

**SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYON  
YÖNTEMİ İLE ENZİM MODİFİYE PEYNİRDEN  
KONSANTRE PEYNİR AROMASI ELDESİ**

**PRODUCTION OF CONCENTRATED CHEESE AROMA  
FROM ENZYME MODIFIED CHEESE BY USING  
SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION  
METHOD**

**ESRA ÜNVER**

**PROF. DR. ALİ TOPCU**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2022

## ÖZET

# SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE ENZİM MODİFİYE PEYNİRDEN KONSANTRE PEYNİR AROMASI ELDESİ

**Esra ÜNVER**

**Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ali TOPCU**

**Eylül 2022, 118 sayfa**

Bu çalışmanın amacı, enzim teknolojisi ile üretilen Enzim modifiye peynirden (EMP) Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon (SC-CO<sub>2</sub>) metoduyla konsantre peynir aroması elde etmektir. Bu amaçla çalışma kapsamında klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinden SC-CO<sub>2</sub> yöntemiyle peynir aroması ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada, SC-CO<sub>2</sub>'nin peynir aroması eldesinde kullanılması için prosedürün belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmadaki ekstraksiyon parametreleri; 35 °C, 45 °C ve 55 °C sıcaklık; 100 bar, 200 bar ve 300 bar basınç; % 0, % 4 ve % 8 yardımcı çözücü konsantrasyonu olmak üzere 3 parametrenin 3 düzeyi için 27 farklı kombinasyondadır. İki peynir çeşidi için toplam 54 ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon süresi 90 dk, CO<sub>2</sub> akış hızı 5 g/dk olarak uygulanmıştır.

Peletlerde yapılan kuru madde sonuçlarına göre etanollü ekstraksiyonlarda kuru maddenin ortalama % 20 düşüş gösterdiği, etanolsüz örneklerde ise ortalama % 8

yükseldiği gözlenmektedir. Peletlerde % yağ değişimi % 80.40 ile en yüksek oranda CCC (55 °C, 300 bar, %0 etanol) örneğinde ve % 34 ile YZX (45 °C, 300 bar, %0 etanol) peletinde gözlenmektedir. pH değeri Ezine peyniri için 4.90'dan BCB (45 °C, 300 bar, % 4 etanol) örneğinde 4.24'e, EMP Ezine peyniri için 4.90'dan ZXY (55 °C, 100 bar, % 4 etanol) örneğinde 4.25'e kadar düşüş göstermiştir. Peletlerde titrasyon asitliği değeri belirgin bir farklılık göstermemiştir. Ezine peyniri için % protein açısından peletlerde azalan % yağ miktarına bağlı olarak protein değerinde görece artış gözlenmiştir. EMP Ezine peynirinde ise % protein değerinde değişim daha sınırlı olmuştur. Toplam serbest amino asit konsantrasyonu sonuçlarında ise peynir örnekleri ile kıyaslandığında peletlerde genelde bir artış olduğu tespit edilmiştir.

Ekstraktlarda titrimetrik yöntem ile serbest yağ asidi analizi yapılmıştır. Ezine peyniri ekstraktları için en yüksek asit sayısı 2603.4 mg KOH/kg ekstrakt ve EMP Ezine peyniri için en yüksek asit sayısı 6287.1 mg KOH/kg ekstrakt ile 55 °C, 100 bar ve % 0 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyondan elde edilmiştir. EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda serbest yağ asidi miktarının Ezine peynirine kıyasla yaklaşık 2.5 kat daha fazladır.

Ekstraktlarda ve peletlerde aroma bileşimini ve ekstraksiyon koşullarının değişiminin aroma bileşimine etkisini gözlemlemek amacıyla uçucu bileşik analizi (GC-MS-SPME) yapılmıştır. Uçucu bileşik analizinin değerlendirilmesinde temel bileşen analizi (PCA) kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar uçucu bileşik bazında EMP Ezine peyniri ekstraktlarından belirgin şekilde ayrılmaktadır. Ayrım Ezine peyniri ekstraktları için aldehitler (2-nonenal, 2-oktenal, 2-nonenal) ve yağ asidi esterleri (bütanoik asit, pentil ester, propanoik asit, 2-hidroksi,etilester) bazında gerçekleşmiştir. EMP Ezine peyniri için ise yağ asitleri bazında (heptanoik asit, oktanoik asit, bütanoik asit) gerçekleşmiştir.

