

**YAĞI AZALTILMIŞ MİNYATÜR ULTRAFİLTRE BEYAZ  
PEYNİR ÜRETİMİNDE PROTEİN-GLUTAMİNAZ  
KULLANIMI VE BUNUN PEYNİR KALİTESİ ÜZERİNE  
ETKİSİ**

**UTILIZATION OF PROTEIN-GLUTAMINASE IN THE  
MANUFACTURE OF REDUCED FAT MINIATURE  
ULTRAFILTRATED WHITE CHEESE AND ITS EFFECTS  
ON CHEESE QUALITY**

**Malek MOLLAZADEH**

**Doç. Dr. Ali TOPCU**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

olarak hazırlanmıştır

2016

**Malek MOLLAZADEH**'ın hazırladığı “**Yağı Azaltılmış Minyatür Ultrafiltre Beyaz Peynir Üretiminde Protein-Glutaminaz Kullanımı ve Bunun Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi**” Adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Halil VURAL

Başkan

.....

Doç. Dr. Ali TOPCU

(Danışman)

.....

Doç. Dr. Ebru ŞENEL

Üye

.....

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Salih BÜLENT ALTEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum tüm eserleri kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

05 / 05 / 2016

MALEK MOLLAZADEH

## ÖZET

# YAĞI AZALTILMIŞ MİNYATÜR ULTRAFİLTRE BEYAZ PEYİNİR ÜRETİMİNDE PROTEİN-GLUTAMİNAZ KULLANIMI VE BUNUN PEYİNİR KALİTESİ ÜZERİNE ETKİSİ

**Malek MOLLAZADEH**

**Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ali TOPCU**

**Mayıs 2016, 71 sayfa**

Bu çalışmada, yağı azaltılmış ultrafiltre (UF) beyaz peynir üretiminde protein glutaminaz (PG) ve protein-glutaminaz-transglutaminaz (Activa-SYG) kullanım olanakları araştırılmış ve bunun peynir kalitesi üzerine etkileri raf ömrü süresince tespit edilmiştir. Bu çalışmada, deneme peynirleri, 0,5 U/g PG olacak şekilde üretilmiştir. Kontrol olarak tam yağlı ve yağı azaltılmış UF peynirleri kullanılmıştır. Üretimi gerçekleştirilen peynirler 4-6 °C de depolanmış ve olgunlaşmanın 7., 30., 60., ve 90. günlerinde örnekler alınarak kimyasal, biyokimyasal, fiziksel, tekstürel ve duyuşsal özellikleri araştırılmıştır.

Deneme peynirleri, yağı azaltılmış kontrol peynirlerle kıyaslandığında, verimlerinde belirgin artış tespit edilmiştir (yaklaşık %7). Deneme peynirlerinde suda çözünür azotlu madde miktarı düşük bulunmuştur. Bununla beraber % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerleri ve serbest amino asit değerleri yüksek bulunmuştur. HPLC analiz sonuçları, PG uygulanmış numunelerin hidrofobik bölgede daha az peptit içerdiğini göstermektedir.

Ayrıca, deneme peynirlerin tekstürel profili PG uygulamasından önemli düzeyde etkilenmiş ( $P<0,05$ ) ve kontrol peyniriyle karşılaştırıldığında, ortalama sertlik, yapışkanlık, parçalanabilirlik ve çignenebilirlik değerleri yüksek bulunmuştur.

Peyniraltı suyu renk sonuçları incelendiğinde, kontrol ve deneme peynirleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. PG ve Activa-SYG ile üretilmiş örneklerin  $a^*$  değerleri olgunlaşmanın 90 gününde, yağsız kontrol peynirlerine göre, pozitif değer (kırmızılık) göstermiştir. Deneme peynirlerinde belirgin şekilde renk farklılığı ( $\Delta E$ ) da tespit edilmiştir. Ayrıca peynirlerde Konfokal Mikroskop ile yapısal görüntüleme yapılmış, PG uygulamasının peynirin mikro-yapısında gözenek boyutunu azalttığı ve daha yoğun ve yapışkan bir yapıya neden olduğu tespit edilmiştir.

Duyusal analizlerde, bazı önemli duyuşal parametreler açısından deneme ve kontrol peynirleri arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Düşük yağlı kontrol peynirleri ile kıyaslandığında deneme örneklerinin kabul edilebilirliğinin arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber olgunlaşmanın 90. gününde kontrol örneklerinde acılaşma tespit edilirken deneme örneklerde acılık tespit edilmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** ultrafiltre beyaz peynir, yağı azaltılmış peynir, protein-glutaminaz, trans-glutaminaz, proteoliz



## **ABSTRACT**

# **UTILIZATION OF PROTEIN-GLUTAMINASE IN THE MANUFACTURE OF REDUCED FAT MINIATURE ULTRAFILTRATED WHITE CHEESE AND ITS EFFECTS ON CHEESE QUALITY**

**Malek MOLLAZADEH**

**Master of Science, Department of Food Engineering**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Ali TOPCU**

**May 2016, 71 pages**

In this study, utilization of protein-glutaminase (PG) and protein-glutaminase-transglutaminase (Active-SYG) in the manufacture of reduced fat miniature ultrafiltrated (UF) white cheese and its effects on cheese quality were investigated during the ripening period. In this research, experimental cheeses were produced by using protein-glutaminase as a rate of 0,5 U/g. Full-fat and reduced-fat UF white cheese were used as the control cheeses. The cheese samples were stored at 4-6 °C, and chemical, biochemical, physical, textural and sensory properties of the cheese samples were analyzed at 7., 30., 60., and 90. day of ripening.

When compared with the reduced fat control cheeses, a significant increase of yield was determined at the experimental cheeses (aprox. %7). Water soluble nitrogen levels were low in the experimental cheeses. However, the amount of the %12 TCA-soluble ripening index value and free fatty amino acid contents were high in the experimental cheeses. HPLC analysis showed that cheese samples produced by using PG have less peptide in the hydrophobic region.

In addition, utilization of PG had a considerable impact on the textural profile of cheese samples (( $P < 0,05$ ) and it was found that hardness, cohesiveness, gumminess and chewiness scores were higher than the control cheeses.

When the results of whey colors were examined, significant differences between the control and experimental cheeses were identified. It was found that  $a^*$  value of PG and Activa-SYG cheeses has positive values (redness) than that of reduced fat cheese at 90<sup>th</sup> day of ripening. Significant color difference ( $\Delta E$ ) in the experimental cheeses has been also identified. In addition, microstructure analyses of cheeses samples were examined by using confocal microscopy. It

was observed that the application of PG treatment decreased of the pore size of the gel network and cause a more dense and cohesive microstructure.

In sensory evaluation, some important differences were detected between the control and experimental cheeses. When compared with reduced fat control cheeses, experimental cheese had higher scores at overall cheese acceptability. In addition, bitterness was detected at 90<sup>th</sup> day of ripening in the control cheeses while it was not detected in the experimental cheeses.

**Keywords:** ultrafiltrated white cheese, reduced fat cheese, protein-glutaminase, trans-glutaminase, proteolysis



## TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasında UF retentat ve diğer tüm peynir girdilerini temin eden ve her konuda destek veren BAHÇIVAN A.Ş.'ye ve tüm çalışanlarına,

Bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarına yön veren, bilimsel katkıları, önerileri ile her zaman bana yol gösteren ve hiç bir konuda yardım ve desteğini esirgemeyen değerli Danışmanım Sayın Doç.Dr. Ali Topcu'ya

Bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım ve laboratuvar cihazların kullanımında destek ve yardımcı olan Ar. Gör. Sayın Tuğba Bulat ve Uz. Yelda Zencir'a

Türkiyede destek ve tavsiyeleriyle bana yön veren Sayın Salih Küçük Kaya'ya

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan ve beni hep destekleyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Özet olarak üç kutsal varlığa teşekkürler:

Annelerimiz

Atalarımız

Hocalarımız

# İÇİNDEKİLER

	<u>sayfa</u>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER .....	vi
ÇİZELGELER .....	viii
ŞEKİLLER .....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	5
2.1. Sütün Enzimatik Yolla Pıhtılaşma Mekanizması .....	5
2.2. Membran Ayırma Teknikleri .....	7
2.3. Peynirde Olgunlaşma ve Kalite .....	12
2.4. Peynirlerde Yağ Oranının Azaltılması .....	17
2.5. Transglutaminaz (TG) Enzimi ve Kullanımı .....	19
2.6. Protein-Glutaminaze (PG) Enzimi .....	23
3. MATERYAL VE METOT .....	27
3.1. Materyal .....	27
3.2. Metot .....	27
3.2.1. Minyatür UF Peynir Üretimi .....	27
3.2.2. UF Peynir Örneklerinde Fizikokimyasal ve Kimyasal Analizler .....	29
3.2.2.1. Peynir örneklerinde verim hesaplaması .....	29
3.2.2.2. Kurumadde analizi .....	29
3.2.2.3. pH analizi .....	29
3.2.2.4. Yağ analizi .....	29
3.2.2.5. Protein analizi .....	29
3.2.2.6. Suda çözünür azot (SÇA) analizi .....	29
3.2.2.7. %12'lik TCA'da çözünür azot analizi .....	30
3.2.2.8. Toplam serbest amino asit tayini .....	30
3.2.2.9. Peynir örneklerinde proteolizin Üre-PAGE (Poliakrilamid Jel Elektroforez) yöntemi ile incelenmesi .....	31
3.2.2.10. Peynir örneklerinde proteolizin HPLC ile incelenmesi .....	31

3.2.2.11. Lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile yapısal görüntüleme .....	31
3.2.2.12. Renk analizi .....	32
3.2.2.13. Peynir örneklerinde tekstür analizi .....	32
3.2.2.14. Peynir örneklerinde duyusal değerlendirmeler .....	33
3.2.2.15. Araştırma sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....	33
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	34
4.1. UF peynir Örneklerinde Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları .....	34
4.2. UF Peynir Örneklerinde Proteoliz Sonuçları .....	37
4.3. Peynir Örneklerinin Üre-PAGE Elektroforez Analiz Sonuçları .....	41
4.4. Peynir Örneklerinin HPLC ile Analiz Sonuçları .....	45
4.5. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (LTKM) ile Yapısal Görüntüleme Sonuçları .....	49
4.6. Renk Analiz Sonuçları .....	51
4.7. Peynir Örneklerinde Tekstür Analiz Sonuçları .....	53
4.8. Peynir Örneklerinde Duyusal Değerlendirmeler .....	56
5. SONUÇ .....	58
KAYNAKLAR .....	60
EKLER .....	69
Özgeçmiş .....	71

## ÇİZELGELER

### sayfa

Çizelge 2.1. Yaklaşık 3x konsantre edilmiş (ters osmoz, ultrafiltrasyon) sütün bileşim değerleri .....	9
Çizelge 2.2. Konsatrasyon artışına bağlı olarak süt bileşimindeki değişimler .....	10
Çizelge 2.3. Yağsız sütte ve UF sütte misel yapıda yer alan minerallerin oranları ...	10
Çizelge 3.1. UF Beyaz peynir üretiminde kullanılan retentat bileşim değerleri. ....	28
Çizelge 4.1. Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince bileşim değerleri. ....	34
Çizelge 4.2. Süt proteinlerinde yer alan amino asitler . ....	41
Çizelge 4.3. Peyniraltı suyu örneklerinin olgunlaşma süresince renk analiz sonuçları	51
Çizelge 4.4. Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince duyusal analiz sonuçları.....	56
Çizelge 4.5. Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince duyusal analiz sonuçları .....	56

## ŞEKİLLER

	<u>sayfa</u>
Şekil 2.1. Sütün enzimatik koagülasyon mekanizması. ....	6
Şekil 2.2. Çapraz-akış filtrasyon .....	8
Şekil 2.3. Normal (▲)ve 4.3x kat UF edilmiş sütün (■) laktik asit fermentasyonunda ,laktik asit (düz çizgiler) üretimi ve pH (kesik çizgiler) arasındaki ilişki . ....	11
Şekil 2.4. serbest yağ asitleri katabolizması. ....	14
Şekil 2.5. Serbest amino asit katabolizması . ....	17
Şekil 2.6. Transglutaminazın katalizlediği tepkimeler: 1) çapraz-bağlanma tepkimesi; 2) açıl-transfer tepkimesi; 3) deamidasyon .....	20
Şekil 2.7. Glutaminaz tarafından katalizlenen hidroliz reaksiyonu. ....	24
Şekil 2.8. Protein-glutaminaz reaksiyonu şeması .....	25
Şekil 3.1. UF Beyaz peynir örnekleri. ....	29
Şeki 4.1. Peynir örneklerinin suda çözünür azot (SÇA) bazında olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi .....	37
Şeki 4.2. Peynir örneklerinin % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi .....	38
Şekil 4.3. Peynir orneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit konsantrasyonlarındaki değişim .....	39
Şekil 4.4. Peyniraltı suyu (salamura) örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit konsantrasyonlarındaki değişim .....	40
Şeki 4.5. Olgunlaşma süresince peyniraltı suyundaki (salamura) protein değerleri... 40	
Şekil 4.6. Üretilen peynirlerde, olgunlaşmanın 7.ve 30. günlerine ait üre-PAGE elektroforetogramı .....	43
Şekil 4.7. Üretilen peynirlerde, olgunlaşmanın 60.ve 90. günlerine ait üre-PAGE elektroforetogramı. ....	43
Şekil 4.8. Üretilen peynirlerde, olgunlaşma süresince meydana gelen proteolize ait üre-PAGE elektroforetogramı .....	44
Şekil 4.9. Olgunlaşma süresince 1 nolu (yağlı kontrol) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları.....	46
Şekil 4.10. Olgunlaşma süresince 2 nolu (yağı azaltılmış kontrol) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları46	

Şekil 4.11. Olgunlaşma süresince 3 nolu (PG ile üretim) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları .....	47
Şekil 4.12. Olgunlaşma süresince 4 nolu (Activa-SYG ile üretim) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları	47
Şekil 4.13. Olgunlaşmanın 90.gününde peynir örneklerinde (1, 2, 3 ve 4 nolu örnekler) suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları. ....	48
Şekil 4.14. Olgunlaşmanın 90.gününde peynir örneklerinde (1, 2, 3 ve 4 nolu örnekler) suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları. ....	48
Şekil 4.15. Üretilen peynir örneklerinin konfokal mikroskopta yapısal görünümü. ....	50
Şekil 4.16. $L^*$ , $a^*$ , $b^*$ renk değerlerinin üç boyutlu şematik görünümü. ....	52
Şekil 4.17. Üretilen beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince ortalama sertlik (hardness), yapışkanlık (cohesiveness), esneklik (springiness), parçalanabilirlik (Gumminess) ve çiğnenebilirlik (Chewiness) değerleri. ....	54

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

- $\mu\text{m}$  : Mikrometre  
Da : Atomik kütle birimi (Dalton)  
 $^{\circ}\text{C}$  : Derece Santigrad  
rpm : Dakikadaki Devir Sayısı  
 $\text{A}^{\circ}$  : Angström

### Kısaltmalar

- RO : Ters osmoz  
NF : Nanofiltrasyon  
MF : Mikrofiltrasyon  
UF : Ultrafiltrasyon  
PG : Protein-glutaminaz  
TG : Transglutaminaz  
Activa-SYG: Protein-glutaminaz-transglutaminaz içeren ticari enzim preparatı  
SYA : Serbest yağ asitleri  
LPL : Lipoprotein lipaz  
HTST : Yüksek sıcaklık- kısa zaman pastörizasyon  
TPA : Tekstür Profile Analizleri  
CMP : Kazeinomakropeptit  
SPS : Sütün pıhtılaşma süresi  
HPLC : Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi

# 1. GİRİŞ

Türkiye’de gıda sektörü içinde süt ve süt ürünleri önemli bir paya sahiptir. Dünya ve Türkiye süt sektör istatistikleri 2013 verilerine göre, Türkiye’de ortalama inek sütü üretimi yaklaşık 18 milyon ton olarak kabul edilmektedir. Bu sütün yaklaşık %90’lık bölümünü inek sütü oluştururken, manda sütü %0,3, koyun sütü %6 ve keçi sütü %2,3’lük kısmı oluşturmaktadır [1]. Türkiyede 2013 yılında toplam peynir üretimi yaklaşık 600 bin ton düzeyinde olup, bu üretimin büyük bir kısmını beyaz peynir oluşturmaktadır.

Türkiye’de kişi başına yıllık peynir tüketimi bölgeler itibariyle değişiklik göstermesine rağmen 12 kg ile 15 kg arasında değişmektedir [1]. Bu değer gelişmiş ülkelerin peynir tüketim seviyesine yakın bir seviyedir. Avrupa ülkeleri ve Amerika kişi başına düşen en yüksek peynir tüketim miktarına sahiptir (>15 kg). Bununla birlikte, diğer hayvansal ürünlerde olduğu gibi gelir seviyesi yükseldikçe peynir tüketiminin artacağı düşünülmektedir.

Peynir; dünyanın her yerinde aroma, tekstür ve yapı açısından farklı çeşitlerde üretilen, süt-temelli fermente gıda ürünlerinin genel ismidir. 1000 den fazla peynir çeşidi olduğunu düşünülmektedir. Kimi kaynaklar yaklaşık 400 farklı peyniri tanımlarken; kimileri’de 510 peynir türünü sınıflandırmıştır [2].

Peynir genel anlamda; sütün doğrudan ya da pastörize edildikten sonra, pıhtılaştırıcı enzimler veya organik asitlerce pıhtılaştırılmasını takiben çeşidine göre değişen belirli mekanik işlemlerin uygulanması sonucu elde edilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilebilen, kendine özgü koku, tat, renk ve aroması olan bir süt ürünü olarak tanımlanabilir [3]. **Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği**’ne göre peynirin tanımı; Hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peyniraltı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünleri şeklinde yapılmaktadır [4]. Ülkemizde yaygın olarak tüketilen beyaz peynir sütün enzimatik yolla

pıhtılaştırılması sonucu elde edilen ve üretiminde starter olarak mezofilik laktik asit kültürleri kullanılan ve belirli koşullarda olgunlaştırılmasıyla tüketime sunulan hafif asitli ve tuzlu tada sahip yarı yumusak bir peynir çeşididir [5].

Ülkemizde geleneksel Beyaz peynir üretiminde, hemen hemen tüm proses basamakları tek bir tekne içinde gerçekleştirilmektedir (pastörizasyon hariç). Bununla birlikte, teknolojik gelişmeler neticesinde iş gücü gereksiniminin daha az olduğu sürekli üretim düzenleri, endüstriyel boyutta beyaz peynir üretiminde kullanılabilir hale gelmiştir. Bu amaçla teknelerde elde edilen peynir telemesi, bir bantlı götürücüde süzülme ve devamında kalıplara otomatik olarak doldurularak, kalıp içinde asitlik gelişimi ve baskılama prosesini tamamlamaktadır. Kalıplardan çıkarılan beyaz peynirler kutulara konularak salamurası ilave edilmekte ve olgunlaştırma odalarına alınmaktadır. Bütün bu çabalar beyaz peynirde kontrollü, sürekli ve iş gücü gereksinimi ve maliyeti az üretimi yapabilmek içindir.

Son yıllarda membran sistemlerindeki gelişmeler, bu sistemlerin süt ürünlerinde kullanılarak yeni ürünlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Bu bağlamda, peynir üretiminde ultrafiltrasyon (UF) kullanımı giderek artan bir uygulama alanı bulmaktadır [6]. Ülkemizde de beyaz peynir üretiminde UF uygulamaları son yıllarda popüler hale gelmiş ve endüstriyel yönden artan bir oranda kullanılmaya başlanmıştır. Bu sistem, yüksek verim, düşük iş gücü ve daha kontrollü üretime imkân tanması nedeniyle beyaz peynir üretimde tercih edilmektedir. UF membranlardaki gözenek boyutu genellikle 0,05 µm-1 nm aralığındadır. UF sistemler, 1000 ile 200 000 Da aralığındaki makromolekülleri ve kolloidal boyuttaki bileşenleri ayırabilmektedir. Süte UF uygulanması sonucu **permeat** (su, laktoz, çözünür tuzlar, protein olmayan nitrojen fraksiyonları, suda çözünür vitaminleri içerir) ve **retentat** (proteinler, yağ ve kolloidal tuzlar içerir) elde edilir.

Retentat kullanılarak üretilen UF peynirlerinde yüksek miktarda serum proteinlerinin bulunması ve bu proteinlerin yüksek su tutma kapasitesinden dolayı bu peynirlerde nem içerikleri geleneksel yöntemlerle yapılmış peynirlere göre daha yüksektir [7,8]. Ülkemizde modern işletmelerde UF peynirleri; konsantre edilmiş pastörize inek sütü, mezofilik kültür ve rennet preparatı kullanılarak üretilmektedir.

Peynirlerin bazı teknolojik, reolojik ve duyuşsal özelliklerini önemli derecede etkileyen süt yağı, içinde yer aldığı gıdanın hem bütünlüğünün oluşmasında

hemde tüketilebilirliği açısından önemli role sahiptir. Toplumların yağ tüketimini sınırlama isteğinden dolayı yağ azaltılmış gıdaların kalite özellikleri, bilim dünyası ve endüstrinin araştırma alanı haline gelmiştir. Yüksek miktarda yağ alımının, sağlık riskini arttırdığı bilinmektedir [9]. Bu hastalıklara yakalanmamak için uzmanlar genel olarak günlük diyetdeki toplam yağ miktarının azaltılmasını önermekte ve yağların toplam enerji içerisindeki payının %30'u aşmaması gerektiğini bildirmektedirler. Bu nedenle yağ azaltılmış ürünler son yıllarda popüler hale gelmiştir. Ancak peynirde süt yağının yapıdan uzaklaştırılması ile üründe oluşan tat-koku yetersizliği, acılaşma ve yapıyla ilgili bazı kalite kusurları bu ürünlerin tüketimini olumsuz yönde etkilemektedir [10, 11, 12, 13].

Peynirde yağ oranının azalması, protein matriksinin daha sıkı ve peynir yapısının sert olmasına neden olmaktadır. Az yağlı peynirlerde oluşan bu olumsuzlukları gidermek ve tüketici beğenisini arttırmak için çok sayıda araştırma ve çalışmalar yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Ürünlerde yağ azaltmanın yaratmış olduğu kusurları giderebilmek için birçok çalışmada stabilizörler ve yağ ikame maddeleri gibi ek katkılar kullanılmıştır [13,14]. Bunun yanısıra, düşük yağlı peynir üretimi için ultrafiltre sütlerin kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmıştır [15,16].

Günümüzde, her gün yeni ürünler piyasaya çıkmakta ve daha geniş bir tüketici grubuna hitap etmektedir. Aynı şekilde yeni ürünler geliştirmek adına; peynir üretiminde'de bilinen enzimlerin dışında başka enzimlerin kullanımına artan bir eğilim vardır. Bu yeni grup enzimler (trans-glutaminaz (TG), protein-glutaminaz (PG), vb) Protein deamidasyonu nedeni ile yapılarda negatif yüklü karboksil gruplarının artmasına etki ederek proteinlerin fonksiyonel özelliklerini değiştirebilmektedirler [17]. Süt proteinlerinde, PG kullanımı ve buna bağlı enzimatik deamidasyon ile ilgili kimi çalışmalar bulunmaktadır [18,19]. PG enziminin özellikle alfa ve beta kazeinlerin deamidasyonunda başarılı sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Yapılan bir çalışmada yağ azaltılmış yoğurt üretiminde PG enzimi ürünün tesktürel özelliklerini iyileştirdiği ve proteinlerin emülsifiyan özelliklerini arttırdığı ortaya konulmuştur [98].

Bu çalışmanın amacı, yağ azaltılmış ultrafiltre (UF) beyaz peynir üretiminde protein-glutaminaz (PG) kullanım olanaklarını araştırmak ve bunun peynir kalitesi üzerine etkilerini raf ömrü süresince tespit etmektir. PG enziminin yanısıra ticari olarak satılmakta olan ve içerisinde PG yanında tranlutaminaz da bulunduran

Activa-SYG'nin de olası etkileri test edilmiştir. Bu çalışmada, deneme peynirleri, PG ve Activa-SYG kullanılarak üretilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen peynirler 4-6 °C'de depolanmış ve olgunlaşmanın 7., 30., 60., ve 90. günlerinde örnekler alınarak ilgili analizler yapılmıştır.



## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

Peynir; dünyanın her yerinde aroma, tekstür ve yapı açısından farklı çeşitlerde üretilen, süt-temelli fermente bir grup gıda ürünlerinin genel ismidir ve yüksek protein içeriği ile insan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Gerek Dünyada ve gerekse ülkemizde tüketilme düzeyi yüksektir. Dünya genelinde 500 üzerinde peynir çeşidi bulunmakla birlikte ülkemizde yaygın olarak en çok üretilen ve tüketilen peynir çeşidi beyaz peynir olup, peynir üretiminin yaklaşık %70'lik kısmını oluşturmaktadır [20]. Günümüzde beyaz peynir klasik yöntemlerin dışında ultrafiltre (UF) süt kullanılarak da üretilmektedir.

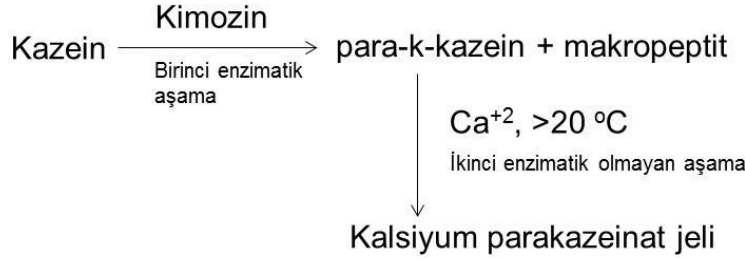
### 2.1. Sütün Enzimatik Yolla Pıhtılaşma Mekanizması

Beyaz peynir sütün enzimatik yolla pıhtılaştırılması sonucu elde edilen ve üretiminde starter olarak çoğunlukla mezofilik laktik asit kültürlerinin kullanıldığı bir peynir çeşididir. Sütü pıhtılaştırmak için kullanıma hazır hale getirilmiş enzime, peynir mayası veya rennet denilmektedir. Rennet buzağuların şirdeninden elde edilen ve bileşiminde kimozin (~%80) ve pepsin (~%20) bulunan enzim preparatına verilen ticari isimdir. Sütün, bir asit proteaz olan rennin (kimozin) enzimiyle pıhtılaşması, esas olarak iki aşamada gerçekleşmektedir. Bunlar: enzimatik aşama, agregasyon aşaması ve jelleşme aşamasıdır [21].

