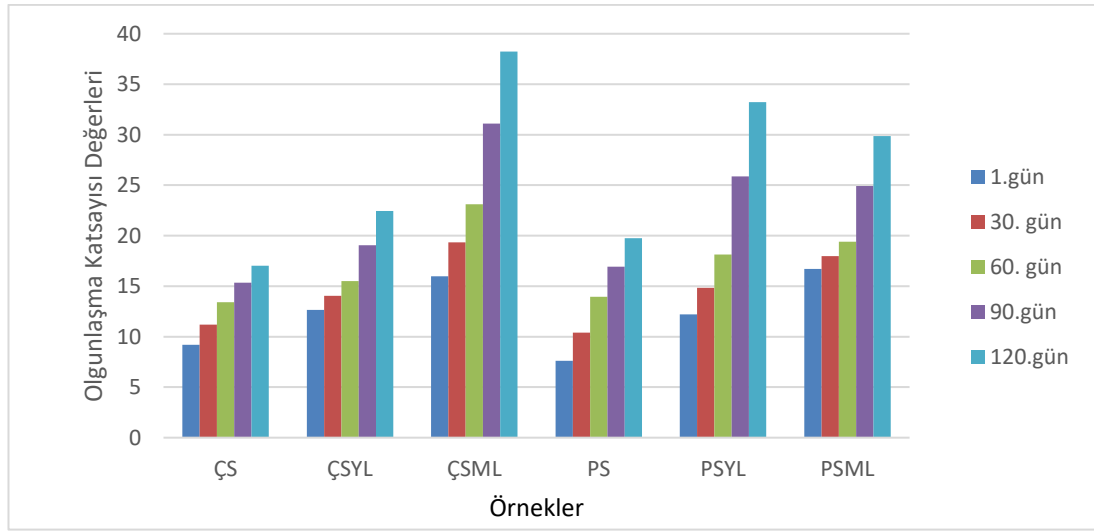
Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	9,19±2,05 Aa**	11,18±0,96 Ab	13,40±0,29 Ac	15,35±0,95 Ad	17,02±1,87 Ad	13,22±0,29 d
ÇSYL	12,66±2,56 Ba	14,06±2,73 Ba	15,49±2,86 Ba	19,07±1,79 Bb	22,46±0,79 Bb	16,74±0,29 c
ÇSML	15,99±0,96 Ca	19,35±1,06 Cb	23,10±1,20 Dc	31,11±0,42 Dd	38,23±0,20 De	25,55±0,29 a
PS	7,60±0,95 Aa	10,40±0,80 Aa	13,96±0,87 ABb	16,92±1,77 Ac	19,74±4,52 ABc	13,72±0,29 d
PSYL	12,22±0,67 Ba	14,85±0,72 Bab	18,13±0,87 Cb	25,88±2,01 Cc	33,23±5,56 Cd	20,86±0,29 b
PSML	16,71±0,62 Ca	17,99±0,09 Cb	19,39±0,60 Cc	24,93±0,41 Cd	29,85±0,59 Ce	21,77±0,29 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarındaki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSML ve ÇSYL'nin olgunlaşma katsayıları sırasıyla 25,55 ve 16,74 olup ÇS 13,22 örneğinden daha yüksek değerdedir ve fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05). ÇSML örneğinde olgunlaşma katsayısı ise ÇSYL örneğinden daha yüksek olup fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL ve PSML'nin olgunlaşma katsayıları sırasıyla 20,86 ve 21,77 olarak PS 13,72 değerinden yüksek olup fark istatistik açıdan önemlidir (p<0,05). Peynir üretiminde farklı formlarda lizozim kullanımının peynir grupları arasında farklılığa neden olduğu saptanmıştır. Olgunlaşma sürecinde peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarındaki artış suda çözünür azot değerlerindeki artışla doğrusal yönde olmaktadır. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur (p<0,05).

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin ortalama olgunlaşma katsayıları 13,22-25,55 aralığında değişim göstermektedir. Koçak vd. (2005) 17,60; Dinkçi vd. (2012) 6.95-24.97; Erdem ve Patır (2017) 24,58; Yerlikaya ve Akbulut (2019) 3,59-19,46 tarafından belirlenen olgunlaşma katsayılarıdır. Peynirin kimyasal bileşiminden üretimde kullanılan süt ve üretim teknolojisine kadar birçok faktörün peynirlerde olgunlaşma katsayısını etkileyebileceği belirtilmektedir (Koçak vd. 2005, Coşkun ve Demirtaş 2018). Tulum peynirlerinin kimyasal özelliklerinde görülen büyük farklılıkta üretimde kullanılan çiğ sütün özellikleri, üretim yöntemlerinin değişkenlik göstermesi, paketleme malzemesi, olgunlaşma süresi ve depolama koşulları etki göstermektedir (Güler ve Uraz 2003).



Şekil 4.17 Peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarının depolama süresince değişimi

4.3.12 Peynir örneklerinin randıman değerleri

Tulum peyniri üretiminde toplam 450 kg süt kullanılmıştır. Üretilen peynir miktarı 45 kg dır. Dolayısıyla Tulum peyniri üretiminde randıman %10 olarak belirlenmiştir.

4.3.13 Peynir örneklerinin serbest yağ asitleri içeriği

Peynir yapısında bulunan trigliseridler lipaz enziminin etkisiyle gliserol ve serbest yağ asitlerine parçalanmaktadır. Lipoliz sonucu ortaya çıkan serbest yağ asitleri peynirin tat ve aromasını etkileyerek kalitesinde istenen veya istenmeyen yönde değişikliklere sebep

olmaktadır. Peynirde lipolizi gerçekleştiren lipolitik ajanlar denildiğinde doğal olarak sütün yapısında bulunan süt lipazları, rennetten (pregastrik ve gastrik lipazlar) gelen ve mikrobiyota (çiğ sütte gelişen psikrotrof bakteriler, peynirin doğal yapısında bulunan laktik asit bakterileri, propiyonik asit bakterileri, starter bakteriler, spesifik küf ve mayalar, starter olmayan laktik asit bakterileri, istenmeyen küf ve mayalar) aktivitesinden kaynaklı lipolitik enzimler akla gelmektedir (McSweeney ve Sousa 2000, Collins vd. 2003, Erdoğan vd. 2012, Karabıyıklı ve Erdoğan 2019, Akgün ve Taş 2022).

Serbest yağ asitleri Tulum peyniri gibi olgunlaştırılarak tüketilen peynir çeşitlerinin karakteristik aromasına yapmış olduğu katkının yanı sıra esterler, aldehitler, alkoller ve ketonlar gibi diğer aroma bileşenlerinin oluşumuna da öncülük etmektedir (McSweeney ve Sousa 2000, Güler ve Uraz 2003, Hayaloğlu ve Karabulut 2013b, Kara vd. 2014).

Olgunlaşma döneminde peynir yapısında biriken serbest yağ asitlerinin lipoliz derecesini gösterdiği kabul edilmektedir (Svensson vd. 2006). Serbest yağ asitlerinden özellikle kaproik asit (C_{6:0}) peynir lipolizini ölçmek için bir indeks olarak kabul edilmektedir (Fox ve Wallace 1997, Güler 2005). Peynirde lipoliz sonucu oluşan serbest yağ asitleri kısa (C_{4:0}–C_{8:0}, SCFA), orta (C_{10:0}–C_{12:0}, MCFA) ve uzun zincirli (C_{14:0}–C_{18:3}, LCFA) olarak sınıflandırılmaktadır (Collins vd. 2003). Süt yağından lipoliz ile salınan serbest yağ asitleri (FFA), özellikle kısa ve orta zincirli FFA'lar peynir aromasını etkilemektedir (Tekin ve Güler 2019). Peynirlere özellikle C₄ ve C₁₂ ransit, keskin, keçimsi, sabunsu, hindistan cevizi benzeri bir aroma vermektedir (Singh vd. 2003). Tulum peynirinde istenilen hafif ransit tat ve aromanın oluşumu kısa zincirli serbest yağ asitlerinin artmasıyla meydana gelmektedir. Ancak arzu edilmeyen tat ve aromadan kaçınmak için hem her bir serbest yağ asidinin uygun konsantrasyonlarda olması hem de düşük molekül ağırlıklı yağ asitlerinin diğer aroma bileşenleriyle dengeli bir biçimde bulunması gerektiği belirtilmektedir (Güler ve Uraz 2003). Farklı peynir türlerinin serbest yağ asidi (FFA) kompozisyonlarının üretimde kullanılan sütün türünden üretim teknolojisine ve olgunlaşma sürecindeki lipolitik aktivite derecesine bağlı olarak son derece değişkenlik gösterebildiği belirtilmektedir (Larrayoz vd. 1999, Ozturkoğlu-Budak vd. 2018).

4.3.13.1 Bütirik asit (C₄) miktarı

Peynir örneklerinin bütirik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.15’de verilmiştir. Peynir örneklerinde en yüksek bütirik asit miktarı depolamanın 1. gününde ÇSML örneğinde $287,62 \pm 10,73$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.15). Olgunlaşmanın ilerlemesiyle tüm peynir örneklerinde bütirik asit miktarları artış gösterebilir istatistik açıdan önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Depolamanın 120. gününde ise azalma görülmüştür ($p < 0,05$). Örneklerin grup ortalamalarına bakıldığında pastörize sütte üretilen peynir örneklerinde bütirik asit miktarları çiğ sütte üretilenlere göre daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Bu noktada üretimde kullanılan süte uygulanan pastörizasyon işlemi peynirde bütirik asit oluşumunu etkilemektedir. Koca (1996) İzmir tulum peyniri ile ilgili yaptığı çalışmasında çiğ sütte üretilen kontrol örneğinde serbest yağ asitleri miktarını daha fazla bulmuştur ve yine depolamanın 15, 30, 60 ve 90. günlerinde serbest yağ asitleri içeriğinde herhangi bir farklılık tespit edilemediğini bildirmiştir.

Kısa zincirli yağ asitlerinden olan serbest bütirik asitin (C_{4:0}) peynirde süt yağından daha fazla daha yüksek konsantrasyonda oluştuğu, peynirde bulunan lipaz tarafından veya peynir mikrobiyotası ile sentezlendiği belirtilmektedir (Collins vd. 2003). Araştırma bulgularımızda, peynir örneklerinde de kısa zincirli serbest yağ asitlerinden olan bütirik asidin en yüksek miktarda bulunduğu tespit edilmiştir.

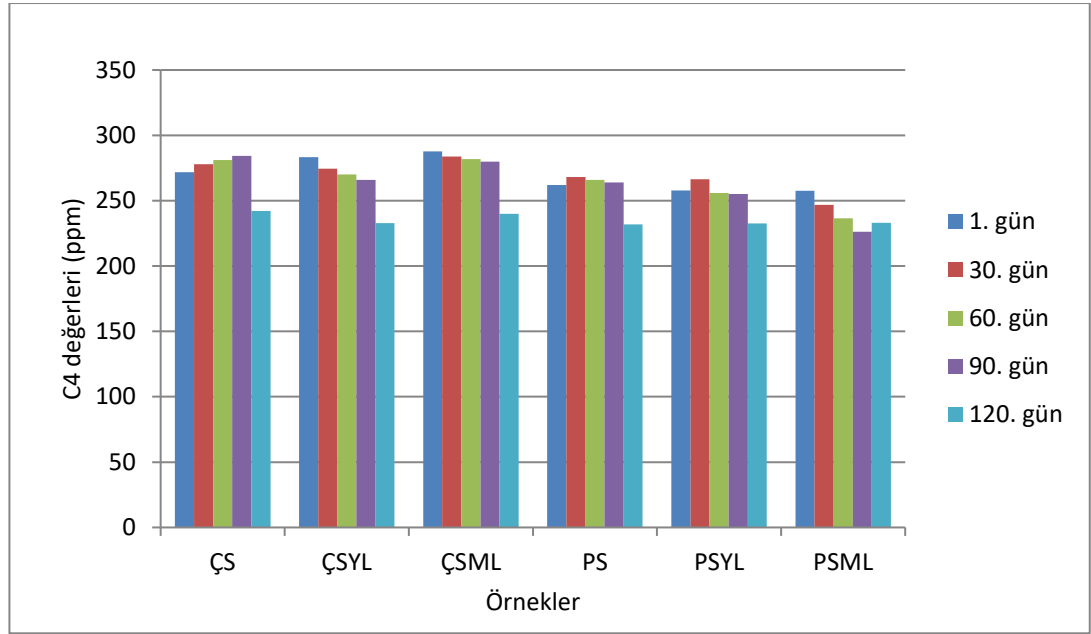
Çizelge 4.15 Peynir örneklerinin bütirik asit (C₄)değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama Örnek*	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
ÇS	271,79±26,83 Cb**	278,03±24,14 Ab	281,15±23,55 Bb	284,27±23,2 Ab	142,14±11,7 Aa	271,486±17,03 b
ÇSYL	283,38±14,15 Cb	274,59±12,02 Ab	270,20±18,14 Bb	265,81±25,59 Ab	132,91±12,79 Aa	265,38±19,27 b
ÇSML	287,62±10,73 Cb	283,81±26,47 Ab	281,90±37,04 Bb	280,00±47,1 Ab	140,00±23,95 Aa	274,67±19,58 b
PS	272,13±10,91 Cb	268,05±9,88 Ab	266,01±9,37 Bb	263,98±8,85 Ab	131,99±4,43 Aa	258,43±14,94 a
PSYL	267,76±23,18 Cb	266,48±11,92 Ab	215,84±6,29 Ac	265,20±0,66 Ad	132,60±0,33 Aa	253,58±12,56 a
PSML	227,50±2,11 Ca	246,88±8,53 Ab	206,56±11,74 Ac	266,26±14,6 Ad	133,13±7,48 Aab	240,07±12,26 a

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Her ne kadar PSYL ve PSML örneğindeki fark istatistik olarak önemli çıkmasa da pastörize süt kullanılarak ve mikrobiyal lizozim ilave edilerek üretilen peynir örneğinde C₄ değerinin yumurta lizozimi katkılı peynire göre daha düşük çıktığı tespit edilmiştir. Yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin pastörize sütte bütirik asit üzerine etkisi daha yüksek olup fark çiğ süt grubu peynir örneklerine göre istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Pastörize süte lizozim ilavesinin lipaz enzimi üzerinde baskılayıcı etki oluşturarak bütirik asit miktarında azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Bu hususta, çiğ süttten gelen lipazın lizozime baskın gelerek lipoliz olayını gerçekleştirdiği ve dolayısıyla bütirik asit miktarlarının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.18 Peynir örneklerinin bütirik asit (C₄) miktarının depolama süresince değişimi

Urbienė ve Sasnauskaitė (2010) tarafından yapılan bir araştırmada Cottage peyniri üretiminde farklı oranlarda lizozim ve potasyum sorbat (E 202) koruyucuları kullanılarak 18 gün depolama sonucunda, lizozim kullanımının kontrol örneğine kıyasla uçucu yağ asitlerini düşürdüğü tespit edilmiştir.

Doğal süt lipazı çiğ süt peynirinde önemli ölçüde lipolize neden olmaktadır ve özellikle süt lipazını tamamen inaktive etmek için 78°C'de 10 s ısıtma gerekmektedir. Süt

pastörizasyon sıcaklıklarında ısıl işlem gördüğünde pastörize süt peynirlerinde Lipoliz daha az görülmektedir (McSweeney 2004)

Yılmaz vd. (2005) Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmalarında olgunlaşmanın başlarında kontrol örneğindeki bütirik asit içeriğinin dikkate değer bir şekilde az olduğunu bildirmişlerdir. Kontrol örnekte bütirik asit miktarı olgunlaşmanın 1. gününde $1,07 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$ iken 90. gününde $8,56 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$ olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca mikrobiyal lipaz kullanılarak üretilen peynir örneklerinde uçucu serbest yağ asitleri içeriğinin olgunlaşmanın ilerlemesiyle artış gösterdiğini saptamışlardır. Mikrobiyal lipaz miktarı arttıkça olgunlaşmanın ilerlemesiyle tespit edilen bütirik asit miktarları da artış göstermiştir. Örneğin $0,11 \text{ g}$ mikrobiyal lipaz L^{-1} süt kullanılarak üretilen Tulum peynirinde olgunlaşmanın 1. günü $18,76 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$ bütirik asit tespit edilmişken 90. gününde $31,96 \text{ mg}100\text{g}^{-1}$ saptanmıştır.

Sütün çeşidi, paketlenme materyalinin türü ve pastörizasyonun Tulum peynirinin serbest yağ asitleri profili üzerine etkisi Arslaner ve Bakırcı (2016) tarafından araştırılmıştır. Depolama süresinin C_4 üzerinde önemli ölçüde etkisinin olduğu süt çeşidinin ise etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Depolamanın 2. günü C_4 değeri $0,892$ iken 90. günde $1,659$ olarak saptanmıştır. Aynı tür süt kullanılarak üretilen Tulum peynirlerinde paketlenme materyalinin serbest yağ asitleri ($\text{C}_{4:0}$ - $\text{C}_{18:3}$) konsantrasyonunu etkilemediği belirtilmektedir. Hickey vd. (2007) pastörize süttten yapılan peynirlerde serbest yağ asidi konsantrasyonunun çiğ süttten yapılan peynir örneklerine göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Çiğ sütte lipoprotein lipaz aktivitesinin önemli olduğu, pastörizasyonla söz konusu enzimin büyük ölçüde inaktif edildiği, tamamen inaktif olması için 78°C 10 s gerekli olduğu bildirilmiştir (McSweeney 2004, Arslaner ve Bakırcı 2016).

Güler ve Uraz (2003) Ankara piyasasında farklı süpermarketlerden temin ettikleri 20 adet Tulum peyniri üzerinde yaptıkları araştırmalarında ortalama bütirik asit miktarını 750 mg/kg peynir olarak belirlemişlerdir. Hayaloğlu vd. (2007b) tarafından Erzincan Şavak Tulum peynirinde 90 gün olgunlaşma sonucunda ortalama bütirik asit miktarı $8,56 \text{ mg}/100\text{g}$ olarak saptanmıştır. Atalay (2023) İzmir Tulum peyniri üretiminde dolun

salamurasında şarap posası kullanarak yaptığı araştırmasında, peynir örnekleri 180 gün boyunca olgunlaştırılarak olgunlaşma boyunca serbest yağ asitleri kompozisyonunda en fazla oranda bütirik asidi belirlemiştir. Klasik peyniraltı suyundan hazırlanan salamura kullanılan peynir örneğinde, salamurasında beyaz şarap posası kullanılan peynir örneğinde, salamurasında kırmızı ve beyaz şarap posası kullanılan ve salamurasında kırmızı şarap posası kullanılan peynir örneklerinde 180 günlük olgunlaşma sonunda bütirik asit miktarları sırasıyla 131,88; 113,12; 194,20; 157,56 ppm olarak belirlenmiştir. Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin C₄ değerleri (131,99-287,62 ppm) Atalay (2023) klasik peyniraltı suyundan hazırladıkları peynir örneklerinin bütirik asit değerleri ile benzerlik göstermekte, Arslaner ve Bakırcı (2016) ve Güler ve Uraz (2003) tarafından bildirilen değerlerden ise daha düşük bulunmuştur. Olgunlaşma süresi tüm serbest yağ asitleri üzerinde önemli bir etkiye sahipken en belirgin değişiklik depolamanın başlangıcından 270 güne 10 kat artış gösteren bütirik asit ve oleik asitte saptandığı Tekin ve Güler (2019) tarafından bildirilmiştir.

4.3.13.2 Kaproik asit (C₆) miktarı

Peynir örneklerinin kaproik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.16'da verilmiştir. Peynir örneklerinde en yüksek kaproik asit miktarı depolamanın 1. gününde ÇS örneğinde 54,91±25,73 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.16). Depolama süresince örneklerdeki kaproik asit miktarında azalma ve artmalar görülse de 120. günde genellikle azalmıştır.

Çizelge 4.16 Peynir örneklerinin kaproik asit (C₆) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	54,91±25,73 Ca	55,07±12,61 Ca	48,71±4,73 Ca	45,24±1,33 Bab	42,34±3,39 BCb	49,254±5,71 a
ÇSYL	49,25±1,41 BCa	40,04±2,40 Ba	38,99±1,09 Ba	40,84±3,57 Ba	37,14±1,40 Bb	41,252±4,68 a
ÇSML	52,45±7,24 Ba	49,72±7,26 BCa	48,35±7,37 Ca	46,99±7,53 Ba	43,66±4,82 Cb	48,234±3,25 a
PS	22,05±1,10 Aa	25,12±1,04 Aab	26,65±1,03 Aab	28,19±1,03 Ab	28,84±5,56 Ab	26,17±2,71 b
PSYL	22,31±2,24 Aa	23,26±0,07 Aa	23,74±1,02 Aa	24,22±2,10 Aa	22,83±0,76 Aa	23,272±0,74 b
PSML	22,38±1,56 Aa	22,46±0,37 Aa	22,51±0,23 Aa	22,55±0,82 Aa	23,68±0,29 Aa	22,716±0,54 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

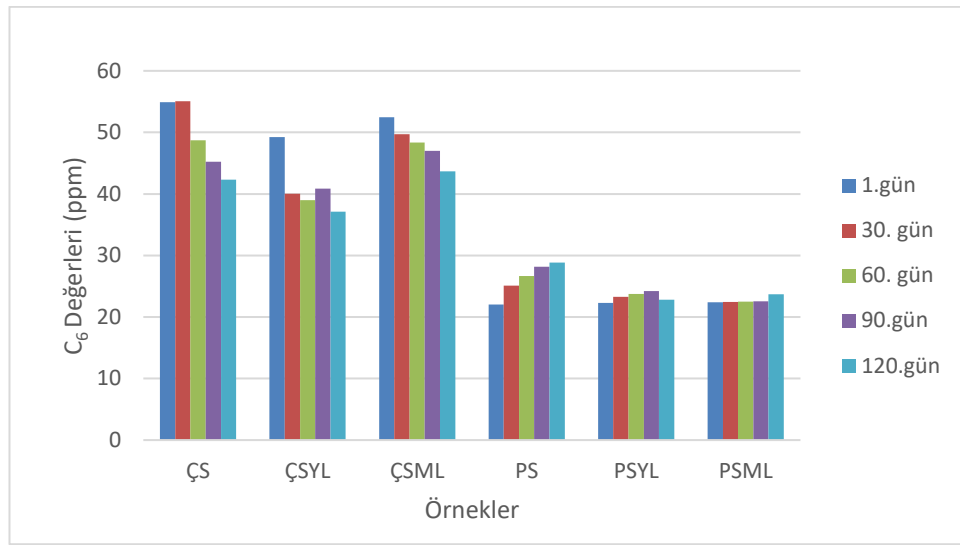
Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin kaproik asit değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Isıl işlemin kaproik asit oluşumu üzerinde etkili olduğu Çizelge 4.16'da görülmektedir. ÇS ($54,91 \pm 25,73$ ppm) örneği ve PS ($22,05 \pm 1,10$ ppm) örneğinde 1. gün kaproik asit değerleri farklı olup fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Elde edilen sonuca göre pastörizasyon işleminin kaproik asit üzerinde etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca pastörize süt kullanılarak üretilen lizozim katkı peynirlerde (PSYL ve PSML) C_6 değerlerinin çiğ süt kullanılarak üretilen lizozim katkı peynirlerden (ÇSYL ve ÇSML) daha düşük çıktığı ve farkın önemli olduğu ($p < 0,05$) dikkati çekmiştir. Araştırma sonucumuz çiğ süttten üretilen peynirlerde kaproik asit miktarının, pastörizasyon ve termizasyonla üretilen peynirlerden daha yüksek olduğunu belirten araştırmacılarla uyum içerisinde (Buffa vd. 2001, Hickey vd. 2007, Arslaner ve Bakırcı 2016). Çiğ süttten üretilen peynirlerin lipolize uğratılmasında süttün yapısında doğal olarak bulunan lipaz, çiğ süttten kaynaklı mikroorganizmalar ve starter olmayan laktik asit bakterileri sorumludur (Hickey vd. 2007).

İstatistiksel olarak pastörize süttten üretilen peynirlerin örnek ortalamaları çiğ süttten üretilen peynirlere göre daha düşük bulunmuştur ($p < 0,05$). Pastörize süttten üretilen ve lizozim katkı peynirlerde, kaproik asit miktarı daha düşük olmasına rağmen bu fark istatistik olarak önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$).

Peynir örneklerinde depolama süresince C_6 miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.19'da görülmektedir. Depolama süresince peynir örneklerinin kaproik asit değerlerinde dalgalı bir değişim olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Gerek çiğ süttten üretilen gerekse pastörize süttten üretilen peynirlerde, lizozim katkı örneklerin C_6 değerleri depolamanın 120. gününde daha düşük olarak belirlenmiştir. Hatta kaproik asit üzerine yumurta lizoziminin mikrobiyal lizozimden daha etkili olduğu her iki süt grubunda da görülmüştür. Fakat fark istatistik olarak önemli değildir ($p > 0,05$).

Çiğ sütte bulunan lipoprotein lipaz aktivitesinin termizasyon (65 °C×15 s) ile kısmen, pastörizasyon (72 °C×15 s) ile büyük ölçüde veya tamamen inaktif edildiği belirtilmektedir. Söz konusu enzimin çiğ süttten üretilen peynirde aktif, termizasyon işlemi görmüş süttten üretilen peynirde ise kısmen aktif olduğu bildirilmektedir. Dolayısıyla pastörize süttten üretilen peynirlerde starter esteraazlar başlıca lipoliz ajanlarıdır. Doğal süt mikrobiyotası ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin, özellikle pastörize süt peynirlerinde lipolize katkısının az olduğu ifade edilmektedir (Hickey vd. 2007).



Şekil 4.19 Peynir örneklerinin kaproik asit (C₆) değerlerinin depolama süresince değişimi

Araştırma bulguları Güler ve Uraz (2003); Hayaloğlu vd. (2007b); Arslaner ve Bakırcı (2016); Atalay (2023) tarafından belirlenen değerlerden daha düşüktür. Peynirlerin içerdiği serbest yağ asidi konsantrasyonundaki farklılıklar peynir yapımında kullanılan enzim miktarına, damıtma ve ekstraksiyon için kullanılan tekniklere ve peynirin türüne göre değişim gösterebilmektedir (Yılmaz vd. 2005). Olgunlaşma koşulları ve depolama sürelerindeki farklılıklar Tulum peynirinde çeşitliliği artırmaktadır (Kurt vd. 1991).

4.3.13.3 Kaprilik asit (C₈) miktarı

Peynir örneklerinin kaprilik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.17’de verilmiştir. Depolamanın 30. gününde örneklerdeki kaprilik asit miktarları 1. güne göre azalmış olup diğer günlerde artış göstermiştir. Peynir örneklerinde en yüksek kaprilik asit miktarı depolamanın 90. gününde ÇSML örneğinde 45,67±6,77 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17 Peynir örneklerinin kaprilik asit (C₈) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama Örnek*	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
ÇS	32,63±8,23 Dbc	15,33±1,61 Aa	25,09±9,42 ABab	42,43±2,24 Bc	35,44±3,89 Bbc	30,18±0,81 b
ÇSYL	21,40±1,26 BCb	14,70±1,05 Aa	29,73±1,78 BCc	44,42±1,29 Be	36,90±2,63 Bd	29,43±0,81 b
ÇSML	25,44±0,75 Ca	20,07±2,95 Ba	35,72±0,65 Cb	45,67±6,77 Bc	42,88±2,65 Cc	33,95±0,81 a
PS	15,99±0,98 ABa	15,29±1,22 Aa	21,13±1,04 Ab	26,12±3,49 Abc	28,75±4,75 Ac	21,45±0,81 c
PSYL	15,40±0,89 ABb	13,21±0,89 Aa	19,23±0,94 Ac	22,42±0,35 Ad	23,38±1,02 Ad	18,72±0,81 cd
PSML	13,00±0,42 Aa	12,30±0,36 Aa	18,59±0,67 Ab	22,89±0,35 Ac	23,34±0,27 Ac	18,02±0,81 d

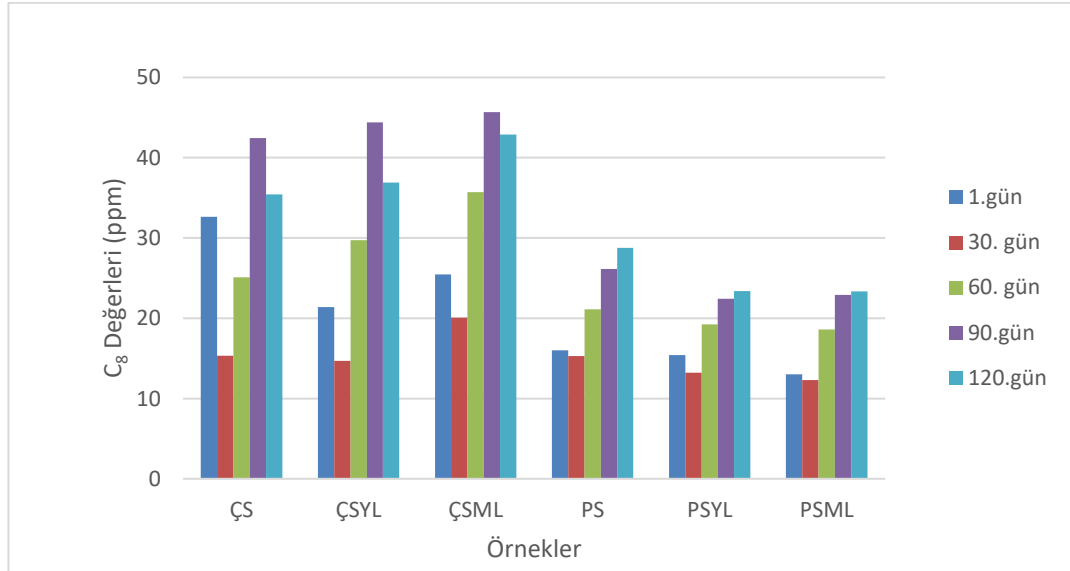
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin kaprilik asit değerlerindeki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS (30,18±0,81 ppm) ve ÇSYL (29,43±0,81 ppm) örneğinde kaprilik asit miktarı bakımından istatistik olarak bir fark olmadığı saptanmıştır (p>0,05). ÇSML (33,95±0,81 ppm) örneği ise ÇS ve ÇSYL örneklerinden daha fazla kaprilik asit

içermekte olup fark istatistiki olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PSYL ($18,72\pm0,81$ ppm) ve PSML ($18,02\pm0,81$ ppm) örneği içermiş oldukları kaprilik asit miktarı yönünden istatistik olarak benzer, PS ($21,45\pm0,81$ ppm) örneğinden ise daha düşük değerde olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Pastörize süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozim kontrol gruba göre kaprilik asit miktarını düşürmüştür ($p<0,05$). ÇS, ÇSYL ve ÇSML örnekleri PS, PSYL ve PSML örnekleri ile karşılaştırıldığında çiğ süt ve çiğ süt lizozim katkılı peynir gruplarının C_8 değerlerinin, pastörize süt ve pastörize süt lizozim katkılı peynir gruplarından daha yüksek çıktığı saptanmıştır ve fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Arslaner ve Bakırcı (2016) tarafından pastörizasyonun $C_{6:0}$ - $C_{14:0}$ serbest yağ asitleri seviyesini önemli derecede etkilediği bildirilmiştir.

Peynirlerde depolama süresince C_8 miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.20’de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Kısa zincirli yağ asitlerinin düşük ve yüksek seviyeleri, peynirlerin doğal mikroflorasının düşük ve yüksek lipolitik etkisini göstermektedir (Collins vd. 2003, Hayaloğlu ve Karabulut 2013b).



