

ISIL İŞLEM VE OLGUNLAŞTIRMA SÜRELERİNİN EZİNE PEYNİRİNDE BİYOJEN AMİN OLUŞUMUNA ETKİLERİ

Mehmet Diler¹, Erhan Akbağ¹, Volkan Işık¹, Emine Avşar Günay¹,
Hakan Erkayacan¹, Onur Güneşer², Yonca Karagül Yüceer^{3*}

1 Tarım ve Orman Bakanlığı-Çanakkale Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, Türkiye

2 Uşak Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Uşak, Türkiye

3 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale, Türkiye

Geliş / Received: 30.03.2018; Kabul / Accepted: 15.07.2018; Online baskı / Published online: 07.08.2018

Diler, M., Akbağ, E., Işık, V., Avşar Günay, E., Erkayacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). Isıl işlem ve olgunlaştırma sürelerinin ezine peynirinde biyojen amin oluşumuna etkileri. *GIDA* (2018) 43 (4): 687-701 doi: 10.15237/gida.GD18043

Diler, M., Akbağ, E., Işık, V., Avşar Günay, E., Erkayacan, H., Güneşer, O., Karagül Yüceer, Y. (2018). Effects of the duration of heat treatment and ripening on the formation of biogenic amines in Ezine cheese. *GIDA* (2018) 43 (4): 687-701 doi: 10.15237/gida.GD18043

ÖZ

Bu çalışmanın amacı farklı ısıl işlem sürelerinin Ezine peynirinde biyojen amin oluşumu ve mikroorganizma profilindeki değişimlerin olgunlaştırma süresince araştırılmasıdır. Çiğ süte 65°C'de 10 ve 30 dakika ısıl işlem uygulanarak Ezine peyniri üretilmiştir. Histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin ve feniletilamin biyojen aminleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi kullanılarak saptanmıştır. Peynir örneklerinde toplam psikrofilik ve mezofilik aerobik bakteriler, laktik asit bakterileri, fekal koliform, toplam maya-küf, *Enterobacteriaceae* spp. *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens* sayıları da tespit edilmiştir. Taze peynirlerde biyojen amin oluşmamış olup peynir örneklerinde olgunlaşma süresince biyojen amin miktarı artmıştır. Ezine peynirinde saptanan biyojenik amin miktarlarının sağlık riski oluşturacak düzeylerde olmadığı görülmüştür. Ezine peynirinde farklı ısıl işlem sürelerinin toplam mezofilik aerobik bakteri ve laktik asit bakterisi üzerine etkisi depolama süresine bağlı olarak değişim göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Peynir, biyojen amin, ısıl işlem, olgunlaşma

EFFECTS OF THE DURATION OF HEAT TREATMENT AND RIPENING ON THE FORMATION OF BIOGENIC AMINES IN EZINE CHEESE

ABSTRACT

The purpose of this study is to investigate the effects of the different durations of thermal processing on the formation of biogenic amine and changes in microbial profile in Ezine cheese during ripening. Ezine cheese samples were produced by thermal processing at 65°C for 10 min and 30 min. The biogenic amines histamine, putrescine, cadaverine, tyramine, tryptamine, and phenylethylamine were identified by high performance liquid chromatography. Moreover, the enumeration of the psychrophilic aerobic and mesophilic aerobic bacteria, lactic acid bacteria, fecal coliform, total yeast and mold *Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli* and *Clostridium perfringens* was conducted for the purpose of the study. No biogenic amine was observed in the fresh cheese samples, while the amounts of biogenic amines in cheese samples were observed to have increase during the ripening. The amounts of the biogenic amines in the Ezine cheese samples were determined to pose no health-related risks. The effect of heat treatment duration on counts of mesophilic aerobic bacteria and lactic acid bacteria in the Ezine cheese samples were observed to have varied depending on storage duration.

Keywords: Cheese, biogenic amine, heat treatment, ripening

*Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr,

☎ (+90) 286 218 0018

☎ (+90) 286 218 0541

GİRİŞ

Biyojen aminler, canlı organizmalarda biyolojik fonksiyonlara sahip düşük molekül ağırlıklı, uçucu olmayan (β -feniletülin hariç) aminler olarak bilinirler. Alifatik, aromatik, heterosiklik yapıda olabilen biyojen aminler, canlı organizmalarda normal metabolik faaliyetler sonucu oluştuğundan bitkilerde ve hayvansal dokularda düşük seviyelerde bulunurlar (Anonymous, 1995). Gıdalarda biyojen aminlerin oluşumu ise serbest amino asitlerin bakteriyel dekarboksilasyonu ile olmaktadır (Anonymous, 1995). Gıdalarda bulunan önemli biyojen aminler; histamin, putresin, kadaverin, tiramin, triptamin, β -feniletülin, spermin, spermidin ve agmatindir (Özoğul vd. 2002). Histamin histidinden putresin ornitinden, kadaverin lizinden, tiramin tirozinden, triptamin triptofandan, β -feniletülin fenil alanininden karbondioksitin uzaklaştırılması (dekarboksilasyon) ile oluşmaktadır. Spermidin ve spermin ise agmatin ve ornitin üzerinden oluşan putresinden meydana gelmektedir. Biyojen aminlerin gıdalarda oluşumu; serbest amino asitlerin varlığı, dekarboksilaz-pozitif mikroorganizmaların gelişmeleri ve dekarboksilaz aktivitetlerine bağlıdır (Santos, 1996; Shalaby, 1996).

Peynir, mikroorganizmalar tarafından biyojen amin sentezlenmesinde ideal bir ortam olarak görülebilir (Joosten, 1988a; Sumner vd.1990a; Stratton vd. 1991). Peynirlerde biyojen amin oluşumuna neden olan en önemli faktörlerin peynirin içerdiği bakteri türü ve sayısı, mikroorganizmalar arasındaki etkileşim, peynirin proteoliz düzeyi, peynir pH'sı, salamuradaki ve/veya peynirdeki tuz konsantrasyonu olduğu birçok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir (Joosten, 1988a,b; Joosten ve Van-Boekel, 1988; Hull vd. 1992a; Durlu-Özkaya vd. 1999, 2000; Durlu-Özkaya ve Tunail 2000; Durlu-Özkaya, 2001; Karahan vd. 2001).

Gıdalarda birçok gram negatif ve gram pozitif bakterinin biyojen amin üretme yeteneğinin olduğu bilinmektedir. Gıdalarda yüksek miktarda histamin üreten ve bozulma yapan gram negatif bakteriler; *Hafnia alvei*, *Morganella morganii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella psychrotolerans*,

Photobacterium phosphoreum, *Photobacterium psychrotolerans*' dir. Özellikle fermente gıdalarda *Oenococcus oeni*, *Pediococcus parvalus*, *Pediococcus damnosus*, *Tetragenococcus* türleri, *Leuconostoc* türleri, *Lactobacillus saerimneri* 30a, *Lactobacillus hilgardii*, *Lactobacillus buchnerii*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus parabuchneri* ve *Lactobacillus rossiae* histamin üreten bakteriler olarak bildirilmektedir. Peynir ve fermente sosislerde tiramin üreten *Enterococcus* ve *Lactobacillus* cinslerinden özellikle *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus curvatus* ve *Lactobacillus brevis*'in yüksek miktarda tiramin ürettiği tespit edilmiştir. Diğer taraftan, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Carnobacterium* ve *Staphylococcus* cinslerinin tiramin üretme potansiyellerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonadaceae* ve *Shewanellaceae* familyasına ait türlerin ise putresin ve kadaverin üretiminin olduğu *Enterobacteria* içerisinde *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella* ve *Shigella* cinsi bakterilerin gıdalarda dikkate değer miktarda putresin ve kadaverin ürettiği bildirilmiştir (EFSA, 2011; Akyol, 2015).

Peynirin olgunlaşmasında gerçekleşen proteoliz sonucunda aminoasitler açığa çıkmaktadır. Bu aminoasitlerin yeterli miktarda olması toksik düzeyde biyojen amin oluşumuna yol açabilmektedir (Chang vd. 1985; Joosten ve Van-Boekel, 1988). Buradan hareketle olgunlaşmanın yani proteolizin ilerlediği peynirlerde biyojen amin miktarının toksik düzeylere çıkabildiği ifade edilmiştir (Joosten ve Weerkamp, 1994). Halasz vd. (1994) tarafından gıdalarda bulunabilecek maksimum biyojen amin miktarı histamin için 100 mg/kg, tiramin için 100-800 mg/kg ve feniletülin için 30 mg/kg olarak belirtilmektedir.

