

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KÜFLÜ CIVİL PEYNİRLERDE AROMA GELİŞİMİ VE BİYOJEN
AMİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ

HACER GÜRKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ-2013

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KÜFLÜ CIVİL PEYNİRLERDE AROMA GELİŞİMİ VE BİYOJEN
AMİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ

HACER GÜRKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TEMMUZ-2013

Tezin Başlığı: Küflü Civil Peynirlerde Aroma Gelişimi ve Biyojen Amin Varlığının Belirlenmesi

Tezi Hazırlayan: Hacer GÜRKAN

Sınav Tarihi: 05/ 07/ 2013

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri

Yrd. Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN (Danışman)

.....

Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI (Atatürk Üniversitesi)

.....

Doç. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU

.....

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet ALPASLAN

Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “**Küflü Civil Peynirlerde Aroma Gelişimi Ve Biyojen Amin Varlığının Belirlenmesi**” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım tüm kaynakların, hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Hacer GÜRKAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KÜFLÜ CİVİL PEYNİRLERDE AROMA GELİŞİMİ VE BİYOJEN AMİN VARLIĞININ BELİRLENMESİ

Hacer GÜRKAN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Bölümü

48 + viii sayfa

2013

Danışman Yrd. Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN

Bu çalışmada, Erzurum ve çevresinde üretilen geleneksel peynir çeşitlerimizden Küflü Cıvıl peynirin aroma profili ve biyojen amin içeriği belirlenmiştir. Bu amaçla toksin üretmeyen 3 farklı *Penicillium roqueforti* suşu (PR 20, PR 36 ve PR 41 nolu suşlar) seçilmiştir. Ayrıca biyojen amin oluşumunda küflerin etkisini belirlemek için küflendirilmemiş Cıvıl peynirleri de (Kontrol) analiz edilmiştir. Cıvıl peynirleri 4 °C ve 10 °C'de 90 gün süre ile olgunlaştırılmıştır. Olgunlaştırma süresi ve sıcaklığının aroma gelişimi ve biyojen amin oluşumuna etkisi araştırılmıştır. İki tekerrürlü yürütülen bu çalışmada, olgunlaşmanın 2, 30, 60 ve 90. günlerinde peynirlerin analizleri yapılmıştır. Peynir örneklerinde uçucu bileşenlerin analizi için SPME-GC-MS ve biyojen amin varlığının belirlenmesi için HPLC kullanılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre; 16 keton, 5 aldehit, 12 alkol, 28 ester, 8 asit, 7 terpen ve 13 diğer bileşik olmak üzere toplam 89 uçucu bileşik tespit edilmiştir. Uçucu bileşikler arasında konsantrasyonu yüksek olan grubun karboksilik asitler olduğu saptanmıştır. Peynirlerde uçucu bileşiklerin konsantrasyonunu küf suşu, olgunlaşma sıcaklığı ve süresi önemli derecede etkilemiştir. Olgunlaşma sırasında bazı uçucuların konsantrasyonu artarken bazı uçucuların konsantrasyonlarında değişimler gözlemlenmiştir. Peynir örneklerinde olgunlaşma esnasında 3-metil-1-butanal, 2-metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol, 2-nonanol, metil dodecanoate, butanoik asit ve dekanıik asit en sık belirlenen uçucu bileşikler olmuştur.

Küfle olgunlaştırılmış Cıvıl peynirlerde olgunlaşma esnasında histamin tespit edilememiştir. En yüksek biyojen amin içeriği (228,94 µg/g peynir) 10 °C olgunlaştırılan PR 20 peynirinde olgunlaşmanın 90. gününde saptanmıştır. Spermidin hariç biyojen amin oluşumunda olgunlaşma sıcaklığının önemli ($P<0,05$) bir faktör olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak, Küflü Cıvıl peynirlerde *P. roqueforti* kullanımının biyojen amin oluşumu üzerinde belirleyici bir faktör olmadığı belirlenmiştir ($P>0,05$).

ANAHTAR KELİMELEER: Küflü Cıvıl peynir, aroma, biyojen amin, *P. roqueforti*.

ABSTRACT

Master Thesis

DETERMINATION OF AROMA DEVELOPMENT AND BIOGENIC AMINES IN MOULDY CIVIL CHEESES

HACER GÜRKAN

Inonu University

Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

48 + viii pages

2013

Supervisor: Asst. Prof. Murat YILMAZTEKİN

In this study, aroma profile and biogenic amine content of mouldy Civil cheese which is traditional cheese produced in Erzurum and around was determined. For this purpose, three different non-toxin producing *Penicillium roqueforti* strains with coded PR 20, PR 36 and PR 41 were selected. A control Civil cheese (*P. roqueforti* strains- free) was manufactured to determine the effect of molds on formation of biogenic amines during ripening. Civil cheese samples were ripened at 4 ° C and 10 ° C for 90 days. The effect of *P. roqueforti* strains, ripening temperature and time on the formation of biogenic amine and flavour development of the cheeses was investigated. Two-trials were made in the manufacture of the mould-ripening Civil cheese and the cheeses were analyzed after 2, 30, 60 and 90 days of ripening. Solid phase micro-extraction and gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS) technique was used for analysis of volatile compounds, while HPLC method was used for the determination of the presence of biogenic amine in mould-ripened Civil cheese.

According to the results a total of 89 volatile compounds (16 ketones, 5 aldehydes, 12 alcohols, 28 esters, 8 carboxylic acids, 7 terpenes and 13 miscellaneous compounds) were identified in the samples of mould-ripened Civil cheese. The highest concentration of the volatile compounds was found carboxylic acids. The concentrations of volatile compounds in the cheeses were significantly affected by mould strains, ripening temperature and time. While some volatiles increased during ripening, fluctuations were also observed in some volatiles. In the samples of Civil cheese, 3-methyl-1-butanol, 2-nonanol, methyl dodecanoate, butanoic acid and decanoic acid were most frequently identified among volatile compounds.

Histamine was not determined in the samples of mould-ripened Civil cheese samples during ripening. The highest biogenic amine content (228,94 mg/g cheese) were determined in the samples of PR 20 cheese at 4 ° C on the 90th day of ripening. Ripening temperature was a determinative factor on the formation of biogenic amines except for spermidine ($P < 0,05$). In conclusion, the use of *P. roqueforti* strains in mould-ripened Civil cheese manufacture was not determinative factor on the formation of biogenic amines ($P > 0,05$).

KEYWORDS: Mouldy Civil cheese, aroma, biogenic amine, *P. roqueforti*.

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın her aőamasında ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Murat YILMAZTEKİN'e; çalışmanın her aőamasında bana büyük yardımları olan Doç. Dr. Ali Adnan HAYALOğLU'na;

Bu çalışmanın materyali olarak TÜBİTAK projesi (no: 111O199) kapsamında üretilen Küflü Civil peyniri teminini sağlayan Erzurum Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünden hocamız Prof. Dr. Songül ÇAKMAKÇI'ya;

Bu çalıőmayı 2012/174 proje numarası ile maddi olarak destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne;

Ve bana her türlü destek olan sevgili aileme

En içten dileklerimle teőekkürlerimi sunarım.

Hacer GÜRKAN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	İ
ABSTRACT	İİ
TEŞEKKÜR	İİİ
İÇİNDEKİLER	İV
SAYFA	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR	Vİİ
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	3
2.1. Küflü Peynirlerde Aroma Oluşumu	3
2.1.1. Küflü Peynirin Aromasını Oluşturan Bileşikler.....	6
2.1.1.1. Ketonlar	6
2.1.1.2. Aldehitler	7
2.1.1.3. Alkoller	7
2.1.1.4. Esterler	7
2.1.1.5. Asitler	8
2.1.1.6. Terpenler	8
2.1.1.7. Diğer bileşikler	8
2.2. Küflü Peynirlerde Aroma İle İlgili Çalışmalar	9
2.3. Peynirlerde Biyojen Amin Oluşumu	12
2.4. Peynirlerde Biyojen Amin İle İlgili Çalışmalar	15
3. MATERYAL VE YÖNTEM	18
3.1. Materyal.....	18
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Aroma maddelerinin belirlenmesi	20
3.2.2. Biyojen amin miktarının belirlenmesi	21
3.2.3. İstatistiksel analizler	24
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	25
4.1. Uçucu Bileşikler	25
4.2. Biyojen Aminler	39
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	41
ÖZGEÇMİŞ	48

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2. 1. Proteinlerin parçalanması ve peynir aroma oluşumu.....	3
Şekil 2. 2. Peynir olgunlaşması sırasında amino asitlerin mikrobiyal katabolizması..	4
Şekil 2. 3. Lipitlerden aroma bileşenlerinin oluşumu.....	5
Şekil 2. 4. Metil keton sentez yolu	6
Şekil 2.5. Biyojen aminin oluşum ve detoksifiye mekanizması	13
Şekil 3.1. Ceviz peynir üretim şeması.....	19

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2. 1. Peynirlerde bulunan biyojen aminler ve aminoasit kaynağı.....	13
Çizelge 2. 2. Bazı Türk peynirlerinde biyojen amin konsantrasyonları (mg/100g) ...	16
Çizelge 3. 1. HPLC cihazının özellikleri ve biyojen amin analizi için kromatografi koşulları.....	21
Çizelge 3. 2. BA mikserin konsantrasyonları	22
Çizelge 3. 3. Kromatografide kullanılan gradient programı	23
Çizelge 4. 1. Peynirlerde bulunan keton miktarı (µg/100 g).....	26
Çizelge 4. 2. Peynirlerde bulunan aldehit miktarı (µg/100 g).....	28
Çizelge 4. 3. Peynirlerde bulunan alkol miktarı (µg/100 g)	30
Çizelge 4. 4. Peynirlerde bulunan ester miktarı (µg/100 g).....	32
Çizelge 4. 5. Peynirlerde bulunan asit miktarı (µg/100 g).....	35
Çizelge 4. 6. Peynirlerde bulunan terpen miktarı (µg/100 g).....	36
Çizelge 4. 7. Peynirlerde bulunan diğer bileşiklerin miktarı (µg/100 g).....	38
Çizelge 4. 8. Peynirlerde bulunan biyojen amin miktarları (µg/g peynir).....	39

SİMGELER VE KISALTMALAR

CoA	Koenzim A
ppm	Parts Per Million (Milyonda bir kısım)
ppb	Parts Per Billion (Milyarda bir kısım)
DMDS	Dimetil Disülfid
DMTS	Dimetil Trisülfid
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase microextraction)
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrofotometresi (Gas chromatography-Mass Spectroscopy)
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (High-Performance Liquid Chromatography)
UV	Ultra Viole
HP	Yüksek Basınç (High Pressure)
MPa	Mega Paskal
SPSS	Sosyal Bilimler için İstatistik Paketi (Statistical Package for the Social Sciences)
SOLAB	Starter Olmayan Laktik Asit Bakterisi
DVB/CAR/PDMS	Divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane
NIST	National Institute of Standarts and Technology
FFA	Serbest Yağ Asiti (Free Faty Acid)
FAA	Serbest Amino Asit (Free Amino Acid)
EC	Enzim Komisyonu (Enzyme Commission)
dk	Dakika
nm	Nanometre
g	Gram
kg	Kilogram
µg	Mikrogram
µm	Mikrometre
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
L	Litre
M	Molar
α	Alfa
β	Beta
δ	Gamma

°C	Santigrat Derece
rpm	Dakikadaki dönüş sayısı (Returns per minute)
MAO	Monoaminoksidaz
MAOI	Monoaminoksidaz inhibitörü
DAO	Diaminoksidaz
HNMT	Histamin-N-metil transferaz
PUT	Putresin
CAD	Kadaverin
HIT	Histamin
TRY	Triptamin
TYA	Tiramin
PHA	Feniletilamin
SPD	Spermidin
SPM	Spermin
BA	Biyojen Amin
PAS	Peyniraltı Suyu
DaCl	Dansil Klorit
NH ₃	Amonyak
NaHCO ₃	Sodyumbikarbonat
HClO ₄	Perklorik Asit
NaOH	Sodyum Hidroksit
CO ₂	Karbondioksit
Tris	(Hidroksimetil)aminometan

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde sütün oldukça önemli bir yeri vardır. Süt insan beslenmesi için gerekli besin unsurlarını yeterli miktarda içermektedir. Sütün bu özelliği, özellikle vücudun enerjisi, yapısı ve biyokimyasal işlemleri için gerekli besin unsurlarını, diğer besinlere göre, daha yeterli ve dengeli bir şekilde içermesinden kaynaklanmaktadır (Tekinşen, 1997). Dayanıklılık süresinin son derece kısıtlı olması nedeniyle süt, daha uzun süre muhafaza edilebilen değişik süt ürünlerine işlenmektedir. Bu ürünler arasında her zaman beğeniyle tüketilen peynirler önemli yer tutmaktadır (Mutluer, 2007).

Peynir; yağlı süt, krema, kısmen ya da tamamen yağ alınmış süt, yayıkaltı veya bunların birkaçının veya tümünün karışımının peynir mayası denilen uygun proteolitik enzimlerle ve/veya zararsız organik asitlerle pıhtılaştırıldıktan sonra; peyniraltı suyunun ayrılması, pıhtının şekillendirilmesi ve tuzlanmasıyla elde edilen, taze veya olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen bir süt ürünüdür (Üçüncü, 2008).

Peynirin sütteki besin unsurlarının önemli bir kısmını içermesi, uzun dayanma süresine sahip olması ve bunlara bağlı olarak süt üretiminin bol olduğu mevsim ve yörelerde farklı tekniklerle kısa sürede sütün peynire işlenerek değerlendirilmesi nedeniyle dünyada en fazla çeşidi olan besin peynirdir (Tekinşen, 1997). Bazı kaynaklara göre peynir çeşidi sayısının 4000 civarında olduğu belirtilmektedir. (Özer ve Hayaloğlu, 2011).

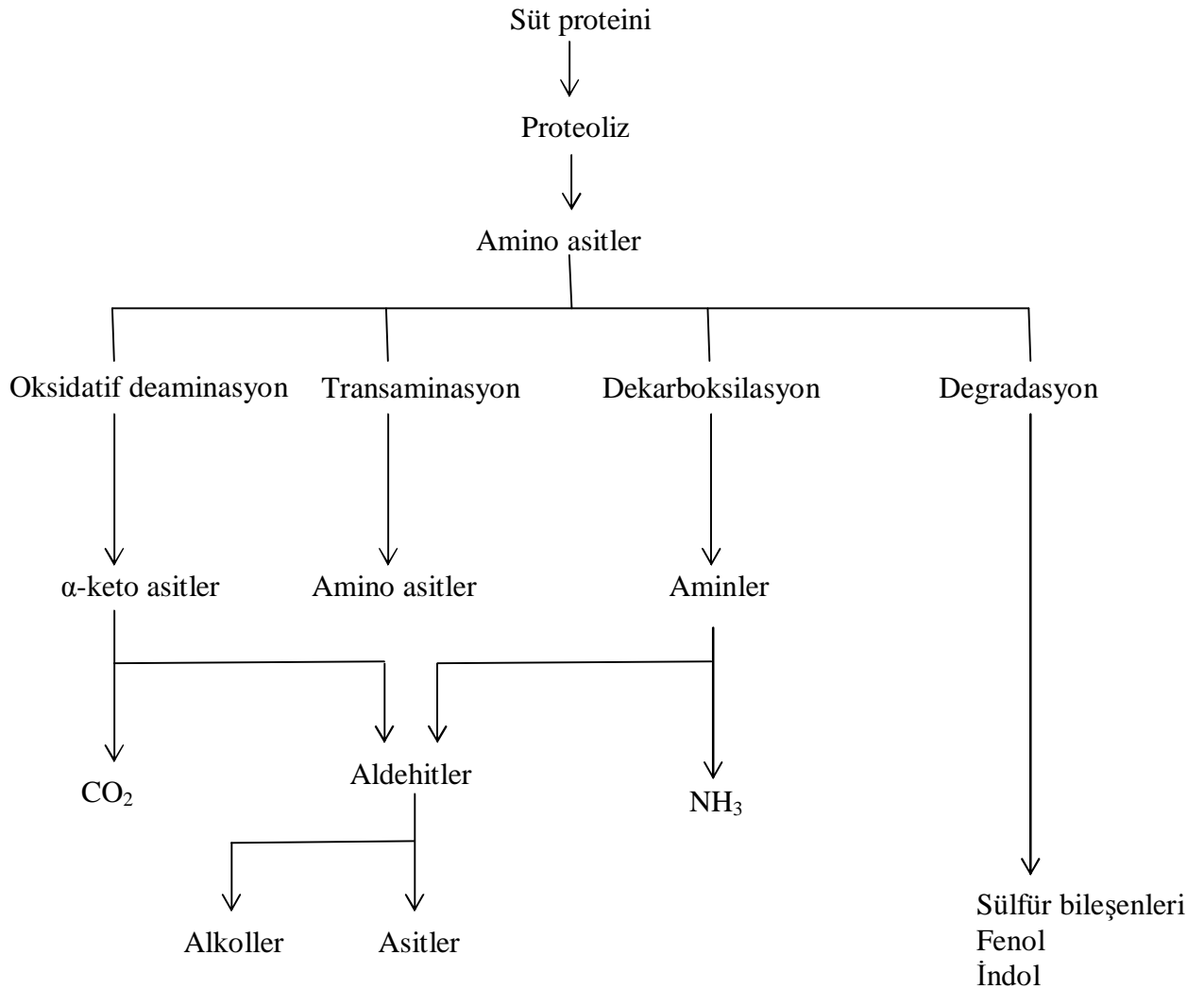
Süt ve ürünlerinin, özellikle de peynirin aroması her zaman üzerinde yoğun çalışılan konulardan birisi olmuştur. Gerçekleştirilen çalışmalarda peynirde 600'den fazla uçucu bileşik tespit edilmiştir. Bu kadar fazla sayıda uçucu bileşiğin oluşması, peynirin üretimi ve olgunlaşması sırasında meydana gelen ve birçok faktörün etkisi altında gelişen kompleks kimyasal ve biyokimyasal olaylardan kaynaklanmaktadır. Peynirde aroma; kısmen süt hayvanının beslenmesinden ve türünden kaynaklanan, büyük bir oranda ise peynirin üretim ve depolama periyodu boyunca oluşan bir dizi kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlar sonucu ortaya çıkan bileşiklerin duyu organları üzerindeki etkisinden kaynaklanmaktadır. Peynir olgunlaşma süresinde sütü pıhtılaştırıcı enzimler, süt proteazları, starter kültürler ve kontamine

mikrofloranın etkisi ile birçok değişimlere uğrar. Biyokimyasal bir değişim olan olgunlaşma sürecinde, proteinlerin parçalanması ile büyük ve küçük peptitler ve serbest amino asitler oluşur. Peynirde biyojen aminlerin oluşumu, peynirin amino asit ya da peptit konsantrasyonuna veya bunların oluşumuna neden olan unsurlara bağlıdır (Avşar vd., 2011).