Şekil 4.20 Peynir örneklerinin kaprilik asit (C_8) değerlerinin depolama süresince değişimi

Araştırma bulgularımız pastörize süttten üretilen peynirlerde kaprilik asit miktarının daha düşük olduğunu belirten Buffa vd. (2001), Cinbas ve Kilic (2006) ve Hickey vd. (2007) araştırmacıları ile uyum içerisinde olup Güler ve Uraz (2003); Hayaloğlu vd. (2007b) ve Arslaner ve Bakırcı (2016) tarafından rapor edilen değerlerden daha düşüktür. Tulum peyniri gibi olgunlaştırılarak tüketilen peynirlerin hafif keskin, ransit tat ve aromasının oluşumunda kaprilik asit ve kaprik asidin etkili olduğu belirtilmektedir (Güler ve Uraz 2003, Güler 2004).

4.3.13.4 Kaprik asit (C₁₀) miktarı

Peynir örneklerinin kaprik asit miktarlarında depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.18’de verilmiştir. Peynir örneklerinde en yüksek kaprik asit miktarı depolamanın 90. gününde ÇSML örneğinde 70,81±12,32 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.18). Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerinde kaprik asit miktarlarında dalgalanmalar görülmüştür.

Çizelge 4.18 Peynir örneklerinin kaprik asit (C₁₀) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	49,17±4,49 Eb	20,06±7,08 Aa	46,25±16,42 BCb	67,28±7,20 Bc	52,14±5,76 Bbc	46,98±1,30 b
ÇSYL	33,18±2,46 Cb	23,96±1,81 ABa	50,17±2,83 CDc	65,33±4,53 Be	57,53±4,59 Bd	46,03±1,30 b
ÇSML	37,92±0,50 Da	35,17±4,78 Ca	60,14±2,25 Db	70,81±12,32 Bb	67,53±4,05 Cb	54,31±1,30 a
PS	26,08±2,78 Ba	27,85±2,66 Ba	35,79±1,18 ABb	38,53±4,03 Ab	49,28±7,10 Bc	35,50±1,30 c
PSYL	25,51±2,65 Bb	21,75±1,49 ABa	32,20±2,11 Ac	33,92±0,98 Ac	40,17±0,71 Ad	30,71±1,30 cd
PSML	18,95±0,87 Aa	19,24±0,86 Aa	29,04±0,55 Ab	34,10±1,26 Ac	37,75±1,35 Ad	27,81±1,30 d

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

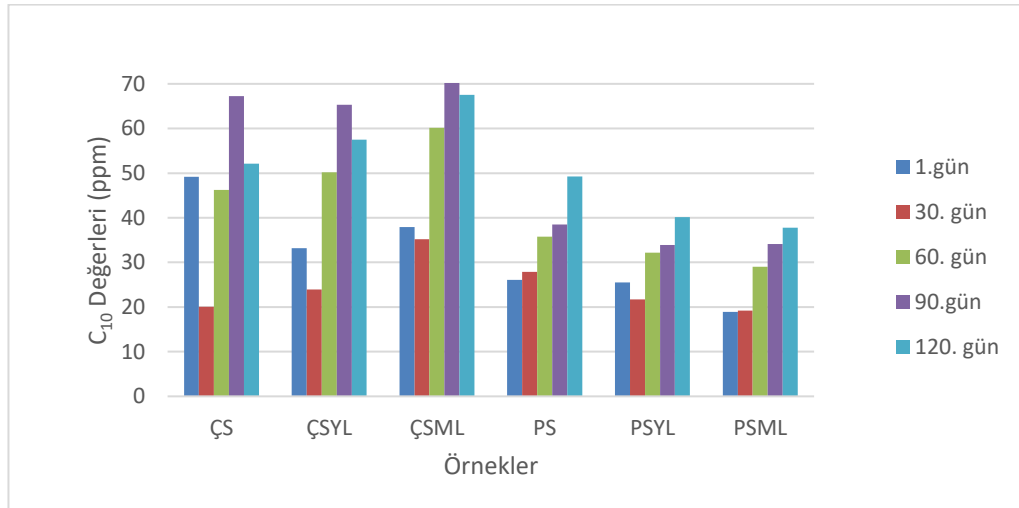
Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin kaprik asit değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS ($46,98 \pm 1,30$ ppm) ve ÇSYL ($46,03 \pm 1,30$ ppm) peynirlerinin kaprik asit içerikleri yönünden istatistik olarak bir fark olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır. ÇSML ($54,31 \pm 1,30$ ppm) örneğinin ise kaprik asit içeriği ÇS ve ÇSYL peynirlerinden daha fazla olup fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Mikrobiyal lizozimin çiğ süttten üretilen peynirlerde kaprik asit oluşumunu artırdığı görülmüştür. Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PS ($35,50 \pm 1,30$ ppm) ve PSYL ($30,71 \pm 1,30$ ppm) örneklerinin kaprik asit içerikleri yönünden istatistik olarak birbirine benzer olduğu, PSML ($27,81 \pm 1,30$ ppm) örneğinden ise istatistik olarak farklı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). ÇS, ÇSYL ve ÇSML örnekleri PS, PSYL ve PSML örnekleri ile karşılaştırıldığında çiğ süt ve çiğ süt lizozim katkılı peynir gruplarının C_{10} değerlerinin, pastörize süt ve pastörize süt lizozim katkılı peynir gruplarından daha yüksek çıktığı saptanmıştır ($p < 0,05$). ÇS örneğinin kaprik asit değeri ($46,98 \pm 1,30$ ppm), PS ($35,50 \pm 1,30$ ppm) örneğinden daha fazla saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Buradaki farkın pastörizasyondan kaynaklı olduğu saptanmıştır. Pastörizasyonla lipaz enziminin bir miktar inaktif olması ve dolayısıyla lipaz etkisiyle oluşan kaprik asit miktarının da daha az olması şeklinde düşünülmektedir. Çiğ süt kullanılarak üretilen peynirlerde serbest yağ asidi oranlarının pastörize süt kullanılarak üretilen peynirlerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Isıl işlem sonucu çiğ süt mikrobiyotasında meydana gelen değişim ve lipoprotein lipaz aktivitesinde oluşan azalmadan kaynaklanabileceği rapor edilmiştir (Cinbas ve Kilic 2006, Hickey vd. 2007, Arslaner ve Bakırcı 2016).

Peynirlerin kaprik asit miktarları üzerine olgunlaşmanın istatistik olarak önemli olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$). Peynir örneklerinde depolama süresince C_{10} miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.21'de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Tüm peynir örneklerinde depolamanın ilerlemesiyle kaprik asit miktarlarında azalma ve artış gözlenirse de olgunlaşmanın sonunda başlangıca göre arttığı tespit edilmiştir. Örneğin PS peynirinde 1. gün C_{10} miktarı $26,08 \pm 2,78$ ppm iken 120. günde $49,28 \pm 7,10$ ppm değerine yükselmiştir. Demekki olgunlaşmanın ilerlemesiyle lipaz etkisini göstermiş ve kaprik asit

değeri yükselmiştir. Olgunlaşmanın 1. gününde PSYL örneğinde kaprik asit değeri $25,51 \pm 2,65$ ppm olarak 120. günün de ise $40,17 \pm 0,71$ ppm olarak tespit edildi. Bu noktada yumurta lizoziminin lipazı etkilediği ve oluşan kaprik asit miktarının PS örneğine göre daha düşük çıktığı belirlendi. PSML örneğinde ise olgunlaşmanın 1. günü tespit edilen kaprik asit değeri $18,95 \pm 0,87$ ppm iken 120. günü artış göstererek $37,75 \pm 1,35$ ppm olarak saptandı. Yumurta lizozimi ile karşılaştırıldığında mikrobiyal lizozimin kaprik asit üzerinde daha fazla etkisinin olduğu saptandı ve bu farkın da istatistik olarak önemli olduğu belirlendi ($p < 0,05$).

Araştırma bulgularımız Hayaloğlu vd. (2007b) tarafından belirlenen sonuçlardan düşük, Buffa vd. (2001), Cinbas ve Kilic (2006) ve Hickey vd. (2007) tarafından saptanan sonuçlara uyum göstermektedir. Ayrıca pastörize sütte mikrobiyal lizozimin yumurta lizozimi ile etkisinin hemen hemen aynı olduğu çiğ sütte ise yumurta lizoziminin mikrobiyal lizozimden fazla etkili olduğu dolayısıyla oluşan kaprik asit miktarının daha az olduğu saptanmıştır. Kaprik asit Tulum peynirinin tipik tat ve aromasında en önemli yağ asididir (Güler 2004, Şengül vd. 2014).



Şekil 4.21 Peynir örneklerinin kaprik asit (C_{10}) değerlerinin depolama süresince değişimi

Peynirlerde tat ve koku oluşumunda özellikle etkili olan serbest yağ asitleri bütirik, kaproik, kaprilik ve kaprik asitlerdir. Bunun nedeni, peynirlerdeki yüksek pH nedeniyle asitlerin peynirin sulu fazına geçmesi ve bunun lezzet algısını etkilemesidir (Güler 2005).

4.3.13.5 Laurik asit (C₁₂) değeri

Peynir örneklerinin laurik asit değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.19’da verilmiştir. Depolamanın 30. gününde örneklerdeki laurik asit miktarlarında artışlar ve azalmalar olduğu görülmüştür. Olgunlaşmanın 60. ve 90. günlerinde ise tüm örneklerde genel bir artış olduğu 120. günde yine dalgalanmalar olduğu tespit edilmiştir. Peynir örneklerinde en yüksek laurik asit miktarı depolamanın 90. gününde ÇSML örneğinde 82,76±11,07 ppm olarak, en düşük laurik asit miktarı ise depolamanın 30. gününde PSML örneğinde 27,12±1,04 ppm olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19 Peynir örneklerinin laurik asit (C₁₂) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	60,58±11,51 Db	29,20±10,41 Aa	63,06±23,47 Bb	79,81±15,07 Bb	65,70±6,42 Bb	59,67±1,82 a
ÇSYL	41,69±1,92 BCb	34,81±2,36 ABa	66,45±5,96 Bc	78,41±3,74 Bc	71,38±5,82 Bbc	58,54±1,82 a
ÇSML	46,70±0,24 Ca	47,91±5,56 Ca	64,83±7,11 Bb	82,76±11,07 Bc	80,50±4,26 Cc	64,54±1,82 a
PS	35,97±4,00 ABa	40,39±3,80 BCa	43,39±2,18 Aab	53,13±7,73 Ab	65,54±7,41 Bc	47,68±1,82 b
PSYL	34,14±1,31 ABa	31,39±1,48 ABa	38,36±2,52 Ab	42,01±1,14 Ac	51,90±0,51 Ad	39,55±1,82 c
PSML	28,49±0,26 Aa	27,12±1,04 Aa	34,18±0,69 Ab	40,91±1,23 Ac	48,18±0,22 Ad	35,77±1,82 c

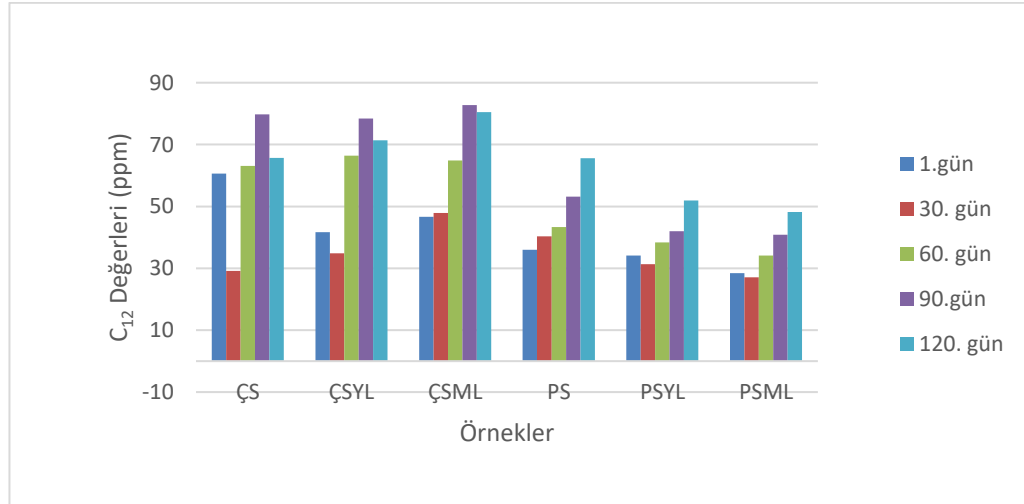
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin laurik asit değerlerindeki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak

değerlendirildiğinde ÇS (59,67±1,82 ppm), ÇSYL (58,54±1,82 ppm) ve ÇSML (64,54±1,82 ppm) örneğinde istatistik olarak bir fark olmadığı saptanmıştır (p>0,05). Çiğ süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozimin laurik asit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PSYL (39,55±1,82 ppm) ve PSML (35,77±1,82 ppm) örneği istatistik olarak benzer, PS (47,68±1,82 ppm) örneğinden ise daha düşük değerde olduğu tespit edilmiştir (p<0,05). Pastörize süte katılan yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim laurik asit miktarını etkilememiştir (p>0,05). ÇS (59,67±1,82 ppm) ve PS (47,68±1,82 ppm) örnekleri karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olduğu (p<0,05) saptanarak pastörizasyon işleminin laurik asit miktarını azalttığı belirlenmiştir. Benzer sonuçlara çeşitli araştırmacıların çalışmalarında da rastlanmıştır (Arslaner ve Bakırcı 2016). Yüksek düzeyde C₁₂ ve diğer yağ asitlerini içeren peynirlerde hoş olmayan ekşimsi tat geliştiği bildirilmektedir (Efthymiou ve Mattick 1964, Mallatou vd. 2003).

Peynir örneklerinde depolama süresince C₁₂ miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.22’de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur (p<0,05)



Şekil 4.22 Peynir örneklerinin laurik asit (C₁₂) değerlerinin depolama süresince değişimi

Güler ve Uraz (2003) tarafından Ankara piyasasından temin edilen 20 adet Tulum peyniri örneğinde ortalama laurik asit miktarı 1536 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yılmaz vd.

(2005) tarafından Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmada ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda Tulum peyniri kontrol örneğinde laurik asit miktarı 10,56 mg/100g iken 0,11 g mikrobiyal lipaz/L süt katılarak üretilen peynirde laurik asit miktarı 20,60 mg/100g olarak belirlenmiş ve mikrobiyal lipazın laurik asit miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Beykaya (2018) tarafından Erzincan Tulum peyniri üzerine yapılan araştırmada peynir örneklerinde laurik asit miktarı en düşük 4,13 mg/100 g olarak depolamanın 60. gününde *B. animalis* probiyotik kültürü içeren ve ince bağırsaklara doldurulan peynirlerde, en yüksek laurik asit miktarı ise 5,33 mg/100 g olarak olgunlaşmanın başlangıcında tulumla doldurulan ve *B. animalis* x *L. acidophilus* kültürleri içeren peynir örneklerinde saptanmıştır. Arslaner ve Bakırcı (2016) tarafından yapılan bir araştırmada koyun sütünden üretilen Tulum peynirlerinin C₆, C₈, C₁₀, C₁₂, C_{18:2} ve C_{18:3} yağ asitleri konsantrasyonu bakımından daha zengin olduğu rapor edilmiştir.

4.3.13.6 Miristik asit (C₁₄) değeri

Peynir örneklerinin miristik asit (C₁₄) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.20'de verilmiştir. Peynir örneklerinde miristik asit miktarı en yüksek depolamanın 90. gününde ÇSML örneğinde 266,02±23,23 ppm olarak en düşük ise depolamanın 30. gününde PSML örneğinde 108,55±3,15 ppm olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki miristik asit miktarlarının artış ve azalışlar göstererek dalgalı bir seyir izlediği görülmüştür (Çizelge 4.20). Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin miristik asit değerlerindeki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur.

Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS (213,13±5,03 ppm) ÇSYL (186,26±5,03 ppm) ve ÇSML (203,14±5,03 ppm) örneklerinin miristik asit miktarları istatistiksel olarak farksız çıkmıştır (p>0,05). Çiğ süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozimin miristik asit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PSYL (145,35±5,03 ppm) örneğinin miristik asit içeriği yönünden PS (164,99±5,03 ppm) ve

PSML (133,82±5,03 ppm) örneğine istatistik olarak benzer olduğu görülmüştür. Miristik asit üzerine mikrobiyolojik lizozimin yumurta lizoziminden biraz daha etkili olduğu saptanmıştır. ÇS (213,13±5,03 ppm) ve PS (164,99±5,03 ppm) örnekleri karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olduğu (p<0,05) saptanarak pastörizasyon işleminin miristik asit miktarını azalttığı belirlenmiştir. Benzer sonuçlara çeşitli araştırmacılar (Rehman vd. 2000, Buffa vd. 2001, Arslaner ve Bakırcı 2016) da ulaşmış olup çiğ süttten üretilen peynirlerin serbest yağ asitleri değerlerinin pastörize süttten daha yüksek olmasını starter olmayan laktik asit bakterilerinin lipolitik aktivitesiyle ilişkilendirmişlerdir. Starter olmayan laktik asit bakterileri çok çeşitli hidrolitik enzimlere sahip olması nedeniyle peynirin olgunlaşmasına katkıda bulunma potansiyeline sahip olduğu bildirilmiştir (Williams ve Banks 1997, Rehman vd. 2000). Ancak bu enzimlerin ve süttün doğal enzimlerinin etkisi pastörizasyon ile önemli derecede azaldığı görülmüştür (Rehman vd. 2000).

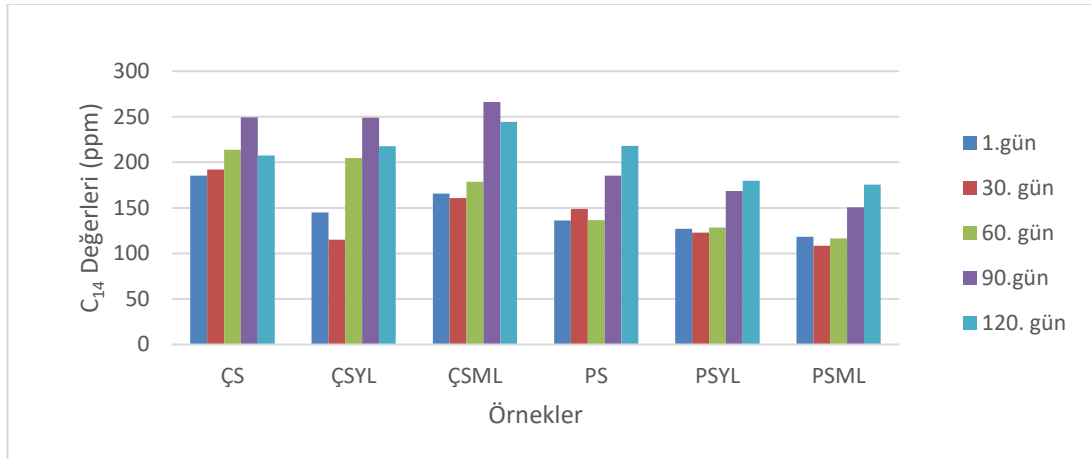
Çizelge 4.20 Peynir örneklerinin miristik asit (C₁₄) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	185,28±15,41 Ea	191,87±33,13 Aa	213,68±72,70 Ba	249,23±24,25 Ca	207,60±12,58 Ba	213,13±5,03 a
ÇSYL	144,90±4,24 Cb	114,97±7,73 Aa	204,53±22,10 Bc	249,04±12,17 Cd	217,87±15,08 Bc	186,26±5,03 a
ÇSML	165,74±4,97 Da	160,66±18,17 Ca	178,78±32,17 ABa	266,02±23,23 Cb	244,50±11,79 Cb	203,14±5,03 a
PS	136,21±13,6 BCa	148,79±11,92 BCa	136,66±8,60 Aa	185,35±11,25 Bb	217,98±22,73 Bc	164,99±5,03 b
PSYL	127,07±2,83 ABa	122,94±3,52 ABa	128,46±5,45 Aa	168,48±3,64 ABb	179,83±2,61 Ac	145,35±5,03 bc
PSML	118,10±0,13 Ab	108,55±3,15 Aa	116,65±1,49 Ab	150,42±3,09 Ac	175,43±1,98 Ad	133,82±5,03 c

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sütunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinde depolama süresince C_{14} miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.23’de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Örneğin ÇS peynirinde 1. gün C_{14} miktarı $185,28\pm15,41$ ppm iken 120. günde $207,60\pm12,58$ ppm değerine yükselmiştir. Olgunlaşmanın 1. gününde çiğ süttten üretilen ($185,28\pm15,41$ ppm) ve lizozim katkılı peynirlerin (ÇSYL: $144,90\pm4,24$ ppm; ÇSML: $165,74\pm4,97$ ppm) C_{14} değerleri arasındaki fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen mikrobiyal lizozim katkılı peynirin (PSML: $118,10\pm0,13$ ppm) ise C_{14} değeri PS ve PSYL örneğinden daha düşük olup fark istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynirlerin miristik asit değerlerinin çiğ süttten üretilen peynirlerden daha düşük çıktığını rapor eden çeşitli araştırmacılar çiğ sütte starter olmayan laktik asit bakterilerinin lipolitik aktivitesinden kaynaklı olabileceğini belirtmişlerdir (Buffa vd. 2001, Cinbas ve Kilic 2006).



Şekil 4.23 Peynir örneklerinin miristik asit (C_{14}) değerlerinin depolama süresince değişimi

Güler ve Uraz (2003) tarafından Ankara piyasasından temin edilen 20 adet Tulum peyniri örneğinde ortalama miristik asit miktarı 2717 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yılmaz vd. (2005) tarafından Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmada ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda Tulum peyniri kontrol örneğinde miristik asit miktarı $26,15$ mg/100g iken $0,11$ g

mikrobiyal lipaz/L süt katılarak üretilen peynirde miristik asit miktarı 36,73 mg/100g olarak belirlenmiş ve mikrobiyal lipazın miristik asit miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Beykaya (2018) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirlerinde en düşük miristik asit miktarı 10,33 mg/100g en yüksek değer ise 13,27 mg/100g olarak belirlenmiştir.

4.3.13.7 Palmitik asit (C₁₆) değeri

Peynir örneklerinin palmitik asit (C₁₆) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.21’de verilmiştir. Peynir örneklerinde palmitik asit miktarı en yüksek depolamanın 90. gününde PS örneğinde 1518,51±101,31 ppm olarak en düşük değer ise depolamanın 1. günü PSML örneğinde 675,77±2,60 ppm olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki palmitik asit miktarlarının artış ve azalışlar göstererek dalgalı bir seyir izlediği görülmüştür (Çizelge 4.21).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir ($p>0,05$). Ancak depolama süresince peynir örneklerinin palmitik asit değerlerindeki değişim $p<0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Fakat çiğ süttten ve pastörize süttten üretilen peynir örneklerinin palmitik asit miktarları depolamanın 60. ve 90. gününde birbirine benzer çıkmıştır ($p>0,05$).

Depolamanın 1. gününde peynir örneklerinden ÇSYL, ÇSML ve PS birbirine benzer çıkarken ÇS örneği farklı ve büyük çıkmıştır. Aynı şekilde PSYL ve PSML örnekleri de istatistik olarak birbirine benzer çıkmıştır. Çiğ süt örneklerinde palmitik asit miktarı daha yüksek bulunmuştur. Isıl işlemin palmitik asit üzerinde etkisi burada da görülmektedir. Pastörizasyonun C_{6:0}-C_{14:0} FFA seviyelerini önemli ölçüde etkilediği zaten ifade edilmişti (Arslaner ve Bakırcı 2016). Depolamanın son gününde ise pastörize süttten üretilen ve lizozim katkılı örneklerde palmitik asit oluşumu daha düşük olmuştur ($p<0,05$). Pastörizasyon ile beraber lizozim ilavesi palmitik asit oluşumunu azaltmıştır. Örneklerin depolama süresince genel ortalamasına bakıldığında tüm örneklerin birbirine benzer olduğu görülmektedir.

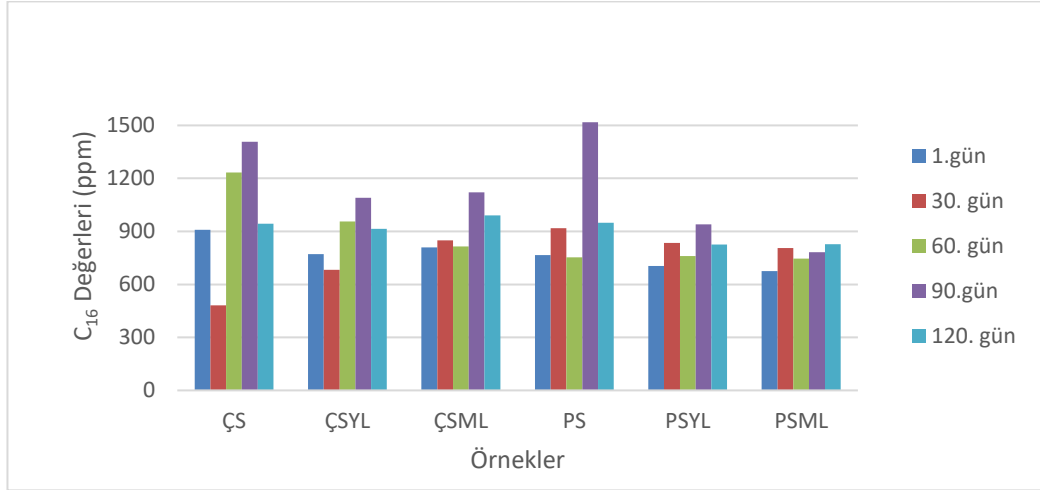
Çizelge 4.21 Peynir örneklerinin palmitik asit (C₁₆) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	909,92±52,40 Cab	981,08±182,77 Aa	1233,48±414,83 Bb	1408,19±394,14 Ab	942,96±16,47 BCab	995,12±56,42 a
ÇSYL	771,50±15,69 Bb	682,16±42,69 Ba	956,01±18,28 ABc	1091,11±44,03 Ad	915,02±27,63 Bc	883,16±56,42 a
ÇSML	810,33±12,90 Ba	849,64±49,29 Ca	814,66±57,58 Aa	1121,90±50,60 Ab	991,39±22,77 Cb	917,58±56,42 a
PS	766,78±37,74 Ba	918,77±44,32 Ca	753,33±17,09 Aa	1518,51±101,31 Aa	948,80±82,95 BCa	981,24±56,42 a
PSYL	704,12±11,56 Aa	835,36±21,89 Cb	759,88±12,12 Aa	940,63±62,76 Ac	825,61±13,99 Ab	813,11±56,42 a
PSML	675,77±2,60 Aa	806,52±13,90 BCd	745,75±0,31 Ab	782,46±4,71 Ac	826,77±6,91 Ae	767,45±56,42 a

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinde depolama süresince C_{16} miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.24’de görülmektedir.



Şekil 4.24 Peynir örneklerinin palmitik asit (C_{16}) değerlerinin depolama süresince değişimi

Güler ve Uraz (2003) tarafından Ankara piyasasından temin edilen 20 adet Tulum peyniri örneğinde ortalama palmitik asit miktarı 5608 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yılmaz vd. (2005) tarafından Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmada ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda Tulum peyniri kontrol örneğinde palmitik asit miktarı 50,86 mg/100g iken 0,11 g mikrobiyal lipaz/L süt katılarak üretilen peynirde palmitik asit miktarı 79,30 mg/100g olarak belirlenmiş ve mikrobiyal lipazın palmitik asit miktarını artırdığı rapor edilmiştir. En fazla bulunan uzun zincirli yağ asidinin palmitik asit olduğu bunu oleik asit ve miristik asidin takip ettiği bildirilmiştir. Beykaya (2018) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirlerinde en düşük miristik asit miktarı 10,33 mg/100g en yüksek değer ise 13,27 mg/100g olarak belirlenmiştir. Uzun zincirli yağ asitlerinin (> 12 karbon atom) peynirlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunmalarına karşın peynirin tat ve aromasına önemli ölçüde etki etmediği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Curioni ve Bosset 2002, Mallatou vd. 2003, Arslaner 2008).

4.3.13.8 Stearik asit (C_{18:0}) değeri

Peynir örneklerinin stearik asit (C_{18:0}) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.22’de verilmiştir. Peynir örneklerinde stearik asit miktarı en yüksek depolamanın 90. gününde ÇS örneğinde 798,45±±262,98 ppm olarak en düşük miktar ise depolamanın 30. gününde ÇS örneğinde 367,38±104,02 ppm olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki stearik asit miktarlarının artış ve azalışlar göstererek dalgalı bir seyir izlediği görülmüştür (Çizelge 4.22). Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin stearik asit değerlerindeki değişim önemli çıkmıştır (p<0,05).

Peynir örneklerinin stearik asit içeriklerindeki eğilim palmitik asit ile benzerlik göstermiştir. Depolamanın 1. gününde peynir örneklerinden ÇSYL, ÇSML ve PS, PSML birbirine benzer çıkarken ÇS örneği ve PSML örneği farklı çıkmıştır. Çiğ süt örneklerinde stearik asit miktarı daha yüksek bulunmuştur. Bilindiği gibi pastörizasyon C_{6:0}-C_{14:0} FFA seviyelerini önemli ölçüde etkilemektedir (Arslaner ve Bakırcı 2016). Depolamanın son gününde pastörize süttten üretilen ve lizozim katkılı örneklerde stearik asit oluşumu daha düşük olmuştur (p<0,05). Pastörizasyon ile beraber lizozim ilavesi stearik asit oluşumunu azaltmıştır. Örneklerin depolama süresince genel ortalamasına bakıldığında çiğ süttten üretilen peynir örneği hariç tüm örneklerin birbirine benzer olduğu görülmektedir (Çizelge 4.22).

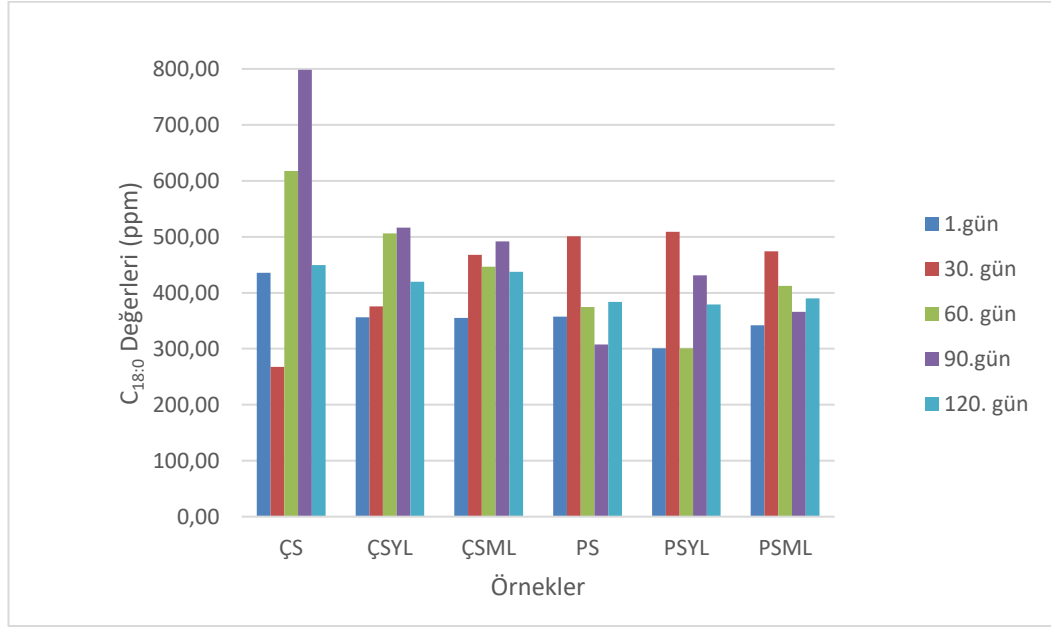
Çizelge 4.22 Peynir örneklerinin stearik asit (C_{18:0}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90.gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	435,60±23,70 Ca	367,38±104,02 Aa	617,60±202,52 Ca	798,45±262,98 Aa	449,38±37,14 Ca	513,68±143,41 a
ÇSYL	356,53±21,49 Ba	375,58±18,48 Bab	506,20±37,99 BCc	516,30±25,06 Ac	419,68±16,72 ABCb	434,85±143,41 ab
ÇSML	355,06±42,44 Ba	467,55±28,79 Cb	446,43±43,06 ABCb	492,03±20,24 Ab	437,31±29,90 BCb	439,67±143,41 ab
PS	357,34±16,59 Ba	501,03±23,38 Ca	374,44±6,86 ABa	307,80±28,96 Aa	383,71±43,21 Aa	384,48±143,41 b
PSYL	300,94±17,95 Aa	509,11±14,51 Cc	300,97±103,46 Aa	431,09±48,61 Abc	379,20±0,04 Aab	384,26±143,41 b
PSML	341,86±5,69 ABa	474,00±12,48 Ce	412,46±2,43 ABd	365,85±16,44 Ab	390,00±2,77 ABc	396,83±143,41 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinde depolama süresince $C_{18:0}$ miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.25’de görülmektedir.



