

**TERS OZMOZ TEKNOLOJİSİNİN BEYAZ PEYNİR
ÜRETİMİNDE KULLANIMI**

**UTILIZATION OF REVERSE OSMOSIS TECHNOLOGY
IN WHITE BRINED CHEESE PRODUCTION**

FUAT GÖKBEL

PROF. DR. ALİ TOPCU

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2023

ÖZET

TERS OZMOZ TEKNOLOJİSİNİN BEYAZ PEYNİR ÜRETİMİNDE KULLANIMI

Fuat GÖKBEL

Doktora, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali TOPCU

Eş Danışman: Doç Dr. Yalçın COŞKUNER

Temmuz 2023, 150 sayfa

Teknolojik gelişmeler ve ekonomik nedenler ile süt endüstrisinde membran filtrasyon sistemlerinin kullanımı son yıllarda artış göstermektedir. Özellikle peynir üretiminde yaygın olarak kullanılan sistemler mikrofiltrasyon ve ultrafiltrasyon olup ters ozmoz uygulamaları sınırlıdır. Bununla birlikte bu konuda araştırmaların ivme kazandığı görülmektedir. Bu çalışmanın amacı, ters ozmoz teknolojisi ile konsantre edilen sütlerin beyaz peynir üretimi için kullanılabilme potansiyelini incelemektir. Bu amaçla öncelikle çiğ sütlerde (1.0X) ve ters ozmoz ile konsantre edilen çiğ sütlerde (1.5X, 2.0X); temel bileşen, renk, viskozite, rennet ile koagülasyon süresi, partikül büyüklükleri ve zeta potansiyeli analizleri yapılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre ters ozmoz konsantre sütler kullanılarak beyaz peynir üretimi ön denemeleri yapılmış ve geleneksel peynir yöntemindeki gereken modifikasyonlar belirlenerek üretim reçetesi

oluşturulmuştur. Çalışmanın ikinci aşamasında bu sütler kullanılarak beyaz peynir üretilmiş ve peynirlerin olgunlaşma periyodu boyunca (7., 30., 60., ve 90. gün), mikrobiyolojik, kimyasal/biyokimyasal, mikroyapısal, tekstürel ve duyuşal özellikleri incelenmiştir. Ayrıca, peynirlerde verim hesaplamaları yapılmıştır.

Beklendiği şekilde konstrasyon işlemleri süt örneklerinde temel bileşim analiz sonuçlarını, viskozite ve renk değerlerini belirgin şekilde etkilemiştir. Çiğ sütte pH değerleri konstrasyon artışı ile azalmıştır. 1.0X çiğ sütte pH 6.72 iken, 1.5X ve 2.0X çiğ sütte sırasıyla 6.55 ve 6.50 ölçülmüştür. Starter aktivitesi 2.0X sütte olumsuz yönde etkilenmiş olmakla birlikte, karışık starter kültür seçimi ve inkübasyon süresinin artırılması ile bu olumsuzluğun üstesinden gelinebileceği tespit edilmiştir. Konstrasyon artışı ile renetleme sürelerinde belirgin bir artış tespit edilmiştir.

Peynir örneklerinde nem ayarlı verim değerleri 1.5X ve 2.0X sütlerden elde edilen peynirlerde yüksek bulunmuştur. Peynirlerde, laktokok ve laktobasil sayım sonuçları arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. Bileşim analizleri incelendiğinde 2.0X kodlu peynirlerde laktoz konstrasyonu belirgin şekilde yüksek bulunmuştur (kurumadde %4.30). Sütteki konstrasyon artışına paralel olarak üretilen peynirlerin kurumadde oranlarında artış tespit edilmiştir. Peynir örneklerinin mikroyapısal özellikleri incelenmiş, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve konfokal lazer taramalı mikroskopu (CLSM) görüntülerinde konsantre sütler ile üretilen peynirlerde gelişmiş protein ağıyla birlikte daha sıkı bir mikroyapı tespit edilmiştir. Kontrol grubu peynirlerde (1.0X) daha ileri seviyede proteoliz gerçekleştiği tespit edilmiştir. SDS elektroforetogramlarına göre 1.5X ve 2.0X peynirlerde yapıda kalan serum protein (β -laktoglobulin, α -laktalbumin) oranları kontrol peynirine göre daha az olduğu tespit edilmiştir. RP-HPLC peptit profiline uygulanan temel bileşen analizine (PCA) göre 2.0X konstrasyonu ile üretilen peynirler belirgin şekilde diğerlerinden ayrılmıştır. Ayrıca, çözümlü serum protein (α -laktalbumin, β -laktoglobulin) oranları 1.5X ve 2.0X peynirlerde belirgin şekilde fazla bulunmuştur.

1.0X ve 1.5X konsantre sütler ile üretilen peynirlerin toplam serbest yağ asidi konstrasyonu birbirine yakın bulunurken, 2.0X retentat ile üretilen peynirlerin toplam

serbest yağ asidi miktarı daha yüksek bulunmuştur. GC-MS-SPME yöntemi ile gerçekleştirilen uçucu bileşen analizi verilerine PCA uygulanmış ve olası farklılıklar ve farklılığa neden olan bileşenler tespit edilmiştir. PCA verilerine göre TO uygulaması ve olgunlaşma süresi uçucu bileşen profiline belirgin şekilde etki etmektedir. Tekstür profili analizi sonucunda, sertlik değerleri, 1.5X ve 2.0X peynirlerde daha yüksek bulunmuş olup bu sonuçlar duyuşal değerlendirme ile de desteklenmiştir. Duyusal açıdan 1.5X peynirler daha yüksek skorlar almıştır. 1.0X peynirlerde acılaşma kusuru, 2.0X peynirlerde ise hafif tatlılık algılanmıştır. Sonuç olarak; TO konsantre sütler kullanılarak salamura beyaz peynir yakın özelliklerde ürünler elde edilebileceği görülmüştür. Sağlayabileceği ekonomik avantajlar ve operasyonel verimlilik göz önüne alındığında beyaz peynir üretiminde TO teknolojisinin uygulanabileceği öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ters ozmoz, beyaz peynir, proteoliz, lipoliz, mikroyapı

ABSTRACT

UTILIZATION OF REVERSE OSMOSIS TECHNOLOGY IN WHITE BRINED CHEESE PRODUCTION

Fuat GÖKBEL

Doctor of Philosophy, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Ali TOPCU

Co- Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Yalçın COŞKUNER

July 2023, 150 pages

Due to technological developments and economic reasons, the use of membrane filtration systems in the dairy industry has been increasing in recent years. Especially in cheese production, microfiltration and ultrafiltration are widely used systems but reverse osmosis applications are limited. However, it is seen that research on this subject is gaining interest. The aim of this study was to investigate the potential of using milk concentrated by reverse osmosis technology in white brined cheese production. For this purpose, firstly, compositional, color measurement, viscosity, rennet coagulation time, particle size and zeta potential analyses were performed on raw milk (1.0X) and raw milk concentrated by reverse osmosis (1.5X, 2.0X). According to the results, white brined cheese production trials made by reverse osmosis concentrated milk and the necessary modifications in the traditional white brined cheese method were determined and production recipes were

prepared for actual production. In the second part of the study, white brined cheese was produced using these milks and microbiological, chemical/biochemical, microstructural, textural and sensory properties of the cheeses were analyzed during the ripening period (7th, 30th, 60th and 90th day). In addition, the yield calculation of the cheeses was performed.

As expected, the concentration of cheese milk by reverse osmosis significantly affected the cheese composition, viscosity and color values of the milk samples. The pH values in raw milk decreased with increasing concentration. While pH was 6.72 in 1.0X raw milk, it was 6.55 and 6.50 in 1.5X and 2.0X raw milk, respectively. Although the starter activity was negatively affected in 2.0X milk, it was determined that this negativity could be overcome by selecting mixed starter cultures and increasing the incubation time. There was a significant increase in the rennet clotting time with increasing concentration.

The moisture-adjusted yield values of cheese samples were higher in the cheeses produced by 1.5X and 2.0X milk. There was no significant difference between the results of lactococci and lactobacilli counts in the cheeses. The compositional results showed that lactose value was found to be significantly higher in 2.0X cheeses (4.30% in dry matter). In accordance with the increase in the concentration of the milk, an increase was detected in the dry matter ratios of the cheeses produced. Microstructures of cheese samples were analyzed, scanning electron microscopy (SEM) and confocal laser scanning microscopy (CLSM) images revealed a firmer structure with an improved protein network in the cheeses produced with concentrated milk. Proteolysis was more advanced level in the control group cheeses (1.0X). According to SDS electrophoretograms, the ratio of serum protein (α -lactalbumin and β -lactoglobulin) retained in the cheese structure was lower in 1.5X and 2.0X cheeses compared to control cheese. According to principal component analysis (PCA) applied to the RP-HPLC peptide profile, the cheeses produced with 2.0X concentrated milk were significantly different from the others. In addition, the soluble serum protein (α -lactalbumin and β -lactoglobulin) ratios were significantly higher in 1.5X and 2.0X cheeses.

While the total free fatty acid levels of the cheeses produced from 1.0X and 1.5X retentates were close to each other, the total free fatty acid content of the cheeses produced from 2.0X retentate was found higher. PCA was applied to the volatile component analysis data performed by GC-MS-SPME method and the components causing the differentiation were determined. According to PCA data, RO concentration and ripening time significantly affect the volatile component profile of cheeses. Hardness values were higher in 1.5X and 2.0X cheeses and these results were supported by sensory evaluation. In terms of sensory evaluation, 1.5X cheeses received higher scores. In addition, bitterness defect was detected in 1.0X cheeses, and mild sweetness was detected in 2.0X cheeses. As a result; it was observed that products with similar properties to brined white cheese can be obtained by using RO retentates. Considering the economic advantages and operational efficiency it can provide, it is foreseen that RO technology can be applied in white cheese production.

Keywords: Reverse osmosis, white brined cheese, proteolysis, lipolysis, microstructure

TEŞEKKÜR

Öncelikle, tez çalışmalarım boyunca benden desteğini, yardım ve bilgisini esirgemeyen ve doktora sürecimde bana bu çalışmayı başlatmam ve tamamlamam için gerekli tüm ortamı sağlayan değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali TOPCU'ya,

Doktora çalışmalarımda bana ışık tutan ve akademik kariyerimde her zaman desteği üzerinde hissettiğim değerli hocam ve tez en danışmanım Sayın Doç Dr. Yalçın COŞKUNER'e

Tez çalışması süresince engin bilgi ve tecrübeleri ile değerli katkılarından dolayı, Tez İzleme Komitesi üyeleri değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Barbaros ÖZER ve Sayın Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI'ya

İhtiyaç duyduğum her an bilgisini büyük bir özveri ile paylaşan değerli hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Tuğba BULAT 'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nazife Nur YAZĞAN'a,

Gerek laboratuvarıda birlikte çalıştığımız süreçte benden yardımlarını asla esirgemeyen, Sattar EGHBALIAN, Dilek KELGÖKMEN GÜLEÇ, Çiğdem ESMERTAŞ, Melisa YALÇIN TAŞLI, Esra ÜNVER ve tüm Dairy Research ekibine,

Araştırmam süresince bana karşı her zaman yardımsever bir şekilde destek olan tüm Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü ailesine,

Bu çalışma kapsamında kullandığım hammaddelerin teminini sağlayan ve her türlü destekleri için Bahçivan Gıda San. ve Tic A.Ş.'ye ve tüm personeline,

Bu tezi kendilerine ithaf ettiğim canım ailem Münevver GÖKBEL, Mehmet GÖKBEL, Didem GÖKBEL KEKLIKÖĞLU ve H. Özgür KEKLIKÖĞLU'na

Sonsuz Teşekkürler...

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FHD-2022-20373 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Beyaz Peynir	4
2.2. Peynir Üretiminde Verimlilik ve Ters Ozmoz	7
2.2.1. Ters Ozmoz Teknolojisi ile Konsantre Edilen Sütlerin Peynir Yapım Özelliklerine Etkisi.....	11
2.2.2. Ters Ozmoz Teknolojisi ile Konsantre Edilen Sütlerin Peynir Bileşenleri Üzerine Etkisi	15
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	22
3.1. Materyal	22
3.2. Metot	22
3.2.1. Sütün Konsantre Edilmesi.....	22
3.2.2. Peynir Üretimi	22
3.2.3. Süt Örneklerine Uygulanan Analizler	25
3.2.3.1. Temel Bileşen Analizleri ve pH.....	25
3.2.3.2. Mineral Analizi	26
3.2.3.3. Viskozite Ölçümü.....	26
3.2.3.4. Renk Analizi.....	27
3.2.3.5. Starter Aktivitesi	27
3.2.3.6. Rennet ile Koagülasyon Özelliği.....	28
3.2.3.7. Partikül Boyutu Ölçümleri	28
3.2.3.8. Zeta Potansiyeli Ölçümleri.....	28
3.2.4. Peynir Örneklerine Uygulanan Analizler	29

3.2.4.1. Mikrobiyolojik Analizler	29
3.2.4.2. Peynir Verimi ve Protein Geri Kazanımı.....	29
3.2.4.3. Temel Bileşim Analizleri.....	31
3.2.4.4. Mineral Analizi	31
3.2.4.5. Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) ile Mikroyapının İncelenmesi....	31
3.2.4.6. Konfokal Laser Taramalı Mikroskobu (CLSM) ile Mikroyapının İncelenmesi	32
3.2.4.7. Proteoliz Düzeyini Belirlemeye Yönelik Analizler	33
3.2.4.8. Serbest Yağ Asidi Ekstraksiyonu ve Analizi.....	36
3.2.4.9. Uçucu Bileşiklerin Analizi.....	37
3.2.4.10. Organik Asit ve Şeker Analizi	38
3.2.4.11. Tekstürel Analizler	38
3.2.4.12. Duyusal Değerlendirmeler	39
3.2.5. İstatistiksel Analizler	39
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	40
4.1. Sütlerde Yapılan Analiz Sonuçları	40
4.1.1. Temel Bileşen Analizleri, pH, Viskozite ve Mineral Analizleri.....	40
4.1.2. Renk Analizleri	44
4.1.3. Starter Aktivitesi	45
4.1.4. Rennet ile Koagülasyon Süresi	48
4.1.5. Partikül Boyut Dağılımı.....	49
4.1.6. Zeta Potansiyeli.....	53
4.2. Peynirlerde Yapılan Analiz Sonuçları	54
4.2.1. Mikrobiyolojik Analizler	54
4.2.2. Verim	55
4.2.3. Peynir Bileşim Analizleri.....	57
4.2.2.1. pH.....	61
4.2.2.2. Nem.....	62
4.2.2.3. Protein.....	63
4.2.2.4. Yağ.....	64
4.2.2.5. Tuz	65
4.2.2.6. Kül	66
4.2.2.7. Laktik Asit	67

4.2.2.8. Mineral	68
4.2.4. SEM Analizleri.....	70
4.2.5. CLSM Analizleri	74
4.2.6. Proteoliz Düzeyini Belirlemeye Yönelik Analizler	75
4.2.6.1. pH 4.6'da Çözünür Azot	75
4.2.6.2. %12'lik TCA'da Çözünür Azot	77
4.2.6.3. Toplam Serbest Aminoasit	79
4.2.6.4. RP-HPLC ile Peptit Profili	80
4.2.6.5. Üre-Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (Üre-PAGE).....	88
4.2.6.6. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE) .	90
4.2.7. Serbest Yağ Asitleri Analizi.....	92
4.2.8. Uçucu Bileşenlerin Analizi	94
4.2.9. Organik Asit ve Şeker Analizi	98
4.2.10. Tekstür Analizi	106
4.2.11. Duyusal Analiz	111
5. YORUM.....	114
6. KAYNAKLAR.....	121
EKLER	133
EK 1.1 – Peynir örnekleri için duyusal muayene değerlendirme puanları.....	133
EK 1.2 – Peynir örneklerine ait olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerindeki 1000X büyütmede SEM mikrografları.....	134
EK 1.3 – 1.5X TO peynir örneğinde 30.güne ait serbest yağ asidi GC kromatogramı	135
EK 1.4a – Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (asitler) analiz sonuçları ^a	136
EK 1.4b - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (esterler) analiz sonuçları ^a	138
EK 1.4c - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (ketonlar) analiz sonuçları ^a	139
EK 1.4d - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (aldehitler) analiz sonuçları ^a	141
EK 1.4e - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (alkoller) analiz sonuçları ^a	142
EK 1.4f - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (diğer aroma bileşenleri) analiz sonuçları ^a	144
EK 1.5 – Üretilen peynirlerde olgunlaşmanın 90. gününde SPME-GC-MS kromatogramları	146

EK 1.6 – 1.5X TO peynir örneğinde 90.güne ait organik asit ve şeker HPLC kromatogramları.....	147
EK 2 - Tezden Türetilmiş Bildiriler.....	148
EK 3 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	149
ÖZGEÇMİŞ	150

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Ultrafiltrasyon, mikrofiltrasyon ve ters ozmoz membran sistemlerinin çalışma prensiplerinin şekilsel gösterimi.....	11
Şekil 3.1. Beyaz peynir üretim akım şeması.....	24
Şekil 3.2. Peynir üretimine ait görseller.....	25
Şekil 3.3. SEM analizi için örnek hazırlanışı	32
Şekil 3.4. CLSM için örnek hazırlanışı	33
Şekil 4.1. Saf mezofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi	46
Şekil 4.2. Karışık mezofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi	47
Şekil 4.3. Saf termofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi	47
Şekil 4.4. Peynir üretiminde kullanılan karışık kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi	48
Şekil 4.5. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan konsantre sütlerin rennetleme süreleri	49
Şekil 4.6. 1.0X süte ait parçacık boyut dağılımı	50
Şekil 4.7. 2.0X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı	50
Şekil 4.8. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan 1.5X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı	51
Şekil 4.9. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan 2.0X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı	51
Şekil 4.10. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait laktokok sayım sonuçları	54
Şekil 4.11. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait laktobasil sayım sonuçları	55
Şekil 4.12. Olgunlaşma boyunca peynirlerdeki pH değişimi	62
Şekil 4.13. Olgunlaşma boyunca peynirlerin nem değerleri değişimi	63
Şekil 4.14. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumadde protein değerleri değişimi. 64	
Şekil 4.15. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumadde yağ değerleri değişimi	65
Şekil 4.16. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumadde bazında tuz değerleri değişimi	66
Şekil 4.17. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumadde kül değerleri değişimi	67

Şekil 4.18. Olgunlaşma boyunca peynirlerin titrasyon asitliği değeri değişimi	68
Şekil 4.19. Olgunlaşmanın 30.gününde örneklere ait 4000X (a, b ve c) ve 8000X (d, e ve f) büyütmedeki SEM görüntüleri: 1.0X (a ve d), 1.5X (b ve e), 2.0X (c ve f).....	71
Şekil 4.20. Olgunlaşmanın 90.gününde örneklere ait 4000X (a, b ve c) ve 8000X (d, e ve f) büyütmedeki SEM görüntüleri: 1.0X (a ve d), 1.5X (b ve e), 2.0X (c ve f).....	73
Şekil 4.21. Konsantre sütlerden elde edilen peynir örneklerine ait olgunlaşmanın 90.günündeki CLSM mikrografları (a) 1.0X-kontrol, (b) 1.5X ve (c) 2.0X	75
Şekil 4.22. Peynirlerin pH 4.6'da çözünür azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri	77
Şekil 4.23. Peynirlerin %12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma	78
Şekil 4.24. Peynirlerin toplam serbest aminoasit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi	80
Şekil 4.25. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 7. gününde ve 214 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	82
Şekil 4.26. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 90. gününde ve 214 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	82
Şekil 4.27. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 7. gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	83
Şekil 4.28. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 90. gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları.....	83
Şekil 4.29. (a) Konsantre ve kontrol süt kullanılarak üretilen peynirlerde olgunlaşma süresince 214 nm'de RP-HPLC profiline ait temel bileşen analizi (b) Temel bileşen analizinden elde edilen ve peptitlerin yaklaşık alıkonma sürelerine ait hesaplama verileri.....	85
Şekil 4.30. (a) Konsantre ve kontrol süt kullanılarak üretilen peynirlerde olgunlaşma süresince 280 nm'de RP-HPLC profiline ait temel bileşen analizi (b) Temel bileşen analizinden elde edilen ve peptitlerin yaklaşık alıkonma sürelerine ait hesaplama verileri.....	87
Şekil 4.31. Olgunlaşma süresine ait üre-PAGE (%T:12.5, %C:4) elektroforetogramı. .	89
Şekil 4.32. Olgunlaşma süresine ait SDS-PAGE (%T:12.5, %C:2.6) elektroforetogramı.	92

Şekil 4.33. Üretilen 1.0X, 1.5X ve 2.0X beyaz peynirlerin olgunlaşma döneminde (7, 30, 60 ve 90) GC-MS ile uçucu bileşen analizinden elde edilen işlenmiş verilerin Temel Bileşen Analizi (PCA).....	96
Şekil 4.34. Peynirlerde olgunlaşma boyunca üretilen ve peynir sütüne bağlı ayırimda etkili olan uçucu bileşikler	97
Şekil 4.35. Peynirlerde olgunlaşma boyunca üretilen ve olgunlaşma süresine bağlı ayırimda etkili olan uçucu bileşikler	98
Şekil 4.36. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait sertlik değeri sonuçları.....	107
Şekil 4.37. Olgunlaşma boyunca peynirlere iç yapışkanlık değeri sonuçları	108
Şekil 4.38. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait çiğnenebilirlik değeri sonuçları	109
Şekil 4.39. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait esneklik değeri sonuçları.	111
Şekil 4.40. Peynirlerin duysal değerlendirmesi radar grafikleri	113

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Yaklaşık 3X konsantre edilmiş TO ve UF sütün bileşim değerleri.....	10
Çizelge 3.1. Serbest yağ asiti analizi için kullanılan GC-MS koşulları	36
Çizelge 3.2. Uçucu bileşiklerin analizi için kullanılan GC-MS koşulları	37
Çizelge 3.3. Organik asit ve şeker analizi için kullanılan HPLC koşulları	38
Çizelge 4.1. Retentat ve sütlerin genel bileşimi	43
Çizelge 4.2. Ters ozmoz konsantre sütlerin konsantrasyona bağlı mineral kompozisyonu	43
Çizelge 4.3. Süt ve retentatların renk analizi.....	45
Çizelge 4.4. Ters ozmoz konsantre sütlerin parçacık boyut dağılımları	52
Çizelge 4.5. Ters ozmoz konsantre sütlerin zeta potansiyeli değerleri	53
Çizelge 4.6. Üretimlere ait verim ve geri kazanım değerleri.....	56
Çizelge 4.7. Peynirlerin bileşim analizleri ve pH değerleri (30.gün).....	61
Çizelge 4.8. Peynirlerin olgunlaşma süresince mineral madde (mg/100 g peynir) miktarlarındaki değişim	69
Çizelge 4.9. Olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerinde peynirlerde bulunan toplam serbest yağ asidi konsantrasyonu ve olgunlaşmanın 90. günündeki 10 farklı serbest yağ asidinin her birinin konsantrasyonu.....	94
Çizelge 4.10. Olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde TO peynir örneklerinin organik asit konsantrasyonları	104

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	Santigrat derece
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
<i>g</i>	Yerçekimi ivmesi (santrifüj hız birimi)
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
kW	Kilowatt
L	Litre
M	Molarite
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
mV	Milivolt
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
N	Normalite
nm	Nanometre
Pa	Pascal
ppm	Miligram çözünen / Litre çözelti
rpm	Devir / Dakika
sn	Saniye
Ca	Kalsiyum
K	Potasyum
Mg	Magnezyum
Na	Sodyum
P	Fosfor

Kısaltmalar

a/a	Ağırlık/Ağırlık
a/h	Ağırlık/Hacim
h/h	Hacim/Hacim
CLSM	Konfokal Laser Taramalı Mikroskobu
GC	Gaz Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
HPLC	Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma – Optik Emisyon Spektroskopisi
IMCU	Uluslararası Süt Pıhtılaştırma Birimi
kob	Koloni Oluşturan Birim
LAB	Laktik Asit Bakterileri
MF	Mikrofiltrasyon
MRS	Man-Rogosa-Sharp Besiyeri
NF	Nanofiltrasyon
NPN	Protein Olmayan Azot
NSLAB	Starter Olmayan Laktik Asit Bakterileri
PCA	Temel Bileşen Analizi
RP-HPLC	Ters Faz-Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi
SDS- PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat- Poliakrilamid Jel Elektroforezi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TCA	Trikloroasetik Asit
TNBS	Trinitrobenzensülfonik Asit
TO	Ters Ozmoz
TPA	Tekstür Profil Analizi
UF	Ultrafiltrasyon – Ultrafiltre
UV-Visible	Ultraviyole (morötesi) – görünür bölge
Üre-PAGE	Üre-Poliakrilamid Jel Elektroforezi

1. GİRİŞ

Peynirde verim artışının sağlanması ve operasyonel verimliliğin artırılması için birçok yöntem denenmiş ve bunlardan bazıları ticarileşmiştir. Endüstriyel olarak uygulanmakta olan metotlar; peynir sütüne yüksek ısı işlem uygulanması ve ultrafiltrasyon (UF) ve mikrofiltrasyon (MF) gibi bazı membran sistemler olarak sıralanmaktadır (Outinen, Heino ve Uusi-Rauva, 2010). Ters ozmoz (TO) da gıda endüstrisinde kullanılmakta olan bir başka membran teknolojisi yöntemidir.

Ters ozmoz, çapraz-akışlı membran filtrasyon sistemi olup bu teknik ile seçici geçirgen membran kullanarak çözelti veya süspansiyonlardaki maddelerin moleküler düzeyde ayrılmaları sağlanır. Bu yöntemle moleküler ağırlığı 150 Da ve altı maddeler ayrılabilir. Bu sistemler genelde konsantrasyon amaçlı kullanılmaktadır. UF sistemlerinden farklı olarak membrandan geçen faz (permeat) büyük ölçüde sudur. UF sistemlerde ise su ile birlikte çözünür maddeler de geçebilmektedir. Bu açıdan ele alındığında TO uygulanmış süttten sadece su uzaklaşmakta ve konsantrasyon düzeyine bağlı olarak diğer süt bileşenlerinin göreceli miktarı artmaktadır. TO süt endüstrisinde en yaygın olarak peyniraltı suyunun konsantre edilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Pouliot, 2008).

Peynir üretiminde UF uygulamaları son yıllarda popüler hale gelmiştir. Bu konuda birçok çalışma mevcuttur. Ancak peynir üretiminde TO kullanımı ve bunun olgunlaşma süresince olası etkilerinin incelendiği çalışmalar sınırlıdır. Cheddar peynir üretiminde, TO ile konsantrasyonu artırılmış süttün kullanılmasına ait çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Agbevavi, Rouleau ve Mayer, 1983; Barbano ve Bynum, 1984; Bynum ve Barbano, 1985). Ancak bu çalışmalar oldukça eski tarihlidir ve salamura tipi peynir üretiminde benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Günümüzde membran sistemlerindeki gelişmeler ve maliyetlerdeki azalmalar, bu teknolojilerin uygulanabilirliğini ekonomik hale getirmektedir. Ayrıca, süt potansiyeli yüksek bölgelerden süttün konsantre edilerek taşınması ve bu konsantre süttlerin peynir üretiminde kullanılabilmesi araştırma konusunu hem çevre dostu ve hem de yenilikçi kılmaktadır. TO teknolojisi hem çevresel hem de ekonomik nedenlerle güçlü bir araç olsa

da, sütün konsantrasyon oranının peynir üretimine ve peynir özellikleri üzerine (mikrobiyolojik, kimyasal/biyokimyasal, tekstürel) olan etkilerinin farklı olması, bu konu üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenle, TO kullanımının peynir üzerine etkilerin bilimsel derinlikte incelenmesi önemlidir. Bu tez kapsamında, bu konudaki eksiklikleri giderebilmek ve literatüre yeni bilgilerin kazandırılması hedeflenmiştir. Çalışmanın amacı, TO konsantre sütün ülkemizde en çok tüketilen peynirlerin başında gelen geleneksel beyaz peynir yapımında kullanımını ve olgunlaşma süresi boyunca etkilerini araştırmaktır.

Bu çalışma kapsamında; 1) çiğ sütün TO ile konsantre (1.5 ve 2.0 kat) edilmiş ve bu işlemin peynir sütüne olası etkileri incelenmiştir, 2) beyaz peynir üretim basamakları kısmen modifiye edilerek üretim reçetesi oluşturulmuştur ve üretim gerçekleştirilmiştir, 3) üretilen peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal/biyokimyasal, mikroyapısal, tekstürel ve duyu özellikleri olgunlaşma periyodu süresince (7., 30., 60. ve 90. günlerde) takip edilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

19. yüzyılın ortalarına kadar çiftlik temelli üretimi gerçekleştirilen peynirin, günümüzde başlıca çeşitleri son derece gelişmiş teknolojilerle yüksek makineleşmiş fabrikalarda gerçekleştirilse de, geçmişinin MÖ 6000 yılına Mezopotamya’da hayvanlarına evcilleştirilmesine kadar uzandığı söylemek mümkündür. Sümer ve Mısır gibi en eski uygarlıklardan beri üretilmiş olan peynir bugün tüm dünyada en az 1000 farklı çeşitte üretilmektedir (Fox ve ark., 2017).

Peynir üretimi, peynir çeşidine bağlı olarak, sütün (temelde yağ ve kazeinin), 6 ila 10 kat konsantre edildiği bir dehidrasyon işlemidir. Bazı az sayıdaki peynir çeşitleri hariç dehidrasyon geleneksel olarak kazeinin enzimatik, asit veya ısı ve asit kombinasyonu ile pıhtılaştırılmasıyla, eğer varsa yağın da bu pıhtı içinde tutulmasıyla, elde edilir (Fox, 1989).

Peynir üretimi klasik gıda muhafaza yöntemlerinden biridir. Üretimdeki tuz ilavesi ve suyun uzaklaştırılması ile su aktivitesi düşürülür ve laktik asit fermantasyonu ile gelişen asitlik ekstra koruyucu özellik kazandırır. Ayrıca, oluşan düşük redoks potansiyeli ve starter kültürlerin ürettiği antibiyotik maddeler peynirin depolama stabilitesine katkıda bulunur (Fox ve ark., 2004).

Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği’nde ise peynir “*hammadenin 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 ürünlerini ifade eder*” şeklinde tanımlanmıştır (TGK, 2015).

2.1. Beyaz Peynir

Türkiye'de süt genellikle köylerde, köylüler için ek bir gelir kaynağı olarak üretilmektedir. Aynı zamanda üretilen sütün bir kısmının evde kullanıldığı bilinmektedir. Yine evlerde üretilen taze ve salamurada olgunlaştırılan peynirler de tüketilebilmektedir. Bu sebeple, Türkiye'deki süt ve peynir tüketiminin gerçek miktarlarını belirlemek zordur. Bununla birlikte son yıllarda sütçülük daha profesyonelleşmiş olup, yüksek kapasitede çiftliklerde süt üretilmektedir. Daha sonra bu sütler, gelişmiş/modern süt işletmelerinde endüstriyel olarak peynir üretiminde kullanılmaktadır. Ülkemizde üretilen peynirin %60-80'nin beyaz peynir olduğu belirtilmiştir (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002). Türkiye'de 40-50 peynir çeşidi bilinmektedir, ancak bunlardan sadece üçü (beyaz peynir, kaşar peyniri ve tulum peyniri) ulusal ve ekonomik değere sahiptir (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002). TÜİK verilerine göre ülke genelinde üretilen peynir miktarı 2015 yılında 666 bin ton civarında bildirilmiştir. Her geçen yıl artan üretim miktarı 2020 yılında 767 bin tona kadar ulaşmış, 2021 yılında ise bir önceki yıla göre %0.35'lik bir düşüş ile 763 bin ton olarak hesaplanmıştır. Entegre süt işletmeleri tarafından toplanan süt haricinde üretilen süt miktarı ile ithalat ve ihracattaki peynir miktarı da göz önüne alındığında ülkemizdeki kişi başına peynir tüketiminin 19.6 kg olduğu tahmin edilmiştir. Her geçen yıl tüketiminde artış görülen beyaz peynirin en yüksek pazar payına sahip peynir çeşidi olduğu bilinmektedir (USK, 2022).

Beyaz peynir koyun, keçi ve/veya inek sütleri kullanılarak üretilen ve ülkemizde yaygın olarak tüketilen bir peynir çeşididir. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne göre beyaz peynir *“hammadenin peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynir”* olarak ifade edilmiştir (TGK, 2015).

Türk beyaz peyniri genel olarak 350 veya 500 g ağırlığındaki 7x7x7 cm³ kübik veya 7x7x10 cm³ dikdörtgen kalıplar halinde üretilir, üzerine 10-14 g/100 g NaCl tuzlu salamura konulur ve 4-8°C'deki soğuk depolarda 1-3 ay olgunlaştırılır. Üretilen peynir; yarı yumuşak, hafif tuzlu ve asidik tada sahip, hem içte hem de yüzeyde tipik beyaz renkli,

delik izi olmayan sıkı dokulu bir çeşittir (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002; Topçu ve Saldamli, 2006).

Geleneksel ve artisanal olarak üretilen beyaz peynirlerde starter kültür kullanılmaz, peynir sütü pastörize edilerek veya pastörizasyon uygulanmaksızın kullanılabilir (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002). Bu nedenle, karakteristik aroma ve lezzetin gelişimi, sütte ve süt ortamında bulunan doğal laktik floraya bağlıdır (Özer ve ark., 2011). Genel üretim aşamaları şu şekildedir: süt ön işlemleri (klarifikasyon, baktöfugasyon, standardizasyon), kazein/yağ oranına göre standardizasyon, pastörizasyon (80-85°C x 2-3 sn, 72-75°C x 15-20 sn, 63°C x 30 dk, 65°C x 5 dk), soğutma (30-34°C), teknelere dolun, starter kültür ilavesi (%1-3, a/a), CaCl₂ ilavesi (0.2 g/L peynir sütü), 30 dk bekleme sonrası rennet ilavesi (70-90 dk pıhtı oluşturacak şekilde ~10 g/100 kg peynir sütü), pıhtı kesimi (~1-2 cm'lik küp halinde), peyniraltı suyunun uzaklaştırılması, pıhtının cendere bezi ile birlikte kalıplara alınması ve oda sıcaklığında (~21°C) peyniraltı suyu salımı bitene veya çok düşük seviyelere düşene kadar yaklaşık 3-6 sa pıhtı baskılama ve asitlik gelişimi, pıhtının peynir blokları haline getirilmesi, 6-12 sa ön salamurada bekletme, tenekelere veya plastik ambalajlara dolun, salamura ilavesi ve ambalajların kapatılıp olgunlaştırmaya alınması (Üçüncü, 1996; Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002). Ancak, beyaz peynir üretimi, ticari firmalarda kendi reçeteleri/sistemleri özelinde çeşitli modifikasyonlar ile de gerçekleştirilebilmektedir.

Beyaz peynirin kalitesine üzerine etki eden bazı faktörler; çiğ süt kalitesi, ısıl işlem normu, starter kültür seçimi, peynir mayası, CaCl₂, tuzlama şeklinde sıralanabilir. Çelik, Bakırcı ve Özdemir (2005) yüksek ısıl işlemin Türk beyaz peyniri kalitesi üzerine yaptıkları çalışmada, peynir sütüne uygulanan 80°C'de 20 dakikalık ısıl işlem peynir verimini artırmış olsa da, olgunlaşma sırasında lipoliz ve proteoliz seviyesinde çok hızlı bir artışa sebep olmuştur. Ayrıca, yüksek ısıl işlem uygulanmış sütün normal pastörize edilmiş (65°C'de 30 dk) süte göre daha uzun pıhtılaşma süresi gösterdiği ve daha fazla nem tutan, daha yumuşak ve zayıf bir teleme olduğu gözlemlenmiştir. Salamura beyaz peynirler genellikle pastörize süt kullanılarak üretildiğinden, starter kültür seçimi yüksek kaliteli ve güvenli peynirlerin üretiminde en önemli adımlardan biridir (Bintsis ve Papademas, 2002). Bir çalışmada, Türk beyaz peyniri üretiminde farklı *Lactococcus*

suşları kullanımının (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* NCDO763 + *L. lactis* subsp. *cremoris* SK11 ve *L. lactis* subsp. *lactis* UC317 + *L. lactis* subsp. *cremoris* HP) peynir kalitesine etkileri 90 gün boyunca incelenmiştir. Farklı starter kültür kullanımının peynir bileşenleri ve duyu özellikleri üzerine önemli bir etkisi tespit edilmemiştir. Ancak, starter kültür olarak NCDO763 + SK11 suşları kombinasyonu kullanıldığında daha yüksek proteoliz ve daha yüksek bir lezzet yoğunluğu elde edilmiştir. Bu farklılığın kullanılan suşların farklı proteolitik enzim sistemleri kullanmasından kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Hayaloglu ve ark., 2005). Peynir üretiminin artması ile şirden mayasının yetersiz kalması ve mikrobiyel enzimlerin daha ekonomik oluşu peynir üretiminde alternatif peynir mayası kullanımını tetiklemiştir. Bunların yanı sıra çeşitli bitki ekstraktları ve hayvansal enzimlerin (pepsin, tripsin ve kimotripsin) de alternatif olarak peynir üretiminde kullanımı çalışmalarda denenmiştir. Alichanidis ve ark. (1984) tarafından Noury rennet (*Mucor pusillus*, Lindt), Rennilase (*M. miehei*) ve Suparen (*Endothia parasitica*) mikrobiyel enzimleri Feta peyniri üretiminde şirden mayası alternatifi olarak denenmiştir. Üretilen tüm peynirler şirden mayası kullanılarak üretilen peynirler ile benzer iyi kalitede ve organoleptik özelliklere sahip bulunmuştur. Verim, nem, NaCl miktarı ve protein içerikleri anlamlı derecede farklı bulunmamıştır. En yüksek proteoliz şirden mayası ile üretilen peynirlerde görülmüştür. Araştırmacılar, kullanılan mikrobiyel kaynaklı enzimlerin şirden mayası ikamesi olarak Feta peyniri üretimine uygun olduğunu bildirmişlerdir.

Peynir sütünün pastörizasyonu sırasında sütteki kalsiyum dengesi bozulmakta, buna bağlı olarak, sütün pıhtılaşma yeteneği azalmakta, pıhtılaşma süresi uzamakta, pıhtı sıklığı zayıflamakta ve süzme işlemi zorlaşmaktadır (Şen ve ark., 1992; Metin, 2015). Kalsiyum klorür ve ısıl işlemin beyaz peynir randımanına etkilerinin incelendiği bir çalışmada farklı pastörizasyon normlarında sütlere %0.01, %0.02, %0.03 ve %0.1 oranında kalsiyum klorür çözeltisi ilave edilmiştir. 85°C’de 15 sn pastörizasyon işlemi uygulanan sütlere %0.03 kalsiyum klorür ilavesi ile peyniraltı suyuna geçen kurumadde miktarı azalmıştır. Kalsiyum klorür ilavesi ile daha sıkı kalsiyum bağları oluşması ile peynirlerde tutulan yağ miktarı da artış göstermiştir (Şen ve ark., 1992). Tuzlama peynirin karakteristik özelliklerini kazanmasında, lezzet oluşumuna katkısının yanı sıra peynirin korunmasında da rolü olan önemli bir adımdır. Salamuradaki tuz oranı peynirin yapısına, fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal değişikliklere etki edebilmektedir. Çelik, Bakırcı ve Özdemir

(2005) beyaz peynirlerde %14 ve %16 NaCl tuz oranındaki salamuranın kaliteye etkisini incelemişlerdir. Salamura tuz konsantrasyonundaki artış toplam kurumadde, yağ, protein, kül ve tuz oranlarında artışa sebep olurken, suda çözünen azota bağlı olgunlaşma indeksi ve ADV cinsinden lipoliz değerlerinde azalmaya sebep olmuştur. Tuzun bakteri gelişimi ve enzim aktivitelerindeki inhibisyon etkisinin, %16'lık (a/h) salamuralardaki düşük lipolizin sebebi olduğu düşünülmüştür.

Endüstriye beyaz peynir üretiminde yüksek pastörizasyon normunun, peynir lezzetine olan olumsuz etkilerini azaltmak ve geleneksel beyaz peynir aroma ve lezzetini elde edebilmek için beyaz peynir üretiminde ek kültür olarak *L. paracasei* subsp. *paracasei* ve *L. paracasei* subsp. *tolerans* (Wishah, 2007) ve *Enterococcus faecium* (Bulat, 2011) kullanıldığı araştırmalar yapılmıştır. Ek kültür kullanımının kısmen proteolize ve lipolize katkıda bulunduğu ve bunun son ürün duyu özelliklerini pozitif yönde etkileyebildiği ilgili araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Yapılan çalışmaların temelinde verimliliği yüksek ve kaliteli üretim modellerinin oluşturulması bulunmaktadır. Bu bağlamda araştırmacılar yeni yaklaşımlar kullanarak alternatif üretim stratejileri konusunda araştırmalar yapmaktadır. Son yıllarda membran sistemler ile peynir sütünün ön işleme tabi tutulması popüler bir konu haline gelmiştir. Bu uygulamaların temel nedeni peynir üretiminde verimin/verimliliğin artırılmasıdır.

Bu amaçla mikrofiltrasyon, ultrafiltrasyon gibi membran filtrasyon sistemleri öne çıkmaktadır. Bununla birlikte peynir sütünde ters ozmoz membran filtrasyon uygulamaları son yıllarda araştırılmakta olan bir diğer tekniktir.

2.2. Peynir Üretiminde Verimlilik ve Ters Ozmoz

Beslenmede önemli bir rolü olan ve ülkemizde sık tüketilen gıda ürünlerinden biri olan peynir hem kültürel hem de ekonomik bir öneme sahiptir. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2022 yılında üretilen peynir 722 bin ton civarındadır (TÜİK, 2023). Ekonomik açıdan önemli bir değer olan peynirin gerek kalitesini gerekse üretim

verimliliğini artırmak için tüm dünyada birçok bilimsel çalışma yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir.

Peynir üretiminde verimliliği artırmak için birçok yaklaşım denenmiş ve denenmektedir. Ancak, bu başlık altında sadece ısıl işlem ve membran filtrasyon teknikleri ele alınmıştır. Özellikle peynir sütüne **yüksek sıcaklık uygulamaları** bu yöntemlerden biridir (Banks ve ark., 1994a). Peynir üretiminde, kullanılacak süre ısıl işlem uygulaması ile sütteki peyniraltı suyu proteinleri denatüre edilmekte ve bu şekilde kazein pıhtı yapısına kazandırılarak verim artışı gerçekleşmektedir (Banks ve ark., 1994a). Peyniraltı suyu proteinlerini kazeinlere tutturmak için yüksek ısıl işlem uygulanarak taze, yumuşak, yarı sert ve sert peynirlerin hem besin değeri hem de verimlerini artırmak mümkündür (Hinrichs, 2001; Singh ve Waungana, 2001). Bu amaçla kullanılan sıcaklık-süre normları 72-140°C, 15 sn - 5 dk. aralığında değişmektedir (Kelly, Huppertz ve Sheehan, 2008). Peynir sütünün tamamına yüksek ısıl işlem uygulanabileceği gibi, kısmi olarak yüksek ısıl işlem uygulanmış olan süt belirli oranlarda peynir sütüne katılabilmektedir (Outinen, Heino ve Uusi-Rauva, 2010). Peyniraltı suyu proteininin yüksek ısıl işlemle pıhtı yapısına dahil edilmesi için sütü 110°C civarındaki sıcaklıklarda 60 sn süreyle ısıl işleme tabi tutma ile telemede protein geri kazanımı %10, peynir verimi ise %7.5 artmakta olduğu bildirilmiştir (Banks, 1988; Banks ve ark., 1994b). Ancak, yüksek ısıl işlem uygulamaları, sütün pıhtılaşma süresini uzatmakta, rennet jelinin sıklığını azaltmakta ve ideal sinerezi bozmaktadır. Bu problemler; yüksek ısıl işlem uygulanmış sütün protein oranı ultrafiltrasyon (UF) ile artırılarak, rennetleme öncesi süt pH'sı düşürülerek, rennetleme sıcaklığı artırılarak, kullanılan rennet ve CaCl₂ miktarı artırılarak kısmen giderilebilmektedir (Kelly, Huppertz ve Sheehan, 2008). Genellikle peynir sütüne yüksek ısıl işlem uygulanması ile taze, yumuşak veya yarı-yumuşak peynirler üretilmektedir.

UF teknolojisi, peynir sütünü standardize etmek, protein konsantrasyonunu ve sonuçta verimi artırmak için kullanılan bir diğer yöntemdir (Pedersen ve Ottosen, 1992; Guinee, Pudja ve Mulholland, 1994). Bu teknik pıhtı kesiminden sonra daha az peyniraltı suyu drenajı nedeniyle artan miktarda doğal peyniraltı suyu proteininin peynir pıhtısına dahil edilmesini sağlayabilmektedir (Benfeldt, 2006). UF, çapraz-akış membran filtrasyon tekniği olup, moleküler ağırlığı 1-200 kDa arası olan makromoleküllerin ayırımında

kullanılmaktadır. UF membran gözenek boyutu 1 nm-0.05 µm arasındadır. Sütte UF uygulanması sonucu permeat (su, laktoz, çözümlü tuzlar, protein olmayan nitrojen fraksiyonları, suda çözümlü vitaminleri içeren fraksiyon) ve retentat (proteinler, yağ ve kolloidal tuzlar içeren fraksiyon) elde edilmektedir (Mistry ve Maubois, 2004). Elde edilen bu retentat peynir sütü olarak ya direkt ya da belirli konsantrasyonlarda peynir sütüne ilave edilerek kullanılabilir (Outinen, Heino ve Uusi-Rauva, 2010). Protein miktarının artırılması peynir sütünün koagülasyon kinetiklerinin hızlanmasına neden olmaktadır (Caron, St-Gelais ve Pouliot, 1997; Mistry ve Maubois, 2004). UF işlemi ile serum proteinleri retentatta kalmakta, bu da verim artışına neden olmaktadır. UF işlemi rennetle pıhtılaşma süresini azaltırken, jel sıkılığını da artırabilmektedir. Bunun sonucunda peynir yapısı ve operasyonel verimlilik olumlu düzeyde etkilenebilmektedir. Bununla birlikte, UF ile süt konsantrasyonu işlemi sırasında misel boyutu küçülebilmekte muhtemelen hidrofobik bağlar yoluyla daha kompakt bir yapıya doğru yeniden düzenlemeler olabilmektedir. Bu da mayalama sırasında fizikokimyasal değişikliklere yol açarak pıhtı sertliğinin artmasına neden olabilmektedir (Erdem, 2005).

Peynir üretiminde verimin/verimliliğin artırılmasında kullanılan bir diğer yöntem **MF teknolojisi**dir. MF sistemleri, 0.05-10 µm membran gözenek boyutuna sahip ve düşük basınçta çalışan sistemlerdir. Genellikle moleküler ağırlığı 200 kDa'dan büyük maddeleri ayırmak için kullanılmaktadır. Süt endüstrisinde somatik hücrelerin, bakterilerin, yağ globüllerinin ve büyük kazein misellerinin (retentat) süttten ayrılmasında kullanılmaktadır. MF işlemi genellikle iki amaç için kullanılmaktadır. Birinci kullanım amacı süttten mikroorganizmaların uzaklaştırılmasıdır. İkinci kullanım amacı ise süttteki kazein miktarının standardize edilmesi ve verim/verimliliğin artırılmasıdır (Kelly, Huppertz ve Sheehan, 2008). MF işlemi ile kazein/toplam protein oranı artmakta, bu da daha verimli ve hızlı pıhtı oluşumunu teşvik etmektedir. Sonuçta, peynir üretiminde verimlilik artabilmektedir (Samuelsson vd., 1997, Papadatos vd., 2003). MF ile elde edilen peynir sütünü peynirde daha iyi yapısal ve fonksiyonel özelliklere neden olduğu ve serum proteinlerinin permeat ile ayrılarak yeni bir yan ürün üretimini sağlaması açısından daha avantajlı olduğu bildirilmektedir. Son yıllarda MF ile miseller kazein konsantrasyonunu artırmaya ve peynir üretimine yönelik çalışmalar hız kazanmıştır (Reale ve ark., 2020, 2022; Salunke ve ark., 2022).

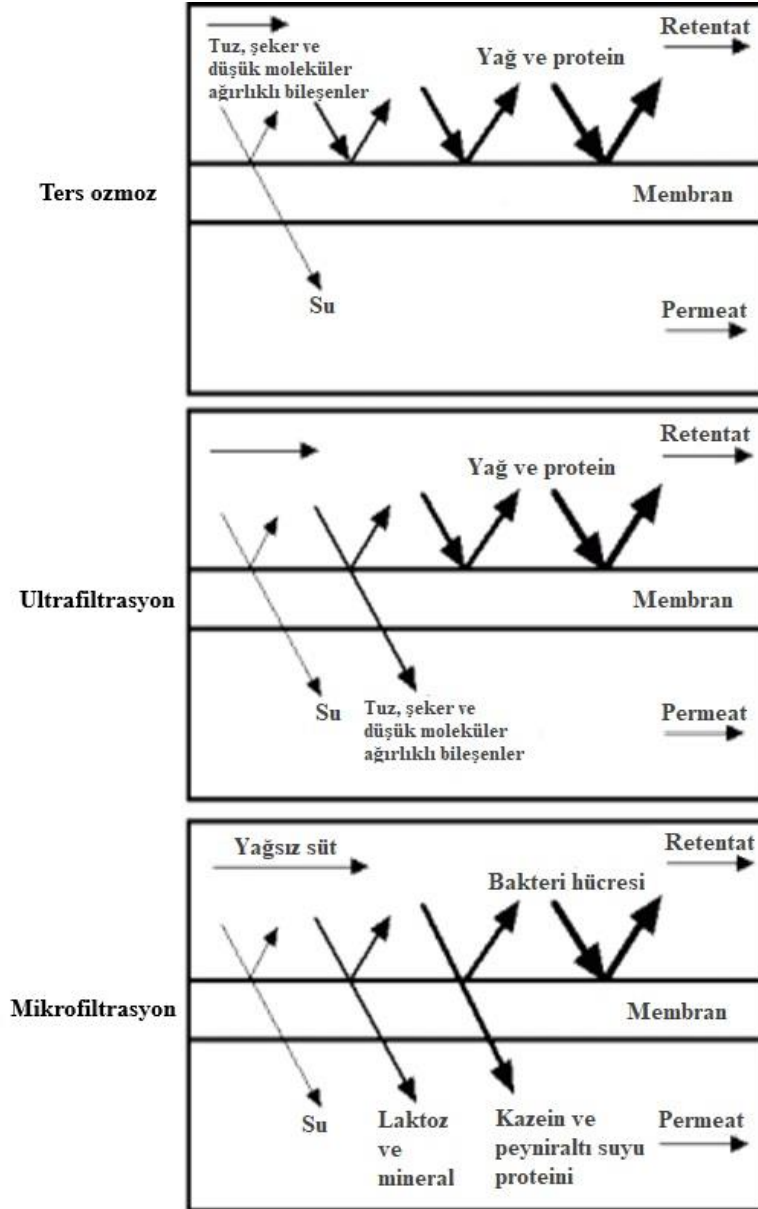
Peynir sütünün konsantrasyonunda kullanılabilen diğer bir membran filtrasyon yöntemi TO teknolojisidir. TO, çapraz-akışlı membran filtrasyon sistemi olup, seçici geçirgen membran kullanarak çözelti veya süspansiyonlardaki maddelerin moleküler düzeyde ayrılmaları sağlanmaktadır. Bu yöntemle moleküler ağırlığı 150 Da ve daha düşük moleküler ağırlığa sahip maddeler ayrılabilir. Bu sistemler genellikle konsantrasyon amaçlı kullanılmaktadır. Ultrafiltrasyon (UF) sistemlerinden farklı olarak membrandan geçen faz (permeat) büyük ölçüde sudur. UF sistemlerde ise su ile birlikte çözünür maddeler de geçebilmektedir. Bu açıdan ele alındığında TO uygulanmış süttten sadece su uzaklaşmakta ve konsantrasyon düzeyine bağlı olarak diğer süt bileşenlerinin konsantrasyonu artmaktadır. TO süt endüstrisinde en yaygın kullanımı peyniraltı suyunun konsantre edilmesidir (Pouliot, 2008). Bununla birlikte, TO ile sütü %25-30 kurumadde içeriğine kadar konsantre etmek mümkündür (Beaton, 1979; Agbevavi, Rouleau ve Mayer, 1983; Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000). Çizelge 2.1’de TO ve UF ile yaklaşık 3X konsantre edilmiş sütün bileşim değerlerine ait veriler görülmektedir (Mistry, 2011). Membran filtrasyon sistemlerinin sütte boyutsal ayırım düzeyleri Şekil 2.1’de şematize edilmiştir.

Çizelge 2.1. Yaklaşık 3X konsantre edilmiş TO ve UF sütün bileşim değerleri (Mistry, 2011)

Bileşenler (%)	Süt	TO	UF
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

Peynir üretiminde UF ve MF uygulamaları son yıllarda popüler hale gelmiştir. Bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Ancak, TO sistemlerinin peynir üretiminde kullanımı ve bunun olgunlaşma süresince olası etkilerinin incelendiği çalışmalar eski tarihli olup sınırlı sayıdadır. Literatürde, Cheddar ve Cottage peynir üretiminde, TO ile konsantrasyonu artırılmış sütün kullanılmasına ait çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Agbevavi, Rouleau ve Mayer, 1983; Barbano ve Bynum, 1984; Bynum ve Barbano, 1985; Schmidt, Fedrick

ve Donovan, 1986). Bununla birlikte, son yıllarda bu konudaki çalışmalar hızlanmıştır. Bu konuda aşağıda verilen alt başlıklarda detaylar verilmiştir.



Şekil 2.1. Ultrafiltrasyon, mikrofiltrasyon ve ters ozmoz membran sistemlerinin çalışma prensiplerinin şekilsel gösterimi (Goff, Hill ve Ferrer, 2023)

2.2.1. Ters Ozmoz Teknolojisi ile Konsantre Edilen Sütlerin Peynir Yapım Özelliklerine Etkisi

TO teknolojisi gereği, konsantratta kalan yüksek miktardaki laktoz ve mineraller süt kompozisyonunu ve sütün mikroyapısını değiştirmekte ve bu durum peynir yapım

özelliklerine direkt olarak etki etmektedir. Özellikle rennet koagülasyon zamanı değişerek, jel sıkılaşıma hızı değişmekte ve peynir yapısı ve tekstürü değişebilmektedir. Yüksek miktardaki mineral (tuz) içeriği, pıhtıdan daha fazla nem almasına yardım etmekte ise de, peynir yapısı mineral içeriği nedeniyle daha sıkı ve kuru hissedilebilmektedir.

Lauzin ve ark. (2018) UF, NF ve TO kullanılarak elde edilen süt örneklerinin rennet ile pıhtılaşıma sürelerini ve maksimum pıhtı sıkılığı hızları incelenmiş ve yağsız süt örneği ile kıyaslamışlardır. Rennet pıhtılaşıma süresi (RCT) UF konsantreleri (13.30 dk) ve yağsız süt (15.38 dk) için benzer bulunmuştur. Bununla birlikte, TO (25.01 dk) ve NF (25.01 dk) örneklerinin rennet ile pıhtılaşıma sürelerinin daha uzun sürdüğü bildirilmiştir. TO ve NF konsantreleri için elde edilen daha yüksek RCT, eş zamanlı olarak ya uzatılmış bir hidroliz fazından ya da uzatılmış bir agregasyon fazından ya da her ikisinden kaynaklanabileceği belirtilmiştir. Artan iyonik güçlerinin peynir mayası aktivitesini azaltabileceği ve daha uzun RCT'lere yol açabilmesi sebebiyle, hem TO hem de NF konsantreleri rennet jelleşmesi için uygun ortam olarak kabul görmemektedir. Yüksek viskozite, rennetlenmiş misellerin difüzyon katsayısını azaltarak bunların rennetleme özelliklerini de bozabileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, 1990 öncesi kimi çalışmalarda tam tersi ifadeler söz konusudur (Agbevavi, Rouleau ve Mayer, 1983; Barbano ve Bynum, 1984). Viskozite yüksekliği ve tuz içeriğindeki artış aynı zamanda pıhtı sıkılaşıma hızını (firming rate) da etkilemektedir. UF konsantrelerinin sıkılık hızı (19 Pa/dk), NF (9.55 Pa/dk) ve TO (12.38 Pa/dk) konsantrelerinin sıkılık hızından daha yüksektir. Maksimum sıkılık hızına ulaşmak için gereken süre yağsız süt (SM), UF, NF ve TO konsantreleri için sırasıyla 23.78, 24.10, 48.11 ve 45.13 dakika olarak tespit edilmiştir. Peynir sertliğinin bir göstergesi olan rennet ilavesinden 45. dakika sonraki G' değeri en yüksek sıkılık hızına ulaşılan UF konsantrelerinde maksimum değere (470 Pa) ulaşmıştır. Yağsız süt, NF ve TO konsantrelerinde bu değer sırasıyla 29, 150 ve 160 Pa olarak belirlenmiştir. Çalışma sonunda araştırmacılar, TO ve NF sütlerinin muhtemelen daha yüksek tuz içerikleri nedeniyle peynir yapım özelliklerinin bozulduğu sonucuna varmışlardır (Lauzin ve ark., 2018).

Sørensen ve ark. (2019), TO ile 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerin rennet ile koagülasyonu ve kalsiyum dağılımı üzerine bir çalışma yapmışlardır. Jelleşme süresinin

kimozin konsantrasyonu arttıkça düştüğünü, retentatın protein konsantrasyonu arttıkça arttığını tespit etmişlerdir. Daha yüksek kimoziin/protein oranının hem çiğ sütte hem de retentatta daha kısa pıhtılaşma süresi sağladığı bildirilmiştir. Kimoziin konsantrasyonu 0.04 ve 0.05 IMCU iken konsantrelerin 40. dakikadaki pıhtı sıklığı değerleri çiğ süttten daha yüksektir. 0.03 IMCU kimoziin konsantrasyonunda ise 2 kat konsantre retentatlarda ise koagülasyon çok geç gerçekleştiği için çok sınırlı bir jel sıklığı gözlenmiştir.

