

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİNİN YARIM YAĞLI KAŞAR
PEYNİRİNDE TEKSTÜR VE PEPTİD OLUŞUMUNA ETKİSİ**

Rabia GEMİCİ

**Danışman
Prof. Dr. Zübeyde ÖNER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA – 2017**



© 2017 [Rabia GEMİCİ]

TEZ ONAYI

Rabia GEMİCİ tarafından hazırlanan "**Transglutaminaz Enziminin Yarım Yağlı Kaşar Peynirinde Tekstür ve Peptid Oluşumuna Etkisi**" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri üyeleri önünde Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

Danışman

Prof. Dr. Zübeyde ÖNER
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI
Süleyman Demirel Üniversitesi



Jüri Üyesi

Doç. Dr. Seval Sevgi KIRDAR
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi



Enstitü Müdürü

Prof. Dr. Yasin TUNCER

TAAHHÜTNAME

Bu tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

Rabia GEMİCİ



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1. Sütün Rennet İle Pıhtılaşması	4
2.2. TG Enzimi.....	9
2.3. Rennet İle TG Enziminin Etkileşimi.....	19
2.4. TG Enziminin Süt Ürünlerinde Kullanım Olanakları.....	24
2.5. TG Enziminin Yağ İkame Maddesi Olarak Kullanımı	31
3. MATERYAL VE YÖNTEM	36
3.1. Materyal	36
3.1.1. Süt.....	36
3.1.2. Kalsiyum klorür	36
3.1.3. Sütü pıhtılaştırmada kullanılan enzim	36
3.1.4. TG enzimi.....	37
3.1.5. Starter kültür.....	37
3.1.6. Tuz (NaCl)	38
3.2. Yöntem.....	38
3.2.1. Kaşar peyniri üretimi	38
3.2.2. TG enzimi aktivite tayini.....	42
3.2.2.1. Analizin yapılışı.....	43
3.2.3. Kaşar peynirinde yapılan fiziko-kimyasal analizler.....	43
3.2.3.1. Titrasyon asitliği tayini	43
3.2.3.2. pH tayini.....	43
3.2.3.3. Toplam kuru madde tayini	44
3.2.3.4. Yağ tayini	44
3.2.3.5. Tuz tayini.....	45
3.2.4. Kaşar peynirinde yapılan tekstür analizi	46
3.2.5. Kaşar peynirinde yapılan mikrobiyolojik analizler.....	46
3.2.5.1. Koliform bakteri sayımı	46
3.2.5.2. Stafilokok sayımı	46
3.2.5.3. Laktobasil sayımı.....	47
3.2.5.4. Laktokok sayımı.....	47
3.2.5.5. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı.....	47
3.2.6. Kaşar peynirinde yapılan duyu analizi.....	48
3.2.7. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez analizi	48
3.2.7.1. Elektroforez için peynir örneklerinin hazırlanması	48
3.2.7.2. Kullanılan kimyasallar.....	48
3.2.7.3. Alt ve üst jelin hazırlanması.....	49
3.2.7.4. Elektroforez yapılışı.....	49
3.2.8. HPLC metodu ile peptid profili değişimi	51

3.2.8.1. Kimyasal hazırlama	51
3.2.9. İstatistiksel değerlendirme.....	52
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	53
4.1. Kaşar Peyniri Yapımında Kullanılan Çiğ Sütün Bileşimi	53
4.2. TG Enzimi Aktivite Tayini Analiz Sonuçları.....	54
4.3.Kaşar Peynirlerine Ait Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları	54
4.3.1.Kaşar peynirlerinin asitlik değerleri	54
4.3.2. Kaşar peynirlerinin pH değerleri	56
4.3.3.Kaşar peynirlerinin toplam kuru madde değerleri	58
4.3.4. Kaşar peynirlerinin yağ oranları	60
4.3.5. Kaşar peynirlerinin kuru madde de yağ oranları.....	63
4.3.6. Kaşar peynirlerinin kuru madde de tuz oranları	64
4.4. Kaşar Peynirlerine Ait Tekstür Analizi Sonuçları	66
4.4.1. Sertlik değerleri	67
4.4.2. Esneklik değerleri	69
4.4.3. Çiğnenebilirlik değerleri	71
4.4.4. Sakızimsılık değerleri	72
4.4.5. İç yapışkanlık değerleri.....	74
4.5. Kaşar Peynirlerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	76
4.5.1. Koliform bakteri sayım sonuçları.....	76
4.5.2. Stafilokok sayım sonuçları.....	78
4.5.3. Laktik asit bakterileri sayım sonuçları.....	80
4.5.4. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayım sonuçları.....	83
4.6. Kaşar Peynirlerine Ait Duyusal Analiz Sonuçları	85
4.7. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez Analiz Sonuçları	88
4.8. HPLC ile Belirlenen Peptid Profili Değişim Sonuçları.....	92
5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	98
KAYNAKLAR	100
EKLER.....	120
EK 1. Besiyerlerinin Hazırlanması.....	120
EK 2. Çözeltilerin Hazırlanması	121
ÖZGEÇMİŞ.....	123

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİNİN YARIM YAĞLI KAŞAR PEYNİRİNDE TEKSTÜR VE PEPTİD OLUŞUMUNA ETKİSİ

Rabia GEMİCİ

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zübeyde ÖNER

Bu tez çalışmasında, Transglutaminaz (TG) enzimi kullanılarak düşük yağlı Kaşar peyniri yapılmış ve TG'nin Kaşar peyniri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu etkileri belirlemek için Kaşar peyniri örneklerinin, fiziko-kimyasal analizlerden pH, titrasyon asitliği ($^{\circ}\text{SH}$), toplam kuru madde, yağ, kuru maddede yağ ve kuru madde de tuz değerleri ile mikrobiyolojik analizlerden toplam aerobik mezofil bakteri, laktik asit bakterileri, Stafilokok spp. ve koliform grubu bakteri sayımları yapılmıştır. HPLC ile peptid oluşumlarına, SDS-PAGE elektroforez yöntemi ile protein profillerine bakılmıştır. Kaşar peynirlerinde duyusal analiz yapılmıştır. Sertlik, esneklik, sakızimsılık, iç yapışkanlık ve çiğnenebilirlik değerleri tekstür analizi ile incelenmiştir. Ön denemelerden sonra, peynirler 3 tekerrür, analizler ise 2 paralel olarak yapılmıştır.

Düşük yağlı Kaşar peyniri örnekleri vakum pakette, 90 gün boyunca 4 °C'de depolanmıştır. Fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik, duyusal, tekstürel, SDS-PAGE elektroforez ve peptid analizleri olgunlaşmanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde yapılmıştır.

Olgunlaşma süresince Kaşar peyniri örneklerinin kuru madde de yağ değerleri haricinde fiziko-kimyasal, tekstür, duyusal ve mikrobiyolojik analiz sonuçları karşılaştırıldığında istatistiksel bakımdan örnekler arasında belirgin farklılık görülmemiştir. HPLC metodu ile peptid oluşumlarına bakıldığında ise olgunlaşmanın 0. gününde TG katkılı Kaşar peynirinin kontrol örneğine göre biraz daha yüksek molekül ağırlıklı ve hidrofobitesi yüksek peptitlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuç SDS-PAGE elektroforez analiz sonuçları ile uyum göstermiştir.

Sonuç olarak; TG enzimi ilavesinin düşük yağlı Kaşar peyniri üzerinde olumlu ya da olumsuz bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca protein çapraz bağlama özelliğinden yararlanarak verimin arttırılabileceği düşünülse de aksine TG enziminin Kaşar peynirinde verime etki etmediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Transglutaminaz, Kaşar peyniri, peptid, tekstür.

2017, 123 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EFFECTS OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME ON TEXTURE AND PEPTIDE FORMATION IN LOW-FAT KASHAR CHEESE

Rabia GEMİCİ

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Prof. Dr. Zübeyde ÖNER

In this thesis, low fat Kashar cheeses were produced using the transglutaminase (TG) enzyme and it was investigated that the effect of TG on Kashar cheese. It was determined some physico-chemical analysis such as pH, titratable acidity ($^{\circ}\text{SH}$), total solids, salt in solid, fat and fat in solid values and carried out that enumeration of total aerobic mesophil bacteria, lactic acid bacteria, Staphylococcus spp. and coliform group bacteria for microbiological analysis of Kashar cheese samples. The formation of peptide bonds were determined with HPLC. The protein profiles were investigated with SDS-PAGE electrophoresis method. Sensory analysis were made in Kashar cheese samples. Hardness, springiness, cohesiveness, chewiness and gumminess values were determined with texture analysis by TA.XT.plus texture analyzer. After preliminary assays, the cheeses were made in triplicate and the analyzes were carried out in two parallels.

Samples of low fat Kashar cheese were stored in a vacuum package at 4°C for 90 days. Physico-chemical, microbiological, textural, peptide formation, SDS-PAGE electrophoresis and sensory analyzes were performed on 0, 30, 60 and 90 days of maturation.

When the results of physico-chemical, texture, sensory and microbiological analyzes are compared, it wasn't observed that statistically significant differences between the samples except fat in solid values of Kashar cheese samples during maturation. When the peptide formation was investigated by HPLC method. It was detected that Kashar cheese with TG had a little higher molecular weight and higher hydrophobicity peptides than the control sample on 0. day of maturation. This result accorded with the results of SDS-PAGE electrophoresis analysis.

As a result, it was determined that TG enzyme addition had no effect on low fat Kashar cheese. It was also considered that the yield can be increased using cross-linking property of protein, in contrast TG enzyme had no affect on the yield of Kashar cheeses.

Keywords: Transglutaminase, Kashar cheese, peptide, texture.

2017, 123 pages



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam boyunca beni yönlendiren, desteğini bir an olsun esirgemeyen ve deneyimlerinden yararlandığım, kullandığı her kelimenin hayatıma kattığı önemini asla unutmayacağım saygıdeğer danışman hocam; Prof. Dr. Zübeyde ÖNER'e,

Ayrıca yine deneyimlerinden ve engin bilgilerinden yararlandığım sevgili hocalarım başta Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN ÇAKMAKÇI olmak üzere Yrd. Doç. Dr. Erkan KARACABEY'e ve Doç. Dr. Hakan KULEAŞAN'a,

Duyusal analiz için panelist olmayı gönülden kabul eden Arş. Gör. Ece ÇAĞDAŞ'a, Arş. Gör. Tuba BÜYÜKSİRİT'a, İstatistik çalışmalarımda verilerimi değerlendirmeme yardımcı olan Arş. Gör. Salih EROĞLU'na, tekstür analizinde bana yol gösteren Arş. Gör. S. Serhat TURGUT'ave son olarak yabancı dil konusunda her zaman kapısını çaldığım Dr. Ebru AYDIN'a

Tezimin Kaşar peyniri üretim aşamasındaki desteklerinde dolayı Barentz Gıda ve Kimya Ticaret Ltd. Şti'ye ve Arda AYDINLIOĞLU'na,

Çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını eksik etmeyen canım dostlarım başta Merve ŞAHİNTÜRK olmak üzere Yasemin Gülsüm GEVREK'e, Zahide ÇETİN'e, Lale UÇAR'a, Sultan KÖYSÜREN'e, Esra UĞUR'a ve Tahsin BİLGİÇ'e,

Ayrıca hayatım boyunca gösterdikleri destek, sabır, anlayış ve özveri için annem Derya GEMİCİ ve babam Erdal GEMİCİ'ye her zaman yanımda olacaklarına inandığım, yüksek lisansım boyunca bana verdikleri motive için ablalarım Buğçe ve Büşra'ya ve kardeşim İhsan'asonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Rabia GEMİCİ
ISPARTA, 2017

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Kazein misellerinin yapısı.....	5
Şekil 2.2. Sütün enzim ile pıhtılaşma evreleri.....	6
Şekil 2.3. MTG'nin genel yapısı.....	11
Şekil 2.4. MTG'nin primer yapısı.....	13
Şekil 2.5. TG ile çapraz bağlanma	14
Şekil 2.6. TG aracılığıyla oluşan protein modifikasyonları.....	14
Şekil 3.1. Kaşar peyniri sütleri ve skimmilkte hazırlanan starter kültürler .	38
Şekil 3.2. Kaşar peyniri üretimi akış şeması.....	39
Şekil 3.3. Peynir teknelerine ayrılan Kaşar peyniri sütleri.....	40
Şekil 3.4. Kesim olgunluğuna gelen telemenin kesimi	40
Şekil 3.5. Fermantasyonu tamamlanmış telemenin dilimlenmesi.....	41
Şekil 3.6. Telemenin haşlanması.....	41
Şekil 3.7. Telemenin yoğurulması	42
Şekil 3.8. Kuru tuzlama yapılan Kaşar peynir örnekleri.....	42
Şekil 3.9. SPS-PAGE yürütme tankı ve güç kaynağı	50
Şekil 4.1. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin °SH değişimi	55
Şekil 4.2. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin pH değişimi.....	57
Şekil 4.3. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % kuru madde oranlarının değişimi	58
Şekil 4.4. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % yağ oranlarının değişimi	61
Şekil 4.5. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % kuru madde de yağ oranlarının değişimi	63
Şekil 4.6. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % kuru madde de tuz oranlarının değişimi.....	65
Şekil 4.7. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin sertlik değerlerinin değişimi	68
Şekil 4.8. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin esneklik değerlerinin değişimi	70
Şekil 4.9. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin çiğnenebilirlik değerlerinin değişimi.....	72
Şekil 4.10. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin sakızımsılık değerlerinin değişimi.....	73
Şekil 4.11. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin iç yapışkanlık değerlerinin değişimi.....	75
Şekil 4.12. Kaşar peyniri örneklerindeki koliform sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi	77
Şekil 4.13. Kaşar peyniri örneklerindeki Stafilokok sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi	79
Şekil 4.14. Kaşar peyniri örneklerindeki laktobasil sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi	81
Şekil 4.15. Kaşar peyniri örneklerindeki laktokok sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi	82
Şekil 4.16. Kaşar peyniri örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi	84

Şekil 4.17. Olgunlaşma süresi boyunca Kaşar peyniri örneklerinin duyusal analiz değerlerinin değişimi.....	87
Şekil 4.18. SPS-PAGE ile belirlenen Kaşar peyniri örneklerinin protein profili... ..	89
Şekil 4.19. Kaşar peynirleri örneklerinin 0. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri.....	93
Şekil 4.20. Kaşar peynirleri örneklerinin 30. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri.....	93
Şekil 4.21. Kaşar peynirleri örneklerinin 60. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri.....	94
Şekil 4.22. Kaşar peynirleri örneklerinin 90. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri.....	94
Şekil 4.23. Kontrol Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma süreci boyunca meydana gelen peptid profilleri	95
Şekil 4.24. TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma süreci boyunca meydana gelen peptid profilleri.....	95

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Gıda proteinlerinin bazı TG enzimleri ile substrat spesifikliğı ..	12
Çizelge 2.2. TG 'nin süt ürünlerindeki etkileri	25
Çizelge 3.1. Yapılan Kaşar peyniri denemeleri ve numaralandırılması	36
Çizelge 3.2. SDS-PAGE alt ve üst jel içerikleri	49
Çizelge 3.3. HPLC cihazının özellikleri ve kromatografik sonuçları.....	51
Çizelge 4.1. Çiğ inek sütünün bileşimi	53
Çizelge 4.2. Kaşar peyniri örneklerine ait asitlik değerleri (°SH)	55
Çizelge 4.3. Kaşar peyniri örneklerine ait pH değerleri	56
Çizelge 4.4. Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru madde değerleri	58
Çizelge 4.5. Kaşar peyniri örneklerine ait % yağ oranları	61
Çizelge 4.6. Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru madde de yağ oranları....	63
Çizelge 4.7. Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru madde de tuz oranları..	64
Çizelge 4.8. Kaşar peyniri örneklerine ait sertlik değerleri	67
Çizelge 4.9. Kaşar peyniri örneklerine ait esneklik değerleri	70
Çizelge 4.10. Kaşar peyniri örneklerine ait çiğnenebilirlik değerleri	71
Çizelge 4.11. Kaşar peyniri örneklerine ait sakızimsılık değerleri.....	73
Çizelge 4.12. Kaşar peyniri örneklerine ait iç yapışkanlık değerleri	74
Çizelge 4.13. Kaşar peynirlerine ait koliform bakteri sayısı (log kob/g).....	77
Çizelge 4.14. Kaşar peynirlerine ait stafilokok bakteri sayısı (log kob/g)	79
Çizelge 4.15. Kaşar peynirlerine ait laktobasil bakteri sayısı (log kob/g).....	81
Çizelge 4.16. Kaşar peynirlerine ait laktokok bakteri sayısı (log kob/g).....	82
Çizelge 4.17. Kaşar peynirlerine ait toplam aerobik mezofil bakteri sayısı (log kob/g).....	84
Çizelge 4.18. Kaşar peyniri örneklerine ait duyuşal analiz değerlerinin toplam puanları.....	85
Çizelge 4.19. Kaşar peynirinde duyuşal değerlendirme formu.....	86

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APS	Amonyum persülfat
BPA	Baird Plate Agar
CMP	Kazeinomakropeptid
cm ³	Santimetre küp
Da	Dalton
E.C.	Enzim komisyonu numarası
EMB	Eosin Methylene-blue Sucrose
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FTS	Fizyolojik tuzlu su
g	Gram
GRAS	Genellikle Güvenli Kabul Edilen
GSH	Glutasyon
H ₂ SO ₄	Sülfirik Asit
HCl	Hidroklorik asit
HPLC	Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
ISO	Uluslararası standardizasyon kuruluşu
kDa	Kilodalton
kob	Koloni oluşturan birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterisi
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
MPa	Megapascal
MRS	De Man, Rogosa and Sharpe
MTG	Mikrobiyal Transglutaminaz
NaCl	Sodyum klorür
PCA	Plate Count Agar
pH	Hidrojen iyon konsantrasyonu
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
spp	Alt tür
TAMB	Toplam Aerobik Mezofil Bakteri
TEMED	N,N,N',N'-tetramethylethane-1,2-diamine
TFA	Triflourasetik asit
TG	Transglutaminaz
TPA	Tekstür Profil Analizi
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
U	Unit
V	Volt
°SH	Soxhalet Henkel
α-La	Alfa laktoalbümin
β-Lg	Beta laktoglobülin
°C	Santigrat derece
μL	Mikrolitre
~	Yaklaşık

1.GİRİŞ

Peynir, sütün yapılan ve çok eski geçmişı bulunan besleyici bir gıda maddesidir. Taze veya olgunlaştırılarak tüketilebilen peynirler, zengin gıda içerikleri ile insan beslenmesinde önemli yer tutmaktadırlar(Sert, 2004). Peynir ilk olarak yaklaşık 8000-9000 yıl önce Dicle ve Fırat nehirleri arasındaki “Fertile Crescent” yani “Bereketli Hilal”de ortaya çıkmıştır (Fox vd., 1996; Kosikowski ve Mistry, 1997). Bu alan şu anda Türkiye, İran ve Irak’ın bir parçasını oluşturmaktadır (Hayaloğlu vd., 2002). Dünyada 1000’den fazla peynir çeşidi bulunmakta, Türkiye’de ise yaklaşık 40-50 çeşit peynir üretilmektedir. Ancak bunlardan sadece 3 tanesi geleneksel olup, ekonomik değere sahiptirler. Bunlar sırasıyla Beyaz peynir, Kaşar peyniri ve Tulum peynirleridir (Hayaloğlu vd., 2002). Türkiye’de Kaşar peyniri Beyaz peynirden sonra en fazla üretilen peynir çeşididir (Şahan ve Kaçar, 2003; Kurultay vd., 2004; Keçeli vd., 2006). Ülkemizde üretilen diğer önemli peynirler ise Otlı, Dil, Mihaliç, Çökelek, ve Lor peynirleridir (Hayaloğlu vd., 2002).

Türk Standartları Enstitüsü’ne (TSE) göre “Kaşar peyniri, çiğ veya pastörize süt standardına uygun sütlerin imalat tekniğine göre işlenmesi sonucu elde edilen ve olgunlaşmasından sonra kendisine has, koku, renk, tat ve aroması olan sert yapılı bir peynir” olarak tanımlanmıştır. Daha sonra TSE 3272 Kaşar peyniri standardı, revize edilmiş ve “pastörize sütün imal edilen, olgunlaşma işlemine tabi tutulmayan ve taze olarak piyasaya arz edilen peynir” şeklinde tanımlanmıştır (Anonim, 1989).Kaşar peyniri bazı Balkan ve Avrupa ülkelerinde değişik adlar altında üretilmektedir. Bulgaristan’da Kaşkaval, Yunanistan’da Kassari, Yugoslavya’da Kachkawalj adları ile tanınan peynirler,Kaşar peynirine benzer peynirlerdir (Scott, 1981).

Gıda endüstrisinin gelişmesi, düzgün ve muntazam özelliklere sahip fonksiyonel gıda ürünleri üretimine bağlıdır. Gıda uygulamalarının asıl önemli konusu, katkı maddeleri ilavesinin en aza indirgendiği, kabul edilebilir özelliklere sahip yeni mühendislik ürünleri oluşturmaktır (Aguilera, 1992; Blanshard ve Mitchell, 1998). Proteinler, gıda ürünlerin hazırlanması, işlenmesi, depolanması ve

tüketimi aşamalarında gıdanın hem kalitesi hem de duyuşal özelliklerini önemli ölçüde etkilediğinden, gıda teknolojisi içinde ayrıcalıklı bir yere sahiptir (Yıldırım vd., 2000; Özrenk, 2006). Ayrıca proteinler gıdaların tekstür, jelleşme, stabilite, viskozite, emülsifiye etme ve su bağlama gibi ürünlerin yapısını ve birçok işleme özelliklerini etkileyen ve geliştiren fonksiyonel bileşenler olarak kullanılmaktadırlar (Faergemand vd., 1998). Ancak, proteinlerin zayıf fonksiyonel özellikler sergilemeleri, bu tip amaçlarla kullanımlarını kısıtlayan bir faktör olarak rol oynamaktadır. Proteinler gıda katkı maddesi olarak kullanılmakta ve genellikle fonksiyonel özellikleri istenilen seviyede olmamaktadır (Yıldırım vd., 1996). Proteinlerin fonksiyonel özellikleri yapıları ile yakından ilişkilidir (Faergemand vd., 1998). Bununla birlikte, proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin enzimatik, kimyasal ve fiziksel modifikasyonlarla geliştirilebileceği, yapılan pek çok çalışmada belirtilmiştir (Golabczak vd., 2004; Arrizubieta, 2007). Gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi ve geliştirilmesinde etkili olan “enzimatik çapraz bağlanma” son yıllarda önem kazanmış alternatif bir metottur (Ya-Tanimoto ve Kinsella, 1988; Sakamoto vd., 1994; Faergemand vd., 1999a; Imm vd., 2000). Enzimatik modifikasyonların, enzimatik reaksiyonların yüksek spesifiklik göstermesi, sadece katalitik etki yapacak miktarı gerektirmeleri ve toksik yan ürünlerin oluşturma olasılığının daha az olması nedeniyle, kimyasal modifikasyonların yerine kullanılması daha avantajlıdır. Bu amaçla enzimlerden, gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi için gıda endüstrisinde yaygın olarak yararlanılmaktadır (Faergemand vd., 1998; Gerrard, 2002).

Çok eski zamanlardan beri ekmek ve peynir yapımında enzimlerden yararlanılmaktadır (Imm vd., 2000). Günümüzde de, enzimatik preparatlar, biyoteknik üretim süreçleri ile ilişkili olarak çok çeşitli ve düşük maliyetli olması açısından hemen hemen tüm sanayi kollarında kullanılmaktadır. Tüm üretim sektöründe olduğu gibi süt sektöründe de özellikle peynir üretiminde yüksek verim elde etmek önemlidir. Peynirlerin kalitesinden, görünüşünden ve besin değerlerinden ödün vermeden verimi artırmak ile ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Enzimatik yöntemler arasından TGenzimi süt endüstrisinde verimi artırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (Aaltonen vd., 2014). Ayrıca

TG'nin ϵ -(γ -glutamil)lisin bağları oluşturmasıyla proteinlerin fonksiyonel özelliklerindeki değişim incelenmiş, önemli proteinler ve yeni işleme yöntemleri ile yeni gıda maddeleri geliştirmek için önemli bir girişim olduğu bildirilmiştir (Motoki ve Seguro, 1998).Süt proteinlerinin TG için uygun substrat olması, bu enzimin protein temelli bir yapı olan peynir matriksinin jel sıkılığını arttırarak serum ayrılmasını azaltması beklenmektedir (Şener, 2012).

Literatürlerde TG enzimi ile ilgili süt ürününde yapılmış pek çok çalışma bulunmakla birlikte, yarı sert ve sert tip peynirlerde yapılmış çalışmalara çok fazla rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, rennet ve TG'nin birlikte kullanılması ile düşük yağlı Kaşar peyniri yapılmış ve 3 ay süreyle depolanıp, kontrol örneği (TG ilave edilmeden üretilen Kaşar peyniri) ile karşılaştırılmıştır. 3 aylık olgunlaşma süresi boyunca peynirlerin fiziko-kimyasal, tekstürel, duyusal, mikrobiyolojik HPLC veelektroforetik özelliklerindeki değişim analiz edilerek belirlenmiş ve bu sayede TG enziminin düşük yağlı Kaşar peyniri üzerine etkisi araştırılmıştır.

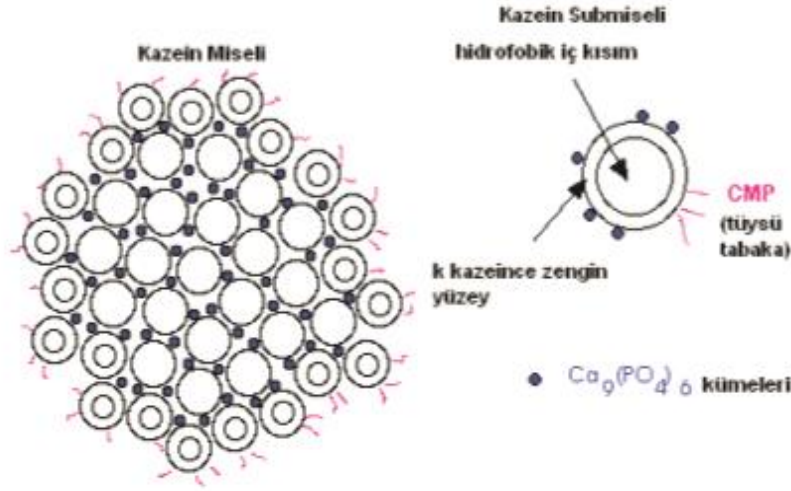
2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Sütün Rennet İle Pıhtılaşması

Süt endüstrisinde peynir üretimi, süt üretiminin fazla olduğu birçok ülkede, en önemli payı almaktadır (Ng-Kwai-Hang vd., 1989; Fox vd., 1999). Süt proteinlerinin denatüre olması ve sütün pıhtılaşmasına bağlı olarak jel oluşumu, peynir ve fermente süt ürünlerinin üretiminin temeli olarak bilinmektedir. Sütteki proteinlerin kolloidal kararlılığını değiştirerek istenen ürünlere işlenmesini sağlamak amacıyla serum proteinlerinin etkilendiği ısı işlem uygulamasından, kazeinlerin etkilendiği rennet enzimi kullanımından ve hem serum proteinlerinin hem de kazeinlerin etkilendiği asitlendirme işleminden ya da bu işlemlerin kombinasyonlarından yararlanılmaktadır (Lucey vd., 2009).Dünyadaki üretilen peynirlerin yaklaşık %75 gibi büyük bir kısmı sütün özel proteolitik enzimlerle pıhtılaştırılması sonucu elde edilmektedir. Üretilen peynirlerin genellikle sütün rennet ile pıhtılaştırılması esasına dayandığı bilinmektedir (Fox vd., 1999). Rennet ile sütün pıhtılaştırılması, peynir üretim sürecinde önemli bir adımdır ve elde edilen ürünün, pıhtılaşma yeteneğini, verimini ve peynir kalitesini belirleyen en önemli etmenlerden biri olarak düşünülmektedir (Hui, 1993; Clark vd., 2000). Bu nedenle peynir üretiminin en önemli basamağı olan sütün rennet ile pıhtılaştırılması, süt endüstrisi için büyük önem taşımaktadır. Pıhtı oluşumu süte bulunan koloidal yapı kazeinin proteolitik bir enzim aracılığı ile kolloidal kararlılığını kaybetmesi sonucu oluşmaktadır (Walstra, 1990; Dalgleish, 1992).

Kazein; submiseller adı verilen ve farklı fraksiyonlardan oluşan alt birimlerin tuz köprüleri ve hidrofobik bağlarla bir arada tutulmasıyla oluşturulmuş miseller halinde bulunan kolloidal yapılardır. Ayrıca sütün, pıhtı ve peynir oluşumunda yer alan esas bileşeni olarak tanımlanmaktadır. Kazein misellerinin yapısı Şekil 2.1’de gösterilmektedir. Kazein misellerinin hidrofilik olan dış kısmında, κ -kazein içeren submiseller yer almaktadır. κ -kazeinin kazeinomakropeptid (CMP) olarak adlandırılan ve karbonhidrat içeren C terminali, miselden seruma doğru saç benzeri çıkıntılar halinde bulunmaktadır.

Kazein miseli bu yapıya bağlı olarak ortaya çıkan elektrostatik ve sterik itmeyle ve yüksek hacimsellik ile kolloidal kararlılığını korumaktadır (Erdem, 1991; Üçüncü, 2004).

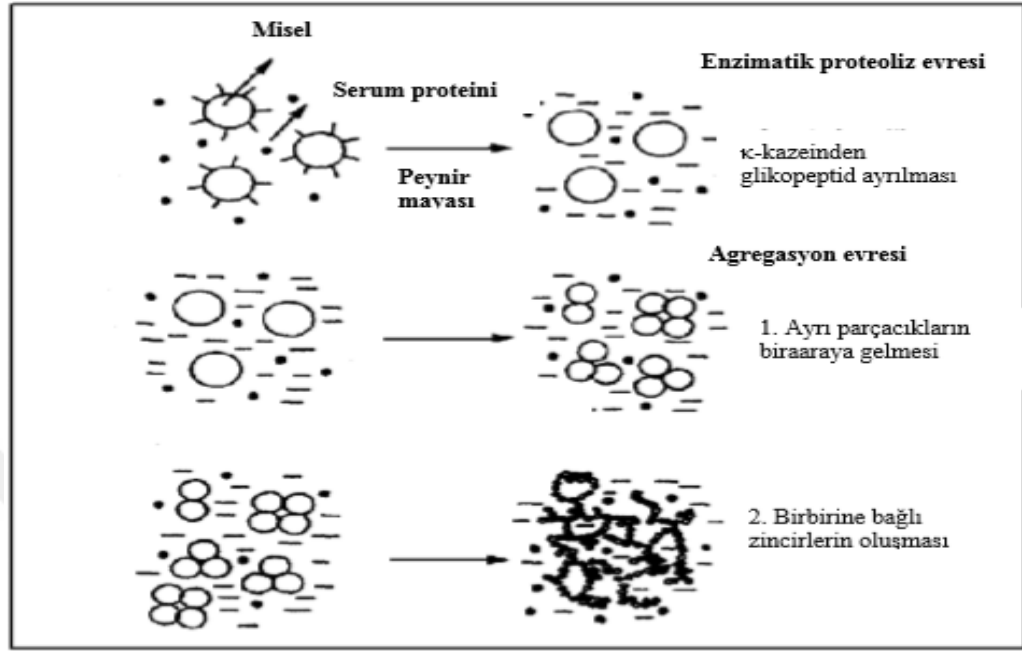


Şekil 2.1. Kazein misellerinin yapısı

Sütteki pıhtılaşmayı sağlamak için genel olarak peynir mayası adı verilen ve kimozen (rennin, E.C.3.4.23.4) gibi pıhtılaştırıcı enzimler içeren preparatlardan yararlanılmaktadır. Kimozen, moleküler ağırlığı 30.700 dalton ve izoelektrik nokta pH'sı 4,6-4,7 olan bir endopeptidazdır. Sütün kimozen enzimi ile pıhtılaştırılmasında, κ -kazein üzerindeki özgül proteolitik etkinliğinden yararlanılmaktadır. Sığır pepsini de (E.C.3.4.23.1) kimozine çok yakın bir etkinliğe sahiptir. Ancak sığır pepsini κ -kazein yanında immunoglobulinleri de hidrolize edebilmektedir (Koçak ve Devrim, 1989; Erdem, 1991). Yapılan pek çok çalışma sonuçlarına göre peynir üretiminde kimozen enziminin diğer enzimlere göre etkinliğinin daha uygun olduğu belirtilmektedir.

Sütün rennet ile pıhtılaştırılması, birbirini izleyen üç aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 2.2). Bunlar; κ -kazeinin parçalanması ile kazein misellerinin kolloidal kararlılığını yitirdiği birinci aşama olan enzimatik aşama, yapısı değişen misellerin agregasyonunun (birleşme, toplanma) gözlemlendiği ikinci aşama ve son olarak misel agregasyonunun ardından, agregatların jel

yapısını oluşturduğu üçüncü aşamadır (McMahon ve Brown, 1984). Şekil 2.2’de sütün pıhtılaşma evreleri gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Sütün enzim ile pıhtılaşma evreleri (Üçüncü, 2004)

Birinci aşama olan enzimatik fazda rennetteki asit proteazlardan özellikle kimozin, κ -kazeini, fenilalanin (105)-metiyonin (106) arasındaki tek bir peptid bağını hidrolize ederek para- κ -kazein (1-105) ve CMP (106-169) olmak üzere iki kısma dönüştürmektedir (Walstra 1990).

Enzim
 κ -kazein $\longrightarrow$ Enzim+ κ -kazeinkompleksi $\longrightarrow$

Enzim+para- κ -kazein+glikomakropeptid molekülü (Üçüncü, 2004).

Para- κ -kazein hidrofobik karakterde olup misel yapısının üzerinde yer almaya devam etmektedir. Ancak CMP hidrofilik karakterde olup misellerden ayrılarak serum fazına geçmektedir. Bu durumda kalsiyum karşısında ki α_1 ve β kazeinlerin stabilitesi bozulmaktadır (Üçüncü, 2004). Enzimatik proteoliz aşamasında, CMP moleküllerinin ayrılmasıyla elektrostatik ve sterik itme ile yüksek hacimsellik azalmakta, miseller küçülmekte, negatif yük

azalmaktave viskozite gerilemektedir. Bunlara bağlı olarak para-κ-kazein misellerinin hacimselliği artmaktadır (Walstra ve Jennes, 1984).

Enzimatik proteoliz aşamasında, enzimatik tepkimeleri etkileyen tım faktörler etkili olmakla birlikte enzim derişimi, ısııl işlem, pH ve iyonik kuvvet bu faktörlerin başında yer almaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011).

Misellerdeki κ-kazeinin en az %85'i bu şekilde paręalandıktan sonra başlayan ikinci aşama olan agregasyon aşamasında ise, itme kuvvetlerinin azalmasıyla hidrofobik etkileşimler başlamakta, κ-kazeinin proteolizi ile stabilitesi bozulan kazein miselleri, Ca^{2+} varlığında birbirleriyle birleşerek gözle görülen pıhtıları oluşturmaktadır. Misellerin birleşmesi kısmen van der Waals kuvvetinin etkisi ile geręekleře de agregasyon için Ca^{2+} iyonlarına gereksinim duyulmaktadır. Kalsiyum iyonlarının hem miseller üzerindeki negatif yükü ntrleyerek elektrostatik itmeyi azalttığı, hem de para-κ-kazein miselleri arasında tuz köprüleri kurarak agregasyonu hızlandırdığı belirtilmiştir (Yıldırım, 2014).

Kazein misellerinin agregasyonuna etki eden etmenler ise başlıca rennet derişimi, kazein derişimi, pH, sıcaklık ve iyonik kalsiyum (Ca^{2+}) derişimi olduğu belirtilmektedir (Akın, 2010).

Pıhtıdaki kazein, kolloidal kalsiyum ve fosfat çözelti içinde kalmayıp, kalsiyum ile bir kompleks meydana getirmektedir. Ortamda istenilen seviyede Ca^{2+} bulunmadığı zaman para-κ-kazein diğer kazein fraksiyonları gibi davranmakta ve pıhtılaşma meydana gelmemektedir. Bir kazein miseli üzerindeki para-κ-kazeinin (+) yüklü gruplar ile diğer misel üzerindeki κ-kazeinin (-) yüklü grupları arasındaki etkileşim misellerin bir araya gelmesini sağlamaktadır. Ayrıca bu aşamada, misel stabilitesinde rol oynayan kolloidal kalsiyum fosfat bağlarının ayrılması ve Ca^{2+} 'a duyarlı olan, αs ve β kazeinlerin Ca^{2+} ile bağlanması ile artan Ca^{2+} aktivitesi sonucunda (+) yüklerde artma ve (-) yüklerde bir azalma meydana gelerek kalsiyum parakazeinat kompleksi oluşmaktadır(nc, 2004).

Ca^{2+}

Para- κ -kazein $\longrightarrow$ Kalsiyum Parakazeinat (Jel) (Üçüncü, 2004).

Üçüncü aşama, meydana gelen misel topluluklarının bir ağ gibi birleşerek sertleşip, sıkılaştığı ve pıhtının şekillendiği jelleşme aşamasıdır (Üçüncü, 2004). Jelleşme aşamasında misel kümelerinin birleşmeleri devam ederek sonunda içinde sütün diğer unsurlarının da tutulduğu bir protein ağı oluşmakta ve pıhtı kesilebilir bir nitelik kazanmaktadır.

Süte rennet ilavesi ile sütün kesilebilir nitelik kazanıp pıhtı oluncaya kadar geçen süre, yani pıhtı kesim zamanı; rennet ilavesinden gözle görülebilir pıhtıların oluşmasına kadar geçen pıhtılaşma süresi ve gözle görülebilir pıhtıların oluşmasından pıhtının kesilebilir bir nitelik kazanmasına kadar geçen, pıhtının sıkılaşma süresi olmak üzere ikiye ayrılır. Pıhtılaşma süresi, enzimatik proteoliz ve agregasyon aşamalarını, sıkılaşma süresi de jelasyon aşamasını kapsamaktadır. Pıhtılaşma yeteneği, peynir yapımında belirlenmesi gereken en önemli faktörlerden birisidir (Davis, 1965).

Sütün peynir mayası ile pıhtılaşması sütün bileşimine bağlı olmakla birlikte, süte uygulanan çeşitli işlemlerden etkilenmektedir. Uraz (1982) ile Davies ve Law (1984), yaptıkları çalışmalarda sütlerinin pıhtılaşma yeteneğini kazein misellerinin büyüklüğünün, kazein içeriğinin ve fraksiyonlarının birbirine oranlarının, çözünmüş ve kolloidal kalsiyum içeriğinin, pH değerinin etkilediğini belirterek, süte uygulanan soğutma, ısıtma işlemi, homojenizasyon, koyulaştırma ve CaCl_2 ilavesi gibi çeşitli işlemlerin de sütün pıhtılaşma yeteneğinde değişmelere neden olduğunu belirtmişlerdir. (Scott, 1981; Uraz, 1982). Peynir üretiminde pastörizasyon işleminden daha yüksek seviyelerde uygulanan ısıtma işlemi nedeniyle sütteki peynir altı suyu proteinleri ve κ -kazein arasında etkileşim meydana gelerek sütün rennetleme özelliklerini etkilemektedir (Bönisch vd., 2008). Bunlara ek olarak, mayalama sıcaklığı ve maya konsantrasyonu gibi mayalama koşulları da önemli etkiye sahip olmaktadır (Lenoir ve Schneid, 1986). Rennet ile jel oluşumu bu faktörden etkilenebildiği gibi son yıllarda

protein modifikasyonu için kullanılan,kazein misellerinin enzimatik çapraz bağlanmasını sağlayan,TG enziminden de etkilenebilmektedir.

Gıda endüstrisinde kullanılan enzimlerin pek çoğu, hayvansal sindirim sistemi göz önüne alınarak tasarlanan enzimlerdir. Ancak bu enzimlerin çoğu, tek başına sütün rennetlenmesinde olduğu gibi, tipik jelleşmeye neden olmamaktadır. Daha çok bu enzimler makromoleküler yapının değişiminde ya da yıkımında rol oynamaktadırlar. Doğada proteazların dışında, yaygın olarak bulunan sadece birkaç enzim, proteinlerin modifikasyonu için uygundur (Hamada, 1992). Yapısal modifikasyonları gerçekleştirmesi açısından en fazla ilgi gören enzimler kovalent çapraz bağlanma gerçekleştirebilen enzimlerdir (Robinson, 1987). Proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde kovalent çapraz bağlanma reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerden yaygın olarak faydalanılmaktadır (Myllärinen vd., 2007; Bönisch vd., 2007a). Buna bağlı olarak; proteinler arası çapraz bağlanmayı katalize eden ticari anlamda gıda endüstrisi uygulamalarına uygun tek enzimin; TG olduğu belirtilmektedir (Zhu vd., 1995; Dickinson ve Yamamoto, 1996; Yokoyama vd., 2004).