Şekil 4.25 Peynir örneklerinin stearik asit ($C_{18:0}$) değerlerinin depolama süresince değişimi

Güler ve Uraz (2003) tarafından Ankara piyasasından temin edilen 20 adet Tulum peyniri örneğinde ortalama stearik asit miktarı 2210 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yılmaz vd. (2005) tarafından Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmada ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda Tulum peyniri kontrol örneğinde stearik asit miktarı 18,15 mg/100g iken 0,11 g mikrobiyal lipaz/L süt katılarak üretilen peynirde stearik asit miktarı 20,04 mg/100g olarak belirlenmiş ve mikrobiyal lipazın stearik asit miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Beykaya (2018) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirlerinde en düşük stearik asit miktarı 9,71 mg/100g en yüksek değer ise 11,14 mg/100g olarak belirlenmiştir.

4.3.13.9 Oleik asit ($C_{18:1}$) değeri

Peynir örneklerinin oleik asit ($C_{18:1}$) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.23’de verilmiştir. Peynir örneklerinde oleik asit miktarı en yüksek

depolamanın 60. gününde ÇS örneğinde $2317,87 \pm 758,71$ ppm olarak en düşük miktar ise depolamanın 60. gününde PSML örneğinde $712,06 \pm 688,41$ ppm olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki oleik asit miktarlarının artış ve azalışlar göstererek dalgalı bir seyir izlediği görülmüştür (Çizelge 4.23).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin oleik asit değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS ($1883,55 \pm 169,53$ ppm) örneği oleik asit miktarı yönünden ÇSYL ($1569,46 \pm 169,53$ ppm) ve ÇSML ($1524,42 \pm 169,53$ ppm) örneklerinden farklı olup fark istatistiksel olarak önemlidir ($p < 0,05$). Çiğ süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozimin oleik asit miktarını azalttığı görülse de yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin oleik asit içeriği ile benzerlik göstermiştir ($p > 0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PSYL ($1081,17 \pm 169,53$ ppm) ve PSML ($1042,53 \pm 169,53$ ppm) örneklerinin oleik asit içeriği PS ($1350,17 \pm 169,53$ ppm) örneğine göre daha düşük çıkmasına rağmen fark istatistik olarak önemsiz çıkmıştır ($p > 0,05$). Ayrıca ÇS ($1883,55 \pm 169,53$ ppm) ve PSYL, PSML örneklerinde oleik asit miktarı yönünden fark önemli olup ($p < 0,05$) pastörizasyon işlemi ve lizozim enzim ilavesi oleik asit miktarını etkilediği saptanmıştır. Isıl işlemin kısa zincirli yağ asitlerini etkilediği belirtilmişti (Arslaner ve Bakırcı 2016).

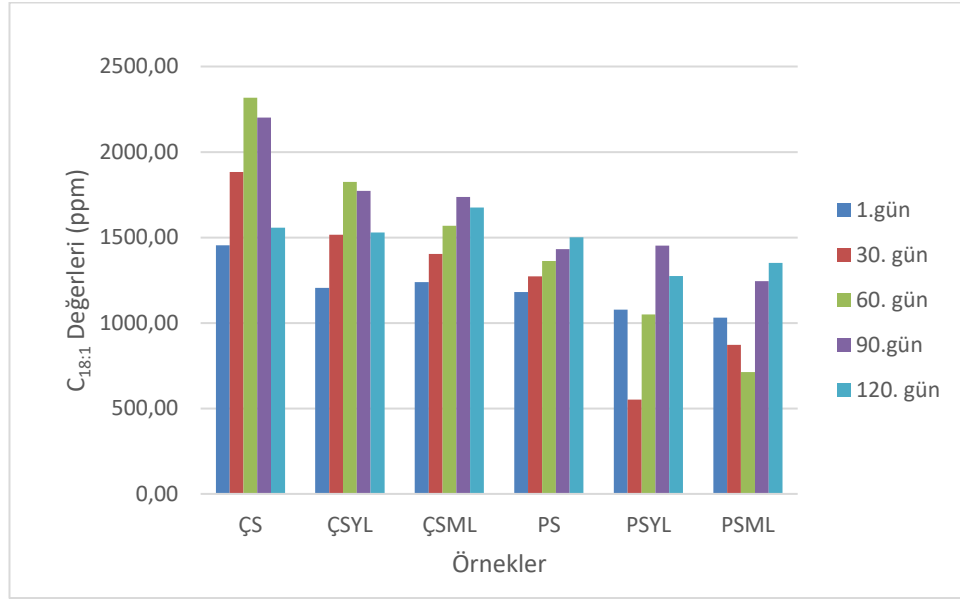
Çizelge 4.23 Peynir örneklerinin oleik asit (C_{18:1}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	1454,81±80,70 Da	1883,35±391,14 Ca	2317,87±758,71 Da	2201,63±495,15 Aa	1557,07±108,63 Ca	1883,55±169,53 a
ÇSYL	1205,27±10,29 Ca	1515,50±42,57 BCb	1825,71±89,04 CDc	1772,23±125,67 Ac	1528,58±77,50 BCb	1569,46±169,53 ab
ÇSML	1237,99±123,07 Ca	1402,84±40,39 Bab	1567,68±169,23 CDbc	1737,51±118,15 Ac	1676,08±98,89 Cc	1524,42±169,53 ab
PS	1181,64±63,54 BCa	1272,26±34,84 Ba	1362,87±9,14 BCa	1432,32±82,66 Aa	1501,78±156,18 BCa	1350,17±169,53 ab
PSYL	1077,89±36,07 ABb	551,05±20,49 Aa	1050,26±66,74 ABb	1452,48±113,99 Ad	1274,17±99,35 Ac	1081,17±169,53 b
PSML	1031,94±20,17 Aa	872,00±334,12 Aa	712,06±688,41 Aa	1245,05±64,96 Aa	1351,60±60 ABa	1042,53±169,53 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin oleik asit içerikleri depolama günlerinde farklılık göstermiştir ($p<0,05$). Sadece depolamanın 90. gününde tüm örneklerde oleik asit değerleri birbirine benzer bulunmuştur. Peynir örneklerinde depolama süresince oleik asit miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.26’da görülmektedir.



Şekil 4.26 Peynir örneklerinin oleik asit ($C_{18:1}$) değerlerinin depolama süresince değişimi

Güler ve Uraz (2003) tarafından Ankara piyasasından temin edilen 20 adet Tulum peyniri örneğinde ortalama oleik asit miktarı 4999 mg/kg olarak belirlenmiştir. Yılmaz vd. (2005) tarafından Tulum peynirinin olgunlaşması süresince mikrobiyal lipazın lipoliz üzerinde olan etkisini araştırdıkları çalışmada ise 90 günlük olgunlaşma süresi sonunda Tulum peyniri kontrol örneğinde oleik asit miktarı 49,30 mg/100g iken 0,11 g mikrobiyal lipaz/L süt katılarak üretilen peynirde oleik asit miktarı 82,75 mg/100g olarak belirlenmiş ve mikrobiyal lipazın oleik asit miktarını artırdığı rapor edilmiştir. Beykaya (2018) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirlerinde en düşük oleik asit miktarı 19,60 mg/100g en yüksek değer ise 25,38 mg/100g olarak belirlenmiştir. Ayrıca peynirlerde bulunan başlıca uzun zincirli yağ asitlerinin miristik ($C_{14:0}$), palmitik ($C_{16:0}$), stearik ($C_{18:0}$) ve oleik ($C_{18:1}$) asitler olduğu ve peynirin koku, tadına kısa ve orta zincirli yağ asitleri kadar katkı sağlamadığı ifade edilmiştir (Güler 2005).

4.3.13.10 Linoleik asit (C_{18:2}) değeri

Peynir örneklerinin linoleik asit (C_{18:2}) değerlerinde depolama süresince meydana gelen değişim Çizelge 4.24'te verilmiştir. Peynir örneklerinde linoleik asit miktarı en yüksek depolamanın 30. gününde PSYL örneğinde 382,75±51,94 ppm olarak en düşük miktar ise depolamanın 60. gününde yine PSYL örneğinde 130,20±4,70 ppm olarak belirlenmiştir. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki linoleik asit miktarlarının artış ve azalışlar görülmüştür (Çizelge 4.24).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin oleik asit değerlerindeki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS (267,55±14,03 ppm) örneği linoleik asit miktarı yönünden ÇSYL (215,60±14,03) ve ÇSML (210,11±14,03) örneklerinde daha düşük olmasına rağmen fark istatistiksel olarak önemsiz çıkmıştır ($p > 0,05$). Çiğ süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozimin linoleik asit miktarını azalttığı Çizelge 4.24'te görülmektedir. Pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ise PSYL (187,89±14,03 ppm) ve PSML (168,34±14,03ppm) örnekleri linoleik asit içeriği yönünden birbirine benzer bulunmuştur. Ayrıca PS (226,07±14,03 ppm) örneğinde belirlenen linoleik asit miktarından daha düşük olmalarına rağmen fark önemsiz çıkmıştır ($p > 0,05$). ÇS (267,55±14,03 ppm) ve PS (226,07±14,03 ppm) örneklerinde linoleik asit miktarı yönünden fark önemli olmamasına rağmen ($p > 0,05$) pastörizasyon işleminin linoleik asit miktarını etkilediği saptanmıştır.

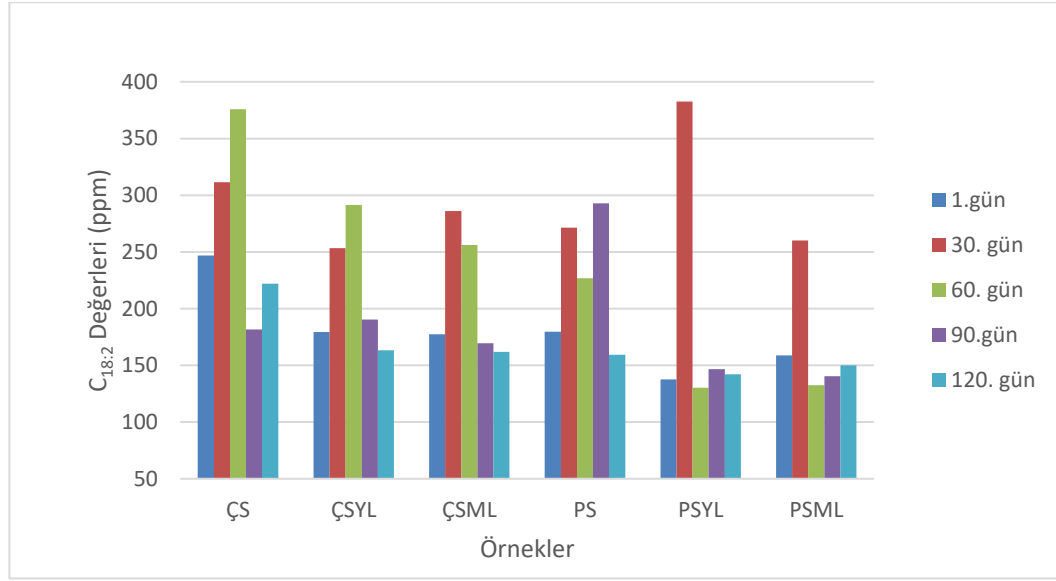
Çizelge 4.24 Peynir örneklerinin linoleik asit (C_{18:2}) değerlerinin depolama süresince değişimi (ppm), n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.**
Örnek*						
ÇS	246,83±36,06 Bab	311,37±45,56 Aab	375,91±123,55 Db	181,75±22,70 Aa	221,91±65,16 Ba	267,55±14,03 a
ÇSYL	179,41±16,39 Aa	253,41±19,16 Ab	291,50±28,59 CDb	190,52±26,85 Aa	163,19±3,03 Aa	215,60±14,03 ab
ÇSML	177,26±4,04 Aa	285,99±52,71 Ab	256,16±59,37 BCDb	169,42±34,90 Aa	161,77±2,70 Aa	210,11±14,03 ab
PS	179,75±7,43 Aa	271,52±30,66 Aa	226,76±28,02 BCa	292,92±185,86 Aa	159,43±21,08 Aa	226,07±14,03 ab
PSYL	137,57±44,58 Ab	382,75±51,94 Bc	130,20±4,70 Aa	146,70±8,09 Ab	142,24±13,95 Ab	187,89±14,03 b
PSML	158,84±6,13 Aa	260,03±16,81 Ab	132,47±105,64 Aa	140,34±6,78 Aa	150,07±12,40 Aa	168,34±14,03 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin depolama günlerinde linoleik asit üzerine etkisi istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Depolamanın 90. gününde tüm örnekler birbirine benzer çıkmıştır, 120. gününde ise sadece çiğ süttten üretilen peynir grubu hariç diğer örneklerin linoleik asit içerikleri birbirine benzer bulunmuştur. Peynir örneklerinde depolama süresince linoleik asit miktarlarında meydana gelen değişimler Şekil 4.27’de görülmektedir.



Şekil 4.27 Peynir örneklerinin linoleik asit ($C_{18:2}$) değerlerinin depolama süresince değişimi

Beykaya (2018) tarafından yapılan çalışmada Tulum peynirlerinde en düşük linoleik asit miktarı 1,84 mg/100g en yüksek değer ise 2,31 g/100g olarak belirlenmiştir. Tulum peyniri üretiminde standart bir teknik olmadığı için peynirlerin özelliklerinde farklılıklar meydana gelmektedir. Bu farklılıklar üretimde kullanılan çiğ süttün kalitesinden, üretim ortamı ve üretim yöntemlerinden, işçilerin tecrübesi ve depolama koşullarından kaynaklanabilmektedir (Sert vd. 2014).

4.3.14 Peynir örneklerinin uçucu bileşenleri

Aroma, peynirin lezzetinin gelişimine katkıda bulunan birçok faktörden en önemlisidir. Tulum peynirindeki aromanın oluşumu ise depolama süresi boyunca mikrobiyal ve biyokimyasal faaliyetlerin bir sonucudur. Bu faaliyetler laktoz ve sitrat metabolizması,

aminoasit katabolizması, lipidlerin parçalanması ve enzimatik olmayan dönüşümler gibi çeşitli kimyasal mekanizmalardan kaynaklanmaktadır (Avşar vd. 2011). Bu bileşiklerin heterojen bir karışımı oluşmakta ve tüketicilerin satın alma niyetinde önemli bir rol oynamaktadır.

Bilindiği üzere, peynirlerin duyu kalitesi için uçucu bileşenler önemlidir. Peynirin lezzetini, hammaddeden gelen bileşenlerin yanı sıra proses ve olgunlaşma süreçlerinde mikrobiyolojik ve biyokimyasal aktiviteler sonucunda oluşan uçucu ve uçucu olmayan bileşenler oluşturmaktadır. Peynir üretimi ve depolanması esnasında, süt bileşenleri olan protein, yağ, laktoz ve sitrat enzimatik, kimyasal ve mikrobiyolojik yollarla parçalanarak ve dönüşüme uğrayarak aroma bileşenlerini oluşturmaktadır.

Uçucu bileşikler, düşük moleküler ağırlığa sahip olup oda sıcaklığında kolayca buharlaşabilmektedir (Kalua vd. 2007). Laktik asit bakterileri (LAB), anaerobik koşullar altında laktat dehidrogenaz enzimi aracılığıyla piruvatı laktik aside dönüştürmektedir. Piruvatın bir kısmı, Marilley ve Casey (2004) ile Smit vd. (2005) tarafından belirtilen diasetil, asetoin, asetaldehit, asetik asit ve etanol gibi kısa zincirli aroma bileşiklerine dönüştürülebilmektedir. LAB tarafından gerçekleştirilen piruvat katabolizmasıyla üretilen birincil aroma bileşikleri arasında asetat, format, etanol, asetaldehit, diasetil, asetoin ve 2,3 bütandiol yer almaktadır (Liu 2003, Smit vd. 2005). Aldehitler özellikle tat değişiklikleriyle ilişkilendirilir ve raf ömrünün kısılmasına, istenmeyen kokulara, doku kusurlarına ve besin değerinin azalmasına neden olabilirler (Panseri vd. 2011). Serbest yağ asitleri, tat üzerinde doğrudan etkiye sahip olmakla birlikte tat bileşiklerinin öncülleri olan metilketonlar, sekonder alkoller, esterler ve laktonlar açısından da önemli katkıda bulunurlar (Smit vd. 2005). Serbest yağ asitleri, alkollerle ester oluşturmak ve serbest sülfidril gruplarıyla tioester oluşturmak için reaksiyona girebilmektedir (McSweeney ve Sousa 2000).

Farklı lizozim enzim preparatları ilave edilerek üretilen Tulum peyniri örneklerinde uçucu bileşenler olarak 8 yağ asidi, 8 ester, 1 keton, 1 aldehit, 2 hidrokarbon, 3 alkol, 4 terpen ve 3 diğer bileşenler olmak üzere toplam 30 uçucu bileşen belirlenmiştir. Bu uçucu

bileşenler gruplar halinde teker teker tartışılmıştır. Peynir örneklerine ait uçucu bileşenler aşağıdaki Çizelge 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29, 4.30, 4.31’de verilmiştir.

4.3.14.1 Yağ asitleri

Tulum peyniri örneklerinde 8 yağ asidi belirlenmiştir. Yağ asitleri miktarının depolamanın ilerlemesine paralel arttığı görülmüştür. Sadece heptanoik asit miktarında bir azalma olmuştur. Diğer yağ asitlerinde örnek grup ortalamaları ve depolama süresince değişim istatistik olarak önemli çıkmıştır ($p<0,05$). Çizelge 4.25 incelendiğinde farklı lizozim enzimlerinin yağ asiti oluşumunda çok fazla etkili olmadığı görülmektedir.

Erzincan Tulum peyniri örneklerinde asetik, bütirik ve pentanoik asitlerin başlıca asitler olduğu Çakir vd. (2016) tarafından bildirilmiştir. Erzincan Tulum peyniri örneklerinde olgunlaşma süresince propanoik, 2-metil propanoik, hekzanoik, heptanoik, oktanoik ve dekanoik asitler belirlenmiştir (Çakir vd. 2016). Tulum peynirlerinde de hemen hemen aynı asitler Hayaloğlu vd. (2007a) tarafından da tespit edilmiştir. Hekzanoik asitin de Blue tip peynirlerde önemli bir aroma bileşeni olduğu bildirilmiştir (Molimard ve Spinnler 1996). Ancak asitler kendi başlarına sadece aroma bileşikleri olmayıp metil ketonlar, alkoller, laktonlar, aldehitler ve esterler gibi diğer bileşiklerin öncüsü olarak da işlev görmektedirler (Çakmakci vd. 2013).

Çizelge 4.25 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen yağ asitleri, $\mu\text{g/g}$

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ASİTLER	RT	RI		1	60	120
Bütirik asit	17,14	1629	ÇS	4,08±1,86 BCa	4,11±0,55 Ca	5,57±1,46 BCa
			ÇSYL	4,53±0,53 BCa	2,68±0,73 Ba	4,55±3,09 ABa
			ÇSML	5,88±3,46 Ca	3,78±0,37 Ca	2,98±0,62 ABa
			PS	1,86±0,71 ABa	3,18±0,42 BCb	2,06±0,21 Aa
			PSYL	ND	1,48±0,39 Ab	7,78±0,94 Cc
			PSML	5,82±0,36 Cb	3,33±0,65 BCa	7,34±0,31 Cc

Çizelge 4.25 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen yağ asitleri, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ASİTLER	RT	RI		1	60	120
Hekzanoik asit	18,86	1843	ÇS	8,84±3,13 Aa	9,95±0,55 Ca	12,35±1,38 Ba
			ÇSYL	8,92±1,73 Aa	7,22±0,72 Ba	12,57±1,36 Bb
			ÇSML	12,58±0,84 Bc	8,73±0,45 BCb	6,51±0,70 Aa
			PS	9,66±1,03 ABc	7,44±1,60 Bb	4,91±0,25 Aa
			PSYL	6,47±0,58 Ab	3,95±0,40 Aa	14,18±0,50 Bc
			PSML	8,55±1,97 Aa	8,20±0,83 Ba	16,56±1,19 Cb
Heptanoik asit	19,56	1092	ÇS	ND	0,13±0,01 Ab	ND
			ÇSYL	0,15±0,05 Bb	0,11±0,03 Ab	ND
			ÇSML	0,21±0,01 Cc	0,12±0,03 Ab	ND
			PS	ND	0,11±0,04 Aa	2,39±0,36 Ab
			PSYL	ND	0,08±0,04 Ab	ND
			PSML	ND	0,13±0,03 Ab	ND
Oktanoik asit	20,34	2050	ÇS	3,45±1,72 Aa	4,95±0,60 Ba	7,35±0,58 Cb
			ÇSYL	3,86±1,51 Aa	4,82±0,90 Bab	6,53±0,77 BCb
			ÇSML	5,69±0,19 Bb	5,14±0,96 BCab	4,30±0,74 Aa
			PS	3,24±0,32 Aa	4,12±1,14 Bab	5,56±1,44 ABb
			PSYL	2,19±0,61 Aa	2,43±0,44 Aa	8,45±0,58 Db
			PSML	2,86±0,49 Aa	6,45±0,19 Cb	10,45±1,06 Ec
n-Dekanoik asit	22,46	2288	ÇS	1,23±0,56 Aa	2,85±0,08 Bb	3,14±0,27 Cb
			ÇSYL	1,63±0,90 Aa	2,83±0,30 Bb	2,48±0,30 Bab
			ÇSML	2,69±0,16 Bb	3,35±0,35 BCb	1,40±0,51 Aa
			PS	1,71±0,50 Aa	3,01±1,02 Ba	6,93±0,13 Eb
			PSYL	1,36±0,49 Aa	1,57±0,44 Aa	4,08±0,52 Db
			PSML	1,34±0,05 Aa	4,18±0,75 Cb	3,78±0,11 CDb

Çizelge 4.25 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen yağ asitleri, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ASİTLER	RT	RI		1	60	120
Dodekanoik asit	26,11	2519	ÇS	0,29±0,06 Aa	0,81±0,05 Ab	0,83±0,11 ABbC
			ÇSYL	0,34±0,20 ABCa	0,53±0,01 Aa	0,40±0,34 ABa
			ÇSML	0,55±0,03 ABCa	1,08±0,37 Ab	0,19±0,04 Aa
			PS	0,42±0,15 ABCa	1,91±0,91 Bb	3,82±0,72 Dc
			PSYL	0,60±0,21 BCa	0,46±0,07 Aa	1,18±0,33 Cb
			PSML	0,67±0,11 Ca	0,73±0,05 Aab	0,90±0,12 BCb
n- Hekzadekanoik asit	29,39	2931	ÇS	0,83±0,11 Aa	4,09±0,17 Aa	4,48±2,81 Aa
			ÇSYL	0,40±0,34 Aa	3,99±0,26 Aa	1,98±1,60 Aa
			ÇSML	0,19±0,04 Aab	7,13±3,50 Ab	1,12±0,16 Aa
			PS	3,82±0,72 Aa	16,89±2,79 Bb	35,11±7,89 Bc
			PSYL	1,18±0,33 Aa	4,19±0,95 Aa	5,08±0,78 Aa
			PSML	0,90±0,12 Aa	7,45±1,60 Aa	6,38±0,50 Aa
Tetradekanoik asit	32,83	2713	ÇS	0,42±0,10 Aa	1,59±0,19 Ab	1,09±0,41 Ab
			ÇSYL	0,83±0,17 Ab	1,19±0,35 Ab	0,12±0,03 Aa
			ÇSML	0,44±0,06 Aa	1,40±0,22 Ab	0,18±0,01 Aa
			PS	1,13±0,34 ABa	5,78±1,68 Bb	6,96±1,78 Bb
			PSYL	2,36±0,35 Cb	0,86±0,03 Aa	0,87±0,05 Aa
			PSML	1,63±0,80 Ba	1,56±0,09 Aa	1,50±0,6 Aa

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

4.3.14.2 Esterler

Esterler, süt ürünlerinde bulunan ve tada etki eden bileşiklerdir. Düşük miktarlarda lezzet dengesine olumlu katkı sağlasalar da yüksek miktarlarda meyvemsi tat kusurlarına neden olabilirler (Gallois ve Langlois 1990).

Tulum peyniri örneklerinde 8 ester tespit edilmiştir. En çok bulunan ester, bütirik asitin ve heksanoik asitin metil ve etil esterleri olmuştur. Dodekanoik asit metil esteri ile heksadekanoik asit metil esteri tüm peynir örneklerinde 1. ve 120 günlerde belirlenememiştir. Depolama süresince grup ortalamaları arasında istatistik olarak fark vardır ($p<0,05$). Bütirik asit metil esteri çiğ sütten üretilen ve farklı lizozim katkılı örneklerde daha yüksek çıkmıştır. Benzer şekilde lizozim katkılı örneklerde çiğ süt ve pastörize sütten üretilen peynirlerden daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca mikrobiyal lizozim katkılı peynir örneklerinde bütirik asit metil esteri daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$). Buradan mikrobiyal lizozim enziminin lipolitik aktivitesinin daha yüksek olduğu sonucuna varılabilir. Benzer eğilim heksanoik asit metil esteri için de geçerlidir. Oktanoik asit metil esterinde ise tam tersi durum söz konusudur. Çiğ sütten ve pastörize sütten üretilen peynir örneklerinde oktanoik asit metil esteri daha yüksek çıkarırken, lizozim enzimi katkılı peynir örneklerinde daha düşük çıkmıştır ($p<0,05$).

Çizelge 4.26 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen esterler, $\mu\text{g/g}$

Aroma Bileşenleri			rnek	Depolama günleri		
ESTERLER	RT	RI		1	60	120
Bütirik asit metil ester	4,67	1029	S	11,22±0,35 Bb	10,92±0,47 Bb	12,82±2,78 Cb
			SYL	8,13±2,74 Da	10,62±4,18 Ba	11,50±0,46 Ca
			SML	6,64±1,85 CDa	11,33±2,64 Bb	18,61±1,06 bAb
			PS	6,83±1,97 CDa	5,55±0,51 Aa	6,155±0,29 Aa
			PSYL	4,45±0,48 BCa	5,97±0,69 Ab	5,13±0,67 Aa
			PSML	2,31±0,69 ABa	13,61±0,51 Bc	6,60±0,62 ABb

Çizelge 4.26 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen esterler, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ESTERLER	RT	RI		1	60	120
Hekzanoik asit metil ester	9,41	1197	ÇS	5,56±3,15 BCa	18,01±0,28 Cb	14,36±1,23 Cb
			ÇSYL	7,00±3,57 C	11,60±3,77 B	7,52±5,57 B
			ÇSML	6,72±1,28 C	15,78±2,70 C	8,17±1,76 B
			PS	2,10±1,01 AB	4,93±0,41 A	6,85±0,39 AB
			PSYL	1,61±0,41 A	3,80±0,32 A	2,45±0,09 A
			PSML	1,16±0,74 A	11,93±0,51 B	3,63±0,09 AB
Hekzanoik asit etil ester	10,31	1233	ÇS	0,40±0,29 Aa	1,15±0,27 Db	2,55±0,51 Cc
			ÇSYL	0,26±0,20 Aa	0,31±0,23 ABa	1,52±1,14 Ba
			ÇSML	0,33±0,13 Aa	0,56±0,31 BCa	0,37±0,03 Aa
			PS	0,54±0,32 Aa	0,20±0,08 ABa	0,28±0,05 Aa
			PSYL	ND	0,14±0,01 Aa	1,66±0,19 BCb
			PSML	1,31±0,55 Ba	0,89±0,15 CDa	0,90±0,01 ABa
Oktanoik asit metil ester	13,41	1418	ÇS	2,33±1,28 Ba	10,03±1,62 Cb	3,35±0,01 Da
			ÇSYL	2,47±0,86 Ba	8,11±2,37 Cb	1,72±1,29 BCa
			ÇSML	2,65±0,55 Ba	8,32±1,23 Cb	2,70±0,69 CDa
			PS	0,72±0,30 Aa	2,07±0,47 Ab	3,08±0,17 Dc
			PSYL	ND	1,77±0,29 Ac	0,56±0,09 Ab
			PSML	1,24±0,32 ABa	4,60±0,13 Bb	1,00±0,04 ABa
Oktanoik asit etil ester	13,51	1398	ÇS	ND	0,52±0,03 Cb	0,75±0,08 Dc
			ÇSYL	0,20±0,02 Ba	0,18±0,09 Ba	0,74±0,10 Db
			ÇSML	ND	0,24±0,10 Bb	0,25±0,02 Bb
			PS	0,20±0,04 Bb	ND	ND
			PSYL	ND	ND	0,46±0,10 Cb
			PSML	0,76±0,11 Cb	0,23±0,05 Ba	0,26±0,03 Ba

Çizelge 4.26 Tulum peyniri örneklerinde belirlenen esterler, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ESTERLER	RT	RI		1	60	120
Dekanoik asit metil ester	16,82	1604	ÇS	ND	3,76±1,18 Bc	0,98±0,10 Bb
			ÇSYL	1,10±0,17 Ba	3,04±1,18 Bb	0,44±0,30 Aa
			ÇSML	1,13±0,02 Bb	2,82±0,25 Bc	0,57±0,14 Aa
			PS	ND	0,96±0,39 Ab	1,46±0,22 Cb
			PSYL	ND	0,61±0,12 Ab	0,44±0,24 Ab
			PSML	ND	1,58±0,10 Ac	0,35±0,01 Ab
Dodekanoik asit metil ester	18,61	1808	ÇS	ND	1,05±0,03 Bb	0,31±0,02 Cc
			ÇSYL	ND	0,80±0,21 ABb	ND
			ÇSML	ND	0,69±0,35 ABb	0,22±0,05 Ba
			PS	ND	0,45±0,09 Ab	3,88±0,09 Dc
			PSYL	ND	0,53±0,40 Ab	ND
			PSML	ND	0,68±0,18 ABb	ND
Hekzadekanoik asit metil ester	21,87	2218	ÇS	ND	0,26±0,01 Bb	ND
			ÇSYL	ND	0,31±0,18 Bb	ND
			ÇSML	ND	0,22±0,08 Bb	ND
			PS	ND	0,77±0,16 Cb	ND
			PSYL	ND	ND	ND
			PSML	ND	0,34±0,07 Bb	ND

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

Erzincan Tulum peyniri örneklerinde belirlenen uçucu bileşiklerden en fazla bulunanın esterler olduğu ve peynirlerin olgunlaşma süresince otuz bir ester tespit edildiği Çakır vd. (2016) tarafından bildirilmiştir. Metil esterler en fazla bulunan ester tipi olduğu bunu etil esterlerin izlediği ifade edilmiştir. Etil esterlerin aynı zamanda Tulum peynirlerinde bulunan başlıca esterler olduğu yine başka araştırmacılar tarafından da tespit edilmiştir (Hayaloğlu vd. 2007a, Hayaloğlu ve Karabulut 2013c). Etil esterler, asit ve ketonlardan gelen ekşiliği veya keskinliği yumuşatarak meyvemsi veya çiçeksi notalar olarak peynir aromasına katkıda bulunur (Hayaloğlu ve Karabulut 2013c).