Biyojenik amin üzerine yapılan çalışmalarda, özellikle artisanal olarak üretilen ve uzun süre olgunlaştırılan çeşitli peynirlerin biyojen amin miktarı incelenmiştir. Bu çerçevede; Combarros-Fuertes vd. (2016) farklı koyun ırklarından elde ettikleri sütlerin karışımından ürettikleri Zamorano (İspanya) peynirinde 300 günlük olgunlaştırma süresince oluşan baskın biyojen aminlerin feniletülin, putresin, tiramin ve spermin olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar,

peynirde oluşan toplam biyojen amin içeriğinin yaklaşık 400 mg/kg düzeyinde olduğunu ifade etmişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada (Guarcello vd. 2015) İtalya'nın Apulian ve Sicilian bölgelerinde üretilen peynirlerin biyojen amin içeriği incelenmiştir. Araştırmacılar, 30 gün veya daha az olgunlaştırılan peynirlerde biyojen amin içeriğinin düşük olduğu, olgunlaşma süresi yüksek olan peynirlerde özellikle histamin miktarının yüksek olduğu (219-250 mg/kg) ve bu sonuçlara göre Caciocavallo Palermitano, Caciocavallo Silano PDO, Fiore Sicano, Pecorino Siciliano PDO ve Tuma Pers peynirlerinin yüksek histamin miktarı ile karakterize olduklarını belirtmişlerdir. Shalaby vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada, 5, 10, 15 kGy dozlarda γ - radyasyonuna tutulan Ras peynirinde 6 aylık depolama süresince kadaverin, histamin, putresin ve tiraminden oluşan biyojen amin içeriğinin önemli miktarda azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca 10 kGy doz uygulamasında histamin içeriğinin tamamen elemine edildiği tespit edilmiştir.

Ülkemizde uzun süre olgunlaştırılan yöresel peynirlerin biyojen amin içeriğinin belirlenmesi üzerine yapılan çalışmalar sınırlı sayıdadır. Durlu-Özkaya (2001) tarafından yapılan bir çalışmada, Ankara ilindeki süpermarketlerden alınan eski ve taze Kaşar, Mihaliç, Van Otlu, Örgü, Urfa ve Civil peyniri örneklerinin biyojen amin içerikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, tüm peynir örneklerinde spermin ve triptamin bulunmadığı ancak kadaverin, histamin (Urfa peyniri hariç) ve tiramin miktarlarının sırasıyla 0.80-48.96 mg/kg, 1.74-94.76 mg/kg ve 0.98-138.16 mg/kg değerleri arasında olduğu tespit edilmiştir.

Peynirlerde biyojen amin oluşumu peynirin iç kimyasal ve mikrobiyolojik yapısıyla ilişkili olduğu gibi üretimdeki hijyenik koşullar, çiğ süt ya da pastörize süt kullanımı, hatalı pastörizasyon veya pastörizasyon sonrası bulaşmalar, olgunlaşma süresinin uzunluğu ve depolama sıcaklığı, fermentasyonun kontrol altına alınamaması gibi faktörlerde peynirlerde biyojen aminlerin miktarının toksik dozun üzerine çıkmasına neden olmaktadır (Degheidi vd. 1992; Hull vd, 1992b; Darwish, 1993, Lanza vd. 1994, Nout, 1994; Bardöcz, 1995; Shalaby,1996). Bu çerçevede

yapılan bu çalışmada, yöresel bir peynirimiz olan Ezine peynirinde biyojen amin oluşumu üzerine süte uygulanan ısı işlem ve olgunlaştırma sürelerinin etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Ezine peyniri yapımında kullanılan süt Çanakkale ilinin Ezine ve Bayramiç ilçelerinde yetiştirilen keçi, koyun ve ineklerden sağlanmıştır. Peynir üretimi Ezine/Çanakkale'de faaliyet gösteren yerel bir firmada (Özsoylar Süt Ürünleri A.Ş) Nisan-Mayıs aylarında 500 kg süt ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm kimyasal maddeler analitik/kromatografik saflıkta olup Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Biyojen aminlerin HPLC ile analizlerinde kullanılan standartlar Sigma Chemical Co. (St. Louis, ABD) firmasında temin edilmiştir.

Peynir Yapımı

Ezine Peyniri üretimi amacıyla işletmeye gelen sütler, % 40 koyun sütü, % 40 keçi sütü, % 20 inek sütü olacak şekilde karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Homojen hale getirilen karışım süt pastörizasyon kazanında 65°C'de 10 dk. ve 30 dk. olacak şekilde ayrı ayrı ısı işleme tabi tutulmuştur. Isıl işleme tabi tutulan sütler daha sonra pıhtı oluşumunu sağlamak amacıyla buzağuların midelerinden elde edilen rennet enzimi ile 32-34°C de muamele edilmiştir. Oluşan pıhtı kitlesi peynir suyunun ayrılması için kesilmiş ve içinde cendere bezi bulunan özel peynir kalıplarına konulmuş ve süzme işlemini hızlandırmak amacıyla baskı uygulanmıştır. Oluşan teleme kalıplar halinde kesildikten sonra istenen tat ve aromayı kazandırmak amacıyla üretim yönteminin gerektirdiği miktarda deniz tuzu kullanılarak hazırlanan salamurada bekletilmiştir. Salamuradan çıkarılan peynir kalıpları 2'şer kg'lık tenekelere tek sıra halinde dizilerek üzerlerine kuru tuz serpilmiş ve 10-12 saat süreyle dinlenmeye bırakılmıştır. Bu işlem sonucunda da ayrılan su ortamdan uzaklaştırılarak tenekeler doluncaya kadar peynir dizilmiş ve üzerine salamura ilave edilerek tenekeler kapatılmış ve hava almayacak şekilde kutulanmıştır. Tenekelerden bir kısmı taze peynir

analizleri için laboratuvara getirilmiş, diğer tenekeler ise 2-4°C sıcaklıktaki soğuk hava depolarında 12 ay süreyle olgunlaşmaya bırakılmıştır (Tuncel vd. 2010). Peynir üretimi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Peynirlerde olgunlaştırmanın ilk dört ayında her ay, dördüncü aydan sonra ise iki ayda bir olacak şekilde analizler gerçekleştirilmiştir.

Genel Bileşim

Peynirlerde % asitlik ve pH ölçümleri TS 591 (2006a), kurumadde (%) TS EN ISO 5534 (2006b), protein tayini TS EN ISO 8968-1 (2002), yağ tayini Gerber ve Van Gulik metodu ile TS 3046 (1978), tuz tayini Mohr metoduyla Anonim (1988)'e göre yapılmıştır. Peynirlere ait % suda çözünen azot oranı Kuchroo ve Fox (1982)'de belirtilen yöntemle göre, % 12 trikloroasetik asitte (TCA) çözünen azot oranı Polychroniadou vd. (1999)'a göre ve % 5'lik fosfotungustik asit (PTA)'te çözünen azot oranı Jarrett vd. (1982)'e göre yapılmıştır.

Biyojen Amin Analizleri

Peynir örneklerinde biyojen amin analizleri Eerola vd. (1993)'e göre, dansil klorür türevlendirmesi yapılarak UV-DAD detektörlü Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi (Agilent 1100 Model HPLC, ABD) cihazı ile yapılmıştır. Metoda ait kromatografik koşullar; kolon: 150 x 4.6 mm Zorbax Eclipse XDB-C18; A mobil faz:Amonyum asetat (0.1 Molar), B mobil faz:Asetonitril; akış programı: gradient akış, 0-19 dk. A:B (50:50), 19-24 dk. A:B (90:10), 24-25 dk. A:B (50:50); Akış hızı, 0.9 ml/dk.; enjeksiyon hacmi 20 µl; kolon sıcaklığı 40°C; DAD-Detektör 254 nm.

Mikrobiyolojik Analizler

Peynir örneklerinde toplam mezofilik aerobik bakteri (TMAB) (FDA-BAM-3, 2001), Psikrofil aerob bakteri (PAB) ISO 17410 (2001), toplam maya-küf (FDA-BAM-18, 2001), Laktik asit bakterileri (LAB) Frank ve Yousef (1992), Fekal Koliform (FK) ve *Escherichia coli* (FDA-BAM-4, 2001)'e göre, *Enterobacteriaceae* spp. ICMSF (1978) ve *Clostridium perfringens* (FDA-BAM-16, 2001) analizleri yapılmıştır.

Mikrobiyolojik analizler için dilüsyon hazırlanması: Aseptik koşullar altında 25 g peynir örneği, 225 ml'lik peptonlu su içerisine tartılmış ve homojenize edilerek seri dilüsyonlar hazırlanmıştır.

TMAB Sayımı: Yukarıda bahsedildiği şekilde hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp steril edilen Plate Count Agar (PCA) (Merck, Darmstadt), besiyeri 10-20 mL dökülmüş ve katılaşması beklenerek 35°C'de 2 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler toplam mezofilik aerobik bakteri sayısı olarak sayılmıştır.

PAB Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine Plate Count Agar (PCA) (Merck) besiyerinden 10-20 mL dökülmüş ve katılaşması beklenerek 6.5°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler psikrofil aerob bakteri olarak kaudedilmiştir.