Lauzin ve ark. (2019), pH ayarlanmasının UF ve TO süt konsantrelerinin rennet jeli özellikleri üzerine etkisini araştırmışlardır. pH ayarlaması yapılmadan önce TO konsantrelerinin (pH 6.33) rennet ile pıhtılaşma süresi (11.49 dk) UF konsantrelerinden (pH 6.57, 22.99 dk) düşük bulunmuştur. Bununla birlikte, pH'nın 6.5'e ayarlanması ile UF konsantrelerinin rennet ile pıhtılaşma süresi (14.51 dk) TO konsantrelerinden (19.54 dk) daha düşük tespit edilmiştir. TO konsantrelerde düşük pH, hızlı koagülasyonu tetiklemiştir. pH artışı ile TO konsantrelerdeki kalsiyum aktivitesindeki azalma, düşük enzim aktivitesi ve kazein miselleri arasındaki birbirini itmedeki artış agregasyonunu yavaşlatmıştır. Yağsız sütlerde κ -kazein hidroliz kinetiği her iki konsantreye de benzer bulunmuş olup pH ayarlama işleminin bir etkisi gözlenmemiştir. κ -kazein hidrolizinin seviyesi süttün jelleşme kinetiği hakkında bilgi vermektedir. κ -kazein hidroliziyle miseller arasındaki doğal elektrostatik çekimler azalmakta ve parakazein miselleri arasındaki hidrofobik çekimler baskın hale gelmektedir. Yeterli κ -kazein hidrolize edildiğinde ise jelleşme meydana gelmektedir. Başlangıç pH değerlerinde TO konsantresi en az κ -kazein hidrolizine gereksinim duymuş ve pıhtılaşma en önce başlamıştır (Lauzin ve ark., 2019). Bu pH'da TO konsantrelerin en yüksek çözünür kalsiyum miktarı ve kalsiyum aktivitesine sahip olması jelleşmenin başlaması için daha az κ -kazein hidrolizine ihtiyaç duymasını açıklamaktadır. Ayrıca düşük pH'nın kazein miselleri arasındaki elektrostatik itmeyi azaltarak miseller arası etkileşimi ve agregasyonu teşvik edeceği bildirilmiştir (Lauzin ve ark., 2019). pH 6.5'te ise TO konsantre süt jelleşme için UF konsantrelerden daha fazla κ -kazein hidrolizine gerek duymuştur. Aynı çalışmada, TO konsantrelerdeki yüksek laktozun misel stabilizasyonunu artırmış olabileceği belirtilmiştir. Maksimum sıklık hızı başlangıç pH değerlerinde TO konsantrelerinde en yüksek iken (27.63 Pa/dk), pH ayarlaması ile UF ve TO konsantrelerde benzer (21 Pa/dk) maksimum sıklık hızına erişilmiştir. Kazein konsantrasyonundaki artış jel sıklık hızını eksponansiyel olarak artırdığı için UF ve TO konsantrelerde sıklık hızının yağsız süttten çok daha fazla olması beklenen bir durumdur. Maksimum sıklık hızına ulaşma süresi başlangıç pH'da yine en

düşük TO konsantrelerde tespit edilmişken, pH'ın 6.5'e ayarlanması ile TO konsantreler en yüksek ulaşma süresine sahip bulunmuştur. pH artışı ile maksimum sıklık zamanına ulaşma süresi arttığı, pH düşüşü ile süresinin azaldığı bildirilmiştir. Hem maksimum sıklık hızının hem de buna ulaşma süresinin konsantrasyon işleminden de pH ayarlamasından da etkilendiği söylenebilir. Altmışıncı dakikadaki G' değeri yüksek kazein içeriği nedeniyle konsantre sütlerde daha yüksek çıkmıştır (Lauzin ve ark., 2019). Genel olarak bakıldığında küçük pH değişikliklerinin bile rennet ile pıhtılaşma özelliklerini değiştirdiği, aynı pH değerinde ise konsantre süt içeriklerinin bu özelliklerdeki değişikliklerden sorumlu olduğu görülmektedir.

Lauzin, Pouliot ve Britten (2020), bir önceki çalışmalarında UF ve TO konsantrelerindeki rennet ile koagülasyon özelliklerindeki farklılıkların TO konsantrelerindeki yüksek laktoz miktarı olabileceğini düşündükleri için UF konsantrelerine laktoz ilave ederek değişimleri incelemişlerdir. TO konsantrelerin rennet ile pıhtılaşma süresi UF konsantre ve yağsız süttten uzun bulmuşlardır. Sütlerin konsantre edilmesi ile maksimum sıklık hızında da artış tespit etmişlerdir. TO konsantrelerinin maksimum pıhtı sıklığı hızındaki UF konsantrelerine göre düşüklüğün sebebi olarak, TO konsantrelerinin yüksek viskozitesinin misel difüzyonunu yavaşlatması olabileceği söylenmiştir. TO konsantrelerinin yüksek misel kalsiyum konsantrasyonuna sahip olması diğer bir sebep olarak sunulmuştur. Misel kalsiyum konsantrasyonunun fazlalığı pıhtı oluşumunda kullanılabilir fosfat gruplarının sayısında azalmaya sebep olabileceği bildirilmiştir. Konsantre sütlerin rennet ile pıhtılaşma süresinden 30 dakika sonraki pıhtı sıklığı değerleri yağsız sütlerden daha yüksek bulunmuştur. UF sütlere laktoz eklenmesi ile rennet ile pıhtılaşma özelliklerinde değişimler gözlenmiştir. Şekerin çözücü kalitesini düşürdüğü ve κ -kazein moleküllerinin kazein misel yüzeyine çökmesini teşvik ederek hem kimozine erişilebilirliği hem de parakazein agregasyon oranını azalttığı belirtilmiştir. Laktoz ilave edilmiş UF konsantrelerinin özellikleri UF'den farklılaşarak TO konsantrelerine ait değerlere yaklaşmıştır. Araştırmacılar sonuç olarak, yüksek mineral içeriğinin rennet kaynaklı koagülasyon kinetiğini değiştirebildiğini ama laktozun bu değişimde çok daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

2.2.2. Ters Ozmoz Teknolojisi ile Konsantre Edilen Sütlerin Peynir Bileşenleri Üzerine Etkisi

Membran prosesleri, konsantre peynir sütü üretimi için giderek daha fazla kullanılmakta olup, TO teknolojisi, peynir üretiminde kullanılacak olan sütün konsantre edilmesinde önemlidir. Ters ozmoz sisteminin, peynir sütünün konsantre edilmesi için kullanımının, tekrar kullanılabilen az miktarda permeat oluşturması ve olası süt taşıma ücretlerini düşürmesi gibi avantajları bulunmaktadır. Peynir üretiminde TO teknolojisini kullanmanın bir diğer faydası da üreticilere üretim süreçlerinde sunduğu esnekliktir. Sütün konsantrasyon derecesi kontrol edilerek, belirli müşteri tercihlerini karşılayacak şekilde uyarlanabilme potansiyeli bulunmaktadır. TO ile konsantrasyon ayrıca peynir verimini ve peynir tesisinin üretim kapasitesini de artırmaktadır (Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). TO teknolojisi her ne kadar peynir verimini artırma özellikleri gösterse de, peynir yapım özelliklerini, olgunlaşma döneminde proteolitik ve lipolitik reaksiyonları etkileyebileceğinden dikkatli çalışılması gereken bir konudur.

Agbevavi, Rouleau ve Mayer (1983) TO ile sütü 2 kat konsantre edilerek Cheddar peyniri üretmişlerdir. TO ile konsantre edilmiş sütlerden üretilen Cheddar peynirleri üretiminde konsantre edilmemiş sütün elde ettikleri peynirlere kıyasla %50 daha az starter kültür ve %60 daha az rennet kullandıklarını ve her iki yöntemle üretilen peynirlerin benzer kompozisyonda olduğunu bildirmişlerdir. Retentatta kalan yüksek orandaki laktozun, peynirdeki granüler dokunun ve tekdüze (uniform) yapıda olmayan taze pıhtının sebebi olabileceğini belirtmişlerdir.

Barbano ve Bynum (1984) tam yağlı sütün ters ozmoz kullanılarak %5, %10, %15 ve %20 oranında hacim azaltımıyla konsantre edilmesi ile Cheddar peyniri üretmişlerdir. Hacim azaltma oranı arttıkça peynirde tutulan yağ ve kazein oranı artış göstermiş, peyniraltı suyunun uzaklaştırılması ile kaybedilen yağ miktarı azalmıştır. Diğer membran yöntemlerinden farklı olarak peynir pıhtısında tutulan laktoz miktarının yüksek olması peynir verimini artıran bir başka etkidir. Hacim azaltma işlemi ile üretilen peynirlerin ve kontrol peynirinin mineral madde içeriğinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. %20 hacim azaltma uygulanan işlemde peyniraltı suyunda bulunan bileşenlerin kazanımı ve pıhtıda yüksek yağ tutulması ile peynir veriminde teorik verime göre %2-3 artış

sağlanmıştır. Ayrıca üretkenliği ve verimi artıran bu işlem için farklı bir peynir yapma ekipmanı veya üretim prosesi uygulamasına ihtiyaç duyulmadığının altını çizmişlerdir.

Bynum ve Barbano (1985) TO ile %5, %10, %15 ve %20 oranında hacmi azaltılan sütler ile hazırlanan Cheddar peyniri ve kontrol peynirinde proteolizi incelemişler, 3 aylık olgunlaşma periyodu boyunca bir fark gözlemlenmemişlerdir. 6 aylık olgunlaştırmanın ardından %15 ve %20 hacim azalmasındaki ters ozmoz peynirinde kontrol peynirine göre %10 ila %15 daha az çözünür nitrojen tespit etmişlerdir. Ters ozmozla %20 hacmi azaltılmış olan süttten elde edilen 3 aylık olgunlaştırılmış peynir, ticari kontrol peynirlerinden önemli ölçüde daha yüksek laktoz içeriğinde olduğu bildirilmiştir. Çalışmada basınç kontrolü için iki farklı yöntem kullanılmıştır: (1) yüksek basınçlı kısma valfi, (2) daraltılmış çıkış borusu. Ters ozmoz Cheddar peynirinin ilk partileri (1), kontrol peynirlerinden önemli ölçüde daha yüksek serbest yağ asitlerine sahip iken ters ozmoz ünitesindeki basınç düzenleme cihazı değiştirildikten sonra (2), süt konsantreleri ve ters ozmoz peyniri normal serbest yağ asiti değerlerine sahip bulunmuştur. Ters ozmoz prosesinde basıncın regüle edilmesi ile lipolizin kontrol edilebileceğinin öğrenilmiş olması bu çalışmada ulaşılmış önemli bir bilgi olmuştur.

Hydamaka, Wilbey ve Lewis (2000) UF ve TO kullanarak doğrudan asitlendirilmiş peynir üretmişlerdir. TO uygulamasında süt 2.5 kat, UF ile 4 kat konsantre edilmiştir. TO ile konsantre edilen sütün laktoz içeriği hem UF ile konsantre edilen sütün hem de kontrol numunesinin yaklaşık 3 katıdır. TO peynirde verim %17.4, UF peynirde %14.4 olarak verilmiştir. Kontrol grubu peynirlerde verim %12.8'dir. Bu değerler %52 peynir nem değerine göre normalize edilmiş verilerdir. 1 kg doğrudan asitlendirilmiş peynir üretmek için geleneksel yöntemde 7.2 kg, UF yöntemi ile 6.9 kg, TO yöntemi ile sadece 6 kg süt gerektiği bildirilmiştir. UF peynir duyusal analizlerde en yüksek not almış, TO peynirler ise en yüksek verimliliğe ulaşmış olup her iki yöntemin de istenen ürüne göre peynir teknolojisinde uygulanabileceği bildirilmiştir.

Son yıllarda TO ile üretilen sütlerin peynir yapımında kullanılabilirliği araştırmacıların tekrar ilgi alanına girmiştir. Lauzin ve ark. (2018), membran seçiciliğinin peynir sütü konsantrelerinin bileşim özellikleri ve model peynir yapım özellikleri üzerindeki etkisini

araştırmak üzere bir çalışma yapmışlardır. Model peynir deneylerinde, tüm konsantreler ile konsantre sütlerin iki katı nem ayarlı teleme verimine ulaşılmıştır. UF konsantrede en yüksek protein geri kazanımına ulaşılmışken, TO konsantre sütte geri kazanım oranı kontrol yağsız sütler ile birlikte en düşük, NF konsantrede ise UF ve TO arasında bir protein geri kazanım oranı bulunmuştur. Protein olmayan azotlu maddeler (NPN), UF membranlar tarafından tutulmazken, NF membranların NPN'lere kısmen seçiciliği vardır. TO işleminde NPN retentatta tutulur ve süt ile benzer NPN içeriğine sahip olur. Retentatta tutulan NPN'ler peynir yapımında peyniraltı suyu ile uzaklaştığı için peyniraltı suyundaki protein oranı yüksek çıkar ve böylece TO telemelerdeki geri kazanım düşmüş olur. TO ve NF konsantrelerinden elde edilen telemenin nemi kontrol ve UF'den daha yüksek bulunmuştur. Nem değerinin yüksek olmasının nedeni, TO ve NF konsantrelerinde protein ağının yavaş oluşması sebebiyle sinerizisin daha zor gerçekleşmesinden kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Lauzin ve ark., 2018).

Lauzin ve ark. (2019) bir önceki çalışmalarının devamı olan araştırmada pH ayarlaması ile rennet ile pıhtılaşma davranışlarının iyileştirilebileceğini bildirmişlerdir. Ancak bu iyileşme mekanizmasının daha detaylı incelenmesinin önemine değinmişlerdir. Ayrıca, UF ve TO konsantrelerindeki jelleşme kinetiğindeki farklılıkların TO konsantrelerinin yüksek laktoz ve çözülmüş tuz içeriğinden kaynaklı olabileceğinin altını çizmişlerdir.

Sørensen ve ark. (2019) ise rennetlemeye pH etkisini kaldırmak için reolojik analizler öncesi pH'yı sabit tuttıkları çalışmalarında TO sütlere farklı konsantrasyonlarda kimozin eklemişler ve pıhtılaşma süresindeki gecikmenin enzim substrat oranındaki değişimle ilgili olduğunu bildirmişlerdir. Pıhtı sıklığının ise Ca^{+2} ile ilişkili olduğunu ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu bildirmişlerdir.

Taivosalo ve ark. (2019) TO konsantrelerinden ürettikleri sert peynirin olgunlaşmasını izledikleri bir araştırma yapmışlardır. 6 aylık olgunlaşma boyunca peynirlerin proteoliz, uçucu bileşenler ve duyuşal özelliklerini değerlendirmişlerdir. Çalışmada üretilen TO peyniri, duyuşal testlerde panelistler tarafından tatmin edici kalitede kabul edilmiştir. Ayrıca, birincil proteoliz, serbest aminoasit oluşumu ve uçucu bileşiklerin değerlendirilmesi ile, TO peynirinde yer alan peynir olgunlaşması için gerekli olan biyolojik süreçlerin geleneksel Gouda tipi ve diğer sert tip peynirlerdekilere temelde benzer olduğu kanıtlanmıştır.

Lauzin, Pouliot ve Britten (2020) daha önceki çalışmalarında tespit ettikleri TO ve UF konsantrelerinin jelleşme kinetiği arasındaki farklılığı araştırmak için UF sütlere laktoz ekleyerek yeni bir araştırma yapmışlardır. Konsantrelerin çözünür kolloidal dengeleri ve rennet ile jelleşme davranışı, peynir kütle dengesi, bileşim ve mikroyapı gibi bazı özellikler incelenmiştir. TO konsantresindeki yüksek laktoz içeriğinin, UF konsantresine göre nem ayarlı peynir verimindeki %7'lik artıştan sorumlu olduğu bildirilmiştir. Çünkü laktoz eklenen UF peynirlerde TO peynirleriyle aynı verim değerine ulaşılmıştır. UF konsantresinden yapılan peynirle karşılaştırıldığında, TO konsantresinden yapılan peynir hem UF'den hem de laktoz ilave edilen UF'den daha yüksek nem içeriğine sahip çıkmıştır. Bu durumda TO peynirlerindeki yüksek nem içeriğinden laktozun değil, yüksek mineral konsantrasyonunun sorumlu olduğunu söylemek mümkündür. Aşırı mineral varlığı; pıhtı oluşumunda gerekli olan fosfat gruplarının sayısını düşürebileceği, pıhtının birleşmesini ve telemeye uygulanan ısı işlem sırasında sinerisizi azaltabileceği belirtilmiştir (Malacarne ve ark., 2014). Peynir bileşenlerdeki temel farklılıklar laktoz ve mineral içeriğinden kaynaklanmıştır. TO peynir en yüksek kül içeriğine sahip bulunmuştur. Bu çalışma, peynir verimini maksimize etmek için UF konsantresi yerine TO kullanmanın potansiyelini göstermiştir. Ancak, bu yaklaşımın, kalıntı laktoz sebebiyle oluşabilecek post-asidifikasyonun kontrol edilebildiği uygulamalarla sınırlı olduğu ve TO konsantresindeki yüksek mineral içeriğinin olumsuz etkilerini azaltmak için uygun stratejiler gerektireceği belirtilmiştir.

Genel olarak özetlemek gerekirse, TO teknolojisinde membran filtrasyon işlemi ile sütteki laktoz ve mineral bileşeni de süt içerisinde kalmakta ve bu özellik onu ultrafiltrasyon ile konsantre edilmiş sütlerden ayırmaktadır. TO konsantre sütlerden üretilen peynirlerde, peyniraltı suyu daha az üretilmekte ve peyniraltı suyundaki laktoz ve mineral de daha az olmaktadır. TO konsantre sütlerden üretilen peynirlerde verim beklenen teorik verime göre %2-3'e kadar artırılabilir (Barbano ve Bynum, 1984). Yapılan çalışmalarda, TO peynirlerde kurumadadaki protein miktarının konsantrasyon arttıkça düştüğü, laktoz konsantrasyonunun ise arttığı bildirilmiştir (Agbevavi, Rouleau ve Mayer, 1983; Bynum ve Barbano, 1985; Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019). Fazla miktardaki laktoz konsantrasyonu ise, olgunlaşma sürecinde laktik asit fermantasyonunun artmasına ve organoleptik özelliklerinin bozulmasına yol

açabilmektedir (Hydamakai, Wilbey ve Lewis, 2000; Mistry ve Maubois, 2004; Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019). Fazla miktardaki laktik asit fermantasyonu sonucu asitliğin artması peynirlerde nem, kül içeriklerinin ve koloidal kalsiyum fosfatın çözünmesi ile kalsiyum/protein oranının düşmesine neden olmaktadır (Pouliot, 2019). Ayrıca, TO ile konsantre edilen sütlerde yüksek basınç uygulamasına bağlı olarak lipolizin teşvik edilebileceği belirtilmektedir (Barbano, Bynum ve Senyk, 1983).

Lezzet, tüketiciler için peynirin en önemli özelliklerinden biridir ve peynirde lezzet oluşumu karmaşık bir olgudur. Aroma bileşiklerinin algılanması, peynirin yağ içeriği, lipoliz ve proteoliz seviyesinden büyük ölçüde etkilenmektedir. Peynirde aroma bileşikleri, peynirdeki protein, laktoz veya lipitler gibi bazı bileşiklerin parçalanması yoluyla starter kültürler, starter olmayan laktik asit bakterileri (NSLAB), ek kültürler ve/veya ikincil kültürler tarafından üretilmektedir (Ganesan ve Weimer, 2017). Peynir aromasında bulunan laktonlar, yağ asitleri, aldehitler, ketonlar, kükürt bileşikleri, aminler ve pirazinler gibi çok sayıda bileşik, peynirin olgunlaşması sırasında laktoz, lipidler ve proteinin hidrolizi sonucu açığa çıkan yapı taşlarının katabolizması ile oluşmaktadır. Bu aroma bileşiklerinin varlığı veya yokluğu, konsantrasyonu, oranları ve dengesi peynirin genel algısını büyük ölçüde etkilemektedir. Bu bileşiklerin oluşumunda, sütte bulunan doğal enzimler, starter ve starter dışı mikroorganizmaların enzimleri ve rennet ve benzeri enzimlerin varlığı önemlidir (Le Quéré, 2011). Peynirdeki uçucu maddelerin konsantrasyonu, hammadde, işlem parametreleri, olgunlaşma koşulları ve depolama ile bağlantılıdır.

Peynirlerde olgunlaşma periyodu boyunca, tat koku bileşikleri oluşmaktadır. Peynirlerin türüne göre bu tat koku bileşiklerinin konsantrasyonları değişmekte, bazı bileşikler görece baskın hale gelmekte ve bu durum o peynir türüne özgü tat koku bileşenlerinin oluşmasını sağlamaktadır. Peynirlerde olgunlaşma periyodu boyunca genellikle laktik asit, asetik asit, amino asitler ve sülfür bileşikleri de üretilmektedir. Peynir türüne bağlı olarak çeşitli uçucu bileşikler öne çıkabilmektedir. Örneğin, Cheddar peynirinde; uçucu yağ asitleri, amonyak ve baskın olarak metantiyol üretilmekte, İsviçre tipi peynirlerde; prolin, alkil pirazinler, alkil furanonlar ve baskın olarak 3-metil bütirik asit ve propiyonik asit üretilmekte, mavi damarlı peynirlerde; uçucu yağ asitleri, ketonlar, laktonlar,

aromatik hidrokarbonlar, metil ketonlar, ikincil alkoller, ve baskın olarak heptanonlar üretilmekte, İtalyan sert peynirlerde (Grana ve Pecorino gibi); uçucu yağ asitleri, alkoller, ketonlar ve baskın olarak n-bütirik asit üretilmektedir (Ganesan ve Weimer, 2017).

TO konsantre sütlerden elde edilen peynir örneklerinde de, aroma bileşimi oldukça önemli olup, bu kapsamda organik asit, uçucu bileşenler ve yağ asitleri profillerinin incelenmesi, TO işleminin tat aroma özelliklerine etkisinin gösterilmesi açısından önemlidir. TO konsantre sütlerden yapılan peynirlerde, konsantrasyon oranına göre proteolitik ve lipolitik aktivitenin etkilenmesi sonucu aroma profillerinde değişimler gözlemlenebilir. Aynı zamanda yağ asidi konsantrasyonlarındaki farklılıkların olması da beklenen bir durumdur. Literatürde TO konsantreleri ile elde edilen peynirlerin uçucu bileşenleri ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Eski tarihli bir çalışmada, TO ile konsantre edilen sütlerde yüksek basınç uygulamasına bağlı olarak lipolizin teşvik edilebileceği belirtilmektedir (Barbano, Bynum ve Senyk, 1983). Bunun sonucunda peynir aromasının etkilenmesi olasıdır.

Taivosalo ve ark. (2019) TO konsantre sütlerle üretilen sert peynirlerin uçucu bileşenlerini 6 aylık olgunlaşma boyunca izlemiştir. Daha önce uzun süreli olgunlaşmaya sahip geleneksel Gouda tipi ve sert tip peynirlerde de oluşumu bildirilen 42 uçucu bileşik tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin 9 tanesi alkol, 6 tanesi keton, 7 tanesi asit, 7 tanesi ester, 6 tanesi aldehit, 4 tanesi aromatik bileşik ve 3 tanesi diğer bileşikler sınıfındadır. Tanımlanan uçucu bileşikler peynir olgunlaşması sırasında dinamik bir davranış göstermiştir; ancak tespit edilen kimyasal grupların çoğundaki toplam miktarlar (ketonlar ve aromatik bileşikler hariç) olgunlaşmanın sonunda artmıştır. Asetik asit, olgunlaşmanın tüm aşamalarında en çok bulunan bileşik olmuştur. Birinci aydan sonra oluşan asetik asit miktarı oldukça artmıştır. Trigliseritlerin enzimatik hidrolizi sonucunda meydana gelen bütanoik ve hekzanoik asitler yine tespit edilen önemli karboksilik asitlerdendir. Asitlerden sonraki ikinci önemli grup alkollerdir. Peynirlerdeki toplam alkol içeriği 1. aya kadar artış eğiliminde olup 2. aydan itibaren yüksek oranda artış göstermiş ve olgunlaşmanın sonuna kadar benzer seyirde devam etmiştir. Alkoller arasında 3-metil-2-bütanol taze peynirde yüksek konsantrasyonda bulunurken,

olgunlaşmanın orta ve sonraki aşamalarında sırasıyla 2,3- ve 1,3-bütandiol daha baskın olmuştur (Taivosalo ve ark., 2019).

Ketonlar taze peynirde çok yüksek miktarlarda bulunmuştur. Bunun esas kaynağı yüksek oranda tespit edilen 2-pentanondan kaynaklandığı bildirilmiştir. Ketonların seviyesi olgunlaşmanın ikinci haftasında hemen azalmış ve olgunlaşmanın orta aşamalarında düşük seviyelerde bulunmuştur. Olgunlaşma sürecinin sonunda, 6 aylık TO peynirinde, esas olarak olgunlaşmanın tüm aşamalarında gözlenen 2,3-bütandion içeriğindeki artış nedeniyle yine önemli miktarda keton gözlenmiştir (Taivosalo ve ark., 2019).

TO peynirin uçucu kısmında nispeten az miktarda esterler bulunmuştur. Bu kimyasal grubu, olgunlaşmanın ikinci haftasından ikinci ayına kadar düşük bir seviyede sunulmuş ve daha sonra peynir olgunlaşmasının ilerleyen aşamalarında artmıştır. Bütanoik asit etil esteri ve hekzanoik asit etil esteri tüm olgunlaşma dönemi boyunca esterler arasında baskın olmuştur. Bütanoik asit etil esteri 4 ve 6 aylık peynirlerde yüksek miktarlarda bulunmuştur. Oktanoik asit, dekanıik asit ve dodekanoik asit etil esterleri sadece 6 aylık peynirde tespit edilmiştir. Aldehitler, TO peynirinin uçucu bileşenleri arasında, dalgalı bir rejimde çok küçük miktarlarda bulunmuştur. Aldehitler peynirde düşük seviyelerde bulunan minör uçucu bileşenlerdir çünkü hızla alkollere veya ilgili asitlere dönüştürülürler. En yüksek toplam aldehit içeriği 0.5 ve 6 aylık peynirlerde ulaşılmıştır. Olgunlaşmış 6 aylık peynirde sadece 2- ve 3-metilbütanal tespit edilirken, olgunlaşmanın 1. ayına kadar olan peynirlerde düz zincirli aldehitlerden oktanal, nonanal, dekanal ve undekanal tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın dördüncü ayına kadar olan TO peynirlerinde aromatik bileşikler arasında benzaldehit, toluen ve asetofenon bulunmuştur. Taze ve 0.5 aylık peynirlerde yüksek oranda bulunan benzaldehit aromatik bileşenlerde büyük paya sahiptir. Metiyonin aminoasitinden türemiş sülfürlü bileşikler de TO peynirlerde olgunlaşma boyunca tespit edilebilen uçucu bileşenlerdendir (Taivosalo ve ark., 2019).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Materyal

Peynir üretiminde kullanılan çiğ inek sütü ve bu çiğ süttten üretilen ters ozmoz konsantreleri Bahçivan Gıda San. ve Tic. A.Ş.'den temin edilmiştir. Peynir üretiminde, pıhtılaştırıcı enzim olarak fermente buzağı kimozeni (Maxiren®, 600 IMCU, DSM Food Specialties B.V., Hollanda), starter kültür olarak da *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus* laktik asit bakterilerini içeren, liyofilize DVS kültür (Feta A, Danisco Choozit LYO 100 DCU) kullanılmıştır.

3.2. Metot

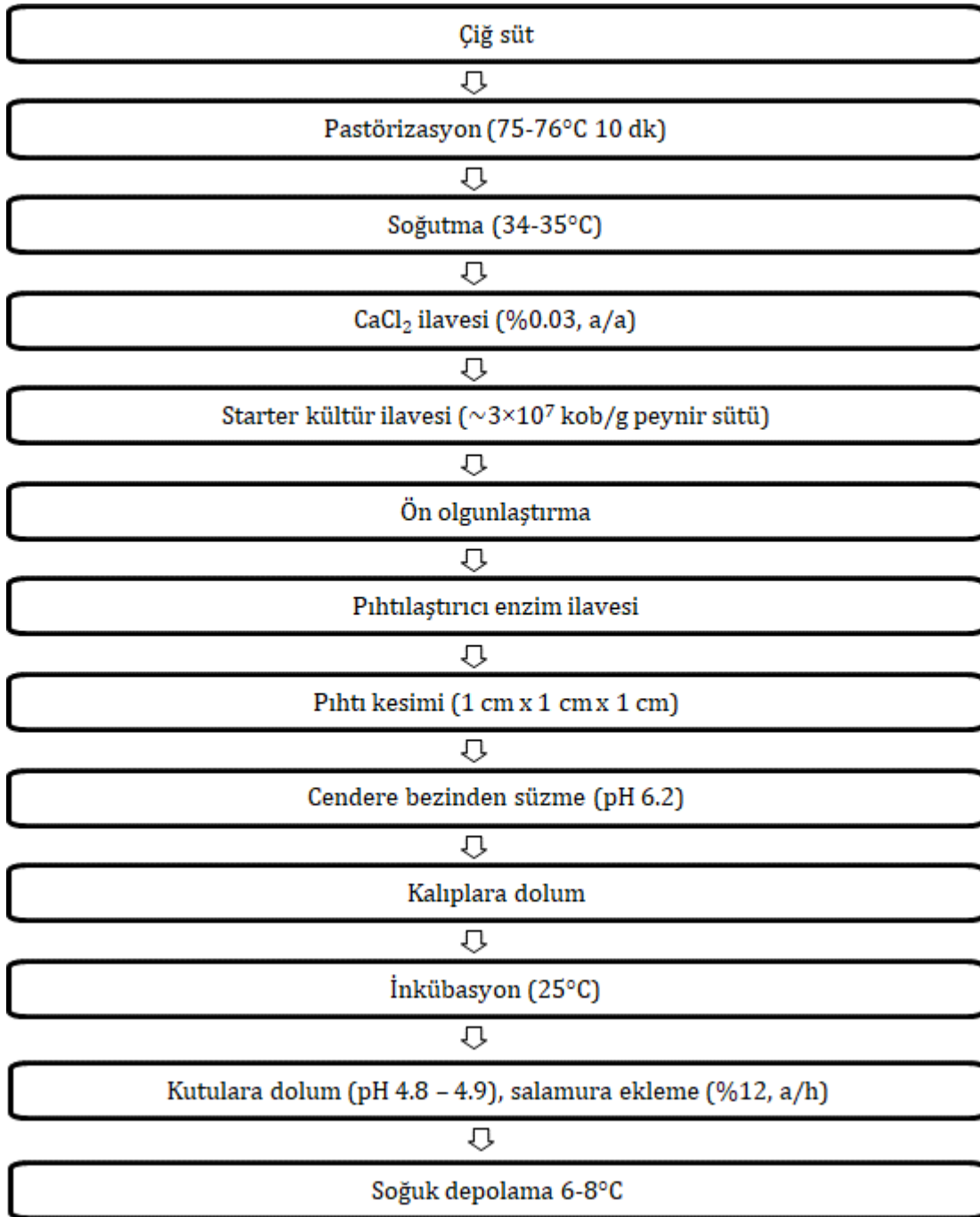
3.2.1. Sütün Konsantre Edilmesi

Sütün konsantrasyonu, Bahçivan Gıda San. ve Tic. A.Ş.'nin üretim tesisinde bulunan pilot ölçekli RO sisteminde (APV-Hansen, İzmir) gerçekleştirilmiştir. Sistem 2 loop ve 6 parça membran ünitesinden oluşmaktadır. RO membranı olarak RO98 pHt™ polipropilen destek materyalli ve poliamid kompozit incefilm Spiral tip membran (Alfa Laval) kullanılmıştır. Ürün giriş sıcaklığı 4-6°C olup sistem çalışma basıncı 25 bar olarak set edilmiştir. Sistem ilk 30 dk kendi içinde çalıştırılıp dengeye gelmesi beklenmiş ve sonrasında retentat çıkıştan alınmıştır. Sütlerin kurumadde oranı yaklaşık 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilerek iki farklı süt konsantresi elde edilmiştir. Konsantrelerin bileşimsel analizi Milkoscan FT120 (Foss Electric, Hillerød, Danimarka) ile kızılötesi analiz cihazı ile üretim sırasında gerekli konsantrasyona erişilip erişilmediği kontrol edilmiştir. Çiğ süt ve konsantre süt numuneleri laboratuvara soğutmalı araçlarla nakledilmiştir.

3.2.2. Peynir Üretimi

Beyaz peynir üretiminde 1.0X (kontrol), 1.5X ve 2.0X konsantre edilmiş sütler kullanılmıştır. Peynir üretimleri Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde laboratuvar ölçekli gerçekleştirilmiştir. Bahçivan Gıda'nın endüstriyel beyaz peynir üretim basamakları temelinde kısmi modifikasyonlarla üretim gerçekleştirilmiştir. Peynir üretim basamakları Şekil 3.1'de verilmiştir. Her üretimde kullanılan peynir sütü önce

tartılmıştır. Daha sonra 75-76°C’de 10 dk pastörizasyon uygulanmış ve hızlıca 34-35°C’ye soğutulan süte CaCl₂ (%0.03, a/a) ilave edilmiş ve karıştırılmıştır. Ardından starter kültür eklenmiştir (~3×10⁷ kob/g peynir sütü). 5 dakika yavaşça karıştırıldıktan sonra 1/10’luk rennet her 1 kg peynir sütü için 260 µL olacak şekilde sütlere eklenmiş ve yavaşça karıştırılmıştır. Belli aralıklarla ilk pıhtı oluşumunun meydana gelip gelmediği kontrol edilmiş, ilk pıhtı görüldükten sonra bu süre kaydedilmiş ve bu sürenin 2 katı bir süre daha beklenilmiştir. Bu süre sonunda, pıhtılaşma kontrol edilmiş ve ideal kesim sıklığına gelen pıhtı 1×1×1 cm boyutlarında olacak şekilde kesim işlemi gerçekleştirilmiştir. Pıhtı kesim sonrası 15 dk dinlendirilmiş ve devamında belirli aralıklarda karıştırılarak pH gelişimi takip edilmiştir. Bu işleme pH 6.2 seviyesine gelene kadar devam edilmiş daha sonra cendere bezinden ön süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Peyniraltı suyunun ayrılmasından sonra teleme endüstriyel kalıplara doldurulmuş ve 25°C’de inkübasyona alınmıştır. Kalıplar belirli aralıklarla ters çevrilmiş ve inkübasyona devam edilmiştir. Peynir pH’sı 4.8-4.9 seviyesine geldiğinde inkübasyon sonlandırılmıştır. Peynirler kalıptan çıkarılmış ve olgunlaşmanın gerçekleşeceği 500 gramlık plastik kaplara alındıktan sonra üzerlerine salamura (%12, a/h) eklenip ağzı hava almayacak şekilde kapatılarak olgunlaşma periyodu için 6-8°C soğuk depolamaya alınmıştır. Depolamanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde ilgili analizler yapılmıştır. Üretim iki paralelli gerçekleştirilmiştir. Peynir üretimi ile ilgili görseller Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.1. Beyaz peynir üretim akım şeması



Şekil 3.2. Peynir üretimine ait görseller

3.2.3. Süt Örneklerine Uygulanan Analizler

3.2.3.1. Temel Bileşen Analizleri ve pH

Süt örneklerinde kurumadde, protein, kül ve asitlik analizleri standart yöntemler ile (Bulat, 2017; Hooi ve ark., 2004), yağ analizi Van Gulik bütirometresi kullanılarak Gerber yöntemi ile belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999). Briks ve kırılma indisi değeri ölçümlerinde dijital refraktometre (RFM 330, Bellingham Stanley Ltd., Birleşik Krallık), pH ölçümlerinde bileşik elektrotlu dijital pH-metre (Radiometer Analytical, Fransa) kullanılmıştır.

3.2.3.2. Mineral Analizi

Süt ve konsantrelerinin mineral içerikleri indüklenmiş eşleşmiş plazma optik emisyon spektroskopisi (inductively coupled plasma – optical emission spectroscopy; ICP-OES) (Agilent 720 series, Agilent Technologies Inc., ABD) ile belirlenmiştir. Mineral (Ca, K, Mg, Na, P) analizi öncesi örnekler buzdolabından çıkarıldıktan sonra 32°C'lik su banyosunda bekletilmiş, karıştırılmış ve analiz için numune alınmıştır (Lauzin ve ark., 2018).

Örnekler daha sonra mikrodalga ünitesinde yaş yakma işlemine tabi tutulmuştur. Yaş yakma işlemi için 0.5 mL örnek üzerine 7 mL %65'lik nitrik asit (Sigma Aldrich) ve 1 mL %30'luk hidrojen peroksit (Sigma Aldrich) eklenmiş ve 50 dk boyunca kademeli yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yakma işlemi sona erdiğinde örnekler 50 mL'lik falkon tüplere alınmış ve üzerlerine toplam tüp içeriği 40 mL olacak şekilde ultra saf su eklenmiştir. Son olarak örnekler filtre kağıdından (S&H Labware 103 slow) süzülerek analize hazır hale getirilmiştir. Mineral analiz ölçümleri; Ca için 422.673 nm, K için 766.491 nm, Mg için 280.270 nm, Na için 589.592 nm ve P için 213.638 nm dalga boylarında alınmıştır (IDF, 2007). Analizlerde kullanılan tüm malzemeler seyreltik nitrik asit ve ultra saf su ile yıkanmış ve kurutulduktan sonra kullanılmıştır.

3.2.3.3. Viskozite Ölçümü

Konsantre sütlerin viskozitelerinin belirlenmesi için Oswald viskozimetresi kullanılmıştır. Örneklerin kapiler boru içerisinde belirlenen iki nokta arasındaki akış süresi kronometre ile ölçülmüştür. Aynı sıcaklıktaki suya ait süre de aynı şekilde kaydedilmiş ve aşağıdaki denklige göre viskozite değerleri hesaplanmıştır (Eşitlik 1).

$$\mu_2 = \frac{\mu_1 \cdot \rho_2 \cdot t_2}{\rho_1 \cdot t_1} \quad (1)$$

μ : viskozite (cP); ρ : yoğunluk (g/mL); t : süre (sn)

3.2.3.4. Renk Analizi

Süt örneklerinde renk analizi, Minolta kolorimetre (CM-3600d model) cihazı kullanarak gerçekleştirilmiştir. Örneklere ait CIE L*, a* ve b* değerleri iki farklı küvet 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. Ölçüm sonucunda süt örneklerine ait toplam renk farklılığı (ΔE^*) hesaplanmıştır. Renk yoğunluğunu ve renk doygunluğunu gösteren Chroma (C^*) ve nesnenin gerçekte algıladığımız rengini belirleyen hue açısı (h^*) değeri de hesaplama ile bulunmuştur. Bu amaçla aşağıda verilen eşitlik 2, 3 ve 4 kullanılmıştır (Zamora ve ark., 2011).

$$\Delta E^* = \sqrt{[(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]} \quad (2)$$

$$C^* = \sqrt{[(a^*)^2 + (b^*)^2]} \quad (3)$$

$$h^* = \tan^{-1}\left(\frac{b}{a}\right) \quad (4)$$

3.2.3.5. Starter Aktivitesi

Starter aktivitesi tayini için ilgili çiğ süt örnekleri önce pastörize edilmiştir. Mezofilik kültürler için 32°C'ye termofilik kültürler için 37°C'ye soğutulmuş ve su banyosunda sıcaklıkları dengeye gelene kadar bekletilmiştir (Sri Lanka, 1990). Her bir örnek aseptik koşullarda 3 adet vialle alınmış ve %3 oranında starter kültür ilave edilmiştir. Bu amaçla a) saf mezofilik Maysa CM41 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) kültür, b) karışık mezofilik Sacco Lyofast MWO031 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) kültür, c) saf termofilik Sacco Lyofast ST060 (*Streptococcus thermophilus*) kültür ve d) mezofilik - termofilik Feta A (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus*) kültürler kullanılmıştır. Aseptik şartlarda pH elektrotları viallere daldırılmış ve ilgili sıcaklıklarda inkübasyon süresince ölçüm alınmıştır. Bu amaçla Datalogger (Nico2000 Ltd, London, Birleşik Krallık) kullanılmış ve 10'ar dakikalık aralıklarla 16-24 sa boyunca pH ölçümü alınmıştır. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmıştır (Bulat, 2017).

3.2.3.6. Rennet ile Koagülasyon Özelliği

Ters ozmoz retentatların rennetleme süreleri Berridge yöntemi (Berridge, 1952) esas alınarak Tabayehnejad, Castillo ve Payne (2012)'e göre yapılmıştır. Bu doğrultuda, pastörize edilmiş (65°C, 30 dk) 5'er mL süt numunesi cam tüplere alınarak su banyosunda 32°C'ye getirilmiş ve 10 dk bu sıcaklıkta tutulmuştur. Daha sonra 1:100 oranında seyreltilmiş 25 µL rennet (Maxiren®, 600 IMCU) süt örneklerine ilave edilmiştir. Rennetin homojen bir şekilde dağılması için sütler vorteks ile yavaşça karıştırılmıştır. Ardından vida kapaklı cam tüp 30° açıyla suda kalacak şekilde 32°C'deki su banyosuna alınmıştır. Cam tüp eksenini etrafında yavaşça çevrilerek tüp yüzeyi gözlenmeye başlanmıştır. Rennetleme süresi pıhtılaşmayı başlatan ilk kumsu taneciklerin görülme süresi olarak kabul edilmiş, bu süre kronometre ile takip edilmiş ve geçen süre kaydedilmiştir (Tabayehnejad, Castillo ve Payne, 2012).

3.2.3.7. Partikül Boyutu Ölçümleri

Ters ozmoz konsantre süt örneklerinin yağ globüllerinin boyut dağılımı ölçümleri için Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜNİTEK)'nde bulunan Mastersizer 3000 cihazı (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Ölçüm metodu için çözücü su seçilmiş ve suya ait refraktif indeks cihaz tarafından 1.33 olarak tanımlanmıştır. Yağ globüllerine ait refraktif indeks ve absorpsiyon indeks değerleri için sırasıyla 1.47 ve 0.01 değerleri atanmıştır. Cihazın dispersiyon bölümüne örnekler otomatik pipet yardımıyla çok küçük miktarlarda laser obscuration değeri %10-12 olana dek eklenmiş daha sonra ölçümler alınmıştır (Reale ve ark., 2020).

3.2.3.8. Zeta Potansiyeli Ölçümleri

Ters ozmoz konsantre süt örneklerinin zeta potansiyeli ölçümleri Hacettepe Üniversitesi HÜNİTEK'te bulunan dinamik ışık saçılması cihazı (Zetasizer Nano ZSP, Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Ölçüm metodu için çözücü su seçilmiş ve suya ait refraktif indeks cihaz tarafından 1.33 olarak tanımlanmıştır. Süt örnekleri ultra saf su ile 1:200 oranında seyreltilmiş, 25°C'de ölçüm alınmıştır. Her bir ölçüm, zeta potansiyeli elde etmek için 3 kez tekrarlanmıştır.

3.2.4. Peynir Örneklerine Uygulanan Analizler

3.2.4.1. Mikrobiyolojik Analizler

Olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde her bir peynir örneği için örnekleme yapılmış ve 10'ar g örnek, 90 mL steril trisodyum sitrat (Sigma-Aldrich) çözeltisi (%2, a/h) ile karıştırılmıştır. Stomacherda 2 dakika homojenizasyon gerçekleştirilmiş ve hazırlanan süspansiyondan serum fizyolojik çözeltisi (%0.85, a/h) ile dilüsyonlar hazırlanmıştır (Bulat, 2017). Starter laktokokların sayımı için M17 agar (Merck) kullanılmıştır. Dökme plak yöntemi kullanılarak ekim gerçekleştirilmiştir. Kültürler 30°C'de 72 saat inkübe edilmiş ve tipik koloniler sayılmıştır. Starter dışı laktobasil sayımı için Rogosa agar (Merck) besiyeri kullanılmıştır. Çift katlı dökme plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Kültürler 30°C'de 5 gün anaerobik şartlarda (Merck Anaerocult A gas pack, Merck, Darmstadt, Almanya) inkübe edilmiştir. Sayımlarda, 30 ve 300 arası koloni olan petriler değerlendirmeye alınmış ve ekim sonuçları log kob/g olarak verilmiştir (Bulat, 2017; Bulat ve Topcu, 2019).

3.2.4.2. Peynir Verimi ve Protein Geri Kazanımı

Peynir üretiminde elde edilen genel verimin (Verim A) hesaplanması için eşitlik 5 kullanılmıştır.

$$Verim A (\%) = \frac{\text{elde edilen peynir miktarı (EEPM) (kg)}}{\text{kullanılan peynir sütü miktarı (KPSM) (kg)}} \times 100 \quad (5)$$

Eşitlik 5 ile hesaplanan verimin %12 kurumadde esas alınarak, peynir sütü kurumaddesi içeriğine göre ayarlanmış verim değerleri (Verim B) eşitlik 6'ya göre hesaplanmıştır.

$$Verim B (\%) = \frac{EEPM (kg)}{KPSM (kg) \times \left(\frac{\text{peynir sütü KM}}{12} \right)} \times 100 \quad (6)$$

Peynirin nem içeriği üretimler arasında farklıklar göstermiştir. Bu sebeple, üretimlerde elde edilen verimleri daha iyi karşılaştırabilmek adına nem değeri ile ayarlanmış verim değerleri hesaplanmıştır (Lauzin ve ark., 2018; Topcu, Bulat ve Özer, 2020). Neme göre ayarlanmış peynir verimi (Verim C) hesabında %50 nem içeriği referans olarak alınmış olup eşitlik 7’de bu değer kullanılmıştır (Fournier, Britten ve Pouliot, 2020). Eşitlik 7’de kalıplardan çıkartılıp plastik kaplara alınan peynirlerin salamura ilave edilmeden önceki nem değerleri esas alınmıştır.

$$Verim C (\%) = \left[\frac{\left(1 - \frac{peynir\ nemi\ (\%)}{peyniraltı\ suyu\ nemi\ (\%)}\right)}{\left(1 - \frac{50}{peyniraltı\ suyu\ nemi\ (\%)}\right)} \right] \times Verim B (\%) \quad (7)$$

Üretimin verimliliğinin bir diğer göstergesi de peynir sütünde bulunan proteinin peynir kitlesinde ne kadar tutulabildiğidir. Bu gösterge protein geri kazanımı (PGK) olarak tanımlanmış olup eşitlik 8 ile hesaplanmıştır.

$$PGK (\%) = 100 \times \left(1 - \frac{peyniraltı\ suyu\ protein\ içeriği\ (\%)}{peynir\ sütü\ protein\ içeriği\ (\%)}\right) \quad (8)$$

Ayrıca kurumaddedeki protein değerleri kullanılarak da üretimlere kurumaddede protein geri kazanımı değerleri (PGK_{KM}) hesaplanmıştır (Eşitlik 9).

$$PGK_{KM} (\%) = 100 \times \left(1 - \frac{A}{B}\right) \quad (9)$$

A: peyniraltı suyunun kurumadde bazında protein içeriği (%)

B: peynir sütünün kurumadde bazında protein içeriği (%)

3.2.4.3. Temel Bileşim Analizleri

Peynir örneklerinde; kurumadde miktarı gravimetrik olarak 103°C'de yapılmıştır (Ardö ve Polychroniadou, 1999; IDF, 1993). pH ölçümlerinde bileşik elektrodlu dijital pH-metre (Radiometer Analytical, Fransa) kullanılarak ölçülmüştür. pH ölçümleri, elektrotların peynir kalıplarına direk daldırılması ile ölçülmüştür. Titrasyon asitliği fenolfitaleyn indikatörü eşliğinde 0.1 N NaOH kullanılarak tespit edilmiştir (Hooi ve ark., 2004). Yağ analizi Van Gulik butirometresi kullanılarak Gerber yöntemi ile belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999). Protein tayini IDF metoduna (1993) göre Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Elde edilen % toplam azotlu madde değeri 6.38 faktörü ile çarpılarak % protein değeri hesaplanmıştır (AOAC, 1990; IDF, 1993). Tuz analizleri peynir içerisindeki tuz seyreltik nitrik asit çözeltisine (1.5 mL konsantre nitrik asit 1L'ye saf su ile tamamlanmıştır) geçirilip 0.1 N AgNO₃ ile elektrotlar arasındaki fark +255 mV değerine ulaşana kadar titre edilmesiyle potansiyometrik olarak belirlenmiştir (Fox, 1963; Ardö ve Polychroniadou, 1999). Kül tayini 550°C'de kül fırınında yapılmıştır (Ardö ve Polychroniadou, 1999; Bradley ve ark., 1992).

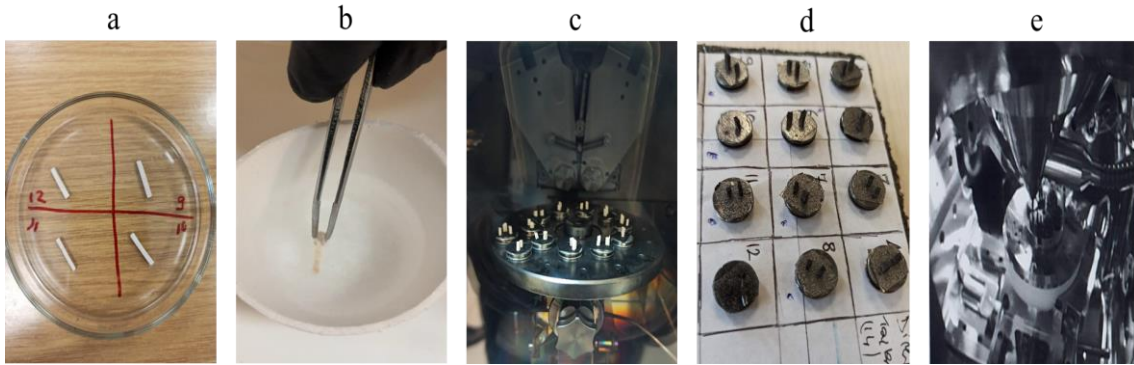
3.2.4.4. Mineral Analizi

Peynir örneklerinde mineral analizi, ICP-OES Analiz cihazıyla IDF 119 (2007) metoduna göre kuru yakma yöntemi esas alınarak yapılmıştır. Analiz için homojen hale getirilen örneklerden krozelere 1 g tartılarak 550°C'de 6 saat kül fırınında yakma gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kül 1 mL nitrik asit çözeltisi (%25, h/h) ile çözündürülmüş ve kroze içeriği ultra saf su ile yıkanarak 25 mL'lik balon jojelere alınmıştır. Balon jojedeki çözelti analiz edilecek elementlerin konsantrasyonlarına göre farklı oranlarda seyreltilmiş ve mineral madde analizleri ICP-OES (720 axial, Agilent Technologies, Avustralya) ile gerçekleştirilmiştir. Analizde Na, K, Ca, Mg ve P elementlerine bakılmıştır. Mineral analiz ölçümleri; Ca için 393.366 nm, K için 766.491 nm, Mg için 279.253 nm, Na için 589.592 nm ve P için 177.434 nm dalga boylarında alınmıştır.

3.2.4.5. Tarama Elektron Mikroskobu (SEM) ile Mikroyapının İncelenmesi

Olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerine ait peynir örneklerinde yapılmıştır. Peynir kalıpları öncelikle bir bıçak ile ikiye kesilmiş daha sonra cerrahi bistirü ile düzgün bir yüzey

oluşturularak bu yüzey çevresinden aynı bistürü ile $1 \times 1 \times 10$ mm boyutlarında parça alınmıştır. Peynir parçaları bir gece boyunca buzdolabında %2.5'lük gluteraldehit (pH 7.2) içinde bekletilerek protein fiksasyonu gerçekleştirilmiştir. Devamında, örnekler %20, %40, %60, %80, %95, %100, %100 ve %100 (30'er dakika) alkol serilerinde bekletilmiştir. Daha sonra 3 kez 15'er dakika kloroform içinde bekletilerek yağlar ekstrakte edilmiştir. Kloroformdan sonra parçalar, tekrar 3 kez %100 alkol içinde 15'er dakika bekletilmiştir. Analiz öncesi yapıda kalan alkolün uzaklaştırılması için örnekler 15 dakika oda sıcaklığına tutulup dondurarak kırma işlemine hazırlanmıştır. Daha sonra parçalar, özel olarak hazırlanmış strafor havuz içinde sıvı azot ortamına alınarak dondurulup metal pensler yardımıyla kırılmıştır. Kırılan örnekler kaplama cihazı (Leica EM ACE 600) ile 15.02 nm Au/Pd kaplandıktan sonra tarama elektron mikroskobu Tescan GAIA3 FIB-SEM sistemi ile 10 kV akımda 1000X, 4000X ve 8000X büyütmede incelenmiştir (Koca, 2002; Oluk, Güven ve Hayaloglu, 2014). Peynir örneklerinin SEM analizine hazırlanışının şekilsel gösterimi Şekil 3.3'te verilmiştir.

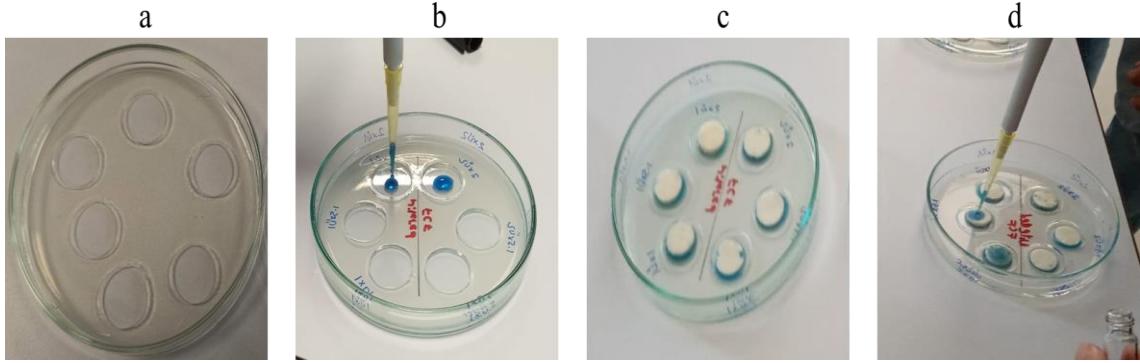


Şekil 3.3. SEM analizi için örnek hazırlanışı a) hazırlanmış kurutulmuş örnekler b) örneklerin sıvı azot ortamında dondurulması c) örneklerin kaplamaya alınması d) Au/Pd kaplanmış örnekler e) SEM içine örneklerin yerleştirilmesi

3.2.4.6. Konfokal Laser Taramalı Mikroskobu (CLSM) ile Mikroyapının İncelenmesi

Peynir örneklerinin mikroyapıları olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerinde konfokal lazer mikroskopisi aracılığı ile incelenmiştir. Önce peynir kalıbının orta kısmından 1 cm çapında silindir kesit çıkarılmış ve sonra jilet yardımı ile bu silindirden 2 mm kalınlığında diskler elde edilmiştir. Elde edilen diskler boyama işlemine hazır hale getirilmiştir. Lipid ve proteinlerin boyanmasında Nile Blue boyasından yararlanılmıştır. 0.1 g/L

konsantrasyonda hazırlanmış Nile Blue boyasının uygulama süresi 15 dakikadır. Lipidler ve proteinler için sırasıyla, uyarım (eksitasyon) dalga boyları 488 ve 633 nm, emisyon dalga boyları ise 528 ve 670 nm olarak seçilmiştir. Petride çukurlar içine konulan örneklerin izlenmesinde Zeiss LSM 510 mikroskop (Carl Zeiss LSM 510 Meta; Carl Zeiss Mikroskopie, Jena, Almanya) ve Plan-Neofluar 20X/0.5 objektif kullanılmıştır (Auty ve ark., 2001; Zamora ve ark., 2007; Liu ve ark., 2014). Peynir örneklerinin CLSM analizine hazırlanışının şekilsel gösterimi Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. CLSM için örnek hazırlanışı a) petriye 2 mm kalınlığında agar dökülüp katılaştıktan sonra kuyucukların açılması b) kuyucuklara boya çözeltisinin dökülmesi c) örneklerin boya çözeltisi üzerine yerleştirilerek alt yüzeyin boyanması d) örneklerin üst yüzeyinin boyanması

3.2.4.7. Proteoliz Düzeyini Belirlemeye Yönelik Analizler

pH 4.6'da çözünür ve çözünmeyen fraksiyon ekstraksiyonu

pH 4.6'da çözünür ve çözünmeyen fraksiyon ekstraksiyonu Kuchroo ve Fox'un (1982) yönteminde bazı modifikasyonlar eklenerek yapılmıştır. Kontrollü bir şekilde ezilerek homojen hale getirilen peynir örneklerinden 7 g alındıktan sonra oda sıcaklığında 35 mL deiyonize su eklenmiştir. Elde edilen karışıma homojenizasyon (12000 rpm x 1 dk) uygulanmış ve homojenizatların pH'sı 2 N HCl veya 2 N NaOH kullanılarak 4.6'ya ayarlanmıştır. Ardından, santrifüj edilerek (5000xg'de 30 dk, +4°C) Whatman No:113 filtre kağıdından süzölmüştür (Bulat, 2017; Bulat ve Topcu, 2019). pH 4.6'da çözünür fraksiyon, pH 4.6'da çözünür azot tayini, %12'lik TCA'da çözünür azot tayini, toplam serbest aminoasit tayini ve RP-HPLC ile peptit profilinin belirlenmesinde kullanılmak üzere ayrılmıştır. Hazırlan örnekler analizlere kadar -80°C'de saklanmıştır. pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyon ise üre-poliakrilamid jel elektroforezi (Üre-PAGE) ve sodyum dodesil sülfat-poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) analizleri için liyofilize edilerek buzdolabında muhafaza edilmiştir.

pH 4.6'da çözünür azot tayini

pH 4.6'da çözünür fraksiyondan alınan örneğin azot içeriği Kjeldahl yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999). pH 4.6'da çözünür azotlu (ÇA) bileşenlere bağlı olgunlaşma indeksi (Oİ) değeri eşitlik 10'a göre hesaplanmıştır:

$$\text{Oİ (pH 4.6'da ÇA)} = \frac{\text{pH 4.6'da ÇA}}{\text{Toplam azot}} \times 100 \quad (10)$$

%12'lik TCA'da çözünür azot tayini

pH 4.6'da çözünür fraksiyonun %24'lük trikloroasetik asit (TCA) (Merck) çözeltisi 1:1 oranında karıştırıldıktan sonra elde edilen çözelti oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiştir. Ardından, çözelti santrifüj edilmiş (10000xg'de 5 dk) ve Whatman No:42 filtre kağıdından süzölmüştür. Ardından süzöntünün azot içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999; Bulat, 2017). %12'lik TCA'da ÇA bileşenlere bağlı Oİ değerlerinin hesaplanmasında eşitlik 11 kullanılmıştır.

$$\text{Oİ (%12'lik TCA'da ÇA)} = \frac{\text{%12'lik TCA'da ÇA}}{\text{Toplam azot}} \times 100 \quad (11)$$

Toplam ve serbest aminoasit tayini

Örneklerdeki toplam serbest aminoasit miktarını Ardö ve Polychroniadou (1999)'a göre trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir. Analiz için ayrılan pH 4.6'da çözünür fraksiyondan 10 µL alınarak deiyonize su ile 1 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen dilüsyondan 0.5 mL alınarak 5 mL 0.1 M borat tamponu (pH 9.5) ve 1 mL TNBS çözeltisi ile karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım 37°C'de 60 dakika bekletildikten sonra reaksiyonu durdurmak için karışıma 1.5 mM Na₂SO₃ içeren 2 mL 0.1 M potasyum fosfat tamponu eklenmiştir. Absorbans ölçümleri UV-Visible Spektrofotometre (Thermo Scientific Evolution 201) ile 420 nm'de alınmıştır. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında 0.05 – 0.5 mM konsantrasyonunda hazırlanan lösin standartları kullanılmıştır. Toplam serbest aminoasit miktarı mg lösin/g peynir cinsinden verilmiştir (Bulat, 2017).

