

# PEYNİR ÜRETİMİNDE PROBİYOTİK BAKTERİLERİN KULLANIMI : PROBİYOTİK PEYNİR

**Oğuz GÜRSOY, Özer KINIK**

Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, 35100-Bornova/İzmir

Geliş Tarihi : 15.07.2004

## ÖZET

İnsan sağlığı ve gastrointestinal mikroflora arasındaki ilişkiler son yıllarda oldukça fazla tartışılan bir konudur. İnsan gastrointestinal florasının dengesi, çeşitli sebeplerle bozulduğunda bazı gastrointestinal rahatsızlıklar ortaya çıkabilmektedir. Bazı intestinal rahatsızlıkların önlenmesi ve tedavisinde kullanılan fonksiyonel gıdalar en basit şekilde “temel beslenmenin yanında sağlık üzerine olumlu etkileri olan gıdalar” olarak tanımlanmaktadır. Söz konusu fonksiyonel ürünlerin oldukça önemli bir kısmını probiyotikler oluşturmaktadır. Probiyotikler ise intestinal mikrobiyal dengeyi sağlayarak ve geliştirerek konakçı sağlığına yararlı etkiler sağlayan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır. Günümüze kadar probiyotik bakteri kültürlerinin taşıyıcısı olarak kullanılan en popüler gıda sistemleri yoğurt ve fermente süt gibi taze fermente olmuş ürünler ya da anılan bu ürünlerdekine eşdeğer sayıda canlı probiyotik ilave edilmiş fermente olmamış ürünlerdir. Genişleyen probiyotik ürün sınıfı içinde yoğunlaşan çalışmalarda, çok az sayıda araştırmacı ve süt işletmesi yüksek sayıda probiyotik kültür içeren peynir çeşitlerinin üretimi konusunda çalışmışlardır. Bu makalede öncelikle probiyotikler, peynir mikrobiyolojisi ve probiyotik peynir geliştirme stratejileri ile ilgili temel hususlar anlatılmış, son bölümde de probiyotiklerin peynire katılması ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan bazı örnekler verilmiştir.

**Anahtar Kelimeler** : Fonksiyonel gıda, Peynir, Probiyotik, Sağlık

## USE OF PROBIOTIC BACTERIA IN THE PRODUCTION OF CHEESE : PROBIOTIC CHEESE

### ABSTRACT

The interactions of the gastrointestinal microflora with human health have been the subject of considerable debate in recent years. Disruption of the ecologic equilibrium of the normal intestinal flora may result in gastrointestinal diseases. Functional foods, which are used in prevention and treatment of some intestinal diseases, are defined as “foods that may provide health benefits beyond basic nutrition”. Probiotics are constituted an important part of functional foods. Probiotics are live microbial food supplements that beneficially affect the host by improving its intestinal microbial balance. To date, the most popular food delivery systems for probiotic cultures have been fermented milks and yogurts, as well as unfermented milk with cultures added. In an effort to expand the probiotic product range, a small number of researchers and dairy companies have endeavoured to production cheeses, which sustain a high viable count of probiotic cultures. This paper will first outline some of the main aspects about probiotics, cheese microbiology and probiotic cheese development, and give examples of studies where probiotic microorganisms have been incorporated into cheese.

**Key Words** : Functional food, Cheese, Probiotic, Health

## 1. GİRİŞ

Fermente süt ürünleri bir çok ülkede tüketicilerin günlük diyetlerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Söz konusu ürünler, ilk olarak sütün uzun süre muhafaza edilmesi ve istenilen duyuşal özellikler kazandırılması amacıyla ortaya çıkmıştır. Sütün mikrobiyal starter kültürler tarafından fermente edilmesi ile ürünün raf ömrünü arttıran laktik asit oluşmakta ve ürüne istenilen duyuşal özellikler ve yapı kazandırılmaktadır (Boylston et al., 2004). Son yıllarda fonksiyonel gıdalar alanında çeşitliliğin artması ile birlikte probiyotik bakterilerin ürünlerin besleyici ve sağlığı destekleyici özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla fermente süt ürünlerine ilavesi üzerine olan araştırma ilgisi de artmıştır. Fonksiyonel gıdalar içerisinde kritik bir öneme sahip olan fonksiyonel süt ürünlerinin 1999 yılı itibarıyla Avrupa'da 1.35 milyar dolarlık bir pazara sahip olduğu bildirilmektedir (Gürsoy ve Kınık, 2004). Son istatistiklere göre şu anda 34.6 milyon euro olan Avrupa probiyotik pazarının 2010 yılında 3 kattan daha fazla artarak 118.5 milyon euroya ulaşacağı tahmin edilmektedir (Anon., 2004). Söz konusu pazarda fonksiyonel süt ürünlerinin oldukça önemli bir kısmını probiyotik ürünler oluşturmakta, bu ürünlerin gıda endüstrisi tarafından pazara sunulmasında da çoğunlukla fermente süt ürünleri kullanılmaktadır.

Süt ve süt ürünleri yararlı bakterilerin bağırsak sistemine taşınması için uygun ortam sayılabilen gıda maddeleridir. Yoğurt ve peynir gibi süt ürünleri probiyotik kültürlerin canlılığının ve/veya gelişiminin desteklenmesinde pozitif rol oynayabilmektedir. Bu bağlamda günümüzde probiyotik ürünler çoğunlukla sağlığa yararlı probiyotik kültürleri içeren yoğurt ve fermente süt içecekleriyle sınırlıdır. Laktobasil'ler ve Bifidobakteri'ler probiyotik süt ve süt ürünleri pazarında en çok kullanılan mikroorganizmalardır (Ouweland et al., 2002) ve bu mikroorganizmalar kullanılarak yapılan ürünler pazarda en iyi ve en çok bilinen ürünlerdir. Probiyotik süt ürünlerinin geliştirilmesinde üzerinde en çok durulan gıdalar olan yoğurt ve fermente süt içecekleri taze olarak tüketilen ve raf ömrü kısa olan ürünlerdir. Bu ürünlere kıyasla olgunlaşma süresi ve raf ömrü daha uzun olan peynirlerdeki probiyotik kültürlerin tanımlanması ya da peynirin bu tip kültürlerle zenginleştirilmesi konusunda yapılan araştırmalar ürünün sağlık durumu ve kalitesinin geliştirilmesi için potansiyel sağlamaktadır.

Bu noktalardan hareketle makalede; öncelikle probiyotiklerin tanımı ve peynir mikrobiyolojisi özetlenmiş, ardından probiyotik peynir üretimi ve kalitesi ile ilgili kritik noktalar mevcut literatürler ışığında tartışılmıştır. Son bölümde probiyotik peynir üretimi konusunda yapılan araştırma sonuçlarına yer verilmiştir.

## 2. PROBIYOTİKLERİN TANIMI

Probiyotiklerin olumlu etkilerine ait ilk bilimsel teoriler 1900'ü yılların başında ünlü immünolog ve mikrobiyolog Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff fermente süt ürünleri tüketimi yolu ile bağırsak mikroflorasının olumsuz etkilerinin engellenebileceğini ve ilgili kişilerin yaşam sürelerinin artabileceğini belirtmiştir (Ross et al., 2002; Sullivan and Nord, 2002). "Probiyotik" Yunanca'da "yaşam için" anlamına gelen ve uzun yıllardan beri çeşitli şekillerde kullanılan bir kelimedir (Gomes and Malcata, 1999). "Probiyotik" terimi ilk olarak 1954 yılında Ferdinand Vergin tarafından antibiyotik ve flora üzerindeki diğer antimikrobiyal maddelerin patojen olmayan bakterilerin yararlı ("Probiotika") etkileriyle ilişkisinin anlatıldığı "Anti- und Probiotika" isimli makalede kullanılmıştır (Corthier, 2004). Probiyotiklerin en çok kabul gören tanımları Roy Fuller tarafından 1989 yılında "tüketici sağlığına bireylerin intestinal mikrobiyal dengesini koruyarak veya geliştirerek yararlı olan canlı mikrobiyal gıda katkılarıdır" şeklinde yapılmıştır (Fuller, 1989). Bu tanım 1998 yılında Salminen et al. (1998) tarafından "insan ve hayvanların sağlığını geliştirmek için tasarlanan gıda, yem ya da besinsel katkılardaki canlı mikrobiyal preparasyonlar" olarak değiştirilmiştir.