Toplam maya-küf Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp steril edilen Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) (Merck) besiyerine ekim yapılmıştır. Besiyeri 25°C'de 5-7 gün inkübe edilmiştir. Oluşan kolonilerin maya ve küf olarak ayrı ayrı sayımı yapılmıştır.

LAB'lerin Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine Man Rogasa Sharpe (MRS) (Merck) besiyerinden 10-20 mL dökülerek 30°C'de 3 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler laktik asit bakteri sayısı olarak sayılmıştır.

Fekal koliform ve E. coli Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan en muhtemel sayı (3'lü tüp) yöntemine göre ekim yapılmıştır. EC broth ve Eosin Methylene Blue (EMB) (Merck), agar kullanılarak fekal koliform ve *E. coli* analizlerine devam edilmiştir. Üreyen kolonilerin IMVIC testi ve API 20E kiti (Biomerieux, Fransa) ile identifikasyonu yapılmıştır.

Enterobacteriaceae Sayımı: Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye

aktarılmıştır. Üzerine daha önceden hazırlanıp sterilize edilen Violet Red Bile Glucose (VRBG) (Merck) besiyerinden iki kat dökülerek katılması beklenmiş ve 35°C'de 10 gün inkübe edilmiştir. Üreyen koloniler sayılarak *Enterobacteriaceae* sayımı yapılmıştır. İdentifikasyonu tuzlu glikoz agarda yapılmıştır.

***Clostridium perfringens* Sayımı:** Hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak steril Petriye aktarılmış ve üzerine daha önceden hazırlanıp sterilize edilen Tryptose Sulfite Cyclocerine (TSC) (Merck) besiyerine ekim yapılmıştır. Üzerine bir kat TSC besiyeri dökülerek katılması beklenmiştir. Katılan besiyeri anaerobik ortam oluşturularak 37°C'de 1 gün inkübe edilmiş ve üreyen kolonilerin API 20A (Biomerieux, Fransa) ile identifikasyon testi yapılmıştır.

İstatistiksel Analizler

Peynir örneklerinin olgunlaştırma süresince kimyasal ve mikrobiyolojik yönden karşılaştırılması amacıyla tek yönlü Varyans Analizinden (*Oneway ANOVA*) yararlanılmıştır. Varyans analizinde önemli olan farklılıkların belirlenmesinde ise "Tukey Çoklu Karşılaştırma" testi kullanılmıştır (Sheskin, 2004). Peynirlerin

biyojen amin ve mikroorganizma çeşidi ile azot fraksiyonları arasındaki korelasyonlar belirlenmiştir. Söz konusu istatistiksel analizlerin yapılmasında SPSS for Windows (version 15.0; SPSS 2006) paket programı kullanılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Genel Bileşim

Olgunlaştırma süresince peynirlerin pH, % Yağ, % Tuz, % protein ve % TCA değerlerindeki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Ezine peynirinde incelenen bazı kimyasal özelliklere ait değerlere uygulanan varyans analizi sonucunda; peynirlerin pH, tuz, ve TCA değerlerinin olgunlaştırma süresince önemli düzeyde değiştiği belirlenirken ($P < 0.05$), süte uygulanan ısı işlem süresinin tek başına söz konusu kimyasal özellikler üzerine etkisinin önemli olmadığı belirlenmiştir ($P > 0.05$) (Çizelge 1). Çizelge 1 incelendiğinde, olgunlaştırma süresince peynirlerin pH değerlerinin düştüğü, tuz miktarları ve TCA değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Peynirde yağ ve protein miktarlarında da olgunlaştırma süresince istatistiksel olarak önemli farklılıklar belirlenmiştir ($P < 0.05$).

Çizelge 1.Ezine peynirlerinde depolama süresince belirlenen bazı kimyasal özellikler ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Table 1. Some chemical properties determined in Ezine cheeses during storage ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	pH	%Yağ (kurumaddede) % Fat in drymatter	% Tuz (kurumaddede) % Salt in drymatter	% Protein % Protein	% TCA % TCA
0*	5.49± 0.02 ^a	50.41 ± 0.14 ^b	9.57 ± 0.11 ^c	19.31 ± 0.03 ^a	4.48 ± 0.03 ^c
1	5.50 ± 0.01 ^a	53.96 ± 0.34 ^{ab}	10.48 ± 0.09 ^{bc}	17.34 ± 0.21 ^b	6.53 ± 0.27 ^d
2	5.22 ± 0.05 ^b	57.98 ± 1.36 ^a	10.19 ± 0.11 ^{bc}	17.18 ± 0.07 ^b	6.51 ± 0.21 ^d
3	5.09 ± 0.05 ^{bc}	53.59 ± 1.95 ^{ab}	10.31 ± 0.39 ^{bc}	17.62 ± 0.11 ^b	7.41 ± 0.11 ^{cd}
4	4.95 ± 0.06 ^{cd}	51.92 ± 0.11 ^b	10.30 ± 0.12 ^{bc}	17.60 ± 0.21 ^b	7.44 ± 0.21 ^{cd}
6	4.88 ± 0.06 ^{cd}	49.35 ± 0.08 ^b	9.78 ± 0.07 ^{bc}	17.38 ± 0.02 ^b	7.57 ± 0.02 ^{cd}
8	4.65 ± 0.01 ^e	50.88 ± 0.76 ^b	9.82 ± 0.08 ^{bc}	17.00 ± 0.09 ^b	8.14 ± 0.09 ^c
10	4.76 ± 0.03 ^{de}	51.49 ± 0.58 ^b	10.83 ± 0.19 ^b	17.00 ± 0.08 ^b	11.85 ± 0.34 ^a
12	4.54 ± 0.01 ^e	50.94 ± 2.00 ^b	12.25 ± 0.07 ^a	16.92 ± 0.41 ^b	10.47 ± 0.30 ^b

^{a-c}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} =Ortalama, $S \bar{x}$ =Standart hata, *3. Gün, TCA: Triklorasetik asitte çözünen azot oranı.

^{a-c}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S \bar{x}$: Standard error, *3. Day, TCA: Trichloroacetic acid soluble nitrogen ratio

Peynirlerin kurumadde, asitlik, SÇA ve PTA değerlerinin uygulanan işlem süresine bağlı olarak olgunlaştırma süresince değişim gösterdiği belirlenmiştir. Söz konusu değişimler Çizelge 2’de gösterilmiştir. Çizelge 2 incelendiğinde, 65°C de 10 dk. ısı işlem uygulanan süttten üretilen peynirlerde kurumadde içeriği olgunlaştırma süresince diğer peynirden daha yüksek bulunmuştur. Titrasyon asitliğinin ise özellikle ilk iki aylık olgunlaştırma süresi sonunda 65°C de 30 dk. ısı işlem gören süttten üretilen peynirlerde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Olgunlaştırma boyunca her iki tür peynirde de asitlikte artış olduğu saptanmıştır. Proteoliz düzeyini saptamak amacıyla belirlenen SÇA ve PTA değerlerinde her iki sıcaklık uygulanarak yapılan peynirlerde sırasıyla ortalama 2 ve 1.5 kat artışın olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 2). Çalışmada Ezine peyniri için elde edilen bulguların genel olarak beyaz peynir standardında belirtilen değerler ve daha önce yapılmış çalışmalardaki bulgularla benzer olduğu belirlenmiştir (TS591/1995, Karagül-Yüceer vd. 2009; Tuncel vd. 2010). Tuncel vd. (2010) tarafından yapılan bir çalışmada 12 ay boyunca olgunlaştırılan Ezine peynirinde laktik asit