Ekstraktların DSC ile termal analizinde elde edilen sonuçlara göre Ezine peyniri ekstraktlarında basınç artışına bağlı olarak trigliserit miktarının artış gösterdiği tespit edilmiştir. 55 °C, 300 bar ve % 0 etanol ekstraktında (CCA) kristalizasyonun başladığı

$T_{\text{onset}}$  sıcaklığı 4.38 °C'ye yükselmiştir. CCA örneğinde artan trigliserit miktarına bağlı olarak son erime sıcaklığının maksimum noktasında 24.06 °C'ye kadar yükseldiği gözlenmektedir. EMP peyniri 35 °C, 300 bar ve % 0 etanol ekstraktında (XZX) ise kristalizasyonun başladığı  $T_{\text{onset}}$  sıcaklığı -6.65 °C'ye yükselmiştir. 55 °C, 200 bar ve % 0 etanol ekstraktında (ZYX) son erime sıcaklığının maksimum noktasında -0.60 °C'ye kadar yükseldiği gözlenmiştir. EMP Ezine peynirinin ekstraktlarında trigliserit miktarının az olmasına bağlı olarak kristalizasyon ve erime sıcaklıklarının daha düşük olduğu gözlenmektedir.

Ekstraktlarda yapılan duyu analizi sonuçlarına göre Ezine peyniri ekstraktları meyvemsi, keskin ve okside olarak tanımlanmıştır. EMP Ezine peynirinin ekstraktları ise meyvemsi, keskin, tereyağlı, okside ve hayvansal koku olarak tanımlanmıştır. EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının aroma yoğunluğunun hammaddeden daha fazla olduğu görülmektedir. Tüm sonuçlar dikkate alındığında, SC-CO<sub>2</sub> yönteminin konsantre peynir aroması elde etmede başarılı olabileceği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Enzim modifiye peynir, süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu (SC-CO<sub>2</sub>), peynir aroması, Ezine peyniri, enzim modifiye peynir aroması, süperkritik akışkan ekstraksiyonu

## **ABSTRACT**

# **PRODUCTION OF CONCENTRATED CHEESE AROMA FROM ENZYME MODIFIED CHEESE BY USING SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION METHOD**

**Esra ÜNVER**

**Master of Science Department of Food Engineering**

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

**September 2022, 118 pages**

The aim of this study was to obtain concentrated cheese flavor from Enzyme modified cheese (EMC) by using the Supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO<sub>2</sub>) method. For this purpose, cheese flavor extraction was performed from classical Ezine cheese and EMC Ezine cheese by SC-CO<sub>2</sub> method. In this study, it was aimed to determine the procedure for the use of SC-CO<sub>2</sub> to obtain cheese flavor. For this purpose, the extraction parameters used in the study as follow; temperature of 35 °C, 45 °C, and 55 °C; pressure of 100 bar, 200 bar, and 300 bar; co-solvent concentration of 0 %, 4 %, and 8 %. A total of 54 extractions were made for two types of cheeses in 27 different combinations for 3 levels of 3 parameters. The extraction time was 90 min and the CO<sub>2</sub> flow rate was 5 g/min.

According to the dry matter results of the pellets, it is observed that the dry matter decreased to 20 % in ethanol extractions and increased to 8 % in the non-ethanolic samples. The highest percentage of fat changes of pellets was 80.40 % in CCC (55 °C,

300 bar, % 0 ethanol) sample and 34 % in YZX (45 °C, 300 bar, % 0 ethanol) pellet. The pH value decreased from 4.90 to 4.24 for the BCB sample at Ezine cheese, and decreased from 4.90 to 4.25 for the ZXY sample at EMC Ezine cheese. The titration acidity value in the pellets did not show a significant difference. For Ezine cheese, a relative increase in protein value was observed due to the decrease in the amount of fat in the pellets in terms of % protein. In EMP Ezine cheese, the change in % protein value was limited. It was determined that there was an increase of total free amino acid concentration in the pellets compared to the cheese samples.

Free fatty acid analysis was performed on the extracts by a titrimetric method. The highest acid number for Ezine cheese extracts was 2603.4 mg KOH/kg extract, and the highest acid number for EMC Ezine cheese was 6287.1 mg KOH/kg extract obtained from the extraction at 55 °C, 100 bar, and 0 % ethanol concentration. The amount of free fatty acids in the extracts obtained from EMC cheese is approximately 2.5 times higher than in Ezine cheese extracts.

Volatile compound analysis (GC-MS-SPME) was carried out to observe the aroma composition of extracts and pellets and the effect of changes in extraction conditions on flavour composition. Principal component analysis (PCA) was used to evaluate the volatile compound analysis. According to the results, the extracts obtained from Ezine cheese clearly differ from EMP Ezine cheese extracts based on volatile compounds. The distinction for Ezine cheese extracts was based on aldehydes (2-nonenal, 2-octenal, 2-nonenal) and fatty acid esters (butanoic acid, pentyl ester, propanoic acid, 2-hydroxy, ethyl ester). For EMP cheese, it was based on fatty acids (heptanoic acid, octanoic acid, butanoic acid).