Probiyotiklerin bir çoğu patojen olmayan mikroorganizmalardır ve Laktobasiller, Bifidobakteriler ve Enterokoklar gibi insan sindirim sisteminde doğal olarak bulunmaktadır (Gibson, 2002; Guslandi, 2003). Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmaların sahip olması gereken çeşitli özellikler Tablo 1'de verilmiştir (Salminen et al., 1992; Gibson et al., 1997; Ouweland et al., 2002). Bu özelliklerden en önemlileri; düşük pH, safra tuzları ve pankreatik enzimlere olan dirençleri olarak sıralanabilir. Bu özellikleri probiyotiklerin gastrointestinal sistem boyunca canlılıklarını korumalarını sağlamaktadır. İntestinal mukoza yüzeyindeki reseptörlere bağlanabilme, immün modülasyonu (bağırsak vücudun en büyük immün organıdır), patojenlerin reseptörlere tutunmasını önleme, çeşitli nedenlerle

hasar görmüş mukozanın iyileştirilmesi ve kısa süreli kolonizasyonun uzatılması için oldukça önemlidir. Probiyotiklerin insan orijinli olması spesifik sağlık yararlarını gösterebilmeleri ve konakçı ile diğer muhtemel ilişkileri için gerekli olabilir. Örneğin Snah and Lankaputhra (1997), *Bifidobacterium pseudolongum*'un hayvan orijinli bir bakteri olması nedeniyle insanlarda probiyotik etki göstermeyebileceğini bildirmiştir. Yine probiyotiklerin insan sağlığına herhangi bir zarar vermemesi yani kullanım güvenliğine sahip olması gerekmektedir. Zira son yıllarda yapılan çalışmalar ile bazı probiyotik mikroorganizmaların (*Lactobacillus rhamnosus*, *L. paracasei* gibi) potansiyel patojeniteleri tespit edilmiş ve ürün hazırlanmasında kullanılacak probiyotik mikroorganizmaların bu açıdan dikkatle değerlendirilmesi gerekliliğine dikkat çekilmiştir (Famularo et al., 1997). Konu ilgili olarak 1995 yılında yapılan Laktik Asit Bakterileri Endüstriyel Platformu Uluslararası Toplantısı'nda sadece probiyotik özellikleri gösterilmiş olan bakteri suşlarının gıda katkısı olarak kullanımları önerilmiştir (Guarner and Schaafsma, 1998; Gardiner et al., 1999a). Yine FAO/WHO tarafından insan tüketimi için kullanılacak probiyotik mikroorganizmaların sağlığa yararlı etkilerinin gösterilmesi ve bunların GRAS (genel olarak güvenli bilinen) statüsünde olması gerektiği bildirilmektedir (Anon., 2001).

Tablo 1. Probiyotiklerin başlıca özellikleri (Salminen et al., 1992; Gibson et al., 1997; Ouwehand et al., 2002)

Özellik	Yarar
Pankreatik enzimler, asit ve safra tuzlarına direnç	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İntestinal sistemde canlılığı sürdürülebilir</li> </ul>
İntestinal mukozaya tutunabilme	<ul style="list-style-type: none"> <li>• İmmün sistemin modülasyonu</li> <li>• Patojenlerin tutunmasını önleme</li> <li>• Hasarlı mukozanın iyileştirilmesi</li> <li>• Kısa süreli kolonizasyonun uzatılması</li> </ul>
İnsan orijinli olma	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Konakçı ile spesifik interaksiyonlar</li> </ul>
Dokümanite edilmiş sağlık yararları	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Olası sağlık etkilerinin doğrulanması</li> </ul>
Güvenlik	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tüketici için sağlık riskinin olmaması</li> </ul>
İyi teknolojik özellikler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stabilite</li> <li>• Endüstriyel düzeyde üretilebilme</li> <li>• Oksijene tolerans</li> </ul>

### 3. PROBIYOTİK ETKİ İÇİN TÜKETİM SEVİYESİ

Probiyotiklerin tüketimi ile fizyolojik bir etkinin oluşabilmesi için gerekli tüketim seviyesi hakkında çok fazla bilgi mevcut değildir (Sanders and Veld, 1999) ve mevcut bilgiler arasında da farklılıklar bulunmaktadır. Yapılan çeşitli klinik çalışmalarda, probiyotiklerin tüketiminin ardından dışkıının gramında  $10^6$ - $10^8$  spesifik probiyotik laktobasil olduğunda iyileşmenin sağlandığı görülmüştür. Bifidobakterilerin probiyotik etkilerini gösterebilmeleri için gerekli minimum tüketim dozları konusundaki öneriler oldukça farklılık göstermektedir. Minimum tüketim seviyesi konusunda çeşitli araştırmacılar tarafından  $10^6$ ,  $10^7$  ve  $10^8$  kob/g değerleri önerilmektedir (Ishibashi and Shimamura, 1993; Gobbetti et al., 1998; Stanton et al., 1998; Fonden et al. 2000; Godward et al., 2000). Genel olarak gıda endüstrisindeki *Lactobacillus acidophilus*, Bifidobakteriler ve diğer probiyotik mikroorganizmaların uygulamaları için en az  $10^6$  kob/g seviyesinin önerildiği görülmektedir. Bifidobakteriler için önerilen günlük minimum tüketim dozu  $10^8$ - $10^9$  canlı hücre, ya da diğer bir ifadeyle  $10^6$ - $10^7$  canlı hücre/g bakteri içeren bir üründen en az 100 g tüketilmesidir (Boylston et al., 2004). Bununla ilgili olarak probiyotiklerin fonksiyonlitesi için ince bağırsakta günlük olarak en az  $10^8$ - $10^9$  canlı bakteri bulunması gerektiği düşünülmektedir. Bu bilginin doğruluğu durumunda gerçek toplam günlük doz  $10^9$ - $10^{10}$  canlı probiyotik bakteri olmalıdır. Ancak yapılan bir model çalışmada, gastrointestinal sistemde toplam probiyotik bakteriden %10-40'nin canlılığını sürdürdüğü dikkate alınır (Sanders and Veld, 1999), toplam tüketim dozu, gastrointestinal sistemdeki canlılık seviyesi, dışkıdaki canlı probiyotik sayısı gibi faktörlerin çok yönlü olarak çalışılması gerekliliği halen devam etmektedir.

### 4. PEYNİR MİKROBİYOLOJİSİ

Peynir, üzerinde en çok bilimsel çalışma yapılan süt ürünüdür. Uygun şartlarda üretilen ve depolanan bir çok süt ürünü, biyolojik ve kimyasal olarak oldukça stabil olduğu halde, peynir biyokimyasal açıdan dinamik bir üründür. Bu nedenle organik kimya, analitik kimya, biyokimya, mikrobiyoloji, reoloji, kolloid bilimi, moleküler biyoloji ve beslenme gibi çok farklı alanlarda çalışan araştırmacılar peynirde geniş çalışma alanları bulmuşlardır. Peynirde dinamizm kazandıran ve bir çok bilimsel disipline çalışma olanağı sağlayan unsurlardan biri peynir

üretimi ve olgunlaşması sırasında son derece önemli rolleri olan laktik asit bakterileridir (Fox et al., 1996; Hayaloğlu, 2003).

Bir çok peynir çeşidinin mikroflorası bakteri, küf ve mayaları içeren çok sayıda mikroorganizmadan oluşan kompleks bir yapıdadır. Bu mikroflora peynir üretimi ve olgunlaşması için gerekli esansiyel metabolitlerin üretiminde rol oynar. Peynir mikroflorası; starter kültürler ve ikincil mikroflora olmak üzere başlıca 2 grupta incelenebilir. Her iki grup da temelde peynir olgunlaşma prosesi süresince aroma ve tekstür gelişimine katkıda bulunurken, laktik starterler peynir üretimi sırasında laktozu fermente ederek laktik asit başta olmak üzere organik asitleri üretirler ve bu sayede peynir pH'sını düşürürler (Beresford, 2003). *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii* peynir üretiminde kullanılan başlıca starter kültürlerdir. Peynir tiplerine göre değişmekle birlikte olgunlaşmanın başında  $10^6$ - $10^{10}$  kob/g seviyelerinde olan starter laktokokların sayısı genellikle 2-16°C'de gerçekleşen olgunlaşmanın ilk haftalarında düşmektedir. Starter laktokokların sayısı; peynirdeki tuz, düşük pH, fermente edilebilen karbonhidratların yetersizliği ve düşük olgunlaşma sıcaklığı gibi nedenlerle azalmaktadır. Starter kültürlerin azalma oranı kültürlerin otolitik özellikleri, tuz toleransı ve fajlara direnç gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. İkincil mikroflorayı bakteri, maya ve küflerin karışımı oluşturmaktadır. Starter olmayan mikroflora olarak da adlandırılan ikincil mikrofloranın (özellikle bakterilerin) peynire giriş şekli tam olarak bilinmemekle beraber, bunların üretim aşamalarında peynir sütüne bulaşabileceğine, peynir sütünün pastörizasyonu sonrasında da belli seviyelerde canlılıklarını sürdürebileceklerine ya da pastörizasyon sonrası süte bulaşabileceklerine inanılmaktadır. Peynir çeşitlerinde starter olmayan mikroflora;