4.3.14.3 Ketonlar ve Aldehitler

Ketonlar, ketoasitlerin ve metil ketonların dekarboksilasyonu sonucu oluşan yağ asitlerinin enzimatik oksidasyonu ile meydana gelmektedir (McSweeney ve Sousa 2000). Tulum peyniri örneklerinde keton olarak 2-heptanon tespit edilmiştir. 2-heptanon tüm peynir örneklerinde depolama süresince belirlenmiş, sadece mikrobiyal lizozim katkılı çiğ süt ve pastörize süt örneklerinin 120. gününde tespit edilememiştir. Örnek ortalamaları depolama süresince birbirinden farklıdır ve bu fark istatistik açıdan önemlidir ($p < 0.05$).

Aldehitler, birincil alkollerin oksidasyonunun ilk ürünleridir. Amino asitlerin Strecker bozunmasıyla aldehitler oluşabilir ve lineer aldehitler, doymamış yağ asitlerinin β -oksidasyonu ile oluşturulabilir (Collins vd. 2003). Yine Tulum peyniri örneklerinde aldehit olarak sadece benzaldehit belirlenmiştir.

Çizelge 4.27 Tulum peyniri örneklerinde oluşan ketonlar ve aldehitler, µg/g

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
KETONLAR	RT	RI		1	60	120
2-Heptanon	9,31	1191	ÇS	0,74±0,43 ABb	0,12±0,01 Aa	0,56±0,06 Bab
			ÇSYL	0,99±0,17 Bc	0,18±0,07 ABCa	0,56±0,03 Bb
			ÇSML	1,06±0,72 Bb	0,10±0,06 Aa	ND
			PS	0,40±0,05 ABb	0,22±0,02 BCa	0,16±0,05 Aa
			PSYL	0,19±0,04 Aa	0,14±0,02 ABa	1,49±0,38 Cb
			PSML	0,49±0,13 ABc	0,23±0,03 Cb	ND
ALDEHİTLER	RT	RI				
Benzaldehit	16,01	1543	ÇS	0,39±0,05 Dc	0,23±0,02 CDa	0,31±0,03 Ab
			ÇSYL	0,29±0,03 BCa	0,10±0,02 Ba	0,83±0,46 Bb
			ÇSML	0,26±0,03 Bb	ND	0,23±0,01 Ab
			PS	0,32±0,05 Ca	0,26±0,07 Da	0,34±0,04 Aa
			PSYL	ND	0,17±0,01 Ca	0,77±0,27 Bb
			PSML	ND	ND	0,56±0,01 ABb

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

Sözeri Atık vd. (2021) Tulum peyniri ile ilgili yaptıkları çalışmada benzaldehit miktarını, 0,09 ila 0,43 mg/kg aralığında belirlemiştirler ve olgunlaşma sırasında miktarının değiştiğini (p<0,01) bildirmiştirler. Molimard ve Spinnler (1996), Camembert gibi olgunlaştırılmış peynirlerde eser miktarda benzaldehit bulunduğunu ifade etmiştir. Daha önce uçucu bir bileşen olarak rapor edilen benzaldehit aromatik bir aldehittir ve peynire acı badem aroması verir.

4.3.14.4 Hidrokarbonlar

Tulum peynir örneklerinde 120 günlük depolama süresince tespit edilen hidrokarbonlar sadece benzen 1-3 dimetil (ksilen) ile benzen dikloro'dur. Olgunlaşmanın ilerlemesine

paralel miktarları artmasına rağmen örneklerin grup ortalaması ile depolama süresince değişim istatistik açıdan önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$).

Sözeri Atik vd. (2021) yaptıkları çalışmada Tulum peyniri örneklerinde o-ksilen ve stiren hidrokarbon bileşiklerini tanımlamışlardır. Hidrokarbonlar, hayvan yemlerinden ve/veya bazı aromatik bileşiklerin olgunlaşma süreci ve öncülleri sırasında lipitlerin oksidasyonundan elde edilmektedir. Düşük seviyeleri nedeniyle aromaya küçük bir katkıları olduğu kanıtlanmıştır (Barbieri vd. 1994, Kondyli vd. 2016).

Çizelge 4.28 Tulum peyniri örneklerinde oluşan hidrokarbonlar, $\mu\text{g/g}$

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
HİDRO KARBONLAR	RT	RI		1	60	120
Benzen, 1,3-dimetil-	7,96	1121	ÇS	0,25±0,07 Ab	0,60±0,02 Ac	ND
			ÇSYL	3,98±0,64 Ba	5,24±2,67 Ba	5,18±1,64 Ba
			ÇSML	1,31±0,24 Aa	2,33±0,48 Ba	7,86±2,95 Bb
			PS	3,96±2,05 Bb	0,33±0,09 Aa	ND
			PSYL	1,84±0,87 ABa	7,20±1,63 Bb	5,40±0,75 BCb
			PSML	1,70±1,61 Aa	0,80±0,06 Aa	ND
Benzen, 1,3-dikloro-	14,67		ÇS	ND	0,47±0,10 Ab	0,64±0,15 ABb
			ÇSYL	ND	0,35±0,23 Aab	1,42±1,10 Bb
			ÇSML	ND	0,40±0,29 Ab	0,33±0,03 Ab
			PS	ND	0,26±0,08 Aab	0,59±0,40 ABb
			PSYL	ND	0,30±0,21 Ab	ND
			PSML	ND	0,87±0,03 Bc	0,64±0,04 ABb

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir ($p<0,05$). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir ($p<0,05$).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

4.3.14.5 Alkoller

Peynir örneklerinde bulunan alkoller bütanol, hekzanol ve feniletanol'dür. Depolamanın 60. ve 120. gününde tespit edilememiştir.

Alkoller laktoz metabolizması, metil-ketonun indirgenmesi ve linoleik veya linolenik asitlerin parçalanması yoluyla oluşmaktadır (Hayaloğlu vd. 2007a). İkincil alkoller, metil ketonların enzimatik indirgenmesinden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 4.29 Tulum peyniri örneklerinde oluşan alkoller, µg/g

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ALKOLLER	RT	RI		1	60	120
1-Bütanol, 3-metil-	9,89	1197	ÇS	17,47±0,22 Bb	ND	ND
			ÇSYL	14,49±3,10 Bb	ND	ND
			ÇSML	5,87±5,60 Aa	ND	ND
			PS	1,90±0,47 Aa	ND	ND
			PSYL	1,43±0,20 Ab	ND	ND
			PSML	1,87±0,25 Ab	ND	ND
1-Hekzanol, 2-etil-	15,53	1472	ÇS	ND	ND	0,24±0,02 Cb
			ÇSYL	ND	ND	0,34±0,11 Db
			ÇSML	0,17±0,00 Bb	ND	0,14±0,02 Bb
			PS	0,34±0,17 Cb	ND	ND
			PSYL	0,18±0,04 Bb	ND	ND
			PSML	0,38±0,08 Cb	ND	ND

Çizelge 4.29 Tulum peyniri örneklerinde oluşan alkoller, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
ALKOLLER	RT	RI		1	60	120
Feniletil Alkol	19,38	1920	ÇS	1,50±0,12 CDc	0,25±0,03 Cb	ND
			ÇSYL	2,14±0,73 DEb	0,12±0,01 Ba	ND
			ÇSML	2,56±0,53 Eb	0,15±0,05 Ba	ND
			PS	0,77±0,14 Bc	0,29±0,13 Cb	ND
			PSYL	ND	ND	ND
			PSML	1,22±0,26 BCb	ND	ND

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

Feniletil alkol, peynirdeki çiçeksi aromalarla ilişkilendirilir ve genellikle stiren, toluen veya metil etil asetattan sentezlenmektedir (Whetstine vd. 2005). Rehman vd. (2000), feniletil alkol oluşumunun süttün pastörizasyonundan etkilenmediğini, ancak olgunlaşma sıcaklıklarından etkilendiğini belirtmişlerdir. Yaptığımız bu çalışmada da depolamanın ilerleyen süreçlerinde feniletil alkole rastlanmamıştır.

4.3.14.6 Terpenler

Tulum peynir örneklerinde 4 terpen tespit edilmiştir. p-Ksilen lizozim katkılı örneklerde depolamanın 120. gününde daha fazla çıkmıştır (p<0,05). D-limonen ise neredeyse tüm örneklerde tespit edilmiştir.

Terpenler, süt ürünlerinde kaliteyi ve uçucu bileşenleri etkileyen en önemli bileşiklerden biridir. Ancak terpenlerin lezzet üzerinde önemli bir duyuusal etkisinin olup olmadığı konusunda yeterli bilgi olmadığı belirtilmektedir (Nogueira vd. 2005). Terpenlerin oluşumu hayvan beslenmesi ile ilgilidir (Bontinis vd. 2012). Hayvanların yediği yeşil yem oranına göre miktarları artmaktadır.

Çizelge 4.30 Tulum peyniri örneklerinde oluşan terpenler, µg/g

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
TERPENLER	RT	RI		1	60	120
o-Ksilen	8,29	1163	ÇS	2,32±0,13 Cb	ND	ND
			ÇSYL	ND	0,63±0,15 Bc	0,35±0,05 Ab
			ÇSML	1,17±0,54 Ba	0,42±0,23 Ba	1,43±1,41 Ba
			PS	0,27±0,02 Aab	0,65±0,43 Bb	ND
			PSYL	0,52±0,13 Ab	1,63±0,16 Dc	ND
			PSML	2,81±0,44 Cc	1,15±0,11 Cb	ND
p-Ksilen	9,26	1153	ÇS	0,63±0,20 Ab	2,12±0,92 Ab	ND
			ÇSYL	0,62±0,41 Aa	2,12±0,92 Ab	3,52±0,38 Bc
			ÇSML	0,83±0,18 ABa	0,38±0,08 Aa	1,71±0,50 Ab
			PS	0,88±0,45 ABb	0,23±0,03 Aa	ND
			PSYL	1,36±0,26 Ba	5,23±2,46 Bb	7,03±2,24 Cb
			PSML	0,68±0,02 Ab	0,12±0,11 Aa	ND
D-Limonen	9,53	1203	ÇS	1,76±1,26 BCb	ND	1,79±0,22 Ab
			ÇSYL	0,54±0,29 Aa	11,85±3,12 Bb	1,36±0,08 Aa
			ÇSML	1,98±0,21 Ca	ND	17,89±2,26 Bb
			PS	1,77±0,42 BCb	ND	1,64±0,04 Ab
			PSYL	0,80±0,04 ABa	24,16±2,50 Cb	2,36±0,33 Aa
			PSML	1,75±0,52 BCb	ND	1,75±0,11 Ab
γ-Terpinen	10,49	1254	ÇS	ND	ND	ND
			ÇSYL	ND	0,25±0,26 Ba	ND
			ÇSML	ND	ND	0,39±0,06 Bb
			PS	ND	ND	ND
			PSYL	ND	0,76±0,12 Cb	ND
			PSML	ND	ND	ND

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

** Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler** (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

.RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

4.3.14.7 Diğer uçucu bileşenler

Peynir örneklerinde uçucu bileşen olarak ayrıca Oksim metoksi-fenil, fenol ve Metil tetradekanoat da belirlenmiştir. Oksim metoksi-fenil tüm peynir örneklerinde tespit edilmiştir. Miktarı tüm örneklerde depolama süresince azalmıştır. Bu azalış istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen örneklerde çiğ süttten üretilen peynirlere göre daha fazla oksim belirlenmiştir. Peynir örneklerinde fenol bileşiği 60. günde belirlenemezken, 120. günde çiğ süt ve lizozim katkılı örnekler ile pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde saptanmıştır. Örnekler arasında ve depolama süresince örnekler arasında herhangi bir farklılık görülmemiştir. Tulum peynirlerinde belirlenen bir diğer uçucu bileşen ise metil tetradekanoat'dır. Bu bileşik 1. ve 120. günde bulunmazken, 60. günde tüm örneklerde az miktarda tespit edilmiştir. Fakat örnekler arası ve depolama süresi bakımından bir farklılık belirlenmemiştir.

Çizelge 4.31 Tulum peyniri örneklerinde oluşan diğer uçucu bileşenler, $\mu\text{g/g}$

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
DİĞER	RT	RI		1	60	120
Oksim-, metoksi-fenil-	18,19		ÇS	5,16±2,63 Aa	4,46±0,89 Aa	2,04±0,81 Aa
			ÇSYL	6,60±3,92 Aa	3,37±1,08 Aa	2,43±0,78 Aa
			ÇSML	4,89±0,38 Ac	3,70±0,44 Ab	1,29±0,26 Aa
			PS	5,77±1,97 Aa	7,46±1,97 Ba	4,69±1,50 Ba
			PSYL	14,71±0,85 Bb	3,79±1,05 Aa	4,09±0,24 Ba
			PSML	7,47±3,85 Aa	5,01±0,41 Aab	1,10±0,33 Aa
Fenol	19,99	2032	ÇS	0,28±0,21 Bb	ND	0,23±0,01 Bab
			ÇSYL	0,23±0,03 Bb	ND	0,43±0,13 Cc
			ÇSML	ND	ND	0,15±0,03 ABb
			PS	ND	ND	0,94±0,17 Dc
			PSYL	ND	ND	ND
			PSML	ND	ND	ND

Çizelge 4.31 Tulum peyniri örneklerinde oluşan diğer uçucu bileşenler, µg/g (devam)

Aroma Bileşenleri			Örnek	Depolama günleri		
DİĞER	RT	RI		1	60	120
Metil tetradekanoat	20,01	2014	ÇS	ND	0,33±0,03 Bb	ND
			ÇSYL	ND	0,36±0,10 Bb	ND
			ÇSML	ND	0,34±0,09 Bb	ND
			PS	ND	0,29±0,13 ABb	ND
			PSYL	ND	0,16±0,05 Ab	ND
			PSML	ND	0,34±0,04 Bb	ND

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

RT: Alıkonma zamanı, RI: Alıkonma indeksi, ND: Tespit edilemedi

4.4 Peynir Örneklerinin Mikrobiyolojik Özellikleri

4.4.1 Toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Peynir gibi fermente ürünlerde genel hijyen ve mikrobiyal yükün belirlenmesinde indikatör grup olarak kullanılan toplam mezofilik aerobik bakteriler ürünün muhtemel raf ömrü ve kontaminasyon düzeyi hakkında bilgi vermektedir (Temiz 2003, Morul ve İşleyici 2012).

Peynir örneklerinde belirlenen toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) sayısı Çizelge 4.32'de görülmektedir. En düşük TMAB sayısı (3,920 log kob/g) olgunlaşmanın 120. gününde PSYL örneğinde, en yüksek TMAB sayısı (7,255 log kob/g) ise olgunlaşmanın 1. gününde ÇS örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.32 Peynir örneklerinde TMAB Sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	7,255±7,019 Cc**	5,906±5,337 Bb	5,971±4,994 Db	5,758±5,252 Bb	5,367±5,431 BCa	5,985±0,077 a
ÇSYL	6,780±6,625 Bc	5,882±5,254 Bb	5,819±5,354 Cb	5,609±5,064 Bb	4,970±4,823 BCa	5,757±0,077 ab
ÇSML	6,616±6,559 Bb	5,750±5,000 Ba	5,535±4,879 BCa	5,505±5,096 Ba	5,462±5,257 Ca	5,733±0,077 ab
PS	5,491±4,723 Aa	5,662±5,418 Ba	5,681±5,006 ABCa	5,576±4,512 Ba	5,447±4,422 Ca	5,556±0,077 b
PSYL	5,472±4,832 Ac	4,698±4,422 Aab	5,425±5,575 ABc	5,015±5,117 Aab	3,920±3,183 Aa	4,751±0,077 c
PSML	5,672±5,142 Ac	4,920±4,875 Aab	5,146±4,745 Ab	4,962±4,132 Aab	4,656±4,371 Ba	5,032±0,077 c

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

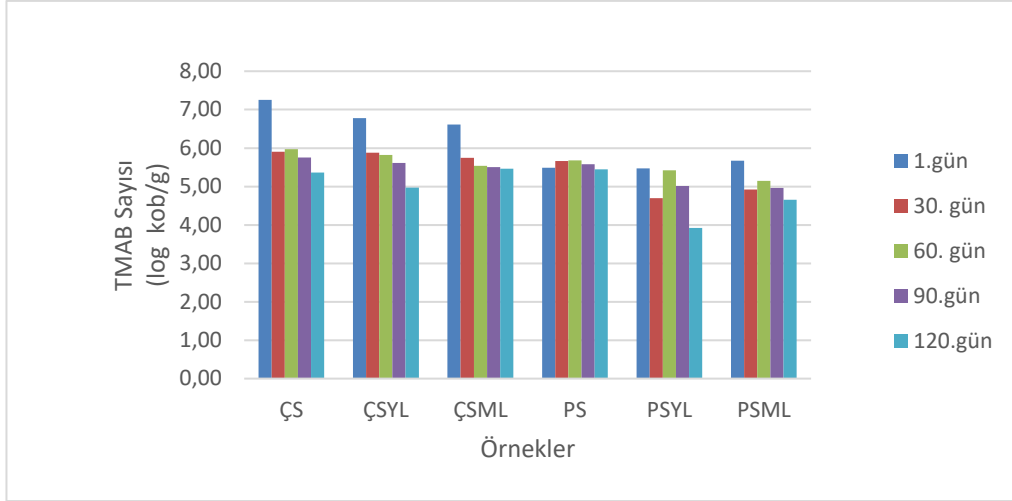
Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin TMAB değerlerindeki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten ve pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇSYL (5,757 log kob/g) ve ÇSML (5,733 log kob/g) örneğinde istatistik olarak bir fark olmadığı ancak ÇS (5,985 log kob/g) örneği ile karşılaştırıldığında genel itibari ile azalma olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde PSYL (4,751 log kob/g) ve PSML (5,032 log kob/g) örneği de istatistik olarak benzer olup PS (5,556 log kob/g) örneği ile karşılaştırıldığında TMAB sayısı daha düşük olup bu fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05). Hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının TMAB sayısını etkilediği belirlenmiştir (p<0,05).

Tüm peynir örneklerinin TMAB sayısı depolamanın ilerlemesine paralel azalmıştır. Depolamanın 120. gününde en fazla azalma PSYL örneğinde (3,920±3,183) görülmüştür.

Depolamanın ilerlemesiyle TMAB sayısında meydana gelen azalmada direkt olarak lizozimin etkisi vardır ya da yoktur demek doğru değildir. Ancak depolamanın ilerlemesiyle hem lizozimin etkisi hem de proteolitik ve lipolitik aktivitenin sonucu olarak ortaya çıkan maddeler laktik asitle ya da metabolitlerle beraber peynir örneklerinin mikroorganizma içeriğinde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Ayrıca üretimde kullanılan süte ısıl işlem uygulanıp uygulanmaması, ısıl işlem derecesi, olgunlaştırma koşulları gibi birçok faktör peynirlerdeki mikrobiyal içeriği etkilemektedir. Fakat lizozim katkılı örnekler kontrol gruplarına (ÇS ve PS) göre depolamanın her gününde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Peynir örneklerinde depolama süresince TMAB sayılarında meydana gelen değişim Şekil 4.28'de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Örneğin ÇS peynirinde 1. gün TMAB sayısı 7,255 log kob/g iken 120. günde 5,367 log kob/g değerine düşmüştür. Pastörize sütle üretilen peynir örneğinde depolamanın ilerlemesiyle herhangi bir değişimin olmadığı 1. gün (5,491 log kob/g) ve 120. günde (5,447 log kob/g) TMAB sayılarının istatistik olarak benzer çıktığı görülmektedir. Ancak PSYL ve PSML örneklerinde TMAB sayıları sırasıyla 1. gün 5,472 log kob/g, 5,672 log kob/g olup 120. günde sırasıyla 3,920 log kob/g ve 4,656 log kob/g değerine kadar azalmış olup bu farkın istatistik olarak önemli olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Depolama süresince toplam bakteri sayısında meydana gelen azalmada lizozimin ve ortamda oluşan laktik asit ya da başka metabolitlerin etkisi olduğu düşünülmektedir. Ayrıca depolama süresince peynirlerde bulunan nem miktarının azalması ve dolayısıyla kurumaddede tuz miktarının artması ile de söz konusu bakteri sayısındaki azalma bağdaştırılabilir.



Şekil 4.28 Peynir örneklerine ait TMAB sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin 120 günlük olgunlaşma sonunda TMAB sayıları (log kob/g) 3,920-5,462 arasında değişim göstermektedir. Öner vd. (2005) tarafından starter kültür kullanılarak üretilen Tulum peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma sonucu 7,25-7,97 log kob/g; Tarakçı vd. (2005) tarafından inek sütü kullanılarak üretilen ve cam kavanozlarda 90 gün olgunlaştırılan Tulum peynirlerinde olgunlaşma süresince 8,09-7,01 log kob/g; Hayaloğlu vd. (2007a) keçi tulumu kullanılarak olgunlaştırılan Tulum peynirinde 150 günlük olgunlaşma süresince 30., 60., 90., 120. ve 150. günlerde toplam mezofilik aerobik bakteri sayısını sırasıyla 7,62; 6,30; 6,71; 5,00 ve 6,48 log kob/g olarak; plastik materyal kullanılarak yapılan olgunlaştırma sonucunda yine belirtilen sürelerde TMAB sayılarını sırasıyla 7,47; 7,04; 6,89; 6,15; 6,65 log kob/g olarak bildirmişlerdir. Araştırma bulgularımız söz konusu araştırmacıların sonuçlarından daha düşüktür. Yetişmeyen (2005) tarafından Erzincan piyasasından temin edilen Tulum peynirlerinde TMAB sayısı en az $1,0 \times 10^5$ kob/g en çok $1,9 \times 10^7$ kob/g; Kara ve Akkaya (2015) Afyon Tulum peynirlerinde 5,44-7,90 log kob/g; Demir vd. (2018) Şavak Tulum peynirlerinde 3,12-8,03 log kob/g; Coşkun ve Demirtaş (2018) tarafından asitle pıhtılaştırılmış Tulum peynirinde $3,82 \pm 1,520$ log kob/g; enzimle pıhtılaştırılmış Tulum peynirinde ise $6,36 \pm 0,574$ log kob/g belirlenmiş olup araştırma bulgularımızın söz konusu değerlere yakınlık gösterdiği görülmüştür. Tulum peyniri üretiminde kullanılan sütün çeşidi, kalitesi, mikrobiyal içeriği, peynir üretim yöntemi, depolama koşulları ve ambalajlamada kullanılan malzeme peynirin mikrobiyal yüküne etki ettiğinden sonuçlar arasında farklılıklar oluşmaktadır.

Peynir örneklerinde depolama süresince tespit edilen TMAB sayısındaki değişime benzer bulgular Doosh ve Abdul-Rahman (2014) tarafından da bildirilmiştir. Şöyleki ilgili araştırmacılar lizozim katkılı peynirlerde, lizozim ilave edilmeden üretilen kontrol örneğine kıyasla 15 günlük depolama sürecinde toplam bakteri gelişiminin önlendiğini belirlemişlerdir. Çalışmamızda elde edilen bulgular ayrıca Gouda peynirinde lizozim uygulaması yapan Haniyah vd. (2016) ve Endonezya yumuşak peynirinde lizozim uygulamasıyla mikrobiyal gelişimi engellemeye çalışan Al-Baarri vd. (2018) ve eşek sütünden elde edilen lizozimi Kaşar peynirine uygulayan ve 90 günlük depolama sürecinde TMAB sayısında kontrol örneğe göre azalma tespit eden Öztürkoğlu-Budak vd. (2021) araştırmacılarıyla uyum göstermektedir.

4.4.2 Peynir örneklerinde maya-küf sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Peynirlerde bulunabilen diğer bir mikroorganizma grubu maya ve küflerdir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliğinde (Anonim 2011a) peynirlerde maya ve küf sayısına dair herhangi bir sınırlama bulunmamaktadır. Ancak Tulum peynirlerinde yüksek miktarda maya küf bulunması üretim sırası ve sonrasında hijyen ve sanitasyona gerekli önemin verilmediğinin bir göstergesi olarak düşünülmektedir (Erceyes vd. 2018). Maya ve küfler düşük su aktivitesi, yüksek tuz konsantrasyonu, düşük pH değeri ve düşük sıcaklıkta gelişebilme yetenekleri yanında anaerobik ortamı da tolere edebilme özelliklerinden dolayı süt ürünlerinde bozulmalara yol açabilmektedir (Jakobsen ve Narvhus 1996, Fox vd. 2000, Kaynar 2011, Morul ve İşleyici 2012). Süt işletmelerinin ortam mikroflorası, üretimde kullanılan alet-ekipman, salamura ve ambalaj materyali küf ve maya açısından önemli bir bulaş kaynağını oluşturmaktadır (Evrensel 2003, Yalçın vd. 2011).

Peynir örneklerinde belirlenen maya-küf sayısı Çizelge 4.33'te görülmektedir. Çiğ süttten üretilen peynirlerle pastörize süttten üretilen peynirler arasındaki fark istatistik yapmadan da dikkati çekmektedir. Pastörize süttten üretilen örneklerde 60., 90. ve 120. günde maya -küfe (<10) rastlanılmamıştır. Peynirlerin depolama sırasında maya ve küf sayısının azalması veya belirlenemez hale gelmesi, birçok faktörün bir araya gelmesi sonucunda

meydana gelebilmektedir. Peynirin tipi, olgunlaşma süreci, depolama koşulları ve diğer rekabetçi mikroorganizmaların etkisi bu süreçte rol oynamaktadır. Laktik asit bakterilerinin depolama süresince ortama hakim olması, maya-küf de dahil olmak üzere diğer mikroorganizmaların gelişimini engellemektedir. Pastörize süt kullanılarak üretilen gerek mikrobiyal lizozim gerekse yumurta lizozimi katkılı örneklerde maya-küfe rastlanılmamıştır. Araştırmamızın ilk bölümünü oluşturan laboratuvar çalışmalarımızda elde edilen sonuçlarda da lizozimin antifungal aktivitesi tespitinde maya küfe karşı etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.33 Peynir örneklerinde maya-küf sayıları ve depolama süresince değişimi, n=3

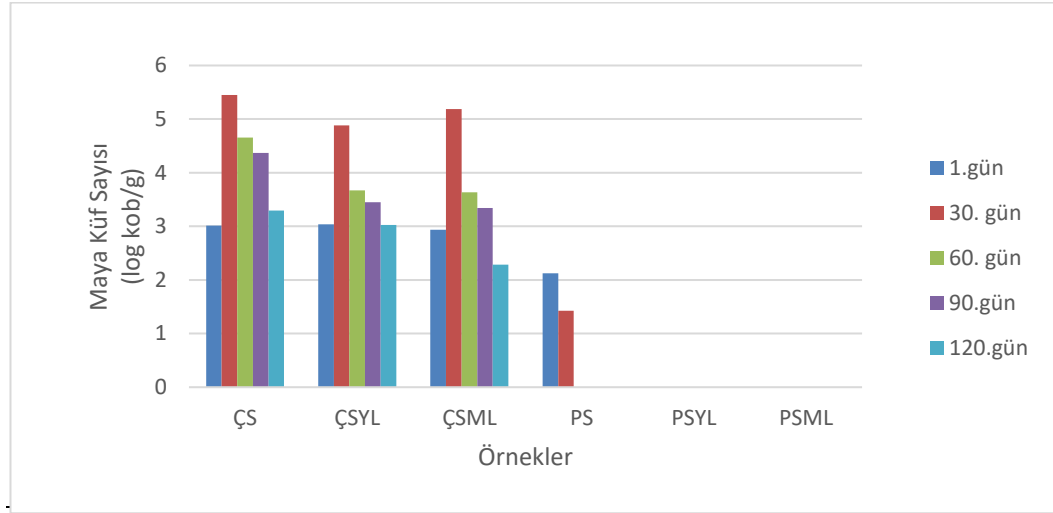
Depolama Örnek*	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
ÇS	3,014±2,13 Ba**	5,452±4,183 Ce	4,653±4,247 Bd	4,368±4,002 Bc	3,293±2,693 Cb	4,142±0,055 a
ÇSYL	3,041±2,940 Ba	4,884±4,578 Bc	3,669±3,363 Ab	3,452±3,068 Aab	3,028±2,400 Ba	3,573±0,055 b
ÇSML	2,937±2,654 Bab	5,185±5,221 Bc	3,636±3,545 Ab	3,345±3,251 Ab	2,286±2,073 Aa	3,358±0,055 b
PS	2,124±1,761 Ab	1,425±1,062 Aa	<10	<10	<10	0,700±0,055 c
PSYL	<10	<10	<10	<10	<10	
PSML	<10	<10	<10	<10	<10	

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin maya küf sayılarındaki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇSYL (3,573 log kob/g) ve ÇSML (3,358 log kob/g) örneğinde istatistik olarak bir fark olmadığı ancak ÇS (4,142 log kob/g) örneği ile karşılaştırıldığında genel itibari ile bir azalma olduğu saptanmış olup bu fark istatistik olarak önemlidir (p<0,05). Peynir örnekleri içerisinde en fazla maya küf içeriği ÇS örneğinde (4,142 log kob/g) tespit edilmiştir (Şekil 4.29). Hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının maya küf sayısını etkilediği belirlenmiştir (p<0,05). Üretimde kullanılan süttten pastörize edilip

edilmemesine ve üretimde lizozim kullanılmasına göre de örneklerin grup ortalamaları arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir.



Şekil 4.29 Peynir örneklerine ait maya-küf sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Pastörize süt kullanılarak üretilen peynir örneklerinde depolamanın 1. gününde maya küf sayısı 2,124 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Peynir üretiminden önce çiğ süte uygulanan 65 °C’de 30 dk ısıl işlem sonucu maya ve küf inaktif olmaktadır. Ancak peynir örneğinde tespit edilen maya-küfün üretim sırasında kullanılan alet ve ekipmanlardan veya havadan bulaşı sonucu olduğu düşünülmektedir. Depolamanın 30. gününde sayının 1,425 log kob/g’a azaldığı belirlenmiş olup 60., 90., ve 120. günde ise tespit edilememiştir. Peynir örneğinin maya-küf sayısı üzerinde meydana gelen değişimde üretimde kullanılan tuzun etkisi, olgunlaşmanın ilerlemesiyle nem içeriğinin azalması, ortamda oluşan laktik asidin etkisi olabileceği düşünülmektedir.

Peynir örneklerinde belirlenen ortalama maya küf sayısı 4,142 log kob/g ila 0,700 log kob/g arasında değişim göstermektedir. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Morul ve İşleyici (2012) ortalama 6.36±1.43 log kob/g; Dinkçi vd. (2012) 5.54–7.24 log kob/g arasında; Kara ve Akkaya (2015) $< \log_{10} 2,30$ (0,361)-5,80 log kob/g değerlerine kısmen benzerlik göstermektedir. Ayrıca peynir örneklerinin depolama süresi boyunca maya küf sayıları 5,452 ila < 10 arasında değişim göstermekte ve belirlenen maksimum değer in Tulukoğlu vd. (2020) tarafından İzmir Tulum peyniri üretiminde peyniraltı suyu kültürü

kullandıkları çalışmalarında saptamış oldukları 3,31-8,48 log kob/g değeri arasında olduğu görülmüştür. Yine, peynir örneklerinde depolama süresince maya küf sayısındaki değişim Doosh ve Abdul-Rahman (2014) tarafından tespit edilen sonuçlarla uyum göstermektedir. Söz konusu araştırmacılar lizozim ilave edilerek üretilen peynirlerde, lizozim ilave edilmeden üretilen kontrol örneğine kıyasla 15 günlük depolama sürecinde maya ve küf gelişiminin önlendiğini belirlemişlerdir. Peynirlerdeki maya küf miktarındaki azalma olgunlaşmanın ilerlemesiyle peynirin nem içeriğinin azalması ve dolayısıyla su aktivitesinin düşmesiyle ilgilidir.