Gıda endüstrisinde TG'nin kullanımıyla düşük viskoziteli protein çözeltileri ya da dispersiyonlarından jel benzeri yeni ağ yapıların oluşumunda faydalanılmaktadır. Aynı şekilde protein ile kaplanmış gaz kabarcıkları veya protein kaplı emülsiyon damlacıkları içeren sistemlerde de gözlenmektedir (Yüksel, 2007). De Jong ve Koppelman (2002) tarafından yapılan çalışmada doğada yaygın olarak memelilerde, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunan TG'nin biyolojik ve fizyolojik olarak farklı işlevlere sahip olduğu belirlenmiştir

2.2. TG Enzimi

Doğada geniş ölçüde yayılmış olan, hücre içinde ve hücre dışında bulunan bu enzim ailesi, pek çok hayvan, bitki ve mikroorganizma hücrelerinde mevcut bulunmaktadır. Bu, enzimin fonksiyonlarının çok yönlülüğünü ve çeşitliliğini belirlemektedir (Shleikin vd., 2011; Kieliszek vd., 2014). Soya, yer elması ve pancar gibi bitki dokularında mevcut bulunanTG'ninbir bitkide veya bir organelde birden fazla işlevinin olduğu ayrıca bitkilerin büyüme ve

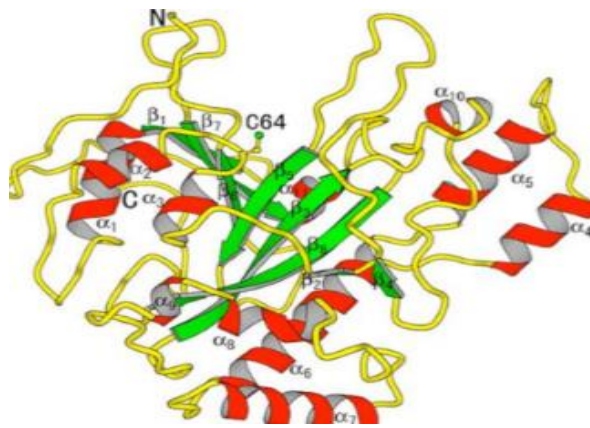
gelişmesinde rol oynadığı tespit edilmiştir (Falcone vd., 1993; Sobieszczuk-Nowicka vd., 2008; Samelak vd. 2010).TG, birçok hayvanın vücut ve doku sıvılarında bulunmakta ve kan pıhtılaşması, yaraların iyileşmesi, alyuvar zarının sertleşmesi gibi çeşitli biyolojik olaylara katılmaktadır (Aeschlimann ve Paulsson,1994). Ayrıca antibakteriyal bağışıklık reaksiyonu ve fotosentez gibi birçok fizyolojik süreçlerde rol almaktadır (Kashiwagi vd., 2002). Bunlarla beraber hücresel büyüme, çoğalma ve farklılaşmayı düzenlemeden de sorumlu olduğu bildirilmiştir (Motoki ve Seguro, 1998).Bakterilerden elde edilen TG'nin ise proteinlerin çapraz bağlanmasında etkili olduğu belirlenmiştir (De Jong ve Koppelman, 2002).

Genel olarak TG'nin endüstriyel olarak gelişmesini sağlayan 3 yaklaşım vardır. İlk yaklaşım: morina, somon, pisi balığı gibi balıklardan ve domuz sığır gibi hayvanların doku ve vücut sıvılarından enzimi izole etmek ve temizlemektir.Avrupa'da TG'nin bir tipi olan Faktör XIII, kesim sırasında domuz ve sığırın kanından ticari olarak elde edilmektedir (Wilson, 1992). Ancak kandan ekstrakte edilen bu enzim aktif hale gelebilmesi için trombine ihtiyaç duymakta ve ayrıca kırmızı pigmentleşme açısından olumsuzluklar yaratacağı için gıda endüstrisinde çok fazla kullanılmamaktadır. İkinci yaklaşım: *Escherichia coli*, *Bacillus*, maya ve *Aspergillus* gibi konakçı mikroorganizmaları kullanarak genetik manipülasyon yoluyla enzimin elde edilmesidir (Seguro vd., 1995). *E.coli* gibi sentezleme sistemi olan mikroorganizmalara gen transferi yapılmış ve üretimin verimliliği arttırılmıştır. Ayrıca bu enzimler kimyasal maddelerin aksine tüketici için güvenli olması ve kolaylıkla biyolojik olarak bozuluyor olmaları büyük avantajdır (Kieliszek vd., 2014). Birçok araştırmacı bu konu üzerinde çalışmaktadır. Ancak üretilen TG'lerin hiçbiri, gıda tüzüğü ve tüketici kabul edilebilirliği gibi faktörler nedeniyle piyasaya sürülememiştir. Üçüncü yaklaşım: TG üreten mikroorganizmaları seçmektir. TG üreten mikroorganizmaların bulunmasıyla geleneksel fermantasyon yöntemi ile TG'yi seri bir şekilde üretmek mümkün olmaktadır (Motoki ve Seguro, 1998).

Gıdalarda kullanılan TG'nin iki temel kaynağı bulunmaktadır. İlk olarak, başlangıçta sadece hayvan dokularından elde edilen ticari TG, bazı hayvanların

karaciğerinden, kıl köklerinden, domuz plazmasından ve çeşitli doku ve organlarından ayrıca insan epidermisi eritrositi, plazma ve plasentasından saflaştırılmıştır (Ikura vd., 1980; Tsai vd., 1996; Wilhelm vd., 1996; Yıldırım, 1998; Krig ve Rice, 2000; Özrenk, 2006). TG modifikasyonu ile ilgili olarak en fazla fizibilite çalışmaları da kobay karaciğerinden üretilen TG kullanılarak yapılmıştır (Kuraishi vd., 2001). Ancak, bu TG'ni üretmek pahalı özütlemeye ve arıtma proseslerinden dolayı sanayide geniş kullanım alanı bulamamıştır (Kieliszek vd., 2014).

İkinci olarak, hayvansal kaynaklı TG üretiminin son derece maliyetli olduğu için bilim adamları bu enzim için yeni kaynak arayışına girmişlerdir. Çalışmalar sonucunda daha geniş kullanım alanına sahip olabilecek mikroorganizmalar tarafından sentezlenen enzimler üretmeyi amaçlamışlardır (Kieliszek vd., 2014). Ando vd. (1989), topraktan yaklaşık 5000 suşun incelenmesi sonucu *Streptoverticillium* S-8112 (*Streptoverticillium mobaraense*)'den mikrobiyal TG (MTG) izole etmişlerdir (Şekil 2.3). Bakteri, bu enzimi direk kültür besiyerine salgıladığı için hücre parçalanması olmamakta ve enzimin saflaştırılması da kolay gerçekleşmektedir (Motoki ve Kumazawa, 2000; Yokoyama vd., 2004). Mikrobiyal fermantasyonla elde edilen MTG farklı kaynaklı gıdaların işlenmesinde kullanılmıştır (Zhu vd., 1995; Dickinson, 1997).



ile reaksiyona girmektedir. Çizelge 2.1.'de gıda proteinleri ile farklı kaynaklardan elde edilen TG'lerin substrat spesifikliği verilmiştir.

Çizelge 2.1. Gıda proteinlerinin bazı TG enzimleri ile substrat spesifikliği (De Jong vd., 2001)

	Eritrosit TG	Plazma TG	Bakteriyal TG
β- laktoglobulin	±	±	++
α- laktalbumin	-	±	++
Sığır serum albümini	++	+	++
Kazein	++	++	++
Hemoglobin	-	±	±
Miyosin	-	++	++
Soyaglisin	++	-	++

*- çapraz bağlanma yok; ± düşük çapraz bağlanma; + orta çapraz bağlanma; ++hızlı çapraz bağlanma

Kobay karaciğerinden elde edilen TG, kazein, soya fasulyesi globülünü veya miyozin içeren gıdalarda, enzimatik aktivitesini gerçekleştirmek için Ca^{2+} ihtiyaç duymaktadır(Sharma vd., 2001; Lorenzen vd., 2002). Ancak MTG Ca^{2+} gibi bir aktivatatöre ihtiyaç duymamaktadır. Bu açıdan MTG oldukça benzersizdir. Çünkü; kalsiyum iyonlarına karşı, kazeinler, soya fasülyesi globülinleri ve miyosinler gibi birçok gıda proteini oldukça hassastır. Söz konusu olan bu proteinler, kalsiyum iyonlarının varlığında kısa sürede çökmekte ve MTG enzimine karşı daha az duyarlı olmaktadırlar (Motoki ve Seguro, 1998).37°C'de, MTG'nin protein polimerizasyon yeteneği, kobay karaciğerinden üretilen TG'den daha fazla olduğu bilinmektedir (Nonaka vd., 1996; Imm vd., 2000). Co^{2+} , Ba^{2+} , K^{+} nın varlığında TG'nin aktivitesi artmakta, MTG ise aktif merkezinde bulunan sisteinin tiol grubuna bağlanan Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} ve Pb^{2+} iyonları ile inhibe edilmektedir (Ando vd., 1989; Motoki ve Seguro 1998; Macedo vd., 2010). Ayrıca; MTG, TG ve Faktör XIII' e göre belirgin bir substrat seçiciliği göstermemektedir (De Jong ve Koppelman, 2002; Shimba vd., 2002). Bütün bu avantajların yanı sıra üretiminin de ucuz olması, MTG'nin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamasını sağlamıştır.

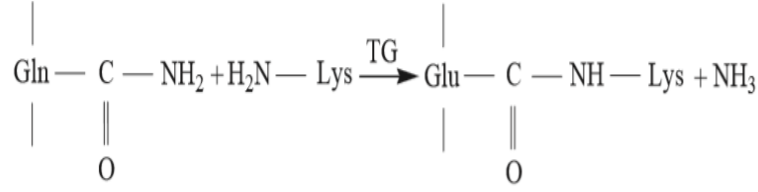
MTG'nin optimum pH'sı 5 ile 8 arasındadır, bununla birlikte pH 4 ve 9'larda da enzimatik aktivitesini sürdürebilmektedir. İzoelektrik noktası ise 8.9 olan

MTG'nin geniş pH aralığında stabil olduğu kabul edilmektedir. Enzimatik aktivite için en uygun sıcaklık 50°C'dir. 10°C ve donma noktasının üzerindeki sıcaklıklarda da aktivitesi tamamen korunmuş öte yandan 70°C de 1-2 dakika içerisinde aktivitesini yitirdiği rapor edilmiştir. MTG'nin molekül ağırlığı bilinen diğer enzimlerden daha küçük olduğundan dikkat çekicidir. Molekül ağırlığı hem SDS-poliakrilamid jel elektroforez hem de jel kromatografisinde yaklaşık 40.000 dalton olduğu tespit edilmiştir. Yakın zamanlarda gerçekleştirilen daha hassas analizlerin sonucunda ise 38.000 dalton molekül ağırlığında olduğu bulunmuştur (Motoki ve Seguro, 1998). Kütle spektrofotometrisi ve Edman yöntemleri ile MTG'nin protein diziliminin primer yapısı belirlenmiş (Şekil 2.4) ve yaklaşık 331 aminoasitten oluştuğu saptanmıştır (Ando vd., 1989; Abd-Rabo vd., 2010) Ayrıca basit ve monomerik protein (lipoprotein ve glikoprotein olmayan) olduğu tespit edilmiştir (Yokoyama vd., 2004).



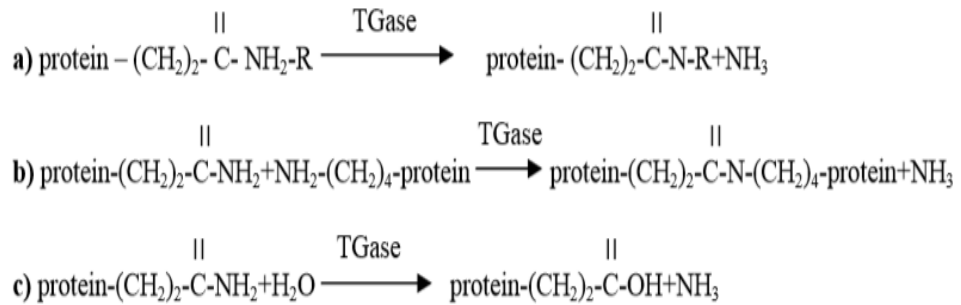
Şekil 2.4.MTG'nin primer yapısı (*, Olası aktif sistein kalıntısı) (Motoki ve Seguro, 1998)

TG(protein-glutamin γ -glutamyltransferaz E.C.2.3.2.13), peptide bağlı glutamin kalıntılarındaki γ -karboksamid grubu (açıl verici) ile bazı proteinlerin lizin kalıntılarındaki ϵ -amino grupları dahil, birincil aminler (açıl alıcı) arasındaki açıl transfer reaksiyonunu katalizleyen, bir transferazdır (Motoki ve Seguro, 1998). TG lizin ve glutamin arasında kovalent bağı oluşturması sonucunda protein yapısının geliştirilmesine yol açan molekül içi ve moleküller arası yeni çapraz bağlar oluşturmaktadır (Dickinson, 1997; Özer vd., 2012). Şekil 2.5'de TG ile çapraz bağlama görülmektedir.



Şekil 2.5. TG ile çapraz bağlanma (Shleikin vd., 2011)

Proteinlerin çapraz bağlanmasıyla yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşması, bu enzim için doğada en etkili reaksiyondur (Şanlı, 2009). Çapraz bağlama, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini etkilemekteve böylece yapının oluşumu için yeni yollar sağlamaktadır (Motoki ve Seguro, 1998). TG'nin çapraz bağlamadan başka katalize ettiği iki reaksiyon daha vardır. Bunlar amin varlığında değişim ve deamidasyon reaksiyonlarıdır (Şekil 2.6). Reaksiyon sisteminde birincil aminler yoksa su açıl alıcısı olmakta ve glutamin kalıntılarının γ -karboksamid grupları, deamine olarak glutamik asit kalıntıları haline gelmektedir (Zhu vd., 1995; Sharma vd., 2001). Deamidasyon tepkimesi, proteinlerin işlevselliğini arttırmaktadır; fakat bunun gerçekleşebilmesi için proteinlerin geniş bir glutamin ve kısa bir lisin kalıntısına sahip olması gerekmektedir (Ohtsuka vd., 2001).



Şekil 2.6. TG aracılığıyla oluşan protein modifikasyonları (a) amin varlığında değişim, (b) çapraz bağlama (c) deamidasyon (O'Sullivan vd., 2001)

Bazı araştırmacılar enzimatik reaksiyonun ilk 30 dakikasında proteinlerin çapraz bağlanma reaksiyonu etkin halde gerçekleşirken, 30 dakika sonrasında deamidasyon veya amin birleşme reaksiyonlarının baskın duruma geçtiğini belirtmişlerdir (Sharma vd., 2001; Lorenzen vd., 2002).

TG'nin katalize ettiği diğereaksiyonların sonucu olarakda; gıda ürünlerinin reolojik ve duyuusal özelliklerinin gelişmesini olanaklı kılan proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde değışimler sağlanmaktadır (Gauche vd., 2009). TG ile gıda proteinlerinin modifikasyonu, ürünlerin dokularında iyileştirme yapmak, çeşitli kimyasal reaksiyonlarla birlikte gıda proteinlerindeki lisini korumaya yardımcı olmak, yağ ve yağda çözünen maddelerle enkapsülasyon yapmak, ısıl işlemle jelleşmeyi önlemek, elastikiyeti ve su tutma kapasitesini artırmak, çözünürlüğü değıştirmek ve esansiyel amino asitleri içeren farklı proteinleri çapraz bağlama yoluyla yüksek besin değeri sahip gıda proteinleri üretmek ve proteinlere, arzu edilen eksik amino asit ve peptidleri ekleyerek beslenme ve fonksiyonel özelliklerin gelişmesini sağlamak mümkün olmaktadır (Huang vd., 1995; Zhu vd., 1995; Babiker vd., 1998). Bunlarla birlikte bu enzim ile proteinlerin; reolojik ve emülsifiye özellikleri, viskozite, termal stabilite, elastiklik ve esneklik gibi kimyasal ve fiziksel özellikleri de değışmektedir (Dickinson, 1997; Lorenzen ve Schlimme, 1998; Motoki ve Seguro, 1998; Kieliszek vd., 2014). Ayrıca peynir altı suyu proteinleri modifiye edilerek film üretilmekte ve bu üretilen filmler yenilebilmekte ve gıda ürünlerinde kullanılmaktadır (Marquez vd., 2013). TG'nin potansiyel gıda dışı uygulamaları, immobilize enzim için folyo, film, kaplama, polimer ve taşıyıcıların hazırlanmasını içermekte ve deri, kozmetik ve ilaç sanayi gibi pek çok üründe de kullanılmaktadır (Zhu vd., 1995; Nielsen, 1995; Yıldırım vd., 1995; Yıldırım ve Hettiarachchy 1996; 1997; 1998; Lorenzen ve Schlimme 1997; Faergemand vd., 1999a).

Yokoyama vd. (2004)'nın yapmış oldukları bir çalışmada, enzimatik çapraz bağlanması sonucu, açıl transfer tepkimesiyle, kazein ve soya proteini yapısındaki metiyonin ve lisin miktarlarının artırılabilceğini bulmuşlardır. Sørensen vd.(1999) ise TG kullanılmasıyla buğday glütini içerisine lisin amino asitini, soya proteinlerinin ve kazein içerisine ise metiyonin amino asitini ilave etmişler ve böylece TG'yi gıda proteinlerinin besin değeri artırmak için kullanılabileceğini göstermişlerdir. Böylelikle protein yapısına sonradan dahil olan aminoasitler, önceden bulundukları proteinin yapısında oldukları gibi davranmaya devam ettiklerinden dolayı TG'nin gıdaların besinsel değeri

olumlu etkide bulunup besin değerini arttırdığı tespit edilmiştir (Motoki ve Kumazawa, 2000).

Bilindiği gibi gıdaların içine yeni protein eklenmesi, bu proteinlere karşı hassas kişilerde duyarlılığı artırarak, alerjik reaksiyonlara yol açan riskler taşımaktadır. TG proteinler için iyi bir substrat olduğu için, yeni proteinlerin neden olduğu alerjik reaksiyonları engellemektedir (Palosuo vd., 2003; Pedersen vd., 2004; Poulsen, 2004). Bu enzimallerin enjeksiyonu azaltmasının yanında raf ömrünü de artırdığı bilinmektedir (Zhu vd., 1995).

TG günümüzde yaygın bir şekilde süt, et, deniz, hububat ürünleri gibi gıda ürünlerinde kullanılmaktadır. Bu enzim birçok gıda proteini, baklagil proteinleri, buğday gluteni, yumurta sarısı ve yumurta beyazı proteinleri, aktinler, miyosin, fibrin, süt proteinlerinden kazein, α -laktalbumin, β -laktoglobulin ve diğer birçok albumin ile çapraz bağlanabilmektedir (Öner, 2004). 1980'lerin başlarında TG kullanılarak, süt kazeini ve soya globülinlerinin fonksiyonel özelliklerin modifikasyon olasılığı gösterilmiştir (Motoki ve Seguro, 1998). TG'nin proteinleri çapraz bağlaması; kazein, gluten, globülin, miyosin ve soya proteinlerinde yaygın olarak araştırılmıştır. Peynir altı suyu proteinleri üzerine ise çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Araştırmalar genellikle konsantre sütteki veya izole edilen α -laktalbumin ve β -laktoglobulin serum proteinleri ile ilgili yapılmıştır. Süt proteinleri üzerine TG'nin polimerizasyona etkisi ise yoğun bir şekilde araştırılmıştır (Bordignon-Luiz vd., 2008).

Süt proteinleri arasında kazein fraksiyonu, esnek ve açık zincir yapılarından dolayı TG için en uygun substratı temsil etmektedir (Bönisch vd., 2006). Sütte TG'nin neden olduğu çapraz bağlantılar hem α , β ve κ - kazein arasındaki bağları, hem de kazein misellerinin içindeki bağları oluşturmaktadır (Sharma vd., 2001; Cozzolino vd., 2003; Moon vd., 2009; Aaltonen vd., 2014). Bununla birlikte kazeinler TG'ye karşı farklı tepki vermektedir. Kazein fraksiyonları arasında β ve κ kazein TG'ye karşı oldukça hassastır ve α -kazeine göre TG ile daha yüksek reaktivite göstermektedir (Schorsch vd., 2000a; Rossa vd., 2011). TG'nin β ve κ - kazein ile reaksiyonları, kazein miselleri arasında çapraz bağlanmayı

sağlamaktadır. Kazein misellerinin yüzeyinde yer alan κ -kazein molekülünün hidrofilik kısmı olan CMP bölgesinde yer alan toplamda 4 adet bulunan potansiyel glutamin kalıntıları TG için duyarlı çapraz bağlanma bölgeleri olarak kullanılmaktadır (Sharma vd., 2001; Tolkach ve Kulozik, 2005). Christensen vd. (1996) ile Tolkach ve Kulozik (2005), yaptıkları çalışmada κ -kazeinin hidrofilik kısmının, MTG'ye karşı reaktif olduğunu ortaya koymuşlardır. Hem α_2 -kazein hem de κ -kazein iki sistein kalıntısı içermektedir ve reaktif sülfidril (-SH) gruplarına sahiptirler. Bu da kazein fraksiyonlarının TG ile çapraz bağlanmaya karşı reaktivitesini etkileyebilecek disülfid(S-S)bağlarının oluşmasına yol açmaktadır (Rasmussen vd., 1999). β -kazeinin ise çapraz bağlanmaya karşı duyarlı olmasının sebebi, diğerlerine göre yüksek oranda prolin içermesi ile esnek ve açık yapıya sahip olması şeklinde açıklanabilmektedir. Ayrıca κ -kazeinin kazein miselinin dışında yer almasından dolayı polimerizasyonun etkisidaha belirgin bir şekilde görülmektedir (Kruif vd., 2002; Rodriguez-Nogales vd., 2005).

Sharma vd. (2001), ısıtılmış sütte MTG ilavesiyle çapraz bağlanma söz konusu olduğunda, sütteki κ -kazeinin MTG'ye karşı en yüksek afiniteyi gösterdiğini ancak 85°C, 15 dakika gibi bir ön ısıtma işlemi görmüş sütte ise κ -kazeine ek olarak β -kazeinin de bağlanmaya katıldığını gözlemlemişlerdir.

Lorenzen ve Schlimme (1998) yaptıkları çalışmada kazein moleküllerinin globüler yapıdaki serum proteinlerine göre TG enzimi ile daha hızlı tepkimeye girdikleri ve 2-4 saatlik bir inkübasyon sonunda neredeyse tamamıyla çapraz bağlanabildiklerini tespit etmişlerdir.

Isıtılmamış sütte, kazeinlerin aksine serum proteinleri, disülfid bağları ve globüler yapıları nedeniyle çapraz bağlanma tepkimelerine daha az eğilim göstermektedirler. Peynir altı suyu proteinleri kolay sindirilmekte, esansiyel amino asitleri içermekte, ayrıca emülsifikasyon, stabilizasyon, köpük ve jel oluşumu dahil bazı fonksiyonel özellikleri iyileştirmek için kullanılmaktadırlar (Bordignon-Luiz vd., 2008). TG enzimi ile β -laktoglobulin, α -laktalbumin, sığır serum albumini gibi serum proteinleri ile bunların karışımlarının, çapraz

bağlanabilmesi için, bu serum proteinlerinin üçüncül yapısını stabilize eden kimyasal bağların alkali reaksiyonlarla, ısı uygulamasıyla veya proteolitik enzimlerle kırılıp TG'nin aktivitesi için gerekli olan glutamin ve lisin amino asitlerinin reaksiyona uygun hale getirilmesi gerektiği belirlenmiştir. Serum proteinlerinin denatürasyonuna örnek olarak; molekül içi disülfid bağlarının kırılmasıyla da yağ-su arayüzeyine adsorpsiyonu da verilebilmektedir(Aboumahmoud ve Savello, 1990; Matsumura vd., 1996; Faergemand vd., 1997a). Bunlara ek olarak ısıyla serum proteinlerinin denatürasyon derecesinin artması ile TG'nin doğrusal artışı, protein polimerizasyonunu tetiklediği belirlenmiştir (Faergemand vd., 1997b;Lorenzen, 2000b).Ancak Nieuwenhuizen vd. (2004) son zamanlarda β -laktoglobülinin doğal durumunda iken TG'den etkilenebilir olduğunu göstermişlerdir.

Isıl işlem ile serum proteinlerinin TG'ye karşı duyarlı hale gelmelerinin, serum proteinlerinin denatürasyona uğramasının yanında kazein miselleri ile etkileşimi sonucu oluşan değişimlerden kaynaklandığı açıklanmaktadır (Sharma vd., 2001). Peynir altı suyu proteinlerinin denatürasyonuna bağlı olarak kazein miselleriyle etkileşimleri artmaktadır. Ayrıca bu enzim ile reaksiyon sonucunda, protein duyarlılığını da artmaktadır (Rodriguez-Nogales, 2006; Rossa vd., 2011).Kazeinler genellikle doğal formu peynir altı suyu proteinleri üzerinde çapraz bağlanmaktadır (Han ve Damodaran, 1996; Lorenzen, 2000b).

Aboumahmoud ve Savello (1990) tarafından TG için substrat olarak, peynir altı suyu proteinlerinden α -laktoalbümin ve β -laktoglobülin kullanılarak inkübasyon süreleri araştırılmıştır. α -laktoalbümin ve β -laktoglobülin için 4 saatlik inkübasyon boyunca, proteinlerde polimer oluşumunun arttığı ama çapraz bağlanmış protein miktarının artmadığı gözlemlenmiştir.

Sharma vd. (2001) serum proteinleri üzerine MTG'nin çapraz bağlanması ile ilgili yapmış oldukları çalışmada süte uygulanan ön ısıl işlem uygulanması ile yalnızca β -laktoglobülinin MTG'ye karşı duyarlılığı artarken α -laktalbumin çapraz bağlanma seviyesinin aynı kaldığı bulunmuştur.

2.3. Rennet ile TG Enziminin Etkileşimi

Literatürde TG ile muamele edilen sütlerin rennetleme yetenekleri üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır. Bilindiği gibi sütün rennet ile pıhtılaşma sürecinde ilk aşama olan enzimatik proteoliz aşamasında, kazein misellerinin yüzeyinde bulunan κ -kazeinin fenilalanin (105)-metiyonin (106) peptid bağı kırılmakta ve hidrofilik kısım olan CMP açığa çıkmaktadır (Fox ve McSweeney, 1997). Birkaç araştırmacı şimdiye kadar çapraz bağlı süt proteinlerinin rennetleme yeteneklerini incelemişlerdir. Lorenzen (2000a) önceden ısıtılmış sütlerle rennet ilavesinden önce, TG'yi çeşitli inkübasyon sürelerinde inkübe etmiştir. Sonuç olarak, inkübasyon sürelerinin ve süte uygulanan ön ısıl işlemin yoğunluğunun artmasıyla, flokülasyonun tam olmaması noktasına kadar pıhtılaşma süresinin arttığı sonucuna varmıştır. Araştırmacı TG kullanımı ile ön ısıl işlem görmüş süte rennetleme yeteneğinin azalmasını; ön ısıl işlem sırasında denatüre olarak çapraz bağlanan serum proteinlerinden özellikle β -laktoglobülinin kazein yüzeyine oturması ve rennet ile bağlantının engellenmesine yani yüzey mühürleme oluşturmaya bağlamaktadır. Bu bağlamda, κ -kazeinin enzimatik olarak para- κ -kazein ve CMP'ye dönüşümünün sterik olarak inhibe edildiği ve sütün rennetlenme yeteneğinin bu şekilde azaldığı ileri sürmektedir. Ayrıca TG ilave edilmiş kalsiyum kazeinattan elde edilen rennet jellerinin, daha hacimli, granüler yapıda ve daha beyaz renge sahip olması gibi farklı bir yapı ve kıvamı sahip olduğu göstermiştir.

O'sullivan vd. (2002)'da rennet yeteneğindeki azalmanın, rennet ilavesinden önce TG ile muamele edilen örneklerin serumunda hidrofilik kısım olan CMP'lerin konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olduğunu söylemişlerdir. Araştırmacılar, inhibe olan CMP salınımının sonucunda artan pıhtılaşma süresiyle hem yağsız süte hem de serum proteinleri uzaklaştırılmış süte, rennet yeteneğinin azalmasını, Lorenzen (2000a) tarafından tanımlanan çapraz bağlı ve denatüre serum proteinleri ile kazein misellerinin birleşmesine yani yüzey mühürleme oluşturmaya bağlamamışlardır. O'sullivan vd. (2002) kendi

bulgularına dayanarak TG ile çapraz bağlamanın pıhtılaşmanın ikinci aşamasına etki etmediğini ancak birinci aşamada etkili olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca her iki çalışmada da rennet ilavesinden önce TG inaktivasyonu için 80°C'de 1 dakika ısıtma işlemi uygulanmış ve böyle bir ısıtma işlemi sütün rennet ile pıhtılaşma özellikleri üzerinde önemli etkilere yol açmış olduğu gözlemlenmiştir (Singh ve Waungana, 2001).

Süt protein jellerinin stabilitesi (asit ve rennet jelleri) temel olarak kovalent olmayan zayıf etkileşimler yoluyla sağlanmaktadır. TG enzimi ile protein molekülleri arasında oluşan kovalent bağlar daha kuvvetli bir kazein agregasyonuna neden olmakta ve TG enzimi etkisiyle kazeinden ısıya karşı dirençli sıkı bir jel elde edilmektedir. Ayrıca, bu şekilde oluşan jellerde uzun süre depolamadan sonra bile herhangi bir serum ayrılması gözlenmemektedir (Lorenzen, 2000b; Shorsch vd., 2000). Ancak; TG enzimi pH 6.7'deki yağsız süte tek başına ilave edildiğinde, herhangi bir jel oluşumu gözlenmemektedir. Çünkü, protein partikülleri arasındaki elektrostatik ve sterik etkiler çapraz bağların oluşumunu engellemektedir. Söz konusu elektrostatik ve sterik etkiler misel yüzeyinde yer alan κ -kazein molekülleri neden olmaktadır. TG enzimi, süt proteinlerinin elektrostatik ve sterik stabilizasyonlarının bozulması sonucu etkili olabilmektedir. TG'nin istenilen etkiyi gösterebilmesi için, örneğin sütün asitliğinin artırılması gibi işlemler ile protein partikülleri arasındaki sterik ve elektrostatik stabilizasyonun ortadan kaldırılması gerekmektedir (Schorsch vd., 2000b).

MTG birçok gıda proteinini substrat olarak kullanarak onları jelleştirmiştir. Bu jel oluşumu sonucunda;

- a) Isıtma ile jelleşmeyen proteinler MTG ile jelleşebilmekte,
- b) Normalde yüksek sıcaklıklarda eriyen jeller, MTG ile jelleştikten sonra erimemekte,
- c) Yağ içindeki su emülsiyonlarındaki proteinler şeker ve sodyum klorür varlığında bile jelleşebilmekte,
- d) Isıtma sonrasında jel sertliği artmakta,

e)Son olarak oluşan jeller deterjanlar ve denatürasyonlar ile çözündürölememektedir. Bu karakteristikler, enzimin protein tekstür özelliklerinin gelişiminde oldukça kullanışlı olduğu anlamına gelmektedir (Motoki ve Seguro, 1998).

MTG ile çapraz bağlanan süt proteinlerinin emülsifiye özellikleri Faergemand vd. (1999a) tarafından incelenmiştir. Araştırmacılar TG eklenerek önemli ölçüde asit kazein jellerinin jel gücünü arttırmanın mümkün olduğu rapor etmişlerdir. Süt proteinlerinde enzimatik çapraz bağlanmada, çapraz bağlanma derecesi yükseldiğinde yağ içinde su emülsiyonlarındaki yağ damlacıklarının boyutu nispeten azalmaktadır. Çapraz bağlanma düşük derecede ise, birleşme veya flokülasyon stabilitesi, çapraz bağlanmayla, normal emülsiyonlardan daha güçlü olmaktadır (Özrenk, 2006).

Imm vd. (2000)'nin yapmış oldukları araştırmada TG ilavesiyle (10 U/g protein, 40°C/3saat) gerçekteşen enzimatik modifikasyon ile su bağlama kapasiteleri ve jelleşme nitelikleri geliştirilen süttozlarından elde edilen jellerin reolojik özelliklerinin, kontrole oranla daha iyi olduğunu belirlemişlerdir. Süt tozunda yapılan başka bir çalışmada MTG enzimi ile teşvik edilen çapraz bağlanmanın su absorbsiyonuna bağlı olarak kekleşmeyi önleyebileceği bildirilmektedir (Lorenzen vd., 2002).

Jel gelişimi ve jel gücü oluşumu; rennet ile CMP salınımı ve TG tarafından bu fraksiyonların çapraz bağlanması ile ilişkilidir. Bu nedenle elde edilen verimin ve jelin fiziksel özelliklerine göre süt proteinleri üzerinde, rennet ve TG'nin kombine kullanımında rennetleme sıcaklığı ve ilk sütün pH'sının rölünü iyi anlamak gerekmektedir. Rennetleme sıcaklığı ve başlangıç sütünün pH'sı gibi reaksiyon koşulları, TG ve rennetin kombine olarak etkisi dolayısıyla CMP'lerin salınım seviyesini ve polimerizasyon derecesini doğrudan etkilemektedir. Rennet ve TG reaksiyonunun optimum sıcaklığı yaklaşık 45-50°C olmasına rağmen sıcaklık düştüğu zaman sıcaklığa bağlı reaksiyon kinetiğinde farklılık görölmektedir. (Özer vd., 2012).Yapılan bir çalışmada yağsız sütte mayalama koagölasyonu sırasında rennet ve TG arasındaki etkileşimleri

değerlendirilmiştir. Rennetin pıhtılaşması; 2 farklı rennetleme sıcaklığında (30-34°C), 3 farklı pH düzeyinde (6.5, 6.3 ve 6.1) ve 2 farklı TG konsantrasyonunda (0,6 U ve 1,8 U/g protein) gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarda serumdaki CMP ve polimerizasyon derecesi göz önüne alındığında TG'nin rennet koagülasyonunda sırasıyla hem birincil hemde ikincil fazları etkilediği bulunmuştur. Genel olarak yüksek rennetleme sıcaklığı ve düşük TG seviyesi, rennet jelinin veriminin düşmesine yol açmıştır. Başlangıç süt pH'sının azalmasıyla ve artan koagülasyon sıcaklığıyla jellerin pıhtılaşma süreleri azalmıştır. Optimum başlangıç süt pH'sı: 6.3, koagülasyon sıcaklığı: 30°C ve TG konsantrasyonu 1,8 U/g protein olarak bulunmuştur (Özer vd., 2012).

Bazı çalışmalarda, peynir üretim prosesinde TG kullanımı ile pıhtı veriminin arttığı bulunmuştur. Cozzolino vd. (2003)TG kullanarak, pıhtı halindeki peynire peynir altı suyunun eklenme olasılığını incelemişlerdir. Birincil fazın önlenmesi sonucunda koagülasyon süresinin artmasının engellenmesi için,TG, peynire rennet ilavesinden ve pıhtı kesimden sonra ilave edilmiştir. Bu durumda TG ilavesiyle peynirde yüksek miktarlarda verimin artması, peynir pıhtısına peynir altı suyu proteinlerinin dahil edilmesi şeklinde açıklanmıştır. Çeşitli patentler TG uygulamasının peynirde peynir altı suyu proteinlerinin dahil edilmesini sağlayarak verimi arttırdığı için yüksek ekonomik potansiyelinin olduğunu belirtmişlerdir (Kuraishi, vd., 1996; Han ve Spradlin, 2000; Kumazawa vd., 2002; Miwa vd., 2002; Kumazawa ve Miwa, 2004).

Süte TG ilave edilmesinin, sütün ısıl kararlılığını da etkilediği düşünülmektedir. Bu bağlamda sürecin,TG ile inkübasyondan önce, süte ön ısıl işlem uygulanmasına ve bu ısıl işlemin sıcaklığına bağlı olduğu sanılmaktadır. Çiğ sütte kazeinler arasında ortaya çıkan çapraz bağlanmanın, minimum kararlılık bölgesindeki pH değerlerinde, miselden κ -kazeinin dissosiyasyonunun engellendiği ileri sürülmektedir. Sütün,TG ile inkübasyonundan önce ön ısıl işleme tabi tutulması ise, serum proteinlerinin denaturasyonu sonucu, denature serum proteinleri ile kazeinler arasında çapraz bağların oluşumuna izin vermektedir (O'Sullivan vd., 2001; 2002). Sütün ısıl kararlılığı, sterilizasyon

sıcaklığında koagülasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır (Singh ve Fox, 1987).

Süt ürünlerinde TG kullanılmasında önemli teknolojik durumlar vardır. TG reaktivitesi ısıtılmamış veya pastörize sütte, ön ısıtma işlem görmüş sütlerle oranla daha düşüktür (Sharma vd., 2001; Bönisch vd., 2004; Rodriguez-Nogales, 2006). TG'deki bu düşük reaktivite, ısıtma işlemine karşı hassas tepki veren sütün içindeki mevcut bulunan, çapraz bağlanma reaksiyonunu azaltan TG inhibitörlerinin mevcudiyetinden kaynaklanmaktadır (De Jong vd., 2003). Isıtılmamış yağsız sütteki proteinler çapraz bağlanmaya duyarlı iken, 85°C'de 15 dakika ön ısıtma işlem görmüş sütlerin çapraz bağlanmaya karşı duyarlılıkları artmıştır (Aboumahmoud ve Savello, 1990; Sharma vd., 2001). Ancak peynir üretiminde, peynire işlenecek süt, rennet ilavesinden önce pastörizasyon dışında ısıtılmamalıdır. Çünkü bir ön ısıtmayla denatüre olan serum proteinleri ile κ -kazein arasındaki etkileşimler, sütün rennet ile pıhtılaşmasını olumsuz yönde etkilemektedir (Singh ve Waungana, 2001). Bu nedenle, TG ile rennet uygulamalarında, enzim ilavesinden önce süte uygulanan ön ısıtma işlemleri ile ilgili ifadeler çelişkilidir (Bönisch vd., 2008).

Bönisch vd. (2008) tarafından, ısıtılmamış sütün TG'ye karşı daha az reaktif olduğu için çapraz bağlanmayı sağlamak için GSH(glutatyon) içeren MTG preparatları kullanılmıştır. Maltodekstin, sakkaroz, mannoz ve indirgenmiş GSH ilavesi, TG'nin termal stabilitesini önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir(Cui vd., 2006). Bönisch (2007b) süt proteinlerinin, pastörizasyon dışında ön ısıtmaya gerek kalmadan GSH varlığında TG tarafından çapraz bağlanabildiğini göstermiştir. Bu uygulama peynir yapımında TG uygulaması için kritik öneme sahiptir. TG peynir yapımında rennet ilavesinden önce ya da aynı anda ilave edilebilmektedir(Bönisch vd., 2008). Araştırmacılar rennet ve TG+GSH'ın aynı anda uygulamasının yağsız sütte rennet koagülasyon özelliklerinin azalmasının önlenmesinde daha etkili olduğunu göstermişlerdir. Öte yandan bunun, rennetin enzimatik aşaması sırasında CMP'nin salınımında bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir.

Miwa vd. (2002) süte 0,02 mM konsantrasyonunda indirgeyici madde olan GSH ilave edilmesiyle ısıtılmamış ve pastörize sütte, TG'nin düşük olan reaktivitesinin arttırılabileceğini belirtmişlerdir. GSH'ın, ısıtılmamış ve pastörize sütte enzim inhibisyonunu önlemesinden dolayı TG reaksiyonun arttırılması açısından çapraz ba lama öncesinde ısıl işleme benzer bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Bönisch vd., 2007b).  edar peyniri yapımında, sütün  n asitlendirilmesi ve rennet ilavesi ile TG(1U/g protein) zerine GSH'ın etkisiyle, GSH ilavesiz, yüksek miktarda TG içeren (5U/g protein) ve TG içermeyen örneklerin aksine pıhtıda verimin arttığı bildirilmiştir (Miwa vd., 2002).

2.4. TGEenziminin Süt  r nlerinde Kullanım Olanakları

MTG'nin keşfi ile gıda endüstrisi tarafından bu enzimin kullanımı araştırılmıştır (Ando vd., 1989; Kuraishi vd., 2001). FDA(Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından GRAS (genellikle güvenli kabul edilen) madde olarak tanımlanan TG, süt proteinlerine ba lanabildi i ve onların fonksiyonel özelliklerini de i tirdi i bilinmektedir(FDA, 2010; Rossa vd., 2012). Birçok derlemede kazeinin TG ile çapraz ba lanmasıyla süt ürünlerinde doku özelliklerini değiştirmek için yüksek potansiyelinin olduğu gösterilmiştir (Nielsen, 1995; Lorenzen ve Schlimme, 1998; Motoki ve Seguro, 1998; De Jong ve Koppelman, 2002; Jaros vd., 2006). Kovalente ek çapraz ba lanması gerçekleşmesi kazein bazlı süt ürünlerinin fonksiyonel özelliklerinin gelişmesinde önemli ve umut verici bir araç olarak g r lmektedir ( zrenk, 2006). Daha öncede belirtildiği gibi TG enziminin kazeinlerin kendilerine has fonksiyonel özelliklerini bozmadan, onların reolojik özelliklerini de i tirdi i ve kazein misel yapısındaki, kazein bileşenlerini l kalize ettiği, aynı zamanda bu enzim ile kazeinleri modifiye ederek süt ürünlerinde daha iyi yapı ve kıvam elde edildiği belirlenmiştir ( kura vd., 1980; Kieliszek vd., 2014). Süt proteinlerinin enzimatik modifikasyonu, izopeptid ba larının oluşumunu sağlaması nedeniyle sadece teknolojik açıdan değil, bunun yanında proteinlerin biyolojik değeri açısından da önem taşımakta ve merak uyandıran bir yöntem olmaktadır (Motoki ve Seguro, 1998, Yüksel ve Erdem, 2007).