- (i) Propiyonik asit bakterileri,
- (ii) Küfler,
- (iii) Yüzeysel olgunlaştırılan peynirlerde önemli olan bakteri ve mayalar,
- (iv) Starter olmayan laktik asit bakterileri (başlıca mezofilik laktobasiller, pediokoklar, enterokoklar ve *Leuconostoc* türü bakteriler) olmak üzere başlıca 4 gruptan oluşmaktadır (Beresford, 2003). Starter olmayan laktik asit bakterilerinin peynir kalitesi üzerine etkileri de tam olarak bilinmemektedir. Çeşitli literatürlerde söz konusu laktik asit bakterilerinin peynir kalitesi üzerinde negatif (kalsiyum laktat kristalleri oluşumu, yarıçatlık oluşumu gibi) ve pozitif (proteolizi artırarak bazı peynir tiplerinde lezzet üzerinde olumlu etki) etkileri olduğu bildirilmektedir (Ross et al., 2002).

## 5. PROBIYOTİK KÜLTÜRLER İÇİN TAŞIYICI BİR ARAÇ OLARAK PEYNİR

Fonksiyonel gıdaların üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların tüketiciler üzerindeki olumlu sağlık etkilerinin yanısıra, üretimde ürünün özelliklerini değiştirmemesi yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde son derece kritik bir olgudur. Ayrıca, kullanılan probiyotik kültürlerin teknolojik ve ekonomik yararlar sağlaması söz konusu mikrobiyal katkıların kullanımlarını destekleyecektir. Yapılan çalışmalarda bazı probiyotik mikroorganizma suşlarını destek starter olarak içeren peynirlerde yüksek sayıda probiyotik mikroorganizma bulunmasının aroma ve lezzeti olumlu etkilemesinden başka, olgunlaşma süresini de kısaltabileceği bunun da ekonomik avantajları olduğu belirtilmektedir (Stanton and Ross, 2000).

Probiyotikler kullanılarak fonksiyonel bir fermente süt ürününün üretilmiş olduğundan bahsedilebilmesi için, probiyotik özellikleri, yapılan çalışmalarla kanıtlanmış kültürlerin kullanılması, kültürlerin ürünün üretimi ve olgunlaşması boyunca canlılıklarını sürdürebilmesi ve ürünün kompozisyonu, tekstürü ve duyuşsal özelliklerini olumsuz yönde etkilememesi gerekmektedir (Stanton et al., 1998). Probiyotiklerin fizyolojik etkinliği doza bağlı olduğundan satışa sunulacak ürünlerde canlı probiyotik mikroorganizma sayısı özel önem gerektiren bir husustur. Bu bakımdan probiyotik türlerin gıdanın depolama ya da olgunlaşma periyodu boyunca canlılıklarını sürdürebilmeleri önemlidir.

Probiyotik mikroorganizmaların fermente sütler ve yoğurt üretiminde ürünlere çeşitli şekillerde ilavesi üzerine çok sayıda araştırma ve ticari uygulama mevcut olmasına rağmen, söz konusu ürünler bazı probiyotik mikroorganizmaların yüksek seviyede bulunması ve canlılıklarını sürdürebilmesi için optimum bir ortam sağlamamaktadır. Bu noktada alternatif bir yaklaşım olarak probiyotik mikroorganizmaların peynir ve peynir benzeri ürünlere ilavesi fikri gündeme gelmektedir. Gerçekten de peynir pH'sı, yağ içeriği, oksijen seviyesi ve depolama koşulları dikkate alındığında üretimi ve depolanması sırasında probiyotik mikroorganizmaların uzun süre canlılıklarını sürdüremesine diğer ürünlere nispeten daha fazla katkıda bulunmaktadır (Stanton et al., 2001; Ross et al., 2002; Boylston et al., 2004). Genel olarak peynirler (pH aralığı: 4.8-5.6) fermente sütlerle (pH aralığı: 3.7-4.3) göre oldukça yüksek pH'ya sahiptirler ve aside duyarlı probiyotik

mikroorganizmaların uzun süre canlılığını destekleyen daha stabil bir ortam sağlamaktadırlar. Ayrıca peynir, yoğurda göre daha yüksek tamponlama kapasitesine sahiptir. Örneğin gastrik sıvıya 5 g peynir ilavesi pH'yı 2 değerinden 4.74 değerine yükseltmekte iken, 5 ml yoğurt ilavesi 3.65 değerine yükseltmektedir (Gardiner et al., 1999b; Ross et al., 2002). Peynir içerisinde bulunan bakterilerin metabolik faaliyetleri peynirde olgunlaşmanın birkaç haftası içinde anaerobik probiyotik mikroorganizmaların gelişimini ve canlılığını destekleyen anaerobik bir ortam oluşturmaktadır. Ayrıca peynir matrisi ve peynirin nispeten yüksek yağ içeriği gastrointestinal sistem pasajları boyunca probiyotik bakterilere koruma sağlamaktadır (Boylston et al., 2004).

Besin öğelerinin kullanılabilirliği, büyümeyi teşvik edici ve inhibe edici ajanların varlığı, pH ve oksijenin varlığı ya da yokluğu süt ürünlerinde probiyotik mikroorganizmaların gelişimini etkileyen faktörler olarak sıralanabilir. Farklı tip peynirlerin karakteristik özelliklerinin oluşturulması için kullanılan laktik asit bakterileri de faaliyetleri sonucu (pH, inhibitör ve büyümeyi teşvik edici ajanların miktarı ve oksijen içeriğindeki değişim sonucunda) probiyotik bakterilerin gelişimini etkileyebilmektedir. Örneğin yüksek oksijen kullanım özelliğine sahip *Streptococcus thermophilus* suşlarının seçilmesi, anaerobik olan Bifidobakterilerin gelişim ve canlılığını teşvik etmektedir. Bifidobakterilerin proteolitik aktivitelerinin yetersizliği onların sütteki gelişimlerini yavaşlatmaktadır. Bununla beraber peynir yapımı sırasında starter bakterilerin proteolitik aktiviteleri ve rennet aktivitesi sonucu oluşan para- $\kappa$ -kazein ve diğer kazein hidrolizatları, Bifidobakterilerin gelişimini teşvik eden faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu noktada son yapılan çalışmaların birinde Lucas et al. (2004) fermente sütlere protein hidrolizatları ilave edilmesinin probiyotik bakterilerin yaşayabilme kapasitesini arttırdığını tespit etmiştir. Yine literatürlerde fermente süt ürünlerindeki proteolitik aktivitenin, Bifidobakteri ve diğer zayıf proteolitik aktiviteye sahip probiyotik mikroorganizmaların gelişme problemlerini azaltabileceği bildirilmektedir (Boylston et al., 2004).

Probiyotik peynir üretiminde kullanılacak suşların dikkatli bir şekilde seçilmesi, peynir matrisinde probiyotik bakterilerin canlılığını koruması ve sürdürülebilirliği açısından kritik bir olgudur. Probiyotik mikroorganizmaların peynire ilavesinde mutlak değerlendirilmesi gereken faktörler Tablo 2'de sıralanmıştır.