Biyojen aminler (BA) bitki, mikrobiyal ve hayvan hücrelerinde biyolojik önemi olan azotlu bileşiklerdir (Innocente vd., 2007). Biyojen aminler biyolojik aktiviteye sahip ve genellikle mikroorganizmalar tarafından amino asitlerin enzimatik dekarboksilasyon yoluyla ya da aldehit ve ketonların aminasyonu ve transaminasyonu sonucu üretilen düşük molekül ağırlıklı organik bazlardır (Steele vd., 2013 ; Yeğın, 2006). Bu bileşiklerin en önemlileri tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin ve 2-feniletilamindir ve birkaç peynir türünde saptandığı belirtilmiştir (Steele vd., 2013).

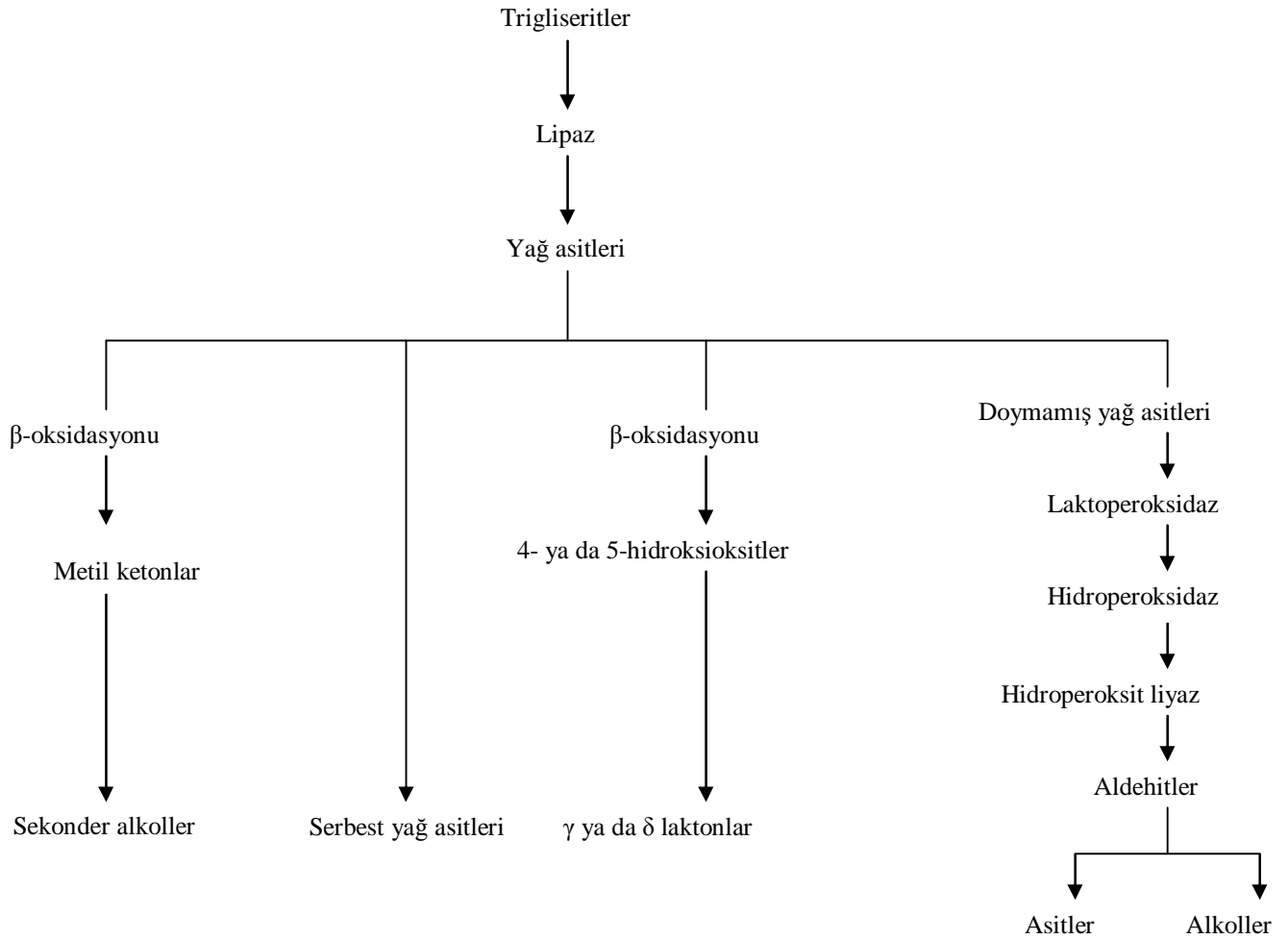
Bu çalışmadaki amaç küflü peynire karakteristik tat kazandıran aroma bileşenlerini belirlemek ve küflü peynirlerin olgunlaşması sürecinde biyojen amin içerip içermediği ve biyojen amin varsa bunun toksikolojik düzeyde olup olmadığını araştırmaktır. Bu amaçla, Erzurum'da yaygın olarak üretilen ve tüketilen Civil peynirin kontrollü koşullarda küflendirilmesi sonucu üretilen Küflü Civil peyniri çalışmanın materyalini oluşturmuştur. Ülkemizde Küflü Civil peyniri Erzurum ve çevre ilçelerde üretilmektedir ve peynirin mikoflorasında *Penicillium roqueforti* küfünün baskın florayı oluşturduğu belirtilmektedir (Çakmakçı vd. 2012). Buradan hareketle kontrollü koşullarda tanımlı *Penicillium roqueforti* suşu kullanılarak Küflü Civil peyniri üretilmiş ve 90 günlük olgunlaşma sürecinde uçucu bileşenleri ve biyojen amin içeriklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Peynirin proteolitik aktivitesi, süt ve bakterilerden (starter, starter olmayan ve ikincil starter) gelen pıhtılaştırıcı enzimlere baēlıdır (Yüceer vd., 2009). Peynirlerdeki proteoliz ikiye ayrılır. Birinci proteolizde kazeinler kimozin ve plazminle hidrolize uērar ve orta büyüklükte peptitlere ayrılır. İkincil proteolizde ise starter, starter olmayan laktik asit bakterisi (SOLAB) ve ikincil starterden (*Penicillium roqueforti*) gelen proteinaz ve peptidaz ile daha ileri hidrolizasyon sonucunda daha kk peptitlere ve amino asitlere ayrılır (Voigt vd., 2010). Kazeinin parçalanması ile oluşan peptit ve serbest amino asitler aroma oluşumu için aminler, aldehitler, alkoller, asitler, fenoller ve sülfür bileşikleri gibi önemli uçucu bileşiklerin önemli nc maddeleridir (Innocente vd., 2013).



şekil 2.2. Peynir olgunlaşması sırasında amino asitlerin mikrobiyal katabolizması (Molimard ve Spinnler, 1996)

Küfle olgunlaşan peynir çeşitlerinde genellikle *Penicillium roqueforti* 'nin enzimleriyle katalizlenen lipoliz, Cheddar ve Mozzarella gibi diğer peynir çeşitlerinde daha yoğundur (Voigt vd., 2010). Süt yağının yoğun bir şekilde parçalanması küfle olgunlaşan peynirlerin genel özelliğidir. Küfler ve mayalar çok geniş spektrumda lipaz salgılayabilirler. Peynir kitlesine salıverilen bu enzimler yağ globülleri ve serum faz ara yüzeyinde aktiftir (Spinnler ve Gripon, 2004). Lipazlar ya da gliserol ester hidrolazlar (EC 3.1.1.3) trigliseritleri hidroliz ederek digliserit, monogliserit ve serbest yağ asitlerinin oluşumuna neden olur (Molimard ve Spinnler, 1996)

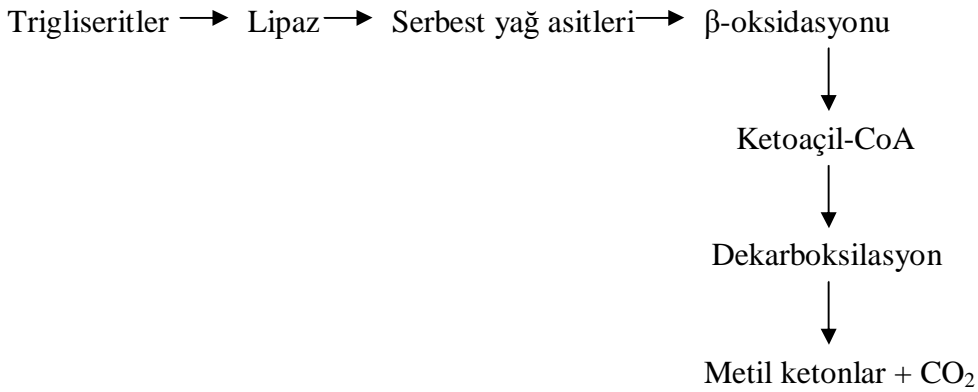


Şekil 2. 3. Lipitlerden aroma bileşenlerinin oluşumu (Molimard ve Spinnler, 1996)

2.1.1. Küflü Peynirin Aromasını Oluşturan Bileşikler

2.1.1.1. Ketonlar

Ketonlar küflü peynirler başta olmak üzere peynir çeşitlerinde bol miktarda bulunan bileşenlerdir (Delgado vd., 2011). Ketonlar, β -ketoasitlerin oluşumu ve bu ketoasitlerin metil ketonlara dekarboksile olması için serbest yağ asitlerinin enzimatik oksidasyon ile oluşturulmaktadır (Hayaloğlu, 2009). Metil ketonlar β -oksidasyonuna alternatif bir yol ile serbest yağ asitlerinden üretilebilir (Delgado vd., 2011). Yani metil ketonların öncül maddesi yağ asididir (Molimard ve Spinnler, 1996). Şekil 2.4.'te metil ketonların oluşumu gösterilmektedir.



Şekil 2. 4. Metil keton sentez yolu (Molimard ve Spinnler, 1996)

Diasetil ve asetoin laktaz ve sitrat metabolizmasında açığa çıkan pirüvattan elde edilir. Pirüvat, asetaldehit-tiaminpirofosfat kompleksinin oluşumundan sonra α -asetolaktat'a dönüştürülür ve daha sonra asetoinin üretilebilmesi için diasetil dekarboksilasyona uğratılır. Diasetil ve asetoinin üretimi temelde laktik asit bakterisinin özellikle *Lactococcus lactis* spp. *lactis* biovar *diacetylactis* aktivitesine bağlı oluşur. Diasetil ve asetoin sütte bulunan sitrattan oluşur. Çözünmeyen oksijen miktarı diasetil ve asetoin üretimi seviyesinde oldukça önemlidir. Diasetil, asetoinden daha düşük miktarda üretilir ve diasetil redüktazın etkinliğiyle aseton üretimi gerçekleşebilir. Ketonların kendilerine has kokuları vardır ve düşük algılanma eşik değerlerine sahiptir (Delgado, 2011). Diasetil ve asetoin tereyağına özgü koku veren bileşiklerdir (Molimard ve Spinnler, 1996)

2.1.1.2. Aldehitler

Aldehitler amino asitlerin katabolizması ya da ketoasitlerin dekarboksilasyon yoluyla üretilebilir (Kaminarides vd., 2007). Aldehitler ara bileşiklerdir. Çünkü alkol ya da kendi asitlerine hızlı bir şekilde dönüşürler ve böylece aldehitlerin peynirde birikimi olmaz (Hayaloğlu, 2009). Aldehitlerin peynirlerde düşük konsantrasyonlarda bulunması ideal olgunlaşma göstergesidir. Çünkü peynirde yüksek miktarda aldehitin bulunması tat bozukluklarına neden olabilir (Delgado vd., 2010). Dallanmış aldehitler amino asitlerin parçalanması sonucu oluşur (Hayaloğlu vd., 2008).

2.1.1.3. Alkoller

Ketonlar ile birlikte primer ve sekonder alkoller yumuşak ve küfle olgunlaşmış peynirlerin aromasında en önemli bileşenler olarak düşünülür (Molimard ve Spinnler, 1996). Aldehit ve ketonlardan gelen alkoller, alkol dehidrogenaz enziminin dâhil olduğu reaksiyon sonucu oluşur. Genelde peynirde güçlü indirgeme koşulları alkollerin oluşumuna katkıda bulunur. 3-Metil-1-bütanol gibi dallanmış zincirli primer alkollerin bulunması, lösin amino asidinden üretilen aldehitlerin parçalandığını gösterir (Delgado vd., 2011).

2.1.1.4. Esterler

Süt sistemlerindeki aroma aktif esterlerin biyosentezi, iki enzimatik mekanizma aracılığıyla ilerler. Birinci enzim mekanizması alkol ve karboksilik asitlerden ayrıca alkoliz yoluyla oluşturulan esterlerin olduğu esterifikasyon reaksiyonudur. İkinci enzim mekanizması ise açilgliseroller ve alkollere doğrudan transfer edilen açil-CoA türevlerinden gelen yağ açil gruplarının olduğu transferaz reaksiyonudur (Gadre vd., 2005). Esterler alkollerle sinerjist etkiye sahip olduğundan peynirlerin aromasına önemli bir katkı sağlamaktadır (Kaminarides vd., 2007). Peynirde karşılaşılan çoğu esterler meyvemsi, çiçeğimsi kokuya sahip olarak tanımlanmıştır. Bu bileşikleri tanımlamada yaygın olarak bahsedilen kokular ananas, muz, kayısı, armut, çiçek, gül, bal ve şaraptır. Bu esterlerin bazıları çok düşük algılanma eşik değerine sahiptir. 2 ppb konsantrasyonunda sulu ortamda saptanabilen izoamilasetat bu duruma

örnektir (Molimard ve Spinnler, 1996). Esterler peynirin uçucu fraksiyonunda yaygın bir bileşendir. Esterlerin düşük algılanma eşik değeri ve ortam sıcaklığında yüksek uçuculuklarından dolayı aromaya önemli katkıları vardır (Hayaloğlu vd., 2008).

2.1.1.5. Asitler

Küfle olgunlaşan peynirlerin aromasında yağ asidi önemlidir (Molimard ve Spinnler, 1996). Asitler sadece kendi başlarına peynir aromasına katkıda bulunmayıp aynı zamanda metilketon, alkol, ester ve laktonların öncü maddesi olarak da görev alır (Hayaloğlu, 2009). Asitlerin kaynağı yağ hidrolizi ile sınırlı kalmayıp aynı zamanda laktoz ve amino asitlerin metabolizması yoluyla da üretilir (Hayaloğlu vd., 2008). Asitlerin düşük aroma eşik değerinden dolayı birçok peynir türünde aroma profilinde önemli katkıları olduğu düşünülmektedir (Delgado vd., 2011). Asetik asit ve propiyonik asit tipik sirke kokusuna sahiptir. Bütirik asit peynirde acı bir tat verir. İzobütirik ve 3-metil-1-butanoik asitler hafif bir çürümüş meyve kokusu verir. Oktanoik asit, 4-metiloktanoik asit ve özellikle 4-etiloktanoik asit keçimsi tat verir (Molimard ve Spinnler, 1996).

2.1.1.6. Terpenler

Peynirlerde terpenlerin varlığı olgunlaşma işlemi ile alakalı olmayıp hayvan beslenmesi ile ilgilidir (Wolf vd., 2010). Bu bileşenler yüksek dağ otlaklarında hayvanların beslenmesi ile süte geçer ve son olarak böyle bir süt kullanılarak yapılan peynirde görülür (Molimard ve Spinnler, 1996).

2.1.1.7. Diğer bileşikler

Peynir örneklerinde fenoller, benzenler, laktonlar, çoğu aromatik hidrokarbonlar, kükürtlü bileşikler, aminler, anisoller, pirazinler ve sitrenleri içeren 30 diğer bileşikler tanımlanmıştır (Hayaloğlu vd., 2008; Hayaloğlu, 2008; Spinnler ve Gripon, 2004).

Uçucu sülfür bileşikleri çoğu peynir aromasına önemli katkıda bulunur ve ayrıca bu bileşikler kendi aralarında ve peynirde farklı uçucu aroma bileşenlerini oluşturan

diğer bileşiklerle etkileşimde bulunabilirler. Ayrıca bu bileşiklerin algılanma eşik değerleri oldukça düşüktür. Metantiol sülfür içeren önemli bir bileşendir. Bu bileşik Metiyonin'dan türemiştir. Metantiol oksidatif reaksiyonlar yoluyla dimetildisülfid (DMDS) ve dimetiltrisülfid (DMTS) gibi daha ileri sülfür bileşenlerinin öncül maddesi olabilir. Diğer sülfür bileşenleri ile sarımsak kokusundan sorumludur (Delgado vd., 2011). DMDS ve DMTS peynir aroması için çok önemli olduğu düşünülmüştür ve DMTS aşırı olgunlaşmış bir peynir kokusu verir (Hayaloğlu vd., 2008).

Lakton öncül bileşenleri hidroksillenmiş yağ asididir (Şekil 2.3.). Peynirde mikroorganizmanın faaliyetiyle lakton üretimi net bir şekilde açıklanmamıştır. Lakton öncül maddesi hidroksi asitler olup sütteki trigliseritler olarak bulunabilir. Lipazlar bu hidroksi asitleri açığa çıkarır ve daha sonra trigliseritler halkasal yapıya dönüşür. Yine de hidroksillenmiş yağ asidi, serbest yağ asidinin katabolizmasında ve lipoksigenaz ya da hidratazın etkinliğiyle doymamış yağ asidinden elde edilir (Molimard ve Spinnler, 1996). Organoleptik açıdan bakıldığında laktonlar genellikle meyvemsi koku (şeftali, kayısı ve Hindistan cevizi) ile karakterize edilmiştir (Spinnler ve Gripon, 2004). Laktonlar peynirlerde tereyağı duysal özelliğe katkıda bulunabileceği ve lipit parçalanması ile ilgili olabileceği düşünülmüştür (Wolf vd., 2010).