miktarının %0.32 den %1.17’ye artış gösterdiği, kurumadde ve yağ miktarlarında ise önemli bir değişim olmadığı sırasıyla ortalama %48.95 ve % 25.10 olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan diğer bir çalışmada (Öner vd. 2006), 5-6 C’de 105 gün salamurada olgunlaştırılan beyaz peynirde, olgunlaştırma süresince pH, asitlik ve toplam kurumadde değerlerinin sırasıyla 4.72-5.06, 1.05-2.40 % laktik asit ve % 39.42-51.42 arasında değiştiği bulunmuştur. Ezine peynirine benzer özellikte olan Feta peyniri üzerine yapılan bir çalışmada ise (Moatsou vd. 2004) kuzu ve oğlak şirdeni karışımından elde edilen rennet ve ticari rennet ile yapılan Feta peynirinin pH, toplam kurumadde, tuz, protein ve azot fraksiyonlarının olgunlaştırma süresince önemli değişim gösterdiği belirlenmiştir. Buna göre, 120 gün olgunlaşma süresince kuzu ve oğlak şirdeni elde edilen karışım rennet ile üretilen Feta peynirinde pH değerinin 4.74 den 4.26’ye düştüğü, tuz içeriğinin % 1.16 dan % 3.26’ya yükseldiği belirlenmiştir. Araştırmacılar, Feta peynirinin SÇA miktarının olgunlaşmanın ilk 16 gününde hızla arttığı, daha sonra ise bir düşüşün meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Çizelge 2. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinin depolama boyunca belirlenen bazı özellikleri ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Table 2. Some properties of Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage ($\bar{x} \pm S \bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Kurumadde (%) Drymatter (%)		Titrasyon Asitliği (%) Titratable acidity (%)		% SÇA %WSN		% PTA %PTN	
	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk
0*	50.74±0.01 ^{Ba}	51.37±0.01 ^{Aa}	0.32±0.01 ^{Be}	0.60±0.01 ^{Ac}	8.61±0.01 ^{Ac}	8.86±0.11 ^{Ad}	3.31±0.01 ^{Ac}	3.13±0.16 ^{Bd}
1	50.31±0.52 ^{Ab}	48.47±0.01 ^{Bb}	0.44±0.01 ^{Be}	0.58±0.19 ^{Ac}	10.54±0.08 ^{Bd}	12.43±0.30 ^{Ac}	3.55±0.01 ^{Bde}	4.22±0.15 ^{Ab}
2	47.97±0.81 ^{Ac}	47.24±0.14 ^{Bb}	0.46±0.05 ^{Be}	0.68±0.01 ^{Ac}	13.64±0.05 ^{Ac}	13.80±0.01 ^{Ac}	4.11±0.40 ^{Abcd}	4.08±0.01 ^{Abc}
3	48.56±1.41 ^{Abc}	48.76±0.37 ^{Ab}	0.80±0.07 ^{Ab}	0.76±0.07 ^{Bde}	13.98±0.51 ^{Ac}	13.03±0.40 ^{Ac}	4.35±0.01 ^{Abc}	4.05±0.04 ^{Bbc}
4	48.91±0.16 ^{Aabc}	48.48±0.11 ^{Bb}	0.88±0.01 ^{Bb}	0.92±0.03 ^{Ac}	15.20±0.21 ^{Ac}	15.47±0.31 ^{Ab}	3.76±0.14 ^{Bde}	3.95±0.01 ^{Abc}
6	48.66±0.04 ^{Aabc}	47.75±0.14 ^{Bb}	0.94±0.02 ^{Bb}	1.10±0.02 ^{Aabc}	17.85±0.08 ^{Ab}	16.57±0.03 ^{Ab}	4.04±0.02 ^{Ac}	4.01±0.01 ^{Abc}
8	50.05±0.02 ^{Aabc}	48.93±0.03 ^{Bb}	1.00±0.01 ^{Ab}	1.00±0.01 ^{Abc}	18.22±0.01 ^{Ab}	19.36±0.80 ^{Aa}	3.50±0.15 ^{Ade}	3.39±0.01 ^{Bcd}
10	49.60±0.01 ^{Aabc}	48.42±0.01 ^{Bb}	1.39±0.01 ^{Aa}	1.31±0.04 ^{Ba}	20.18±0.03 ^{Aa}	18.24±0.19 ^{Ba}	4.80±0.03 ^{Ab}	4.14±0.00 ^{Bb}
12	49.54±0.10 ^{Aabc}	48.55±0.17 ^{Bb}	1.36±0.01 ^{Aa}	1.22±0.10 ^{Bab}	20.45±0.08 ^{Aa}	19.72±0.68 ^{Aa}	5.35±0.03 ^{Aa}	5.24±0.03 ^{Aa}

^{A-B} Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-c} Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S \bar{x}$ = Standart hata, *3.gün, SÇA: Suda çözünen azot oranı, PTA: 5% fosforitongustik asitte çözünen azot oranı

^{A-B} Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-c} Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S \bar{x}$: Standard error, *3. Day, WSN: Water soluble nitrogen ratio, PTA: 5% Phosphotungustic acid soluble nitrogen ratio

Olgunlaşma Süresince Ezine Peynirinde Biyojen Amin İçeriği

Peynir örneklerinde belirlenen biyojen amin miktarlarına uygulanan varyans analizi sonucunda histamin, putresin, tiramin, triptamin ve feniletilamin miktarları üzerine sadece olgunlaştırma süresinin etkisinin önemli olduğu ($P < 0.05$), ısıtma işlem süresinin etkisinin ise önemsiz olduğu bulunmuştur ($P > 0.05$). İncelenen tüm biyojen aminlerin Ezine peynirinin olgunlaştırma süresince önemli düzeyde artış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 3). Olgunlaştırmanın ilk üç ayında Ezine peynirinde histaminin bulunmadığı, ancak üçüncü aydan sonra histamin miktarının yaklaşık üç kat arttığı 12 ay olgunlaştırma sonunda ise histamin miktarının 49.67 mg/kg düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Histamin değişimine benzer olarak olgunlaştırmanın birinci ayı (0.37 mg/kg) hariç ilk üç ayda Ezine peynirinde putresinin bulunmadığı ancak 4. ay ile 12. ay arasında putresin miktarının önemli derecede artış gösterdiği (ortalama 11 kat) tespit edilmiştir. Ezine peynirinde depolamanın 1. ayında 0.37

mg/kg olarak bulunan putresinin daha sonraki aşamalarda peynir mikroflorasındaki mikroorganizmalar tarafından parçalandığı düşünülebilir. Yapılan bazı çalışmalarda amino oksidaz ve benzeri enzim sistemlerine sahip çeşitli mikroorganizmaların biyojen aminleri metabolize etme özelliklerinin olduğu belirlenmiştir (Martuscelli vd. 2000; Alverez ve Arribas, 2014). Özellikle *E.coli*'nin putresini metabolize yolları iyi bir şekilde aydınlatılmıştır (Large, 1992).

Putresin ve histamin haricinde olgunlaştırma süresinden etkilenen tiramin, triptamin ve feniletilamin biyojen aminlerinin miktarlarının olgunlaştırmanın 2. ayından itibaren arttığı, söz konusu artışların tiramin ve triptamin için 8. aydan itibaren, feniletilamin için ise 10. aydan itibaren önemli olduğu belirlenmiştir. Her üç biyojen amin miktarının Ezine peynirinde olgunlaştırma sonunda sırasıyla 50.21 mg/kg, 33.78 mg/kg ve 65.37 mg/kg düzeyinde olduğu bulunmuştur (Çizelge 3).

Çizelge 3. Depolama süresince Ezine peynirlerinin biyojen amin miktarları (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)
Table 3. Amounts of biogenic amines in Ezine cheeses during storage (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Histamin Histamine	Putresin Putrescine	Tiramin Tyramine	Triptamin Tryptamine	Feniletilamin Phenylethylamine
0*	0.00 ^d	0.00 ^c	0.00 ^c	0.00 ^d	0.00 ^d
1	0.00 ^d	0.37 ± 0.24 ^c	5.53 ± 2.66 ^{bc}	2.17 ± 1.25 ^d	9.68 ± 0.01 ^{cd}
2	0.00 ^d	0.00 ^c	8.61 ± 3.00 ^{bc}	2.64 ± 1.26 ^d	28.24 ± 7.31 ^{bcd}
3	3.23 ± 1.90 ^d	0.00 ^c	13.32 ± 2.28 ^{bc}	7.33 ± 0.94 ^{cd}	23.05 ± 4.61 ^{cd}
4	10.90 ± 0.49 ^{cd}	12.49 ± 3.33 ^{bc}	17.95 ± 1.25 ^{bc}	9.50 ± 1.85 ^{cd}	35.30 ± 3.93 ^{bc}
6	20.76 ± 1.18 ^{bc}	20.26 ± 5.56 ^{bc}	22.32 ± 1.37 ^b	9.56 ± 0.35 ^{cd}	32.61 ± 1.62 ^{bc}
8	26.95 ± 1.74 ^b	52.52 ± 5.04 ^b	20.38 ± 1.36 ^{bc}	15.00 ± 0.62 ^{bc}	55.67 ± 0.68 ^{ab}
10	43.28 ± 4.16 ^a	55.94 ± 4.67 ^b	52.86 ± 5.03 ^a	25.02 ± 1.05 ^{ab}	53.93 ± 2.11 ^{ab}
12	49.67 ± 4.16 ^a	136.95 ± 11.56 ^a	50.21 ± 4.77 ^a	33.78 ± 4.43 ^a	65.37 ± 5.96 ^a