Tablo 2. Peynir Üretiminde Probiyotikler İçin Değerlendirilmesi Gereken Faktörler (Boylston et al., 2004'den adapte edilmiştir)

• Üretimde kullanılan laktik starterlerin etkisi (interaksiyonlar)
• Olgunlaşma ve depolama sıcaklıkları
• Aerobik ya da anaerobik ortam
• Peynirin genel kompozisyonu
• Sert ve yarı sert peynirler için pişirme (ısı işlem) şartları

Üretimde kullanılan probiyotik bakteriler ve starter mikroorganizmalar arasındaki interaksiyonlar probiyotiklerin ürün içerisindeki yaşama kabiliyetini değiştirebildiği gibi, ürün özellikleri üzerine de olumsuz yönde tesir edebilir. Konu ile ilgili olarak yapılan bazı çalışmalarda *L. acidophilus*'un ürettiği asidofilin LA-1 sayesinde *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Dave and Snah, 1997; Joseph et al., 1997), *L. helveticus*, *L. jugurti* ve *L. casei*'nin bazı suşları üzerine inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir (Dave and Snah, 1997). Daha yeni olarak Vinderola et al. (2002) *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* ve *Bifidobacterium* spp.'nin 8'er suşunun farklı kombinasyonlarının interaksiyonlarını besiyeri ortamında çalışmışlardır. Çalışmada kullanılan *L. acidophilus* suşlarının gelişiminin *L. casei* ve *Bifidobacterium*'lar tarafından inhibe edildiği görülmüştür. Yine genel olarak çalışmada kullanılan probiyotik bakterilerin diğer laktik asit bakterilerine karşı daha güçlü inhibitör etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular dikkate alınarak probiyotik peynir üretiminde kültür ya da destek kültür olarak kullanılacak probiyotik mikroorganizmaların ve/veya starter kültür kombinasyonlarının dikkatli bir şekilde seçilmesi gerektiği söylenebilir.

Probiyotik bakteriler bir çok peynir çeşidinin üretiminde başarıyla kullanılmaktadırlar. Peynirlere probiyotik bakterilerin ilavesindeki başarı; kullanılan tür ve suş, üretimde kullanılan laktik asit bakterilerinin aktivitesi, peynir kompozisyonu, üretim ve olgunlaşma koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Pratikte özellikle peynir üretiminde kullanım için en çok karşılaştığımız probiyotik mikroorganizmaların Bifidobakteriler, Laktobasiller ve Enterokoklar olduğu görülmektedir.

Genel olarak laktobasiller ve bifidobakteriler sıcaklık, tuz, oksijen ve sifra tuzlarına toleranslıdır. Suşların asitlik ve oksijen duyarlılıkları, süt bazlı ortamda iyi gelişebilme kapasitesi ile hızlı bir şekilde sütü asidik hale getirme ve bu sayede de fermentasyon süresini kısaltma kapasiteleri üretimde

önemli bazı karakteristikler olarak göze çarpmaktadır (Gomes and Malcata, 1998). Ürün geliştirmede probiyotik kültürlerin canlılığının sürdürülmesi ve desteklenmesi için çok sayıda işlem yapılabilmektedir. Bunlar; (i) fermentasyon sırasında hücre sayılarını arttırabilmek amacıyla peptitler ve kompleks karbonhidratlar gibi gelişme faktörlerinin kullanımı, (ii) ortamdaki oksijen konsantrasyonunun arttırılması veya azaltılması, (iii) mikroenkapsülasyon, (iv) iki aşamalı fermentasyon ve (v) stres adaptasyonu olarak sıralanabilir (Snah, 2000; Ross et al., 2002).

## 6. PROBIYOTİK PEYNİR ÜRETİMİYLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

İnsan bağırsak sisteminin doğal florasından izole edilen probiyotik bakterilerin, sahip oldukları çeşitli diyetetik ve terapötik özelliklerinden dolayı, bu mikroorganizmaların fermente süt içecekleri, ayran, ekşi krema, yoğurt, bebek mamaları gibi bir çok süt ürününde kullanımı oldukça yaygın hale gelmiştir (Kebary, 1996; Snah, 1997). Probiyotik bakteri kültürlerinin kullanımına başlanmasından bu yana bunların taşıyıcısı olarak kullanılan en popüler gıda sistemleri yoğurt ve fermente süt gibi taze fermente olmuş ürünler ve fermente ürünlerdeki canlı probiyotik sayısına eşdeğer miktarda probiyotik ilave edilmiş fermente olmamış ürünlerdir. Genişleyen probiyotik ürün sınıfı içindeki yoğunlaşan çalışmalarda, çok az sayıda araştırmacı ve süt işletmesi yüksek sayıda probiyotik kültür içeren peynir çeşitlerinin üretimi konusunda çalışmışlardır (Stanton et al., 1998).

Günümüze kadar canlı gıda kültürlerinin taşıyıcısı olarak en fazla dikkati çeken gıdalar; yoğurt ve fermente sütlerdir (Sanders et al., 1996). Ancak daha yakın zamanda Cheddar, Gardiner, Gouda, Cottage, Kariesh, Canestrato Pugliese, Fresco, Tallaga, Crescenza peyniri, salamura beyaz peynir, yoğurt dondurması ve dondurma gibi ürünlerin probiyotik mikroorganizma kültürlerinin taşıyıcısı olarak kullanılıp kullanılmayacakları konusunda çalışmalar yapılmaktadır (Hekmat and McMahon, 1992; Dinakar and Mistry, 1994; Gomes et al., 1995; Blanchette et al., 1996; Gobetti et al., 1998; Gardiner et al., 1999a, b; Hagen and Narvhus, 1999; Stanton and Ross, 2000; Corbo et al., 2001). Aşağıdaki bölümde bifidobakteriler, laktobasiller ve enterokokların probiyotik peynirlerin üretiminde kullanımı ile ilgili çalışmalar özetlenmektedir.

### 6. 1. Bifidobakteriler

Probiyotik laktik asit bakterilerinden olan Bifidobakteriler insan bağırsak sisteminin doğal

florasında bulunmakta ve sahip oldukları çeşitli diyetetik ve terapötik özelliklerinden dolayı bir çok fermente süt ürününün üretiminde kullanılmaktadırlar. Çeşitli kaynaklarda dünya da Bifidobakteri içeren 70'den fazla ürün olduğu bildirilmektedir (Kebary, 1996; Snah, 1997; Gürsoy ve ark., 1999). Genel olarak Bifidobakteri suşları; besin ögesi gereklilikleri, gelişme karakteristikleri ve metabolik aktiviteleri açısından birbirlerinden farklıdırlar. Dolayısıyla farklı suşların kullanıldıkları üründe benzer canlılık süresi ve duyuşal özellikler göstermemeleri oldukça normaldir. Bifidobakteriler doğada anaerobik olarak bulduklarından, oksijen Bifidobakterilerin gelişimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. *Bifidobacterium bifidum* ve diğer Bifidobakterilerin oksijene dirençli mutantlarının seçimi; bu bakterilerin gıdaların işlenmesi ve depolanması sırasındaki canlılıklarının arttırılmasında etkili olabilecek bir yaklaşımdır. *B. infantis*, *B. breve* ve *B. longum* kısmi anaerobik ortamlarda gelişme kabiliyetine sahip iken, *B. adolescentis*'in gelişimi düşük oksijen konsantrasyonlarında baskılanmaktadır. Bu bakterilerin oksijen duyarlılığı onların NADH-oksidad ve NADH-peroksidad aktivitesi ile ters ilişkilidir. Burada bahsedilen enzimler bifidobakteriler için toksik olan hidrojen peroksit ve aktif oksijen bileşiklerini yıkımlama kabiliyetine sahiptir. Ayrıca düşük pH'ya ve safra asitlerine karşı yüksek dirence sahip Bifidobakterilerin insan orijinli suşlarının seçimi, bu mikroorganizmaların sindirim boyunca canlılıklarının devamının sağlanması açısından oldukça önemlidir (Boylston et al., 2004).

Probiyotik Bifidobakteri kültürlerinin taşıyıcısı olarak farklı tip peynirlerin değerlendirilmesi ile ilgili uluslararası alanda oldukça az sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların birinde *Bifidobacterium* suşları ile Cheddar peyniri üretilmiştir. Çalışmada yaklaşık olarak  $2 \times 10^7$  kob/g bakteri 24 haftanın üzerinde (5-6 ay) canlılıklarını sürdürmüş ve kültürler peynir aroması, tekstürü ve görünüşü üzerinde olumsuz bir etki de göstermemişlerdir (Dinakar and Mistry, 1994). Yine yapılan çalışmalarda Cottage peyniri (Blanchette et al., 1996) ve salamura beyaz peynirin (Ghoddusi and Robinson, 1996) üretiminde kullanılan *B. infantis* ve *B. bifidum* canlılıklarını yüksek seviyede sürdürememişlerdir. Cottage peynirinde *B. infantis* depolamanın 1. gününden sonra peynirde yaklaşık  $10^7$  kob/g seviyelerine ulaşmış fakat 4°C'de 15 gün depolamadan sonra bu sayıda önemli azalmalar meydana gelmiştir. Bu çalışmada ayrıca depolama süresince tüketicilerin tercihlerinin probiyotik peynirden geleneksel peynire doğru yöneldiği tespit edilmiştir. *B. bifidum*'un salamura beyaz peynirin olgunlaşması boyunca *B. adolescentis*'e göre daha yüksek sayılarda canlılığını sürdürdüğü görülmüş,