Hidrokarbonlar diğer aromatik bileşenlerin oluşumunda öncül olarak görev yapabilir (Kaminarides vd., 2007). Peynirlerde alkanların varlığı olgunlaşma işlemi ile alakalı olmayıp hayvan beslenmesi ile ilgili olabileceği gibi lipid oksidasyonu sonucu da oluşabilmektedir (Wolf vd., 2010; Gadre vd., 2005).

2.2. Küflü Peynirlerde Aroma İle İlgili Çalışmalar

Llano vd. (1990), Gamonedo mavi peynirlerin uçucu fraksiyonunu incelemiştir. Olgunlaşmanın 60. gününde peynirlerde FFA, metil ketonlar ve 2-alkanoller en yüksek miktarlara ulaşmıştır. Olgunlaşmanın başında heptanon 9 µg/g, 2-nonanon 16 µg/g bulunmuş ve olgunlaşmanın sonuna doğru bu değerler sırasıyla 23 µg/g ve 105 µg/g 'a ulaşmıştır. En yüksek miktarda bulunan alkollerde ise 2-heptanol 9-18 µg/g ve 2-nonanol 6-15 µg/g arasında çıkmıştır. Olgunlaşma boyunca metil esterler 2

$\mu\text{g/g}$ 'dan $40 \mu\text{g/g}$ 'a yükselmiş ve bu durum keton ve alkoller için benzer olduğu rapor edilmiştir. Olgunlaşmanın 90. gününde küflerin lipolitik aktivitesinin sonucu olarak yağ asitleri ve diğer bileşenler (ketonlar, esterler ve alkoller) yüksek konsantrasyonlarda olduğunu saptamışlardır.

Kubíčková ve Grosch (1997), Camembert peynirinin dilüsyon ve konsantrasyon teknikleri ile güçlü koku verici maddelerin değerlendirmesini yapmışlardır. Bu çalışmada 42 koku verici madde belirlemişlerdir. Bu koku verici maddelerin 17 tanesinin olgunlaşmanın başlangıcında olduğunu ifade etmişlerdir. 2,3-butandion, 3-metilbütanal, metiyonal, 1-okten-3-ol, 1-okten-3-one, feniletil asetat, 2-undekan, δ -dekalakton, bütirik asit ve 3-metil-1-butanoik asit Camembert peynirinde güçlü koku verici maddeler olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca yüksek uçucu bileşenlerden, metantiyol ve dimetil disülfitin aroma oluşumunda önemli rol oynayabileceğini ifade etmişlerdir. 1-okten-3-on mantarimsı koku, uçucu sülfür bileşenleri sarımsak kokusu ve β -fenilasetat çiçeğimsi kokudan sorumlu tutulmuştur.

Kubíčková ve Grosch (1998), iki farklı Camembert peynirinde 16 nötral bileşen belirlemişlerdir. Peynirde aroma bileşenleri, bu bileşenlerin protein ve diğer uçucu olmayan bileşenlerle etkileşimine ve su ya da yağ fazındaki çözünürlüklerine bağlıdır. Birinci Camembert peynirinde tereyağimsı, mantarimsı ve keskin, şeker tadı daha yoğun iken ikinci Camembert peynirinde sarımsak kokusu veren sülfürlü bileşenler özellikle metantiyol ve dimetil disülfitin daha yoğun olduğunu belirtmişlerdir. δ -Dekalaktonun her iki Camembert peyniri için önemli bir koku verici madde olduğu ileri sürülmüştür. Her iki örnekte de 1-okten-3-one, fenilasetat, metantiyol ve hegzanalın hemen hemen aynı miktarda olduğunu belirtmişlerdir. Sülfürlü bir kokuya sahip olan metantiyolün tüm bileşenler arasında en yüksek koku verme değerine sahip olduğunu ifade etmişlerdir. 2,3-Bütandion ve δ -dekalakton Camembert peynirine tereyağimsı aroma kazandırırken 3-metilbitanalın zayıf bir malt kokusundan sorumlu olduğunu belirtmişlerdir.

Pionnier vd. (2001), Camembert peynirinde suda çözünen uçucu olmayan moleküller ile aroma bileşenleri arasındaki etkileşimi araştırmışlar. Suda çözünen ekstrakt ile 2-heptanon, 1-okten-3-ol ve 3-metilbütanolün tepe boşluğu konsantrasyonunu arttırmıştır. Diğer bileşenler bazı uçucuları alıkoymasına rağmen

bu 3 bileşenin serbest kalmasını etkilemiştir. Bu nedenle minerallerin uçucu bileşenleri açığa çıkarma etkisi ortaya çıkmıştır. 2-undekanon, 2-nonanol, 2,4-ditiyapentan ve etil hegzonatın tepe boşluğu seviyesinde bir değişiklik görülmemiştir. Böylece bu çalışmada tepe boşluğu konsantrasyonlarında amino asitlerin herhangi bir etkisi yokken minerallerin uçucu bileşenlerin serbest kalmasında etkili olabileceği ve ayrıca peptitlerin ortamda bulunması uçucuların tepe boşluğu konsantrasyonunda artışa ya da azalışa neden olabileceği sonucuna varılmıştır.

Lawlor vd. (2003), 6 tip mavi peynirin (Bleu d’Auvergne, Blue Shropshire, Blue Stilton, Cashel Blue, Danish Blue ve Hunstman) tat-koku özellikleri arasındaki ilişkileri ve bu peynirlerin serbest amino asit (FAA), serbest yağ asiti (FFA) ve toplam bileşim kompozisyonu arasındaki ilişkileri incelemiştir. Tüm peynir örneklerinde keton miktarı yüksek çıkmıştır. Bleu d’Auvergne, Blue Stilton ve Cashel Blue örnekleri 2-pentanol, 2-heptanol, 3-metil-2-pentanone, pentanal ve oktanal’ın bulunması ile karakterize edilmiştir. Danish Blue ve Hunstman yüksek alkol (2-hegzanol ve 2-metil-1-bütanol), ester (etil bütirat ve etil hegzonat) ve alkan-2-one, 2-pentanone ‘nun yüksek miktarları ile karakterize edilmiştir.

Gkatzionis vd. (2008), Stilton peynirlerinin uçucu profili ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Stilton peynirinin mavi damarlar, dış kabuk ve beyaz merkez olmak üzere 3 farklı kısımlarındaki aroma profili incelenmiştir. Bu analizler sonucunda mavi damar ve dış kabuğun benzer profile sahip olduğu görülmüştür. Bu iki kısımda keton yüksek miktarda bulunurken küfün olmadığı kısımda diğer iki kısma göre daha yüksek miktarda aldehit ve alkol olduğu belirlenmiştir.

Hayaloğlu vd. (2008), Küflü peynirin kimyasal, biyokimyasal ve uçucu bileşenlerini araştırmışlar. Katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) kullanılarak gaz kromatografisi ve kütle spektrofotometresi (GC-MS) ile Küflü peynirlerde 138 uçucu bileşen tanımlanmıştır. Bu bileşenlerin 11 asit, 21 ester, 20 keton, 6 aldehit, 32 alkol, 8 sülfür bileşikler, 10 terpen ve 30 diğer bileşikler olduğu rapor edilmiştir. Küflü peynirlerde başlıca bileşenlerin keton ve alkol grubuna ait bileşenler olduğu belirtilmiştir.

Voigt vd. (2009), 42 gün olgunlaştırılmış mavi damarlı İrlanda peynirlerinde toplam uçucu bileşenlerin % 50-70 'ini metil ketonların oluşturduğunu saptamıştır. 2-Heptanon, 2-nonanon, 2-pentanon ve 2-undekanon yaygın olarak bulunan metil ketonlar olduğunu belirtmişlerdir.

Wolf vd. (2011), ticari Arjantin mavi peynirlerinin bileşimi ve uçucu profili ile ilgili çalışmışlardır. Bu çalışmada 6 adet önde gelen markalara ait olmak üzere toplam 20 örnek analiz edilmiştir. Mavi peynir örneklerinde 10 keton, 17 alkol, 9 ester, 9 yağ asiti, 2 aldehit (asetaldehit ve çimen ve malt kokusu veren 3-metilbütanal) ve 2 diğer bileşen tanımlanmıştır. Mavi peynirlerde esterlerin, metil ketonların tipik keskin aromasını azalttıklarını belirtmişlerdir.

Çakmakçı vd. (2012b), Küflü Civil peynirde 28 ester, 6 asit, 12 keton, 3 aldehit, 15 alkol, 10 terpen, 3 sülfürlü bileşik ve 18 diğer bileşikler olmak üzere toplam 95 uçucu bileşen saptamışlardır. Uçucu fraksiyonlar arasında en geniş kimyasal sınıfın esterlere ait olduğunu belirlemişlerdir. Bu esterler arasında metil asetat, metil butanoat ve metil dekanonat'ın yaygın esterler olduğunu belirtmişlerdir.

2.3. Peynirlerde Biyojen Amin Oluşumu

Biyojen aminler bitkisel, mikrobiyal ve hayvansal hücrelerde önemli biyolojik azotlu bileşiklerdir. Protein veya serbest amino asit içeren tüm gıdalarda mikrobiyal ve biyokimyasal aktivite için gerekli koşullar oluştuğunda biyojen aminlerin oluşumu beklenebilir (Innocente vd., 2007).

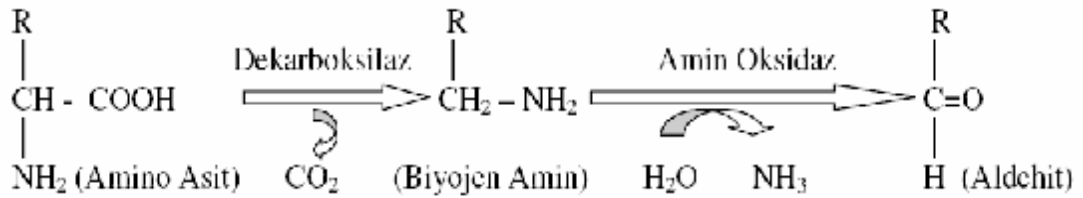
Histamin (HIT), tiramin (TYA), triptamin (TRY), feniletilamin (PHA) biyojen aminleri sırasıyla histidin, tirozin, triptofan ve fenilalanin amino asitlerinin dekarboksilasyonu sonucu oluşmaktadır. Putresin (PUT) ve kadaverin (CAD) ise ornitin ve lizin amino asitlerinden kaynaklanmaktadır. Putresin ise spermin (SPM) ve spermidin'in öncül bileşiğidir. Ayrıca arginin 'den de spermin ve spermidin (SPD) oluşmaktadır. Spermin ve spermidin poliaminlerinin birbirlerine dönüşümleri de söz konusudur (Gençcelep, 2006).

Çizelge 2. 1. Peynirlerde bulunan biyojen aminler ve aminoasit kaynağı (Yıldız ve Yetişemeyen, 2005)

Amino asit kaynağı	Biyojen Aminler
Triptofan	Triptamin
Fenilalanin	Feniletilamin
Ornitin	Putresin
Lizin	Kadaverin
Histidin	Histamin
Tirozin	Tiramin

Biyojen amin oluşması için;

- Ü Yeterli miktarda serbest amino asidin bulunması,
- Ü Yeterli miktarda biyojen amin oluşturabilecek bakterilerin bulunması,
- Ü Amino asit dekarboksilaz aktivitesi için optimal sıcaklık ve pH'nın sağlanması,
- Ü Bakterilerin gelişmesi için en uygun sıcaklık ve pH'nın sağlanması gerekir (Akalin, 2011).



Şekil 2. 5. Biyojen aminin oluşum ve detoksifiye mekanizması (Gençcelep, 2006)

Biyojen aminler içerdikleri amin sayısına göre monoamin veya poliamin olarak adlandırılırlar. Genellikle, monoaminoksidaz (MAO), diaminoksidaz (DAO) ve histamin-N-metil transferaz (HNMT) tarafından gerçekleştirilen oksidatif deaminasyon sonucu aminler aktivitelerini kaybeder. Monoaminler, MAO tarafından daha az toksik olan aldehit ürünlerine parçalanarak detoksifiye edilirler (Bucak, 2011). Monoaminoksidaz inhibitörü (MAOI), MAO ve DAO gibi detoksifikasyon

enzimleri inhibe ederek aminlerin parçalanmasını engelleyip, kan dolaşımına ulaşmalarına ve zararlı etkilerini göstermelerine neden olur (Aydın, 2006; Gençcelep, 2006). Böylece MAO inhibitörü ilaçlarla tedavi gören hastalarda, özellikle peynir tükettikleri zaman baş ağrısı, boyun sertliği, kalp çarpıntısı ve bazen de ölümlerle sonuçlanabilen hipertansiyon krizleri meydana gelmektedir (Bucak, 2011).

Biyojen aminlerin neden olduğu çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkması, bireysel farklılıklara, gıdalarla alınan biyojen aminlerin türüne, aminlerin bir arada bulunmasına bağlı olarak değişebildiğinden toksik doz miktarları için farklı değerler bildirilmiştir. Bir öğünde, 40 mg'ın üzerinde biyojen amin alınması, potansiyel toksik olarak değerlendirilmektedir (Avşar vd., 2011). Gıdada, 1000 ppm oranında biyojen amin bulunmasının ise sağlık açısından dikkate değer bir risk olduğu bildirilmektedir (Aydın, 2006).

Peynirler, amino asitlerin ve biyojen aminlerin oluşumuna neden olan enzimatik ve mikrobiyal aktivitelerin olduğu yüksek protein içeren gıdalar arasındadır (Innocente vd., 2007). Peynir, balıktan sonra histamin zehirlenmesinden yaygın olarak sorumlu tutulan ikinci gıdadır. Kazein proteolizi peynirin olgunlaşması sırasında yer alan en önemli işlemdir. Bu işlem sırasında kazein, peynirde bulunan proteaz ve peptidazlar tarafından yıkıma uğramakta ve sonuçta aminlerin öncü maddeleri olan serbest aminoasitler oluşmaktadır. Olgunlaştırma süresi arttıkça serbest aminoasit içeriğinin artmasından dolayı biyojen amin oluşma olasılığı da artmaktadır (Aydın, 2006).

Biyojen aminler sadece toksisiteleri açısından değil gıdaların tazelik ve bozulma derecesinde indikatör olarak kullanılmaları açısından da önemlidirler. Bozulmuş gıda maddeleri ve fermente gıdalar yüksek miktarda biyojen amin içerirler. Bu nedenle biyojen amin oluşumuna neden olan faktörlerin belirlenerek kontrol altına alınması kalite ve gıda güvenliğini geliştirmek için gereklidir. Biyojen amin oluşumu; gıdalardaki serbest amino asitler ile dekarboksilaz üretme kabiliyetine sahip mikroorganizmanın varlığına ve dekarboksilaz sentezi için uygun koşulların durumuna bağlıdır (Yaldırak, 2011). Peynirde BA oluşumunda; pH, tuz konsantrasyonu, su aktivitesi, sıcaklık, depolama ve olgunlaşma süresi, bakteri

yoğunluğu, kofaktör varlığı ve amin katabolizması gibi faktörler etkilidir (Akalin, 2011).

- Tuzun etkisi: Biyojen amin oluşumunda ortamın tuz konsantrasyonu oldukça önemlidir. Tuz konsantrasyonunun % 5'ten fazla olması, histidin dekarboksilaz aktivitesini inhibe ettiğinden histamin oluşumunda önemli bir engel oluşturmaktadır (Shabby, 1996).
- Sıcaklık, pH ve olgunlaşma süresinin etkisi: Sıcaklık peynir olgunlaşmasında olgunlaşmanın seyrini ve proteoliz düzeyini etkileyebilen en önemli etmendir. Bu nedenle BA üretiminde de dolaylı olarak etkili olmaktadır. Çünkü sıcaklığın yükselmesi peynirin mikroorganizma yükünün hızla artmasına, ortamda daha fazla miktarda substrat (amino asit) bulunmasına ve enzim aktivitesinin artmasına neden olmaktadır (Akalin, 2011). Bu nedenle BA oluşumunda depolama süresi ve sıcaklığı BA oluşumunda olumlu bir etki sağlayacaktır (Çolak ve Aksu, 2002). pH, dekarboksilaz aktivitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Aminoasit dekarboksilaz aktivitesinin asidik ortamda artış gösterdiği ve pH 4,0 ve 5,5 arasında optimum düzeyde olduğu bildirilmektedir (Santos, 1996).
- Mikroorganizmaların etkisi: Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri, BA oluşumuna neden olabilmektedir. Örneğin, peynirdeki proteoliz nedeni ile serbest kalan histidinin bazı mikroorganizmalarca substrat olarak kullanıldığı belirtilmiştir (Akalin, 2011). Laktik asit bakterilerinin büyüme ve gelişmesine olanak sağlayan çok sayıda gıda maddesinde önemsenecek düzeyde putresin, kadaverin, histamin ve tiramin bulunmaktadır. Peynir üretiminde kullanılan ticari starter kültürlerin yüksek oranda tiramin ve putresin üretimine yol açarken diğer biyojen amin üretimlerinde azalmaya neden oldukları saptanmıştır (Yeğin ve Üren, 2008).

2.4. Peynirlerde Biyojen Amin İle İlgili Çalışmalar

Durlu-Özkaya. (2002), 6 Civil, 9 Urfa, 4 Mihaliç, 10 Kaşar (olgun), 9 Van Otlı, 5 Kaşar (taze) ve 9 Örgü peynir örneğinde TRY, PHA, PUT, CAD, HIT, TYA, SPM

ve SPD biyojen amin içeriklerini belirlemiştir. Civil peynirler en yüksek HIT (ortalama 94,76 mg/100 g) ve TYA (ortalama 138,16 mg/100 g) içeriğine sahip olup toksik dozdan çok daha yüksek miktarda olduğunu belirtmiştir. Ayrıca Mihaliç peynirlerinin HIT seviyesi de kabul edilenden daha yüksek miktarda oldu açıklanmıştır. Diğer peynirlerde ise biyojen amin konsantrasyonları toksik doz limitlerinden çok daha düşük olduğunu saptamıştır. Olgun yumuşak peynir türlerinden biri olan Civil peynirleri analiz edilen diğer peynir türleri arasında en yüksek toplam biyojen amin (349,31 mg/100 g) içeriğine sahip peynir olduğunu belirtmiştir. Bu sırayı olgun sert peynir türlerinden Urfa (65,19 mg/100 g), Mihaliç (60,89 mg/100 g), Kaşar (58,49 mg/100 g) ve Otlu peyniri (34,78 mg/100 g) izlediğini belirtmiştir. Taze sert peynir türlerinden Kaşar (20,14 mg/100 g) ve Örgü peyniri (13,21 mg/100 g) bu sıralamanın sonlarında yer aldığını saptamıştır. Bu sonuçlara bağlı olarak serbest amino asit içeriğine göre olgun peynirlerde bulunan biyojen amin miktarı taze peynirlerinkinden daha yüksek olduğu sonucuna varmıştır.