^{a-d}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata*3. gün

^{a-d}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, *3. Day

Çalışmada, incelenen diğer biyojen aminlerden farklı olarak Ezine peynirindeki kadaverin miktarına uygulanan ısıtma işlem süresi ve olgunlaştırma süresinin birlikte etki ettiği yani Ezine peynirindeki kadaverin miktarının

uygulanan ısıtma işlem süresine bağlı olarak olgunlaştırma süresince değişim gösterdiği belirlenmiştir. Ezine peynirinde kadaverin miktarına ait değişim Çizelge 4'de gösterilmiştir. Çizelge 4 incelendiğinde, olgunlaşmanın ilk 3

ayında ısı işlem süresi etkisinin Ezine peynirinin kadaverin miktarında herhangi bir fark oluşturmadığı depolamanın 4., 6., 10. ve 12. aylarında ise kadaverin miktarının 65°C de 30 dk. ısı işlem uygulanan süttten yapılan peynirlerde

daha yüksek olduğu bulunmuştur. Buna göre, 12 ay olgunlaştırma sonunda 65°C de 10 dk. ve 30 dk. ısı işlem gören sütlerden yapılan Ezine peynirlerindeki kadaverin miktarları sırasıyla 42.94 mg/kg ve 74.04 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinin depolama süresince kadaverin miktarları (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 4. Cadaverine amounts of Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage (mg/kg) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	Kadaverin Cadaverine	
	65°C 10 dk 65°C 10 min	65°C 30 dk 65°C 30 min
0*	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
1	0.00 ^{Bc}	2.62±0.04 ^{Ac}
2	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
3	0.00 ^{Ac}	0.00 ^{Ac}
4	6.52 ±1.68 ^{Bc}	9.98±2.87 ^{Ade}
6	10.51±3.86 ^{Bc}	19.05± 0.47 ^{Ad}
8	29.44±0.10 ^{Ab}	30.45±1.12 ^{Ac}
10	36.99±2.75 ^{Bab}	44.36± 3.44 ^{Ab}
12	42.94±5.93 ^{Ba}	74.04± 2.07 ^{Aa}

^{A-B} Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-c} Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata*3. Gün

^{A-B} Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-c} Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, *3. Day,

Peynirler, biyojen amin bakımından önem taşıyan gıdalar arasında bulunmaktadır. Peynirlerde oluşan en önemli biyojen aminler; tiramin, histamin, putresin, kadaverin, triptamin ve β -feniletilamin olup bu aminlerin miktarının olgunlaşma süresince arttığı Ordonez vd. (1997) tarafından da bulunmuştur. Koehler ve Eitenmiller (1978) inceledikleri çeşitli peynir örneklerinde tiramini en yaygın bulunan biyojen amin olarak tespit etmişlerdir. Örneklerde en yüksek tiramin konsantrasyonu 1320 mg/kg olarak bulunmuş olup ortalama tiramin miktarı 216 mg/kg olarak belirtilmiştir. Peynirlerde β -feniletilamin seviyesi ise 102 mg/kg olarak bulunmuştur. İncelenen örneklerdeki triptamin seviyesinin de daha düşük oranlarda bulunduğu belirtilerek, ortalama 20 mg/kg düzeyinde olduğu bildirilmiştir. Valsamaki vd. (2000) 4 aylık olgunlaşma süresince, Feta peynirinde oluşan

biyojen amin içeriğini incelemişler ve 60. günün sonunda toplam biyojen amin miktarının 330 mg/kg'a, 120 günlük olgunlaşma sürecinde ise bu miktarın 617 mg/kg'a ulaştığını saptamışlardır. Ayrıca tiramin ve putresinin Feta peynirinde saptanan baskın biyojen aminler olduğunu (sırasıyla % 69.7 ve % 71.2) triptamin ve feniletilaminin de az miktarda bulunduğunu ifade etmişlerdir. Araştırmacılar, Feta peynirinde de depolama boyunca triptamin miktarının en düşük düzeyde olduğunu saptamışlardır. Schirone vd. (2011) yaptıkları bir çalışmada İtalya'da Abruzzo bölgesindeki 10 adet farklı işletmede koyun sütünden üretilmiş ve 90 gün olgunlaştırılmış Pecorino di Faridola peynir örneklerinin toplam biyojen amin içeriklerini incelemişlerdir. Söz konusu peynir örneklerinde en fazla bulunan biyojen aminlerin tiramin, etilamin, putresin ve kadaverin olduğunu, peynirlerdeki toplam biyojen

amin içeriklerinin 203 mg/kg ile 2393 mg/kg arasında değiştiğini belirlemiştir. Yapılan diğer bir çalışmada (Martuscelli vd. 2005) ise çığ ve starter kültür ilaveli pastörize koyun sütünden yapılan ve 60 gün olgunlaştırılan Pecorino Abruzzese (İtalya) peynirlerinin toplam biyojen amin içeriğinin sırasıyla 697 ve 1086 mg/kg düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Buna göre, baskın biyojen aminlerin çığ sütü yapılan Pecorino Abruzzese peynirlerinde histamin, tiramin ve putresin, starter kültür ilaveli pastörize sütte yapılan peynirde ise feniletıl amin, tiramin, etilamin ve putresin olduğu tespit edilmiştir. Çalışmada Ezine peynirinde belirlenen biyojen amin çeşidi ve konsantrasyonları diğer çalışmalarda bulgularla karşılaştırıldığında, Ezine peynirinde belirlenen biyojen amin çeşitlerinin farklı ülkelerde koyun ve keçi sütlerinden yapılan peynirlerdeki biyojen amin çeşitleriyle benzer olduğu ancak konsantrasyon bakımından düşük olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, daha öncede ifade edildiği gibi peynirdeki mikrobiyel popülasyonun çeşitliliği ve sayısı, uygulanan ısıl işlemin çeşidi ve süresi, fermantasyon koşulları gibi etkenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda SÇA, PTA veya TCA gibi proteolitik aktivite göstergeleri ile biyojen amin oluşumunun doğru orantılı olduğu ifade edilmektedir (Sumner, vd.1990a,b; Novella-Rodriguez vd. 2004).Yapılan bu çalışmada, Ezine peynirindeki bazı azot fraksiyonları ile biyojen amin oluşumu arasında yüksek korelasyon olduğu belirlenmiştir. Örneğin, 65°C'de 10 dk. ısıl işlem uygulanan sütte üretilen Ezine peynirinde feniletılamin ($r=0.906$, $P=0.001$), histamin ($r=0.888$, $P=0.001$) ve tiramin ($r=0.878$, $P=0.001$) ile suda çözünür azot fraksiyonu arasındaki korelasyon yüksek bulunmuştur. Aynı peynirde TCA ile tiramin ($r=0.915$, $P=0.001$), kadaverin ($r=0.859$, $P=0.001$), histamin ($r=0.846$, $P=0.001$) ve feniletılamin ($r=0.825$, $P=0.001$) arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. PTA ile biyojen aminler arasındaki korelasyon diğerlerinden daha düşük bulunmuştur. En yüksek korelasyon değerleri triptamin ($r=0.779$, $P=0.001$) ve tiramin ($r=0.772$, $P=0.001$) ile PTA arasındadır.

Olgunlaşma Süresince Ezine Peynirinde Mikrobiyel Profil

Olgunlaştırma süresince Ezine peynirinde PAB, FK ve maya sayılarındaki görülen değişimler Çizelge 5'de sunulmuştur. Yapılan varyans analizi sonucunda, olgunlaştırma süresinin Ezine peynirindeki söz konusu mikroorganizmalar üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Ezine peynirinde, PAB ve maya sayısında olgunlaşmanın 4. ayından itibaren önemli FK ve Enterobakteri sayılarında ise olgunlaşmanın 3. aydan itibaren önemli bir düşüşün meydana geldiği gözlenmiştir. Olgunlaşmanın 8. ayından sonra ise incelenen mikroorganizmaların sayıları $< 1 \log \text{ kob/g}$ düzeyinde olduğu bulunmuştur. Diğer taraftan yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda peynir örneklerinin hiçbirinde depolama süresince *C. perfiringens* ve küf tespit edilememiştir ve peynirlerde *E. coli* sayısı fekal koliform sayısı ile aynı bulunmuştur.

Ezine peynirinin TMAB ve LAB sayıları üzerine süte uygulanan ısıl işlem ve olgunlaştırma süresinin birlikte etkisi önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Buna göre, süte uygulanan farklı ısıl işlem süreleri ile üretilen Ezine peynirindeki TMAB ve LAB sayıları olgunlaşma süresine bağlı olarak değişim göstermektedir (Çizelge 6). Üretilen Ezine peynirlerinde TMAB'ye ait bulgular incelendiğinde, uygulanan farklı ısıl işlem sürelerinde üretilen peynirlerdeki TMAB yükü $7.1 \log \text{ kob/g}$ düzeyinde olduğu TMAB yükünün olgunlaştırma süresince azaldığı belirlenmiştir. Olgunlaştırmanın 0. 1. ve 6. aylarında çığ süte uygulanan farklı ısıl işlem normları peynirlerin TMAB üzerine önemli bir etki yaratmamıştır ($P > 0.05$). Olgunlaştırmanın 3. 4. ve 8. aylarında ise çığ süte 65°C de 10 dk. ısıl işlem uygulanarak üretilen peynirlerin toplam TMAB sayısı, çığ süte 65°C de 30 dk. ısıl işlem uygulanarak üretilen peynirlerden daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Farklı sıcaklık süresi uygulanan Ezine peynirlerinde LAB sayısı olgunlaştırmanın 2. ayına kadar artış göstermiştir. Depolamanın ilk iki ayında iki peynir örneğinde ortalama $6.40 \log \text{ kob/g}$ (65°C de 10 dk.) ve $7.16 \log \text{ kob/g}$ (65°C de 30 dk.) düzeyinde LAB sayısı tespit edilmiştir. Her iki peynir örneğinde LAB sayısındaki azalış 4. aydan sonra önemli derecede olup,

olgunlaştırmanın sonunda LAB sayısı her iki peynir örneğinde ortalama 2 kat azalış göstermiştir (Çizelge 6).