olgunlaşmanın 60. gününde mikroorganizma sayısının  $5.5 \times 10^5$  kob/g olduğu belirlenmiştir. Başka bir çalışmada, 3 *Bifidobacterium* türü *B. bifidum*, *B. longum* ve *B. infantis* tek başlarına ve kombinasyonlar halinde Crescenza peynirine katılmıştır. 14 gün olgunlaştırma sonunda bakterilerin canlılıklarını sürdürme kabiliyetleri arasında farklılıklar belirlenmiştir. Burada, imalattan sonraki 14. günde bu mikroorganizmaların sayısının sırasıyla yaklaşık olarak  $10^8$ ,  $10^7$  ve  $10^5$  kob/g seviyelerinde olduğu bulunmuştur. Yine çalışmada suşların karışımları kullanılarak üretilen peynirlerde (üç kültürün karışımı) 14 gün sonra  $10^5$  kob/g bakterinin peynirde bulunduğu bildirilmiştir. Araştırma sonucunda, ilave edilen Bifidobakterilerin varlığının; peynir kompozisyonuna, starter olarak ilave edilen *Streptococcus thermophilus*'un gelişmesine ve aerobik mikrofloraya etki etmediği görülmüştür. Üretimde Bifidobakteri kullanılan peynirler ile geleneksel Crescenza peyniri arasında başlangıç proteoliz durumlarının farklı olmadığı, ancak probiyotik ilaveli peynirlerde pH 4.6'da çözünen azot miktarının oldukça yüksek olduğu ve bifidobakteri ilave edilmiş bütün peynirlerde daha belirgin aminopeptidaz, imünopeptidaz, dipeptidaz ve tripeptidaz aktivitesinin olduğu belirlenmiştir. Yine probiyotik kültür ilave edilen peynirlerde iz miktarda laktoz bulunduğu ve geleneksel peynirden biraz daha fazla miktarda laktik ve asetik asit bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca peynirlerdeki yüksek  $\alpha$  ve  $\beta$ -galaktozidaz aktivitesinin Bifidobakterilerin varlığı ile ilgili olduğu bildirilmiştir. Çalışmanın önemli kısımlarından biri olan duyuşal değerlendirmede, probiyotik bakteri ilave edilen peynir ile geleneksel olarak üretilen peynirlerin duyuşal özellikler açısından oldukça benzer oldukları da belirlenmiştir (Gobbetti et al., 1998). Gomes and Malcata (1998) *Bifidobacterium lactis* ve *Lactobacillus acidophilus* bakterilerini kullanarak keçi sütünden yarı sert keçi peyniri üretmiş ve peynirlerin 70 gün olgunlaşma süresindeki mikrobiyolojik, kimyasal ve tekstürel özelliklerini değerlendirmişlerdir. *Lactobacillus acidophilus*'un peynirdeki konsantrasyonu  $6 \times 10^7$  kob/g seviyesini aşmamışken, *Bifidobacterium lactis*  $3 \times 10^8$  kob/g seviyesinin biraz üzerindeki sayılara çıkmıştır ve bu gelişim peynirin fizikokimyasal özellikleriyle ilişkili bulunmuştur. Peynirlerdeki probiyotik mikroorganizma sayıları probiyotik etki seviyesi olarak değerlendirilen  $10^6$  kob/g eşik değerinin altına düşmemiştir. Peynir üretimi süresince laktik ve asetik asit konsantrasyonları artmıştır. Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarla benzer olarak yüksek probiyotik bakteri konsantrasyonu peynirlerdeki proteolizi hızlandırmış ve proteoliz düzeyini arttırmıştır. Yapılan istatistiksel analizlerin sonucunda;  $3.0 \times 10^7$  kob/g *Bifidobacterium lactis* veya  $7.0 \times 10^6$  kob/g

*Lactobacillus acidophilus* içeren kültürün % 0.30 (hacim/ağırlık) oranında peynir sütüne ilavesinin, üretimde % 3.5 (hacim/hacim) tuz kullanılması ve 70 gün olgunlaştırma işlemi yapılması durumunda optimum sonuçları verebileceği görülmüştür. Gomes et al. (1998) keçi sütünden *Bifidobacterium* sp. Bo ( $3.0 \times 10^7$  kob/g) ve *Lactobacillus acidophilus* Ki ( $1.0 \times 10^7$  kob/g) kullanılarak yapılan probiyotik peynirlerin kimyasal ve tekstürel özellikleri üzerine olgunlaşma sıcaklığı (5 °C ve 10 °C), relatif nem (% 85 ve % 95) ve olgunlaşma süresinin (1 gün ve 70 gün) etkilerini incelemişlerdir. Peynirde izlenen bütün proteolitik aktivite göstergelerinin olgunlaşma sıcaklığındaki artışa bağlı olarak arttığı ve bu muamelenin proteolizi relatif nem artışından daha fazla etkilediği belirlenmiştir. Peynirin serbest yağ asitleri konsantrasyonu relatif nem miktarındaki artışlardan etkilenmemiş, ancak olgunlaşma sıcaklığı ve süresi söz konusu konsantrasyon değerlerini arttırmıştır. Yine yüksek olgunlaşma sıcaklığı ve düşük relatif nemin peynir sertliğini arttırdığı görülmüştür. Brearty et al. (2001) tarafından yapılan başka bir çalışmada iki farklı Cheddar peyniri üretilmiştir. Canlı *Bifidobacterium* suşlarının yüksek sayılarını içeren probiyotik Cheddar peynirinin geliştirilmesinde farklı ticari probiyotik bakteri suşları ile her iki peynir inokule edilmiştir. Peynir sütüne başlangıçta  $9.9 \times 10^7$  kob/ml *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ve  $9.2 \times 10^6$  kob/ml *Bifidobacterium longum* BB536 suşları ilave edilmiştir. *Bifidobacterium lactis* Bb-12 peynirde yüksek seviyelerde canlılığını sürdürmüş iken ( $\geq 10^8$  kob/g), 6 ay olgunlaştırma sonunda *Bifidobacterium longum* BB536  $10^5$  kob/g seviyelerine düşmüştür. *Bifidobacterium longum* BB536'nın peynire ilavesi peynir kompozisyonunu olumsuz bir şekilde etkilememiş, ancak *Bifidobacterium lactis* Bb-12'nin ilave edildiği peynirlerde su oranının diğerinden biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince kontrol peyniri ile karşılaştırıldığında, *Bifidobacterium lactis* Bb-12 peynirinde daha hızlı proteoliz ve aroma gelişimi gözlenmiştir. Yine peynirlerdeki uçucu bileşiklerin konsantrasyonları arasında farklılıklar belirlenmiştir. Örneğin en yüksek asetik asit *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ilave edilen peynirde bulunmuştur. Araştırmacılar, yapılan çalışmanın bifidobakteri suşlarını içeren probiyotik fonksiyonel gıda olarak Cheddar peynirinin oldukça uygun bir ürün olduğunu gösterdiğini belirtmişlerdir. Corbo et al. (2001) tarafından koyun sütünden geleneksel yöntemlerle ve  $7.0 \log_{10}$  kob/g *Bifidobacterium bifidum* Bb02, *Bifidobacterium longum* Bb46 ve her iki probiyotiğin karışımı kullanılarak geleneksel bir İtalyan peyniri olan Canestrato Pugliese peyniri üretilmiştir. Peynirlerdeki canlı Bifidobakteri sayılarının 19 gün sonra  $10^7$  seviyesinde olduğu, 56 gün sonra canlı *Bifidobacterium bifidum* Bb02 ve

*Bifidobacterium longum* Bb46 sayılarının sırasıyla  $10^6$  ve  $10^5$  kob/g değerlerine düştüğü görülmüş ve peynire Bifidobakterilerin ilavesi olgunlaşma süresince starter olarak kullanılan mezofilik lakobasillerin ve *Streptococcus thermophilus*'un gelişme ve canlılığını desteklemiştir. Çalışmada geleneksel yöntemle üretilen kontrol peynirinden farklı olarak Bifidobakteri içeren peynirlerdeki laktozun tamamının metabolize edildiği belirlenmiştir. Araştırmacılar Bifidobakteri ilavesinin genel olarak Canestrato Pugliese peynirinin temel karakteristik mikrobiyolojik, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini etkilemediğini belirtmişlerdir. Yılmaztekin et al. (2004), *Lactobacillus acidophilus* LA-5 ve *Bifidobacterium bifidum* BB-02'nin salamura beyaz peynirde 90 günlük depolama süresince yaşama ve gelişme kabiliyetlerini incelemişlerdir. Çalışmada *L. acidophilus* ve *B. bifidum* sırasıyla  $(2.0-2.1) \times 10^9$  kob/g ve  $(1.0-1.3) \times 10^9$  kob/g seviyelerinde %5.0 ve %2.5 oranlarında peynir sütüne ilave edilmiştir. Araştırmada yüksek probiyotik inokulasyonu sonucunda peynirlerde hızlı proteoliz görülmüştür. Özellikle %5 probiyotik katılan peynirlerdeki; suda çözünen azot, protein olmayan azot, proteoz-pepton azotu ve tirozin değerleri çalışmada üretilen diğer peynirlerden yüksek bulunmuştur. Peynirlerdeki probiyotik mikroorganizma sayıları olgunlaşma süresince düşmüş, yine de mikroorganizma sayıları 90. günde minimum doz olarak önerilen  $10^6$  kob/g seviyelerinde kalmıştır.