According to the results obtained in the thermal analysis of the extracts with DSC, it was determined that the amount of triglycerides in the Ezine cheese extracts increased due to the increase in pressure. At 55 °C, 300 bar, and 0 % ethanol extract (CCA), the  $T_{\text{onset}}$  temperature at which crystallization started increased to 4.38 °C. In the CCA sample, it is observed that the final melting temperature rises to 24.06 °C at its maximum point due

to the increased amount of triglycerides. On the other hand, the  $T_{\text{onset}}$  temperature at which crystallization started at 35 °C, 300 bar, and 0 % ethanol extract of EMC cheese (XZX) increased to -6.65 °C. It is observed that at 55 °C, 200 bar, and 0 % ethanol extract (ZYX), the final melting temperature rises to -0.60 °C at its maximum point. It is observed that the crystallization and melting temperatures were lower due to the low amount of triglyceride in the extracts of EMC Ezine cheese.

According to the results of the sensory analysis of the extracts, Ezine cheese extracts were defined as fruity, sharp, and oxidized. Extracts of EMC Ezine cheese were defined as fruity, sharp, buttery, oxidized, and animal odour. It is seen that the aroma intensity of the extracts of EMP Ezine cheese is higher than the raw material. Considering all the results, it has been determined that the SC-CO<sub>2</sub> method can be successful in obtaining concentrated cheese flavour.

**Keywords:** Enzyme modified cheese, supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO<sub>2</sub>), cheese flavour, enzyme modified cheese flavour, supercritical fluid extraction

## TEŞEKKÜR

Öncelikle, tez çalışmalarım boyunca benden desteğini, yardım ve bilgisini esirgemeyen ve yüksek lisans sürecimde bana bu çalışmayı başlatmam ve tamamlamam için gerekli tüm ortamı sağlayan bunun için bana yol gösteren, düşünmeye, araştırmaya teşvik eden, her bakımdan kendisini örnek aldığım değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ali TOPCU'ya,

Her zaman örnek aldığım, bana benden çok güvenen, bilgisine ve başarılarına hayranlık duyduğum biricik hocam Dr. Araş. Gör. Tuğba BULAT 'a ve sevgili hocam Dr. Araş. Gör. Nur YAZGAN'a,

Tez çalışmam için gerekli olanakları sağlayan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Halil VURAL ve süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu hakkında değerli bilgilerini benden esirgemeyen sevgili hocam Araş. Gör. Özlem ŞAHİN'e

Gerek laboratuvarda birlikte çalıştığımız süreçte gerekse birbirimizden uzak olsak da desteklerini her zaman hissettiğim, benden yardımlarını asla esirgemeyen, Dilek KELGÖKMEN, Melisa YALÇIN, Çiğdem ESMERTAŞ, Sattar EGHBALIAN, Fuat GÖKBEL ve tüm Dairy Research ekibine,

Bu çalışmayı, "2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Tez Bursu" kapsamında destekleyen TÜBİTAK BİDEB'e,

Araştırmam süresince sağladıkları maddi ve manevi destekten ötürü Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nün tüm çalışanlarına,

Bu çalışma kapsamında kullandığım hammaddelerin teminini sağlayan, maddi manevi desteklerini her zaman hissettiğim Maysa Gıda San. ve Tic A.Ş. 'ye,

Yüksek lisansa başlamamda ilk kıvılcımı ateşleyen, bana her zaman çok güvenen ve destekleyen biricik yol arkadaşım Fahrettin ÜNVER'e ve bu süreçte hayatıma bambaşka bir bakış açısı ile bakmamı sağlayan, bana anneliği tattıran biricik kızım Elif ÜNVER'e, daima örnek aldığım ve her zaman varlığı ile hayatımı güzelleştiren biricik annem Raife ŞEKER'e, bana her zaman inanan canım babam Fevzi ŞEKER'e, hayatı birlikte öğrendiğim canım ablam Betül Büşra ŞEKER ve biricik kardeşim Ömer Arda ŞEKER'e ve bu süreçte benden desteklerini esirgemeyen Vedat ÜNVER ve Şükran ÜNVER'e teşekkür ederim.



# İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ .....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ .....	4
2.1. Doğal Aromalara Duyulan Talep .....	4
2.2. Aroma Katkılarının Sınıflandırılması.....	4
2.2.1. Doğal Aroma Katkıları .....	5
2.2.2. Doğala Özdeş Aroma Katkıları.....	6
2.2.3. Sentetik Aroma Katkıları .....	7
2.3. Peynir Aroması ve Biyokimyası.....	7
2.3.1. Laktoz, Laktat ve Sitrat Metabolizması.....	8
2.3.2. Lipoliz ve Yağ Asitlerinin Katabolizması .....	9
2.2.3. Proteoliz ve Amino Asitlerin Katabolizması .....	10
2.4. Peynir Aroması Sağlayan Katkıları .....	12
2.5. Enzim Modifiye Peynir ve Konsantre Peynir Aroması .....	13
2.6. Ezine Peynirinin Aroma Kimyası ve Biyokimyası .....	16
2.7. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE) .....	21
3. MATERYAL VE METOT.....	27
3.1. Materyal.....	27
3.2. Metot .....	28
3.2.1. Peynir ve Peletlere Uygulanan Analizler .....	28
3.2.1.1. Kimyasal Bileşim Analizleri .....	28
3.2.1.1.1. Kuru Madde Analizi.....	28