Çizelge 2. 2. Bazı Türk peynirlerinde biyojen amin konsantrasyonları (mg/100g) Durlu-Özkaya. (2002)

Peynirler	Civil	Urfa	Mihaliç	Kaşar (olgun)	Otlu	Kaşar (taze)	Örgü
PHA							
Örnek sayısı	6	9	4	10	9	5	9
ortalama	-	0,29	-	-	-	0,37	-
min-max	-	0-1,45	-	-	-	0-0,48	-
PUT							
ortalama	67,43	-	20,87	8,81	2,43	3,47	4,83
min-max	35,96-99,05	-	18,47-25,55	6,52-11,31	0-4,67	0,63-6,06	0-8,82
CAD							
ortalama	48,96	16,1	0,85	2,65	0,8	4,26	2,63
min-max	13,42-83,08	0-91,2	0-2,63	0,25-9,92	0-3,45	1,16-7,64	0-7,62
HIT							
ortalama	94,76	-	12,64	4,59	1,74	3,52	2,54
min-max	91,23-99,65	-	10,91-15,73	0,98-18,8	0-5,25	0-6,13	0-7,19
TYA							
ortalama	138,16	11,5	13,55	30,96	18,24	10,95	0,98
min-max	92,51-195,16	0-32,43	10,83-18,39	0-93,11	4,74-26,38	3,21-19,49	0-3,02
SPD							
ortalama	-	37,3	12,98	11,48	11,57	7,57	2,23
min-max	-	11,53-83,14	9,14-17,03	0-19,76	4,18-16,89	0-16,93	0-9,46

PHA: Feniletilamin, PUT: Putresin, CAD: Kadaverin, HIT: Histamin, TYA: Tiramin, SPD: Spermidin

Bonetta vd. (2008), tipik bir İtalyan keçi peynirinde (Robiola di Roccaverano) biyojen amin üreten bakteriler saptamaya çalışmışlardır. Tüm peynir örneklerinde genel olarak histamin bulunurken tiramin en bol bulunan biyojen amindir. 2-

feniletilamin ve triptamin hemen hemen tüm peynir örneklerinde düşük konsantrasyonlarda bulunurken tiramin (2,067 mg/kg) ve histamin (1,786 mg/kg) olgun peynirlerde yüksek miktarda bulunmuştur. Olgun Robiola di Roccaverano 'da biyojen aminleri üreten suşların ve tiramin ile histaminin yüksek konsantrasyonlarının tüketiciler için risk oluşturabileceği belirtilmiştir.

Andiç vd. (2009), 30 Otlu peynirde biyojen amin varlığını saptamıştır. Yapılan analiz sonucunda en önemli biyojen amin tiramin (18,0-1125,5 mg/kg) ve ardından kadaverin takip etmektedir. Otlu peynirde tiramin düzeyi diğer amin seviyelerinden daha yüksek çıkmıştır. 30 peynir örneğin 29 'unda tiramin, 19 peynir örneğinde feniletilamin (peynir örneklerin yaklaşık yarısındaki düzeyi 100 mg/kg'dan daha yüksek) bulunduğu ifade edilmiştir. Kadaverinin en yüksek miktarı 1844,5 mg/kg iken putresinin en yüksek miktarı 847 mg/kg olarak bulunduğu belirtilmiştir. Çiğ süttten yapılan Otlu peynirinde kadaverin ve putresin miktarının daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir.

Çakmakçı vd. (2012a) 41 adet Küflü Civil peynir örneğinden 186 küf suşu izole etmiş ve izole ettikleri suşların 165 adedi *P. roqueforti* olarak tanımlamıştır. 165 *P. roqueforti* suşundan sadece 28 suşun penisilik asit, *P. roqueforti* toksin ve rokfortin üretmediğini saptamıştır.

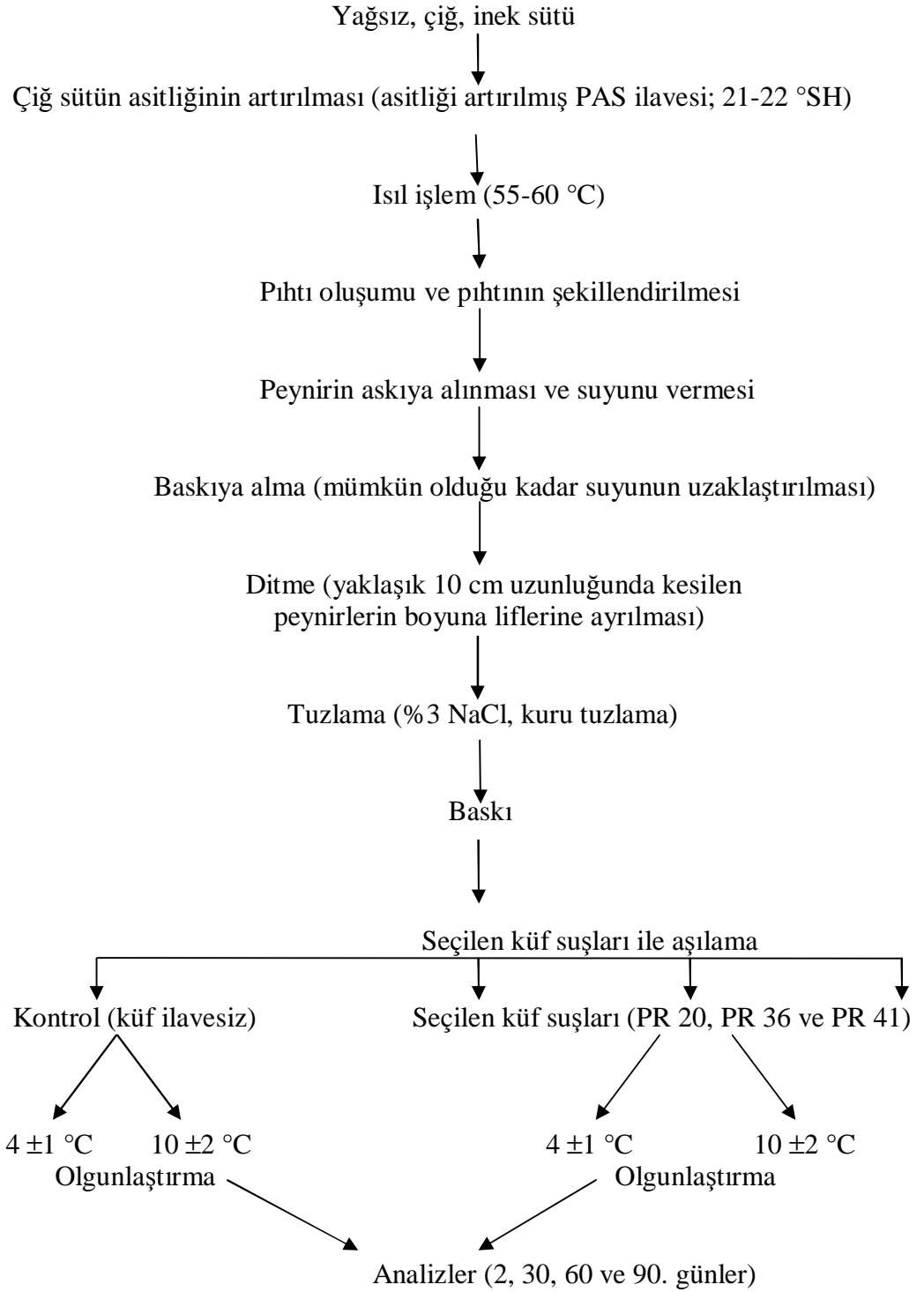
3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada, materyal olarak Erzurum ve çevresinde üretilen Küflü Civil peynir kullanılmıştır. Peynir örnekler, Erzurum'da faaliyet gösteren Leben Süt Ürünleri Ltd. Şti. imkanları ve Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde yürütülen 111 O 199 nolu TÜBİTAK projesinin desteği ile yürütülmüştür. Peynir üretimi Şekil 3.1'de gösterildiği gibi gerçekleştirilmiş ve toksin üretmediği saptanan özel *Penicillium roqueforti* suşları (PR 20, PR 36 ve PR 41) peynir üretiminde kullanılmıştır. Üretilen peynirler *Penicillium roqueforti* suşu içermeyen kontrol peyniri ile karşılaştırılmıştır. Peynirler iki farklı sıcaklıkta (4 ve 10 °C) 90 gün süre ile olgunlaştırılmış ve kesim 3.2'de belirtilen analizleri yapılmıştır. Peynir üretim yöntemi ayrıntılı olarak Şekil 3.1'de verilmiştir.

Civil peynir üreten küçük tesislerde starter kültür kullanılmadan yağı alınmış süt kullanılarak üretilir ve bu nedenle üretim yöntemi standardize edilmemiştir. Süt ürünleri üreten küçük işletmelerde özellikle tereyağı üretiminden sonra yağı alınmış sütün önemli bir kısmı ekonomik olarak ek bir kar elde etmek için Civil peynirine işlenmektedir (Cambaztepe vd., 2009).

Yağsız süt 15°C'de bir gece bekletilmiştir. Taze süt ile asitliği 22 °SH'a ayarlanmış ve asitliği ayarlanmış süt 30°C'ye kadar ısıtılmıştır. Sıvı şirden mayası katılarak ısıtma işlemine devam edilmiştir. Süt içerisinde 52-53 °C'de pıhtı parçacıkları oluşmaya başlayınca karıştırma işlemi ile pıhtı parçacıkları bir araya getirilerek kepçenin etrafına sarılması sağlanmıştır. Isıtma işlemine 65±2 °C'ye kadar devam edilmiştir. Bu arada meydana gelen pıhtı, yoğurma ve çekme işlemleri ile tel haline getirilmiştir. İçerisinde aynı sıcaklıkta peyniraltı suyu bulunan kazana daldırılıp devamlı çevrilen kütle ince tel haline getirilmiş ve daha sonra kuru tuzlama yapıldıktan sonra peynir yüzeyine küf (sporları) inokülasyonu yapılmıştır.



Şekil 3. 1. Civi peynir üretim şeması

Peynirler üretim sonrası farklı *Penicillium roqueforti* küf suşu kullanılarak uygun koşullarda küflendirilmiştir. 4 ve 10 °C’de 3 ay olgunlaştırılmıştır. Olgunlaşmanın 2, 30, 60 ve 90. günlerinde aşağıda verilen yöntemler kullanılarak analizler yapılmıştır. Küflerin biyojen amin etkisini araştırmak için küflendirilmemiş Civil peynirini Kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir.

3.2. Yöntem

Bu çalışmada Küflü Civil peynirinde aroma gelişimi GC-MS cihazında SPME yöntemi ile biyojen amin varlığı ise HPLC kullanılarak belirlenmiştir.

3.2.1. Aroma maddelerinin belirlenmesi

Aroma için örneğin hazırlanışı; peynir örnekleri -20 °C ’de dondurulmuştur. Daha sonra dondurulan örneklerden 15 mL hacimli vial 3,0 g örnek tartılmıştır. 81 ppm asitler için 2-metil-pentanoik asit ve diğer bileşikler için 2-metil-3-heptanon iç standart olarak 10 µL kullanılmıştır. 40 °C ’de 30 dakika bekletilmiştir. Uçucu maddelerin ekstraksiyonunda çözücüsüz teknik kullanılmıştır (Pawliszyn, 1997). Ekstraksiyon işlemi 2 cm 50/30 µm divinylbenzene-carboxen-polydimethylsiloxane (DVB/CAR/PDMS) (Supelco, Bellefonte, PA, USA) fiber-vial enjeksiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Fiber 40 °C ’de 30 dakika tepe boşluğunda (headspace) tutularak aroma maddelerinin fiber yapısına geçmesi sağlanmıştır. Ekstrakte edilen uçucu bileşiklerin desorpsiyonu GC-MS sisteminde yapılmıştır. Desorpsiyon sırasında fiber, enjeksiyon bloğuna daldırılarak 250 °C ’de 2 dakika bekletilmiştir. Taşıyıcı gaz olarak 1 mL/dakika akış hızında helyum kullanılmıştır. Bileşiklerin ayırımında DB-Wax (60 m × 0,25 mm × 0,25 µm; J&W Scientific, Folsom, CA, USA) kolonu kullanılmıştır. Uygulanan fırın sıcaklık programı şöyledir: Başlangıçta 40 °C ’de 2 dakika tutulmuş (desorpsiyon periyodu) ve dakikada 5 °C olmak üzere sıcaklık 70 °C ’ye yükseltilerek bu sıcaklıkta 1 dakika tutulmuştur. Daha sonra sıcaklık dakikada 10 °C artışla 240 °C’ ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 30 dakika tutulmuştur. Kütle spektrometresi 33-450 amu arası ayarlanmış (eşik değeri 1000) ve örnekleme hızı dakikada 1,11 tarama olarak ayarlanmıştır. Peynirlerin uçucu aroma bileşikleri belirlenmesinde Shimadzu GC-2010 gaz kromatografisi sistemi ve bu sisteme bağlı

Shimadzu QP-2010 kütle spektrometresi sistemi kullanılmıştır. Ayırımı gerçekleştiren aroma bileşiklerin tanımlanmasında Wiley, National Institute of Standards and Technology (NIST) kütüphaneleri ve her bir pikin alıkonma zamanları ile hidrokarbon standardının alıkonma zamanları kullanılarak hesaplanan 'Retention Index' (RI) değerleri referans alınmıştır. Sonuçlar µg/100g peynir olarak verilmiştir.

3.2.2. Biyojen amin miktarının belirlenmesi

Bu çalışmada biyojen aminlerin UV dedektör kullanılarak tespiti gerçekleştirilmiştir. Her bir peynir örneğinden ekstrakte edilen biyojen aminler, dansil klorid ile türevlendirilerek söz konusu aminlere 254 nm dalga boyunda absorbans yapma özelliği kazandırılmıştır.

Çizelge 3. 1. HPLC cihazının özellikleri ve biyojen amin analizi için kromatografi koşulları

HPLC	Shimadzu HPLC (Japonya)
Kolon fırını	Shimadzu CTO 20A
Kolon	Inertsil®ODS-3 C18 5µm (4,6X250mm)
Kolon sıcaklığı	40 °C (Maksimum sıcaklık 85 °C)
Pompa	Shimadzu LC 20AD
Otosampler	Shimadzu SIL 20A HT
Degasser	Shimadzu DGU 20A5
Dedektör	Diode array dedektör, Shimadzu SPD M20A
Yazılım Programı	Shimadzu LC solution
Mobil Faz	A çözelti: 30 mL pH 8 tampon/ 550 mL asetonitril/420 mL ultra saf su B çözelti: 2 mL pH 8 tampon / 900 mL asetonitril/100 mL ultra saf su
Akış Hızı	0,75 mL/dakika
Enjeksiyon	20 µL

BA miktarlarının belirlenebilmesi için öncelikle BA standartlarının kalibrasyon eğrisinin çizilmesi gerekmektedir. Bu amaçla histamin, triptamin, putresin, feniletilamin, tiramin, kadaverin, spermin ve spermidin her bir biyojen amininden 50 mg tartılıp toplam hacim 50 mL' ye saf su ile tamamlanarak 1000 ppm' lik standart çözeltiler hazırlanmıştır. Bunlar stok çözeltilerdir. Anamiks hazırlamak için

triptamin, putresin, feniletilamin, tiramin, kadaverin, spermin ve spermidin stok çözeltilerden 600 µL ve histamin stok çözeltilisinden 800 µL alınarak son hacim 5 mL olmuştur. Hazırlanan bu anamiksten farklı konsantrasyonlarda standart biyojen amin içerecek şekilde 7 farklı miks hazırlanmıştır.

Miks1: 1mL anamiksten alınır.

Miks 2: 500 µL anamiks + 500 µL 0,4 M HClO₄

Miks 3: 200 µL anamiks + 800 µL 0,4 M HClO₄

Miks 4: 100 µL anamiks + 900 µL 0,4 M HClO₄

Miks 5: 50 µL anamiks + 950 µL 0,4 M HClO₄

Miks 6: 20 µL anamiks + 980 µL 0,4 M HClO₄

Miks 7: 10 µL anamiks + 990 µL 0,4 M HClO₄

Buna göre hazırlanan mikslerin son konsantrasyonları;

Çizelge 3. 2. BA mikslerin konsantrasyonları

	Histamin (mg/L)	Diğerleri (mg/L)
Miks 1	160	120
Miks 2	80	60
Miks 3	32	24
Miks 4	16	12
Miks 5	8	6
Miks 6	3,2	2,4
Miks 7	1,6	1,2

Hazırlanan 7 farklı konsantrasyonlardaki mikslere türevlendirme işlemi uygulanmıştır. Bunun için mikslardan 1 mL alınmış ve üzerine 2N 200 µL NaOH ve 300 µL doymuş sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ilave edilip daha sonra taze hazırlanmış 2 mL dansil klorid çözeltisi (10 mg DaCl/ 1 mL asetoin) ilave edilmiştir. 45 dk 45 °C' de su banyosunda türevlendirme için bekletilmiştir. Fazla DaCl alınması için 100 µL % 25' lik NH₃ (amonyak) eklenmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Asetonitril ilavesiyle hacim 5 mL'ye tamamlanmıştır. Soğutmalı santrifüjde 2500 rpm 4 °C' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj

sonrası sulu faz 0,45 µm çapında filtreden geçirilerek viale süzölmüş ve cihaza verilmiştir.

0,1 M Tris, 0,1 M asetik asit ve destile su sırasıyla % 40, % 20, % 40 oranında kullanılarak pH 8 olacak şekilde HPLC mobil fazında 2-nonanol görevi göreceğ olan tampon hazırlanmıştır. A çözeltisi, 30 ml 2-nonanol, 550 ml asetonitril, 420 ml destile su ve B çözeltisi ise 2 ml tampon, 900 ml asetonitril, 100 ml su kullanılarak hazırlanmıştır. HPLC’de kullanılan gradient programı Çizelge 3.3. ’ de gösterilmiştir.