TG sütteki proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde değişimler yaparak, taze süt ürünlerinde, kremada ve peynir yapımında, kimyasal katkı ilavesi olmadan verimi artırmakta, tekstürel özellikleri geliştirmekte ve jel oluşumunu mümkün kılmaktadır (Özrenk, 2006; Özer vd., 2007; Gustaw vd., 2008; Demirkaya ve Ceylön, 2009; DeSá ve Bordignon-Luiz, 2010). Ayrıca TG ile süt ürünlerinin su tutma kapasitesini, emülsifiye etme özelliklerini, yüzey viskozitelerini, mayalanma yeteneğini, mekanik özelliklerini, stabiliteyi ve jel gücünü artırmak bunların yanında geçirgenliği azaltarak süt ürünlerinin fiziksel ve duyuşal özelliklerini olumlu yönde değiştirmek mümkündür (Lorenzen vd., 2002; Yokoyama vd., 2004; Özrenk, 2006).

Süt endüstrisinde TG çok sayıda ürün üretimi için kullanılmıştır. T gase enzimi ile enzimatik modifikasyon sonucunda süt proteinleri ve süt ürünlerinde elde edilebilecek gelişmeler Çizelge 2.2.'de özetlenmiştir.

Çizelge 2.2. TG'nin süt ürünlerindeki etkileri (Lorenzen ve Schlimme, 1998)

Ürün	Enzimatik Modifikasyonun Yarattığı Etki
Kazeinatlar	Jelleşme ve emülsifikasyon niteliğinde gelişme
Serum proteinleri	Paketleme filmlerinin oluşması ve niteliklerinin gelişmesi
Yoğurt	Pıhtı sıklığında artış/ Serum ayrılmasında azalma
Taze- Olgun peynir	Ürün randımanında artış/ Serum ayrılmasında azalma
Dondurma	Su bağlama niteliğinde artış/ Jelleşme niteliğinde iyileşme
Krem şanti	Fiziksel niteliklerin geliştirilmesi
Kurutulmuş süt ürünleri	Stabilitede artış meydana gelmesi

Süt kullanılarak geleneksel olarak üretilen jeller, yoğurt ve peynirdir. Yoğurdun tekstürü, bileşenlerin miktarı ve fonksiyonelliğine bağlı olarak değişmektedir. Örneğin protein miktarının artmasıyla yoğurt jel dayanımının arttığı bilinmektedir. Yoğurt jelini modifiye etmenin bir diğer yolu da, özellikle düşük yağlı yoğurtlara uygulanan, gumların kullanımıdır. Yoğurt üretiminde kuru maddenin arttırılması ve gumların kullanılması maliyetin artmasına yol açabilmektedir. Bu nedenle, düşük yağlı yoğurdu da içine alan jellerde yoğurt tekstürünü modifiye etmek için alternatif yöntemler araştırılmış ve sütteki

proteinlerin etkileşimlerinin enzimatik olarak uyarılması, yoğurdun dokusal özelliklerinin tatmin edilebilir seviyede iyileştirilmesi için uygulanabilir bir yöntem olarak önerilmektedir(Faergemand vd., 1999a;1999b). Ayrıca yoğurt üretiminde yararlanılan enzimatik modifikasyon, kuru madde arttırımı ve stabilizatör kullanımına alternatif bir metot olarak gösterilmektedir (Lorenzen ve Schlimme, 1998; Faergemand vd., 1999a; Kuraishi vd., 2001; Lorenzen ve Neve 2003).Yoğurdun jel ağ yapısının zayıf kovalent olmayan bağlar ile kararlı halde olması nedeniyle,MTG'nin süt ürünlerinde kullanımında en avantajlı alanın yoğurt üretimi olduğu belirlenmiştir (Kuraishi vd., 2001; Lorenzen vd., 2002; Yokoyama vd., 2004).TG; yoğurtlarda su salmayı önlemek ve doku sıkılığı için kullanılmaktadır (Lorenzen ,2002). TG ile inkübe edilen süttten daha homojen, kremi bir yapıya sahip, düzgün ve sert yapılı yoğurt üretmek mümkündür (Özer vd., 2007). Ayrıca bu tür yoğurtlar dondurulmuş tatlılarda, sütlü içeceklerde kullanılmaktadır (Nielsen, 1995).

Protein ve yağ içeriği azaltılmış süttten üretilen yoğurt örnekleri ile yapılan çalışmada, yoğurtlarınTG enzimi ilavesiyle, kontrol örneklerine benzer özellik gösterdiği belirlenmiş ve az yağlı yoğurt üretiminde,kurumadde arttırımı ve stabilizatör kullanımına yönelik alternatif bir yöntem olarak TG enzimi kullanımının mümkün olduğu tespit edilmiştir (Faergemand vd., 1999a; Özer vd.,2007). Yine Lorenzen vd. (2002)ile Lorenzen ve Neve (2003), TG enzimi ile muamele edilmiş süttten yapılan yoğurtların yapısal açıdan kurumadde içeriği artırılmış tam yağlı yoğurt örneklerine benzerlik gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, set tipi yoğurt üretiminde TG enzimi kullanımının yoğurdun tekstürel ve yapısal özellikleri üzerine etkisi araştırılmış ve yoğurt örneklerine TG enzimi ilavesinin pıhtı sıkılığını artırdığını, serum ayrılmasını önemli oranda azalttığını belirlemişlerdir(Faergemand vd., 1999a; Yüksel ve Erdem, 2010; Şanlı vd.,2011a).

TG'nin set tipi yoğurdun fiziko kimyasal özelliklerine etkisinin incelendiği bir diğer bir araştırmada, Öner vd. (2004), TG enzimi ilave edilmiş süttten yaptıkları

yoğurt örneklerinin aynı şekilde pıhtı sıkılığında artış ve serum ayrılmasında azalma belirlemişlerdir. Bununla birlikte; yoğurdun temel aroma maddesi olan asetaldehit miktarının TG ilavesiyle azaldığını tespit etmişlerdir. Öner vd. (2004)'nın bulmuş olduğu sonuca benzer bir sonucuda, Neve vd.(2001) MTG enzimi ile muamele görmüş süttten üretilen yağsız yoğurtlarda bulmuşlardır. MTG enzim miktarıyla ters orantılı olarak yoğurt örneklerinin asetaldehit içeriğinde azalma meydana geldiğini, bununla birlikte yoğurt örneklerinin 21 günlük depolama sonucunda fiziksel özelliklerinde gelişme olduğunu gözlemlemişlerdir. Yoğurda inkübasyondan önce MTG ilavesi ve starter kültür inokülasyonu sırasında enzim aktivitesinin durdurulması ile starter kültür dengesinde bir miktar kayıp oluştuğu, buna karşılık MTG ile starter kültürlerin kombine şekilde kullanılması durumunda kültür dengesinde değişim meydana gelmediğini saptamışlardır (Neve vd., 2001). Özer vd. (2007) ise MTG muamelesiyle yoğurt starter bakterilerinin (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *bulgaricus*), gelişimini yavaşlattığını ve enzim miktarındaki artışa bağlı olarak asitlik gelişiminin azaldığını tespit etmişlerdir.

Set tipi yoğurtlarda yapılan başka bir çalışmada, kullanılan MTG miktarının yoğurt jel yapısı üzerine etkisi araştırılmış, 5 U/g protein miktarlarına kadar kullanılan MTG ile jel sıkılığının arttığı, ancak enzim miktarı artıkça aynı etkinin oluşmadığı gözlemlenmiştir. Yüksek miktarlarda MTG kullanımıyla yoğurtta maksimum jel sıkılığı ve kırılma gücüne ulaşıldığı ancak daha sonra bu özelliklerin giderek azaldığı bildirilmektedir. Bunun nedeni olarak yüksek oranda enzim ilavesiyle meydana gelen fazla miktardaki ϵ -(γ -glutamil)lisin bağlarının yoğurt jeli oluşumundaki ağ yapısını inhibe edebildiğini göstermektedir (Kuraishi vd., 2001).

Farnsworth ve Guo (2003) çalışmalarında MTG enziminin, keçi sütünden yapmış oldukları yoğurtlarda yapı ve konsistensi üzerine etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar 2 U ve 4 U/g protein konsantrasyonlarında enzim kullandıkları çalışmalarında enzimle muamele edilmiş örneklerin toplam kuru madde, pH, protein gibi kimyasal özelliklerinde kontrol örneğine göre

önemli bir farklılık olmadığını, bununla birlikte; enzim katkılı yoğurt örneklerinde serum ayrılmasında azalma ve viskozitede önemli oranda artış meydana geldiğini belirlemişlerdir. Çalışmada enzim ile muamele edilmiş örneklerin kontrol örneğinden daha sıkı bir yapıya sahip oldukları elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. Araştırmacılar, çalışmanın sonucunda MTG ile meydana gelen enzimatik çapraz bağlanmanın keçi sütünden elde edilen yoğurtlarda konsistensi geliştiren etkili bir metot olduğunu tespit etmişlerdir.

Stirred tipi yoğurtlarda yapılan çalışmada ise yoğurt yapılacak süte TG ilavesi ile viskozitenin arttığı gösterilmiştir. Maliyetin azalması anlamına gelen yağsız kuru madde miktarının azaltılmasıyla, TG ilavesi ile viskoziteyi arttırmak mümkündür. Ayrıca Stirred tip yoğurtlarda enzimin kullanılmasıyla serum ayrılmasının önlenildiği bildirilmektedir (Kuraishi vd., 2001).

Yokoyama vd. (2004) ile Yüksel ve Erdem,(2010) tarafından, TG enziminin, süt ürünlerinden yoğurt dışında peynir ve dondurma üretiminde de başarılı bir şekilde kullanılabileceği belirtilmektedir. Aynı şekilde, Metwally (2007) tarafından da TG enzimi ilave edilerek üretilen dondurmalarda yoğurttakine benzer şekilde, enzimin son ürünün fiziksel ve duyuşsal özellikleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı belirlenmiştir.

Dondurulmuş sütlü tatlılarda enzim kullanımının ürünlerdeki kalitenin gelişimi üzerine etkisinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Enzim ilaveli dondurmada, özellikle buzlu yapı kusurunun görülebildiği düşük kalorili dondurmalarda, daha pürüzsüz bir yapı elde edildiği ve dondurmanın kaşıkla alınabilmesinin daha kolay olduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun, daha sıkı ve stabil bir yapı içinde buz kristallerinin oluşumunun engellenmesiyle açıklanmaktadır. TG enzimin serum ayrılmasını önleme, su bağlama kapasitesi ve viskozitede artışın yanı sıra, buz kristallerinin oluşumunun önlenmesi gibi etkilerine bağlı olarak stabilizatör kullanımının yerine geçebileceği belirtilmiştir (Kuraishi vd., 2001).Dondurmaya ilave edilecek MTG oranının belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada; 56.8°C'de (90 dk) 4 U/g protein kullanılarak

protein çapraz bağlanması için maksimum reaksiyon elde edilmiştir (Rossa vd., 2011).

Şanlı vd. (2011b) ayran ile ilgili yaptıkları çalışmada TG ile süt proteinlerinin enzimatik çapraz bağlanmasının ayran üretiminde uygulanabilirliği ve enzim ilavesinin ürünün kalite özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın sonucunda enzimle muamele edilmiş süttten üretilen ayranların reolojik özelliklerinin iyileştiği ve mikrostrüktürel yapısının sıkılaştığı görülmüştür. Enzimle muamele edilen ayranların, kontrol ayranına göre kimyasal ve duyuşsal özelliklerinde ise önemli bir değişiklik meydana gelmediği bildirilmiştir.

TG süt endüstrisinde ürünlerinde bahsedilen özelliklerinin dışında verimini arttırmak için yaygın olarak kullanılan bir enzimdir (Aaltonen vd., 2014). TGmuamelesiyle elde edilen jel özellikleri ve verimin artması, peynir üretiminde umut verici görölmektedir. Birçok patent, peynirde verimi arttırmak ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için TG uygulamasının yüksek ekonomik potansiyelinin olduğuna işaret etmektedir (Miwa vd., 2002). Buna nispeten az sayıda bilimsel çalışma vardır.

Kuraishi vd. (2001) tarafından TG ile peynir yapımında 3 yol önerilmiştir.

- a) Süte TG ilavesi, pastörizasyon, enzim inaktivasyonu ve son olarak rennet ilavesi
- b) Süte rennet ilavesinin ardından TG ilavesi
- c) Süte TG ilavesiyle aynı anda rennet ilavesi şeklindedir. Araştırmacı yapmış olduğu çalışmada peynir üretiminde enzim kullanımının randımanı artırdığını, TG ilavesi ile su bağlama kapasitesinde elde edilen artışın, olgunlaşmamış taze peynirler için avantaj sağladığını belirtmiştir.

Desá ve Bordignon-Luiz (2010)'in işlenmiş peynirin özellikleri ve rennetin pıhtılaştırma özellikleri üzerine TG'nin etkilerini araştırdığı çalışmasında TG'nin enzimatik çapraz bağ oluşumu ile işlenmiş peynirin fiziksel özelliklerini geliştirdiğı sonucuna varmıştır.

Aloğlu ve Öner (2013)'in Labne peynirine TG uyguladıkları çalışmada, TGLabne peynirinin kimyasal kompozisyonunda hiçbir değişiklik yapmadığı ancak taramalı elektron mikroskopu görüntülerine bakıldığında protein matrislerininTG ile muamele edilen Labne peynirlerinin kontrol örneklerinden daha yoğun olduğu gözlemlenmiştir.

Pierro vd. (2010) çapraz bağlı peynir elde etmek için TG enzimini kullanmışlardır. TG eklendikten sonra peynirde su içeriği ve peynir verimi kontrol örneğinden daha yüksek bulunmuştur. Edam peynirinde yapılan bir çalışmada TG eklenen peynirde, enzime bağlı olarak nem artışı olmuş ve verim %4 oranında artmıştır (Aaltonen vd., 2014).Gouda peyniri üzerine yapılan bir çalışmada, rennet ilavesinden önce süt 25°C'de 0.2 U/ g protein düzeyinde TG ile muamele edilmiş ve pıhtı veriminin arttığı bildirilmiştir. Taze ve olgunlaştırılmamış peynir üretiminde de Gouda peynirindeki gibi benzer sonuçlar elde edilmiştir. Quark peynirinde de yine pıhtı veriminin arttığı, kuru maddenin azaldığı ve peynir suyu seperasyonunun azaldığı bulunmuştur. Ayrıca taze ve olgunlaştırılmamış peynirlerde su tutma kapasitesinin gelişmesi, TG'in potansiyel kullanımını beraberinde getirmektedir. Cottage peyniri gibi taze peynirler üretilirken pastörizasyon işlemi starter aktivitesini durdurmak için pakatlendikten sonra yapılmaktadır. Bu durumda bazen peynirden suyun ayrılması gibi problemler ortaya çıkmaktadır. Taze peynirlerin üretiminde, TG kullanımı ile bu problemlerin üstesinden gelinebileceği düşünülmektedir (Kuraishi vd., 2001).

Ancak bu enzimin kullanımı, düşük koagülasyon özelliği, artan pıhtılaşma süresi ve TG ile muamele edilmiş sütte jelleşme özelliklerinin azalması veTG'in aktivitesinin kontrolünün zorluğu gibi olumsuz etkileri nedeniyle olgunlaşmış,sert ve yarı sert peynir yapımında yaygın değildir (Bönisch vd., 2008; Huppertz, 2011). TG'in etkisinin uzun olgunlaşma dönemine sahip peynirlerde yapılmış çalışmaların olmadığı ve bununla birlikte az yağlı peynirlerde etkisinin olup olmadığının araştırılması gerektiği Hu vd. (2013) tarafından belirlenmiştir.Aynı araştırmacı tarafından, TG muamele edilen Çedar peynirinde yapılan çalışmada, düşük yağlı Çedar peynirinde, protein, yağ geri

kazanımı ve verim önemli ölçüde geliştiği tespit edilmiştir. Başka bir problem ise peynirlerin olgunlaşma ve depolama sırasında TG'in aktifliğinin devam ederek proteinler arasındaki çapraz bağlanmanın sürmesidir. 4°C'deki depolama sırasında TG içeren peynirlerin sertliğinin arttığı bildirilmiştir (Özer vd.,2013). Bu problemler nedeniyle, TG muamelesi tamamen kontrol edilmeli ve peynir yapımından önce devre dışı bırakılmalıdır. Peynir yapımından önce TG'in inaktive edilmesi, ilave edilen enzimlerin kontrolünü mümkün kılar. TG'in inaktivasyonu için en sık kullanılan yöntem 80°C ya da daha yüksek sıcaklıklarda ısıtma işlemi uygulamasıdır (De Jong vd., 2003). Fakat bu yüksek sıcaklık peynir altı suyu proteinlerini denatüre ederek, sütün pıhtılaşma özelliklerini azaltır ve sütü peynir yapımı için uygun olmayan hale getirir (Singh ve Waungana, 2001; Vasbinder vd., 2003). Diğer inaktivasyon yöntemi ise süte TG inhibitörü katımıdır (Bönisch vd., 2006).

Sonuç olarak TG'nin peynir yapımı için çok yarar sağladığı, düşük yağlı peynirde verimin artması ve tekstürel özelliklerin gelişmesi için umut verici bir yöntem olarak görülmektedir (Hu vd., 2013).

2.5. TG Enziminin Yağ İkame Maddesi Olarak Kullanımı

Son yıllarda obezite ve kronik kalp hastalıkları ile bunlara bağlı risklerin artmasıyla ilgili sağlık sorunları ve sağlıklı beslenme kaygısıyla, tüketicilerin besinlerle aldıkları yağ miktarını azaltmaya çalıştıkları ve bunun sonucunda ise düşük yağlı ürünlerin tüketimi sürekli olarak artmaktadır (Sandoval-Castilla vd., 2004; Ritvanen vd., 2005). İnsanların sağlıklı yaşam tarzına farkındalıkları arttıkça, özellikle yağı azaltılmış veya az yağlı peynir gibi düşük kalorili gıdalara da talep artmıştır (Konkular vd.,2004). Artan talebi karşılamak üzere, üreticilerin de az yağlı ve hatta hiç süt yağı içermeyen süt ürünlerinin üretimine yöneldikleri bilinmektedir. Ancak, süt yağının azaltılması ya da hiç ilave edilmemesi ile son ürünün fiziksel ve duyu özelliklerinde bazı olumsuzlukların meydana geldiği görülmektedir. Oluşan bu olumsuzlukları en aza indirmek için, süt yağının ürünlerdeki etkisini üstlenebilecek alternatiflerin arayışı içine girilmiş ve yağı azaltılmış süt ürünlerinin üretimi ile

ilgili çalışmalar yapılmıştır(Ohmes vd., 1998; Prindiville vd., 1999; Roland vd., 1999; Hyvönen vd., 2003; Metwally, 2007).Bazı çalışmalarda yoğurt, peynir, dondurma gibi düşük yağlı süt ürünlerinin üretiminde yağ ikame maddeleribaşarılı bir şekilde kullanılmaktadır(Barrantes vd., 1994a;1994b).Yağ ikame maddesi, az kalori veren, yağ işlevinin bir kısmını veya tamamını sağlamak için kullanılan bir bileşendir (Huygbaert vd., 1994). Ayrıca yağ ikameleri, süt ürünlerinde düşük yağdan kaynaklanan fiziksel ve duyuşal özellikleri gidermek için kullanılabilmektedir (Barrantes vd., 1994a). Araştırmalar sonucunda TG enziminin, yağ ikame maddesi olarak, yağ içeriğı azaltılmış süt ürünlerinde kullanılabileceğı gözlemlenmiştir (Faergemand vd., 1999a; Lorenzen vd., 2002).

Son yıllarda TG kullanılarak düşük yağlı ya da yağı düşürölmüş süt ürünlerinin özelliklerinin iyileştirilmesi için girişimlerde bulunulmuştur (Yokoyama vd., 2004; Özer vd., 2007). TG ilavesiyle peynir altı suyu proteinlerinin peynire dahil edildiğı ve bu sayede düşük yağ içeriğine sahip süt ürünlerinin üretiminin mümkün olduğı belirlenmiştir(Motoki ve Seguro, 1998).

Tüketicilerin yağı azaltılmış yoğurt için talep artışına bağılı olarak nihai ürünlerin tekstürel kalitelerini geliştirmek için pek çok araştırma yapılmıştır. Ancak yoğurttan yağın kısmen veya tamamen alınması tüketiciler tarafından algılanan yoğurt kalitesini düşürmektedir (Folkenberg ve Martens, 2003).Yoğurttaki yağ içeriğinin kısmen azalması, tam yağlı yoğurda göre kıyaslandığında jel kuvveti ve sıklığında azalmaya yol açmıştır. Bu azalma protein ağında az sayıda gömölü yağ globölünün olmasından kaynaklanmaktadır (Duboc ve Mollet, 2001). Yoğurtta yağın azaltılması veya tamamen kaldırılmasıyla, tekstürel ve duyuşal özelliklerin gelişmesinin sağlamak için başvuruılan yöntem katkı maddesi kullanımıdır (Cayot vd., 2008). Daha önce de değinildiğı gibi doku özelliklerinin geliştirilmesi için yoğurt yapılacak süte doğıal ya da sentetik stabilizatör ilavesi yapılarak yağsız kurumadde seviyesi arttırılabilmektedir(Guzmán-Gonzálezvd.,1999). Ancak stabilizatör kullanımına çoğı ülkede izin verilmemektedir. Bundan dolayı yağı azaltılmış yoğurdun istenilen dokusunu elde etmenin alternatif yöntemler

araştırılmış ve son yıllarda ilgi odağı olmuştur (Lorenzen vd., 2002; Kırmacı vd.,2004). Yoğurtların tekstürel özelliklerinin geliştirilmesinde TG'nin rolünün iyi olduğu görülmüştür. Ayrıca, bu enziminin yağı azaltılmış ya da yağsız yoğurtlarda stabilizatör kullanımına alternatif olabileceği belirlenmiştir (Faergemand vd., 1999a).

Özer vd. (2007) yapmış oldukları çalışmada MTG'nin yağsız yoğurda ekstra protein ve stablizatör ilavesinin yerini alabilecek alternatif bir yöntem olabileceğini belirtmişlerdir.Kırmacı (2005) ise, MTG enziminin yağsız yoğurtlarda, yağın eksikliğinden kaynaklanan tekstürel zayıflığın giderilmesinde başarıyla uygulanabileceğini ortaya koymuştur.

Az yağlı yoğurtlarda Faergemand vd. (1999a)'ın yaptığı çalışmada, TG enzimi ilave edilmesiyle tekstür profilinin, kontrol örneği olan tam yağlı yoğurdun tekstür profili ile karşılaştırıldığında oldukça benzerlik gösterdiğini belirlemişlerdir. Buna bağlı olarak; TG ilavesinin az yağlı yoğurtların stabilizasyonu için uygun bir yöntem olabileceği ileri sürülmüştür.Ayrıca yapılan çalışmalarda TG enzimi ilavesi ile tekstürel nitelikleri geliştirilmiş, yağsız kurumadde içeriği düşük, yağsız yoğurtların üretilebileceği saptanmıştır.

TG enziminin set tipi yoğurtların özellikleri üzerine etkisini araştıran Sezgin vd. (2008), yoğurt üretiminde TG'nin kullanımının yağ ikame maddesi ve ekzopolisakkarit üreten starter kültür yerine kullanımından daha fazla üstün niteliklere sahip ürün üretimine olanak sağladığını tespit etmişlerdir.

Yağsız yoğurt üretiminde MTG ile ticari bir yağ ikame maddesinin (Dairy-lo) etkinliğini karşılaştırmak için yapılan bir çalışmada MTG ve yağ ikame maddesi olan Dairy-Lo ilavesi ile iki tip yağsız yoğurt ve herhangi bir katkı ilave edilmeksizin kontrol yağsız yoğurt üretilmiş ve 4°C'de ve 20 gün süreyle depolanmıştır. Yağsız yoğurt örneklerinin fiziksel özellikleri MTG ile 20 günlük depolama sürecinde gelişmiştir. Duyusal analiz sonuçları da MTG ile yapılan yağsız yoğurdun kontrol yoğurdunkine benzer aroma ve tat profiline sahip olduğunu desteklemektedir. Dairy-Lo ilave edilen yoğurtta en düşük serum

ayrılması görülürken, aynı örnekte pıhtı sıkılığı MTG ilavesi ile üretileninkinden daha düşük olduğu görülmüştür. Buna ek olarak Dairy-Lo ilavesi yağsız yoğurdun duyuşal özelliklerini olumsuz yönde etkilemiştir. Elde edilen sonuçlara göre, MTG kullanımı son ürünün tekstürel özelliklerine olumsuz etkisi olmadan düşük kurumaddeli yağsız yoğurt üretimi için tavsiye edilebilir olduğu belirlenmiştir (Şanlı, 2015).

Yarım yağlı ayranlarda yapılan çalışmada MTG ilavesi ile, kullanımında yasal kısıtlama bulunan stabilizöre ihtiyaç duyulmadan fiziksel ve kimyasal özellikler açısından çok iyi nitelikte ve duyuşal olarak da kabul edilebilir nitelikte yarım yağlı ayran üretilmesinin mümkün olduğu belirtilmiştir (Çelikel, 2012).

Rossa vd. (2012), MTG ilavesinin farklı yağ içeriklerine sahip dondurmaların reolojik ve fonksiyonel özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalarında; enzimin protein bağlarının daha sıkı olmasına katkıda bulunduğunu ve bunun sonucunda dondurmanın stabilitesinin artmasına yardımcı olduğunu saptamışlardır. Araştırmacıların yapmış oldukları çalışmada 4 ve 6 g/100g yağ içeriğine sahip dondurmalar TG ile enzimatik işleme tabi tutulmuş ve bu dondurma örnekleri 8g/100g yağ içeriğine sahip, TG ilave edilmemiş dondurmayla benzer özellik gösterdiği belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu sonuçtan TG'ın dondurmada yağın yerini kısmen alabileceğini ifade etmişlerdir.

Metwally (2007) tarafından, süt proteinlerindeki enzimatik çapraz bağlarının farklı yağ, enzim ve stabilizatör bileşimindeki dondurmaların özellikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; enzim kullanımıyla az yağlı dondurma üretiminde stabilizatör miktarının azaltılabileceği ve enzimin dondurmada, yağ yerine ikame edilebileceği tespit edilmiştir. Ayrıca; TG'nin son ürünün fiziksel ve duyuşal özellikleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı bildirilmiştir.

Peynirdeise yağ içeriği arzu edilen duyuşal, tekstürel ve fonksiyonel özelliklerden sorumludur. Peynirde de yağın azalması, peynirin duyuşal ve fonksiyonel kalitesi üzerinde olumsuz etkiye neden olarak lastiğe benzer doku oluşumuna, kötü tat ve düşük eriyebilirliğe yol açtığı belirlenmiştir (Rogers vd.,

2009). Ayrıca aynı zamanda düşük peynir verimi gibi ekonomik anlamda bazı olumsuz sonuçları da tespit edilmiştir (Rodríguez, 1998). Düşük yağlı ve yağ azaltılmış peynirlerde; proteoliz seviyesinin azalması, serbest yağ miktarının azalması, yağsız maddelerin nem oranlarının azalması ve bozulmamış kazein oranının artması gibi belirlenmiş bazı dezavantajları olmasına rağmen düşük yağlı peynirlerin tam yağlı peynirlerden daha yüksek protein-yag oranları vardır. Çünkü düşük yağlı peynirler daha yoğun bir protein ağı ve sıkı bir dokuya sahiptir (Sheehan ve Guinee, 2004; Rogers vd., 2009). Artan bu protein konsantrasyonunu dengelemek için peynirin yapımında işlem değişiklikleri, starter kültür seçimi ve yardımcı kültür kullanımı, dengeleyici ve yağ ikame olarak katkı maddelerinin kullanımı gibi çeşitli stratejiler önerilmiştir (Fenelon ve Guinee, 2000). Ancak peynirde yağ azaltarak ve aynı zamanda tam yağlı peynire benzer tekstürel özellikleri korumak sorun olmaya devam etmektedir (Hu vd., 2013).

Düşük yağlı Çedar peynirinde yapılan bir çalışmada protein ve yağ geri kazanımı ile verimin TG uygulamasıyla, düşük yağlı kontrol örneğine göre önemli ölçüde geliştiği görülmüştür. Düşük yağlı Çedar peynirinin protein ve yağ geri kazanımları tam yağlı Çedar peynirinden düşük bulunmuş, ancak tam yağlı TG ilaveli ve tam yağlı kontrol örneği arasında protein ve yağ geri kazanımları arasında bir farklılık gözlemlenmemiştir. Az yağlı peynirler için TG enziminin yağ kaybını önemli ölçüde azaltıldığını belirlemişlerdir (Hu vd., 2013).

Gouda benzeri peynirlerde, yağın azaltılmasının, tekstür özellikleri üzerine ters bir etkisinin olduğu ancak yağ ikame maddesi ve TG ilavesinin bu etkiyi ortadan kaldırdığı, tekstür özelliklerinin yanısıra duyu özelliklerinde geliştiği tespit edilmiştir (Ahmed vd., 2015).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Süt

Araştırmada kullanılan çiğ süt Isparta Süleyman Demirel Üniversitesi'nde bulunan Ünsüt işletmesinden temin edilmiş ve Kaşar peynirlerinin üretimi 3 tekerrür halinde yapılmıştır. Kaşar peyniri denemeleri laboratuvar şartlarında üretilmiş ve vakum ambalajı içerisinde 90 gün süreyle 4 °C'de depolanmıştır. 0. gün (Kaşar peynirlerinin yapıldığı gün) başlangıç olmak üzere 30., 60. ve 90. günlerde fiziko-kimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyu analizleri, olgunlaşma sonunda ise HPLC ve elektroforetik analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.1. Yapılan Kaşar peyniri denemeleri ve numaralandırılması

Örnek Kodu	Kaşar Peyniri Çeşitleri
1	Kontrol Kaşar peyniri (Sadece rennet ilaveli Kaşar peyniri)
2	Rennete ek olarak TG enzimi ilave edilmiş Kaşar peyniri

3.1.2. Kalsiyum klorür

Peynir yapımında, çiğ süte uygulanan ısı işlem sonrasında bozulan iyonik kalsiyum dengesinin yeniden kurulması amacıyla %40'lık kalsiyum klorür (CaCl_2) kullanılmıştır. Süte kalsiyum klorür %0.02 (v/v) oranında ilave edilmiştir.

3.1.3. Sütü pıhtılaştırmada kullanılan enzim

Peynir üretiminde, sütün pıhtılaşmasını sağlayan enzim olarak hayvansal şirden peynir mayası kullanılmıştır. Peynir mayası %80 kimozen ve %20 pepsin karışımını içermektedir. Süte katılacak maya miktarı maya kuvvet tayini ile belirlenmiştir. Maya kuvvet tayini kesin olarak saptandıktan sonra peynir

yapılacak süte ilk pıhtılaşmayı 15 dakika (900 saniye) da tamamlayacak miktarda maya ilave edilmiştir. Rennet 1/10 oranında saf su ile sulandırıldıktan sonra peynir sütüne ilave edilmiştir.

$$\text{Kullanılan rennet miktarı} = (A * 0,1 * B) / (C * 900)$$

A: Pıhtılaştırılacak toplam süt miktarı (mL)

B: İlk pıhtının görüldüğü saniye

C: Maya kuvvetinin hesaplanmasında kullanılan süt miktarı (20 mL)

0,1: maya seyreltme miktarı

Formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.1.4. TG enzimi

Peynir yapımında Activa® YG,TG enzim preparatı kullanılmıştır. Enzimin spesifik aktivitesi 100 U/g protein'dir. Enzim miktarı, süte 2 U/g protein olacak şekilde hesaplanmıştır (Hu vd., 2013).

3.1.5. Starter kültür

Starter kültürlerin, peynir örneklerindeki kuru madde miktarları, pH değerleri, tuz değerleri, olgunlaşma süreleri ve duysal nitelikleri üzerine etkileri önemlidir. Peynir örneklerinin duysal nitelikleri göz önüne alındığında; Kaşar peyniri denemelerinde starter kültür olarak; *Lactococcus lactis* (% 1) + *Lactobacillus plantarum* (% 1) içeren kültür kombinasyonu ile yoğurt (% 0,2) kullanılmıştır. Kriyojenik madde olarak gliserol içeren, otoklavda sterilize edilmiş eppendorf tüplerinde dondurularak muhafaza edilen starter kültürler, M17 (Laktokoklar) ve MRS (Laktobasiller) sıvı besiyerine aktararak 30°C'de 24 saat süreyle aktifleştirilmeye bırakılmıştır.

Kültürler aktifleştikten sonra, 110°C'de 15 dakika sterilize edilen % 10'luk olarak hazırlanan skimmilk'e%1 oranında inoküle edilmiş ve tekrar 30°C'de 24 saat süreyle aktifleştirilerek Kaşar peyniri sütlerine ilave edilmiştir.

3.1.6. Tuz (NaCl)

Kaşar peynirlerinin tuzlanmasında ticari kaya tuzu kullanılmıştır. Kaşar peyniri örnekleri üretimlerinden 1 gün sonra kuru tuzlama ile tuzlanmıştır.

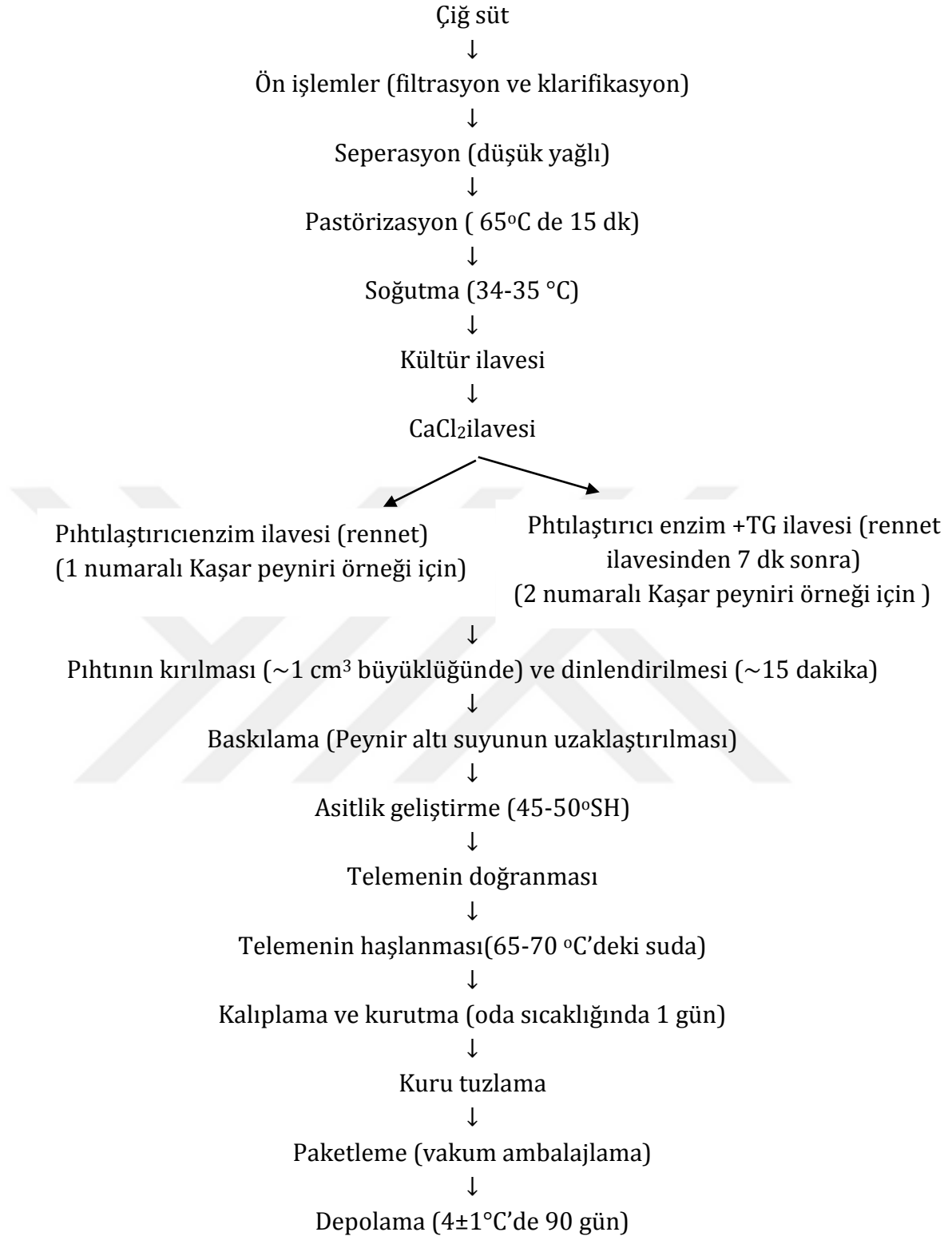
3.2. Yöntem

3.2.1. Kaşar peyniri üretimi

Kaşar peynirlerinin üretimi Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Süt Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada;TG ilave edilmiş ve TG ilave edilmemiş (kontrol) 2 farklı Kaşar peyniri üretimi gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1.Kaşar peyniri sütleri ve skimmilkte hazırlanan starter kültürler



Şekil 3.2.Kaşar peyniri üretimi akış şeması



Şekil 3.3. Peynir teknelerine ayrılan Kaşar peyniri sütleri

1. tekerrürde 40 litre, 2. tekerrürde 66 litre ve 3. tekerrürde 66 litre çiğ süt kullanılmıştır. Çiğ süte filtrasyon ve klarifikasyon gibi ön işlemler uygulandıktan sonra seperatör yardımıyla yağı alınarak düşük yağlı hale getirilmiştir. 65°C'de 15 dakika pastörize işlemi uygulanmış, soğutma işleminin ardından sıcaklığı 34-35°C ye getirilen sütler iki eşit parçaya ayrılmıştır. Birinci kısım süt kontrol örneği olarak kullanılmış ve starter kültür (%1), yoğurt (% 0,2) ve ardından CaCl_2 (% 0,02) ilavesi yapılmıştır. 30 dakikalık bekleme sonrasında maya kuvvet tayininde belirlenen, ilk pıhtılaşmayı 15 dakika (900 saniye) da tamamlayacak miktarda maya ilave edilmiştir. İkinci kısım süte de aynı işlemler uygulanmış ancak peynir mayası ilavesinden 7 dakika sonra 2 U/g protein oranında TG enzimi ilave edilmiştir (Desá ve Bordignon-Luiz, 2010; Hu vd., 2013).



Şekil 3.4. Kesim olgunluğuna gelen telemenin kesimi

90 dk sonrasında kesim olgunluğuna gelen pıhtı, peynir kesme bıçakları yardımı ile yaklaşık 1 cm³'lük parçalar halinde kesildikten sonra 15-20 dakika kadar kendi halinde bırakılmıştır. Ardından telemedeki peynir altı suyunun uzaklaşması için örneklere baskı uygulanmıştır. Baskılama işlemi telemenin, cendere bezinin gözlerine dolmaması için, kademeli bir biçimde yapılmıştır. İstenen süzölme ve baskılama sonucunda ideal peynir sertliğine gelen teleme kitlesini saran cendere bezleri açılmış ve asitlik kontrolü yapılmıştır. Asitlik 45-50 °SH oluncaya kadar telemeler fermentasyona bırakılmıştır.



Şekil 3.5. Fermentasyonunu tamamlamış telemenin dilimlenmesi

Haşlama asitliğine ulaşan telemeler ekmek dilimi şeklinde ince ince kesilmiş ve 65-70°C sıcaklıktaki haşlama suyunda haşlanmıştır. Haşlamanın ardından tezgâha alınan peynirler, içlerindeki havanın çıkması için yoğurulmuş ve göbek kesme işleminden sonra kalıplara alınmıştır. Şişlemenin ardından içlerindeki suyun çıkması için ters düz edilmiştir. 1 gün kalıpta bekleyen Kaşar peyniri örneklerikalıplarından çıkarttırdıktan sonra kuru tuzlama ile tuzlanmıştır.



Şekil 3.6. Telemenin haşlanması

Kaşar peyniri örnekleri 25°C de % 85 bağıl neme sahip iklimlendirme dolabında 4-5 gün bekletilmiş, ardından tartımları alınarak vakum paketlenmiştir. Kaşar peynirleri, üretimlerinden itibaren 0., 30., 60. ve 90. günlerde analizleri yapılmak üzere +4°C'de olgunlaşmaya bırakılmıştır. Peynir üretimi 3 tekerrürlü olarak yapılmış ve tüm analizler 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.7. Telemeninyoğurulması



Şekil 3.8.Kuru tuzlama yapılan Kaşar peyniri örnekleri

3.2.2. TG enzimi aktivite tayini

TG enziminin enzimatik aktivite tayini, spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla UV-Vis spektrofotometre (Shimadzu UV-1601) kullanılmıştır.

3.2.2.1. Analizin yapılışı

100 mL saf su içerisine 4 mM Hidroksilamin Hidroklorid ve 6.8 mM Glutamine ilave edilmiştir. Hazırlanan çözeltinin pH'sı 8' ayarlandıktan sonra içerisine 100 mL saf suda hazırlanan 0,5U, 1U ve 10U konsantrasyonlarda enzim çözeltisi ile karıştırılmıştır. Hazırlanan çözeltilerin herbirinin içerisine % 5'lik ferrik klorid çözeltisinden 50 mL ilave edildikten sonra 250 mL'lik karışımlar 35°C'de ferrik klorid ile maksimum renk gelişimi oluncaya kadar inkübe edilmiştir. Yaklaşık 6 saat boyunca her saat 500 nm'de sahite karşı okuma yapılan çözeltilerin maksimum absorbans değerleri sonuç olarak değerlendirilmiştir (Grossowich vd., 1950).

