

BEYAZ PEYNİRDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ASİT OLUŞTURMA VE PROTEOLİTİK AKTİVİTELERİ

ACIDIFYING AND PROTEOLYTIC ACTIVITIES OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM WHITE PICKLED CHEESE

Memduh KARAKUŞ

TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü, Gebze-KOCAELİ

ÖZET: Beyaz peynir üretimi için starter kültür suşlarının seleksiyonu amacıyla, üretimin çeşitli aşamalarında izole edilen 82 adet *Lactococcus lactis* spp, 49 adet *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis*, 60 adet *Lactobacillus casei* ve 37 adet *Lb. plantarum* suşlarının yağsız süt ortamında asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri incelenmiştir. pH değerinde azalma (Δ pH) ile ölçülen asit oluşturma aktiviteleri *Lc.lactis* ssp. *lactis* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarında benzer şekilde geniş sınırlar içinde değişmiş olup saptanan en düşük ve en yüksek Δ pH değerleri türlere göre sırasıyla 0,55-1,83 ve 0,50-1,81'dir. *Lactobacillus* türlerine ait suşların asit oluşturma aktivitelerinin çok zayıf olduğu belirlenmiş ve en yüksek değer her iki türde de 0,32 olarak saptanmıştır. Proteolitik aktivite değerleri de *Lactococcus* türlerinde oldukça geniş bir aralık içinde değişim göstermiş olup bulunan en düşük ve en yüksek değerler *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarında 3,5-26,6 μ g tirozin/ml, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarında 4,4-26,2 μ g tirozin/ml'dir. *Lactobacillus* türlerinin proteolitik aktiviteleri *Lactococcus* türlerine kıyasla daha düşük bulunmuştur. Değerler *Lb. casei*'de 0,8-18,6, *Lb.plantarum*'da ise 4,4-19,2 μ g tirozin/ml arasındadır.

SUMMARY: In order to select starter culture strains for white pickled cheese production, acidifying and proteolytic activities of 82 *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis*, 49 *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis*, 60 *Lactobacillus casei* and 37 *Lb. plantarum* strain isolated at various stages of the production were investigated in skim milk medium. Acidifying activities measured by the decrease of pH value (Δ pH) varied within the range of 0.55 to 1.83 for *Lc.lactis* ssp. *lactis* strains and of 0.50 to 1.81 for *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* strains. Whereas this activity was found to be considerably weaker in *Lb. casei* and *Lb. plantarum* strains. Maximum Δ pH value obtained was 0.32 in strains belonging to each of these two species. The proteolytic activity values were also found to vary within a very broad range in *Lactococcus* species. Maximum and minimum values were 3.5 and 26.6 μ g tyrosine/ml for *Lc.lactis* ssp. *lactis* strains and 4.4 and 26.2 μ g tyrosine/ml for *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* strains. *Lactobacilli* were less proteolytic than lactococci. The values obtained were found to range from 0.8 to 18.6 μ g tyrosine/ml for *Lb.casei* and from 4.4 to 19.2 μ g tyrosine/ml for *Lb.plantarum* strains.

GİRİŞ

Süte starter kültür olarak katılan veya sütte doğal kontaminant olarak bulunan laktik asit bakterilerinin peynirlerin yapım ve olgunlaşmasında temel rolleri vardır. Bu bakterilerin peynir üretiminde en önemli işlevi laktozu fermente ederek laktik asit oluşturmalarıdır. Oluşan laktik asidin, sütün peynir mayasıyla pıhtılaşması, peynir altı suyunun ayrılması, doku ve lezzetin gelişmesi, patojenlere karşı ürünün korunması ve ürün dayanımının artırılması üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Diğer bir ifadeyle, laktik asit bakterilerinin faaliyeti sonucu asitliğin gelişmesi peynir yapımını her yönden etkilemekte ve dolayısıyla peynirin bileşimi ve kalitesi üzerinde belirleyici olmaktadır (FOX ve ark., 1990).