## 6. 2. Laktobasiller

Laktik asit bakterileri ve özellikle Laktobasiller 1915 yılından beri bağırsak florasını düzenlemek ve enfeksiyonları önlemek için kullanılmaktadırlar (Kılıç, 2001). Probiyotik olarak kullanımda *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. johnsonii* ve *L. casei* en çok dikkati çeken Laktobasil türleri arasındadır. *Lactobacillus paracasei* gibi mezofilik probiyotik kültürler peynir üretiminde kullanılabilirlerdir. Bunların bazı önemli aroma ve lezzet bileşiklerinin oluşumunda etkili olduğu ve peynir olgunlaşmasını hafif bir şekilde hızlandırdığı bildirilmektedir. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* suşunun aminotransferaz aktivitesi peynirlerde bazı aroma aktif bileşiklerin oluşumundan sorumludur. Aminotransferaz aktivitesi olan suşlar dallanmış zincirli aminoasitleri (lösin, izolösin ve valin) degradasyona uğratarak aroma bileşikleri oluşturmaktadırlar (Hansen et al., 2001). *Lactobacillus paracasei* bir çok peynir türünün doğal laktik florasında başlıca laktik asit bakterisi olarak bulunabilmektedir. Örneğin starter kültür katılmadan üretilen Tenerife keçi peynirinin mikrobiyal florasındaki değişimlerin incelendiği bir çalışmada 2 ay olgunlaşmadan sonra dominant iki

mikroorganizmadan birinin *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* olduğu belirlenmiştir (Zárate et al., 1997). *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* suşları esas olarak probiyotik mikroorganizmalardır (Sanders and Klaenhammer, 2001). Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus paracasei* F19 suşunun yetişkin ve çocukların bağırsak mukozasına iyi yapışma özelliğinde olduğu tespit edilmiştir (Kirjavainen et al., 1998). Yine Holzapfel and Schillinger (2002) *Lactobacillus paracasei*'nin immun sistemin modülasyonu ve gastrointestinal rahatsızlıkları tedavisinde (özellikle diyareler) probiyotik olarak olumlu sonuçlar verdiğini belirtmektedirler.

Gardiner et al. (1998) insan kaynaklı *Lactobacillus* türlerini (*Lactobacillus paracasei* NFBC 338 ve NFBC 364; *Lactobacillus salivarius* NFBC 310, NFBC 321 ve NFBC 348) destek kültür olarak kullanmak suretiyle probiyotik etkili bir Cheddar peyniri geliştirmeye çalışmıştır. Çalışma sonucunda özellikle *Lactobacillus paracasei*'nin karışık suşlarının Cheddar peynirinde destek starter olarak kullanımının çok uygun olacağı ve 8 ay olgunlaşma sonunda peynirde yüksek sayılarda bulunabileceği belirlenmiştir (sırasıyla 8. ay sonundaki *L. paracasei* NFBC 338 ve 348 suşlarının peynirdeki sayıları sırasıyla  $1.4 \times 10^7$  kob/g ve  $9.2 \times 10^7$  kob/g). Destek kültürler serbest yağ asitleri oluşumuna etki etmiş iken, peynirin duyuşsal özelliklerini değiştirmemişlerdir. Konu ile ilgili olarak yapılan başka bir çalışmada, Gouda peyniri üretiminde starter olarak Bifidobakteriler ile *Lactobacillus acidophilus* Ki suşu kombinasyon olarak kullanılmış, olgunlaşmanın 9. haftasından sonra peynir aroması üzerinde önemli değişiklikler tespit edilmiştir. Bu durumun Bifidobakterilerin asetik asit üretiminden kaynaklanabileceği bildirilmiştir (Gomes et al., 1995).

## 6. 3. Enterokoklar

Enterokoklar bir çok gıdada gıda güvenliğinin geliştirilmesi için teklif edilen mikrobiyal katkılardandır. Antibakteriyel proteinler (bakteriosinler) üreten enterokok suşları peyniri de içeren bir çok gıda grubuna ilave edildiğinde bu gıdalarda *Listeria monocytogenes* gibi gıda patojenlerinin gelişimi engelleyebilmektedir. Literatürlerde enterokokların geleneksel peynirlerin olgunlaşma ve aroma gelişiminde önemli rol oynadığı ve peynire ilave edildiğinde duyuşsal özellikler üzerine pozitif etkileri olduğu bildirilmektedir. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus durans* ve *Enterococcus faecium* bakterilerinin çeşitli suşlarının destek kültür olarak Cheddar peynirinde kullanımında olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Bu



mikroorganizmaların ilavesi proteoliz ve lipolizi artırarak aroma gelişimini hızlandırmıştır (Gardiner et al., 1999a). Bununla beraber Laktik Asit Bakterileri Endüstriyel Platformu Uluslararası Toplantısı'nda sadece probiyotik özellikleri gösterilmiş olan suşların gıda katkısı olarak kullanımları önerilmiştir (Guarner and Schaafsma, 1998; Gardiner et al., 1999a). Genellikle enterokoklardan *Enterococcus faecium* suşları gıda uygulamalarında probiyotik amaçlı kullanılabilir. *Enterococcus faecium* suşlarının yüksek seviyede bakteriosin üretmesi ve insanlarda enterokoklarla ilgili olan enfeksiyonların % 80'inin de *Enterococcus faecalis* suşlarının tanımlanması bunun önemli nedenleri arasında gösterilmektedir. Enterokok'lardan *Enterococcus faecium* SF68 suşunun düşük pH'ya dayanıklı, safra asitlerine duyarlı ve dış etkileri oldukça yüksek seviyede tolere edebildiği bildirilmektedir (Franz et al., 1999). Yapılan çalışmalarda *Enterococcus faecium* SF68 suşunun çocuklarda diyarenin önlenmesi ile ilgili araştırmalarda oldukça olumlu sonuçlar verdiği de bilinmektedir (Franz et al., 1999). Yine *Enterococcus faecium* PR88 suşunun insanlarda kolitis semptomlarını azalttığı ve probiyotik kullanım için kullanılabilir bir suş olduğu belirtilmektedir (Gardiner et al., 1999a).

Gardiner et al. (1999a), Cheddar peynirinde *Enterococcus faecium*'un (PR88 suşu) gelişme karakteristiklerini çalışmışlardır. Çalışmada peynir sütüne  $2 \times 10^7$  kob/g starter ilave edildiğinde, ilave edilen mikroorganizmaların 9 ay olgunlaştırma süresince  $3 \times 10^8$  kob/g seviyelerinde canlılıklarını sürdürdükleri tespit edilmiştir. Çalışmada, olgunlaşma periyodu boyunca kontrol peynir ile PR88 suşu ilave edilen peynir karşılaştırıldığında PR88 suşunun ilave edildiği peynirde proteolizin arttığı ve yüksek seviyelerde koku-aktif uçucu bileşiklerin meydana geldiği görülmüştür. Ayrıca, PR88 suşunun ilavesi peynir kompozisyonuna ve peynirin duyuşal özellikleri üzerine etki etmemiştir. Tekrar eden ticari denemelerde, araştırmacılarca probiyotik mikroorganizma ilave edilen peynirin aromasının daha iyi olduğu ve kontrol peynirine göre daha avantajlı olduğu bildirilmiştir. Gardiner et al. (1999b) yaptıkları başka bir çalışmada gastrointestinal sisteme probiyotik bir bakteri olan *Enterococcus faecium*'un Fargo 688® suşunun taşınmasında (dağıtılmasında) Cheddar peynirinin uygun bir araç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmışlardır. Araştırmada peynir sütüne  $2 \times 10^{10}$  kob/g *Enterococcus faecium* içeren kültürden % 0.01 (ağırlık/hacim) oranında, ve *Enterococcus faecium*'un Fargo 688® Rif kültüründen (hayvan besleme çalışmasında sonradan yapılacak selektif sayım için kullanılmıştır) % 2 oranında ilave edilmiştir. Fargo 688® suşunun Cheddar peynirinde