3.2.3. Kaşar peynirinde yapılan fiziko-kimyasal analizler

3.2.3.1. Titrasyon asitliği tayini

Rendelenmiş Kaşar peyniri örnekleri hassas terazide 2,5 g olarak tartılmış ve az miktarda saf su ilave edilerek havanda ezilmiştir. Üzerine % 1' lik fenolftalein indikatöründen 2-3 damla damlatılarak °SH büretinde 0,25 N NaOH ile açık pembe renk elde edilinceye kadar titre edilmiştir. Harcanan NaOH miktarı 10 ile çarpılarak SH tayini yapılmış ve asitlik °SH olarak tespit edilmiştir (Anonim, 2006).

$$^{\circ}\text{SH} = \text{Sarfiyat (mL)} * 10$$

$$\% \text{ Laktik Asit} = ^{\circ}\text{SH} * 0,0225$$

Formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.2. pH tayini

Peynir örneklerinin pH ölçümleri, inolab WTW dijital pH-metre kullanılarak, doğrudan yapılmıştır. Her analiz öncesinde pH-metre tampon çözeltiler kullanılarak kalibre edilmiştir. Kaşar peynirinde elektrot, homojen hale

getirilmiş peynir kitlesine direkt daldırılmış ve sabit değere ulaştıktan sonra okuma yapılmıştır.

3.2.3.3. Toplam kuru madde tayini

Kaşar peyniri örnekleri önceden etüvde kurutulup sabit tartıma getirilen kurutma kablarının içerisine ~3 gr olarak alınmış ve sıcaklığı 105±2°C olan etüvde, iki tartım arasındaki fark 5 mg olana kadar kurutulmuştur. Kurutulan Kaşar peyniri örnekleri desikatör içine alınarak oda sıcaklığına getirilip tartımlar hassas terazi kullanılarak hesaplanmıştır ve sonuçlar yüzde olarak verilmiştir (IDF, 1987).

$$\% \text{ Kuru madde} = (m_1 - m / m_2 - m) * 100$$

m = Kurutma kabının darası, g

m₁ = Kurutma kabı ve örneğin kurutma sonrası tartımı, g

m₂ = Kurutma kabı ve örneğin kurutma öncesi tartımı, g

Formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.4. Yağ tayini

Peynir bütirometresinin kadehçiğine rendelenmiş Kaşar peyniri örneklerinden 3 g tartılarak bütirometreye yerleştirilmiştir. Taksimatlı kısımdaki açık ağızdan 10 mL sülfirik asitten (d: 1,55 g/mL) ilave edilmiş ve 65-70°C'lik bir su banyosuna yerleştirilerek, peynirin tamamen erimesi sağlanmıştır. Daha sonra üzerine 1 mL amil alkol ilave edilip çalkalanmış ve bütirometrenin 35 taksimatına kadar aynı özgül ağırlıktaki sülfirik asitten konulmuştur. Bütirometrenin ağzı lastik tıpayla kapatılarak 10 dakika santrifüj edilmiştir. 65°C'lik su banyosunda 5 dakika tutulduktan sonra bütirometre skalasından % olarak yağ miktarı okunmuştur (Anonim, 1995).

$$\begin{aligned} & \% \text{ Yağ} * 100 \\ \% \text{ Kuru maddede yağ} &= \frac{\text{---}}{\% \text{ Kuru madde}} \end{aligned}$$

Formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3.5. Tuz tayini

Kaşar peyniri örneklerinde tuz tayini Mohr yöntemiyle ile yapılmıştır. Rendelenmiş Kaşar peyniri örneklerinden 5 g tartılarak havanda sıcak saf su ile iyice ezilip sulu kısmı 500 mL'lik bir balona aktarılmış, aynı işlem tuzun tamamen suya geçmesi amacıyla 5-6 kez tekrarlanmıştır. Balondaki su soğuyunca 500 mL çizgisine kadar saf su ile doldurulmuş ve kaba filtre kâğıdı yardımıyla süzölmeye bırakılmıştır. Süzöntüden erlene 25 mL alındıktan sonra üzerine 0,5 mL %5'lik K₂CrO₄ indikatörü ilave edilerek 0.1 N AgNO₃ çözeltisi ile kiremit kırmızısı renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir (Bradley vd.,1992).

Kütlece % tuz miktarı:

$$T = \frac{S * 0.00585}{M} * 100$$

T=Örnekte kütlece % olarak tuz miktarı

S=Titrasyonda sarfedilen 0.1 N AgNO₃ miktarı

M=Titre edilen peynir örneği içindeki peynir miktarı, g (Demirci ve Gündüz, 2000).

% Kurumaddede tuz oranı:

$$\begin{aligned} & \% \text{ tuz} \\ \% \text{ kurumaddede tuz} &= \frac{\text{---}}{\% \text{ kurumadde}} * 100 \end{aligned}$$

Formülünden yararlanılarak hesaplanmıştır.

3.2.4. Kaşar peynirinde yapılan tekstür analizi

Tekstürel özelliklerin ölçümü TA.XT.plus Texture Analyzer cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizde 50 mm çapındaki silindirik başlık kullanılmıştır. Peynir örnekleri analize başlamadan 1 saat oda sıcaklığında tutulmuş ardından peynir örneklerinin iç, orta ve dış kısmından 1 cm³ boyutunda küpler kesilerek analize hazır hale getirilmiştir. Peynir örneklerine %50 örnek sıkıştırma ve 24.00 mm/dakika hız kullanarak, iki devirli sıkıştırma testi uygulanmıştır (Hu vd., 2013). Tekstür analizinde sertlik, sakızimsılık, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik olmak üzere 5 farklı parametre ölçülmüştür. Kaşar peynirleri örneklerinde tekstür profil analizleri 3 paralelli olarak yapılmıştır.

3.2.5. Kaşar peynirinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Analiz için Kaşar peynirlerinden örnek alınmış ve steril rendelerde rendelenmiştir. Rendelenmiş peynirlerden aseptik şartlarda 10 g alınarak üzerlerine 90 mL steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ilave edilmiştir. Steril havanda homojenize edildikten sonra ekimlerde uygun dilüsyonlar hazırlanarak kullanılmıştır. Tüm analizler iki paralel olarak yapılmıştır.

3.2.5.1. Koliform bakteri sayımı

Kaşar peyniri örneklerinde Koliform bakteri sayımı analizi için Eosin Metile Blue (EMB) agar besiyeri dilüsyon sıvısı olarak steril FTS kullanılmıştır (10 g / 90 mL). Sayımda damlama yöntemi kullanılmış ve ekim yapılan petriler 37°C' de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (Anonim, 1999). İnkübasyon sonunda, EMB besiyerinde üreyen koloniler sayıma alınmış ve sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak kob/g (koloni oluşturan birim/gram) olarak verilmiştir.

3.2.5.2. Stafilokok sayımı

Staphylococcus aureus gıda zehirlenmelerine neden olan patojen bir bakteridir. Patojen olan bu bakterinin ısıtılma işlemi görmüş gıdalarda bulunmasına izin verilmezken, olgunlaşmamış taze ürünlerde az sayıda bulunmasına izin verilmiştir. Peynir örneklerinde Stafilocok sayısı ISO 6888'e göre Baird Parker Agar (BPA) besiyerinde dilüsyon sıvısı olarak steril FTS kullanılarak belirlenmiştir. Petri kutuları 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. BPA besiyerinde etrafı saydam zonlu 1-1,5 mm çaplı siyah parlak koloniler *S. aureus* olarak diğer zonsuz tüm kolonilerde Stafilocok spp. olarak sayılmış ve sayı dilüsyon faktörü ile çarpılarak sonuçlar kob/g olarak verilmiştir (Halkman, 2005).

3.2.5.3. Laktobasil sayımı

Kaşar peyniri örneklerinde laktobasil sayımı için MRS agar (De Man-Rogosa ve Sharp agar, Merck) besiyeri, dilüsyon sıvısı olarak steril FTS kullanılmıştır (10 g/90 mL). Sayımda damla kültür yöntemi uygulanmıştır. Kültürler 30 °C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir (Özbaş, 1991; Kasımoğlu vd., 2004). İnkübasyon sonunda, MRS besiyerinde üreyen koloniler sayıma alınmış ve sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak kob/g olarak verilmiştir.

3.2.5.4. Laktokok sayımı

Kaşar peyniri örneklerinde bulunan laktokok sayımı için M17 agar (Merck) besiyeri, dilüsyon sıvısı olarak steril FTS kullanılmıştır (10 g/90 mL). Sayımda damla kültür yöntemi kullanılmış ve kültürler 30 °C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir (Özbaş, 1991; Kasımoğlu vd., 2004). İnkübasyon sonunda, M17 besiyerinde üreyen koloniler sayıma alınmış ve sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak kob/g olarak verilmiştir.

3.2.5.5. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı (TAMB)

Kaşar peyniri örneklerinde toplam canlı sayımı için PCA (Plate Count Agar, Merck) besiyeri, dilüsyon sıvısı olarak steril FTS kullanılmıştır (10 g/90 mL).

Sayımda damla kültür yöntemi kullanılmış ve kültürler 30 °C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir (Özbaş, 1991; Kasımoğlu vd., 2004). İnkübasyon sonunda, PCA besiyerinde üreyen koloniler sayıma alınmış ve sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak kob/g olarak verilmiştir.

3.2.6. Kaşar peynirinde yapılan duyuşal analizler

Kaşar peynirlerin duyuşal analizleri, 6 panelist tarafından puanlama yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Peynir örnekleri buzdolabından çıkarıldıktan sonra, 15-20 g'lık porsiyonlar halinde ekmek ve su ile panelistlere sunulmuştur. Panelistlerden; peynirleri görünüş, yapı, koku ve tat kalite karakteristikleri açısından değerlendirmeleri ve peynirlerde puan düşmesine neden olan kusur veya kusurlara göre puan vermeleri istenmiştir. Duyusal analiz, TSE 3272 Kaşarpeyniristandardındaki duyuşal değerlendirme formuna göre değerlendirilmiştir.

3.2.7. Sodyum dodesil sulfat poliakrilamid jel elektroforez analizi

Sodyum dodesil sulfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE), negatif yüklü SDS molekülleri içerisinde, poliakrilamid jel ortamında proteinlerin elektrik alan içinde moleküler ağırlıklarına göre sıralanması ve elektroforez boyama çözeltisi yardımıyla protein bantlarının görünür hale getirilmesi prensibine dayanmaktadır (Laemmli, 1970).

3.2.7.1. Elektroforez için peynir örneklerinin hazırlanması

Kaşar peyniri örneklerinden 20 mg tartılmış ve üzerlerine 400µl örnek tamponu eklenerek vortekslenmiştir. Ardından karışıma 5 µl 2-mercaptoethanol ilave edilerek protein denatürasyonu için 5 dakika 100°C'deki suda kaynatılan örnekler 20°C de depolanmıştır (Sambrook vd., 1989).

3.2.7.2. Kullanılan kimyasallar

Elektroforez analizinde;

- % 30'luk akrilamid çözeltisi,
- Layneer çözeltisi
- 1.5 M Tris (hidroksimetil)-aminometan ($\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) (pH 8.8),
- 1 M Tris (hidroksimetil)-aminometan ($\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$) (pH 6.8),
- % 10 (w/v)'luk Amonyum persulfat,
- % 10 (w/v) Sodyum Dodesil Sulfat (SDS),
- Yürütme Tamponu (Elektrot Tamponu, pH (8.3),
- TEMED (Tetramethylenediamine)
- Örnek Tamponu,
- Yıkama Çözeltisi,
- Boyama Çözeltisi kullanılmıştır.

3.2.7.3. Alt (% 15)ve üst jelin (% 5) hazırlanması

Jelin hazırlanmasında % 30 akrilamid karışımı, %10 SDS, % 10 Amonyum persulfat (APS), 1.5 M Tris (pH 8,8) ve 1.0 M Tris (pH 6,8) kullanılmıştır. Çizelge 3.2'de alt ve üst jellerin içeriği verilmiştir (Laemmli, 1970). Jeller hazırlandıktan sonra oluşan kuyucaklara 10 µl marker ve 15 µl örnekler yüklenmiştir.

Çizelge 3.2. SDS-PAGE alt ve üst jel içerikleri

Alt Jel (10 mL)	Üst Jel (5 mL)
Destile Su : 2.3 mL	Destile Su : 3.4 mL
% 30 Akrilamid Çözeltisi : 5.0 mL	% 30 Akrilamid Çözeltisi : 0.83 mL
1.5 M Tris (pH 8.8) : 2.5 mL	1.0 M Tris (pH 6.8) : 0.63 mL
% 10 SDS : 0.1 mL	% 10 SDS : 0.05 mL
% 10 APS : 0.1 mL	% 10 APS : 0.05 mL
TEMED : 0.004 mL	TEMED : 0.005 mL

3.2.7.4. Elektroforez yapılışı

Cam plakalar önce %70'lik metanol ile temizlenmiş ve sonra saf su ile yıkanmıştır. Ardından plakalar kurumaya bırakılmıştır. Plakalar arasına spacer konulmuş ve plakalar dik bir vaziyette elektroforez sistemine yerleştirilmiştir (Şekil 3.9).

Alt jel ve üst jel ayrı ayrı hazırlanmış, yükleme yapılacağı zaman bu jellerin donmasını sağlayan TEMED (Tetramethylenediamine) eklenmiştir.



Şekil 3.9. SPS-PAGE yürütme tankı ve güç kaynağı

İlk önce mikropipet yardımıyla plakalar arasına yukarıdan tarak hizasına kadar alt jel, (~9 mL) hızlı bir şekilde ilave edilmiştir. Alt jel ilavesinden sonra jelin düzgün olabilmesi için üzerine 1 mL Layneer çözeltisi katılmıştır. En az 20 dakika beklenmiş, jelin yeterince donması sağlanmıştır. Alt jel donduktan sonra üzerindeki Layneer çözeltisi dökülmüştür. Ardından üst jel ilave edilmiştir ve jel donmadan örnekleri koyacağımız kuyucukları oluşturmak için jelin üzerine tarak yerleştirilmiştir. Tarak 8-10-12 tane diş içerir ve bu dişlerin bulunduğu kısım jel üzerinde polimerizasyondan sonra kuyucuk olarak kalır. Jelin donması için en az 20 dakika beklenmiştir. Tarağın uç kısımları kuyucukların belli olması için cam plakaların dış kısmından işaretlenmiştir. Jel donduktan sonra tarak dikkatli ve yavaş bir şekilde çekilmiş ve kuyucuklar oluşmuştur. Elektroforez sisteminin en üstüne kadar yürütme tamponu (elektrot tamponu) eklenmiştir.

Örnek tamponu ilave edilerek hazırlanmış örnekler kuyucuklara 15 µl, ilk kuyucuğa marker 10 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. Sistem havuz içerisine yerleştirilmiş ve önceden belirlenmiş çizgisine kadar elektrot tamponu eklenmiştir. Jel 80-100 V arasında yürütülmüştür. Protein elektroforezi bittikten sonra jel sistem üzerinden çıkarılmıştır. Jel çıkartıldıktan sonra bir miktar

boyama çözeltisi içerisinde konulmuş ve 1 gün boyama çözeltisinde beklemiştir. 1 gün sonra boyama çözeltisinden alınmış, yıkama çözeltisiyle 2 defa yıkanmış ve sonra bir gün yıkama çözeltisinde bırakılmıştır. Ardından saf suyla yıkanarak saklanmıştır (Şahintürk, 2016).

3.2.8. HPLC metodu ile peptid profili değişimi

Peynirlerdeki peptidlerin analizinde ters faz Shimadzu LC-20 AT (Kyoto-JAPAN) serisi Yüksek performans sıvı kromatografisi (HPLC) ile Zorbax 300 SB-C8 monometrik kolon kullanılmıştır. Kaşar peyniri örnekleri liyofilize edildikten sonra 0.2g/5mL oranında %0.1 Triflorasetik asit(%0.1 TFA deiyonize su içerisinde) içerisinde çözölmüş ardından 14000dev/dk 4°C de 30 dakika santrüj edilmiştir. Santrifüj edilen peynir örnekleri 0.45 µm çaplı filtreden geçirilmiştir (Donkor vd., 2007).

3.2.8.1. Kimyasalların hazırlanması

HPLC’de kullanılacak olan mobil faz çözeltileri:

A çözeltisi: %0.1 TFA (deiyonize suda)

B çözeltisi: %0.08 TFA (%100 asetonitrilde)

HPLC’de kullanılacak olan mobil faz çözeltileri hazırlandıktan sonra, bir süre ultrasonik banyoda bekletilerek içlerindeki hava kabarcıklarının uzaklaşması sağlanmıştır. Kaşar peynirleri örneklerindeki peptidlerin tayini için kullanılan HPLC cihazının özellikleri ve kromatografik koşulları Çizelge 3.3’de verilmiştir.

Çizelge 3.3. HPLC cihazının özellikleri ve kromatografik koşulları

HPLC cihazı	Shimadzu, LC-20 AT (Kyoto-JAPAN)
Akış Hızı	1,0 mL/dk
Dedektör	214 nm, PDA (Photo Diode Array) SPD-20A
Pompa	LC 20 AT dörtlü gradient pompa
Degazör	Shimadzu, DGA-20A5
Enjekte Hacmi	75 µl

Kolon Fırını	Shimadzu, CTO-10AS
Kolon Sıcaklığı	45 °C
Kullanılan Kolon	C-8 (250x9,4nm, ID) Zorbax, Agilent Technologies
Basınç	100-110 psi
Analiz süresi	100 dk

3.2.9. İstatistiksel değerlendirme

Kaşar peyniri denemeleri üç tekerrürlü olarak yapılmış ve istatistiksel analizler, SPSS 16.0 istatistik paket programı kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuş ve Duncan çoklu karşılaştırma testine göre % 95 güven aralığında değerlendirilmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Bu bölümde Kaşar peynirlerinin üretimi için kullanılan çiğ süte ait bazı fizikokimyasal özellikler ile Kaşar peynirlerinde 90 günlük olgunlaşma sürecinde meydana gelen fiziko-kimyasal, tekstürel, mikrobiyolojik duyusal. HPLC ve elektroforetik özellikleri ayrı ayrı incelenmiştir.

TG enziminin 90 günlük olgunlaşma sürecinde Kaşar peynirine etkisi tartışılmış, bulunan analiz sonuçları istatistiksel yönden değerlendirilmiş ve bu konudaki daha önce yapılmış olan çalışmalarla da karşılaştırılarak, elde edilen bulgular yorumlanmıştır.

4.1. Kaşar Peyniri Yapımında Kullanılan Çiğ Sütün Bileşimi

Çalışmada, TG ilave edilerek ve edilmeksizin iki ayrı Kaşar peyniri denemesi yapılmıştır. Kaşar peyniri üretiminde kullanılan çiğ inek sütünün bileşimi Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çizelge 4.1’de verildiği gibi peynir üretiminde kullanılan sütün ortalama pH değeri 6.6, laktik asit cinsinden titrasyon asitliği % 0.15, kurumadde oranı % 10.23, yağ oranı % 2.2 ve protein oranı % 3.3 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Çiğ inek sütünün bileşimi

Özellikler	Çiğ süt
pH	6.60±0.14
Titrasyon asitliği	6.70±0.20
Protein	3.30±0.02
Kuru madde	10.23±0.28
Yağ	2.2±0.46
Yağsız kuru madde	8.13±0.35

Türk gıda kodeksi çiğ süt ve ısıtılmış içme sütleri tebliği’ne göre; çiğ inek sütünde titrasyon asitliğinin laktik asit cinsinden % 0.135 ile % 0.20 arasında, toplam protein oranının en az % 2.8 ve yağsız kurumadde oranının ise en az %8.5 olması gerektiği belirtilmiştir (Anonim, 2000).

Çalışmamızda kullandığımız çiğ sütte bulunan değerler ile bu değerler karşılaştırıldığında, titrasyon asitliği ve protein değerleri olması gereken değerlerde olduğu belirlenmiştir. Peynir üretimi yarım yağlı süttten gerçekleştirildiği için sütün yağ oranı yarım yağlı peynir olacak şekilde ayarlanmıştır.

4.2. TG Enzimi Aktivite Tayini Analiz Sonuçları

Pekçok enzim substratı, ürünü veya koenzimi, görülen ışıktta veya ultraviyole ışıktta bir tepe değeri göstererek, absorbans vermektedir. Bu takdirde ya substratın kaybolması yada ürünün meydana gelişi gibi koenzimdeki değışiklik spektrofotometreden tayin edilmektedir (Grossowich vd., 1950). Spektrofotometrik yöntem, substrat olarak kullanılan Hidroksiamin Hidroklorid+Glutamine'nin TG'nin etkisiyle parçalanması sonucu oluşturdıkları absorbansın belirlenmesine dayanmaktadır. Denemeler enzim içermeyen bir "paralel kontrol" eşliğinde yürütölmüş ve analiz sonucuna göre TG enziminin aktif olduğu belirlenmiştir.

4.3. Kaşar Peynirlerine Ait Fiziko-Kimyasal Analiz Sonuçları

4.3.1. Kaşar peynirlerinin asitlik değeri

Asitlik, peynire işlenecek olan çiğ sütün pıhtılaşması ile başlamakta, olgunlaşma boyunca devam etmektedir. Peynirdeki asitliğin büyük çoğunluğu kazein ve parakazein gibi azotlu maddelerden, diğeri kısmı da olgunlaşma boyunca, laktoz fermentasyonunda ortaya çıkan laktik asit, asetik asit, formik asit, bütirik asit, ve lipoliz sonucunda meydana gelen serbest yağ asitleri ile proteoliz sonucunda ortaya çıkan serbest aminoasitlerden kaynaklanmaktadır (Şimşek, 1995; Akın ve Şahan, 1998; Fox vd., 2000).

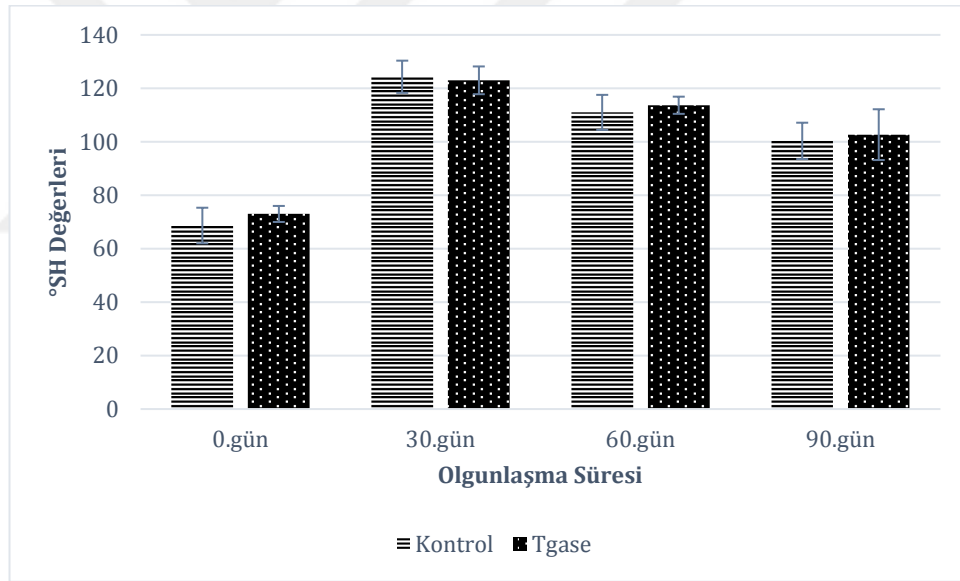
TG enzimi ilave edilerek üretilen ve kontrol Kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresindeki asitlik değeri değışimleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu değeriğin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2.Kaşar peyniri örneklerine ait asitlik değerleri (°SH)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	68.6±6.65 ^{Da}	124.3±6.02 ^{Aa}	111.0±6.55 ^{BCa}	100.3±6.80 ^{Ca}
TGİlaveli Örnek	73.0±3 ^{Da}	123.0±5.19 ^{Aa}	113.6±3.21 ^{ABa}	102.6±9.50 ^{BCa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı (p>0.05), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).

Olgunlaşma sürecinin başlangıcından 90. güne kadar yani depolamanın bitimine kadar TG eklenmiş Kaşar peynirinde 0. gün asitlik değeri 73.0±3 °SH iken olgunlaşma bitiminde bu değer 102.6±9.50°SH, kontrol örneklerinde ise 0. gün asitlik değeri 68.6±6.65 °SH iken olgunlaşma sonunda asitlik değeri 100.3±6.80 °SH'ya ulaşmıştır.



Şekil 4.1. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin °SH değişimi

Bu çalışmada Kaşar peyniri örneklerinin asitlik değerleri ilk 30 gün içerisinde hızlı bir artış gösterip, depolama süresince en yüksek asitlik değerine ulaşmıştır. Bunun nedeni starter kültür olarak kullandığımız laktik asit bakterilerinin laktoz metabolizması sonucu oluşturdukları laktik asitten kaynaklanmıştır. Benzer şekilde Beyaz peynirde yapılan bir çalışmada TG ile muamele edilmiş örneklerde ve kontrol örneklerinde depolamanın ilk 30 günü içerisinde toplam asitlik değerleri hızlı bir artış göstermiştir. Olgunlaşmanın 30. gününden

itibaren TGilaveli Beyaz peyniri örneklerinde toplam asitlik değerleri kısmen dengeye ulaşırken kontrol örneklerinde asitlik artışı azalan bir hızla devam etmiştir (Şener, 2012).Bizim çalışmamızda bu durum farklı olarak,30. günden sonra,90. güne kadar olgunlaşma süresi ilerledikçe asitlik değerleri her iki peynir örneğinde de düşüş sergilemiştir.Bunun nedeni ise yine laktik asit bakterilerinin olgunlaşma ilerledikçe proteolize neden olmaları olarak gösterilebilir. Ayrıca buna ek olarak, peynirlerin tuzlanması tuzda bulunan Ca ve Mg iyonlarının laktik asitle reaksiyona girerek asitliğin azalmasında etkili olduğu bildirilmiştir (Yetişmeyen, 1987). Çalışmamızla benzer şekilde Kaşarpeynirinde Tarakçı ve Küçüköner (2006)'inKaşar peyniri ile ilgili yaptıkları bir çalışmada, (%) asitliğin 60. güne kadar arttığını ardından 90. günde asitlik değerlerinin azaldığını tespit etmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada Kaşar peynirinde TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde asitlik ($^{\circ}\text{SH}$) değişimine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin asitlik üzerinde istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.3.2. Kaşar peynirlerinin pH değerleri

TG enzimi ilave edilerek üretilen ve Kontrol Kaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süresindeki pH değerleri değişimleri Çizelge 4.3'de, bu değerlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.2'de gösterilmiştir.

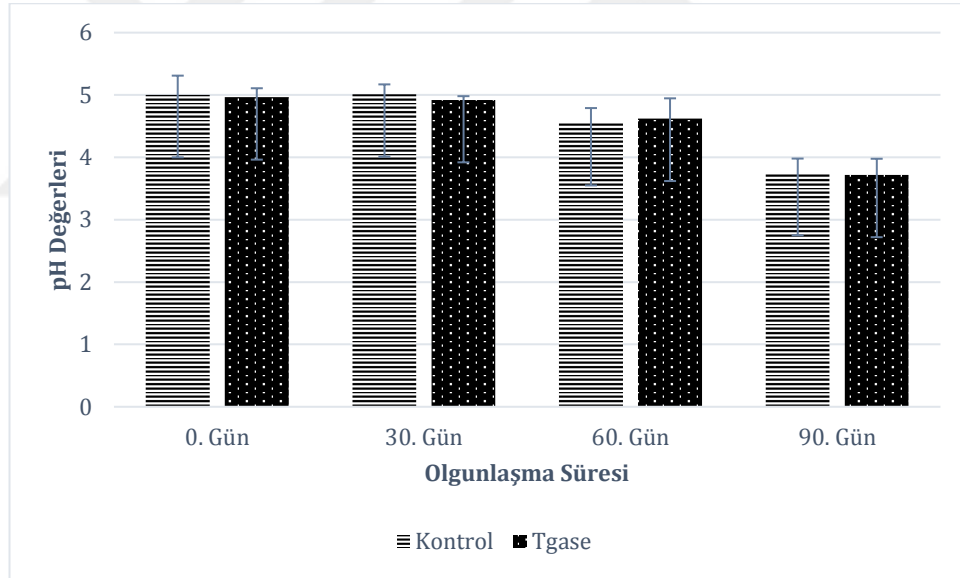
Çizelge 4.3.Kaşar peyniri örneklerine ait pH değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	5.0±0.31 ^{Aa}	5.01±0.16 ^{Aa}	4.55±0.24 ^{Ba}	3.75±0.23 ^{Ca}
TG İlaveli Örnek	4.96±0.14 ^{ABa}	4.92±0.06 ^{ABa}	4.62±0.32 ^{ABa}	3.72±0.25 ^{Ca}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Çalışmamızda olgunlaşma süreci boyunca kontrol Kaşar peyniri örneğinde pH değeri 3,75-5 aralığında, TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinde ise pH değeri 3.72-

4.96 aralığında bulunmuştur. Yaşar, (2007) farklı pıhtılaştırıcı enzimler kullanılarak üretilen Kaşar peynirlerinin pH değerlerini olgunlaşma süresince 5.16 ile 5.31 arasında değiştiğini bulmuştur. Rehman vd. (2000), Kaşar peynirine benzeyen Çedar peynirlerinin olgunlaşmasını inceledikleri bir çalışmada pH değerlerinin 5.19–5.25 arasında değiştiğini tespit etmişlerdir. Atamer vd. (1996) tarafından yapılan Kaşar peynirinde, olgunlaşmanın ilk 30. gününde pH değerleri azalma sergilemiştir. Ardından 60. günde artış gösteren pH değerlerinin 90. günde tekrar azalma gösterdiğini belirtmişlerdir. Wang (2001) ise Çedar peynirlerinde pH değerlerinin olgunlaşma süresince 4.89 olduğunu belirtmiştir. Bizim çalışmamızda ise olgunlaşma sürecinin başlangıcından 90. güne kadar yani depolamanın bitimine kadar tüm Kaşar peyniri örneklerinin pH değerleri Wang (2001)'in çalışmasındaki gibi sabit bir değerde kalmamış, düşüş sergilemiştir.



Şekil 4.2. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin pH değişimi

Bu çalışmada Kaşar peynirinde TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde pH değişimine etkisinin olmadığı ($p>0.05$), asitlik değerine benzer şekilde olgunlaşma süresinin peynirlerin pH değerleri üzerinde etkisinin önemli olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$).

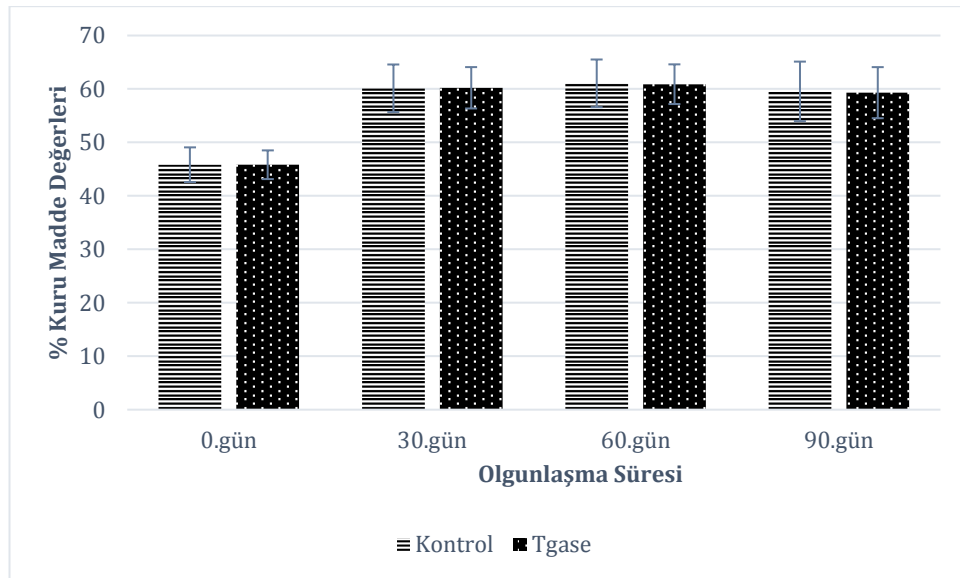
4.3.3. Kaşar peynirlerinin toplam kuru madde değerleri

Kaşar peyniri denemelerinin toplam kuru madde değerleri 90 günlük depolama sürecince %45.8-%61 aralığında bulunmuştur (Çizelge 4.4). TSE3272 Kaşarpeyniri standardında peynirlerdeki nem oranı en çok % 40 olması gerektiği bildirilmiştir. Kaşar peyniri örneklerinde kuru madde değerleri olgunlaşma süresince bu değere uygun bulunmuştur. Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince kuru madde oranlarında görülen değişimler Çizelge 4.4’de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.4.Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru madde değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	45.8±3.24 ^{Ba}	60.1±4.45 ^{Aa}	61.0±4.46 ^{Aa}	59.5±5.57 ^{Aa}
TGİlaveli Örnek	45.8±2.68 ^{Ba}	60.2±3.87 ^{Aa}	60.8±3.71 ^{Aa}	59.3±4.77 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.3. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % kuru madde oranlarının değişimi

Olgunlaşmanın ilk gününde iki farklı Kaşar peynirinin kurumadde oranları birbirlerine yakın bulunmuştur. Bu durum olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde

de devam etmiştir (Çizelge 4.4). Kaşar peyniri üzerine yapılan pek çok çalışmada araştırmacılar, vakum paketlenmiş Kaşar peynirlerinin kuru madde düzeylerinde, olgunlaşma süreci boyunca önemli bir artışın olmadığını tespit etmişlerdir (Metin ve Öztürk, 1991; Keçeli vd., 2006; Çürük, 2006). Nitekim bu çalışmada da Kaşar peyniri örnekleri 0. gün analizleri yapıldıktan sonra 5 gün olgunlaşmaya bırakılmış ve ardından vakum paketlenmiştir. Bu yüzden olgunlaşmanın ileriki safhalarında kuru madde değerlerinde önemli değişim görülmemiştir.

Şekil4.3'de görüldüğü gibi olgunlaşma süreci boyunca tümKaşar peyniridenemelerinde kurumadde düzeylerinde 0. günden 30. güne kadar belirgin bir şekilde artış, 30. günden 60. güne kadar kısmi bir artış, ardından da 60. günden 90. güne kadar yani depolama sürecinin sonuna kadar sınırlı bir azalma göstermiştir. Bu durum depolamanın ilk evresinde tuz geçişine bağlı bir kurumadde artışı, ardından da olgunlaşma sürecinde proteolizde meydana gelen değişimle ilişkilendirilmektedir. Kaşar peyniri örneklerinde elektroforetik analiz sonucunda proteolizin sınırlı bir şekilde gerçekleştiği görülmüştür. Bu yüzden kuru maddede ki azalmanın sınırlı gerçekleştiği düşünülmektedir. Ayrıca Kaşar peynirlerinin asitlik değerlerinin artması, kazeinin yapısında daha az su tutmasına yani peynirlerin kuru madde oranının artmasına neden olmaktadır.

TG'nin sistemdeki rolü lizin ve glutamin arasındaki bağları oluşturarak ek su moleküllerinin tutulabileceği daha karmaşık bir matris oluşturmaktır(Rachel ve Pelletier, 2013).Özrenk (2006) ile Gauche vd. (2009), kazein misellerinin TG ile çapraz bağlamayla su tutma kapasitesinin arttığını, bunun da rennet jel ağında daha fazla serbest su sıkıştırılabileceği anlamına geldiğininve bu nedenle nem içeriğinin arttığını belirtmişlerdir. Ayrıca bu etki yağsız peynir için tam yağlı peynirden daha belirgin olarak tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar düşük yağ içeriğine sahip yoğurtlarda da gözlemlenmiştir (Lorenzen vd., 2002).Yoğurt endüstrisinde sinerezisi önlemek için kullanılanTG enzimi, peynir yapımında, Panela peynirinde nem içeriğini olumlu yönde etkilemiştir (Motoki ve Seguro, 1998; Salinas-Valdés vd., 2015).Peynirde nem içeriği verimi etkileyen en önemli faktördür. TG katkılı Panela peyniri çalışmasında elde edilen peynirlerin nem

içeriği % 59.5 ile % 69.5 arasında değişirken, taze panela peynirinde tipik nem içeriği %50 ile %60 arasındadır (Salinas-Valdés vd., 2015). Aynı şekilde Beyaz peynirde Şener (2012)'in yaptığı çalışmada TG uygulaması ile peynir örneklerinin kuru madde değerleri kontrol örneklerinden belirgin bir şekilde düşük bulunmuştur. TG'nin protein matriksinin su bağlama derecesini artırmasına bağlı olarak sinerezin zayıfladığı ve toplam kuru maddenin düştüğü belirlenmiştir. TG ile muamele edilerek yapılmış Edam peynirinde yapılan bir çalışmada ise TG ilave edilmiş peynirlerde enzime bağlı olarak nem artışı meydana gelmiş ve verim %4 oranında artmış bulunmuştur. Çedar peynirinde yapılan çalışmada da aynı şekilde peynire TG eklendikten sonra daha fazla su içeriği ve buna bağlı olarak daha fazla verim elde edilmiştir. Bununla birlikte TG-protein ağı-nem ilişkisi daima pozitif değildir. Camolezi ve Pedroso (2015)'ya göre bir protein matrisinin su tutma kapasitesi molekül içi ve molekül arası peptit bağlarının sayısına bağlıdır. Bu nedenle, TG konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa, protein-protein bağlarının sayısı artacağından, protein-su etkileşimleri azalmaktadır (Salinas-Valdés vd., 2015). Çalışmamızda, bu çalışmalara benzer şekilde su tutma kapasitesinde veriminde artış veya TG ilave edildikten sonra protein-su etkileşimlerinde azalma görülmemiştir. Bunun sebebinin peynirlerin vakum paketlenmesi, 65-70°C gibi yüksek sıcaklıklarda yapılan haşlama işlemi ve yoğurma gibi fiziksel işlemlerden kaynaklı TG enziminin etkinliğini yerine getirememesi olarak düşünülmüştür.

İstatistiksel analiz sonucunda, TG uygulaması ile Kaşar peyniri örneklerinin kuru madde değerleri, kontrol örneklerinin kuru madde değerlerine göre belirgin bir şekilde farklı çıkmamıştır ($p > 0.05$). Peynir örneklerindeki kuru madde değerleri açısından olgunlaşma süresi istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

4.3.4. Kaşar peynirlerinin yağ oranları

Deneme Kaşar peynirleri yapılırken yağı azaltılmış çiğ süt kullanılmıştır. Deneme Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince yağ oranlarındaki değişimler Çizelge 4.5'de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.4'de

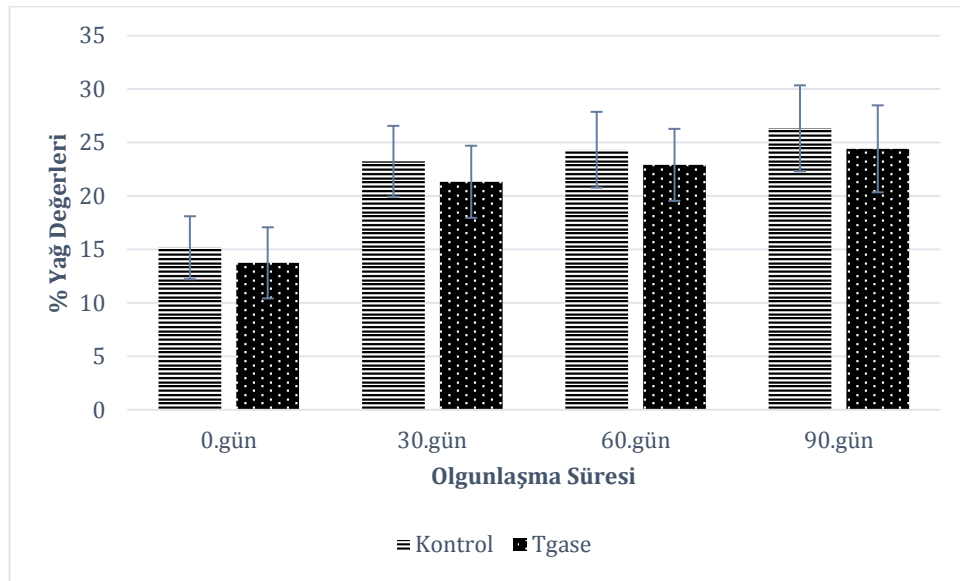
verilmiştir. Kontrol Kaşar peyniri örneklerinin yağ oranları 90 günlük depolama sürecinin başlangıcında %12-19 aralığında değişirken, olgunlaşma sonrasında yağ oranları %21-30 arasında ve TG ilave edilen Kaşar peyniri örneklerinin yağ oranları olgunlaşmanın 0. gününde %10-18 aralığında iken, 90 günlük depolama sonucunda ise yağ oranları %20-29 aralığında bulunmuştur.

Çizelge 4.5. Kaşar peyniri örneklerine ait % yağ oranları

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	15.1±2.94 ^{Ca}	23.2±3.31 ^{ABa}	24.3±3.54 ^{ABa}	26.3±4.02 ^{Aa}
TG İlaveli Örnek	13.7±3.32 ^{Ca}	21.3±3.37 ^{Ba}	22.91±3.36 ^{ABa}	24.41±4.06 ^{ABa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Çizelge 4.5’den da görülebileceği gibi olgunlaşma sürecinin 0. gününde TG ilaveli Kaşar peynirlerinin % yağ oranları kontrol örneğinden düşük bulunmuştur. Benzer durum tüm olgunlaşma periyodunda devam etmiştir. Ancak bu farklılık istatistiksel analiz sonucunda önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$). Yapılan iki farklı Kaşar peyniri örneğinde % yağ oranları açısından olgunlaşma süresi istatistik olarak önemlidir ($p<0.05$).