Enzimatik aşamada k-kazein, kimozin tarafından gerçekleştirilen sınırlı bir proteoliz ile Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub> bağından parçalanarak para-k-kazein (f1-105) ve glikomakropeptit (kazeinomakropeptit, f106-169) olmak üzere iki kısma ayrılır. Bunlardan, para-k-kazein oldukça hidrofobik olup kazein miseli üzerine tutulur. Glikomakropeptit ise hidrofilik olup, miselden ayrılarak seruma geçmektedir. Glikomakropeptidin misellerden ayrılması, negatif yüklü kazein miselinin zeta potansiyelini (yaklaşık -20mV) %50 oranında azaltmaktadır. Bu durum k-kazeinin misel üzerindeki koruyucu etkisini kaldırarak pıhtılaşma için uygun ortamı yaratmaktadır. Ayrıca, k-kazeinin saç benzeri görüntü sağlayan hidrofilik özellikteki glikomakropeptidlerin uzaklaşmasına ve hidrasyonunda azalmasına neden olmaktadır. Böylece miseller birbirine yaklaşarak pıhtılaşma için uygun zemin oluşmaktadır [22].

İkinci aşamada, misellerdeki k-kazein (yaklaşık %85) enzim etkisiyle parçalandıktan sonra, stabilitesi bozulan kazein miselleri, iyonik kalsiyum

varlığında, birleşerek gözle görülebilir pıhtılar oluştururlar [21]. Bu mekanizmada etkili olan yapılar van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler ve kalsiyum köprüleridir. İyonik kalsiyum varlığı, negatif yüklerin nötrlenmesi ve elektrostatik itmelerin varlığının azaltılması adına önemlidir. Bu yönde jelleşme süresince kazein miselleri birleşmeye devam ederek daha büyük partikülleri, bunlar da geniş porlara sahip bir protein ağını (protein jeli) oluşturmaktadır [21,23].



### Şekil 2.1. Sütün enzimatik koagülasyon mekanizması

Sütün enzimatik koagülasyonunda sıcaklık, pH, enzim konsantrasyonu, ve iyonik kuvvetler etkilidir. Sütün buzağı renneti ile pıhtılaşmasında pH 6,6'da optimum sıcaklık 41-45 °C'dir. Fakat bu sıcaklık pH ve rennet çeşidine bağlı olarak değişmektedir. Uygulamada rennet jeli eldesi için genelde 30-35 °C tercih edilmektedir. Sütün kimozin ile pıhtılaşması için optimum pH 6,0'dır. 20°C'nin altında ve 50°C'nin üzerinde pıhtılaştırma gücü çok azdır. pH'nın düşmesi elektrostatik itmeleri azaltır ve sütün pıhtılaşma süresini (SPS) kısaltır. Rennet jeli eldesi için ideal pH 6,0-6,3 aralığıdır. pH 6,0'nin altında, aşırı koloidal kalsiyum fosfat (kazein miselleri arasında çapraz bağ oluşturarak miseller arası köprü oluşturmaktadır) çözünürlüğüne bağlı olarak, jel sıklığı yada yapısı bozulmaktadır. Jel eldesinde enzim konsantrasyonu önemli bir parametredir. Kullanılan enzim miktarı arttıkça jelleşme süresi kısalır ve jel sıklığı daha fazla olur. Rennet jeli eldesinde bir diğer önemli faktör iyonik kalsiyum'dur.  $\text{CaCl}_2$  ilavesi süt pH'sını düşürür ve hidroliz reaksiyonunu hızlandırır, böylece SPS kısalır. Ayrıca kazein miselinin yüzeyindeki negatif yüklü gruplar iyonik kalsiyum ile ( $\text{Ca}^{+2}$ ) nötralize olarak rennet jelinin sıklığını artırır. Ancak aşırı kalsiyum ilavesi ise misel yüzeyinin aşırı pozitif olmasına neden olarak jel sıklığını azaltmaktadır [24]. Aşırı kalsiyum ilavesi metaliğimsi bir acılık oluşumuna neden olabilmektedir.

Süt jeli normal koşullar altında oldukça stabildir, fakat kesilir veya kırılırsa, hızla sineresis gerçekleşir ve jel içine hapsolmuş peyniraltı suyu dışarı çıkar. Sineresis

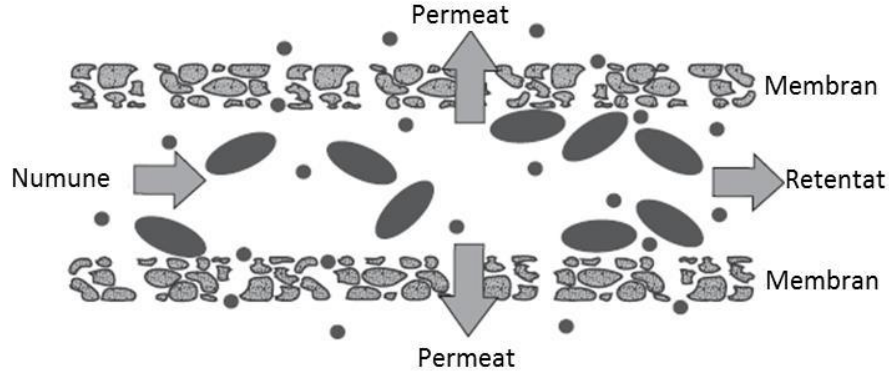
ile temel olarak peynir çeşitliliğine göre, yağ ve kazeini konsantrasyonu artmış olur. Sineresisin hızı ve ölçüsü, süt bileşimde yer alan iyonik kalsiyum ve kazeinin miktarına, asitlik değerine (pH), peynir türüne göre, sıcaklık, pıhtı-karıştırma hızı vb. işlemlere bağlı olarak değişir. Peynir çeşitlerinin farklılaşması sineresis ile başlamaktadır ve sütün kompozisyonuna rağmen, starter miktarı ve tipi, enzim miktarı ve tipi bu konuda önemlidir [21].

Yukarıda da bahsedildiği gibi, peynir üretiminin temel adımlarından biri peyniraltı suyunun uzaklaştırılarak temel bileşenlerin derişimini artırmaktır [25]. Bu işlem pıhtı oluşumu ve kesiminden sonra yapılır. Sineresis aşamasında peyniraltı suyu ile birlikte serum proteinleri de pıhtıdan ayrılmış olur.

## **2.2. Membran Ayırma Teknikleri**

Günümüzde özellikle Feta tipi yumuşak peynirlerde serum proteinlerinin'de peynir yapısında alıkonmasına imkân veren ultrafiltre (UF) teknolojisi sayesinde peynir üretimi, yüksek verim ve düşük iş maliyeti nedeniyle popüler hale gelmiştir. UF günümüzde birçok ülkede kullanılan, basınca dayalı membran filtrasyon işlemidir. Aynı zamanda enerjii tasarrufu, rennet, starter kültür ve işlem sürelerine etki ederek ekonomik kazanç sağlamaktadır [26].

Bilimsel ve teknolojik gelişmelere bağlı olarak membran ayırma teknikleri (ters osmoz (RO), nanofiltrasyon (NF), ultrafiltrasyon (UF), mikrofiltrasyon (MF)), endüstriyel boyutta geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Bu sistemlerde temel prensip, belli bir gözenek boyutuna sahip yarı geçirgen bir membrandan, uygun bir basınç ortamında basınç farkı yaratılarak ve genellikle çapraz-akış ile sıvı anafazdan ilgili bileşenlerin ayrılması ya da konsantrasyonlarının artırılmasıdır. Geleneksel ayırma yöntemleriyle kıyaslandığında bu yöntem daha ekonomik, hızlı ve verimlidir [27].



**Şekil 2.2.** Çapraz-akış filtrasyon [27]

Membran ayırma tekniklerinde biri olan mikrofiltrasyon, 0,05-10 µm membran gözenek boyutuna sahip ve düşük basınçta (<2 bar) çalışan sistemlerdir. Genellikle moleküler ağırlığı 200000 Da'dan büyük maddeleri ayırmak için kullanılır. Süt endüstrisinde somatik hücrelerin, bakterilerin, yağ globüllerinin ve büyük kazein misellerinin süttten ayrılmasında kullanılmaktadır [25]. Bu sistem ile yağsız süttteki bakterilerin %98-99'u uzaklaştırılabilmektedir [28].

Nanofiltrasyon, 200-1000 Da arası düşük moleküler ağırlığa sahip inorganik tuzlar ve glukoz gibi küçük moleküllerin ayrılmasında kullanılan bir membran ayırma tekniğidir. Kullanılan membranlar <2 nm küçük gözenek yapısına sahiptir ve ayırmada 10-25 bar arası bir basınca ihtiyaç duyulmaktadır. Membrandan monovalent iyonlar %40-90 oranında geçerken polyvalent iyonların geçişi sınırlıdır (%5-20). Bu nedenle kısmi demineralizasyon amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır [25].

Ters osmoz ise moleküler ağırlığı 150 Da ve altı maddeleri ayırabilmektedir. Bu nedenle suyun uzaklaştırılmasında veya seyreltik solüsyonları konsantre etmede kullanılır. Bu sistemlerde ihtiyaç duyulan basınç 25-80 bar düzeyindedir.

Ultrafiltrasyonda ise membrane gözenek boyutu 1nm-0,05 µm arasında olup ayırmada 1-10 bar basınca ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler ağırlığı 1000-200000 Da arası olan makromoleküllerin ayırımında kullanılır. Çizelge 2.1' de RO ve UF ile yaklaşık 3x konstre edilmiş süttün bileşim değerlerine ait veriler görülmektedir [28].

**Çizelge 2.1.** Yaklaşık 3x konsantre edilmiş (ters osmoz, ultrafiltrasyon) sütün bileşim değerleri [28]

<b>Bileşenler</b>	<b>Süt</b>	<b>Ters osmoz ,%</b>	<b>Ultrafiltrasyon, %</b>
Toplam katı maddeler	12,2	36,6	28,0
Yağ	3,5	10,5	10,5
Toplam protein	3,2	9,6	9,5
Laktoz	4,8	14,4	4,1
Kül	0,7	2,1	1,3

Özellikle son 15 yıldır kullanılmaya başlanan ultrafiltrasyon (UF), süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sütte UF uygulanması sonucu **permeat** (su, laktoz, çözümlü tuzlar, protein olmayan nitrojen fraksiyonları, suda çözümlü vitaminleri içerir) ve **retentat** (proteinler, yağ ve koloidal tuzlar içerir) elde edilir.

UF bugün süt endüstrisinde, proteini standardize etmek veya zenginleştirmek amacıyla içme sütünde, süt tozunda, yoğurtta, koyulaştırılmış sütte, krem peyniri, Feta, beyaz küflü (Camembert), mavi küflü (Roquefort) peynirler gibi yumuşak peynirlerde, mozzarella peynirinde kullanılmaktadır. Süt endüstrisinde UF tekniğinden en çok peynir teknolojisinde yararlanılmaktadır. Peynir yapımında klasik yöntemle, laktoalbumin ve laktoglobulin peyniraltı suyunda bulunduğu halde, UF ile koyulaştırılmış süt peyniri işlendiği zaman serum proteinleri peynirde kalmakta ve peynirde randımanın %16-20 arasında arttığı bildirilmektedir [28]. Ayrıca, bu teknolojinin kullanımı ile peyniraltı suyuna yağ geçişinin yok denecek hale geldiği, peynir mayası kullanımının %8 civarında azaldığı ve işçilik giderlerinden tasarruf sağlandığı açıklanmıştır [29]. Özellikle Feta (Beyaz peynir) peynirinin üretiminde bu tekniğin kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilmiş ve yaygın bir uygulama alanı bulunmuştur. Örneğin Feta peynirinin, 1 kg peynir geleneksel yöntemle 7,5 kg sütten elde edilirken, UF sütten ise 5,5 kg'den elde edilmektedir. Geleneksel peynir üretiminde peyniraltı suyuna geçen serum proteinleri, UF yöntemi ile peynirde tutulabilmekte, bu da randıman artışı sağlamaktadır [29].

Yapılan bir çalışmada UF ile peynir üretiminde geleneksel yöntemle göre özellikle sütteki toplam azotlu maddelerin, yağın, mineral maddelerin peynire geçiş oranlarının daha yüksek olduğunu saptamıştır [30].

Sütün UF ile konsantre edilmesi sürecinde kazein konsantrasyonu artmakla birlikte misele bağı mineral tuzlarının (Ca, Mg, P) da konsantrasyonu artmaktadır (Çizelge 2.2-2.3). Bu durum retentatın, tamponlama kapasitesinin de artmasına neden olmaktadır. Sonuçta peynir üretiminde, laktik asit bakterisi (LAB) ile asidifikasyon, son pH değeri, rennet ile koagülasyon, pıhtının reolojisi, olgunlaşma süresince enzimlerin aktivitesi, mezofilik bakterilerin olgunlaşma süresince lize olma düzeyleri gibi birçok parametreyi bu durumu etkilemektedir.

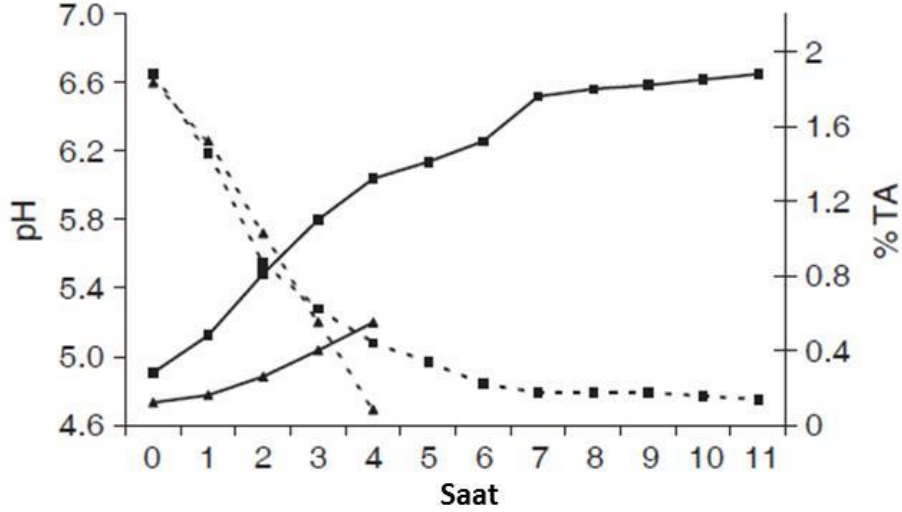
**Çizelge 2.2.** Konsantrasyon artışına bağlı olarak süt bileşimindeki değişimler [31]

Hacim konsantrasyon faktörü	Toplam katı maddeler,%	Kazein,%	Whey protein,%	Protein olmayan azotlu maddeler,%	Laktoz,%	Kül,%
1 (yağsız süt)	8,5	2,8	0,28	0,17	5,1	0,74
2	12,1	5,7	0,65	0,15	5,0	0,99
3	15,5	8,4	0,91	0,20	4,7	1,26
4	18,9	11,5	1,15	0,21	4,7	1,37
5	21,8	13,8	1,41	0,30	4,5	1,70

**Çizelge 2.3.** Yağsız sütte ve UF sütte misel yapıda yer alan minerallerin oranları [31]

Hacim konsantrasyon faktörü	Ca,%	Mg,%	Zn,%	Fe,%	Fosfat,%
1,0(yağsız süt)	71	26	99	16	40
1,5	79	34	100	77	44
2,0	80	41	99	79	57
3,0	86	50	99	87	68
4,0	91	60	100	89	73

Tamponlama kapasitesi yüzünden, LAB tarafından daha fazla asit üretimine ihtiyaç duyulduğundan bu peynirlerde asidik tat daha fazla hissedilmektedir (Şekil 2.3). Bu aşırı asitlik peynirde daha fazla kalsiyum tuzunun sıvı faza geçmesine neden olmaktadır. Bunun sonucunda peynir tekstürü daha kırılğan ve kumsu olabilmektedir. Ayrıca bu tür peynirlerde sürülebilirlik ve uzayabilirlik daha zayıftır [28].



**Şekil 2.3.** Normal (▲) ve 4.3x kat UF edilmiş sütün (■) laktik asit fermentasyonunda, laktik asit (düz çizgiler) üretimi ve pH (kesik çizgiler) arasındaki ilişki [28]

Tamponlama kapasitesinin yüksek olması daha yüksek sayıda starter bakterisinin peynir pıhtısında kalmasına neden olarak acılaşıma problemine'de neden olabilmektedir.

UF uygulaması birçok peynir çeşidinde kullanılmaktadır. Ancak uygulamada konsantrasyon farklılıkları bulunmaktadır. Cheddar gibi sert peynirler UF ile süt 1,6-1,7 kat konsantre edilirken, Cottage peynirlerinde bu değer 1,2-1,7 kat düzeyindedir. Feta tipi peynirlerde ise konsantrasyon faktörü 3x düzeyinde olup son konsantrasyonda toplam kurumadde değeri %28,5'a ayarlanmaktadır. Bu amaçla pastörize edilen ve yağ oranını ayarlanan süt, 180 bar basınçta ve 60 °C'de homojenize edilmekte ve 50 °C'de UF işlemine tabi tutulmaktadır [28].

Diğer peynir çeşitlerinde olduğu gibi UF peynirlerde'de olgunlaşma süresince bir dizi biokimyasal tepkimeler devam etmektedir. Bu tepkimeler mikrofloranın metabolik aktivitesi ve sütte doğal olarak bulunan veya ilave edilen bakteriyal enzimlerden önemli düzeyde etkilenmektedir. Olgunlaşma süresince peynirin duysal, fiziksel ve kimyasal özellikleri değişmektedir.

### 2.3. Peynirde Olgunlaşma ve Kalite

Peynir biyokimyasal olarak dinamik bir üründür ve olgunlaşma süresince önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Olgunlaşma süresince peynir ana bileşenleri olan protein, yağ ve laktoz (karbonhidrat) farklı düzeylerde parçalanır, devamında metabolize edilerek ürüne özgü tat, koku ve yapısal özelliklerin oluşması gerçekleşir. Bu prosesler uygun şekilde gerçekleşmez ise peynirde kusurlar meydana gelir.

Laktik asit bakterilerin (LAB) **laktozu fermente ederek laktik asit** üretmesi, bütün peynir çeşitleri için temel unsurlardan birisidir. LAB tarafında üretilen laktik asit, rennet ve çeşitli proteazların aktivitesi, sineresis, tat-koku, istenmeyen mikroorganizmaların gelişiminin engellenmesi adına önemli işlevlere sahiptir [32]. Ayrıca, asitlik gelişimi miktarı veya oranı peynirde tekstürü önemli düzeyde etkilemektedir. Bunun nedeni kazein miselinin demineralizasyonudur [33].

Klasik peynir üretiminde laktozun büyük bir kısmı, sineresis aşamasında peyniraltı suyu ile birlikte atılmaktadır (~%80-95). Bununla birlikte UF tipi beyaz peynirlerde kalıntı laktoz miktarı daha fazladır.

Starter laktik asit bakterileri tarafından gerçekleştirilen karbonhidrat metabolizması genel olarak homofermantasyon ve heterofermantasyon olarak sınıflandırılabilir. Normal şartlarda starter bakteriler (*Lactococcus lactis* gibi homofermantasyon gerçekleştirenler) L-laktik asiti üretirler. Kimi starter dışı bakteriler (genellikle Laktobasiller) laktik asitin D-izomerlerini üretmektedir. Ancak kimi starter bakterilerde D-laktik asiti üretebilmektedir veya rasemizasyon ile L-laktik asitten dönüşüm sağlanmaktadır [21,34].

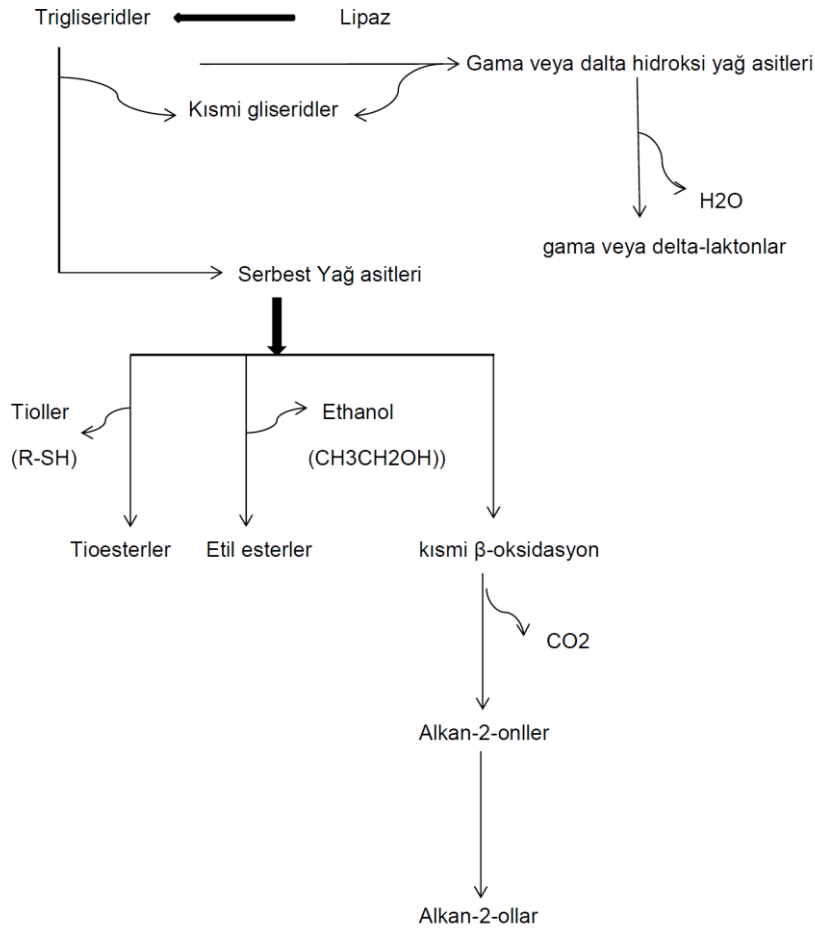
Sütte düşük konsantrasyonda (yaklaşık 1750 mg/L) bulunan sitrik asit (sitrat), bakteriler tarafından metabolize edilerek önemli aroma maddelerinin oluşmasına katkı sağlar [34]. Sütteki sitratin yaklaşık %94'ü çözünür durumdadır ve önemli bir kısmı peyniraltı suyu ile kaybedilir. Sitrat, starter kültür olarak kullanılan *Lc. lactis*

subsp. *lactis* veya *Lc. lactis* subsp. *cremoris*'in birçok suşu tarafından metabolize edilemez ancak laktokokların sitrat pozitif (Cit<sup>+</sup>) suşları (*Lc. Lactis* subs *lactis* biovar *diacetylactis*) ve *Leuconostoc* spp tarafından metabolize edilebilir [34]. Sitrat kullanan laktik asit bakterilerinin fermente edilebilir karbonhidrat varlığında, gelişimi sonucu çok sayıda önemli tat-koku bileşikleri ve peynirde küçük gözeneklere neden olan CO<sub>2</sub> üretilmektedir. Sitratın laktik asit bakterileri ve starter dışı laktik asit bakterileri tarafından metabolizmasından üretilen temel tat koku bileşikleri asetat, format, diasetil, asetoin, ve 2,3-bütandiol'dür [35].

Gıdalarda lipidler, hidrolitik ve oksidatif reaksiyona maruz kalırlar. Ancak, peynirin düşük oksidasyon/redüksiyon potansiyeli (-250 mV) nedeniyle önemli ölçüde oksidatif reaksiyonlar meydana gelmez [36,37]. Peynirin tat ve lezzet gelişiminde trigliseridler, enzimatik hidroliz yoluyla parçalanarak (**lipoliz**) yağ asitlerine ve kısmende olsa gliseridlere (mono veya digliseridlere) dönüşürler [34,36].

Lipoliz, küflü peynir ve sert İtalyan peynirinin olgunlaşması sırasında aroma oluşumunda temel biokimyasal olaylardandır. Cheddar, Gouda ve İsviçre tipi peynirler olgunlaşma sırasında düşük lipoliz seviyelerine sahip oldukları bilinmektedir. Bunun yanısıra lipolizin yüksek seviyede olması peynirde ransiditiye sebebiyet verebilmektedir. Serbest yağ asitleri (SYA) birçok uçucu bileşiklerinin öncüsü olarak peynirin tat ve lezzet gelişimine önemli katkıda bulunurlar. Lipolitik ajanlar ağırlıklı olarak sütte peynire geçerler ve Esteraz ve Lipazlar olarak sınıflandırılırlar [36,37]. Esterazlar, 2 ve 8 C atomu içeren ester zincirlerini hidrolize uğrattırken, lipazlar 10 veya daha fazla C atomu içeren ester zincirlerini hidroliz etmektedir. Esterazlar sulu çözeltilerde çözünebilir substratları hidrolizlerken, lipazlar emülsifiye substratları hidrolize ederler [38]. Süt yağı membranı, trigliseritlerin sütte doğal olarak bulunan ve güçlü bir lipaz olan lipoprotein lipaz (LPL) tarafında hidrolizini engellemektedir. Ancak, karıştırma, homojenizasyon, uygun olmayan sağım teknikleri gibi sebeplerle membran zarar görürse, lipoprotein lipaz (LPL) etkisiyle meydana gelen lipoliz sonucu peynir ve diğer süt ürünlerinde kusurlu tat-koku açığa çıkmaktadır [37]. Peynir yapımına ayrılan çiğ süttün LPL aktivitesi çok önemli olup ve bu enzimin büyük kısmı HTST(high-temperature short-time) pastörizasyonla (72 °C, 15 s) inaktive olmaktadır [37]. Pastörize sütte yapılan peynirlerdeki lipolitik ajanlar, lipazlar ve esterazlardır [21].

LAB enzimleri (*Lactococcus* and *Lactobacillus* spp.), *Pseudomonas*, *Acinetobacter* enzimlerine göre zayıf lipolitik özelliktedir [38]. Ancak, olgunlaşma süresince peynirde yüksek sayıda bulunan LAB, serbest yağ asitlerinin (SYA) oluşumunda önemli düzeyde katkı sağlamaktadır. Serbest yağ asitleri katabolizması sonucu, peynirin önemli tat ve aroma bileşikleri olan metil ketonlar, laktonlar, esterler, tioesterler ve sekonder alkoller oluşmaktadır. Bu nedenle süt yağı peynir kalitesinde önemli bir rol oynamaktadır [37]. Serbest yağ asidi katabolizması Şekil 2.4' de şematize edilmiştir.



**Şekil 2.4.** serbest yağ asitleri katabolizması

**Proteoliz** peynir üretim sürecinde başlayan ve olgunlaşma periyodu boyunca devam eden, en karmaşık ve en önemli birincil biyokimyasal olay olup, birçok peynir çeşidinde tekstür, tat ve aromanın oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Olgunlaşmada, kalıntı rennet miktarı, kalıntı süt proteinazları, tuz ve nem miktarı kalsiyumun oranı ve olgunlaştırma ortam sıcaklığı etkilidir [34, 39].