Öte yandan, laktik asit bakterileri sahip oldukları proteolitik enzimlerle kazeini hidrolize ederek peynirlerin olgunlaşmasında yapı ve doku gibi reolojik özelliklerinin yanı sıra lezzet gelişimine de önemli katkılarda bulunmaktadır. Kazeinin α_{s1} fraksiyonunun hidrolizi sonucu taze peynirdeki elastiki yapı olgun peynire özgü yumuşak yapıya dönüşmektedir (CREAMER ve OLSON, 1982; LAWRENCE ve ark., 1987). Ayrıca peynirlerde proteoliz sonucu oluşan küçük moleküllu peptitler ve serbest amino asitler çeşitli enzimatik ve kimyasal değişimlere uğrayarak aldehit, keton, amin v.b. aroma bileşiklerinin oluşumunda rol oynamaktadırlar (SCHORMÜLLER, 1968; KILARA ve SHAHANI, 1977; LAW, 1984). Ancak, bazı *Lactococcus* suşlarının hücre duvarına bağlı proteinaz aktivitelerinin sert ve yarı sert peynirlerde acı lezzete peptitlerin oluşumuna yol açan olumsuz etkileri de bulunmaktadır (STADHOUDERS ve ark., 1983; VISSER ve ark., 1986; MILLS ve THOMAS, 1980). Acı peptitlerin oluşumunun starter suşlarının sahip olduğu proteinaz enziminin tipine bağlı olduğu ve bazı *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* suşlarının bu tür peptit oluşturma yeteneklerinin bulunmadığı bildirilmiştir (VISSER ve ark., 1983). Ayrıca, tüm *Lactococcus* suşları acı peptitleri parçalayarak acı olmayan bileşiklere dönüştüren peptidaz enzimlerini içerirler (THOMAS ve PRITCHARD, 1987). Dolayısıyla, peynirlerde acılaşma kusurunun ortaya çıkması, bu iki farklı enzimin aktivite düzeyine bağlıdır. Starter suşlarının proteolitik aktiviteleri, başlıca azot kaynağı kazein

olan sütte bu bakterilerin gelişme ve buna bağlı olarak asit oluşturma hızları açısından da önem taşımaktadır. *Lactococcus* türlerinin hücre duvarına bağlı ekstraselüler proteinaz ve peptidaz enzimlerine sahip oldukları bilinmektedir (KAMALY ve MARTH, 1989). Bu enzimler sayesinde kazeinin degradasyonu ile oluşan peptitler hücre içine alınabilmekte ve daha sonra intraselüler peptidazların etkisiyle serbest amino asitlerine parçalanarak hücre materyalinin sentezlenmesinde kullanılmaktadır.

Bu açıklamalar doğrultusunda, peynir üretiminde starter kültür olarak kullanılacak laktik asit bakteri suşlarının seleksiyonunda teknolojik yönden büyük önem taşıyan asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri birinci derecede göz önüne alınması gereken kriterleri oluşturmaktadır. Bu çalışmada, beyaz peynirin geleneksel yöntemle üretiminde ve olgunlaşmasında mikroflora içinde sayısal önem taşıdıkları belirlenen (KARAKUŞ ve ALPERDEN, 1992) *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc.lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis*, *Lactobacillus casei* ve *Lb. plantarum* türlerine ait izole suşların asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri incelenmiştir. Bulguların beyaz peynire özgü bir starter kültür formülasyonunun geliştirilmesi için yürütmekte olduğumuz çalışmalara ışık tutması amaçlanmıştır.

ÖZDEK VE YÖNTEMLER

Kültürler: Çalışma kapsamında, beyaz peynir üretiminin çeşitli aşamalarında, çiğ süt, pıhtı, taze ve olgun peynir örneklerinden izole edilen 82 adet *Lactococcus lactis* spp, 49 adet *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis*, 60 adet *Lactobacillus casei* ve 37 adet *Lb. plantarum* suşu incelenmiştir. Ayrıca, Chr. Hansen, Laboratorium Wiesby ve Yeni Zelanda Sütçülük Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan toplam dokuz adet karışık (G-2 Mix A, Frobat 8/12, CH-148) ve tek peynir kültürleri (*Lc.lactis* ssp *lactis* 81, CH-1 ve AM2, *Lc.lactis* ssp. *cremoris* 24 ve 166, *Lc.lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* B/1) karşılaştırma amacıyla denemelere dahil edilmiştir. Liyofilize formda muhafaza edilen kültürler testlere alınmadan önce laktokok suşları M-17, laktobasil suşları ise MRS sıvı besi yerlerinde canlandırıldıktan sonra litmuslu süte ekilerek +5°C'de muhafaza edilmişlerdir.