3.2.1.1.2. pH Analizi.....	28
3.2.1.1.3. Yağ Tayini .....	28
3.2.1.1.4. Titrasyon Asitliği Analizi .....	28
3.2.1.2. Protein Analizi .....	29
3.2.1.3. pH 4.6’da Çözünür Azot Tayini .....	29
3.2.1.4. Toplam Serbest Aminoasit Tayini .....	29
3.2.1.5. Lipoliz Düzeyinin Belirlenmesi .....	30
3.2.1.6. Uçucu Bileşen Analizi .....	31
3.2.2. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu .....	32
3.2.3. Ekstraktlara Uygulanan Analizler .....	35
3.2.3.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Analiz.....	35
3.2.3.2. Ekstraktlarda Uçucu Bileşen Analizi .....	36
3.2.3.3. Serbest Yağ Asidi Analizi.....	37
3.2.3.4. Duyusal Analiz .....	37
3.2.3.5. İstatiksel Analizler .....	38
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....	39
4.1. Peynir ve Peletlere Ait Analizler.....	39
4.1.1. Kimyasal Bileşim Analiz Sonuçları .....	39
4.1.1.1. Kuru Madde .....	39
4.1.1.2. Yağ.....	40
4.1.1.3. pH.....	42
4.1.1.4. Titrasyon Asitliği .....	43
4.1.1.5. Protein.....	43
4.1.2. Proteoliz Düzeyi .....	45
4.1.3. Lipoliz Düzeyi .....	47
4.2. Ekstraktlara Uygulanan Analizlerin Sonuçları .....	55
4.2.1. Serbest Yağ Asidi Analizi .....	55
4.2.2. Termal Analiz.....	68
4.2.3 Uçucu Bileşen Analizi.....	76
4.2.4. Duyusal Analiz .....	86
5. YORUM.....	91

6. KAYNAKLAR.....	97
EKLER .....	106
EK 1. Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyuşal değerlendirme tablosu .....	106
EK 2. EMP Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyuşal değerlendirme tablosu .....	106
EK 4A. Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği .....	110
EK 4B. Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlerin temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği.....	110
EK 5A. EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği.....	111
EK 5B. Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlerin temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği.....	111
EK 6. Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların ait temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği.....	112
EK 7A. Ezine peynirinde asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt) için % etanol konsantrasyonunun değişimine göre yüzey grafikleri.....	113
EK 7B. Ezine peynirinde asit sayısı için (mg KOH/kg ekstrakt) için optimizasyon grafiği .....	113
EK 8. Ezine peynirinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait istatistiksel tablolar ve model denklemleri .....	114
ÖZGEÇMİŞ .....	118

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Eugenolden doğala özdeş vanilin eldesi .....	6
Şekil 2.2. Sentetik vanilin sentezinin reaksiyon zinciri .....	7
Şekil 2.3. Peynirin olgunlaşma sürecinde meydana gelen biyokimyasal olaylar .....	9
Şekil 2.4. Serbest amino asit katabolizması. ....	11
Şekil 2.5. EMP üretiminde tek aşamalı üretim prosesi akım şeması.....	15
Şekil 3.1. Farklı ön deneme koşullarında elde edilen ekstraktlar. ....	32
Şekil 3.2. Süperkritik akışkan ekstraktörü.....	33
Şekil 3.3. SC-CO <sub>2</sub> proses akım şeması. ....	33
Şekil 3.4. Ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlardan bazıları.....	34
Şekil 4.1. Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin titrasyon asitliği değerleri (%laktik asit).....	43
Şekil 4.2. Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin % protein değerleri. ....	45
Şekil 4.3. Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin toplam serbest amino asit konsantrasyonu (mg lösin/g peynir). ....	46
Şekil 4.4. Ezine peynir, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin olgunlaşma indeksi (pH 4.6'da çözümlü azot bazında) (%). ....	47
Şekil 4.5. Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir). ....	48
Şekil 4.6. Ezine peyniri ve etanolsüz ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir). ....	51
Şekil 4.7. Ezine peyniri ve % 4 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir). ....	53
Şekil 4.8. Ezine peyniri ve %8 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir). ....	54
Şekil 4.9. Ezine peynirinden etanolsüz ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği. ....	56
Şekil 4.10. Ezine peynirinden %4 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği.....	57