Proteoliz ile peynirde tekstür gelişir. Bunun nedenleri; peynir protein matrisinin hidrolize olması, peptit bağlarının hidrolizine bağlı olarak yeni amino ve karboksilik asit gruplarının ortaya çıkması ve su bağlama özelliklerinin değişmesi, proteoliz ile üretilen amino asitlerden serbest kalan amonyak ile peynir pH'sında görülebilen artışların olması şeklinde sıralanabilmektedir [39].

Proteoliz peynirde istenen ve istenmeyen aroma bileşiklerinin de oluşmasına neden olmaktadır. Bunu; küçük peptitler ve amino asitler üreterek, üretilen bu amino asitlerin amino asit katabolizması sonucu aroma bileşenlerinin oluşumuna katkıda bulunarak (Şekil 2.5), çiğneme sırasında peynir matrisinden değişik bileşiklerin salınımını kolaylaştırarak gerçekleştirmektedir [39].

Olgunlaşma süresince peynirdeki proteoliz, koagülant (kimozi, pepsin gibi), doğal süt proteazları (plazmin, katepsin D ve belki diğer somatik hücre proteinazları), starter, starter dışı mikroorganizmalar veya ikincil starter (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *Propionibacterium* spp., *Brevibacterium linens* gibi) ve olgunlaşmayı hızlandırmak için kullanılan ekzojen proteinaz ve/veya peptidaz kaynaklı enzimler tarafından katalizlenmektedir [36].

Birçok peynir çeşidinde, kazeinlerin başlangıç hidrolizi **koagülant** ve **plazmin** tarafından gerçekleştirilmektedir. Ayrıca, somatik hücre proteazları (cathepsins B, D, G, H, L, elastase) da sınırlı olsa başlangıçta kazein hidrolizinde yer almaktadır [40]. Bunun sonucunda da, daha sonra koagülant ve peynirin starter ve starter olmayan mikroflorasına ait enzimler tarafından parçalanacak olan büyük (suda çözünmeyen) ve orta boyutlu (suda çözünen) peptitler oluşmaktadır. Küçük peptitlerin ve amino asitlerin üretimi, sırasıyla mikrobiyal proteinazlar ve peptidazlar tarafından gerçekleştirilmektedir.  $\alpha_{s1}$ -kazeinin kimozi tarafından ve  $\beta$ -kazeinin plazmin tarafından parçalanmasıyla meydana gelen büyük peptitlerin, *Lactococcus*'un **hücre dışı** proteinazları ile hidrolizi sonucu küçük peptitler açığa çıkmaktadır. Ayrıca, hücrelerin lize olması sonucu salınan peptidazlar, peynirde kısa peptitlerin degradasyonundan ve serbest amino asitlerin üretiminden

sorumludur [41,42]. Peynirde kalan kimozin, öncelikli olarak  $\alpha_{s1}$ -kazeinin Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub> hidrolize ederek suda çözünen ve küçük bir peptit olan  $\alpha_{s1}$ -kazein (f1-23) frakmentini oluşturur ve bu peptit starter proteazlarınca hızlıca hidrolize edilir. Kimozin,  $\alpha_{s1}$ -kazeinin (Phe<sub>23</sub>-Phe<sub>24</sub>, Trp<sub>164</sub>-Tyr<sub>165</sub>, Leu<sub>101</sub>-Lys<sub>102</sub>, Phe<sub>98</sub>-Gly<sub>99</sub>, Leu<sub>98</sub>-Leu<sub>99</sub>),  $\alpha_{s2}$ -kazeinin (Phe<sub>88</sub>-Tyr<sub>89</sub>, Tyr<sub>95</sub>-Leu<sub>96</sub>, Gln<sub>97</sub>-Tyr<sub>98</sub>, Tyr<sub>98</sub>-Leu<sub>99</sub>, Phe<sub>163</sub>-Leu<sub>164</sub>, Phe<sub>174</sub>-Ala<sub>175</sub>, Tyr<sub>179</sub>-Leu<sub>180</sub>),  $\beta$ -kazeinin (Leu<sub>192</sub>-Tyr<sub>193</sub>, Ala<sub>189</sub>-Phe<sub>190</sub>, Leu<sub>163</sub>-Ser<sub>164</sub>, Leu<sub>139</sub>-Leu<sub>140</sub>) ve k-kazeinin (Phe<sub>105</sub>-Met<sub>106</sub>) hidrolizinde ilgili peptit bağlarını kırarak küçük molekül ağırlıklı peptitlerin oluşumunda önemli işleve sahiptir. Ancak, belirtmek gerekir ki  $\alpha_{s2}$ -kazein ve  $\beta$ -kazein kimozinle hidrolize  $\alpha_{s1}$ -kazeinden daha fazla dirençlidir [38,39].

Plazmin ise öncelik sırasıyla  $\beta$ -kazein,  $\alpha_{s2}$ -kazein ve  $\alpha_{s1}$ -kazein hidrolizini gerçekleştirir. Plazmin,  $\beta$ -kazein zincirindeki f29-209, f106-209, f108-209 arası peptit bağlarını hidrolize etmesi sonucu sırasıyla  $\gamma_1$ -,  $\gamma_2$ -, and  $\gamma_3$ -kazeinler oluşur [38]. Laktokokların sahip olduğu proteolitik enzimlerden laktosepin'ler, bakteri hücresi dışında yer alırlar. İki ana gruba ayrılırlar (P<sub>I</sub> ve P<sub>III</sub>). P<sub>I</sub> grubu enzimler (örn: *Lc. Lactis* subsp. *cremoris* HP tarafında üretilen enzimler)  $\beta$ -kazeini hızlı bir şekilde hidroliz ederler ancak  $\alpha_{s1}$ -kazeini yavaş hidrolize ederler. Bununla beraber P<sub>III</sub> grubu enzimlerde durum tam tersidir. Gerek laktosepinler ve gerekse LAB'lerin yada starter-dışı diğer mikroorganizmaların sahip olduğu hücre dışı ve içi peptidazlar kazein fraksiyonlarını peptitlere ve amino asitlere hidrolize ederek amino asit katabolizması için ihtiyaç duyulan öncül bileşenleri oluştururlar [39]. Devamında, serbest amino asitlerin katabolizması sonucunda, peynirin tat-kokusuna katkıda bulunabilen, amonyak, aminler, aldehitler, fenoller, indol ve alkoller gibi çok sayıda bileşik oluşmaktadır. Serbest amino asitlerin katabolizması, bütün peynir çeşitlerinin tat-koku gelişiminde bir miktar rol oynamakla birlikte, özellikle küflü ve yüzeyi olgunlaştırılmış peynirlerde çok önemlidir [36].

Amino asit katabolizmasının **ilk basamağını**, dekarboksilasyon, deaminasyon, transaminasyon, desülfürasyon veya amino asit yan zincirlerinin hidrolizi oluşturmaktadır. **İkinci basamak**, oluşan bileşiklerin (aminler ve  $\alpha$ -keto asitler) ve amino asitlerin, deaminazların amin grupları üzerindeki aktivitesi ile aldehitlere dönüşümünü kapsamaktadır. Amino asit katabolizmasının **son basamağı** ise, aldehitlerin alkollere redüksiyonu veya asitlere oksidasyonudur. Sülfür içeren amino asitler, metantiole ve diğer sülfür türevlerini içeren bileşiklerin oluştuğu,



kusurlar artar [50]. Yağın azalması peynir dokusunun sertliğini ve esnekliğini artırır ve yapışkanlığını azaltır.

Yağın rolü tam yağlı peynir dokusunda halen araştırılmakta olup yağın kremi ve ağız-kaplama hissi vermesi ve aynı zamanda protein matrisine süreksizlik kazandırdığı varsayılmaktadır. Buna bağlı olarak zayıf noktalar, süreksiz protein matriksi içinde, peynirin çiğneme yeteneğini artırmaktadır [51].

Peynir tekstürü, peynir bileşenlerinin karmaşık etkileşimlerinin bir sonucudur (yağ, rutubet, protein, kalsiyum ve pH). Düşük yağlı peynir tekstürü genellikle beğenilmez. Peynir üretimi sırasında yağın azaltılması, diğer süt bileşenlerinin oranını artırır ve buda peynir kazein matriksi içinde açık yapıların yer almasına neden olur. Tam yağlı peynirlerde, protein matriksinin açık alanları yağ damlacıkları tarafından doldurulur buda tekstürel olarak peynire daha elastik bir yapı kazandırarak kabul edilebilirliğini artırmaktadır. Düşük yağlı peynirlerde protein matriksi daha kompakt bir yapıya sahiptir [52,53]. Yağsız veya düşük yağlı peynirlerde acı tat daha kolay hissedilir. Bugüne kadar çeşitli yöntemler az yağlı peynir dokusunu geliştirmek için kullanılmıştır. Bunlar; peynir süt işleme koşullarının değişimi, peynir yapma prosedürlerinde değişiklik olarak sıralanabilir [54, 55, 56].

Düşük yağlı peynir üretimi için UF süttlerin kullanımı ile ilgili araştırmalar yapılmıştır [57, 58, 59]. Yapılan bir araştırmada yağı azalmış Mozzarella ve Cheddar peyniri üretiminde UF süt kullanılmış ve nem oranında bir artış gözlenmiştir. Ancak peynirlerin tekstürlerinde hiç bir gelişmeye rastlanmamıştır [58]. Araştırmacılar süttün peynir üretiminden önce homojenize edilmesinin, düşük yağlı peynirlerde tekstürel bir iyileşmeye yardımcı olabileceğini belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada düşük yağlı peynir üretiminde homojenize krema kullanımının peynirlerin doku, tat ve görünüşlerinde iyileşmeye neden olduğunu belirtmişlerdir. Bunun nedeni olarak yağ globüllerinin boyutunun küçülmesi ve protein matriksi boyunca eşit bir şekilde dağılmasından kaynaklanabileceği belirtilmiştir [60,61]. Ayrıca, peynir üretiminde kullanılan süttün pastörizasyon sıcaklığı'nda bu konuda etkili olduğu düşünülmektedir [62].

Düşük yağlı peynir tekstürü ile ilgili kusurların bazılarını azaltmak için peynir prosesinde çeşitli değişiklikler incelenmiştir. Pişirme sıcaklığını ve zamanını

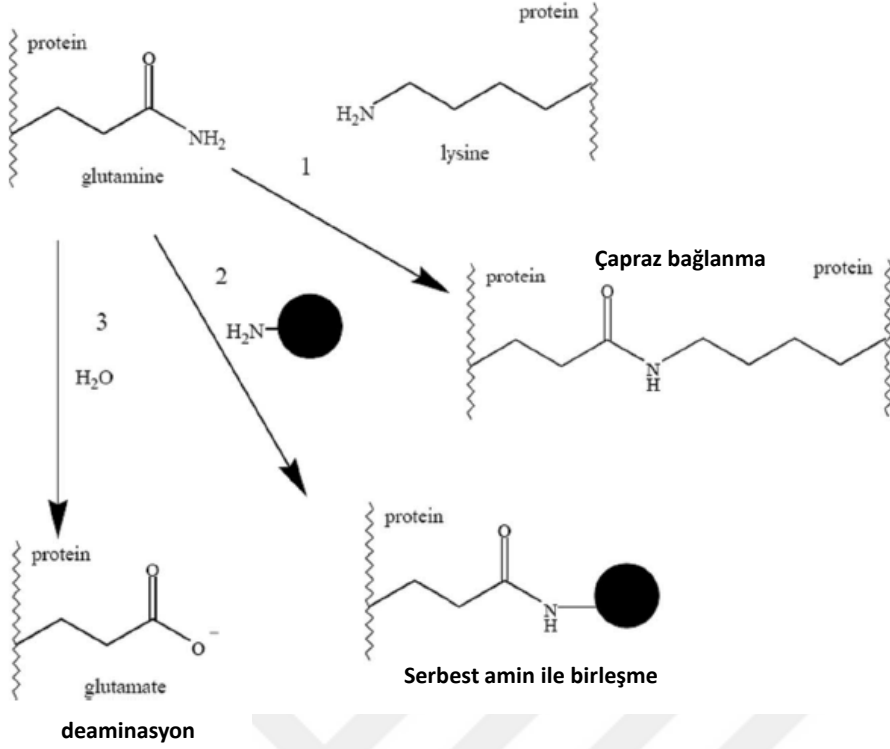
düşürmek, kısa karıştırma süresi, pıhtının yıkanması ve daha büyük boyutlu pıhtı kesimi, prosedür değişikliklerinden birkaç örnektir [56].

Düşük pişirme sıcaklıkları, yüksek pH ve tuzlama, az yağlı Cheddar peyniri üretiminde peynirin nem oranında bir artış sağlamaktadır [63]. Tekstür profil analizleri (TPA), peynirin nem oranının artmasıyla peynirin çatlama özelliğinin azaldığını göstermektedir. Bunun yanısıra, nem oranı arttıkça peynirin yapışma özelliği azalmaktadır. Bu nedenle az yağlı veya yağsız ürünlerin tekstürel yapısının tam yağlı ürünlerin yapısına benzemesi için nem oranının yüksek olması istenmektedir [64]. Nem içeriğini arttırmak için; düşük pişirme ve haşlama sıcaklığı, az tuz kullanımı, blok oluşumu sırasında daha az basınç ve kısa süre kullanımı, hızla peynir bloğunu soğutmak, pıhtıda pH'nin yüksek tutulması gibi parametreler düşük yağlı veya yağı azaltılmış peynirlerin sertliğini ve bileşimini etkilmektedir [62].

Düşük yağlı peynir üretiminde başka bir yaklaşım ise **yağ ikame** ediciler kullanılmasıdır. Yağ ikame ediciler yağsız ve düşük yağlı peynirlerin tekstürünü ve görünümünü geliştirmek için birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır [11, 13, 53]. Yağ ikame ediciler nem oranını yüksek tutarak peynire, kremi ve yağlanma hissi verirler. Ancak, peynirin lezzet kusurlarının önlenmesinde çok fazla olumlu etkileri olmaz. Yapılan bir çalışmada, farklı yağ ikame ediciler yağı azaltılmış peynirlerde incelenmiş ve incelemelerin sonunda protein kaynaklı yağ ikame edici kullanılan peynirlerde yağ ikame edici olmayan peynirlere göre tekstürlerinin daha az sert olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak, protein matriksinin yağ ikame ediciler tarafından kesilmesi ve dolayısı ile yapının süreksiz olması gösterilmiştir [45].

## **2.5. Transglutaminaz (TG) Enzimi ve Kullanımı**

Transglutaminaz enzimi (TG); glutamin ve lizin amino asitleri arasında çapraz bağ oluşumu, amin birleşmesi ve deamidasyon tepkimeleri ile proteinleri modifiye edebilen bir transferaz enzimdir (EC 2.3.2.13, protein-glutamin  $\gamma$ -glutamil-transferaz) ve günümüzde yaygın bir şekilde süt, et, deniz, hububat ürünleri gibi gıda ürünlerinde kullanılmaktadır [65,66].



**Şekil 2.6.** Transglutaminazın katalizlediği tepkimeler: 1) çapraz-bağlanma tepkimesi; 2) açıl-transfer tepkimesi; 3) deamidasyon [67]

TG enzimi gıda işleme teknolojisinde, düşük viskoziteli protein çözelti ve/veya dispersiyonlarından jel yapı oluşturma, mekanik dayanımı artırma, düşük yağ-protein içeriğinde mekanik yapı oluşturma, var olan yapıya eksikliği duyulan amino asit katılımını sağlama gibi işlevleri yerine getirmek amacıyla kullanılabilir [68].

Gıda sektöründe ilk olarak *Streptomyces mobaraensis* elde edilen ve  $Ca^{+2}$  bağımsız olarak aktivite gösterebilen mikrobiyal TG kullanılmıştır. TG, geniş bir pH aralığı içinde (5-8) yüksek bir aktivite göstermekte olup aktivite aralığı pH4-9'dur. Optimum sıcaklığı 50-55°C aralığında olduğu bilinmektedir. Diğer taraftan 70°C'de bir kaç dakika içinde aktivitesini kaybeder [69,70]. TG, yaygın olarak hayvan dokuları ve vücut sıvılarında bulunmaktadır ve çeşitli biyolojik olaylara katılmaktadır (kan pıhtılaşması, epidermal keratinizasyon ve eritrosit zarı sertleşmesi) [71]. TG aynı zamanda, bitkilerde, balıklarda ve mikroorganizmalarda da gözlenmiştir.

Ökaryotik enzimlerin aksine, *Streptomyces* tarafından üretilen bakteriyel transglutaminaz kalsiyuma bağımsızdır [69] ve birçok gıda sistemleri için geniş bir uygulamaya sahiptir (et ürünlerinin yeniden yapılandırılması ve su tutma kapasitesini artırmak, süt ürünlerinin kremi veya sert karakteri geliştirmek vb) [72]. Et endüstrisinde TG kullanımını ile tekstürel özelliklerin, jel formasyonunun, yeniden yapılanmanın ve pişirme sırasında kayıplarının azaltılması amaçlamaktadır. [73,67]. Birçok gıda proteini TG aracılığı ile çapraz bağlanabilme (cross-linking) özelliği göstermektedir. Bu proteinler içerisinde; bakla globulinleri, buğday gluteni, yumurta sarısı ve yumurta beyazı proteinleri, aktinler, miyosinler, fibrinler, süt kazeinleri,  $\alpha$ -laktalbumin ve  $\beta$ -laktoglobulin en yaygın bilinenlerdir [74,75].

Yapılan bir çalışmada TG ilavesinin ekmeklerde hacmi artırdığı ve raf ömrünü uzattığı bildirilmiştir [76]. TG çapraz bağlanan unlar normal unlardan daha yüksek su tutma kapasitesi ve daha iyi termal özellikler gösterdiği bildirilmiştir [73]. TG uygulamaları zayıf protein içeren hamurların kabartma kalitesini artırır ve erişte dokusunu ve pişirme kararlılığını geliştirir [77].

Birçok araştırma, süt proteinleri arasında kazeinin TG için uygun bir substrat olduğunu göstermiştir [78,79]. Kazein miselleri yüzeyinde yer alan  $\kappa$ -kazein moleküllerinin, hidrofilik kazeinomakropeptit (CMP, glikopeptit) bölgesinde iki tane olmak üzere toplam dört olası glutamin kalıntısını çapraz bağlama alanı olarak kullanılabilir [80].

Süt protein jellerini (asit ve rennet jelleri) stabilize eden temel unsur kovalent olmayan zayıf protein interaksiyonlarıdır. TG, protein molekülleri arasında meydana getirdiği kovalent bağlar aracılığı ile kuvvetli bir kazein agregasyonuna neden olmaktadır. Bununla birlikte; TG'nın pH 6,7'de süte ilave edilmesi durumunda, kazein agregasyonuna bağlı bir jelleşme meydana gelmemektedir. Bu durum, nötre yakın pH değerlerinde protein partikülleri arasındaki elektrostatik ve sterik itmeden dolayı çapraz bağların oluşmaması ile açıklanmaktadır. Buradaki elektrostatik ve sterik itmeye misel yüzeyinde yer alan  $\kappa$ -kazein molekülleri neden olmaktadır. TG sadece süt protein partiküllerinin elektrostatik ve sterik stabilizasyonlarının bozulması sonucu etkili olabilmektedir [75, 81]. Bu nedenle, yoğurt ve peynir gibi süt ürünlerinde TG, tekstürel özelliklerin geliştirmesinde

kullanılabilmektedir [82,83]. Asit jelinde kazeinlerin çapraz bağlanması, jelin sertliğinde, su tutma kapasitesinde ve seruma bağlanmasında artış göstermektedir [84, 85, 86, 87]. Yapılan bir çalışmada TG nin düşük yağlı veya yağsız yoğurtta su tutma kapasitesini artırarak tekstürel özellikleri iyileştirdiği tespit edilmiştir [84].

TG ile elde edilen bu yeni jel özellikleri, peynir üretiminde verimin artırılması için umut verici olmuştur. TG aktivitesi, önceden ısıtılmış (yüksek sıcaklıklarda) sütün aksine ısıtılmayan ve pastörize sütte çok düşüktür [88,89]. Bu düşük TG aktivitesi sütte doğal TG inhibitörlerinin olmasından kaynaklanmaktadır [90]. Bu durumda, peynir üretiminde tercih edilen düşük sıcaklıkta pastörizasyon TG kullanımını sınırlandırmaktadır [91]. Ancak yapılan bir çalışmada, ısıtılmayan ve pastörize sütte indirgeyici madde olan glutation (GSH) 0,02mM oranında ilave edilerek, TG aktivitesi gerçekleştirilmiştir [92].

TG beyaz peynir yapımında verimi artırmakta, tekstürel özellikleri geliştirebilmektedir [94]. Ancak, TG sert peynirlerde düşük koagülasyon özelliği ve uzun pıhtılaşma süresi nedeni ile tercih edilmemiştir [93]. Bu negatif etkilerin yanısıra, TG aktivitesinin kalıcı olması nedeni ile olgunlaşma ve depolama sırasında proteinlerin çapraz bağlanmasına devam etmekte ve böylece depolama sırasında peynirlerin sertliğini artırabilmektedir [94]. Bu yüzden TG nin tamamen kontrol altına alınması ve peynir yapımından önce inaktive edilmesi çok önemlidir. TG inaktivasyonunda 80°C'lik bir ısıl uygulama yeterlidir [90].

Yapılan bir çalışmada TG ile üretilen peynirlerde nem içeriğinin artması nedeni ile peynir veriminde %4'lük bir artış tespit edilmiştir. TG peynirleri ve kontrol peynirleri arasında duyusal özellikleri ve protein profili (whey fraksiyonunda) açısından çok fark gözlenmemiştir [95].

Yapılan bir başka çalışmada, mikrobiyel transglutaminazın kazeinleri çapraz bağlaması, peynir mayası üzerine etkisi araştırılmış ve sonuçta enzimatik çapraz bağlamanın birincil ve ikincil rennet koagülasyon aşamasında etkili olduğu gözlenmiştir. Kazeinlerin çapraz bağlanma etkisi birincil enzimatik fazda, esas olarak pıhtılaşma sürelerinin artması ile ve kaseinomakropeptit (CMP) salımının engellenmesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanısıra, yüksek çapraz bağlama, jelin sertliğinin azalmasına yol açar. TG ve rennetin eşzamanlı kullanımı,

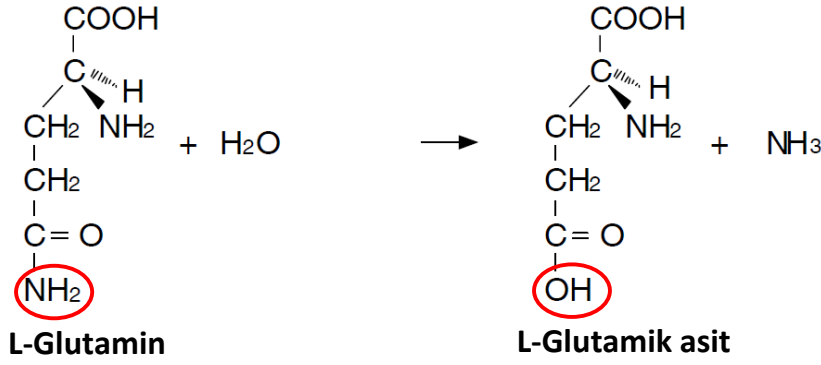
jel ağının ek kovalent bağlar ile serumu bağlaması ve stabilize etmesi ile verimin artmasına neden olabilmektedir [96].

## 2.6. Protein-Glutaminaze (PG) Enzimi

Gıda endüstrisinin'de enzimatik protein deamidasyonu umut verici bir yöntem olup, gıda sistemlerinde proteinlerin fonksiyonel özelliklerini (çözünürlük, emülsiyon, köpük, jel özellikleri, vs.) arttırabilmektedir. Deamidasyon, proteinde negatif yüklü karboksil grupların sayısının artmasına neden olmaktadır ve proteinin izoelektrik noktasını düşürmektedir. Bunun sonucunda zayıf asidik pH değerlerinde, hidrasyon yeteneği fazla, iyi çözünürlüğe sahip, protein yapıları elde edilmektedir. Protein yapısındaki deamidasyona bağlı değişiklikler onun amfilik karakterini geliştirmekte ve emülsifiyan yada köpük oluşturuca ajan olarak kullanılma potansiyellerini arttırmaktadır [97, 98]. Ayrıca, deamidasyon, sonucu oluşan, negatif yüklü yeni karboksil gruplarının elektrostatik itmeleri sonucu, proteinlerin dördüncül yapıları değişebilmektedir. Bu durum proteinlerin hidrofobik bölgelerinin açığa çıkmasına ve emülsifiye edici özelliklerin gelişmesine neden olabilmektedir [99].

Proteinlerin deamidasyonunda kimyasal yöntemler'de kullanılabilir. Bu amaçla zayıf asitlerle proteinlerin muamele edilmesi, anyonların katalist olarak kullanıldığı reaksiyonlar ve zayıf alkali ortam ısı uygulamaları ve 100 °C'deki ısı işlemler gibi yöntemler kullanılabilir. Ancak bu işlemler proteinlerin peptit bağlarını kırabilmekte ve protein yapılarına zarar verebilmektedir. İstenmeyen aromatik bileşiklerin oluşmasına da neden olabilmektedir. Bu nedenle enzimatik reaksiyonlar, deamidasyon proseslerinde tercih edilmektedir [99]. Enzimatik protein deamidasyonu; yüksek spesifik aktivite, uygun reaksiyon koşulları ve gıda güvenliği gibi nedenlerle ön plana çıkmıştır.

Bu amaçla kullanılabilen transglutaminaz (TG) enzim uygulaması ile deamidasyon gerçekleştirilse de, bu enzimin aynı zamanda proteinler arası çapraz bağların oluşmasına da neden olması, uygulamada sıkıntılar yaratabilmektedir. Bu nedenle araştırmacılar deamidasyonda başka yan tepkimeler vermeyen yeni enzimlere odaklanmışlardır [100]. Bu amaçla, mikrobiyal glutaminazlar kullanılabilir. Bu enzimler **L-glutamin**'i L-glutamik asit ve amonyak'a hidrolize etmektedir (Şekil 2.8).