Asit Oluşturma Aktivitesi: Bu amaçla HEAP ve LAWRENCE (1981) tarafından modifiye edilmiş PEARCE (1969) yöntemi inkübasyon sıcaklığının Cheddar peyniri üretim teknolojisine uygun olarak önerilen sıcaklık programına göre değil, 30°C'de sabit tutularak uygulanmıştır. Test için gerekli "NILAC powder" ticari adlı özel süt tozu Hollanda Sütçülük Araştırma Enstitüsü'nden (NIZO) sağlanmıştır. Aktivite testi için inokulum hazırlama aşamasında *Lactococcus* suşları yağsız süt besi yerinde iki pasajla aktive edildikten sonra yöntemde önerildiği gibi 22°C'de 16,5 saat inkübasyona tabi tutulmuş, *Lactobacillus* suşları için ise 30°C'de 48 saat inkübasyon uygulanmıştır. Asit oluşturma aktivitesi 9,7 ml % 10 KM içeren süte 0,2 ml kültür aşılandıktan ve 0,1 ml peynir mayası ilavesinden sonra 30°C'de 5 saat inkübasyon sonunda pH değerinde azalma (Δ pH) olarak ifade edilmiştir.

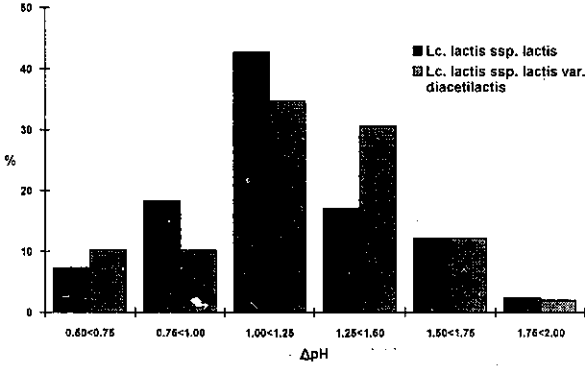
Proteolitik Aktivite: Kültürlerin proteolitik aktiviteleri spektrofotometrik olarak CITTI ve ark. (1963) tarafından modifiye edilmiş HULL (1947) yöntemi ile belirlenmiş ve kültürlerin asit oluşturma testinde uygulanan inkübasyon koşullarında kültürlerin süt proteinlerini hidrolize ederek oluşturdukları peptit ve amino asitler tirozin cinsinden μ g/ml olarak ifade edilmiştir.

BULGULAR VE TARTIŞMA

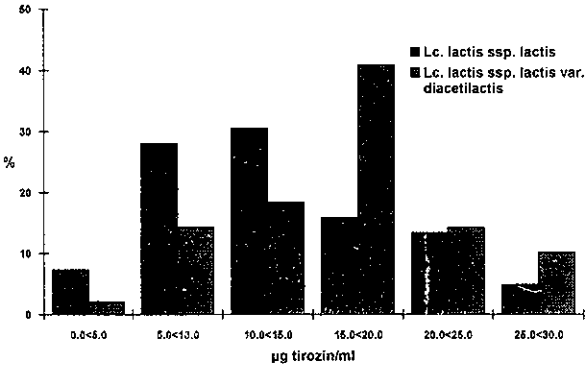
İncelemeye alınan *Lc. lactis* ssp. *lactis* ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarının gerek asit oluşturma ve gerekse proteolitik aktivitelerinin benzer şekilde geniş sınırlar içinde değiştiği saptanmıştır.