<b>Şekil 4.11.</b> Ezine peynirinden %8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği. ....	58
<b>Şekil 4.12.</b> Ezine peynirinde asit sayısı için Pareto çizelgesi ve verilerin normallik testi.	58
<b>Şekil 4.13.</b> Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin asit sayısı üzerine ana etkisi.	60
<b>Şekil 4.14.</b> Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin arasındaki etkileşimlerinin asit sayısı üzerine etkisi. ....	60
<b>Şekil 4.15.</b> EMP Ezine peynirinden etanolsüz ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişimi. ....	63
<b>Şekil 4.16.</b> EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda 300 bar basınçta 35 °C, 45°C ve 55 °C’de yapılan ekstraksiyonlarda asit sayısının % etanol konsantrasyonuna göre değişimi. ....	63
<b>Şekil 4.17.</b> EMP Ezine peynirinde asit sayısı için Pareto çizelgesi ve verilerin normallik testi. ....	64
<b>Şekil 4.18.</b> Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin asit sayısı üzerine ana etkisi.	65
<b>Şekil 4.19.</b> Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin arasındaki etkileşimlerinin asit sayısı üzerine etkisi. ....	65
<b>Şekil 4.20.</b> EMP Ezine peynirinde asit sayısı için % etanol konsantrasyonunun değişimine göre yüzey grafikleri. ....	66
<b>Şekil 4.21.</b> EMP Ezine peynirinde asit sayısı için optimizasyon grafiği. ....	67
<b>Şekil 4.22.</b> Ayçiçek yağının DSC termogramı.....	69
<b>Şekil 4.23.</b> Sade yağın DSC termogramı. ....	70
<b>Şekil 4.24.</b> Ayçiçek yağı ve Ezine peynirinin ekstraktlarının kristalizasyon termogramları .....	70
<b>Şekil 4.25.</b> Ayçiçek yağı ve Ezine peynirinin ekstraktlarının erime termogramları.....	71
<b>Şekil 4.26.</b> Ayçiçek yağı ve EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının kristalizasyon termogramları. ....	74
<b>Şekil 4.27.</b> Ayçiçek yağı ve EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının erime termogramları. ....	74
<b>Şekil 4.28.</b> Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlere ait temel bileşim analizi. ....	78
<b>Şekil 4.29.</b> EMP Ezine peyniri, EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlere ait temel bileşim analizi.....	80

<b>Şekil 4.30.</b> Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi. ....	81
<b>Şekil 4.31.</b> EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi. .	83
<b>Şekil 4.32.</b> Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi. ....	85
<b>Şekil 4.33.</b> Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucu örümcek grafiği....	87
<b>Şekil 4.34.</b> Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucuna ait PCA bi-plot grafiği. ....	87
<b>Şekil 4.35.</b> EMP Ezine Peyniri ve EMP Ezine peynirinin ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktların duyu analizi sonucu örümcek grafiği. ....	89
<b>Şekil 4.36.</b> EMP Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucuna ait PCA bi-plot grafiği. ....	89

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 3.1.</b> Ekstraksiyon koşulları ve örnek kodları. ....	27
<b>Çizelge 3.2.</b> Yağ asidi analizleri için kullanılan GC analiz koşulları. ....	30
<b>Çizelge 3.3.</b> Uçucu bileşiklerin analizi için kullanılan GC-MS koşulları.....	31
<b>Çizelge 3.4.</b> Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon koşulları.....	34
<b>Çizelge 4.1.</b> Ezine peyniri ve Ezine peynirinin ekstraksiyonlarından elde edilen peletlerin % kuru madde, % yağ (kuru maddede), % yağ değişimi ve pH sonuçları. ....	40
<b>Çizelge 4.2.</b> EMP Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin ekstraksiyonlarından elde edilen peletlerin % kuru madde, % yağ (kuru maddede) %yağ değişimi ve pH sonuçları. ....	41
<b>Çizelge 4.3.</b> Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).....	49
<b>Çizelge 4.4.</b> Ezine peyniri ve etanolsüz ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).....	51
<b>Çizelge 4.5.</b> Ezine peyniri ve %4 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan peletlet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).....	52
<b>Çizelge 4.6.</b> Ezine peyniri ve % 8 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).....	54
<b>Çizelge 4.7.</b> Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların asit sayısı değerleri (mg KOH/kg ekstrakt).....	55
<b>Çizelge 4.8.</b> EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların asit sayısı değerleri (mg KOH/kg ekstrakt). ....	62
<b>Çizelge 4.9.</b> Ayçiçek yağı ve sade yağın DSC termogramlarının analiz sonuçları. ....	73
<b>Çizelge 4.10.</b> Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların DSC termogramlarının analiz sonuçları. ....	75
<b>Çizelge 4.11.</b> EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların DSC termogramlarının analiz sonuçları.....	76

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	Santigrat derece
mg	miligram
g	gram
Mg	Magnezyum
Fe	Demir
Cu	Bakır
Zn	Çinko
Al	Alüminyum
Ca	Kalsiyum
Mn	Mangenez
MPa	megapaskal
mL	mililitre
nm	nanometre
µL	mikrolitre
ppm	mg çözünen / litre çözelti
µL	mikrolitre

### Kısaltmalar

a/a	ağırlık/ağırlık
CCFA	Codex Committee on Food Additives (Gıda Katkı Maddeleri Kodeks Komitesi)
Cit <sup>+</sup>	Sitrat pozitif
CO <sub>2</sub>	Karbondioksit