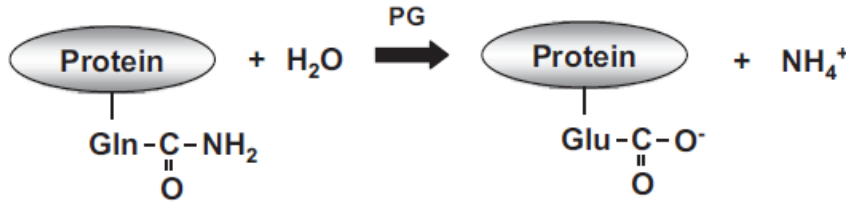


**Şekil 2.7.** Glutaminaz tarafından katalizlenen hidroliz reaksiyonu

Glutaminazlar birçok bakteri (*Acetobacter liquefaciens*, *Aerobacter aerogenes*, *Bacillus circulans*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium welchii*, *Escherichia coli*, *Flavobacterium flavescens* *Pseudomonas* spp. vb.), küf (*Aspergillus oryzae*, *Verticillium malthousei*) ve maya (*Cryptococcus albidus*, *Candida scottii*, *Saccharomyces cerevisiae*) tarafından üretilebilmektedir. Farklı kaynaklardan elde edilebilen bu enzimlerin molekül ağırlıkları, optimum pH ve sıcaklık dereceleri farklı olabilmektedir [101]. Bu enzimlerin aktivitesi sonucu oluşan glutamik asit, fermente soya sosları gibi ürünlerde aroma zenginleştirici özellik göstermektedir. Bu nedenle bu tür ürünlerde mikrobiyal glutaminaz önemli bir katkı maddesi olarak kullanılabilir [101]. Ancak bu enzimlerin kazein ve serum proteinleri üzerine aktiviteleri sınırlıdır [100].

Protein-glutaminaz (PG), topraktan izole edilen *Chryseobacterium proteolyticum* suşu tarafından üretilmekte olup 185 amino asitten oluşmaktadır. Proteinleri deamide eden bir enzimdir. PG, protein yapısında veya kısa-uzun zincirli peptitlerde yer alan glutamini hidrolitik deamidasyona uğratarak, **peptit bağlarına zarar vermeden veya protein yapısında istenmeyen değişikliklere neden olmadan**, glutamik asit ve amonyak oluşumunu sağlamaktadır (Şekil 2.9). Bununla beraber, ortamdaki serbest glutaminlere etki etmemektedir. Bu nedenle **protein-glutaminaz** olarak isimlendirilmektedir. Yaklaşık molekül ağırlığı 20000 Da (19860 Da) olan enzim, monomerik yapıda bir polipeptit zinciri şeklindedir ve izoelektrik (pI) noktası 10'dur. Enzimin optimum pH değeri pH 5-7 aralığında olup, pH 4-8 aralığında aktivite gösterebilmektedir. PG için optimum sıcaklık 50-55 °C aralığıdır ve 60 °C'den sonra inaktivasyon başlamaktadır. Kazein PG enzimi için

ideal bir substrattır, bununla beraber  $\alpha$ -La ve  $\beta$ -Lg üzerinede sınırlıda olsa etki göstermektedir [97, 99,100].



**Şekil 2.8.** Protein-glutaminaz reaksiyonu şeması [19]

Süt proteinlerinin uygun bir substrat olması nedeniyle, süt ve süt ürünlerinde PG kullanımı ile ilgili araştırmalar önem kazanmıştır [19, 98, 100, 102, 103]. Yapılan bir çalışmada yağsız sütün PG ile deamidasyonu, sütün fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini önemli derecede etkilediği ortaya konmuştur. Kazein misellindeki karboksil gruplarının elektrostatik itmelerinin artmasına bağlı olarak, miseller yapıda ayrılmalar olabileceği belirtilmiştir [19]. Aynı çalışmada, deamidasyon dercesi arttıkça yağsız süt solüsyonunun çözünürlüğü ve buna bağlı viskozitesi geliştiği, bulanıklığın azaldığı, emülsifiye kapasitesi yükseldiği ve ortalama damlacık çapının 4  $\mu\text{m}$  altına düştüğü ve buna bağlı olarak yağ/su yüzey alanının artış gösterdiği belirtilmiştir [19].

Bilindiği gibi serum proteinleri ve ürünleri yüksek besin değeri ve fonksiyonel (çözünürlük, jelleştirici ve emülsifiye edici) özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Serum proteinleri globular bir yapıya sahip olup ısıya duyarlıdır ve esas olarak  $\alpha$ -lactoalbumin ( $\alpha$ -La),  $\beta$ -lactoglobulin ( $\beta$ -Lg) ve diğer bileşenleri (sığır serum albümini, immünooglobulinleri) içermektedirler. Yapılan bir çalışmada, PG'nin whey protein isolatı (WPI) üzerine etkisi araştırılmış ve PG deamidasyonu WPI jellerinin dokularında yumuşaklık ve tuz (NaCl) varlığında yüksek bir su tutma kapasitesine sahip oldukları tespit edilmiştir. Bunun, karboksilik asit grupları arasındaki elektrostatik itmede bir artıştan ve disülfid bağlarının oluşumunda bir azalmadan kaynaklandığı düşünülmektedir [103].

Süt ürünlerinden set tipi yoğurta PG kullanımı ve bunun ürün kalitesine etkilerinin incelendiği bir araştırmada, yağsız ve düşük yağlı yoğurta PG uygulamasının üründe sıklığı azalttı, yapışabilirliği arttırdığı görülmüştür. PG uygulamasının daha ince ve yoğun jel yapısına neden olduğu ve kremli yapıyı artırdığı belirtilmiştir.

Düşük yağlı yoğurtların yüzeylerinde sinerez'de bir azalma ve yüzeyin pürüzsüz ve parlak olduğu görülmüştür [98].

Değişik kaynaklı proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin artırılmasında da glutaminazdan faydalanılmaktadır. Bu amaçla yulaf, pirinç, buğday ve mısır proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin artırılması ve çözünebilirliklerinin artırılması amacıyla glutaminaz uygulamaları ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır [104,105]. Bununla beraber, protein yapısı içinde yer alan ve proteine zarar vermeden sadece glutamin deamidasyonunu yapan PG enzimi ile ilgili çalışmalar gerek buğday ve gerekse mısır proteinlerinde de çalışılmaktadır [106,107].

PG enzimi az yağlı yoğurtlarda su tutma kapasitesini artırması ve duyuusal özellikleri iyileştirmesi onun yağlı azaltılmış peynirlerde'de kullanım potansiyeli olduğunu göstermektedir. Bu nedenle bu çalışmada, PG enzimi ve ticari olarak satılmakta olan ve içerisinde PG ve TG'de bulunduran Activa-SYG kullanılarak yağlı azaltılmış UF peynirlerde olası kusurların önlenmesi ve kabul edilebilirlik düzeylerinin artırılması hedeflenmiştir. Ayrıca, bu uygulamaların peynirde proteoliz üzerine etkileri'de araştırılmış ve raf ömrü süresince peynir kalitesi üzerine etkileri ortaya konulmuştur.

## 3. MATERYAL VE METOT

### 3.1. Materyal

Peynir üretimi için gerekli hammaddeler (Yağlı ve Yağı azaltılmış Konsantre UF süt, Kültür) Bahçivan Gıda San. ve Tic. A.Ş. tarafından temin edilmiştir. Protein-Glutaminaz (200U/g) ve Protein-glutaminaz-Transglutaminaz [Activa-SYG ticari ismi, 160 U/g protein-glutaminaz (PG), 90 U/g Tansglutaminaz (TG) karışımı] Ajinomoto firmasından temin edilmiştir.

Pıhtılaştırıcı enzim olarak fermente buzağı kimozeni (Maxiren, 600 IMCU, DSM, Delft, The Netherlands) kullanılmıştır. Starter kültür olarak DANISCO firmasına ait CHOOZIT Feta A LYO 100 DCU (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus* karışık kültür) kullanılmıştır.

Üretim iki aşamalı yapılmıştır. İlk aşamada; yağı azaltılmış UF peynir üretiminde kullanılacak olan protein-glutaminaz (PG) ve transglutaminaz-protein-glutaminaz (Activa-SYG) konsantrasyonları (0, 0,25, 0,5 ve 1 U/g-protein) test edilmiştir. Yapılan ön denemelerde duysal açıdan en kabul edilebilir PG konsantrasyonunun 0,5 U/g olduğu bulunmuş ve üretimin ikinci aşamasında bu değer uygulanmıştır. Ancak, Activa-SYG karışık bir enzimdir. Bileşiminde 90 U/g TG ve 160 U/g PG bulundurmaktadır. Üretimde kullanılacak olan bu karışık enzimde PG varlığı esas alınmış ve peynire 0,5 U/g protein PG olacak şekilde ilave edilmiştir. Dolayısı ile bu peynirler aynı zamanda 0,28 U/g TG enzimi de içermektedir.

### 3.2. Metot

#### 3.2.1. Minyatür UF Peynir Üretimi

UF beyaz peynir üretimde, UF retentat'a enzim, kültür ve tuz ilave edilmekte ve peynir hermetik olarak kapatılmaktadır. Pıhtılaşma ve olgunlaşma, tuz difüzyonu aynı kap içerisinde gerçekleşmekte, pıhtı baskılama ve kesme gibi işlemler olmamaktadır. Dolayısı ile peynirdeki tüm biyokimyasal olaylar kendi kutusu içerisinde olmakta ve peyniraltı suyu kaybı olmamaktadır. pH gelişimi ve tuzun etkisi ile peyniraltı suyunun bir kısmı peynir kalıbının üzerini örtecek kadar peynir pıhtısından sineresis ile çıkmakta ve bu peyniraltı suyu aynı zamanda salmura

görevi görmektedir. Bu nedenle tez içinde salamura ve peyniraltı suyu terimleri birbirinin yerine kullanılmıştır.

Konsantre halde soğukta +4 °C de bölümümüze gelen yağlı ve yağı azaltılmış homojenize edilmiş UF retentatları önce 65 °C de 30 dak. ısıtılma tabi tutulmuştur. Daha sonra üretimde aşağıdaki basamaklar izlenmiştir.

- UF retentat'ın kaplara sıcak dolumu (30 g, 65 °C)
- Soğutma (33-35 °C)
- Rennet mix (Maxiren+kultur+su) ilavesi (33-35 °C)
- Enzim ilavesi (33-35 °C) **PG veya Activa SYG**
- Etüvde pıhtılaşma (33-35 °C, 30-60 dak)
- İnkubasyon (33-35 °C, 18-20 saat)
- Peynirlere tuz ilavesi (kuru tuzlama)
- Depolama (6-8 °C)

Üretimdeki farklılıklar (peynir kodları ve bilgileri aşağıda belirtilmiştir).

**1:** Yağlı **UF retentat** kullanılarak üretilmiş kontrol peyniri

**2:** Yağı azaltılmış **UF retentat** kullanılarak üretilmiş kontrol peyniri

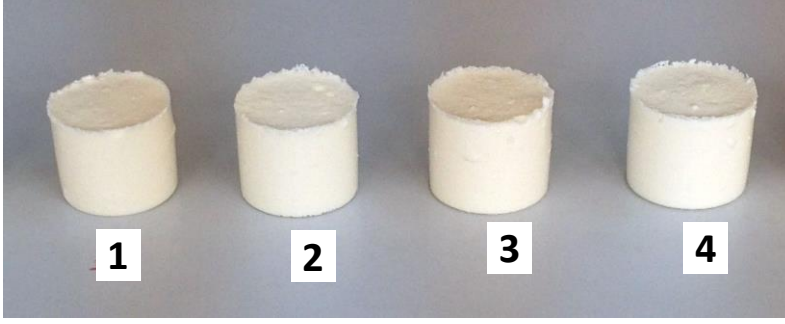
**3:** Yağı azaltılmış **UF retentat** ve PG (0,5U/g) kullanılarak üretilmiş peynir

**4:** Yağı azaltılmış **UF retentat** ve Activa-SYG (0,5U/g PG, 0,28 U/g TG) kullanılarak üretilmiş peynir

Üretimde kullanılan UF retentat'a ait bileşim değerleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Üretimi gerçekleştirilen minyatür peynirlere ait resim Şekil 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** UF Beyaz peynir üretiminde kullanılan retentat bileşim değerleri

<b>Bileşim</b>	<b>Yağlı UF retentat</b>	<b>Yağı azaltılmış UF retentat</b>
Kurumadde (%)	33,20	28,80
Brix	32,80	29,70
Yağ (%)	15,50	7,5
Protein (%)	11,80	14,90
pH	6,70	6,62



**Şekil 3.1.** UF Beyaz peynir örnekleri

Peynir örneklerinden depolamanın 7. 30. 60. ve 90. günlerinde numune alınarak analiz edilmiştir. Tüm analizler iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.2. UF Peynir Örneklerinde Fizikokimyasal ve Kimyasal Analizler**

#### **3.2.2.1. Peynir örneklerinde verim hesaplaması**

Peynir örneklerinde verim konulan süt miktarı ve elde edilen peynir miktarının gravimetrik olarak oranlanması ile hesaplama yapılmıştır [107,108].

$$\text{Verim (\%)} = \frac{m(\text{peynir, g})}{m(\text{retantat, g})} \times 100$$

#### **3.2.2.2. Kurumadde analizi**

Örneklerde toplam kurumadde miktarı gravimetrik olarak 102 °C'de yapılmıştır [109,110].

#### **3.2.2.3. pH analizi**

Peynirde pH ölçümleri, Radiometer marka dijital pH-metre ve kombine cam elektrot kullanılarak doğrudan yapılmıştır.

#### **3.2.2.4. Yağ analizi**

Yağ tayini Gerber yöntemine göre yapılmıştır [110,111].

#### **3.2.2.5. Protein analizi**

Toplam azotlu maddeler tayini AOAC'e göre Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen % toplam azotlu madde değeri 6,38 faktörü ile çarpılarak % protein değeri hesaplanmıştır [109,110].

#### **3.2.2.6. Suda çözümlü azot (SÇA) analizi**

Peynir örneklerinde olgunlaşma indeksinin hesaplanabilmesi amacıyla suda çözümlü azotlu madde analizi yapılmıştır [112,113]. Bu amaçla; homojen hale getirilmiş peynir örneklerinden 7 g tartılmış ve üzerlerine 35 ml deiyonize su (40

°C) eklenmiş ve homojenize edilmiştir. 1 saat 40 °C su banyosunda bekletilmiş ve daha sonra 3000 g'de ve +4 °C de 30 dak. santrifüj edilmiştir. Süpernatant (SÇA) whatman 113 ile filtre edilmiş ve analizlerde kullanılmıştır. Olgunlaşma indeksi değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve sonuçlar toplam azot (TA) içinde % SÇA olarak verilmiştir.

Suda çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değeri;

$$SÇA (\%TA) = \frac{SÇA}{TA} \times 100$$

### 3.2.2.7. %12'lik TCA'da çözünür azot analizi

Bu amaçla daha önce elde edilen SÇA ile TCA (%24'lük Trikloroasetik asit) çözeltisi 1:1 oranında karıştırılmış ve 2 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra santrifüj edilmiştir. Süpernatant Whatman no:42 filtre kağıdı kullanılarak filtre edilmiştir. Elde edilen temiz filtrattan 25 ml alınarak mikro-kjeldahl yöntemi ile azotlu madde analizi yapılmıştır [114,113].

Olgunlaşma indeksi değeri aşağıdaki formül ile hesaplanmış ve sonuçlar toplam azot (TA) içinde % TCA-ÇA olarak verilmiştir.

%12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler bazında olgunlaşma indeksi değeri;

$$TCA-ÇA (\%TA) = \frac{TCA'daÇA}{TA} \times 100$$

### 3.2.2.8. Toplam serbest amino asit tayini

Bu amaçla TNBS (trinitrobenzensülfonik asit) metodu kullanılmıştır [113]. Hazırlanmış olan suda çözünen azotlu madde fraksiyonundan 10 µL alınmış ve deiyonize su ile 1 mL'ye seyreltilmiştir. Bu dilüsyondan 0,5 mL alınmış, 0,5 mL borat tamponuyla (0,1 M, pH 9,5) ve 1 mL TNBS çözeltisiyle karıştırılmıştır. Karışım 37 °C'de 60 dakika bekletilmiş ve reaksiyon 2 mL 0,1 M fosfat tamponu (1,5 mM Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> içeren) ile durdurulmuştur. 420 nm'de absorbans ölçümü alınmıştır. Çalışmada lösin standart olarak kullanılmıştır. Bu amaçla 0,05-0,50 mM konsantrasyonda çözeltiler hazırlanmış ve kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Sonuçlar mg lösin/g peynir olarak verilmiştir.

### **3.2.2.9. Peynir örneklerinde proteolizin Üre-PAGE (Poliakrilamid Jel Elektroforez) yöntemi ile incelenmesi**

Peynirlerde oluşan proteoliz düzeylerinin elektroforetik olarak saptanmasında elektroforez yöntemi kullanılmıştır [115,116]. Ayırma jeli konsantrasyonu (T=%12,5, C=%4, pH 8,9) olacak şekilde ayarlanmıştır. Liyofilizasyon uygulanarak kurutulmuş suda çözünmeyen fraksiyon örneklerinden 10 mg alınmış ve 1 mL elektroforez örnek hazırlama tamponunda çözündürülmüştür. Hazırlanan bu numunelerden jellere 7 µL örnek yüklenmiştir. Çalışmada ayırım için ön ayırma jelinde 280 V, ayırma jelinde ise 300 V sabit akım, hazırlanan iki jele uygulanmıştır. Elde edilen jeller, boya çözeltisi içinde 24 saat bekletilmiş ve protein bantları boyanmıştır [117]. Daha sonra jeller, 1 gece saf suda bekletilerek protein dışındaki boya giderilmiştir [113].

### **3.2.2.10. Peynir örneklerinde proteolizin HPLC ile incelenmesi**

Peynir örneklerinden hazırlanmış olan suda çözünen fraksiyon 1:1 oranında % 0,2 TFA (trifloroasetik asit, v/v) içeren deiyonize su ile karıştırılmış ve 15000 rpm'de, 30 dk. süreyle santrifüj edilmiş ve süpernatanttan HPLC viallerine alınarak analiz için hazır hale getirilmiştir. Bu amaçla; ThermoFinnigan SpectraSystem HPLC sistemi kullanılmıştır. Kromatografik ayırım, Phenomenex jupiter C18 (250×4,6 mm, 5 µm, 300 Å) (Phenomenex, Torrance, CA, USA) RP-HPLC kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mobil faz A olarak, % 0,1 TFA (Trifloroasetikasit, v/v) içeren deiyonize su ve Mobil faz B olarak, % 0,1 TFA içeren far UV grade asetonitril (v/v) kullanılmıştır. Ölçümler 214 nm'de gerçekleştirilmiştir. Elusyon gradient olarak gerçekleştirilmiştir [114].

### **3.2.2.11. Lazer taramalı konfokal mikroskop (LTKM) ile yapısal görüntüleme**

Örnekler, üretim sırasında floresans protein boyası olan Fast Green FCF ile boyanmıştır. Önce %1'lik boya solüsyonu saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Bu boyadan peynir üretimi sırasında peynir sütüne son üründe konsantrasyonu %0,003 olacak şekilde ilave edilmiş, devamında diğer katkıları (rennet, kültür, enzimler) ilave edilerek homojen bir şekilde karıştırılmıştır. Yukarıda verilen peynir üretim metodu izlenerek peynir üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretim sonrası elde edilen renkli peynir örnekleri 1x5 mm boyutunda jilet ile kesilmiş ve lam üzerine yerleştirilmiştir. Görüntüleme Zeiss LSM 510 mikroskop (Carl Zeiss LSM 510

Meta; Carl **Zeiss** Mikroskopie, Jena, Germany) kullanılmıştır. Ölçümde 63x yağ immersiyon objektif kullanılmış olup çalışılan dalga boyları 543 ve 488 nm'dir [98].

### 3.2.2.12. Renk analizi

Peynir örneklerine ait peyniraltı suyu renk analizi, Minolta kolorimetre (model: CM-3600) cihazı kullanarak gerçekleştirilmiştir. Cihaz, beyaz ve siyah seramik levha ile kalibre edilmiştir. Peyniraltı suyu örneklerine ait CIE  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri iki farklı kuvvet yüzeyinden tekrarlı olarak okutulmuştur.  $L^*$  sayısı 0-100 arasında bir değer olup aydınlık ya da karanlığın,  $a^*$  değeri kırmızı (+) ya da yeşil (-) rengin,  $b^*$  değeri ise sarı (+) ya da mavi (-) rengin ölçüsüdür. Renk farklılıkları örnek ve kontrol peynir sularında incelenmiş ve toplam renk farklılığı ( $\Delta E$ ) hesaplanmıştır. Renk yoğunluğunu ve renk doygunluğunu gösteren Chroma (C) değeri de hesaplama ile bulunmuştur. Bu amaçla aşağıda verilen formül kullanılmıştır. Yağı azaltılmış UF kontrol peynirine (2 nolu peynir) ait  $\Delta E$  hesaplamasında yağlı UF kontrol peyniri (1 nolu peynir) esas alınırken 3 ve 4 numaralı örneklerde yağ azaltılmış kontrol (2 nolu örnek) esas alınmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

$$C = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$$

### 3.2.2.13. Peynir örneklerinde tekstür analizi

Enstrümental tekstür profil analizi (TPA), TA Plus Texture Analyzer (Ametek Lloyd Ins. Ltd., UK) aleti kullanarak gerçekleştirilmiştir. UF Beyaz peynir örneklerinde olgunlaşma süresince sertlik, esneklik, çiğnenebilirlik, parçalanabilirlik ve yapışkanlık özellikleri incelenmiştir.

Bu amaçla peynir örnekleri (25 mm çaplı silindir halinde) 2 cm boyutunda kesilerek, oda sıcaklığında analiz edilmiştir. Aletin 10 mm çapındaki silindir probunun hızı 0,5 mm/s'ye ayarlanmıştır. Sıkıştırma oranı % 33 olarak belirlenmiştir [114]. Tekstür analizinde iki ardışık sıkıştırma işlemi uygulanmıştır. Elde edilen grafikten, peynir kitlesinin tekstür analiz parametreleri belirlenmiştir. Bu parametreler aşağıda açıklanmıştır.

Hardness (Sertlik): Örneği deforme etmek için gerekli birinci sıkıştırmada uygulanan maksimum kuvvet (N),

Springiness (Esneklik): Birinci sıkıştırma sonrası örneğin eski halini alma oranı (mm)

Chewiness (Çiğnenebilirlik): Katı bir gıdayı yutmaya hazır hale getirmek için gerekli çiğneme kuvveti (Nmm)

Cohesiveness (Yapışkanlık): Gıdayı bir bütün halinde tutan bağlar arasındaki kuvvet

Gumminess (parçalanabilirlik): Yarı katı bir gıdayı yutmaya hazır hale getirmek için gerekli parçalama kuvveti (N), [118].

#### **3.2.2.14. Peynir örneklerinde duyusal değerlendirmeler**

Üretimi gerçekleştirilen UF beyaz peynirlerin duyusal değerlendirmesi 3 uzman panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmede kullanılan puan tablosu ekte verilmiştir [42]. Toplam kabul edilebilir düzeyleri için hedenoik test tekniği uygulanmıştır [42]. Acılaşma düzeyi 4 puan üzerinden değerlendirilmiştir (0-4: Acılık yok-aşırı acılık) [114].

#### **3.2.2.15. Araştırma sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi**

Çalışmada elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, SPSS 16.0 bilgisayar programı kullanılmıştır. Veriler, aksi belirtilmediği sürece iki paralel analiz sonuçlarına aittir. Varyans çözümleme sonuçları  $P<0,05$  önemlilik düzeyinde değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirmelerde yağı azaltılmış retentat kullanılarak üretilen UF peynirler olan 2, 3 ve 4 nolu örnekler esas alınmıştır. Tam yağlı retentat kullanılarak üretilen 1 nolu UF peynir örnekleri istatistiksel açıdan değerlendirmeye alınmamıştır. Bununla beraber, olgunlaşma süresinin etkisi tüm örnekler değerlendirilmiştir.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bölüm 3.'de belirtilen parametreler ve yöntem kullanılarak üretimi yapılan örneklerle ait analiz sonuçları aşağıda özetlenmiştir.

### 4.1. UF peynir Örneklerinde Fizikokimyasal ve Kimyasal Analiz Sonuçları

UF Beyaz peynir örneklerine ait olgunlaşma süresince ortalama bileşim değerleri Çizelge 4.1' de verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince bileşim değerleri

	Olg.süresi	1	2	3	4	$P_{enzim}$	$P_{olg.}$
<b>P.altı suyu pH</b>	7.gün	4,76	4,76	4,87	4,90	*	*
	30.gün	4,74	4,72	4,86	4,98	*	
	60.gün	4,58	4,61	4,73	4,76	*	
	90.gün	4,68	4,72	4,87	4,83	*	
<b>Kurumadde(%)</b>	7.gün	38,95	33,56	33,91	32,80	*	*
	30.gün	39,36	34,59	33,05	33,17	*	
	60.gün	39,16	33,68	33,19	33,35		
	90.gün	40,64	34,69	34,06	34,08	*	
<b>Yağ (%)</b>	7.gün	19,25	9,50	9,25	9,50		
	90.gün	19,50	10,00	9,50	9,50		
<b>Tuz (% KM'de)</b>	7.gün	7,72	9,04	9,39	8,49	*	*
	90.gün	8,04	8,80	9,50	9,22	*	
<b>Protein(%)</b>	7.gün	13,46	16,48	17,12	16,76	*	*
	30.gün	13,87	16,45	16,51	16,15	*	
	60.gün	14,70	16,63	18,16	18,11	*	
	90.gün	14,62	17,44	17,86	18,18	*	
<b>Verim (%)</b>	7.gün	81,22	78,80	82,56	83,65	*	*
	30.gün	77,77	73,60	78,46	80,93	*	
	60.gün	77,25	73,47	77,16	79,52	*	
	90.gün	77,98	72,74	77,70	77,62	*	

**1:** yağlı kontrol, **2:** yağı azaltılmış kontrol, **3:** PG ile üretim, **4:** Activa-SYG ile üretim,  $P_{enzim}$ : Enzim uygulamasının istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde),  $P_{olg.}$ : Olgunlaşma süresince görülen değişimlerin istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde önemli). İstatistiksel açıdan 2, 3 ve 4 nolu örnekler kendi aralarında kıyaslanırken, olgunlaşma süresinin etkisi tüm örnekler değerlendirilmiştir.

Üretim içi kıyaslamalarda 2 (yağı azaltılmış kontrol), 3 ve 4 numaralı örnekler esas alınmıştır. 1 numaralı örnek (tam yağlı kontrol) yapısına ve özelliklerine yaklaşmak istediğimiz referans örnek olarak ele alınmış ve bu nedenle tam yağlı kontrol örneğine ait veriler diğer analiz sonuçları ile birlikte verilmiştir.

1.günde pH değerleri 4,76 ve 4,90 arasında değişmektedir. Ancak olgunlaşma süresinin ilerlemesiyle pH değerleri azalmıştır. Genelde olgunlaşma süresince pH da düşmeler beyaz peynir çeşitlerinde gözlemlenen bir sonuçtur [119,120].

Olgunlaşma süresince 3 ve 4 numaralı örneklerin pH değerleri kontrol peynirlerin pH değerlerine göre yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni deamidasyona bağlı olarak peyniraltı suyuna geçen  $NH_3$  olabilir. Benzer sonuçlar TG ilaveli peynirlerin pH değerlerinin olgunlaşmanın sonunda (90.gün) kontrolden yüksek olduğu araştırmacılar tarafından da ifade edilmiştir [121]. pH'daki değişimler denemeler arasında ve olgunlaşma süresince istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ).