Çizelge 5. Depolama boyunca Ezine peynirlerinin mikroorganizma sayısı ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 5. Microbial counts of Ezine cheeses during storage

Depolama (Ay) Storage (Month)	PAB (log kob/g)	FK (log EMS/g) FC (log EMS/g)	Enterobacteriaceae (log kob/g) Enterobacteriaceae (log cfu/g)	Maya (log kob/g) Yeast (log cfu/g)
	PAB (log cfu/g)			
0*	4.79 ± 0.15 ^{ab}	2.12 ± 0.19 ^a	5.70 ± 0.02 ^a	7.13 ± 0.12 ^a
1	6.51 ± 0.14 ^a	1.68 ± 0.40 ^b	3.04 ± 0.21 ^b	3.20 ± 0.15 ^b
2	3.83 ± 0.49 ^{bc}	<1 ^d	2.08 ± 0.37 ^b	2.49 ± 0.07 ^b
3	5.06 ± 0.59 ^{ab}	1.93 ± 0.11 ^b	2.27 ± 0.09 ^b	2.64 ± 0.34 ^b
4	5.49 ± 0.14 ^{ab}	1.04 ± 0.22 ^{cd}	<1 ^c	1.94 ± 0.32 ^{bc}
6	2.29 ± 0.22 ^{cd}	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
8	2.47 ± 0.26 ^{cd}	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
10	<1 ^d	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c
12	<1 ^d	<1 ^d	<1 ^c	<1 ^c

^{a-d}Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki fark önemlidir ($P < 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata, PAB: Psikrofilik aerobik bakteri sayısı, FK: Fekal koliform sayısı, *3. Gün, EMS: En muhtemel sayı, kob: koloni oluşturan birim

^{a-d}Means in the same column followed by different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, PAB: psychrophilic aerobic bacteria count, FC: Fecal coliform count, *3. Day, EMS: Most probable number, cfu: colony forming unit

Çizelge 6. Farklı ısı işlem süreleri uygulanarak üretilen Ezine peynirlerinde depolama süresince belirlenen mezofilik aerobik ve laktik asit bakteri sayıları (log kob/g) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Table 6. Counts of mesophilic and lactic acid bacteria determined in Ezine cheeses produced by applying different heat treatment times during storage (log cfu/g) ($\bar{x} \pm S\bar{x}$)

Depolama (Ay) Storage (Month)	TMAB		LAB	
	65°C 10 dk	65°C 30 dk	65°C 10 dk	65°C 30 dk
	65°C 10 min	65°C 30 min	65°C 10 min	65°C 30 min
0*	7.06 ± 0.02 ^{Aa}	7.15 ± 0.01 ^{Aab}	5.64 ± 0.09 ^{Bef}	6.68 ± 0.02 ^{Abc}
1	6.89 ± 0.11 ^{Aab}	6.95 ± 0.02 ^{Aab}	6.72 ± 0.01 ^{Bbcd}	7.12 ± 0.43 ^{Aab}
2	7.02 ± 0.26 ^{Ba}	7.49 ± 0.11 ^{Aa}	6.86 ± 0.58 ^{Bbc}	7.69 ± 0.04 ^{Aa}
3	7.46 ± 0.12 ^{Aa}	5.73 ± 0.09 ^{Bcde}	8.08 ± 0.03 ^{Aa}	6.59 ± 0.08 ^{Bbc}
4	7.37 ± 0.02 ^{Aa}	6.43 ± 0.09 ^{Bbc}	7.45 ± 0.06 ^{Aab}	6.71 ± 0.01 ^{Bbc}
6	5.53 ± 0.27 ^{Acde}	5.62 ± 0.01 ^{Ade}	5.56 ± 0.02 ^{Aef}	5.65 ± 0.16 ^{Ad}
8	6.23 ± 0.01 ^{Abc}	5.07 ± 0.44 ^{Be}	6.23 ± 0.06 ^{Acde}	6.10 ± 0.06 ^{Acde}
10	5.00 ± 0.04 ^{Bd}	5.71 ± 0.01 ^{Acde}	5.90 ± 0.05 ^{Ade}	5.94 ± 0.01 ^{Acde}
12	5.30 ± 0.22 ^{Bd}	5.88 ± 0.07 ^{Acde}	4.79 ± 0.01 ^{Af}	3.84 ± 0.18 ^{Be}

^{A,B}Farklı büyük harflerle gösterilen ısı işlem ortalamaları arasındaki fark önemlidir.

^{a-f}Farklı küçük harflerle gösterilen depolama ortalamaları arasındaki fark önemlidir ($P \leq 0.05$).

\bar{x} = Ortalama, $S\bar{x}$ = Standart hata, TMAB: Toplam mezofilik aerobik bakteri, LAB: laktik asit bakteri, *3. Gün, kob: koloni oluşturan birim

^{A-B}Means of heat treatments followed by different capital letters represent significant differences.

^{a-f}Means of storage followed by different lower case letters represent significant differences ($P \leq 0.05$),

\bar{x} = Mean, $S\bar{x}$: Standard error, TMAB: Total mesophilic aerobic bacteria, LAB: lactic acid bacteria, *3. Day, cfu: colony forming unit

Çalışmada mikrobiyolojik analizler sonucunda Ezine peynirinden elde edilen bulgular, starter kültür kullanılmadan üretilen ve salamurada olgunlaştırılan İzmir Tulum (Türkiye), Urfa (Türkiye), Feta (Yunanistan), Gibna Bayda (Sudan), Domiati (Mısır) ve Casin (İspanya) gibi peynirlerde bulunan sonuçlarla benzerdir (Özer vd. 2002; Manolopoulou vd. 2003; Aly vd. 2007; El Owni ve Hamid, 2008; Algeria vd. 2009; Karabey vd. 2018). Ezine peyniri üzerine yapılan bir çalışmada (Tuncel vd. 2010) 12 ay boyunca olgunlaştırma süresince Ezine peynirlerinde LAB sayısı belirlenmiş olup bu sayının 6.55-9.46 log kob/g arasında değiştiği saptanmıştır. Karabey vd. (2018) yaptıkları bir çalışmada, 12 ay boyunca olgunlaştırılmış İzmir Tulum peynirlerinde *Lactococcus* spp. cinsi LAB'lerin baskın florayı oluşturduğu ve peynir örneklerinde 7.95-8.44 log kob/g düzeyinde olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca, peynir örneklerinde 3.60-5.07 log kob/g düzeyinde *Staphylococcus* spp. bulunduğu da tespit edilmiştir. Yunanistan'ın Peloponess bölgesinde şubat-mart aylarında elde edilmiş sütlerden üretilen Feta peynirlerinde ise 120 gün olgunlaştırma süresince baskın floranın mezofilik laktokok, termofilik laktobasil ve koklardan oluştuğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan, Ezine peynirine benzer olarak Feta peynirinde de maya-küf sayısının olgunlaştırma süresince azaldığı, 120 günlük olgunlaştırma süresi sonunda ise Koliform grubu bakteriler ile *E. coli*'nin peynirde bulunmadığı tespit edilmiştir (Manolopoulou vd. 2003). Ancak, İspanya'da starter kültür kullanılmadan inek sütlerinden üretilen Casin peynirinde 30 günlük olgunlaştırma süresince koliform grubu bakteriler ile maya-küf sayısının arttığı belirlenmiştir. Buna göre koliform grubu bakteri sayısının 5.54 log kob/g düzeyinden 6.47 log kob/g düzeyine çıktığı, maya-küf sayısının 3.38 log kob/g düzeyinden 6.79 log kob/g düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak literatür bulguları değerlendirildiğinde, özellikle starter kültür kullanılmadan ve salamurada olgunlaştırılan peynirlerdeki mikrobiyel floranın; üretimde kullanılan çiğ sütün mikrobiyolojik florası, peynir üretim basamaklarındaki işlem farklılıkları, olgunlaştırma süresi gibi faktörlerden etkilendiği açıkça görülmektedir.