Şekil 4.4. Olgunlaşma süresi boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % yağ oranlarının değişimi

Kaşar peynirlerinde yapılan çalışmalarda olgunlaşma süresince yağ oranının arttığı araştırmacılar tarafından gözlemlenmiştir (Atamer ve ark., 1999; Aydemir, 2000; Yaşar, 2000; Güven ve Tatar Görmez, 2004). Çalışmamızda da benzer şekilde Kaşar peyniri denemelerinde de olgunlaşma periyodu boyunca yağ oranları artış göstermiştir.

Son yıllarda TG kullanılarak düşük yağlı ya da yağı azaltılmış süt ürünlerinin özelliklerinin iyileştirilmesi için birçok çalışma yapılmıştır (Yokoyama vd., 2004; Özer vd., 2007). Başta yoğurt olmak üzere peynir dondurma ve ayran ile ilgili yağ oranı düşürülmüş ya da yarım yağlı süt ürünlerinde TG'nin etkisi araştırılmış ve enzimin süt ürünlerinde yağ ikame maddesi yerine kullanılabileceği belirlenmiştir. TG enziminin yoğurt dondurması üretiminde önemli bir uygulama potansiyelinin bulunduğu ve yağ içeriği azaltılmış yoğurt dondurmalarında yağın azaltılması ile oluşabilecek fiziksel, tekstürel ve duyuşsal bazı olumsuzlukların giderilmesinde TG enzimi kullanımının mümkün olabileceği belirlenmiştir (Kırımhan, 2011). Peynir yapımı sırasında ise TG ile kataliz edilen güçlü rennet jelinin, peynir pıhtısının parçalanması ve kırılmasını önleyebildiğinden, protein ve yağ kaybı azalttığı belirlenmiş ve dahası, ilave çapraz bağlanma ile peynir pıhtısı matriksindeki serbest hacmin arttığı tespit edilmiştir. Böylece peynir altı suyu tutma kapasitesinde artışın sağlandığı saptanmıştır (Pierro vd., 2010).

Kaşar peynirleri örneklerinde yağ oranları üzerine TG enziminin olumlu bir etkisinin olmadığı aksine TG ile muamele edilmiş peynir örneklerinin kontrol örneğine göre yağ oranlarının düştüğü görülmüştür. Düşük yağlı Çedar peynirinde proteinin, yağ geri kazanımının ve verimin TG uygulamasıyla önemli ölçüde geliştiği görülmüştür. Düşük yağlı Çedar peynirinin protein ve yağ geri kazanımları anlamlı derecede tam yağlı Çedar peynirinden düşük bulunmasına rağmen tam yağlı TG ilaveli ve tam yağlı kontrol Çedar peynirlerinde protein ve yağ geri kazanımlarında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. Ancak çalışmamızdan farklı olarak az yağlı peynirler için TG enziminin yağ kaybını önemli ölçüde azaltıldığını belirlemişlerdir (Hu vd., 2013).

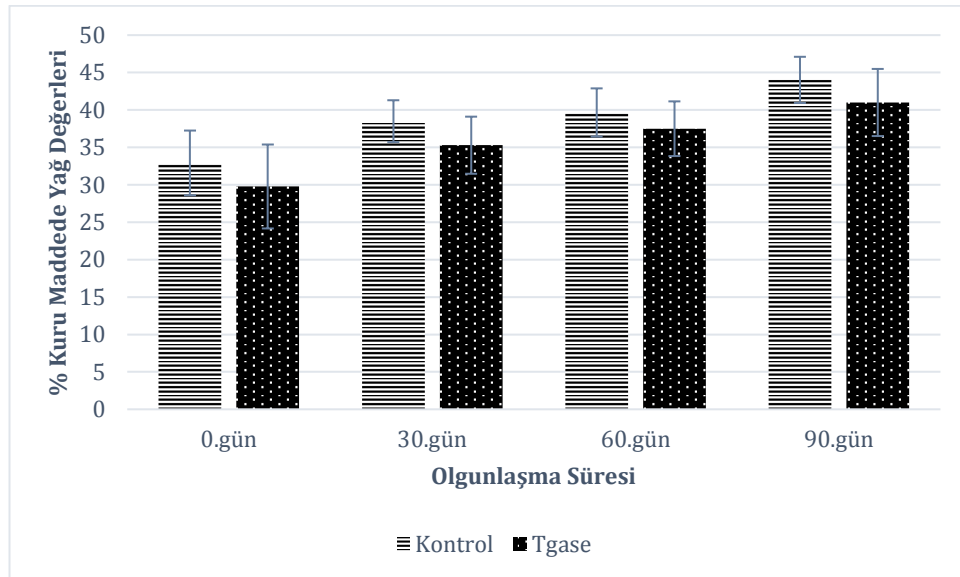
4.3.5. Kaşar peynirlerinde kuru madde de yağ oranları

Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince kuru maddedeki yağ oranlarındaki değişimler Çizelge 4.6'da ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.5'de verilmiştir. Olgunlaşma döneminin başlangıcında kontrol örneğinde %27.66-37.86 aralığında yer alan kurumaddede yağ oranları TG ilaveli Kaşar peyniri örneklerinde %22.62-36.51 değerleri arasında, 90 gün sonunda kontrol örneklerinin kuru maddede yağ oranları %40.47-48.04 aralığında TG ilaveli örneklerde ise bu değerler %37.63-47.04 arasında bulunmuştur. Kuru maddede yağ oranlarındaki fazla miktarda farkın olması kurumadde değerlerinde ve yağ oranında meydana gelen değişimlerden kaynaklanmıştır.

Çizelge 4.6. Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru maddede yağ oranları

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	32.9±4.32 ^{DEa}	38.5±2.79 ^{BCa}	39.6±3.22 ^{ABCa}	44.01±3.08 ^{Aa}
TG ilaveli Örnek	29.7±5.60 ^{Eb}	35.2±3.81 ^{CDb}	37.4±3.65 ^{BCDb}	40.9±4.48 ^{ABb}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı (p<0.05), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir (p<0.05).



Şekil 4.5. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % kuru maddede yağ oranlarının değişimi

Yapılan bu çalışmada Kaşar peynirinde TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde kuru madde de yağ değişimine etkisinin olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Aynı şekilde peynirlerde olgunlaşma süresinin kuru maddede yağ değerleri üzerinde istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Bu çalışmadan farklı olarak beyaz peynirde yapılan çalışmada depolama süresinin, mayalama sıcaklığının ve TG uygulamasının kurumaddede yağ içerikleri üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

4.3.6. Kaşar peynirlerinin kuru madde de tuz oranları

Tuz miktarı, peynirde; mikroorganizma faaliyetleri, para-k-kazeinin hidrasyonunu, enzimatik aktiviteyi ve glisikoliz, proteoliz, lipoliz gibi biyokimyasal reaksiyonları düzenleyerek peynirin tat ve aromasını, reolojisini, tekstürel, pişirme ve erime özelliklerini etkileyerek sonuçta peynirin kalitesini belirlemekte ve peynirin olgunlaşmasını kontrol etmektedir (Guinee, 2004, Rowney vd., 2004).

TG enzimi kullanılarak üretilen ve kontrol Kaşar peynirlerinin kuru madde de tuz oranları Çizelge 4.7’de ve 90 günlük depolama süresindeki değişimleri Şekil 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.7. Kaşar peyniri örneklerine ait % kuru madde de tuz oranları

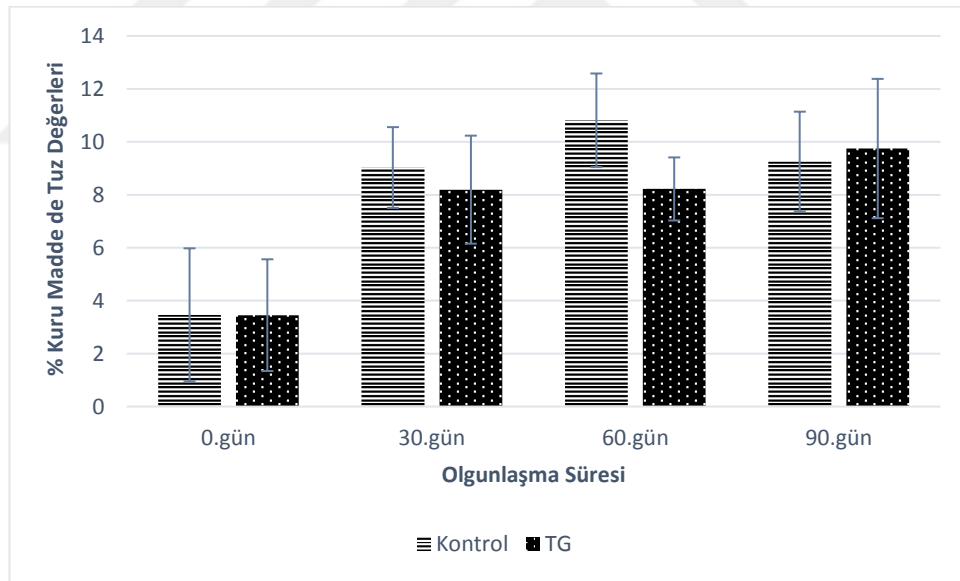
Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	3.46±2.51 ^{Ba}	9.03±1.52 ^{Aa}	10.81±1.76 ^{Aa}	9.25±1.88 ^{Aa}
TG İlaveli Örnek	3.45±2.1 ^{Ba}	8.19±2.03 ^{Aa}	8.22±1.19 ^{Aa}	9.74±2.63 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Tüm Kaşar peyniri örneklerinde kuru tuzlama ile tuz geçişi olgunlaşmanın ilk günlerinde içerisinde büyük ölçüde tamamlanmıştır. Peynirlerin tuz oranları depolama süresince düzensiz bir değişim göstermiştir. Şekil 4.6’de görüldüğü

gibi peynirlerin tuz oranları olgunlaşmanın ilk gününde birbirlerine yakın değerlerde çıkmıştır. Ancak benzer durumun olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde devam etmediği belirlenmiştir. Bunun sebebinin Kaşar peyniri örneklerinde iri baş tuz ile kuru tuzlama yapılmasından ve tuzun peynirlere eşit ölçüde geçmeyişinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

TSE 3272 Kaşar peyniri standardına göre taze Kaşar peynirinde, kuru maddede tuz oranı %3'ten ve olgunlaştırılmış Kaşar peynirinde, kuru madde de tuz oranı %4'ten yüksek olmaması gerekmektedir. Kontrol Kaşar peynirinin kuru madde de tuz içeriği olgunlaşmanın başında 3.46 ± 2.51 iken 90 gün sonunda bu değer 9.25 ± 1.88 'e, TG ilaveli Kaşar peynirinde ise 0. olgunlaşma gününde kuru madde de tuz içeriği 3.45 ± 2.1 iken olgunlaşma sonunda 9.74 ± 2.63 'ye ulaşmıştır. Kuru madde de tuz oranlarının yüksek çıkmasının sebebi peynirlerde kuru tuzlama yapılmasıdır.



Şekil 4.6.Olgunlaşma süresi boyunca Kaşar peyniri örneklerinin % tuz oranlarının değişimi

Kaşar peynirlerinde yapılan birçok araştırmada araştırmacılar, olgunlaşma süresince kuru madde değişimlerine bağlı olarak peynirlerin tuz oranlarının arttığını gözlemlemişlerdir (Öztürk, 1993; Tunçtürk, 1996; Aydemir, 2000). Bu çalışmada da benzer şekilde 0.günden sonra kuru maddenin artmasına bağlı

olarak tuz oranları 30. güne kadar artış göstermiş daha sonra depolama sürecinin sonuna kadar dalgalanmalar gözlemlenmiştir.

TG enziminin tuz üzerinde etkisinin olup olmadığı kuru tuzlama yapıldığı için gözlemlenememiştir. İstatistiksel analiz sonucunda peynirlerin tuz oranları arasında fark belirlenmemiştir ($p>0.05$). Bununla birlikte olgunlaşma süresinin tuz oranlarını etkilediği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

4.4. Kaşar Peynirlerine Ait Tekstür Analizi Sonuçları

Ürünün yalnızca katı fazını temsil eden proteinler peynir dokusunda önemli rol oynamaktadırlar (Adda vd., 1982). Protein içeriği ne kadar yüksek olursa, peynir örneğini deforme etmek için gereken kuvvet o kadar yüksek olmaktadır (Steffen, 1975). Peynir gibi materyallerin reolojisi, bir stres ya da gerilime maruz kaldıklarında deformasyonunun ve akışının incelenmesi olarak tanımlanabilir. Peynirlerin bu stres yada zorlamalara karşı maruz kalması durumunda davranışı; sertlik, esneklik yapışkanlık gibi tanımlayıcı terimlerle ifade edilmektedir (Ahmed vd., 2015).

Bu çalışmada Tekstür Profil Analiz (TPA) cihazı kullanılmış ve TG enziminin Kaşar peynirlerinde sertlik (hardness), esneklik (springiness), iç yapışkanlık (cohesiveness), çiğnenebilirlik (chewiness) ve sakızımsılık (gumminess) gibi beş farklı parametre üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Daha öncede değinildiği gibi TG enziminin taze süt ürünlerinde, kremada ve peynirde tekstürel özellikleri geliştirdiği bilinmektedir

Peynirde tekstürü, peynirin proteoliz oranı, pH'sı, kurumaddesi ve tuzu etkilemektedir (Lawrence vd., 1987). Tekstür parametreleri iç yapışkanlık hariç birbirleriyle korelasyon halindedir. Kuru maddedeki yağ yalnızca sertlik ve esneklik ile korelasyon gösterir (Ahmed vd., 2015). Sertlik, iç yapışkanlık, esneklik, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik ile taze ve olgunlaşma dönemindeki peynirlerin yağ yüzdesi arasında ters bir ilişki bulunmuştur. Bu, yağ içeriği azaldığında bu parametrelerin arttığı anlamına gelir. Kahyaoğlu vd. (2005)

Gaziantep peyniri (pasta filata) üretiminde yağ oranını %50.4'ten (tam yağlı) %13.5'e (düşük yağlı) azaltmanın sonucunda peynirde sakızımsılık, sertlik, iç yapışkanlık ve esneklik gibi dokusal parametreleri arttırdığını belirlemişlerdir.

4.4.1. Sertlik değerleri

Peynir ilk sıkıştırmada uygulanan maksimum kuvvete sertlik denilmektedir(Kim vd., 2004). Diğer bir ifadeyle birinci sıkıştırma sırasında numunenin yüksekliğinin yarısını sıkıştırmak için gereken maksimum kuvvettir (Salinas-Valdés vd., 2015). Sertlik, peynirde bulunan nem ve tuz oranı ile ilgili olup, peynirin nem oranı artıkça sertlik azalmakta, tuz oranı artıkça ise tam tersi sertlik artmaktadır (Kaya, 2002).

Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince sertlik değerlerindeki değişimler Çizelge 4.8'de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.8.Kaşar peyniri örneklerine ait sertlik değerleri

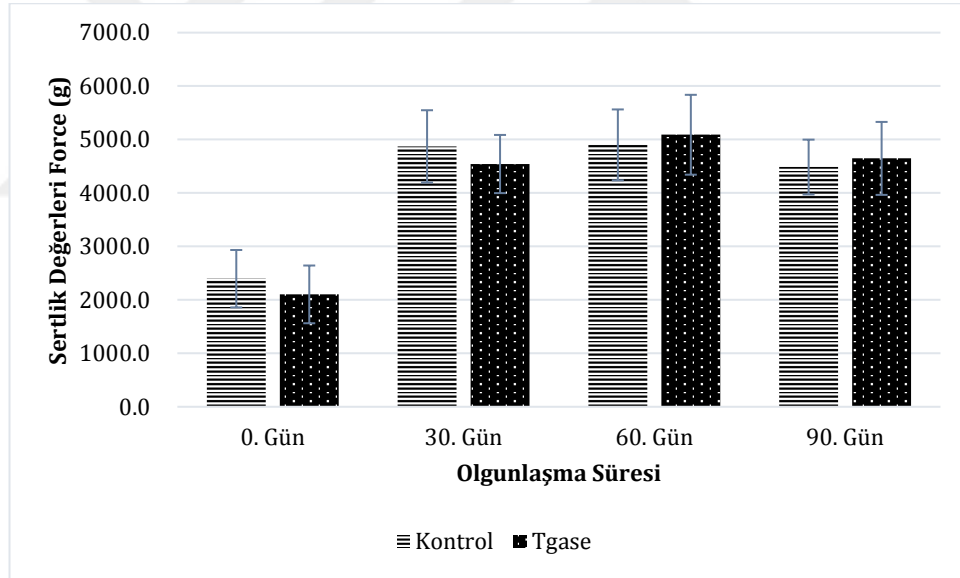
Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	2396.2±536.9 ^{Ba}	4871.8±675.9 ^{Aa}	4899.5±663.4 ^{Aa}	4484.8±512.9 ^{Aa}
TG İlaveli Örnek	2102.7±539.8 ^{Ba}	4541.6±544.3 ^{Aa}	5089.3±747.16 ^{Aa}	4646.9±682.5 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Olgunlaşmanın ilk gününde deneme Kaşar peyniri gruplarında sertlik değerleri çok düşüktür. Bunun sebebinin henüz taze olan peynirlerin tuzlamamış ve yeterince su salmasını gerçekleştirmemiş olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Kontrol örneği ile TG ilaveli Kaşar peynirinin sertlik değerleri karşılaştırıldığında, Şekil 4.7'den de görüldüğü gibi olgunlaşma sürecinin tamamında birbirlerine yakın değerler bulunmuştur ($p>0.05$). Kontrol örneklerinde olgunlaşmanın 0.günüden 30. güne kadar sertlik değerlerinde artış, 30. günden 90. güne kadar ise dalgalanmalar gözlemlenmiştir.TG ilaveli örneğin sertlik değerlerine bakıldığında ise 0. ve 30. günlerde, sertlik

değerlerinin kontrol örneği ile karşılaştırıldığında düşük 60. ve 90. olgunlaşma günlerinde ise yüksek olduğu görülmektedir.

TG eklenen peynirlerde enzime bağlı olarak nem artışı olduğu bildirilmiştir. Normalde artan nem içeriği peynirin sertliğini azaltmaktadır. Ancak bu sertlik TG eklenmiş süttten yapılan Edam peynirinde görülmemiştir (Aaltonen vd., 2014). Çalışmamızla uyumlu olarak Edam peynirinde TG ilaveli peynirlerin sertlik değerleri olgunlaşmadan sonra yapısına su bağlamasına rağmen kovalent bağların etkisiyle kontrol peynirleri ile aynı seviyede bulunmuştur (Dickinson, 1997; Aaltonen vd., 2014). Aynı şekilde TG ilaveli Panela peynirlerinin sertliği, kontrol örneğinden istatistiksel açıdan, önemli derecede farklı bulunmamıştır (Salinas-Valdés vd., 2015). Bu sonuçlar da bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir.



Şekil 4.7. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin sertlik değerlerinin değişimi

Çalışmamızdan farklı olarak; düşük yağlı İran Beyaz peynirinde yapılan çalışmadaTG uygulamasıyla sertliğin azaldığı belirlenmiştir (Madadlou vd., 2013). Bunun aksine Pierro vd.(2010)TG uygulamasının tam yağlı peynirde sertliği arttırdığını bildirmişlerdir. Düşük yağlı TG ile muamele edilen Çedar peynirinde yapılan çalışmada ise aynı şekilde sertlik değerinin 90 günlük olgunlaşma süresinin tamamında artış eğilimi sergilediği belirlenmiştir. TG ile

işleme tabi tutulan Çedar peynirlerinin sertliği olgunlaşmanın yaklaşık 60. gününe kadar işlenmemiş peynirinkinden daha fazla bulunmuştur (Hu vd., 2013).

Aloğlu ve Öner (2013) yaptıkları bir çalışmada 2 ila 4 U/g protein oranında TG ile muamele edilen Labne peyniri örnekleri kontrol örneği ile karşılaştırıldığında sertliğin 14-15 kat arttığını gözlemlemişlerdir. Beyaz peynirde ise tüm olgunlaşma süreci boyunca TG katkılı örneklerin sertlik değerleri kontrol örneklerinden çok daha yüksek bulunmuştur (Şener, 2012).

Yağı azaltılmış peynir örneklerindeki sertlik farklılıkları, örneklerin protein oranları ile tamamen ilişkilidir. Protein miktarı ne kadar fazla ise peynir daha sert ve lastiğimsi yapıda olmaktadır (Koca, 2002). Peynir yağının azaltılması, peynirde daha sert bir doku oluştururken, yağ değiştiricilerin kullanılması Kaşar peyniri ve Çedar peyniri gibi çeşitli peynir türlerinde sertliğin azalmasına neden olmuştur. Gouda benzeri bir peynirde yapılan çalışmada TG'nin peynirin doku profilini geliştirdiği ancak etkisinin yağ değiştiricilerden biraz daha düşük olduğu bulunmuştur (Ahmed vd., 2015).

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda peynirlerin sertlik değerleri arasında farkların önemli olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$). Olgunlaşma süresinin ise sertlik değerleri bakımından istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p < 0.05$).

4.4.2. Esneklik değerleri

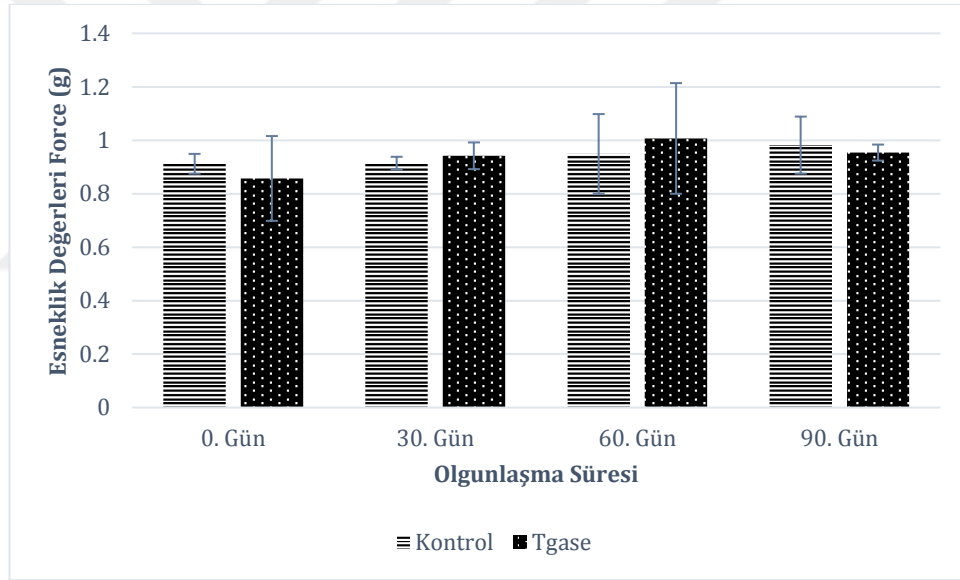
Esneklik, deforme edici kuvvet uygulandıktan sonra nesnenin, orijinal boyutunu kazanması olarak tanımlanmaktadır (Guerra-Martínez vd., 2012). Bu durumda TPA testinde, birinci sıkıştırmanın bitimi ile ikinci sıkıştırmanın başlangıcı arasındaki zaman içinde numune, eski halini geri kazanması gerekmektedir (Salinas-Valdés vd., 2015).

Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince esneklik değerlerindeki değişimler Çizelge 4.9'da ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.8'de verilmiştir. Çalışmamızda Kaşar peynirleri denemelerinin esneklik değerleri birbirlerine yakın bulunmuş ve benzer durum depolama süresince devam etmiştir (Şekil 4.8).

Çizelge 4.9. Kaşar peyniri örneklerine ait esneklik değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	0.912±0.03 ^{ABa}	0.914±0.02 ^{ABa}	0.949±0.14 ^{ABa}	0.981±0.10 ^{ABa}
TGİlaveli Örnek	0.857±0.15 ^{Ba}	0.942±0.05 ^{ABa}	1.006±0.2 ^{Aa}	0.954±0.03 ^{ABa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.8. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin esneklik değerlerinin değişimi

Olgunlaşma süresince esneklik değerlerinde peynir gruplarında dalgalanma gözlemlenmiştir. Çalışmamızla benzer şekilde, Panela peynirinde yapılan bir çalışmada TG ve soya ilave edilmiş peynirler ile kontrol peynirleri karşılaştırıldığında esneklik değerleri birbirleriyle benzerlik göstermiştir (Salinas-Valdés vd., 2015).

Ahmed vd. (2015) tarafından kuru maddedeki yağın sadece sertlik ve esneklik ile korelasyon gösterdiği belirlenmiştir. Rudan vd. (1999) düşük yağlı Mozarella peynirinde esnekliğin tam yağlı Mozarella peynirine göre daha yüksek olduğunu ve yağ eksikliğinin daha esnek bir protein ağıyla sonuçlandığının rapor etmişlerdir. TG ilaveli düşük yağlı Çedar peyniri ile kontrol örneği karşılaştırıldığında olgunlaşma esnasında TG ile muamele peynirin esneklik değerleri çok yavaş artış sergilemiş ve dalgalanmıştır, Ayrıca TG ile muamele edilen peynirin daha yumuşak bir tekstürel yapıya sahip olduğu, ayrıca esneklik değerinde kontrol örneğine göre artmış olduğu bulunmuştur (Hu vd., 2013). Bu durum protein intermoleküler (moleküller arası) çapraz bağ oluşumuna bağlı olabileceği düşünülmektedir (Kwan ve Easa, 2003).

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda peynirlerin esneklik değerleri arasında farkların önemli düzeyde olmadığı ($p>0.05$), olgunlaşma sürecinin ise istatistiksel anlamda önemli olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$).

4.4.3. Çiğnenebilirlik değerleri

Çiğnenebilirlik katı bir gıdanın yutulmaya hazır hale getirilmesi için gerekli olan çiğneme kuvveti şeklinde tanımlanmaktadır, aynı zamanda sertlik, esneklik ve iç yapışkanlık ile ilgili bir tekstür parametresidir (Raphaelides vd., 1995; Salinas-Valdés vd., 2015).

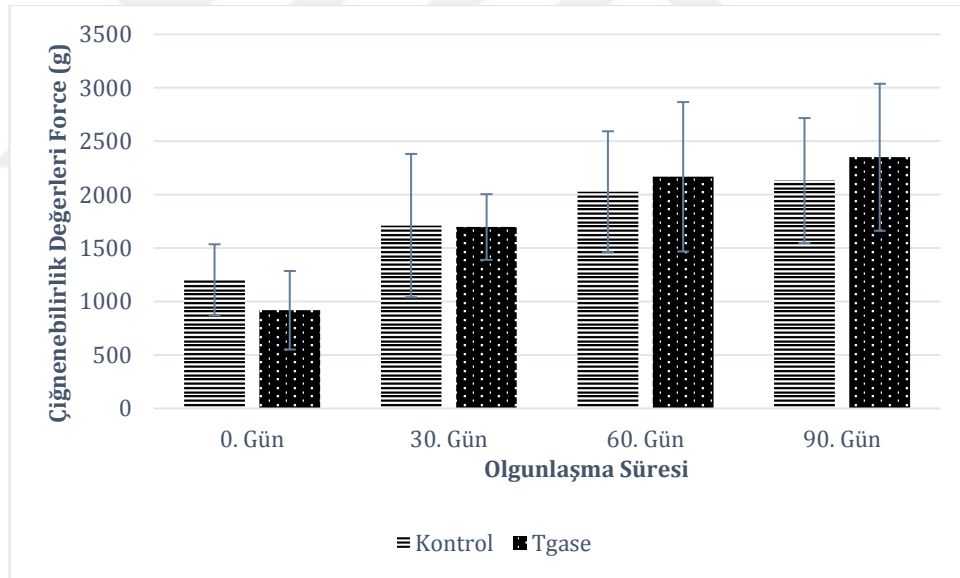
Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma boyunca çiğnenebilirlik değerlerindeki değişimler Çizelge 4.10'da gösterilmiştir. Deneme peynirlerinin çiğnenebilirlik değerlerinin zamana bağlı değişimi ise Şekil 4.9'da verilmektedir. Deneme peynirleri için çiğnenebilirlik değerleri olgunlaşma boyunca artış göstermiştir. Depolamanın 0. ve 30. günlerine kontrol örneklerinin çiğnenebilirlik değerleri TG ilaveli örneklerden yüksek bulunmuştur. Olgunlaşma ilerledikçe bu durum tersine dönmüştür. Bu durum çiğnenebilirlik değerlerinin sertlik değerleri ile korelasyon halinde olduğunun bir göstergesidir.

Çizelge 4.10. Kaşar peyniri örneklerine ait çiğnenebilirlik değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	1204.6±331.5 ^{BCa}	1711.3±670.1 ^{ABa}	2027.1±566.3 ^{Aa}	2133.1±583.8 ^{Aa}
TGİlaveli Örnek	919.2±367.3 ^{Ca}	1698.1±306.9 ^{ABa}	2167.8±698.5 ^{Aa}	2350.2±687.6 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Beyaz peynirde yapılan çalışmada çalışmamızla farklı olarak, olgunlaşma süresince TG katkılı örneklerin çiğnenebilirlik değerleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş ve bu istatistiksel anlamda önemli görülmüştür (Şener, 2012).Panela peynirinde yapılan bir çalışmada ise çiğnenebilirlik değerleri en yüksek TG ile muamele edilmiş peynirlerde görülürken, bizim çalışmamızla paralel olarak enzim içermeyen peynirlere kıyasla bu fark anlamlı bulunmamıştır (Salinas-Valdés vd., 2015).



Şekil 4.9.Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin çiğnenebilirlik değerlerinin değişimi

Yapılan bu çalışmada Kaşar peynirinde TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde çiğnenebilirliğe etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin çiğnenebilirlik değerleri üzerinde istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.4.4. Sakızımsılık değerleri

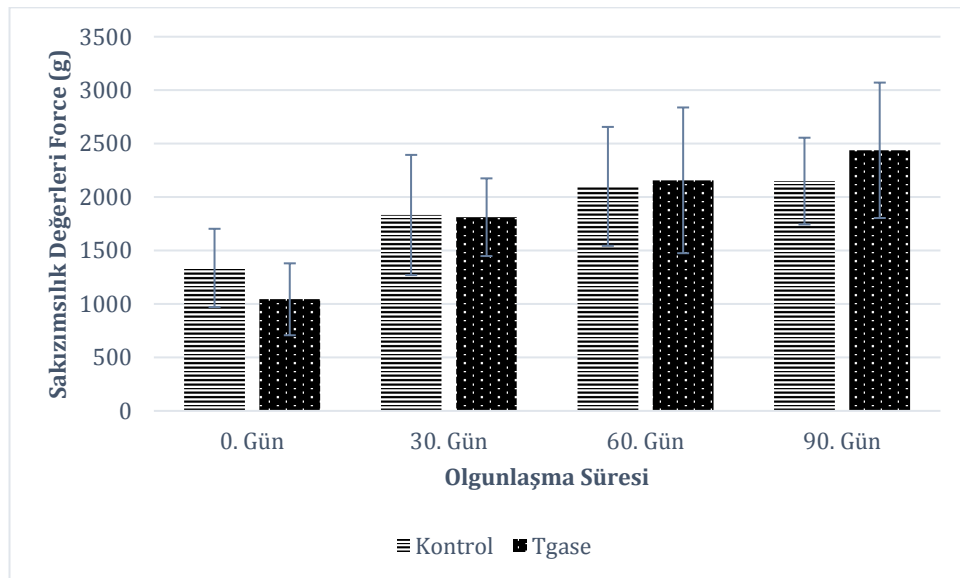
Sakızımsılık, yarı katı bir gıdayı yutulmaya hazır hale getirmek için gerekli parçalama kuvveti olarak ifade edilmektedir (Raphaelides vd., 1995). DenemeKaşar peynirlerinin 90 günlük depolama süreci boyunca sakızımsılık değerlerindeki değişimler Çizelge 4.11’de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.10’da gösterilmiştir.

Şekil 4.10’da sakızımsılık değerlerine bakıldığında peynir örneklerinde olgunlaşma boyunca bu değerlerde artış görülmüştür. Kontrol grubunun sakızımsılık değerleri 30. günün sonuna kadar TG ilaveli örneklerden yüksek bulunmuştur. Depolamanın 60. ve 90. günlerinde ise TG ilaveli örnekler kontrol grubundan yüksek değerlerde görülmüştür. Bu durumun sertlik ve çiğnenebilirlik değerleriyle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.11. Kaşar peyniri örneklerine ait sakızımsılık değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	1337.4±366.0 ^{BCa}	1832.5±562.1 ^{ABa}	2100.3±556.1 ^{Aa}	2149.4±405.7 ^{Aa}
TG ilaveli Örnek	1043.8±336.3 ^{Ca}	1811.6±363.4 ^{ABa}	2156.5±681.7 ^{Aa}	2437.5±633.3 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.10. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin sakızımsılık değerlerinin değişimi

Koca (2002), yaptığı çalışmada yağ oranı azaldıkça Kaşar peynirinde sertlik, elastiklik, iç yapışkanlık, sakızımsılık değerlerinin artış gösterdiğini belirtmiştir. Çalışmamızda benzer şekilde olgunlaşma boyunca her iki peynir örneğinde sakızımsılık değerleri artış göstermiştir. Ancak TGkatkılı Beyaz peynirde, sakızımsılık değerleri kontrol örneklerine göre yaklaşık 2-2.5 kat daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebini ise enzim aracılığı ile çapraz bağlanan protein molekülü sayısının fazlalığına bağlı olarak daha çok sayıda protein bağı parçalayabilmek için yüksek enerjinin gerekliliğine bağlamışlardır (Şener, 2012).

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde sakızımsılık değerlerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin sakızımsılık değerleri üzerine istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.4.5. İç yapışkanlık değerleri

İç yapışkanlık peynirin ikinci sıkıştırmaya gösterdiği mukavemet şeklinin, sıkıştırmadaki davranışına oranı olarak açıklanmaktadır (Koca, 2002). Kaşar peynirlerinin 90 günlük olgunlaşma süresince iç yapışkanlık değerlerindeki değişimler Çizelge 4.12’de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.11’de verilmiştir. Tekstür parametreleri iç yapışkanlık hariç birbirleriyle korelasyon halinde olduğu belirlenmiştir (Ahmed vd., 2015). Şekil 4.11’den de görüldüğü gibi deneme Kaşar peyniri örneklerinde olgunlaşma sürecinin başında değerler 30. güne kadar azalmış, ardından 90. güne kadar artış göstermiştir. Bu sonuçlara bakılarak İç yapışkanlığın diğer tekstür parametrelerinden farklı olduğu görülmektedir.

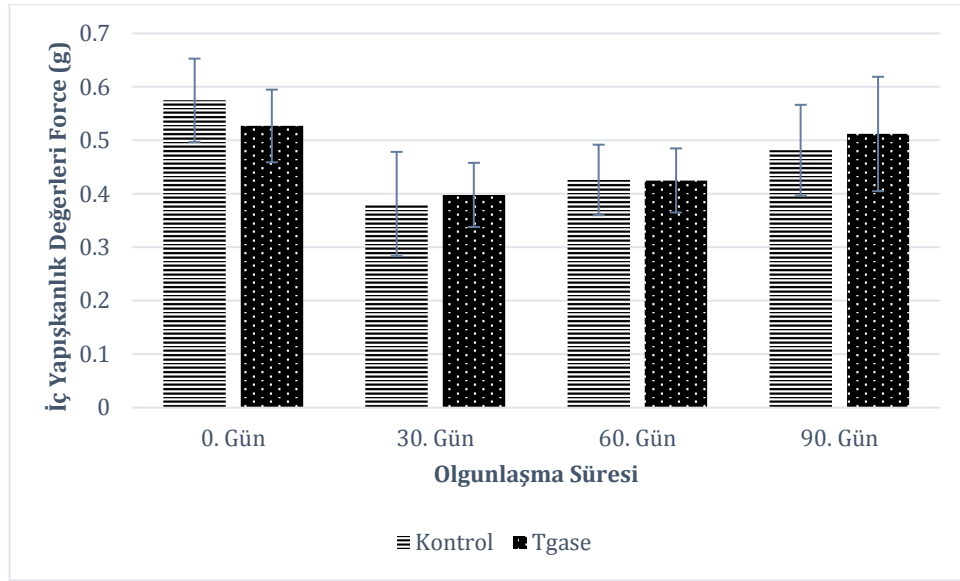
Çizelge 4.12. Kaşar peyniri örneklerine ait iç yapışkanlık değerleri

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün

Kontrol Örneği	0.575±0.07 ^{Aa}	0.381±0.09 ^{Ca}	0.426±0.06 ^{BCa}	0.481±0.08 ^{ABa}
TG İlaveli Örnek	0.527±0.06 ^{Aa}	0.398±0.06 ^{BCa}	0.425±0.06 ^{BCa}	0.512±0.1 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).

İç yapışkanlık değerleri, çalışmamızdan farklı olarak Panela peynirinde TG ile soya takviyeli örneklerde kontrol örneklerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Nedeni ise peynirde meydana gelen iç bağlar olduğu düşünülmektedir (Salinas-Valdés vd., 2015). Benzer şekilde Beyaz peynirde TG katkılı peynir örneklerinde kontrol grubuna oranla çok daha yüksek iç yapışkanlık değerleri elde edilmiştir. Gauchevd. (2009) yüksek esneklik ve iç yapışkanlık değerlerinin, kompakt bir protein ağı oluşturan ve kazein miselleri arasındaki ilişkiyi artıran TG'nin çapraz bağlanma yeteneğine bağlı olduğunu söylemişlerdir. TG ilave edilmeyen düşük yağlı ve tam yağlı çedar peynirinde olgunlaşma ilerledikçe sertlik, esneklik ve iç yapışkanlık değerleri azaldığı belirlenmiştir. Bu durumun olgunlaşma sırasında enzimler (kimozen) tarafından oluşan proteolizin, peynirlerde kazeinlerin parçalanmasına yol açarak yapının genel olarak zayıflamasına yol açmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Hort ve Grys, 2001). Aynı çalışmada TG ilaveli düşük yağlı Çedar peyniri kontrol örneği ile karşılaştırıldığı zaman iç yapışkanlık değerlerinin kontrol örneğinden fazla olduğu bulunmuştur. TG ile işlenmiş peynirlerde oluşan düşük proteoliz derecesinin hem sertlik hemde iç yapışkanlık değerlerinin daha yüksek olmasına neden olduğu bilinmektedir (Hu vd., 2013).



Şekil 4.11. Olgunlaşma boyunca Kaşar peyniri örneklerinin iç yapışkanlık değerlerinin değişimi

Genel olarak; kontrol örnekleri ile TG katkılı örneklerin olgunlaşma süreci boyunca iç yapışkanlık değerleri değişim profili benzerlik göstermektedir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin iç yapışkanlık değerleri üzerine istatistik olarak önemli olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.5. Kaşar Peynirlerine Ait Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Peynirlerin özellikleri, kullanılan sütün cinsine, uygulanan teknolojik işlemlere ve olgunlaşma esnasındaki etkin mikroorganizmaların türlerine bağlı olarak değişmekte ve peynir mikroflorası peynirlerin özelliklerinin değişmesinde kritik ve esas rolü oynamaktadır. Peynirin su içeriği, pH'sı ve tuz konsantrasyonu gibi birçok fiziksel özellik, olgunlaşma esnasında, mikroorganizmaların gelişimini kontrol etmekte ve bu parametrelerin değişimi, peynir yapım işlemlerini etkilemektedir. Peynirde olgunlaşma, bir dizi biyokimyasal reaksiyonu içeren, kompleks bir olaydır. Olgunlaşma süresince peynirde çok fazla mikroorganizma bulunmakta ve bu mikroorganizmalar peynirin olgunlaşmasına katkı sağlamaktadır. Peynirde mikroflora; starter laktik asit bakterileri ve ikincil mikroorganizmalar olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

Starter laktik asit bakterileri üretimde asitliğin oluşumuyameydana gelmesini sağlamaktave olgunlaşmaya yardımcı olmaktadırlar. İkincil mikroorganizmalar üretim sırasında asit oluşumuna katılmamakta fakat genellikle olgunlaşmada önemli rol oynamaktadırlar. İkincil mikroflora, birçok peynir çeşidinde starter olmayan laktik asit bakterilerini, genellikle spesifik peynir çeşitlerine veya benzer tiplerine özgü olan diğer bakterileri, mayaları veya küfleri kapsamaktadır. Mikroorganizmaların sütün bileşenleri üzerine özellikle laktoz, süt yağı ve ptoteinlere olan etkilerinin peynirlerin tadı, kokusu ve yapısı üzerine belrleyici olduğu bilinmektedir (Sert, 2004; Öner vd., 2005).

Kaşar peyniri örneklerinin mikrobiyolojik analizleri laboratuvar ortamında steril bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Peynir örneklerinin mikrobiyolojik analizlerden toplam aerobik mezofil bakteri, stafilokok ile *Staphylococcus aureus*, koliform, laktobasil ve laktokok, sayımı yapılmıştır.

4.5.1. Koliform bakteri sayım sonuçları

Koliform bakteriler, insan ve sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemlerinde doğal olarak bulunduğundan başlangıçta fekal kontaminasyonun en önemli indikatörü olarak değerlendirilmişlerdir. Bunun sonucu olarak da koliform varlığı gıdalarda, aynı zamanda enterik (bağırsak orjinli) patojenlerin bulunabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şahintürk, 2016).