4.4.3 Laktobasil bakteri sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Laktik asit bakterileri (LAB), Gram pozitif, spor oluşturmeyen, katalaz negatif, aerotolerant, karbonhidrat fermantasyonu sonucunda başlıca son ürün olarak laktik asit oluşturan hareketsiz mikroorganizmalardır (Sağlam ve Karahan 2017). LAB'nin en önemli cinslerinden birisi olan Laktobasiller sütte doğal olarak bulunduğu gibi sütün peynire işlenmesinde kullanılan kültür karışımlarında da bulunabilmektedir. Peynirin olgunlaşmasında tat ve aroma oluşumunda önem taşımaktadır (Gürsoy ve Kınık 2005, Kılıç 2014, Ertürkmen ve Öner 2015).

Peynir örneklerinde belirlenen laktobasil sayısı Çizelge 4.34'te görülmektedir. En düşük laktobasil sayısı (2,301 log kob/g) olgunlaşmanın 120. gününde PSYL örneğinde, en yüksek laktobasil sayısı (6,470 log kob/g) ise olgunlaşmanın 1. gününde ÇSML örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.34 Peynir örneklerinde laktobasil sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	4,567±4,748 Aa**	5,863±5,825 Cb	5,684±5,543 Bb	5,728±5,669 Bb	5,822±5,878 Db	5,276±0,113 a
ÇSYL	6,268±6,353 Ba	5,630±5,253 Ca	5,436±5,352 Ba	5,372±5,371 Ba	5,327±5,398 CDa	5,443±0,113 a
ÇSML	6,470±6,341 Bc	5,531±5,343 Cb	5,176±4,962 Bab	4,959±4,781 Bab	4,523±4,490 BCa	5,206±0,113 a
PS	3,425±3,183 Aa	4,985±5,032 Bc	4,425±3,761 Abc	4,151±3,441 Ab	3,457±3,017 Ba	4,027±0,113 b
PSYL	4,146±4,055 Ab	4,000±0,000 Ab	4,000±0,000 Ab	3,707±2,121 Ab	2,301±2,238 Aa	3,592±0,113 b
PSML	3,937±3,485 Aab	4,522±4,606 ABb	4,477±4 Ab	4,195±3,605 Ab	3,500±3,534 Ba	4,024±0,113 b

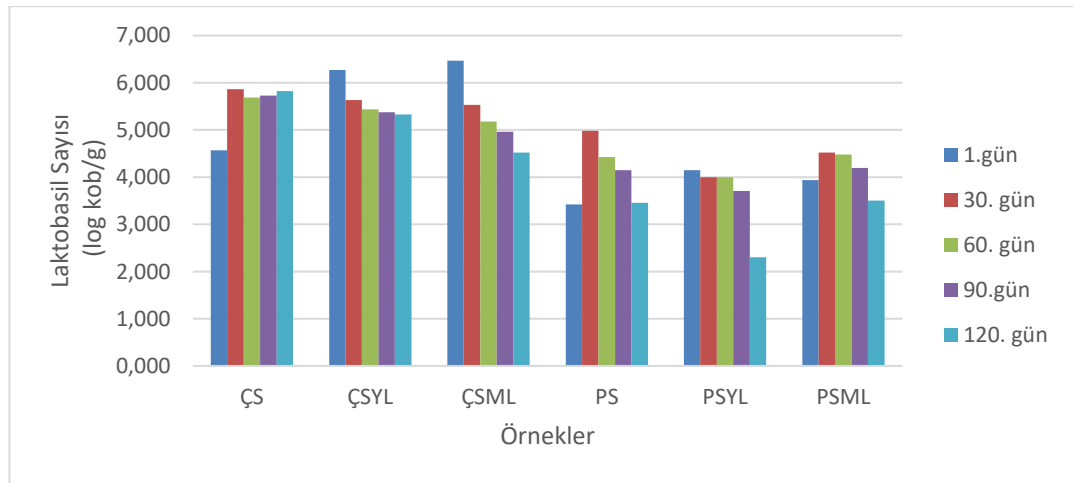
*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin laktobasil değerlerindeki değişim p<0,05 düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇS (5,276 log kob/g), ÇSYL (5,443 log kob/g) ve ÇSML (5,206 log kob/g) örneklerinde laktobasil sayıları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı saptanmıştır. Aynı şekilde pastörize süttten üretilen peynir örnekleri de bir grup olarak değerlendirildiğinde PS (4,027 log kob/g), PSYL (3,592 log kob/g) ve PSML (4,024 log kob/g) örneklerinin laktobasil sayıları arasındaki fark istatistik olarak önemli değildir (p>0,05). Elde edilen sonuçlara göre hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının laktobasil bakterileri üzerinde fazla bir etkisinin olmadığı düşünülmektedir. Ayrıca araştırmamızın ilk kısmını oluşturan laboratuvar çalışmalarında da elde edilen sonuçların birbirini desteklediği görülmektedir. Çiğ süt ve pastörize süt kullanılarak üretilen peynir örneklerinin grup ortalamaları arasındaki fark ise istatistik olarak önemlidir (p<0,05). Çiğ süttten üretilen peynir örneklerinin laktobasil

içeriklerinin pastörize süt kullanılarak üretilen peynir örneklerinden daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 4.34). Depolamanın ilerlemesiyle laktobasil bakteri sayısında meydana gelen azalmada ortamdaki nem miktarında meydana gelen azalış, tuz miktarındaki nisbi artış, olgunlaşmanın ilerlemesiyle ortamda oluşan laktik asit ve çeşitli metabolitlerin etkisi olduğu düşünülmektedir.

Olgunlaşma sürecinde peynir örneklerinin laktobasil bakteri içeriklerindeki değişim Şekil 4.30'da görülmektedir. Depolamanın başlangıcında süttten gelen laktik asit bakterileri baskınken, zamanla peynir içeriğindeki nem miktarındaki azalma, tuz konsantrasyonundaki nisbi artış ve ortamda oluşan bazı metabolitlerin etkisiyle sayıları azalmaktadır. Süte uygulanan ısı işlemden sonra ortamdaki varlıkları ise üretim sırasında olası kontaminasyonu ya da ısı işleme rağmen canlılıklarını yitirmeyen laktobasillerin ortama baskın hale geldiğini düşündürmektedir (Arslaner 2008, Crow vd. 2001). Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$).



Şekil 4.30 Peynir örneklerine ait laktobasil bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Peynir örneklerinde ortalama laktobasil sayısı 3,592 log kob/g ila 5,443 log kob/g arasında değişim gösterdiği saptanmıştır. Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Öner vd. (2005) 7,32-7,50 log kob/g; Karagözlü vd. (2009) ortalama 7,301 log kob/g; Dinkçi vd. (2012) 7,19-7,56 log kob/g; Yerlikaya ve Akbulut (2019) tarafından *Enterococcus* ssp. ilave etmeden üretmiş oldukları kontrol İzmir Tulum peynirinde 6,01-7,51 log kob/g;

Tulukoglu vd. (2020) tarafından 13,11-10,00 log kob/g; Akan (2020) tarafından 7,58 log kob/g bulunan deęerlerden dūřuđtūr. Peynir ūretiminde kullanılan yōntemlerin farklı olması, ūretimde kullanılan sūtūn çeřidi ve mikrobiyal kalitesi peynirin mikrobiyolojik ūzelliklerini etkilemekte ve sonuçlarda farklılıklara neden olabilmektedir.

Ugarte vd. (2006), yumuřak ve yarı sert Arjantin peynirlerinden izole edilen NSLAB ūzerinde çalıřmıř ve incelenen tūm suřların *L. casei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. curvatus*, *L. fermentum* ve *L. perolens* tūrlerini içerecek řekilde 25 ppm lizozimi tolere ettięini bulmuřlardır. Sinigaglia vd. (2008) tarafından Mozzarella peynirinin raf ūmrūnūn uzatılması amacıyla peynir ūrneklerinin salamura suyuna lizozim + etilen diamin tetraasetik disodyum tuzu ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ethylene-diamine-tetraacetic disodium salt) uygulaması yapılmıř ve ūrnekler 4 °C'de 8 gūn depolanmıřtır. Depolamanın 7. gūnūnde sōz konusu uygulamanın peynirlerde toplam koliform ve *Pseudomonadaceae* geliřimini būyūk ūlde inhibe etmesine raęmen laktik asit bakterilerini etkilemedięi sonucuna ulařılmıřtır. Conte vd. (2011) tarafından yapılan çalıřmada Burrata peynirinde lizozim + etilen diamin tetraasetik disodyum tuzu ($\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ethylene-diamine-tetraacetic disodium salt) uygulaması yapılmıř ve ūrnekler Modifiye Atmosfer Paketleme (MAP 95:5 $\text{CO}_2\text{:N}_2$) ile ambalajlanmıřtır. Laktik asit bakterileriyle ilgili olarak veriler gōsterilmemiř ancak aktif bileřik veya MAP'ın mikrobiyal proliferasyon ūzerinde herhangi bir ūnemli etkisinin olmadıęı belirtilmiřtir. Solieri vd. (2014) tarafından yapılan bir çalıřmada, olgunlařtırılmıř Parmigiano Reggiano peynirinden starter olmayan *Lactobacillus* suřları (22 *Lactobacillus rhamnosus*, 18 *Lactobacillus paracasei*, 3 *Lactobacillus casei*, 2 *Lactobacillus harbinensis* ve 2 *Lactobacillus fermentum*) izole edilerek potansiyel probiyotik yetenekleri test edilerek çoęu suřun, safra tuzları, lizozim ve simūle edilmiř mide ve pankreas suları dahil olmak ūzere biyolojik engellere karřı orta ila iyi direnç gōsterdięi belirlenmiřtir. D'Incecco vd. (2016), tarafından yapılan bir arařtırmada çię sūtten lizozim ilave edilerek veya ilave edilmeden sert peynir ūretimi gerçekleřtirilmiřtir. Lizozim ilave edilmeden ūretilen peynirde daha yūksek sayıda kūltive edilebilir mikrobiyal popūlasyon karakterize edilmiřtir. Lizozim ilave edilerek ūretilmiř olan ve hem 9 ay hem de 16 ay olgunlařmada *Lactobacillus delbrueckii* ve *Lactobacillus fermentum*'un lizozimden en çok etkilenen tūrler olduęu belirlenmiřtir. řaraplardan izole edilen laktik asit bakterileri ūzerine lizozimin etkisinin arařtırıldıęı bir

çalışmada, lizozimin laktik asit bakterilerine olan etkisinde tür ve suşun önemli olduğu ve bazı laktobasil suşlarının, 1000 ve 2000 mg/L gibi yüksek konsantrasyonların varlığında hayatta kalarak lizozime karşı oldukça dirençli olduğu bulunmuştur (Dias vd. 2015).

Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Ugarte vd. (2006), Sinigaglia vd. (2008), Conte vd. (2011), Solieri vd. (2014), D’Incecco vd. (2016) tarafından tespit edilen bulgularla uyum göstermektedir.

4.4.4 Laktokok sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Laktik asit bakteri grubunda yer alan laktokoklar birçok peynir çeşidinin yapım ve olgunlaşmasında önem taşıyan mikroorganizmalardır. Laktokokların hem teknolojik hem de endüstriyel boyutta önem arzemesinde aroma oluşturma özelliği, bakteriyosin ve ekzopolisakkarit (EPS) oluşturması, bakteriyofajlara olan dirençliliği, laktoz ve sitrat metabolizmasındaki üstünlüğü dikkati çekmektedir (Büyükyörük ve Soyutemiz 2010).

Peynir örneklerinde belirlenen laktokok sayısı Çizelge 4.35’de görülmektedir. En düşük laktokok sayısı olgunlaşmanın 30. gününde PSYL (4,124 log kob/g) örneğinde, en yüksek laktokok sayısı ise olgunlaşmanın 1. gününde ÇS (7,144 log kob/g) örneğinde saptanmıştır.

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin laktokok sayılarındaki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇSYL (5,538 log kob/g) ve ÇSML (5,381 log kob/g) örneklerinin laktokok sayıları arasında istatistik olarak bir fark olmadığı ancak ÇS (6,339 log kob/g) örneği ile karşılaştırıldığında genel itibari ile bir miktar azalma olduğu saptanmıştır ve bu azalma istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Aynı şekilde pastörize süttten üretilen peynir örnekleri de bir grup olarak değerlendirildiğinde PS (5,590 log kob/g) ve PSML (5,252 log kob/g) örneklerinin laktokok sayıları arasındaki farkın istatistik olarak

önemli olmadığı ($p>0,05$) görülmüştür. Elde edilen sonuçlara göre hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının laktokok bakterileri üzerinde fazla bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca araştırmamızın ilk kısmını oluşturan laboratuvar çalışmamızda da elde edilen sonuçlar birbirini desteklemektedir.

Çizelge 4.35 Peynir örneklerinde laktokok sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, $n=3^*$

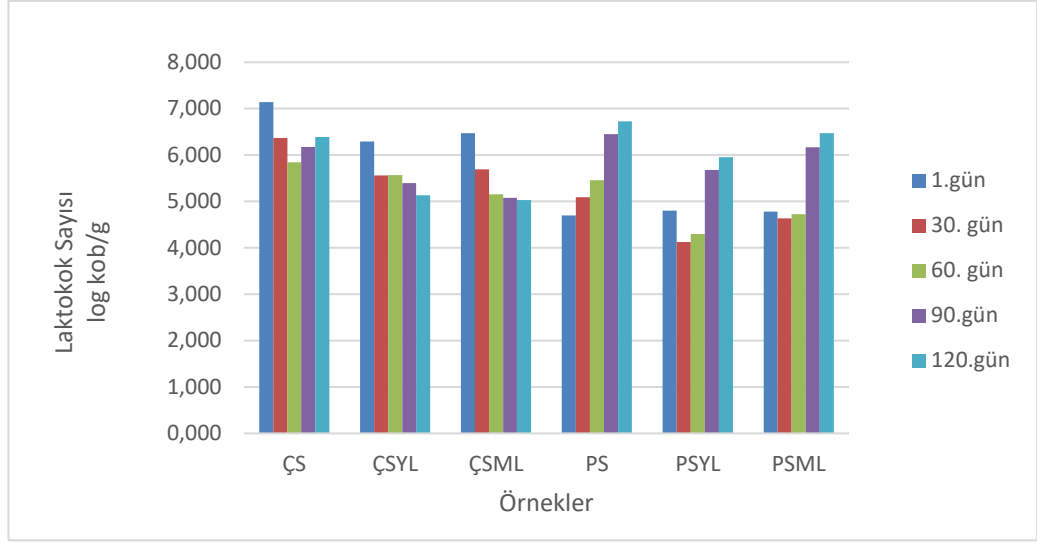
Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	7,144±6,648 Cc**	6,367±6,384 Cab	5,843±5,021 Da	6,177±5,602 BCab	6,389±5,934 BCb	6,339±0,101 a
ÇSYL	6,295±6,163 Bb	5,564±5,361 BCa	5,568±5,354 CDa	5,398±5,070 Aa	5,131±4,446 Aa	5,538±0,101 b
ÇSML	6,472±6,360 Ba	5,693±5,653 BCa	5,156±5,029 BCa	5,081±4,917 Aa	5,030±4,863 Aa	5,381±0,101 b
PS	4,698±4,556 Aa	5,091±5,184 ABab	5,457±5,163 CDc	6,454±6,108 Cc	6,724±6,375 Cc	5,590±0,101 b
PSYL	4,801±4,578 Aab	4,124±3,761 Aa	4,301±4,000 Aa	5,677±5,606 ABb	5,957±5,889 ABb	4,794±0,101 c
PSML	4,778±4,422 Aa	4,636±4,761 Aa	4,726±4,761 ABa	6,168±5,630 BCb	6,470±5,933 Cb	5,252±0,101 b

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sütunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir ($p<0,05$). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir ($p<0,05$).

Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve depolama interaksiyonu önemli bulunmuştur ($p<0,05$). Depolamanın ilerlemesine paralel olarak peynir örneklerinde görülen bu interaksiyonda lizozim enzim ilavesi ve üretimde çiğ ya da pastörize süt kullanımına bağlı olarak farklı miktarlarda laktokokların ürediği düşünülmektedir.

Peynir örneklerinde depolama süresince laktokok sayılarında meydana gelen değişim Şekil 4.31’de görülmektedir.



Şekil 4.31 Peynir örneklerine ait laktokok bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Peynir örneklerinde belirlenen ortalama laktokok sayıları 4,794 ila 6,339 log kob/g arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.35). Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Öner vd. (2005) 7,71-8,15 log kob/g; Yerlikaya ve Akbulut (2019) tarafından *Enterococcus* ssp. ilave etmeden üretmiş oldukları kontrol İzmir Tulum peynirinde 8,27-12,98 log kob/g; Tulukoğlu vd. (2020) tarafından 7,68-10,46 log kob/g; Akan (2020) tarafından 7,09 log kob/g bulunan değerden düşük olup Kara ve Akkaya (2015) tarafından 5,14-6,66 log kob/g bulunan değere benzerlik göstermektedir. Peynir üretiminde farklı yöntemlerin kullanılması, üretimde kullanılan sütün özellikleri ve mikrobiyal yükü farklı sonuçlara neden olabilmektedir.

Carini vd. (1985) İtalyan sert peynirlerin üretiminde kullanılan lizozim konsantrasyonlarında birçok laktik asit bakterisinin etkilenmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca, Gouda peyniri üretiminde kullanılan starterin lizozime çok dirençli olduğu düşünülmüştür (Brandle vd. 2016). Yapılan çalışmalarda laktik asit bakterilerinin lizozim enzimine karşı dirençli olduğu sonucu araştırma bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

4.4.5 Koliform grubu bakteri sayısının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Koliform grubu bakteriler Gram negatif, spor oluşturmeyen, 35 °C'de laktozu 48 saat içerisinde fermente eden, gaz oluşturan EMB ve Endo agarda koyu metalik pırıltı veren bakteriler olarak tanımlanmaktadır (Erkmen 2017). Peynirlerde yüksek sayıda koliform grubu bakteri bulunması üretimde çiğ süt kullanılması, çiğ süte uygulanan ısıl işlemin yetersiz olması, hijyen ve sanitasyona gerekli önemin verilmemesi ya da rekontaminasyon sonucu olabilmektedir (Kaynar 2011, Erkmen 2017, Demir vd. 2018).

Peynir örneklerinde belirlenen koliform grubu bakteri sayısı Çizelge 4.36'da görülmektedir. Tüm örneklerde en düşük koliform grubu bakteri sayısı olgunlaşmanın 90. (<10) ve 120. günlerinde (<10), en yüksek sayı (3,477 log kob/g) ise olgunlaşmanın 1. gününde ÇS örneğinde saptanmıştır.

Çizelge 4.36 Peynir örneklerinde koliform grubu bakteri sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
ÇS	3,477±2,301 Bc**	3,113±2,556 Db	1,591±1,550 Aa	<10	<10	1,636±0,025 a
ÇSYL	3,406±2,360 Bb	2,425±2,0 62 Ca	<10	<10	<10	1,166±0,025 b
ÇSML	3,318±2,244 Bb	1,000±0,0 00 Aa	<10	<10	<10	0,863±0,025 c
PS	2,737±2,211 Ab	1,301±1,0 00 Ba	<10	<10	<10	0,807±0,025 c
PSYL	2,690±2,106 Aa	<10	<10	<10	<10	0,538±0,025 d
PSML	2,609±2,076 Aa	<10	<10	<10	<10	0,521±0,025 d

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

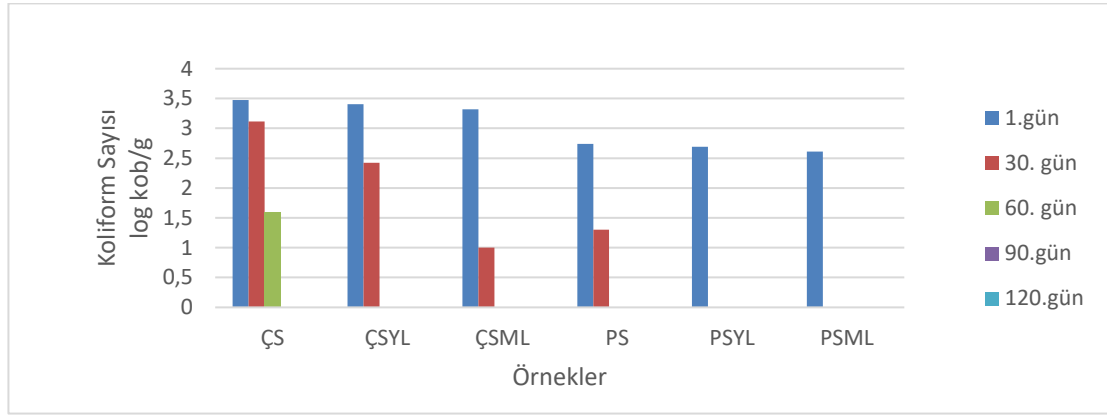
Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin koliform grubu bakteri sayılarındaki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇSYL (1,166 log kob/g) ve ÇSML (0,863 log kob/g) örneklerinin koliform grubu bakteri sayılarının ÇS (1,636 log kob/g) örneğinden daha düşük olduğu saptanmış olup değişim istatistik olarak önemli bulunmuştur. Burada lizozimin koliform grubu bakteriler üzerindeki etkisini görmekteyiz. Mikrobiyal lizozim kullanılarak üretilen peynir örneğinde koliform grubu bakteri sayısı yumurta lizozimi kullanılarak üretilen peynir örneğinden daha düşük saptanmıştır. Bu noktada da mikrobiyal lizozimin koliform grubu bakteriler üzerine yumurta lizoziminden daha etkili olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde PSYL (0,538 log kob/g) ve PSML (0,521 log kob/g) örneği de istatistik olarak benzer olup PS (0,807 log kob/g) örneği ile karşılaştırıldığında koliform grubu bakteri sayısı daha düşük olup bu fark istatistik olarak önemlidir ($p < 0,05$). Hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının koliform grubu bakteri sayısını etkilediği belirlenmiştir. Diğer taraftan çiğ süt ve pastörize süttten üretilen peynir örneklerinin grup ortalamaları karşılaştırıldığında istatistik olarak farklı çıkmıştır ve bu farkın $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunduğu görülmüştür.

Araştırmamızda elde edilen sonuç TGK Peynir Tebliği'nde “Çiğ süttten veya termizasyon işlemi uygulanan süttlerden üretilen ve telemesi haşlanmamış peynirler taze olarak piyasaya arz edilemez. Bu peynirler üretimden sonra en az 4 ay uygun koşullarda olgunlaştırıldıktan sonra piyasaya arz edilir.” (Anonim 2015) ifadesiyle uyum göstermektedir. Depolamanın ilerlemesiyle koliform grubu bakteri sayısında meydana gelen azalmada lizozimin etkisi de olduğu düşünülmektedir. Bu durum ayrıca, peynirin olgunlaşmasıyla beraber laktik asit bakterilerinin fermentasyon sonucu asit üretmesi ve artan asitliğin bazı mikroorganizmaları baskılamasıyla bağdaştırılabilir (Tekinşen 2000, Temiz 2003).

Peynir örneklerinde depolama süresince koliform grubu bakteri sayısında meydana gelen değişim Şekil 4.32'de görülmektedir. Yapılan istatistik analizlerde örnekler arası ve

depolama interaksyonu önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Örneğin ÇS peynirinde 1. gün koliform grubu bakteri sayısı 3,477 log kob/g iken 120. günde tespit edilememiştir. Üretimde kullanılan süte uygulanan ısıl işlem ve lizozim ilavesinin söz konusu bakteri sayısının azalmasında etkili olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.32 Peynir örneklerine ait koliform grubu bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Peynir örneklerinde belirlenen ortalama koliform grubu bakteri sayısı 1,636 ila 0,521 log kob/g arasında; 120 günlük olgunlaşma sonunda ise < 10 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.36). Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Öner vd. (2005) 1,73-5,02 log kob/g, Kara ve Akkaya (2015) 2,91 log kob/g, Demir vd. (2018) 4,49 log kob/g ve Erceyes vd. (2018) 3,32 log kob/g tarafından bulunan değerden düşük olup, Kara ve Akkaya (2015) ortalama 1,23 log kob/g bulunan değere benzerlik göstermektedir. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (Anonim 2011a), peynirlerdeki koliform bakteri sayısı ile ilgili herhangi bir sınırlama içermemektedir. Ancak, peynir üretiminde farklı yöntemlerin kullanılması, üretimde kullanılan sütün özellikleri, mikrobiyal yükü, süte uygulanan ısıl işlem ve üretimde hijyen ve sanitasyonuna verilen öneme göre farklı sonuçlar elde edilebilmektedir.

Peynir örneklerinde depolama süresince tespit edilen koliform grubu bakteri sayısındaki değişim Bester ve Lombard (1990)'ın lizozimin koliform bakteri üzerindeki inhibisyon etkisini saptadığı çalışmasıyla ve Gouda peynirinde lizozim uygulaması sonucu koliform

bakteri sayısında azalma olduğunu tespit eden Haniyah vd. (2016) ile uyum göstermektedir.

4.4.6 *E. coli* sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Koliform grubu bakterilerden *E. coli* peynirlerde gaz oluşturarak erken şişmeye neden olmaktadır. Erken şişme peynirin yapısında kusur oluşturmakta, tat ve aromasını ise olumsuz bir şekilde etkilemektedir (Kaynar 2011). Hijyenik kalitenin bir göstergesi olarak kabul edilen *E. coli*'nin ısıtma işlem sonrası gıdalarda bulunması uygulanan ısıtma işleminin yetersiz olmasından veya üretim sonrası bulaşımın olmasından kaynaklanmaktadır. Örneğin olgunlaştırılmış peynirlerde varlığı çiğ süt veya üretim sırasında kontaminasyonun olduğunu ya da satışa sunulduktan sonra meydana geldiğini düşündürmektedir (Morul ve İşleyici 2012, Erkmen 2017, Demir vd. 2018).

Peynir örneklerinde belirlenen *E. coli* sayısı Çizelge 4.37'de görülmektedir. Tüm örneklerde 60. günden itibaren *E. coli* tespit edilememiş olup en yüksek sayı (2,067 log kob/g) ise olgunlaşmanın 30. gününde ÇS örneğinde saptanmıştır.

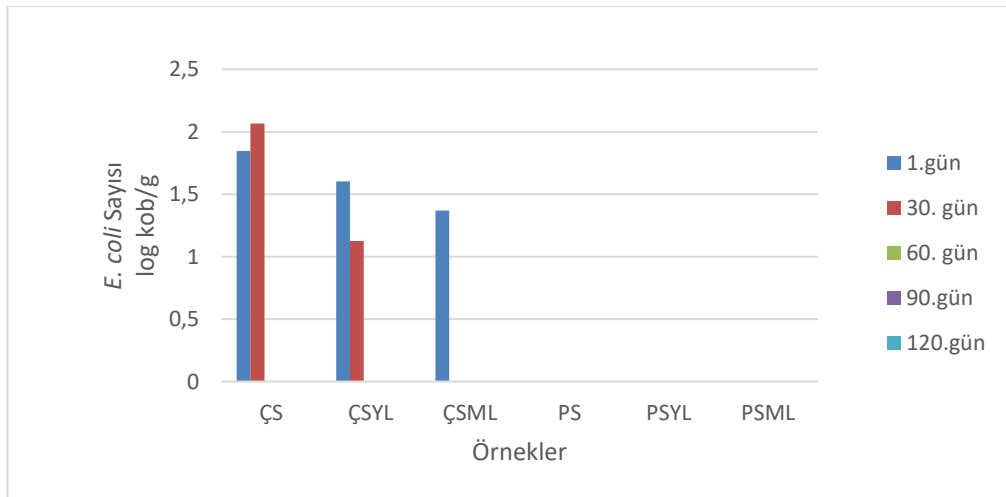
Çizelge 4.37 Peynir örneklerinde *E. coli* sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3

Depolama Örnek*	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
ÇS	1,845±1,000 Ba**	2,067±1,184 Bb	<10	<10	<10	0,781±0,012 a
ÇSYL	1,602±1,000 ABb	1,125±0,761 Aa	<10	<10	<10	0,545±0,012 b
ÇSML	1,368±0,761 Ab	1,000±0,000 Aa	<10	<10	<10	0,473±0,012 b
PS	<10	<10	<10	<10	<10	<10 c
PSYL	<10	<10	<10	<10	<10	<10 c
PSML	<10	<10	<10	<10	<10	<10 c

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Aynı sutunda yer alan farklı **büyük harfler (A,B,C) örnekler arası farkı göstermektedir (p<0,05). Aynı satırda yer alan farklı **küçük harfler** (a,b,c) depolama günlerindeki farkı göstermektedir (p<0,05).

Peynir örneklerinin istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve depolama süresince peynir örneklerinin *E. coli* bakteri sayısındaki değişim $p < 0,05$ düzeyinde önemli bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde ÇSYL (0,545 log kob/g) ve ÇSML (0,473 log kob/g) örneklerinin *E. coli* sayısının ÇS (0,781 log kob/g) örneğinden daha düşük olduğu saptanmış olup değişim istatistik olarak önemli bulunmuştur (Şekil 4.33). Burada gerek yumurta lizoziminin gerekse mikrobiyal lizozimin *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal etkisi görülmüştür. Aynı şekilde pastörize süttten üretilen peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde hiçbir peynir örneğinde *E. coli* tespit edilememiş olup üretimde kullanılan süte yeterli derece ve sürede ısıl işlem uygulandığı görülmüştür. Üretimde kullanılan süttün pastörize edilip edilmemesine göre örneklerin grup ortalamaları arasındaki fark $p < 0,05$ düzeyinde önemlidir. Araştırmamızda elde edilen sonuç TGK Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği (Anonim, 2011a)'nde peynirlerdeki *E. coli* bakteri sayısı hususunda herhangi bir sınırlama bulunmazken, “ısıl işlem uygulanmış süt veya peyniraltı suyundan üretilen peynirlerde incelenen 5 örnekten (n) ikisinde (c) izin verilen maksimum (M) *E. coli* sayısı 10^3 kob/g şeklinde sınırlandırılmıştır.” şeklinde yer alan ifade ile uyum göstermektedir.



Şekil 4.33 Peynir örneklerine ait *E. coli* bakteri sayısının olgunlaşma süresince değişimi

Çiğ süttten üretilen peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilerlemesiyle 60. günden itibaren örneklerde *E. coli* tespit edilememiştir. Depolamanın ilerlemesiyle *E. coli* bakteri

sayısında meydana gelen azalmada direkt olarak lizozimin etkisi vardır ya da yoktur demek doğru değildir. Ancak baskıladığını söyleyebiliriz. Bu durum, peynirin olgunlaşmasıyla beraber laktik asit bakterilerinin fermentasyon sonucu asit üretmesi ve artan asitliğin bazı mikroorganizmaları baskılamasıyla bağdaştırılabilir (Tekinşen 2000, Temiz 2003).