Olgunlaşmanın 7.gününde 1 ve 2 numaralı peynirlerin %kurumadde miktarı sırayla %38,95 ve 33,56 olarak gözlenmiştir. Kurumadde değerleri başlangıçta 3 ve 4 numaralı örnekler için düşük olmakla birlikte, olgunlaşmanın ilerleyen günlerinde tuz difüzyonuna bağlı olarak artış görülmüştür. Olgunlaşma süresince tüm UF beyaz peynir örneklerinin %kurumadde oranı artmıştır. 3 ve 4 numaralı örnekler yağı azaltılmış kontrol ile karşılaştırıldığında, olgunlaşma süresince %kurumadde miktarları kısmen daha düşüktür ancak bu fark beklendiği kadar yüksek bulunmamıştır. Bununla beraber farklılıklar istatistiksel açıdan 7., 30. ve 90.günler için önemli bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Olgunlaşmanın 90.gününde yağsız kurumadde değeri 1, 2, 3 ve 4 nolu örneklerde sırasıyla %21,14; 24,69; 24,56 ve 24,50 olarak hesaplanmıştır.

Tüm UF beyaz peynir örneklerin (2, 3 ve 4) yağ oranları az da olsa farklılık göstermektedir. Bu farklılık PG ve activa-SYG enzimlerinin kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir. Peyniraltı suyu ile yağ kaybının azda olsa azaldığı söylenebilir. Bununla beraber yapılan bir araştırmada TG ilave edilen peynirlerin kontrol peynirlere göre olgunlaşmanın 1 ve 90 gününde yağ oranlarının daha düşük olduğu gözlenmiştir [121].

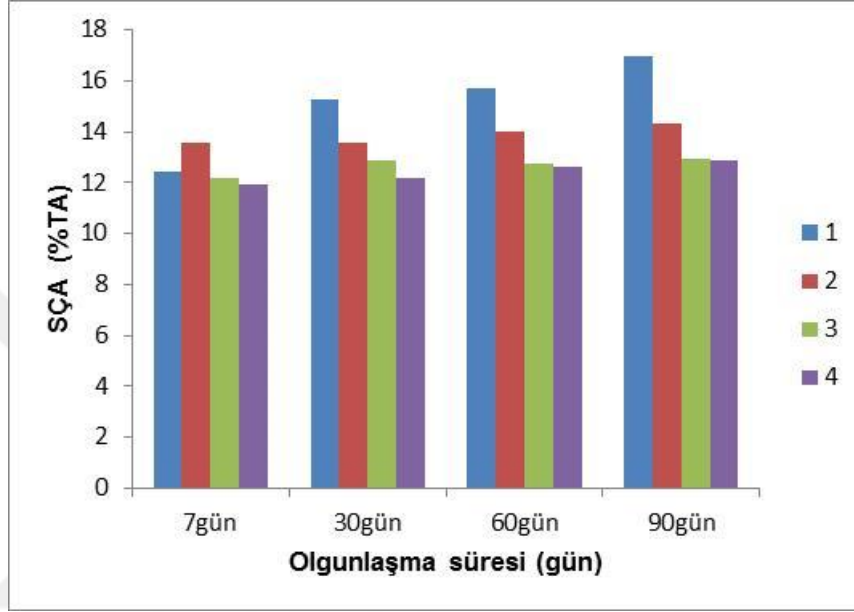
Kurumaddede %tuz değerleri incelendiğinde, tüm peynir örneklerinde farklılık tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Bunun nedeni örnekler arasındaki kurumadde farklılıkları olabileceği düşünülmektedir. Çizelge 4.1 incelendiğinde, peynir örneklerin kurumaddede tuz değerleri, % 7,72 – 9,50 arasında olduğu görülmektedir. Tuz miktarı, peynir olgunlaşma suresinde meydana gelen değişimleri etkiler. Bu yüzden, tuz miktarı peynir örneklerinin toplam kalitesini çok etkilemektedir [122]. Peynir örneklerinde en yüksek tuz 90. günde 3 numaralı rnekde ve en düşük değer (%7,72) 7.günde 1 numaralı örnekte görünmektedir.

Çizelge 4.1'de görüldüğü gibi olgunlaşma süresince, protein değerlerinde bazen azalmalar bazen de artışlar gözlenmektedir. Bu değişimler proteinlerin hidrolizi sonucunda oluşan suda çözünür peptitlerin veya ileri parçalanma ürünlerinin, salamuraya veya peyniraltı suyuna difuzyonundan kaynaklanabilir. UF beyaz peynir örneklerinin %protein değerleri 13,46 – 18,18 arasında değişmektedir. Yağsız peynirlerde değerler genelde yüksektir. Bu beklenen bir sonuçtur. Peynirde istenilen kurumadde değerinin elde edilebilmesi için yağı azaltılmış UF retentat'ında protein içeriği artırılmaktadır. Buda yapının sert olmasına neden olabilmektedir. Ayrıca PG ve Activa-SYG uygulanmış numunelerde protein değerleri daha fazladır. Bunun nedeni serum proteinlerinin yapıda tutularak peyniraltı suyuna geçmemiş olması ihtimalini getirmektedir. Nitekim peyniraltı suyu protein değerleri 3 ve 4 nolu örneklerde daha düşüktür (şekil 4.5). Protein değerindeki değişimler denemeler arasında ve olgunlaşma süresince istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P< 0,05$ ).

Kontrol grubu örnekleriyle (1 ve 2 numaralı) PG ve Activa-SYG ilave edilmiş örnekler (3 ve 4 numaralı) karşılaştırıldığında, 3 ve 4 nolu örneklerin verim değerlerinin önemli ölçüde arttırdığı gözlenmektedir. Benzer şekilde yapılan araştırmalarda, TG enziminin peynir örneklerinin verim değerlerinde artışa neden olduğu tespit edilmiştir [108]. Bunun nedeni, jel matriksindeki sıkı yapının daha yüksek miktarda protein ve su tutmasından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca protein-glutamiyaz enzim aktivitesi sonucu oluşan deamidasyon, proteinlerde negatif yüklü karboksil grupların sayısının artmasına ve proteinlerin hidrasyon yeteneği arttırmasına nedeni ile verimde artış görülmüş olabilir [98].

## 4.2. UF Peynir Örneklerinde Proteoliz Sonuçları

Üretilen UF beyaz peynirlerin olgunlaşma süresince ortalama suda çözümlü azotlu (SÇA) madde, %12 TCA'da çözümlü azotlu madde, peynirde toplam serbest amino asit, peyniraltı suyunda toplam serbest amino asit, peyniraltı suyu protein (%) değerleri Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5 'de verilmiştir.



**Şeki 4.1.** Peynir örneklerinin suda çözümlü azot (SÇA) bazında olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi. Sonuçlar toplam azot içinde % oran olarak verilmiştir

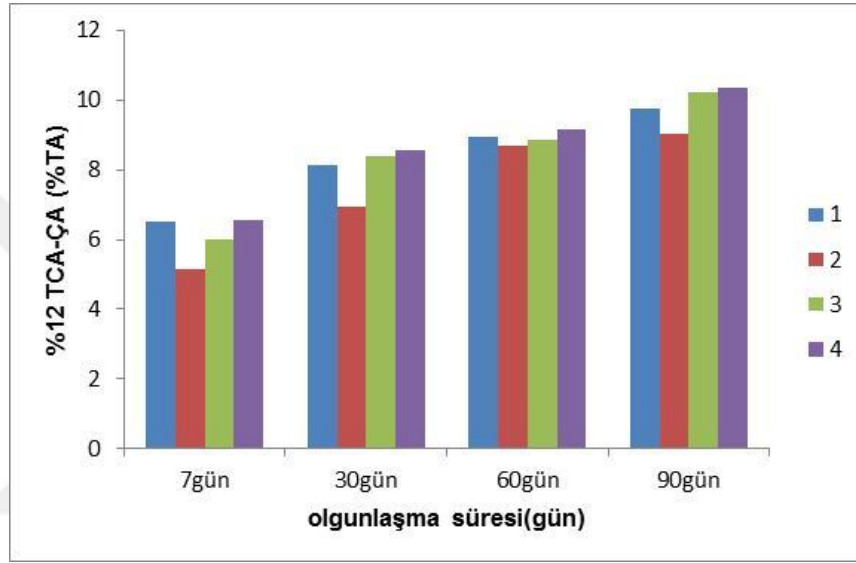
Suda çözümlü azotlu maddelerin miktarı, olgunlaşma süresince peynir örneklerinde birincil proteolizi göstermesi adına önemlidir. Çünkü SÇA miktarı proteoliz süresince peynir örneklerinin tekstür, tat ve aroma gelişiminde önemli rol oynamaktadır.

Şekil 4.1'de izleneceği gibi bütün peynir örnekleri olgunlaşma süresince artış göstermektedirler ve bunun nedeni kazeinin enzimler tarafından parçalanıp suda çözümlü maddeler haline gelmesinden kaynaklanmaktadır.

En yüksek olgunlaşma indeksi, 7. ve 90. günlerde sırasıyla 1 (%12,45-16,93) ve 2 (%13,58-14,32) numaralı örneklerle aittir. 3 (%12,18-12,95) ve 4 (%11,92-12,88) numaralı örneklerde değerler daha düşüktür ( $P<0,05$ ). Buna göre, peynir üretiminde kullanılan protein-glutaminaz enzimi birincil proteolizi sınırlandırdığı ya

da hidroliz ürünlerinin suya geçişini engellediği söylenebilir. Ozer vd.[121], yaptıkları çalışmada, olgunlaşma periyodu süresince suda çözünür azot konsantrasyonunun tüm peynir gruplarında arttığını, ancak TG uygulanan peynirlerdeki suda çözünür azot konsantrasyonunun kontrol peynirlerine göre daha düşük olduğu bildirilmiştir.

Peynir örneklerinin % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi Şekil 4.2' de verilmiştir.

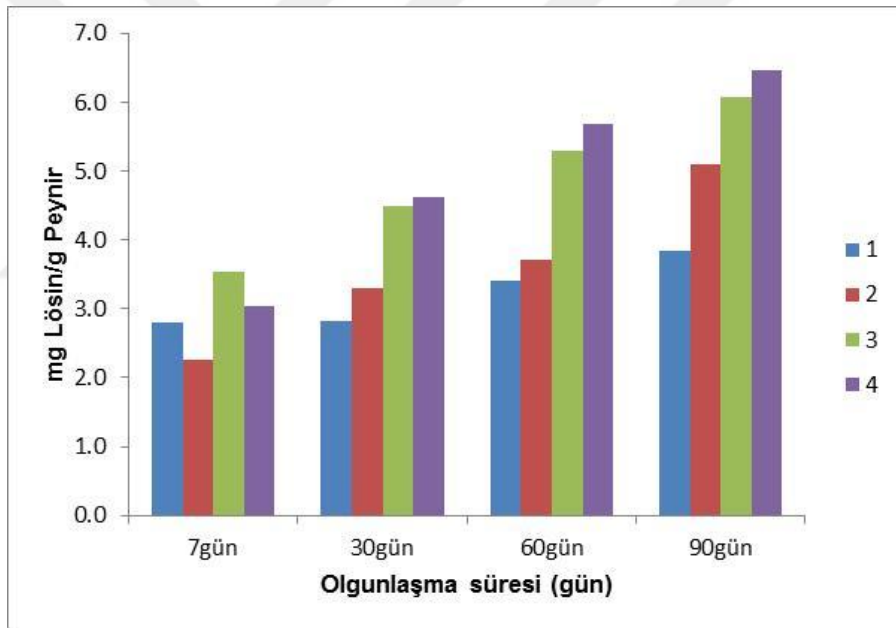


**Şeki 4.2.** Peynir örneklerinin % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerlerinin olgunlaşma süresince değişimi. Sonuçlar toplam azot içinde % oran olarak verilmiştir

Şekil 4.2' de görüldüğü gibi, olgunlaşma süresince tüm UF beyaz peynir örneklerinin % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerlerinde bir artış vardır ( $P<0,05$ ). Bu proteolizin beklenen bir sonucudur. % 12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeleri, protein hidrolizi sonucu ortaya çıkan kısa zincirli peptitlerden oluşmaktadır. Suda çözünür azotlu maddelerden farkları, peptit yapılarının daha küçük olmasıdır (2-22 sayıları arasındaki amino asitten oluşan peptidler). Ayrıca TCA-ÇA maddelerin 600-15000 Da arasındaki moleküler ağırlığa sahip olan peptitlerden oluştuğu bilinmektedir [123]. TCA' da çözünür azotlu madde bazında olgunlaşma indeksi, proteoliz hakkında önemli bilgi vermektedir. İlgili Şekilden de görüleceği üzere 3 ve 4 nolu örneklerde (%10,22 ve 10,37) TCA-ÇA değerleri yüksektir. Bunun nedeni kullanılan PG enziminin protein yapısında

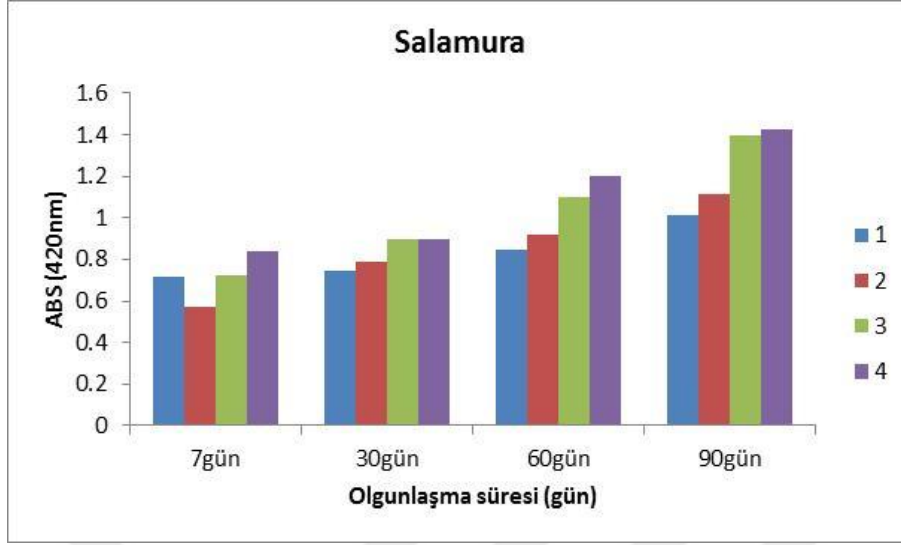
açılmalarına neden olarak peptidaz aktivitesi için daha uygun bir yapı oluşturmuş olması olabilir. Araştırmalarda, deamidasyon sonucu oluşan, negatif yüklü yeni karboksil gruplarının elektrostatik itmeleri sonucu, proteinlerin dördüncül yapıları değişebildiği ve bunun proteinlerin hidrofobik bölgelerinin açığa çıkmasına neden olabildiği bildirilmiştir [17, 19, 99].

Peynir ve peyniraltı suyu örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit konsantrasyonlarındaki değişimler Şekil 4.3 ve 4.4'de verilmiştir. Şekil 4.3 incelendiğinde, olgunlaşma süresince tüm peynir ve peyniraltı suyu örneklerinin toplam serbest amino asit değerleri artmıştır ( $P<0,05$ ). Genellikle olgunlaşma süresince starter bakterilerin, peynir örneklerinde amino asit birikiminden sorumlu oldukları bilinmektedir [124].



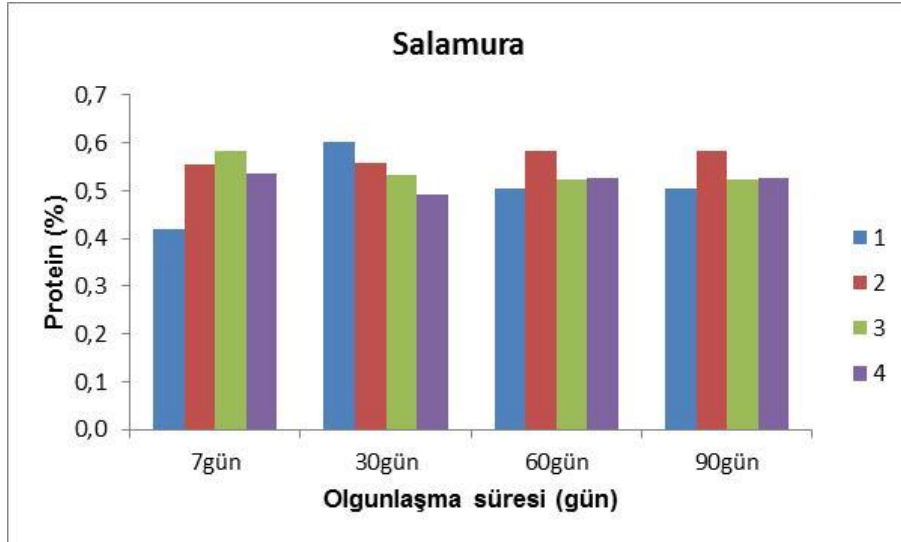
**Şekil 4.3** Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit konsantrasyonlarındaki değişim

Olgunlaşma periyodu süresince, peynir örneklerinde en yüksek toplam serbest amino asit konsantrasyonuna 3 ve 4 numaralı peynir örnekleri (6,07 ve 6,46 mg lösin/g peynir) sahiptir ( $P<0,05$ ). Bunu proteinlerin dördüncül yapılarının açılmış olmasına bağlayabiliriz. Böylece bakteriyel peptidazlar daha rahat hareket ederek protein hidrolizini artırmış olabilirler. Nitekim bu peynirlere ait peyniraltı suyundaki serbest amino asit içerikleri de yüksek çıkmıştır (Şekil 4.4).



**Şekil 4.4.** Peyniraltı suyu (salamura) örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest amino asit konsantrasyonlarındaki değişim

Bununla beraber peyniraltı suyundaki protein miktarının analizinde benzer bir sonuç bulunamamıştır (Şekil 4.5.). Bunun iki nedeni olabilir. Bunlardan birincisi protein tayininde kullanılan Kjeldahl yönteminin hassasiyetindeki düşüklük, diğeri de yapısal olarak büyük olan suda çözünür peptitlerin peyniraltı suyuna difüze edememesi ve sıkı jel yapıya sahip matrikste (3 ve 4 nolu örnekler) hapsolmesi olabilir.



**Şeki 4.5.** Olgunlaşma süresince peyniraltı suyundaki (salamura) protein değerleri

Şekil 4.5 incelendiğinde, olgunlaşma süresince 3 ve 4 numaralı örneklerin %protein değeri kontrol örneklere göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Olgunlaşmanın 30.gününde en yüksek değeri 1 numaralı örnekte (%0,60) gözlenmiş iken en düşük değer 4 numaralı örnekte (%0,49) gözlenmiştir. Ayrıca olgunlaşmanın son gününde (90. gün) en yüksek değer 2 numaralı örneğe (%0,58) ve en düşük değer ise 3 ve 4 numaralı örneğe (%0,52 ve %0,53) aittir.

### **4.3. Peynir Örneklerinin Üre-PAGE Elektroforez Analiz Sonuçları**

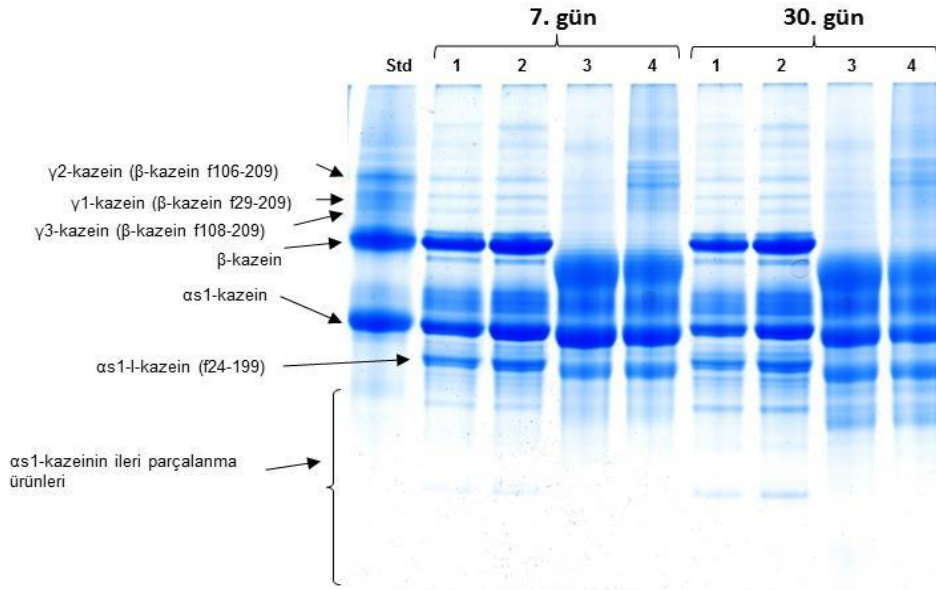
Daha önceden de belirtildiği gibi kazein fraksiyonları PG için ideal bir substrattır. Protein-glutaminazın kazein için spesifitesi;  $\alpha$ -kazein ve  $\beta$ -kazein için sırasıyla 19,12 ve 18,11  $\mu\text{mol.dak}^{-1}.\text{mg}^{-1}$  iken, serum proteinleri  $\alpha$ -laktoalbumin,  $\beta$ -laktoglobulin ve serum albümin için bu değer sırasıyla 0,836, 0,728 ve 0,009  $\mu\text{mol.dak}^{-1}.\text{mg}^{-1}$  dir [99]. Çizelge 4.2'de kazein fraksiyonlarına ait amino asit bileşim miktarları verilmiştir.

Yukarıdaki çizelgeden de görülebileceği gibi  $\beta$ -kazein'de 21 adet glutamin kalıntısı vardır. PG uygulamasıyla bunlar glutamik asite dönüşerek bu kazein fraksiyonun elektronegatifliğini değiştirmiş olabilir. Benzer nedenlerden dolayı  $\gamma$ -kazeinlerin ve kısmen  $\alpha$ -kazeinin elektronegatifliği değişmiş olabilir bu nedenle üre-PAGE elektroforetogramında bu kazein fraksiyonlarının yerleri standart (Na-kazeinat) ile kıyaslandığında kısmen değişmiş görülmektedir (Şekil 4.6, 4.7, 4.8).

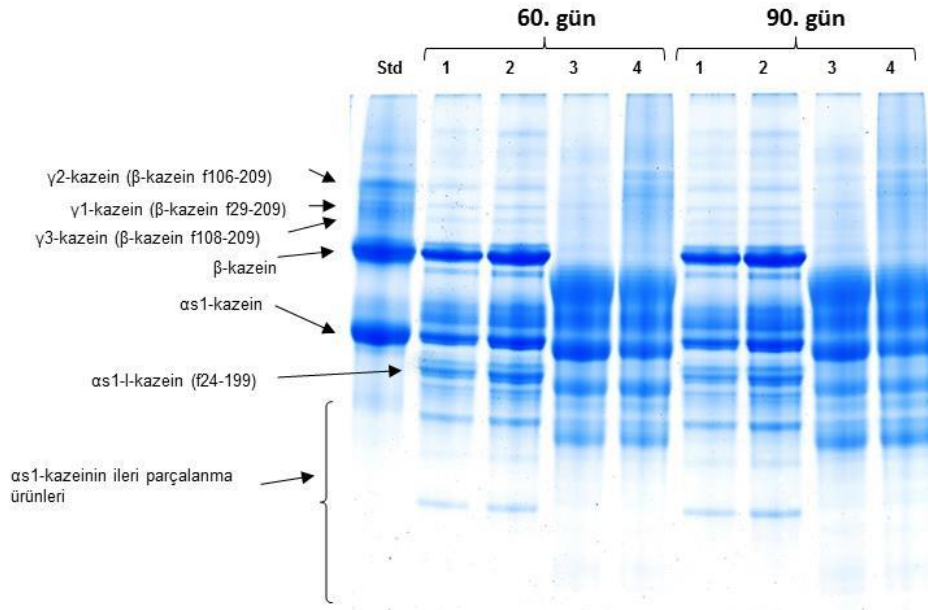
**Çizelge 4.2.** Süt proteinlerinde yer alan amino asitler [23]

	$\alpha_{s1}$ -KN	$\alpha_{s2}$ -KN	$\kappa$ -KN	$\beta$ -KN	$\gamma_1$ KN	$\gamma_2$ KN	$\gamma_3$ KN	$\beta$ -Lg-A	$\alpha$ -La-B
<b>Amino asit</b>									
Asp	7	4	4	4	4	2	2	11	9
Asn	8	14	7	5	3	1	1	5	12
Thr	5	15	14	9	8	4	4	8	7
Ser	8	6	12	11	10	7	7	7	7
SerP	8	11	1	5	1	0	0	0	0
Glu	24	25	12	18	11	4	4	16	8
Gln	15	15	14	21	21	11	11	9	5
Pro	17	10	20	35	34	21	21	8	2
Gly	9	2	2	5	4	2	2	3	6
Ala	9	8	15	5	5	2	2	14	3
½ Cys	0	2	2	0	0	0	0	5	8
Val	11	14	11	19	17	10	10	10	6
Met	5	4	2	6	6	4	4	4	1
Ile	11	11	13	10	7	3	3	10	8
Leu	17	13	8	22	19	14	14	22	13
Tyr	10	12	9	4	4	3	3	4	4
Phe	8	6	4	9	9	5	5	4	4
Trp	2	2	1	1	1	1	1	2	4
Lys	14	24	9	11	10	4	3	15	12
His	5	3	3	5	5	4	3	2	3
Arg	6	6	5	4	2	2	2	3	1
PyroGlu	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<b>Toplam amino asit</b>	199	207	169	209	181	104	102	162	123
MW	23,612	25,228	19,005	23,980	20,520	11,822	11,557	18,362	14,174
H $\Phi$	4.89	4.64	5.12	5.58	5.85	6.23	6.29	5.03	4.68

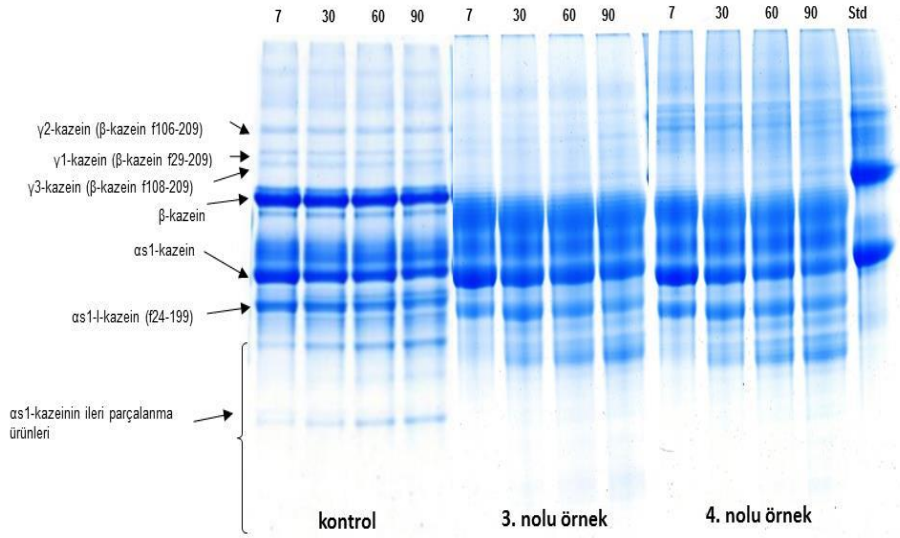
**KN:**Kazein, **MW:** Moleküler ağırlık (Da), **H $\Phi$ :** Hidrofobisite (kJoule/kalıntı), **Gln:**Glutamin (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>, yan zincir, Amid reaktif grup), **Glu:** Glutamik asit (-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>, Karboksil reaktif grup)



**Şekil 4.6.** Üretilen peynirlerde, olgunlaşmanın 7.ve 30. günlerine ait üre-PAGE elektroforetogramı (Std: Na-Kazeinat, 1: yağlı kontrol, 2: yağı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim) (Bantlar, Ardö ve Polychroniadou (1999)'e göre tanımlanmıştır) [125]



**Şekil 4.7.** Üretilen peynirlerde, olgunlaşmanın 60.ve 90. günlerine ait üre-PAGE elektroforetogramı (Std: Na-Kazeinat, 1: yağlı kontrol, 2: yağı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim) (Bantlar, Ardö ve Polychroniadou (1999)'e göre tanımlanmıştır) [125]



**Şekil 4.8.** Üretilen peynirlerde, olgunlaşma süresince meydana gelen proteolize ait üre-PAGE elektroforetogramı (Std: Na-Kazeinat, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim) (Bantlar, Ardö ve Polychroniadou (1999)'e göre tanımlanmıştır) [125]

Üre-PAGE elektroforetogramları incelendiğinde olgunlaşma süresince kazein fraksiyonlarındaki azalma görülmektedir. Peynir yapısında alıkonan kimozinin, üretimin yaklaşık ilk 24 saatinde  $\alpha_{s1}$ -kazeinin % 40'ını Phe23-Phe24 arasındaki peptit bağından hidrolize ederek,  $\alpha_{s1}$ -kazein (f1-23) ve  $\alpha_{s1-l}$ -kazein (f24-199) fraksiyonlarını oluşturmaktadır [126]. Depolama sürecinin ilerlemesiyle kazein fraksiyonlarının hidrolizi açıkça görülmektedir (Şekil 4.8).  $\alpha_{s1}$ -kazein fraksiyonunun ilk günden itibaren parçalanmaya başlayarak alt fraksiyonlarını oluşturmaktadır. Daha önce de açıklandığı gibi, bu peynirlerde beklenen bir durumdur [114]. Ayrıca, kimozin olgunlaşmanın ilk evresinde özellikle  $\alpha_{s1}$ -kazeini hidroliz eder ve bunun sonucu olarak meydana gelen peptitler ( $\alpha_{s1-l}$ -kazein,  $\alpha_{s1}$ -kazein ileri parçalanma ürünleri) peynirdeki elastik yapının yumuşamasında ve tekstürün gelişmesinde önemli rol oynarlar [41, 128].