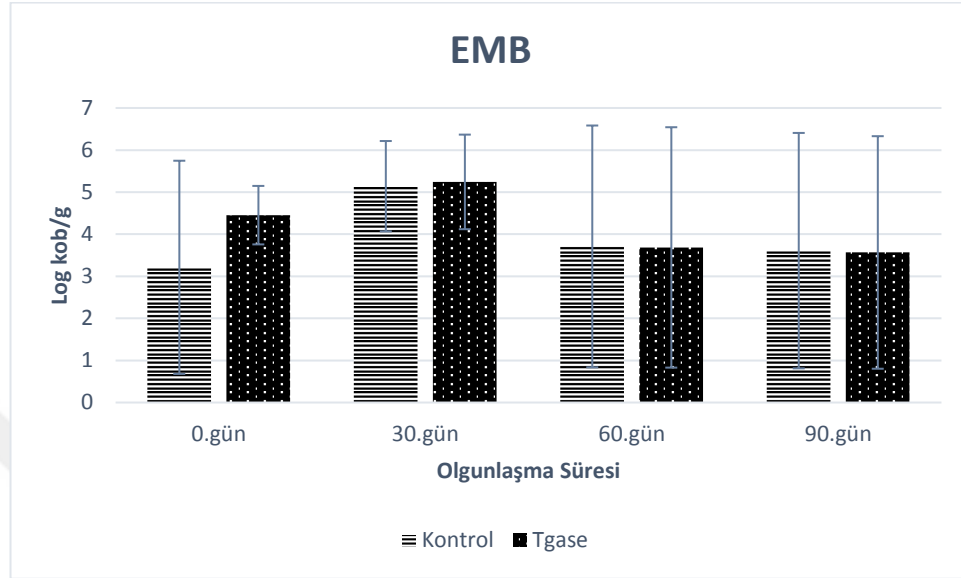
Peynir örneklerinde koliform grubu bakterilerin varlığı peynire veya peynir yapımında kullanılan süte fekal bulaşıklığın göstergesidir. Peynir örneklerinde koliform sayısı EMB besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve peynir örneklerinde koliform bakteri sayısı 90 gün boyunca incelenmiştir. Peynir örneklerinde koliform bakteri sayım sonuçları Çizelge 4.13'de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.12'da verilmiştir.

Çizelge 4.13. Kaşar peynirlerine ait koliform bakteri sayısı (log kob/g)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün

Kontrol Örneği	3.21±2.53 ^{Aa}	5.14±1.07 ^{Aa}	3.71±2.87 ^{Aa}	3.56±2.76 ^{Aa}
TG İlaveli Örnek	4.45±0.69 ^{Aa}	5.24±1.12 ^{Aa}	3.68±2.85 ^{Aa}	3.56±2.76 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p>0.05$).



Şekil 4.12. Kaşar peyniri örneklerindeki koliform sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

Peynir örnekleri koliform bakteri yönünden değerlendirildiğinde kontrol Kaşar peyniri örneğinin 0. olgunlaşma günündeki koliform bakteri sayısı 3.21 ± 2.53 log kob/g iken, depolama süresinin 90. gününde 3.56 ± 2.76 log kob/g, TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinde ise koliform bakteri sayısı 4.45 ± 0.69 log kob/g iken olgunlaşma sonrasında 3.56 ± 2.76 log kob/g bulunmuştur. 0. günde peynirlerde bu değerlerin oluşması düşük sıcaklıkta pastörizasyon işlemi yapılmasından kaynaklanmıştır. Kaşar peyniri gruplarındaki koliform bakteri sayısı olgunlaşmanın 0. günden 30. güne artış gösterirken, olgunlaşmanın 60. gününde azalma göstermiş ardından 90. güne kadar sınırlı bir düşüş sergilemiştir. Gelişen asitliğe bağlı olarak koliform bakterilerinin sayısında azalma izlenmiştir.

TG katkılı Kaşar peyniri örneği olgunlaşmanın 0. günü kontrol örneğinden koliform bakteri sayımına göre daha fazla çıkmış olmasına rağmen olgunlaşma ilerledikçe aralarında belirgin bir farklılık kalmamıştır. Sonuçlarımızdan farklı olarak pastörize ve çiğ süttten yapılan Kaşar peynirlerinde toplam koliform grubu bakteri ve *E coli* sayısı olgunlaşma süresince mikrobiyal sayım limitinin

altında kaldığı gözlemlenmiştir (Sert, 2004).Gıdalarda koliform bakterilerin varlığı kötü hijyen koşullarına, yetersiz ve yanlış ısıtma uygulamalarına, ısıtma işlem sonrası tekrar kontaminasyona işaret etmektedir (Şahintürk, 2016).

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre peynir örneklerinde gruplar arasında fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$).Ayrıca peynirlerde olgunlaşma süresinin koliform bakterisayısına etkisinin olmadığı bulunmuştur ($p>0.05$).

4.5.2. Stafilokok sayım sonuçları

Kaşar peyniri örneklerinin stafilokok sayımı BPA besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. BPA, *Staphylococcus aureus*'un potasyum tellüriti indirgemesi ve yumurta sarısını hidrolize etmesi özelliğine dayanmaktadır. *S. aureus* kolonileri, lipoliz ve proteoliz sonucunda koloni etrafında tipik zon ve halka oluşturma, tellüritin tellüryuma indirgenmesi sonucunda siyah koloni oluşturma olmak üzere 2 tipik karakteristik özellik ile belirlenmektedirler. Stafilokokların Bergey's Manual of Systematic 'de bildirilen 19 türü bulunmaktadır. Ancak en önemli türleri *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'tir. Her iki tür de insan ve hayvanların deri ve burun florasında doğal olarak bulunmaktadır. Birçok *S. aureus* suşu koagülaz pozitif (plazmayı koagüle eden koagülaz enzimi üretir) ve sarı pigment oluşturmaktadır. *S. epidermidis* ise genellikle pigment oluşturmamakta ve koagülaz negatiftir. Her iki tür de potansiyel patojen olmakla birlikte özellikle *S. aureus* insan ve hayvanlarda apseli enfeksiyonlara ve hayvanlarda mastisitise neden olmaktadır.*S. aureus* tuza dayanıklı bir bakteridir ve %12-15 tuz konsantrasyonuna kadar gelişme gösterebilmektedir.

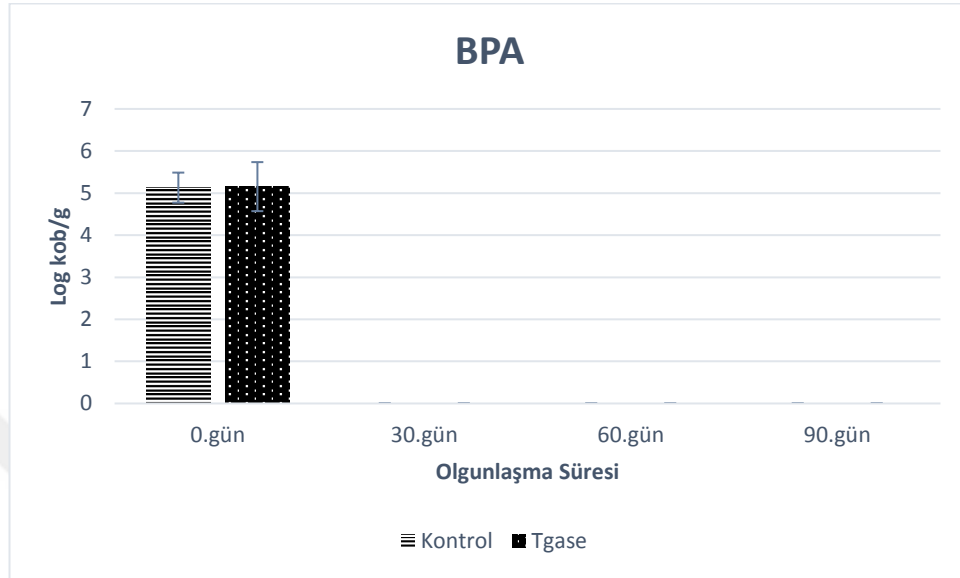
Elde edilen sayım sonuçları Çizelge 4.14'de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.13'de verilmiştir.

Çizelge 4.14.Kaşar peynirlerine ait stafilokok bakteri sayısı (log kob/g)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün

Kontrol Örneği	5.13±0.35 ^{Aa}	<10 ^{Ba}	<10 ^{Ba}	<10 ^{Ba}
TG İlaveli Örnek	5.15±0.58 ^{Aa}	<10 ^{Ba}	<10 ^{Ba}	<10 ^{Ba}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.13. Kaşar peyniri örneklerindeki Stafilokok sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

Çizelge 4.14'den de görüldüğü gibi olgunlaşmanın 0. gününde *Staphylococcus* spp. sayısı kontrol Kaşar peynirinde 5.13±0.35 log kob/g ve TG ilaveli Kaşar peynirinde 5.15±0.58 log kob/g olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın ilerlemesiyle peynir örneklerinde *Staphylococcus* spp.'a rastlanılmamıştır. 0. günde bu değerlerin gözlemlenmesi sütün düşük sıcaklıkta pastörizasyon işlemi yapılmasından kaynaklanmıştır. Stafilokoklar çiğ süte pek çok kaynaktan bulaşmaktadır. En önemli bulaşma kaynağı mastitisli hayvanlardır. Sağımdayı gelen bir bulaşma da söz konusu olabilmektedir. Bu sonuçlar, yanlış sağım, sağımdan sonra yetersiz soğutma, ortamın hijyen eksikliği ve yetersiz sanitasyondan kaynaklanmaktadır. Olgunlaşmanın ileri döneminde ise BPA besiyerinde hiç üreme gerçekleşmemesinin nedeni peynirlerde asitliğin artmasına bağlı olarak *Staphylococcus* spp.'ların inhibe olması düşünülebilir. Çalışmamızda *S. aureus*'a rastlanmamıştır. Çalışmamızla benzer şekilde Badem (2015) Kaşar peynirinde yaptığı çalışmada üretilen bütün peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca *S. aureus* sayımı yapılmış ancak pozitif bir bulguya rastlanmamıştır.

TG uygulamasının peynir olgunlaşma sürecinde *Staphylococcus* spp. sayımında,istatistik olarak etkisinin olmadığını söyleyebiliriz ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin *Staphylococcus* spp. sayısına etkisinin olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.5.3. Laktik asit bakterileri sayım sonuçları

Peynir fermentasyonunda laktik asit bakterilerinden starter kültür ya da yardımcı starter kültür olarak yararlanılmaktadır. Laktik asit bakterileri;toksik olmaması, doğal protein olmaları, ökaryotik hücrelere karşı inaktif olmaları ve genel olarak ısıya karşı dirençli olmaları sebebiyle kullanılmaktadırlar (Özcan ve Aran, 2003).

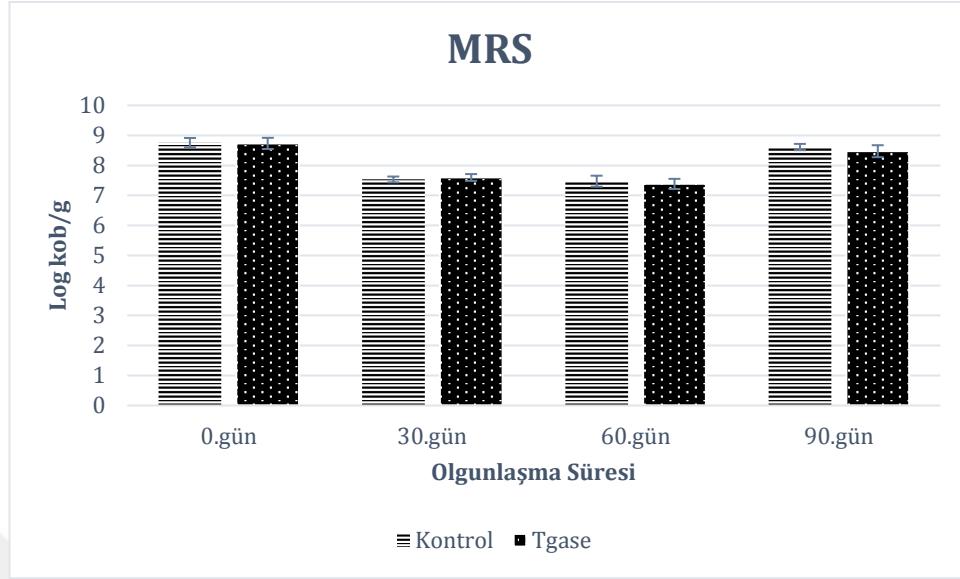
Kaşar peyniri örnekleripastörize süte *Lc. lactis* (% 1) + *Lb. plantarum* (% 1)starter kültür kombinasyonu ilave edilerek üretilmiştir.

Çalışmamızda laktobasil ve laktokok sayımı 90 günlük olgunlama süreci boyunca yapılmıştır. Kaşar peyniri örneklerinde laktobasil sayımı MRS agar besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sayım sonuçları Çizelge 4.15’de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik iseŞekil 4.14 ’de verilmiştir.Peynir örneklerinde olgunlaşmanın başlangıcında laktobasil bakteri sayısı kontrol peynirinde $8.75\pm0.15\log$ kob/g iken, depolama süresinin 90. gününde $8.61\pm0.10\log$ kob/g, TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinde ise laktobasil bakteri sayısıolgunlamanın 0. gününde $8.73\pm0.18\log$ kob/g iken olgunlaşma sonrasında $8.47\pm0.19\log$ kob/g bulunmuştur. Her iki peynir örneği de birbirleriyle paralel olarak olgunlaşmanın 0. günden 60. güne azalış gösterirken, olgunlaşmanın sonunda artış sergilemiştir.

Çizelge 4.15.Kaşar peynirlerine ait laktobasil bakteri sayısı (log kob/g)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	8.75 ± 0.15^{Aa}	7.53 ± 0.09^{CDa}	7.45 ± 0.18^{CDa}	8.61 ± 0.10^{ABa}
TG İlaveli Örnek	8.73 ± 0.18^{Aa}	7.59 ± 0.11^{Ca}	7.38 ± 0.16^{Da}	8.47 ± 0.19^{Ba}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.14. Kaşar peyniri örneklerindeki laktobasil sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

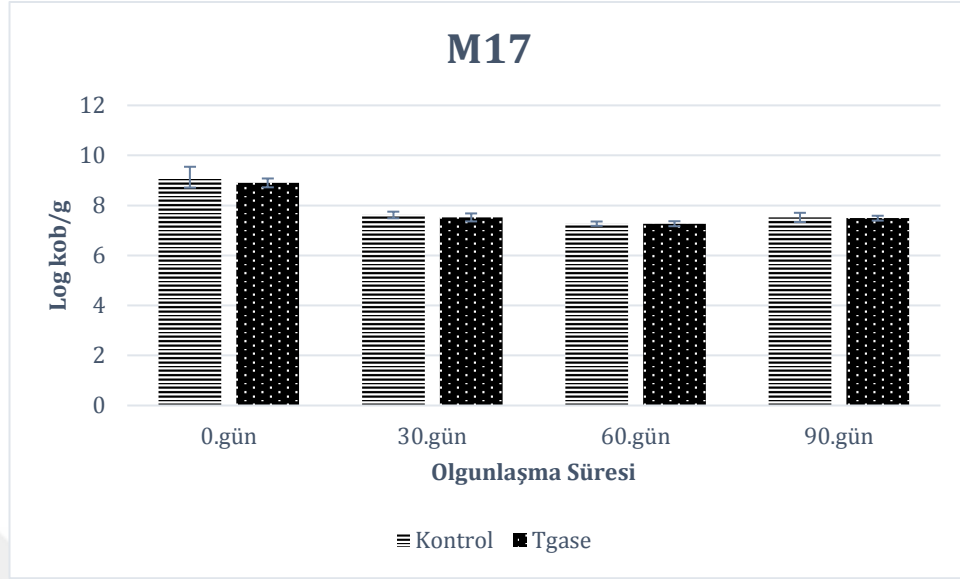
Kaşar peyniri örneklerinin Laktokok sayımı ise M17 agar besiyeri kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen sayım sonuçları Çizelge 4.16'de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.15 'de verilmiştir.

0. olgunlaşma gününde kontrol peynirinde laktokok bakteri sayısı $9.12 \pm 0.41 \log$ kob/g iken, depolama süresinin 90. gününde $7.52 \pm 0.18 \log$ kob/g, TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinde ise laktokok bakteri sayısı olgunlamanın 0. gününde $8.9 \pm 0.17 \log$ kob/g iken olgunlaşma sonrasında $7.49 \pm 0.09 \log$ kob/g bulunmuştur. Her iki peynir örneğinde de olgunlaşmanın 0. günden 60. gününe kadar değerlerde azalma gözlemlenirken, olgunlaşmanın 90. gününde ise laktokok bakteri değeri sınırlı bir artış sergilemiştir.

Çizelge 4.16. Kaşar peynirlerine ait laktokok bakteri sayısı (log kob/g)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	9.12 ± 0.41^{Aa}	7.61 ± 0.13^{Ba}	7.27 ± 0.08^{Ca}	7.52 ± 0.18^{Ba}
TG İlaveli Örnek	8.9 ± 0.17^{Aa}	7.52 ± 0.15^{Ba}	7.26 ± 0.10^{Ca}	7.49 ± 0.09^{BCa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.15.Kaşar peyniri örneklerindeki laktokok sayısının (log kob/g)olgunlaşma süresince değişimi

Fırat (2006) starter kültür katılarak yapılanKaşar peyniri örneklerinde laktik asit bakteri sayısını 7.13 log kob/g olarak tespit etmiştir. Keçeli vd. (2006) ise geleneksel tekniklerle çiğ süttten üretilen Kaşar peynirinde laktik asit bakteri sayısını 7.08-7.40 log kob/g ve 5.25-5.76 log kob/g olarak bulmuşlardır.

Öner vd. (2005)'nın yapmış oldukları çalışmada, çiğ süt kullanılarak yapılan tulum peynirinde başlangıç laktobasil sayısı 8.17 ± 0.07 log kob/g, başlangıç laktokok sayısı ise 8.30 ± 0.12 log kob/g, 90. günde ise laktobasil sayısı 7.50 ± 0.20 log kob/g, laktokok sayısı 8.15 ± 0.25 log kob/g olarak bulunmuştur.Araştırmacılar laktobasil ve laktokok sayımında olgunlaşmanın 30. ve 60. günlerinde,0. gündeki değerlere göre düşüş, 90. günde ise artış gözlemlemişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızla benzerlik göstermektedir.

Bazı araştırmacıların bildirdiğine göre; olgunlaşma sürecinin başlarında laktik asit bakterileri aktivitesi besin çokluğu, yüksek su aktivitesi ve düşük asit konsantrasyonu nedeniyle daha hızlı olmaktadır. Olgunlaşma süreci ilerledikçe mikrobiyal aktivite sonucunda su miktarı azalmakta, tuz ve asitlik

konsantrasyonu artmakta, bunun sonucunda ise laktik asit bakteri sayısında düşüş meydana gelmektedir (Poullet vd., 1991; Tornadijo vd., 1995).

Yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre peynir örneklerinde gruplar arasında fark olmadığı, yani TG enziminin laktik asit bakterileri üzerine etkisinin olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin laktik asit bakterileri sayısına etkisinin olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

4.5.4. Toplam aerobik mezofil bakteri sayım sonuçları

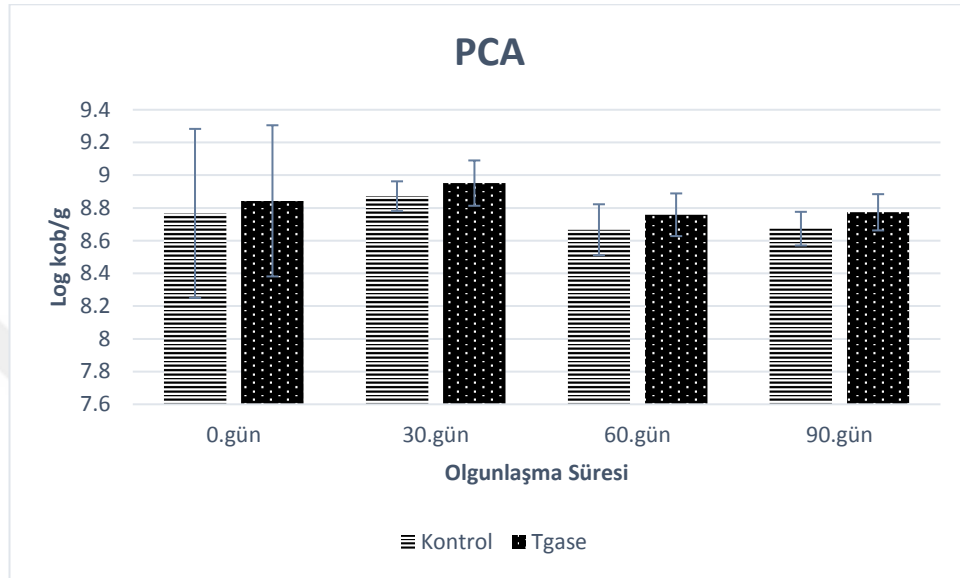
Peynir örneklerinde toplam aerobik mezofil bakteri (TAMB) sayım sonuçları Çizelge 4.17’de ve bu değişimlerin oluşturduğu grafik ise Şekil 4.16’da verilmiştir. Peynir örneklerinde TAMB sayısı 90 gün boyunca incelenmiştir. Kaşar peyniri örneklerinin TAMB sayılarını; sütün mikroorganizma yükü, süte uygulanan ısı işlemin derecesi ve süresi, peynir yapımı için starter kültür ilavesi, haşlama suyunun sıcaklığı ve haşlama süresi ayrıca peynir yapımında kullanılan malzemelerin, yüzeylerinin temizliği ve olgunlaşma süresinin uzunluğu etkilemektedir (Tunçtürk, 1996).

Peynir örnekleri TAMB yönünden değerlendirildiğinde kontrol Kaşar peyniri örneğinin 0. olgunlaşma gününde TAMB 8.76 ± 0.51 log kob/g iken, depolama süresinin 90. gününde 8.67 ± 0.1 log kob/g, TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinde ise TAMB 8.84 ± 0.46 log kob/g iken olgunlaşma sonrasında 8.77 ± 0.11 log kob/g bulunmuştur. Kaşar peyniri örneklerinde TAMB olgunlaşmanın 0. Günden 30. güne hafif bir artış gösterirken, olgunlaşmanın ilerlemesiyle dalgalanma sergilemiştir. TG katkılı peynir örneği olgunlaşma boyunca kontrol peynirinden TAMB sayımına göre daha fazla çıkmış olmasına rağmen yapılan istatistik analiz sonuçlarına göre peynir örneklerinde gruplar arasında fark olmadığı tespit edilmiştir ($p>0.05$). Ancak peynirlerde olgunlaşma süresinin toplam aerobik mezofilik bakterisayısına etkisinin olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4.17. Kaşar peynirlerine ait toplam aerobik mezofil bakteri sayısı (log kob/g)

Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi			
	0.gün	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	8.76±0.51 ^{Aa}	8.87±0.09 ^{Ba}	8.66±0.15 ^{Ca}	8.67±0.1 ^{Ba}
TG İlaveli Örnek	8.84±0.46 ^{Aa}	8.95±0.13 ^{Ba}	8.75±0.13 ^{Ca}	8.77±0.11 ^{BCa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı ($p>0.05$), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir ($p<0.05$).



Şekil 4.16. Kaşar peyniri örneklerindeki toplam aerobik mezofil bakteri sayısının (log kob/g) olgunlaşma süresince değişimi

Çalışmamızdan farklı olarak pastörize ve çiğ süttten yapılan Kaşar peyniri örnekleri ile ilgili bir çalışmada, olgunlaşma süresince örneklerin TAMB sayısı sürekli azalmıştır. Bu durumun olgunlaşma sırasında açığa çıkan ürünler ve başka biyokimyasal olaylar sonucunda açığa çıkan ürünlerin mezofilik mikrofloranın değişmesinde etkili olabileceği düşünülmüştür (Sert, 2004).

Çetinkaya ve Soyutemiz (2006)'in yapmış oldukları çalışmada Kaşar peynirinde TAMB sayısı, olgunlaşma başlangıcında ortalama 7 log kob/g değerinden olgunlaşma süresi sonunda 5.6 log kob/g sayısına kadar düşmüştür. Çalışmamızda TAMB sayısının yüksek olmasının sebebi başlangıç mikroorganizma sayısının yüksek olması ve pastörizasyon işleminin düşük sıcaklıkta uygulanmasından kaynaklanmaktadır.

4.6. Kaşar Peynirlerine Ait Duyusal Analiz Sonuçları

Kontrol ve TG ilavesiyle üretilen Kaşar peynirlerinin duysal özelliklerini belirlemek amacıyla 6 kişilik bir panelist grubundan peynir örneklerinin dış görünüş, iç görünüş, yapı, tat ve koku özelliklerinin herbirinin 5 puan üzerinden TSE 3272 Kaşarpeyniristandardındaki duysal değerlendirme formuna göre değerlendirmeleri istenmiştir (Çizelge 4.19). Kaşar peyniri denemelerinde, 0. gün olgunlaşma başlangıcı olduğu için duysal analiz sadece 30., 60. ve 90. günlerde yapılmıştır. Kaşar peyniri örnekleri buzdolabından çıkarıldıktan sonra ekmek ve su ile birlikte panelistlere sunulmuştur. TG enzimi kullanılarak üretilen ve kontrol Kaşar peyniri örnekleri için verilen dış görünüş, iç görünüş, yapı, koku ve tat puanları toplanarak elde edilen değerleri ve 90 günlük depolama süresindeki değişimleri Çizelge 4.18’de ve bu değerlerin oluşturduğu grafik Şekil 4.17’de verilmiştir.

Çizelge 4.18. Kaşar peyniri örneklerine ait duysal analiz değerlerinin toplam puanları

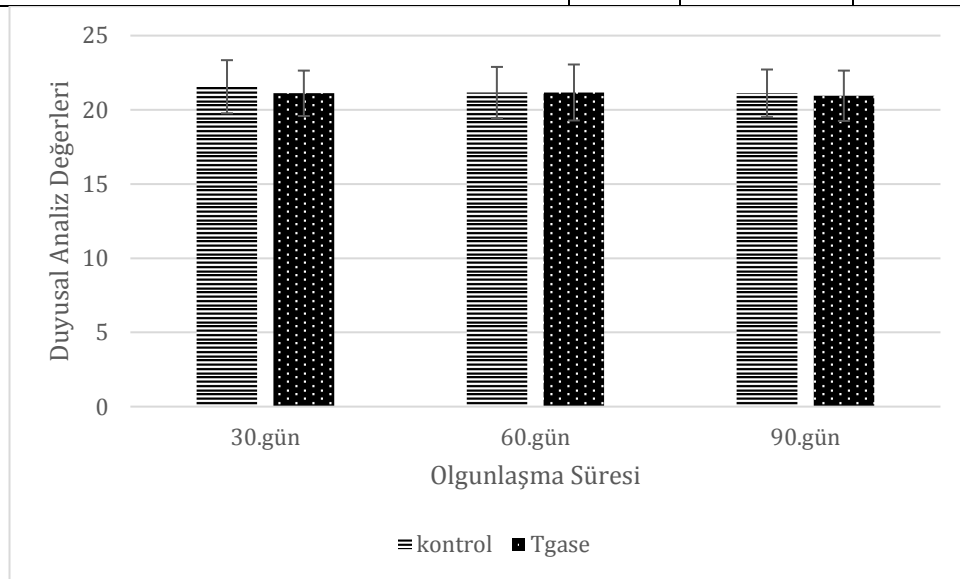
Kaşar Peyniri Çeşitleri	Olgunlaşma Süresi		
	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol Örneği	21.55±1.78 ^{Aa}	21.16±1.72 ^{Aa}	21.11±1.6 ^{Aa}
TG İlaveli Örnek	21.11±1.52 ^{Aa}	21.16±1.88 ^{Aa}	20.94±1.69 ^{Aa}

*Küçük harfle işaretlenmiş ortalamalar peynir çeşitleri arasındaki farklılığı (p>0.05), büyük harfle işaretlenmiş ortalamalar günler arasındaki farklılığı göstermektedir (p>0.05).

Çizelge 4.19. Kaşar peynirinde duysal değerlendirme formu

Kaşar Peyniri Duysal Değerlendirme Formu			
Panelistin Adı, Soyadı:			
Her bir peynire bir puanlama işareti (X) koyunuz.			
Özellik	Puan	Peynirler	
Dış Görünüş		1	2
Temiz, parlak ve sert, saman sarısı veya koyu saman sarısı renkte	5		
Sertçe veya yumuşakça, donuk görünümlü , açık kahverengi/krem renkte	4		
Fazla sert veya yumuşak , donuk görünümlü, kahverengi renkte	3		
Aşırı sert veya aşırı yumuşak, çatlak, küflü görünüm ve kahverengi renkte	1-2		
İç Görünüş		1	2
Parlak, homojen görünümlü, fildişi veya	5		

saman sarısı renkte, ince kabuklu			
Hafif donuk, homojen olmayan görünüm, beyazımsı/ koyu sarı renkte	4		
Donuk, homojen olmayan görünüm, çatlak ve gözenekli, koyu sarı /beyaz renkte	3		
Donuk, homojen olmayan görünümde, kalın kabuklu, homojen olmayan beyaz ya da koyu sarı renkte	1-2		
Yapı		1	2
Düzgün kesitli, pürüzsüz ve homojen, fazla sert ya da yumuşak olmayan, ufalanmayan yapı	5		
Düzgün kesitli, hafif çatlak veya az delikli, sertçe veya yumuşakça	4		
Homojen olmayan yapı, çatlak ve delikli, sert veya yumuşak	3		
Homojen olmayan, çok çatlak ve gözenekli, kaba bir yapı, çok sert veya çok yumuşak, aşırı elastiki yapı	1-2		
Koku		1	2
Kendine has hoş kokuda	5		
Normal koku veya çok yavan ya da ekşi koku	4		
Hafif ekşimsi, sabunumsu veya küfümsü kokuda	3		
Aşırı ekşi, küfümsü veya sabunumsu	1-2		
Tat		1	2
Kendine has hoş tatta	5		
Çok hafif yabancı tatta olan	4		
Yavan ya da hafif yabancı tatta, ekşi veya acı	3		
Aşırı yavanlık, tuzluluk, ekşilik, acılık veya sabunumsu olan	1-2		



Şekil 4.17. Olgunlaşma süresi boyunca Kaşar peyniri örneklerinin duyusal analiz değerlerinin değişimi

Çalışmamızda dış görünüşte;Kaşar peynirinin temiz, parlak ve sert, saman sarısı veya koyu saman sarısı renkte olma özelliklerine, İç görünüşte; peynirlerin parlak, homojen görünüşte, fil dişi veya saman sarısı renkte ve ince kabuklu olma özelliklerine, yapıda; düzgün kesitli, pürüzsüz ve homojen, fazla sert ya da yumuşak olmayan, ufalanmayan yapıda olma özelliklerine bakılır. Ayrıca Kaşar peyniri örneklerinin kendine has kokuda olma, ekşimsi, sabunmsu veya küfümsü kokuda içermemesi ve kendine has, hoş tatta olmaları değerlendirilmiştir.

Farklı sütlerden ya da farklı işlem teknikleriyle üretilen peynirlerinin karakteristik tat ve aromaları tüketicilerin damak tadı ve tüketim alışkanlıklarına göre tercih sebebi olabilmektedir. Çalışmamızda iki farklıKaşarpeyniri aynı süttten, aynı işlemle üretilmiştir. Panelistlerin değerlendirmelerine bakıldığında (Çizelge 4.18) olgunlaşma süresince TG enziminin kontrol örneğine göre Kaşar peynirlerinin tadında herhangi olumlu ya da olumsuz katkısının olmadığı gözlemlenmiştir. Peynir gruplarının duyusal analiz değerleri sonuçları hem gruplar arasında hemde olgunlaşma süresi yönünden istatistiki olarak önemsiz bulunmuştur ($p>0.05$).

Çalışmamızla paralel olarak TG katkılı Edam peynirinde yapılan 8 haftalık duyusal analiz sonuçlarına göre TG katkılı ve kontrol peynirleri arasında istatistiksel bakımdan anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir. Bu gözlemlere dayanarak araştırmacılar organoleptik özelliklerin etkilenmeksizin ve peynir yapısını yumuşatmadan TG kullanarak peynir veriminin artırılabilceğı sonucuna varmışlardır (Aaltonen vd., 2014). Farklı olarak yağı azaltılmış Gouda benzeri peynirde yağ ikame maddesi veya TG ilavesiyle duyusal özelliklerin kontrol örneğine göre geliştiğı sonucuna varılmıştır (Ahmed vd., 2015).

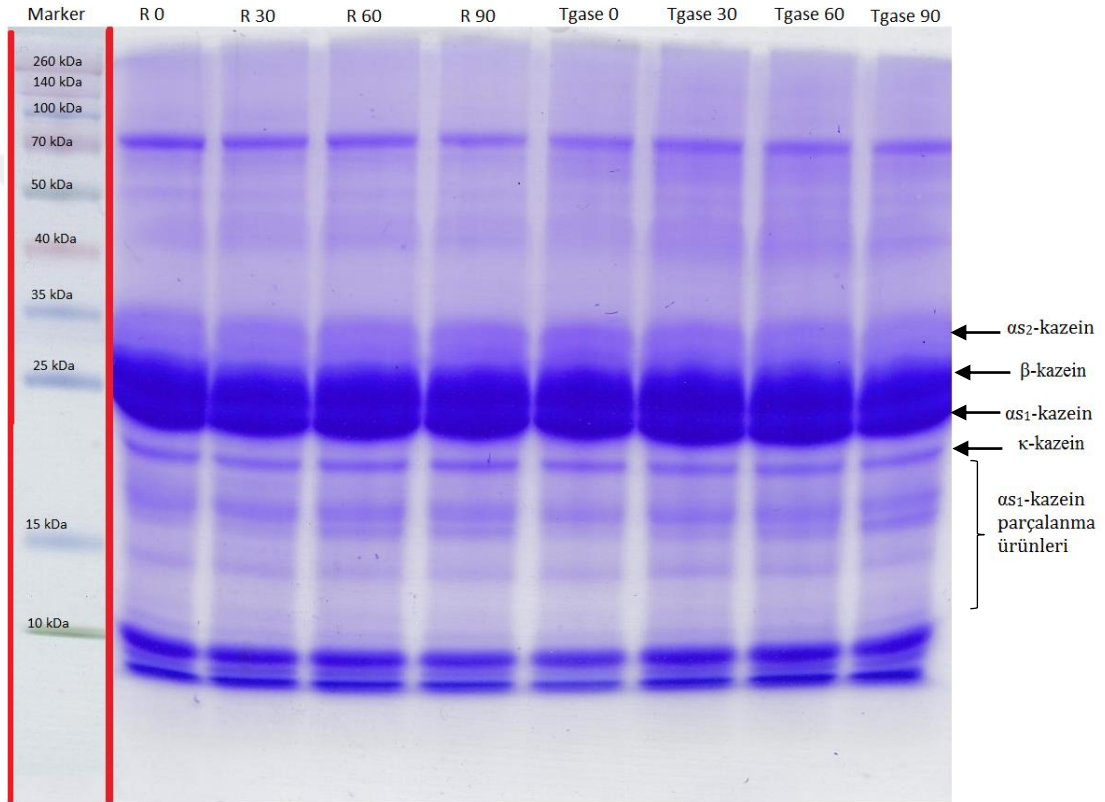
4.7. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforez Analiz Sonuçları

Olgunlaşma; peynirlerin kendilerine has özellikleri kazanabilmeleri için, belirli koşullar altında ve belirli bir süre içerisinde geçirdiği çeşitli değişikliklerin toplamıdır (Eralp, 1974). Olgunlaşma aşaması karakteristik tat, tekstür ve aromanın gelişmesi gibi biyokimyasal ve biyofiziksel değişiklikler ile meydana gelen kompleks bir işlemdir (Neelakantan vd., 1999). Proteoliz; peynir üretim aşamasında başlayan kazein parçalanmasının devam etmesidir. Olgunlaşma esnasında α_1 , α_2 , β ve κ -kazein gibi kazein fraksiyonlarında oluşa n değişimler sonucunda kısa zincirli peptit grupları, polipeptitler ve serbest aminoasitler meydana geldiği için proteoliz, peynirin tat ve aromasından sorumludur. Proteoliz derecesi peynir çeşidine göre değişiklik göstermektedir (Hayaloglu vd., 2004; McSweeney, 2004; Öner, 2015). Peynirde proteoliz derecesinin bilinmesi, onun kalitesi ve olgunlaşma indeksinin belirlenmesinde çok önemli bir adımdır (Fox ve McSweeney, 1998).

Proteinlerin moleküler ağırlıklarını belirlemek için SDS-PAGE analizi yapılmaktadır. Poliakrilamid jellerle yapılan bu analiz, elektroforez için hazırlanan örnekteki bileşenlerin hem moleküler büyüklüklerine göre sıralanmasını sağladığı hem de elektroforetik harekete dayandığı için daha iyi ayrışmasını sağlamaktadır. SDS-PAGE Laemmli (1970)' ye göre, %15 akrilamid-bis solüsyonu ile Mini Protean II cihazında yapılmıştır. Elektroforezin çalışma ilkesi; poliakrilamid jel içerisinde, moleküllerin büyüklüklerinin ve sahip oldukları elektrik enerjisinin, bir yükten diğerine geçerken oluşturdukları mesafe farklılıklarını içermektedir.

Çalışmanın bu bölümünde kontrol örneği ve TG ilave edilerek üretilen Kaşar peynirlerinin olgunlaşma süreci boyunca proteoliz seviyelerinin ölçülmesi ve poliakrilamid jelinde peynir örneklerinin elektroforetik olarak ayrılmasını belirlemek için SDS-PAGE analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca bu analiz ile TG ilavesiyle üretilen Kaşar peynirindeki proteinlerin değişimleri teyit etmek yani TG enziminin çapraz bağlamayı gerçekleştirdiğini belirlemek mümkün olmaktadır (Aloğlu ve Öner, 2013). Kaşar peyniri örneklerinin SDS-PAGE jel elektroforez yöntemiyle elde edilen görüntüleri Şekil 4.18' de verilmiştir. Kaşar peynirleri örneklerinin bantları moleküler işaretleyici protein merdiveni

(marker) ile karşılaştırılmıştır. Kuyucuklara örneklerden 15 µL, markerdan ise 10 µL enjekte edilmiştir. Gel Analyzer 2010 programı ile jeldeki protein bant görüntüleri ölçülmüş ve kazein fraksiyonlarının değişimleri belirlenmiştir. Şekil 4.18’de görüldüğü gibi 1. bant marker’ı, diğer bantlar ise sırasıyla 0., 30., 60. ve 90. günlerdeki kontrol örneğinin kazein fraksiyonlarını ve 0., 30., 60. ve 90. günlerdeki TG ilave edilerek üretilen Kaşar peynirinin kazein fraksiyonlarını göstermektedir.



Şekil 4.18. SDS-PAGE ile belirlenen Kaşar peyniri örneklerinin protein profili Desá ve Bordignon-Luiz (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, çalışmamızla benzer şekilde peynir yapımında, TG ilavesi rennet ilavesinden 7 dakika sonra gerçekleştirilmiştir. Ancak çalışmamızla farklı olarak çalışmalarında rennetten 7 dakika sonra TG ilave edilen örneğin bant yoğunluğunda bir artış belirlemişlerdir. Aynı şekilde Wroblewski vd. (2009) çalışmalarında, kazein fraksiyonlarının molekül kütleindeki artışın TG ilavesiyle çapraz bağlama reaksiyonlarının etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. SDS-PAGE analizi, çalışmamızda TG ilaveli Kaşar peynirlerinde proteinlerin çapraz bağlanmasının çok fazla gerçekleşmediğini ortaya koymuştur. Şekil 4.18’de görüldüğü gibi

kontrol örneği ile TG ilaveli Kaşar peyniri örneğinin kazein fraksiyonlarına tekabül eden bantların yoğunlukları arasında belirgin bir farklılık tespit edilememiştir. TG ilavesinin Kaşar peynirinde elektroforetik özellikler üzerinde etkisinin olmadığı saptanmıştır. Benzer şekilde Edam peynirinde yapılan bir çalışmada TG katkılı peynirlerin ve kontrol peynirlerinin peynir altı suyu örneklerinin protein profili arasında anlamlı farklılığın olmadığı belirlenmiştir. Edam peynirinde TG enzimi ilavesinin sadece suyun toplanmasını önemli derecede arttırdığı ancak peynir altı suyu içeriğinin ve profilinin değişmediğini tespit etmişlerdir (Aaltonen vd., 2014).Yine TG enzimi ilavesiyle yapılan Beyaz peyniri örneklerinin elektroforetik profilleri, kontrol örneği ile karşılaştırıldığında belirgin bir farklılığın olmadığı bulunmuştur(Şener, 2012).

Pierro vd. (2010) peynir sütüne TG ilavesiyle su içeriğinin ve verimin arttığını ve 35 günlük olgunlaşma sonrasında çapraz bağlı peynirde proteolizin önemli derecede azaldığını bulmuşlardır. Bu sonuçlar Çedar peynirinde Hu vd. (2013) tarafından bulunan sonuçlar ile uyum göstermiştir. TG katkılı Çedar peynirinde proteoliz derecesi ilk 15 gün boyunca daha yüksek ve ilerleyen olgunlaşma sürelerinde muamele edilmemiş örneklerle göre daha düşük bulunmuştur. Bu sonuçlarla benzer şekilde Gouda benzeri peynir yapımında TG ile muamele edilmiş örneklerde proteoliz derecesinin ilk ayda daha yüksek ve sonraki olgunlaşma sürelerinde kontrol örneklerinden daha düşük olduğu bulunmuştur (Ahmed vd., 2015).