Çizelge 3. 3. Kromatografide kullanılan gradient programı, toplam akış 0,75 mL/dakika

Süre (dk)	% A Çözelti	% B Çözelti
0,01	95	5
15,00	70	30
20,00	37	63
21,00	0	100
35,00	0	100
36,00	95	5
45,00	95	5

Peynir örneklerinde biyojen aminlerin ekstraksiyonu için -20 °C’de dondurulmuş örneklerden 2,0 g peynir tartmış ve 0,125 mL 1000 ppm iç standart (1,7-diaminoheptan) eklenmiştir. Daha sonra 10 mL 0,4 M HClO₄ ilave edilerek Ultra-Turrax ile homojenize edilmiştir. Soğutmalı santrifüjde 3000 rpm 4 °C’ de 10 dakika santrifüjlenmiştir ve sulu faz kaba filtre kağıdından geçirilerek birinci ekstrakt elde edilmiştir. Dipte kalan katı fraksiyona ikinci kez 10 mL 0,4 M HClO₄ ilave edilerek Ultra-Torrax ile homojenize edilmiştir. Soğutmalı santrifüjde 3000 rpm 4 °C’de 10 dakika santrifüjlenmiş ve sulu faz tekrar kaba filtre kağıdından geçirilerek ikinci ekstrakt elde edilmiştir. Elde edilen iki ekstrakt 25 mL’ lik balon jöjeye toplanmış ve son hacim 0,4 M HClO₄ ile 25 mL’ ye tamamlanmıştır.

Peynir örneklerinin BA içeriğini belirlemek için elde edilen ekstraktların türevlendirilmesi gerekmektedir. Bunun için elde edilen ekstraktlardan 1 mL alınmıştır. Üzerine 2N 200 µL NaOH ve 300 µL doymuş sodyum bikarbonat (NaHCO₃) ilave edilmiş daha sonra taze hazırlanmış 2 mL dansil klorit çözeltisi (10 mg DaCl/ 1 mL asetoin) ilave edilmiştir. 45 dk 45 °C' de su banyosunda türevlendirme için bekletilmiştir. Fazla DaCl alınması için 100 µL % 25' lik NH₃ (amonyak) eklenmiş ve 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Asetonitril ilavesiyle hacim 5 mL' ye tamamlanmıştır. Soğutmalı santrifüjde 2500 rpm 4 °C' de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası sulu faz 0,45 µm çapında filtreden geçirilerek vialle süzölmüş ve HPLC'ye verilmiştir. Sonuçlar µg/g peynir olarak verilmiştir.

3.2.3. İstatistiksel analizler

Çalışma sonunda elde edilen veriler varyans analizine tabi tutulmuş ve gruplararası farklılıklar Duncan testine göre belirlenmiştir. İstatistiksel analizler SPSS[®] paket programı (versiyon, 9.0) aracılığı ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma iki tekrarlamalı olarak yürütölmüştür. Örneklere uygulanan farklı işlemlerin (olgunlaşma süresi, olgunlaşma sıcaklığı ve *Penicillium roqueforti* suşları) etkisinin birlikte görülmesi ve sonuçların yorumlanması amacıyla genel lineer model faktör analizi kullanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Uçucu Bileşikler

Peynir üretimi ve depolanması esnasında süt bileşenlerinden protein, yağ, laktoz ve sitrat gibi besin unsurları, enzimatik, kimyasal ve mikrobiyolojik yolla parçalanarak ve/veya transformasyona uğrayarak aroma bileşenlerini oluştururlar (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Bu çalışmada SPME yöntemi ile 16 adet keton (Çizelge 4.1.), 5 adet aldehit (Çizelge 4.2.), 12 adet alkol (Çizelge 4.3.), 28 adet ester (Çizelge 4.4.), 8 adet asit (Çizelge 4.5.), 7 adet terpen (Çizelge 4.6.) ve 13 adet diğer bileşikler (Çizelge 4.7.) olmak üzere toplam 89 adet aroma bileşiği tespit edilmiştir.

Ketonlar ve metil ketonlar, ppm ve ppb gibi düşük seviyelerde algılanma eşik değerlerine sahip tereyağı ve mavi-küflü peynirlerin aromalarından sorumlu maddeleridir. Trigliseridlerin lipazla serbest yağ asitlerine dönüşümü sonrası ağırlıklı olarak fungal (*Penicillium roqueforti*, *P. camemberti*, *G. candidum*) veya bakteriyel (*Lactococcus* spp.) enzimlerin etkisiyle β -ketoasitler (β -ketoasil-koenzim A.) oluşmaktadır. β -ketoasitlerin dekarboksilasyonu (1 mol CO₂ ayrılmasıyla) metil ketonlar oluşmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Çizelge 4. 1. Peynirlerde bulunan keton miktarı ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
826	2-Propanon (Aseton)	2	0,57±0,08						
		30		0,85±0,04	1,65±0,10	0,74±0,03	0,97±0,60	0,83±0,21	0,75±0,01
		60		1,95±0,13	0,66±0,05	0,29±0,00	1,61±0,14	0,26±0,05	1,23±0,00
		90		0,69±0,06	0,32±0,02	0,55±0,04	1,03±0,26	0,87±0,11	0,26±0,00
910	2-Butanon	2	0,72±0,10						
		30		1,21±0,50	1,75±0,27	1,12±0,03	1,01±0,31	0,30±0,25	0,98±0,04
		60		0,85±0,16	6,54±0,08	3,55±0,23	1,74±0,10	1,74±0,01	10,18±1,21
		90		0,65±0,02	16,22±0,53	TE	5,18±0,99	0,31±0,03	12,44±0,80
939	3-Metil-2-butanon	2							
		30		0,34±0,05	TE	0,48±0,12	0,24±0,23	0,52±0,09	TE
		60		0,16±0,00	TE	0,48±0,00	0,35±0,02	0,55±0,04	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
986	2-Pentanon	2	6,22±1,54						
		30		4,21±1,56	3,24±0,38	3,07±0,09	4,07±0,56	2,88±0,61	2,26±0,08
		60		3,87±0,17	3,04±0,20	4,60±0,14	2,44±0,11	2,67±0,38	3,16±0,32
		90		2,35±0,14	1,73±0,06	1,44±0,12	2,33±0,28	4,26±0,65	1,73±0,40
1026	3-Metil-2-pentanon	2	TE						
		30		2,91±1,29	1,17±0,51	4,03±0,13	1,21±0,64	3,87±0,88	TE
		60		1,74±0,16	TE	5,60±0,15	1,33±0,00	6,03±0,10	2,73±0,02
		90		0,55±0,01	16,61±0,75	TE	2,76±0,47	TE	14,07±0,84
1088	Hekzan-2-on	2							
		30		0,05±0,02	TE	TE	0,14±0,02	0,13±0,05	TE
		60		TE	TE	0,24±0,01	0,20±0,02	0,15±0,02	TE
		90		TE	0,11±0,13	0,09±0,02	TE	0,41±0,03	TE
1192	Heptan-2-on	2	TE						
		30		0,04±0,01	TE	0,38±0,09	TE	TE	TE
		60		TE	TE	0,49±0,56	0,11±0,02	TE	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1238	Oktan-4-on	2	TE						
		30		TE	TE	TE	TE	0,27±0,02	0,24±0,00
		60		TE	0,29±0,07	TE	0,41±0,03	0,16±0,03	0,35±0,03
		90		0,18±0,01	0,22±0,02	0,15±0,01	TE	TE	TE
1261	Oktan-3-on	2	TE						
		30		0,13±0,04	0,25±0,08	TE	0,23±0,11	TE	0,12±0,00
		60		0,36±0,05	0,29±0,06	0,67±0,06	1,08±0,08	TE	0,34±0,03
		90		TE	TE	0,60±0,00	0,49±0,03	0,51±0,01	TE
1294	Oktan-2-on	2							
		30		TE	TE	TE	0,32±0,12	TE	TE
		60		0,61±0,13	TE	0,34±0,05	TE	TE	0,51±0,02
		90		0,25±0,03	TE	TE	TE	2,02±0,93	TE
1302	3-Hidroksi-2-butanon (Asetoin)	2	9,69±2,03						
		30		1,42±0,42	0,90±0,10	TE	1,28±0,08	TE	0,90±0,06
		60		1,23±0,29	1,36±0,08	TE	2,11±0,29	TE	3,34±0,20
		90		0,53±0,06	0,91±0,20	TE	0,73±0,02	TE	0,46±0,08
1346	7-Okten-2-on	2	TE						
		30		TE	TE	0,14±0,01	TE	TE	TE
		60		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		90		TE	TE	TE	0,31±0,01	TE	TE
1353	6-Metil-5-hepten-2-on	2	1,11±0,67						
		30		0,19±0,02	0,21±0,04	0,29±0,00	0,23±0,07	0,21±0,01	0,20±0,08
		60		0,64±0,03	0,21±0,07	0,40±0,01	0,99±0,12	0,36±0,05	0,60±0,01
		90		0,25±0,05	0,31±0,05	0,27±0,01	0,41±0,05	0,72±0,14	0,19±0,00
1406	2-Nonanon	2	1,60±0,34						
		30		TE	5,82±0,57	TE	5,94±0,51	TE	TE
		60		TE	2,98±0,31	TE	8,72±0,89	TE	5,56±0,02
		90		4,15±0,17	4,60±0,57	11,07±1,15	TE	26,01±8,13	TE

Çizelge 4.1'in devamı

1619	2-Undekanon	2	TE						
		30		0,62±0,01	0,29±0,26	0,51±0,04	0,15±0,01	0,32±0,03	
		60			0,55±0,02	0,66±0,06	0,23±0,10	0,39±0,02	
		90	0,37±0,02	0,30±0,04	3,36±0,20	0,82±0,11	2,91±1,79	0,12±0,03	
1622	Dekan-2-on	2	TE						
		30	0,05±0,00	TE	TE	TE	TE	TE	
		60	TE	TE	TE	TE	TE	TE	
		90	TE	TE	0,17±0,01	TE	0,27±0,16	TE	
TOPLAM		2	19,91						
		30	11,4	15,61	10,54	16,15	9,16	5,77	
		60	11,41	15,37	16,2	21,75	12,15	28,39	
		90	9,97	41,33	17,7	14,06	38,29	29,27	

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 16 keton bileşiği tespit edilmiş olup, depolama süresince PR 36 ve PR 41 peynirlerinde keton miktarları artmıştır. Taze peynirde aseton miktarı (9,29 µg/100 g peynir) yüksek çıkmıştır. Olgunlaşmanın 30. ve 90. gününde aseton konsantrasyonunda önemli düzeyde bir farklılık görülmüştür ($P<0,05$). Ancak örnekler arasında ve sıcaklık açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($P>0,05$). 3-Metil-2-pentanon, 2-heptanon, oktan-2-on ve 2-nonanon bileşikleri 10 °C'de olgunlaştırılan peynirlerde daha yüksek bulunmuştur. Ketonlar arasından 2-pentanon ve 2-nonanon daha yüksek konsantrasyonda çıkmıştır ve dominant keton bileşiği olarak değerlendirilebilir. Wolf vd. (2010) 20 ticari Arjantin mavi peynir örneğinde C₃-C₉ arası tek karbonlu metil keton saptamıştır. En yüksek konsantrasyonda bulunan metil ketonlar 2-pentanon, 2-heptanon ve 2-nonanon'dur. Hayaloğlu vd. (2008) 28 Küflü Civil peynir örneğinde toplam 20 keton bulmuştur. En yüksek konsantrasyonda ketonların 2-butanon, 2-pentanon, 2-heptanon ve 2-nonanon'un olduğu belirtilmiştir. Çakmakçı vd. (2012b) Küflü Civil peyniri örneklerinde 12 keton saptamıştır. 2-Pentanon, 2-heptanon ve 2-nonanon tüm peynir örneklerinde bulunan önemli ketonlar olduğunu belirtmişlerdir. Olgunlaşmanın ilk günlerinde diasetil ve aseton konsantrasyonu en yüksek konsantrasyonda iken olgunlaşmanın sonuna doğru giderek azaldığını ifade etmişlerdir.

Aldehitler amino asitlerin katabolizması sırasında, transaminasyon ya da Strecker degradasyonu sırasında meydana gelen geçici bileşiklerdir (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Çizelge 4. 2. Peynirlerde bulunan aldehit miktarı ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
924	2-Metilbutanal	2	TE						
		30		0,22±0,12	0,47±0,05	0,14±0,08	0,29±0,05	TE	0,24±0,15
		60			0,17±0,06		0,20±0,04	0,17±0,06	0,23±0,02
		90		0,27±0,02	0,26±0,00	0,11±0,01	0,39±0,10	12,98±17,05	0,18±0,07
927	3-metil-1-butanal	2	0,52±0,04						
		30		0,74±0,36		0,39±0,16	0,74±0,47	0,69±0,23	0,97±0,57
		60		1,27±0,80	0,60±0,15	0,24±0,04	0,60±0,08	0,21±0,02	0,99±0,16
		90		1,01±0,25	1,02±0,13	0,60±0,01	1,83±0,39		0,69±0,19
1089	Hekzanal	2	1,99±0,58						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1412	Nonanal	2	2,86±0,39						
		30		TE	0,46±0,06	TE	TE	TE	TE
		60		TE	0,47±0,11	TE	TE	TE	0,54±0,06
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1556	Benzaldehit	2	TE						
		30		0,15±0,05	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	0,32±0,00	TE	0,31±0,07	TE	0,64±0,06
		90		0,20±0,02	0,27±0,01	0,40±0,08	TE	0,33±0,07	0,38±0,18
TOPLAM		2	5,37						
		30		1,11	0,93	0,53	1,03	0,69	1,21
		60		1,27	1,56	0,24	1,11	0,38	2,4
		90		1,48	1,55	1,11	2,22	13,31	1,25

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 5 aldehit tespit edilmiş olup PR 36 peynirlerinde 3-metil-1-butanal konsantrasyonunda olgunlaşmanın 60. gününde azalırken 90. gününde tekrar artış göstermiştir. Taze peynirde en yüksek konsantrasyonda ($5,37\ \mu\text{g}/100\text{ g}$) aldehit bulunmuştur. Hekzanal sadece 2 gün olgunlaştırılan peynir grubunda saptanmıştır. Nonanal ve benzaldehit dışında örnek çeşidi, olgunlaşma sıcaklığı ve olgunlaşma süresinin aldehit bileşikleri üzerinde önemli düzeyde bir etkinin olmadığı saptanmamıştır. Nonanal oluşumunda sıcaklığın önemli bir etmen olduğu görüldü ($P<0,05$). Hayaloğlu vd. (2008) tüm peynirlerde aldehitler arasında 3-metil-1-butanalın en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu saptamıştır. Wolf vd. (2010) aldehitler arasında asetaldehit ve 3-metil-1-butanalı saptamıştır. 3-metil-1-butanalın yüksek konsantrasyonda bulunduğunu saptamıştır. 3-metil-1-butanal aroma aktif bir bileşiktir ve Strecker parçalanması yoluyla açığa çıkan lösinin *P. roqueforti* tarafından proteolitik aktivitesi sonucu oluştuğu ve bu bileşiğin çimen ve malt kokusundan sorumlu olduğu belirtilmiştir. (Wolf vd., 2010). Kaminarides vd. (2007) Hellim peynirinde asetaldehit, 3-metil-1-butanal, 3-hidroksibutanal, pentanal ve heptanalı saptamıştır. Asetaldehit konsantrasyonu olgunlaşmanın 15. gününe kadar artmış ve olgunlaşmanın

devamında azalış görülmüştür. Wolf vd. (2010) asetaldehitin fermente süt ürünlerinde yaygın olarak bulunduğunu ve keskin tatlı bir koku ile karakterize edildiğini ifade etmiştir. Asetaldehit depolamanın 15. günden sonra artarken 3-metil-1-butanal depolamanın 15. gününe kadar artmış daha sonra azalmıştır. Çakmakçı vd. (2012b) Küflü Civil peyniri örneklerinde 3 aldehit tanımlamış ve dallanmış zincirli bir aldehit olan 3-metil-1-butanal önemli konsantrasyonda çıktığını belirtmiştir.