Olgunlaşmanın ilerlemesiyle,  $\beta$ -kazein bandının üzerinde yer alan  $\gamma$ -kazein fraksiyonlarında da fark edilir bir değişim görülmemektedir (1 ve 2 nolu peynirler için). Bilindiği gibi kullanılan çiğ süt kalitesi ve içerdiği plazmin, sıcaklığa dirençli proteinazlar (psikrotrofik bakterilere ait proteinazlar ve doğal süt proteinazları) kullanılan enzim ve starter kültür çeşidi  $\beta$ -kazein hidrolizini etkilemektedir ve  $\gamma$ -kazein fraksiyonlarında artış meydana gelebilmektedir. Ancak, beyaz peynir yüksek tuz konsantrasyonu (% 5-10) ve düşük pH (~4,5-4,6) plazmin aktivitesinin

yetersizliğine bağılı olarak  $\beta$ -kazein hidrolizinin düşük düzeyde olmasına sebep olmuş olabilir [42].

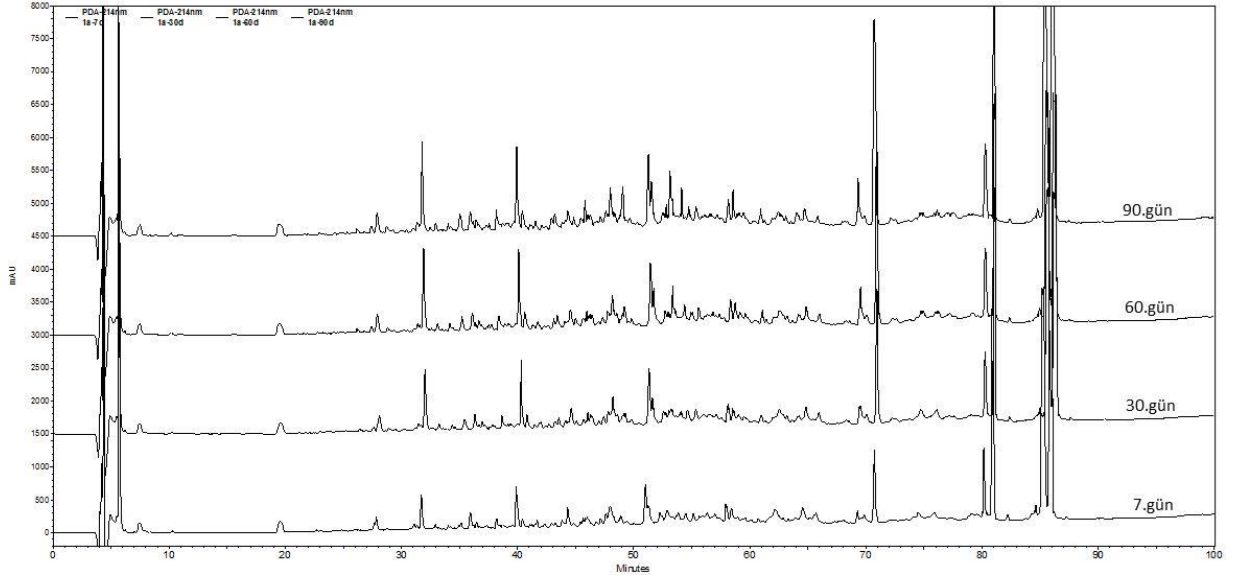
Yağı azaltılmış beyaz peynir üretiminde kullanılan PG ve Activa-SYG enzimlerinin olgunlaşma süresince proteoliz düzeyine etkisi topluca Şekil 4.8' de verilmiştir. Şekilden de görülebileceği gibi  $\beta$ -kazein fraksiyonu tam olarak belirgin değildir. Bunun olası nedeni yukarıda tartışılmıştır. Ancak 3 ve 4 nolu örneklerde  $\alpha_{s1}$ -kazein hidroliz açıkça görülmektedir. Bununla beraber kontrol ile kıyaslandığında bu hidroliz daha düşük düzeydedir.

#### **4.4. Peynir Örneklerinin HPLC ile Analiz Sonuçları**

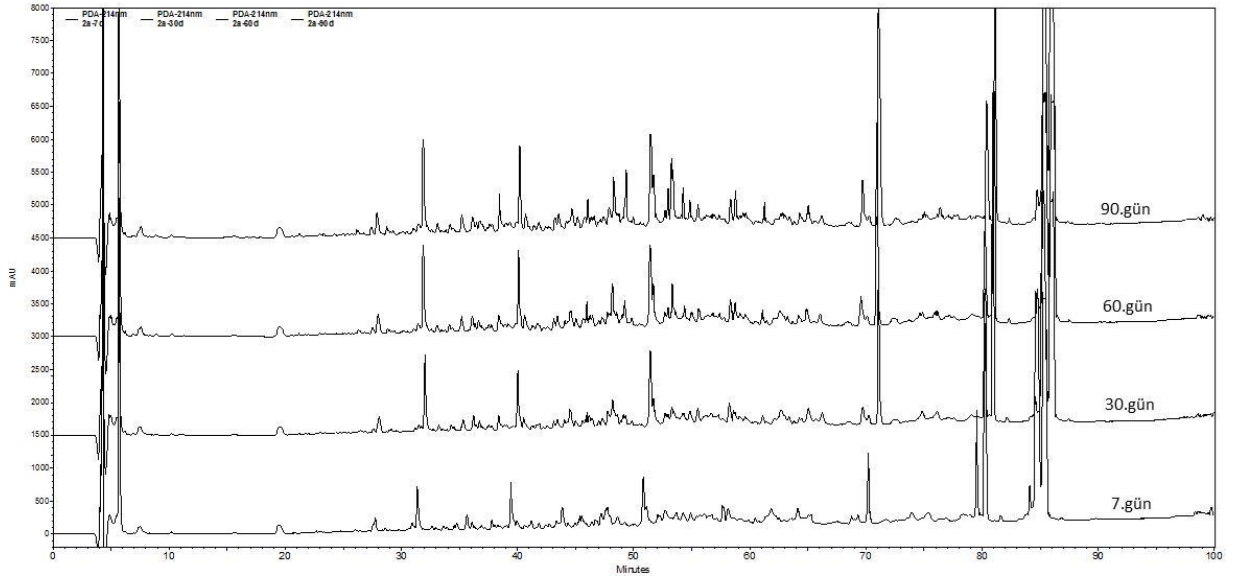
RP-HPLC tekniği, peynirde olgunlaşmayı tespit etmek için kullanılan bir yöntemdir. HPLC kromatogramlarında oluşan pik sayısı, yüksekliği ve oluştuğu bölge (hidrofilik, hidrofobik bölge) peynirlerin proteolizi hakkında önemli bilgiler vermektedir.

PG, Activa-SYG ve kontrol peynirlerinin suda çözünen peptit analizi RP-HPLC yöntemi ile yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.9, 4.10, 4.11, 4.12, 4.13 ve 4.14'de görülmektedir.

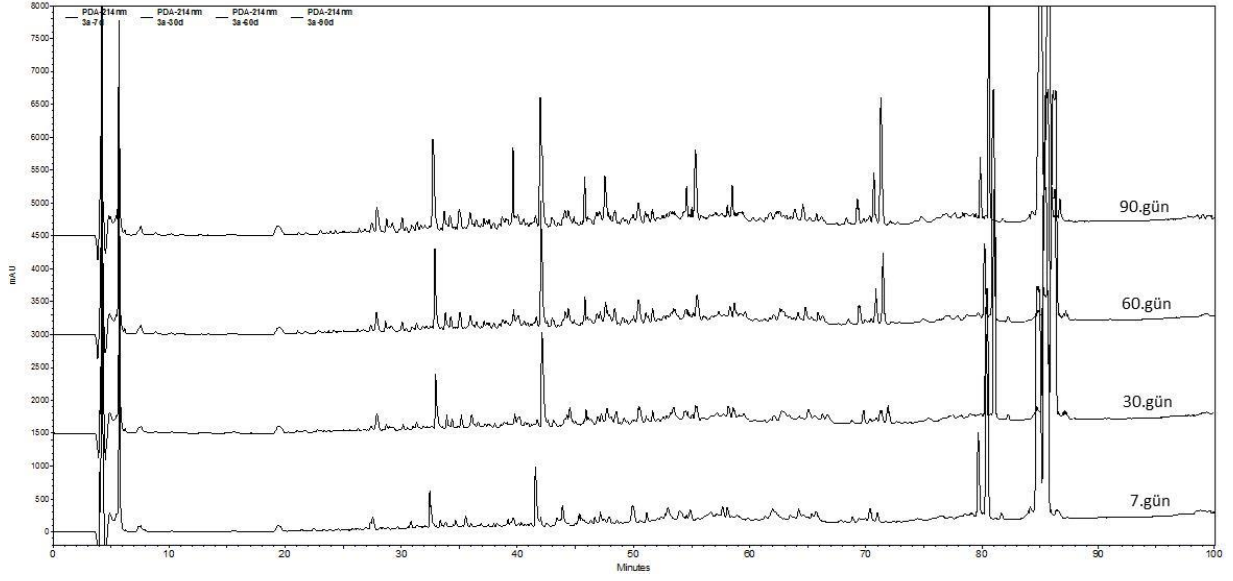
Kromatogramlarda yaklaşık, 19., 28. ve 35. dakikalarda gelen pikler, sırasıyla tirozin, fenilalanin ve triptofan amino asitlerine karşılık gelmektedir. 35. dakikaya kadar gelen pikler hidrofilik, 35. dakikadan sonra gelen pikler ise hidrofobik karakterdeki peptitlere aittir [114]. Yaklaşık 80. dakikaya kadar gelen pikler  $\alpha_{s1}$ - ve  $\beta$ -kazeinlerin degradasyonu sonucu oluşan peptitlere aittir. 80. dakikadan sonra gelen büyük pikler ise sırasıyla  $\alpha$ -laktalbumin ve  $\beta$ -laktoglobuline (A ve B genetik çeşitleri) karşılık gelmektedir.



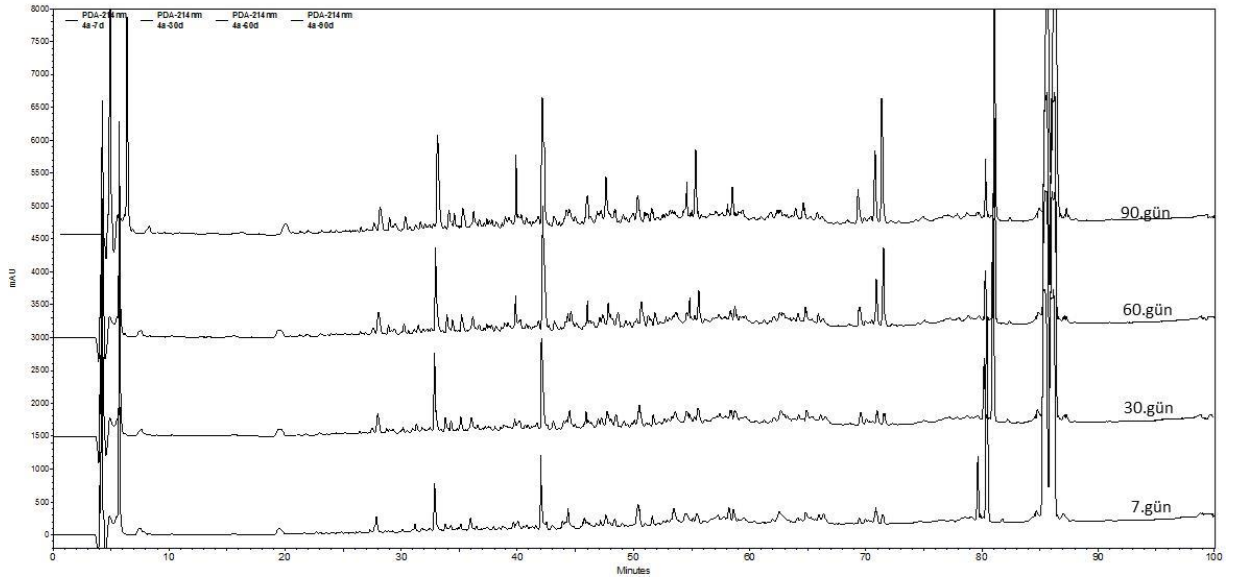
**Şekil 4.9.** Olgunlaşma süresince 1 nolu (yağlı kontrol) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (214 nm)



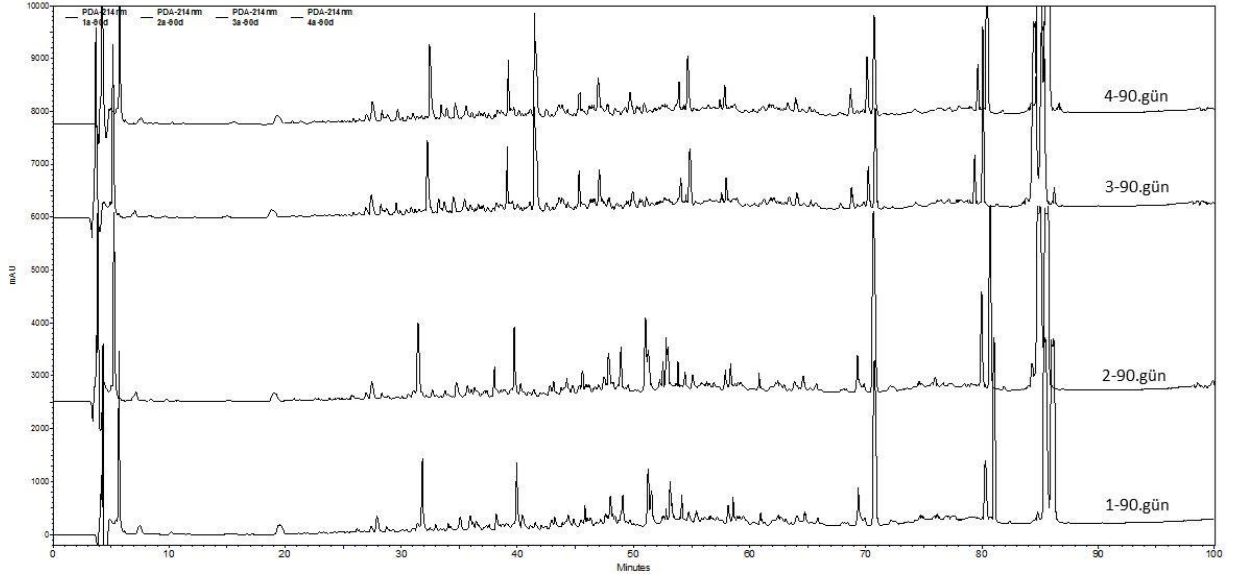
**Şekil 4.10.** Olgunlaşma süresince 2 nolu (yağı azaltılmış kontrol) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (214 nm)



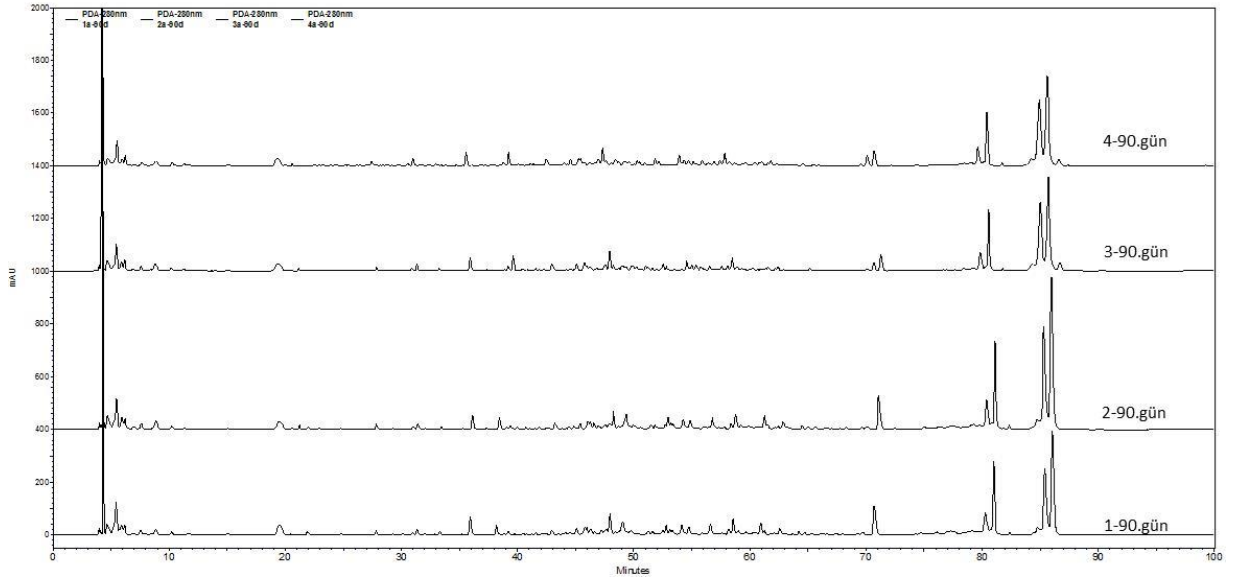
**Şekil 4.11.** Olgunlaşma süresince 3 nolu (PG ile üretim) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (214 nm)



**Şekil 4.12.** Olgunlaşma süresince 4 nolu (Activa-SYG ile üretim) peynir örneklerinde suda çözünür peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (214 nm)



**Şekil 4.13.** Olgunlaşmanın 90.gününde peynir örneklerinde (1, 2, 3 ve 4 nolu örnekler) suda çözümlü peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (214 nm)



**Şekil 4.14.** Olgunlaşmanın 90.gününde peynir örneklerinde (1, 2, 3 ve 4 nolu örnekler) suda çözümlü peptit profilindeki değişimleri gösteren C18 RP-HPLC kromatogramları (280 nm)

Her dört örneğe ait kromatogramlarda proteoliz ürünlerinin heterojen karışımına ait çok sayıda pik tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince, piklerin sayısında ve alanlarında artış olduğu görülmektedir. 90. güne ait (Şekil 4.13) toplu kromatogramlar incelendiğinde yağı azaltılmış kontrol peynirinin pik yüksekliği (özellikle hidrofobik bölgede) yağlı kontrol, PG ve Activa-SYG ile üretilen örneklere

göre daha yüksek olduğu görülmektedir. 3 ve 4 numaralı örneklerde belirgin şekilde pik sayısı ve alanları farklılık bulunmaktadır buda proteolizin enzim uygulamasından belirgin şekilde etkilendiğinin bir göstergesidir. PG uygulamasının proteinin yapısında oluşturduğu değişiklikler, gerek rennet ve gerekse diğer proteolitik enzimlerin proteinler ve peptitler üzerine farklı etki göstermesine neden olmuştur. Şekil 4.14. suda çözünür fraksiyonun 280nm elde edilen kromatogramıdır ve bu kromatogramda görüleceği üzere 80-90 dak. arasında gelen serum proteinlerin oranı 3 ve 4 nolu örneklerde daha azdır. Bu kullanılan enzimlerin serum proteinlerinin suda çözünür kısma geçmesini engellediğini ya da jel matrikste hapsolmalarına neden olduğunu göstermektedir.

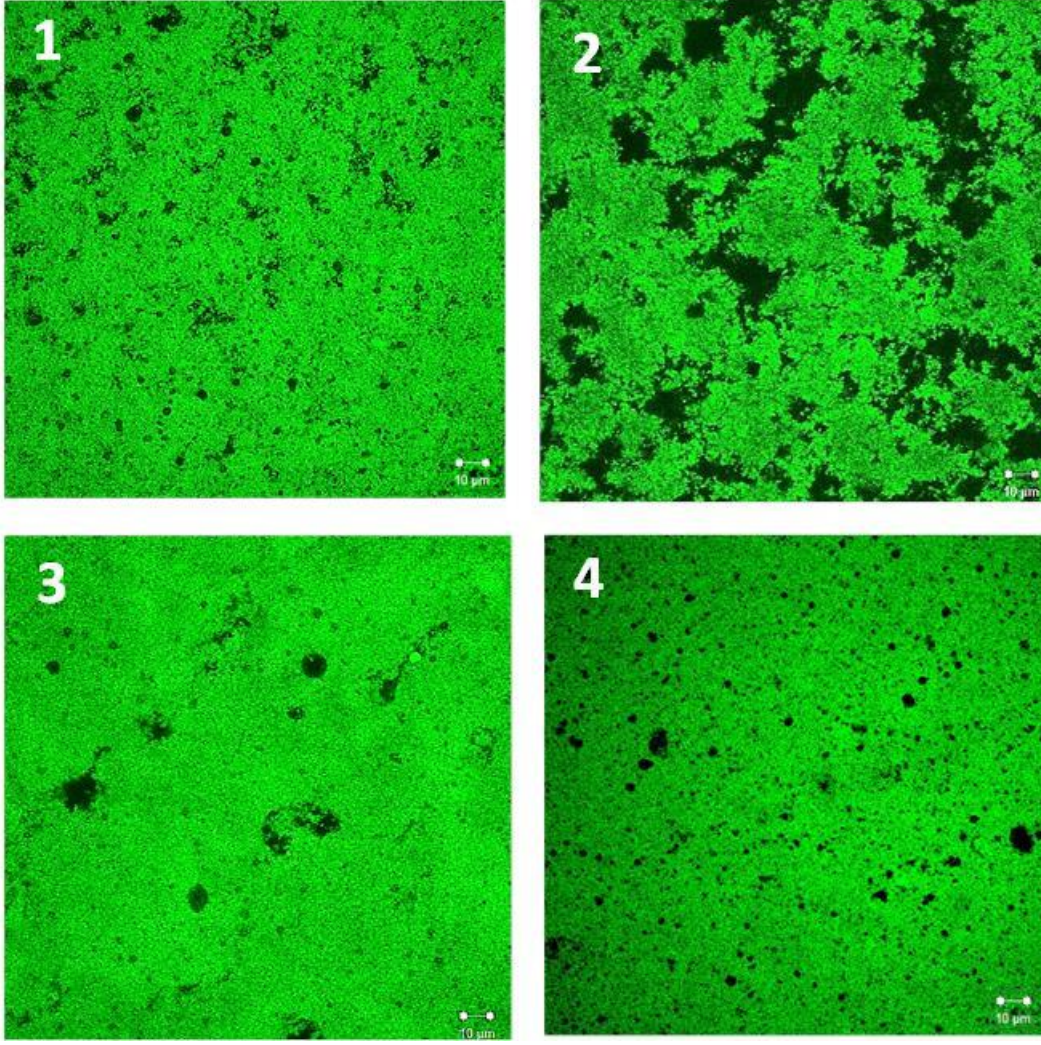
#### **4.5. Lazer Taramalı Konfokal Mikroskop (LTKM) ile Yapısal Görüntüleme Sonuçları**

Konfokal tarayıcı laser mikroskopisi (LTKM) kullanarak analizi yapılan UF beyaz peynir örneklerinin sonuçları Şekil 4.15'de verilmiştir.

Peynir örneklerinin yapısı konfokolda incelendiğinde, yapının yağ globüllerinden ve serum fazı içeren boşluklardan oluşması ve bazı yağ globüllerinin, protein matriks içinde yer aldığını açıkça görülmektedir. Peynir pıhtısında yağ globüllerinin varlığı kazeinlerin kontrolsüz birleşmesini, pıhtının oluşmasını ve sinerezisi sınırlandırabilmektedir.