8°C'de yapılan 15 aylık depolamadan sonra  $4 \times 10^8$  seviyesinde canlılığını sürdürdüğü tespit edilmiştir. Çalışmanın bir parçası olarak yürütülen besleme denemesinde 8 domuz 21 gün boyunca Cheddar peyniri ile  $1.3 \times 10^{10}$  kob/gün probiyotik bakteri almışlardır. Besleme periyodu süresince domuzlardaki ortalama fekal probiyotik sayısının  $2 \times 10^6$  kob/g dışkı olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada elde edilen bu veriler gastrointestinal sisteme canlı probiyotik bakterilerin taşınmasında Cheddar peynirinin oldukça uygun bir araç olduğunu göstermiştir. Konu ile ilgili olarak yapılan son çalışmalardan birinde, Cheddar peyniri üretiminde bazı *Lactobacillus* ve *Enterococcus* spp. suşları değerlendirilmiştir. Çalışmada *L. paracasei* suşunun (NFBC 338) Cheddar peynirinde yüksek seviyede geliştiği ve kullanılan kültürlerin sütteki gelişmelerinin peynire göre daha yavaş olduğu belirtilmiştir. 8 °C'de 15 ay olgunlaşma süresince çalışmada kullanılan *E. faecium* Fargo 688 Cheddar peynirinde yüksek sayılarda ( $4 \times 10^8$  kob/g) canlılığını sürdürmüştür. Aynı bakteri suşunun yoğurtta 4 °C'de 21 gün depolama sonunda  $4 \times 10^7$  kob/g seviyelerinde canlı kaldığı da bildirilmiştir. Yine çalışmada kullanılan bakteri suşlarının ilavesinin peynirlerin kalite kriterleri üzerinde (aroma, lezzet ve tekstür) olumsuz bir etkisi gözlenmemiş iken, özellikle enterokok suşları ilavesinin Cheddar peyniri aromasını geliştirdiği belirlenmiştir. Söz konusu probiyotik peynirin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek seviyelerde koku-aktif uçucu bileşik içerdiği head space GC/MS yöntemiyle tespit edilmiş, yine HPLC ile yapılan analizde de serbest aminoasit seviyesinin arttığı belirlenmiştir. Araştırmacılarca özellikle Cheddar peyniri üretiminde enterokok suşlarının kullanımının peynir aromasını geliştirmesi ve son ürünün probiyotik özellik göstermesi nedeniyle hem sağlık açısından hem de ekonomik açıdan daha avantajlı olduğu belirtilmiştir (Stanton and Ross, 2000).

## 7. SONUÇ

Probiyotik içeren peynirlerin üretilmesi hem süt ürünleri üreten firmalar arasından rekabetin oluşmasına hem de daha besleyici ve fizyolojik kalitesi yüksek süt ürünlerinin üretiminin artmasına olanak sağlayacaktır. Genel olarak dünyanın çeşitli bölgelerinde ve ülkemizde değişik tip peynirler günde en az bir defa (özellikle kahvaltılarda) tüketilmektedir. Dolayısıyla peynirlerin probiyotiklerin taşıyıcısı olarak kullanılması oldukça önemli ve etkin bir yaklaşımdır. Probiyotik bakterilerin peynir üretiminde başarılı bir şekilde

kullanılmaları; onların ürünün raf ömrü boyunca canlılıklarını belli sayılarda sürdürmesi yanında peynirin kompozisyonu, lezzeti, tekstürü ve diğer duyuşal özelliklerine olumsuz etki etmemeleri ile mümkündür. Eğer ülkemizde üretilen peynirler, geleneksel peynir yapım teknolojisinde hiçbir değişikliğe gidilmeden ya da çok az bir değişim ile probiyotik olarak üretilebilirlerse, bu durum hem tüketicilere daha sağlıklı gıdalar sunulmasını sağlayacak hem de üreticiler açısından bu tip ürünlerin ticari olarak üretimi daha cazip hale gelecektir.

## 8. KAYNAKLAR

- Anonymous, 2004. Dairy Reporter. Nestle Probiyotik Bakteri olan *L. johnsonii*'nin Şifresini Çözdü. Alınmıştır: Türk Tarım, Nisan-Mayıs 2004, Sayı 156, Sayfa 79.
- Anonymous, 2001. FAO/WHO. Evaluation of health and Nutritional Properties of Powder Milk With Lactic Acid Bacteria. Report from FAO/WHO Expert Consultation. 1-4 Oct., 2001, Cordoba, Argentina.
- Beresford, T. P. 2003. Non-starter Lactic Acid Bacteria (NSLAB) and Cheese Quality. Dairy Processing: Improving Quality (G. Smit), CRC pres, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, England, 448-469.
- Blanchette, L., Roy, D., Belanger, G., Gauthier, S. F. 1996. Production of Cottage Cheese Using Dressing Fermented By Bifidobacteria. J. Dairy Sci. 79: 8-15.
- Boylston, T. R., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B., Reinheimer, J. A. 2004. Incorporation of Bifidobacteria Into Cheeses: Challenges and Rewards. Int Dairy J. 14 (5): 375-387.
- Brearty, S. Mc., Ross, P., Fitzgerald, G.F., Collin, J.K., Wallace, J.M., Stanton, C. 2001. Influence of two Commercially Available Bifidobacteria Cultures on Cheddar Cheese. Int. Dairy J. 11(8): 599-610.
- Corbo, M.R., Albenzio, M., De Angelis, M., Sevi, A., Gobbetti, M. 2001. Microbiological and Biochemical Properties of Canestrato Pugliese Hard Cheese Supplemented With Bifidobacteria. J. Dairy Sci. 84: 551-561.
- Corthier, G. 2004. The Health Benefits of Probiotics. Danone Nutritopics No: 29, March 2004, Route Departementale 128, 91767 Palaiseau Cedex, France, 17 p.
- Dave, R. I., Snah, N. P. 1997. Characteristics of Bacteriosin Produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-1. Int. Dairy J. 7: 707-715.
- Dinekar, P., Mistry, V. V. 1994. Growth and Viability of *Bifidobacterium bifidum* in Cheddar cheese. J. Dairy Sci. 77: 2854-2864.
- Famularo, G., Moretti, S., Marcellini, S., De Simone, D. 1997. Stimulation of Immunity bt Probiotics. In Fuller, R. 1997. Probiotics 2: Applications and Practical Aspects. Edited by R. Fuller, Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 133-156p.
- Fonden, R., Mogensen, G., Tanaka, R., Salminen, S. 2000. Effect of Culture-Containing Dairy Products on Intestinal Microflora, Human Nutrition and Health-Current Knowledge and Future Perspectives. Bulletin of the IDF 352: 5-23.
- Fox, P.F., O'Connor, T. P., McSweeney, P.L.H., Guinee, T.P., O'Brien, N. M. 1996. Cheese: Physical, Chemical, Biochemical and Nutritional Aspects. Advances in Food and Nutrition Research 39: 163-328.
- Franz, C.M.A.P., Holzapfel, W.H., Stiles, M.E. 1999. Enterococci at the Crossroads of Food Safety. Int. J. Food Microbiol. 47: 1-24.
- Fuller, R. 1989. Probiotics in man and Animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
- Gardiner, G., Ross, R.P., Collins, J.K., Fitzgerald, G.F., Stanton, C. 1998. Development of a Probiotic Cheddar Cheese Containing Human-Derived *Lactobacillus paracasei* strains. Appl. Environ. Microbiol. 64: 2192-2199.
- Gardiner, G. E., Ross, R. P., Wallace, J. M., Scanlan, F.P., Jagers, P.P.J.M., Fitzgerald, G.F., Collins, J.K., Stanton, C. 1999a. Influence of a Probiotic Adjunct Culture of *Enterococcus faecium* on the quality of Cheddar cheese. J. Agric. Food Chem. 47: 4907-4916.
- Gardiner, et al. 1999b. Evaluation of Cheddar Cheese as a Food Carrier for Delivery of a Probiotic Strain to the Gastrointestinal Tract. J. Dairy Sci. 82: 1379-1387.
- Ghoddusi, H. B., Robinson, R. K. 1996. The test of time. Dairy Ind. Int. 61: 21-28.
- Gibson, G.R., Saavedra, J. M., MacFarlane, S., MacFarlane, G.T. 1997. Probiotics and Intestinal Infections. In Probiotics 2: Applications and Practical Aspects, Edited by R. Fuller, Chapman &