Lc. lactis ssp. *lactis* suşlarının asit oluşturma aktiviteleri Δ pH olarak 0,55 ile 1,83 arasında değişirken bu değerler *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarında 0,50 ile 1,81 arasında bulunmuştur. Bu iki türe ait suşların asit oluşturma aktiviteleri bakımından frekans dağılımları Şekil 1'de verilmiştir. *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarının % 25,6'sı yavaş asit oluşturma aktivitesine sahip olup (Δ pH < 1,00), % 59,7'si orta düzeyde ($1,00 < \Delta$ pH < 1,50) ve % 14,6'sı hızlı aktivite göstermiştir (Δ pH > 1,50). *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarının ise % 20,4'ünün yavaş, % 65,3'ünün orta ve % 14,2'sinin hızlı aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Proteolitik aktivite değerleri (PAD) ise *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarında (μ g tirozin/ml) 3,5 ile 26,6 arasında; *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetilactis* suşlarında 4,4 ile 26,2 arasında değişim göstermiştir. Her iki türe ait suşların proteolitik aktivitelerinin frekans dağılımlarının verildiği Şekil 2 incelendiğinde *Lc. lactis*



Şekil 1. *Lc. lactis* ssp. *lactis* (n=82) ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* (n=49) suşlarının asit oluşturma aktivitelerine göre relatif (%) frekans dağılımları



Şekil 2. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* (n=82) ve *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* (n=49) suşlarının proteolitik aktivitelerine göre relatif (%) frekans dağılımları

Çizelge 1. Peynir Üretiminde Kullanılan Bazı karışık ve Tek Kültürlerin Asit Oluşturma ve Proteolitik Aktiviteleri

Kültür	Asit oluşturma aktivitesi (ΔpH)	Proteolitik aktivite (µg tirozin/ml)
G-2 Mix A (Lab. Wiesby)	1,46	21,9
Probat 8/12 (Lab. Wiesby)	1,10	24,7
CH-148 (Chr.Hansen)	1,11	24,5
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> 81 (Lab. Wiesby)	1,66	28,4
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> CH-1 (Chr.Hansen)	1,23	19,8
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> AM2 (Y.Zelanda)	1,54	18,3
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>cremoris</i> 166 (Y.Zelanda)	1,21	17,9
<i>Lc.lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetilactis</i> B/1 (Chr.Hansen)	1,71	28,2
	1,20	23,9

fermentasyonlarındaki temel işlevi laktozdan laktik asit üretimidir. Bu nedenle starter kültür olarak kullanılacak *Lactococcus* suşlarının seleksiyonunda asit oluşturma aktiviteleri birinci derecede önemli kriter olup asitliğin hızla gelişmesini sağlayan suşlar özellikle değer taşımaktadır (FESNAK ve ark., 1980;

ssp. lactis suşlarının % 35,4'ünün zayıf (PAD<10,00), % 46,3'ünün orta düzeyde (10,00<PAD<20,00) ve % 18,3'ünün kuvvetli (PAD>20,00) aktiviteye sahip oldukları gözlenmektedir.

Lc. lactis ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarının ise % 16,3'ünün zayıf, % 59,2'sinin orta düzeyde ve % 24,5'inin kuvvetli aktivite gösterdiği saptanmıştır.