RP-HPLC ile peptit profilinin belirlenmesi

pH 4.6'da çözünür fraksiyon ile deiyonize su kullanılarak hazırlanmış %0.2'lik TFA (trifloroasetik asit, h/h) (Acros Organics) 1:1 oranında karıştırılmış ve ardından vortekslenmiştir. Daha sonra bu karışım santrifüjlenip (20000xg'de 15 dk, 25°C) elde edilen süpernatant analiz için HPLC vialine alınmıştır. Analizlerde, otosampler (AS3000 model), degazer (SCM 1000), gradyent pompa (P4000) ve dedektörden (UV 6000LP DAD) oluşan ThermoFinnigan SpectraSystem HPLC sistemi (ThermoFinnigan Inc., Kaliforniya, ABD) kullanılmıştır. Örnek enjeksiyonu 100 µL ve kolon sıcaklığı 30°C olarak belirlenmiştir. Kromatografik ayırım için Phenomenex Jupiter C18 (250 x 4.6 mm, 5 µm, 300 Å) (Phenomenex, Torrance, Kaliforniya, ABD) RP-HPLC kolonu kullanılmıştır. Mobil faz A ve B için sırasıyla %0.1 TFA içeren deiyonize su ve %0.1 TFA içeren far UV grade asetontiril (Merck) kullanılmıştır. Ölçümler 214 ve 280 nm'de gerçekleştirilmiştir. Veriler ChromQuest 5.0 yazılımı ile değerlendirilmiştir. Elüsyon gradyent olarak gerçekleştirilmiştir. Analiz, Bulat (2017) ve Topçu ve Saldamli (2006) tarafından belirtilen yöntemle yapılmıştır.

Üre-poliakrilamid jel elektroforezi (Üre-PAGE)

Olgunlaşma süresinde peynir örneklerinde meydana gelen proteolizin düzeyinin belirlenmesinde üre-PAGE yöntemi kullanılmıştır. Analiz, Andrews (1983), Shalabi ve Fox (1987) ve Bulat (2011, 2017) ve tarafından belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyon önce liyofilize edilmiştir. Bu örneklerden 10 mg alınmış üzerine 1 mL elektroforez örnek hazırlama tamponu eklenerek çözündürülmüştür. Analizde, standart olarak sodyum kazeinat kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerden 8 µL alınarak jellere yüklenmiştir. Çalışmada, Protean II XL dikey jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Örneklerin jellere yüklenmesinden önce 280 V'da 40 dakika ön yürütme gerçekleştirilmiştir. Örneklerin jelle yüklenmesinden sonra, sıralama jelinde 280 V, ayırma jelinde ise 300 V sabit akım uygulanmıştır. Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jeller, Blakesley ve Boezi (1977)'e göre boyanmıştır. Jellerin taranma işlemi Agfa Arcus 1200 tarayıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Sodyum dodesil sülfat- poliakrilamid jel elektroforezi (SDS- PAGE)

Olgunlaşma boyunca peynir örneklerindeki proteolizin belirlenmesinde SDS-PAGE yöntemi de uygulanmıştır. SDS-PAGE, Hayaloğlu, Topcu ve Koca (2021) ve Laemmli

1970) yöntemlerine uygulanan bazı modifikasyonlarla gerçekleştirilmiştir. 10 mg liyofilize pH 4.6’da çözünmeyen fraksiyonundan alınarak 1 mL örnek hazırlama tamponu (pH 6.8) ile çözündürülmüştür. Analizde, standart olarak yağsız süt tozu kullanılmıştır. Hazırlanan örneklerden 6 µL jellere yüklenmiştir. Çalışmada, Protean II XL dikey jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, Birleşik Krallık) kullanılmıştır. Jellerde ön yürütme gerçekleştirilmiş, devamında örnekler jele yüklenmiş ve 200 V sabit akım uygulanmıştır (Bulat, 2017). Yürütme işlemi tamamlandıktan sonra, jeller tespit çözeltisinde 60 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, jellerin boyanması Blakesley ve Boezi (1977)’e göre yapılmıştır. Jellerin taranma işlemi Agfa Arcus 1200 tarayıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.8. Serbest Yağ Asidi Ekstraksiyonu ve Analizi

Serbest yağ asitleri peynir örneklerinden de Jong ve Badings (1990)’a göre ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla, homojen hale getirilmiş peynir örneklerinden 3 g alınmış ve 8 g susuz sodyum sülfat (Merck) ile homojen bir karışım elde edilinceye kadar bir havan içerisinde ezilmiştir. Devamında, Bulat (2011, 2017)’e göre ekstraksiyon ve analiz yapılmıştır. Ölçümlerde, ThermoScientific TRACE 1300 GC sistemi kullanılmıştır. Sistem; otosampler (ThermoScientific TriPlus RSH) ve alev iyonlaştırma dedektöründen (FID) oluşmaktadır. Analiz sonuçları mg serbest yağ asidi/kg peynir olarak verilmiştir. Analize ait koşullar Çizelge 3.1’de paylaşılmıştır.

Çizelge 3.1. Serbest yağ asiti analizi için kullanılan GC-MS koşulları

Kolon tipi	: TR-FFAP kolon (30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı, Thermo Fisher Scientific, Bellefonte PA, ABD)
Taşıyıcı faz	: Helyum
Akış hızı	: 2 ml/dk
Split oranı	: 10:1
Enjeksiyon sıcaklığı	: 250°C
Dedektör	: FID, 260°C
Ayırım sıcaklığı	: Kolon sıcaklığı 90°C’den başlatılmış ve bu sıcaklıkta 1 dakika bekletildikten sonra 240°C’ye çıkarılmıştır (10°C/dakika) ve bu sıcaklıkta 10 dakika sabit tutulmuştur.

3.2.4.9. Uçucu Bileşiklerin Analizi

Peynir örneklerinde uçucu bileşiklerinin ekstraksiyonu çözücüsüz teknik (SPME- Solid Phase Microextraction) ile gerçekleştirilmiştir. Önce 3 gram peynir örneği 20 mL'lik GC-MS viallerine alınmıştır. İç standart olarak, 20 ppm'lik 80 µL 2-metil-3-heptanon ve 2-metil pentanoik asit (200 ppm 80 µL) eklenmiştir. Hava almayacak şekilde vialler kapatılmıştır. SPME fiber olarak DVB/CAR/PDMS (50/30 µm, 1 cm stbalefleks fiber, divinilbenzen/karboksen/polidimetilsiloksan, Supelco, Bellefonte, Pensilvanya, ABD) kullanılmıştır. Fiber, dengeye getirilmiş vial içinde 30 dakika tepe boşluğunda tutulmuş (45°C'de) ve uçucu maddelerin adsorplanması sağlanmıştır (Bulat ve Topcu, 2020). Tanımlama için WILEY, NIST kütüphaneleri ve dış standart kullanılmıştır. Alıkonma indeks hesaplamalarında C8-C20 alkan standardı (Supelco, Bellefonte, Pensilvanya, ABD) kullanılmıştır. Sonuçlar eşitlik 12 kullanılarak µg uçucu bileşen/kg peynir şeklinde verilmiştir. Analiz Bulat (2017)'a göre yapılmıştır. Analiz koşulları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

$$C_i = \frac{A_i \times C_{std} \times RF \times 1000}{A_{std} \times m} \quad (12)$$

- C_i : bileşiğin konsantrasyonu (µg/kg)
 C_{std} : iç standart konsantrasyonu (µg/ml)
 A_i : bileşiğin alanı
 A_{std} : iç standart alanı
 m_{std} : iç standart miktarı (ml)
 m : örnek miktarı (g)

Çizelge 3.2. Uçucu bileşiklerin analizi için kullanılan GC-MS koşulları

Desorpsiyon	: SPME fiber 260 °C'de 5 dk tutulmuştur.
Enjektör	: Splitless mode
Dedektör	: ISQ-QD MS
Kolon	: TR-WaxMS kolon (60 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı, Thermo Fisher Scientific, Bellefonte PA, ABD)
Taşıyıcı gaz	: Helyum, 1 mL/dk akış hızında
Kütle aralığı	: 25-350 m/z (kütle/yük)
Sıcaklık programı	: 40 °C'de 10 dakika beklemenin ardından, 5 °C/dk hızla artarak 250°C'ye çıkarılmış ve 10 dk bu sıcaklıkta bekletilmiştir.
İyon kaynağı sıcaklığı	: 260 °C

3.2.4.10. Organik Asit ve Şeker Analizi

Organik asit ve şeker analizi için kabaca parçalanmış peynir örneklerinden 3 g alınarak 30 mL 0.013 N H₂SO₄ eklenmiş ve orta hızda 3 dk homojenize edilmiştir (Heidolph, Silent Crusher M). Daha sonra 4-6 °C’de 15000xg’de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Yağ tabakası uzaklaştırılmış ve süpernatant 0.45 µm’lik şırınga filtreden geçirilerek 20 µL örnek HPLC’ye enjekte edilmiştir (Bulat, 2017; Bulat ve Topcu, 2020). Analizde ThermoFinnigan SpectraSystem HPLC sistemi kullanılmıştır. Sistem; gradyent pompa (P4000 model), otosampler (AS3000 model) ve dedektörden (UV6000 model Photo-diode Array Dedector (PDA) oluşmaktadır. Şeker analizi için ayrıca sisteme refraktif indeks (RI) dedektörü (Shodex RI-101, Showa Denko, NY, ABD) bağlanmıştır. Mobil faz olarak deiyonize suda hazırlanmış 0.013 N H₂SO₄ kullanılmıştır. Analizler izokratik olarak gerçekleştirilmiştir (Bulat ve Topcu, 2020). Asetik asit, formik, laktik, pirüvik ve sitrik ölçümleri 210 nm, orotik ve ürik asit ölçümleri 280 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Ayırmada, birlikte çıkan organik asit piklerinin hesaplanması Zeppa, Conterno ve Gerbi (2001)’ya uygun olarak yapılmıştır. Organik asit ve şeker analizinde miktarların belirlenmesi ve tanımlanmasında Sigma, Fluka veya Merck markalı yüksek saflıkta standartlar kullanılmıştır. Analiz koşulları Çizelge 3.3’te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Organik asit ve şeker analizi için kullanılan HPLC koşulları

Kolon tipi	: Rezex ROA H+ kolon (300x7.8 mm. ID) (Phenomenex, ABD)
Kolon sıcaklığı	: 65°C
Mobil faz	: 0.013 H ₂ SO ₄
Akış hızı	: 0.50 ml/dk
Dedektör	: PDA 210 nm ve 280 nm, organik asit analizi için
Dedektör	: RI, şeker analizi için

3.2.4.11. Tekstürel Analizler

Peynir örneklerinin olgunlaşma boyunca sertlik, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik özellikleri tekstür profil analizi (TPA, TA Plus Texture Analyzer, Ametek Lloyd Ins. Ltd., Birleşik Krallık) cihazı kullanılarak incelenmiştir (Topçu ve Saldamli, 2006; Bulat, 2017). Peynir numuneleri 25 mm çapa sahip silindirler şeklinde kesilmiş ve bu silindirlerden 20 mm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kullanılan silindirik probun çapı 10 mm olup, prob hızı 0.5 mm/s olarak ayarlanmıştır. Tekstür analizinde arka arkaya iki

sıkıştırma işlemi uygulanmış ve sıkıştırma oranı %33 olarak belirlenmiştir. Analizler ortam sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.12. Duyusal Değerlendirmeler

Beyaz peynirlerin duyusal değerlendirilmesi 5 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Peynirler, görünüş, yapı, koku, tat, toplam kabul edilebilirlik ve acılık derecesi açısından EK 1.1’de verilen duyusal değerlendirme puanları ile değerlendirilmiştir. Hedonik test tekniği toplam kabul edilebilirlik düzeyleri için uygulanmıştır. Peynirlerin acılık düzeyleri 4 puan üzerinden değerlendirilmiştir ve 0 puan acılaşmanın olmadığını ifade etmekte iken 4 puan acılaşmanın maksimum olduğunu ifade etmek için kullanılmıştır.

3.2.5. İstatistiksel Analizler

Çalışmada elde edilen verilerin analizinde SPSS 16.0 bilgisayar programı kullanılmıştır. İstatistiksel analizler için öncelikle Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak verilerin normal dağılım gösterip göstermediği belirlenmiştir. Bu durumun belirlenmesinin ardından, varyansların homojenliği Levene testi ile incelenmiştir. Varyanslar arasındaki farklılığın önem kontrolü için ise ANOVA kullanılmıştır. Varyans çözümleme sonuçları, Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak $P < 0.05$ önemlilik düzeyinde değerlendirilmiştir.

Uçucu bileşiklere ait veriler için Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) Solo 8.1 (Eigenvector Research, Inc.) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İlgili verilere önce ön işlem uygulanmıştır (mean center). Bu şekilde proses edilen verilere PCA uygulanmıştır. Peynirlerin pH 4.6’da çözünür fraksiyonlarından elde edilen RP-HPLC kromatogramlarına ait verilere de PCA uygulanmıştır. Bu amaçla, HPLC verileri alıkonma süreleri esas alınarak 1’er dakikalık sınıflara ayrılmıştır. Bu ayırım yapılırken alıkonma süreleri Excel’de önce “YUVARLA” formülü kullanılarak tam sayılara yuvarlanmıştır. İlgili dakika aralığında tespit edilen piklerin alanı toplanarak o dakikaya ait pik alanı hesaplanmıştır. Bu hesaplama RP-HPLC kromatogram verilerine “ÇOKETOPLA” formülü uygulanarak yapılmıştır. Değerlendirmede 6. ve 90. dakika arasındaki kromatogramlar kullanılmıştır. Daha sonra Solo 8.1 programı kullanarak verilere ön işlem (mean center) uygulanmış ve devamında PCA analizi yapılmıştır.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1. Sütlerde Yapılan Analiz Sonuçları

Beyaz peynir üretiminde kullanılacak olan 1.0X (kontrol), 1.5X ve 2.0X konsantre edilmiş sütlerin analizleri yapılarak peynir üretim için gereken üretim reçetesinin planlanmasına olanak sağlanmıştır. Analiz sonuçları ilgili başlıkların altında aşağıda verilmiştir.

4.1.1. Temel Bileşen Analizleri, pH, Viskozite ve Mineral Analizleri

Ters ozmoz sistemi kullanılarak sütün konsantrasyonu 1.5 ve 2.0 kat artacak şekilde üretimler gerçekleştirilmiştir. Retentat ve sütün (kontrol) genel bileşimi ve bazı fiziksel özellikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Sütün bileşenleri ve toplam kurumadde içerikleri incelendiğinde gerçekleştirilen membran filtrasyon işleminin yaklaşık 1.45 ve 2.23 kat konsantrasyon faktörü ile gerçekleşmiş olduğu görülmektedir. Ancak tez kapsamında 1.5X ve 2.0X olarak ifade edilmiştir. Süt kompozisyonunun süt pH'sını etkilediği bilinmektedir. Ayrıca uygulanan işlem süreçleri ve buna bağlı olası mikrobiyal faaliyetler pH değerini etkileyebilmektedir. Konsantre sütlerin pH değerleri kontrol sütlerden daha düşük bulunmuştur. Konsantrasyon faktörü arttıkça retentatın pH değeri düşmüştür. Ters ozmoz ile sütün toplam kurumadde içeriğinin artırılması ile protein ve mineral miktarlarındaki artış sütün pH'sının düşmesine neden olabilmektedir (Kaw, 1998). Ayrıca, çözünebilir kalsiyum fosfatın bir kısmının kazein miselinde çökmesi ve ardından gelişen fosforik asit ayrışmasının da pH düşüşünü etkilediği bildirilmiştir (Syrios ve ark., 2011; Lauzin ve ark., 2018). Kaw (1998), başlangıç pH'sı 6.65 olan yağlı sütlerin ters ozmoz ile 2.5 kat konsantre edilmesi ile pH'nın 6.30'a düştüğünü belirtmiştir.

Konsantrasyonun artmasına bağlı olarak kurumadde miktarı artışı ters ozmoz konsantre sütlerde beklenen bir durumdur. Protein, yağ, laktoz ve dolayısıyla toplam kurumadde (TKM) içeriği konsantrasyon faktörüne göre artmıştır. de Boer ve Nooy (1980), 2 kat konsantre sütlerde %24.69, Agbevavi, Rouleau ve Mayer (1983), 2.1 kat konsantre sütlerde ise %25.62 kurumadde içeriği tespit etmişlerdir. Kaw (1998) TO ile 1.5X ve 2.0X konsantre ettiği yağlı sütlerde sırasıyla %19.08 ve %25.56, yağsız sütlerde ise %13.25 ve %17.06 kurumadde içeriğine ulaşmıştır. Hydamaka, Wilbey ve Lewis (2000) ise yağlı

sütlerin ters ozmoz ile 2.5X konsantre edilmesiyle kurumadde içeriğini %30'a kadar yükseltmişlerdir. Lauzin ve ark. (2018) TO ile 2.5 kat konsantre ettikleri yağsız sütlerde %22.08 kurumadde içeriği raporlamışlardır. Sørensen ve ark. (2019) TO ile 1.5 ve 2.0 kat konsantrasyon ile retentatlarda sırasıyla %13.68 ve %16.90 kurumaddeye erişmiştir. Elde edilen retentların protein ve yağ içerikleri beklendiği üzere konsantrasyon faktörüne paralel olarak artış göstermiştir. Ters ozmoz işleminde membran laktozu ve mineral maddeleri tuttuğundan, bu bileşenlerin miktarı da ultrafiltrasyondan farklı olarak ters ozmoz ile artmıştır (Kaw, 1998). Bu bileşen değerleri de daha önce sütün TO kullanılarak konsantre edildiği çalışmalarla uyumludur. de Boer ve Nooy (1980) 2.0 kat konsantre edilen sütlerde %7.75 yağ, Agbevavi, Rouleau ve Mayer (1983) sütün yaklaşık 2.1 kat konsantrasyonu sonucu %6.60 protein, %7.54 yağ ve %8.20 laktoz, Kaw (1998) 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilen yağlı sütlerde sırasıyla %5.00 ve %6.73 protein ile %6.1 ve %8.2 yağ, yağsız sütlerde ise %4.86 ve %6.34 protein, Hydamaka, Wilbey ve Lewis (2000) 2.5 kat konsantre edilen retentatlarda %7.9 protein, %8.0 yağ ve %12.0 laktoz, Lauzin ve ark. (2018) 2.5 kat konsantre edilmiş yağsız sütlerde % 7.10 protein ve %12.27 laktoz, Sørensen ve ark. (2019) 1.5 ve 2.0 kat konsantre ettikleri yağsız süt retentlarında sırasıyla %5.79 ve %7.42 protein, Lauzin ve ark. (2019) 2.5 konsantre edilen yağsız sütlerde %7.51 protein, Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot (2019) %5, %7, %9 ve %11 protein oranına konsantre ettikleri yağsız süt retentatlarında sırasıyla %7.14, %9.94, %12.69 ve %15.69 laktoz, Lauzin, Pouliot ve Britten (2020) 2.1 kat konsantre edilmiş yağsız sütlerde %6.84 protein ve %10.15 laktoz oranı bildirmişlerdir. Süt örneklerinde konsantrasyon oranı artışı ile titrasyon asitliğinin arttığı gözlenmiştir. Kontrol sütte %0.17, 1.5 kat konsantre retentatta %0.27 ve 2.0 kat konsantre retentatta ise %0.40 olarak tespit edilmiştir. Süt içeriğindeki fosfat, sitrat ve protein miktarının konsantrasyonla artışı, sütteki asitlik miktarının artışına neden olabileceği düşünülmüştür.

Kurumadde artışına benzer şekilde çözünmüş kurumadde miktarı da konsantrasyon artışına paralel olarak artış göstermiştir. 1.0X, 1.5X ve 2.0X sütlere ait 20°C'deki briks değerleri sırasıyla 10.00°B, 15.05°B ve 23.40°B ve kırılma indisi (Kİ) değerleri ise 1.3478, 1.3558 ve 1.3696 olarak belirlenmiştir. Konsantrasyon işlemi ile kurumadde miktarlarının artışına paralel olarak suda çözünen bileşenlerin miktarı hakkında bilgi veren brikse değerlerinde de beklendiği gibi artış görülmüştür. Sütün kırılma indisi değerine boyutları 0.1 µm'den büyük olan yağ globüllerinin, hava kabarcıklarının ve laktoz kristallerinin etkisi olmadığı, kazein misellerin de çoğu 0.1 µm'den büyük olsa da

homojen olmadıkları için kırılma indisi değerini etkilediği bilinmektedir (Walstra, Wouters ve Geurts, 2006). Yağsız süt ultrafiltrasyon ile 10 g/100 mL ile 30 g/mL arasında çeşitli oranlarda konsantre edilmiş ve kırılma indisi değerleri 1.35 ile 1.39 arasında değişiklik göstermiştir. Konsantrasyon boyunca kırılma indisi değerinin protein içeriği ile %98, toplam kurumadde içeriği ile %99 korelasyonu olduğu bildirilmiştir (Covacevich ve Kosikowski, 1977).

Süt örneklerinin % kül içerikleri konsantrasyona bağlı olarak artış göstermektedir. Retentatların kül içeriğindeki artış, mineral maddelerin konsantrasyonunu göstermektedir. Lauzin ve ark. (2018, 2019) TO ile 2.5 kat konsantre ettikleri yağsız pastörize sütlerde %1.634 ve %1.830, Lauzin, Pouliot ve Britten (2020) de 2.1 kat konsantre edilen sütlerde ise %1.53 kül içeriği tespit etmişlerdir. Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot (2019) ise %5, %7, %9 ve %11 protein içeriğine ulaşana dek TO ile konsantre ettikleri yağsız pastörize sütlerde sırasıyla %1.22, %1.66, %2.13 ve %2.34 kül içeriği bildirmişlerdir. Ters ozmoz işleminde divalent iyonların büyük bir kısmı monovalent iyonların ise birçoğu membran tarafından tutulmaktadır, bu sebeple ters ozmoz işleminde ultrafiltrasyon işleminin aksine retentatlardaki kül içeriğinin konsantrasyon oranına paralel bir şekilde artış gösterdiği bilinmektedir.

Kontrol süt ve konsantre sütlerin viskozitelerinin belirlenmesi için Oswald viskozimetresi kullanılmıştır ve viskozite değerleri hesaplanmıştır. Viskozite konsantrasyon artışından ciddi şekilde etkilenmektedir (Çizelge 4.1). Konsantrasyon farkına bağlı olarak viskozite artışı gözlemlenmiştir. Ters ozmoz konsantre sütlerdeki yüksek viskozite, yağsız süt ve ultrafiltre konsantre süttten daha fazla laktoz ve mineral madde içeriğine sahip olmasının bir sonucudur (Lauzin ve ark., 2018; Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019). Konsantre sütlerdeki viskozite artışı peynir yapım mekanizmasını etkilediği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Schorsch, Jones ve Norton, 2002). Ayrıca; başta pompalar, seperatör ve pastörizasyon ünitesi olmak üzere geleneksel beyaz peynir üretim hattının konsantre süttün işlenmesine uygunluğunun belirlemek adına retentatların viskozite değerini belirlemek önemlidir.

Çizelge 4.1. Retentat ve sütlerin genel bileşimi

	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
<i>pH</i>	6.72 ± 0.14	6.55 ± 0.03	6.50 ± 0.02
<i>TKM%</i>	12.21 ± 0.04	17.59 ± 0.02	27.23 ± 0.37
<i>Protein%</i>	3.25 ± 0.01	4.60 ± 0.10	7.22 ± 0.15
<i>Yağ%</i>	3.64 ± 0.04	5.22 ± 0.01	8.23 ± 0.01
<i>Laktoz%</i>	4.33 ± 0.06	6.54 ± 0.00	10.43 ± 0.00
<i>Laktik asit%</i>	0.17 ± 0.00	0.27 ± 0.00	0.40 ± 0.00
<i>Kül%</i>	0.75 ± 0.00	1.12 ± 0.00	1.65 ± 0.01
<i>Briks (°B)</i>	10.00 ± 0.00	15.05 ± 0.07	23.40 ± 0.14
<i>Kırılma indisi</i>	1.3478 ± 0.0000	1.3558 ± 0.0002	1.3696 ± 0.0002
<i>Viskozite (cP)</i>	1.91 ± 0.04	3.03 ± 0.00	4.69 ± 0.10

Retentat ve süt örneklerinin mineral kompozisyonu Çizelge 4.2’de verilmiştir. Bütün minerallerin miktarlarının ve toplam mineral içeriğinin konsantrasyon faktörü ile doğru orantılı olarak arttığı gözlemlenmiştir. Sütler arasındaki bu farklılıklar istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Lauzin ve ark. (2018) de benzer şekilde TO konsantrelerde, Ca, K, Mg, Na ve PO_4 konsantrasyonlarını önemli ölçüde yağsız sütlerden daha yüksek konsantrasyonlarına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca yine çözünür tuzların konsantrasyonlarının tümü ve koloidal fazda kalsiyum yağsız sütlerden daha yüksek konsantrasyonlarda tespit edilmiştir ($P<0.05$).

Çizelge 4.2. Ters ozmoz konsantre sütlerin konsantrasyona bağlı mineral kompozisyonu

Mineral	1.0X	1.5X	2.0X
Ca (mg/kg)	1195.64 ± 8.68	1578.65 ± 14.66	2304.86 ± 17.06
K (mg/kg)	1448.11 ± 10.60	2204.10 ± 21.52	3278.74 ± 34.26
Mg (mg/kg)	149.94 ± 1.91	200.90 ± 4.27	281.08 ± 4.84
Na (mg/kg)	501.70 ± 4.07	790.46 ± 8.74	1087.13 ± 10.16
P (mg/kg)	910.48 ± 6.01	1278.38 ± 19.98	1995.98 ± 33.52
Toplam (mg/kg)	4205.87 ± 17.68	6052.49 ± 53.42	8947.79 ± 80.19

4.1.2. Renk Analizleri

Süt kendine özgü karakteristik bir renge sahiptir. Bu renk hayvanın cinsine, beslenme şekline ve sezona göre farklılıklar gösterebilir (Ugarković ve ark., 2020). Sütün doğal rengi, ışığın dağılmış yağ kürecikleri, kalsiyum kazeinat ve kalsiyum fosfat tarafından yansımından kaynaklanır. Ayrıca, sütte suda ve yağda çözünen olmak üzere iki farklı sınıf pigment vardır. Yağda çözünen karetonoid grubu pigmentlerdir ve yağlı sütlerdeki sarımsı rengin sebebidirler (Chudy ve ark., 2020). Süt örneklerine ait renk analiz sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Örneğin açıklığı ve koyuluğunun bir ölçüsü olan L^* değeri, TO retentatlarında kontrol süte göre anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). CIE renk koordinat düzleminde kırmızılık ve yeşillik eksenini belirten a^* değeri ise 2.0X retentatta diğer örneklerle göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Sarılık-mavilik eksenini belirten b^* değeri ise konsantrasyona bağlı olarak artmakla birlikte, örnekler arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Negatif b^* değeri mavi iken, pozitif b^* değeri sarıyı temsil etmektedir. Konsantrasyon arttıkça artan b^* değeri örneklerdeki sarılığın artışının göstergesidir. Konsantrasyona bağlı olarak artan yağ oranı ve β -karoten miktarı retentatlardaki yüksek b^* değerinin sebebidir. Otlama döneminde, taze otlardaki yüksek karetonoid konsantrasyonunun Jersey sütlerindeki yüksek b^* değerinin sebebi olduğu düşünülmüştür (Ugarković ve ark., 2020).

Hesaplamasında b^* değeri kullanılan chroma değeri ve hue açısı da üç örnek için anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Chroma değeri konsantrasyona faktörüne bağlı olarak artmaktadır. Hue açısı 180° 'de yeşile yakınsarken 90° 'de sarıya yaklaşmaktadır (Ugarković ve ark., 2020). Kontrol süt örneğinde 172.13° olan hue açısı, 1.5X retentatta 130.40° 2.0X'de 113.72° ölçülmüştür. Konsantrasyon arttıkça hue açısında gözlenen bu değişim, b^* değerindeki artışla örtüşmektedir. ΔE^* değeri, bir örnekteki referansa göre renk değişiminin göstergesidir. 1.5X retentat ve 2.0X retentat ΔE^* değerleri anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Özetle; TO konsantrasyon işlemi, sütün renginde anlamlı derecede farklılara sebep olmakla birlikte bu farklılıkların boyutu konsantrasyon faktörü ile doğru orantılı olarak değişme eğilimindedir.

Çizelge 4.3. Süt ve retentatların renk analizi

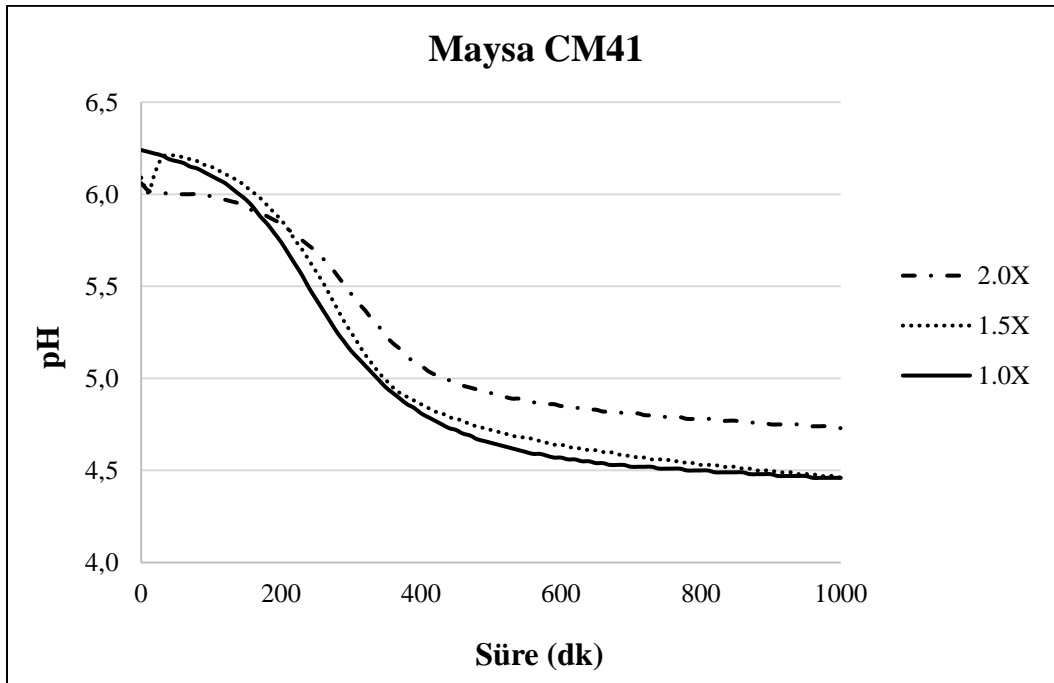
	L*	a*	b*
1.0X	76.99 ± 0.35 ^a	-2.29 ± 0.03 ^a	0.32 ± 0.03 ^a
1.5X	79.04 ± 0.60 ^b	-2.22 ± 0.05 ^a	2.60 ± 0.11 ^b
2.0X	79.20 ± 0.32 ^b	-2.08 ± 0.06 ^b	4.75 ± 0.28 ^c
	C*	h	ΔE*
1.0X	2.31 ± 0.03 ^a	172.13 ± 0.82 ^a	-
1.5X	3.42 ± 0.10 ^b	130.40 ± 0.89 ^b	3.10 ± 0.38 ^a
2.0X	5.18 ± 0.28 ^c	113.72 ± 0.69 ^c	4.96 ± 0.31 ^b

^{a-c} Farklı üst simge harflere sahip aynı sütündeki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

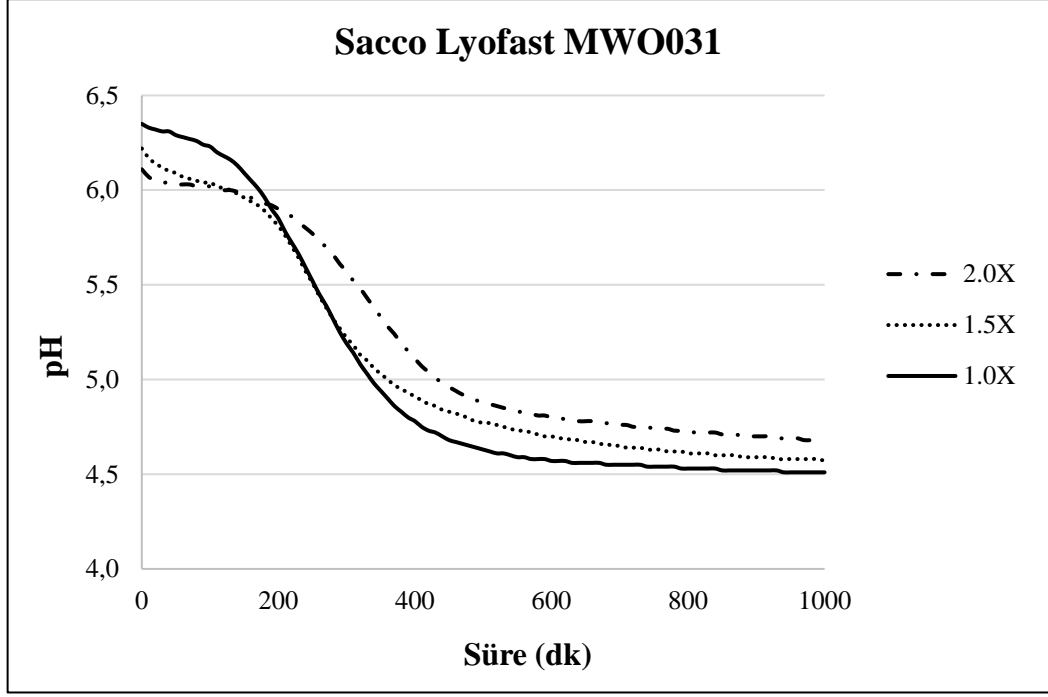
4.1.3. Starter Aktivitesi

TO sütlerde konsantrasyon artışına bağlı olarak artan ozmotik basıncın starter kültür gelişimine engel olabileceği bir risk olarak değerlendirilmiştir (Fox ve ark., 2017). Yüksek tamponlama kapasitesi, kaliteli peynir üretimi için optimum pH'ya ulaşmayı zorlaştırabilir (Tamime ve Kirkegaard, 1991). Bu sebeple konsantre sütlerde starter aktivitesinin belirlenmesi önemlidir. TO konsantrelerinde starter gelişimleri öncelikle, mezofilik saf (Maysa CM41 - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), karışık (Sacco Lyofast MWO031 - *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*) ve termofilik saf (Sacco Lyofast ST060 - *Streptococcus thermophilus*) kültürlerde denenmiştir. Saf mezofilik kültürde 1.0X ve 1.5X konsantre sütler benzer pH düşüş profiline sahiptir. 2.0X retentatlarda ise pH gelişimi daha yavaş gerçekleşmiştir. pH 4.8'e 1.0X, 1.5X ve 2.0X sütlerde sırasıyla 400., 430. ve 720. dakikada ulaşılmıştır (Şekil 4.1). Mezofilik karışık kültürlerde ise en hızlı asitlik gelişimi 1.0X sütlerde, en yavaş asitlik gelişimi 2.0X ters ozmoz retentatlarda, 1.5X ters ozmoz retentatlarda ise ilk ikisinin arasında meydana gelişmiştir. Karışık mezofilik kültürde pH 4.8'e ulaşma süreleri 1.0X, 1.5X ve 2.0X sütlerde sırasıyla 390, 470 ve 600 dakika olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Saf termofilik kültürlerde de benzer şekilde sütün konsantrasyonu arttıkça starter aktivitesi yavaşlamaktadır. Kontrol sütlerinde düşüş trendi 180. dakikada başlamışken, konsantre sütlerde 250. dakikadan itibaren pH düşüşünde artış eğilimi başlamıştır. 1.0X

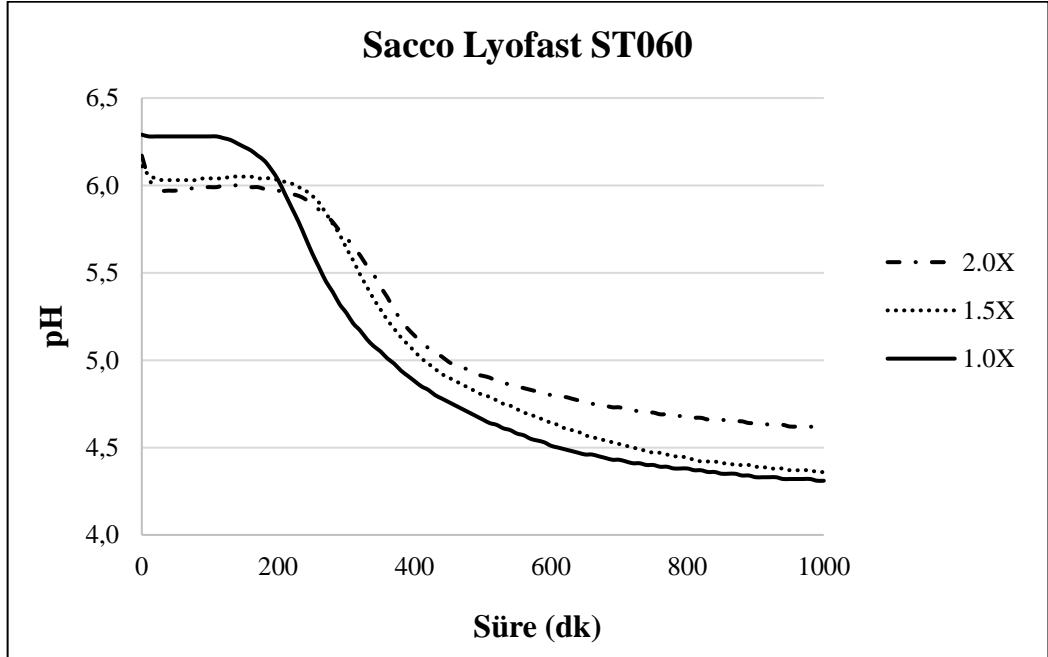
kontrol sütlerde pH 4.8'e ulaşmak için gereken süre 430 dakika, 1.5X ve 2.0X ters ozmoz konsantre sütlerde 500 ve 600 dakikadır (şekil 4.3). Hem mezofilik hem de termofilik kültürlerde pH gelişiminin gözlenmesinden sonra her iki grubu da içeren Feta A (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus*) kültüründe de denemeler gerçekleştirilmiştir. Feta A kültürü kullanıldığında da konsantre sütlerde asitlik gelişimi daha yavaş gerçekleşmiştir. Genel olarak söylenebilir ki, ters ozmoz ile peynir sütünün konsantre edilmesi starter gelişimini etkilemektedir. Ancak, yeterli süre beklendiğinde konsantre sütlerde de pH 4.5-4.6'nın altına dşlebildiği görülmüştür (şekil 4.4). Bu bilgiler ışığında, yapılan üretimlerde klasik Bulgar tipi beyaz peynir üretimi yerine endüstride yaygın olarak kullanılan pıhtıda asit gelişiminin gerçekleştiği yöntemin kullanılmasına karar verilmiştir. Ayrıca, pH gelişimi açısından starter kültürler arasında büyük farklılıklar gözlenmediği için, yüksek proteolitik aktiveteye sahip suşların (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Lactobacillus helveticus*) lezzet ve aromaya olumlu katkıları sebebiyle üretimlerde Feta A kültürünün kullanılmasına karar verilmiştir.



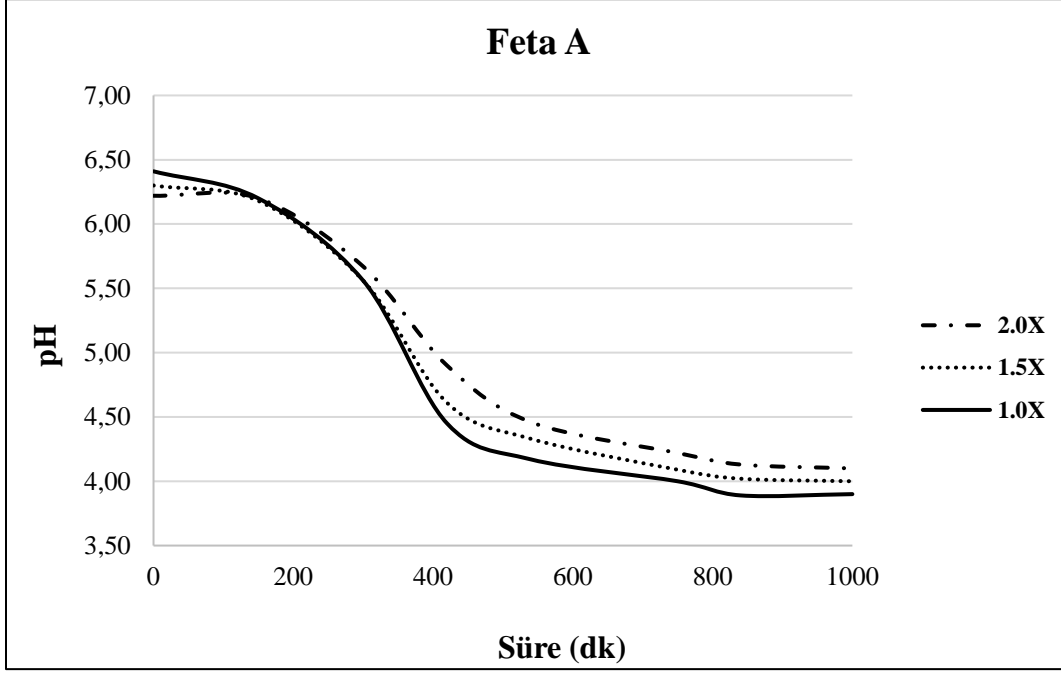
şekil 4.1. Saf mezofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi



Şekil 4.2. Karışık mezofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi



Şekil 4.3. Saf termofilik kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi

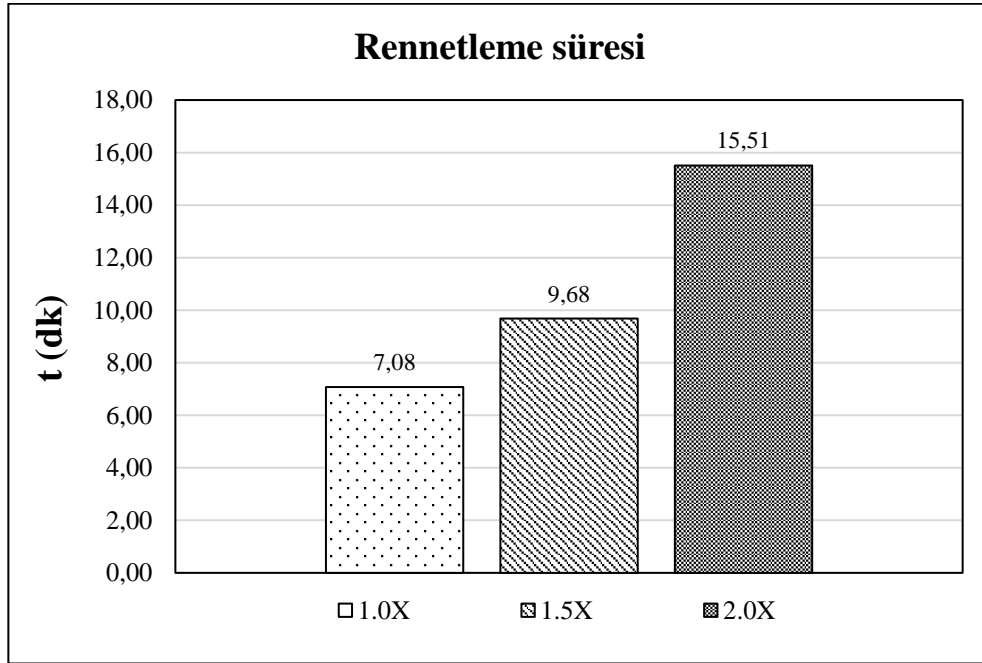


Şekil 4.4. Peynir üretiminde kullanılan karışık kültürün TO konsantrelerinde ve kontrol sütte zamana bağlı pH gelişimi

4.1.4. Rennet ile Koagülasyon Süresi

Şekil 4.5'te ısı işlem uygulanmış (65°C 30 dk) farklı konsantrasyondaki ters ozmoz sütlerin rennetleme süreleri verilmiştir. Rennetleme süresinin konsantrasyon yükseldikçe arttığı görülmüştür. Elde edilen bu sonuç literatürde TO kullanılarak elde edilen konsantre sütlerin rennetleme zamanı ile paralellik göstermektedir (Lauzin ve ark., 2018; Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). Sørensen ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada ters ozmoz retentatlarda konsantrasyonun rennetleme süresine etkisini incelemiştir. 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerde 1.5 kat konsantre edilenlere göre rennetleme süresinin geciktiği tespit edilmiştir. 0.04 IMCU rennet konsantrasyonunda 1.5 kat konsantre edilmiş sütlerde 22.2 dakika iken 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerde rennetleme süresi 27.6 dakikaya uzamıştır. 0.05 IMCU rennet konsantrasyonunda ise 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerde rennetleme zamanı sırasıyla 16.9 ve 21.8 dakika olarak tespit edilmiştir. Rennetleme özellikle UF konsantrelerde oldukça fazla çalışılmış bir konu olup, UF konsantrelerinde rennetleme zamanının değişmediği veya azaldığı tespit edilmiştir (Sandra ve ark., 2011; Soodam ve Guinee, 2018). TO konsantrelerinde ise tam tersi bir durum gözlenmektedir. Bu durumun olası sebebi olarak TO konsantrelerinde bulunan yüksek iyonik güç ve yüksek viskozitenin etkili olduğu düşünülmektedir. Kazein miktarının ve dolayısıyla enzim kinetiğine göre çarpışma ihtimalinin yüksek olmasına

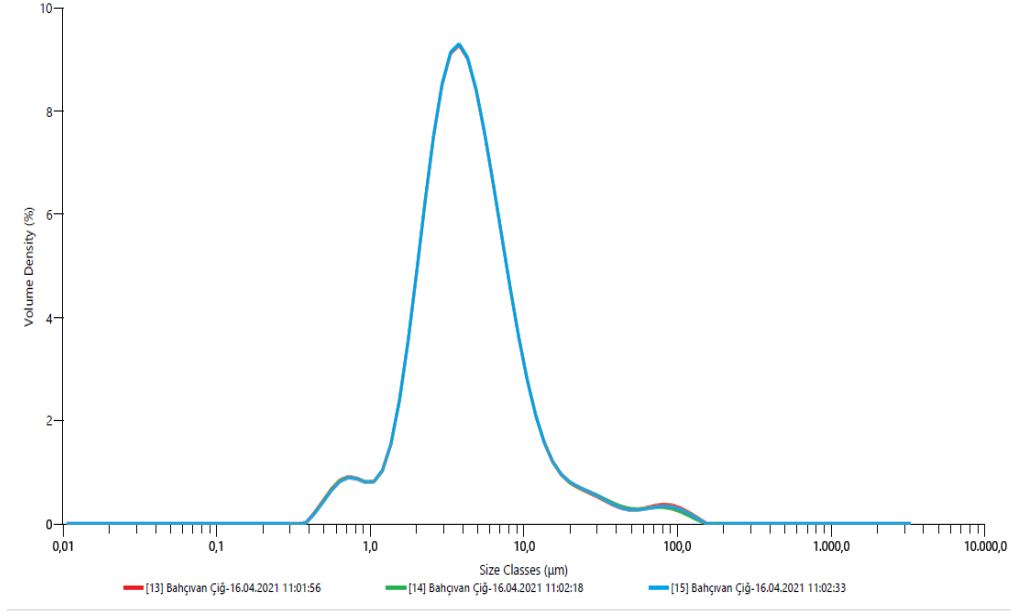
rağmen TO sütlerde rennetleme zamanının arttığı gözlenmektedir. Bu durum kazeine karşı olan enzim aktivitesinin önlenmesi veya TO konsantrelerinde yüksek viskozite nedeniyle misel difüzyonunun yavaşlaması ile açıklanabilir (Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). Ayrıca, şeker (glikoz; genel şeker) konsantrasyonunun artması rennet ile indüklenen koagülasyonda hem enzimatik hem de agregasyon basamaklarında gecikmeye sebep olabildiği bildirilmiştir. Viskozitedeki artış κ -kazeinin kazein misel yüzeyine kapaklanmasına neden olabilmekte ve sonuç olarak rennet enziminin kazeine ulaşmasını engelleyerek kazein agregasyonunu engelleyebilmektedir (Schorsch, Jones ve Norton, 2002). Genel olarak laktozun ve kısmen de mineral madde içeriğinin TO konsantrelerindeki rennetleme süresindeki artışın nedeni olduğu bildirilmiştir (Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020).



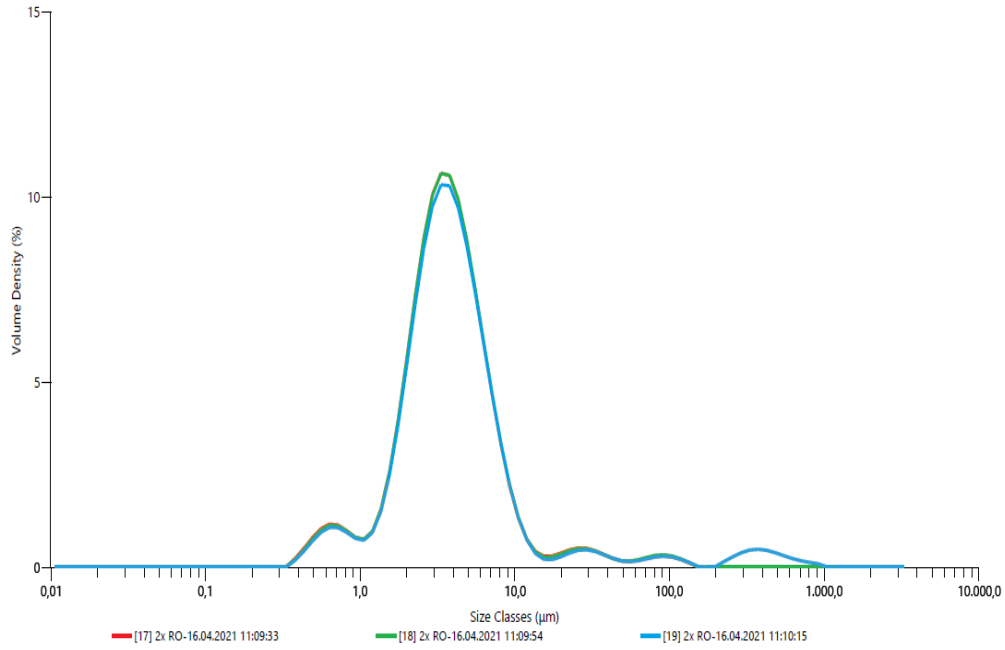
Şekil 4.5. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan konsantre sütlerin rennetleme süreleri

4.1.5. Partikül Boyut Dağılımı

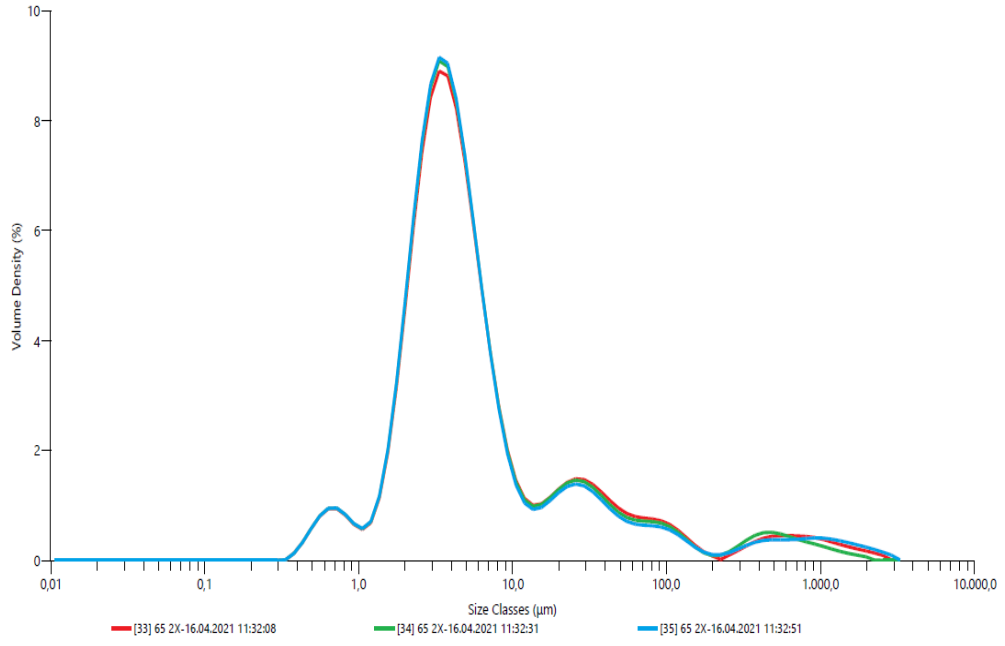
Pastörizasyon işleminin yağ globüllerine etkisini görmek için 65°C'de 30 dk ısıtma işlemi uygulanan 1.5X ve 2.0X TO konsantre sütler kullanılmıştır. Parçacık boyutu dağılımı grafikleri incelendiğinde (Şekil 4.6-Şekil 4.9) örneklerin benzer profilde oldukları ancak ısıtma işlemi uygulanan sütlerde daha büyük partiküllerin tespit edildiği görülmektedir.



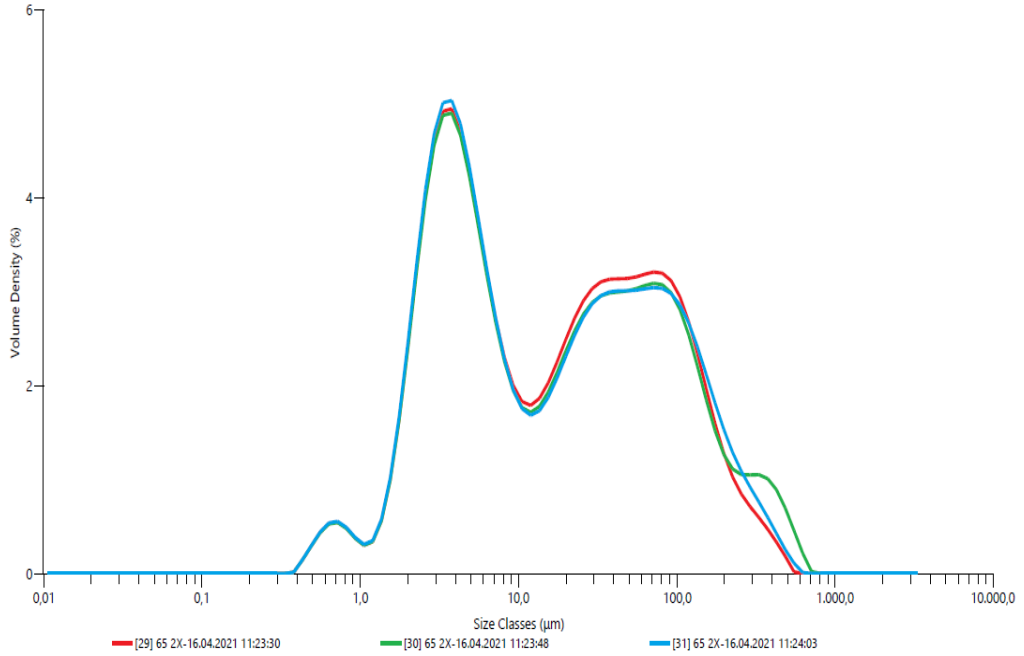
Şekil 4.6. 1.0X süte ait parçacık boyut dağılımı



Şekil 4.7. 2.0X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı



Şekil 4.8. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan 1.5X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı



Şekil 4.9. 65°C'de 30 dk pastörizasyon uygulanan 2.0X TO konsantre süte ait parçacık boyut dağılımı

Boyut dağılımına ait veriler Çizelge 4.4'te verilmiştir. Dağılımda en çok tekrarlanan değeri ifade eden mod değeri (tepe değeri) 3.47-3.72 μm aralığında bulunmuştur. Başka bir ifade ile örneklerdeki yağ globüllerinin tipik çap değeri yaklaşık 3.5 μm 'dir. Kontrol sütte mod değeri 3.72 μm iken 2.0X konsantre sütte bu değer 3.51'e gerilemiştir. Bu durum ters ozmoz işleminin küçük de olsa yağ globülleri üzerinde bir etkisinin olduğu şeklinde yorumlanabilir. Dx 50 ve Dx 90 değerlerine baktığımızda ise bu etki daha açık bir şekilde görülmektedir. Kontrol sütte yağ globüllerinin %90'ı 11.30 μm iken, 2.0x konsantre sütte bu değer 8.45 μm olarak ölçülmüştür. Ters ozmoz işlemiyle yağ globüllerinin boyutlarının küçüldüğü söylenebilir.

Isıl işlemin etkisini incelediğinde ise mod değerinde ciddi bir fark gözlenmese de Dx 10, Dx 50 ve Dx 90 değerlerinde büyük farklılıklar tespit edilmiştir. Bu durum ısıl işlemin etkisi ile yağ moleküllerinin bir araya gelip daha büyük globüller oluşturması olarak yorumlanabilir (flokülasyon ve/veya koalesans). Kaw (1998) ters ozmoz sütlerine 80-140°C arasında 4s ısıl işlem uyguladığı sütlerin alan hacim ortalama çapı değerlerinde (d_{32}) 110°C'ye kadar bir farklılık saptamazken, 120°C'den itibaren artış görülmüştür. Hacim uzunluk ortalama çapı değerleri ise (d_{43}) ise sıcaklık artışına paralel bir şekilde sürekli artış göstermiştir. Konsantre edilmemiş homojen sütlerde d_{32} değeri incelendiğinde ise 130°C'deki ısıl işlem sonrası büyük partiküllerin oluşmaya başladığı görülmüştür. d_{43} değerlerinde partikül boyutlarındaki değişiklik ise 125°C'den itibaren başlamıştır.