Azot fraksiyonlarına benzer olarak, Ezine peynirinde belirlenen mikroorganizmalar ve bazı biyojen aminlerle arasında önemli korelasyonların olduğu saptanmıştır. Olgunlaştırma süresince mikroorganizma yükündeki azalmadan ve biyojen amin miktarındaki artıştan dolayı korelasyonlar negatif yöndedir. Örneğin, 65°C de 30 dk. ısı işlem uygulanan süttten yapılan peynirlerde depolama süresince belirlenen psikrofilik bakteri sayısı ile histamin ($r = -0.812$, $P = 0.001$), putresin ($r = -0.656$, $P = 0.003$), tiramin ($r = -0.761$, $P = 0.001$), triptamin ($r = -0.720$, $P = 0.001$) ve kadaverin ($r = -0.779$, $P = 0.001$) arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. LAB'leri ile de tüm biyojen aminler arasında önemli korelasyonlar olduğu görülmüştür; histamin ($r = -0.793$, $P = 0.001$), putresin ($r = -0.881$, $P = 0.001$), tiramin ($r = -0.672$, $P = 0.002$), triptamin ($r = -0.826$, $P = 0.001$) ve kadaverin ($r = -0.668$, $P = 0.002$). Peynirlerde bulunan mezofilik bakteriler ve maya sayısı ile putresin hariç diğer tüm biyojen aminler arasında önemli korelasyon olduğu saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* ile de özellikle histamin ($r = -0.587$, $P = 0.017$) ve feniletilamin ($r = -0.655$, $P = 0.006$) arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. Ancak, fekal koliform ve *E. coli* sayısı ile kadaverin hariç (sırasıyla $r = -0.573$, $P = 0.013$ ve $r = -0.502$, $P = 0.034$) diğer aminler arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır. Pintado vd. (2008) Terrincho isimli Portekiz peynirinin mikrobiyal özelliklerini ve biyojen amin profilini belirlemişlerdir. Çalışmada peynirde bulunan toplam mezofilik bakteri, enterokok, laktokok, laktobasil, stafilokok, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, maya ve küf sayısı belirlenmiş olup biyojen amin konsantrasyonu ile canlı mikroorganizma sayısı arasında önemli korelasyon olduğu bulunmuştur. Özellikle enterokok ve feniletilamin ($r = 0.868$, $P < 0.0001$) ve laktokok ile kadaverin ($r = 0.646$, $P = 0.002$) ve tiramin ($r = 0.868$, $P < 0.0001$) ve *Enterobacteriaceae* ve triptamin ($r = 0.855$, $P < 0.0001$) arasında önemli bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Marino ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada da peynirde bulunan *Enterobacteriaceae* sayısı ile kadaverin miktarı arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır. *Enterobacteriaceae* sayısının peynir yapımı veya depolama sırasında olan bir

kontaminasyonun göstergesi olabileceği düşünülebilir.

SONUÇ

Çalışma sonucunda olgunlaşma süresince Ezine peynirindeki mikroorganizma yükünün azaldığı ve biyojen amin seviyesinin arttığı görülmüştür. Ezine peynirlerinin depolama süresince bazı mikroorganizma sayılarındaki değişim incelendiğinde, pastörizasyonla yok edilemeyen veya kontaminasyonla peynire bulaşan mikroorganizmaların (Örn; fekal koliform) özellikle depolamanın 3. ayından sonra tamamen yok olduğu görülmüştür. Olgunlaştırma süresince biyojen amin seviyelerindeki artışın çoğunlukla süte uygulanan ısı işlem sonrasında sütte canlı kalabilen veya peynir üretim basamaklarında ürüne bulaşabilen psikrofil aerobik bakteri ve LAB'lerinden kaynaklandığı görülmüştür. Nitekim peynirlerde belirlenen histamin, putresin tiramin miktarı ile psikrofil aerobik bakteriler ve LAB'lerinin sayıları arasında önemli bir korelasyon olduğu belirlenmiştir. Diğer taraftan fekal koliform ve *E. coli* sayısı ile peynirde oluşan kadaverin miktarının da ilişkili olduğu gözlenmiştir. Ezine peynirinde kadaverin hariç oluşan diğer tüm biyojen aminler üzerine ısı işlem süresinin tek başına etkisinin olmadığı, kadaverin oluşumunda ise ısı işlem süresi ve olgunlaştırma süresinin ortak etkisinin varlığı tespit edilmiştir. Ezine peynirinde oluşan biyojen aminlerin miktarlarının kabul edilen toksikolojik sınır değerlerin altında olduğu ortaya konulmuştur. Çalışmada Ezine peynirinde oluşan biyojen aminlerin miktarının ısı işleminden etkilenmediği görülse de Ezine peyniri üretiminde kalite kayıplarına neden olan ve insan sağlığı için tehlikeli olabilen istenmeyen mikrobiyal floranın kontrol altına alınması için süte pastörizasyon işlemi uygulanması büyük önem taşımaktadır. Diğer taftan pastörizasyon sonrası işlemlerde ve peynirin depolanması sırasında sıkı hijyen tedbirlerinin uygulanarak mikrobiyolojik kontaminasyon riskinin en aza indirilmesi de gerekmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Tarım ve Orman Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müdürlüğü Gıda ve Yem

Araştırmaları Daire Başkanlığı tarafından TAGEM/GY/09/03/01/156'nolu proje ile desteklenmiş ve sonuç raporu 220 yayın numarası ile yayınlanmıştır.

KAYNAKLAR

Alegria, A., Alvarez-Martin, P., Sacristan, N., Fernandez, E., Delgado, S., Mayo, B (2009). Diversity and evolution of the microbial populations during manufacture and ripening of Casin, a traditional Spanish, starter-free cheese made from cow's milk. *Int J Food Microbiol*, 136:44-51.

Alvarez, M.A., Moreno-Arribas, M.V. (2014). The problem of biogenic amines in fermented foods and the use of potential biogenic amine-degrading microorganisms as a solution. *Trends Food Sci Technol* 39, (2):146-155.

Aly, S.A., Morgan, S.D., Moawad, A.A., Metwally, B.N. (2007). Effect of moisture, salt content and pH on the microbiological quality of traditional Egyptian domiati cheese. *Assut Vet Med J*, 53(115): 68-81

Anonymous(1988).Gıda maddeleri muayene ve analiz metodları. T.C. Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü. Bursa.

Anonymous (1995). Biogenically active amines in food. European Cooperation in the Field of Scientific and Technical Research. COST 269/96. <https://publications.europa.eu/en/publication-detail/-/publication/ed5a2fd4-32fd-48f7-8175-18a3d28e3b5e/language-en> (Erişim tarihi:05/05/2010).

Chang, S.F., Ayres, J.W., Sandine, W.E (1985). Analysis of Cheese for histamine, tyramine, tryptamine, histidine, tyrosine and tryptophane. *J Dairy Sci*, 68: 2840-2846.

Combarros-Fuertes, P., Fernandez, D., Arenas, R., Diezhandino, I., Tornadijo, M.E., Fresno, J.M. (2016). Biogenic amines in Zamorano cheese: factors involved in their accumulation *J Sci Food Agric*, 96:295-305.

Darwish, S.M (1993). Development of biogenic amines in Hungarian hard cheese during ripening. *Egypt J Dairy Sci*, 21(2): 313-319.

- Degheidi, M.A., Effat, B.A., Shalaby, A.R (1992). Development of some biogenic amines during Ras cheese ripening with special reference to different starters. Proceeding 5th Egyptian Conference for Dairy Science and Technology, 19-21 Ekim 1992, Ismailia, Mısır 205 s.
- Durlu-Özkaya, F., Alichanidis, E., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tunail, N (1999). Determination of biogenic amine content of Beyaz cheese and biogenic amine production ability of some lactic acid bacteria. *Milchwissenschaft*, 54(12): 680-682.
- Durlu-Özkaya, F., Ayhan, K., Özkan, G (2000). Biogenic amine determination in tulum cheese by high performance liquid chromatography (HPLC). *Milchwissenschaft*, 55(1): 27-28.
- Durlu-Özkaya, F., Tunail N (2000). Salamura Beyaz peynirlerde biyogen amin riski. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 22-23 Mayıs 2000, Tekirdağ, 146s.
- Durlu-Özkaya, F (2001). Çeşitli peynirlerimizin biyogen amin kompozisyonu. Türkiye 7. Gıda Kongresi, 22-24 Mayıs 2002, Ankara, 899s.
- Eerola, S., Hinkkanen, R., Lindfors, E., Hirvi, T (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *JAOAC Int*, 76 (3): 575-577.
- El-Owni, O.A.O., Hamid, Ö.I.A (2008). Effect of storage period on weight loss, chemical composition, microbiological and sensory characteristics of Sudan White cheese (GibnaBayda). *Pak J Nutr*, 7(1):75-80.
- FDA-BAM-3 (2001). Aerobic plate count Agar. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-4 (2001). *Escherichia coli* and the Coliform Bacteria. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. Web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-16 (2001). *Clostridium perfringens*. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- FDA-BAM-18 (2001). Yeasts, molds, and mycotoxins. Food and Drug Administration, Bacteriological Analytical Manual Online. U.S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition. web: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006949.htm> (Erişim tarihi 12.11.2008)
- Frank, J.F., Yousef, A.E. (1992). Tests for groups of microorganisms. In: Standard Methods for the Examination of Dairy Products, Marshall RT (chief ed), American Public Health Association, Washington, DC. pp.271-286.
- Guarcello, R., Diviccaro, A., Barbera, M., Giancippoli, E., Settani, L., Minervini, F. Moschetti, G., Gobetti M. (2015). A survey of the main technology, biochemical and microbiological features influencing the concentration of biogenic amines of twenty Apulian and Sicilian (Southern Italy) cheeses. *Int Dairy J*, 43: 61-69.
- Halasz, A., Barath A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W (1994). Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends Food Sci Tech*, 5:42-49.
- Hull, R., Toyne, S., Haynes, I., Lehmann, F.L (1992a). Thermotolerant bacteria: A re-emerging problem in cheese making. *Aust J Dairy Technol*, 47(2): 91-94.
- Hull, R., Toyne, S., Haynes, I., Lehmann, F.L (1992b). Thermotolerant bacteria: a re-hygienic quality in typical Sicilian cheeses. *Latte*, 19(4): 390-393.
- ICMSF (1978). Microorganisms in foods 1: Their significance and methods of enumeration.