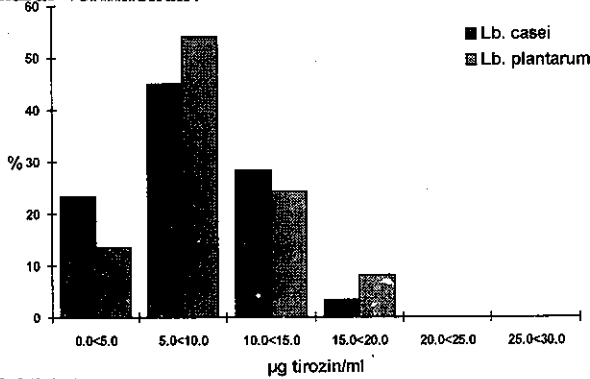
Lactococcus türlerinin proteolitik aktivitelerinin kültürlerin sütteki gelişme hızlarını ve buna bağlı olarak asit oluşturma aktivitelerini etkilediği bilinmektedir (LAWRENCE ve THOMAS, 1979). Bu açıdan, incelenen suşların asit oluşturma ve proteolitik aktiviteleri arasında bir ilişki bulunup bulunmadığını saptamak amacıyla bulgular istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve suşların bu iki aktivitesi arasında iki türde de önemli düzeyde korelasyon bulunduğu belirlenmiştir. Bulunan korelasyon katsayıları *Lc. lactis* ssp. *lactis* suşlarında $r=0,7672$ ($p<0,01$), *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* suşlarında ise $r=0,7741$ ($p<0,01$) olarak hesaplanmıştır.

İncelenen suşların asit oluşturma ve proteolitik aktivitelerinin bazı ticari starter kültürlerle karşılaştırılmasına olanak sağlamak amacıyla üç ayrı kaynaktan sağlanan karışık ve tek kültürlerle de anılan testler uygulanmış ve bulgular Çizelge 1'de verilmiştir. Görüldüğü gibi bu kültürlerin asit oluşturma aktiviteleri izole *Lactococcus* türlerine ait suşların oluşturduğu popülasyonlarda saptanan sınırlar içindedir ve 1,10 ile 1,71 ΔpH değerleri arasında değişmektedir. Yapılan sınıflandırmaya göre bu kültürlerin dört adedi hızlı, beş adedi orta düzeyde aktivite grubuna girmektedir. Proteolitik aktivite değerleri yönünden ise kültürlerin iki adedinin popülasyonlarda belirlenen üst sınır değerinin biraz üzerinde aktiviteye sahip oldukları belirlenmiş, diğerleri söz konusu sınırlar içinde bulunmuştur. Ayrıca, yukarıda verilen sınıflandırma çerçevesinde kültürlerin altı adedinin kuvvetli üç adedinin ise orta düzeyde proteolitik aktivite grubuna girdiği görülmektedir.

Lactococcus türü bakteriler bir çok fermente süt ürünü ve çeşitli peynirlerin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadır. Daha önce de belirtildiği gibi bu bakterilerin süt

STADHOUDERS, 1986). *Lactococcus* türlerinde hızlı olarak nitelenen suşlar, HEAP ve LAWRENCE (1981)'e göre aktivite testinde süt pH'sının 4,8-5,2 değerine düşmesini, yani sütün pH değerinde yaklaşık 1,5-1,9 birimlik azalma sağlayan suşlardır. İncelenen izole suşlarımızın *Lc. lactis* ssp. *lactis* türünde 12 adedi, *Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* türünde ise 7 adedi bu niteliğe sahip bulunmuştur.

Lactococcus suşlarının starter kültür olarak seleksiyonunda proteolitik aktivite asit oluşturma aktivitesine paralel olarak ele alınması gereken bir kriterdir. "Giriş" bölümünde ayrıntılı olarak açıklandığı gibi, bu bakterilerin kültür çoğaltma aşamasında hızla gelişmeleri, peynir yapımında asit oluşumunun istenen düzeyde gerçekleşmesi ve olgunlaşma aşamasında peptit ve amino asit oluşumuyla tat ve aromaya katkıları göz önüne alındığında, yüksek proteolitik aktiviteye sahip suşların tercih edilmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır. Ancak bu niteliği taşıyan suşların peynirde acılaşmaya neden olabileceği dikkate alınarak, seçilen suşların peynir üretiminde denendikten sonra starter kültür olarak kullanıma uygunluğu hakkında karar verilmelidir.



Şekil 3. *Lactobacillus casei* (n=60 ve *Lb. plantarum* (n=37) suşlarının proteolitik aktivitelere göre relatif (%) frekans dağılımları

intervaller kullanılarak düzenlenmiştir) *Lb. casei* suşlarının % 68,3'ü zayıf, % 31,7'si orta düzeyde aktivite göstermiştir. *Lb. plantarum* suşlarının ise % 66,7'si zayıf, % 33,3'ü orta düzeyde aktiviteye sahiptir.