Çizelge 4.4. Ters ozmoz konsantre sütün parçacık boyut dağılımları

	1.0X çiğ süt	2.0X çiğ süt	2.0X past. süt	1.5X past. süt
Dx 10 (μm)	1.75±0.00	1.64±0.03	2.39±0.02	1.82±0.01
Dx 50 (μm)	4.05±0.00	3.63±0.06	15.40±0.66	4.17±0.05
Dx 90 (μm)	11.30±0.05	8.45±0.68	135.00±11.40	46.90±3.52
Mod (μm)	3.72±0.00	3.51±0.01	3.54±0.05	3.47±0.01

Dx 10, Dx 50, Dx 90; parçacık boyut ölçüm değerlerinin sırasıyla %10, %50 ve %90'ın altında bulunduğu çaplardır. *Mod* ise en çok tekrar eden çap değeridir.

4.1.6. Zeta Potansiyeli

Zeta potansiyeli koloidal sistemlerin stabilitesini gösteren bir değerdir. Süspansiyondaki tüm partiküllerin yüksek negatif veya pozitif bir değerde olması birbirlerini itmelerine ve partiküllerin bir araya gelmemelerini sağlamaktadır (Horne, 2011; O'Mahony ve Fox, 2016). Konsantrasyonun yanı sıra pastörizasyon işleminin zeta potansiyeline etkisini görmek için 65°C'de 30 dk ısıtma işlemi uygulanan 1.5X ve 2.0X TO konsantre sütler de analiz edilmiştir. Süt örneklerinin zeta potansiyel değerleri (-)25 mV ila (-)29 mV arasında bulunmuş olup, konsantrasyon artışının veya ısıtma işleminin herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir (Çizelge 4.5). Zeta potansiyel sonuçları literatürle uyum içerisinde bulunmuştur. Sun, Roos ve Miao (2022), çiğ süt örneklerinde (pH 6.74) 25°C'de zeta potansiyelini (-)33.60 mV ölçmüş, pH'nın 6.30 ve 5.30'a düşürülmesi ile de zeta potansiyeli değerlerinde değişim tespit etmemişlerdir. Xing ve ark. (2021) inek sütlerinin zeta potansiyelini 25°C'de (-)25.8 mV olarak belirlemiştir. Literatürde diğer bazı kaynaklarda sütün zeta potansiyelinin (-)10 ile (-)20 mV arasında olduğu bildirilmiştir (Walstra, Wouters, ve Geurts, 2006; O'Mahony ve Fox, 2016, Fox ve ark., 2017). Sun, Roos ve Miao (2022) değerler arasındaki bu farklılığın farklı analiz yöntemleri kullanımı (lazer Doppler elektroforezi, elektroakustik yöntemleri vb.), dilüent seçimi ve sıcaklık gibi nedenlerden kaynaklı olabileceğini belirtmiştir. Ferrer Montero (2010) yağsız sütlere UF ile 2 ve 5 kat konsantre edilmesi sonucu kazein misellerinin zeta potansiyeli değerlerinde bir farklılık oluşmadığını tespit etmişlerdir.

Çizelge 4.5. Ters ozmoz konsantre sütlerin zeta potansiyeli değerleri

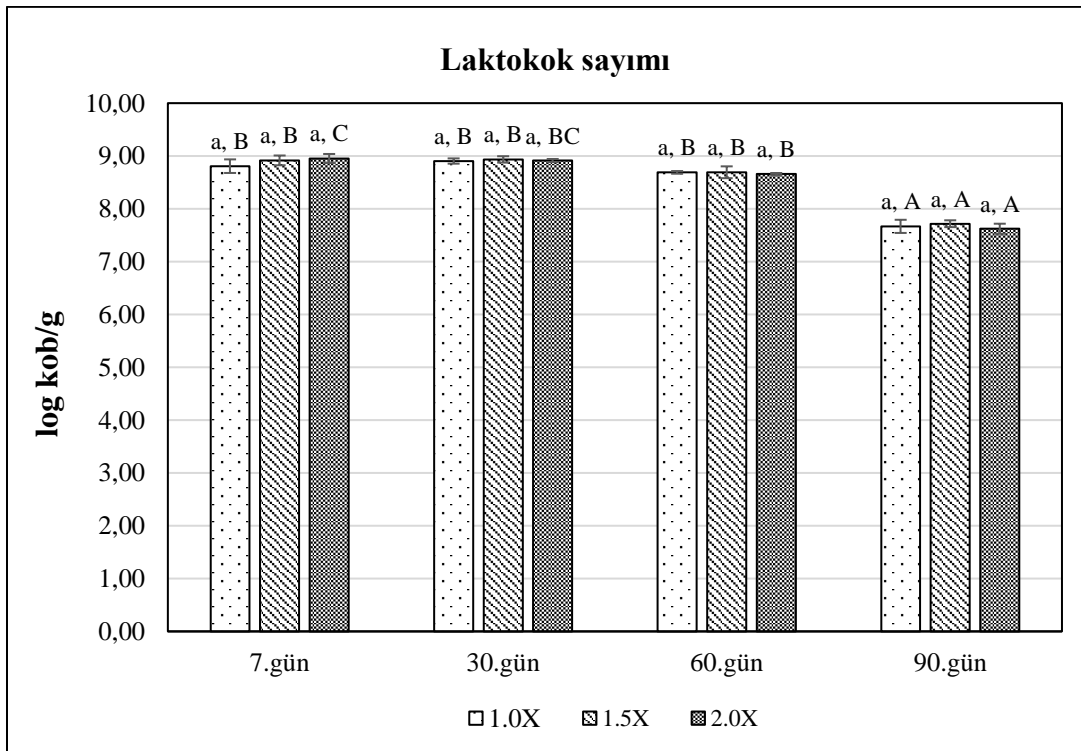
	1.0X çiğ süt	1.5X çiğ süt	2.0X çiğ süt	1.5X pastörize süt	2.0X pastörize süt
Zeta Potansiyeli (mV)	-25.30±1.39	-28.70±0.20	-26.73±0.60	-28.77±1.07	-26.90±0.61

4.2. Peynirlerde Yapılan Analiz Sonuçları

4.2.1. Mikrobiyolojik Analizler

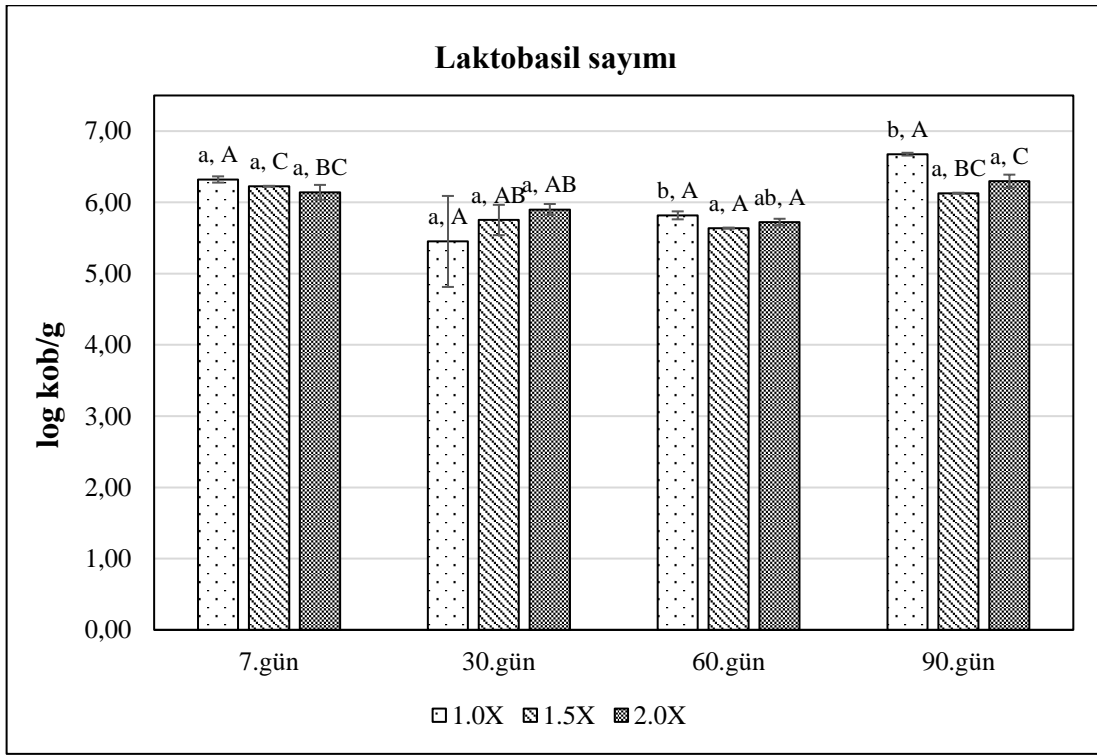
Olgunlaşma süresince peynirlerde mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Peynir örneklerinden farklı dilüsyonlarda M17 ve Rogosa besiyerlerine ekim yapılarak laktik asit bakterilerinin gelişimi gözlenmiştir (Şekil 4.10 ve Şekil 4.11). Şekil 4.10'da olgunlaşma süresince peynirlerdeki laktokokların sayısında peynir sütünün konsantre edilmesinin bir etkisi olmadığı görülmektedir. Olgunlaşmanın her aşamasında 1.0X kontrol ile 1.5X ve 2.0X konsantre sütlerden elde edilmiş peynirlerin laktokok sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Tüm peynirlerde 90. günde laktokokların sayısında anlamlı bir azalma görülmüştür ($P<0.05$). 2.0X konsantre peynirlerde en yüksek laktokok sayısı 7 ve 30 günlük peynirlerde, en düşük ise 90. günde tespit edilmiştir ($P<0.05$). 1.0X kontrol ve 1.5X peynirlerde ise ilk 60 gün laktokok sayılarında anlamlı bir fark bulunmazken, 90. günde azalma tespit edilmiştir ($P<0.05$). Bulat (2017) UF peynirlerde olgunlaşma süresinin, laktokok canlılığı üzerine etkisi olduğunu bildirmiştir.



Şekil 4.10. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait laktokok sayım sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

Şekil 4.11’de starter dışı laktobasillerin sayım sonuçları incelendiğinde, peynir sütünün konsantrasyon farklılığının NSLAB gelişiminde büyük bir farklılığa sebep olmadığı görülmüştür. 90. günde 1.5X ve 2.0X grubu peynirlerde NSLAB sayısı kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Peynir üretiminde genel trend laktokok sayılarının olgunlaşma süresince düşmesi, NSLAB sayısının ise olgunlaşma süresince artması yönündedir. Bununla birlikte üretimlerimizde NSLAB sayısının genelde stabil olduğu görülmektedir. Bunun olası nedeni üretimde kullanılan starter kültürün (Feta A) bileşimi olabilir. Çünkü Feta A karışık kültürü içeriğinde laktobasilleri de bulundurmaktadır.



Şekil 4.11. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait laktobasil sayım sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2. Verim

Üretim sonunda elde edilen peynir kalıplarının salamura öncesi ağırlığı kaydedilmiş ve üretimde kullanılan süt miktarı dikkate alınarak verim hesaplamaları yapılmıştır (Verim A). Peynir sütlerinin kurumadde içeriklerinin farklılığını ortadan kaldırarak da verim değerleri arasında karşılaştırma yapılmıştır (Verim B). Üretilen peynirlerin nem değerleri arasındaki farklılığı gidermek için ayrıca %50 referans nem değerine göre ayarlanmış

verim de hesaplanmıştır (Verim C). Üretim verimliliğini karşılaştırmak için diğer bir gösterge olan protein ve kurumaddede protein geri kazanımı kullanılan süt veya retentatın protein içeriği ve peyniraltı suyunun protein içeriği kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Üretimlere ait verim ve geri kazanım değerleri

Verim ve geri kazanım	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
Verim A (%)	13.22 ± 0.70 ^a	18.47 ± 0.31 ^b	29.99 ± 2.49 ^c
Verim B (%)	12.96 ± 0.69 ^a	12.60 ± 0.21 ^a	13.22 ± 1.10 ^a
Verim C (%)	11.68 ± 0.91 ^a	12.07 ± 0.12 ^a	14.38 ± 0.70 ^b
PGK (%)	78.59 ± 0.04 ^b	78.20 ± 0.20 ^b	73.71 ± 0.58 ^a
PGK _{KM} (%)	60.29 ± 1.24 ^a	60.90 ± 0.68 ^a	58.34 ± 0.24 ^a

Verim A: genel verim; **Verim B:** peynir sütü kurumadde ayarlı verim; **Verim C:** nem ayarlı verim; **PGK:** protein geri kazanımı. PGK_{KM}: kurumadde bazında PGK. Farklı üst simge harflere sahip aynı satırdaki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

Tablodan görüleceği üzere konsantrasyona bağlı olarak genel verim değerlerinde artış olmuştur. Verim artışı 1.5X üretimlerinde ortalama 1.40 kat iken 2.0X üretimlerinde ortalama 2.27 kat bulunmuştur. Peynir sütü kurumadde ayarlı verim değeri hesaplandığında ise tüm peynirlerde benzer verim değerlerine ulaşılmıştır. Buna göre, beyaz peynir üretiminde ters ozmoz konsantresinin kullanımının peynir verimine olumsuz bir etkisi olmamıştır. Elde edilen peynirlerin ve peyniraltı suyu nem içeriklerindeki farklılıklar da verim hesabına dahil edildiğinde (Verim C) konsantrasyon artışına bağlı olarak 1.5X konsantrelerin kullanıldığı üretimlerde az da olsa verim artışı gözlenmiştir. 2.0X konsantre sütlerin kullanılması ile nem ayarlı verimde %3’e yakın artış tespit edilmiştir. Bu sonuç, ters ozmoz süt kullanılarak üretilen Cheddar peynirlerinde tespit edilen %2-3’lük verim artışı ile uyumludur (Barbano ve Bynum, 1984). TO ile konsantre edilen süttten üretilen peynir pıhtısında yüksek oranda yağ tutulması ve peyniraltı suyu bileşenlerinin kazanımı peynir verimini artırdığı belirtilmiştir (Barbano ve Bynum, 1984). Bu çalışmada da, peyniraltı sularındaki kurumaddede yağ oranı en az 2.0X peynir üretimlerinde elde edilen peyniraltı sularına aittir. Protein geri kazanımları ve kurumaddede protein geri kazanımları incelendiğinde ise konsantrasyon

artışına bağlı olarak protein geri kazanımı değerleri kısmen azalmıştır. Bu değişim PGK_{KM} için istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Protein geri kazanımı hesaplamasında peyniraltı suyundaki protein değerleri de hesaba katılmaktadır. Ters ozmoz işlemi ile proteinler de membran tarafından retentatta tutulduğu için protein miktarı da konsantrasyon faktörüyle orantılı şekilde artmaktadır. Ancak, böylelikle peynir üretiminde sinerisiz sırasında peyniraltı suyu ile birlikte kaybedilen protein oranı da artmaktadır. Bu sebeple konsantrasyona bağlı olarak protein geri kazanımları azaldığı söylenebilir. %5, %7, %9 ve %11 protein içeriğine kadar konsantre edilen ters ozmoz konsantrelerden pH 6.2’de üretilen Cheddar peynirlerinde protein geri kazanım oranı sırasıyla %79.52, %78.21, %77.51 ve %77.34 bulunmuştur. Konsantrasyon artışı, Cheddar peynirlerindeki protein geri kazanımını olumsuz etkilemiştir (Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019).

4.2.3. Peynir Bileşim Analizleri

Üretilen peynirlerin içeriklerini karşılaştırabilmek için olgunlaşmanın 30. günündeki peynirlere ait bileşenlerin analiz sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir. Peynirlerin pH değerleri yaklaşık 4.8 civarında birbirine çok yakın bulunmuştur. Bu değer literatürde birçok beyaz peynir çalışmasında bildirilen değerler ile uyum göstermiştir (Gürsoy ve ark., 2001; Topçu, 2004; Arslan ve ark., 2010). Peynirlerin titrasyon asitlik değerleri %1.04 - %1.12 arasında değişmektedir. Bu sonuçlar literatürdeki değerlerle uyumlu bulunmuştur. Bulat (2011) probiyotik kültür kullanarak ürettiği 30 günlük beyaz peynirlerde %0.76 - %0.89 titrasyon asitliği değerine ulaşmıştır. Çeşitli firmaların Ankara piyasasında satışa sunduğu beyaz peynirlerde titrasyon asitliği değerleri %0.75 ile %1.66 arasında değiştiği bildirilmiştir (Topçu, 2004). Sütün konsantrasyonu ile peynirlerin titrasyon asitliği değerleri arasında korelasyon bulunmamıştır.

Peynirlerin kurumadde değerleri kontrol örneğinde en düşük (%39.89), 2.0X konsantre süttten elde edilen peynirlerde ise en yüksek (%46.83) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.7). Peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyonunun peynir nemine önemli bir etkisi olduğu söylenebilir ($P < 0.05$). Bunun olası nedenlerinden biri, peynir üretimindeki kısmi değişiklikler ve peynir sütünün pıhtılaşma süresindeki farklılıklar olabilir. Bu durum yorumlar (Bknz. Bölüm 5.) bölümünde açıklanmıştır. Yapılan bir çalışmada benzer

şekilde ultrafiltre (4X) ve ters ozmoz (2.5X) sütler kullanılarak elde edilen peynirlerin nem değerleri sırasıyla %52.0 ve %50.0, tam yağlı sütten üretilen kontrol peynirin nem değeri ise %56.8 olarak tespit edilmiştir. Peynirlerin nem değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak ($P<0.05$) anlamlı bulunmuştur (Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000). Deneysel ve endüstriyel şekilde üretilen beyaz peynirlerin taze ve olgunlaştırılmış çeşitlerinde kurumadde iğeriği en düşük %35.84 ve en yüksek %47.68 olarak raporlanmıştır (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002). Bu ęalıřmada, ters ozmoz konsantre sütlerle üretilen beyaz peynirlerin kurumadde içeriklerinin literatürle uyumlu olduğu görülmüştür.

2.0X konsantre sütlerden üretilen peynirin kurumadedeki protein oranı diğer peynirlerden anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Kontrol peyniri ile 1.5X peynirleri arasında önemli bir fark tespit edilmemiştir ($P>0.05$). Barbano ve Bynum (1984)'un %5, %10, %15 ve %20 hacim azaltma ile üretilmiş ters ozmoz sütlerden elde ettikleri Cheddar peynirlerinin protein içeriklerinde konsantrasyona bağlı bir farklılık bulunmamıştır. %20 hacim azaltılarak üretilmiş ters ozmoz konsantrelerinde %15 kurumadde iğeriğine ulaşıldığı göz önüne alındığında, elde edilen Cheddar peynirlerinin protein içeriklerindeki fark bulunmaması ile bu tez ęalıřmasındaki kontrol ve 1.5X konsantre süt peynirlerinin protein içeriklerinin arasında fark tespit edilmemesi uyumlu sonuğlardır. Bulat (2011) probiyotik ek kültürlerin beyaz peynir kalitesine etkisini incelediği ęalıřmada ürettiği beyaz peynirlerin protein iğeriğini %35.45 ile %37.97 arasında belirlemiş olup sonuçlar, bu tez ęalıřmasındaki protein oranları ile uyumlu bulunmuştur.

Peynirlerin kurumadedeki yağ iğeriği yaklaşık %47 tespit edilmiş olup, istatistiksel olarak peynirlerin yağ içerikleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Barbano ve Bynum (1984) %15 kurumadde iğeriğine kadar ęeřitli konsantrasyon faktörlerinde ters ozmoz ile konsantre edilmiş sütlerle üretilen Cheddar peynirlerinin yağ iğeriklerine peynir sütü konsantrasyonunun bir etkisi olmadığını bildirmiştir. TO konsantre sütlerle üretilen beyaz peynirlerin kurumadede yağ içerikleri literatürle uyumlu görülmektedir. Deneysel ve endüstriyel şekilde üretilen beyaz peynirlerin taze ve olgunlaştırılmış

çeşitlerinde kurumadede yağ içerikleri %39.35 ile %49.56 aralığında rapor edilmiştir (Hayaloglu, Guven ve Fox, 2002).

Peynirlerdeki kurumadedeki laktoz miktarına peynir sütünün konsantrasyonunun büyük etkisi tespit edilmiştir. Peyniraltı suyunun ayrılması ve fermantasyon sonrası peynir yapısında kalan laktozun peynir sütündeki miktarına göre azalma oranları da hesaplanmıştır. Buna göre laktoz miktarındaki yüzde değişimler; 1.0X peynirlerde %99.54, 1.5X peynirlerde %94.50 ve 2.0X peynirlerde %77.78 olarak bulunmuştur. Peynir sütü protein konsantrasyonunun ters ozmoz kullanılarak %5 ila %11'e çıkarılması Cheddar peynirlerinin laktoz içeriğini önemli ölçüde artırmıştır (Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019). Benzer şekilde ters ozmoz ile sütün hacminin %5 ile %20 aralığında azaltılması ile elde edilen konsantre sütlerle üretilen Cheddar peynirlerinde de konsantrasyona bağlı olarak laktoz içeriğinin arttığı bildirilmiştir (Bynum ve Barbano, 1985).

Kurumadedeki tuz oranına en düşük (%5.12) 1.5 kat konsantre edilmiş süttten elde edilen peynirlerde, en yüksek (%6.01) ise kontrol peynirinde ulaşılmıştır. Peynirlerin kurumadedeki tuz oranı anlamlı olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$). Konsantre sütlerden üretilen peynirlerin tuz oranı kontrol peynirine göre düşük kalmıştır. Konsantre peynirlerin daha sıkı yapıda olması ve mineral içeriğinin yüksek olması salamuraadan tuz difüzyonunu sınırlamış olabilir. Peynirdeki tuz oranının peynir başlangıç nemi ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Yüksek nem içeriği protein matrisindeki daha büyük gözenekli yapıyı tetikleyerek tuz difüzyonunu engelleyen sürtünme etkisini azaltmaktadır (Guinee ve Fox, 2017). Kontrol peynirinde kurumadedeki tuz oranının daha fazla bulunmasının yüksek nem içeriğinden kaynaklı olduğu da söylenebilir. Türk Gıda Kodeksi (TGK) Peynir Tebliği (2015/6)'ne göre taze beyaz peynirlerde kurumadede tuz miktarının en çok %6.5 olabileceği bildirilmiştir (TGK, 2015). Buna göre, ters ozmoz konsantreleri ile tebliğe uygun tuz içeriğinde beyaz peynirler üretilmiştir.

Peynirlerdeki kurumadede kül değerleri incelenmiş olup %8-9 arasında bulunmuştur. Konsantre sütlerde tespit edilen düşük tuz miktarı, kül miktarlarını da etkilemiştir. 2.0X konsantre peynirlerin kurumadede içeriği daha yüksek olduğu için kurumadede kül

içeriği kontrol peynirine yaklaşmıştır. Ancak 1.5X peynirlerdeki kurumaddede kül içeriği anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($P<0.05$). Bu çalışmada ters ozmoz sütler ile üretilen beyaz peynirlerin kül içeriği sonuçları (%3.20-%4.08) literatür ile uyumlu bulunmuştur. Topçu (2004), Ankara ilinde satışa sunulan beyaz peynirlerin kül içeriği değerlerini %2.18 ile %3.80 aralığında tespit etmiştir.

Peynirlerin mineral içeriği analizinde Ca, K, Mg, Na ve P elementleri incelenmiş olup sonuçlar 100 g peynirdeki miktar (mg) şeklinde verilmiştir. Peynirlere ait mineral içerikleri genel olarak konsantrasyona bağlı olarak artış göstermiştir ($P<0.05$). Piyasada satılan ürünlerde yapılan analizlere göre 100 gram beyaz peynir örneğindeki kalsiyum miktarı 256.1 – 760.7 mg gibi geniş bir aralıkta bulunmuştur (Topçu, 2004). Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot (2019) %5, %7, %9 ve %11 protein içeriğine konsantre edilen sütlerden ürettikleri Cheddar peynirlerinin kurumaddede kalsiyum içeriklerinin konsantrasyona bağlı azaldığını bildirmişlerdir. Barbano ve Bynum (1984) ise yapılan bir çalışmada ters ozmoz retentlerden üretilen Cheddar peynirleri ile ticari Cheddar peynirleri arasında önemli bir fark bulunmadığını belirtmişlerdir. Demirci (1988), beyaz peynirlerdeki fosfor ve magnezyum içeriğini sırasıyla 513 mg/100 g peynir ve 25.1 mg/100 g peynir olarak tespit etmiştir. Kılıç ve ark. (2002) İzmir piyasasında satılan beyaz peynirlerde yaptıkları mineral analizinde kalsiyum miktarını 439-1002 mg/100 g peynir, potasyum miktarını 116-285 mg/100 g peynir, sodyum miktarını 455-2300 mg/100 g peynir ve fosfor miktarını 295-650 mg/100 g peynir olarak tespit etmişlerdir. Öksüztepe ve ark. (2013) taze beyaz peynir örneklerinde magnezyum miktarını 45.9-76.2 mg/100 g peynir, potasyum miktarını 45.1-123.2 mg/100 g peynir ve fosfor miktarını 311.0-482.0 mg/100 g peynir bulmuşlardır. Ters ozmoz konsantreleri ile üretilen beyaz peynirlerin kalsiyum, magnezyum, potasyum, sodyum ve fosfor içeriklerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.7. Peynirlerin bileşim analizleri ve pH değerleri (30.gün)

	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
pH	4.85 ± 0.00 ^c	4.72 ± 0.00 ^a	4.81 ± 0.00 ^b
Kurumadde (% a/a)	39.89 ± 0.00 ^a	44.93 ± 0.42 ^b	46.83 ± 0.48 ^c
Protein (%km)	38.20 ± 0.29 ^b	39.04 ± 0.17 ^b	33.62 ± 0.39 ^a
Yağ (%km)	47.00 ± 0.89 ^a	47.02 ± 1.18 ^a	46.45 ± 0.76 ^a
Laktoz (%km)	0.04 ± 0.01 ^a	0.70 ± 0.10 ^b	4.30 ± 0.04 ^c
Tuz (%km)	6.01 ± 0.02 ^c	5.12 ± 0.03 ^a	5.32 ± 0.00 ^b
Kül (%km)	9.03 ± 0.02 ^b	8.02 ± 0.15 ^a	8.72 ± 0.10 ^b
TA (%laktik asit)	1.04 ± 0.03 ^a	1.12 ± 0.04 ^a	1.04 ± 0.03 ^a
Mineral			
<i>Ca (mg/100 g peynir)</i>	473.54 ± 44.68 ^a	523.50 ± 9.85 ^a	547.58 ± 34.20 ^a
<i>K (mg/100 g peynir)</i>	91.28 ± 23.87 ^a	131.76 ± 20.53 ^a	132.31 ± 20.82 ^a
<i>Mg (mg/100 g peynir)</i>	16.38 ± 1.54 ^a	21.44 ± 0.45 ^{ab}	26.23 ± 1.72 ^b
<i>Na (mg/100 g peynir)</i>	672.45 ± 3.24 ^a	705.11 ± 33.82 ^a	716.77 ± 0.56 ^a
<i>P (mg/100 g peynir)</i>	489.86 ± 74.88 ^a	596.82 ± 133.89 ^a	631.54 ± 77.73 ^a

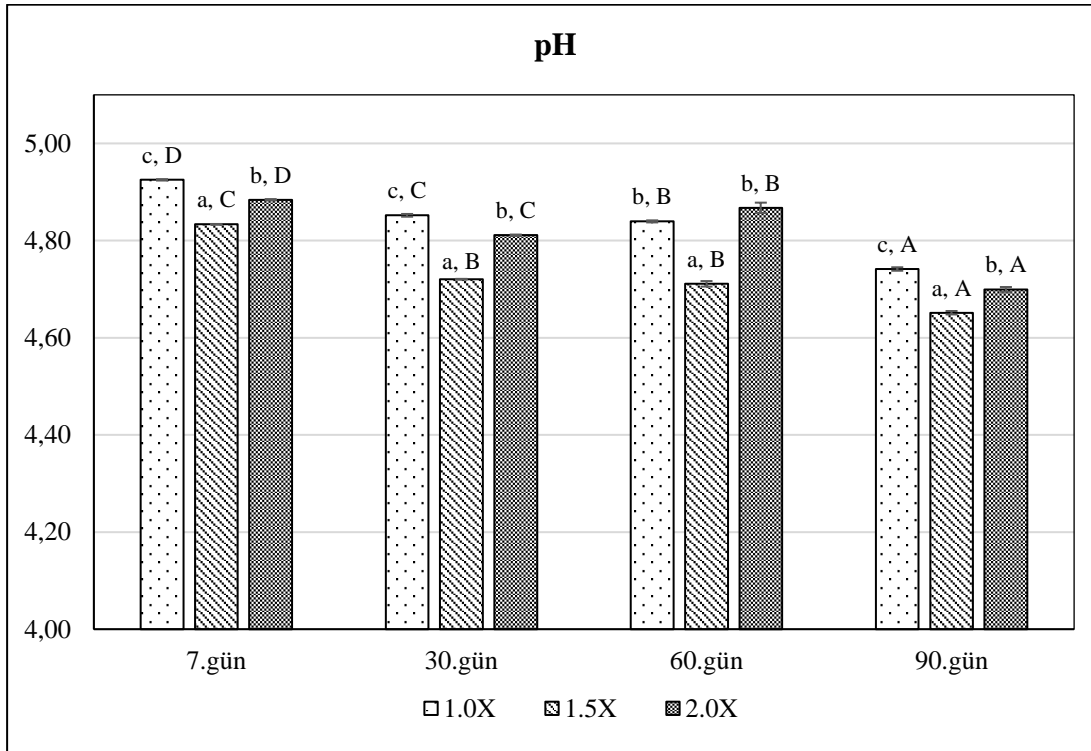
TA: titrasyon asitliği

^{a-c} Farklı üst simge harflere sahip aynı satırdaki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

4.2.2.1. pH

Olgunlaşma boyunca peynirdeki pH değişimleri izlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.12’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre genel olarak peynir örneklerinin pH değerleri arasında istatistiksel açıdan farklılıklar önemli bulunmuştur (P<0.05). Konsantre sütlerden üretilen peynirlerin pH değerleri kontrol peynirinden daha düşüktür. Tüm olgunlaşma günlerinde en düşük pH’ya sahip peynirlerin 1.5X konsantre sütlerden üretilen peynirler olduğu görülmüştür. Peynirlerde depolama süresince pH değerlerinin azaldığı görülmektedir. Bu beklenen bir değişimdir. Olgunlaşma boyunca peynirlerin pH değerlerindeki düşüş anlamlı bulunmuştur (P<0.05). pH değerlerindeki bu düşüş,

olgunlaşma süresince peynirlerde tespit edilen titrasyon asitliği değerlerindeki artış ile uyumludur. Peynirlerdeki olgunlaşma boyunca pH değişimi literatürdeki çalışmalarla uyum içerisindedir. Topçu (2004) hem +4°C’de hem de +8°C’de depolanan beyaz peynirlerde 90 günlük olgunlaşma boyunca pH değerlerinde düşme saptamıştır. Bulat (2011) da benzer şekilde 90 günlük depolama boyunca beyaz peynir pH değerlerinde azalma gözlemlemiştir.

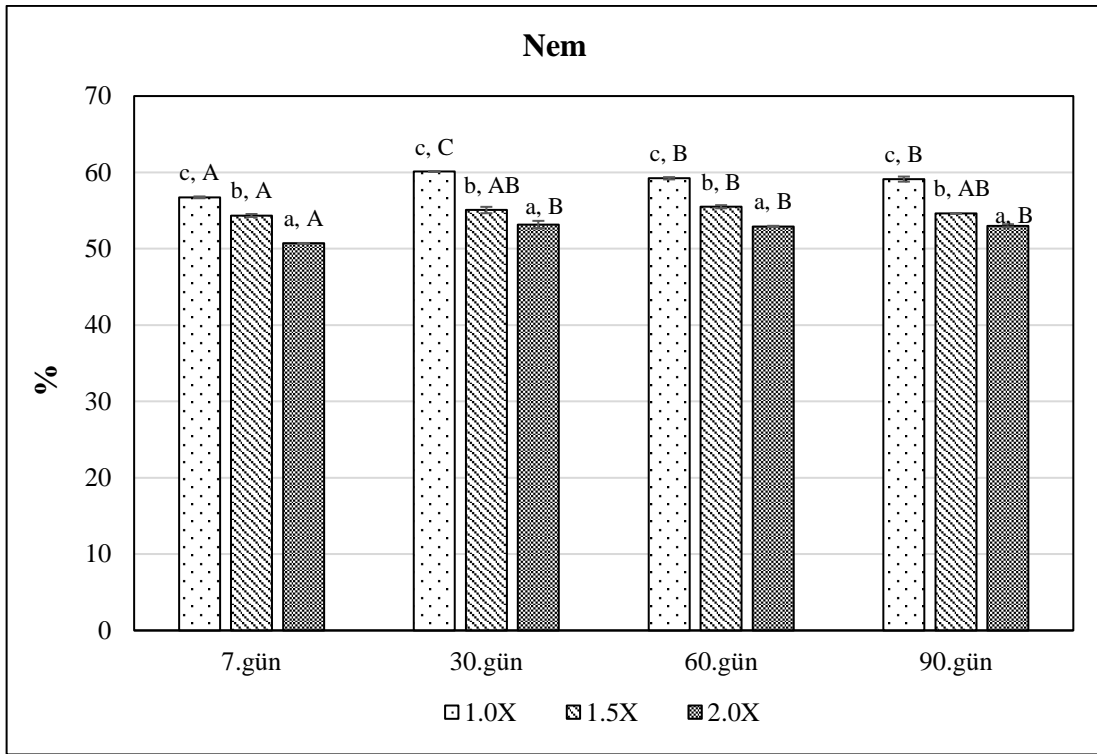


Şekil 4.12. Olgunlaşma boyunca peynirlerdeki pH değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.2. Nem

Konsantrasyona bağlı olarak peynirlerin kurumadde içeriklerinde artış, dolayısıyla nem içeriklerinde düşüş gözlemlenmiştir. Sonuçlar Şekil 4.13’te verilmiştir. Peynir örneklerinin nem değerleri tüm olgunlaşma boyunca peynir sütü konsantrasyonuna bağlı olarak farklılık göstermiştir. Tüm olgunlaşma günlerinde en düşük nem içeriği 2.0X peynirlere ait iken en yüksek nem içeriği kontrol peynirlerine aittir ve nem değerlerindeki bu farklılıklar istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur ($P < 0.05$). Olgunlaşma boyunca salamurayla karşılıklı madde geçişine ve pH değişimlerine bağlı olarak peynir nem içerikleri dalgalanma gösterse de 90 günlük kontrol ve 2.0X peynirlerin nem içerikleri 7

günlük peynirlerden daha yüksektir. Bunun olası nedeni proteolize bağlı olarak proteinlerin hidrasyon kapasitelerinin artması olabilir. 1.5X peynirin nem içeriği 60. günde en yüksek değere ulaşmıştır. Bulat (2011) da benzer şekilde beyaz peynirlerin nem değerlerinde olgunlaşma boyunca dalgalanmalar tespit etmiştir. Çalışmada peynirlerin birinci gün nem değerleri ile diğer günlerdeki nem değerleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur. Topçu (2004) da olgunlaşma boyunca salamura ile peynir arasındaki madde difüzyonlarının etkisiyle beyaz peynir nem değerlerinde artış ve azalmalar belirlemişlerdir.

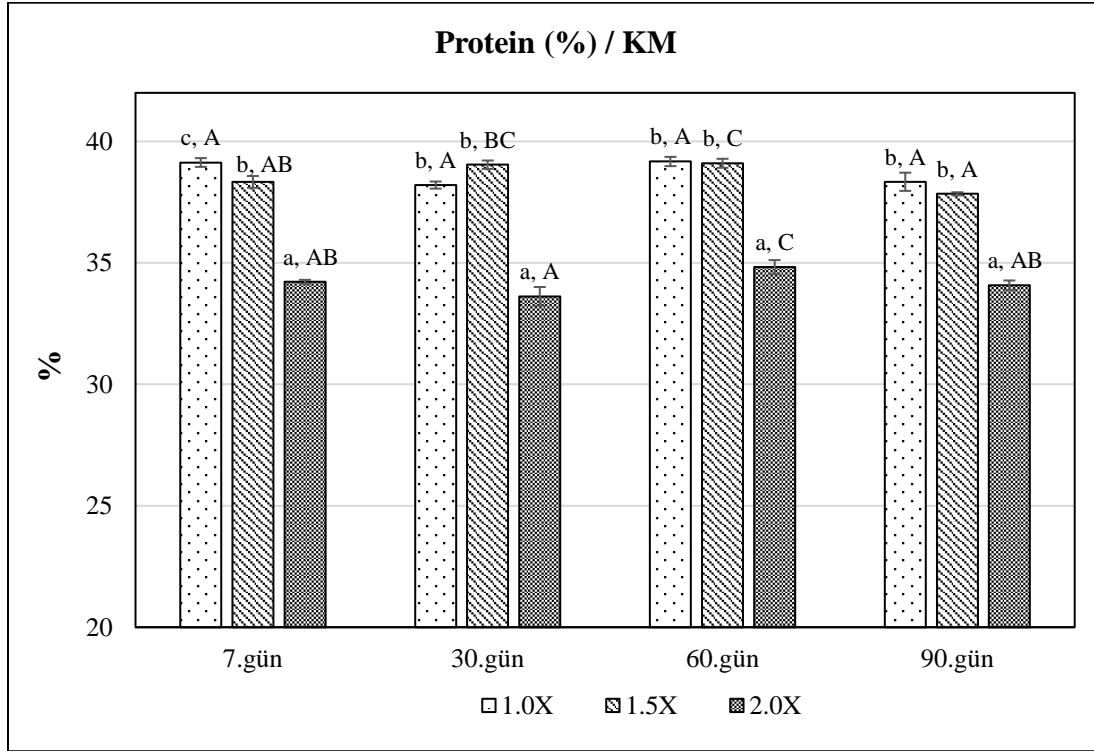


Şekil 4.13. Olgunlaşma boyunca peynirlerin nem değerleri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.3. Protein

Üretilen peynirlerin kurumaddedeki protein değerleri olgunlaşma boyunca izlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.14'te verilmiştir. 7 günlük peynirlerin kurumadde protein değerleri birbirinden farklı bulunmuştur. Kontrol peyniri en yüksek kurumadde protein içeriğine sahiptir, daha sonra 1.5X konsantreden üretilmiş peynir gelmektedir, en düşük protein içeriği ise 2.0X konsantre edilmiş sütten üretilen peynire aittir. 30. günden itibaren kontrol ve 1.5X peynirlerin kurumadde protein içerikleri arasında belirgin bir fark yoktur. Peynirlerin kurumaddedeki protein değerlerindeki bu artış ve azalışlar

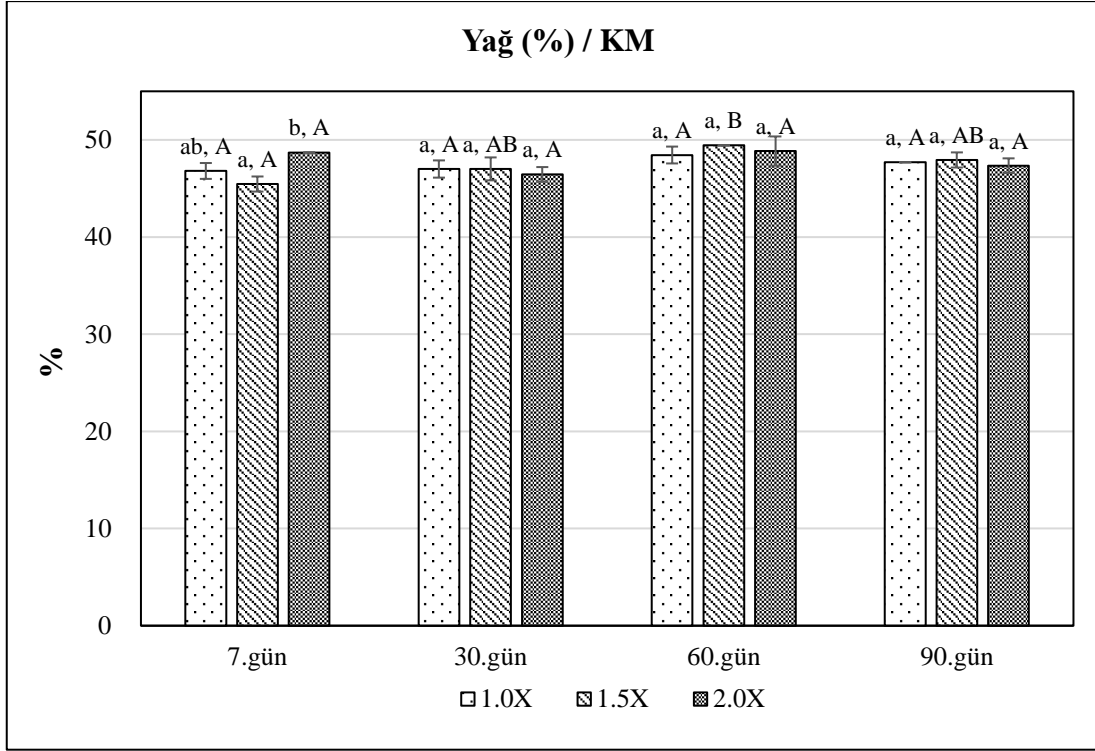
proteinlerin parçalanması sonucu oluşan azotlu bileşiklerin salamuraya geçişi ile ilişkili olabilir. 1.0X ve 1.5X peynirleri protein değerleri açısından benzer sonuçlar vermiştir. Elde edilen sonuçlar literatür ile uyumludur. Beyaz peynirlerde olgunlaşma boyunca kurumaddedeki protein oranlarında dalgalanmalar görülmüş olup, olgunlaşma süresinin protein içerikleri üzerindeki etkisinin istatistiksel olarak önemli bulunduğu bildirilmiştir (Topçu, 2004; Bulat, 2011).



Şekil 4.14. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumaddede protein değerleri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.4. Yağ

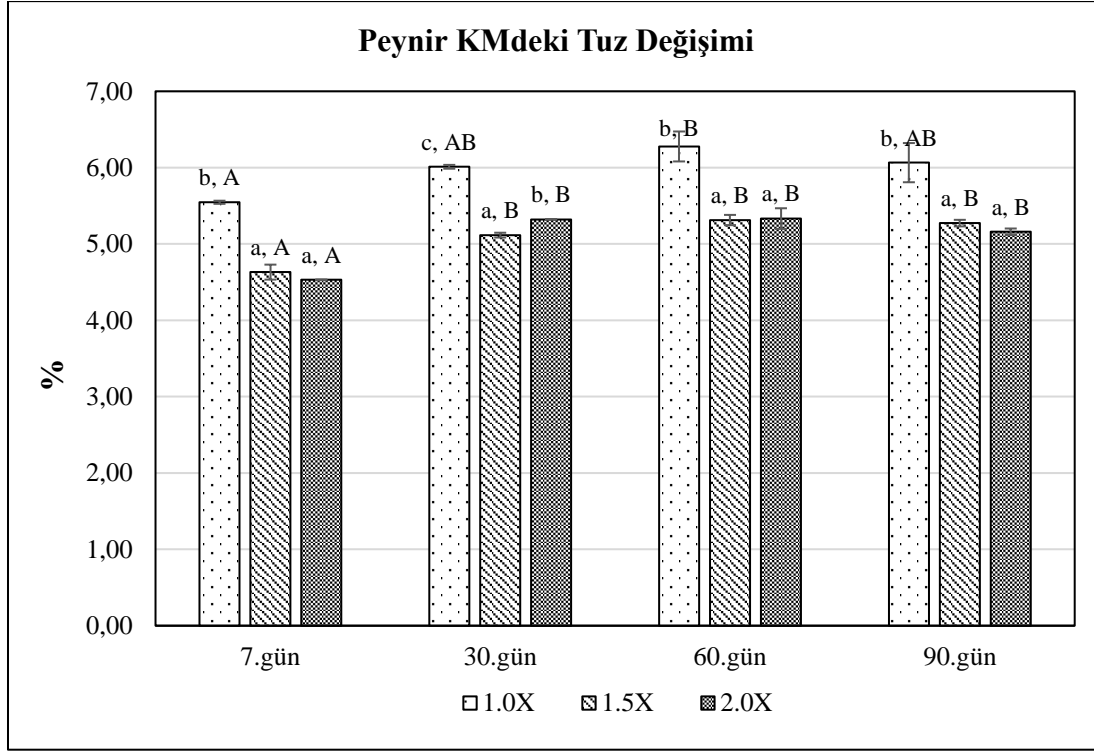
Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumaddede yağ içerikleri incelenmiştir (Şekil 4.15). TKG Peynir Tebliği'ne göre tam yağlı peynir minimum %45 süt yağı içermelidir (TKG, 2015). Çalışma kapsamında üretilen peynirlerin bu açıdan tebliğe uygun olduğunu söylemek mümkündür. 7. günde konsantre sütlerden üretilen peynirlerin kurumaddede yağ içerikleri farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). 30. günden olgunlaşmanın sonuna kadar peynirlerin kurumaddede yağ içerikleri açısından istatistiksel bir fark bulunmamıştır. Ayrıca, olgunlaşma süresinin peynirlerde kurumaddede yağ içeriğine etkisi sınırlıdır.



Şekil 4.15. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumaddede yağ değerleri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.5. Tuz

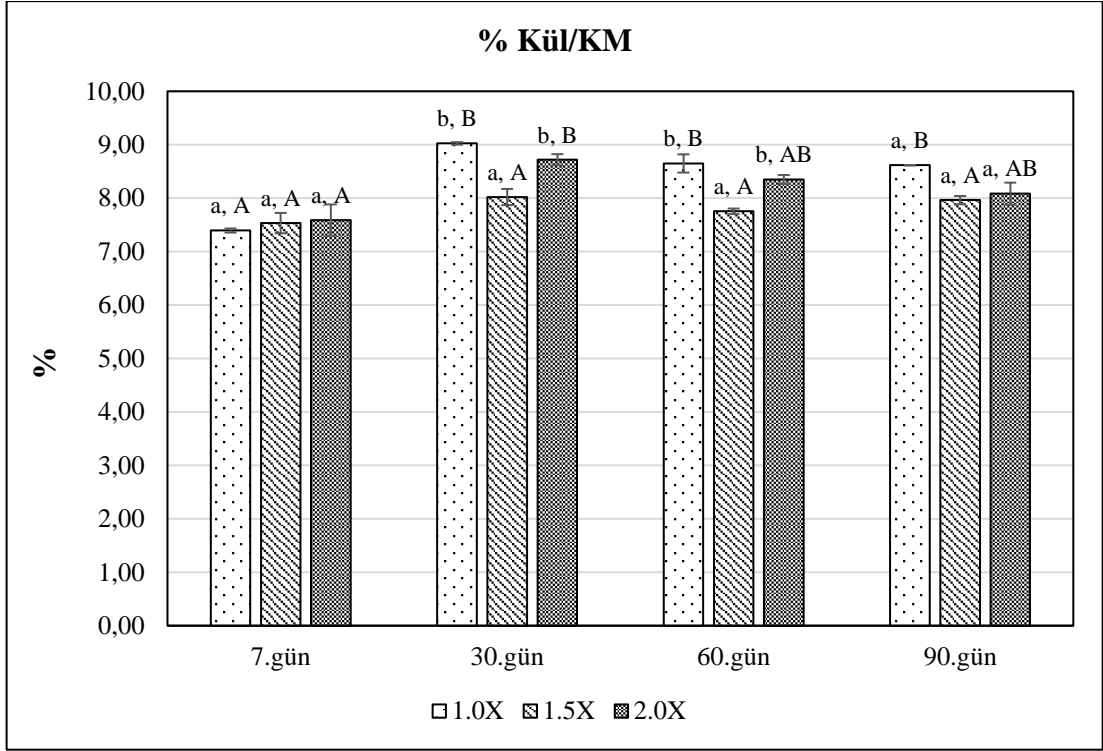
Peynirlerin kurumadde bazında tuz içerikleri Şekil 4.16'da verilmiştir. Kontrol sütlerden üretilen peynirlerin kurumaddede tuz içerikleri tüm olgunlaşma günlerinde konsantre sütlerden elde edilen peynirlerden daha yüksek bulunmuştur ($P < 0.05$). Peynir sütünün konsantrasyonu ile kurumaddedeki tuz içeriğinin azaldığı söylenebilir. Peynirlerin tuz değerleri arasındaki farklılığın, konsantre peynirlerin yüksek kurumadde içeriğinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Konsantre sütlerden üretilen peynirlerin kurumaddede tuz içerikleri olgunlaşmanın başında en düşük seviyededir. Olgunlaşma süresince salamuradan peynir kitlesine tuz difüzyonu sebebi ile 30 günlük peynirlerde tuz artışı görülmüştür ve olgunlaşmanın devamında da tuz içeriği bu seviyede kalmıştır. Kontrol peynirinde de olgunlaşma boyunca artış trendi gözükse de olgunlaşmanın başında ve sonundaki tuz içerikleri arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir. Topçu (2004) beyaz peynirlerde olgunlaşma boyunca kurumaddede tuz içeriklerinde bir artış tespit etmiş ve bu artış varyans analizinde önemli bulunmuştur.



Şekil 4.16. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumadde bazında tuz değerleri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.6. Kül

Peynir örneklerinin kurumaddedeki kül içeriklerinin olgunlaşma boyunca değişimi Şekil 4.17'de verilmiştir. Olgunlaşmanın başındaki peynir örneklerinde kurumaddede kül içeriği açısından farklılık bulunmamaktadır. Peynirlerin 30. günde kurumaddede kül değerlerindeki yükselme, salamuradan tuz geçişi ile yorumlanabilir. Peynir ve salamura arasındaki tuz dengesi nihayet sağlandığında kül değerlerinin birbirine çok yaklaştığı görülmektedir. Konsantre sütlerin kurumaddede kül içerikleri olgunlaşma süresinden etkilenmezken, kontrol peynirlerinin kül içerikleri olgunlaşmanın başında ve sonunda anlamlı derecede farklıdır ($P < 0.05$).



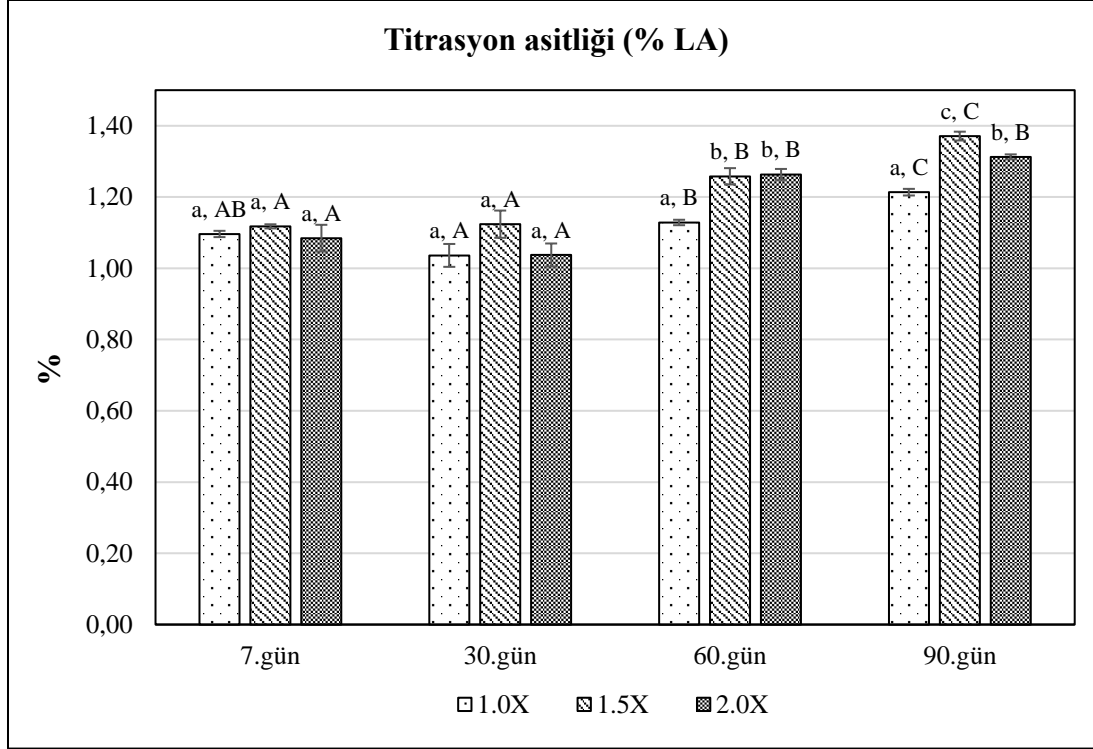
Şekil 4.17. Olgunlaşma boyunca peynirlerin kurumaddede kül değerleri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.7. Laktik Asit

Olgunlaşma sırasında peynirlerin asitlik gelişimi takip edilmiştir (Şekil 4.18). Olgunlaşmanın başında (7. ve 30. gün) peynirler arasında belirgin bir farklılık görülmemiştir. 60. günde her iki konsantre sütte elde edilen peynirin titrasyon asitliği daha yüksek bulunmuşken ($P < 0.05$), 90. günde en yüksek titrasyon asitliği değerine 1.5X peynirde ulaşılmıştır ($P < 0.05$). Tüm örneklerde olgunlaşma periyodunda titrasyon asitliğinde artış gözlenmekte olup, konsantre sütlerden elde edilen peynirlerde asitlik gelişimi 60. günden sonra daha yüksek görülmüştür ($P < 0.05$). Elde edilen sonuçlar Topçu (2004)'nın 120 günlük olgunlaşma boyunca beyaz peynirlerin laktik asit içeriğinde tespit ettiği artış ile uyumludur. Varyans analizi sonuçlarına göre laktik asit miktarındaki artışa olgunlaşma süresinin etkisi önemli bulunmuştur.

Olgunlaşma boyunca titrasyon asitliğindeki artış laktik asit bakterilerinin ve NSLAB aktiviteleri sonucu olabilir. Ters ozmoz ve ultrafiltrason ile konsantrasyon işleminde kalsiyum fosfat ve proteinlerin konsantrasyon artışına bağlı olarak tamponlama kapasitesi artması nedeniyle laktik asit bakterilerinin retentatın pH'sını düşürmede yavaş kaldığı

bildirilmiştir (El-gazzar ve Marth, 1991). 2.0X peynirlerde laktik asit gelişimi incelendiğinde laktik asit bakterilerinin aktivitelerinde bir sorun yaşanmadığı görülmektedir.



Şekil 4.18. Olgunlaşma boyunca peynirlerin titrasyon asitliği değeri değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.2.8. Mineral

Çizelge 4.8’de görüldüğü üzere peynirlerdeki minerallerinin miktarı beklendiği gibi hem 30. günlerde hem de 90. günlerde peynir sütü konsantrasyonu arttıkça artmıştır. Ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Lee, Johnson ve Lucey (2005) ters ozmoz sistemi ile yaklaşık %14 kurumadde oranına konsantre ettikleri sütler ile ürettikleri Cheddar peynirlerinde 1 ay sonunda farklı üretim metotlarında 738 mg/100 g ve 506 mg/100 g toplam kalsiyum içeriği belirlemiştir. Kontrol olarak kullandıkları yağlı süt Cheddar peynirleri ile TO konsantre peynirler arasında toplam kalsiyum açısından fark gözlenmemiştir. Aynı araştırmacıların benzer şekilde %14 kurumadde TO retentatlar ile Colby peyniri üretmişler ve üretimde farklı pH’ların etkisini inceledikleri çalışmada peynirlerin toplam kalsiyum içeriği 100 gramda 698 mg ve 552 mg olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada da kontrol peynirleri ile TO peynirleri arasında toplam kalsiyum

içerikleri açısından fark bulunmamıştır (Lee ve ark., 2010). Bunun olası nedeni, peynir üretimi sırasında peyniraltı suyu ile birlikte mineral kaybı olabilir.

Olgunlaşma boyunca peynirlerin Ca, Mg ve Na içerikleri benzer sonuçlar vermiştir. Peynirlerin olgunlaşma boyunca K içeriklerinde düşüş, P içeriklerinde ise artış gözlenmiştir. Akan ve Kinik (2018) salamuradaki mineral tuzunun değişiminin beyaz peynirlerdeki etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada salamurada sadece NaCl kullanılan peynirlerin mineral analiz sonuçlarına göre kalsiyum miktarının olgunlaşmanın 30. gününde en yüksek değere (520 mg/100 g) ulaştığı ve olgunlaşma boyunca azaldığı görülmüştür. Peynirlerin kalsiyum içerikleri 60. ve 90. günlerde sırasıyla 460 ve 452 mg/100 g olarak tespit edilmiştir. Peynirlerin sodyum içerikleri ise 60. günde artmaya başlamış ve 90. günde en yüksek değere (665 mg/100 g) ulaşmıştır. Aynı çalışmada, örneklerdeki potasyum içeriği 30. günde olgunlaşma boyunca en yüksek değer olan 311 mg/100 g seviyesine ulaştıktan sonra 60. günde 143 mg/100 g seviyesine düşüp 90. günde bu değerde kalmıştır. Peynirlerin fosfor içerikleri ise ilk 60 günde 160 mg/100 g seviyesinde iken 90. güne doğru azalma trendine girmiş ve 140 mg/100 g seviyesine gerilemiştir.