Peynir örneklerinde belirlenen ortalama *E. coli* bakteri sayısı 0,781 ila <10 log kob/g arasında; 120 günlük olgunlaşma sonunda ise <10 olarak saptanmıştır (Çizelge 4.38). Araştırmamızda elde edilen sonuçlar Morul ve İşleyici (2012) 3.61 log kob/g; Demir vd. (2018) 1.10 log kob/g tarafından bulunan değerden düşük olup Kara ve Akkaya (2015) 0,65 log kob/g tarafından bulunan değere benzerlik göstermektedir.

4.4.7 Sporlu mikroorganizma sayılarının (log kob/g) depolama süresince değişimi

Peynirlerde sporlu mikroorganizmalardan olan *Clostridium* spp. geç şişmeye neden olarak peynirin hem yapısı ve aromasında kusur oluşturmakta hem de peynir kitlesinde büyük yarık ve şişmelere neden olarak ekonomik kayba yol açmaktadır (Silvetti vd. 2018). Süte çeşitli yollarla bulaşan *Clostridium* spp. ya çiğ süttten peynire geçmekte veya çiğ süte uygulanan ısı işlemin yetersiz olmasından kaynaklı canlı kalabilen endosporları peynirde uygun bir ortam bulması sonucu vejetatif forma dönüşmektedir. Peynirde vejetatif forma geçen endosporlar laktatı fermentasyona uğratarak; bütirik asit başta olmak üzere diğer organik asitler ve yüksek miktarda karbondioksit (CO₂) ve hidrojen (H₂) gazı meydana getirmektedir (Yaygın 1989, Gómez-Torres vd. 2014). Ayrıca çiğ sütte bulunan *Clostridium* sporlarının temel kaynağının hayvan beslemede kullanılan düşük kalitedeki silajlar olduğu belirtilmektedir (Reindl vd. 2014, Driehuis vd. 2016). Sporlu bakterilerden olan *Bacillus* ve *Clostridium* cinsleri proteolitik aktiviteleri sonucu süt ve peynirde ransiditeye neden olmaktadır (Ünlütürk ve Turantaş 2003).

Çizelge 4.38 Peynir örneklerinde sporlu mikroorganizma sayıları (log kob/g) ve depolama süresince değişimi, n=3*

Depolama	1. gün	30. gün	60. gün	90. gün	120. gün	Ort.
Örnek*						
ÇS	<10	<10	<10	<10	<10	<10
ÇSYL	<10	<10	<10	<10	<10	<10
ÇSML	<10	<10	<10	<10	<10	<10
PS	<10	<10	<10	<10	<10	<10
PSYL	<10	<10	<10	<10	<10	<10
PSML	<10	<10	<10	<10	<10	<10

*ÇS: Çiğ süttten üretilen Tulum peyniri; ÇSYL: Çiğ süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; ÇSML: Çiğ süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri; PS: Pastörize süttten üretilen Tulum peyniri; PSYL: Pastörize süttten üretilen ve yumurta lizozimi ilave edilen Tulum peyniri; PSML: Pastörize süttten üretilen ve mikrobiyal lizozim ilave edilen Tulum peyniri.

Peynir örneklerinde sporlu mikroorganizma bulunmamıştır. Üretimde kullanılan çiğ süt Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Hayvancılık İşletmesinden elde edilmiştir. Hayvanları beslemede kullanılan yem ve silajların kaliteli olması ve üretimde kullanılan sütte sporlu mikroorganizma olmaması nedeniyle peynirde de sporlu mikroorganizmaya rastlanmamıştır.

5. SONUÇ

Bu araştırmada, yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim olmak üzere iki farklı lizozim enzim preparatının İzmir Tulum peynirinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak yürütülmüştür. Birinci aşamada, lizozim enzimlerinin süte katım konsantrasyonları belirlenmiş, ikinci aşamada ise belirlenen konsantrasyonlarda çiğ süt ve pastörize süten İzmir Tulum peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir. Peynirler 120 gün depolanmış ve depolamanın 1., 30., 60., 90. ve 120. günlerinde peynirde meydana gelen fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik değişimler belirlenmiştir.

Birinci aşama olan laboratuvar çalışmasında yumurta ve mikrobiyal lizozim enzim preparatlarının antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri araştırılmıştır. Çalışmada yumurta lizoziminin 20, 30, 40, 50 ppm ve akabinde 100, 150 ve 200 ppm konsantrasyonu ile mikrobiyolojik lizozimin 2, 8, 10 ve 20 ppm konsantrasyonunun laktik asit bakterileri, *S. cerevisiae* mayası ve *A. flavus* küfü üzerindeki aktiviteleri incelenmiştir.

Yapılan laboratuvar araştırmasında yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozim preparatlarının tüm konsantrasyonlarının laktik asit bakterilerin gelişimini etkilemediği saptanmıştır. Laktik asit bakterilerine benzer şekilde lizozimden *S. cerevisiae* mayasının da etkilenmediği söz konusu mayanın 200 ppm lizozim konsantrasyonunda bile üreme gösterdiği saptanmıştır. Mikrobiyal lizozimde ise 10 ppm de maya gelişimi olurken 20 ppm de maya gelişimi görülmemiştir. Yumurta lizoziminin küfler üzerine antifungal aktivitesi 50 ppm konsantrasyonda görülürken mikrobiyal lizozimin tüm konsantrasyonlarında küf gelişimi saptanmıştır. Sonuç olarak yumurta lizozimi laktik asit bakterileri ve mayaların gelişimini etkilemezken küfler üzerine antifungal aktivite göstermiştir. Mikrobiyal lizozimin ise antibakteriyal ve antifungal aktivitesi sınırlı olmuştur.

Tulum peyniri üretiminde, lizozim enziminin farklı preparatlarının laktik asit bakterileri, maya ve küf üzerine olan antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde in vitro koşullarda

yapılan çalışmalar sonucuna göre yumurta lizoziminden 40 ppm, mikrobiyal lizozimden 10 ppm kullanılmasına karar verilmiştir.

Yapılan araştırmada çiğ süt ve pastörize süttten iki farklı lizozim enzimi kullanılarak toplamda kontrol grupları da dahil olmak üzere 6 çeşit İzmir Tulum peyniri üretilmiştir.

Üretim sonrası elde edilen araştırma bulgularına göre;

1- İzmir Tulum peyniri örneklerinde pH değerlerinin depolama süresince dalgalı bir seyir izlediği saptanmıştır. Sütün pastörize edilmesi ve süte lizozim enzimi katılması peynirde mikroorganizma gelişimini engellediği için pH değerinde bir azalma saptanmamıştır. Çiğ süttten üretilen (ÇS, ÇSYL, ÇSML) ve pastörize süttten üretilen (PS, PSYL, PSML) peynir örnekleri bir grup olarak değerlendirildiğinde gerek yumurta lizoziminin gerekse mikrobiyal lizozimin peynirlerde pH değerini etkilemediği her bir peynir örneğinin kendi içinde benzer olduğu tespit edilmiştir. Ancak üretimde kullanılan süttün pastörize edilip edilmemesine göre çiğ süt ve pastörize süttten üretilen peynir örneklerinin grup ortalamalarında fark $p < 0,05$ düzeyinde olduğu belirlenmiştir.

2- Peynir örneklerinin titrasyon asitlik değerlerinin laktik asit (%LA) cinsinden depolama süresince hem artış hem de azalış gösterdiği belirlenmiştir. Lizozim katkılı Tulum peyniri örneklerinin (ÇSYL, ÇSML, PSYL, PSML) %LA değerlerinin lizozim içermeyen örneklere (ÇS, PS) göre daha düşük çıktığı saptanmıştır. Bunun nedeninin lizozimin mikroorganizma gelişimini engellemesi ve dolayısıyla %LA değerinin yükselmemesi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca ÇS ve ÇSYL peynirlerinde %LA değerleri benzerlik gösterirken ÇSML peynirinde %LA değerinin daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Yine PS ve PSYL peynirlerinde %LA değerleri birbirine yakınlık gösterirken PSML peynirinde daha düşük belirlenmiştir. Bu durumda, mikrobiyal lizozimin mikroorganizmalar üzerine yumurta lizoziminden daha çok etki ederek asitlik gelişimini daha fazla engellediği ve sonuç olarak %LA değerinin daha düşük çıkmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

3- Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (2015)'ne göre salamurada olgunlaştırılan peynirlerde nem miktarının en çok %60 olması gerektiği belirtilmiş olup üretilen peynir örneklerinin kurumadde değerlerinin söz konusu tebliğe uygun olduğu saptanmıştır. Gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozim olsun örneklerde KM'nin daha düşük çıkmasına sebep olduğu tespit edilmiştir.

4- Farklı lizozim kullanımının hem çiğ süttten üretilen peynir gruplarında hem de pastörize süttten üretilen peynir gruplarında % yağ değerlerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir. Peynir örneklerinde depolama süresince % yağ değerlerinde saptanan artışın lipolize bağlı olduğu düşünülmektedir. Mikrobiyal lizozim ilave edilerek üretilen ÇSML ve PSML örneklerinde yağ miktarı diğer örneklerden daha yüksek tespit edilmiş olup mikrobiyal lizozim etkisiyle lipolitik aktivitenin daha fazla olduğu sonucuna varılmıştır. Örneklerin KM'deki yağ içeriği de % yağ oranındaki değişime benzer bir eğilim göstermiştir. Depolama süresince meydana gelen bir takım biyokimyasal reaksiyonlar, proteoliz, lipoliz ve tuzlamanın da etkisiyle peynirlerde hem KM'de yağ içeriğinde hem de % yağ içeriğinde birtakım azalmalar ya da artmalar tespit edilmiştir. Araştırmamız için üretilen peynir örneklerinin tümü Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği (Anonim 2015) göre tam yağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Kurumadede yağ oranı $45 \leq$ süt yağı).

5- Peynir örneklerinin % tuz değerlerine bakıldığında 1. gün ortalama % tuz içeriği 4,15 olarak saptanmış ve 30. günde 4,37'ye arttığı belirlenmiştir. Ancak depolamanın ilerlemesine paralel olarak 30., 60., 90. ve 120. günde peynir örneklerinin ortalama tuz değerlerinin birbirine benzer çıktığı saptanmıştır. Bu durum, peynir üretiminde kuru tuzlama da yapılması sonucu 1. günde peynir kitlesi içinde tuz emiliminin fazla olması ve daha sonra sabit kalarak depolamanın diğer günlerinde değişiklik olmaması şeklinde düşünülmüştür. Ayrıca peynir örneklerinin kurumadede tuz değerlerinde değişimlerin % tuz miktarıyla benzer eğilim gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmamızda üretilen peynir örneklerinin kurumadede tuz miktarı TGK Peynir Tebliği (Anonim 2015)'ne göre yüksek çıkmıştır. İzmir Tulum peynirinde olgunlaşma ile beraber kurumadde değerinin azalma eğiliminde olması sonucu kurumadedeki tuz miktarının artış eğilimi gösterdiğini söyleyebiliriz.

6- Protein içerikleri bakımından örnek grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSYL'nin % protein miktarı, ÇS ve ÇSML örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Benzer şekilde pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL'nin % protein miktarı olarak PS ve PSML örneklerinden daha yüksek saptanmıştır. Yumurta lizozimi katılan peynir örneklerinde ortalama protein miktarının ÇS ve PS örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiş olup bu durumun depolama sürecinde peynirde lipoliz ve proteolizden sorumlu olan psikrotrofik bakteriler başta olmak üzere bakteri üremesini önleyen lizozimin antimikrobiyal aktivitesine bağlı olduğu düşünülmüştür. Lizozim bakteriyal proteolizi etkileyebileceği gibi peynir örneklerindeki tuz miktarının da etkili olabileceği ön görülmüştür.

7- Toplam azot içeriklerinde çiğ süttten üretilen peynirler kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSYL'nin %TN miktarı, ÇS ve ÇSML örneklerinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL'nin %TN miktarı PS ve PSML örneklerinden daha yüksek olup fark istatistik açıdan önemlidir ($p<0,05$). Yumurta lizozimi katılan peynir örneklerinde %TN miktarlarının ÇS ve PS örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Lizozimin peynir mikrobiyotasını ve sonuç olarak bakteriyal proteolizi etkileyebildiği söylenebilir. Peynir örneklerinde olgunlaşmanın ilerlemesiyle %TN miktarlarında genel olarak bir azalma saptanmış olup peynirlerdeki toplam azot miktarının olgunlaşma sürecinde kazeinin uğradığı enzimatik hidroliz sonucu bazı azot bileşiklerinin salamuraya difüzyonu nedeniyle azaldığı söylenebilir.

8- Suda çözünen azot bakımından çiğ süttten üretilen peynirler kendi içinde değerlendirildiğinde ÇSML ve ÇSYL'nin SÇA miktarları ÇS örneğinden daha yüksek saptanmış olup fark istatistik olarak önemlidir ($p<0,05$). Pastörize süttten üretilen peynir gruplarında da PSYL ve PSML'nin %SÇA miktarları PS örneğinden yüksek olup fark istatistik açıdan önemlidir ($p<0,05$). Peynir üretiminde farklı formlarda lizozim kullanımının peynir grupları arasında farklılığa neden olduğu saptanmıştır. Depolamanın ilk gününde peynir örneklerinin ortalama SÇA miktarı %0,31 olup olgunlaşmanın ilerlemesiyle artış göstererek 120. gün %0,66 olarak saptanmıştır. Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolamanın ilerlemesiyle bazı azot bileşiklerinin peynirin

yapısından salamuraya geçişinden dolayı peynir yapısındaki TN miktarının azaldığı buna eşlik eden suda çözünen azot miktarının ise arttığı söylenebilir.

9- Olgunlaşma süresince peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarında artış olmakla beraber olgunlaşma sonunda en yüksek katsayı ÇSML örneğinde, en düşük katsayı ÇS örneğinde saptanmıştır. Peynir örneklerinde olgunlaşma katsayılarındaki artış konusunda depolama süresince proteolitik aktivitenin sürekli olduğu söylenebilir. Olgunlaşma sürecinde peynir örneklerinin olgunlaşma katsayılarındaki artış suda çözünen azot değerlerindeki artışla doğrusal yönde olmaktadır.

10- Üretimde kullanılan süte uygulanan pastörizasyon işlemi peynirlerde serbest yağ asiti oluşumunu azalttığı saptanmıştır. Bütirik asit oluşumu üzerinde lizozim enzim preparatların çok etkisinin olmadığı görülmüştür. Benzer şekilde lizozim katkılı peynirlerde (ÇSYL, ÇSML, PSYL, PSML), lizozim kaproik asit oluşumunu azaltsa da istatistik olarak önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$). Pastörize süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozim kontrol gruba göre kaprilik asit miktarını düşürmüştür ($p<0,05$). Diğer bir ifadeyle pastörize süttten üretilen peynirlerde kaprilik asit miktarının çiğ süttten üretilen peynire göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Mikrobiyal lizozimin çiğ süttten üretilen peynirlerde kaprik asit oluşumunu artırdığı görülmüştür. Tüm peynir örneklerinde depolamanın ilerlemesiyle kaprik asit miktarlarında azalma ve artış gözlenirse de olgunlaşmanın sonunda başlangıca göre arttığı tespit edilmiştir. Yumurta lizozimi ile karşılaştırıldığında mikrobiyal lizozimin kaprik asit üzerinde daha fazla etkisinin olduğu saptandı. Çiğ ve pastörize süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozimin laurik asit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Çiğ süte katılan yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin miristik asit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Ancak, ÇS ve PS örnekleri karşılaştırıldığında farkın istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0,05$) saptanarak pastörizasyon işleminin miristik asit miktarını azalttığı belirlenmiştir. Çiğ süttten ve pastörize süttten üretilen peynir örneklerinin palmitik asit miktarları istatistiksel olarak farksız çıkmış olup ($p>0,05$) çiğ süte ve pastörize süte katılan yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin palmitik asit miktarını etkilemediği saptanmıştır. Depolamanın ilerlemesiyle peynir örneklerindeki stearik asit miktarlarının artış ve azalışlar gösterse bile istatistik sonuçları değerlendirildiğinde örnek ortalamaları arasındaki fark ve

depolama süresince peynir örneklerinin stearik asit değerlerindeki değişim önemsiz çıkmıştır ($p>0,05$). Çiğ süte katılan yumurta lizozimi ve mikrobiyal lizozimin oleik asit miktarını azalttığı saptanmıştır. Pastörize süte katılan gerek yumurta lizozimi gerekse mikrobiyal lizozim oleik asit miktarını etkilemiş olup fark istatistiki olarak önemli değildir ($p>0,05$). Peynir örneklerinin linoleik asit içerikleri hem çiğ süt hem de pastörize süt örneklerinde farklı çıkmıştır, ayrıca lizozim ilavesi her iki süt grubunda da linoleik asit içeriğini azaltmıştır.

11- Farklı lizozim enzim preparatları ilave edilerek üretilen Tulum peyniri örneklerinde uçucu bileşenler olarak 8 yağ asidi, 8 ester, 1 keton, 1 aldehit, 2 hidrokarbon, 3 alkol, 4 terpen ve 3 diğer bileşenler olmak üzere toplam 30 uçucu bileşen belirlenmiştir. Lizozim enzim preparatları yağ asitleri oluşumunda etkili olmazken, bütirik asit metil esteri oluşumunu artırmıştır ($p<0,05$). Oktanoik asit metil esteri oluşumunu ise azaltmıştır.

12- Hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının TMAB sayısını azalttığı belirlenmiştir. Ancak depolamanın ilerlemesiyle TMAB sayısında meydana gelen azalmada direkt olarak lizozimin etkisi vardır ya da yoktur demek doğru değildir. Ancak depolamanın ilerlemesiyle hem lizozimin etkisi hem de proteolitik ve lipolitik aktivitenin sonucu olarak ortaya çıkan maddeler laktik asitle ya da diğer metabolitlerle beraber peynir örneklerinin mikroorganizma içeriğinde azalmaya neden olduğu düşünülmektedir. Gerek mikrobiyal lizozim gerekse yumurta lizozimi katkılı örneklerde depolamanın 1. gününden itibaren maya-küfe rastlanmadı. Denemenin ilk aşamasında elde edilen sonuçlar ile uyumlu bir şekilde lizozimin maya küf üzerindeki inhibitör etkisi görülmüştür. Buna karşın lizozim enziminin laktik asit bakterileri üzerinde herhangi bir antibakteriyal aktivitesine rastlanmamıştır. Ayrıca araştırmamızın ilk kısmını oluşturan laboratuvar çalışmalarımızda da elde edilen sonuçlar birbirini desteklemektedir. Mikrobiyal lizozim kullanılarak üretilen peynir örneğinde koliform grubu bakteri sayısı yumurta lizozimi kullanılarak üretilen peynir örneğinden daha düşük saptanmıştır. Bu hususta mikrobiyal lizozimin koliform grubu bakteriler üzerine yumurta lizoziminden daha etkili olduğu söylenebilir. Hem çiğ süttten hem de pastörize süttten üretilen peynir örneklerinde lizozim kullanımının koliform grubu bakteri sayısını azalttığı belirlenmiştir. Burada yumurta lizoziminin ve mikrobiyal lizozimin *E. coli* üzerindeki

etkisi benzer görülmüştür. Depolamanın ilerlemesiyle *E. coli* bakteri sayısında meydana gelen azalmada direkt olarak lizozimin etkisi vardır ya da yoktur demek doğru değildir. Bu durum, peynirin olgunlaşmasıyla beraber laktik asit bakterilerinin fermentasyon sonucu asit üretmesi ve artan asitliğin bazı mikroorganizmaları baskılamasıyla bağdaştırılabilir. Üretimde kullanılan sütte sporlu mikroorganizma olmaması nedeniyle peynirde de sporlu mikroorganizmaya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak, bu tez çalışmasında elde edilen veriler ışığında Tulum peyniri üretiminde yumurta lizoziminden 40 ppm, mikrobiyal lizozimden 10 ppm olacak şekilde kullanıldığında peynirlerin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analiz sonuçlarını olumlu etkilediği görülmüştür. Günümüzde, gıda sanayisinde özellikle doğal kaynaklı antimikrobiyal bileşiklerin kullanıldığı biyo-koruma metotlarına olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır. Doğal enzimlerden olan lizozim enziminin yarı sert peynir üretiminde özellikle depolama sırasında meydana gelen geç şişme kusurunun önlenmesi için kullanım potansiyeli de artmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliğinde katkı maddesi olarak yumurtadan edilen lizozimin kullanımına izin verilmektedir. Mikrobiyal lizozim ile ilgili herhangi bir ibare bulunmamaktadır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlarda mikrobiyal kaynaklı lizozimin de peynir üretiminde kullanılabilirliği görülmüştür.

KAYNAKLAR

- Abdou, A. M., Higashiguchi, S., Aboueleinin, A. M., Kim, M. and Ibrahim, H. R. 2007. Antimicrobial peptides derived from hen egg lysozyme with inhibitory effect against *Bacillus* species. *Food Control*, 18, 173–178.
- Akan, E. 2020. İzmir Tulum peynirinden ekstrakte edilen endojen ve eksojen peptitlerin olası biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, 104, İzmir.
- Akgün, H. A. ve Kök Taş, T. 2022. Peynir Teknolojisinde Kullanılan Hayvansal Kaynaklı Enzimler ile İlgili Güncel Araştırmalar. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 61-66 .
- Akın, N. ve Ayar, A. 2000. Konya piyasasında satışa sunulan Tulum peynirlerinin bazı nitelikleri. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 14, 111-117.
- Akın, N. 2010. Temel Peynir Bilimi-1, Temel Konular. Damla Ofset, 542, Konya.
- Akpınar, A., Yerlikaya, O., Kınık, Ö., Korel, F., Kahraman, C. and Uysal, H. R. 2017. Some physicochemical characteristics and aroma compounds of İzmir Tulum cheese produced with different milk types, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 54(1), 27-35.
- Al-Baarri, A. N., Legowo, A. M., Arum, S. K. and Hayakawa, S. 2018. Extending shelf life of Indonesian soft milk cheese (dangke) by lactoperoxidase system and lysozyme. *International Journal of Food Science*, 1–7.
- Alderton, G., Ward, W. H. and Fevold, H. L. 1945. Isolation of lysozyme from egg white. *Journal of Biological Chemistry*, 157, 43–48.
- Aminlari, L., Mohammadi Hashemi, M. and Aminlari, M. 2014. Modified lysozymes as novel broad spectrum natural antimicrobial agents in foods. *Journal of food science*, 79(6), R1077-R1090.
- Amiri, S., Ramezani, R. and Aminlari, M. 2008. Antibacterial activity of dextran-conjugated lysozyme against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in cheese curd. *Journal of Food Protection*, 71(2), 411-415.
- Anonim 1994. TS-1018 Çiğ İnek Sütü Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 15s.
- Anonim 2006. TS 591 Beyaz Peynir Standardı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonim 2011a. T.C. Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği. Resmî Gazete, 28157.

- Anonim 2011b. T.C. Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi Hayvansal gıdalar için özel hijyen kuralları yönetmeliği. Resmî Gazete, 28155.
- Anonim 2013. T.C. Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi Gıda Katkı Maddeleri Yönetmeliği. Resmî Gazete, 28693.
- Anonim 2015. T.C. Tarım, Gıda ve Hayvancılık Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği. Resmi Gazete, 29261.
- Anonim 2018a. Lysoch™ G4 fermented lysozyme. Product Description Brochure. Belgium.
- Anonim 2018b. Lysoch™ G4 fermented lysozyme. Handary%20Bacterial%20Lysozyme.pdf brochure. Belgium.
- Anonim 2019. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı. Türk Gıda Kodeksi İçme Sütleri Tebliği. Resmî Gazete, 30699.
- Anonim 2021. Türkiye İstatistik Kurumu, Süt ve süt ürünleri üretimi. Web Sitesi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Sut-ve-SutUrunleri-Uretim-Aralik-2021-45747>, Erişim Tarihi: 07.06.2022.
- Anonim 2022. Türkiye İstatistik Kurumu, Çiğ süt üretim istatistikleri. Web Sitesi: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Cig-Sut-Uretim-Istatistikleri-2022-49699#:~:text=Buna%20g%C3%B6re%2C%202021%20y%C4%B1%C4%B1nda%2023,%C3%BCretim%20%256%2C7%20azald%C4%B1>, Erişim Tarihi: 06.07.2023.
- Anonymous 1973. Codeks Alimentarius, General Standard for Cheese, Adopted in 1973. Revised in 1999.
- Anonymous 1993a. WHO Food Additives Series 30. Web Sitesi: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v30je04.htm>. Erişim Tarihi: 17.09.2022.
- Anonymous 1993b. Protein determination, determination of nitrogen content. Kjeldahl method and calculation of crude protein content. Standard FIL-IDF 20B. International Dairy Federation Brussels, Belgium.
- Anonymous 2003. Official methods of analysis, 17th edition, Association of Analytical Washington, DC, USA.
- Anonymous 2004. Cheese and processed cheese- Determination of the total solid content (Reference method). The International Organization for Standardization Jakob, 2011.

- Anonymous 2008. Cheese-Determination of fat content-Van Gluik Method. The International Organization for Standardization.
- Arslaner, A. 2008. Geleneksel yöntem ve farklı sütlerden ısıtılarak üretilen ve farklı ambalaj materyallerinde olgunlaştırılan Erzincan Tulum peynirinde bazı kalite niteliklerinin tespiti. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 165, Erzurum.
- Arslaner, A. ve Bakırcı, İ. 2016. Effect of milk type, pasteurization and packaging materials on some physicochemical properties and free fatty acid profiles of Tulum cheese. Akademik Gıda, 14(2), 98-104.
- Atalay, A. 2023. Üzüm posası içerisinde olgunlaştırmanın İzmir Tulum peynirinin özelliklerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, 165, İzmir.
- Ateş, G. ve Patır B., 2001. Starter kültürlü Tulum peynirlerinin olgunlaşması sırasında duyu, kimyasal ve mikrobiyolojik niteliklerinde meydana gelen değişimler üzerine araştırmalar. Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 15 (1), 45-56.
- Atilla, N. 2015. Son 'kara' ve 'kıllı' İzmir tulumcuları. Gastro Metro Dergisi, Doğan Ofset Yayıncılık ve Matbaacılık, İstanbul.
- Ávila, M., Gómez-Torres, N., Hernández, M. and Garde, S. 2014. Inhibitory activity of reuterin, nisin, lysozyme and nitrite against vegetative cells and spores of dairy-related Clostridium species. International Journal of Food Microbiology, 172, 70-75.
- Avşar, Y.K., Karagül Yüceer, Y. ve Hayaloğlu, A. 2011. Peynirde Aroma. Peynir Biliminin Temelleri. Editörler: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. Sidas Medya, İzmir.
- Ayar, A., Akın, N. ve Sert, D. 2006. Bazı peynir çeşitlerinin mineral kompozisyonu ve beslenme yönünden önemi. Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs, 319-322. Bolu.
- Aytar, M., Oryaşın, E., Başbülbul, G. ve Bozdoğan, B. 2019. Agar Well Difüzyon Yönteminde Standardizasyon Çalışması. Bartın Üniversitesi Uluslararası Fen Bilimleri Dergisi, 2 (2): 138-145.
- Balfry, S. K. and Iwawa, G. K. 2004. Observations on the inherent variability of measuring lysozyme activity in Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part B, 138, 207-211.
- Baran, M. and Adıgüzel, M. C. 2020. Some physicochemical and microbiological properties of cow milks collected from local dairy delicatessens in Erzurum, Turkey. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi, 23 (2): 493-505.

- Barbieri, G., Bolzoni, L., Careri, M., Mangia, A., Parolari, G. and Spagnoli, S. 1994. Study of the volatile fraction of Parmesan cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 1170-1176.
- Bassi, D., Puglisi, E. and Cocconcelli, P. S. 2015. Understanding the bacterial communities of hard cheese with blowing defect. *Food Microbiology*, 52, 106-118.
- Bester, B. H. and Lombard, S. H. 1990. Influence of lysozyme on selected bacteria associated with Gouda Cheese. *Journal of Food Protection*, 53(4), 306–311.
- Beykaya, M. 2018. Farklı ambalaj materyali ve probiyotik kültürle üretilen Erzincan Tulum Peynirlerinin depolama sürecindeki kalite özellikleri. Doktora Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 139, Afyonkarahisar.
- Bontinis, Th. G., Mallatou, H., Pappaa, E. C., Massouras, Th, Alichanidis, E. 2012. Study of proteolysis, lipolysis and volatile profile of a traditional Greek goat cheese (Xinotyri) during ripening. *Small Rumin. Res.* 105, 193–201.
- Bottazzi, V., Battistotti, B., Cappa, F., Rebecchi, A., Bertuzzi, S. and Brombilla, E. 1993. Clostridium spore germination and lysozyme action in Grana Cheese. *Scienza-E-Tecnica-Lattiero-Casearia Italy*. V: 44(2):79-96.
- Bradley, R. L., Arnold, E., Barbano, D. M., Semerad, R. G., Smith, D. E. and Vines, B. K. 1993. *Chemical and Physical Methods* (R. T. Marshall, editor). *Standart Methods for Examination of Dairy Products*, 16th Edn, American Public Health Association, 433-531, Washington Dc.
- Brandle, J., Doming, K. J. and Kneifel, W. 2016. Relevance and analysis of butyric acid producing clostridia in milk and cheese. *Food Control*, 67, 96-113.
- Branen, K. J. and Davidson P. M. 2004. Enhancement of nisin, lysozyme and monolaurin antimicrobial activities by ethylenediaminetetraacetic acid and lacto-ferrin. *International Journal of Food Microbiology*, 90:63–73.
- Buffa, M., Guamis, B., Pavia, M. and Trujillo, A. J. 2001. Lipolysis in cheese made from raw, pasteurized or high-pressure-treated goats milk. *International Dairy Journal*, 11(3), 175–179.
- Büyükyörük, S. ve Soyutemiz, G. E. 2010. Geleneksel olarak üretilmiş İzmir Tulum peynirinden *Lactococcus lactis* (*Lactococcus lactis* spp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* spp. *cremoris*) suşlarının izolasyonu, fenotipik ve moleküler teknikler ile identifikasyonu. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(2):81- 87.
- Callewaert, L. and Michiels, C. 2010. Lysozymes in the animal kingdom. *Journal of Bioscience*, 35, 127–160.

- Cankurt, H. ve Sağdıç, O. 2019. Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerin su ekstraktlarının ve uçucu yağlarının model gıda olarak blok tip eritme peynirinde *Clostridium tyrobutyricum* ve toplam maya-küf sayıları üzerine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (21), 40-52.
- Carini, S., Mucchetti, G., Neviani, E. 1985. Lysosym: Activity against clostridia and use on cheese production a review. *Microbiologie, Aliments Nutrition*, 3: 299-320.
- Cegielska-Radziejewska, R. and Szablewski, T. 2013. Effect of modified lysozyme on the microflora and sensory attributes of ground pork. *Journal of Food Protection*, 76:338–42.
- Ceylan, Z. G., Çağlar, A. and Çakmakçı, S. 2007. Some physicochemical, microbiological and sensory properties of Tulum cheese produced from ewe's milk via a modified method. *Society of Dairy Technology*, 60, (3), 191-197.
- Ciepluch, K., Skrzyniarz, K., Barrios-Gumiel, A., Quintana, S., Sanchez-Nieves, ' J., de la Mata, F. J. 2019. Dendronized silver nanoparticles as bacterial membrane permeabilizers and their interactions with *P. aeruginosa* lipopolysaccharides, lysozymes, and phage-derived endolysins. *Frontiers i Microbiology*, 10. Article 2771
- Cinbas, T. ve Kilic, M. 2006. Proteolysis and lipolysis in White cheeses manufactured by two different production methods. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(5), 530–537.
- Cocolin, L., Innocente, N., Biasutti, M., and Comi, G. 2004. The late blowing in cheese: A new molecular approach based on PCR and DGGE to study the microbialecolgy of the alteration process. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 83-91.
- Collins, Y. F., McSweeney P. L. H. and Wilkinson M. G. 2003. Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13, 841-866.
- Conte, A., Brescia, I., Del Nobile M. A. 2011. Lysozyme/EDTA disodium salt and modified-atmosphere packaging to prolong the shelf life of burrata cheese. *Journal of Dairy Science*, 94:5289–97.
- Coşkun, H. ve Demirtaş, M. 2018. Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen Tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değışmeler. *Gıda*, 43(5), 835-845.