Şekil 4.15'de, 1 nolu resim (yağlı kontrol) ile kıyaslandığında, 2 nolu resimde (yağı azaltılmış kontrol) büyük gözeneklerden oluşan kalın ve kaba bir ağ yapı görülmektedir. Bu yapı, az yağlı peynir örneklerinde sinerezis'in daha fazla olmasına neden olmaktadır. Bununla beraber gerek PG ve gerekse Activa-SYG kullanılarak üretilmiş peynirlerde (3 ve 4 nolu resimler) kontrole yakın bir yapı görünmektedir. Bu sonuçlar, yoğurtta PG kullanımıyla ilgili yapılan çalışma ile uyum içerisindedir [18].

Yapılan bir çalışmada, Emmental peynir yapısı süt pıhtılaşma ve olgunlaşma süresince LTKM ile incelenmiş ve süt pıhtılaşma süresinde yağ globüllerinin, kazein ağı gözeneklerinden daha küçük boyutlarda olduğu gözlenmiştir. Böylece, yağ globüllerinin kazein ağının parçalanmasında bir rol oynamadığı bildirilmiştir [129].



**Şekil 4.15.** Üretilen peynir örneklerinin konfokal mikroskopta yapısal görünümü (1: yağlı kontrol, 2: yağı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim)

PG ile üretilen peynirlerde (Şekil 4.15.3) daha yoğun ve az açıklığa sahip jel ağının olduğu görülmektedir. Bu nedeni kazein misellerindeki karboksil gruplarındaki artışın bir sonucu olabilir [18]. Bu durum yağı azaltılmış UF peynirlerinin daha yağlıymış gibi hissedilmesine yardımcı olmaktadır. Çalışmamızda bu sonuç duysal değerlendirme ile de desteklenmektedir (Çizelge 4.4.).

#### 4.6. Renk Analiz Sonuçları

Peyniraltı suyu örneklerinin renk analizleri sonucu elden edilen veriler Çizelge 4.3'de verilmiştir.

**Çizelge 4.3.** Peyniraltı suyu örneklerinin olgunlaşma süresince renk analiz sonuçları

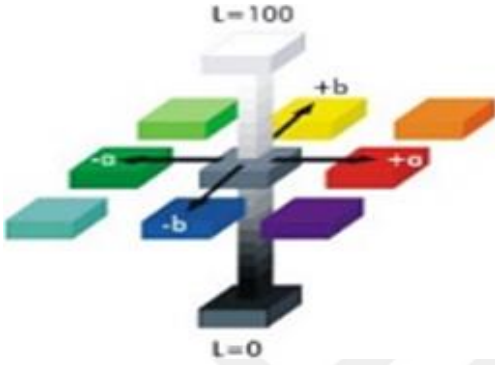
	Olg.süresi	1	2	3	4	$P_{enzim}$	$P_{olg.}$
$L^*$	7.gün	36,35	36,41	32,89	38,32	*	*
	30.gün	35,52	36,30	32,89	34,95	*	
	60.gün	35,90	41,82	36,14	37,30	*	
	90.gün	36,39	38,96	36,90	38,09	*	
$a^*$	7.gün	-0,33	-0,44	-0,14	-0,47	*	*
	30.gün	-0,18	-0,49	-0,25	-0,22	*	
	60.gün	-0,40	-1,12	-0,45	-0,61	*	
	90.gün	-0,23	-0,32	0,15	0,14	*	
$b^*$	7.gün	-3,05	-3,99	-1,82	-4,98	*	
	30.gün	-2,39	-4,17	-3,34	-3,98	*	
	60.gün	-2,81	-6,00	-3,82	-5,04	*	*
	90.gün	-2,08	-4,29	-1,58	-0,10	*	
$C$	7.gün	3,07	4,01	1,82	5,00	*	*
	30.gün	2,40	4,21	3,35	3,98	*	
	60.gün	2,83	6,10	3,85	5,08	*	
	90.gün	2,09	4,30	1,58	0,17	*	
$\Delta E$	7.gün	-	1,31	4,16	2,15	*	*
	30.gün	-	3,21	4,41	2,99	*	
	60.gün	-	6,77	6,12	4,65	*	
	90.gün	-	3,39	3,44	4,31	*	

$L$ : aydınlık,  $a$ : kırmızılık(+) ve yeşilik(-),  $b$ : sarılık(+) ve mavilik(-),  $C$ : Chroma değeri (renk yoğunluğu ve doygunluğu)  $C = \sqrt{\Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$ ,  $\Delta E$ : Toplam renk farklılığı (2 nolu örnek için hesaplamada yağlı UF kontrol peyniri (1 nolu peynir) esas alınırken 3 ve 4 numaralı örneklerde yağlı azaltılmış kontrol (2 nolu örnek) esas alınmıştır ( $\Delta E = \sqrt{\Delta L^{*2} + \Delta a^{*2} + \Delta b^{*2}}$ ), (1: yağlı kontrol, 2: yağlı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim)

UF beyaz peynir üretimde, UF retentat'a enzim, kültür ve tuz ilave edilmekte ve peynir hermetik olarak kapatılmaktadır. Pıhtılaşma ve olgunlaşma, tuz difüzyonu aynı kap içerisinde gerçekleşmekte, pıhtı baskılama ve kesme gibi işlemler

olmamaktadır. Dolayısı ile peynirdeki tüm biyokimyasal olaylar kendi kutusu içerisinde olmakta ve peyniraltı suyu kaybı olmamaktadır. Bu nedenle deneme parametrelerinin olası etkileri peynir sularında renk analizleri yapılarak ortaya konmaya çalışılmıştır.

$L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri üç boyutlu koordinat sistemi ile verilmekte ve bu koordinat sisteminde  $L^*$  değeri, aydınlıktan koyuluğa gidişi belirtirken,  $+a^*$  kırmızılığa,  $-a^*$  yeşillığe,  $+b^*$  sarılığa,  $-b^*$  ise maviliğe gidişi göstermektedir (Şekil 4.16) [130,131].



**Şekil 4.16.**  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  renk değerlerinin üç boyutlu şematik görünümü

Sütün koloidal kısmını oluşturan yağ globülleri ve kazein miselleri görünebilir spektrumda ışığı yansıtmasından dolayı peynirin beyaz rengini almasında başlıca rol almaktadır.  $L^*$  değeri peynirlerdeki beyazlığı ifade etmesi açısından önemlidir. Sonuçlar incelendiğinde, en yüksek  $L^*$  değeri (41,82) ile 60.günde yağlı kontrolde ve en düşük  $L^*$  değeri (32,89) ile 30. günde PG ile üretilmiş örneklerde görülmektedir. Olgunlaşma süresince yağlı kontrolün  $L^*$  değerinde önemli bir değişiklik gözlenmez iken yağı azaltılmış kontrol ve PG ile üretilmiş örneklerde olgunlaşma süresince bir artış görülmektedir.

Renk analizlerinde  $a^*$  değeri pozitif ve negatif koordinatları ile kırmızı ve yeşil renkleri ifade etmektedir. Pozitif değerler kırmızı rengin, negatif değerler yeşil rengin göstergesidir [132]. PG ve Activa SYG ile üretilmiş örneklerin  $a^*$  değerleri olgunlaşmanın 90 gününde, yağı azaltılmış kontrol peynirlere göre, pozitif sayı göstermişler ve böylece kırmızılık özellikleri artmıştır ancak bu örneklerin dışında tüm örneklerde yeşillik özelliği artış göstermiştir. Renk analizlerinde  $b^*$  değeri pozitif ve negatif koordinatları ile sarı ve mavi renkleri tanımlamaktadır. Pozitif değerler sarı rengin, negatif değerler mavi rengin göstergesidir [132]. Tüm peynir örneklerinin  $b^*$  değerleri sıfırın altında olduğu görülmektedir. Bunun anlamı, tüm

peynir örneklerinde mavilik özelliği gözlenmiştir ve en yüksek değer 60.günde yağı azaltılmış kontrolde ve en düşük değer 90.günde (-0,10) Activa SYG ile üretimi yapılmış peynirlerde görünmüştür.

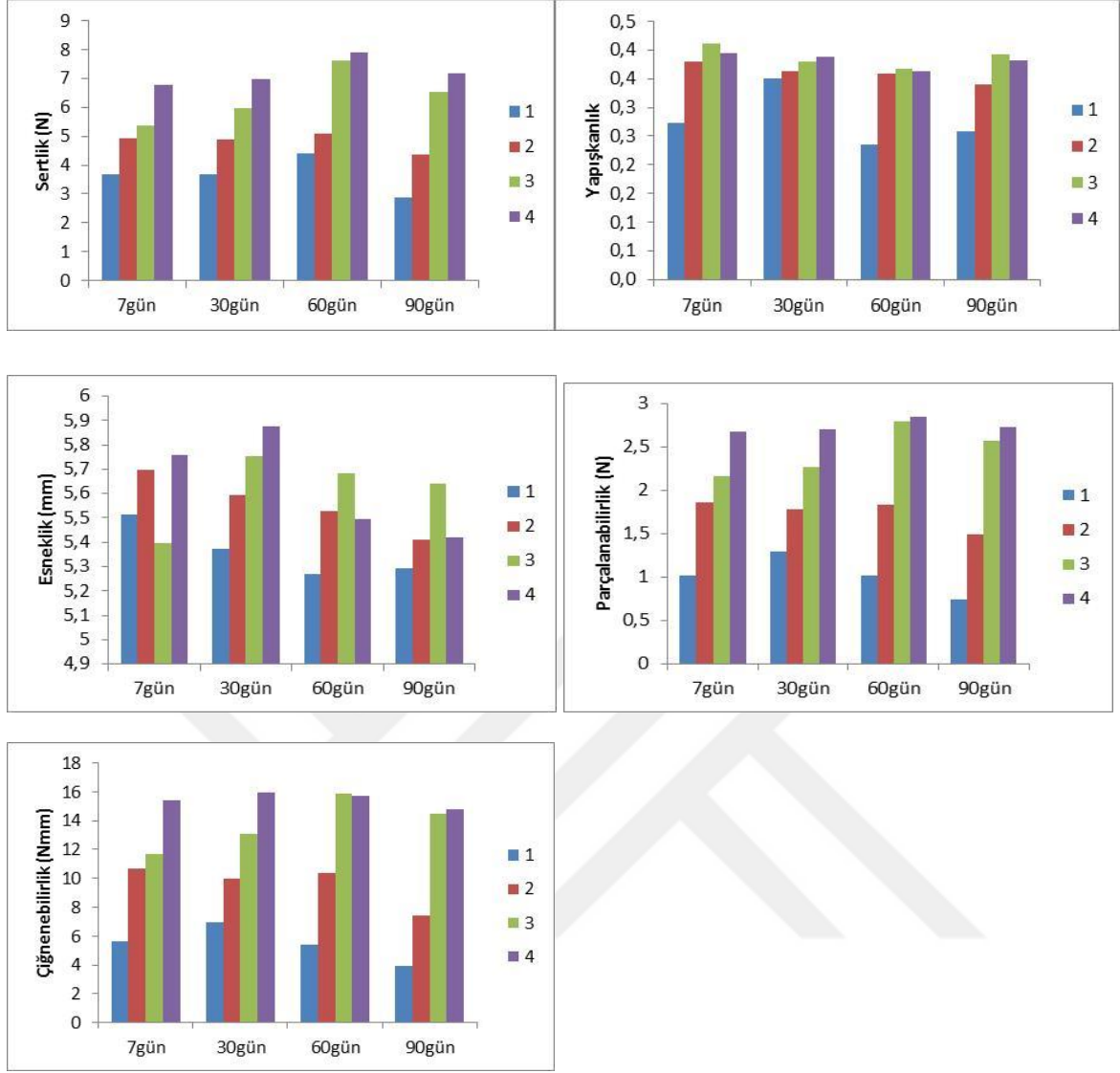
Peynir üretiminde proses parametrelerindeki değişimler renk değerini etkileyebilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada yüksek basınç etkisinin peynir renk değerleri üzerine etkisi araştırılmış ve 50MPa - 400MPa basınç uygulamasının  $L^*$  değerinde önemli bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak, 200MPa 15 dakika süresince yüksek basınç uygulanması peynirlerin  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde değişikliğe sebebiyet vermiştir. Özellikle 15 dakika 400MPa yüksek basınç uygulaması, peynir örneklerinin kontrol peynirlere göre  $a^*$  değerinde artışa ve  $b^*$  değeri ise azalmaya neden olmuştur. Buna bağlı olarak peynir örneklerinin yeşilik ve sarılık özellikleri artmıştır [133]. Bizim çalışmamızda da renk değerlerinin standart üretimden farklı bir proses uygulandığında sonuçlara önemli düzeyde etki ettiği görülmektedir ( $P<0,05$ ).

*Chroma* değeri incelendiğinde, en yüksek değer 60.günde yağı azaltılmış kontrolde gözlenir iken en düşük değer 90.günde Activa SYG ile üretilmiş peynirlerde görünmüştür. *Chroma* değerleri olgunlaşma süresince yağlı kontrolde fazla bir değişim göstermez iken bu değer olgunlaşma süresince PG ve Activa SYG ile üretilmiş peynirlerde azalmıştır.

Çizelge 4.3'de görüldüğü gibi en yüksek  $\Delta E$  değeri 60.günde (6,77) yağı azaltılmış kontrolde görünür iken en düşük değer aynı örnekte 7.günde (1,31) gözlenmiştir. Activa SYG ile üretilmiş peynirlerde olgunlaşma süresinin 7, 30 gününde ve 60, 90 gününde birbirine yakın  $\Delta E$  değerler gözlenmiştir. Ayrıca en yüksek  $\Delta E$  değerleri olgunlaşmanın 60.gününde sırayla 2, 3, 4 örneklerde gözlenmiştir.

#### **4.7. Peynir Örneklerinde Tekstür Analiz Sonuçları**

Değişik enzimler kullanarak üretimi yapılan ultrafiltre beyaz peynir örneklerinin tekstür değerleri Şekil 4.17'da verilmiştir. Peynirlerde tekstür gelişimi, öncelikle olgunlaşma sırasında  $\alpha_{s1}$ -kazein'in hidrolize olmasından kaynaklanmaktadır. Peynirde kazein ağı yapısında bulunan su, yapı üzerinde plastikleştirici bir etki yaratarak peynirin daha elastik ve daha az dağılan bir yapıya sahip olmasını sağlamaktadır [134].



**Şekil 4.17.** Üretilen beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince ortalama sertlik (hardness), yapışkanlık (cohesiveness), esneklik (springiness), parçalanabilirlik (Gumminess) ve çiğnenebilirlik (Chewiness) değerleri (1: yağlı kontrol, 2: yağ azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim)

Genellikle, yüksek asitlik, yüksek protein ve toplam kuru madde içeriği, peyniri daha sert ve daha zor deforme edilebilir yapmaktadır. PG ve Activa SYG enzimleri kullanarak üretilen UF beyaz peynir örneklerinin tekstür analiz sonuçları aşağıda görülmektedir.

Deneme peynirlerinde (3 ve 4 nolu) beklenenin aksine sertlik değerleri yüksek olarak tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince en yüksek sertlik 60. günde Activa-SYG ile üretilen örneklerde ve en düşük sertlik 90.günde yağlı kontrol’de gözlenmiştir. Ayrıca PG ve Activa-SYG ile üretilen peynirler yağ azaltılmış kontrol

ile kıyaslandığında daha yüksek bir sertlik göstermişlerdir. 4 nolu örnek tüm aylarda en fazla sertlik değerine sahiptir. Bunun nedeni, Activa-SYG'li enzim preparatının içinde PG yanında TG enziminin yer alması ve TG'nin protein networkünde çapraz bağlar oluşturarak yapının sıkılaşmasına neden olmasıdır. Bunun haricinde deamidasyon kazein miselinin yüzey alanını artırmış olabilir. Buda yüzeyde yağ globüllerinin daha sıkı absorpsiyonuna neden olabilir. Oluşan bu kuvvetli yağ-kazein ilişkisi daha sert bir yapı oluşmasına neden olmuş olabilir [98].

UF beyaz peynir örneklerine ait yapışkanlık (cohesiveness) değerleri Şekil 4.17'de verilmiştir. Yapışkanlık değerler incelendiğinde, en yüksek yapışkanlık değeri 7.günde PG ile üretilen peynir örneklerinde gözlenmektedir ayrıca en düşük değer 60.günde yağlı kontrol'de görünmektedir. Olgunlaşma süresince (30.gün hariç) yağı azaltılmış peynir örneklerinde bu değer yüksek bulunmuştur.

UF beyaz peynir örneklerinin esneklik (Springiness, mm) değerleri Şekil 4.17'de verilmiştir. Activa-SYG ile üretilen peynir örneklerinin olgunlaşma süresinin 7., ve 30 günlerinde PG ile örnekler en yüksek skorları almaktadır. Genel eğilim olgunlaşma süresince tüm örneklerde esneklik değeri azalmaktadır.

Tekstürel özelliklerin içinde önemli bir nitelik olarak değerlendirilen parçalanabilirlik (gumminess, N) ve çiğnenebilirlik (chewiness, Nmm) verileri Şekil 4.17'de verilmiştir. Görüldüğü gibi olgunlaşma süresince 3 ve 4 nolu peynir örneklerinin bu tekstürel değerleri yüksektir. Yağlı kontrolle kıyaslandığında yağı azaltılmış kontrol peynirlerinde de bu değerlerin yüksek olduğu görülmektedir. Süt yağı tekstürel değerlerde önemli etkiye sahiptir, yapıdan yağın kısmen de olsa uzaklaştırılması bu değerleri ciddi ölçüde etkilemektedir. İlave edilen enzim preparatları tekstürel açıdan bu değerlere, yağlı kontrole yaklaşmak adına bir etki göstermemiştir.

#### 4.8. Peynir Örneklerinde Duyusal Değerlendirmeler

Üretimi yapılan UF beyaz peynir örneklerine ait görünüş, yapı, koku, tat, ve toplam kabul edilebilirlik ve acılık özelliklerine ilişkin duyusal değerlendirme sonuçları Çizelge 4.4 ve Çizelge 4.5’de verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince duyusal analiz sonuçları

Duyusal özellik	Olg.süresi	1	2	3	4	$P_{enzim}$	$P_{olg.}$
Görünüş	7.gün	9,0	9,0	9,5	8,5	*	*
	30.gün	9,5	9,5	9,5	9,0		
	60.gün	10,0	9,0	8,5	8,5		
	90.gün	9,5	9,5	9,0	9,0	*	
Yapı	7.gün	10,0	8,5	8,5	8,0		*
	30.gün	10,0	8,0	9,0	9,0	*	
	60.gün	10,0	8,5	9,0	9,0	*	
	90.gün	10,0	8,0	7,5	7,5	*	
Koku	7.gün	10,0	10,0	10,0	10,0		*
	30.gün	9,0	9,0	9,5	9,0		
	60.gün	10,0	9,5	10,0	10,0		
	90.gün	9,0	8,0	9,0	9,0	*	
Tat	7.gün	10,0	8,0	8,5	8,0		*
	30.gün	10,0	8,0	9,0	9,0	*	
	60.gün	10,0	7,5	9,0	8,5	*	
	90.gün	8,0	5,0	7,0	7,0	*	

1: yağlı kontrol, 2: yağı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim,  $P_{enzim}$ : Enzim uygulamasının istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde),  $P_{olg.}$ : Olgunlaşma süresince görülen değişimlerin istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde önemli). İstatistiksel açıdan 2, 3 ve 4 nolu örnekler kendi aralarında kıyaslanırken, olgunlaşma süresinin etkisi tüm örnekler değerlendirilmiştir. (1: yağlı kontrol, 2: yağı azaltılmış kontrol, 3: PG ile üretim, 4: Activa-SYG ile üretim)

Çizelge 4.4’ de görüldüğü gibi, genellikle örnekler arasında görünüş açısından önemli bir farklılık gözlenmemektedir. Olgunlaşmanın 7. gününde en yüksek görünüş değeri 3 numaralı örnek alırken, en düşük görünüş değeri 3 ve 4 numaralı örneklerde gözlenmiştir. PG ve Activa-SYG kullanarak üretilmiş beyaz peynir örneklerinin yapı değerleri incelendiğinde, olgunlaşma süresince 1 numaralı örneklerinin yapı değerlerinde hiç bir farklılık gözlenmez iken 3 ve 4 numaralı örneklerde olgunlaşmanın 90.gününde bir düşüş tespit edilmiştir. 3 ve 4 nolu

örnekler genelde sert bulunmuştur. İstatistiksel açıdan bu değişimler önemli bulunmuştur ( $P<0,05$ ).

Çizelge 4.4'de olgunlaşma süresince beyaz peynir örneklerinin koku değerleri incelendiğinde, genellikle örnekler arasında koku açısından belirgin bir farklılık görülmemektedir. Bununla beraber en düşük değer 2 numaralı örnekte tespit edilmiştir. Bu örnekte asidik koku ön plana çıkmaktadır.

Tat açısından örnekler incelendiğinde, tüm peynir örnekleri olgunlaşmanın son gününde düşüş göstermektedirler. Ancak en düşük değer 2 numaralı örnekte görülmektedir. Yağı azaltılmış kontrole kıyaslandığında 3 ve 4 nolu örneklerin tat açısından daha beğenildiği tespit edilmiştir. Ayrıca bu peynirlerde olgunlaşmanın hiçbir evresinde acılık tespit edilmezken 1 ve 2 nolu örneklerde olgunlaşmanın 90.gününde belirgin acılık tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

**Çizelge 4.5.** Peynir örneklerinin olgunlaşma süresince duyu analizi sonuçları

Duyusal							
Özellik	Olg.süresi	1	2	3	4	$P_{enzim}$	$P_{olg.}$
<b>Toplam Kabul</b>	7.gün	5,0	4,0	4,0	4,0		*
<b>Edilebilirlik</b>	30.gün	5,0	4,0	5,0	4,0	*	
	60.gün	5,0	3,5	4,0	4,0	*	
	90.gün	4,0	2,0	3,5	3,5	*	
<b>Acılık</b>	7.gün	0,0	0,0	0,0	0,0		*
	30.gün	0,0	0,0	0,0	0,0		
	60.gün	0,0	1,0	0,0	0,0	*	
	90.gün	2,0	3,0	0,0	0,0	*	

**1:** yağlı kontrol, **2:** yağı azaltılmış kontrol, **3:** PG ile üretim, **4:** Activa-SYG ile üretim,  $P_{enzim}$ : Enzim uygulamasının istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde),  $P_{olg.}$ : Olgunlaşma süresince görülen değişimlerin istatistiksel etkisi (\*:  $P<0,05$  düzeyinde önemli). İstatistiksel açıdan 2, 3 ve 4 nolu örnekler kendi aralarında kıyaslanırken, olgunlaşma süresinin etkisi tüm örnekler değerlendirilmiştir. (**1:** yağlı kontrol, **2:** yağı azaltılmış kontrol, **3:** PG ile üretim, **4:** Activa-SYG ile üretim)

## 5. SONUÇ

UF basınca dayalı membran filtrasyon işlemidir. UF peynirlerde, üretim tekniği gereği yapıdan peyniraltı suyu ayrılmamakta olup, bu peynirlerin nem içeriği (%65) diğer peynir türlerine göre daha yüksektir. Bununla birlikte, UF tipi beyaz peynirlerde yağ azaltılmasına bağlı olarak yapı ve aroma kusurları oluşabilmektedir (özellikle acılık). Protein-glutaminaz (PG) enzimi kullanılarak yağ azaltılmış bu peynirlerde olası kusurların önlenmesi ve kabul edilebilirlik düzeylerinin artırılması hedeflenmiştir. Bu nedenle çalışmada saf PG ve protein-glutaminaz-transglutaminaz (Activa-SYG) karışık enzim preparatı kullanımı ve bunun peynir örnekleri üzerine etkileri, olgunlaşma süresince (7., 15., 30., 90.) kimyasal, biyokimyasal, fiziksel ve duyu analizlerle belirlenmiştir.

Ön denemelerde çalışılacak ideal enzim konsantrasyonu olarak 0,5 U/g değeri tespit edilmiştir. Bu değer belirlenirken işin ekonomik boyutu da göz önüne alınmıştır. Endüstriyel ölçüde kullanımı için ideal olan fiyat/maliyet hesabının, üretimde karlılığı bozmayacak şekilde olmasıdır. Bu nedenle 0,5 U/g gerek maliyet ve gerekse yeterlilik açısından uygun bulunmuştur. Minyatür ölçekte gerçekleştirilen bu üretimin endüstriyel boyut taşınması durumunda, belirlenen bu değer biraz daha düşürülebileceği ön görülmektedir.

Deneme peynirlerinde, yağ azaltılmış ve yağlı kontrol peynirlerle kıyaslandığında verimlerinde belirgin artış tespit edilmiştir. Deneme peynirlerinde suda çözünür azotlu madde miktarı düşük bulunmuştur. Bununla beraber % 12'lik TCA'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi değerleri ve serbest amino asit değerleri yüksek bulunmuştur. HPLC analiz sonuçları, PG uygulanmış numunelerin hidrofobik bölgede daha az peptit içerdiğini göstermektedir.

Ayrıca, deneme peynirlerin tekstürel profili PG uygulamasından önemli düzeyde etkilenmiş ( $P<0,05$ ) ve kontrol peyniriyle karşılaştırıldığında, beklenen aksine, ortalama sertlik, yapışkanlık, parçalanabilirlik ve çiğnenebilirlik değerleri yüksek bulunmuştur.

Peyniraltı suyu renk sonuçları incelendiğinde, kontrol ve deneme peynirleri arasında önemli farklılıklar tespit edilmiştir. PG ve Activa-SYG ile üretilmiş örneklerin  $a^*$  değerleri olgunlaşmanın 90 gününde, yağsız kontrol peynirlerine göre, pozitif değer (kırmızılık) göstermiştir. Deneme peynirlerinde belirgin şekilde

renk farklılığı ( $\Delta E$ ) tespit edilmiştir. Ayrıca peynirlerde Konfokal Mikroskop ile yapısal görüntüleme yapılmış, PG uygulamasının peynirin jel networkünde gözenek boyutunu azalttığı ve daha yoğun ve yapışkan bir yapıya neden olduğu tespit edilmiştir.

Duyusal analizlerde, bazı önemli duyusal parametreler açısından deneme ve kontrol peynirleri arasında önemli farklılıkların olduğu gözlenmiştir. Düşük yağlı kontrol peynirleri ile kıyaslandığında deneme örneklerinin kabul edilebilirliğinin arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber olgunlaşmanın 90. gününde kontrol örneklerinde acılaşıma tespit edilirken deneme örneklerde acılık tespit edilmemiştir.

Sonuç olarak, PG ve Activa-SYG'nin, peynirlerde verim arttırması, acılaşımayı engellesi ve toplam kabul edilebilirliği iyileştirmesi gibi olumlu etkileri nedeniyle, UF peynir üretiminde kullanılabileceği ön görülmektedir. Ancak yapılan bu çalışmanın fabrika ortamında da yapılarak endüstriyel ölçüde kullanılabilirliğinin ve etkilerinin ortaya konmasında fayda bulunmaktadır.