Konuyla ilgili olarak DE GIORI ve ark. (1985a)'nın yaptığı çalışmada da Tafi peynirinden izole edilen *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* suşlarının sütte asit oluşturma hızlarının çok zayıf olduğu saptanmıştır. Yine aynı araştırmacıların laktik asit bakterilerinin proteolitik aktiviteleri üzerine pH ve sıcaklık derecesinin etkileri konusunda yaptıkları diğer bir çalışmada da, bu bakterilerin bir kaç istisna dışında 30°C'da 14 saat inkübasyon sonunda proteolitik aktivitelerinin *Lactococcus* türlerine kıyasla çok düşük düzeylerde bulunduğu belirlenmiştir (DE GIORI ve ark., 1985b). Öte yandan, DESMAZEAUD (1983)'ya göre mezofil laktobasil türlerinin sütte gelişme hızları ve buna bağlı olarak asit oluşturma aktivitelerinin termofil laktobasilere ve laktokoklara kıyasla daha düşük olması bu bakterilerin daha ziyade intraselüler proteolitik sisteme sahip olmalarına bağlıdır.

Beyaz peynirde olgunlaşmanın ileri aşamalarında laktik floranın önemli bir bölümünü oluşturduğu saptanan *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* gibi mezofil laktobasilin diğer bazı peynir çeşitlerinde de aynı şekilde önem taşıdıkları bildirilmiştir (KARAKUŞ ve ark., 1992; ORDONEZ ve ark., 1978; TEKİNŞEN, 1980; SUAREZ ve ark., 1983; PETERSON ve MARSHAL, 1990). Bu bakterilerin Cheddar peynirinde aroma gelişiminde olumlu rolleri olduğu belirtilmiştir (THOMAS, 1985). LEE ve ark. (1986), *Lb. casei* suşlarının *Lactococcus* starter suşlarına göre enzimatik donanımlarının daha zengin olduğunu, özellikle peptidaz ve esteraz gibi enzim sistemlerinin peynirlerde arzulanan tat ve aroma gelişimine önemli katkılarda bulunduğunu bildirmektedirler. Cheddar peyniri üretiminde normal starter kültüre ek olarak *Lb. casei* ve *Lb. plantarum* kültürlerinin kullanımı ile olgunlaşmanın hızlandırılması ve daha zengin aromada peynir üretilebildiği saptanmıştır (LEE ve ark., 1990 a ve b). Bu bakterilerin peynir üretiminde ek kültür olarak kullanımının başlıca avantajları olarak peynirde gelişebilme özelliği taşımaları, α_{s1} kazeini parçalayabilmeleri ve peptidaz enzimlerince zengin olmaları sayılmaktadır (TRÉPANIER ve ark., 1992). Olgunlaşmanın hızlandırılması amacıyla kullanılacak laktobasil suşlarının seçiminde, (1) peptidaz ve proteaz aktivitelerinin yüksek olması, (2) asit oluşturma aktivitelerinin düşük olması, (3) kolay çoğaltılabilmeleri, (4) peynire istenmeyen tat ve aroma özelliği vermemeleri gibi kriterlerin göz önüne alınması gerektiği bildirilmiştir (FREY ve ark., 1986).

Bu görüş ve bilgiler ışığında incelemeye alınan laktobasil suşlarının asit oluşturma aktivitelerinin zayıf olmasının bir avantaj olarak değerlendirilmesi ve beyaz peynir üretiminde kullanılacak starter kültürün