Alkoller peynirde gerçekleşen 3 önemli biyokimyasal yolla (proteoliz, lipoliz ve glikoliz) oluştuğu belirtilmektedir. Bu kapsamda alkol oluşumunda; amino asit metabolizması, laktoz metabolizması, metil ketonların redüksiyonu ve doymamış yağ asitlerinin (linoleik ve linolenik asit) parçalanmasının etkin rol oynadığı ileri sürülebilir sırasında alkoller oluşabilmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Çizelge 4. 3. Peynirlerde bulunan alkol miktarı (µg/100 g)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
936	Etanol	2	1,16±0,30						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	0,40±0,00
		60		TE	0,65±0,14	TE	TE	TE	0,44±0,00
		90		TE	1,00±0,04	TE	TE	TE	2,33±0,18
1101	2-Metil-1-propanol	2	3,01±0,08						
		30		0,71±0,28	3,99±0,60	4,27±1,26	2,59±0,98	2,68±0,30	3,18±0,23
		60		2,90±0,23	2,63±0,30	TE	2,72±0,23	1,22±0,14	0,65±0,25
		90		2,41±0,00	TE	3,02±0,04	1,47±0,28	2,22±0,32	0,76±0,00
1130	Pentan-2-ol	2	TE						
		30		TE	TE	0,23±0,25	TE	0,21±0,05	TE
		60		0,23±0,04	TE	0,45±0,00	TE	0,15±0,01	TE
		90		1,00±0,21	TE	0,48±0,02	TE	2,14±0,02	1,10±0,25
1213	3-metil-1-butanol	2	38,45±1,07						
		30		30,76±5,99	42,60±1,35	41,94±4,42	TE	27,76±1,95	35,04±0,24
		60		37,92±12,65	33,80±1,15	10,49±0,51	36,45±4,03	24,52±0,60	51,81±3,68
		90		33,19±0,66	32,15±2,07	28,37±0,11	28,43±4,09		34,94±4,51
1248	1-Dodekanol	2	TE						
		30		TE	0,64±0,02	0,62±0,26	TE	0,84±0,34	0,80±0,01
		60		TE	0,83±0,03	0,90±0,11	0,78±0,01	0,77±0,22	0,59±0,05
		90		0,55±0,05	0,97±0,08	TE	0,41±0,47	0,77±0,14	0,71±0,22
1258	3-Metil-3-buten-1-ol	2	TE						
		30		TE	0,40±0,03	0,75±0,00	TE	TE	0,41±0,01
		60		TE	TE	0,21±0,06	0,32±0,07	0,33±0,04	0,34±0,04
		90		0,36±0,00	TE	TE	0,31±0,14	TE	0,17±0,01
1325	Heptan-2-ol	2	0,74±0,19						
		30		0,84±0,19	TE	2,25±0,05	2,23±0,61	1,66±0,04	
		60		0,90±0,43	5,26±0,47	1,14±0,02	1,51±0,21	0,56±0,04	1,26±0,08
		90		3,70±0,46	5,50±0,23	3,97±0,63	11,29±0,39	10,44±2,55	5,33±0,26
1360	Hekzan-1-ol	2	1,12±0,72						
		30		0,18±0,01	0,16±0,11	0,30±0,14	0,25±0,05	0,18±0,02	TE
		60		0,44±0,14	0,47±0,14	TE	0,61±0,08	TE	0,57±0,07
		90		0,15±0,04	0,94±0,11	0,12±0,02	0,43±0,06	0,12±0,05	0,71±0,11
1500	2-Etilheksanol	2	2,73±1,20						
		30		0,52±0,10	0,45±0,02	0,82±0,04	0,34±0,14	0,49±0,04	TE
		60			0,36±0,07	TE	0,47±0,06	0,48±0,01	0,48±0,06
		90		0,61±0,01	0,56±0,01	0,61±0,01	0,90±0,05	0,81±0,28	0,54±0,00
1528	2-nonanol	2	TE						
		30		0,07±0,02	0,79±0,10	0,22±0,02	0,43±0,10	0,36±0,34	0,55±0,08
		60		TE	1,76±0,09	0,12±0,01	1,78±0,30	0,11±0,03	1,23±0,07
		90		1,09±0,15	1,95±0,15	4,52±0,25	8,52±0,52	5,62±2,30	1,85±0,45
1734	2-Dekanol	2							
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	0,10±0,01	TE	0,35±0,05	TE	TE
		90		TE	0,13±0,01	0,42±0,06	0,51±0,10	0,27±0,15	0,16±0,08
1949	Benzen etanol	2	1,23±0,08						
		30		7,15±1,41	12,57±1,32	10,08±0,46	9,51±0,82	9,00±0,15	5,24±2,55
		60		8,88±1,73	6,37±0,19	1,83±0,10	7,21±1,02	4,19±0,25	22,97±1,17
		90		3,12±0,28	6,48±0,17	0,70±0,03	7,70±0,89	3,37±1,18	6,05±2,15
TOPLAM		2	48,44						
		30		40,23	61,6	61,48	15,35	43,18	45,62
		60		51,27	52,23	15,14	52,2	32,33	80,34
		90		46,18	49,68	42,21	59,97	25,76	54,65

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 12 alkol tespit edilmiştir. Bu alkol bileşikleri arasında 3-metil-1-butanol en yüksek düzeyde

belirlenmiştir. Ancak 3-metil-1-butanol konsantrasyonu üzerinde örnek çeşidi, olgunlaşma süresi ve olgunlaşma sıcaklığı etkili olmadığı saptanmıştır . 2-pentanol bileşiğinin oluşumunda PR 41 peynirinde farklılık oluşturmaktadır ($P<0,05$) . 10 °C’de olgunlaştırılan PR 20 peynirlerinde alkol konsantrasyonu olgunlaşma boyunca azalış gösterirken PR 36 peynirlerinde tam tersi söz konusudur. PR 41 peyniri 4 °C’de olgunlaştırma boyunca alkol konsantrasyonu azalmıştır. Olgunlaşmanın 30. gününde PR 36 peynirinde alkol konsantrasyonu yüksek çıkmıştır. Hayaloğlu vd. (2008) Küflü peynirde 3-metilbutanol, 2-heptanol ve 2-nonanol en yüksek konsantrasyonda bulunan alkoller olduğunu saptamıştır. Llano vd. (1990) Gamonedo mavi peynirinde en yüksek miktarda bulunan alkollerin 2-heptanol 9-18 µg/g ve 2-nonanol 6-15 µg/g olduğunu belirtmiştir. Çakmakçı vd. (2012b) Küflü Civil peyniri örneklerinde en önemli alkollerin 2-pentanol, 3-metil-1-butanol, 2-heptanol ve 2-nonanol olduğunu belirtmişlerdir.

Esterler, diğer aroma bileşiklerine göre daha kompleks tepkimelerle (esterifikasyon ve alkoliz) oluşan bileşiklerdir. Tepkimeye katılacak alkol (primer ve sekonder) laktoz fermantasyonu ve/veya amino asit katabolizması sonucu oluşmakta ve eşit molar hacimde asit ve alkolün esterleşme tepkimesi sonucu ester bileşikleri oluşmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Çizelge 4. 4. Peynirlerde bulunan ester miktarı (µg/100 g)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
844	Metil asetat	2	TE						
		30		TE	1,01±0,41	1,04±0,33	0,45±0,31	0,76±0,27	0,84±0,49
		60		0,68±0,18	0,28±0,02	0,96±0,09	0,84±0,20	1,23±0,05	1,65±0,81
		90		0,68±0,01	0,18±0,03	0,61±0,00	0,94±0,39	1,43±0,05	0,22±0,16
898	Etil asetat	2	9,70±1,71						
		30		0,31±0,23	TE	TE	0,76±0,02	TE	2,14±0,27
		60		TE	5,70±0,29	TE	TE	TE	0,64±0,22
		90		0,58±0,54	TE	TE	0,32±0,02	TE	5,37±1,07
920	Metil propanoat	2	TE						
		30		TE	0,20±0,05	0,14±0,01	0,23±0,04	TE	TE
		60		TE	TE	0,13±0,00	0,29±0,05	0,21±0,02	0,65±0,41
		90		0,25±0,10	TE	0,13±0,00	0,36±0,07	0,23±0,01	TE
932	Propanoik asid, 2-metil-metil ester	2	TE						
		30		1,89±0,72	TE	5,31±0,20	0,75±0,54	3,33±0,11	TE
		60		2,02±0,21	TE	0,54±0,00	1,85±0,32	3,51±0,31	0,86±0,09
		90		0,52±0,30	TE	0,30±0,02	0,62±0,15	0,32±0,04	0,27±0,01
993	Methyl butanoate	2	0,69±0,09						
		30		12,70±3,01	10,48±2,35	15,82±1,08	9,11±1,42	TE	4,37±2,72
		60		12,22±2,64	TE	10,33±0,02	9,23±1,28	13,55±0,73	5,07±0,24
		90		9,60±0,95	2,01±0,01	3,33±0,18	8,12±2,08	4,67±0,23	TE
1018	Butanoic acid, 2-methyl-, methyl ester	2	TE						
		30		1,53±0,49	1,21±1,04	4,48±0,44	0,80±0,07	2,32±0,41	0,18±0,09
		60		1,49±0,17	0,07±0,02	1,08±0,02	1,05±0,13	3,76±0,10	0,52±0,12
		90		0,35±0,24	TE	0,13±0,00	0,29±0,09	0,16±0,03	TE
1019	Asetik asid, 2-metilpropil ester	2	0,49±0,03						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		90		TE	0,18±0,06	TE	TE	TE	0,18±0,02
1043	Ethyl butanoate	2	3,37±0,91						
		30		TE	0,21±0,03	0,35±0,07	TE	0,24±0,07	0,37±0,01
		60		TE	1,44±0,16	TE	TE	0,05±0,08	0,26±0,07
		90		TE	0,77±0,05	TE	0,24±0,01	TE	1,36±0,18
1078	Butil asetat	2	0,95±0,04						
		30		0,12±0,03	0,13±0,08	0,33±0,01	0,26±0,21	0,44±0,26	TE
		60		TE	0,19±0,01	TE	0,28±0,22	0,17±0,04	0,12±0,01
		90		TE	TE	TE	TE	0,15±0,02	TE
1099	İzoamil asetat	2	TE						
		30		0,08±0,01	TE	TE	TE	TE	3,20±0,27
		60		0,12±0,08	14,22±0,92	TE	0,20±0,04	TE	0,93±0,04
		90		0,16±0,03	8,79±0,22	0,33±0,03	TE	TE	9,10±0,70
1166	İzobutil butanoat	2	0,14±0,01						
		30		TE	0,21±0,04	0,52±0,08	0,27±0,13	0,23±0,08	0,28±0,01
		60		TE	0,39±0,05	TE	0,10±0,02	TE	TE
		90		0,19±0,03	0,38±0,06	0,15±0,01	TE	0,13±0,01	0,44±0,03
1185	Butanoik asid, 2-metil-2-metilpropil ester	2	TE						
		30		TE	TE	0,51±0,13	TE	TE	TE
		60		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		90		TE	TE	TE	0,19±0,07	TE	TE
1196	Metil hexanoate	2	2,16±0,15						
		30		7,38±2,42	4,83±1,34	13,04±0,21	5,18±0,96	9,96±3,60	3,32±1,03
		60		TE	2,38±0,08	13,14±0,00	4,74±0,28	8,89±0,13	2,65±0,91
		90		3,71±0,19	3,30±0,22	5,75±0,12	9,38±1,69	TE	TE
1228	Butyric acid, butyl ester	2	1,43±0,95						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	0,37±0,09	TE	TE	TE	TE
		90		TE	0,41±0,16	TE	TE	TE	TE
1242	Hexanoic acid, ethyl ester	2	1,83±0,60						
		30		TE	0,10±0,05	0,27±0,17	TE	TE	0,28±0,01
		60		TE	1,03±0,22	TE	0,21±0,03	TE	2,62±3,21
		90		0,12±0,01	1,24±0,07	0,12±0,01	0,43±0,07	TE	1,70±0,05
1277	Butanoic acid, 3-methylbutyl ester	2	1,43±0,03						
		30			3,42±0,09	3,28±0,03	3,14±0,01	3,13±0,32	2,40±0,73
		60		0,78±0,30	2,81±0,58	0,16±0,10	2,38±0,39	1,96±0,12	1,77±0,19
		90		1,25±0,00	4,24±0,09	2,10±0,04	2,64±0,48	1,76±0,36	4,01±0,45

Çizelge 4.4'ün devamı

1292	2-Metilbutil-2-metilbutirat	2	TE						
		30	TE	TE	0,31±0,02	TE	0,15±0,04	TE	
		60	TE	TE	TE	TE	TE	TE	
		90	TE	0,08±0,01	TE	0,10±0,01	TE	TE	
1298	Butanoik asid, 3-metil-3-metilbutil ester	2	TE						
		30	0,34±0,00	0,61±0,05	1,12±0,29	0,58±0,16	0,95±0,01	0,27±0,00	
		60	TE	0,38±0,00	TE	0,38±0,06	TE	TE	
		90	0,29±0,04	0,43±0,02	TE	1,14±0,15	TE	TE	
1315	Hekzanoik asid, 1,1-dimetilpropil ester	2	TE						
		30	TE	0,15±0,05	0,18±0,01	0,14±0,03	0,19±0,07	0,11±0,00	
		60	TE	0,19±0,11	0,33±0,00	0,12±0,00	0,10±0,01	0,25±0,01	
		90	0,08±0,00	0,28±0,01	0,27±0,06	0,27±0,02	0,10±0,03	0,09±0,02	
1429	Hexanoik asid, butyl ester	2	1,16±1,05						
		30	TE	TE	TE	TE	TE	TE	
		60	TE	0,10±0,07	TE	TE	TE	TE	
		90	0,05±0,01	0,32±0,17	TE	0,27±0,07	0,21±0,10	TE	
1443	Hekzil 2-metilbutanoat	2	0,84±0,65						
		30	TE	TE	TE	TE	TE	TE	
		60	TE	0,19±0,04	TE	TE	TE	0,32±0,00	
		90	TE	0,15±0,11	TE	0,12±0,04	TE	TE	
1451	Ethyl octanoate	2	1,26±0,37						
		30	0,12±0,11	TE	TE	TE	TE	TE	
		60	0,12±0,02	0,37±0,28	TE	0,29±0,04	TE	0,20±0,02	
		90	TE	0,67±0,15	TE	TE	TE	0,55±0,01	
1477	İzopentil hekzanoat	2	0,42±0,09						
		30	0,22±0,06	0,88±0,19	0,91±0,05	0,72±0,04	0,59±0,17	0,66±0,81	
		60	0,40±0,03	1,56±0,07	TE	0,52±0,08	0,42±0,05	1,08±0,01	
		90	TE	1,97±0,42	TE	1,06±0,11	0,62±0,29	2,38±0,33	
1618	Methyl hexanoate	2	0,41±0,04						
		30	1,37±0,16	1,96±0,13	3,80±0,08	2,10±0,36	2,52±2,01	1,54±0,57	
		60	1,79±0,36	TE	6,83±0,92	1,64±0,08	3,61±0,27	2,42±0,01	
		90	1,27±0,03	1,33±0,16	4,39±0,02	5,70±0,03	2,15±0,39	1,35±0,61	
1661	Capric acid, ethyl ester	2	0,44±0,23						
		30	0,35±0,37	0,11±0,03	TE	TE	0,14±0,08	0,26±0,06	
		60	0,15±0,00	0,41±0,10	TE	0,28±0,07	0,15±0,05	TE	
		90	0,14±0,01	0,47±0,02	TE	0,31±0,03	0,18±0,05	0,45±0,08	
1672	4-Desenoik asid, metil ester	2	TE						
		30	0,18±0,08	TE	0,46±0,01	0,23±0,09	0,40±0,12	0,20±0,03	
		60	TE	TE	0,74±0,06	0,21±0,01	0,27±0,02	0,34±0,01	
		90	0,13±0,01	0,11±0,01	0,39±0,03	0,69±0,02	0,21±0,05	TE	
1828	Metil dodecanoate	2	TE						
		30	0,34±0,09	0,84±0,04	1,09±0,26	0,88±0,03	1,27±0,44	0,64±0,22	
		60	0,33±0,23	0,36±0,03	4,70±0,06	0,69±0,03	1,98±0,19	1,11±0,05	
		90	0,29±0,00	0,51±0,02	1,67±0,15	1,50±0,14	1,15±0,02	0,50±0,07	
1855	Asetik asid, 2-feniletill ester	2	0,15±0,03						
		30	TE	0,11±0,02	TE	TE	TE	1,26±0,48	
		60	TE	0,72±0,08	TE	0,13±0,02	TE	0,51±0,00	
		90	TE	1,47±0,07	TE	0,32±0,02	0,36±0,10	1,26±0,00	
TOPLAM		2	26,87						
		30	26,93	26,46	52,96	25,6	26,47	22,32	
		60	32,24	33,09	38,94	25,43	39,86	23,97	
		90	23,97	29,66	19,67	34,77	13,83	29,23	

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 28 ester bileşiği tespit edilmiş Taze peynir hariç tüm örneklerde Methyl dodecanoate tespit edilmiştir. Methyl butanoate ve Methyl hexanoate diğer esterlere göre daha yüksek konsantrasyonda bulunmuştur. PR 36 peynirinde olgunlaşma boyunca asit konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Etil asetat, metil propanoat, ethyl butanoate, butil asetat, asetik asit 2-metilpropil ester, etil-n-kaproat, hekzil 2-metilbutanoat, etil

octanoate ve izopentil hekzanoat oluşumunda sıcaklığın önemli bir faktör ($P<0,05$) olduğu belirlemiştir. Fakat 4-desenoik asit metil ester oluşumunda örnek çeşidi önemli bir faktör olmuştur ($P<0,05$). Llano vd. (1990) Gamonedo mavi peynirlerin uçucu fraksiyonunu incelemiş olup uçucu fraksiyonlar arasında etil esterlerin oluşumunun diğer bileşenlere nazaran daha yavaş olduğunu ve 180. günde etil esterlerin miktarlarının en yüksek seviyeye ulaştığını ($15 \mu\text{g/g}$) tespit etmiştir. Wolf vd. (2007) Arjantin mavi peynirlerinin tamamında etilbutanoat ve izoamil butanoatı yüksek konsantrasyonlarda bulmuştur. Hayaloğlu vd. (2008) Küflü peynirlerde dallanmış zincirli alkil ester konsantrasyonunu yüksek bulmuştur. Bu esterler arasında; etil hekzanoat, etil oktanoat, 3-metilbutil asetat ve 3-metilbutil butanoat olduğunu ifade etmişlerdir. Çakmakçı vd. (2012b). uçucu fraksiyonlar arasında en geniş kimyasal sınıfın esterlere ait olduğunu belirtmiştir. Küflü Civil peyniri örneklerinde önemli esterlerin metil asetat, metil butanoat ve metil dekanonat olduğunu ifade etmiştir. En yüksek ester konsantrasyonunun ($225,61 \mu\text{g}/100\text{g}$) C39 peynirinde olduğunu saptamıştır.

Küfle olgunlaşan peynirlerin aromasında asitler önemli bileşenlerdi ve en yüksek konsantrasyonda bulunduğu belirtilmektedir. Asitler sadece aromatik bileşikler olmayıp metil ketonlar, alkoller, laktonlar ve esterlerin de öncül maddesidir (Molimard ve Spinnler, 1996).