- Hall, 2-6 Boundary Row, London SE1 8HN, England, 212p.
- Gibson, G., 2002. Probiotics: a Growth Industry. Dairy Ind. Int. January 18-20.
- Gobbetti, M., Corsetti, A., Smacchi, E., Zocchetti, A., De Angelis, M. 1998. Production of Crescenza Cheese by Incorporation of Bifidobacteria. J. Dairy Sci. 81: 37-47.
- Godward, G., Sultana, K., Kailasapathy, K., Peiris, P., Arumugaswamy, R., Reynolds, N. 2000. The Importance of Strain Selection on the Viability and Survival of Probiotic Bacteria in Dairy Foods. Milchwissenschaft 55 (8): 441-445.
- Gomes, A.M.P., Malcate, F.X., Klaver, F.A.M., Grande, H.G. 1995. Incorporation and Survival of Bifidobacterium sp. Strain Bo and *Lactobacillus acidophilus* strain Ki in a Cheese Product. Netherlands Milk and Dairy J. 49: 71-95.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X. 1998. Development of Probiotic Cheese Manufactured From Goat Milk: Response Surface Analysis Via Technological Manipulation. J. Dairy Sci. 81: 1492-1507.
- Gomes, A.M.P., Silva, M.L.P.C., Malcata, F.X. 1998. Caprine Cheese With Probiotic Starins: The Effect of Ripening Temperature and Relative Humidity on Proteolysis and Lypolysis. Z. Lebensm Unters Forsch A 207: 386-394.
- Gomes, A.M.P., Malcata, F.X. 1999. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus Acidophilus: Biochemical, Technological and Therapeutic Properties Relevant For Use As Probiotics. Trends in Food Sci. & Technol. 10: 139-157.
- Guarner, F., Schaafsma, G.J., 1998. Probiotics, Int. J. Food Microbiol. 39: 237-238 (1998).
- Guslandi, M. 2003. Probiotics for Chronic Intestinal Disorders, Am. J. Gastroentol. 98(3): 520-521.
- Gürsoy, O., Çon, A.H., Gökçe, R., Gökalp, H.Y., 1999. Fermente Süt Ürünlerinde Bifidobakteriler ve Sağlıkla İlişkisi. O.M.Ü. Ziraat Fakültesi Derg. 14(2): 173-183.
- Gürsoy, O., Kınık, Ö. 2004. Fonksiyonel Gıda İngrediyenti Olarak Probiyotikler ve Yasal Düzenlemeler İçin Japonya Modeli. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Derg. 34 (3): 340-349.
- Hagen, M., Narvhus, J.A., 1999. Production of Ice Cream Containing Probiotic Bacteria. Milchwissenschaft 54(5): 265-268.
- Hansen, B.V., Houlberg, U., Ardö, Y. 2001. Transamination of Branched-chain Amino Acids by a Cheese Related *Lactobacillus paracasei* strain. Int. Dairy J. 11(4-7): 225-233.
- Hayaloğlu, A.A. 2003. Starter Kültür Olarak Kullanılan Bazı Lactococcus Suşlarının Beyaz Peynirlerin Özellikleri ve Olgunlaşmaları Üzerine Etkileri. Doktora Tezi. Ç. Ü. Fen Bil. Enst. Gıda Müh. ABD., Adana, 170s.
- Hekmat, S., McMahon, D.J. 1992. Survival of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice Cream for Use as Probiotic food. J. Dairy Sci. 75: 1415-1422.
- Holzappel, W.H., Schillinger, U. 2002. Introduction to pre- and Probiotics. Food Research Int. 35 (2/3): 109-116.
- Joseph, P., Dave, R.I., Snah, N.P. 1997. Antagonism Between Yogurt Bacteria and Probiotic Bacteria Isolated From Commercial Starter Cultures, Commercial Yogurts and A Probiotic Capsule. Food Australia 50: 20-23.
- Ishibashi, N., Shimamura, S. 1993. Bifidobacteria: Research and Development in Japan. Food Technology 46: 126-135.
- Keব্য, K.M.K. 1996. Viability of *Bifidobacterium bifidum* and its effect on Quality of frozen Zabady. Food Research Int. 29 (5-6): 431-437.
- Kılıç, S. 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Matbaası, Bornova, İzmir.
- Kirjavainen, P.V., Ouwehand, A.C., Isolauri, E., Salminen, S. J. 1998. The ability of Probiotic Bacteria to Bind to Human Intestinal Mucus. FEMS Microbiology Letters 167 (2): 185-189.
- Lukas, A., Sodini, I., Monnet, C., Jolivet, P., Corrieu, G. 2004. Probiotic Cell Counts and Acidification in Fermented Milks Supplemented With Milk Protein Hydrolysates. Int. Dairy J. 14: 47-53.
- Ouwehand, A. C., Salminen, S., Isolauri, E. 2002. Probiotics: an Overview of Beneficial effects. Antonie van Leeuwenhoek 82: 279-289.
- Ross, R.P., Fitzgerald, G., Collins, K., Stanton, C., 2002. Cheese Delivering Biocultures-probiotic Cheese. Aust. J. Dairy Technol. 57: 71-78.
- Salminen, S., Deighton, M., Gorbach, S., 1992. Lactic Acid Bacteria in Health and Disease. In

“Lactic Acid Bacteria”, Edited by S. Salminen and A. von Wright, Marcel Dekker Inc. 270 Madison Avenue, New York, 10016, USA, 442p.

Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M.C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G.R., Isolauri, E., Moreau, M.C., Roberfroid, M., Rowland, I. 1998. Functional Food Science and Gastrointestinal Physiology and Function. British Journal of Nutrition 80 (Suppl. 1): 147-171.

Sanders, M.E., Walker, D.C., Walker, K.M., Aoyama, K., Klaenhammer, T.R., 1996. Performance of Commercial Cultures in Fluid Milk Applications. J. Dairy Sci. 79: 943-955.

Sanders, M.E., in't Veld, J.H. 1999. Bringing a Probiotic-Containing Functional Food to the Market: Microbiological, Product, Regulatory and Labeling Issues. Antonie Van Leeuwenhoek 76: 293-315.

Sanders, M.E., Klaenhammer, T.R. 2001. Invited Review: The Scientific Basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM Functionality as a probiotic. J. Dairy Sci. 84: 319-331.

Snah, N. P. 1997. Bifidobacteria: Characteristics and Potential for Application in Fermented Milk Products. Milchwissenschaft 51 (1): 16-21.

Snah, N.P., Lankaputhra, W.E.V. 1997. Improving Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in Yogurt. Int. Dairy J. 7: 349-356.

Snah, N. P. 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy foods, J. Dairy Sci. 83: 894-907.

Stanton, C., Ross, R. P. 2000. New Probiotic Cheddar Cheese. End of Project Report. ISBN: 1 84170 122 X, ARMIS No. 4266, DPRC No. 29. Irish Agriculture and Food Development Authority, Dairy Products Research Centre Teagasc, Moorepark, Fermoy, Co., Cork, Ireland.

Stanton, C., Gardiner, G., Lynch, P.B., Collins, J.K., Fitzgerald, G., Ross, R.P. 1998. Probiotic cheese. Int. Dairy J. 8: 491-496.

Stanton, C., Gardiner, G., Meehan, H., Collins, K., Fitzgerald, G., Lynch, P. B., Ross, R. P. 2001. Market Potential for Probiotics. Am. J. Clin. Nutr. 73 (Suppl.): 476-483.

Sullivan, A., Nord, C.E. 2002. The place of Probiotics in Human Intestinal Infections. Int. J. Antimicrobial Agents 20 (5): 313-319.

Vinderola, C.G., Costa, G.A., Regenhardt, S., Reinheimer, J. A. 2002. Influence of Compounds Associated With Fermented Dairy Products on the Growth of Lactic Acid Starter and Probiotic Bacteria. Int. Dairy J. 12 (7): 579-589.

Yilmaztekin, M., Ozer, B, Atasoy, F. 2004. Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB-02 in White-bried Cheese. Int. J. Food Sci. & Technol. 55 (1): 53-60.

Zárate, V., Belda, F., Pérez, C., Cardell, E. 1997. Changes in the Microbial flora of Tenerife goats' Milk Cheese During Ripening. Int. Dairy J. 7 (10): 635-641.