Çizelge 4.8. Peynirlerin olgunlaşma süresince mineral madde (mg/100 g peynir) miktarlarındaki değişim

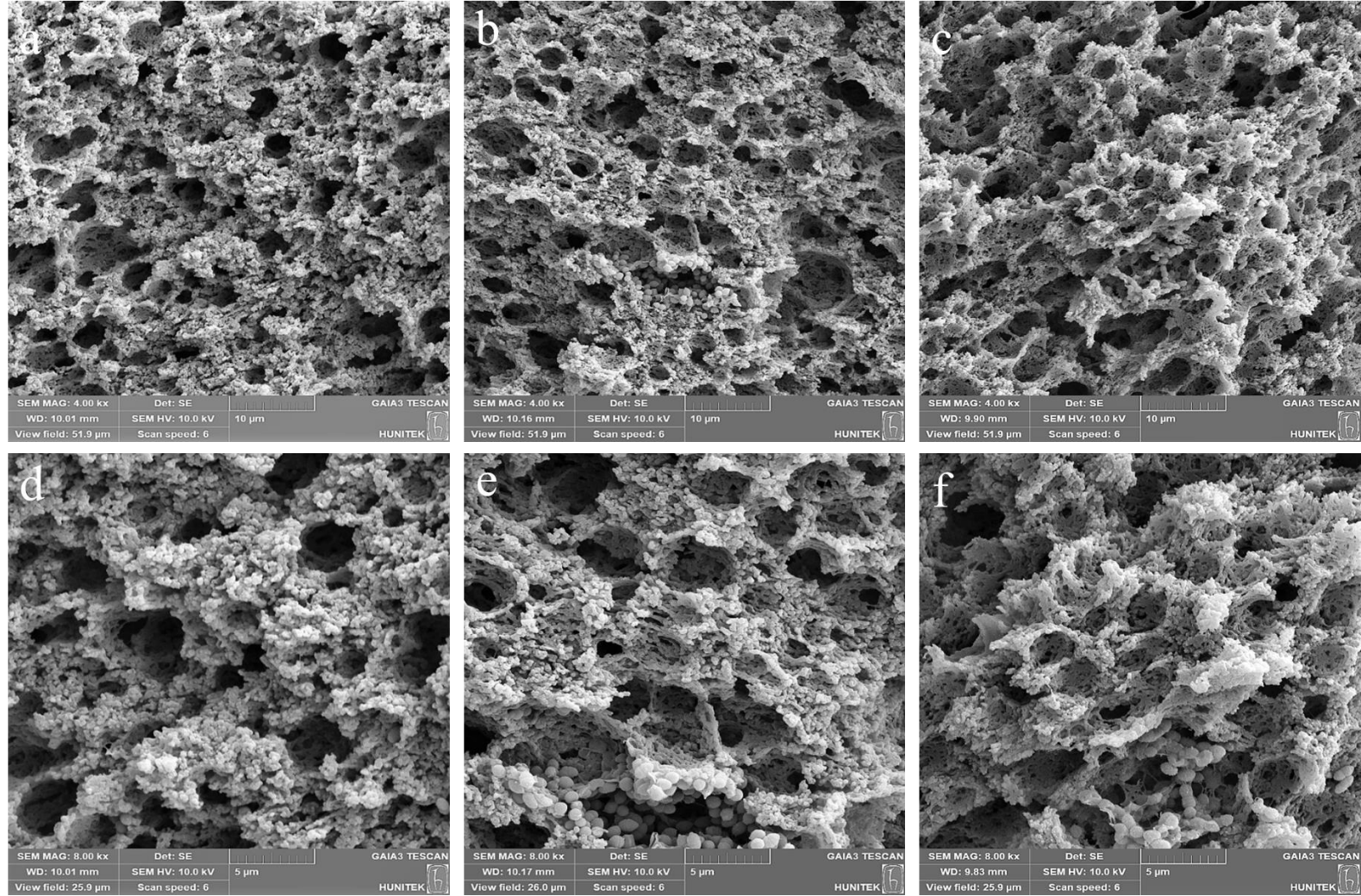
	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
30.gün			
Ca	473.54±44.68 ^a	523.50±9.85 ^a	547.58±34.20 ^a
K	91.28±23.87 ^a	131.76±20.53 ^a	132.31±20.82 ^a
Mg	16.38±1.54 ^a	21.44±0.45 ^{ab}	26.23±1.72 ^b
Na	672.45±3.24 ^a	705.11±33.82 ^a	716.77±0.56 ^a
P	489.86±74.88 ^a	596.82±133.89 ^a	631.54±77.73 ^a
90.gün			
Ca	471.04±36.90 ^a	526.52±20.71 ^a	544.78±32.03 ^a
K	67.15±4.89 ^a	86.23±8.17 ^{ab}	111.56±8.41 ^b
Mg	16.33±2.03 ^a	20.60±0.36 ^{ab}	25.90±2.78 ^b
Na	673.67±6.40 ^a	684.24±2.67 ^a	698.27±28.13 ^a
P	548.58±78.02 ^a	671.62±71.31 ^a	717.46±57.04 ^a

^{a-c} Olgunlaşmanın 30. veya 90. gününde farklı üst simge harflere sahip aynı satırdaki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

4.2.4. SEM Analizleri

Şekil 4.19 ve Şekil 4.20'de gösterildiği gibi, peynir örneklerinden SEM ile alınan mikrograflar iki farklı yapıya sahiptir. Gri alanlar sürekli bir para-kazein ağına, siyah alanlar ise para-kazein ağına nüfuz eden ayrı ve/veya topaklanmış/birleşmiş yağ globüllerinden ve serum boşluklarından oluşan havuzlara karşılık gelmektedir (Fox ve ark., 2017; Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). Peynirde bulunan yağ globülleri, örneklerin analize hazırlama sürecinde peynirden kloroform ile ayrılmıştır (Tamime ve ark., 1990). Böylece, aslında peynir mikroyapısında bulunan yağ globüllerinin para-kazein ağına terk etmiş olduğu boşluklar görülebilmektedir. SEM hazırlığı için numunelerden alındıktan sonra fark edilir hale gelen yağ globül membranı kalıntılarını da mikrograflardan görmek mümkündür. Tamime ve ark. (1990) Cheddar peynirlerinde benzer şekilde yağ globülleri kalıntılarını tespit etmişlerdir.

Olgunlaşmanın 30. günündeki peynir örneklerinin SEM görüntüleri incelendiğinde 1.0X (kontrol) örneğinde homojen boşluklara sahip sürekli bir protein ağı görülmektedir. 8000X büyütmede bu protein ağını oluşturan bireysel kazein misellerinin oluşturduğu agregatlar daha açıkça görülebilmektedir. 1.5X ve 2.0X konsantrelerden üretilen peynirlerin SEM görüntülerinde ise kontrol örneğine göre daha farklı bir protein ağ yapısı (dantelimsi) dikkat çekmektedir. Protein konsantrasyonundaki artış daha sıkı bir ağ yapısının oluşmasına sebep olmuştur. Özellikle 2.0X konsantre sütlerden üretilen peynir örneklerinin (c ve e) protein ağ yapısı, 1.0X (kontrol) sütlerden elde edilen peynir örneklerinin (a ve d) protein yapısına göre çok daha yoğun ve gelişmiştir. Bunda birim hacimdeki protein konsantrasyonunun artışı ve dolayısıyla protein-protein etkileşiminin artmasının önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir. Para-kazein ağının hacim fraksiyonu ve bu ağı oluşturan para-kazein parçacıklarının füzyon derecesi (agregasyon), protein konsantrasyonu arttıkça arttığı bildirilmiştir (Fox ve ark., 2017). Green ve ark. (1981) sütün UF yoluyla konsantrasyonunun değiştirilmesinin, peynir mikroyapısını belirleyen başlangıçtaki pıhtı oluşum mekanizmasını değiştireceğini bildirmişlerdir. Lauzin, Pouliot ve Britten (2020) de TO peynirlerde benzer SEM mikrografları elde etmişlerdir. Üretilen TO peynirler, yağsız süt ve UF konsantre süttten elde edilen peynirlerine göre daha büyük boşluklara ve daha kaba protein ağına sahiptir.



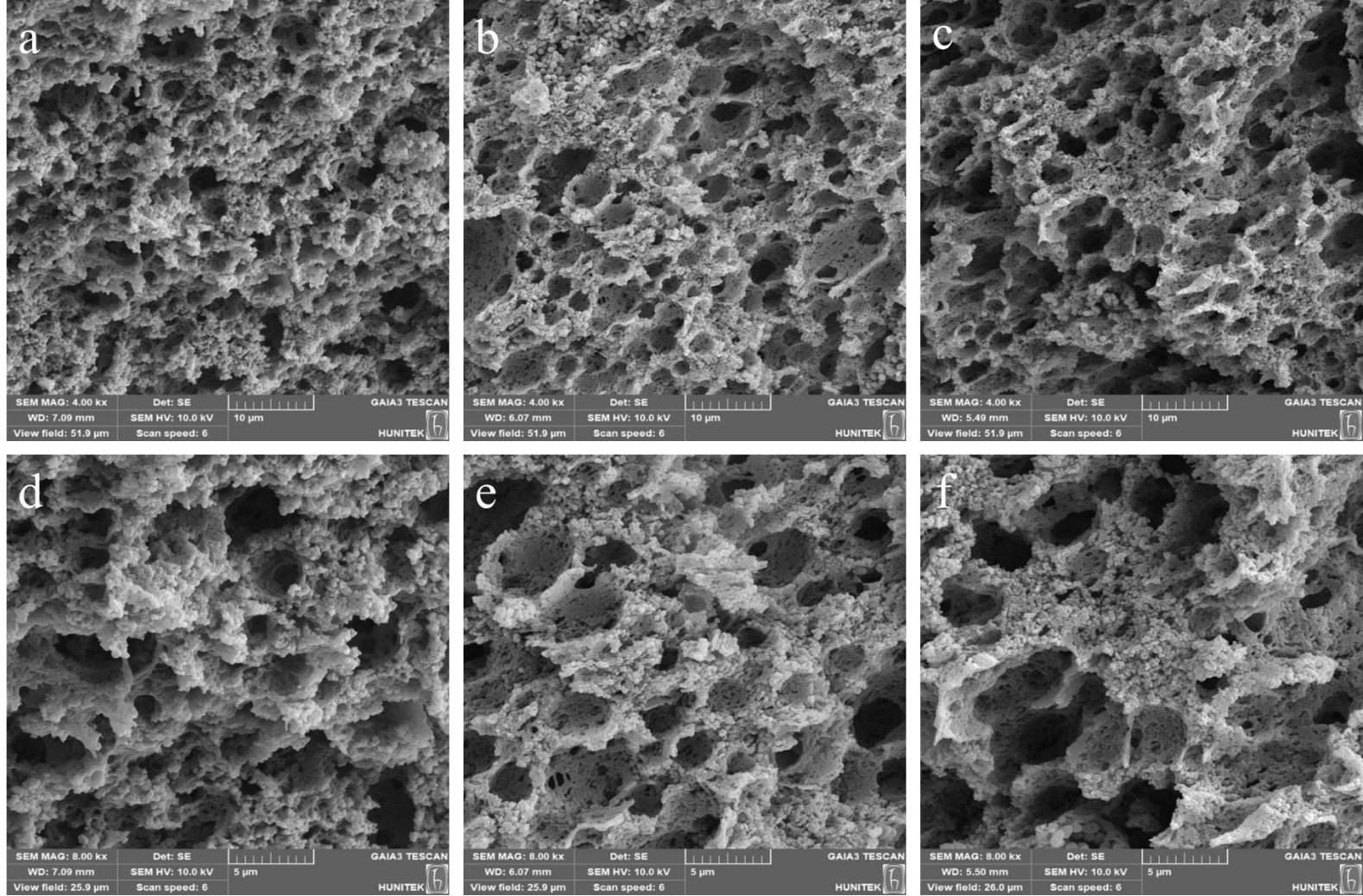
Şekil 4.19. Olgunlaşmanın 30.gününde örnekler için 4000X (a, b ve c) ve 8000X (d, e ve f) büyütmedeki SEM görüntüleri: 1.0X (a ve d), 1.5X (b ve e), 2.0X (c ve f).

Ayrıca 90 günlük peynirlerin tekstür analizlerinde, sertlik değerleri kontrol peynirlerinde konsantr peynirlere göre 2-2.5 kat daha düşük belirlenmiştir. En yüksek sertlik değerine ulaşan 1.5X peynir proteoliz analizlerinde en düşük olgunlaşma indeksi değerlerine sahip bulunmuştur. Bu sonuçları destekleyen bir şekilde, duyu analizlerde panelistler konsantr sütler ile üretilen peynirlerin yapısını daha sert bulduklarını belirtmişlerdir.

Genellikle yağ globülü membranı veya kazein yağ arayüzünde temas halinde olan starter bakterilerin (laktokoklar) varlığı 8000X büyütme elektron mikrograflarında (Şekil 4.19 (d), Şekil 4.19 (e) ve Şekil 4.19 (f)) görülebilmektedir (Rodríguez ve ark., 1999).

Olgunlaşmanın 90. günündeki SEM görüntülerine baktığımızda ise yine konsantr sütlerden elde edilmiş peynir örneklerinde daha yoğun ve genişlemiş bir protein ağı görmektediriz (Şekil 4.20 (a-f)). Ancak, bu kez 2.0X peynir örneklerinde çok daha fazla boşluklu bir yapı dikkat çekmektedir. Bu boşlukların, artan proteoliz ile birlikte proteinlerin peptidlere parçalanması ve protein ağının zayıflaması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir. Nazari ve ark. (2020) ultrafiltre Feta peynirleri üzerine yaptıkları çalışmalarda olgunlaşmanın 60.gününde 32.gününe göre daha genişlemiş bir protein ağını gözlemişlerdir. Oluk, Güven ve Hayaloglu (2014) tulum peynirlerinde benzer şekilde olgunlaşmanın 90. gününde proteoliz etkisi sonucu protein makriksinin genişlediğini tespit etmişlerdir. Anderson ve Mistry (1994) yoğunlaştırılmış sütlerden elde ettikleri Cheddar peynirlerinin mikroyapılarını olgunlaşma boyunca izlemişlerdir. Olgunlaşmanın 1. haftası ve 3. ayındaki örneklerde benzer mikroyapılar gözlemişlerse de 6. ayda elde ettikleri görüntülerde olgunlaşma boyunca yapının gelişmesine bağlı olarak bazı boşlukların uzamış olduğunu tespit etmişlerdir.

Tüm peynirlere olgunlaşmanın 30. ve 90. günündeki 1000X büyütmedeki görüntüleri Ek 1.2'de verilmiştir. Daha geniş bir kesitin görünümü olan bu mikrograflarda olgunlaşma boyunca yaşanan protein ağının genişlemesi ve boşlukların uzaması gibi tipik değişimler kapsamlı bir şekilde görülebilmektedir.



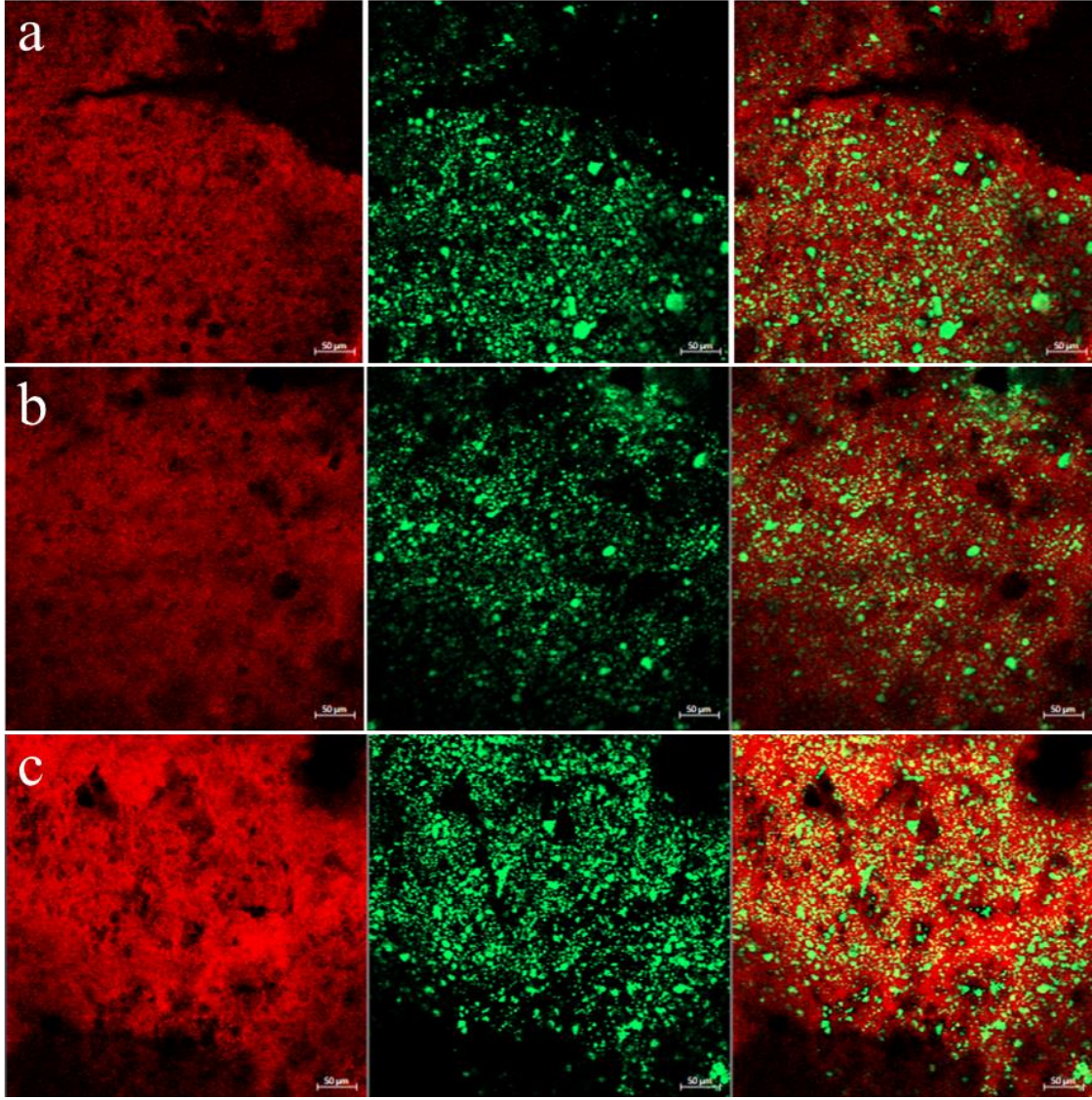
Şekil 4.20. Olgunlaşmanın 90.gününde örneklere ait 4000X (a, b ve c) ve 8000X (d, e ve f) büyütmedeki SEM görüntüleri: 1.0X (a ve d), 1.5X (b ve e), 2.0X (c ve f)

4.2.5. CLSM Analizleri

Peynir örnekleri olgunlaşmanın 90. gününde konfokal laser taramalı mikroskobunda incelenmiştir. Örnekler hazırlanırken kullanılan Nile Blue floresans boyası mikroskopta elde edilen görüntülerde protein (kırmızı) ve yağların (yeşil) farklı renklerde görüntülenebilmesi sağlanmıştır. Şekil 4.21’de her bir süt örneğinden elde edilen peynir örnekleri için yanyana dizilmiş üç mikrograf görünmektedir. Bunlar sırasıyla sadece protein, sadece yağ ve protein ve yağın bir arada gösterildiği görüntülerdir. Sütlerdeki konsantrasyon artışı beraberinde bileşenlerin de konsantrasyonunu da getirdiği için 2.0X peynirlerde, kontrol ve 1.5X peynirlere göre protein ağ yapısı içerisinde tutulmuş daha yoğun bir yağ fazı görülmektedir.

Peynirlere ait protein ağ yapıları karşılaştırıldığında ise sütlerdeki konsantrasyon artışına paralel olarak daha yoğun bir protein ağının oluştuğu görülmüştür. CLSM görüntüleri ile elde edilen bu veriler SEM görüntü sonuçları ile de uyumludur. Hussain, Grandison ve Bell (2012) inek ve manda sütleri ile ürettikleri Mozzarella tipi pıhtıların cyro-SEM ve CLSM ile mikroyapılarını incelemişler ve protein oranı daha yüksek olan manda sütünden elde ettikleri pıhtıların gözenekliliğini daha az tespit etmişlerdir. Bu durumu; daha yüksek bir protein konsantrasyonunun sulu fazın hacim fraksiyonunu düşürmesi, bunun da kazein miselleri arasındaki ortalama mesafeyi azaltarak misellerinin agregasyon derecesini arttırması olarak yorumlamışlardır. Benzer şekilde; Ong ve ark. (2010) CLSM görüntülerinde 2 kat konsantrasyon yapılmış UF sütlerden elde ettikleri jellerin çiğ süt, pastörize homojenize süt ve pastörize standardize edilmiş peynir sütü jellerine göre daha az gözenekli ve daha yoğun protein ağına sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Genel olarak özetlemek gerekirse, peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyonu peynirin mikroyapısında başta protein ağ yapısının yoğunluğu ve serum boşlukları olmak üzere önemli farklılıklara sebep olmuştur. Bu farklılıklar konsantrasyon işleminin seviyesine paralel olarak gerçekleşmekle birlikte, peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyon işleminin peynir mikroyapısındaki beklenen değişimlerinin kabul edilebilir seviyede olduğu söylenebilir.



Şekil 4.21. Konsantre sütlerden elde edilen peynir örneklerine ait olgunlaşmanın 90. günündeki CLSM mikrografları (a) 1.0X-kontrol, (b) 1.5X ve (c) 2.0X

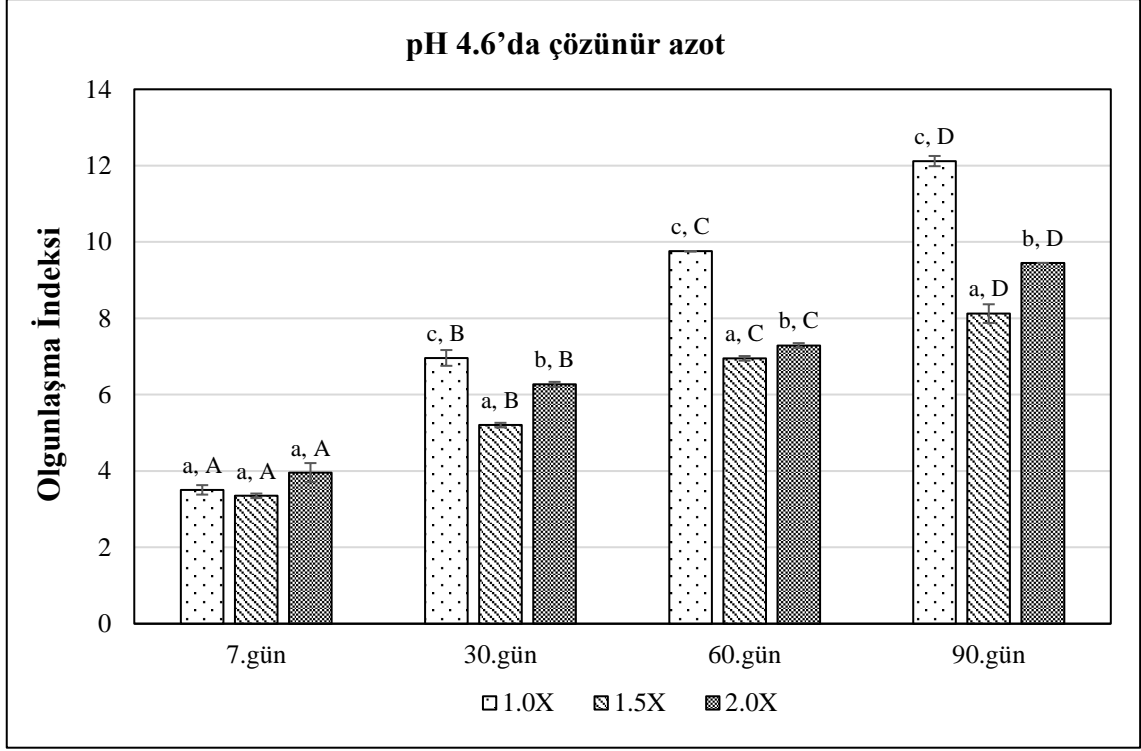
4.2.6. Proteoliz Düzeyini Belirlemeye Yönelik Analizler

4.2.6.1. pH 4.6'da Çözünür Azot

pH 4.6'da çözünür azot, peynirdeki birincil proteoliz hakkında fikir vermektedir. Burada üretilen peptitler genel olarak kimozin ve kısmen plazmin aktiviteleri sonucu oluşmaktadır (Gardiner ve ark., 1999; Hayaloğlu ve Özer, 2021). Şekil 4.22'de peynir örneklerine ait pH 4.6'da çözünür azotlu maddelere bağlı olgunlaşma indeksi değerleri verilmiştir. Olgunlaşmanın 7. gününde olgunlaşma indeksi değerlerinde peynir sütünden kaynaklı bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0.05$). Olgunlaşmanın 30. gününden itibaren tüm olgunlaşma boyunca birincil proteoliz en çok kontrol (1.0X) sütlerden elde edilen

peynirlerde görülmüş, en az da 1.5 kat konsantre edilmiş sütlerden elde edilen peynirlerde görülmüştür. Peynirler arasındaki bu farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($P<0.05$). Çalışma kapsamında süt konsantrasyonundaki farklılığın peynirde sebep olduğu değişimleri izlemek amaçlandığı için, üretimlerde eşit oranda pıhtılaştırıcı enzim kullanılmıştır. Kontrol peynirlerde birincil proteolizin daha çok gerçekleşmesinin sebebi kontrol peynirinde birim protein başına daha fazla enzim kullanılması olabilir. Ayrıca, kontrol peynirlerinde nem değeri, konsantre süt ile üretilen peynirlerin nem değerinden hep daha yüksek bulunmuştur. Bu nem farklılığı kontrol peynirlerindeki kalıntı enzim miktarının fazlalığına ve dolayısı ile enzim aktivitesinin daha yüksek olmasına sebep olmuş olabilir. Tüm örneklerde olgunlaşma süresince pH 4.6'da çözünür azotlu maddelerin miktarı artmıştır. Olgunlaşma süresinin, pH 4.6'da çözünür azotlu maddelere bağlı olgunlaşma indeksi üzerindeki etkisinin istatistiki olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$).

Bulat ve Topcu (2019), redoks potansiyelinin (ORP) ultrafiltre (UF) beyaz peynirin proteolizi üzerindeki etkisini 90 günlük olgunlaşma süresince incelemiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlara benzer şekilde, olgunlaşma boyunca pH 4.6'da çözünür azotlu maddelere bağlı olgunlaşma indeksi değerlerinde artış tespit etmişlerdir. Yüksek pH ve nem içeriğine sahip peynirlerde daha yüksek pH 4.6'da çözünür azotlu madde tespit etmişlerdir. Akalin ve Karaman (2011) Türk beyaz peynirinde farklı ambalajlama startajilerinin biyokimyasal ve uçucu bileşenler üzerindeki etkisini incelemiştir. Olgunlaşmanın başlarında pH 4.6 çözünür azotlu madde miktarlarında bir farklılık bulunmamakta ve düşük seyretmiştir. 90 günlük olgunlaşma boyunca azotlu maddeler sürekli artma eğiliminde olmuştur. Çözünür azot miktarındaki artışın, peynir başlangıç kültürünün proteolitik aktivitesi ve artık pıhtılaştırıcı enzimin etkisiyle, kazeinin düşük moleküler ağırlıklı suda çözünür peptitlere ve amino asitlere sürekli bozunmasıyla ilgili olduğunu bildirmişlerdir.

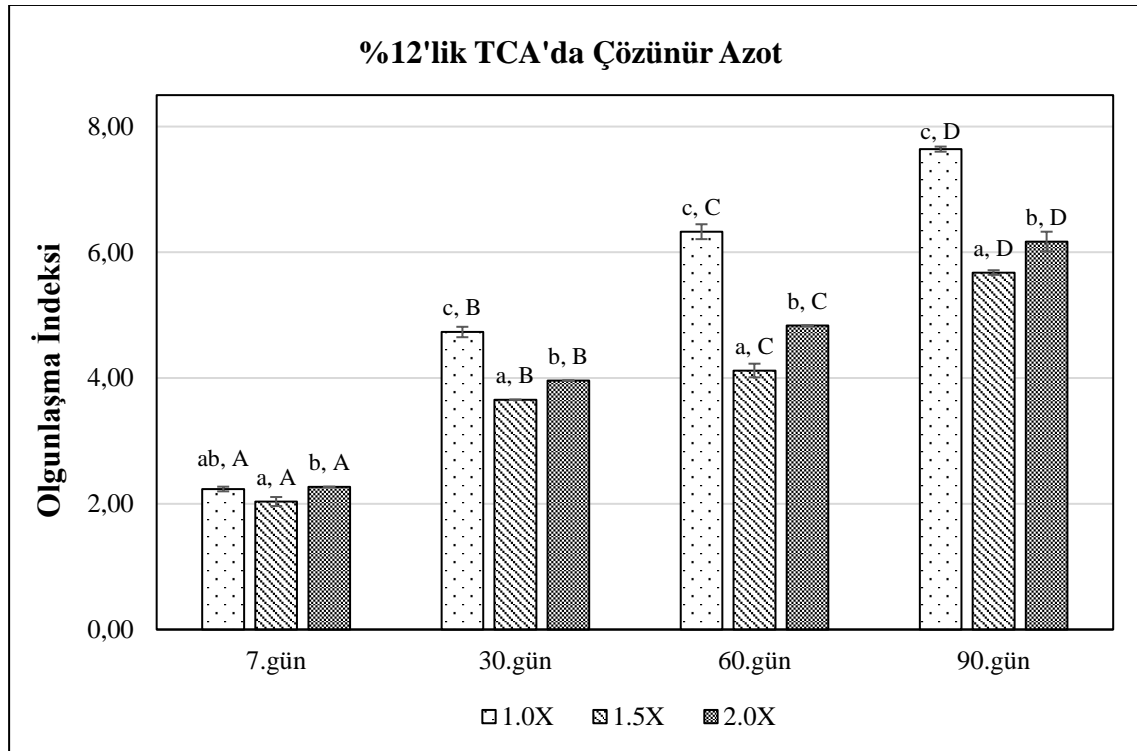


Şekil 4.22. Peynirlerin pH 4.6'da çözümlü azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.6.2. %12'lik TCA'da Çözümlü Azot

%12'lik TCA'da çözümlü azota bağlı hesaplanan olgunlaşma indeksi değerleri peynirde meydana gelen ikincil proteoliz hakkında fikir vermektedir. İleri parçalanmada üretilen kısa zincirli peptitler NSLAB ve starter laktik asit bakterilerinin peptidazları/proteinazları ve doğal olarak sütte bulunan enzimlerin aktiviteleri sonucudur (Ardö, 1999; Hayaloğlu ve Özer, 2021). TCA'da çözümlü azotlu maddelerin a_{s1}-kazeinin hidroliz sonucu oluşan 600-15000 Da moleküler ağırlığa sahip peptitleri içerdiğini bildirmiştir (Ardö, 1999; Barac ve ark., 2019). Şekil 4.23'te peynir örneklerinin %12'lik TCA'da çözümlü azotlu maddelerinin miktarına bağlı olgunlaşma indeksi değerleri verilmiştir. 7 günlük peynirlerde olgunlaşma indeksleri incelendiğinde konsantre sütlerden elde edilen peynirler arasında anlamlı farklılık olduğu görülmektedir (P<0.05). Olgunlaşmanın 30. gününden itibaren ise üretilen tüm peynirlerde olgunlaşma indeksi değerleri arasındaki fark önemli bulunmuştur (P<0.05). Olgunlaşma süresi boyunca kontrol sütlerden elde edilen peynirlerin %12'lik TCA'da çözümlü azot miktarı cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri daha yüksektir. Birincil proteolize bağlı olarak ortamda daha fazla substrat bulunması sebebiyle 1.0X (kontrol) peynirlerde ikincil proteolizin daha çok gerçekleştiği

düşünülebilir. Bynum ve Barbano (1985) Cheddar peynirlerinde olgunlaşmanın ilk üç ayı boyunca konsantre sütler ile kontrol arasında proteoliz açısından farklılık gözlemlenmezken, 6. ayda %15 ve %20 hacim azaltılmış sütler ile üretilen peynirlerde kontrole göre proteolizin daha düşük seyrettiğini bildirmişlerdir. 3. aydan sonra proteolizdeki bu yavaşlamanın, konsantre öncesi süt miktarı üzerinden hesaplanarak eklenen starter kültür ve rennetin yetersiz kalmasına dayandırmışlardır. Kontrol peynirlerden daha az proteolize uğramış konsantre sütlerle üretilmiş peynirlerin yapısını daha sıkı tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, bu çalışmada elde edilen tekstür analizi sonuçları ile uyumludur. 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilmiş ters ozmoz sütlerle elde edilen peynirlerin sertlik değerleri kontrol peynirinden çok daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca duyu değerlendirmelerde de panelistler konsantre peynirleri kontrol peynirlerine göre çok daha sert bulduklarını bildirmişlerdir.



Şekil 4.23. Peynirlerin %12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma indeksi değerleri (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

Olgunlaşma süresinin %12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma indeksi değerlerine etkisini görmek için yapılan varyans analizi sonuçlarına göre tüm konsantre veya kontrol sütlerden üretilen peynirlerde olgunlaşma süresi arttıkça

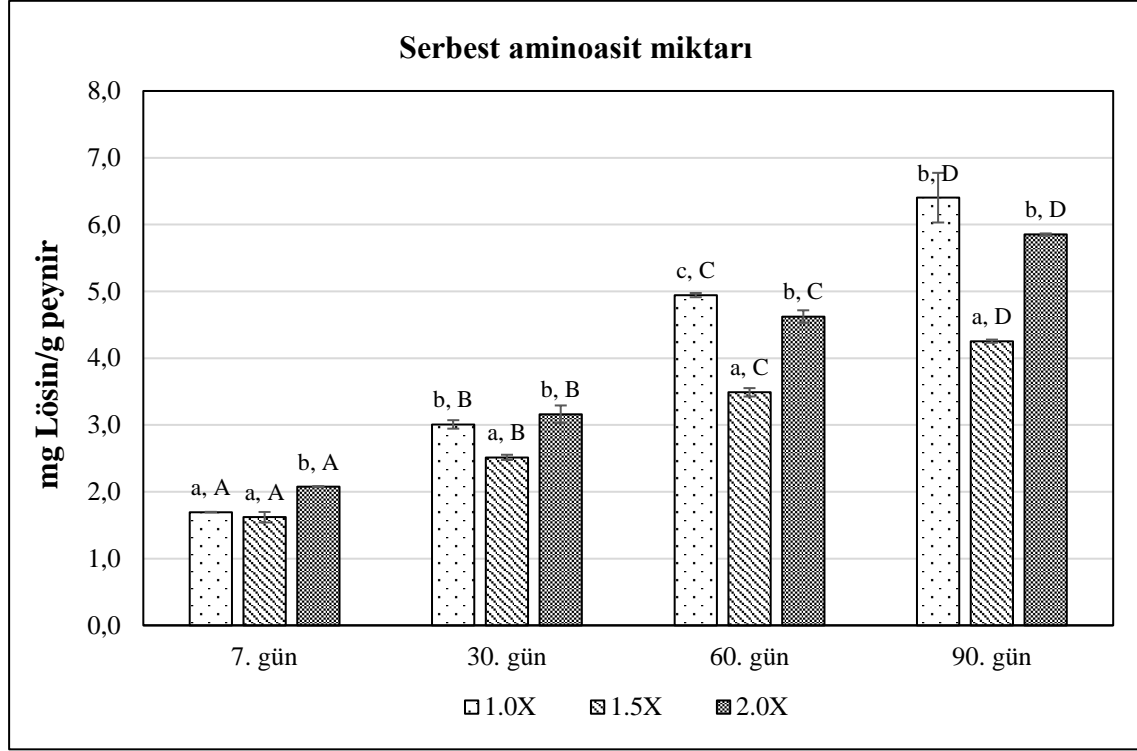
olgunlaşma indeksinin arttığı ve bu artışın anlamlı olduğu söylenebilir. Benzer şekilde beyaz peynirde (Topçu ve Saldamli, 2006; Öner ve Sarıdağ, 2018), ters ozmoz Cheddar peynirlerinde (Bynum ve Barbano, 1985), ultrafiltre beyaz peynirlerde (Bulat ve Topcu, 2019) ve ultrafiltre Cheddar peynirlerinde (Agrawal ve Hassan, 2007) olgunlaşma süresi arttıkça %12'lik TCA'da çözünür azotlu maddeler cinsinden olgunlaşma indeksi değerlerinde artış tespit edilmiştir.

4.2.6.3. Toplam Serbest Aminoasit

Şekil 4.24'te peynir örneklerinin olgunlaşma süresince toplam serbest aminoasit konsantrasyonu mg lösün cinsinden verilmiştir. Olgunlaşmanın 7. gününde 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerden elde edilen peynirlerin serbest aminoasit miktarı anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). 30 günlük peynirlerde ise 1.5 kat konsantre edilmiş sütlerden elde edilen peynirlerin serbest aminoasit miktarları diğer peynirlerden anlamlı derecede düşük bulunmuş ve olgunlaşmanın sonuna dek bu durum devam etmiştir ($P<0.05$). 30. günden itibaren kontrol peynirinin serbest aminoasit düzeyindeki artış diğer peynirlere göre çok daha fazla olmasına karşın, 90 günlük peynirlerde 1.0X ve 2.0X sütlerden üretilen peynirlerin serbest aminoasit miktarları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hesari ve ark. (2007) İran UF beyaz peynirlerinde kontrol üretiminin yanı sıra rennet veya starter kültür kullanmadığı üretimler gerçekleştirmişlerdir. Starter kültür veya rennet eklenmeyen peynirlerin toplam serbest aminoasit değerleri 3 aylık olgunlaşmanın her ayında kontrol UF peynirlerden anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur ($P<0.05$).

Laktik asit bakterilerinin hücre içi peptidazlarının aktiviteleri sonucu ortaya çıkan aminoasitlerin miktarı olgunlaşma süresi boyunca beklenildiği üzere artış göstermektedir. Süt konsantrasyonuna bağlı olmaksızın üretilen tüm peynirlerde olgunlaşma boyunca ortaya çıkan serbest aminoasit miktarı anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Bulat ve Topcu (2019) *L. lactis* subsp. *cremoris* UD459 kullanılarak üretilen UF beyaz peynirlerde 90 günlük olgunlaşma boyunca yükseltgenmiş peynirlerin serbest aminoasit içeriklerinde anlamlı bir fark gözlemlenmemişken, indirgenmiş peynir ve kontrol peynirlerde 30. günden itibaren anlamlı bir artış tespit etmişlerdir. Öner ve Sarıdağ (2018), beyaz peynirin olgunlaşması sırasında, farklı süt türlerinden (inek, koyun ve keçi)

ürettilip üretilmediğine bakılmaksızın peynirlerin toplam serbest amino asit konsantrasyonu 9 ay boyunca arttığını raporlamışlardır.



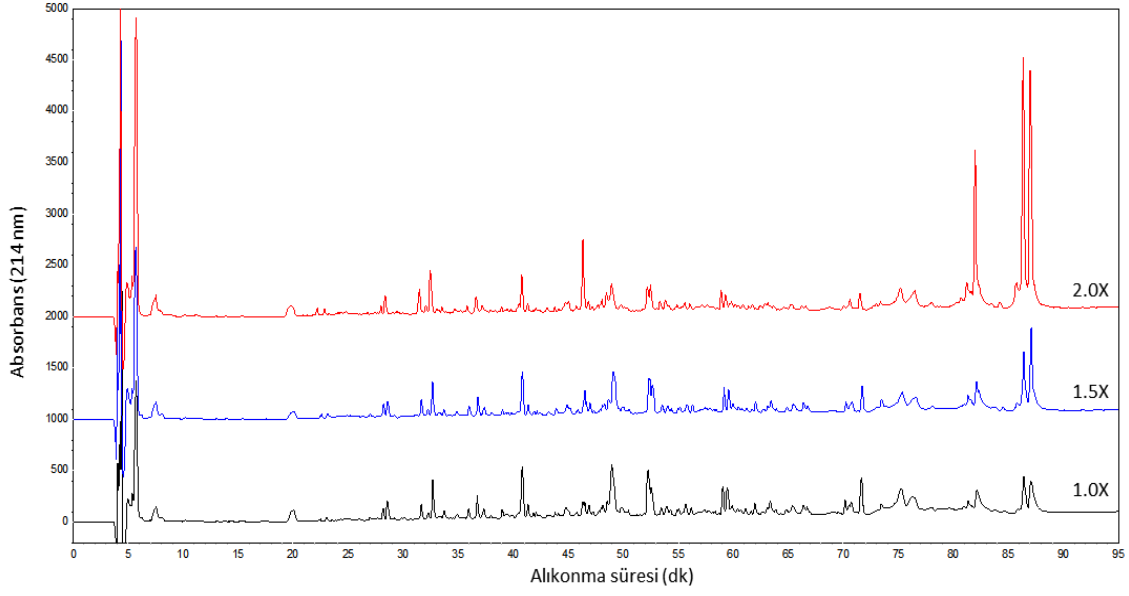
Şekil 4.24. Peynirlerin toplam serbest aminoasit konsantrasyonlarının olgunlaşma süresince değişimi (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.6.4. RP-HPLC ile Peptit Profili

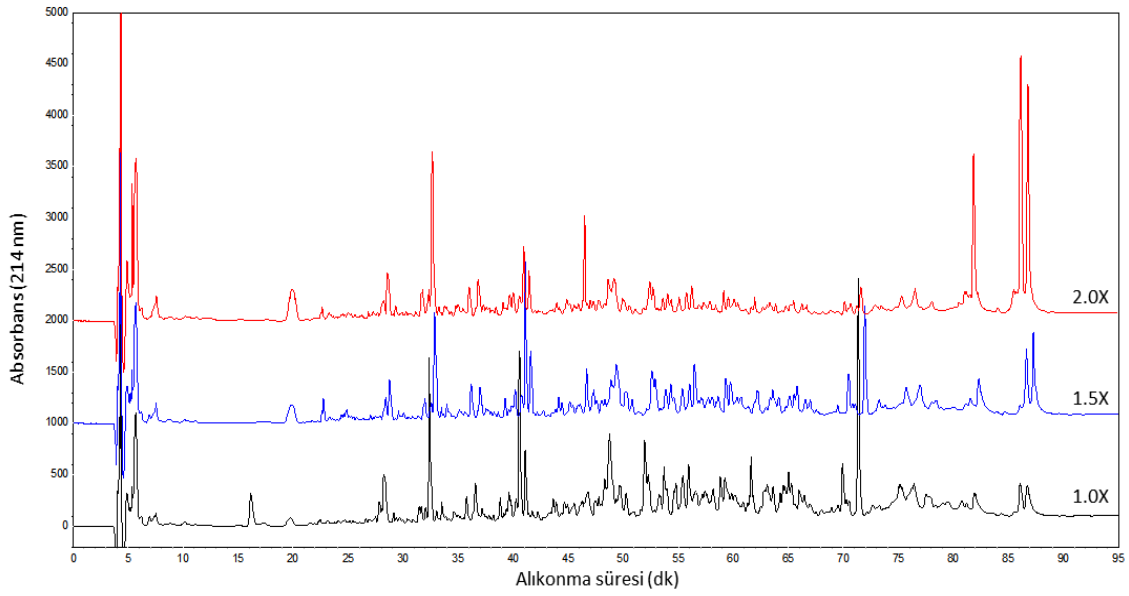
Peynirlerdeki proteolizin düzeyini görmek için yapılan analizlerden biri de suda çözünür azotlu bileşenleri tespit etmek amacıyla RP-HPLC ile peptit profilinin belirlenmesidir. Şekil 4.25-Şekil 4.28’de peynirlerin olgunlaşmanın başında (7. gün) ve sonundaki (90. gün) 214 nm ve 280 nm’deki RP-HPLC kromotogramları verilmiştir. Aromatik aminoasitler ve bunların türevleri ve aromatik aminoasitleri içeren peptitlerin 280 nm’de saptanması ve peptit bağlarının 280 nm’de düşük absorbansa sahip olması sebebiyle RP-HPLC analizi hem 214 nm’de hem de 280 nm’de gerçekleştirilmiştir (Bulat ve Topcu, 2019). Tüm peynirlerde 90. günde tespit edilen pik sayısı ve piklerin alanları beklenildiği gibi 7. güne göre artış göstermiştir. Konsantre peynirlerde yapıda tutulan serum proteinlerinden kaynaklı farklılıklar yaklaşık 83. dakikada gelen α -laktalbumin piki ve 86. ve 87. dakikalarda gelen β -laktoglobulinin genetik varyantlarına ait pikleri izlenerek

görülebilmektedir. Benzer şekilde araştırmacılar tarafından bu pikler rapor edilmiştir (Oluk, Güven ve Hayaloglu, 2014; Soltani, Guzeler ve Hayaloglu, 2015; Bulat ve Topcu, 2019). Şekil 4.25’de görüleceği gibi, erken elüsyon zamanında (5-20 dakika) peynirlerin peptit profilleri arasında önemli bir fark gözlenmemiştir. Olgunlaşma ilerledikçe, peynirlerin peptit profilleri arasındaki ana farklar 30-70 dakikalık alıkonma süresi bölgesinde ve serum proteinlerinde mevcuttur (83-90 dak) mevcuttur.

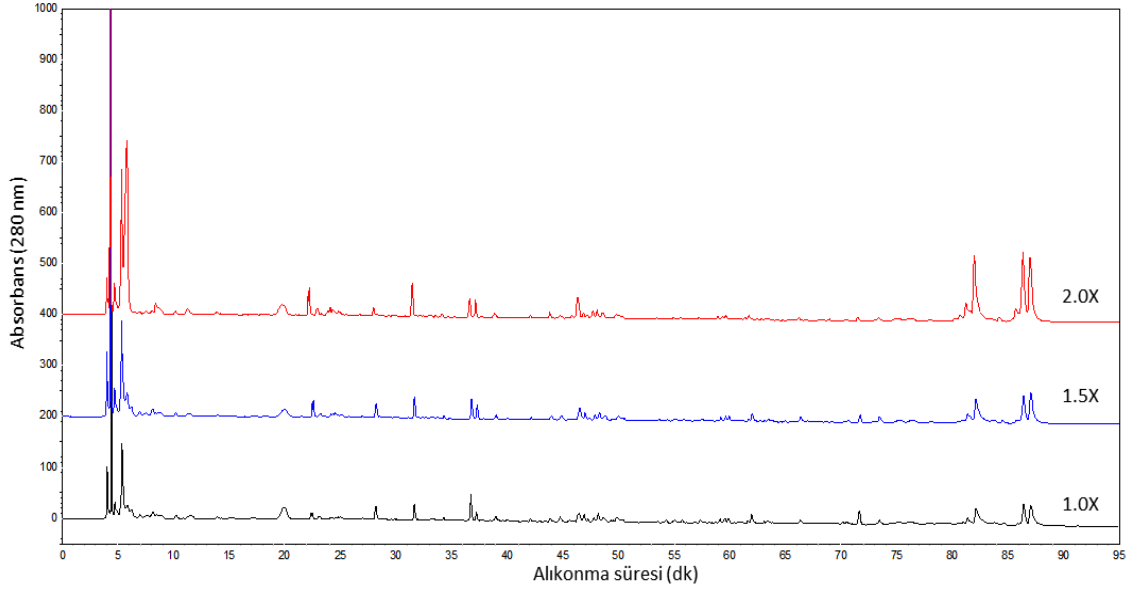
90. gün kromotagramları incelendiğinde açıkça görülebilir ki pH 4.6’da çözünen azot, %12’lik TCA’da çözünen azot ve toplam serbest aminoasit miktarı sonuçlarını destekleyecek şekilde kontrol peynirlerde daha fazla pik ve pik alanı tespit edilmiştir. 20., 22. ve 32. dakikada kontrol peynirlerindeki piklerin yüksekliği konsantre peynirlere göre daha kısa iken, 62. ve 72. dakikada gelen piklerin yüksekliği konsantre peynirlerde daha kısadır. Hidrofobik peptitler grubu, alıkonma süreleri yaklaşık 40 ila 80 dakika arasında olan peptitlerden oluşmaktadır (Wishah, 2007; Bulat ve Topcu, 2019). β -kazein hidrolizi ile acılık yoğunluğu arasında pozitif bir ilişki vardır (Topcu, 2004). Kontrol peynirlerde konsantre sütlerden elde edilen peynirlere göre, bu aralıkta bulunan piklerin yoğunluğu duyuusal analizlerde panelistler tarafından tespit edilen acı tat ile uyumludur.



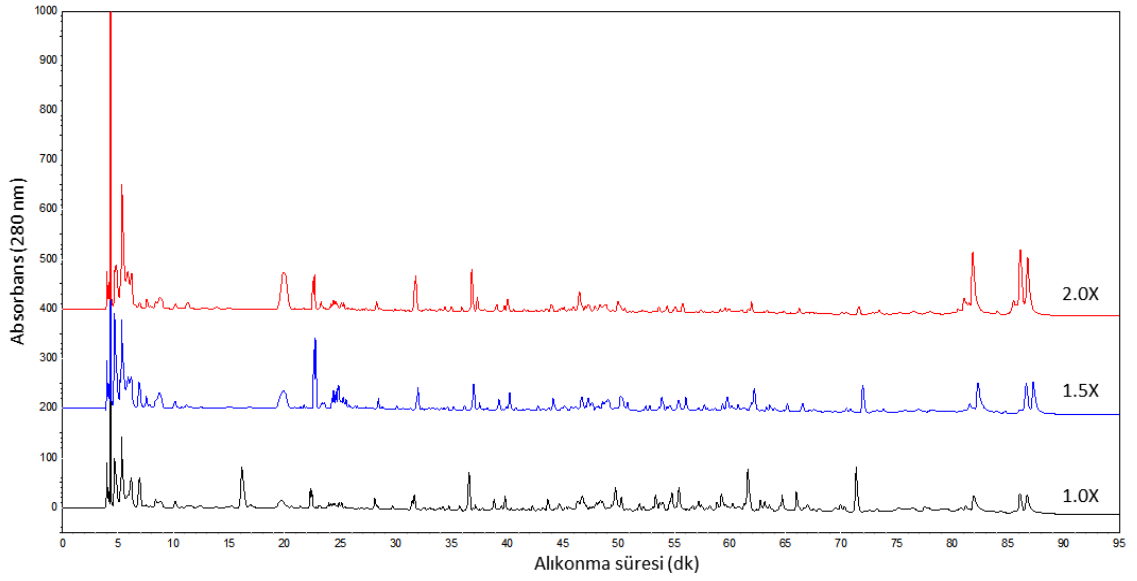
Şekil 4.25. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 7. gününde ve 214 nm’de RP-HPLC kromatogramları



Şekil 4.26. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 90. gününde ve 214 nm’de RP-HPLC kromatogramları



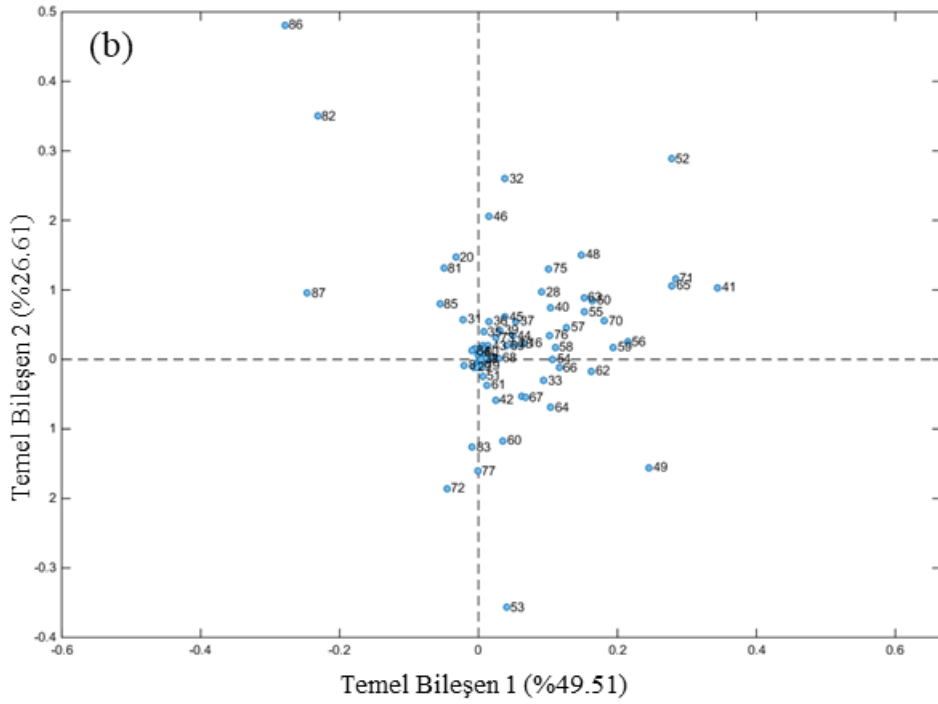
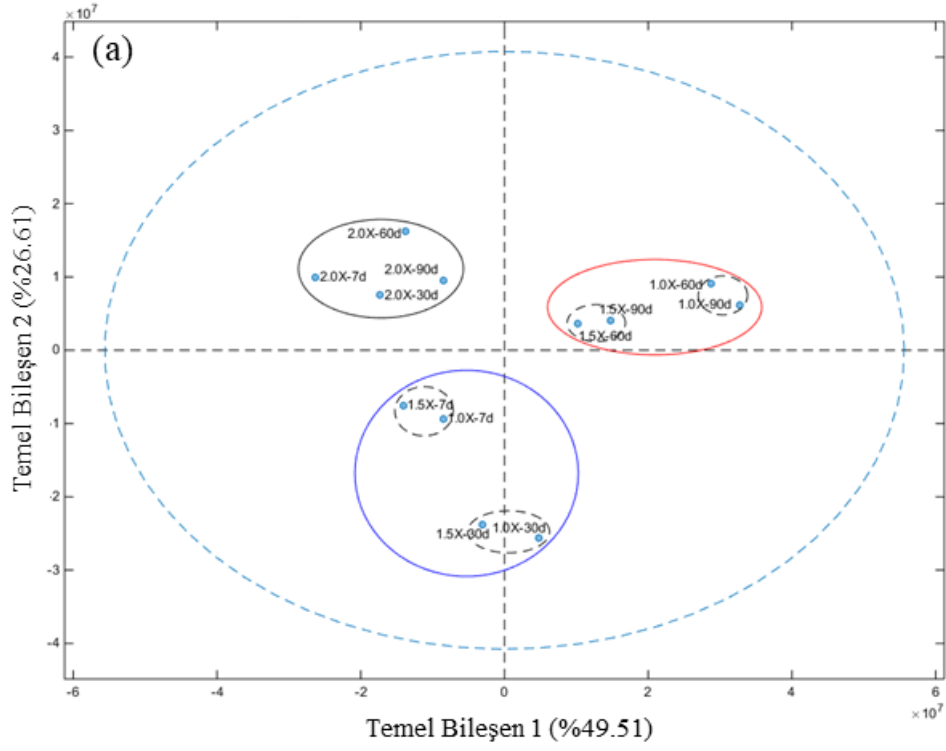
Şekil 4.27. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 7. gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları



Şekil 4.28. Üretilen peynirlerin olgunlaşmanın 90. gününde ve 280 nm'de RP-HPLC kromatogramları

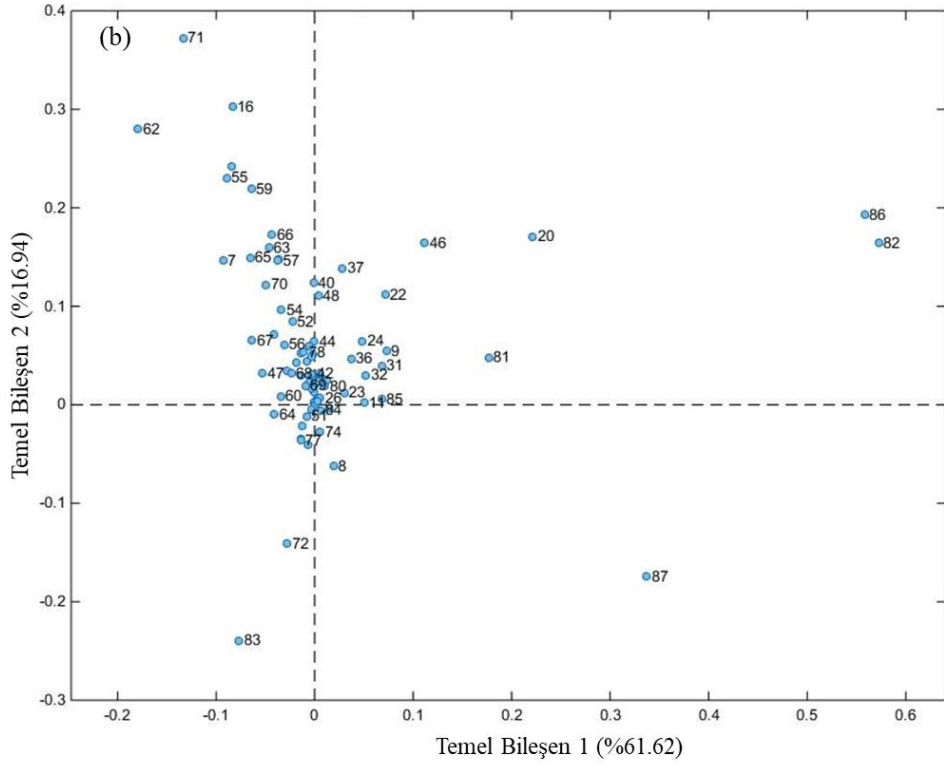
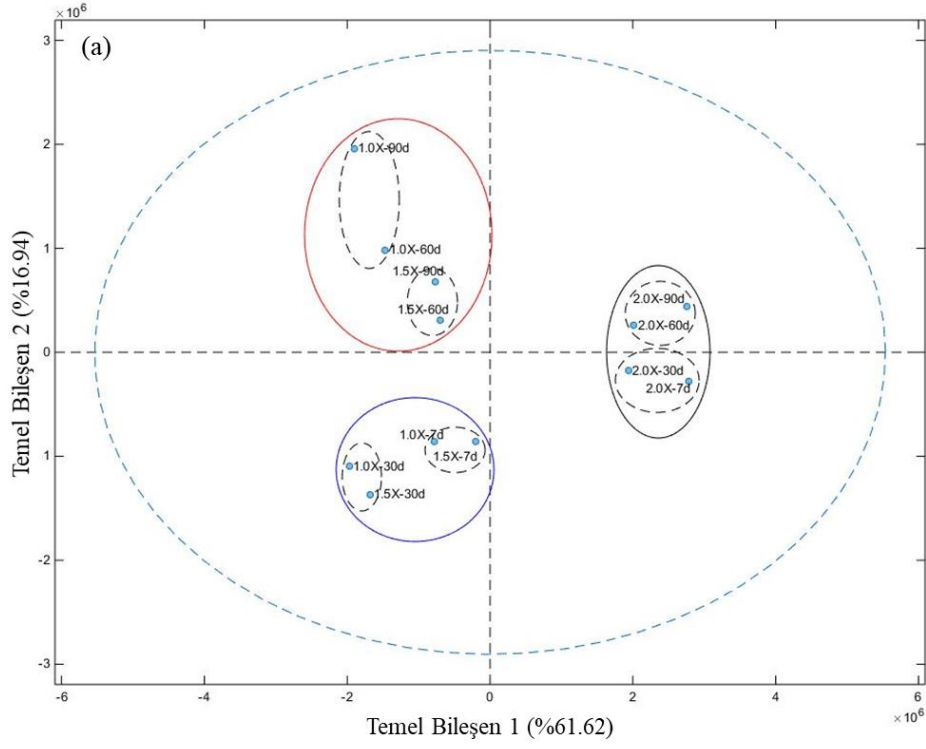
Peynirler arasındaki konsantrasyondan ve olgunlaşma süresinden kaynaklı farklılıkların araştırılması adına örneklere hem 214 nm hem 280 nm ayrı ayrı temel bileşen analizi uygulanmıştır. Temel bileşen analizi sonunda elde edilen grafikler Şekil 4.29 ve Şekil 4.30'da verilmiştir.