- Crow, V., Curry, B. and Hayes, M. 2001. The ecology of non-starter lactic acid bacteria (NSLAB) and their use as adjuncts in New Zealand Cheddar. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 275–283.
- Cunningham, F. E., Proctor, V. A. and Goetsch, S. J. 1991. Egg-white lysozyme as a food preservative: an overview. *World's Poultry Science Journal*, 47(2), 141-163.
- Cunningham, F. E., Proctor, V. A. and Goetsch, S. J. 2009. Egg-white lysozyme as a food preservative: an overview. Published online by Cambridge University Press.
- Curioni, P. M. G. and Bosset J. O. 2002. Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12, 959-984.
- Çakır, O. 2011. Erzincan Tulum peynirinin bazı fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin tespiti ile bu örneklerde Koagülaz (+) *S. aureus* ve *E. Coli O157:H7*'nin aranması. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 63, Erzurum.
- Çakır Y., Çakmakci S., Hayaloğlu A. A. 2016. The effect of addition of black cumin (*Nigella sativa* L.) and ripening period on proteolysis, sensory properties and volatile profiles of Erzincan Tulum (Savak) cheese made from raw Akkaraman sheep's milk. *Small Ruminant Research*, 134: 65–73.
- Çakmakçı, S., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A. A., Gürses, M. and Gündoğdu, E. 2008. Influence of ripening container on the lactic acid bacteria population in Tulum cheese. *World Journal of Microbiol Biotechnology*, 24 (3): 293-299.
- Çakmakci, S., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A. A., Gurses, M., Çetin, B., Tahmas Kahyaoglu, D. 2013. Effect of *Penicillium roqueforti* and incorporations of whey cheese on volatile profiles and sensory characteristics of mould-ripened Civil cheese. *International Journal Dairy Technology*, 66, 512–526.
- D'Incecco, P., Gatti, M., Hogenboom, J. A., Bottari, B., Rosi, V., Neviani, E. ve Pellegrino, L. 2016. Lysozyme affects the microbial catabolism of free arginine in raw-milk hard cheeses. *Food Microbiology*, 57, 16–22.
- Dadkhodazade, E., Khanniri, E., Khorshidian, N., Hosseini, S. M., Mortazavian, A. M. and Moghaddas Kia, E. 2021. Yeast cells for encapsulation of bioactive compounds in food products: A review. *Biotechnology Progress*.
- Dağdemir, V. 2000. Erzincan ilinde Tulum peynirinin imalat maliyeti ve pazarlama marjının belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 24, 57-61.
- Davidson, M. P., Sofos, J. N. and Branen, A. L. 2005. *Antimicrobials in food*. CRC Press, 721, Boca Raton.

- Deeth, H. C., Fitz-Gerald, C. H. and Snow, A. J. 1983. A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. *New Zealand J. Dairy Science and Technology*, 18, 13–20.
- Demirci, M. 1996. Peynirin beslenmedeki önemi, her yönüyle peynir. Hasad Yayıncılık, İstanbul.
- Demir, T. 2008. Çiçek Peynirinin Yapım ve Bileşim Özellikleri, Yüksek Lisans Tezi, Yüzüncü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Van.
- Demir, P., Erkan, S. ve Öksüztepe, G. 2018. Elazığ'da Satılan Şavak Tulum Peynirlerinin Mikrobiyolojik Kalitesi. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7 (1), 15-20.
- De Oliveira, A. C. F., Neves, I. C. O., Saraiva, J. A. M., de Carvalho, M. F. F., Batista, G. A., Veríssimo, L. A. A. and Resende, J. V. de. 2019. Capture of lysozyme on macroporous cryogels by hydrophobic affinity chromatography. *Separation Science and Technology*, 1–13.
- Dığrak, M. Yılmaz, Ö. ve Özçelik, S. 1994. Elâzığ kapalı çarşısında satışı sunulan Erzincan Tulum (Şavak) peynirlerinin mikrobiyolojik ve bazı fiziksel, kimyasal özellikleri. *Gıda*, 19 (6): 381-387.
- Dias, R., Vilas-Boas, E., Campos, F. M., Hogg, T. ve Couto, J. A. 2015. Activity of lysozyme on *Lactobacillus hilgardii* strains isolated from Port wine. *Food Microbiology*, 49, 6–11.
- Dinkçi, N., Ünal, G., Akalın, S., Varol, A. ve Göncü, S. 2012. Kargı Tulum peynirinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 49(3), 287-292.
- Doğan, C. 2011. Siirt Otlu peynirinin geleneksel üretim yöntemi ve bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 2011, Kahramanmaraş.
- Doosh, K. S. and Abdul-Rahman, S. M. 2014. Effect of lysozyme isolated from hen egg white in elongation the shelf life of Iraqi soft cheese made from buffalo milk. *Pakistan Journal of Nutrition*, 13(11), 635.
- Driehuis, F., Spoelstra, S. F. and Elferink, S. O. 2003. Microbiology of ensiling. *Silage Science and Technology, Agronomy Monograph no. 42*.
- Driehuis, F., Hoolwerf, J. and Rademaker, J. L. 2016. Concurrence of spores of *Clostridium tyrobutyricum*, *Clostridium beijerinckii* and *Paenibacillus polymyxa* in Silage, Dairy Cow Faeces and Raw Milk. *International Dairy Journal*, 63:70-77.

- Duan, J., Park, S.-I., Daeschel, M. A. and Zhao, Y. 2007. Antimicrobial chitosan-lysozyme (CL) films and coatings for enhancing microbial safety of Mozzarella Cheese. *Journal of Food Science*, 72(9), M355–M362.
- Durlu-Özkaya, F. ve Gün, İ. 2007. Anadolu’da peynir kültürü. ICANAS, Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi, 10-15.
- Efthymiou, C. C. and Mattick, J. F. 1964. Development of domestic Feta cheese. *Journal of Dairy Science*, 47(6), 593-598.
- Elferink, S. J. W. H. O., Driehuis, F., Gottschal, J. C. and Spoelstra, S. F. 2000. Silage fermentation processes and their manipulation. *FAO Plant Production and Protection Papers*, 17-30.
- Erceyes, Ö., Yıldırım, M. ve Yıldırım, Z. 2018. Tulum peynirinin toplam karbonil madde içeriği ile bazı kimyasal ve mikrobiyolojik nitelikleri. *Hayvan Bilimi ve Ürünleri Dergisi*, 1 (1) , 67-83 .
- Erdem, G. ve Patır, B. 2017. Elâzığ’da tüketime sunulan Tulum peynirlerinde histamin düzeyleri ile bazı kimyasal kalite parametreleri üzerine Araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 31(3), 235-241.
- Erdoğan, A., Baran, A. ve Atasever, M. 2012. Peynirde mikrobiyel lipolizin oluşumu ve lezzet gelişimine katkısı. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 7 (3), 211-219.
- Erkmen, O. 2017. *Gıda Mikrobiyolojisi, Eflatun Basım Dağıtım Yayıncılık Danışmanlık Yatırım ve Tic. Ltd. Şti.*, 539. Ankara
- Ertürkmen, P. ve Öner, Z. 2015. Beyaz peynir örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin başlatıcı (starter) kültür özelliklerinin biyokimyasal yöntemlerle belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 19 (3), 9-16.
- Eucast, 2014. Disk difüzyon testi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerlerinin belirlenmesi için besiyeri hazırlanması. *EUCAST; Sürüm 4.0: 1-4.*
- Evrensel, S. S. 2003. Mandıra düzeyindeki işletmelerde Beyaz Peynir üretiminde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*, 27, 29-35.
- Evren, M. ve Şıvgın, E. T. 2021. Samsun piyasasında deri ve plastik bidonda satışa sunulan Tulum peynirlerinin bazı kalite özellikleri. *Anadolu Tarım Bilimleri Dergisi*, 36(2), 334-345.
- Farnworth, E. R. T. 2008. *Handbook of fermented functional foods. Second Edition CRC press.*

- Feng, K., Wen, P., Yang, H., Li, N., Lou, W. Y., Zong, M. H. and Wu, H. 2017. Enhancement of the antimicrobial activity of cinnamon essential oil-loaded electrospun nanofilm by the incorporation of lysozyme. *RSC Advances*, 7(3), 1572–1580.
- Fuquay, J. W., McSweeney, P. L. and Fox, P. F. 2011. *Cheese*, Encyclopedia of dairy sciences. Academic Press.
- Fox, P. F. and Wallace, J. M. 1997. Formation of Flavor Compounds in Cheese. *Advances in Applied Microbiology*, Volume 45, 17-85.
- Fox, P. F., Mcsweeney P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. 2000. *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers, Gaithersburg, 587.
- Gallois, A., Langlois, D. 1990. New results in the volatile odorous compounds of French cheeses. *Lait* 70, 89–106.
- Gálvez-Irqui, A. C., Plascencia-Jatomea, M. and Bautista-Baños, S. 2020. Lysozymes: characteristics, mechanism of action and technological applications on the control of pathogenic microorganisms. *Mexican Journal of Phytopathology* 38(3).
- Garde, S., Arias, R., Gaya, P. and Nuñez, M. 2011. Occurrence of *Clostridium* spp. in ovine milk and Manchego cheese with late blowing defect: identification and characterization of isolates. *International Dairy Journal*, 21(4), 272- 278.
- Garde, S., Gaya, P., Arias, R. and Nuñez, M. 2012. Enhanced PFGE Protocol to study the genomic diversity of *Clostridium* spp. isolated from Manchego cheeses with late blowing defect. *Food Control*, 28(2):392– 399.
- Ghosh, R. and Cui, Z. F. 2000. Purification of lysozyme using ultrafiltration. *Biotechnology and Bioengineering*, 68(2), 191–203.
- Gibson, T. 1965. Clostridia in silage. *Journal of Applied Bacteriology*, 28, 56-62.
- Gill, A. O. and Holley, R. A. 2003. Interactive inhibition of meat spoilage and pathogenic bacteria by lysozyme, nisin and EDTA in the presence of nitrite and sodium chloride at 24 °C. *International Journal of Food Microbiology*, 80(3), 251–259.
- Gómez-Torres, N., Ávila, M., Gaya, P. and Garde, S. 2014. Prevention of late blowing defect by reuterin produced in cheese by a *Lactobacillus reuteri* Adjunct. *Food Microbiology*, 42, 82–88.
- Gonçalves, B. L., Muaz, K., Coppa, C. F. S. C., Rosim, R. E., Kamimura, E. S., Oliveira, C. A. F. and Corassin, C. H. 2020. Aflatoxin M1 absorption by non-viable cells of lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* strains in Frescal cheese. *Food research international*, 136, 109604.

- Goudkov, A. V. and Sharpe, M. E. 1965. Clostridia in dairying. *Journal of Applied Bacteriology*, 28(1), 63-73.
- Gökovalı, T. 1980. Salamuralı Tulum peynirinin olgunlaşması sırasında meydana gelen mikrobiyolojik değişiklikler üzerinde Araştırma, İhtisas Tezi, 75, Bornova-İzmir.
- Göncü, B., Çelikel A., Akın, M. B., Akın, M. S. 2017. Şanlıurfa’da satışa sunulan sokak sütlerinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi*, 02, 15-23.
- Guinee, T. P. 2004. Salting and the role of salt in cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 99-109.
- Güler, Z. and Uraz T. 2003. Proteolytic and lipolytic composition of Tulum cheeses. *Milchwissenschaft*, 9 (10), 502-505.
- Güler, Z. 2004. Lypolysis and flavour quality of Tulum cheese in synthetic skin packages. *International Dairy Symposium*, 179-181, Isparta.
- Güler, Z. 2005. Quantification of free fatty acids and flavor characteristics of kasar cheeses. *Journal of Food Lipids*, 12(3), 209–221.
- Güler, Z. 2008. Evaluation of lipolysis in set-type fermented milks made with different commercial yogurt starter cultures during storage. *Milchwissenschaft*, 33, 73–77.
- Gürsoy, O. ve Kınık, Ö. 2005. Laktobasiller ve probiyotik peynir üretiminde kullanım potansiyeller. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 11: 361-371.
- Güven, M., Konar, A. ve Brueckner, H. 2002. Koyun sütünden üretilen Tulum peynirlerinin serbest amino asit içeriklerinin saptanması üzerinde bir araştırma. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 17 (2): 53-60.
- Halıcı, Demir, F. 2021. Koyun, inek ve keçi sütlerinden üretilen Edirne beyaz peynirlerinin depolama süresince fizikokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal açıdan değerlendirilmesi. *Doktora Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı*, 281, Tekirdağ.
- Halkman, A. K. ve Ayhan, K. 2000. Gıdaların mikrobiyolojik analizi 2. Mikroorganizma sayımı. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*. Sim Matbaacılık Ltd. Şti. 2. basım. 513, Ankara
- Hamdani, A. M., Wani, I. A., Bhat, N. A. and Siddiqi, R. A. 2017. Effect of guar gum conjugation on functional, antioxidant and antimicrobial activity of egg white lysozyme, *Food Chemistry*.

- Haniyah, Y. S., Purwadi, Radiati, L. E., Thohari, I., T., Setyowati, Enny. and Manab, A. 2016. Gouda Cheese Microbial Controlling During Ripening Using Composite Edible Film Containing Lysozyme. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(5), xx-xx.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M. and Fox, P. F. 2002. Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648.
- Hayaloğlu, A. A. 2003. Starter olarak kullanılan bazı *Lactococcus* suşlarının Beyaz Peynirlerin özellikleri ve olgunlaşmaları üzerine etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 186, Adana.
- Hayaloğlu, A. A., Cakmakçı, S., Brechany, E. Y., Deegan, K. C. and McSweeney, P. L. 2007a. Microbiology, biochemistry, and volatile composition of Tulum cheese ripened in goat's skin or plastic bags. *Journal of Dairy Science*, 90, 1102-1121.
- Hayaloglu, A. A., Fox, P. F., Guven, M. and Cakmakci, S. 2007b. Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Le Lait* 87(2); 79-95.
- Hayaloğlu, A. A. and Karabulut, İ. 2013a. "Primary and secondary proteolysis in eleven Turkish cheese varieties", *International Journal of Food Properties*, 16 (8), 1663-1675.
- Hayaloğlu, A. A. and Karabulut, İ. 2013b. Characterization and Comparison of Free Fatty Acid Profiles of Eleven Varieties of Turkish Cheeses, *International Journal of Food Properties*, 16:6, 1407-1416, DOI: 10.1080/10942912.2011.587626
- Hayaloglu, A. A., Karabulut, I. 2013c. SPME/GC–MS Characterization and comparison of volatiles of eleven varieties of Turkish cheeses. *International Journal of Food Properties* 16, 1630–1653.
- Hayaloglu, A. A. and Güven, M. 2014. Nutritional Quality Assessment in Dairy Products: A Perspective. *Food Processing: Strategies for Quality Assessment*, 105–123.
- Held, J. and van Smaalen, S. 2014. The active site of hen eggwhite lysozyme: flexibility and chemical bonding. *Acta Crystallographica Section D* 70(4): 1136–1146.
- Hernández-Téllez, C. N., Rodríguez-Córdova, F. J., Rosas-Burgos, E. C., Cortez-Rocha, M. O., Burgos-Hernández, A., Lizardi-Mendoza, J. and Plascencia-Jatomea, M. 2017. Activity of chitosan–lysozyme nanoparticles on the growth, membrane integrity, and β -1,3-glucanase production by *Aspergillus parasiticus*. *3 Biotech*, 7(5), 1-13.
- Hickey, D. K., Kilcawley, K. N., Beresford, T. F., Wilkinson, M. G. 2007. Lipolysis in Cheddar cheese made from raw, thermized and pasteurized milks. *Journal of Dairy Science*, 90: 47-56.

- Hindenburg, A., Spitznagel, J. and Arnheim, N. 1974. Isozymes of lysozyme in leukocytes and egg-white: Evidence for the species-specific control of egg-white lysozyme synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 71(5), 1653–1657.
- Hughey, V. L. and Johnson, E. A. 1987. Antimicrobial Activity of Lysozyme against Bacteria Involved in Food Spoilage and Food Borne Disease, *Applied and Environmental Microbiology*, Sept.1987, Vol 53, No:9, 2165-2170.
- Ibrahim, H. R., T. Matsuzaki, and T. Aoki. 2001. Genetic evidence that antibacterial activity of lysozyme is independent of its catalytic function. *FEBS Lett.* 506:27–32.
- Ibrahim, H. R. 2003. Hen egg white lysozyme and ovotransferrin: Mystery, structural role and antimicrobial function. In *Proceedings of the 10th European symposium on the quality of eggs and egg products*, 1113–1125, France: Ploufragan.
- IDF. 1982. Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard: 4A.Brussels: International Dairy Federation.
- IDF. 1993. Milk Determination of Nitrogen Content. IDF: 20B, International Dairy Federation: 41, Brussels, 12p.
- Ismail, A. A. and Pierson, M. D. 1990. Inhibition of germination, out-growth and vegetative growth of *C. botulinum* 67 B by spice oils. *Journal of Food Protection*, 53 (9): 755-758.
- İşleyici, Ö., Sancak, Y. C. ve Morul, F. 2011. Divle Tulum peynirinde aflatoksin M1 düzeyi üzerine bir araştırma. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 22(2):105-110.
- Jakobsen, M. and Narvhus, J. 1996. Yeasts and their possible beneficial and negative effects on the quality of dairy products. *International Dairy Journal*, 6:755-68.
- Kalua, C. M., Allen, M. S., Bedgood Jr., D. R., Bishop, A. G., Prenzler, P. D., Robards, K. 2007. Olive oil volatile compounds, flavour development and quality: a critical review. *Food Chemistry*, 100, 273–286.
- Kamber, U. 2005. Geleneksel Anadolu Peynirleri. *Miki Matbaacılık San. Ankara*, 7-9.
- Kamber, U. and Terzi, G. 2007. The traditional cheeses of Turkey: Southeast Anatolia Region. *Food Reviews International*, 24(1), 62-73.
- Kamber, U. 2008. The traditional cheeses of Turkey: the Aegean region. *Food Review International*, 24(1):39–61.
- Kamber, U. 2015. Traditional Turkey cheeses and their classification, *Van Veterinary Journal*, 26 (3) 161-171.

- Kara, R. 2012. Geleneksel bir peynir: Afyon Tulum peyniri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 5 (1): 45-48.
- Kara, R., Bulut, S. ve Akkaya, L. 2014. Determination of fatty acid composition of Afyon Tulum cheese. *Journal of Food and Nutrition Research*, 2(1), 17-20.
- Kara, R. ve Akkaya, L. 2015. Afyon Tulum peynirinin mikrobiyolojik ve fizikokimyasal özellikleri ile laktik asit bakteri dağılımlarının belirlenmesi, *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 15 (1), 1-6.
- Karabekmez-Erdem, T. 2021. Geleneksel Tulum peyniri üretiminde yenilikçi yaklaşımlar. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 24(2), 115-125.
- Karabey, B., Eroglu, D., Vural, C., Ozdemir, G., Yerlikaya, O. and Kinik, O. 2018. Determination of the microbial flora in traditional İzmir Tulum cheeses by denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Food Science and Technology*, 55(3), 956–963.
- Karabıyıklı, Ş. ve Erdoğan, S. 2019. Peynir üretiminde mikroorganizmaların rolü ve önemli mikroorganizma grupları. *Journal of New Results in Engineering and Natural Sciences*, (9), 35-45.
- Karagözlü, C., Kınık, Ö., Akbulut, N. 2008, The effects of fully and partial substitution of NaCl by KCl on physico-chemical and sensory properties of White Pickled Cheese. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59(3), 181-191.
- Karagözlü, C. Kılıç, S. and Akbulut, N. 2009. Some characteristic of Milk Cimi Tulum cheese from producing goat milk. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 15, 292-297.
- Karaman, A. D. and Akalın A. S. 2013. Improving quality characteristics of reduced and low fat Turkish white cheeses using homogenized cream. *LWT – Food Science and Technology*, 50 (2013) 503-510.
- Kato, A., Yoshida, K., Matsudomi, N. and Kobayashi K. 1976. The Interaction between ovomucin and egg white proteins. *Agricultural and Biological Chemistry*, 40 (12), 2361-2366.
- Kaynar, P. 2011. Microbiological research on Turkish cheese. *Turkish Journal Microbiology Community*, 41, 1-8.
- Kesenkaş, H. and Akbulut, N. 2006. Mayaların peynir üretiminde destek starter kültür olarak kullanımı. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 43(2), 165-174.

- Khorshidian, N., Khanniri, E., Koushki, M. R., Sohrabvandi, S. and Yousefi, M. 2022. An overview of antimicrobial activity of lysozyme and its functionality in cheese. *Frontiers in Nutrition*, 325.
- Kılıç, S., Uysal, H., Kavas, G., Esenkaş, H. and Akbulut, N. 2002. Pilot Tesis Koşullarında Pastörize Keçi Sütünden Çimi Peyniri Üretimi. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 39(3).
- Kılıç, S. 2014. Süt endüstrisinde laktik asit bakterileri, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları*, No:542, 339.
- Klijn, N., Nieuwenhof, F. F. J., Hoolwerf, J. D., vander Waals, C. B. and Weerkamps, A. H. 1995. Identification of *Clostridium tyrobutyricum* the causative agent of late blowing in cheese by species-specific PCR amplification, Vol. 61, 2919-2924.
- Koca, N. 1996. Çeşitli starter kültür kombinasyonlarının İzmir teneke Tulum peynirlerinin nitelikleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 101, İzmir.
- Koca, N. 2009. “İzmir teneke Tulum peynirinin bileşimi, renk, dokusal ve duyuşal özellikleri”, II. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 733, Van.
- Koca, N. ve Metin, M. 1998, Çeşitli starter kültür kombinasyonlarının İzmir teneke Tulum peynirlerinin nitelikleri üzerine etkileri. Geleneksel Süt Ürünleri Milli Produktivite Merkezi Yay No: 621, Ankara.
- Koçak, C. 1994. Mayalama teknikleri ve pıhtı işleme. Her yönüyle peynir. Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayınları, 94-102, Tekirdağ.
- Koçak, C., Gürsel, A., Avşar, Y. K. ve Semiz, A. 1996. Ankara piyasasındaki Tulum peynirlerinin bazı nitelikleri. *Turkish Journal of Agriculture Forestry*, 20, 121-125.
- Koçak, C., Aydınoglu, G. ve Uslu, K. 1997. Ankara piyasasında satılan Dil peynirlerinin proteoliz düzeyi üzerinde bir araştırma. *Gıda*, 22(4).
- Koçak, C. Aydemir, S. ve Seydim, Z. B. 2005. Önemli bazı Türk Peynirlerinin proteoliz düzeyleri. *Gıda Dergisi*, 30 (6), 425-430.
- Koçak, C. 2015. Peynir Teknolojisi. Ankara Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Yayınları No: 1625, Ders Kitabı:577, 180.
- Kondyli, E., Pappa, E. C. and Svarnas, C. 2016. Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, volatile fraction and organoleptic characteristics of a white-brined goat milk cheese. *Small Ruminant Research*, 145, 1-6.

- Kroll, S., Brandes, C., Wehling, J., Treccani, L., Grathwohl, G. and Rezwan, K. 2012. Highly efficient enzyme-functionalized porous zirconia microtubes for bacteria filtration. *Environmental Science and Technology*, 46(16), 8739–8747.
- Kuchroo, C. N. and Fox, P. F. 1982. Soluble nitrogen in Cheddar Cheese: Comparison of extraction procedures, *Milchwissenschaft*, 37: 331-335.
- Kurt, A., Çağlar, A., Akyüz, N. ve Çakmakçı, S. 1991. Erzincan (Şavak) Tulum peynirinin kimyasal özellikleri. *Gıda*, 16, 295-302.
- Laible, N. J. and Germaine, G.R. 1985. Bactericidal activity of human lysozyme, muramidase inactive lysozyme, and cationic polypeptides against *Streptococcus sanguis* and *Streptococcus faecalis*: inhibition by chitin oligosaccharides, *Infection and Immunity*, 48, 720, 1985.
- Larrayoz, P., Martinez, M., Barron, L., Torre, P. and Barcine, Y. 1999. The evolution of free fatty acids during the ripening of idiazabal cheese: Influence of rennet type. *European Food Research and Technology*, 210: 9-12.
- Le Bourhis, A. G., Saunier, K., Doré, J., Carlier, J. P., Chamba, J. F., Popoff, M. R. and Tholozan, J. L. 2005. Development and validation of PCR primers to assess the diversity of *Clostridium* spp. in cheese by temporal temperature gradient gel electrophoresis. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(1), 29-38.
- Le Bourhis, A. G., Doré, J., Carlier, J. P., Chamba, J. F., Popoff, M. R. and Tholozan, J. L. 2007. Contribution of *Clostridium beijerinckii* and *Clostridium sporogenes* in association with *Clostridium tyrobutyricum* to the butyric fermentation in Emmental type cheese. *Int. J. Food Microbiol*, 113(2), 154-63.
- Lesniewski, G. and Kijowski, J. 2007. Bioactive egg compounds (Eds Huopalahti, R. et al.) Ch. 6, 33–42.
- Lesniewski, G. and Cegielska-Radziejewska, R. 2012. Potential possibilities of production, modification and practical application of lysozyme. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 11, 223–230.
- Lesniewski, G., Kijowski, J., Cegielska-Radziejewska, R. 2009. Ultrafiltration modified chicken egg white lysozyme and its antibacterial action. *International Journal Food Science Technology*, 44, 305–311.
- Leśniewski, G. 2015. Lysozyme and its modified forms: Properties, potential for its production and application. In Watson Ronald Ross, and de Meester Fabien (Eds.), *Handbook of eggs in human function*, 483–495. The Netherlands: Wageningen
- Leśniewski, G. and Yang, T. 2021. Lysozyme and its modified forms: A critical appraisal of selected properties and potential. *Trends in Food Science and Technology*, 107, 333-342.

- Libra'n, C. M., Moro, A., Zalacain, A., Molina, A., Carmona, M. and Berruga, M. I. 2013. Potential application of aromatic plant extracts to prevent cheese blowing. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29:1179–1188.
- Lie, Ø., Evensen, Ø., Sørensen, A., Frøysadal, E. 1989. Study of lysozyme activity in some fish species. *Diseases of Aquatic Organisms*, 6, 1 – 5.
- Litopoulou-Tzanetaki, E. and Tzanetakis, N. 2011. Small Microbiological characteristics of Greek traditional cheeses. *Ruminant Research*, 101: 17–32.
- Little, C. L., Rhoadesa, J. R., Sagooa, S. K., Harrisa, J., Greenwoodb, M., Mithania, V., Granta, K., McLauchlina, J. 2008. Microbiological quality of retail cheeses made from raw, thermized or pasteurized milk in the UK. *Food Microbiology*, 25: 304–312.
- Liu, S. Q. 2003. Practical implications of lactate and pyruvate metabolism by lactic acid bacteria in food and beverage fermentations. *International Journal Food Microbiology*, 83, 115–131.
- López-Pedemonte, T. J., Roig-Sagués, A. X., Trujillo, A. J., Capellas, M. and Guamis, B. 2003. Inactivation of spores of *Bacillus cereus* in cheese by high hydrostatic pressure with the addition of nisin or lysozyme. *Journal of Dairy Science*, 86:3075–81.
- Losso, J. N., Nakai, S. and Charter, E. A. 2000. Lysozyme. In Naidu, A.S., ed. *Natural Food Antimicrobial Systems*, Chapter 6, Boca Raton.
- Lu, J., Wan, Y. and Cui, Z. 2006. Strategy to separate lysozyme and ovalbumin from CEW using UF. *Desalination*, 200 (1-3), 477–479.
- Lycken, L. and Borch, E. 2006. Characterization of *Clostridium* spp. isolated from spoiled processed cheese products. *Journal of Food Protection*, 69(8):1887-1891.
- Mallatou, H., Pappa, H. and Massouras, T. 2003. Changes in free fatty acids during ripening of Teleme cheese made with ewes', goats', cows' or a mixture of ewes' and goats' milk. *International Dairy Journal*, 13, 211-219.
- Manikandan, M., Balasubramaniam, R. and Chun, S. C. 2015. A single-step purification of Cauliflower lysozyme and its dual role against bacterial and fungal plant pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177(2): 556– 566.
- Marilley, L. and Casey, M. G. 2004. Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal Food Microbiology*, 90, 139–159.
- Martini, M., Salari, F., Licitra, R., La Motta, C. and Altomonte, I. 2019. Lysozyme activity in donkey milk. *International Dairy Journal*, 96, 98-101.

- Masschalck, B., Deckers, D. and Michiels, C. W. 2002. Lytic and Nonlytic Mechanism of Inactivation of Gram-Positive Bacteria by Lysozyme under Atmospheric and High Hydrostatic Pressure. *Journal of Food Protection*, 65(12), 1916–1923.
- Masschalck, B. and Michiels, C. W. 2003. Antimicrobial Properties of Lysozyme in Relation to Foodborne Vegetative Bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*, 29(3), 191–214.
- McSweeney, P. L. and Sousa, M. J. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait*, 80(3), 293-324.
- McSweeney, P. L. H. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2/3): 127-143.
- Mehenktaş, C. 2019. Süt ve Süt Ürünlerinde Aflatoksin M1. *Akademik Gıda*, 17(3), 439-443.
- Mehyar, G. F., Al Nabulsi, A. A., Saleh, M., Olaimat, A. N. and Holley, R. A. 2017. Effects of chitosan coating containing lysozyme or natamycin on shelf-life, microbial quality, and sensory properties of Halloumi cheese brined in normal and reduced salt solutions. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13324.
- Meyer, A.S., Suhr, K.I., Nielsen, P. and Holm, F. 2002. Natural food preservatives. In Ohlsson, T. and Bengtsson, N., ed. *Minimal Processing Technologies in the Food Industry*, Chapter 6, Boca Raton.
- Mine, Y. Ma, F. and Lauriau, S. 2004. Antimicrobial peptides released by enzymatic hydrolysis of hen egg white lysozyme. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:1088-1094.
- Molimard, P., Spinnler, H. E. 1996. Compounds involved in the flavor of surface mold ripened cheeses: origins and properties. *Journal Dairy Science*, 79, 169–184.
- Morul, F. and Isleyici, O. 2012. Chemical and microbiological properties of Divle Tulum cheese. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(2), 71-76.
- Mucchetti, G., Ghiglietti, R., Locci, F., Francolino, S., Bonvini, B., Remagni, M. C. and Carminati, D. 2009. Technological, microbiological and chemical characteristics of Pannerone, a traditional Italian raw milk cheese. *Dairy Science and Technology*, 89(5), 419–436.
- Naidu, A. S. 2000. Natural food antimicrobial systems. Chapter 1 CRC press.
- Naidu, A. S. 2003. Antimicrobials from animals. *Natural antimicrobials for the minimal processing of foods*, Chapter 7, 133.