## KAYNAKLAR

- [1] Anonymous, *Dünya ve Türkiye’de Süt Sektör İstatistikleri*, Ulusal Süt Konseyi, **2013**.
- [2] Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P., *Fundamentals of Cheese*, Science Aspen Publishers Inc., USA, **2000**.
- [3] Topçu, A., *Kaşar ve Beyaz Peynirlerde Acılaşmaya Yol Açan Peptidlerin Saptanması ve Acılaşmada Depolama Koşulları ile Starter Kültürlerinin Etkisinin İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2004**.
- [4] Anonymous, *Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği*, Gıda Tarım Ve Hayvancılık Bakanlığı, 29261(Tebliğ No: 2015/6), Ankara, **2015**.
- [5] Wishah,R., *Peynir Üretiminde Starter Kültürlere Ek Olarak Bazı Bakteri Suşlarının Kullanımı ve Bunun Peynir Özelliklerinde Etkisi*,Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [6] Mistry, V.V.,Cheese. *Membrane Processing Dairy and Beverage Applications*, (eds: Tamime, A.Y.), John Wiley & Sons Publication, UK, 176-192, **2013**.
- [7] Mistry, V.V., Maubois, J.L., Application of membrane separation technology to cheese production. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, (eds: Fox, P.F., McSweeney,P.L.H.,Cogan,T.M.,Guinee,T.P.), John Wiley & Sons Publication ,UK, 261–286, **2004**.
- [8] Karami, M., Ehsani, M.R. , Mousavi, S.M., Rezaei, K., Safari, M., Microstructural properties of fat during the accelerated ripening of ultrafiltered-feta cheese, *Food Chemistry*, 113, 424–434, **2009**.
- [9] Rhee, K.S., Davidson, T.L., Cross, H.R., Characteristics of pork products From swine fed a high monounsaturated fat diet, *Meat Science*, 27, 329-341, **1990**.
- [10] Mistry, V. V., Low fat cheese technology, *International Dairy Journal*, 11, 413-422, **2001**.
- [11] Koca, N., Metin, M., Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers, *International Dairy Journal*,14, 365-373, **2004**.
- [12] Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A.A., Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a  $\beta$ -glucan hydrocolloidal composite during storage, *Food Hydrocolloids*, 22,1291–1297, **2008**.
- [13] Arslan, S., Topcu, A., Saldamli, I., The effects of use of fat replacers in white cheese production on chemical and textural properties, *Milchwissenschaft - Milk Science International*, 65, 277-280, **2010**.
- [14] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Rahimi, J., Whey protein concentrate and gum tragamanth as fat replacers in non-fat yogurt; chemical, physical, and microstructural properties, *Journal of Dairy Science*, 91, 2545-2552, **2008**.
- [15] De Boer, R., Nooy. P.F.C., Low fat semi-hard cheese from ultra-filtered milk, *North European Dairy Journal*, 46, 52-61, **1980**.

- [16] Drake, M.A., Swanson. B.G., Reduced fat and low fat technology, A review, *Trends in Food Science and Technology*, 6, 366-369, **1995**.
- [17] Hamada, J.S., Deamidation of food proteins to improve functionality, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 283-292, **1994**.
- [18] Noriko, M., Keiichi, Y., Noriki, N., Kenji, S., Effect of enzymatic deamidation on the heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to gel properties, *Agricultural and Food Chemistry*, 61, 2205-2212, **2013**.
- [19] Miwa, N., Yokoyama, K., Wakabayashi, H., Nio, N., Effect of deamidation by protein-glutaminase on physicochemical and functional properties of skim milk, *International Dairy Journal*, 20, 393-399, **2010**.
- [20] Anonymous, *Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı Gıda Sanayi Özel İhtisas Komisyonu Raporu Süt ve Süt Ürünleri Sanayi Alt Komisyon Raporu*, No: DPT: 2636-OIK: 644, Ankara, **2001**.
- [21] Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., *Fundamentals of Cheese Science*, Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc, **2000**.
- [22] Home, D.S., Banks, J.M., Rennet-induced coagulation of milk. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, (eds: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee T.P.), Chapman and Hall, London, 261–285, **2004**.
- [23] Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Published by Blackie Academic & Professional an imprint of Thomson Science, London, **1998**.
- [24] Lucey, J.A., Cheese: Rennet-Induced Coagulation of Milk, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, Pages 579–584 , **2011**.
- [25] Mistry, V.V., Maubios, J.L., Application of membrane separation technology to cheese production. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (eds: Fox, P. F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P.), John Wiley & Sons Publication, UK, 261–285, **2004**.
- [26] Al-Otaibi, M., Wilbey, R.A., Effect of chymosin and salt reduction on the quality of ultrafiltrated white-salted cheese, *Journal of Dairy Research*, 72, 234–242, **2005**.
- [27] Smith, K., Membrane Processing dairy and beverage applications. *Development of Membrane Processes* (eds: Tamime, A.Y.), John Wiley & Sons Publication, UK, 3-14, **2013**.
- [28] Mistry, V.V., Membrane Processing in Cheese Manufacture, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, Pages 618-624, **2011**.
- [29] Mistry, V.V., Maubios, J. L., Application of membrane separation technology to cheese production. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (eds: Fox, P.F.), Chapman and Hall, London, 493–522, **1984**.
- [30] Jacobsen, M.K., Manufacture of cheese from ultrafiltered milk where a part of the concentration is carried out through syneresis, *North European Dairy Journal*, 2, 6-17, **1985**.
- [31] Chandan, R.C., Kilara, A., *Manufacturing Yogurt and Fermented Milks*, Second Edition, Wiley-Blackwell, UK, **2013**.

- [32] Wilkinson, M.G., Kilcawley, K.N., Fox, P.F. A survey of lipolytic and glycolytic end-products in commercial cheddar enzyme-modified cheese, *International Dairy Journal*, 84, 66-73, **2007**.
- [33] Fox, P.F., Guinne, T.P., Cogan, T. M., McSweeney, P.L.H., *Fundamental of Cheese Science*, Aspen Publishers, Gaithersburg, **1990**.
- [34] McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Metabolism of residual lactose and of lactate and citrate. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (eds: Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T.M., Guinee, T.P.), Chapman and Hall, London, 361-372, **2004**.
- [35] Sable, S., Cottenceau, G., Current knowledge of soft cheeses flavour and related compounds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4825-4836, **1999**.
- [36] McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J., Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: a review, *Lait*, 80, 293-324, **2000**.
- [37] Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese, *International Dairy Journal*, 13, 841–866, **2003**.
- [38] Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (eds: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T.P.), Chapman and Hall, London, 373-389, **2004**.
- [39] Upadhyay, V.K., McSweeney, P.L.H., Magboul, A., Fox, P.F., Proteolysis in cheese during ripening. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology* (eds: Fox, P. F., McSweeney, P, L, H., Cogan, T. M., and Guinee, T.P.), Chapman and Hall, London, 391-434, **2004**.
- [40] Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H., Indigenous proteolytic enzymes in milk. *Advanced dairy chemistry*, (eds: Fox, P.F., McSweeney, P.L.H.), Plenum Publishers, New York, 495-544, **2003**.
- [41] Sousa, M.J., Ardö, Y., McSweeney, P.L.H., Advances in the study of proteolysis during cheese ripening, *International Dairy Journal*, 11, 327-345, **2001**.
- [42] Bulat, T., *Beyaz Peynir Üretiminde Probiyotik Enterococcus Faecium'un ek Kültür Olarak Kullanımı ve Bunun Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyeli ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [43] Walstra, P., Jan, T.M., Tam, J., *Dairy Science and Technology*, Second Edition, Taylor and Francis Group, New York, **2006**.
- [44] Kavas, G., Oysun, G., Kink, O., Uysal, H. Effect of some fat replacers on chemical, physical and sensory attributes of low fat white pickled cheese, *Food Chemistry*, 88, 381-388, **2004**.
- [45] McMahan, D.J., Payne, M.C., Fife, R.L., Oberg, C.J., Use of fat replacers in low fat Mozzarella cheese, *Journal of Dairy Science*, 79, 1911–1921, **1996**.
- [46] Gwartney, E., Foegeding, E.A., Larik, D.K., The texture of commercial full fat and reduced fat cheese, *Journal of Food Science*, 67, 812-81, **2002**.

- [47] Lawrence, R.C., Creamer, L.K., Gilles, J., Texture development during cheese ripening, *Journal of Dairy Science*, 70, 1748-1760, **1987**.
- [48] Adhikari, K., H. Heyman, Huff, H.E., Textural characteristics of low fat, full fat and smoked cheeses: sensory and instrumental approaches, *Food Quality and Preference*, 14, 211-218, **2003**.
- [49] Banks, J.M., The technology of low fat cheese manufacture, *International Journal of Dairy Technology*, 57, 199-207, **2005**.
- [50] Bryant, A., Ustunol, Z., Steffe., J., Texture of cheddar cheese as influenced by fat reduction, *Journal of Food Science*, 60, 1216- 1219, **1995**.
- [51] Johnson, M.E., Kapoor, R., McMahon, D.J., McCoy, D.R., Narasimmon, R.J., Sodium and fat levels in natural and processed cheeses: scientific and technological aspects, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 252-267, **2009**.
- [52] Aryana, K.J., Haque., Z.U., Effect of commercial fat replacers on the microstructure of low fat cheddar cheese, *International Journal of Food Science and Technology*, 36, 169-177, **2001**.
- [53] Rahimi, J., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., Azaznia, S., Texture of low fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer, *Journal of Dairy Science*, 90, 4058-4070, **2007**.
- [54] Banks, J. M., Brechany, E., & Christie, W.W., The production of low fat Cheddar type cheeses, *Journal of the Society of Dairy Technology*, 42, 6-9, **1989**.
- [55] Dabour, N., Kheadr, E., Benhamou N., Fliss, I., & LaPointe. G., Improvement of texture and structure of reduced-fat cheddar cheese by exopolysaccharide-producing lactococci, *Journal of Dairy Science*, 89, 95-110, **2006**.
- [56] Mistry, V. V., Low fat cheese technology, *International Dairy Journal*, 11, 413-422, **2001**.
- [57] De Boer, R., Nooy. P.F.C., Low fat semi-hard cheese from ultrafiltered milk, *North European Dairy Journal*, 46, 52-61, **1980**.
- [58] Drake, M.A., Swanson. B.G., Reduced fat and low fat technology- A review, *Trends in Food Science and Technology*, 6, 366-369, **1995**.
- [59] McGregor, J.U., White, C.H., Effect of enzyme treatment and ultra-filtration on the quality of low fat cheddar cheese, *Journal of Dairy Science*, 73, 571-578, **1990**.
- [60] Metzger, L.E., Mistry, V. V. A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat cheddar cheese: Manufacture, composition and yield, *Journal of Dairy Science*, 77, 3506-3515, **1994**.
- [61] Metzger, L.E., Mistry, V.V., A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reduced fat cheddar cheese: Microstructure, fat globule distribution and free oil, *Journal of Dairy Science*, 78, 1883-1895, **1995**.

- [62] Guinee, T.P., Auty, M.A.E., Fenelon, M.A., The effect of fat content on the rheology, microstructure and heat-induced functional characteristics of cheddar cheese, *International Dairy Journal*, 10, 277-288, **2000**.
- [63] Dabour, N., Kheadr, E., Benhamou, N., Fliss, I., LaPointe, G., Improvement of texture and structure of reduced-fat cheddar cheese by exopolysaccharide-producing lactococci, *Journal of Dairy Science*, 89, 95-110, **2006**.
- [64] Emmons, D.B., Kalab, M., Larmond, E., Lowrie, R.J., Milk gel structure: Texture and microstructure in cheddar cheese made from whole milk and from homogenized low fat milk, *Journal of Texture Studies*, 11, 15-34, **1980**.
- [65] Kashiwagi, T., Yokoyama, K., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matsui, H., et al., Crystal structure of microbial transglutaminase from *Streptoverticillium mobaraense*, *the Journal of Biological Chemistry*, 277, 44252–44260, **2002**.
- [66] Seguro, K., Nio, N., Motoki, M., Some characteristics of a microbial protein cross-linking enzyme. *Transglutaminase Macromolecular Interactions in Food Technology*, (eds: Kato, A., Creamer, L.K., Pearce, J.), Washington, DC: American Chemical Society, 271-280, **1996**.
- [67] DeGóes-Favoni, S., Bueno, F., Microbial transglutaminase: general characteristics and performance in food processing technology, *Food Biotechnology*, 28, 1-24, **2014**.
- [68] Güder Z.D., *The Effect Of Crosslinking Of Milk Proteins By Transglutaminase On Maillard Reaction*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2010**.
- [69] Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, M., Uchio, R., et al, Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganism, *Agricultural and Biological Chemistry*, 53, 2613–2617, **1989**.
- [70] Motoki, M., Seguro, K., Transglutaminase and its use for food processing, *Trends in Food Science and Technology*, 9, 204–210, **1998**.
- [71] Aeschlimann, D., Paulsson, M., Transglutaminase: Protein Cross-Linking Enzyme in Tissues and Body Fluids' in *Thromb. Haemost*, 71, 402-415, **1994**.
- [72] Nielsen, P.M., Reactions and potential industrial applications of transglutaminase, *Review of Literature and Patents' in Food Biotechnology*, 9, 119-156, **1995**.
- [73] Kuraishi, C., Yamazaki, K., Susa, Y., Transglutaminase: its utilization in the food industry", *Food Reviews International*, 17, 221-246, **2001**.
- [74] Nonaka, M., Matsuura, Y., and Motoki, M., Incorporation of Lysine dipeptides into  $\alpha^1$ -Casein by  $\text{Ca}^{2+}$  independent microbial transglutaminase, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60, 131-133, **1997**.
- [75] Şener L.G., *Beyaz Peynir Üretiminde Transglutaminaz Enzimi Kullanım Olanakları*, Yüksek Lisans Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu, **2012**.

- [76] Rastall, R., *Novel Enzyme Technology for Food Applications*, CRC Press, Boca Raton, FL., USA, **2007**.
- [77] Jaros, D., Rohm, H., Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology: Transglutaminase, *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)*, Pages 297-300, **2011**.
- [78] Bönisch, M. P., Tolkach, A., Kulozik, U., Inactivation of an indigenous transglutaminase inhibitor in milk serum by means of UHT-treatment and membrane separation techniques, *International Dairy Journal*, 16, 669-678, **2006**.
- [79] Kurth, L., Rogers, P.J., Transglutaminase catalyzed crosslinking of myosin to soya protein, casein and gluten, *Journal of Food Science*, 49, 573–576, **1984**.
- [80] Christensen, B.M., Sørensen, E.S., Højrup, P., Petersen, T.E., Rasmussen, L.K., Localization of potential transglutaminase cross-linking sites in bovine caseins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1943–1947, **1996**.
- [81] Schorch, C., Carrie, H., Norton, I.T., Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation, *International Dairy Journal*, 10, 529-539, **2000**.
- [82] De Jong, G. A.H., Koppelman, S.J., Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications, *Journal of Food Science*, 67, 2798–2806, **2002**.
- [83] Jaros, D., Partschfeld, C., Henle, T., Rohm, H., Transglutaminase in dairy products: Chemistry, physics, applications, *Journal of Texture Studies*, 37, 113–155, **2006**.
- [84] Færgemand, M., Qvist, K.B., Transglutaminase: Effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel, *Food Hydrocolloids*, 11, 287–292, **1997**.
- [85] Schorsch, C., Carrie, H., Norton, I.T., Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation, *International Dairy Journal*, 10, 529–539, **2000**.
- [86] Şanlı, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., Benli, M., Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt, *Food Hydrocolloids*, 25, 1477 – 1481, **2011**.
- [87] Ozer, B.H, Kirmacı, H.A., Oztekin, Ş., Hayaloğlu, A.A., Atamer, M., Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production, *International Dairy Journal*, 17, 199-207, **2007**.
- [88] Bonisch, M. P., Lauber, S., Kulozik, U., 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, **2004**.
- [89] Rodriguez-Nogales, J.M., Enhancement of transglutaminase induced protein cross-linking by preheat treatment of cow's milk: A statistical approach, *International Dairy Journal*, 16, 26–32, **2006**.

- [90] De Jong, G.A.H., Wijngaards, G., Koppelman, S.J., Transglutaminase inhibitor from milk, *Journal of Food Science*, 68, 820–825, **2003**.
- [91] Singh, H., Waungana, A., Influence of heat treatment of milk on cheesemaking properties, *International Dairy Journal*, 11, 543–551, **2001**.
- [92] Miwa, N., Kumazawa, Y., Nakagoshi, H., Sakaguchi, S., 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, **2002**.
- [93] Bönisch, M.P., Heidebach, T.C., Kulozik, U., Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein, *Food Hydrocolloids*, 22, 288-297, **2008**.
- [94] Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., Sener, L., Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production, *International Dairy Journal*, 33, 129-134, **2013**.
- [95] Terhi, A., Ilkka, H., Päivi, M., Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making, *International Dairy Journal*, 38, 179-182, **2013**.
- [96] Martin, P., Bonisc, Thomas, C., Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein, *Food Hydrocolloids*, 22 ,288–297, **2008**.
- [97] Robert, J., Scheuplein, Mizutani, A., Yamaguchi, S., Studies on the non-pathogenicity of *Chryseobacterium proteolyticum* and on the safety of the enzyme: Protein–glutaminase, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 49, 79–89, **2007**.
- [98] Miwa ,N., Nio, N., Sonomoto, K., Effect of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on the textural and microstructural properties of set yoghurt, *International Dairy Journal*, 36 ,1-5, **2014**.
- [99] Yamaguchi, S., Jeenes, D.J., Archer, D.B., Protein-glutaminase from *Chryseobacterium proteolyticum*, an enzyme that deamidates glutaminy residues in proteins. Purification, characterization and gene cloning, *European Journal of Biochemistry*, 268, 1410-1421, **2001**.
- [100] Gu, Y.S., Matsumura, Y., Yamaguchi, S., Mori, T., Action of protein-glutaminase on  $\alpha$ -lactalbumin in the native and molten globule states, *Agricultural and Food Chemistry* ,49, 5999–6005, **2001**.
- [101] Nandakumar, R., Yoshimune, K., Wakayama, M., Moriguchi, M., Microbial glutaminase: biochemistry, molecular approaches and applications in the food industry, *Journal of Molecular Catalysis*,23, 87–100, **2003**.
- [102] Noriko, M., Keiichi, Y., Noriki, N., Kenji, S., Effect of enzymatic deamidation on the heat-induced conformational changes in whey protein isolate and its relation to gel properties, *Agricultural and Food Chemistry*, 61,2205-2212, **2013**.
- [103] Liu,Y., Xianghong, Li., Zhou,X., Yu, J., Wang, F.,Wang, J., Effects of glutaminase deamidation on the structure and solubility of rice glutelin, *Food Science and Technology*, 44 ,2205-2210, **2011**.

- [104] Paraman, I., Hettiarachchy, N.S., Schaefer, C., Glycosylation and deamidation of rice endosperm protein for improved solubility and emulsifying properties, *Cereal Chemistry*, 84, 593-599, **2007**.
- [105] Yong, Y.H., Yamaguchi, S., Gu, Y.S., Mori, T., Matsumura, Y., Effects of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of alpha-zein, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 7094–7100, **2004**.
- [106] Yong, Y.H., Yamaguchi, S., Matsumura, Y., Effects of enzymatic deamidation by protein-glutaminase on structure and functional properties of wheat gluten, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6034–6040, **2006**.
- [107] Aaltonen, T., Huuonen, I., Myllärinen P., Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making, *International Dairy Journal*, 38, 179-182, **2014**.
- [108] Bönisch, M.P., Heidebach, T.C., Kulozik, U., Influence of transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein, *Food Hydrocolloids*, 22, 288-297, **2008**.
- [109] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 15th Ed., Association of Official Analysis Chemists: Arlington, USA, **1990**.
- [110] Bradley, R.L., Arnold, E., Barbano, D.M., Semerad, R.G., Smith, D.E., Vines, B.K., Milk and milk products standards. *Chemical and physical methods in Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, (eds: Robert T. Marshall), American Public Health Association, Washington, DC, 433-531, **1992**.
- [111] Anonymous, *T.S.E., Süt-Yağ tayini-Gerber metodu (Rutin metod)*, Türk Standartları Enstitüsü, TS- 8189, Ankara, **1990**.
- [112] Kuchroo, C.N., Fox, P.F., Fractionation of the water soluble nitrogen from cheddar cheese: chemical methods, *Milchwissenschaft*, 37, 76-88, **1982**.
- [113] Ardö, Y., Polychroniadou, A., *Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese*, COST 95, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, **1999**.
- [114] Topçu, A., Saldamlı İ., Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Turkish White Cheese made of pasteurized cows' milk, *International Journal of Food Properties*, 9, 665-678, **2006**.
- [115] Andrews, A.T.J., Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins, *Journal of Dairy Research*, 50, 45-55, **1983**.
- [116] Shalabi, S.I., Fox, P.F., Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods, *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11, 135-151, **1987**.
- [117] Blakesley, R.W., Boezi, J.A., A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G-250, *Analytical Biochemistry*, 82, 580–581, **1977**.
- [118] Tunick, Rheology of dairy foods that gel, stretch and fracture, *Journal of Dairy Science*, 83, 1892-1898, **2000**.

- [119] Kaya, E., *Beyaz Peynir Üretiminde Rennet Macunu Kullanımı ve Peynir Kalitesi Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [120] Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E., Alichanidis, E., Flavour enhancement of low-fat feta-type cheese using a commercial adjunct culture, *Food Chemistry*, 79, 193-198, **2002**.
- [121] Özer, B., Hayaloglu, A.A., Yaman, H., Gürsoy, A., Şener, L., Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production, *International Dairy Journal*, 33, 129-134, **2013**.
- [122] Guinee, T.P., Salting and the role of salt in cheese, *International Journal of Dairy Technology*, 57, 99-109, **2004**.
- [123] Ardö, Y., Evaluating proteolysis by analysing the N content of cheese fractions, *International Dairy Federation*, 4-9, **1999**.
- [124] Lynch, C. M., McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cogan, T. M., Drinan, F. D., Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora, *International Journal of Dairy Technology*, 77, 441-459, **1997**.
- [125] Ardö, Y., Polychroniadou, A., *Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese*. COST 95, Office for Official Publications of the European Communities, Luxembourg, **1999**.
- [126] Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Proteolysis in cheese during ripening, *Food Reviews International*, 12, 457-509, **1996**.
- [127] Topçu, A., Saldamlı İ., Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of turkish white cheese made of pasteurized cows' milk, *International Journal of Food Properties*, 9, 665-678, **2006**.
- [128] Fox, P.F., Law, J., McSweeney, P.L.H., Wallace, J., Biochemistry of cheese ripening. *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology*, (eds: Fox, P.F.), Chapman and Hall, London, 389-438, **1999**.
- [129] Van Vliet, T., Dentener-Kikkert, A., Influence of the composition of the milk fat globule membrane on the rheological properties of acid milk gels, *Netherlands Milk Dairy Journal*, 36, 261-265, **1982**.
- [130] Gould, A.W., Food Quality Assurance, *The AVI Publishing Company Inc. USA*, **1997**.
- [131] Krokida, M. K., Maroullis, Z.B., Kiranoudis, C.T., Marinos-Kouris, D., Effect of Pretreatment on Color of Dehydrated Products, *Drying Technology*, 18, 1239-1250, **2000**.
- [132] Voss, D.H., Relating colorimeter measurement of plant color to the royal horticultural society colour chart, *Hort science*, 27, 1256-1260, **1992**.
- [133] Koca, N., Balasubramaniam, N.M., Harper, W.J., High pressure effects on the microstructure, texture, and color of white-brined cheese, *Journal of Food Science*, 76, 399-404, **2011**.
- [134] Bachmann, H.P., Cheese analogues: a review, *International Dairy Journal*, 11, 505-515. **2001**.

## EKLER

### EK 1. Peynir örnekleri için duyuşal muayene değerlendirme puanları

DEğERLENDİRME KRİTERLERİ	PUAN
<b>DIŞ GÖRÜNÜM VE RENK</b>	
Kendine özgü düzgün parlak beyaz, homojen ve düzgün prizmatik görünümlü bozulmamış kalıp	10
Mat. Soluk beyaz renk ve kesit yüzeyinde birkaç delik ve gözenek	9
Homojen olmayan görünümlü	8
Bir örnek olmayan renk dağılımı	7*
Düğümlenmiş prizmatik görünümlü	6*
Parçalanmış çatlak kalıp, fazla sayıda delik ve gözenek, esmerimsi ve anormal renk, küflü görünümlü	≤ 5
<b>TAT</b>	
Kendine özgü tat	10
Maya tadı veya pişmiş tat	9
Tuzlu tat	8
Ekşimsi tat	7*
Tatlımsı veya yavan tat	6*
Metalik, küflü, acı, ransit veya amonyak tadı	≤ 5
<b>KOKU</b>	
Kendine özgü koku	10
Mayamsı koku	9
Ekşimsi koku	8
Küfümsü koku	7*
Yabancı, hayvansal koku, yem veya ot kokusu	≤ 6
<b>YAPI</b>	
Düğümlenmiş, pürüzsüz, lekesiz, homojen kesit, fazla sert veya fazla yumuşak olmayan	10
Kuru ve sert yapı	9
Dağılılabilen yapı	8
Lekeli kesit	7*
Kaygan yapı	6*
Kumlu, elastiki, yumuşak ve ıslak, yarık ve çatlak, erimiş yapı	≤ 5

**EK 2.** Peynir örneklerinde hedonoik değerlendirme için kullanılan değerlendirme puanları

<b>TOPLAM KABUL EDİLEBİLİRLİK</b>	
Çok beğendim	5
Tüketebilirim	4
Düzeltilmeli	3
Hiç beğenmedim	1-2

<b>ACILIK DERESESİ</b>	
Acılık yok	0
Çok az acı	1
Belirgin acılık	2
Çok acılık	3
Aşırı acılık	4

## Özgeçmiş

### Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Malek Mollazadeh  
Doğum Yeri : Marand / Iran  
Medeni Hali : Bekar  
E-posta : malekmollazadeh@yahoo.com  
Adresi : 5. Etap, Tunahan MH.İlgazlar SİT, ANAMUR AP, NO: 4/F D: 4,  
Eryeman, Etimesgut / Ankara

### Eğitim

Lise : Tabatabayi Lisesi / Urmia, Iran  
Lisans : Maku Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü  
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

### Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce (iyi), Türkçe (iyi), Farsça (Ana dil)

### İş Deneyimi

-

### Deneyim Alanları

-

### Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

-

### Tezden Üretilmiş Yayınlar

-

### Tezden Üretilmiş Tebliği ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

-