Şekil 4.29 (a)'da 214 nm'deki sonuçlar incelendiğinde 1.5X ve 1.0X peynirlerin 60. güne kadar benzer peptid profiline sahip olduğu görülmektedir. 7. ve 30. günlerdeki peptid profillerinin kendi aralarında farklı iki gruba ayrılmıştır. 60 ve 90 günlük olgunlaşma süresince oluşan peptid profilleri tüm peynirlerde benzerdir. Olgunlaşma periyoduna bağlı bir ayırım söz konusudur. 2.0X konsantre peynirlerin peptid profilinin 1.5X ve 1.0X peynirlerden farklı olduğu görülmektedir. Temel Bileşen 2'ye bakıldığında 7. ve 30. günlere ait örneklerin negatif bölgede, diğer günlere ait örneklerin ve tüm 2.0X peynirler pozitif bölgede olmak üzere ayrıldığı görülebilir. Böylece, 1.0X ve 1.5X peynirlerde 60. günden sonra 2.0X de ise olgunlaşma başından itibaren ayırımı sağlayan peptilerin oluşmaya başladığı söylenebilir. Bu ayırımı etkisi olan piklerin alıkonma süreleri sırasıyla yaklaşık 41., 49., 52., 53., 82., 86. ve 87. dakikadır (Şekil 4.29 (b)). 83 ve 86. dakika alıkonma süresine sahip pikler α -laktalbumin ile β -laktoglobulinin genetik varyantlarına ait olduğu bilinmektedir. Bu varyantların ayırımı etkili olması, peyniraltı suyu proteinlerinin peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyonu sonucu peynir yapısında daha fazla tutulması ile açıklanabilir. Bulat (2017) ultrafilte beyaz peynirlerde pH 4.6'da çözünür fraksiyona ait RP-HPLC kromatogramlarına uyguladığı temel bileşen analizinde 214 nm'de ayırımı sebep olan piklerin alıkonma sürelerini *L. lactis* subsp. *lactis* CM41 suşu kullanılarak üretilen peynirlerde 32., 39., 73., 87., 88. ve 89. dakika; *L. lactis* subsp. *cremoris* UD459 suşu kullanılarak üretilen peynirlerde ise 33., 36., 41., 73., 82., 83., 87. ve 88. dakika olarak belirlemiştir.



Şekil 4.29. (a) Konsantre ve kontrol süt kullanılarak üretilen peynirlerde olgunlaşma süresince 214 nm’de RP-HPLC profiline ait temel bileşen analizi (b) Temel bileşen analizinden elde edilen ve peptitlerin yaklaşık alıkonma sürelerine ait hesaplama verileri

Şekil 4.30 (a)'da ise pH 4.6'da çözünür peptit profilinin 280 nm'deki temel bileşen analizi sonuçları verilmiştir. Buna göre, Temel Bileşen 1 bileşenine bakıldığında 2.0X peynirlerin pozitif diğer peynirlerin negatif bölgede olduğu görülmektedir. Temel Bileşen 1 bileşeni açısından 2.0X peynirlerin sahip olduğu peptit profilinin 1.0X ve 1.5X peynirlerden farklı olduğunu söylemek mümkündür. Temel Bileşen 2 bileşeni incelendiğinde ise olgunlaşma süresinin peptit profiline etkisini görülebilir. 7. ve 30. gündeki örnekler negatif bölgede, 60. ve 90. gündeki örnekler pozitif bölgede kalacak şekilde ayırım sağlanmıştır. Böylece tüm peynirlerde ayırımı sağlayan peptitlerin olgunlaşmanın 60. gününden itibaren oluşmaya başladığı söylenebilir. 280 nm'deki temel bileşen analize göstermiştir ki hem olgunlaşma süresinin hem de kullanılan peynir sütü konsantrasyonunun peynirde oluşan peptit profiline etkisi vardır. Kontrol sütler ve ters ozmoz ile 1.5 kat konsantre edilen sütler ile benzer peptit profiline sahip peynirler üretmek mümkündür. 280 nm'de ayırında etkili olan piklerin 16., 20., 62., 71., 7., 81., 82., 83., 86., ve 87. dakikalarda tespit edildiği görülmektedir (Şekil 4.30 (b)).



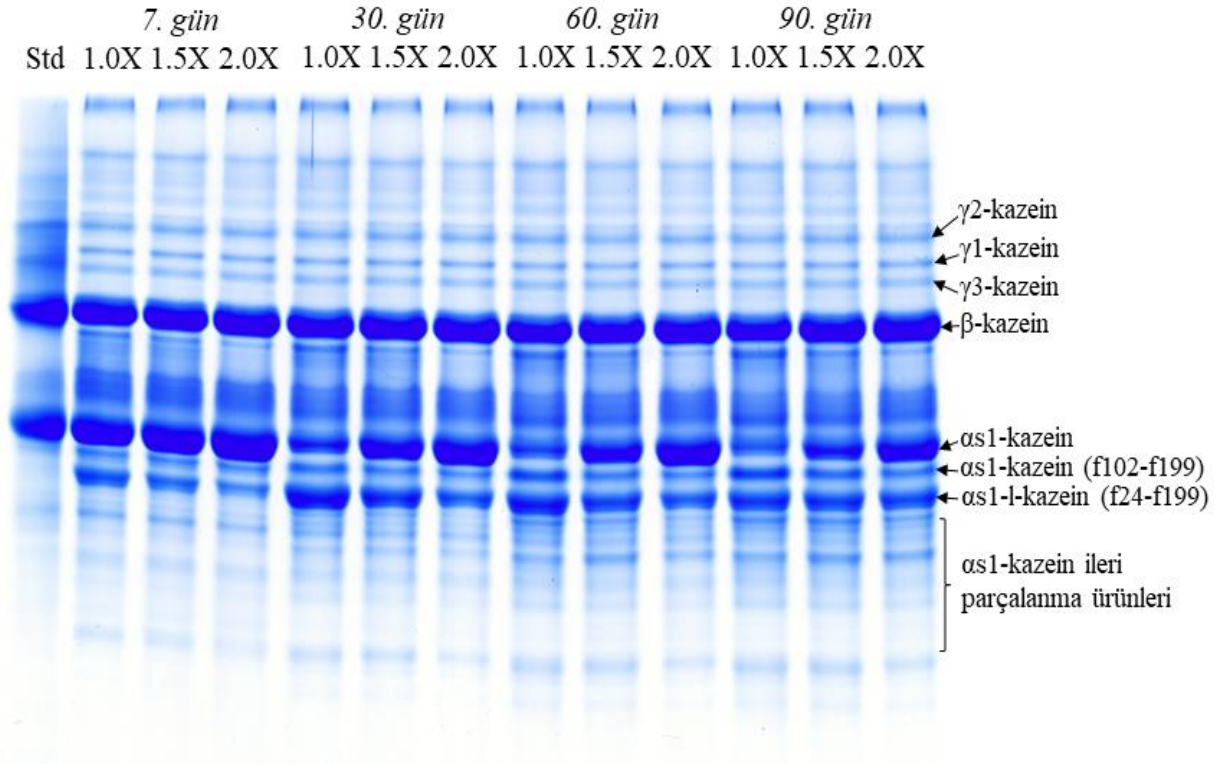
Şekil 4.30. (a) Konsantre ve kontrol süt kullanılarak üretilen peynirlerde olgunlaşma süresince 280 nm’de RP-HPLC profiline ait temel bileşen analizi (b) Temel bileşen analizinden elde edilen ve peptitlerin yaklaşık alıkonma sürelerine ait hesaplama verileri

4.2.6.5. Üre-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (Üre-PAGE)

Üre-PAGE, özellikle kazein fraksiyonlarındaki değişimden hareketle peynirde meydana gelen proteoliz hakkında fikir verir. Peynir üretiminin yaklaşık ilk 24 saatinde, kimozin, α_{s1} -kazein'nin %40'ını Phe23-Phe24 arasındaki peptid bağından hidrolize ederek, suda çözünür fraksiyon olan α_{s1} -kazein (f1-23) ve suda çözünmeyen fraksiyon olan α_{s1} -I-kazein (f24-199) oluşturmaktadır (Fox ve ark., 1996). Olgunlaşmanın 7., 30., 60 ve 90. gününde peynir örneklerinde meydana gelen proteolizi izlemek için gerçekleştirilen analize ait elektroforetogramlar Şekil 4.31'de verilmiştir. 7.günde tüm peynirlerde kazein bantlarına ait proteoliz seviyesi benzerlik göstermektedir. Sadece kontrol peynirlerde α_{s1} -I-kazein bantının dansitesi konsantre peynirlere göre daha yoğun olduğu görülmektedir. 30.günden itibaren kontrol peynirlerde proteoliz düzeyi artmıştır. Özellikle bu artış α_{s1} -kazein'de azalma, α_{s1} -kazein (f102-f199) ve α_{s1} -I-kazein (f24-f199) bantlarında artış takip edilebilmektedir. Kontrol peynirinin 30. gününde α_{s1} -kazein bandı dansitesi azalırken, α_{s1} -I-kazein (f24-f199) bandı dansitesi ciddi bir şekilde artmıştır. Konsantre peynirlerde de 30. günde 7. güne göre aynı bantların dansiteleri değişse de kontrol peynirindeki kadar yüksek değildir. 60. günde de tüm peynirlerde 30. güne benzer sonuçlar izlenmekle beraber α_{s1} -kazein ileri parçalanma ürünlerine ait bantların belirginleşmeye başladığı görülebilmektedir. 90. gündeki proteoliz düzeyi incelendiğinde ise kontrol peynirindeki α_{s1} -kazein bandının dansitesinin iyice azaldığını buna karşın α_{s1} -kazein (f102-f199) bandının dansitesini arttığı söylemek mümkündür. α_{s1} -I-kazein (f24-f199) bandının dansitesi 30. güne göre azalmış ve α_{s1} -kazein ileri parçalanma ürünleri bantları daha da belirginleşmiştir. 90 günlük konsantre peynirlerin bantlarında da kontrol peynirine benzer değişiklikler tespit edilmekle beraber bu değişiklikler kontrol peynirindeki kadar büyük değildir. Üre-PAGE elektroforetogramı da göstermektedir ki üretilen peynirlerdeki proteoliz kontrol peynirlerinde konsantre peynirlere göre daha yüksek seyretmiş olup olgunlaşma süresince tüm peynirlerde artış göstermiştir.

Nawar ve ark. (2007) 2 kat konsantre edilmiş ultrafiltre sütlerden ürettikleri tam ve yağı azaltılmış yumuşak beyaz peynirlerin salamurada bekletmenin kimyasal bileşimi, proteolizi ve reolojik özellikleri üzerindeki etkisi belirlemiştir. Geleneksel peynirlerdeki genel proteoliz seviyesini, UF peynirlerinden daha yüksek bulmuşlardır. Depolama, tüm peynirlerde α_{s1} -kazein konsantrasyonunda bir azalmaya ve buna bağlı olarak α_{s1} -I-kazein (f24-199) ve onun bozunma ürünü α_{s1} -kazein (f102- 199)

konsantrasyonları artmıştır. Tüm analiz zamanlarında α_{s1} -I-kazein (f24-199) yoğunlukları geleneksel peynirlerde en yüksek tespit edilmiştir. Bu durumun daha yüksek kimoziin aktivitesinden kaynaklı olabileceğini bildirmişlerdir (Nawar ve ark., 2007).



Şekil 4.31. Olgunlaşma süresine ait üre-PAGE (%T:12.5, %C:4) elektroforetogramı. Protein bantları, ilgili literatürdeki kaynaklar referans alınarak tanımlanmıştır (Ardö ve Polychroniadou, 1999; Bulat, 2011).

Üre-PAGE elektroforetogramına göre β -kazein parçalanması ve parçalanma ürünlerinin oluşmasında peynirler arasında büyük farklılıklar gözlenmemiştir. Olgunlaşma boyunca da tüm peynirlerin β -kazein ve parçalanma ürünlerinin bantlarının dansiteleri görsel olarak benzerdir. Salamura tipi beyaz peynirlerde β -kazeinin hidrolize karşı dirençli veya hidrolizinin düşük düzeyde olduğu belirtilmektedir. Yüksek tuz konsantrasyonu ve düşük pH'nın β -kazeinin pıhtılaştırıcı enzim ve/veya plazmin tarafından hidrolizini önemli ölçüde azalttığı, ancak α_{s1} -kazein bozunmasını engellemediği bildirilmiştir (Alichanidis ve ark., 1984; Fox ve McSweeney, 1996; Bulat, 2011).

Reale ve ark. (2020) olgunlaştırılmış Cheddar peynirindeki acılık gelişiminin, β -kazeinin acı peptitlerden β -kazein f(1–189/192)'e ayrışmasından kaynaklı olduğunu bildirmişlerdir. Üre-PAGE sonuçlarında gözlemlenen bu β -kazein fraksiyonunun, duyu analizlerde panelistlerin olgunlaşma süresince peynirin acılığında bir artış tespit etmesi ile örtüştüğünü belirtmişlerdir. β -kazein f(1–189/192) fraksiyonuna ait bant β -kazein bandının hemen altındaki ince banttır. Görüldüğü üzere kontrol peynirlerde bu bandın dansitesi daha yoğundur ve olgunlaşma süresince bu yoğunluk artış göstermiştir. Reale ve ark. (2020)'na benzer şekilde, bu çalışmada da yapılan duyu analizlerde panelistler 90. günde kontrol peynirlerde acı tat varlığı tespit etmişlerdir.

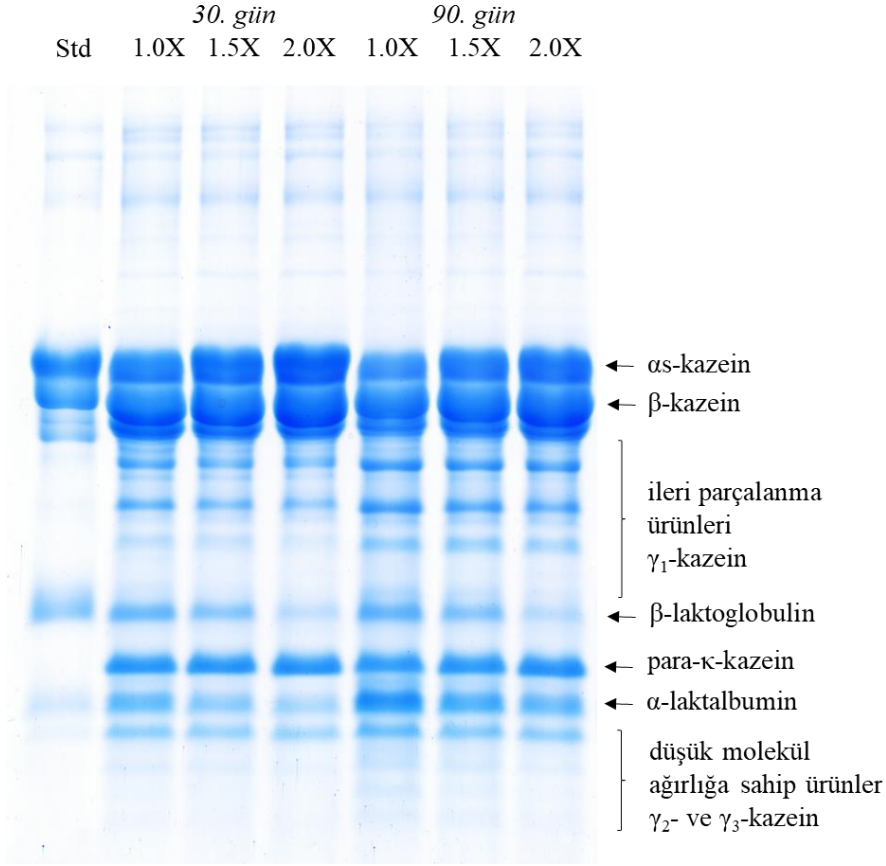
4.2.6.6. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE)

Üre-PAGE, proteinleri bir yük ve kütle kombinasyonuna dayalı olarak ayırma yöntemi sebebiyle proteolizi izlemek için yaygın olarak kullanılırken, SDS-PAGE büyük ölçüde boyuta dayalı ayırma yöntemidir. Temel kazein fraksiyonlarının moleküler büyüklükleri birbirine yakın olduğu için peynirde proteolizi incelemek için SDS-PAGE daha az uygundur (Upadhyay ve ark., 2004). Ancak ultrafiltrasyon ve ters ozmoz gibi membran teknikleriyle sütün konsantrasyonu edilmesiyse peynirde serum proteinlerinin (α -laktalbumin ve β -laktoglobulin) tutulması söz konusudur. Bu proteinlerde meydana gelen değişimlerin incelenmesi adına peynirlerde yapılan SDS-PAGE çalışmaları mevcuttur (Bulat ve Topcu, 2019; Harper ve ark., 1989; Ong, Henriksson ve Shah, 2006). Şekil 4.32'de olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. gününde peynir örneklerinde SDS-PAGE tekniği ile elde edilen elektroforetogramlar verilmiştir. α _{s1}-kazein, β -kazein ve ileri parçalanma ürünleri bantları incelendiğinde üre-PAGE sonuçlarıyla uyumlu olarak kontrol peynirlerde proteolizin konsantrasyonu sütlerden elde edilen peynirlere göre daha yüksek olduğu görülmektedir. 2.0X konsantrasyon peynirlerde ileri parçalanma ürünlerine ait bantların dansiteleri diğer peynirlere göre daha az yoğunlukta olup, 2.0X peynirlerdeki proteolizin daha düşük seviyede gerçekleştiğini göstermektedir. Aynı zamanda 2.0X peynirdeki α _{s1}-kazein bandında olgunlaşma boyunca büyük bir değişiklik gözlenmemesi de bu peynirdeki proteolizin sınırlı gerçekleşmiş olduğunun bir diğer göstergesidir. SDS elektroforetogramı görsel olarak incelendiğinde 1.5X ve 2.0X peynirlerde yapıda tutulan β -laktoglobulin ve α -laktalbumin oranının kontrol peynirine göre daha az olduğu tespit edilmiştir. Sıcaklıkla birlikte β -laktoglobulinin denatürasyona uğrayarak κ -kazeine bağlandığı bilinmektedir (Fox ve ark., 2017). Peynir yapımında tüm üretimlerde aynı

sıcaklık normu uygulanmasına karşın konsantre peynirlerde β -laktoglobulinin kazein miseline daha az bağlandığı görülmüştür. Bu sonuçlar pH 4.6'da çözünen fraksiyonda bulunan peptit profili analizi sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. pH 4.6'da çözünmeyen fraksiyon ile yapılan SDS-PAGE sonuçlarının aksine, peptit profili analizinde konsantrasyon artışına bağlı olarak β -laktoglobulin miktarlarında artış tespit edilmiştir.

Bununla birlikte α -laktalbumin içerikleri arasında belirgin bir farklılık görülmemektedir. Konsantre peynirlerde serum proteinleri yapıda daha fazla tutulması ve peyniraltı suyu ile görece daha az uzaklaşması da konsantre peynirlerdeki peynir verimini artırmış olabilir. Ayrıca, kalıntı serum proteinin görece yüksek olması tamponlama kapasitesini artırmış ve böylece 1.5X ve 2.0X peynirlerde proteoliz sınırlandırılmış/baskılanmış olabilir. UF peynirlerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan peyniraltı suyu proteinlerinin, proteolizi sınırlayabileceği belirtilmiştir (Hesari ve ark., 2006; Nezhad Razmjoui Akhgar, Hesari ve Azadmard Damirchi, 2016).

Depolama süresince serum proteinlerinde proteoliz tespit edilmemiştir. Harper ve ark. (1989) peyniraltı suyu proteinlerinin Cheddar peyniri proteolize etkisini inceledikleri çalışmada, SDS-PAGE analizi sonuçlarına göre doğal veya denatüre α -laktalbumin ve β -laktoglobulinin kayda değer bir proteoliz geçirmediğini ortaya koymuşlardır.



Şekil 4.32. Olgunlaşma süresine ait SDS-PAGE (%T:12.5, %C:2.6) elektroforetogramı. Protein bantları, ilgili literatürdeki kaynaklar referans alınarak SDS-PAGE jeli üzerindeki göreceli konumlarına göre tanımlanmıştır (Aaltonen, Huuonen ve Myllärinen, 2014; Soodam ve ark., 2015; Bulat ve Topcu, 2019; Topcu, Bulat ve Özer, 2020).

4.2.7. Serbest Yağ Asitleri Analizi

Kontrol sütü ve ters ozmoz retentatları ile üretilen beyaz peynirin lipoliz seviyesi olgunlaşma döneminde izlenmiştir. Bu amaçla peynirlerin 30. ve 90. günlerde toplam ve bireysel serbest yağ asidi (SYA) miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4.9). Kontrol üretimi ile 1.5X retentat ile üretilen peynirlerin toplam serbest yağ asidi seviyeleri birbirine yakın bulunurken, 2.0X retentat ile üretilen peynirlerin toplam serbest yağ asidi seviyeleri diğerlerine göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Bu durum, substrat seviyeleri arttıkça üretilen serbest yağ asidi seviyelerinin orantılı olarak arttığını kanıtlamaktadır. Bynum ve Barbano (1985), ters ozmoz işlemi sırasında süt hacmindeki azalma yüzdesi arttığında Cheddar peynirlerinin SYA içeriğinin arttığını belirtmektedir. Ayrıca olgunlaşma döneminde üretilen tüm peynirlerde 30. gün ile 90. gün arasında önemli bir fark görülmemiştir.

Olgunlaşmanın 90. gününde peynirlerin serbest yağ asidi profilleri (kontrol, 1.5X ve 2.0X) Çizelge 4.9'da verilmiş ve tüm bu serbest yağ asidi düzeylerinin konsantrasyon düzeyi ile orantılı olduğu görülmektedir. Kısa ve orta zincirli serbest yağ asitleri birbirinden önemli ölçüde farklı bulunmuştur. ($P<0.05$). C12 ve uzun zincirli serbest yağ asitleri göz önüne alındığında, 2.0X retentattan elde edilen peynir, 1.5X retentat ve kontrol sütünden yapılan peynirden daha yüksek SYA konsantrasyonlarına sahip olduğu görülmüştür ($P<0.05$). 2.0X retentatlarda pıhtı kesim süresi ve buna bağlı olarak peyniraltı suyunun ayrılması için harcanan sürelerin diğer üretimlerden daha uzun olması, starter ve starter olamayan bakterilerin olası lipaz aktivitelerini tetikleyerek lipolizin daha yüksek seviyede gerçekleşmesine olanak sağlamış olması olabilir. Ayrıca, TO ile konsantrasyon sırasında yüksek hızlı pompalama ve yüksek çalışma basınçları nedeniyle süt yağı küreciğinin mekanik olarak zarar görmesi, olası lipoliz etkinliğini artırmış ve SYA konsantrasyonunun artmasına neden olmuş olabilir. TO ile konsantre edilen sütlerde yüksek basınç uygulamasına bağlı olarak lipolizin teşvik edilebileceği belirtilmektedir (de Boer ve Nooy, 1980; Barbano, Bynum ve Senyk, 1983). Aşırı lipoliz peynirde istenmeyen tat bozukluklarına neden olabilir (Barbano, Bynum ve Senyk, 1983; Barbano ve Bynum, 1984). Ancak duyusal değerlendirmelerde lipolize bağlı belirgin bir kusur tespit edilmemiştir. Ek 1.3'de serbest yağ asidi analizine ait örnek bir kromatogram verilmiştir.

Çizelge 4.9. Olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerinde peynirlerde bulunan toplam serbest yağ asidi konsantrasyonu ve olgunlaşmanın 90. günündeki 10 farklı serbest yağ asidinin her birinin konsantrasyonu

Olgunlaşma süresi (gün)	Toplam SYA konsantrasyonları (mg/kg peynir)		
	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
30	1984.61 ± 53.24 ^a	2098.24 ± 33.13 ^a	2505.93 ± 44.88 ^b
90	2827.56 ± 25.06 ^a	3046.95 ± 36.69 ^a	3455.78 ± 135.56 ^b
SYA	90. günde her bir SYA konsantrasyonları (mg/kg peynir)		
	1.0X (kontrol)	1.5X	2.0X
C4:0	39.97 ± 0.82 ^a	42.31 ± 0.44 ^a	50.15 ± 0.95 ^b
C6:0	21.51 ± 0.79 ^a	25.93 ± 0.10 ^b	41.39 ± 0.57 ^c
C8:0	25.09 ± 0.80 ^a	31.93 ± 0.01 ^b	51.69 ± 0.33 ^c
C10:0	95.48 ± 1.19 ^a	106.85 ± 0.09 ^b	143.56 ± 1.19 ^c
C12:0	145.62 ± 2.50 ^a	155.10 ± 0.29 ^a	189.80 ± 3.26 ^b
C14:0	372.19 ± 2.40 ^a	380.72 ± 1.11 ^a	490.96 ± 4.71 ^b
C16:0	1094.21 ± 15.38 ^a	1161.81 ± 0.42 ^a	1381.74 ± 40.16 ^b
C18:0	300.86 ± 21.49 ^a	332.83 ± 23.11 ^a	361.39 ± 79.55 ^a
C18:1	635.97 ± 6.53 ^a	707.36 ± 11.81 ^b	653.43 ± 7.16 ^a
C18:2	96.65 ± 1.76 ^b	102.12 ± 0.42 ^c	91.68 ± 0.25 ^a

Farklı üst simge harflere sahip aynı satırdaki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

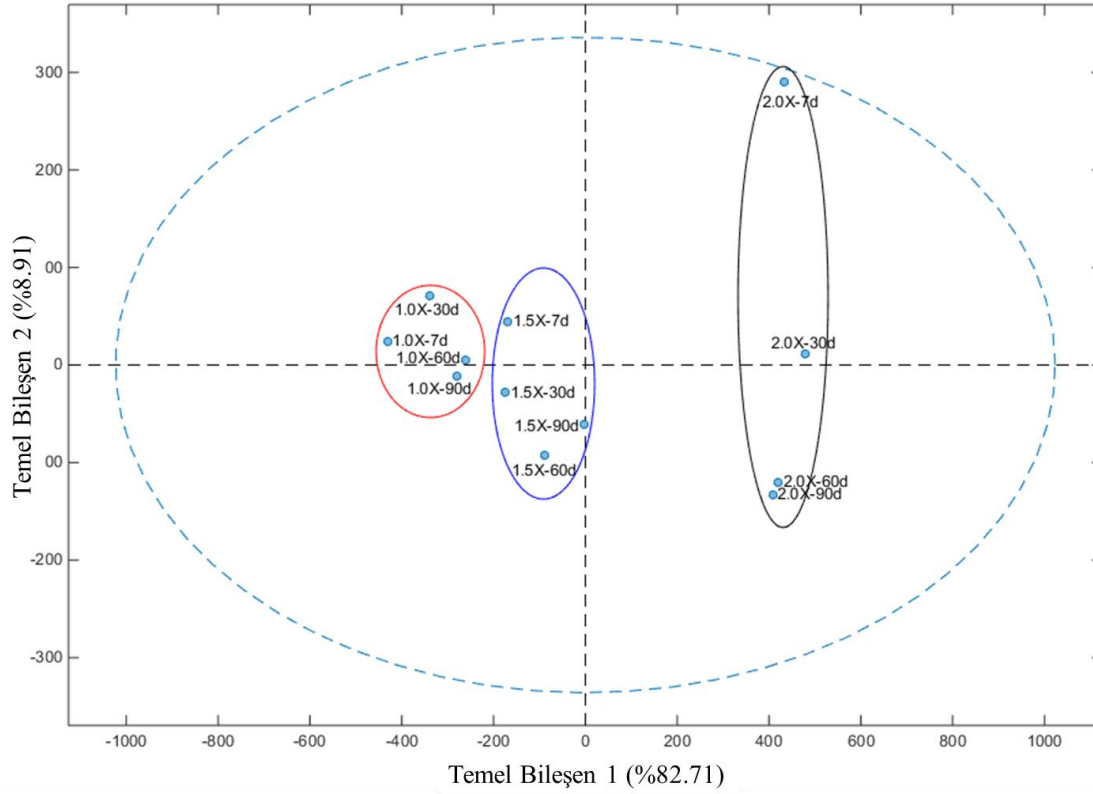
4.2.8. Uçucu Bileşenlerin Analizi

Peynir olgunlaşmasında çok sayıda aroma bileşeni oluşmaktadır (Bknz. EK 1.4). Peynir lezzet ve aromasından sorumlu en yaygın peynir uçucuları, genellikle kısa zincirli yağ asitleri ve bunların esterleri, aldehitler, ketonlar, alkoller ve kükürt bileşikleridir (Andiç, Tunçtürk ve Boran, 2015; Bulat, 2017; Ganesan ve Weimer, 2017). Asitler, peynirin ana lezzet bileşenidir ve ayrıca ketonlar, alkoller, laktonlar ve esterler gibi diğer aroma bileşiklerinin öncüleridir (McSweeney ve Sousa, 2000). TO retentatından üretilen peynirlerin uçucu karboksilik asit içerikleri kontrol peynirinden daha yüksektir. Asetik asit, bütanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit ve dekanoik asit peynir örneklerinde tespit edilen uçucu bileşenlerden asit grubunda en yüksek miktarda bulunan bileşenlerdir. Çalışmada tespit edilen tüm uçucu asitler daha önce Türk beyaz peynirinde tanımlanmıştır (Akalin ve Karaman, 2011; Özer ve ark., 2011). Esterler peynirlere meyvemsi tat vermekten sorumludur ve alkollerin serbest yağ asitleriyle esterleşmesiyle oluşurlar (Liu, Holland ve Crow, 2004; McSweeney ve Sousa, 2000). Üretilen

peynirlerde tanımlanan yağ asitlerinin esterleri genel anlamda 2.0X peynirlerde daha yüksek oranda belirlenmiştir. Heksanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester ve bütanoik asit metil ester peynir aromasına en yüksek katkıyı yapmıştır. Tahta fiçı ve teneke kaplarda paketlenen Feta peynirlerinde en yüksek miktarda tespit edilen esterlerden biri heksanoik asit etil ester olmuştur. Oktanoik asit etil ester ve dekanolik asit etil ester bu çalışma sonuçlarına benzer şekilde tespit edilen diğer esterlerdir (Kondyli, Pappa ve Vlachou, 2012). Bütanoik asit etil ester, hekzanoik asit etil ester, oktanoik asit etil ester, dekanolik asit metil ester ve dekanolik asit etil ester UF beyaz peynirlerde (Bulat ve Topcu, 2020), hekzanoik asit etil ester ise ezine peynirlerinde (Yüceer, İşleten ve Mendeş, 2009) tespit edilen önemli ester bileşikleridir. Serbest yağ asitlerinin β -dekarboksilasyonu ile oluşabilen ve ikincil alkollere indirgenebilen ketonlar (Taivosalo ve ark., 2019), tüm peynirlerde tespit edilmiş ve en yüksek değerlerine 2.0X'te ulaşmıştır. Peynirde önemli tat ve aroma bileşenleri olan 2-bütanon 3-hidroksi (asetoin) ve 2,3 bütandion (diasetil) bu gruptadır. Ayrıca, 2-hidroksi-3-pentanon ve 2-nonanon bu grupta tespit edilmiş diğer önemli keton bileşikleridir. Peynirlerde asit ve ketonlardan sonra yüksek oranda bulunan bir diğer grup alkoller de tespit edilen uçucu bileşenlerdendir. Esterlerin oluşumunda önemli rolü olan etanol bu gruptadır. 3-metil-1-bütanol ve peynirlerin ayrılmasında önemli etkisi olan bileşiklerden biri olan 1-oktanol da tespit edilen uçucu alkoldendir. Aldehitler ara ürünlerdir ve konsantrasyonları olgunlaşma süresi boyunca değişmiştir. Peynirlerde en yüksek miktarda tespit edilen aldehitler sırasıyla benzaldehit, dodekanal ve hekzanaldır. Laktonlar, hidroksi yağ asitlerinin intramoleküler esterleşmesiyle oluşan halkalı bileşiklerdir. Peynirdeki başlıca laktonlar, sırasıyla 5 ve 6 üyeli halkalara sahip olan γ - ve δ -laktonlardır. γ - veya δ -hidroksi yağ asitlerinden oluşturulabilen bu laktonlar, kararlı ve güçlü aromaya sahiptir (McSweeney ve Sousa, 2000). Peynir aromasına önemli katkısı olan laktonlardan δ -hekzalakton, δ -oktalakton ve δ -dekalakton tespit edilen önemli bileşenlerdendir. Bu grupların dışında metantiyol, karbondisülfür, α -pinen, β -pinen, limonen, dimetil sülfon gibi diğer aroma bileşenleri de tespit edilmiştir. Olgunlaşma döneminde peynirlerde bulunan aroma bileşikleri EK 1.4'te verilmiştir. Ayrıca, Ek 1.5'de uçucu bileşen analizine ait örnek bir kromatogram verilmiştir.

Peynirlerin aroma profillerindeki farklılıkları görmek için PCA yapılmış ve PCA skorları Şekil 4.33'te verilmiştir. Temel Bileşen 1 bileşeni incelendiğinde TO konsantrasyonunun uçucu bileşenler üzerindeki etkisi açıkça görülmektedir. 3 peynirin hepsi birbirinden

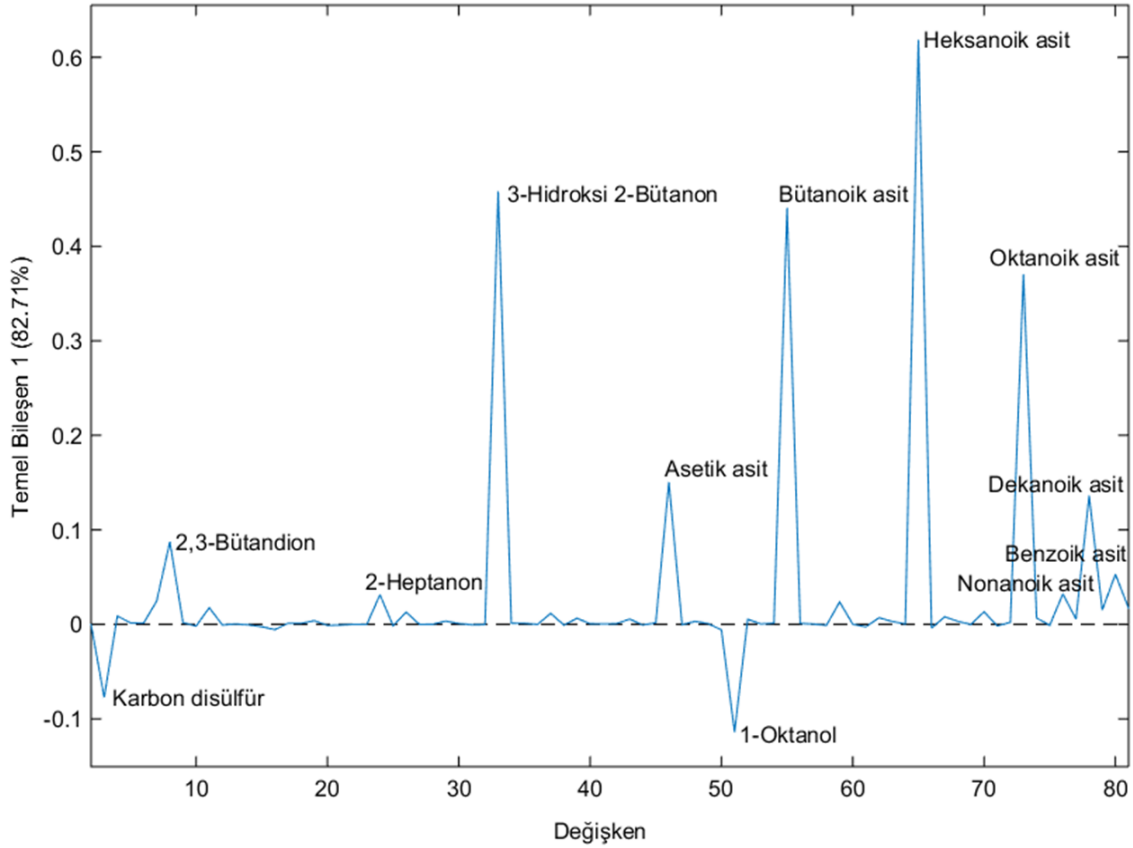
ayrılmış olsa da 2.0X peynirin aroma içeriğinin diğerlerinden belirgin farklı olduğu söylenebilir.



Şekil 4.33. Üretilen 1.0X, 1.5X ve 2.0X beyaz peynirlerin olgunlaşma döneminde (7, 30, 60 ve 90) GC-MS ile uçucu bileşen analizinden elde edilen işlenmiş verilerin Temel Bileşen Analizi (PCA).

Şekil 4.34'te peynirler arasındaki bu farkın ağırlıklı olarak heksanoik asit, 3-hidroksi-2-bütanon, bütanoik asit, oktanoik asit ve kısmen asetik asit, dekanıik asit, 1-oktanol, benzoik asit, nonanoik asit, 2,3-bütandion, 2-heptanon ve karbon disülfür'den kaynaklandığı görülmektedir. Peynirler arasındaki en büyük farklılığa neden olan heksanoik asit, bütanoik asit ve oktanoik asit gibi bileşenler lipoliz sonucu oluşan kısa zincirli yağ asitleri arasındadır. Bölüm 4.2.7.'de bahsedildiği gibi 90 günlük peynirlerdeki kısa zincirli yağ asitlerinin miktarları birbirinden önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Asetoin olarak da bilinen 3-hidroksi-2-bütanon farklılığa neden olan bileşiklerden biridir. Asetoin, LAB'nin sitrat metabolizmasının bir sonucu olarak oluşur ve gıdalardaki karakteristik tatlı, tereyağlı ve kremamsı lezzetten sorumlu önemli bir

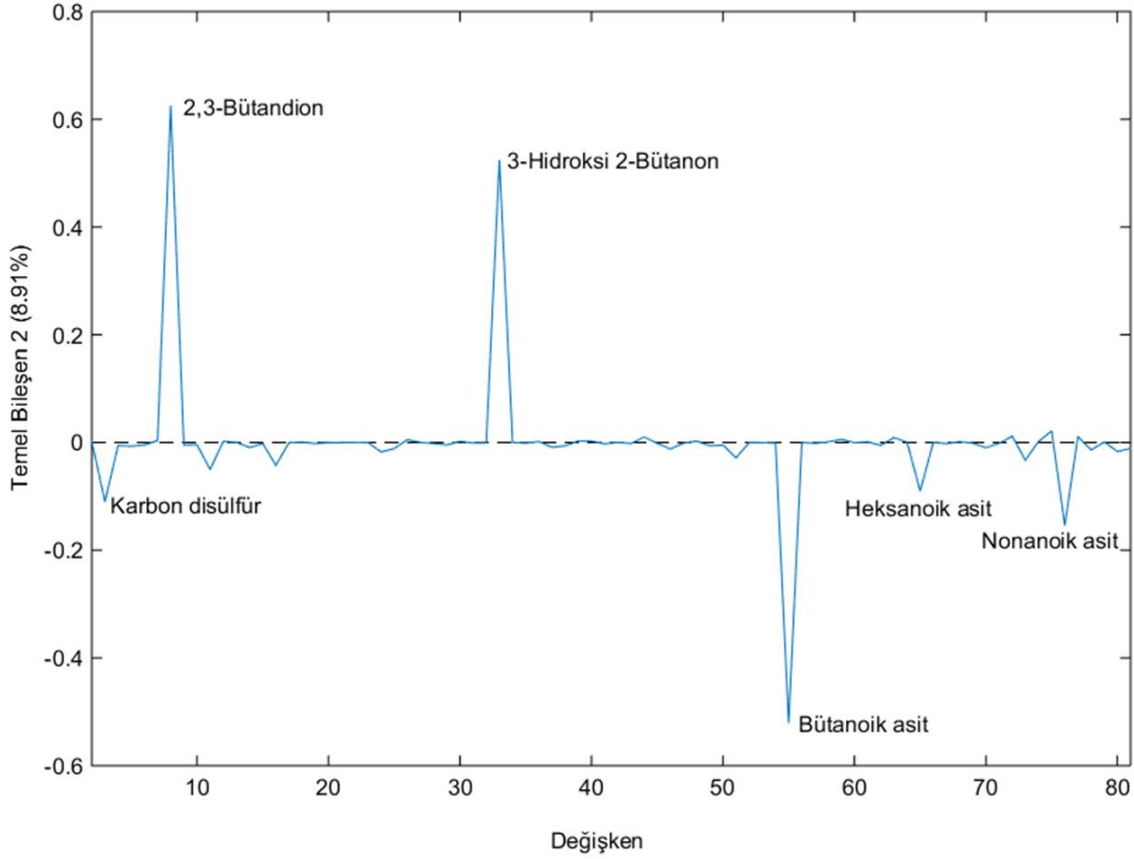
aroma maddesidir (Coolbear, Weimer ve Wilkinson, 2011; McSweeney ve Sousa, 2000). TO işlemleri ile konsantrasyon artışına bağlı olarak sitrat miktarında artış olmuştur. Peynirler arasındaki aseton farkının sitrat miktarındaki bu farklılıktan kaynaklandığı söylenebilir.



Şekil 4.34. Peynirlerde olgunlaşma boyunca üretilen ve peynir sütüne bağlı ayırımında etkili olan uçucu bileşikler

Şekil 4.33'te Temel Bileşen 2, peynirlerin aroma profillerinin her üç peynirde de olgunlaşma süresi ile değiştiğini göstermektedir. 60. ve 90. gün peynirlerinin 7. ve 30. gün peynirlerinden farklı olduğu söylenebilir. Kontrol peynirlerinde bu farklılıklar olgunlaşma sırasında daha yakın bir seyir izlemektedir. 1.5X peynirlerde artan olgunlaşma süresi ile birlikte daha büyük değişimler meydana gelmiş, özellikle 60. ve 90. günlerde bu fark daha belirginleşmiştir. 2.0X peynirleri dikkate alındığında 7. gündeki ilk lezzet profilinin 60. ve 90. gündeki profilden çok farklı olduğu görülebilir. Olgunlaşmadaki farklılıkların baskın olarak 2,3-bütandion, 3-hidroksi-2-bütanon, bütanoik asit ve kısmen nonanoik asit, heksanoik asit ve karbon disülfitten kaynaklanmaktadır (Şekil 4.35).

Diasetil olarak bilinen 2,3-bütandion, asetoin gibi LAB'nin sitrat metabolizmasının bir sonucu olarak oluşan tereyağlı aromadan sorumlu bir aroma maddesidir (McSweeney ve Sousa, 2000; Coolbear, Weimer ve Wilkinson, 2011).



Şekil 4.35. Peynirlerde olgunlaşma boyunca üretilen ve olgunlaşma süresine bağlı ayırimda etkili olan uçucu bileşikler

4.2.9. Organik Asit ve Şeker Analizi

Öncelikle peynir sütlerinin organik asit içerikleri belirlenmiştir. Bu bağlamda 1.0X, 1.5X ve 2.0X sütlerin sırasıyla; laktik asit miktarları 879.90 ± 79.32 mg/kg peynir, 1214.04 ± 57.24 mg/kg peynir ve 783.61 ± 90.17 mg/kg peynir, sitrik asit miktarları 1612.83 ± 203.05 mg/kg peynir, 2181.04 ± 14.45 mg/kg peynir ve 3703.13 ± 49.92 mg/kg peynir, pirüvik asit miktarları 9.72 ± 0.36 mg/kg peynir, 21.37 ± 7.05 mg/kg peynir ve 25.51 ± 0.69 mg/kg peynir, orotik asit miktarları 89.39 ± 0.18 mg/kg peynir, 133.68 ± 1.09 mg/kg peynir ve 220.55 ± 2.85 mg/kg peynir, ürik asit miktarları 6.11 ± 0.21 mg/kg peynir, 14.98 ± 0.02 mg/kg peynir ve 34.74 ± 3.85 mg/kg peynir, asetik asit miktarları 100.99 ± 12.82 mg/kg peynir, 145.24 ± 21.32 mg/kg peynir ve 184.17 ± 46.27 mg/kg peynir

ve formik asit miktarları 777.64 ± 4.42 mg/kg peynir, 1078.47 ± 20.22 mg/kg peynir ve 1577.18 ± 22.93 mg/kg peynir olarak tespit edilmiştir.

Olgunlaşma dönemindeki peynirlerdeki organik asitlerin ve şekerlerin konsantrasyonları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Karbonhidrat katabolizması, peynirde aroma oluşumu için önemli bir reaksiyonlar dizisidir. Karbonhidrat katabolizması için laktoz ve galaktoz gibi substratların konsantrasyonları önemli özelliklerdir. Bu nedenle olgunlaşma döneminde pirüvik, laktik, sitrik, orotik, formik, asetik ve ürik asit gibi organik asitlerin yanı sıra laktoz ve galaktoz konsantrasyonları da belirlenmiştir.

Konsantre süt ile üretilen peynirlerde de laktoz içeriği yüksek olduğu görülmektedir. Her üç peynir çeşidi de birbirinden önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($P < 0.05$). Barbano ve Bynum (1984) ters ozmoz konsantreleri ile ürettiği Cheddar peynirlerinde kontrol peynirlerinden daha fazla laktoz tespit etmişlerdir. %5 hacim azaltma oranı ile konsantre edilmiş sütler ile üretilen Cheddar peynirlerinde laktoz oranı %0.2 iken, %10 hacim azaltılmışlarda %0.24, %20 hacim azaltılmışlarda ise %0.4 olarak bulunmuştur. Konsantrasyon faktörü arttıkça peynirlerdeki laktoz içeriği artış göstermiştir. Kalıntı laktozun peynir verimini etkileyen bir parametre olduğu bilinmektedir (Barbano ve Bynum, 1984; Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000; Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot, 2019), 2.0X ve 1.5X peynirlerdeki verim artışının bir sebebi de kalıntı laktoz miktarı kaynaklı olabilir. Peynir verimindeki ve post-asidifikasyondaki artış, yüksek laktoz içeriğinden kaynaklanmaktadır (Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). Peynirlerin laktoz içeriği olgunlaşma süresinden de etkilenmiştir. Konsantre süt peynirlerinde en yüksek laktoz içeriği olgunlaşmanın başında tespit edilmişken, olgunlaşma boyunca hafif bir azalma görülmüştür. TO sütlerden üretilen Cheddar peynirlerinde yüksek düzeyde olan kalıntı laktozun kusurlara neden olabileceği belirtilmiştir (Mistry ve Maubios, 2004). Bu çalışmada da panelistler tarafından 2.0X peynirlerin 90. günlerinde tatlı asidik tat oluşumu tespit edilmiş olup bu bir kusur olarak bildirilmiştir.

Galaktoz, laktozun parçalanmasıyla oluşan bir monosakkarittir, bu nedenle olgunlaşma sırasında tüm peynirlerde bulunur. Kalıntı galaktoz düzeyi starter ve starterdışı laktik asit bakterilerin kullanımı ile de ilişkilidir. Peynirlerdeki galaktoz miktarı kullanılan süte göre

farklılık göstermiş, Bynum ve Barbano (1985) tarafından bildirildiği üzere kontrol sütünden üretilen peynirlerin galaktoz içerikleri konsantre peynirlere yakın veya biraz daha az olmuştur. 2.0X peynirlerde olgunlaşma sırasında hafif bir artış görülmüştür. 1.5X peynirlerde ise bir dalgalanma olmuş ve bu dalgalanma kalıntı laktoz içeriği ile uyumludur. Diğer peynirlerin aksine 1.0X peynirlerde olgunlaşma sırasında galaktoz miktarı azalmıştır. Bu peynirlerin laktoz miktarları incelendiğinde 1.0X peynirde çok az laktoz kalıntısı olduğu görülmektedir. Galaktozdaki bu düşüşün nedeni, peynir üretiminde kullanılan karışık suş kültüründeki mezofilik türlerin enerji için galaktozu metabolize etmesi olabilir (Cebeci ve ark., 2020). 90. günde konsantre peynirlerdeki kalıntı galaktoz miktarları birbirinden önemli ölçüde farklı bulunmamıştır. Bulat (2011) 90 günlük olgunlaşma boyunca beyaz peynirlerde yaklaşık olarak %0.15-0.35 galaktoz tespit etmiştir.

Çizelge 4.10 incelendiğinde ters ozmoz konsantrelerden üretilen beyaz peynirlerde baskın organik asidin laktik asit olduğu görülmektedir. Laktik asit içeriği tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca artmıştır. Genel olarak laktik asit içerikleri karşılaştırıldığında tüm peynirlerde benzer seviyelerde olsalar da 1.5X peynirde kontrol (1.0X) ve 2.0X peynirine göre nispeten yüksek bulunmuştur. Laktik asit oluşumu peynirin olgunlaşması tat ve aroma özelliklerini artırmasının yanı sıra kaliteli peynir üretimi için de önemlidir. Starter laktik asit bakterileri laktozdan laktik asit ürettiğinde, üretilen laktik asidin koliformlar üzerinde inhibe edici etkisi olduğu bilinmektedir (Akalin, Gönc ve Akbaş, 2002). Bulat (2011) beyaz peynirlerde olgunlaşma boyunca 6000 ile 10000 ppm aralığında laktik asit tespit etmiştir. Bu miktarlar aynı zamanda laktik asidin beyaz peynirlerdeki baskın organik asit olmasını sağlamıştır. Akalin, Gönc ve Akbaş (2002) salamura beyaz peynirlerde belirlediği laktik asit içeriğinin olgunlaşmanın başında toplam organik asitlerin %95'ini, 2. ayda %76'sını, 9. ayda %69'unu ve 12. ayda %60'ını oluşturduğunu bildirmiştir. Manolaki, Katsiari ve Alichanidis (2006) Feta tipi peynirlerinde 60 günlük olgunlaşma boyunca 13000 ile 18000 ppm arasında laktik asit tespit etmiştir. Bu çalışmada da baskın organik asit laktik asit olmuştur.

Pirüvik asit, glikolizin ara ürünüdür. Bu ürün ayrıca diğer ürünlere metabolize edilebilir. Pirüvik asit konsantrasyonu, beklendiği gibi D-glukozun glikoliz ile piruvata

dönüştürülmesi nedeniyle olgunlaşma döneminde artmıştır. Olgunlaşma periyodunun başında, glikolizin 2.0X peynirde 1.0X (kontrol) ve 1.5X peynir örneklerinden daha hızlı olduğu görülmektedir. 2.0X peynirde glikoliz oranı olgunlaşma sırasında yavaşlarsa da, yüksek substrat konsantrasyonu nedeniyle olgunlaşma sırasında pirüvik asit konsantrasyonu artmıştır. Kontrol peynirlerinde olgunlaşmanın 60. gününde dönüşümün azaldığı görülmektedir. Bunun nedeni 60. günde substratın olmaması olabilir. Ancak konsantre süt (1.5 ve 2.0X) ile üretilen peynirlerde dönüşümün 60. günden 90. güne kadar devam ettiği görülmektedir ve bunun nedeni peynirde hala substrat bulunması olabilir. (Akalin, Gönç ve Akbaş, 2002) beyaz peynirlerin organik asit içeriğini 12 aylık olgunlaşma boyunca takip etmiştir. Pirüvik asit 1. aydan 3. aya kadar artış göstermiş olup daha sonra 12. aya kadar düşüş trendine girmiştir. Bu süreçte tespit edilen pirüvik asit miktarı 100-200 ppm arasında değişim göstermiştir. Bulat ve Topcu (2020) farklı kültür ve oksidasyon redüksiyon potansiyelinin UF peynirlerde organik asitlere etkisini incelemişlerdir. Olgunlaşma boyunca bazı peynirlerde pirüvik asit miktarı artış eğiliminde iken bazı peynirlerde ise azalma eğiliminde olmuştur. Çalışmada olgunlaşma boyunca tespit edilen pirüvik asit miktarları 51.66 ile 481.24 ppm arasında değişim göstermiştir.

Sitrik asit peynirlerde laktik asitten sonra en yüksek miktarda bulunan organik asit olmuştur. Literatürdeki bazı diğer çalışmalarda da benzer şekilde laktik asitten sonra peynirdeki organik asit içeriğine en yüksek katkıyı veren asitler arasındadır (Akalin, Gönç ve Akbaş, 2002; Manolaki, Katsiari ve Alichanidis, 2006; Bulat ve Topcu, 2020). Peynirlerin sitrik asit içerikleri peynir sütünün konsantrasyonu ile artış göstermiştir. En yüksek sitrik asit miktarları 2.0X peynirlerinde, en düşük sitrik asit miktarları ise 1.0X peynirde tespit edilmiştir. Olgunlaşma döneminde sitrik asit içeriği genelde azalan bir trend izlemiştir. 1.0X peynirlerde olgunlaşma boyunca sitrik asit miktarlarında artış ve azalmalar görülse de istatistiksel olarak bu farklar anlamlı bulunmamıştır. Daha önce beyaz peynir ve UF peynir üzerine yapılmış çalışmalarda da olgunlaşma boyunca sitrik asit içeriklerinde dalgalanmalar tespit edilmiştir (Akalin, Gönç ve Akbaş, 2002; Bulat ve Topcu, 2020). 1.5X ve 2.0X peynirlerdeki sitrik asit miktarı olgunlaşma boyunca azalmıştır. Akalin, Gönç ve Akbaş (2002) beyaz peynirlerde 12 aylık olgunlaşma boyunca 0-1500 ppm arasında, Manolaki, Katsiari ve Alichanidis (2006) Feta peynirlerinde 60 günlük olgunlaşma boyunca 400-1100 ppm arasında ve Bulat ve Topcu

(2020) UF peynirlerde 90 günlük olgunlaşma boyunca 1350-1500 ppm arasında sitrik asit içeriği bildirmişlerdir.

Peynirlerin orotik asit miktarları da sitrik asitte de olduğu gibi peynir sütünün konsantrasyonuna paralel olarak artış göstermiştir. En yüksek orotik asit içeriği 2.0X peynirlere ait bulunmuştur. Orotik asit içeriği, olgunlaşma periyodu boyunca hafifçe azalan bir model sergilemiştir. Peynirler en yüksek orotik asit miktarına 7. günde ulaşmıştır. Formik asit içeriği olgunlaşma sırasında belirgin bir farklılaşma göstermemiş ve miktarları da konsantrasyon faktörü ile orantılı olmuştur. Peynirlerdeki orotik asit içeriğindeki düşüşün laktik asit bakterilerinin aktiviteleri sonucu olabileceği bildirilmiştir (Bouzas ve ark., 1991; Bulat ve Topcu, 2020). Bouzas ve ark. (1991) Cheddar peynirlerinde olgunlaşmanın başında 40 ppm iken 48 gün sonunda 20 ppm'e düştüğü bildirilmiştir. Benzer şekilde Feta peynirlerinde başlangıçta yaklaşık 40 ppm tespit edilen orotik asit miktarı 2 ay sonunda 9 ppm seviyelerine gerilemiştir (Manolaki, Katsiari ve Alichanidis, 2006). Bulat ve Topcu (2020) 90 günlük olgunlaşma boyunca *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* UD459 kullanılarak üretilen UF peynirlerde 53-60 ppm arasında orotik asit içeriği, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CM41 kullanılarak üretilen UF peynirlerde ise 10-25 ppm arasında orotik asit içeriği tespit etmişlerdir.

Asetik asit çeşitli reaksiyonların ürünüdür ve peynirin lezzetinden de sorumludur. Peynirlerin asetik asit seviyeleri ile peynir sütü konsantrasyonu arasında korelasyon bulunmamıştır. Genel olarak kontrol peynirinin asetik asit içeriğinin daha yüksek bulunduğu söylenebilir. Olgunlaşma boyunca peynirlerin asetik asit miktarları artış eğilimindedir. En yüksek asetik asit içeren peynirler 90 günlük peynirlerdir. 2.0X peynirlerde olgunlaşma boyunca peynirlerin asetik asit miktarları arasında çok büyük farklar gözlenmemiştir. Mullin ve Emmons (1997) Cheddar peynirlerinde 140-170 ppm asetik asit konsantrasyonu bildirmişlerdir.