Lactobacillus türlerinin asit oluşturma aktivitelerinin uygulanan inkübasyon koşullarında çok yavaş olduğu belirlenmiş olup suşlara göre çok dar sınırlar arasında değişim göstermiştir. *Lb. casei* türüne ait suşlarda bulunan en düşük ve en yüksek değerler Δ pH olarak sırasıyla 0,09 ve 0,32'dir. *Lb. plantarum* suşlarında ise bu değerler 0,06 ile 0,32 arasında değişmiştir. Bu bakterilerin proteolitik aktiviteleri de *Lactococcus* suşlarına kıyasla genel olarak daha düşük bulunmuş, *Lb. casei* suşlarında 0,8 ile 18,6 μ g/ml, *Lb. plantarum* suşlarında 4,4 ile 19,2 μ g/ml değerleri arasında değişim göstermiştir. Bu suşların proteolitik aktivitelerinin frekans dağılımının verildiği Şekil 3'deki bulgulara göre, (bulgular karşılaştırma açısından laktokoklarla aynı

bileşimine girecek suşların seçiminde mümkün olduğunca yüksek proteolitik aktivite gösteren suşların ele alınması gerektiği sonucuna varılmaktadır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma NATO-SfS programınca desteklenen NATO-TU-FERMENTECH projesi kapsamında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın yayına hazırlanmasında gösterdikleri teşviktan ötürü Proje Direktörü Prof.Dr.İ.Alperden'e ve Gıda ve Soğutma Teknolojileri Bölümü Başkanı Prof.Dr.M.Pala'ya ve teknik desteğinden dolayı N.Uygun'a teşekkürü bir borç bilirim.