Şekil 18'den de görüldüğü gibi kazeinlerin moleküler ağırlıkları yaklaşık 19.000 ile 27.000 Da aralığında bulunmuştur. TG enziminin ise bilinen molekül ağırlığı 38.000 Da'dur (Motoki ve Seguro, 1998).Farklı zamanlarda TG eklenerek yapılan peynir örnekleri ile kontrol peynir örnekleri karşılaştırıldığında, TG ilaveli örneklerde 45.000 Da gibi daha yüksek molekül ağırlıklı protein polimerlerinin olduğu gözlemlenmiştir (Desá ve Bordignon-Luiz, 2010). Bu sonuçla uyumlu olarak çalışmamızda Şekil 4.18'de görüldüğü gibi TG katkılı Kaşar peyniri örneklerinin yüksek molekül ağırlıklı protein polimerlerinin yoğunluğunun kısmen fazla olduğu ancak kontrol örneği ile aralarındaki farkın çok fazla belirgin olmadığı görülmektedir. Tüm Kaşar peyniri örneklerinde α s1-

kazein parçalanma ürünleri tespit edilmiş ancak TG ilaveli Kaşar peynirlerinin α_1 -kazein parçalanma ürünlerine denk gelen bantları, olgunlaşma süresi ilerledikçe yoğunlaştığı görülmüştür. TG ilaveli Kaşar peynirinin 0. gündeki kazein bantlarındaki yoğunluğun diğerlerinden kısmi olarak az olması muhtemelen Özer vd., (2007) ile Huppertz ve Kruif (2007), gözlemleriyle uyumlu olarak TG'nin gerçekleştirdiği polimerizasyon reaksiyonunun bir sonucudur. Kontrol labne peynirinin peynir altı suyu proteinlerinin bantları, TG ile muamele edilen labne peynir örnekleri ile karşılaştırıldığında, TG ilavesiyle, monomerik peynir altı suyu proteinlerinin miktarının azaldığı ve yüksek molekül ağırlığı nedeniyle jele giremeyen birçok yeni oluşan bileşiğin oluştuğu gözlemlenmiştir (Aloğlu ve Öner, 2013).

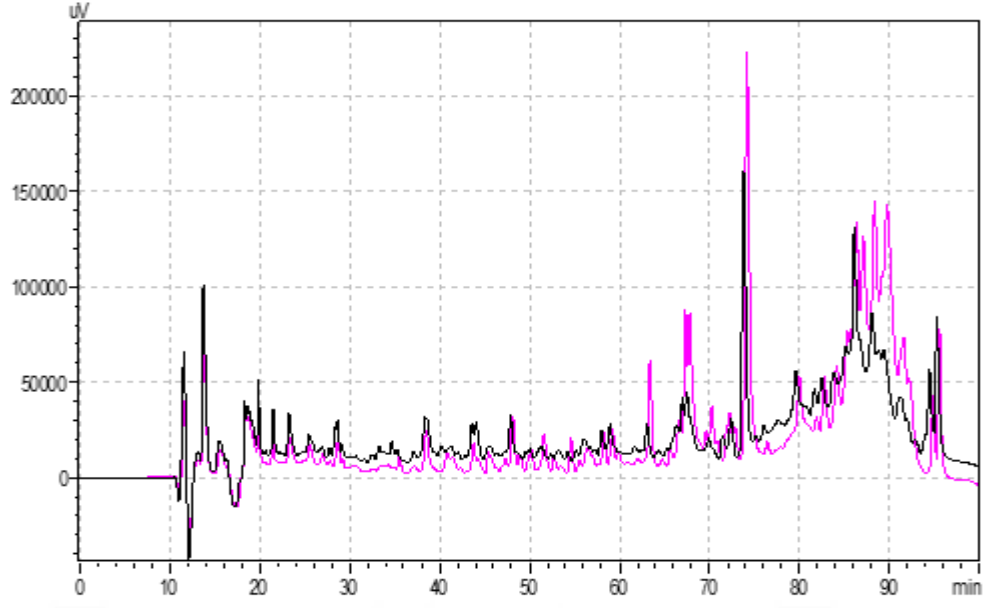
Ayrıca TG ilavesinin elektroforetik sonuçlarda kontrol örneği ile benzerlik göstermesinin sebebi Kaşar peyniri örneklerinin kuru madde değerlerinin fazla olmasından kaynaklı olabilir. Peynirde suyun azalması durumunda enzimlerin ve mikroorganizmaların aktivitesinin azaldığı ve dolayısıyla proteoliz derecesinin de azaldığı bildirilmiştir (Lane vd., 1997; Rudan vd., 1999). Topçu (2004) ise Kaşar peyniri üretiminde yüksek haşlama sıcaklığı uygulamasının β -kazein hidrolizini sınırlandırıcı etkisinin bulunduğunu, haşlama işlemi sonucunda yüksek derecede enzimin (kimozin) inaktif olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuca göre haşlama işlemi sonrasında hem rennetin hemde TG enziminin büyük bir bölümünün inaktif hale geçtiği ve olgunlaşmanın ileriki safhalarında proteolizden starter kültürler sorumlu olduğu için, elektroforetik sonuçların birbiriyle benzerlik gösterdiğini söylemek mümkündür.

4.8. HPLC ile Belirlenen Peptid Profili Değişim Sonuçları

Peynirde olgunlaşmanın tespiti için kullanılan yöntemlerden biri de HPLC metodudur. Kromatogramda meydana gelen pik sayısı, yüksekliği ve oluşturduğu hidrofilik ve hidrofobik bölgeler peynirde proteoliz hakkında bilgi vermektedir (Topçu, 2004). Erken gelen pikler hidrofilik özellik gösterenler olup geç gelenler hidrofobik pikler olarak tanımlanmaktadır (Öner, 2015).

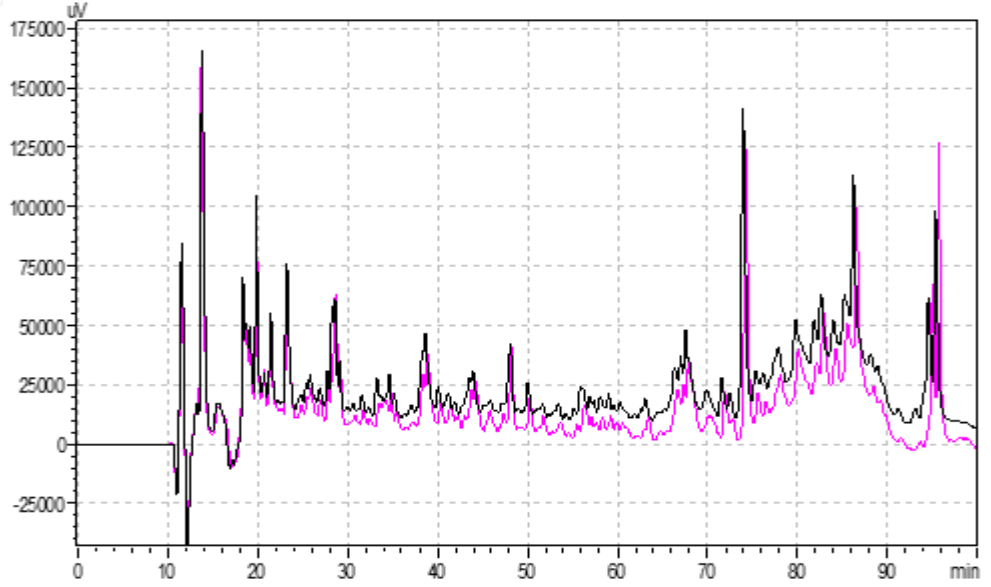
Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24’de deneme peynirlerine ait kromatogramlar verilmiştir.Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de izlenebileceği gibi olgunlaşmanın 0. gününde pik sayısı ve pik yüksekliği azken, olgunlaşmanın 90. gününe kadar değerlerde artış meydana geldiği görülmektedir. Ayrıca olgunlaşmanın ilk günlerinde hidrofilik peptidler çoğunlukta, olgunlaşmanın ilerlemesiyle acılaşıma yapan hidrofobik peptidler çoğalmıştır.

Gauche vd., 2008TG ile protein moleküllerinin yüzey hidrofobikliğinin azaldığını ve glutamin ile amino gruplarının kısmen deamidasyonu ile elektrostatik iticiliği arttırdığını belirtmişlerdir. Renzettivd. (2008)’deTG katalizi sırasında, glutamin kalıntıların deamidasyonu ile modifiye proteinlerde su tutma kapasitesinin artmasıyla hidrofilikliğinin arttığını belirtmişlerdir.Topçu (2004), yaptığı çalışmada Kaşar peynirinde özellikle 70-80. dakikalar arasındaki peptid birikiminin yüksek molekül ağırlığına sahip ve yüksek hidrofobisitesi olan peptid oluşumlarını gösterebileceğini belirtmiştir. Çalışmamızda da benzer şekildeŞekil 4.19’da görüldüğü gibi 0. olgunlaşma gününde TG katkılı Kaşar peynirinin kontrol örneğine göre daha yüksek hidrofobik peptid konsantrasyonuna sahip olduğu belirlenmiştir.Bu durum elektroforetik sonuçlarımızda ki 0. günTG ilaveli Kaşar peynirine tekabül eden bantların yoğunluğunda kısmi azalmayı açıklamaktadır. Yüksek molekül ağırlığına sahip proteinler jele girememekte ve bantın yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir.



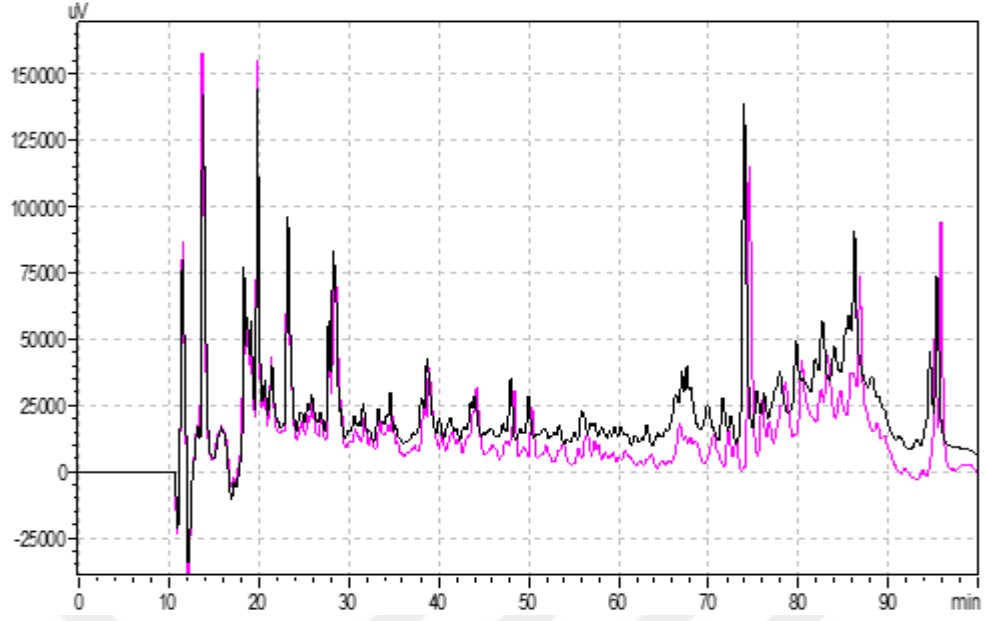
Şekil 4.19.Kaşar peynirleri örneklerinin 0. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri

Siyah pik : Kontrol Kaşar peyniri
 Pembe pik : TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneği



Şekil 4.20.Kaşar peynirleri örneklerinin 30. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri

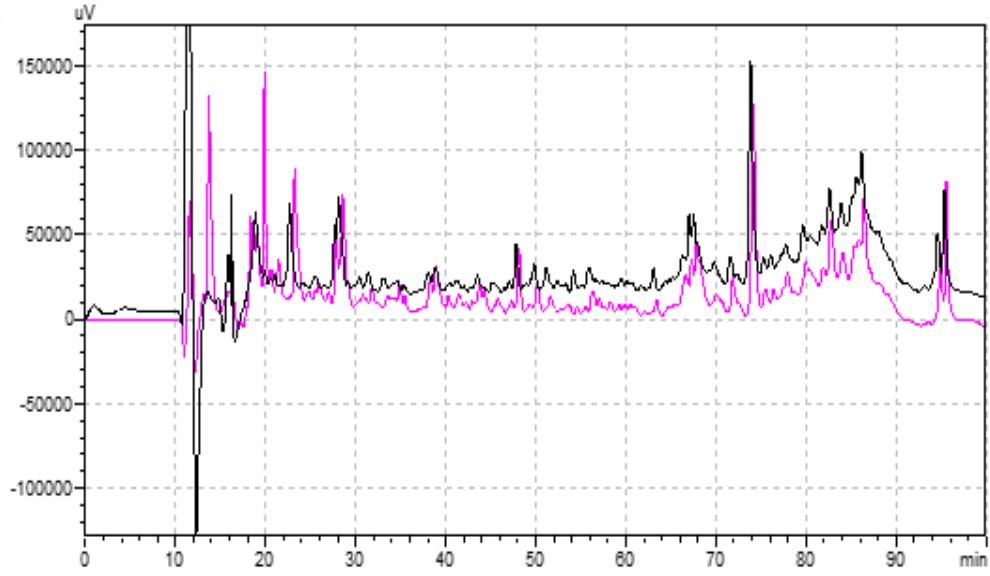
Siyah pik : Kontrol Kaşar peyniri
 Pembe pik : TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneği



Şekil 4.21.Kaşar peynirleri örneklerinin 60. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri

Siyah pik : Kontrol Kaşar peyniri

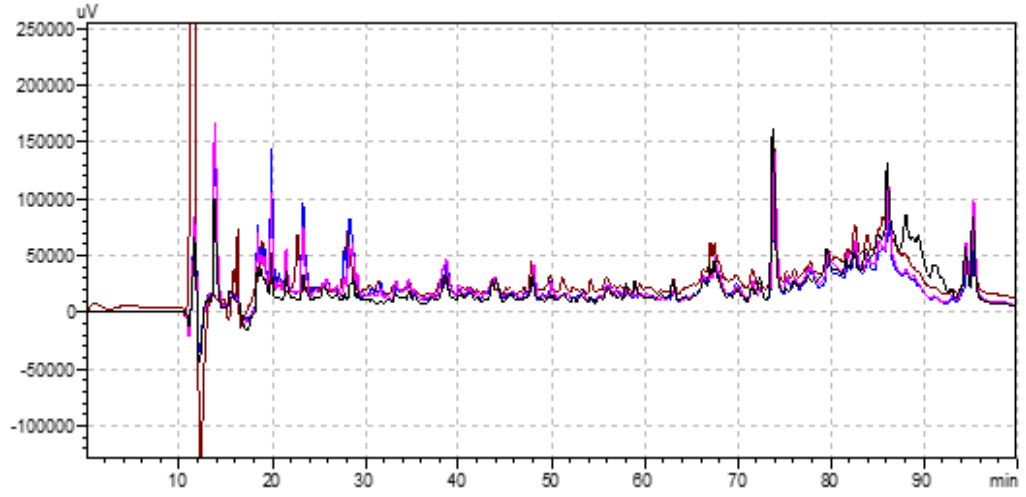
Pembe pik : TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneği



Şekil 4.22.Kaşar peynirleri örneklerinin 90. günde peptid profillerinde meydana gelen değişimleri

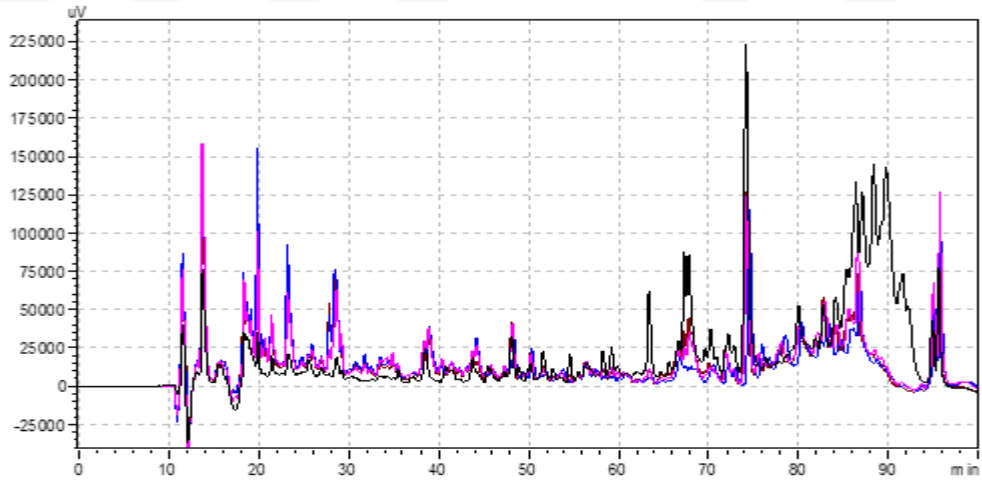
Siyah pik : Kontrol Kaşar peyniri

Pembe pik : TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneği



Şekil 4.23. Kontrol Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma süreci boyunca meydana gelen peptid profilleri

Siyah pik : 0. gün
 Pembe pik : 30. gün
 Mavi pik : 60. gün
 Kahverengi pik : 90. Gün



Şekil 4.24. TG ilave edilmiş Kaşar peyniri örneklerinin olgunlaşma süreci boyunca meydana gelen peptid profilleri

Siyah pik : 0. gün
 Pembe pik : 30. gün
 Mavi pik : 60. gün
 Kahverengi pik : 90. Gün

Pierro vd. (2010)'nın yapılan çalışmada TG katkılı peynir örneklerinde HPLC ile yapılan peptid profili analizinde 7 ile 35. günler arasında hidrofilik peptidlerin arttığı ve hidrofobik peptidlerin azaldığı görülmüştür. Araştırmacılar çapraz bağlanmış peynir örneklerinde hidrofilik peptidlerin artışının yavaş olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda ise benzer şekilde 0. gün TG katkılı örneklerde kontrol örneğine göre kısmen daha fazla olan hidrofobik peptidlerin 30. güne gelindiğinde azaldığı ve hidrofilik peptidlerin yine kısmen arttığı gözlemlenmiştir.

Olgunlaşmanın 30. gününde Kaşar peyniri denemelerinde hidrofilik peptidleri temsil eden piklerin yoğunluğunda artma görülmürken, kontrol grubunda hidrofobik peptidleri temsil eden piklerin 0. gündeki piklerle aynı yoğunlukta kaldığı, TG katkılı örneğin hidrofobik peptidlerini temsil eden piklerin ise azaldığı görülmektedir. Çalışmamızla farklı olarak TG katkılı Beyaz peynirde yapılan çalışmada 30. günde tüm peynir gruplarında hidrofilik peptidleri temsil eden piklerin yoğunluğunda azalma kaydedilmiştir. Fakat çalışmamızda olduğu gibi örnekler arasında farkın olmadığı gözlemlenmiştir. Hidrofobik peptidler açısından karşılaştırma yapıldığında ise yine çalışmamızla benzer şekilde 34°C'de mayalanan kontrol örneğinin yine aynı sıcaklıkta mayalanan TG katkılı örnekten daha yüksek peptid yoğunluğuna sahip olduğu, 30°C'de mayalanan örneklerinde birbirine yakın bir profil ortaya koyduğu belirlenmiştir (Şener, 2012).

60. olgunlaşma gününe gelindiğinde 30. olgunlaştırma günüyle karşılaştırıldığında hidrofobik peptid varlığı açısından belirgin bir farkın olmadığı belirlenmiştir. Örneklerin, hidrofobik peptitleri temsil eden piklerinin yoğunluğu aynı kalmıştır. Fakat hidrofilik peptit yoğunluğuna bakılırsa, deneme Kaşar peynirlerini temsil eden pikler kısmi artış göstermişlerdir. Hidrofilik peptid varlığı açısından örnekler arasında dikkat çekici bir fark bulunmazken, kontrol Kaşar peynirlerinin daha fazla hidrofobik peptid içerdiği ortaya konulmuştur. Bu durum TG katkılı Beyaz peynir çalışmasıyla benzer bulunmuştur (Şener, 2012).

Olgunlaşmanın sonuna gelindiğinde TG katkılı Kaşar peynirinin hidrofobik peptidlerini temsil eden pikleri 30. ve 60. olgunlaşma günleriyle aynı kaldığı kontrol örneğinin hidrofobik piklerini temsil eden piklerin ise kısmen arttığı görülmüştür. Hidrofilik peptidlere bakıldığında ise kontrol örneğine ait piklerin belirgin bir şekilde arttığı, TG ilaveli Kaşar peynirine ait piklerin ise azaldığı belirlenmiştir. Öner (2015) tarafından yapılan bir çalışmada Beyaz peynirlerinde olgunlaşma sırasında peptid oluşumu incelenmiştir. Araştırma sonucunda 0. aydaki hidrofilik peptidlerin yoğun olduğu görülmüştür. Ancak olgunlaşmanın ilerlemesiyle, 3., 6. ve 9. ayda hidrofilik ve hidrofobik peptid yoğunluğunun birbirlerine yakın değerlerde olduğu belirlenmiştir.

Genel olarak gerek toplam pik sayısı ve gerekse pik yüksekliği dikkate alındığında proteolizin sınırlı gerçekleştiğini söylememiz mümkündür. HPLC değerlendirmelerimizle paralel olarak benzer değerlendirmeler SDS-PAGE elektroforez sonuçlarından da alınmıştır. Proteolizin yavaş seyretmesinin sebebinin Kaşar peyniri üretiminde haşlama işlemi yapılması ve bunun sonucunda hem rennetin hemde TG enziminin belirli bir düzeyde inaktive olması, bu sonucu doğrulmuş olabilir. Çalışmamızda kullandığımız süt ve starter kültürler aynı olduğu için peynirlerin proteolizi benzerlik göstermiştir. Çünkü proteolizden, starter kültürler ile bunların sahip oldukları enzimler, süttten gelen mikroorganizmalar ile sütte bulunan proteolitik enzimler sorumlu olmuştur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gıda sektöründeki gelişmeleri takip ederek, hem ürün özelliklerinin gelişimini sağlamak hemde verimi arttırmak için yeni teknoloji ve yöntemlerin uygulamaya geçirilmesi gerekmektedir. Peynir endüstrisinde son yıllarda bu yeni teknolojilerden ve yöntemlerden çok fazla yararlanılmaktadır. Özellikle peynir altı suyu proteinlerinin geri kazanımı için kullanılan yüksek maliyetli filtrasyon teknolojileri, peynirde yağın çekilmesinden kaynaklanan olumsuzlukları gidermek için çeşitli yağ ikame maddelerine bazı kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Peynir üretiminde olumlu ya da olumsuz pek çok etkisi olan bu yöntemlere alternatif olan enzim uygulamalarının; enzimatik reaksiyonların yüksek spesifiklik göstermesi, sadece katalitik etki yapacak miktarı gerektirmeleri ve toksik yan ürünlerin oluşturma olasılığının daha az olması nedeniyle, peynir üretiminde kullanım potansiyeli bulunmaktadır.

Bu çalışma kapsamında, düşük yağlı Kaşar peynirinde TG enziminin yağı azaltılmış peynirlerde kullanılabilirliği ile peynirde tekstürel özelliklerin gelişimine ve proteoliz oluşumuna etkisi araştırılmıştır.

Araştırmamızda Kaşar peyniri örnekleri olgunlaşmanın 0., 30., 60. ve 90. günlerinde tekstürel, duyu, fiziko-kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır. Daha sonra peynirlerin elektroforez ve HPLC ile peptid analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre TG ilavesinin;

- a.** Yağı azaltılmış süt ürünlerinde yapılan pek çok çalışmada yağ ikame maddesi olarak kullanılan TG ile yapı iyileştirilmesine rağmen düşük yağlı Kaşar peynirinde tekstürel parametrelerin gelişim göstermediği,
- b.** Diğer peynir çalışmalarında enzimin su bağlama özelliği ile % 4 ila % 20 verim artışı bulunurken, çalışmamızda verim artışı gözlemlenmemiştir.
- c.** Elektroforez ve HPLC analizleri sonucunda proteoliz bakımından kontrol örneği ile karşılaştırıldığında farklılığın gözlemlenmediği,

d.Kaşar peynirinde yapılan kimyasal, mikrobiyolojik ve duyusal analiz sonuçlarına göre,bileşim özellikleri üzerinde olumlu yada olumsuz etki yaratmadığıtespit edilmiştir.

TG katkılı Kaşar peyniri ile kontrol peynirinin analiz sonuçlarının istatistiksel olarak farklı çıkmamasının nedeni yarı sert tip peynir olan Kaşar peyniri yapımında 65-70°C gibi yüksek sıcaklıklarda haşlama yapılmasının ve yoğurma işlemi gibi fiziksel uygulama sonucunda enzimin etkinliğini yerine getirememesi olarak düşünülmektedir.

Sonuç olarak;sonraki çalışmalarda, TG'nin sert ya da yarı sert tip peynirlerde kullanımı ile ilgili faktörler daha iyi tanımlanmalıdır. TG enziminin sert ya da yarı sert tip peynirlerde verim ve bazı özelliklerin gelişmesi için gerekli doz ve katım aşaması ile ilgili daha fazla çalışma yapılması hem ekonomi açısından hemde besin değerinin arttırılması açısından gelecekteki çalışmalara öncülük edecektir.

KAYNAKLAR

- Aaltonen, T., Huumonen, I., Myllarinen, P., 2014. Controlled Transglutaminase Treatment in Edam Cheese-Making. *International Dairy Journal*, 38, 179-182.
- Abd-Rabo, F.H.R., El-Dieb, S.M., Abd-El-Fattah, A.M., Sakr, S.S., 2010. Natural State Changes of Cows' and Buffaloes' Milk Proteins Induced by Microbial Transglutaminase. *Journal of American Science*, 6, 612-620
- Aboumahmoud, R. Savello, P., 1990. Crosslinking of Whey Proteins by Transglutaminase. *Journal of Dairy Science*, 7, 256-263.
- Adda, J., Gripon, J.D., Vassal, L., 1982. The Chemistry of Flavor and Texture Generation in Cheese. *Food Chemistry*, 9, 115-129.
- Aeschlimann, D., Paulsson, M., 1994. 'Transglutaminase: Protein Cross-Linking Enzyme in Tissues and Body Fluids' in. *Thrombosis and Haemostasis*, 71, 402-415.
- Aguilera, J.M., 1992. Generation of Engineered Structures in Gels. *Physical Chemistry of Foods*, Marcel Dekker, 387-421.
- Ahmed, M.A., El-Nimer, A.M.M., Mostafa, M.A., Omar, H., 2015. Effect of Fat Replacer or Transglutaminase on the Quality of Low-Fat Gouda-Like Cheese. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 10(2), 170-180.
- Akın, N., 2010. *Temel Peynir Bilimi-I, Damla Ofset, Konya*.
- Akın, S.M., Şahan, N., 1998. Şanlıurfa'da Üretilen Taze Urfa Peynirlerinin Kimyasal ve Duyusal Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma. V. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu, 21-22 Mayıs, Ankara.
- Aloğlu, H.Ş., Öner, Z., 2013. The Effect of Treating Goat's Milk with Transglutaminase on Chemical, Structural and Sensory Properties of Labneh. *Small Ruminant Research*, 109, 31-37.
- Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, M., Uchio, R., Tanaka, H., Motoki, M., 1989. Purification and Characteristics of a Novel Transglutaminase Derived From Microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry*, 53, 2613-2617.
- Anonim, 1989. *Türk Standartlar Enstitüsü, Kaşar Peyniri Standardı, TS-3272. 6s, Ankara*.
- Anonim, 1995. *Türk Standartları Enstitüsü, Beyaz Peynir Standardı, TS 591, Ankara*.

Anonim, 1999. MIDI Manual. Newark, DE, 19713, USA.

Anonim, 2000. Türk Gıda Kodeksi, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş, İçme Sütleri Tebliği, Resmi Gazete, 14 Şubat 2000, 23964, 27-37s.

Anonim, 2006. Türk Standartları Enstitüsü, Beyaz Peynir Standardı, TS 591, Ankara.

Arrizubieta, M.J., 2007. Transglutaminases In: Industrial Enzymes: Structure, Function and Applications, Polaina, J., MacCabe, A.P.(Eds.), (567-581). Springer, New York.

Atamer, M., Çimer, A., Tamuçay, B., 1996. Laktoperoksidaz/Tiyosiyanat/Hidrojen Peroksit Sisteminin Aktivasyonu ile Korunmuş Sütlerden Üretilen Kaşar Peynirlerinin Bazı Kalite Özellikleri Üzerine Araştırmalar. TÜBİTAK Proje No: TOGTAG-1409, 1-69.

Atamer, M., Koçak, C., Çimer, A., Odabaşı, S., Tamuçay, B., Yamaner, N., 1999. Some Quality Characteristics of Kashar Cheese Manufactured from Milk Preserved by Activation of Lactoperoxidase/Thiocyanate/Hydrogen Peroxide (LP) System. Milchwissenschaft, 54(10), 553-556.

Aydemir, A.S., 2000. Lipaz Enziminin (Lipase®) Beyaz ve Kaşar Peynirlerin Olgunlaşması Üzerine Etkisi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 350s, Ankara.

Babiker, E.F.E., Matsudomi, N., Kato, A., 1998. Masking of Antigen Structure of Soybean Protein by Conjugation with Polysaccharide and Crosslinkage with Microbial Transglutaminase. Nahrung, 42, 158-159.

Badem, A., 2015. Rennet Kazeinin Kaşar Peynirinin Kimyasal, Mikrobiyolojik ve Duyusal Kalite Niteliklerine Etkisi. Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 83-84s, Konya.

Barrantes, E., Tammime, A.Y., Davies, G., Barclay, M.N., 1994a. Production of Low-Calorie Yogurt Using Skim Milk Powder and Fat-Substitutes 2: Compositional Quality. Milchwissenschaft, 49(3) 135-139.

Barrantes, E., Tamime, A.Y., Sword, A.M., 1994b. Production of Low-Calorie Yogurt Using Skim Milk Powder and Fat-Substitutes 4: Rheological Properties. Milchwissenschaft, 49(5) 263-265.

Blanshard, J.M.V., Mitchell, J.R., 1998. Food Structure-its Creation and Evaluation, Bittenworths.

Bordignon-Luiz, M.T., Gauche, C., Vieira J.T.C., Ogliari P.J., 2008. Crosslinking of Milk Whey Proteins by Transglutaminase. Process Biochemistry, 48, 788-794.

- Bönisch, M.P., Lauber, S., Kulozik, U. 2004. Effect of Ultra High Temperature Treatment on the Enzymatic Crosslinking of Micellar Casein and Sodium Caseinate by Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 69, 398–404.
- Bönisch, M.P., Tolkach, A., Kulozik, U., 2006. Inactivation of an Indigenous Transglutaminase Inhibitor in Milk Serum by Means of UHT-Treatment and Membrane Separation Techniques. *International Dairy Journal*, 16, 669–678.
- Bönisch, M.P., Huss, M., Weitzl, K., Kulozik, U., 2007a. Transglutaminase Crosslinking of Milk Proteins and Impact on Yoghurt Gel Properties. *International Dairy Journal*, 17, 1360-1371.
- Bönisch, M.P., Lauber, S., Kulozik, U., 2007b. Improvement of Enzymatic Cross-Linking of Casein Micelles with Transglutaminase by Glutathione Addition. *International Dairy Journal*, 17, 3–11.
- Bönisch, M.P., Heidebach, T.C., Kulozik, U., 2008. Influence of Transglutaminase Protein Cross-Linking on the Rennet Coagulation of Casein. *Food Hydrocolloids*, 22, 288-297.
- Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K., 1992. Chemical and Physical Methods in Standard., 433–531.
- Camolezi-Gaspar, A.L., Pedrosa de Góes-Favoni, S., 2015. Action of Microbial Transglutaminase (MTG) in the Modification of Food Proteins: A Review. *Food Chemistry*, 171, 315–322.
- Cayot, P., Schenker, F., Houze, G., Sulmont-Rosse, C., Colas, B., 2008. Creaminess in Relation to Consistency and Particle Size in Stirred Fat-Free Yogurt. *International Dairy Journal*, 18, 303-311.
- Christensen, B.M., Sørensen, E.S., Højrup, P., Petersen, T.E., Rasmussen, L.K., 1996. Localization of Potential Transglutaminase Cross-Linking Sites in Bovine Caseins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1943–1947.
- Clark, S., Sherbon, J.W., 2000. Alphas1-casein, milk composition and coagulation properties of goat milk. *Small Ruminant Research*, 38, 123-134.
- Cozzolino, A., Di Pierro, P., Mariniello, L., Sorrentino, A., Masi, P., Porta, R., 2003. Incorporation of Whey Proteins Into Cheese Curd by Using Transglutaminase. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38, 289-295.
- Cui, L., Zhang, D.X., Huang, L., Liu, H., Du, G.C., Chen, J., 2006. Stabilization of a New Microbial Transglutaminase From *Streptomyces Hygroscopicus* WSH03–13 by Spray Drying. *Process Biochemistry*, 41, 1427–1431.

- Çelikel, A., 2012. Farklı Oranlarda Mikrobiyal Transglutaminaz (MTG) ile İşlem Görmüş Sütlerden Üretilen Yarım Yağlı Ayrarların Bazı Özellikleri. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 48s, Şanlıurfa.
- Çetinkaya, F., Soyutemiz, G.E., 2006. Microbiological and Chemical Changes Throughout the Manufacture and Ripening of Kashar: A Traditional Turkish Cheese. Turk Journal Veterinary Animal Science, 30, 397-404.
- Çürük, M., 2006. Kaşar Benzeri Peynirlerin Bazı Özellikleri Üzerine Eritme Tuzu Kullanımının ve Olgunlaşma Süresinin Etkileri. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 88 s, Adana.
- Dalgleish, D.G., 1992. The Enzymatic Coagulation of Milk. Advanced Dairy Chemistry. Proteins Vol. 1. Fox, P.F. (Ed.), Elsevier Applied Science Publishers, London.
- Davies, F.L., Law, B.A., 1984. Advances in The Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk, Elsevier Applied Science Publishers, London, 260s.
- Davis, J.G., 1965. Cheese, Vol 1. Basic Technology, J. And A. Churchill Ltd., ,463 s, London.
- De Jong, G.A.H., Wijngaards, G., Boumans, H., Koppelman, S.J., Hessing, M., 2001. Purification and Substrate Specifity of Transglutaminases From Blood and *Streptovercillium mobaraense*. Journal of Agriculture Food Chemistry, 49, 3389-3393
- De Jong, G.A.H., Koppelman, S.J., 2002. Transglutaminase Catalyzed Reactions: Impact on Food Applications. Journal of Food Science, 67(8), 2798–2806.
- De Jong, G.A.H., Wijngaards, G., Koppelman, S.J., 2003. Transglutaminase Inhibitor From Milk. Journal of Food Science, 68, 820-825.
- Demirci, M., Gündüz, H., 2000. Süt Teknologunun El Kitabı. 72-77s, Hasat Yayınları.
- Demirkaya, A.K., Ceylön, Z.G., 2009. The Effect of Microbiological Transglutaminase on Microbiological, Chemical, Textural and Sensory Properties of Yogurt. The Australian Journal of Dairy Technology, 64, 171-176.
- Desá, E.M.F., Bordignon-Luiz, M.T., 2010. The Effect of Transglutaminase on the Properties of Milk Gels and Processed Cheese. International Journal of Dairy Technology, 63, 243-251.

- Dickinson, E., Yamamoto, Y., 1996. Rheology of Milk Protein Gels and Protein-stabilised Emulsion Gels Crosslinked with Transglutaminase. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 44, 1371-1377.
- Dickinson, E., 1997. Enzymatic Crosslinking as a Tool For Food Colloid Rheology Control and Interfacial Stabilization. *Trends in Food Science and Technology*, 8, 334-339.
- Donkor, O.N., Henriksson, A., Singh, T.K., Vasiljevic, T., Shah, N.P., 2007. "ACE Inhibitory Activity of Probiotic Yoghurt". *International Dairy Journal*, 17, 1321-1331.
- Duboc, P., Mollet, B., 2001. Applications of Exopolysaccharides in the Dairy Industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.
- Eralp, M., 1974. *Peynir Teknolojisi*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları:533, 331s, Ankara.
- Erdem, Y.K., 1991. Sütün Rennet ile Pıhtılaşma Süreci. *Gıda*, 16(4), 259-263.
- Faergemand, M., Murray, B.S., Dickinson, E., 1997a. Cross-Linking of Milk Proteins with Transglutaminase at the Oil-Water Interface, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 45, 2514-2519.
- Faergemand, M., Otte, J., Qvist, K.B., 1997b. Enzymatic Cross-Linking of Whey Proteins by a Ca^{2+} -Independent Microbial Transglutaminase From *Streptomyces Lydicus*. *Food Hydrocolloids*, 11, 19-25.
- Faergemand, M., Otte, J., Qvist, K.B., 1998. Emulsifying Properties of Milk Proteins Cross-Linked with Microbial Transglutaminase. *International Dairy Journal*, 8, 715-723.
- Faergemand, M., Sorensen, M., Jorgensen, U., Budolfson, G., Qvist, K.B., 1999a. Transglutaminase: Effect on Instrumental and Sensory Texture of Set Style Yoghurt. *Milchwissenschaft*, 54(10), 563-566.
- Faergemand, M., Murray, B.S., Dickinson, E., Qvist, K.B., 1999b. Cross-Linking of Adsorbed Casein Films with Transglutaminase. *International Dairy Journal*, 9, 343-346.
- Falcone, P., Serafin-Fracassini, D., Del-Duca, S., 1993. Comparative Studies of Transglutaminase Activity and Substrates in Different Organs of *Helianthus Tuberosus*. *Journal of Plant Physiology*, 142, 263-273.
- Farnsworth, J.P., Li, J., Guo, M.R., 2003. Improved Structure and Consistency of Probiotic's Milk Yogurt. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 58, 2-187.

- FDA-Food and Drug Administration. Numerical listing of GRAS notices. <<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnNavigation.cfm?filter=transglutaminase&sortColumn=&rpt=grasListing>>Accessed 25.03.10.
- Fenelon, M.A., Guinee, T.P., 2000. Primary Proteolysis and Textural Changes During Ripening in Cheddar Cheeses Manufactured to Different Fat Contents. *International Dairy Journal*, 10, 151-158.
- Fırat N., 2006. Çiğ ve Pastörize Sütten Üretilen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Süresince Bazı Mikrobiyolojik, Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Folkenberg, D.M., Martens, M., 2003. Sensory Properties of Low Fat Yogurts. Part A: Effect of Fat Content, Fermentation Culture and Addition of Non-Fat Dry Milk on The Sensory Properties of Plain Yogurts. *Milchwissenschaft*, 58, 48-51.
- Fox, P.F., O'Connor, T.P., McSweeney, P.L.H., Guinee, T.P., O'Brien, N.M., 1996. Cheese: Physical, Chemical, Biochemical and Nutritional Aspects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 39, 163-328.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1997. Rennets: Their in Milk Coagulation and Cheese Ripening. *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk* (Ed:B.A. Law). 1- 40.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic and Professional, Thomson Science, London, United Kingdom.
- Fox, F.P., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P., 1999. *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology Volume 1: Geneal Aspects*, 2.Edition, Aspen Publishers Inc., Maryland.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., 2000. *Fundamentals of Cheese Science*, Chapter 6. Maryland: Aspen Publication, 98-137.
- Gauche, C., Tomazi, T., Bordignon-Luiz, M.T., 2008. Crosslinking of Milk Ptoteins by Transglutaminase Functional Properties Modifications and Use in Dairy Product. *Boletim do Centro Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 261, 111-112
- Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P.L.M., Ogliari, P.J., Bordignon-Luiz, M.T., 2009. Physical Properties of Yoghurt Manufactured with Milk Whey and transglutaminase. *LWT-Food Science ve Techology*, 42, 239-243.
- Gerrard, J.A., 2002. Protein-Protein Crosslinking in Food: Methods, Consequensces, Applications. *Trends in Food Science and Technology*, 13, 389-397.

- Grossowicz, N., Wainfan, E., Borek, E., Waelsch, H., 1950. The Enzymatic Formation of Hydroxamic Acids From Glutamine and Asparagine. *Journal of Biology and Chemistry*, 53, 2613-2617.
- Golabczak, J., Strakowska, J., Stan, A., 2004. 31st International Conference of the Slovak Society of the Chemical Engineering, 24-28 May, Tatranské Matliare, *Chemical Paper*, 58(6) 415-417.
- Guerra-Martínez, J.A., Montejano, J.G., Martín-del-Campo, S.T., 2012. Evaluation of Proteolytic and Physicochemical Changes During Storage of Fresh Panela Cheese From Queretaro, Mexico and its Impact in Texture. *CyTA-Journal of Food*, 10(4), 296-305.
- Guinee, T.P., 2004. Salting and the Role of Salt in Cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 99-109.
- Gustaw, W., Mleko, S., Tomczynska-Mleko, M., 2008. Production of UF-Milk Cheeses: Effect of Rennet and Transglutaminase on Coagulation Time, Texture and Syneresis. *Milchwissenschaft*, 63, 141-144.
- Güven, M., Tatar Görmez, P., 2004. Antimikrobiyal Madde Kullanımı ve Paketleme Materyalinin Kaşar Peynirinin Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi. *Gıda ve Yem Teknolojisi*, 5, 3-11.
- Guzmán-González, M., Morais, F., Ramos, M., Amigo, L., 1999. Influence of Skimmed Milk Concentrate Replacement by Dry Dairy Products in a Low Fat Set-Type Yogurt Model System. I: Use of Whey Protein Concentrates, Milk Protein Concentrates and Skimmed Milk Powder. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1117-1122.
- Halkman, A. K., (Ed.), 2005. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Başak Matbaacılık, 358s, Ankara.
- Hamada, J.S., 1992. Modification of Food Proteins by Enzymatic Methods. *Biochemistry of Food Proteins*, Elsevier, 249-270.
- Han, X.Q., Damodaran, S., 1996. Thermodynamic Compatibility of Substrate Proteins Affects Their Cross-Linking by Transglutaminase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1211-1217.
- Han, X.Q., Spradlin, J.E., 2000. Inventors; Kraft Foods, Inc., Assignee. Process for Incorporating Whey Proteins Into Cheese Using Transglutaminase. European Patent 1057411.
- Hayaloğlu, A.A., Güven, M., Fox, P.F., 2002. Microbiological, Biochemical and Technological Properties of Turkish White Cheese "Beyaz Peynir". *International Dairy Journal*, 12(8), 635-648.