Ürik asit içeriklerinin proteoliz sebebiyle artış gösterdiği bilinse de asıl etkenin peynir sütünün konsantre edilmesi olduğu düşünülmektedir. Peynir sütlerine yapılan analizlerde konsantrasyon ile sütlerin ürik asit miktarlarında belirgin bir artış tespit edilmiştir. Olgunlaşma boyunca peynirlerdeki ürik asit içerikleri 1.0X peynirlerde azalmış iken,

1.5X peynirlerde ilk 60 gün boyunca büyük bir farklılık gözlenmemiştir. 2.0X peynirlerinde olgunlaşma süresinin ürik asit içeriğine etkisi neredeyse yoktur. Olgunlaşmanın 90. gününde 1.5X peynirlerin ürik asit içeriği kontrol peynirinin yaklaşık 2 katı, 2.0X peynirlerinin ürik asit içeriği ise kontrol peynirinin 3 katı bulunmuştur. Feta tipi peynirlerde olgunlaşma başında 18 ppm civarında belirlenen ürik asit içeriği, 60 gün sonunda 3 ppm seviyesine gerilemiştir (Manolaki, Katsiari ve Alichanidis, 2006). Salamura beyaz peynirlerde ilk 6 ay boyunca ürik asit içerikleri 5 ppm civarında neredeyse sabit kalmışken, 6. aydan itibaren çok keskin bir artış ile 12 ay sonunda 25 ppm sınırına ulaşmıştır (Akalin, Gönç ve Akbaş, 2002). Ek 1.6'da organik asit analizine ait örnek bir kromatogram verilmiştir

Çizelge 4.10. Olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde TO peynir örneklerinin organik asit konsantrasyonları

Organik asitler	Gün	1.0X (Kontrol)	1.5X	2.0X
Laktoz (g/100 g peynir)	7	0.02 ± 0.00 ^a	0.40 ± 0.00 ^b	2.13 ± 0.03 ^c
	30	0.02 ± 0.00 ^a	0.31 ± 0.04 ^b	2.01 ± 0.02 ^c
	60	0.01 ± 0.01 ^a	0.33 ± 0.01 ^b	1.92 ± 0.04 ^c
	90	0.01 ± 0.01 ^a	0.29 ± 0.00 ^b	2.01 ± 0.01 ^c
Galaktoz (g/100 g peynir)	7	0.53 ± 0.00 ^b	0.68 ± 0.00 ^c	0.51 ± 0.01 ^a
	30	0.50 ± 0.00 ^a	0.64 ± 0.09 ^a	0.53 ± 0.00 ^a
	60	0.40 ± 0.00 ^a	0.68 ± 0.02 ^c	0.53 ± 0.01 ^b
	90	0.37 ± 0.00 ^a	0.54 ± 0.22 ^a	0.56 ± 0.00 ^a
Pirüvik asit (mg/kg peynir)	7	114.78 ± 0.92 ^b	77.31 ± 2.42 ^a	233.43 ± 6.91 ^c
	30	216.80 ± 1.73 ^a	215.47 ± 31.92 ^a	264.70 ± 1.03 ^a
	60	346.21 ± 10.72 ^a	290.26 ± 17.70 ^a	378.11 ± 44.24 ^a
	90	357.38 ± 6.64 ^a	510.26 ± 8.45 ^b	597.57 ± 0.99 ^c
Laktik asit (mg/kg peynir)	7	11600.76 ± 94.33 ^a	12561.81 ± 64.10 ^b	11778.98 ± 138.55 ^a
	30	11943.90 ± 60.63 ^a	12284.75 ± 1626.96 ^a	12489.12 ± 59.03 ^a
	60	11947.26 ± 10.85 ^a	12957.81 ± 485.54 ^a	12566.37 ± 93.56 ^a
	90	12150.31 ± 14.43 ^a	13802.33 ± 160.90 ^c	12728.51 ± 43.52 ^b
Sitrik asit (mg/kg peynir)	7	1531.57 ± 8.36 ^a	1922.48 ± 15.82 ^b	3078.82 ± 32.26 ^c
	30	1548.08 ± 15.25 ^a	1782.49 ± 231.78 ^a	2865.62 ± 16.84 ^b
	60	1492.19 ± 18.37 ^a	1567.74 ± 31.11 ^a	2845.89 ± 331.69 ^b
	90	1570.66 ± 37.59 ^a	1503.45 ± 11.02 ^a	2525.45 ± 20.09 ^b

Değerler ortalama±standart sapmadır. Farklı üst simge harflere sahip aynı satırdaki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

Çizelge 4.10. (devamı) Olgunlaşmanın 7., 30., 60. ve 90. günlerinde TO peynir örneklerinin organik asit konsantrasyonları

Organik asitler	Gün	1.0X (Kontrol)	1.5X	2.0X
Orotik asit (mg/kg peynir)	7	30.90 ± 0.05 ^a	46.16 ± 0.40 ^b	83.18 ± 1.07 ^c
	30	28.70 ± 0.28 ^a	39.81 ± 5.31 ^a	76.23 ± 0.91 ^b
	60	25.19 ± 0.28 ^a	43.14 ± 0.54 ^b	73.11 ± 0.62 ^c
	90	26.19 ± 0.16 ^a	41.70 ± 0.51 ^b	76.86 ± 0.55 ^c
Ürik asit (mg/kg peynir)	7	12.29 ± 0.23 ^a	15.85 ± 0.09 ^b	28.50 ± 0.15 ^c
	30	12.36 ± 0.20 ^a	16.04 ± 2.21 ^a	28.00 ± 0.08 ^b
	60	10.31 ± 0.60 ^a	15.23 ± 1.46 ^b	29.32 ± 0.78 ^c
	90	9.79 ± 0.16 ^a	18.93 ± 0.30 ^b	29.33 ± 0.03 ^c
Asetik asit (mg/kg peynir)	7	127.26 ± 17.11 ^a	110.40 ± 2.10 ^a	132.39 ± 12.39 ^a
	30	141.66 ± 15.31 ^a	114.46 ± 20.45 ^a	124.63 ± 5.33 ^a
	60	152.99 ± 1.40 ^c	122.67 ± 4.44 ^a	134.84 ± 0.77 ^b
	90	181.23 ± 0.75 ^b	130.53 ± 5.33 ^a	135.11 ± 7.80 ^a
Formik asit (mg/kg peynir)	7	559.58 ± 10.71 ^a	704.77 ± 40.10 ^b	958.59 ± 13.55 ^c
	30	517.11 ± 11.20 ^a	573.22 ± 68.94 ^a	865.81 ± 5.80 ^b
	60	438.65 ± 23.15 ^a	641.60 ± 112.71 ^{ab}	857.22 ± 34.85 ^b
	90	467.97 ± 10.68 ^a	636.14 ± 3.87 ^b	970.31 ± 8.84 ^c

Değerler ortalama±standart sapmadır. Farklı üst simge harflere sahip aynı sütündeki ortalamalar önemli ölçüde farklıdır (P<0.05).

4.2.10. Tekstür Analizi

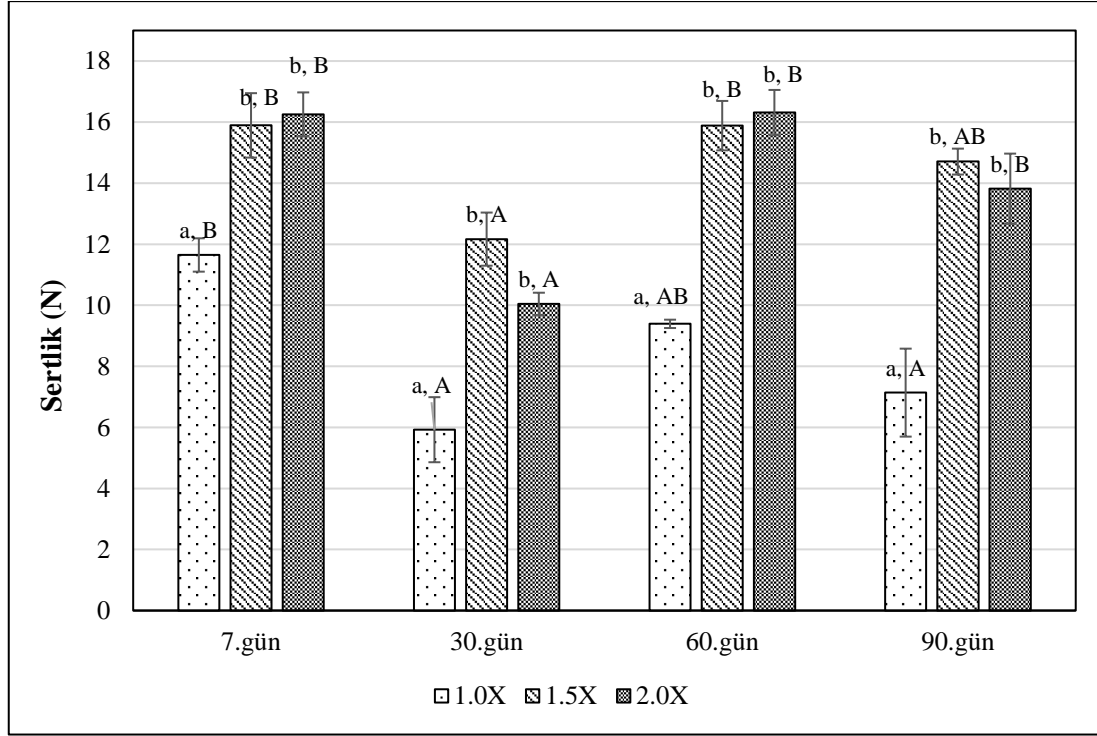
Olgunlaşma periyodunda peynirin yapısındaki tekstürel değişimler incelenmiştir. Bu doğrultuda peynir örneklerinde tekstür profil analizi yapılmış sertlik, iç yapışkanlık, çiğnenebilirlik ve esneklik gibi özellikler analiz edilmiştir.

Peynirin tat, doku, kullanım amacı ve tüketici tercihleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu için peynirde sertlik değerini belirlemek çok önemlidir. Kontrol süt (1.0X) ile üretilen peynirlerin olgunlaşma boyunca sertlik değeri konsantre sütlerden üretilen peynirlere göre çok daha düşük seyretmiştir (Şekil 4.36). Kontrol peynirinin nem değeri diğer peynirlerden daha yüksek olması bu farklılığın asıl sebebi olduğu söylenebilir. Peynir nem değerinin sertlik ile ters orantılı olduğu literatürde bildirilmiştir (Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000; Cais-Sokolińska ve ark., 2018). Depolama boyunca peynir kitlesinin nem değeri, tuz difüzyonu, pH gibi çeşitli faktörlerin (Hydamaka vd., 2000; Topçu ve Saldamli, 2006) etkisi ile peynirlerin sertlik değerlerinde dalgalanmalar gözükse de olgunlaşmanın 90. gününde 1.0X ve 2.0X peynirlerde 7.güne göre düşüş belirlenmiştir. Olgunlaşma boyunca her iki peynirde de nem değerinin arttığı tespit edilmiştir. Sertlik değerlerindeki azalma, nem değerlerindeki artış ile de açıklanabilir. Olgunlaşma boyunca peynirde gelişen asitlikle birlikte yaşanan pH düşüşü de sertlik değerini etkilemektedir. Depolama süresince olası dalgalanmaların nedeni pH değişimleri ve proteinlerin hidrasyon düzeylerindeki olası değişimler de olabilir. İzoelektrik noktaya yaklaşma, daha sert bir pıhtı oluşumunu teşvik eder ve peynirin daha sıkı, sert bir dokuya sahip olmasına katkıda bulunur. Bunun nedeni, proteinlerin birbirine daha sıkı şekilde bağlanması ve daha güçlü bir ağ yapısının oluşmasıdır. Bu da peynirin daha sert bir dokuya sahip olmasına neden olabilmektedir (Karami ve ark., 2009).

Peynir sertliği peynirin sahip olduğu protein yapısı ile doğru orantılıdır (Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000). Aynı şekilde olgunlaşma boyunca yaşanan proteoliz peynir sertliğini etkilemektedir (Acharya ve Mistry, 2005). Konsantre peynirlerde proteolizin görece az olması (Bknz. Bölüm 4.2.6.), kontrole göre daha sert yapıya sahip olmalarının diğer bir nedeni olabilir ($P < 0.05$).

Üretilen tüm peynirlerde olgunlaşma süresinin peynir sertliğini etkilediği belirlenmiştir. Özellikle olgunlaşmanın 30. gününde tüm peynirler en düşük sertlik değerine sahiptir

($P<0.05$). Peynir sütünün konsantre edilmesi ile olgunlaşmanın başından itibaren daha sert peynirler elde edilmiştir. Tarafımızca gerçekleştirilen peynir üretimi kısmen modifiye edilmiş olmakla birlikte, konsantre sütlerden yapılacak peynir üretimlerinde başka modifikasyonlara da gidilmesi gerektiği düşünülmektedir.

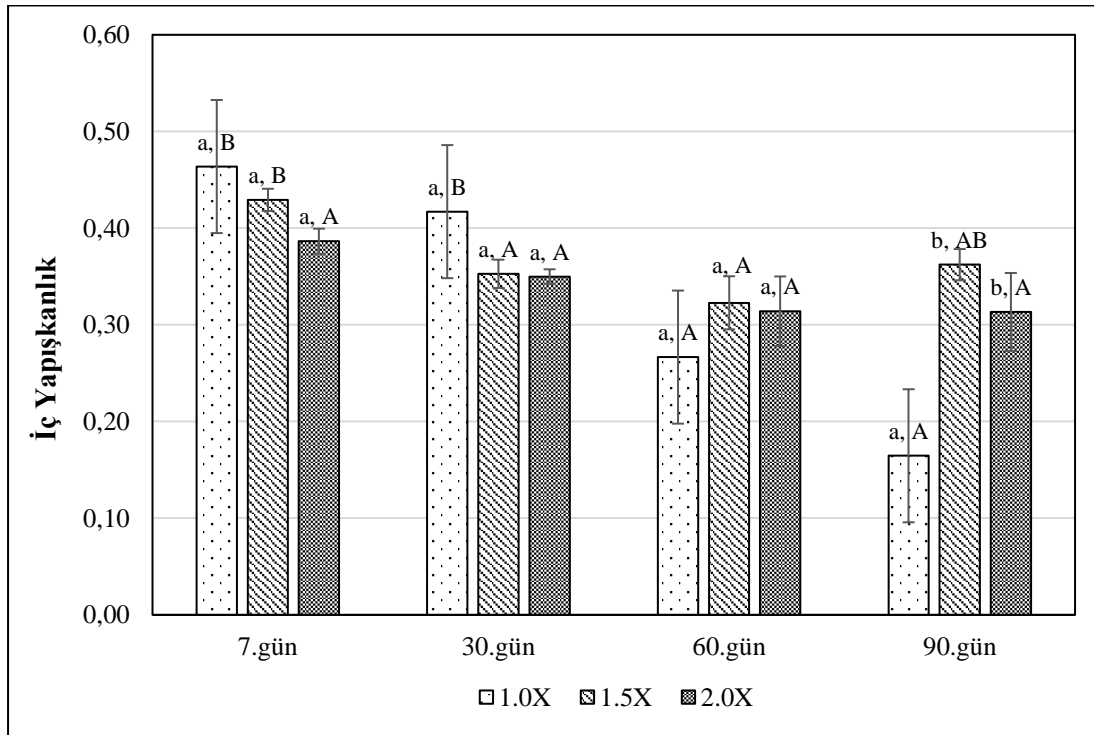


Şekil 4.36. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait sertlik değeri (N) sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

Gıda ürününün yapısını oluşturan iç bağların gücünün bir ifadesi olan iç yapışkanlık değeri çığnayan peynir kitlesinin bir arada durma derecesi hakkında bilgi verir (Delahunty ve Drake, 2004; Fox ve ark., 2017). Olgunlaşmanın 7. ve 30. günlerde kontrol peynirinin iç yapışkanlık değeri daha yüksek iken olgunlaşmanın 60. ve 90. gününde konsantre sütlerden elde edilen peynirlerin iç yapışkanlık değeri 1.0X sütün elde edilen peynire göre daha yüksek bulunmuştur (Şekil 4.37). Ters ozmoz ile peynir sütünün konsantrasyonunun artırılması peynirin iç yapışkanlık değerini olgunlaşmanın 90. gününde büyük oranda etkilediği söylenebilir ($P<0.05$). Agrawal ve Hassan (2008) UF sütün kullanılarak elde ettikleri Cheddar peynirlerinin iç yapışkanlık değerlerini 1. ve 30. günlerde tam yağlı sütün ile yapılan peynirlerden farklı olmadığını bulmuşlardır. Ancak 90 günlük UF peynirlerin iç yapışkanlık değerini tam yağlı sütün ile üretilen peynirlerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Kazein konsantrasyonu arttıkça, iplikçikler (strand) içi

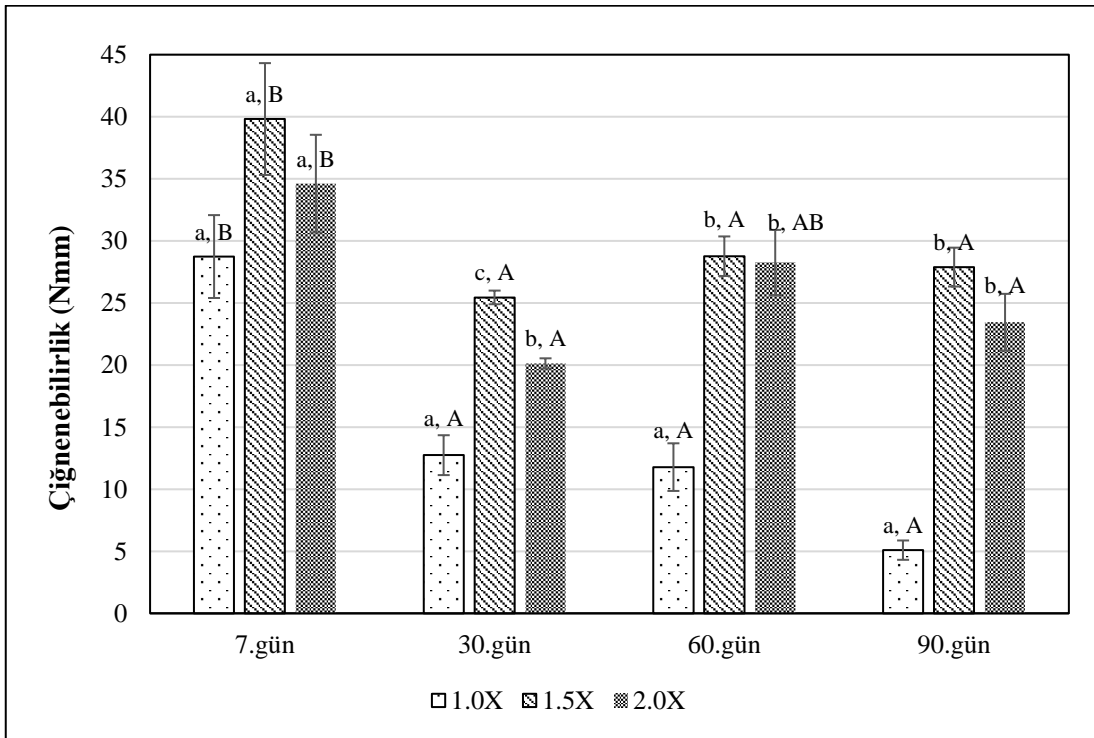
ve iplikçikler arası bağlantıların daha fazla hale gelmesi ile protein ağının daha fazla esneklik göstererek daha zor deforme olduğu bildirilmiştir (Fox ve ark., 2017). Artan protein içeriği ile birlikte protein-protein etkileşimlerinin artarak daha yoğun bir ağ oluşturduğu belirtilmiştir (Dimitreli ve Thomareis, 2007).

Olgunlaşma süresinin peynirin iç yapışkanlık değerine etkisi incelendiğinde ise her peynir için farklı etkisi olduğu söylenebilir. Kontrol peynirinde iç yapışkanlık değeri olgunlaşma boyunca azalmıştır. 7. ve 30. gündeki iç yapışkanlık değerleri 60. ve 90. gündeki değerlerden anlamlı derecede farklı bulunmuştur ($P<0.05$). Topçu ve Saldamli (2006) 90 günlük beyaz peynirlerde iç yapışkanlık değerinin başlangıca göre %24 azaldığını bildirmişlerdir. 1.5X konsantre sütlerden elde edilen peynirlerin iç yapışkanlık değeri olgunlaşma süresinden etkilenmiştir ($P<0.05$). Olgunlaşma boyunca dalgalanmalar gözükse de 7. ve 90. gündeki iç yapışkanlık değerleri istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır. 2.0X konsantre sütlerden elde edilen peynirlerde ise olgunlaşma süresinin iç yapışkanlık değerine önemli bir etkisi olmadığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.37. Olgunlaşma boyunca peynirlere iç yapışkanlık değeri sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

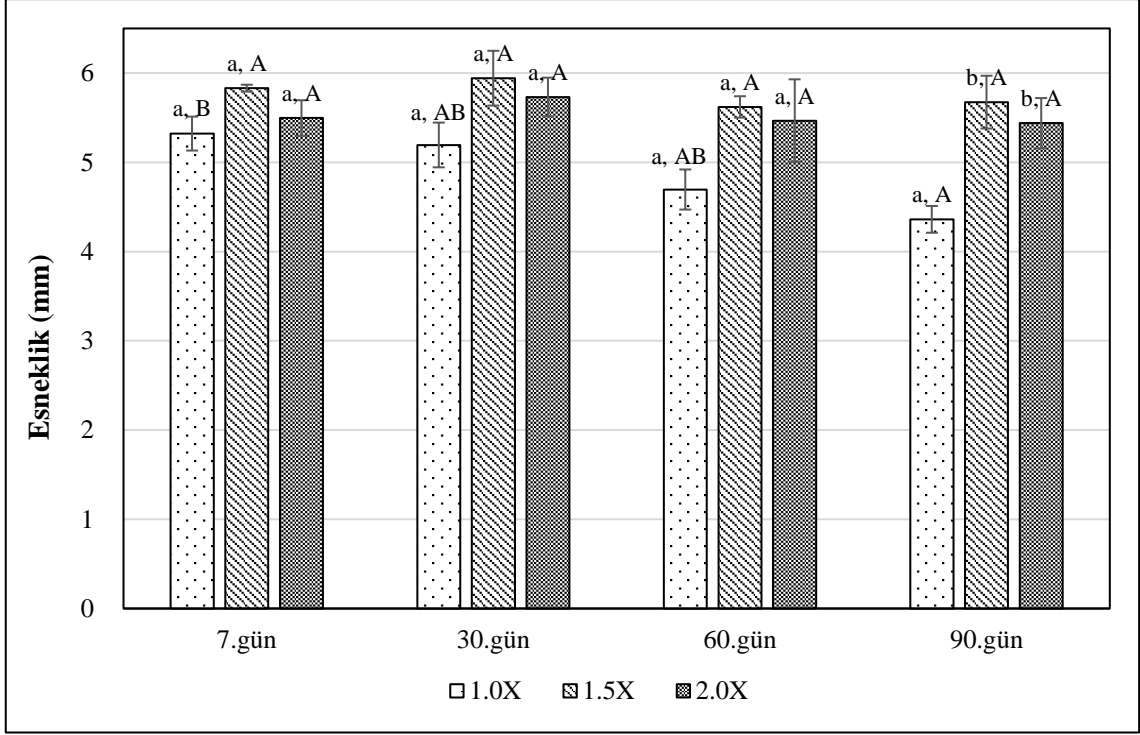
Sertlik, iç yapışkanlık ve esneklik terimlerinden türetilmiş olan çignenebilirlik katı bir gıda maddesini yutmaya hazır duruma getirmek için gereken enerji olarak tanımlanmıştır (Fox ve ark., 2017). Olgunlaşmanın tüm günlerinde peynir sütünün konsantre edilmesinin peynir çignenebilirliğine etkisi görülmektedir (Şekil 4.38). Olgunlaşmanın 90. gününde çignenebilirlik değeri en yüksek peynir 1.5 kat konsantre edilmiş süttten üretilmiş iken, çignenebilirlik değeri en düşük peynir ise kontrol süttten üretilmiştir. Agrawal ve Hassan (2008) ultrafiltre süt kullanılarak elde ettikleri Cheddar peynirlerinin tam yağlı süttlerden üretilen peynirlere göre çok daha çignenebilir olduğunu bildirmişlerdir. Hydamaka, Wilbey ve Lewis (2000) benzer şekilde peynir sütünün ters ozmoz veya ultrafiltrasyon ile membran konstrasyonunun peynir çignenebilirliğini önemli ölçüde etkilediğini belirtmiştir. Olgunlaşma süresinin peynirin çignenebilirlik değerine etkisi incelendiğinde ise her peynir için farklı etkisi olduğu söylenebilir. Kontrol peynirinde çignenebilirlik değeri olgunlaşma boyunca azalmıştır. 7. gündeki çignenebilirlik değerleri diğer günlerdeki değerlerden anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). 1.5X ve 2X konsantre süttlerden elde edilen peynirlerin çignenebilirlik değeri olgunlaşma süresinden etkilenmiştir ($P<0.05$).



Şekil 4.38. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait çignenebilirlik değeri sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

Deforme edici kuvvet kaldırıldıktan sonra deforme olmuş bir malzemenin orijinal boyutlarına dönme hızı olarak tanımlanan esneklik peynirin tekstürünün önemli parametrelerinden biridir. Sertlik ve iç yapışkanlık ile birlikte çiğnenebilirliğin hesap edilmesinde kullanılır (Fox ve ark., 2017). Şekil 4.39'da görüldüğü üzere olgunlaşmanın tüm günlerinde kontrol peynirlerini esneklik değerleri daha düşük bulunmuş olup, 7., 30, ve 60. günlerinde örneklerin esneklik değerlerinde istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir. Ancak olgunlaşmanın 90.gününde konsantre sütlerden elde edilen peynirlerin esneklik değeri 1.0X süttten elde edilen peynire göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Ters ozmoz ile peynir sütünün konsantrasyonunun artırılması peynirin esneklik değerini olgunlaşmanın 90. gününde etkilediği söylemek mümkündür.

Olgunlaşma süresinin peynir esnekliğine etkisi incelendiğinde konsantre sütlerden elde edilen peynirlerin olgunlaşma boyunca esneklik değerlerinde anlamlı fark bulunmamıştır. Ters ozmoz ile peynir sütünün konsantrasyon işleminin olgunlaşma süresince peynir esnekliğine etkisi olmadığı söylenebilir. Kontrol sütlerden elde edilen peynirlerde ise olgunlaşma ile birlikte esneklik azalma göstermiş ve 90. günde 7. güne göre anlamlı bir azalma bulunmuştur ($P<0.05$). Elde edilen sonuçlara benzer olarak, Jalilzadeh ve ark. (2018) İran UF Feta tipi peynirlerde 60 günlük olgunlaşma boyunca esneklik değerlerinde farklılık gözlemlenmemiştir.



Şekil 4.39. Olgunlaşma boyunca peynirlere ait esneklik değeri sonuçları (küçük harfler örnekler arası farklılığı, büyük harfler günler arası farklılığı ifade etmektedir).

4.2.11. Duyusal Analiz

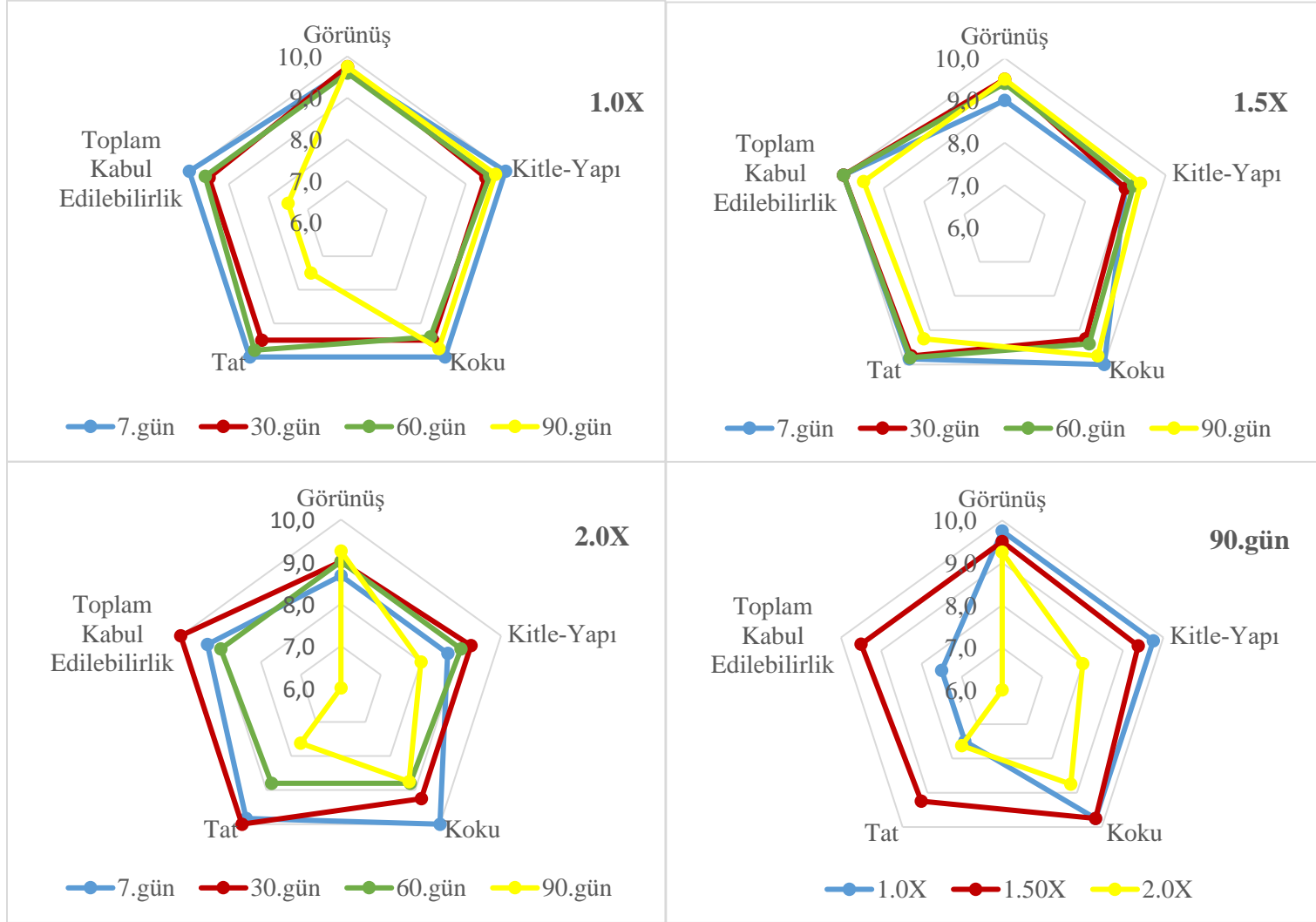
Olgunlaşma süresince peynirin duysal özelliklerindeki değişimler eğitimli panelistler tarafından tespit edilmiştir. Panelistler peynirleri *görünüş*, *kitle-yapı*, *tat*, *koku*, *acılık derecesi* ve *toplam kabul edilebilirlik* kriterleri üzerinden değerlendirmiş olup duysal analiz sonuçları Şekil 4.40'ta verilmiştir. Panelistler, olgunlaşma sonunda 1.5X üretiminin tüm kriterlerde kontrol peynirine (1.0X) en yakın ve hatta daha yüksek puan aldığı, 2.0X üretiminin ise daha az beğenildiği ve düzeltilmesi gerektiğini bildirmişlerdir. 1.5X üretimim birçok açıdan başarılı bir peynir olarak belirtilmiştir.

Panelistler tarafından yapılan duysal değerlendirme sonuçları toplu halde radar grafikleri üzerinden incelendiğinde olgunlaşmanın peynirler üzerindeki etkisi ve TO süttten üretilen peynirlerin beğenilirliği konularındaki farklılıklar açıkça görülebilmektedir. 1.0X kontrol peynirinde olgunlaşmanın 90.gününde tat ile ilgili sıkıntılar olduğu ve bununla birlikte toplam kabul edilebilirlik değerindeki düşüş fark edilmektedir. 1.5X peynirlerde de 90. günde tatta benzer bir düşüş görülmüşse de bu farklılık kontrol peynirindeki gibi çarpıcı değildir. 2.0X peynir grafiğine bakıldığında ise

depolama süresi arttıkça tat ve kokuda belirgin düşüş ortadır. Özellikle 90. günde kitle-yapıdaki olumsuz durumla birlikte toplam kabul edilebilirlik puanı çok düşük bir puanla değerlendirilmiştir. Üç grafiğe bir arada bakıldığında 2.0X peynir üretiminin 1.0X kontrol peynire göre tüm parametrelerde geri kaldığı, 1.5X üretiminin ise kontrol üretimiyle benzer özellikte hatta bazı parametrelerde daha iyi olduğu söylenebilir.

Olgunlaşmanın 90. günü değerleri ile hazırlanan son grafikte ise 1.5X peynir üretiminin kontrol ve 2.0X den daha çok beğenildiği açıkça görülebilmektedir. Böylelikle 2 kat konsantre edilmiş TO sütlerle yapılacak beyaz peynir üretiminde bazı modifikasyonlar yapılmasının gerektiği ve 1.5 kat konsantre edilmiş TO süt kullanılarak normal çiğ süt ile üretilen beyaz peynire yakın karakteristikte beyaz peynir üretilebileceği söylenebilir.

Olgunlaşma boyunca genel olarak peynirlerde panelistler tarafından acılık belirtilmemişse de, 90. günlerde 1.0X (kontrol) çok az acılık tespit edilmiştir. Bu durum, kontrol peynirine ait Üre-PAGE elektroforetogramlarında acılığa sebep olan β -kazein f(1-189/192) bandının tespit edilmesi ile uyumludur. Panelistler tarafından 90 günlük 2.0X peynirlerde tespit edilen tatlı asidik tat bir olumsuzluk olarak bildirilmiştir. Mistry ve Maubois (2004), TO sütlerden üretilen Cheddar peynirlerinde yüksek düzeyde bulunan kalıntı laktozun kusurlara neden olabileceğini belirtmiştir.



Şekil 4.40. Peynirlerin duyuşal değeriendirme radar grafikleri

5. YORUM

Konsantre peynir sütü üretiminde membran prosesleri giderek daha fazla kullanılmaktadır. Süt toplama merkezlerinde sütün yoğunlaştırılması, nakliye maliyetlerinin düşürülmesi için önemli bir yaklaşımdır. Sadece ekonomik nedenlerle değil, aynı zamanda çiftlikte veya mandırada permeatların yeniden kullanılması gibi çevresel nedenlerle de sürdürülebilir ve çevre dostu üretim sağlamak için her geçen gün daha fazla önem kazanmaktadır. Konsantrasyon ayrıca peynir verimini ve tesisin üretim kapasitesini artırır (Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020). Ultrafiltrasyon genellikle bu amaçla süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak bu teknoloji permeatla birlikte laktoz ve minerallerin de kaybına neden olmaktadır. Ters ozmoz, laktozu ve mineralleri tutma yeteneğine sahip olması sebebiyle peynir verimini artırdığı (Barbano ve Bynum, 1984) ancak peynir yapım özelliklerini değiştirmekte ve olgunlaşma döneminde proteolitik ve lipolitik reaksiyonları etkileyebildiği bildirilmiştir (Bynum ve Barbano, 1985). Bu çalışmada, ülkemizde en çok tüketilen ve ticari değeri olan peynirlerden biri olan beyaz peynirin üretilmesinde ters ozmoz teknolojisinin kullanımının olanağı değerlendirilmiştir. Bu amaçla 1.5 ve 2.0 kat konsantre edilmiş sütlerden elde edilen peynirlerin olgunlaşma boyunca mikrobiyolojik, kimyasal/biyokimyasal, mikroyapısal, tekstürel ve duyuşsal özellikleri incelenmiş ve kontrol olarak yağlı sütten üretilen beyaz peynirin sonuçları ile kıyaslaması yapılmıştır.

Ters ozmoz ile konsantre edilen sütlerin temel bileşenleri incelenmiş olup konsantrasyon faktörüne bağlı tüm bileşenlerin miktarında artış olmuştur. Konsantrasyon artışına paralel olarak kırılma indisi ve viskozite değerleri artmıştır. Sütlerdeki renk analizinde ise yağ molekülleri ve β -karoten miktarındaki artışa bağlı b^* değerinde artış görülmüştür. 1.5X retentat ve 2.0X retentat ΔE^* değerlerinde de anlamlı derecede farklılık bulunmuştur ($P < 0.05$). Sütlerdeki starter gelişimi farklı kültürlerle denenmiş olup ters ozmoz ile peynir sütünün konsantre edilmesi starter gelişimini etkilemiştir. Ancak yeterli süre beklendiğinde konsantre sütlerde de pH 4.5-4.6 seviyesine düşülebildiği görülmüştür. Kültür seçimi asitlik gelişiminde önemli bir etkiye sahiptir. Sütlerin rennet ile koagülasyon süresi konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. Bunun enzim aktivitesinin önlenmesi veya TO konsantrelerindeki yüksek viskozite nedeniyle misel difüzyonunun yavaşlaması ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Sütlerdeki partikül boyutu analizine göre kontrol sütte mod değeri 3.72 μm iken 2.0X konsantre sütte bu değer 3.51 μm 'e

gerilemiştir. Bu durum ters ozmoz işleminin küçük de olsa yağ globülleri üzerinde bir etkisinin olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Zeta potansiyel ölçümlerinde de ise konsantrasyonun etkisiyle büyük değişimler görülmemiş, sütlerin pastörize edilmesi de zeta potansiyelini etkilememiştir.

Peynir üretimlerinde 1.0X kontrol sütlerde ilk pıhtı 24 dakikada, 1.5X retentatta 36 dakikada, 2.0X retentta ise 45 dakikada görülmüştür. Her bir üretimde aynı oranda rennet kullanılmasına karşın, sütlerdeki konsantrasyon artışına bağlı olarak pıhtılaşma süresi uzamıştır. Bu sonuçlar Bölüm 4.1.4.'te belirtilen rennet ile koagülasyon süresi sonuçları ile uyum içerisindedir. TO ile retentatın artan çözünür tuz ve laktoz içeriğinin viskoziteyi arttırması ile hem misel difüzyonun yavaşlaması hem de rennet enziminin kazeine ulaşması engellendiği için pıhtılaşma süresinin geciktiği bildirilmiştir (Schorsch, Jones ve Norton, 2002; Lauzin ve ark., 2019; Lauzin, Pouliot ve Britten, 2020).

TO konsantreleri kullanılarak üretilen beyaz peynirlerde laktokokların gelişiminde herhangi bir olumsuzluk görülmemiştir. Tüm olgunlaşma boyunca laktokokların canlılığı kontrol peyniri ve konsantre süt peynirlerinde aynı seviyededir. 90. günde tüm peynirlerin laktokok sayılarında bir azalma gerçekleşmiş olup sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur (Bulat, 2017). Çalışmada NSLAB gelişimi de incelenmiş olup olgunlaşma sonunda kontrol peynirindeki NSLAB sayısı diğer peynirlerden daha yüksek bulunmuştur ($P<0.05$).

Salamura peynir üretmek için TO konsantresinin kullanılması ile, 1.5X ve 2.0X peynir üretimlerindeki genel verim sütün konsantrasyon faktörüne paralel bir şekilde sırasıyla, 1.40 kat ve 2.27 kat artmıştır. Nem ayarlı verim değerinde kontrol sütte %11.7'e ulaşılmışken, 1.5X peynirlerde %12.07 ve 2.0X peynirlerde %14.38'e kadar verim artışı gözlenmiştir. Peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyonu ile kurumadde miktarındaki artış, membran tarafından tutulan laktozun peynir kitesinde kalması ve peyniraltı suyu ile uzaklaşan yağ miktarındaki azalma verim artışında önemli olmuştur. Bu verim artışı, daha önce TO konsantreleri kullanılarak elde edilen Cheddar peynir üretimlerindeki %2-3'lük verim artışı ile uyumludur (Barbano ve Bynum, 1984). Ayrıca protein geri kazanımı 1.0X ve 1.5X kontrol peynirlerde (%78), 2.0X peynirlerden (%74) daha yüksek bulunmuştur. Kurumadede protein geri kazanımları incelendiğinde ise konsantrasyon

artışına bağlı kısmi azalış istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Konsantrasyon arttıkça sütte tutulan serum proteinlerinin oranı da artmaktadır. Peynir yapımı sırasında peyniraltı suyunun uzaklaşması ile yapıda tutulan serum proteinleri yüksek miktarda kaybedilmiştir. Bu da 2.0X retentatlarda protein geri kazanımını azaltmıştır. Benzer şekilde Dussault-Chouinard, Britten ve Pouliot (2019) ters ozmoz konsantrelerle Cheddar peynir üretimlerinde konsantrasyon arttıkça protein geri kazanım oranlarında düşüş kaydetmiştir. TO konsantre sütlerde protein geri kazanımını artırmak için beyaz peynir üretiminde çeşitli modifikasyonlar yapılması gerekebilir. Ters ozmoz ile konsantrasyonda hacim azalması gerçekleştiği ve birim hacimdeki kurumadde oranı daha yüksek olduğu için daha az rennet ve starter kullanılarak genel verim (Verim A) ve dolayısıyla operasyonel verimde artış sağlanabileceği görülmüştür. Ters ozmoz teknolojisinin beyaz peynir üretiminde kullanımını verim açısından genel hatlarıyla incelendiğinde, ters ozmozun verim üzerinde olumsuz bir etkisi olmamakla birlikte, operasyonel verimliliği artırma potansiyeli göz önüne alındığında bu teknolojinin beyaz peynir üretiminde uygulanabilir olduğu düşünülmektedir.

Olgunlaşma boyunca peynirlerin nem içeriklerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir. Üretilen peynirlerin (30.günde) kurumaddede protein oranları kontrol ve 1.5X peynirlerde %38-39 civarında iken, 2.0X peynirlerde kurumaddede protein içeriği %33 seviyesinde kalmıştır. 2.0X peynir yapısında yüksek oranda tutulan kalıntı laktoz protein içeriğinin daha düşük seviyede kalmasını sağlamış olabilir. Peynirlerin kurumaddede yağ içerikleri arasında bir farklılık bulunmamıştır. Peynirlerin mineral içerikleri konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. Üretilen peynirlerin temel bileşenleri incelendiğinde beyaz peynir üretiminde 1.5X konsantre süt kullanmanın daha uygun olduğu görülmüştür.

Beyaz peynir üretiminde TO ozmoz süt kullanımının peynir mikroyapısındaki etkileri SEM ve CLSM ile incelenmiştir. 1.5X ve 2.0X konsantrelerden üretilen peynirlerin SEM görüntülerinde ise kontrol örneğine göre daha farklı bir protein ağ yapısı dikkat çekmiştir. Protein konsantrasyonundaki artış daha sıkı bir ağ yapısının oluşmasına sebep olmuştur. Para-kazein ağının hacim fraksiyonu ve bu ağı oluşturan para-kazein parçacıklarının füzyon derecesi (agregasyon), protein konsantrasyonu arttıkça arttığı bildirilmiştir (Fox

ve ark., 2017). Lauzin, Pouliot ve Britten (2020) TO ile ürettikleri peynirlerde, yağsız süt ve UF konsantre süttten elde edilen peynirlere göre daha büyük boşluklar ve daha kaba protein ağı gözlemlenmiştir. Nazari ve ark. (2020) ultrafiltre Feta peynirleri üzerine yaptıkları çalışmalarda olgunlaşmanın 60.gününde 32.gününe göre daha genişlemiş bir protein ağını gözlemişlerdir. Peynir örnekleri olgunlaşmanın 90. gününde CLSM ile incelenmiştir. Peynirlere ait protein ağ yapıları karşılaştırıldığında ise sütlerdeki konsantrasyon artışına paralel olarak daha yoğun bir protein ağının oluştuğu görülmüştür. Ong ve ark. (2010) CLSM görüntülerinde 2 kat konsantrasyon yapılmış UF sütlerden elde ettikleri jellerin çiğ süt, pastörize homojenize süt ve pastörize standardize edilmiş peynir sütü jellerine göre daha az gözenekli ve daha yoğun protein ağına sahip olduğunu bildirmişlerdir. Konsantrasyon işleminin seviyesine paralel olarak başta protein ağ yapısının yoğunluğu ve serum boşlukları olmak üzere peynirin mikroyapısında farklılıklar tespit edilmiştir. Peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyon işleminin peynir mikroyapısındaki neden olduğu bu değişimlerinin kabul edilebilir seviyede olduğu söylenebilir.

Peynirlerde proteoliz düzeyini belirlemek için pH 4.6'da çözümlenir azot tayini, %12'lik TCA'da çözümlenir azot tayini, toplam serbest aminoasit miktarı tayini, Üre-PAGE ve SDS-PAGE analizleri gerçekleştirilmiştir. Tüm analizlerde kontrol peynirindeki proteoliz seviyesinin konsantre süt peynirlerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. Elde edilen sonuçlar SEM analizi ve tekstür analiz sonuçları ile uyumludur. 1.5X peynirlerdeki daha düşük seviyedeki proteoliz protein ağ yapısında çok büyük değişimlere sebep verememiştir. Böylece daha sıkı ve sert peynirler ortaya çıkmıştır. 1.5X konsantre sütlerden peynir yapımında, proteoliz seviyesi üzerine yapılacak çalışmalar ile beyaz peynire benzer yapıda ürünlerin üretilmesi sağlanabilir. Peynirlerin proteoliz seviyesini belirlemek için ayrıca 214 ve 280 nm'de RP-HPLC ile peptit profili de belirlenmiştir. Konsantre peynirlerde yapıda tutulan serum proteinlerinden kaynaklı farklılıklar yaklaşık 83. dakikada gelen α -laktalbumin ve 86. ve 87. dakikalarda gelen β -laktoglobulinin genetik varyantlarına ait piklerdeki farklılıklarla örtüştüğü görülmüştür. Tüm peynirlerde 90. günde tespit edilen pik sayısı ve piklerin alanları beklenildiği gibi 7. güne göre artış göstermiştir. Peynirler arasındaki konsantrasyondan ve olgunlaşma süresinden kaynaklı farklılıkların araştırılması adına örneklere temel bileşen analizi uygulanmış olup PCA

gruplamasında bu değişkenlerin etkisinin önemli olduğu görüşmüştür. En belirgin etki 2.0X peynirlerde gözlenmiştir.

Peynirlerin 30. ve 90. günlerde serbest yağ asidi (SYA) kompozisyonları incelenmiştir. Hem toplam hem de bireysel serbest yağ asidi değerleri kontrol ve 1.5X peynirlerinde daha yakinken, 2.0X peynirlerinde daha yüksek değerler tespit edilmiştir. 2.0X retentatlarda pıhtı kesim süresi ve buna bağlı olarak peyniraltı suyunun ayrılması için harcanan sürelerin diğer üretimlerden daha uzun olması, starter ve starter olamayan bakterilerin yüksek lipaz aktivitelerini tetikleyerek lipolizin daha yüksek seviyede gerçekleşmesine olanak sağlamış olması olabilir. Ayrıca, TO işleminde yüksek hızla pompalama ve yüksek çalışma basınçlarının süt yağı membranına mekanik olarak zararlar verdiği bilinmektedir. Böylece TO konsantre süt kullanılan peynirlerde lipoliz etkinliği artarak SYA konsantrasyonlarını yükseltmiş olabilir.

Peynirlerde olgunlaşma süresince yapılan bir başka analiz de uçucu bileşiklerin belirlenmesidir. Daha önce literatürde peynirlerde ve özellikle beyaz peynirlerde tespit edilen uçucu bileşikler (asitler, esterler, ketonlar, aldehitler, alkoller ve laktonları da içeren diğer uçucu bileşenler) bu çalışmada da tespit edilmiştir. Birçok uçucu bileşenin miktarında peynir sütünün konsantrasyonuna bağlı olarak artış gözlenmiştir. Peynirlerin uçucu bileşenleri arasında farklılıkların önemini görmek için yapılan temel bileşen analizleri yapılmıştır. Bu analizde, TO konsantrasyonunun uçucu bileşenler üzerindeki etkisi açıkça görülmüştür. 3 peynirin hepsi birbirinden ayrılmış olsa da 2.0X peynirin aroma içeriğinin diğerlerinden farklı bulunmuştur. Bu ayırmada etkili olan bileşiklerin heksanoik asit, 3-hidroksi-2-bütanon, bütanoik asit, oktanoik asit ve kısmen asetik asit, dekanıik asit, 1-oktanol, benzoik asit, nonanoik asit, 2,3-bütandion, 2-heptanon ve karbon disülfür olduğu tespit edilmiştir. Temel Bileşen 2 bileşeni incelendiğinde ise 60. ve 90. gün peynirlerinin 7. ve 30. gün peynirlerinden farklı olduğu görülmüştür. Buradaki ayırmada etkili olan bileşiklerin ise 2,3-bütandion, 3-hidroksi-2-bütanon, bütanoik asit, nonanoik asit, heksanoik asit ve karbon disülfür olduğu tespit edilmiştir.

Olgunlaşma boyunca peynirlerdeki organik asit ve şekerlerin konsantrasyonları incelenmiştir. 2.0X peynirlerdeki kalıntı laktoz miktarı diğer peynirlerden çok daha

fazladır. Barbano ve Bynum (1984) ters ozmoz konsantreleri ile ürettiği Cheddar peynirlerinde kontrol peynirlerinden daha fazla laktoz tespit etmişlerdir. Konsantre süt peynirlerinde en yüksek kalıntı laktoz içeriği olgunlaşmanın başında tespit edilmişken, olgunlaşma boyunca hafif bir azalma görülmüştür. Peynirlerde tespit edilen baskın organik asit laktik asittir. Bu durum literatürdeki diğer çalışmalarla uyumludur (Akalin, Göncü ve Akbaş, 2002; Manolaki, Katsiari ve Alichanidis, 2006; Bulat, 2011). Laktik asit içeriği tüm peynir örneklerinde olgunlaşma süresi boyunca artmıştır. Genele anlamda 2.0X peynirde pirüvik asit miktarları daha yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde bu peynirlerde sitrik asit miktarıda yüksek bulunmuştur. Peynirlerin orotik asit ve ürik asit değerleri de konsantrasyona bağlı olarak peynirlerde farklı oranlarda tespit edilmiştir. Olgunlaşma süresince orotik asit miktarları azalmıştır. Asetik asit en düşük 1.5X peynirlerde, en yüksek ise kontrol peynirinde tespit edilmiştir. Formik asit miktarları da konsantrasyona paralel olarak artış göstermiş olup, konsantre süt peynirlerinde olgunlaşma boyunca tespit edilen miktarlarda dalgalanmalar görülmüştür. Genel olarak bakıldığında, peynirlerde tespit edilen şeker ve organik asit miktarları peynir sütünün konsantre edilmesiyle artış göstermiştir.

TO konsantre sütler ile beyaz peynir üretiminin peynir yapısındaki etkileri olgunlaşma periyodu boyunca izlenmiştir. Buna göre, kontrol süt (1.0X) ile üretilen peynirlerin olgunlaşma boyunca sertlik değeri konsantre sütlerden üretilen peynirlere göre çok daha düşük seyretmiştir. Kontrol peynirinin nem değeri diğer peynirlerden daha yüksek olması bu farklılığın asıl sebebi olduğu düşünülmüştür. Daha önceki yapılan çalışmalarda peynir nem değerinin sertlik ile ters orantılı olduğu bildirilmiştir (Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000; Cais-Sokolińska ve ark., 2018). Peynir sertliği peynirin sahip olduğu protein yapısı ile ilişkilidir (Hydamaka, Wilbey ve Lewis, 2000). Olgunlaşma boyunca yaşanan proteolizin peynir sertliğini etkilediği bilinmektedir (Acharya ve Mistry, 2005). Olgunlaşmanın 90. gününde en yüksek sertlik değerine sahip olan 1.5X peynirlerinde proteoliz diğer peynirlere göre daha az gerçekleşmiş olup sonuçlar sertlik değerleri ile uyumlu bulunmuştur. Peynirlerdeki iç yapışkanlık değeri olgunlaşma başında kontrol peynirinde daha yüksek iken, 60. günden itibaren kontrol peyniri daha düşük iç yapışkanlık değerine sahiptir. Konsantre peynirlerdeki daha yoğun protein ağı peynirin iç yapısındaki bağ yapısını kuvvetlendirmiş ve iç yapışkanlık bu peynirlerde daha yüksek bulunmuştur. Çiğnenebilirlik ve esneklik değerleri de tüm olgunlaşma boyunca kontrol

peynirlerinde daha düşük bulunmuştur. Peynirlerde peynir sütünün ters ozmoz ile konsantrasyon işleminin bu değerleri etkilediği görülmüştür. Peynir sütünün konsantre edilmesi ile yapısal özellikler kontrol peynirine göre farklılıklar göstermiştir. Konsantre sütlerde protein oranının artması ile pıhtı oluşumu mekanizmasının değişiklikler ve peynir kitlesinde tutulan nem peynir tekstürünü etkilemiştir. Ters ozmoz konsantre süt kullanılarak üretilen beyaz peynirlerde ürünün son tekstürünü iyileştirecek üretim modifikasyonları gerekebilir.

Olgunlaşma boyunca yapılan duyusal analizlerde panelistler 90 günlük peynirlerde görünüş, kitle-yapı, koku, tat ve toplam kabul edilebilirlik kriterleri üzerinden yaptıkları değerlendirmelerde 1.5X peyniri beğenmişlerdir. Tat ve toplam kabul edilebilirlik özellikleri açısından 1.5X peynir kontrol peynirinden de iyi bulunmuştur. 2.0X peyniri ise tüm özelliklerde bu iki peynirin gerisinde kalmış olup kalıntı laktoza bağlı tespit edilen tatlı asidik tat kusur olarak görülmüştür. Özetle, 2 kat konsantre edilmiş ters ozmoz sütlerle yapılacak beyaz peynir üretiminde modifikasyonlar yapılması gerektiği ve 1.5 kat konsantre edilmiş ters ozmoz süt kullanılarak normal çiğ süt ile üretilen beyaz peynire yakın karakteristikte beyaz peynir üretilebileceği sonucuna varılabilir.

Sonuç olarak, TO sütler kullanılarak üretilen beyaz peynirlerin mikrobiyolojik, kimyasal/biyokimyasal, mikroyapısal, tekstürel ve duyusal özellikleri olgunlaşma periyodu süresince (7., 30., 60. ve 90. günlerde) takip edilmiş ve bu tüm yapılan analizlerde 1.5 kat konsantre edilmiş ters ozmoz süt ile beyaz peynire benzer ürün üretmenin mümkün olduğu görülmüştür. Daha yüksek konsantrasyonlu sütlerin beyaz peynir üretiminde kullanılması için üretimde yapılması gereken modifikasyonlar yeni araştırmaların konusu olabilir. Bu çalışma, TO konsantrelerinin salamura peynir üretiminde kullanıldığı ilk çalışma olması açısından önemli olmakla birlikte, TO konsantre sütlerin peynir yapımında kullanımını optimize etmek için daha fazla çalışma yapılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- Aaltonen, T., Huuromonen, I., Myllärinen, P., Controlled transglutaminase treatment in Edam cheese-making. *International Dairy Journal*, 38 (2014) 179-182.
- Acharya, M. R., Mistry, V. V., Effect of vacuum-condensed or ultrafiltered milk on pasteurized process cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(9) (2005) 3037-3043.
- Agbevi, T., Rouleau, D., Mayer, R., Production and quality of Cheddar cheese manufactured from whole milk concentrated by reverse osmosis. *Journal of Food Science*, 48(2) (1983) 642-643.
- Agrawal, P., Hassan, A. N., Ultrafiltered milk reduces bitterness in reduced-fat Cheddar cheese made with an exopolysaccharide-producing culture. *Journal of Dairy Science*, 90(7) (2007) 3110-3117.
- Agrawal, P., Hassan, A. N., Characteristics of reduced fat Cheddar cheese made from ultrafiltered milk with an exopolysaccharide-producing culture. *Journal of Dairy Research*, 75(2) (2008) 182-188.
- Akalin, A. S., Gönç, S., Akbaş, Y., Variation in organic acids content during ripening of pickled white cheese. *Journal of Dairy Science*, 85(7) (2002) 1670-1676.
- Akalin, Ayşe Sibel, Karaman, A. D., Influence of packaging systems on the biochemical characteristics and volatile compounds of industrially produced Turkish white cheese. *Journal of Food Biochemistry*, 35(2) (2011) 663-680.
- Akan, E., Kinik, O., Effect of mineral salt replacement on properties of Turkish white cheese. *Mljekarstvo*, 68(1) (2018) 46-56.
- Alichanidis, E., Anifantakis, E. M., Polychroniadou, A., Nanou, M., Suitability of some microbial coagulants for Feta cheese manufacture. *Journal of Dairy Research*, 51(1) (1984) 141-147.
- Anderson, D. L., Mistry, V. V., Reduced fat cheddar cheese from condensed milk. 2. microstructure. *Journal of Dairy Science*, 77(1) (1994) 7-15.
- Andiç, S., Tunçtürk, Y., Boran, G., Changes in volatile compounds of cheese. in *Processing and Impact on Active Components in Food*, Preedy, V. (Ed.), Academic Press, 231-239, 2015.
- Andrews, A. T., Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research*, 50(1) (1983) 45-55.
- AOAC, Nitrogen in cheese. *Official Methods of Analysis of AOAC International*, Official Method 920.123, 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA, 1998.
- Ardö, Y., Evaluating proteolysis by analysing the N content of cheese fractions. *Bulletin of the International Dairy Federation (IDF)*, 337 (1999) 4-9.
- Ardö, Y., Polychroniadou, A., *Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese*. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg, 1999.
- Arslan, S., Topcu, A., Saldamli, I., Koksall, G., Utilization of interesterified fat in the production of Turkish white cheese. *Food Science and Biotech.*, 19(1) (2010) 89-98.

- Auty, M. A. E., Twomey, M., Guinee, T. P., Mulvihill, D. M., Development and application of confocal scanning laser microscopy methods for studying the distribution of fat and protein in selected dairy products. *Journal of Dairy Research*, 68(3) (2001) 417-427.
- Banks J. M., Law A. J. R., Leaver J., Horne, D. S., The inclusion of whey proteins in cheese – an overview, in *Cheese Yield and Factors Affecting Its Control*, Emmons, D. B. (Ed.), IDF Seminar, Cork, April 1993, International Dairy Federation, Bruxelles, 1994a, pp. 387–401.
- Banks, J. M., Elimination of the development of bitter flavour in Cheddar cheese made from milk containing heat-denatured whey protein. *International Journal of Dairy Technology*, 41(2) (1988) 37-41.
- Banks, J. M., Law, A. J. R., Leaver, J., Horne, D. S., Sensory and functional properties of cheese: incorporation of whey proteins by pH manipulation and heat treatment. *International Journal of Dairy Technology*, 47(4) (1994b) 124-131.
- Barac, M., Pesic, M., Zilic, S., Smiljanic, M., Ignjatovic, I. S., Vucic, T., Kostic, A. and Milincic, D., The influence of milk type on the proteolysis and antioxidant capacity of white-brined cheese manufactured from high-heat-treated milk pretreated with chymosin. *Foods*, 8(4) (2019) 128.
- Barbano, D. M., Bynum, D. G., Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: cheese composition and yield. *Journal of Dairy Science*, 67(12) (1984) 2839-2849.
- Barbano, D. M., Bynum, D. G., Senyk, G. F., Influence of reverse osmosis on milk lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 66(12) (1983) 2447-2451.
- Beaton, N. C., Ultrafiltration and reverse osmosis in the dairy industry- an introduction to sanitary considerations. *Journal of Food Protection*, 42(7) (1979) 584-590.
- Benfeldt, C., Ultrafiltration of cheese milk: effect on plasmin activity and proteolysis during cheese ripening. *International Dairy Journal*, 16(6) (2006) 600-608.
- Berridge, N. J., Some observations on the determination of the activity of rennet. *The Analyst*, 77(911) (1952) 57-62.
- Bintsis, T., Papademas, P., Microbiological quality of white-brined cheeses : a review. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3) (2002) 113-120.
- Blakesley, R. W., Boezi, J. A., Short communication: a new staining technique for proteins gels using Coomassie brilliant blue G250. *Analytical Biochemistry*, 82 (1977) 580-582.
- Bouzas, J., Kantt, C. A., Bodyfelt, F., Torres, J. A., Simultaneous determination of sugars and organic acids in Cheddar cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of Food Science*, 56(1) (1991) 276–278.
- Bradley, R. L., Arnold, E., Barbano, D. M., Semerad, R. G., Smith, D. E., Vines, B. K., Chemical and physical methods. in *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Marshall, R. T. (Ed.), American Public Health Association, Washington, DC, 433-531, 1992.