DSC	Differential scanning calorimetry (Diferansiyel taramalı kalorimetri)
EFSA	European Food Safety Authority (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi)
EMP	Enzim Modifiye Peynir
FID	Flame ionization detection (Alev iyonlaştırma dedektörü)
GC	Gas Chromatography (Gaz kromatografisi)
GC-MS	Gas Chromatography–Mass Spectrometry (Gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi)
JAR	Just About Right (hızlı tüketici duyusal testi)
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LLL	Linoleik asit, linoleik asit, linoleik asit formunda triaçilgliserol
OLL	Oleik asit, linoleik asit, linoleik asit formunda triaçilgliserol
OOL	Oleik asit, oleik asit, linoleik asit formunda triaçilgliserol
Pc	Kritik basınç
PCA	Principal Component Analysis (Temel bileşen analizi)
PLL	Palmitik asit, Linoleik asit, linoleik asit formunda triaçilgliserol
RSM	Response Surface Method (Cevap yüzey metodu)
SAE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SC-CO <sub>2</sub>	Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SPME	Solid Phase MicroExtraction
TAG	Triaçilgliserol
Tc	Kritik sıcaklık
TCA	Trikloroasetik asit
T <sub>onset</sub>	Onset temperature (Başlangıç sıcaklığı)

# 1. GİRİŞ

Klasik peynirlerin bir gıda ingrediyesi olarak kullanımında belirli sınırlamalar bulunmaktadır. Bu sınırlamalardan ilki klasik peynirlerde depolama süresince devam etmekte olan biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişikliklere bağlı olarak tat-koku bileşiklerinin düşük stabiliteye sahip olması ve peynir kompozisyonunda meydana gelen değişiklikler gibi etkenler nedeniyle tat-koku bileşiklerinin kararsızlığıdır. İngrediyen olarak düşük miktarlarda kullanıldığı için peynir tat-kokusunun yeterince kuvvetli olmaması ve çoğu peynir çeşidi için olgunlaşma süresinin nispeten uzun olması ve gıdalara belirli bir peynir tat-koku yoğunluğunun kazandırılması için gereken yüksek kullanım seviyesine bağlı olarak ortaya çıkan yüksek maliyet de klasik peynirlerin kullanımında kısıtlamalar getirmektedir. Ayrıca, peynirin üretimde kullanılmadan önce parçalanma gereği ve parçalanmış peynirin sıklıkla kullanıldığı alanlar olan fırıncılık ve atıştırmalık gıda endüstrisi için uygun olmadığı gerçeği kısıtlamalara neden olan diğer bir etkidir. Bu kısıtlamalar, enzim teknolojisi yoluyla, doğal biyokimyasal peynir aroması gelişimini kullanarak enzim modifiye peynirin (EMP) geliştirilmesine neden olmuş ve sonuçta klasik peynirin aromasına kıyasla çok yüksek düzeyde peynir aroması yoğunluğuna ulaşılmıştır. EMP, peynir aroması kaynağı olarak maliyet açısından klasik peynire etkili bir alternatif olan ve konsantre peynir aroması sağlayan ingrediyeleler olarak tanımlanabilir.

EMP esas olarak proses peynir ürünleri, peynir taklitleri, peynir tozu, çorba, sos, salata sosları, çerez kaplamaları, krakerler ve hazır ve yarı hazır gıdalar gibi endüstriyel bazı peynir ürünlerinde ve ingrediyelelerinde aroma arttırıcı maddeler olarak kullanılmaktadır. Son yıllarda EMP üretiminde belirgin bir artış olmuştur. Modern yaşam tarzı evde gıda hazırlama süresini azalttığından ve ev dışında tüketilen gıda miktarını artırdığından, tüketici talebi nedeniyle bu pazar genişlemeye devam etmektedir. EMP üretiminde substrat olarak peynir pıhtısı, taze peynirler (farklı peynir çeşitleri), süt proteinleri ve süt yağı veya bunların uygun karışımları kullanılabilir. EMP üretim sürecinde kullanılan enzimlerin geliştirilen tat-koku bileşiklerinin türü ve yoğunluğu üzerinde önemli etkileri bulunmaktadır. Bu enzim preparatları, proteinazları, peptidazları ve lipazları içermekte ve tat-koku bileşiklerini ve bunların öncüllerini (peptitler, serbest

amino asitler, aminler, aldehitler, alkoller, amonyak, serbest yağ asitleri, ketonlar, laktonlar, esterler ve alkoller) üretmek için kazein ve yağ üzerinde etki göstermektedir (Kilcawley ve ark., 1998; Wilkinson ve Kilcawley, 2007).