Çizelge 4. 5. Peynirlerde bulunan asit miktarı ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
1461	Asetik asit	2	366,2±72,9						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	318,7±18,4
		60		TE	84,84±36,75	260,8±19,7	TE	TE	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	125,5±15,5
1552	Propanoik asit	2	TE						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	4,57±1,15	TE	TE	TE	5,83±1,14
		90		TE	45,16±6,50	TE	10,87±3,29	TE	4,83±0,27
1581	2-Metil-1-propanoik asit	2	84,7±19,00						
		30		698,32±39,38	65,34±85,22	870,10±20,9	399,64±2	51,67±5,68	74,1±19,8
		60		2107,91±51,40	62,44±40,11	45,61±16,93	229,7±4,2	228,8±5,11	401,7±5,8
		90		469,04±15,18	214,38±2,25	TE	275,7±4,95	TE	133,4±10
1643	Butanoik asit	2	79,2±20,82						
		30		17,93±1,58	37,03±12,80	22,99±0,67	66,8±22,5	57,21±3,94	249,7±3,1
		60		66,35±5,86	82,02±23,24	62,17±0,29	17,82±1,8	0,11±0,01	108,8±7,2
		90		187,53±10,55	31,93±50,02	13,60±1,64	218,4±23,4	14,10±20,73	154,9±36,9
1686	3-Metil-1-butanoik asit	2	TE						
		30		614,57±14,89	490,4±135,7	1651,9±53,06	655,2±255,9	478,3±62,8	184,4±40,9
		60		459,24±21,65	378,4±75,79	216,5±4,01	317,98±7,99	629,3±86,4	744,2±16,7
		90		783,10±32,47	548,63±3,95	41,59±7,30	443,4±11,2	173,6±45	297,8±12
1866	Hekzanoik asit	2	121,6±11,5						
		30		TE	7,48±1,00	7,64±1,65	59,26±4,39	TE	278,6±87,7
		60		20,86±1,47	101,6±34,9	37,27±2,42	6,04±1,24	0,22±0,19	57,71±0,58
		90		38,94±10,93	547,1±36	10,33±5,7	226,2±19,3	24,34±0,71	240,1±4,1
2082	Oktanoik asit	2	73,57±8,49						
		30		7,84±1,87	8,58±1,31	TE	59,59±5,47	TE	145,1±47,5
		60		59,14±13,87	72,12±7,76	TE	10,09±1,36	0,40±0,16	29,2±6,01
		90		23,44±1,50	303,3±10,6	TE	89,96±15,1	TE	125,2±5
2279	Dekanoik asit	2	39,63±9,39						
		30		24,57±3,33	10,01±0,23	41,31±14,52	96±15,45	13,18±18,65	81,9±18,4
		60		181,7±33,76	31,94±0,33	37,22±3,96	12,1±2,1	0,43±0,19	23,2±5,11
		90		17,19±18,31	161,1±0,97	16,91±3,35	57,2±9,9	39,18±6,85	74,2±1,98
TOPLAM		2	764,9						
		30		1363,23	818,84	2593,94	1336,49	840,36	1332,5
		60		2895,2	1017,93	659,57	593,73	859,26	1370,64
		90		1519,24	2251,6	82,43	1264,53	252,04	1155,93

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 8 asit bileşiği tespit edilmiştir. Asitler uçucu bileşenler arasında en yüksek konsantrasyonlarda bulunan gruptur. Asitler arasında 2-metil-1-propanoik asit ve 3-metil-1-butanoik asit önemli düzeyde bulunmuştur. 4 °C'de 60 gün olgunlaştırılan PR 20 peynirinde asit konsantrasyonu en yüksek (2895,2 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) değere ulaşmış ancak olgunlaşmanın 90. gününde asit konsantrasyonunda bir azalış görülmüştür. Butanoik asit ve dekanolik asit tüm peynir örneklerinde bulunmuştur. Dekanoik asit hariç diğer asit bileşiklerinin oluşumunda sıcaklığın önemli bir faktör olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). İzobutirik asit oluşumunda olgunlaşma süresinin bir etkisi yok iken 3-metil-1-butanoik asit oluşumunda 30 ve 60 günlük peynirlerde önemli derecede farklılık saptanmıştır ($P<0,05$). Hayaloğlu vd. (2008) Küflü peynirlerde asetik asit, butirik

asit ve hekzanoik asiti en önemli asitler olarak değerlendirmiştir. Çakmakçı vd. (2012b) Küflü Civil peynir örneklerinde butanoik asit ve 3-metilbutanoik asidin başlıca asit olduğunu saptamıştır. Asetik asit sadece C17 örneğinde bulunmuş ve bu peynirin butanoik ve hekzanoik asit açısından zengin olduğunu belirtmişlerdir.

Terpenler, diğer aroma bileşikleri gibi peynirin olgunlaşması sırasında enzimatik veya kimyasal tepkimelerle ortaya çıkan bileşikler değildir. Terpen bileşikleri bitki kaynaklı uçucu maddelerdir ve sağmal hayvanın otlatılmasıyla süte, sütten de ürünlerine geçmektedir. Bu kapsamda, peynirdeki terpenlerin kalitatif ve kantitatif miktarı sütün elde edildiği hayvanın beslenme şekline, rasyona ve tükettiği yeşil otlara (çayır, mera) bağlı olarak değişmektedir (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Çizelge 4. 6. Peynirlerde bulunan terpen miktarı ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
1030	α -Pinen	2	1,58±0,21						
		30		0,98±0,27	0,73±0,10	0,89±0,02	0,67±0,28	0,77±0,11	0,73±0,07
		60		0,44±0,04	0,56±0,00	0,49±0,01	0,64±0,05	0,27±0,02	0,64±0,04
		90		0,16±0,01	TE	0,19±0,00	0,48±0,05	0,16±0,03	TE
1112	2- β -Pinen	2	3,25±2,66						
		30		0,37±0,21	0,38±0,07	0,71±0,16	0,33±0,18	TE	0,48±0,02
		60		TE	0,28±0,01	0,22±0,02	0,34±0,02	0,16±0,02	0,35±0,02
		90		0,10±0,02	TE	0,09±0,00	0,27±0,00	0,14±0,02	TE
1151	δ -3-Karen	2	0,41±0,15						
		30		TE	TE	0,18±0,03	TE	0,11±0,02	TE
		60		TE	0,20±0,05	0,17±0,03	0,27±0,02	TE	0,26±0,03
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1192	L-limonen	2	TE						
		30		3,51±0,18	TE	TE	TE	TE	1,25±0,20
		60		TE	3,05±0,79	5,24±0,92	TE	TE	3,48±0,70
		90		2,48±0,38	TE	TE	TE	TE	1,46±0,07
1209	dl-Limonen	2	TE						
		30		0,87±1,23	TE	TE	TE	TE	TE
		60		4,67±4,88	TE	TE	TE	2,40±0,51	TE
		90		TE	TE	0,18±0,01	TE	TE	TE
1256	γ -Terpinen	2	TE						
		30		TE	TE	TE	TE	TE	TE
		60		0,34±0,05	TE	TE	TE	0,16±0,02	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1286	<i>p</i> -cymene	2	TE						
		30		TE	TE	TE	TE	0,23±0,18	0,31±0,01
		60		TE	TE	TE	TE	0,27±0,01	TE
		90		TE	TE	TE	TE	0,21±0,01	TE
TOPLAM		2	5,24						
		30		5,73	1,11	1,78	1,00	1,11	2,77
		60		5,45	4,09	6,12	1,25	3,26	4,73
		90		2,74		0,46	0,96	0,51	1,46

TE: Tespit edilemedi.

Küflü Civil peynir örneklerinde olgunlaşma boyunca toplam 7 terpen bileşiği bulunmuştur. PR 20 peynir örneklerinde terpen konsantrasyonu olgunlaşma boyunca azalmıştır. Para-cymene terpen bileşiği sadece PR 41 peynir örneklerinde görülmüştür. Terpen bileşikleri arasında konsantrasyonu en yüksek olan 1-Limonen'dir. PR 41 ve PR 36 peynirlerinde 2-β-pinen konsantrasyonları önemli düzeyde farklı bulunmuştur ($P<0,05$). L-limonen konsantrasyonunda peynir örnekleri arasında önemli derecede farklılık görülmemiştir. Hayaloğlu vd. (2008), Küflü peynir örneklerinde 10 terpen bileşiği bulmuş ve örneklerin terpen bileşiklerinin konsantrasyonları arasında önemli farklılıklar saptamıştır. Çakmakçı vd. (2012b), Küflü Civil peyniri örneklerinde 10 terpen saptamıştır. α-pinen, indan ve β-carene'in saptamış olduğu terpenler arasında önemli olduğunu belirtilmiştir.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca 4 tane hidrokarbon (dekan, dodekan, 5-oktadeken ve 1-hekzadeken), 7 tane aromatik hidrokarbon (2,2-dimetil dekan, toluen, etilbenzen, p-ksilen, 1,2-dimetil-benzen, stiren ve 1,2-dikloro-benzen), 1 sülfürlü bileşik (dimetil disülfid) ve linalool olmak üzere toplam 13 bileşik saptanmıştır. 2,2-Dimetil dekan, dekan ve toluen tüm peynirlerde saptanan bileşiklerdir. Olgunlaşma süresince PR 20 peynirinde tüm bileşenlerin konsantrasyonunda bir azalma söz konusudur. Diğer bileşikler arasından 2,2-dimetil dekan ve stiren başlıca bileşenlerdir. 2,2-Dimetil dekan, taze peynirlerde en yüksek konsantrasyonda (10,58 µg/100g) çıkmış ve 10 °C'de 90 gün olgunlaştırılan PR 20 peynirde en düşük konsantrasyonda (1,63 µg/100g) çıkmıştır. Stiren ise 30 gün 10 °C'de olgunlaştırılan PR 20 peynirinde en yüksek (7,10 µg/100g) ve 60 gün 4 °C'de olgunlaştırılan PR 20 peynirinde en düşük (2,50 µg/100g) konsantrasyonda çıkmıştır. 2,2-Dimetil dekan konsantrasyonu peynir örnekleri arasında PR 36 peynirde diğer gruplardaki peynirlere göre anlamlı derecede farklı ($P<0,05$) bulunmuştur. Olgunlaşma sıcaklığı stiren oluşumunda önemli bir etmendir ($P<0,05$). Çakmakçı vd. (2012b), depolama ve analiz esnasında çevresel faktörlerden kaynaklandığı düşünülen toluen ve kloroformun tüm örneklerde yüksek konsantrasyonda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Küflü Civil peynirde metantiol ve dimetil sülfid önemli sülfürlü bileşiklerdir. Küflü Civil peynirin hepsinde etilbenzen ve 1,3-dimetilbenzen saptamış ve bu bileşiklerin sütteki karoten parçalanmasından kaynaklandığı sonucuna varmışlardır.

Çizelge 4. 7. Peynirlerde bulunan diğer bileşiklerin miktarı (µg/100 g)

RI	Uçucu Bileşikler	Gün	Taze	PR 20		PR 36		PR 41	
				4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
969	2,2-Dimetil-dekan	2	10,58±1,23						
		30		4,57±1,28	3,86±0,33	5,05±0,10	4,46±0,79	4,48±0,10	3,81±0,49
		60		2,83±0,09	2,91±0,01	2,66±0,03	3,32±0,24	2,36±0,04	3,02±0,00
		90		1,88±0,09	1,63±0,15	3,32±0,41	2,77±0,39	2,54±0,31	2,47±0,32
1008	Dekan	2	3,05±0,72						
		30		0,38±0,10	0,21±0,07	0,36±0,11	0,22±0,03	0,32±0,02	0,26±0,01
		60		0,51±0,18	0,37±0,01	0,65±0,00	0,65±0,04	0,41±0,05	0,54±0,04
		90		0,18±0,00	0,16±0,02	0,17±0,02	0,17±0,02	0,21±0,02	0,15±0,00
1049	Toluen	2	2,02±0,32						
		30		1,74±0,61	1,91±0,00	1,96±0,04	1,83±0,42	1,79±0,12	1,70±0,06
		60		2,40±0,08	2,46±0,05	1,56±0,16	2,12±0,04	2,09±0,25	2,40±0,13
		90		1,44±0,05	1,82±0,21	1,59±0,07	1,96±0,05	1,92±0,35	1,80±0,17
1114	Dimetil disülfid	2	0,34±0,20						
		30		0,25±0,11	1,87±1,45	0,17±0,02	1,42±0,63	0,65±0,29	0,79±0,04
		60		2,12±2,09	0,17±0,00	3,76±0,00	0,70±0,05	6,04±0,07	0,13±0,01
		90		0,14±0,02	0,15±0,12	0,22±0,01	TE	TE	TE
1135	Etilbenzen	2	0,54±0,11						
		30		0,33±0,27	0,49±0,02	0,56±0,05	0,44±0,19	0,50±0,04	0,51±0,00
		60		0,59±0,06	0,74±0,01	0,35±0,06	0,53±0,02	0,44±0,05	0,82±0,05
		90		0,19±0,01	TE	0,20±0,02	0,34±0,01	0,27±0,06	TE
1143	p-Ksilen	2	TE						
		30		0,28±0,16	0,71±0,05	TE	TE	TE	0,20±0,02
		60		TE	0,36±0,09	0,18±0,00	0,28±0,00	0,10±0,03	0,30±0,01
		90		0,35±0,08	TE	TE	0,28±0,06	0,29±0,05	0,25±0,01
1150	1,2-Dimetil-benzen	2	0,48±0,14						
		30		TE	TE	0,64±0,04	TE	0,67±0,01	0,52±0,06
		60		1,60±0,28	0,98±0,18	0,93±0,02	0,90±0,03	1,11±0,08	0,94±0,00
		90		0,16±0,04	0,70±0,15	0,31±0,00	0,73±0,01	0,58±0,09	0,53±0,07
1205	Dodekan	2	TE						
		30		0,17±0,13	TE	TE	TE	TE	TE
		60		TE	0,77±0,53	2,52±0,05	0,66±0,02	2,60±0,59	0,68±0,04
		90		TE	TE	0,24±0,00	1,61±1,80	TE	TE
1273	Stiren	2	3,67±0,99						
		30		6,59±2,42	7,10±1,85	6,21±0,24	6,81±0,82	4,89±0,18	5,74±0,03
		60		2,50±2,11	6,02±0,51	4,12±0,06	5,12±0,26	5,30±0,19	5,95±0,19
		90		4,76±0,45	5,91±0,64	TE	5,12±0,43	4,33±0,64	4,98±0,00
1440	1,2-Dikloro-benzen	2	0,72±0,13						
		30		0,39±0,07	0,24±0,03	0,40±0,02	0,31±0,05	TE	0,37±0,02
		60		0,45±0,06	TE	0,15±0,08	0,30±0,04	TE	0,30±0,03
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1460	5-Oktadeken	2	TE						
		30		TE	0,75±0,07	TE	TE	TE	0,74±0,05
		60		TE	TE	TE	0,96±0,07	TE	TE
		90		TE	TE	TE	TE	TE	TE
1558	Linalool	2	TE						
		30		TE	TE	0,31±0,05	0,11±0,04	0,18±0,08	0,13±0,01
		60		TE	TE	0,29±0,02	TE	0,40±0,02	0,27±0,15
		90		TE	TE	TE	0,31±0,17	TE	TE
1667	1-Hekzadeken	2	TE						
		30		TE	TE	0,73±0,14	0,19±0,02	0,21±0,05	0,21±0,06
		60		0,36±0,10	TE	TE	TE	0,36±0,03	TE
		90		0,18±0,02	0,22±0,04	TE	TE	0,49±0,07	TE

Çizelge 4.7'nin devamı

TOPLAM	2	21,4						
	30	14,7	17,14	15,39	15,79	13,69	14,98	
	60	13,36	14,78	17,17	15,54	21,21	15,35	
	90	9,28	10,94	6,05	13,29	10,63	10,18	

TE: Tespit edilemedi.

4.2. Biyojen Aminler

Kontrol (herhangi *P. Roqueforti* küfü içermeyen) peynirin olgunlaşma boyunca biyojen amin içeriğinde artış görülürken 4°C'de depolanan PR 20 peynirinde tam tersi durum söz konusudur. C ile PR 36 ve PR 41 peynirinde 10 °C 'deki biyojen amin içeriği 4°C'dekine göre daha yüksektir. En yüksek biyojen amin içeriği (228,94 µg/g peynir) 10 °C muhafaza edilen ve olgunlaşmanın 90. gününde PR 20 peynirinde saptanmıştır.

Çizelge 4. 8. Peynirlerde bulunan biyojen amin miktarları (µg/g peynir)

Biyojen Aminler	Gün	Taze	C		PR 20		PR 36		PR 41	
			4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C	4 °C	10 °C
			2							
TRY	30	0,52±0,02	0,05±0,01	0,07±0,00	0,14±0,01	0,07±0,00	0,20±0,00	0,08±0,00	0,12±0,01	0,11±0,00
	60		0,06±0,01	0,62±0,00	0,18±0,06	0,40±0,01	0,24±0,00	0,33±0,04	0,11±0,01	0,40±0,11
	90		0,07±0,01	0,89±0,01	0,32±0,00	0,96±0,01	0,22±0,01	0,41±0,15	0,59±0,01	1,39±0,00
PHA	30	0,66±0,04	0,75±0,05	0,54±0,16	2,72±0,08		0,51±0,05	0,62±0,03	4,41±0,08	0,57±0,02
	60		0,76±0,05	2,93±1,92	2,84±0,05	2,37±0,08	0,15±0,00	1,69±0,00		3,10±0,09
	90		6,24±0,17	1,06±0,03	2,05±0,06	2,52±0,70	0,41±0,02	4,38±0,17	4,95±1,24	2,73±0,01
PUT	30	0,34±0,01	0,13±0,00	1,8±0,04	1,36±0,01	0,92±0,02	0,14±0,01	0,42±0,00	1,36±0,06	0,85±0,01
	60		0,40±0,00	32,20±0,80	1,01±0,02	21,82±1,20	0,77±0,01	3,51±0,00	0,31±0,01	21,35±0,00
	90		1,85±0,03	47,79±0,09	1,24±0,48	47,68±0,75	0,77±,24	8,49±0,05	1,31±0,03	48,67±0,03
CAD	30	2,31±0,08	1,40±0,02	2,54±0,03	34,72±0,10	2,76±0,09	0,04±0,00	2,59±0,02	2,04±0,00	3,20±0,04
	60		2,25±0,03	106,42±0,55	2,86±0,04	55,71±0,14	0,43±0,02	9,88±0,04	1,59±0,04	54,82±0,04
	90		2,87±0,09	151,41±0,14	1,20±0,31	154,11±0,67	0,58±0,02	30,98±0,07	1,75±0,01	149,78±0,00
TYA	30	0,95±0,00	0,84±0,09	5,34±0,01	1,42±0,00	1,96±0,07	1,00±0,00	1,64±0,02	1,31±0,02	1,72±0,01
	60		2,22±0,03	18,55±0,11	0,33±0,01	12,66±0,27	0,08±0,00	6,40±0,03	1,75±0,01	22,09±0,37
	90		4,12±0,01	19,93±0,29	0,13±0,09	23,18±0,12	1,14±0,05	5,64±0,01	0,19±0,01	19,95±1,85
SPD	30	0,26±0,02	0,27±0,08	0,37±0,02	0,64±0,51	0,50±0,23	0,28±0,02	0,28±0,00	0,31±0,01	0,33±0,00
	60		0,21±0,01	0,31±0,03	0,28±0,01	0,29±0,01	0,10±0,01	0,33±0,00	0,23±0,00	0,23±0,00
	90		0,36±0,00	0,43±0,06	0,08±0,00	0,38±0,04	0,11±0,07	0,36±0,01	0,05±0,00	0,08±0,03
SPM	30	0,26±0,00	0,07±0,02	0,10±0,02	0,22±0,01	1,75±0,04	0,24±0,00	0,28±0,01	0,26±0,01	8,41±0,08
	60		0,26±0,01	0,12±0,05	0,62±0,00	0,16±0,01	1,52±0,04	0,17±0,00	0,49±0,01	0,21±0,00
	90		0,04±0,06	0,10±0,00	0,08±0,01	0,11±0,00	0,09±0,01	0,11±0,00	0,14±0,00	0,18±0,01
TOPLAM	2	5,3								
	30		3,51	10,76	41,22	7,96	2,41	5,91	9,81	15,19
	60		6,16	161,15	8,12	93,41	3,29	22,84	4,48	102,2
	90		15,55	221,61	5,1	228,94	3,32	50,37	8,98	222,78