- 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**.
- Bulat, T., Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyelinin Ultrafiltre Beyaz Peynirin Olgunlaşma Süreci Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2017**.
- Bulat, T., Topcu, A., The effect of oxidation-reduction potential on the characteristics of UF white cheese produced using single strains of *Lactococcus lactis*. *LWT*, 109(January) (**2019**) 296-304.
- Bulat, T., Topcu, A., Oxidation-reduction potential of UF white cheese: Impact on organic acids, volatile compounds and sensorial properties. *LWT*, 131(April) (**2020**) 109770.
- Bynum, D. G., Barbano, D. M., Whole milk reverse osmosis retentates for Cheddar cheese manufacture: chemical changes during aging. *Journal of Dairy Science*, 68(1) (**1985**) 1-10.
- Cais-Sokolińska, D., Bierzuńska, P., Kaczyński, K., Baranowska, H. M., Tomaszewska-Gras, J., Stability of texture, meltability and water mobility model of pizza-style cheeses from goat's milk. *Journal of Food Engineering*, 222 (**2018**) 226-236.
- Califano, A. N., Bevilacqua, A. E., Multivariate analysis of the organic acids content of Gouda type cheese during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*, 13(6) (**2000**) 949-960.
- Caron, A., St-Gelais, D., Pouliot, Y., Coagulation of milk enriched with ultrafiltered or diafiltered microfiltered milk retentate powders. *International Dairy Journal*, 7(6-7) (**1997**) 445-451.
- Cebeci, A., Yaman, M., Yalcin, B., Gunes, F. E., Determination of carbohydrate amounts of various cheese types presented to sale in the market. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 5(6) (**2020**) 30-35.
- Çelik, Ş., Bakırcı, İ., Özdemir, S., Effects of high heat treatment of milk and brine concentration on the quality of Turkish white cheese. *Milchwissenschaft*, 60(2) (**2005**) 147-151.
- Chudy, S., Biliska, A., Kowalski, R., Teichert, J., Colour of milk and milk products in CIE $L^*a^*b^*$ space. *Medycyna Weterynaryjna*, 76(2) (**2020**) 77-81.
- Coolbear, T., Weimer, B., Wilkinson, M. G., Lactic acid bacteria in flavor development. in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Fuquay, J. W., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (Eds.), 2nd Edition, Elsevier Academic Press, London, 160-165, **2011**.
- Covacevich, H. R., Kosikowski, F. V., Skim milk concentration for cheesemaking by alternative ultrafiltration procedures. *Journal of Food Science*, 42(5) (**1977**) 1359-1361.
- de Boer, R., Nooy, P. F. C., Concentration of raw whole milk by reverse osmosis and its influence on fat globules. *Desalination*, 35 (**1980**) 201-211.

- de Jong, C., Badings, H. T., Determination of free fatty acids in milk and cheese procedures for extraction, clean up, and capillary gas chromatographic analysis. *Journal of High Resolution Chromatography*, 13(2) (1990) 94-98.
- Delahunty, C. M., Drake, M. A., Sensory character of cheese and its evaluation. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (Eds.), Volume 1 General Aspects, 3rd Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 455-487, **2004**.
- Demirci, M., Ülkemizin önemli peynir çeşitlerinin mineral madde düzeyi ve kalori değerleri. *Gıda*, 13(1) (1988) 17-21.
- Dimitreli, G., Thomareis, A. S., Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. *Journal of Food Engineering*, 79(4) (2007) 1364-1373.
- Dussault-Chouinard, I., Britten, M., Pouliot, Y., Improving rennet coagulation and cheesemaking properties of reverse osmosis skim milk concentrates by pH adjustment. *International Dairy Journal*, 95 (2019) 6-14.
- El-Gazzar, F. E., Marth, E. H., Ultrafiltration and reverse osmosis in dairy technology : a review. *Journal of Food Protection*, 54(10) (1991) 801-809.
- Erdem, Y. K., Effect of ultrafiltration, fat reduction and salting on textural properties of white brined cheese. *Journal of Food Engineering*, 71(4) (2005) 366-372.
- Ferrer Montero, M. A., The Effect of Membrane Processes on the Structure and Renneting Behavior of Casein Micelles, Doctor of Philosophy, The Faculty of Graduate Studies of The University of Guelph, Guelph, Ontario, **2010**.
- Fournier, I., Britten, M., Pouliot, Y., Drainage and demineralisation of model cheeses made from reverse osmosis concentrates. *International Dairy Journal*, 103 (2020) 104628.
- Fox, P. F., Potentiometric determination of salt in cheese, *Journal of Dairy Science*, 46 (1963) 744-745.
- Fox, P. F., Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening. *Journal of Dairy Science*, 72(6) (1989) 1379-1400.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Proteolysis in cheese during ripening. *Food Reviews International*, 12(4) (1996) 457-509.
- Fox, P. F., O'Connor, T. P., McSweeney, P. L. H., Guinee, T. P., O'Brien, N. M., Cheese: physical, biochemical, and nutritional aspects. *Advances in Food and Nutrition Research*, 39 (1996) 163-328.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M., McSweeney, P. L. H., *Fundamentals of Cheese Science*, 2nd Edition, Springer, New York, **2017**.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P., *Cheese: chemistry, physics and microbiology*, Volume 1 General Aspects, 3rd Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, **2004**.

- Gardiner, G. E., Ross, R. P., Wallace, J. M., Scanlan, F. P., Jagers, P. P. J. M., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Stanton, C., Influence of a probiotic adjunct culture of *Enterococcus faecium* on the quality of Cheddar cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47 (1999) 4907–4916.
- Ganesan, B., Weimer, B. C., Amino acid catabolism and its relationship to cheese flavor outcomes. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (Eds.), Volume 1 General Aspects Section IV Cheese Ripening, 4th Edition, Elsevier Academic Press, London, 483-516, 2017.
- Goff, H. D., Hill, A., Ferrer, M. A., Membrane processing, <https://books.lib.uoguelph.ca/dairyscienceandtechnologyebook/chapter/membrane-processing/> (Erişim tarihi: 14 Haziran 2023).
- Green, M. L., Glover, F. A., Scurlock, E. M. W., Marshall, R. J., Hatfield, D. S., Effect of use of milk concentrated by ultrafiltration on the manufacture and ripening of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 48(2) (1981) 333-341.
- Guinee, T. P., Fox, P. F., Salt in cheese: physical, chemical and biological aspects. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (Eds.), Volume 1: General Aspects Section III: Starters & Manufacture, 4th Edition, Elsevier Academic Press, London, 317-375, 2017.
- Guinee, T. P., Pudja, P. D., Mulholland, O. E., Effect of milk protein standardization, by ultrafiltration, on the manufacture, composition and maturation of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Research*, 61(1) (1994) 117-131.
- Gürsoy, A., Şenel, E., Gürsel, A., Deveci, O., Karademir, E., Yaman, Ş., Yağ içeriği azaltılmış Beyaz peynir üretiminde *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* kültürlerinin kullanımı. *Gıda*, 26(5) (2001) 375-383.
- Harper, J., Iyer, M., Knighton, D., Lelievre, J., Effects of whey proteins on the proteolysis of Cheddar cheese slurries (a model for the maturation of cheeses made from ultrafiltered milk). *Journal of Dairy Science*, 72(2) (1989) 333-341.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M., Fox, P. F., Microbiological , biochemical and technological properties of Turkish white cheese ‘Beyaz peynir’. *International Dairy Journal*, 12 (2002) 635-648.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M., Fox, P. F., Mcsweeney, P. L. H., Influence of starters on chemical , biochemical , and sensory changes in Turkish white-brined cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 88(10) (2005) 3460-3474.
- Hayaloğlu, A. A., Özer, B., Peynirde olgunlaşma. *Peynir Biliminin Temelleri*, Hayaloğlu, A. A., Özer, B. (Ed.), 2. Basım, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 217-263 2021.
- Hayaloğlu, A. A., Topcu, A., Koca, N., Peynir analizleri. *Peynir Biliminin Temelleri*, Hayaloğlu, A. A., Özer, B. (Ed.), 2. Basım, Nobel Akademik Yayıncılık, Ankara, 617-710, 2021 .
- Hesari, J., Ehsani, M. R., Khosroshahi, A., McSweeney, P. L. H., Contribution of rennet and starter to proteolysis in Iranian UF white cheese. *Lait*, 86(4) (2006) 291-302.

- Hesari, J., Ehsani, M. R., Mosavi, M. A. E., McSweeney, P. L. H., Proteolysis in ultra-filtered and conventional Iranian white cheese during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 60(3) (2007) 211-220.
- Hinrichs, J., Incorporation of whey proteins in cheese. *International Dairy Journal*, 11(4-7) (2001) 495-503.
- Hooi, R., Barbano, D. M., Bradley, R. L., Budde, D., Bulthaus, M., Chettiar, M., Lynch, J., Reddy, R., Chemical and physical methods. in *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Wehr, M. H., Frank, F. J. (Eds.), 17th edition, American Public Health Association, Washington, DC, 363-536, 2004.
- Horne, D. S., Light scattering techniques. in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Fuquay, J. W., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (Eds.), 2nd Edition, Elsevier Academic Press, London, 133-140, 2011.
- Hussain, I., Bell, A. E., Grandison, A. S., Comparison of the rheology of mozzarella-type curd made from buffalo and cows' milk. *Food Chemistry*, 128(2) (2011) 500-504.
- Hussain, I., Grandison, A. S., Bell, A. E., Effects of gelation temperature on Mozzarella-type curd made from buffalo and cows' milk. 1: rheology and microstructure. *Food Chemistry*, 134(3) (2012) 1500-1508.
- Hydamaka, A. W., Wilbey, R. A., Lewis, M. J., Manufacture of direct acidified cheese from ultrafiltration and reverse osmosis retentates. *International Journal of Dairy Technology*, 53(3) (2000) 120-124.
- IDF, Milk. Determination of the nitrogen (Kjeldahl method) and calculation of the crude protein content, IDF Standard 20B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 1993.
- IDF, Milk and Milk Products - Determination of Calcium, Sodium, Potassium and Magnesium Contents - Atomic Absorption Spectrometric Method, IDF Standard 119, International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 2007.
- Jalilzadeh, A., Hesari, J., Peighambaroust, S. H., Javidipour, I., The effect of ultrasound treatment on microbial and physicochemical properties of Iranian ultrafiltered Feta-type cheese. *Journal of Dairy Science*, 101(7) (2018) 5809-5820.
- 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(2) (2009) 424-434.
- Kaw, A. K., Properties of Milks Concentrated by Reverse Osmosis, Doctor of Philosophy, Institute of Food, Nutrition and Human Health of Massey University, Palmerston North, 1998.
- Kelly, A. L., Huppertz, T., Sheehan, J. J., Pre-treatment of cheese milk: principles and developments. *Dairy Science and Technology*, 88(4-5) (2008) 549-572.
- Kılıç, S., Karagözlü, C., Uysal, H., Akbulut, N., İzmir piyasasında satılan bazı peynir çeşitlerinin kalsiyum, fosfor, sodyum ve potasyum düzeyleri üzerine bir değerlendirme. *Gıda*, 27(3) (2002) 229-234.

- Koca, N., Bazı Yağ İkame Maddelerinin Yağı Azaltılmış Taze Kaşar Peynirinin Nitelikleri Üzerine Etkileri, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, **2002**.
- Kondyli, E., Pappa, E. C., Vlachou, A. M., Effect of package type on the composition and volatile compounds of Feta cheese. *Small Ruminant Research*, 108(1-3) (**2012**) 95-101.
- Kuchroo, C. N., Fox, P. F., Fractionation of the water soluble nitrogen from Cheddar cheese: chemical methods. *Milchwissenschaft*, 37 (**1982**) 651-653.
- Laemmli, U. K., Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259) (**1970**) 680-685.
- Lauzin, A., Bérubé, A., Britten, M., Pouliot, Y., Effect of pH adjustment on the composition and rennet-gelation properties of milk concentrates made from ultrafiltration and reverse osmosis. *Journal of Dairy Science*, 102(5) (**2019**) 3939-3946.
- Lauzin, A., Dussault-Chouinard, I., Britten, M., Pouliot, Y., Impact of membrane selectivity on the compositional characteristics and model cheese-making properties of liquid pre-cheese concentrates. *International Dairy Journal*, 83 (**2018**) 34-42.
- Lauzin, A., Pouliot, Y., Britten, M., Understanding the differences in cheese-making properties between reverse osmosis and ultrafiltration concentrates. *Journal of Dairy Science*, 103(1) (**2020**) 201-209.
- Le Quéré, J.-L., Cheese flavor. in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Fuquay, J. W., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (Eds.), 2nd Edition, Elsevier Academic Press, London, 675-684, **2011**.
- Lee, M. R., Johnson, M. E., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J. J., Lucey, J. A., Insoluble calcium content and rheological properties of Colby cheese during ripening. *Journal of Dairy Science*, 93(5) (**2010**) 1844-1853.
- Lee, M. R., Johnson, M. E., Lucey, J. A., Impact of modifications in acid development on the insoluble calcium content and rheological properties of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 88(11) (**2005**) 3798-3809.
- Liu, S.-Q., Holland, R., Crow, V. L., Esters and their biosynthesis in fermented dairy products : a review. *International Dairy Journal*, 14 (**2004**) 923-945.
- Liu, Z., Juliano, P., Williams, R. P. W., Niere, J., Augustin, M. A., Ultrasound improves the renneting properties of milk. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(6) (**2014**) 2131-2137.
- Malacarne, M., Franceschi, P., Formaggioni, P., Sandri, S., Mariani, P., Summer, A., Influence of micellar calcium and phosphorus on rennet coagulation properties of cows milk. *Journal of Dairy Research*, 81(2) (**2014**) 129-136.
- Manolaki, P., Katsiari, M. C., Alichanidis, E., Effect of a commercial adjunct culture on organic acid contents of low-fat Feta-type cheese. *Food Chemistry*, 98(4) (**2006**) 658-663.

- O'Mahony, J. A., Fox, P. F., Milk proteins: introduction and historical aspects. in *Advanced Dairy Chemistry*, McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. (Eds.), Volume 1A: Proteins: Basic Aspects, 4th Edition, Springer, New York, 43-85, **2016**.
- McSweeney, P. L. H., Sousa, M. J., Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80(3) (**2000**) 293-324.
- Metin, M., Süt Teknolojisi Sütün Bileşimi ve İşlenmesi. 13. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, **2015**.
- Mistry, V. V., Maubois, J.-L., Application of membrane separation technology to cheese production. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (Eds.), Volume 1 General Aspects, 3rd Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 261–285, **2004**.
- Mistry, V. V., Membrane processing in cheese manufacture. in *Encyclopedia of Dairy Sciences*, Fuquay, J. W., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (Eds.), 2nd Edition, Elsevier Academic Press, London, 618-624, **2011**.
- Mistry, V. V., Maubois, J.-L., Application of membrane separation technology to cheese production. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (Eds.), Volume 2: Cheese Technology and Major Cheese Groups Section I: Cheese Technology, 4th Edition, Elsevier Academic Press, London, 677-697, **2017**.
- Mullin, W. J., Emmons, D. B., Determination of organic acids and sugars in cheese, milk and whey by high performance liquid chromatography. *Food Research International*, 30(2) (**1997**) 147-151.
- Nawar, M., Awad, S., Shamsia, S., Ali, A., Effect of milk concentration by ultrafiltration on the proteolysis and rheological properties of low-fat soft white cheese. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 32(1) (**2007**) 559-571.
- Nazari, S. M., Mortazavi, A., Hesari, J., Tabatabaei Yazdi, F., Proteolysis and textural properties of low-fat ultrafiltered Feta cheese as influenced by maltodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, 73(1) (**2020**) 244-254.
- Nezhad Razmjoui Akhgar, R., Hesari, J., Azadmard Damirchi, S., Effect of slurry incorporation into retentate on proteolysis of Iranian ultrafiltered white cheese. *Czech Journal of Food Sciences*, 34(2) (**2016**) 173-179.
- Öksüztepe, G., Karatepe, P., Özçelik, M., İncili, G. İ., Tulum peyniri ve taze beyaz peynirlerin mineral madde ve ağır metal içerikleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi*, 27(2) (**2013**) 93-97.
- Oluk, A. C., Güven, M., Hayaloglu, A. A., Proteolysis texture and microstructure of low-fat Tulum cheese affected by exopolysaccharide-producing cultures during ripening. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(2) (**2014**) 435-443.
- Öner, Z., Sarıdağ, A. M., Proteolysis in the Beyaz (white) cheese produced from various milk. *Journal of Agricultural Sciences*, 24(2) (**2018**) 269-277.
- Ong, L., Dagastine, R. R., Kentish, S. E., Gras, S. L., The effect of milk processing on the microstructure of the milk fat globule and rennet induced gel observed using confocal laser scanning microscopy. *Journal of Food Science*, 75(3), **2010**.

- Ong, L., Henriksson, A., Shah, N. P., Development of probiotic Cheddar cheese containing *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei* and *Bifidobacterium* spp. and the influence of these bacteria on proteolytic patterns and production of organic acid. *International Dairy Journal*, 16(5) (2006) 446-456.
- Outinen, M., Heino, A., Uusi-Rauva, J., Pre-treatment methods of Edam cheese milk. Effect on the whey composition. *LWT - Food Science and Technology*, 43(4) (2010) 647-654.
- Özer, B., Kirmaci, H. A., Hayaloglu, A. A., Akçelik, M., Akkoç, N., The effects of incorporating wild-type strains of *Lactococcus lactis* into Turkish white-brined cheese (Beyaz peynir) on the fatty acid and volatile content. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4) (2011) 494-501.
- Papadatos, A., Neocleous, M., Berger, A. M., Barbano, D. M., Economic feasibility evaluation of microfiltration of milk prior to cheese making, *Journal of Dairy Science*, 86 (2003) 1564-1577.
- Pedersen, P. J., Ottosen, N., Manufacture of fresh cheese by ultrafiltration. in *New Applications of Membrane Processes*, de Boer, R., Jelen, P., Puhan, Z. (Eds.), International Dairy Federation, Brussels, 67-76, 1992.
- Piraino, P., Parente, E., McSweeney, P. L. H., Processing of chromatographic data for chemometric analysis of peptide profiles from cheese extracts: a novel approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(23) (2004) 6904-6911.
- Pouliot, Y., Membrane processes in dairy technology-from a simple idea to worldwide panacea. *International Dairy Journal*, 18(7) (2008) 735-740.
- Reale, E., Govindasamy-Lucey, S., Johnson, M. E., Jaeggi, J. J., Molitor, M., Lu, Y., Lucey, J. A., Effects of the depletion of whey proteins from unconcentrated milk using microfiltration on the yield, functionality, and nutritional profile of Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 103(11) (2020) 9906-9922.
- Reale, E., Govindasamy-Lucey, S., Lu, Y., Johnson, M. E., Jaeggi, J. J., Molitor, M., Lucey, J. A., Slower proteolysis in Cheddar cheese made from high-protein cheese milk is due to an elevated whey protein content. *Journal of Dairy Science*, 105(12) (2022) 9367-9386.
- Rodríguez, J., Requena, T., Fontecha, J., Goudédranche, H., Juárez, M., Effect of different membrane separation technologies (ultrafiltration and micro filtration) on the texture and microstructure of semihard low-fat cheeses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(2) (1999) 558-565.
- Salunke, P., Marella, C., Amamcharla, J. K., Muthukumarappan, K., Metzger, L. E., Use of micellar casein concentrate and milk protein concentrate treated with transglutaminase in imitation cheese products-unmelted texture. *Journal of Dairy Science*, 105(10) (2022) 7891-7903.
- Samuelsson, G., Dejmek, P., Trägårdh, G., Paulsson, M., Rennet coagulation of heat-treated retentate from crossflow microfiltration of skim milk, *Milchwissenschaft*, 52 (1997) 187-191.

- Sandra, S., Cooper, C., Alexander, M., Corredig, M., Coagulation properties of ultrafiltered milk retentates measured using rheology and diffusing wave spectroscopy. *Food Research International*, 44(4) (2011) 951-956.
- Schmidt, D., Fedrick, I. A., Donovan, H. M., Quality and yield of Cheddar cheese manufactured from reconstituted reverse osmosis milk concentrates. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 21 (1986) 125-131.
- Schorsch, C., Jones, M. G., Norton, I. T., Micellar casein gelation at high sucrose content. *Journal of Dairy Science*, 85(12) (2002) 3155-3163.
- Shalabi, S., Fox, P. F., Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11(2) (1987) 135-151.
- Singh, H., Waungana, A., Influence of heat treatment of milk on cheesemaking properties. *International Dairy Journal*, 11(4-7) (2001) 543-551.
- Soltani, M., Guzeler, N., Hayaloglu, A. A., The influence of salt concentration on the chemical, ripening and sensory characteristics of Iranian white cheese manufactured by UF-treated milk. *Journal of Dairy Research*, 82(3) (2015) 365-374.
- Soltani, M., Sahingil, D., Gokce, Y., Hayaloglu, A. A., Effect of blends of camel chymosin and microbial rennet (*Rhizomucor miehei*) on chemical composition, proteolysis and residual coagulant activity in Iranian ultrafiltered white cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2) (2019) 589-598.
- Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E., Gras, S. L. Effect of rennet on the composition, proteolysis and microstructure of reduced-fat Cheddar cheese during ripening. *Dairy Science & Technology*, 95 (2015) 665-686.
- Soodam, K., Guinee, T. P., The case for milk protein standardisation using membrane filtration for improving cheese consistency and quality. *International Journal of Dairy Technology*, 71(2) (2018) 277-291.
- Sørensen, I., Le, T. T., Larsen, L. B., Wiking, L., Rennet coagulation and calcium distribution of raw milk reverse osmosis retentate. *International Dairy Journal*, 95 (2019) 71-77.
- Srilaorkul, S., Physical, Chemical and Structural Properties of Ultrafiltered Milk, Doctor of Philosophy, The Faculty of Graduate Studies and Research of The University of Alberta, Edmonton, Alberta, 1990.
- Subramanian, A., Rodriguez-Saona, L., Chemical and instrumental approaches to cheese analysis. in *Advances in Food and Nutrition Research*, Taylor, S. L. (Ed.), Volume 59, Elsevier Academic Press, Burlington, MA, 167-213, 2010.
- Sun, Y.; Roos, Y.H.; Miao, S., Changes in Milk Fat Globules and Membrane Proteins Prepared from pH-Adjusted Bovine Raw Milk. *Foods*, 11 (2022) 4107.
- Syrios, A., Faka, M., Grandison, A. S., Lewis, M. J., A comparison of reverse osmosis, nanofiltration and ultrafiltration as concentration processes for skim milk prior to drying. *International Journal of Dairy Technology*, 64(4) (2011) 467-472.
- Şen, C., Tayar, M., Berker, A., Ergüzel, E., Başeğmez, Z., Kalsiyum klorür ilavesi ve ısı işlemin beyaz peynir randımanı üzerine etkileri. *Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 2(11) (1992) 159-167.

- Tabayehnejad, N., Castillo, M., Payne, F. A., Comparison of total milk-clotting activity measurement precision using the Berridge clotting time method and a proposed optical method. *Journal of Food Engineering*, 108(4) (2012) 549-556.
- Taivosalo, A., Kriščiunaite, T., Stulova, I., Part, N., Rosend, J., Sõrmus, A., Vilu, R., Ripening of hard cheese produced from milk concentrated by reverse osmosis. *Foods*, 8(5) (2019) 1-19.
- Tamime, A. Y., Kalab, M., Davies, G., Younis, M. F., Tamime, A. Y., Kalrib, M., Microstructure and firmness of processed cheese manufactured from Cheddar cheese and skim milk powder cheese base. *Scanning Microscopy International*, 9(1) (1990) 23-37.
- Tamime, A. Y., Kirkegaard, J., Manufacture of Feta cheese-industrial. in *Feta and Related Cheeses*, Robinson, R. K., Tamime, A. Y. (Eds.), Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 70-143, 1991.
- Topçu, A., Kaşar ve Beyaz Peynirlerde Acılaşmaya Yol Açan Peptidlerin Saptanması ve Acılaşmada Depolama Koşulları ile Starter Kültürlerinin Etkisinin İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2004.
- Topcu, A., Bulat, T., Özer, B., Process design for processed Kashar cheese (a pasta-filata cheese) by means of microbial transglutaminase: effect on physical properties, yield and proteolysis. *LWT*, 125(March) (2020) 109226.
- Topçu, A., Saldamli, I., Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Turkish white cheese made of pasteurized cows' milk. *International Journal of Food Properties*, 9(4) (2006) 665-678.
- TSE, TS 591 Beyaz Peynir, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2013.
- TGK, Peynir Tebliği 2015/6, Resmi Gazete 29261, Türk Gıda Kodeksi, 2015.
- Ugarković, N. K., Rusan, T., Vnučec, I., Konjačić, M., Prpić, Z., Concentrations of retinol and carotenoids in jersey milk during different seasons and possible application of the colour parameter as an indicator of milk carotenoid content. *Mljekarstvo*, 70(4) (2020) 266-274.
- Upadhyay, V. K., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Fox, P. F., Proteolysis in cheese during ripening. in *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Fox, P. F., McSweeney, P. L. H., Cogan, T. M., Guinee, T. P. (Eds.), Volume 1 General Aspects, 3rd Edition, Elsevier Academic Press, Amsterdam, 391-433, 2004.
- USK, 2021 Süt Raporu Dünya ve Türkiye'deki Süt Sektör İstatistikleri, Ulusal Süt Konseyi, Ankara, 2022.
- Üçüncü, M., Süt Teknolojisi II. Bölüm, 3. Baskı, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 1996.
- Walstra, P., Wouters, J. T. M., Geurts, T. J., Dairy Science and Technology, 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, FL, 2006.
- Wishah, R., Peynir üretiminde starter kültürlerine ek olarak bazı bakteri suşlarının kullanımı ve bunun peynir özelliklerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara., 2007.

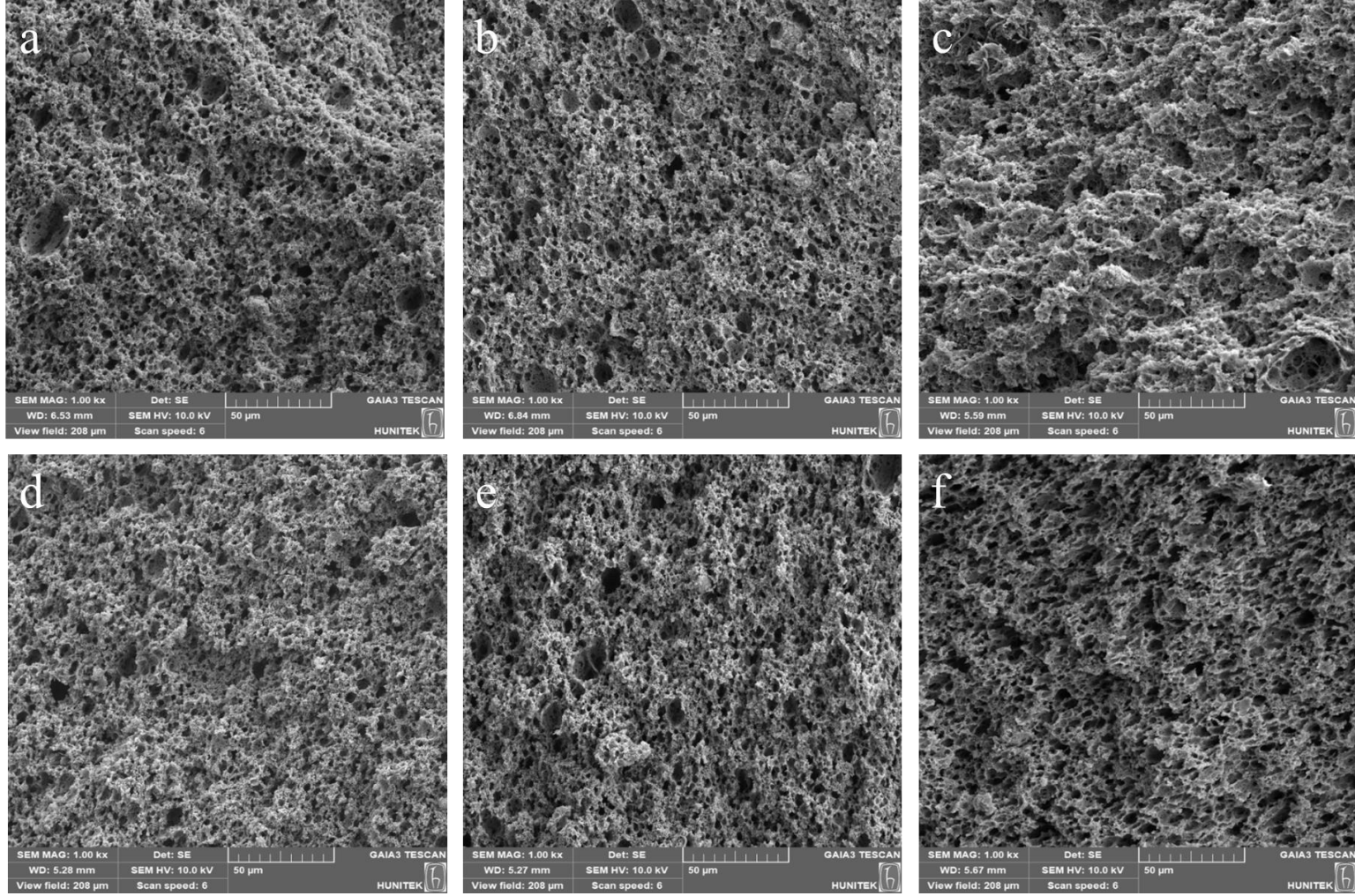
- Xing, G., Giosafatto, C. V. L., Fusco, A., Dong, M., Mariniello, L., Combined lactic fermentation and enzymatic treatments affect the antigenicity of β -lactoglobulin in cow milk and soymilk-cow milk mixture. *LWT*, 143(February) (2021) 111178.
- Yüceer, Y. K., İşleten, M., Mendes, M., Ezine peyniri I. aroma karakterizasyonu. *Gıda*, 34(6) (2009) 373-380.
- Zamora, A., Ferragut, V., Jaramillo, P. D., Guamis, B., Trujillo, A. J., Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk. *Journal of Dairy Science*, 90(1) (2007) 13-23.
- Zamora, A., Ferragut, V., Juan, B., Guamis, B., Trujillo, A. J., Effect of ultra-high pressure homogenisation of milk on the texture and water-typology of a starter-free fresh cheese. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4) (2011) 484-490.
- Zeppa, G., Conterno, L., Gerbi, V., Determination of organic acids, sugars, diacetyl, and acetoin in cheese by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(6) (2001) 2722-2726.

EKLER

EK 1.1 – Peynir örnekleri için duyuşal muayene değerlendirme puanları

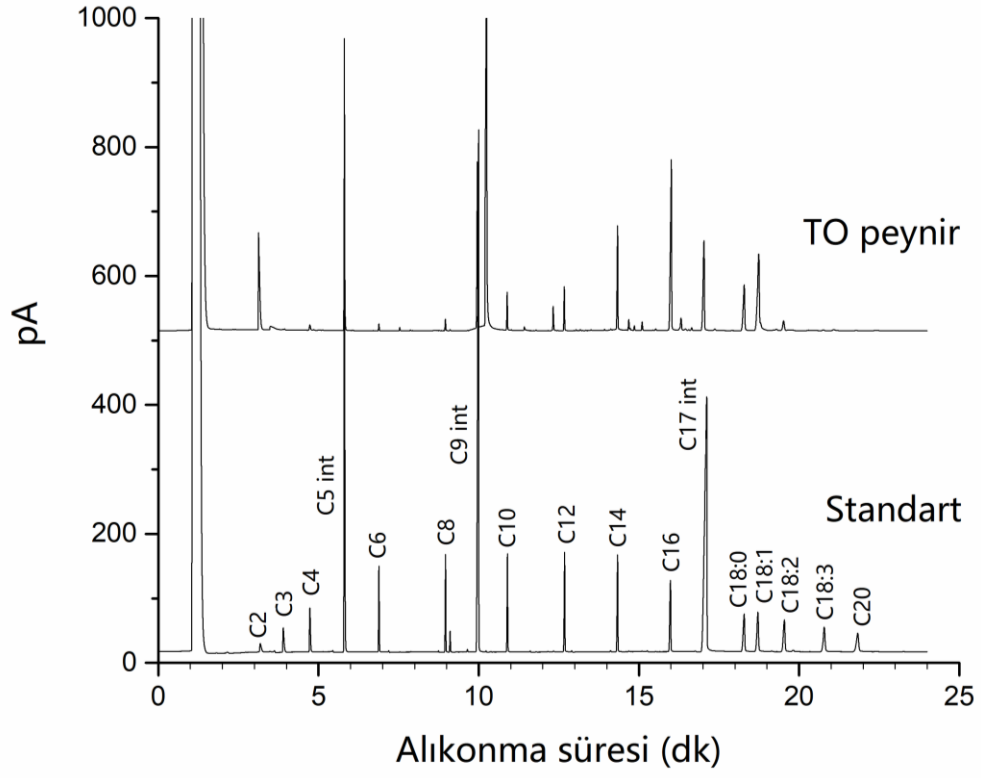
DEğERLENDİRME KRİTERLERİ	PUAN
DIŞ GÖRÜNÜM VE RENK	
Kendine özgü düzgün parlak beyaz, homojen ve düzgün prizmatik görünümlü bozulmamış kalıp	10
Mat. Soluk beyaz renk ve kesit yüzeyinde birkaç delik ve gözenek	9
Homojen olmayan görünüm	8
Bir örnek olmayan renk dağılımı	7*
Düzgün olmayan prizmatik görünüm	6*
Parçalanmış çatlak kalıp, fazla sayıda delik ve gözenek, esmerimsi ve anormal renk, küflü görünüm	≤ 5
TAT	
Kendine özgü tat	10
Maya tadı veya pişmiş tat	9
Tuzlu tat	8
Ekşi tat	7*
Tatlımsı veya yavan tat	6*
Metalik, küflü, acı, ransit veya amonyak tadı	≤ 5
KOKU	
Kendine özgü koku	10
Mayamsı koku	9
Ekşimsi koku	8
Küfümsü koku	7*
Yabancı, hayvansal koku, yem veya ot kokusu	≤ 6
YAPI	
Düzgün, pürüzsüz, lekesiz, homojen kesit, fazla sert veya fazla yumuşak olmayan	10
Kuru ve sert yapı	9
Dağılabilen yapı	8
Lekli kesit	7*
Kaygan yapı	6*
Kumlu, elastiki, yumuşak ve ıslak, yarı ve çatlak, erimiş yapı	≤ 5
TOPLAM KABUL EDİLEBİLİRLİK	
Çok beğendim	5
Tüketebilirim	4
Düzeltilmeli	3
Hiç beğenmedim	1-2
ACILIK DERESESİ	
Acılık yok	0
Çok az acı	1
Belirgin acılık	2
Çok acılık	3
Aşırı acılık	4

EK 1.2 – Peynir örneklerine ait olgunlaşmanın 30. ve 90. günlerindeki 1000X büyütmede SEM mikrografları



Olgunlaşmanın 30.gününde (a, b ve c) ve 90.gününde (d, e ve f) örneklerle ait 1000X SEM görüntüleri: 1.0X (a ve d), 1.5X (b ve e), 2.0X (c ve f)

EK 1.3 – 1.5X TO peynir örneğinde 30.güne ait serbest yağ asidi GC kromatogramı



EK 1.4a – Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (asitler) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşen					
Asitler	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
2-Etil Bütanoik asit	1365	7	0.8	-	1.7
		30	1.1	0.7	1.9
		60	1.3	-	-
		90	0.9	0.9	1.3
Asetik asit	1450	7	159.4	216.7	284.0
		30	151.7	205.0	300.0
		60	160.8	231.3	277.7
		90	162.0	244.3	265.6
Formik asit	1522	7	2.1	-	-
		30	2.6	1.1	2.9
		60	1.3	2.4	2.5
		90	1.8	2.1	3.2
2-Metil Propiyonik asit	1568	7	0.8	2.1	4.9
		30	0.9	2.2	5.2
		60	0.3	2.7	5.1
		90	0.5	2.6	4.6
Bütanoik asit	1628	7	135.5	257.8	434.3
		30	183.0	292.5	550.6
		60	281.5	391.6	599.1
		90	291.7	455.7	643.7
2-Metil Bütanoik asit	1669	7	6.1	14.0	25.0
		30	5.5	11.1	26.7
		60	5.6	12.2	24.5
		90	4.4	10.5	21.6
Pentanoik asit	1738	7	2.7	4.9	7.4
		30	3.5	4.3	8.7
		60	3.9	5.9	9.7
		90	4.0	6.3	9.7
Heksanoik asit	1845	7	232.4	420.3	712.1
		30	242.5	383.9	785.4
		60	288.9	444.7	750.7
		90	281.1	451.6	738.1
Heptanoik asit	1952	7	10.5	10.4	13.9
		30	6.5	7.5	15.3
		60	6.1	9.2	27.6
		90	5.6	7.6	14.1
Oktanoik asit	2058	7	191.3	280.8	454.9
		30	184.9	261.6	509.6
		60	202.4	282.0	496.4
		90	184.6	273.5	464.4
Sikloheksankarboksilik asit	2060	7	2.0	3.3	6.9
		30	1.5	3.2	7.9
		60	1.7	3.1	6.6
		90	1.5	2.5	6.2
Sorbik asit	2122	7	14.5	6.7	9.8
		30	3.6	3.8	4.8
		60	0.4	1.6	1.9
		90	-	1.5	2.2

Nonanoik asit	2171	7	16.5	28.5	27.6
		30	19.1	25.6	22.7
		60	28.6	37.3	98.4
		90	20.4	33.4	43.9
Dekanoik asit	2290	7	111.8	132.0	211.9
		30	118.2	145.9	240.7
		60	123.8	152.3	210.8
		90	112.2	153.5	222.6
9-Desenoik asit	2360	7	8.1	10.1	21.2
		30	9.5	12.2	22.0
		60	11.0	13.5	19.2
		90	9.4	13.2	21.4
Benzoik asit	2472	7	18.0	31.7	60.7
		30	30.7	42.9	75.1
		60	28.1	43.0	55.8
		90	26.4	42.3	76.6
Dodekanoik asit	2512	7	15.6	20.1	27.4
		30	17.2	23.2	33.0
		60	18.5	23.1	26.8
		90	17.4	23.4	36.1

^aSonuçlar uçucu $\mu\text{g}/\text{kg}$ peynir olarak verilmiştir. **Aİ:** Alıkonma indeksi, **OS:** Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelerde geçerlidir.

EK 1.4b - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (esterler) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşen					
Esterler	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
Bütanoik asit metil ester	987	7	0.7	0.7	1.0
		30	0.9	2.0	2.8
		60	1.3	1.9	2.5
		90	1.3	2.0	3.4
Bütanoik asit etil ester	1041	7	-	-	-
		30	-	-	-
		60	-	-	23.8
		90	-	-	30.4
Bütanoik asit 3-metil etil ester	1072	7	0.4	0.6	0.7
		30	0.2	0.4	0.7
		60	0.3	0.5	0.6
		90	0.3	0.4	0.5
Pentanoik asit, 1-metiletil ester	1141	7	0.7	0.5	-
		30	1.0	0.8	-
		60	0.9	1.0	-
		90	0.9	1.2	-
Propiyonik asit 2-metil bütil ester	1151	7	0.5	0.7	0.5
		30	0.5	0.6	0.4
		60	0.6	0.4	0.5
		90	0.5	0.3	0.5
Bütanoik asit 2-metilpropil ester	1164	7	0.4	0.4	0.3
		30	0.5	0.4	0.5
		60	0.3	0.3	0.4
		90	0.4	0.4	0.3
Heksanoik asit etil ester	1238	7	2.4	2.7	3.7
		30	2.1	2.9	4.8
		60	2.7	3.3	5.4
		90	2.4	3.6	6.1
Asetik asit 2-etilheksil ester	1390	7	0.5	0.5	0.9
		30	0.5	0.5	1.0
		60	0.5	0.5	0.9
		90	0.5	0.7	0.8
Oktanoik asit etil ester	1442	7	1.0	1.3	2.0
		30	1.1	1.1	2.2
		60	1.4	1.8	2.4
		90	1.5	1.8	2.8
Dekanoik asit metil ester	1584	7	0.4	0.5	0.7
		30	0.3	0.5	0.7
		60	0.3	0.6	0.8
		90	0.4	0.6	0.7
Dekanoik asit etil ester	1648	7	0.2	0.3	1.1
		30	0.4	0.5	1.3
		60	0.3	0.6	1.0
		90	0.8	0.7	1.1

^aSonuçlar uçucu µg/kg peynir olarak verilmiştir. **Aİ**: Alıkonma indeksi, **OS**: Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelere geçerlidir.

EK 1.4c - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (ketonlar) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşen					
Ketonlar	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
2-Propanon	819	7	9.7	9.7	12.9
		30	4.3	8.5	15.0
		60	7.2	11.8	13.6
		90	6.5	10.5	15.3
2-Bütanon	905	7	6.3	5.7	5.4
		30	4.0	6.1	7.0
		60	6.3	8.1	6.8
		90	5.5	7.6	8.1
2,3-Bütandion (diasetil)	981	7	88.1	166.8	320.9
		30	53.2	39.4	99.5
		60	48.4	48.4	56.8
		90	38.7	46.6	46.8
2,3-Pentandion	1053	7	2.2	2.7	1.1
		30	0.8	0.9	0.6
		60	0.4	1.0	0.6
		90	0.3	0.6	0.3
2-Heptanon	1185	7	38.2	48.4	57.7
		30	29.0	46.5	65.3
		60	38.2	53.6	58.7
		90	32.3	53.8	62.0
4-Oktanon	1230	7	0.5	0.5	0.6
		30	0.6	0.6	0.5
		60	0.5	0.5	0.5
		90	0.7	0.6	0.5
3-Hidroksi-2-bütanon (asetoin)	1289	7	481.9	572.9	1076.9
		30	648.3	648.4	949.8
		60	648.4	616.4	844.9
		90	610.8	716.8	828.7
1-Hidroksi-2-propanon	1304	7	-	-	0.9
		30	-	-	0.7
		60	-	-	0.9
		90	-	-	1.0
6-Metil-5-hepten-2-on	1344	7	1.0	0.6	1.0
		30	0.8	0.5	0.7
		60	0.4	0.4	0.3
		90	0.4	0.5	0.4
2-Hidroksi-3-pentanon	1364	7	27.5	40.4	32.4
		30	21.5	34.2	33.7
		60	21.1	35.8	28.5
		90	16.3	32.1	27.4
2-Nonanon	1396	7	14.3	18.3	18.3
		30	13.5	16.9	20.7
		60	15.3	17.7	18.2
		90	12.8	18.1	18.5

		7	4.5	4.8	5.2
2-Undekanon	1610	30	4.8	5.1	6.2
		60	4.7	5.5	5.7
		90	4.5	5.2	5.2
		7	1.0	1.0	1.3
2-Tridekanon	1822	30	1.0	1.1	1.4
		60	0.9	0.9	1.0
		90	0.7	0.8	1.1

^aSonuçlar uçucu $\mu\text{g}/\text{kg}$ peynir olarak verilmiştir. **AI**: Alıkonma indeksi, **OS**: Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelerde geçerlidir.

EK 1.4d - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (aldehitler) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşenler					
Aldehitler	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
3-methyl bütanal	908	7	0.2	-	0.6
		30	0.2	-	0.8
		60	1.2	1.0	1.9
		90	0.9	1.6	2.5
Hekzanal	1083	7	3.0	3.5	2.6
		30	5.1	4.4	3.3
		60	4.8	7.4	4.8
		90	5.1	7.9	5.7
Nonanal	1401	7	3.5	8.9	6.7
		30	8.2	3.9	4.3
		60	3.2	6.3	3.9
		90	3.0	1.9	2.8
Benzaldehit	1537	7	3.5	3.8	4.5
		30	26.0	12.7	12.3
		60	9.6	11.4	7.4
		90	15.9	15.5	6.6
Dodekanal	1724	7	6.0	8.0	4.3
		30	6.6	8.1	6.0
		60	5.7	6.4	3.5
		90	5.1	6.2	3.6
Tetradekanal	1936	7	1.4	0.7	0.6
		30	0.7	1.2	0.8
		60	0.8	1.1	1.4
		90	0.9	0.9	0.7

^aSonuçlar uçucu µg/kg peynir olarak verilmiştir. **Aİ:** Alıkonma indeksi, **OS:** Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelerde geçerlidir.

EK 1.4e - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (alkoller) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşen					
Alkoller	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
Etanol	933	7	30.3	31.7	43.2
		30	26.8	30.3	52.0
		60	28.8	30.0	47.6
		90	23.1	26.4	42.2
3-Metil-1-bütanol	1211	7	18.4	21.5	26.3
		30	11.8	18.1	29.9
		60	15.5	21.4	23.4
		90	11.8	20.9	21.6
3-Metil-3-büten-1-ol	1239	7	0.6	1.4	1.3
		30	-	-	0.8
		60	-	-	0.6
		90	-	-	0.7
1-Pentanol	1255	7	1.9	1.8	1.9
		30	2.5	3.5	2.8
		60	3.1	3.8	2.2
		90	2.9	4.6	2.1
3-Metil-2-büten-1-ol	1324	7	2.9	3.5	3.2
		30	2.3	3.2	3.7
		60	2.7	3.5	3.6
		90	2.3	3.2	3.4
1-Hekzanol	1357	7	3.2	3.5	3.8
		30	5.7	4.7	4.8
		60	5.8	7.5	4.5
		90	8.4	7.9	5.7
1-Heptanol	1459	7	1.5	1.5	1.0
		30	1.4	1.3	1.3
		60	1.6	2.0	1.3
		90	1.6	1.9	1.3
2-etil-1-hekzanol	1494	7	6.9	7.7	9.5
		30	6.6	7.2	9.9
		60	6.9	7.5	8.5
		90	5.5	7.4	8.3
1-Oktanol	1562	7	108.3	129.8	25.5
		30	103.1	115.5	25.9
		60	106.1	121.0	22.2
		90	88.3	113.1	21.1
2-Furanmetanol	1640	7	0.2	0.4	0.2
		30	0.4	0.5	0.6
		60	0.3	0.7	0.6
		90	0.3	0.8	0.8
1-Nonanol	1664	7	2.7	2.6	2.2
		30	4.3	2.8	3.0
		60	3.1	2.7	2.1
		90	2.7	2.5	2.1

Benzenmetanol	1881	7	2.2	2.4	2.3
		30	20.6	8.9	7.8
		60	5.2	4.4	4.3
		90	8.6	5.9	5.7
Benzenetanol	1920	7	2.7	3.8	5.7
		30	3.4	3.6	6.2
		60	3.1	4.0	5.3
		90	2.9	3.8	4.7
1-Dodekanol	1972	7	4.5	6.3	4.5
		30	7.2	8.1	5.9
		60	6.3	7.1	3.1
		90	5.4	7.1	5.9

^aSonuçlar uçucu $\mu\text{g}/\text{kg}$ peynir olarak verilmiştir. **Aİ:** Alıkonma indeksi, **OS:** Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelerde geçerlidir.

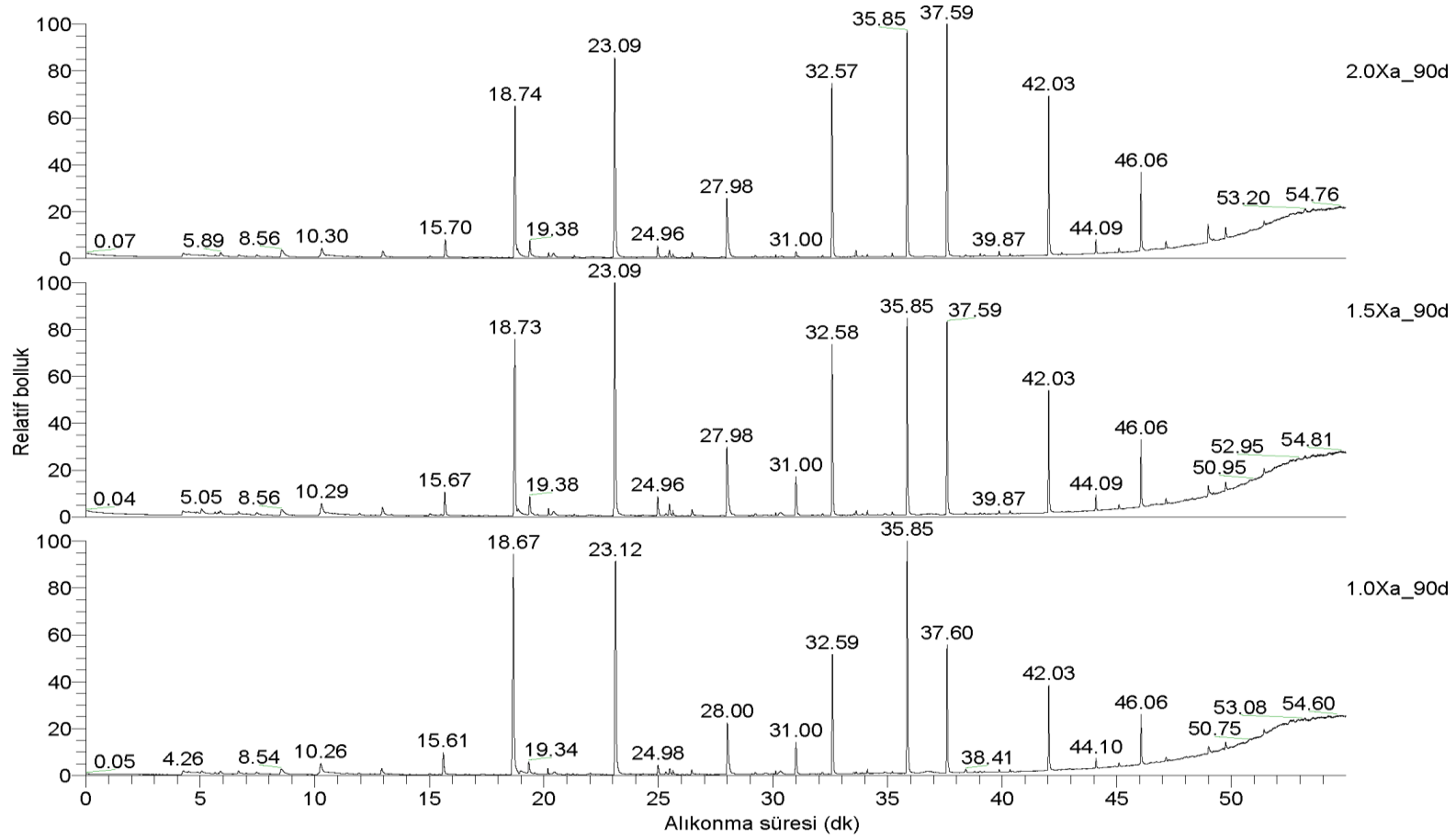
EK 1.4f - Peynir örneklerine ait uçucu bileşiklerin (diğer aroma bileşenleri) analiz sonuçları^a

Uçucu Bileşen					
<i>Diğer aroma bileşenleri</i>	Aİ	OS (gün)	1.0X	1.5X	2.0X
Metantiyol	737	7	1.4	2.0	1.4
		30	0.9	1.4	1.5
		60	1.0	1.3	1.0
		90	0.6	1.2	0.5
Karbondisülfür	778	7	19.9	2.2	0.4
		30	55.7	206.5	8.6
		60	108.1	134.5	5.3
		90	8.2	16.8	2.7
α -pinen	1005	7	4.4	4.9	2.3
		30	2.8	4.9	3.1
		60	4.2	5.4	2.3
		90	3.8	7.1	3.4
β -pinen	1095	7	2.3	2.7	-
		30	1.5	2.5	0.2
		60	2.1	3.0	0.1
		90	1.5	2.4	0.3
Etilbenzen	1098	7	0.6	0.3	1.1
		30	0.6	0.4	1.4
		60	0.4	0.4	1.3
		90	0.6	0.6	1.3
3-Metil-1-bütanol asetat	1126	7	0.5	0.5	1.2
		30	0.3	0.5	1.5
		60	0.3	0.5	0.9
		90	0.3	0.5	0.9
1,3-Dimetilbenzen	1195	7	0.5	0.3	2.5
		30	0.5	0.7	4.0
		60	0.7	1.0	3.7
		90	0.9	1.1	3.6
3-Karen	1203	7	0.5	0.5	-
		30	0.4	0.8	-
		60	0.7	0.5	-
		90	0.8	1.3	-
Limonen	1233	7	1.2	0.8	0.6
		30	1.9	1.1	1.2
		60	9.8	9.9	5.6
		90	2.2	3.3	1.2
2-Pentil-furan	1245	7	1.1	1.0	0.8
		30	1.5	1.3	1.3
		60	1.4	1.6	1.6
		90	1.1	2.1	1.4

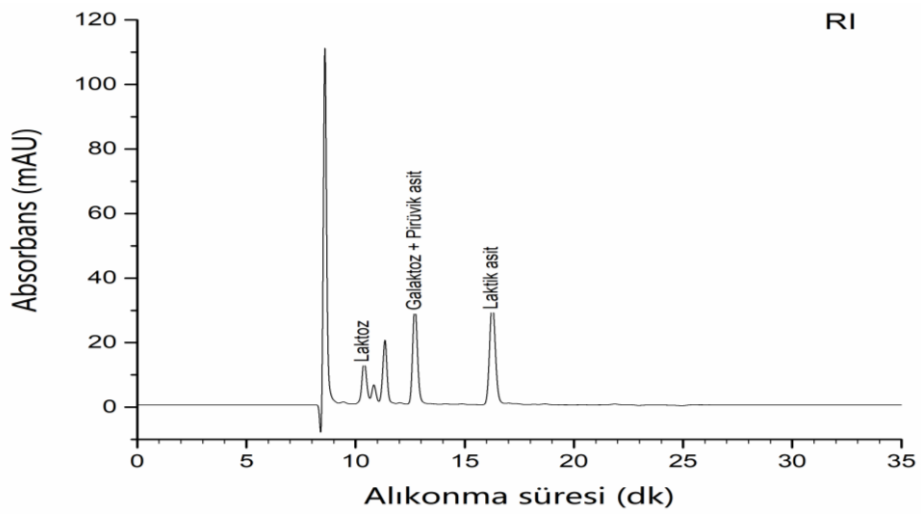
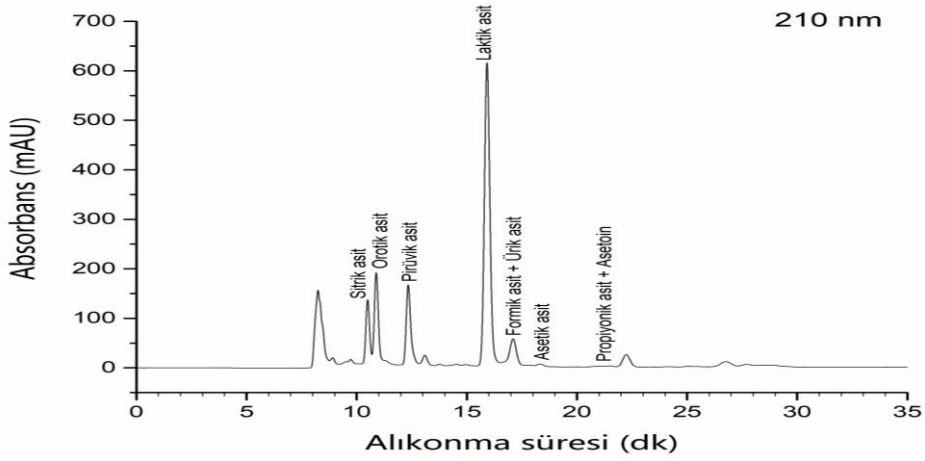
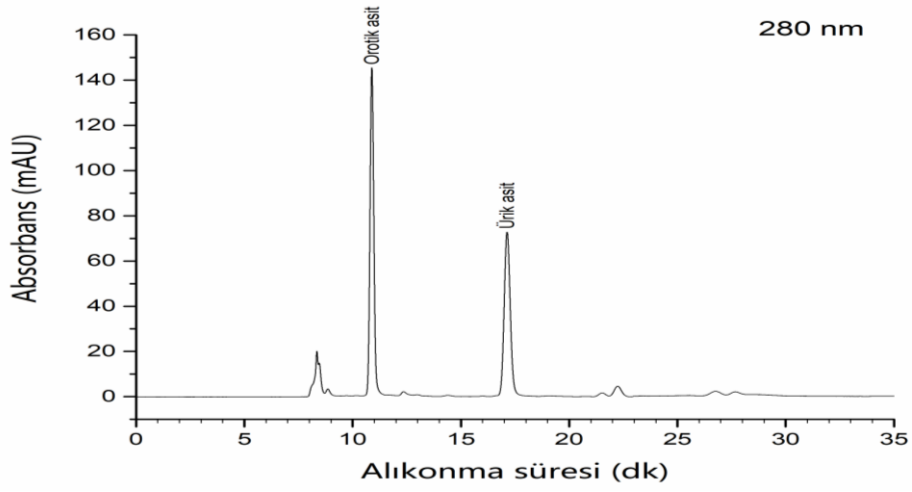
1-metil-2-(1-metiletil)-benzen	1306	7	1.1	0.8	0.4
		30	0.6	0.9	0.6
		60	0.9	0.7	0.7
		90	0.6	0.7	0.8
Dimetil trisülfür	1406	7	-	1.8	-
		30	-	-	-
		60	-	1.4	2.5
		90	-	-	-
δ-Hekzalakton	1813	7	2.2	2.9	4.5
		30	-	-	5.1
		60	0.8	-	2.6
		90	-	-	-
Dimetil sülfon	1895	7	2.5	5.1	7.4
		30	3.0	3.8	11.0
		60	3.3	4.9	9.7
		90	2.9	4.2	8.2
δ-Oktalakton	1912	7	3.1	3.1	7.1
		30	2.7	2.7	4.1
		60	2.0	1.7	2.5
		90	1.2	1.5	2.1
δ-Dekalakton	1989	7	9.7	12.3	16.9
		30	13.5	12.4	18.3
		60	11.3	11.4	12.9
		90	9.2	10.3	12.5

^aSonuçlar uçucu µg/kg peynir olarak verilmiştir. **Aİ:** Alıkonma indeksi, **OS:** Olgunlaşma süresi. Aksi belirtilmedikçe bu kısaltmalar ve birim ifadesi, bu bölüm altında verilen bütün çizelgelerde geçerlidir.

EK 1.5 – Üretilen peynirlerde olgunlaşmanın 90. gününde SPME-GC-MS kromatogramları



EK 1.6 – 1.5X TO peynir örneğinde 90.güne ait organik asit ve şeker HPLC kromatogramları



EK 3 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu

Şablona uygun olarak hazırlanan “Orjinallik Raporu”nun imzalı hali bu bölümde verilmelidir.