EMP üretim yöntemine göre iki farklı proses ile elde edilebilir. Bunlardan ilki tek aşamalı üretim metodudur. Bu üretim metodu uygun substratın tercih edilen enzimler ile muamele edilmesi ve 24-72 saat gibi kısa inkübasyon sürelerinde ve 30-45 °C inkübasyon sıcaklığında inkübe edilmesinin ardından 70-85 °C sıcaklık aralığında yapılan bir ısıtma uygulaması ile reaksiyonun durdurulması şeklinde gerçekleştirilir. EMP üretiminde tercih edilen ikinci yöntem ise bileşen yaklaşımlı iki aşamalı proses metodudur. Bu yaklaşımda ise proteoliz ve lipoliz basamakları ayrı olarak yürütülür. Uygun substratlar ile iki ayrı koldan proteazlar ve lipazların eklenmesi ile yapılan inkübasyon sonucu elde edilen yüksek aroma konsantrasyonuna sahip ürünler istenilen son ürünün aroma bileşimine göre uygun oranda karıştırılır (Wilkinson ve ark., 2011). Geleneksel peynirlerin üretim metotları ve aroma gelişimi için gerekli olan olgunlaştırma süresi göz önüne alındığında EMP peynir aroması üretiminde son derece hızlı, ekonomik, taşıma ve saklama maliyetleri açısından avantajlı bir seçenek sunmaktadır.

Peynir aromasının başta proses ve analog peynirler olmak üzere salata sosları, cips ve atıştırma malzemeleri, krakerler, makarna, unlu mamüller ve daha birçok üründe kullanıldığı düşünüldüğünde, içinde protein laktoz vb diğer süt bileşenlerinin bulunmadığı konsantre peynir aroması eldesi için yeni stratejilere ihtiyaç bulunmaktadır. Bu nedenle tez kapsamında avantajlı ve yeşil bir ekstraksiyon metodu olan Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu (SC-CO<sub>2</sub>) kullanılarak klasik Ezine peynirinden ve Ezine EMP'den peynir aroması ekstraksiyonu gerçekleştirilecektir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) yöntemi birçok gıda bileşeninin ayırımı için kullanılmaktadır. Ancak, süperkritik akışkan olarak karbondioksit kullanımı en yaygın metottur.

Saf bir maddenin kritik basınç (Pc) ve kritik sıcaklık (Tc) değerinin üzerine çıktığında süper kritik faz başlar ve bu fazda maddeler koşullara göre gaz ile sıvı arasında farklı fiziko-kimyasal özelliklere sahip olurlar. Örneğin, yüksek basınçta süperkritik akışkanın

çözünürlük ve yoğunluk özellikleri sıvılara yakınken difüze edilebilirliği oldukça artar ve viskozitesi azalır. Difüze edilebilirliğin artması ve viskozitenin düşmesi kütle aktarımını olumlu yönde artırır ve ekstraksiyon süresinin kısalmasını sağlar (Morgan, 2000). Süperkritik akışkanlar ile ekstraksiyon gerçekleştirilirken uygulamadaki sıcaklık ve basınç değerleri elde edilecek ekstrakta göre seçilebilmektedir. Bu sayede aroma eldesi gibi hassas üretim proseslerinde yaşanan kayıplar proses koşullarının kolaylıkla ayarlanması ile minimize edilebilmektedir. Ayrıca, ekstraksiyon proseslerinde yaşanan en önemli sorunlardan biri olan ekstrakt ile çözücünün ayrılması aşamasında ilaveten bir işlemin uygulanması yine benzer kalite kayıplarına neden olabilmektedir. SC-CO<sub>2</sub>'de ise proses koşullarının kritik basıncın altına düşürülmesi ile çözücü süperkritik fazdan çıkar ve böylece çözücü ile analit kolaylıkla ayrılmış olurlar. Sonuçta, elde edilen ekstrakt doğrudan toplama haznesinden alınır ve herhangi bir kalite kaybına uğramaz. Çözücü olarak karbondioksit kullanılması, ucuz olması, saf halde kolay temin edilebilir olması, toksik olmaması, kritik sıcaklık ve basıncının kolay ulaşılabilir olması (31.1 °C ve 72.9 atm), diğer organik çözücülere kıyasla çevre dostu olması, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından güvenli kabul edilmesi gibi bir çok yönden avantaj sağlamasından kaynaklanmaktadır (Ahangari ve ark., 2021; Herrero ve ark., 2010; Morgan, 2000). Tüm bu avantajlar göz önünde bulundurulduğunda gıda üretim prosesine oldukça uygun olan bu yöntemin peynir aroması eldesinde kullanılması ile aroma ekstraksiyon metotlarında yenilikçi bir bakış açısı sağlanması amaçlanmaktadır.

Bu çalışmanın amacı;

- Klasik Ezine peynirinden ve Ezine EMP'den SC-CO<sub>2</sub> yöntemiyle peynir aroması elde etmek,
- SC-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon verimini doğrudan etkileyen sıcaklık, basınç ve yardımcı çözücü derişimi parametrelerinin ekstraksiyona olan etkilerini incelemek,
- Elde edilen ekstraktlarda uçucu bileşiklerin bileşimsel değerlerinin/farklılıklarının belirlenmesidir.