KAYNAKLAR

- CITTI, J.E., SANDINE, W.E., ELLIKER, P.R. 1963. Some observations on the Hull method for measurement of proteolysis in milk. *Journal of Dairy Science*, 46, 337.
- CREAMER, L.K., OLSON, N.F. 1982. Rheological evaluation of maturing Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 47, 631-636, 646.
- DE GIORI, G.S., DE VALDEZ, G.F., DE RUIZ HOLGADO, A.P., OLIVER, G. 1985 a. Effect of growth temperature on acid production by lactic acid bacteria. *Microbiologie-Aliments-Nutrition*, 3, 243-246.
- DE GIORI, G.S., DE VALDEZ, G.F., DE RUIZ HOLGADO, A.P., OLIVER, G. 1985 b. Effect of pH and temperature on proteolytic activity of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science*, 68, 2160-2164.
- DESMAZEAUD, M. 1983. Comment les bacteries lactiques se comportent-elles dans le lait? *La Technique Laitière*, No.976, 11-18.
- FESNAK, D., RYMASZEWSKI, J., KORNACKI, K., KRAMKOWSKA, A. 1980. Selection and characterization of strains and cultures to be used in preparing dried and frozen lactic bacterial concentrates. *Acta Alimentaria Polonica*, 6, 269-280.
- FOX, P.F., LUCEY, J.A., COGAN, T.M. 1990. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29, 237-253.
- FREY, J.P., MARTH, E.H., JOHNSON, M.E., OLSON, N.F. 1986. Peptidase and protease of Lactobacilli associates with cheese. *Milchwissenschaft*, 41, 622-624.
- HEAP, H.A., LAWRENCE, R.C. 1981. Recent modification to the New Zealand activity test for Cheddar cheese starters. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 15, 91-94.
- HULL, M.E. 1947. Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *Journal of Dairy Science*, 30, 881-884.
- KAMALY, K.M., MARTH, E.H. 1989. Enzyme activities of lactic streptococci and their role in maturation of cheese: A review. *Journal of Dairy Science*, 72, 1945-1966.
- KARAKUŞ, M., BORCAKLI, M., ALPERDEN, İ. 1992. Beyaz peynirin olgunlaşma sürecinde laktik asit bakterileri. *Gıda*, 17, 363-369.
- KARAKUŞ, M., ALPERDEN, İ. 1992. Microbiological changes during the ripening of Turkish white pickled cheese. In "Food Science and Human Nutrition" G.Charalambous (ed.), Elsevier Science Publishers, Amsterdam. p. 491-498.
- KLARA, A., SHAHANI, K.M. 1978. Lactic fermentation of dairy foods and their biological significance. *Journal of Dairy Science*, 61, 1793-1800.
- LAW, B.A. 1984. Flavor development in cheeses. In "Advances in Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented milk" F.L. Davies and B.A. Law (eds.) Elsevier Applied Science Publishers, London-Newyork, p.187-208.
- LAWRENCE, R.C., CREAMER, L.K., GILLES, J. 1987. Texture development during cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 70, 1748-1760.
- LAWRENCE, R.C., THOMAS, T.D. 1979. The fermentation of milk by lactic acid bacteria. In "Microbial Technology: Current State, Future Prospects" A.T. Bull, D.C. Ellwood, C. Ratledge (eds.), Cambridge University Press, Cambridge, p.187-219.
- LEE, B.H., LALEYE, L.C., SIMARD, R.E., HOLLEY, R.A., EMMONS, D.B., GIROUX, R.N. 1990a. Influence of homofermentative lactobacilli on physicochemical and sensory properties of Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 55, 386-390.
- LEE, B.H., LALEYE, L.C., SIMARD, R.E., MUNSCH, M.H., HOLLEY, R.A. 1990b. Influence of homofermentative lactobacilli on the microflora and soluble nitrogen components in Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 55, 391-397.
- LEE, B.H., HACHE, S., SIMARD, R.E. 1986. A rapid method for differentiation of dairy lactic acid bacteria by enzyme systems. *Journal of Industrial Microbiology*, 1, 209-217.
- MILLS, O.E., THOMAS, T.D. 1980. Bitterness development in Cheddar cheese: Effect of the level of starter proteinase. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 15, 131-141.
- ORDONEZ, J.A., BARNETO, R., RAMOS, M. 1978. Studies on Manchego cheese ripened in olive oil. *Milchwissenschaft*, 33, 609-612.
- PEARCE, L.E. 1969. Activity tests for cheese starter culture. *New Zealand Journal of Dairy Technology*, 4, 246-247.
- PETERSON, S.D., MARSHAL, R.T., 1990. Nonstarter lactobacilli in Cheddar cheese: A review. *Journal of Dairy Science*, 73, 1395-1410.
- SCHOMÜLLER, J. 1968. The chemistry and biochemistry of cheese ripening. *Advances in Food Research*, 16, 231-234.
- SUAREZ, J.A., BARNETO, R., INIGO, B. 1983. Contribution to study of Mahon Cheese III. Lactic acid bacteria and enterococci. *Chemie, Microbiologie und Technologie der Lebensmittel*, 8, 52-56.
- STADHOUDERS, J. 1986. The control of cheese starter activity. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 40, 155-173.
- STADHOUDERS, J., HUP, G., EXTERKATE, F.A., VISSER, S. 1983. Bitter flavour in cheese. I. Mechanism of the formation of bitter flavour defect in cheese. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 37, 157-169.
- TEKİNŞEN, O.C. 1980. Kaşar peynirinin olgunlaşmasında laktik asit bakterisi florasının lezzete etkisi. *A.Ü.V.F. Dergisi*, 27, 127-142.
- THOMAS, T.D. 1985. Role of lactic acid bacteria and their improvement for production of better fermented animal products. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 29, 1-10.
- THOMAS, T.D., PRITCHARD, G.G. 1987. Proteolytic enzymes of dairy starter cultures. *FEMS Microbiology Reviews*, 46, 245-268.
- TREPANIER, G., EL ABOUDI, M., LEE, B.H., SIMARD, R.E. 1992. Accelerated maturation of Cheddar cheese: Influence of added lactobacilli and commercial protease on composition and texture. *Journal of Food Science*, 57, 898-902.
- VISSER, S., EXTERKATE, F.A., SLANGEN, C.J., DE WEEER, G.J.C.M. 1986. Comparative study of action cell wall proteinase from various strains of *Streptococcus cremoris* on bovin $\alpha_{1,8}$ -K-casein. *Applied Environmental Microbiology*, 52, 1162-116.
- VISSER, S., HUP, G., EXTERKATE, F.A., STADHOUDERS, J. 1983. Bitter flavour in cheese 2. Model studies on the formation and degradation of bitter peptide by proteolytic enzymes from calf rennet, starter cells and starter cell fractions. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 37, 169-180.