- Hayaloglu, A.A., Güven, M., Fox, P.F., Hannon, J.A., McSweeney, P.L.H., 2004. Proteolysis in Turkish White-Brined Cheese Made with Defined Strains of *Lactococcus*, *International Dairy Journal*, 14, 509-610.
- Hayaloğlu, A.A., Özer, B., 2011. *Peynir Biliminin Temelleri*, Sidaş medya, İzmir.
- Hort, J., Grys, G.L., 2001. Developments in the Textural and Rheological Properties of UK Cheddar Cheese During Ripening. *International Dairy Journal*, 11, 475-481.
- Hu, Y., Ge, K., Jlang, L., Guo, H., Luo, J., Wang, F., Ren, F., 2013. Effect of Transglutaminase on Yield, Compositional and Functional Properties of Low-Fat Cheddar Cheese. *LWT-Food Science and Technology*, 19(3), 359-367.
- Huang, X.L., Catignani, G.L., Swaisgood, H.E., 1995. Immobilization of Biotinylated Transglutaminase by Bioselective Adsorption to Immobilized Avidin and Characterization of the Immobilized Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 895-901.
- Hui, Y.H., 1993. *Dairy Science and Technology Handbook*, Wiley WCH, USA.
- Huppertz, T., De Kruif, C.G., 2007. Rennet-Induced Coagulation of Enzymatically Cross-Linked Casein Micelles. *International Dairy Journal*, 17, 442-447.
- Huppertz, T., 2011. Restoring the Rennetability of Transglutaminase-Treated Casein Micelles. *Milchwissenschaft*, 66, 175-177.
- Huygbaert, A., Dewettinck, K., Greyt, W., 1994. Fat replacers. *IDF*, 317, 10-15.
- Hyvönen, L., Linna, M., Tuorila, H., Dijksterhuis, G., 2003. Perception of Melting and Flavor Release of Ice Cream Containing Different Types and Contents of Fat. *Journal of Dairy Science*, 86, 1130-1138.
- IDF, 1987. Determination of Total Solids Content. *IDF standard 21B*. Brussels, Belgium: International Dairy.
- Ikura, K., Kometani, T., Yoshikawa, M., Sasaki, R., Chiba, H., 1980. Cross-Linking of Casein Components by Transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 44, 1567-1573.
- Imm, J. Y., Lian, P., Lee, C.M., 2000. Gelation and Water Binding Properties of Transglutaminase-Treated Skim Milk Powder. *Food Chemistry and Toxicology*, 65(2), 200-204.
- Jaros, D., Partschefeld, C., Henle, T., Rohm, H., 2006. Transglutaminase in Dairy Products: Chemistry, Physics, Applications. *Journal of Texture Studies*, 37, 113-155.

- Kahyaoğlu, T., Kaya, S., Kaya, A., 2005. Effect of Fat Reduction and Curd Dipping Temperature on Viscoelasticity, Texture and Appearance of Gaziatep cheese. *Food Science and Technology International*, 11, 191-198.
- Kashiwagi, T., Yokoyama, K., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matsui, H., Suzuki, E., 2002. Crystal Structure of Microbial Transglutaminase From *Streptoverticillium Mobaraense*. *The Journal of Biological Chemistry*, 277, 44252– 44260.
- Kasımoğlu, A., Göncüoğlu, M., Akgün, S., 2004, Probiotic White Cheese with *Lactobacillus Acidophilus*, *International Dairy Journal*, 14, 1067-1073.
- Kaya, S., 2002. Effect of Salt on Hardness and Whiteness of Gaziantep Cheese During Short-Term Brining. *Journal of Food Engineering*, 52(1), 155-159.
- Keçeli, T., Şahan N., Yaşar, K., 2006. The Effect of Pre-Acidification Wilt Citric Acid on Reduced-Fat Kashar Cheese. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 61 (1): 32-36.
- Kırımhan, E.Ü., 2011. Mikrobiyel Transglutaminaz Enziminin Yoğurt Dondurması Üretiminde Kullanımı, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 72-73s, Ankara.
- Kırmacı, H. A., Özer, B., H., Türkoğlu, H., 2004. Effect of Enzymatic Cross-Linking of Proteins on Textural Properties of Non-Fat Yoghurt. *Proceedings of Recent Developments in Dairy Science and Technology*, International Dairy Symposium, May 24–28, Isparta, Turkey, 37–40.
- Kırmacı, H.A., 2005. Yağsız Yoğurtlarda Transglutaminaz Enzimi Kullanımının Yoğurdun Tekstürel Özellikleri Üzerine Etkileri. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 98s, Şanlıurfa.
- Kieliszek, M., Misiewicz, A., 2014. Microbial Transglutaminase and Its Application in The Food Industry: A Review. *Folia Microbiologia*, 59, 241-250.
- Kim, S.Y., Gunasekaran, S., Olson, N.F., 2004. Combined Use of Chymosin and Protease from *Cryphonectria Parasitica* for Control of Meltability and Firmness of Cheddar Cheese. *Journal of Dairy Science*, 87(13), 274-283.
- Koca, N., 2002. Bazı İkame Maddelerinin Yağı Azaltılmış Taze Kaşar Peynirinin Nitelikleri Üzerin Etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 227s, İzmir.
- Koçak, C., Devrim, H., 1989. Isıl İşlemin İnek ve Koyun Sütlerinin Peynir Mayası ile Pıhtılaşma Yetneği Üzerine Etkisi. *Gıda*, 14(1), 3-8.

- Konkular, G., Inglett, C.E, Carriere, E.D., Felker, F.C., 2004. Use of Beta-Glucan Hydrocolloidal Suspension in the Manufacture of Low –Fat Cheddar Cheese: Manufacture, Composition, Yield and Microstructure. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 109-119.
- Kosikowski, F.V., Mistry, V.V., 1997. *Cheese and Fermented Milk Foods*, Vol. 1. Westport, CT, 06880: F.V. Kosikowski LLC.
- Krig, S.R., Rice, R.H., 2000. TCDD Suppression of Tissue Transglutaminase Stimulation by Retinoids in Malignant Human Keratinocytes. *Toxicological Sciences*, 56, 357–364.
- Kruif, C.G., Tuinier, R., Holt, C., Timmins, P.A., Rollema, H.S., 2002. Physicochemical Study of κ - and β -Casein Dispersions and the Effect of Cross-Linking by Transglutaminase. *Langmuir*, 18(12), 4885–4891.
- Kumazawa, Y., Sakamoto, J., Kuraishi, C., Nio, N., Sakaguchi, S., 2002. Inventors; Ajinomoto Co., Inc., Assignee. Cheese Yield Enhancing Method. European Patent 1186238 A2.
- Kumazawa, Y., Miwa, N., 2004. Inventors; Ajinomoto Co., Inc., Assignee. Process for Producing Cheese Curd. European Patent 1442663.
- Kuraishi, C., Sakamoto, J., Soeda, T., 1996. Inventors; Ajinomoto Co., Inc., Assignee. Process for Producing Cheese Using Transglutaminase. European Patent 0711504.
- Kuraishi, C., Yamazaki, K., Susa, Y., 2001. Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry, *Food Reviews International*, 17(2), 221-246.
- Kurultay, Ş., Yaşar, K., Öksüz, Ö., 2004. The Effects of Different Curd pH and Stretching Temperatures on Some Chemical Properties of Kashar Cheese. *Milchwissenschaft*, 59(7-8), 386-388.
- Kwan, S.W., Easa, A.M., 2003. Comparing Physical Properties of Retort-Resistant Glucono- δ -Lactone Tofu Treated with Commercial Transglutaminase Enzyme or Low Levels of Glucose. *LWT-Food Science and Technology*, 36, 643-646.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Protein During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
- Lane, C.N., Fox, P.F., Johnston, D.E., McSweeney, P.L.H., 1997. Contribution of Coagulant to Proteolysis and Textural Changes in Cheddar Cheese During Ripening. *International Dairy Journal*, 7, 453-464
- Lawrence, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J., 1987. Texture Development During Cheese Technology. *Journal Dairy Science*, 70(8), 1748-1760.

- Lenoir, J., Schneid, N., 1986. The Coagulability of Milk by Rennet 'In Cheesemaking Science and Technology Ed. A. Eck' Lavoisier Publishing Inc. New York, 139-148.
- Lorenzen, P.C., Schlimme, E., 1997. Pilot Studies on the Effect of Enzymatic Cross-Linking in Dairying. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, 49, 221-227.
- Lorenzen, P.C., Schlimme, E., 1998. Properties and Potential Fields of Application of Transglutaminase Preparations in Dairying. International Dairy Federation, 332, 47-53.
- Lorenzen, P.C., 2000a. Renneting Properties of Transglutaminase Treated Milk. Milchwissenschaft, 55, 433-437.
- Lorenzen, P.C., 2000b. Techno-Functional Properties of Transglutaminase-Treated Milk. Milchwissenschaft, 55, 667-670.
- Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A., Schlimme, E., 2002. Effect of Enzymatic Cross-Linking of Milk Proteins on Functional Properties of Set Style Yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 55, 152-157.
- Lorenzen, P.C., Neve, H., 2003. Enzymatic Crosslinking of Protein in the Manufacture of Fermented Milk. International Dairy Federation-Fermented Milk, 241-249.
- Lucey, J.A., 2009. Milk Protein Gels, Milk Proteins From Expression to Food (Eds.: Thompson, A., Boland, M., Singh, H.), Academic Press Inc.
- Macedo, J.A., Cavallieri, A.L.F., DaCunha, R.L., Sato, H.H., 2010. The Effect Of Transglutaminase From *Streptomyces* spp. CBMAI 837 on the Gelation of Acidified Sodium Caseinate. International Dairy Journal, 20, 673-679.
- Madadlou, A., Sayadi, A., Khosrowshahi, A., 2013. Enzymatic Cross-Linking of Whey Proteins in Low Fat Iranian White Cheese. International Dairy Science, 29, 88-92.
- Marquez, G.R., Di Pierro, P., Esposito, M., Mariniello, L., Porta, R., 2013. Application of Transglutaminase-Crosslinked Whey Protein/Pectin Films as Water Barrier Coatings in Fried and Baked Foods. Food and Bioprocess Technology.
- Matsumura, Y., Chanyonvorakul, Y., Kumozawa, Y., Ohtsuka, T., Mori, T., 1996. Enhance Susceptibility to Transglutaminase Reaction of α -lactalbumin in the Molten Globule State. Biochimica et Biophysica Acta, 1292, 69-76.
- Mcmahon, D.J., Brown, R.J., 1984. Enzymic Coagulation of Casein Micelles: A Review. Journal of Dairy Science, 67, 919-929.

- McSweeney, P.L.H., 2004. Biochemistry of Cheese Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57, 127-144.
- Metin, M., Öztürk, G.F., 1991. Türkiye’de Vakum Paketlenmiş Taze Kaşar Peynirlerin Yapımı ve Düşündürdükleri. Her Yönüyle Peynir. Demirci, M. (Ed.), Trakya Üniversitesi Tekirdağ Ziraat Fakültesi Yayın No:125, 289 s, Tekirdağ.
- Metwally, A.M.M.E., 2007. Effect of Enzymatic Cross-Linking of Milk Proteins on Properties of Ice Cream with Different Composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 939-947.
- Miwa, N., Kumazawa, Y., Nakagoshi, H., Sakaguchi, S., 2002. Inventors; Ajinomoto Co., Inc., Assignee. Method for Modifying Raw Material Milk and Dairy Product Prepared by Using the Modified Raw Material Milk. European Patent 1 197 152 A2.
- Moon, J.H., Hong, Y.H., Huppertz, T., Fox, P.F., Kelly, A.L., 2009. Properties of Casein Micelles Cross-Linked by Transglutaminase. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 27-32.
- Motoki, M., Seguro, K., 1998. Transglutaminase and Its Use For Food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 204–210.
- Motoki, M., Kumazawa, Y., 2000. Recent Research Trends in Transglutaminase Technology for Food Processing. *Food Science and Technology Research*, 6, 151–160.
- Myllärinen, P., Buchert, J., Autio, K., 2007. Effect of Transglutaminase on Rheological Properties and Microstructure of Chemically Acidified Sodium Caseinate Gels. *International Dairy Journal*, 17, 800-807.
- Neelakantan, S., Mohanty, A.K., Kaushik, J.K., 1999. Production and Use of Microbial Enzymes For Dairy Processing. *Current Science*, 77, 143.
- Neve, H., Lorenzen, P.C., Mautner, A., Schlimme, E., Heller, K.J., 2001. Effect of Transglutaminase Treatment on the Production of Set Skim Milk Yoghurt: Microbial Aspekts. *Kielermilchwirtschaftliche For Schungsberitche*, 53 (4), 347-361.
- Ng-Kwai-Hang, K.F., Politis, I., Cue, R.I., Marziali, A.S., 1989. Correlations Between Coagulation Properties of Milk and Cheese Yielding Capacity and Cheese Composition. *Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology*, 22, 291–294.
- Nieuwenhuizen, W.F., Dekker, H.L., Groneveld, T., Koster, C.G., De Jong, G.A.H., 2004. Transglutaminase-Mediated Modification of Glutamine and Lysine Residues in Native Bovine Beta-Lactoglobulin. *Biotechnology and Bioengineering*, 85(3), 248–258.

- Nielsen, P.M., 1995. Reactions and Potential Industrial Applications of Transglutaminase. Review of Literature and Patents. Food Biotechnology, 6, 119-156.
- Nonaka, M., Matsuura, Y., Motoki, M., 1996. Incorporation of Lysine and Lysine Dipeptides Into α_{s1} -casein by Ca^{2+} -Independent Microbial Transglutaminase. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 60, 131-133.
- O'Sullivan, M.M., Lorenzen, P.C., O'Connell, J.E., Kelly, A.L., Schlimme, E, Fox, P.F., 2001. Short Communication: Influence of Transglutaminase on the Heat Stability of Milk, Journal of Dairy Science, 84, 1331-1334.
- O'Sullivan, M.M., Kelly, A.L., Fox, P.F., 2002. Effect of Transglutaminase on the Heat Stability of Milk: A Possible Mechanism, Journal of Dairy Science, 85, 1-7.
- Ohmes, R.L., Marshall, R.T., Heymann, H., 1998. Sensory and Physical Properties of Ice Cream Containing Milk Fat or Fat Replacers. Journal Dairy Science, 81, 1222-1228.
- Ohtsuka, T., Umezawa, Y., Nio, N., Kubota, K., 2001. Comparison of Deamidation Activity of Transglutaminases. Journal of Food Science, 66, 25-29.
- Öner, Z., 2004. Mikrobiyal Transglutaminazın Özellikleri ve Gıda Sanayinde Kullanılma Olanakları. Gıda, 29(4): 269-272.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aydemir, S., Aloğlu, H., 2004. Effect of Transglutaminase on Physicochemical Properties of Set-Style Yoghurt. International Dairy Symposium Book, May 24-28, Isparta, Turkey. 386.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aloğlu, H., 2005. Starter Kültür Kullanılarak Yapılan Tulum Peynirlerinin Bazı Özellikleri. Gıda, 30(1), 57-62.
- Öner, Z., 2015. İnek, Koyun ve Keçi Sütünden Üretilen Peynirlerde Biyoaktif Peptitlerin Belirlenmesi ve Tanımlanması, TÜBİTAK Proje Raporu Çıktısı-3663-M-13
- Özbaş, Z.Y., 1991. Acidophilus'lu Yoğurt Üretim Teknikleri, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 207s, Ankara.
- Özcan, A.Ö., Aran, N., 2003. Laktik Asit Bakterilerinin Gıda Muhafazasında Koruyucu Kültür Olarak Kullanımları. Gıda Teknolojisi, 60-64.

- Özer, B., Kırmacı H.A., Öztekin, S., Hayaloğlu, A., Atamer, M., 2007. Incorporation of Microbial Transglutaminase Into Non-Fat Yoghurt Production. *International Dairy Journal*, 17, 199–207.
- Özer, B., Guyot, C., Kulozik, U., 2012. Simultaneous use of Transglutaminase and Rennet in Milk Coagulation: Effect of Initial Milk pH and Renneting Temperature. *International Dairy Journal*, 24, 1-7.
- Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., Sener, L., 2013. Simultaneous Use of Transglutaminase and Rennet in White-Brined Cheese Production. *International Dairy Journal*, 33, 129-134.
- Özrenk, E., 2006. The Use of Transglutaminase in Dairy Products. *International Journal of Dairy Technology*, 59, 1–7.
- Öztürk, G.F., 1993. Kaşar Peynirlerinin Olgunlaştırılmasının Hızlandırılması Üzerine Nötral Proteaz ve Nötral Proteaz-Lipaz Enzim Kombinasyonunun Etkisi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 105 s, İzmir.
- Palosuo, K., Varjonen, E., Nurkkala, J., Kalkkinen, N., Harvima, R., Reunala, T., Alenius, H., 2003. Transglutaminase Mediated Cross-Linking of a Peptic Fraction of ω -5 Gliadin Enhances IgE Reactivity in Wheat-Dependent, Exerciseinduced Anaphylaxis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 111, 1386–1392.
- Pedersen, M.H., Hansen, T.K., Sten, E., Seguro, K., Ohtsuka, T., Morita, A., Bindslev-Jensen, C., Poulsen, L.K., 2004. Evaluation of Potential Allergenicity of The Enzyme Microbial Transglutaminase Using The 2001 FAO/WHO Decision tree. *Molecular Nutrition and Food Research*, 48, 434–440.
- Pierro, P.D., Mariniello, L., Sorrentino, A., Giosafatto, C.V.L., Chianese, L., Porta, R., 2010. Transglutaminase-Induced Chemical and Rheological Properties of Cheese. *Food Biotechnology*, 24, 107-120.
- Pouillet, B., Huertas, M., Sánchez, A., Cáceres, P., Larriba, G., 1991. Microbial Study of Casar de Áceres Cheese Throughout Ripening. *Journal of Dairy Research*, 58, 231–238.
- Poulsen, L.K., 2004. Allergy Assessment of Foods or Ingredients Derived From Biotechnology, Gene-Modified Organisms, or Novel Foods. *Molecular Nutrition and Food Research*, 48, 413–423.
- Prindiville, E.A., Marshall, R.T., Heymann, H., 1999. Effect of Milk Fat on The Sensory Properties of Chocolate Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 82, 1425-1432.

- Rachel, N., Pelletier, J., 2013. Biotechnological Application of Transglutaminase. *Biomolecules*, 3(8), 70–88.
- Raphaelides, S., Antoniou, K.D., Petridis, D., 1995. Texture Evaluation of Ultra Filtered Teleme Cheese. *Journal of Food Science*, 60(6), 1211-1215.
- Rasmussen, L.K., Johnsen, L.B., Tsiora, A., Sorensen, E.S., Thomsen, J.K., Nielsen, N.C., 1999. Disulphide-Linked Caseins and Casein Micelles. *International Dairy Journal*, 9, 215–218.
- Rehman, S.U., McSweeney, P.L.H., Banks, J.M., Brechany, E.Y., Muir, D.D., Fox, P. F., 2000. Ripening of Cheddar Cheese Made From Blends of Raw and Pasteurized Milk. *International Dairy Journal*, 10, 33-44.
- Renzetti, S., Bello, F.D., Arendt, E.K., 2008. Microstructure, Fundamental Rheology And Baking Characteristics Of Batters And Breads From Different Gluten Free flours Treated With A Microbial Transglutaminase. *Journal of Cereal Science*, 48(1), 33–45.
- Ritvanen, T., Lampolahti, S., Lilleberg, L., Tupasela, T., Isoniemi, M., Appelbye, U., 2005. Sensory Evaluation, Chemical Composition and Consumer Acceptance of Full Fat and Reduced Fat Cheeses in The Finnish Market. *Food Quality and Preference*, 16, 479-492.
- Robinson, D.S., 1987. *Food: Biochemistry and Nutritional Value*, Longman, 196-205.
- Rodríguez, J., 1998. Recent Advances in The Development of Low- Fat Cheeses. *Trends in Food Science and Techonogy*, 9, 249-254.
- Rodriguez-Nogales, J.M., 2005. Enzymatic Cross-Linking of Ewe's Milk Proteins by Transglutaminase. *European Food Research and Technology*, 221(5), 692-699.
- Rodriguez-Nogales, J.M., 2006. Enhancement of Transglutaminase Induced Protein Cross-Linking by Preheat Treatment of Cow's Milk: A Statistical Approach. *International Dairy Journal*, 16, 26–32.
- Rogers, N.R., Drake, M.A., Daubert, C.R., McMahon, D.J., Bletsch, T.K., Foegeding, E.A., 2009. The Effect of Aging on Low-Fat, Reduced-Fat, and Full-Fat Cheddar Cheese Texture. *Journal of Dairy Science*, 92, 4756-4772.
- Roland, A.M., Phillips, L.G., Boor, K.J., 1999. Effects of Fat Content on The Sensory Properties, Melting, Color and Hardness of Ice Cream. *Journal of Dairy Science*, 82 32-38.
- Rossa, N.R., Sá, E.M.F., Burin, V.M., Bordignon-Luiz, M.T., 2011. Optimization of Microbial Transglutaminase Activity in Ice Cream Using Response Surface Methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 44, 29-34.

- Rossa, N.R., Burin, V.M., Bordignon-Luiz, M.T., 2012. Effect of Microbial Transglutaminase on Functional and Rheological Properties of Ice Cream with Different Fat Contents. *LWT–Food Science and Technology*, 48, 224-230.
- Rowney, M.K., Roupas, P., Hickey, M.W., Everett, D.W., 2004. Salt-Induced Structural Changes in 1-Day Old Mozzarella Cheese and The Impact Upon Free Oil Formation. *International Dairy Journal*, 14, 809– 816.
- Rudan, M.A., Barbano, D.M., Yun, J.J., Kindstedt, P.S., 1999. Effect of Fat Reduction on Chemical Composition, Proteolysis, Functionality, and Yield of Mozzarella Cheese. *Journal of Dairy Science*, 82, 661-672.
- Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Motoki, M., 1994. Strength of Protein Gels Prepared with Microbial Transglutaminase as Related to Reaction Conditions. *Journal of Food Science*, 59 (4), 866-871.
- Salinas-Valdés, A., De-la-Rosa-Millán, J., Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández, C., 2015. Yield and Textural Characteristics of Panela Cheeses Produced with Dairy-Vegetable Protein (Soybean or Peanut) Blends Supplemented with Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 80(12), 2950-2956.
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T., 1989. *Molecular Cloning: A laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Samelak, A., Sobieszczuk-Nowicka, E., Legocka, J., 2010. Transglutaminazy I Ich Biologiczne Funkcje. *Postepy Biologii Komorki*, 37(3), 599–612.
- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E., Vernon-Carter, R.J., 2004. Microstructure and Texture of Yogurt as Influenced by Fat Replacers. *International Dairy Journal*, 14, 151-159.
- Schorsch, C., Carrie, H., Clark, A. H., Norton, I.T., 2000a. Cross-Linking Casein Micelles by a Microbial Transglutaminase: Conditions for Formation of Transglutaminase-Induced Gels. *International Dairy Journal*, 10, 519-528.
- Schorsch, C., Carrie, H., Norton, I.T., 2000b. Cross-linking Casein Micelles by a Microbial Transglutaminase: Influence of Crosslinks in Acid-Induced Gelation. *International Dairy Journal*, 10, 529-539.
- Scott, R., 1981. *Cheesemaking Practice*. Applied Science Publishers Ltd., London, 475.
- Seguro, K., Kumazawa, Y., Ohtsuka, T., Toiguchi, S., Motoki, M., 1995. Microbial Transglutaminase and ϵ -(γ -Glutamyl)Lysine Crosslink Effects on Elastic Properties of Kamaboko Gel. *Journal of Food Science*, 60, 305-311.

- Sert, D., 2004. Pastörize ve Çiğ Sütten İşlenen Kaşar Peynirlerinin Olgunlaşma Sırasında Oluşan Bazı Özelliklerin Belirlenmesi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Konya.
- Sezgin, E., Çetin, T., Şenel, E., Deveci, O., Benli, M., 2008. Transglutaminaz Enziminin Yoğurt Üretiminde Kullanılması Üzerinde Araştırmalar. Araştırma Projesi.Tübitak- Tovag. Proje No: 105160.
- Sharma, R., Lorenzen, P.C., Qvist, K.B., 2001. Influence of Transglutaminase Treatment of Skim Milk on the Formation of ϵ -(γ -Glutamyl)Lysine and the Susceptibility of Individual Proteins Towards Cross-Linking. International Dairy Journal, 11, 785–793.
- Sheehan, J.J., Guinee, T.P., 2004. Effect of pH and Calcium Level on the Biochemical, Textural and Functional Properties of Reduced-Fat Mozzarella Cheese. International Dairy Journal, 14, 161-172.
- Shimba, N., Yokoyama, K., Suzuki, E., 2002. NMR-Based Screening Method for Transglutaminases: Rapid Analysis of Their Substrate Specificities and Reaction Rates. Journal of Agricultural Food Chemistry, 50, 1330–1334.
- Shleikin, A.G., Danilov, N.P., Ternovskoy, G.V., 2011. Modification of Food Products Properties by use of Transglutaminase. Procedia Food Science, 1, 1568-1572.
- Shorsch, C., Carrie, H., Clark, A.H., Norton, I.T., 2000. Crosslinking Casein Micells by Microbial Transglutaminase Conditions for Formation of Transglutaminase Induced gels. International Dairy Journal, 10, 519-528.
- Singh, H., Fox, P.F., 1987. Heat Stabiltiy of Milk: Influence of Modifying Sulphydryl-Disulfide Interactions on the Heat Cogulation Time-pH Profile. Journal of Dairy Research, 54, 347-359.
- Singh, H., Waungana, A., 2001. Influence of Heat Treatment of Milk on Cheesemaking Properties. International Dairy Journal, 11, 543–551.
- Sobieszczuk-Nowicka, E., Krzesłowska M., Legocka, J., 2008. Transglutaminases and Their Substrates in Kinetin-Stimulated Etioplast-to-Chloroplast Transformation in Cucumber Cotyledons. Protoplasma, 233(3–4), 187–194.
- Sørensen, E.S., Rasmussen, L.K., Petersen, T.E., 1999. Component PP3 From Bovine Milk is a Substrate For Transglutaminase. Sequence Location of Putative Cross-Linking Sites. Journal of Dairy Research, 66, 145–150.

- Steffen, P., 1975. Teigeigenschaften und Teigfehler im Emmentaler Käse. Schweiz Milchztg, 101, 72-76.
- Şahan, N., Kaçar, A., 2003. Kaşar Peyniri ve Bazı Kalite Özellikleri. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi. 2-4 Ekim, Ankara.
- Şahintürk, M., 2016. Eşek Sütünün Özelliklerinin Belirlenmesi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 43-44s, Isparta.
- Şanlı, T., 2009. Transglutaminaz Enzimiyle proteini Modifiye Edilmiş Sütten Yapılan Ayrarların Bazı Niteliklerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 10s, Ankara.
- Şanlı, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E. and Benli, M., 2011a. Effect of Using Transglutaminase on Physical, Chemical and Sensory Properties of Set-Type Yoghurt. Food Hydrocolloids, 25(6), 1477-1481.
- Şanlı, T., Sezgin, E., Senel, E., Benli, M., 2011b. Geleneksel Yöntemle Ayrar Üretiminde Transglutaminaz Kullanımının Ayrarın Özellikleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara, 36 (4), 217-224.
- Şanlı, T., 2015. Effect of Using Transglutaminase and Fat Replacer on Functional Properties of Non-Fat Yogurt. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 21(6), 907-913.
- Şener, L.G., 2012. Beyaz Peynir Üretiminde Transglutaminaz Enzimi Kullanım Olanakları. Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2s, Bolu.
- Şimşek, B., 1995. Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeyi Üzerinde Bir Araştırma. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Tarakçı, Z., Küçüköner, E., 2006. Changes on Physicochemical, Lipolysis on Proteolysis of Vakum-Packed Turkish Kashar Cheese during Ripening. Journal of Central European Agriculture, 7(3), 459-464.
- Tolkach, A., Kulozik, U., 2005. Fractionation of Whey Protein and Casein Macropptide by Means of Enzymatic Crosslinking and Membrane Separation Techniques, Journal of Food Engineering, 67, 13-20.
- Topçu, A., 2004. Kaşar ve Beyaz Peynirlerde Acılaşmaya Yol Açan Peptidlerin Saptanması ve Starter Kültürlerin Etkisinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 106-113s, Ankara.
- Tornadijo, M.E., Fresno, J.M., Bernardo, A., Martin, R., Carballo, J., 1995. Microbiological Changes Throughout the Manufacturing and Ripening of Spanish Goat's Raw Milk Cheese (Armada Variety). Lait, 75, 551-570.

- Tsai, G J., Lin, S.M., Jiang, S.T., 1996. Transglutaminase From *Streptoverticillium ladakanum* and Application to Minced Fish Product. Journal of Food Science, 61, 1234–1238.
- Tunçtürk, Y., 1996. Kaşar Peynirinin Starter Kültür, Proteinaz ve Lipaz Enzimleri İlavesiyle Hızlı Olgunlaştırılması Üzerine Bir Araştırma. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 97-140s, Van.
- Uraz, T., 1982. Peynir Teknolojisinin Genel Prensipleri. Segem Yayınları, 103, 116-144.
- Üçüncü, M. 2004. A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi Cilt 1. 543 s, Meta Basım, İzmir.
- Vasbinder, A.J., Rollema, H.S., Kruif, C.G., 2003. Impaired Rennetability of Heated Milk; Study of Enzymatic Hydrolysis and Gelation Kinetics. Journal of Dairy Science, 86, 1548-1555.
- Walstra, P., 1990. On the Stability of Casein Micelles. Journal of Dairy Science, 73, 1965–1979.
- Walstra, P., Jenness, R., 1984. Dairy Chemistry and Physics. John Wiley and Sons, Inc., New York, 467s.
- Wang, H.H., Sun, D.W., 2001. Evaluation of The Functional Properties of Cheddar Cheese Using a Computer Vision Method. Journal of Food Engineering, 49, 49-53.
- Wilhelm, B., Meinhardt, A., Seitz, J., 1996. Transglutaminases: Purification and Activity Assays. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, 684 163–177.
- Wilson, S.A., 1992. 'Modifying Meat Proteins via Enzymatic Crosslinking, Proceedings of the 27th Meat Industry Research Conference, Hamilton, September 11' in Meat Industry Research Institutes of New Zealand, Mirinz, 247-277.
- Wroblewska. B., Kolakowski, P., Pawlikowska, K., Troszynska, A., Kaliszewska, A., 2009. Influence of the Addition of Transglutaminase on the Immunoreactivity of Milk Proteins and Sensory Quality of Kefir. Food Hydrocolloids, 23, 2434-2445.
- Yaşar, K., 2000. Vakum Paketlenmiş Kaşar Peyniri Yapımında Uygulanan Farklı Proseslerinin Kaşar Peynirinin Çeşitli Özellikleri Üzerine Etkisi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 76s, Tekirdağ.
- Yaşar, K., 2007. Farklı Pıhtılaştırıcı Enzim Kullanımının ve Olgunlaşma Süresinin Kaşar Peynirinin Özellikleri Üzerine Etkisi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 41-42s, Adana

- Ya-Tanimoto, S., Kinsella, E.J., 1988. Enzymatic Modification of Proteins: Effects of Transglutaminase Cross-Linking on Some Physical Properties of β -lactoglobulin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 281-285.
- Yetişmeyen, A., 1987. Ultrafiltre Sütten Beyaz Peynir Üretiminin Araştırılması. *Gıda*, 12(1),13-17.
- Yıldırım, M., Hettiarachchy, N.S., Kalapathy, U., 1995. Properties of Heterologous Polymers Prepared by Crosslinking Milk Whey Protein Isolate and Soybean 11S Globulin Using Transglutaminase. Abstract 68A 32, IFT Annual Meeting, June 3–7, Anaheim, California.
- Yıldırım, M., Hettiarachchy, N.S., Kalapathy, U., 1996. Properties of Biopolymers From Cross-Linking Whey Protein Isolate and Soybean 11S Globulin. *Journal of Food Science*, 61(6), 1129-1132.
- Yıldırım, M., Hettiarachchy, N.S., 1997 Biopolymers Produced by Cross-Linking Soybean 11S Globulin with Whey Proteins Using Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 62 270–275.
- Yıldırım, M., Hettiarachchy, N.S., 1998 Properties of Films Produced by Cross-Linking Whey Proteins and 11S Globulin Using Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 63, 248–252.
- Yıldırım, M., Yıldırım, Z., Avşar, K., 2000. Süt Endüstrisinde Transglutaminaz Enziminden Yararlanma Olanakları. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu Tebliğler Kitabı. Tekirdağ, 472-478.
- Yıldırım, S., 2014. Farklı Orijinden Sütlerin Rennetlenme Kinetiklerinin Yüzey Hidrofobisitesi Yaklaşımıyla İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 16-17s, Ankara.
- Yokoyama, K., Nio, N., Kikuchi, Y., 2004. Properties and Applications of Microbial Transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64, 447–454.
- Yüksel, Z., 2007. Transglutaminazın Süt Proteinlerinin Bazı İşlevsel Özelliklerinin Değişimi Üzerine Etkisi ve Yoğurt ve Peynire Uygulanabilirliği. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 3s, Ankara.
- Yüksel, Z., Erdem, Y.K., 2007. Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları:1. Enzimin Genel Özellikleri. *Gıda*, 32 (6), 287-292.
- Yüksel, Z., Erdem, Y.K., 2010. The Influence of Transglutaminase Treatment on Functional Properties of Set Yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 63(1), 86-97.

Zhu Y, Rinzema, A., Tramper, J., Bol, J., 1995. Microbial Transglutaminase–A Review of Its Production and Application in Food Processing. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 44, 277–282.



EKLER

EK1. Besiyerlerinin Hazırlanması

Serum fizyolojik tuzlu su hazırlanması (Merck):

NaCl: 8,5 g
Destile su: 1000 mL

Hazırlanması: karışım otoklavda 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir.

Plate Count Agar (PCA) (Merck 1.05463):

Peptone from casein: 5,0 g/L
Yeast extract: 2,5 g/L
D (+) Glucose: 1,0 g/L
Agar-Agar: 14,0 g/L

Hazırlanması: Dehidre besiyeri 22,5 g/L olacak şekilde destile su içerisinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına 45-50 °C ' de dökülür.

De Mann Rogosa and Sharp Agar (MRS) (Merck 1.0660):

Kazein peptonu: 10,0 g/L
Et ekstraktı: 10,0 g/L
Maya ekstraktı: 4,0 g/L
D (+) glukoz: 20,0 g/L
K₂HPO₄: 2,0 g/L
Tween 80: 1,0 g/L
Diamonyum hidrojen sitrat: 2,0 g/L
Sodyum asetat: 5,0 g/L
MgSO₄: 0,2 g/L
MnSO₄: 0,04 g/L
Agar-agar: 14,0 g/L

Hazırlanması: Dehidre besiyeri 68,2 g/L olacak şekilde destile su içerisinde ısıtılarak eritilir, otoklavda 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir. Steril petri kutularına dökülür. 25 °C ' de pH ' sı 5,7 ± 0,2 ' dir.

M17 Agar (Merck 1.15108):

Soya peptonu: 5,0 g/L
Et peptonu: 2,5 g/L
Kazein peptonu: 2,5 g/L
Maya ekstraktı: 2,5 g/
Et ekstraktı: 5,0 g/L
Laktoz mono- hidrat: 5,0 g/L
Askorbik asit: 0,5 g/L

Sodyum β -gliserofosfat: 19,0 g/L
Magnezyum sülfat: 0,25 g/L
Agar-agar: 12,75 g/L

Hazırlanması: Dehidre besiyeri 55,0 g/L olacak şekilde ısıtılarak damıtık su içerisinde eritilir ve 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir ve steril petri kutularına dökülür. 25 °C ' de pH ' sı 7,2 $\pm$ 0,2 ' dir.

Baird Parker (BP) Agar Merck 1.05406):

Kazein peptonu: 10 g/L
Maya ekstraktı: 5,0 g/L
Et ekstraktı: 5,0 g/L
Sodyum pürivat: 10 g/L
Glisin: 12,0 g/L
Lityum klor: 5,0 g/L
Agar-agar: 15,0 g/L

Hazırlanması: 58,0 dehidre besiyeri 950 mL damıtık su içerisinde 1-2 kaynatılarak tümüyle çözündürülür, 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir. 45 °C ' ye soğuduğunda manyetik karıştırıcıda yavaşça karıştırılırken önceden oda sıcaklığına getirilmiş 50 mL yumurta sarısı-tellurit emülsiyonu (Merck 1.03785) ilave edilir. Steril petri kutularına dökülür. 25 °C ' de pH ' sı 6,8 $\pm$ 0,2 ' dir.

Eosin Metilen Blue (EMB) Agar (Merck 1.01347):

Pepton: 10,0 g
K₂HPO₄: 2,0 g
Laktoz: 5,0 g
Sukroz: 5,0 g
Eosin Y sarısı: 0,4 g
Metilen mavisi: 0,07 g
Agar-agar: 13,5 g

Hazırlanması: Dehidre besiyeri 36,0 g/L olacak şekilde damıtık su içerisinde ısıtılarak eritilir, otoklavda 121 °C ' de 15 dakika sterilize edilir ve 45-50 °C ' ye soğuduğunda steril petri kutuların dökülür. 25 °C ' de pH ' sı 7,1 $\pm$ 0,2 ' dir.

EK2.Çözeltilerin Hazırlanması

%30' luk Akrilamid Çözeltisi:

29.0 g akrilamid (CH₂CHCONH₂) + 1.0 g N,N - methylene bisakrilamid destile su içinde çözündürülmüş ve 100 mL ' ye tamamlanmış ve 4 °C ' de saklanmıştır.

%10 (w/v) ' luk amonyum persulfat:

100 mg amonyum persulfat 1 ml saf su içinde çözündürülmüş ve günlük olarak hazırlanmıştır.

1.5 M Tris (hidroksimetil)-aminometan ($H_2NC(CH_2OH)_3$) (pH 8.8):

18.15 g tris-base tartılıp ve bir miktar destile suda çözündürülmüştür. pH' sı 6 N HCl ile 8.8 ' e ayarlanmış ve son hacim 100 mL' ye tamamlanmıştır. Çözelti 4 °C ' de saklanmıştır.

1 M Tris (hidroksimetil)-aminometan ($H_2NC(CH_2OH)_3$) (pH 6.8):

12.11 g tris-base tartılıp bir miktar destile suda çözündürülmüş ve pH'sı 6 N HCl ile 6.8 ' e ayarlanmıştır. Son hacmi 100 mL' ye tamamlanmış ve 4 °C' de saklanmıştır.

% 10 (w/v) Sodyum Dodesil Sulfat (SDS):

10 g SDS tartılmış ve köpürmesini önlemek için yavaş bir şekilde bir miktar destile su ilave edilmiştir. Çözündükten sonra hacmi 100 mL' ye tamamlanmıştır.

Yürütme Tamponu (Elektrot Tamponu, pH (8.3):

15,1 g tris-base + 94 g glisin + %10 'luk SDS' den 50 mL alınıp bir miktar destile suda çözündürülür ve pH 8.3 ' e ayarlanmış, 1000 mL' ye tamamlanmıştır. 5 kat su ile seyreltilmiştir.

Örnek Tamponu:

1 mL 1 M Tris (pH: 6.8) + 19 mL su + 0,4 g SDS + 0,02 g bromfenol blue + 2 g gliserol karıştırılarak örnek tamponu elde edilmiştir.

Yıkama Çözeltisi:

450 mL methanol + 90 mL asetik asit + 450 mL destile su ile hazırlanmıştır.

Boyama Çözeltisi:

0.25 g coomassie brillant blue + 125 mL methanol + 25 mL asetik asit + 100 mL destile su ile hazırlanmıştır.

Layneer Çözeltisi:

4 mL destile su + 1 mL izopropanol + 200 µL %10 SDS çözeltisi

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Rabia GEMİCİ
Doğum Yeri ve Yılı : Bolvadin, 1992
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : rabiaagemici@gmail.com

Eğitim Durumu

Lise : Alanya Anadolu Lisesi, 2006 – 2010
Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, 2010 – 2014

Staj Deneyimleri:

İkbal Gıda A.Ş. Et ve Et Ürünleri	2012
İkbal Gıda A.Ş. Şekerleme Ürünleri	2012
Afyonkarahisar Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü	2013
Alanya E Kalite Danışmanlık	2014