Kontrol ve PR 20 peynirinde olgunlaşmanın 90. gününde sırasıyla 151,41 µg/g peynir ve 154,11 µg/g peynir düzeyinde kadaverin bulunmuştur. İstatistiksel açıdan spermidin hariç biyojen amin oluşumunda sıcaklığın etkisinin önemli olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Ayrıca spermin konsantrasyonu PR 20 ve PR 41 peynirlerde anlamlı derecede ($P<0,05$) farklı bulunmuştur. Olgunlaşmanın sonuna doğru spermidin hariç diğer biyojen amin konsantrasyonlarında önemli düzeyde ($P<0,05$) artış görülmüştür. Andiç vd. (2009), Otlu peynirde yaptıkları çalışmada en önemli biyojen aminin tiramin (18,0-1125,5 mg/kg) ve kadaverin olduğunu belirtmiştir. Silvia vd. (2008), İtalyan keçi peynirinde (Robiola di Roccaverano) 2-feniletilamin ve triptaminin tüm peynir örneklerinde düşük konsantrasyonlarda bulunduğu tiramin (2,067 mg/kg) ve histaminin (1,786 mg/kg) olgun peynirlerde yüksek miktarda bulunduğunu belirtmişlerdir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, *P. roqueforti* 'nin bazı toksinleri oluşturmadığı belirlenmiş olan 3 suşu (PR 20, PR 36 ve PR 41) kullanılarak küflendirilen ve küflendirilmeyen (Kontrol 'C'), Erzurum ve çevresinde üretilen ve tüketilen Civil peyniri örneklerinin aroma gelişimi ve biyojen amin varlığı araştırılmıştır. Civil peynirleri 4 °C ve 10 °C'de 90 gün süre ile olgunlaştırılmıştır. 2 tekerrürlü yürütülen bu çalışmada, olgunlaşmanın 2, 30, 60 ve 90. günlerinde peynirlerin analizleri yapılmıştır.

Civil peynirlerde SPME yöntemi kullanılarak 89 adet aroma bileşiği saptanmıştır. 10 °C'de olgunlaştırılan PR 20 peynirinde keton miktarı daha yüksek çıkmıştır. Tereyağına özgü kokusunu veren aseton konsantrasyonu Taze peynirde en yüksek (9,69 µg/100g) çıkmıştır.

Taze peynirde toplam aldehit konsantrasyonu en yüksek (5,37 µg/100 g) düzeyde bulunmuş, daha sonra aldehit miktarında azalma meydana gelmiştir. Peynir örneklerinde saptanan aldehitler arasında 3-metil-1-butanal yaygın bulunan bileşik olup oluşumunda örnek farklılığı, olgunlaşma sıcaklığı ve olgunlaşma süresi önemli derecede etkili olmamıştır .

10 °C'de olgunlaştırılan PR 41 peynirinde olgunlaşmanın 60. gününde alkol konsantrasyonu en yüksek seviyede (80,34 µg/100 g) çıkmıştır. 2-Metil-1-propanol, 3-metil-1-butanol ve 2-nonanol peynir örneklerinde saptanan yaygın alkollerdir. Ayrıca tüm peynir örneklerinde benzenetanol tespit edilmiş olup oluşumunda örnek farklılığı, olgunlaşma sıcaklığı ve olgunlaşma süresi önemli derecede etkili olmamıştır .

Taze peynir hariç tüm örneklerde methyl dodecanoate tespit edilmiştir. Methyl butanoate ve methyl hexanoate diğer esterlere göre daha yüksek konsantrasyonda çıkmıştır. PR 36 peynirinde olgunlaşma boyunca asit konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Methyl butanoate oluşumunda sıcaklığın önemli derecede etkisi yokken methyl dodecanoate ve methyl hexanoate oluşumunda sıcaklık önemli bir etmendir ($P<0,05$).

Asitler uçucu bileşenler arasında en yüksek konsantrasyonda bulunan gruptur. 4 °C’de olgunlaştırılan PR 20 peynirinde olgunlaşmanın 60. gününde asit konsantrasyonu en yüksek (2895,21 µg/100 g) değere ulaşmış ancak olgunlaşmanın 90. gününde asit konsantrasyonunda bir azalış görülmüştür. Butanoik asit ve dekanıoik asit tüm peynir örneklerinde bulunmuştur.

PR 20 peynirinde terpen konsantrasyonu olgunlaşma boyunca azalmıştır. p-Cymene terpen bileşiği sadece PR 41 nolu peynirinde görülmüştür. Terpen bileşikleri arasında konsantrasyonu en yüksek olan L-limonen’dir.

Küflü Civil peyniri örneklerinde olgunlaşma boyunca 4 tane hidrokarbon (dekan, dodekan, 5-oktadeken ve 1-hekzadeken), 7 tane aromatik hidrokarbon (2,2-dimetil dekan, toluen, etilbenzen, p-ksilen, 1,2-dimetil-benzen, stiren ve 1,2-dikloro-benzen), 1 sülfürlü bileşik (dimetil disülfid) ve linalool olmak üzere toplam 13 bileşik saptanmıştır.

Civil peyniri örneklerinde histamin tespit edilememiştir. Kontrol peynirlerinde olgunlaşma boyunca biyojen amin içeriğinde artış görülmüşken 4°C’de depolanan PR 20 peynirinde tam tersi durum söz konusu olmuştur. Kontrol ile PR 36 ve PR 41 peynirlerinde 10 °C ‘deki biyojen amin içeriği 4°C’dekine göre daha yüksektir. En yüksek biyojen amin içeriği (228,94 µg/g peynir) 10 °C olgunlaştırılan PR 20 peynirinde olgunlaşmanın 90. gününde saptandı. İstatistik açıdan spermidin hariç biyojen amin oluşumunda sıcaklığın etkisi önemlidir ($P<0,05$).

Biyojen aminlerin neden olduğu çeşitli toksik etkilerin ortaya çıkması, bireysel farklılıklara, gıdalarla alınan biyojen aminlerin türüne, aminlerin bir arada bulunmasına bağlı olarak değişebildiğinden toksik doz miktarları için farklı değerler bildirilmiştir (Avşar vd., 2011). Gıdalarda, 1000 oranında biyojen amin bulunmasının sağlık açısından önemli bir risk olduğu bildirilmektedir (Aydın, 2006).

Yapılan analizler sonucunda; peynir örneklerinde saptanan en yüksek biyojen amin konsantrasyonunun (228,94 µg/g peynir) 1000 ppm’den düşük olduğunu göz önüne alırsak bu şartlarda üretilmiş olan Civil peynir tüketiminde sağlık açısından

dikkate değer bir risk olmadığı düşünülebilir. Ayrıca *P. roqueforti* suşlarının biyojen amin oluşumunda önemli bir etkisi olmadığı görülmektedir.

Sonuç olarak, Küflü Civil peyniri örneklerinin uçucu madde içeriğine *P. roqueforti* suşunun ve olgunlaşma sıcaklığının önemli düzeyde etkisinin olduğu saptanmıştır. Bazı uçucu maddelerin depolama sürecinde artış ya da azalış gösterdiği belirlenmiş olup, bu durumun tamamıyla bazı bileşenlerin parçalanması veya oluşumu ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Peynirde *P. roqueforti* kullanımının veya suşunun biyojen amin oluşumunda önemli düzeyde etkisinin olmadığı, bulunan toplam amin içeriğinin toksik dozun altında olduğu saptanmıştır.

6. KAYNAKLAR

Akalın, A.S. (2011). *Peynirin Beslenme ve Sağlık Etkisi* (459-488). In: Hayaloğlu, A.A. ve Özer B. (Ed), *Peynir Biliminin Temelleri*, Sıdaş, İzmir.

Aliakbarlu, J., Alizadeh, M., Razavi-Rohani, S.M., Agh, N. (2011). Biogenic amines in Iranian white brine cheese: modelling and optimisation of processing factors. *Int. J. Dairy Technol.* **64**, 417-424.

Andıç, S., Genccelep, H., Köse, S. (2010). Determination of biogenic amines in Herby cheese. *Int. J. Food Prop.* **13**, 1300-1314.

Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Hayaloğlu, A.A. (2011). *Peynirde aroma*. (263-302). In: Hayaloğlu, A.A., Özer, B. (Ed.), *Peynir Biliminin Temelleri*. Sıdaş, İzmir.

Aydın, B. (2006). Mamul gıdalarda biyojenik aminlerin belirlenmesi. Bilim Uzmanlığı Tezi, Zonguldak Kara Elmas Üniversitesi, Zonguldak.

Bonetta, S., Bonetta, C., Carraro, E., Coisson, J.D., Travaglia, F., Arlorio, M. (2008). Detection of biogenic amine producer bacteria in a typical Italian goat cheese. *J. Food Protect.* **71**, 210-217.

Bucak, Ö. (2011). Laktik asit bakterilerinde bazı biyojenik amin üretim potansiyellerinin moleküler olarak belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Kahramanmaraş.

Cambaztepe, F., Çakmakçı, S., Dağdemir, E. (2009). Effect of some technological parameters on microbiological, chemical and sensory qualities of Civil cheese during ripening. *Int. J. Dairy Technol.* **62**, 541-548.

Çakmakçı, S., Çetin, B., Gürses, M., Dağdemir, E., Hayaloğlu, A.A. (2012a). Morphological, molecular, and mycotoxigenic identification of dominant filamentous fungi from moldy Civil cheese. *J. Food Protect.* **75**, 2045-2049.

Çakmakçı, S., Gündoğdu, E., Hayaloğlu, A.A., E., Dağdemir, E., Gürses, M., Çetin, B., Tahmas-Kahyaoğlu, D. (2012b). Chemical and microbiological status and volatile profiles of mouldy Civil cheese, a Turkish mould-ripened variety. *Int. J. Food Sci. Tech.* **47**, 2405-2412.

Çolak, H., Aksu, H. (2002). Gıdalarda biyojenik amin varlığı ve amin oluşumunu etkileyen faktörler. *Yüzyüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakülte Dergisi.* **13**, 35-40.

Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., García-Parra, J., Ramírez, R. (2010). Characterisation by SPME–GC–MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening. *Food Chem.* **118**, 182-189.

Delgado, F.J., González-Crespo, J., Cava, R., Ramírez, R. (2011). Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME–GC–MS. *Food Chem.* **129**, 1156-1163.

Durlu-Özkaya, F. (2002). Biogenic amine content of some Turkish cheeses. *J. Food Process Pres.* **26**, 259-265.

Gadre, S., Ávila, A., Medina, M, Nuñez, M. (2005). Influence of a bacteriocin-producing lactic culture on the volatile compounds, odour and aroma os Hispánico cheese. *Int. Dairy J.* **15**, 1034-1043.

Gençcelep, H. (2006). Sucuk üretiminde değişik starter kültürler ve farklı nitrit seviyelerinin biyojen amin oluşumu üzerine etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

Gkatzionis, K., Linforth, R.S.T., Dodd, C.E.R. (2009). Volatile profile of Stilton cheeses: Differences between zones within a cheese and dairies. *Food Chem.* **113**, 506-512.

Hayaloğlu, A.A. (2009). Volatile composition and proteolysis in traditionally produced mature Kashar cheese. *Int. J. Food Sci. Tech.* **44**, 1388-1394.

Hayaloğlu, A.A., Brechany, E.Y., Deegan, K.C., McSweeney P.L.H. (2008). Characterization of the chemistry, biochemistry and volatile profile of Kuflu cheese, a mould-ripened variety. *LWT-Food Sci. Technol.* **41**, 1323-1334.

Innocente, N., Biasutti, M., Padovese, M., Moret, S. (2007). Determination of biogenic amines in cheese using HPLC technique and direct derivatization of acid extract. *Food Chem.* **101**, 1285-1289.

Innocente, N., Munari, M., Biasutti, M. (2013). Characterization by solid-phase microextraction-gas chromatography of the volatile profile of protected designation of origin Montasio cheese during ripening. *J. Dairy Sci.* **96**, 26-32.

Kaminarides, S., Stamou, P., Massouras, T. (2007). Changes of organic acids, volatile aroma compounds and sensory characteristics of Halloumi cheese kept in brine. *Food Chem.* **100**, 219-225.

Kubíčková, J., Grosh, W. (1997). Evolution of potent odorants of Camembert cheese by dilution and consantration techniques. *Int. Dairy J.* **7**, 65-70.

Kubíčková, J., Grosh, W. (1998). Quantification of potent odorants in Camembert cheese and calculation of their odour activity values. *Int. Dairy J.* **8**, 17-23.

Lawlor, J.B., Delahunty, C.M., Sheehan, J., Wilkinson, M.G. (2003). Relationships between sensory Attributes and the volatile compounds, non-volatile and gross compositional constituents of six blue-type cheeses. *Int. Dairy J.* **13**, 481-494.

Llano, D.G.D., Ramos, M., Polo, C. (1990). Evolution of the volatile components of an artisanal Blue cheese during ripening. *J. Dairy Sci.* **73**, 1676-1683.

Molimard, P., Spinnler H.E. (1996). Review: Compounds involved in the flavor of surface mould-ripened cheeses: Origins and Properties. *J. Dairy Sci.* **79**, 169-184.

Mutluer, U. (2007). Uygulanan bazı farklı işlemlerin sünme peynirinin özellikleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Oluk, C.A. (2013). Düşük yağlı tulum peyniri üretiminde ekzopolisakkarit üreten kültür kullanımının kalite özellikleri üzerine etkisi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

Özer, B., Hayaloğlu, A.A. (2011). *Giriş* (1-10). In: Hayaloğlu, A:A. ve Özer B. (Ed), *Peynir Biliminin Temelleri*, Sıdış, İzmir.

Pionnier, E., Engel, E., Sales, C., Quéré J.L.L. (2002). Interactions between non-volatile water-soluble molecules and aroma compounds in Camembert cheese. *Food Chem.* **76**, 13-20.

Santos, M.H.S. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *Food Microbiol.* **29**, 213-231.

Shabby, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* **29**, 675-690.

Spinnler, H.E., Gripon, J.C. (2004). Surface Mould-ripened cheeses (pp:157-174). In: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P (Ed), *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*. Third Edition. Vol. 2, Major Cheese Groups, Elsevier Applied Science, London.

Steele, J., Broadbent, J., Kok, J. (2013). Perspectives on the contribution of lactic acid bacteria to cheese flavor development. *Curr. Opin. Biotech.* **24**, 135-141.

Tekinşen, O.C. (1997). *Süt Ürünleri Teknolojisi*. Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Yayın Ünitesi, Konya, 326 s.

Üçüncü, M. (2008). *A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi*. Cilt 1. Meta Basım Matbaacılık, İzmir, 543 s.

Voigt, D.D., Chevalier, F., Qian, M.C., Kelly, A.L.(2010). Effect of high-pressure treatment on microbiology, proteolysis, lipolysis and levels of flavour compounds in mature blue-veined cheese. *Innov. Food Sci. Emerg.* **11**, 68-77.

Wolf, I.V., Perotti, M.C., Bernal, S.M., Zalazar, C.A. (2010). Study of the chemical composition, proteolysis, lipolysis and volatile compounds profile of commercial

Reggianito Argentino cheese: Characterization of Reggianito Argentino cheese. *Food Res. Int.* **43**, 1204-1211.

Wolf, I.V., Perotti, M.C., Zalazar, C.A. (2011). Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses. *J. Sci. Food Agric.* **91**, 385-393.

Yıldız, F., Yetişemeyen, A. (2005). Peynirlerde biyojen amin riski. *Journal of Tekirdag Agricultural Faculty.* **2**, 127-134.

Yeğın S. (2006). Geleneksel fermente ürünlerimizden olan bozada biyojen amin varlığının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Bursa.

Yeğın, S., Üren, A.(2008). Gıdalarda biyojen amin oluşumunu etkileyen faktörler. 977-980. Türkiye 10. Gıda Kongresi, Erzurum Üniversitesi, 21-23 Mayıs, Türkiye.

Yüceer, Y.K., Tuncel, B., Güneser, O., Engin, B., İşleten, M., Yaşar, K., Mendes, M. (2009). Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine cheese. *J. Dairy Sci.* **92**, 4146-4157.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Hacer GÜRKAN

Doğum Yeri ve Tarihi: Malatya-16.03.1988

Adres: İnönü Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü / Malatya

E-Posta: hcrgur@hotmail.com / hacer.gurkan@inonu.edu.tr

Lisans: İnönü Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2011)

Y. Lisans: İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim dalı (2013)

Mesleki Deneyim: Eylül 2012’de ÖYP kapsamında Kafkas Üniversitesinde araştırma görevlisi olarak göreve başladım. ÖYP kapsamında Mayıs 2013’de İnönü Üniversitesinde araştırma görevlisi olarak görevime devam etmekteyim.

Yayın Listesi

Hayaloğlu, A.A., Levent, O., **Gürkan, H.** ve Şahingil, D. (2012). Kars Kaşar Peynirlerinin Proteoliz Düzeyi ve Aroma Maddeleri Kompozisyonu, *Türkiye 11. Gıda Kongresi*, 528, Hatay, Türkiye.

Hayaloglu, A.A., Karatekin, B. ve **Gurkan, H.** (2013). Thermal stability of chymosin or microbial coagulant in the manufacture of Malatya, a Halloumi type cheese: Proteolysis, microstructure, texture and functional properties. *8th NIZO Dairy Conference*, Functional Enzymes for Dairy Applications 11-13 September 2013, Papendal, The Netherlands (Kabul edildi).