- Nilsen, I. W. and Myrnes, B. 2001. The gene of chlamyisin, a marine invertebrate-type lysozyme, is organized similar to vertebrate but different from invertebrate chickentype lysozyme genes. *Gene*, 269, 27–32.
- Nogueira, M. C. L., Lubachevsky, G. and Rankin, S. A. 2005. A study of the volatile composition of Minas cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 555–563.
- Oztürkoglu-Budak, S., Gursoy, A., Aykas, D. P., Koçak, C., Dönmez, S., De Vries, R. P. and Bron, P. A. 2016. Volatile compound profiling of Turkish Divle Cave Cheese during production and ripening. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5120-5131.
- Oğuz, Ş. ve Andiç, S. 2019. Peynir üretiminde kullanılan starter kültürler. *Gıda*, 44(6), 1174-1196.
- Ozturkoglu-Budak, S., Aykas, D. P., Kocak, C., Dönmez, S., Gursoy, A., De Vries, R. P. and Bron, P. A. 2018. Temporal microbiota and biochemical profiles during production and ripening of Divle Cave cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 99–106.
- Ozturkoglu-Budak, S., Akal, H. C., Bereli, N., Cimen, D. and Akgonullu, S. 2021. Use of antimicrobial proteins of donkey milk as preservative agents in Kashar cheese production. *International Dairy Journal*, 120, 105090.
- Öner, Z., Karahan, A. G. ve Aloğlu, H. 2005. Starter kültür kullanılarak yapılan Tulum peynirlerinin bazı özellikleri, *Gıda*, 30 (1), 57-62.
- Öner, Z. ve Sarıdağ, A. M. 2018. Proteolysis in the White chesee produced from various milk. *Journal of Agricultural Sciences*, 24, 269-277.
- Özer, B., Atasoy, F. and Akın, S. 2002. Some properties of Urfa cheese (a traditional white-brined Turkish cheese) produced from bovine and ovine milks. *International Journal of Dairy Technology*, 55(2), 94-99.
- Öztek, L. 1985. Organik asitlerin önemi ve peynirin kalitesi üzerine etkileri, *Gıda*, 10(4), 247-254.
- Öztürk, H. İ. 2015. Geleneksel yöntemle üretilen Tulum peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin, biyoaktif peptid içeriklerinin ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 170, Konya.
- Öztürkcan, S. A. ve Acar, S. 2017. Derleme. Yaygın olarak kullanılan antimikrobiyal gıda katkı maddeleri ile ilgili genel bir değerlendirme. *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 1, 1-17.

- Panseri, S., Soncin, S., Chiesa, L. M., Biondi, P. A. 2011. A headspace solid-phase microextraction gas-chromatographic mass-spectrometric method (HS-SPME-GC/MS) to quantify hexanal in butter during storage as marker of lipid oxidation. *Food Chemistry*, 127, 886–889.
- Patır, B., Arslan, A. ve Güven, A. 1995. Şavak salamura beyaz peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Fırat Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 11(1), 51- 56.
- Pellegrino, L. and Tirelli, A. 2000. A sensitive HPLC method to detect hen's egg white lysozyme in milk and dairy products. *International Dairy Journal*, 10:435–42.
- Phillips, D. 1967. The Hen Egg-White Lysozyme Molecule. In: *Symposium on Three-Dimensional Structure of Macromolecules of Biological Origin on October 19, 1966*. Vol. 57(3), 483–495, 550. National Academy of Sciences. Durham, North Carolina, USA.
- Phillips, D. C. 1966. The three-dimensional structure of an enzyme molecule. *Scientific American*, 215, 78–90.
- Polychroniadou, A. 1994. Objective indices of maturity of Feta and Teleme cheese, *Milchwissenschaft*, 49(7):376-379.
- Proctor, V. A., Cunningham, F. E. and Fung, D. Y. 1988. The chemistry of lysozyme and its use as a food preservative and a pharmaceutical. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 26(4), 359-395.
- Quiberoni, A., Guglielmotti, D. and Reinheimer, J. 2008. New and classical spoilage bacteria causing widespread blowing in Argentinean soft and semihard cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 61(4), 358-363.
- Ragland, S. A. and Criss, A. K. 2017. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme. *PLoS Pathogens*, 13(9), e1006512.
- Razavi-Rohani, S. M. and Griffiths, M. W. 1999. The antifungal activity of butylated hydroxyanisole and lysozyme. *Journal of Food Safety*, 19(2), 97–108.
- Rehman, S. U., Banks J. M., Brenchany E. Y., Muir D. D., McSweeney P. L. H. and Fox P. F. 2000. Influence of ripening temperature on the volatiles profile and flavour of Cheddar cheese made from raw or pasteurized milk. *International Dairy Journal*, 10, 55-65.
- Reindl, A., Dzieciol, M., Hein, I., Wagner, M. and Zangerl, P. 2014. Enumeration of Clostridia in goat milk using an optimized membrane filtration technique. *Journal of Dairy Science*, 97(10):6036-6045.

- Rençber, F. ve Çelik, Ş. 2021. Farklı ambalaj materyalinde olgunlaştırılan Muş Tulum peynirinin bazı karakteristik özellikleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 52(1), 1-10.
- Rossi, F., Iaconelli, A., Fiorentini, L., Zito, F., Donati, M. B., De Cristofaro, M. L. and Mingrone, G. 2012. Immunological response in egg-sensitive adults challenged with cheese containing or not containing lysozyme. Journal of the American College of Nutrition, 31(6), 385–391.
- Sağlam, H. Karahan, A. G. 2017. Laktik asit bakterilerinin plazmidleri ve bunların özellikleri. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 10: 252-285.
- Sancak, H., İşleyici, Ö., Tuncay, R. M. ve Sancak, Y. C. 2018. Geleneksel olarak üretilen Bitlis Tulum peyniri ve kimyasal kalite nitelikleri. Bitlis Eren Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 7(2): 380- 389.
- Saurabh, S. and Sahoo, P. K. 2008. Lysozyme: an important defence molecule of fish innate immune system. Aquaculture research, 39(3), 223-239.
- Say, D. ve Güzeler, N. 2008. Taze kaşar peynirlerinin randıman, bileşim ve duyuşal özellikleri üzerine haşlama suyunun tuz konsantrasyonunun etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 19 (3), 30-41.
- Scharfen, E. C., Mills, D. A. and Maga, E. A. 2007. Use of human lysozyme transgenic goat milk in cheese making: effects on lactic acid bacteria performance. Journal of Dairy Science, 90 (9): 4084–4091.
- Schneider, N., Becker, C. M., Pischetsrieder, M. 2010. Analysis of lysozyme in cheese by immunocapture mass spectrometry. Journal of Chromatography B, 878 (2), 201–206.
- Schneider, N., K. Werkmeister, C. M. Becker, Pischetsrieder, M. 2011. Prevalence and stability of lysozyme in cheese. Food Chemistry, 128, 145–151.
- Sert, D. ve Akın, N. 2008. Türkiye’de bazı önemli Tulum peyniri çeşitlerinin geleneksel üretim metotları. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum.
- Sert, D., Akın, N. and Aktumsek, A. 2014. Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats’ milk during ripening. Small Ruminant Research, 121, 351-360.
- Shahmohammadi, A. 2017. Lysozyme separation from chicken egg white: a review. European Food Research and Technology, 244(4), 577–593.
- Silvetti, T., Morandi, S. and Brasca, M. 2018. Growth factors affecting gas production and reduction potential of vegetative cell and spore inocula of dairy-related Clostridium species. LWT, 92, 32–39.

- Singh, T. K., M. A. Drake and K. R. Cadwallader. 2003. Flavor of cheddar cheese: A chemical and sensory perspective. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 2:139–162.
- Sinigaglia, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., Pati, S. and Del Nobile, M. A. 2008. Use of active compounds for prolonging the shelf life of mozzarella cheese. *International Dairy Journal*, 18(6), 624–630.
- Smit, G., Smit, B. A., Engels, W. J. 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiology Reviews* 29 (3), 591–610.
- Solieri, L., Bianchi, A., Mottolese, G., Lemmetti, F. and Giudici, P. 2014. Tailoring the probiotic potential of non-starter *Lactobacillus* strains from ripened Parmigiano Reggiano cheese by in vitro screening and principal component analysis. *Food Microbiology*, 38, 240–249.
- Sotelo-Boyás, M. E., Bautista-Baños, S., Correa-Pacheco, Z. N., Jiménez-Aparicio, A., and Sivakumar, D. 2016. Biological activity of chitosan nanoparticles against pathogenic fungi and bacteria. *Chitosan in the Preservation of Agricultural Commodities*, 339–349.
- Sözbilen, G. S. ve Yemenicioğlu, A. 2020. Antilisterial effects of lysozyme-nisin combination at temperature and pH ranges optimal for lysozyme activity: Test of key findings to inactivate *Listeria* in raw milk. *LWT*, 110447.
- Sözeri Atik, D., Akın, N., Akal, H. C., Koçak, C. 2021. The determination of volatile profile during the ripening period of traditional Tulum cheese from Turkey, produced in Anamur in the Central Taurus region and ripened in goatskin. *International Dairy Journal*, 117, 104991.
- Stashenko, E. E. and Martínez, J. R. 2007. Sampling volatile compounds from natural products with headspace/solid-phase micro-extraction. *Journal of Biochemical Biophysical Methods*, 70 (2): 235-42.
- Sudağdan, M. ve Aydın, A. 2013. Lizozim ve nisinin gıda kaynaklı *Staphylococcus aureus* suşlarında gelişim ve biyofilm oluşumu üzerine etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 39(2), 254-263.
- Sümerkan, B. ve Gökahmetoğlu, S. 2020. MIC, MBC Testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları. *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri*.
- Svensson, I., Hernández, I., Virto, M. and de Renobales, M. 2006. Determination of lipase activity in cheese using trivalerin as substrate. *International Dairy Journal*, 16 (5), 423–43

- Şengül, M., Erkaya, T., Dervişoğlu, M., Aydemir, O. and Gül, O. 2014. Compositional, biochemical and textural changes during ripening of Tulum cheese made with different coagulants. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 373–383.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., Sancak, H., Ekici, K. 2005. İnek sütünden üretilerek cam kavonozlarda olgunlaştırılan Tulum peynirinin bazı özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 16(1), 9-14.
- Tarakçı, Z. and Durmuş, Y. 2016. Effects of packaging materials on some ripening characteristics of Tulum cheese. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, 66 (4), 293-303.
- Tedford, L. A., Smith, D. and Schaschke, C. J. 1999. High-pressure processing effects on the molecular structure of ovalbumin, lysozyme and α -lactoglobulin. *Food Research International*, 32, 101.
- Tekin, A. and Guler, Z. 2021. The effect of ripening medium (goat skin bag or plastic barrel) on the volatile profile, color parameter and sensory characteristics of Tulum cheese. *Journal of Central European Agriculture*, 22(1), 19-38.
- Tekin, A. and Guler, Z. 2019. Glycolysis, lipolysis and proteolysis in raw sheep milk Tulum cheese during production and ripening: Effect of ripening materials. *Food Chemistry*, 286, 160-169.
- Tekinşen, O. C. 2000. *Süt Ürünleri Teknolojisi*, 3. Baskı. Selçuk Üniversitesi Basım evi, Konya
- Tekinşen, K. ve Elmalı, M. 2006. Taze civil (Çeçil) peynirin bazı mikrobiyolojik özellikleri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 1: 78-81.
- Tekinşen, K. K. ve Uçar, G. 2006. Konya yöresinde üretilen mahalli Tulum peynirleri. *Akademik Gıda*, 4(6): 33-37.
- Tekinşen, K. K. ve Akar, D. 2017. Erzincan Tulum peyniri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 12(2): 218-226.
- Temiz, A. 2003. *Gıdalarda Mikrobiyolojik Gelişmeyi Etkileyen Faktörler*. Bölüm 1, “Gıda Mikrobiyolojisi”. Editör: Ünlütürk A, Turantaş F, Üçüncü Baskı, Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir
- Tornuk, F., Cankurt, H., Ozturk, I., Sagdic, O., Bayram, O. and Yetim, H. 2011. Efficacy of various plant hydrosols as natural food sanitizers in reducing *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* on fresh cut carrots and apples. *International Journal of Food Microbiology*, 148, 30–35.

- Tulukoğlu, G. B., Kınık, Ö. ve Akan, Ecem. 2020. İzmir Tulum peyniri üretiminde peyniraltı suyu kültürünün kullanımı. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 57(3), 441-453.
- Turchi, B., Pero, S., Torracca, B., Fratini, F., Mancini, S., Galiero, A. and Cerri, D. 2016. Occurrence of *Clostridium* spp. in Ewe's Milk: Enumeration and Identification of Isolates. Dairy Science and Technology, 96(5):693-701.
- Ugarte, M. B., Guglielmotti, D., Giraffa, G., Reinheimer, J. and Hynes, E. 2006. Nonstarter lactobacilli isolated from soft and semihard argentinean cheeses: genetic characterization and resistance to biological barriers. Journal of Food Protection, 69(12), 2983-2991.
- Urbienė, S. and Sasnauskaitė, L. 2010. Influence of lysozyme on the quality of cottage cheese during storage. Žemės ūkio mokslai, 17(1/2), 60-67.
- Üçüncü, M. 2004a. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi. Cilt I. 543, Meta Basım, İzmir,
- Üçüncü, M. 2004b. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi Cilt II. 1236, Meta Basım Matbaacılık İşleri, İzmir.
- Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. 2003. Gıda Mikrobiyolojisi. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, İzmir.
- Ünsal, A. 1997. Süt Uyuyunca "Türkiye Peynirleri" Yapı Kredi Bankası Yayınları 9, İstanbul.
- Üstüncöl, N. 2006. Farklı ortam koşullarında nisin, lizozim ve bazı bitkisel kaynakların küf gelişiminin kontrol altına alınması üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 101, İstanbul.
- Üzüm, M. 2006. Ankara yöresinde tüketime sunulan çiğ sütlerde Salmonella, Shigella ve bazı patojenlerin izolasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 73, Ankara.
- Venema, D. P., Herstel, H. and Elenbaas, H. L. 1987. Determination of the ripening time of Edam and Gouda Cheese by chemical analysis, Netherlands Milk Dairy Journal, 41: 215-216.
- Vilcacundo, R., M'endez, P., Reyes, W., Romero, H., Pinto, A. and Carrillo, W. 2018. Antibacterial activity of hen egg white lysozyme denatured by thermal and chemical treatments. Scientia Pharmaceutica, 86(4), 48.
- Vissers, M. M. M., F. Driehuis, M. C. Te Giffel, P. De Jong, and J. M. C. Lankveld. 2007. Concentration of butyric acid bacteria spores in silage and relationships with aerobic deterioration. Journal Dairy Science, 90:928-936.

- Voet, D. Voet, J. G. and Pratt, C. W. 2022. Fundamentals of Biochemistry. Chapter 11 Enzymatic Catalysis "Third Edition <https://slideplayer.com/slide/252874/> Erişim tarihi 2022.
- Wasserfall, F. and Teuber, M. 1979. Action of egg white lysozyme on *Clostridium tyrobutyricum*. Applied and Environmental Microbiology, 197-199.
- Whetstine, C. M. E., Karagül-Yüceer, Y., Avşar, Y. K. and Drake, M. A. 2003. Identification and quantification of character aroma components in fresh chevre-style goat cheese. Journal of Food Science, 68(8), 2441-2447.
- Whetstine, C. M. E., Cadwallader, K. R. and Drake, M. 2005. Characterization of aroma compounds responsible for the rosy/floral flavor in Cheddar cheese. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(8), 3126-3132.
- Williams, A. G. and Banks, J. M. 1997. Proteolytic and other hydrolytic enzyme activities in non-starter lactic acid bacteria isolated from Cheddar cheese manufactured in the United Kingdom. International Dairy Journal, 7, 763-774
- Wu, T, Ge, Y., Li, Y., Xiang, Y., Jiang, Y. and Hu, Y. 2018. Quality enhancement of large yellow croaker treated with edible coatings based on chitosan and lysozyme. International Journal of Biological Macromolecules, 120: 1072–1079.
- Wu, T., Jiang, Q., Wu, D., Hu, Y., Chen, S., Ding, T. and Chen, J. 2019. What is new in lysozyme research and its application in food industry? A review. Food Chemistry, 274 -698-709.
- Yalçın, S. 1985. Hayvansal ürünlerdeki inhibitörler. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 32 (2), 378-385.
- Yalçın, S. K., Ergül, Ş. Ş. ve Özbaş, Z. Y. 2011. Peynir mikroflorasındaki mayaların önemi. Gıda, 36(1), 55-62.
- Yaygın, H. 1989. Peynirlerde görülen geç şişmeye karşı lysosym kullanılması. Gıda, 14(6).
- Yerlikaya, O. 2012. Çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden probiyotik özellikteki Enterococcus türlerinin izolasyonu, tanılanması ve İzmir Tulum peyniri üretiminde destek kültür olarak kullanım olanaklarının araştırılması.
- Yerlikaya, O. ve Karagözlü, C. 2014. Effect of added caper on some physicochemical properties of White Chese. Mijekarstvo, 64(1), 34-48.
- Yerlikaya, O. and Akbulut, N. 2019. Potential use of probiotic Enterococcus faecium and Enterococcus durans strains in Izmir Tulum cheese as adjunct culture. Journal of food science and technology, 56(4), 2175-2185.

- Yetişmeyen, A. 1995. Süt Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakóltesi Yayınları, No: 1420/420, 229, Ankara.
- Yetişmeyen, A., Polat, G. ve Beyhan Doğan, H. 2001. Ankara piyasasında satılan Civil peynirlerinin mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşal niteliklerinin saptanması. *Gıda*, 26 (6), 409-418.
- Yetişmeyen, A. 2005. Bazı geleneksel peynirlerimizin biyojen amin özelliğinin saptanması ve peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal özellikleriyle olan ilişkisinin araştırılması. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- Yılmaz, G., Ayar, A. and Akın, N. 2005. The effect of microbial lipase on the lipolysis during ripening of Tulum cheese. *Journal of Food Engineering*, 69 (3), 269-274.
- Zhou, J., Zhao, S., Fang, W. H., Zhou, J.F., Zhang, J. X., Ma, H. and Li, X. C. 2017. Newly identified invertebrate-type lysozyme (Splys-i) in mud crab (*Scylla paramamosain*) exhibiting muramidase-deficient antimicrobial activity. *Developmental and Comparative Immunology*, 74: 154–166.
- Zucali, M., Bava, L., Colombini, S., Brasca, M., Decimo, M., Morandi, S., Tamburini, A. and Crovetto, G. M. 2015. Management practices and for age quality affecting the contamination of milk with aerobic pore-forming bacteria. *Journal Science Food Agriculture*, 95(6), 1294–1302.

EKLER

EK 1 FFA Standart Kromatogram

EK 2 iğ Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

EK 3 iğ Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

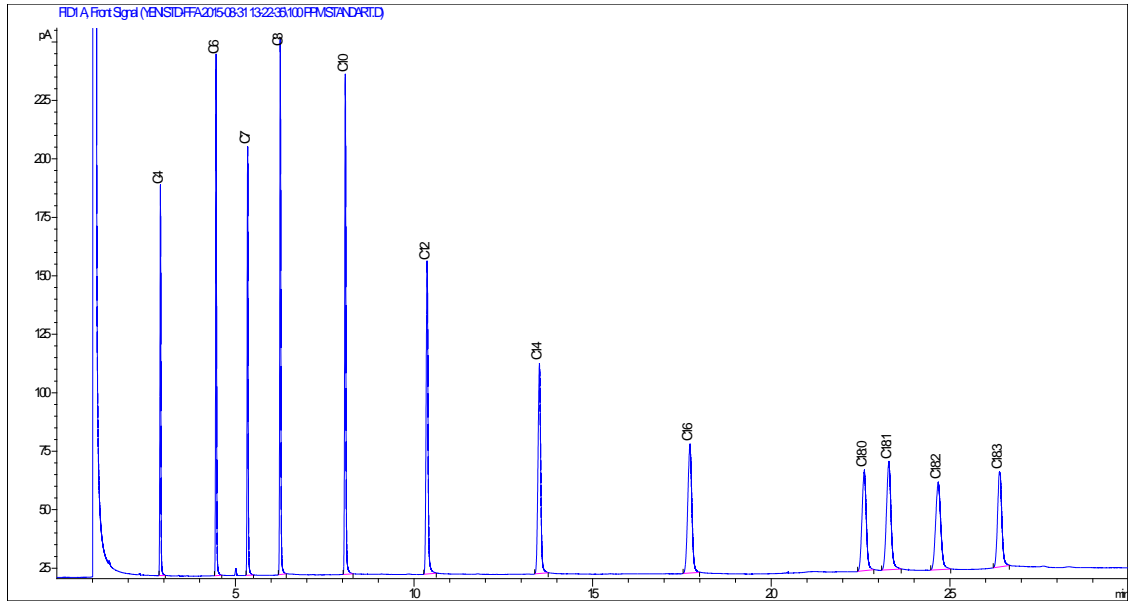
EK 4 iğ Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

EK 5 Pastörize Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

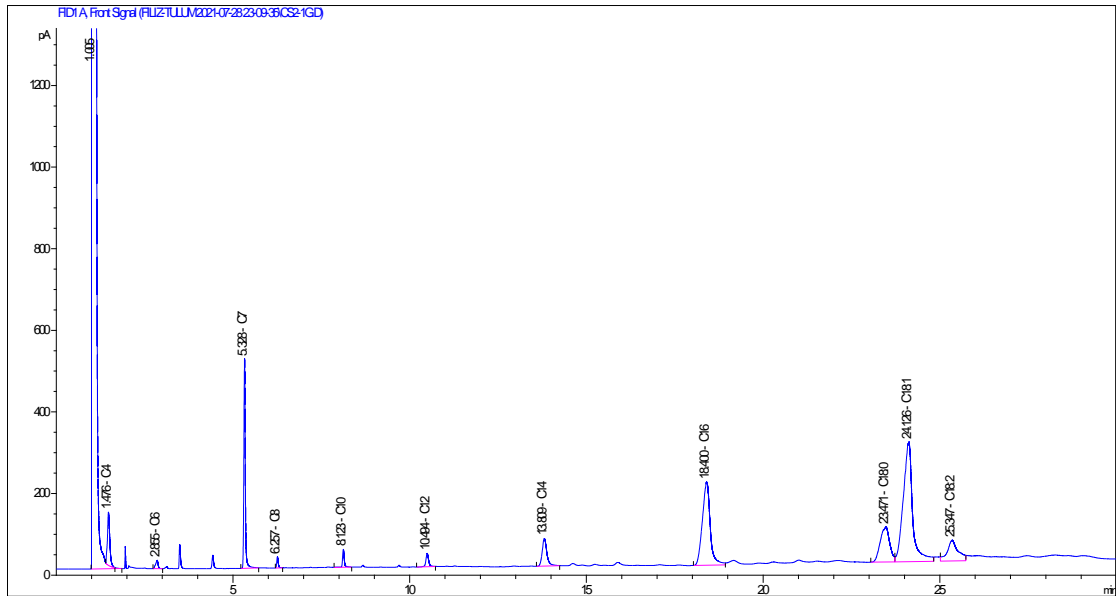
EK 6 Pastörize Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

EK 7 Pastörize Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

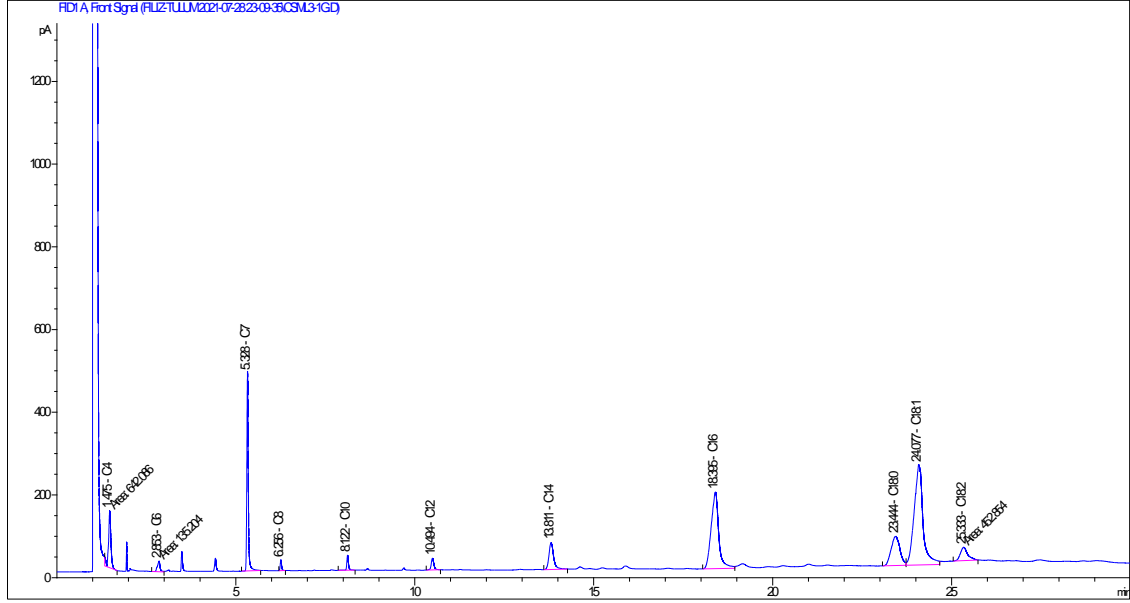
EK 1 FFA Standart Kromatogram



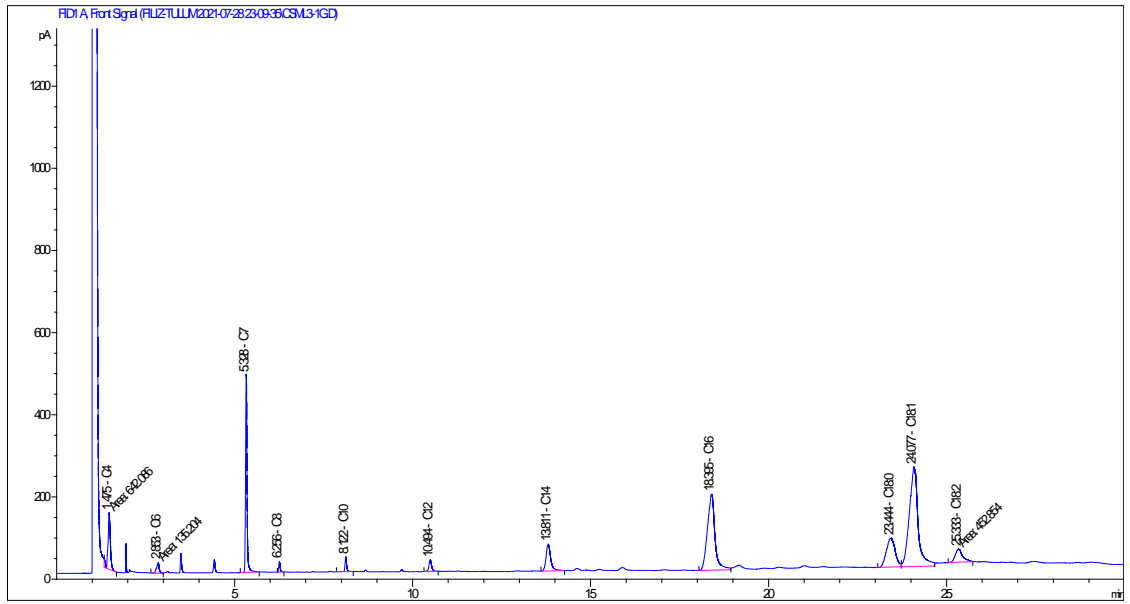
EK 2 Çiğ Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı



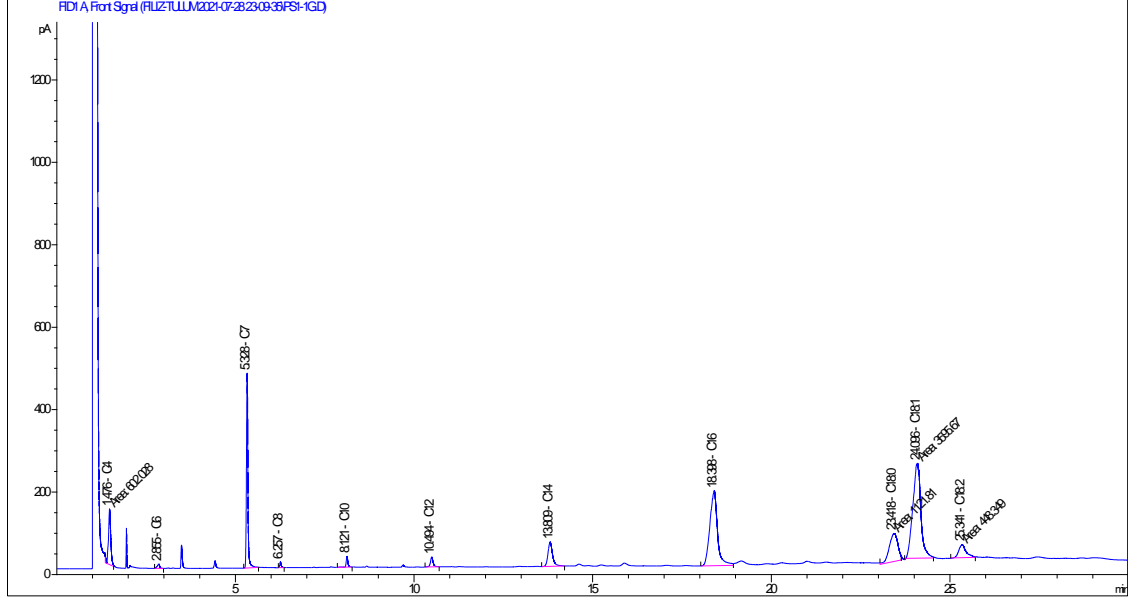
EK 3 Çiğ Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı



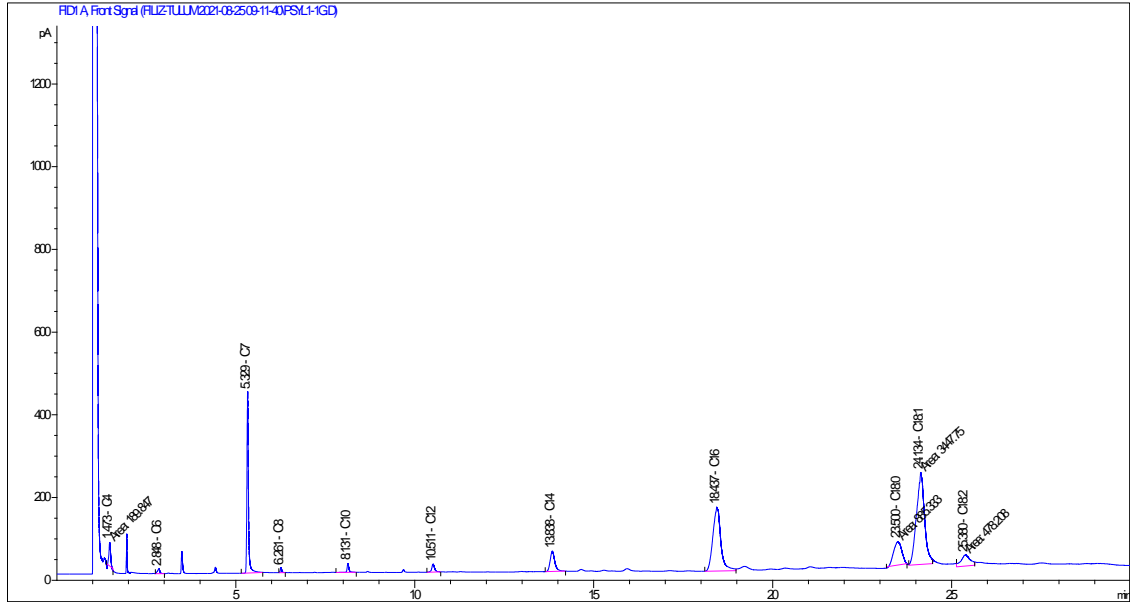
EK 4 Çiğ Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı



EK 5 Pastörize Sütten Üretilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı



EK 6 Pastörize Sütten Üretilen ve Yumurta Lizozimi İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı



EK 7 Pastörize Sütten Üretilen ve Mikrobiyal Lizozim İlave Edilen Peynirin 1. Gün Kromatogramı