- International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF) of the International Association of Microbiological Societies, University of Toronto Press. Toronto, Kanada.434p.
- Jarrett, W. D., Aston, J. W., Dulley, J. R (1982). A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust J Dairy Technol*, 37:55-58.
- Joosten, H.M.L.J (1988a). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 3. factors influencing the amounts formed. *Neth Milk Dairy J*, 41: 329-345.
- Joosten, H.M.L.J (1988b). Biogenic amine contents of Dutch cheese and their toxicological significance. *Neth Milk Dairy J*, 42: 25-42.
- Joosten, H.M.L.J., van-Boekel, M.A.J.S (1988). Conditions allowing the formation of biogenic amines in cheese. 4. A study of the kinetics of histamine formation in an infected Gouda cheese. *Neth Milk Dairy J*, 42: 3-24.
- Joosten, H.M.L.J., Weerkamp, A.H (1994). Vorming Van Biogene Aminen in Kaas. *Voedings Middelten Technologie*, 27 (3): 9-11.
- Karabey, B., Eroglu, D., Vural, C., Ozdemir G., Yerlikaya, O., Kinik, Ö (2018). Determination of the microbial flora in traditional Izmir Tulum cheeses by denaturing gradient gel electrophoresis. *J Food Sci Technol*, 55 (3):956-963.
- Karagül-Yüceer, Y., Tuncel, B., Güneşer, O., Engin, B., Isleten, M., Yasar, K., Mendes, M (2009). Characterization of aroma-active compounds, sensory properties, and proteolysis in Ezine Cheese. *J Dairy Sci*, 92: 4146–4157.
- Karahan, A.G., Öner, Z., Filiz, H.N (2001). Farklı depolama sürelerinde beyaz peynirlerde meydana gelen değişimler. Kromatografik Yöntemler, II. Ulusal Kromatografi Kongresi. 6-8 Haziran 2001, Kırıkkale, 316s.
- Kuchroo, C. N., Fox, P. F (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37: 331-335.
- Lanza, C.M., Russo, C., Tomaselli, F (1994). Biogenic amines as indicators of hygienic quality in typical Sicilian cheeses. *Latte*, 19 (4): 390-393.
- Large, P. (1992). Enzymes and pathways of polyamine breakdown in microorganisms. *FEMS Microbiol Rev*, 88: 249-262.
- Manolopoulou, E., Sarantinopoulos, P., Zoidou, E., Aktypis, A., Moschopoulou, E., Kandarakis, I.G., Anifantakis, E.M (2003). Evolution of microbial populations during traditional Feta cheese manufacture and ripening. *Int Dairy J*, 82: 153-161.
- Martuscelli, M., Crudele, M.A., Gardini, F., Suzzi, G. (2000). Biogenic amine formation and oxidation by *Staphylococcus xylosum* strains from artisanal fermented sausages. *Lett Appl Microbiol*,31(3): 228-32.
- Martuscelli, M., Gardini, F., Torriani, S., Mastrocola, D., Serio, A., Chaves-Lopez, C., Schirone, M., Suzzi, G (2005). Production of biogenic amines during the ripening of Pecorino Abruzzese cheese. *Int Dairy J*, 15: 571-578.
- Moatsou, G., Moschopoulou, E., Georgala A., Zoidou, I, E., Kandarakis, I., Kaminarides, S., Anifantakis, E (2004). Effect of artisanal liquid rennet from kids and lambs abomasa on the characteristics of Feta cheese. *Food Chem*, 88(4): 517-525.
- Novella-Rodriguez, S., Veciana-Nogues, M.T., Roig-Sagues, A.X., Trujillo-Mesa, A.J (2004). Evaluation of biogenic amines and microbial counts throughout the ripening of goat cheeses from pasteurized and raw milk. *J Dairy Res*, 71(2): 24-252.
- Nout, M.J.R (1994). Fermented foods and food safety. *Food Res Int*, 27(3): 291-298.
- Ordonez, A.I., Ibanez, F.C., Torre, P., Barcina, Y (1997). Formation of biogenic amines in Idiazabal ewe's-milk cheese: effect of ripening, pasteurization and starter. *J Food Prot*, 60 (11): 1371-1375.
- Ozer, B. H., Atasoy, A. F., Akin, M. S (2002). Some properties of Urfa cheese (a traditional white-brined Turkish cheese) made from bovine's and ovine's milk. *Int J Dairy Technol*, 55(2): 94-99.

- Öner, Z., Karahan, G.A., Aloğlu, H (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *LWT-Food Sci Technol*, 39 (5): 449-454.
- Özoğul, F., Taylor, K. D. A., Quantick, P., Özoğul, Y (2002). Biogenic amines formation in Atlantic herring (*Clupea harengus*) stored under modified atmosphere packaging using a rapid HPLC method. *Int J Food Tech*, 37: 515-522.
- Pintado, A.I.E., Pinho, O., Ferreira, I.M.P.L.V.O., Pintado, M.M.E., Gomes, A.M.P., Malcata, F.X (2008). Microbiological, biochemical and biogenic amine profiles of Terrincho cheese manufactured in several dairy farms. *Int Dairy Journal* 18: 631-640.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N (1999). Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9: 559-568.
- Santos, M. H. S (1996). Biogenic amines: their Importance in foods. *Int J Food Microbiol*, 29: 213-231.
- Schirone, M., Tofalo, R., Mazzone, G., Corsetti, A., Suzzi, G (2011). Biogenic amine content and microbiological profile of Pecorino di Farindola cheese. *Food Microbiol*, 28: 128-136.
- Shalaby, A. R (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res Int*, 29(7): 675-690.
- Shalaby, A.R., Anwar, M.M., Sallam, E.M., Emam, W.H. (2016). Quality and safety of irradiated food regarding biogenic amines: Ras cheese. *Int J Food Sci Tech*, 51: 1048-1054.
- Sheskin, D.J (2004). Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures (3rd ed). Chapman and Hall/CRC press, New York, USA, 1193 p.
- SPSS (2006). SPSS Professional Statistics 15.0. Chicago, IL: SPSS Inc.
- Stratton, J.E., Hutkins, R.W., Taylor, S.L (1991). Biogenic amines in cheese and other fermented foods. *J Food Prot*, 54(6): 460-470.
- Sumner, S.S., Roche, F., Taylor, S.L (1990a). Factors controlling histamine production in Swiss cheese inoculated with *Lactobacillus buchneri*. *J Dairy Sci*, 73: 3050-3058.
- Sumner, S.S. Roche, F., Taylor, S.L (1990b). Histamine formation by Enterococci in goat cheese. *Int J Food Microbiol*, 11: 225-230.
- TS Türk Standartları Enstitüsü (1978). TS 3046 Peynirde yağ miktarı tayini (Van Gulik Metodu), Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2002). TS EN ISO 8968-1 süt-azot içeriği tayini-Bölüm 1: Kjeldahl yöntemi standardı, Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2006a). TS 591 Beyaz peynir standardı, Ankara
- TS. Türk Standartları Enstitüsü (2006b). TS EN ISO 5534 Peynir ve işlenmiş peynir- toplam kurumadde içeriği tayini (referans yöntem), Ankara
- Tuncel, N.B., Güneşer, O., Engin, B., Yaşar, K., Zorba, N.N., Karagül-Yüceer, Y (2010). Ezine Peyniri II. Olgunlaşma Süresince Proteoliz Düzeyi. *Gıda*, 35(1): 21-26.
- Valsamaki, K., Michaelidou, A., Polychroniadou, A. (2000). Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem*, 71: 259-266.