## 2. LİTERATÜR ÖZETİ

### 2.1. Doğal Aromalara Duyulan Talep

Son yıllarda aroma katkılarına olan talep gün geçtikçe artmaktadır. Sanayileşme ile birlikte değişen gıda üretim metotlarına, gıda üretiminin bireysel üreticiden endüstriyel forma taşınmasına ve hazır gıda sektöründeki gelişmeler sonucu değişen tüketim alışkanlıklarına bağlı olarak aroma katkılarına olan ihtiyaç daha belirgin hale gelmektedir. Küresel çapta aroma ve koku endüstrisinin pazar payının 2022 yılında 23.35 milyar dolar olduğunu ve bu değerın yıllık ortalama büyüme oranının ön görülen sürede %4.3 oranında artmasının beklendiği rapor edilmiştir (Anonim, 2022). Raporla atıştırma, meyve suları, işlenmiş gıdalar ve hazır gıdalara gösterilen ilginin artmasından dolayı gıda ve içecek endüstrisinin yıllık ortalama büyüme oranının ön görülen sürede dikkate değer bir şekilde artacağı öngörülmektedir. Tüketici davranışları incelendiğinde, 1950 ve 1960'lı yıllarda gelişen teknolojiye de duyulan ilgiye bağlı olarak sentetik aroma katkılarına karşı tutumun daha ılımlı olduğu gözlenmektedir. Ancak, daha yakın geçmişte bakıldığında “ne yersen O’sun” felsefesinin tüketici tarafından benimsenmesi ile birlikte tüketicinin tercihi sentetik aroma katkılarından doğal aroma katkılarına doğru yön değiştirmektedir (Herta, 2007). 1990’lı yılların ortalarından bu yana tüketicilerin doğal aroma ve katkı içeren gıdalara olan ilgisi artmaktadır. Tüketicilere göre doğal aroma katkıları daha sağlıklı ve aroma algısı daha yüksek olarak görülmektedir (Raines, 2012). Buna bağlı olarak doğal aroma katkılarına olan talep artmakta ve bu talebi karşılamak için yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal aroma katkılarının üretiminin, yapay aroma katkılarına kıyasla ilgi görmesinin diğer bir sebebi tüketicide oluşan “kemofobi”nin yanı sıra yapay aroma katkılarının üretim sürecindeki pahalı reaksiyon basamakları ve katalizörlerin maliyetli olması, buna ek olarak, yapay aroma üretiminin çevre dostu olmaması olarak düşünülmektedir (Castro-Muñoz, 2019).

### 2.2. Aroma Katkılarının Sınıflandırılması

Codex Committee on Food Additives (CCFA) (CCFA, 2008), aromayı bir maddenin ağıza alındığında temel olarak ağızdaki koku, tat alma duyuları ve dokunma reseptörleri ile algılanan ve beyin tarafından yorumlanan karakteristiklerin tümü olarak tanımlamıştır. Aroma bileşenleri, gıda olarak tüketilmesi amaçlanmayan, aroma verici özelliğe sahip, kimyasal yapısı tanımlanmış olan kimyasal bileşenler olarak tanımlanabilir (CCFA, 2008;

Matheis, 2007). Aroma katkıları elde ediliş yöntemlerine göre üç sınıfa ayrılabilirler. Bunlar; doğal aroma katkıları, doğala özdeş aroma katkıları ve sentetik aroma katkılarıdır.

### **2.2.1. Doğal Aroma Katkıları**

Doğal aroma katkıları, bitkisel veya hayvansal bir kaynaktan ya mikrobiyel veya enzimatik aktivite sonucu oluşan ya da çözücü ekstraksiyonu, distilasyon gibi fiziksel bir yöntem ile doğrudan elde edilen aroma bileşenleridir. Bu aroma katkıları kurutma, fermantasyon gibi geleneksel gıda hazırlama yöntemleri ile işlenmiş ya da hiçbir işlem görememiş olabilir (CCFA, 2008; IOFI, 2012). Özetle doğal aroma katkıları, bir gıda maddesinden, bitkisel veya hayvansal kökenli bir hammaddeden fiziksel, mikrobiyolojik veya enzimatik yöntemler ile elde edilen ve tanımlanan maddelerdir. Enzimatik ve mikrobiyel prosesler tek başlık altında “biyoteknolojik prosesler” olarak adlandırılabilir (Matheis, 2007). Avrupa Birliği (EU, 2008), doğal aroma katkılarını altı alt grupta incelemektedir. Bunlar; aroma maddeleri, aroma preparatları, ısıl işlemler sonucu oluşan aromalar, dumanlama aromaları, aroma öncülleri ve diğer aromalar ile bunların karışımlarıdır.

Günümüzde iki binden fazla yüksek saflıkta doğal aroma katkısı bulunmaktadır. Bunların yaklaşık bin tanesini esterler oluşturmaktadır. Ayrıca, yüze yakın az saflıkta elde edilmiş aroma maddesi ve farklı aroma bileşenlerinin bir araya gelerek oluşturduğu aroma karışımları bulunmaktadır. Hekzanal, izomerik hekzanaller ve C<sub>6</sub> alkollerinden oluşan “yeşil nota” (green notes) veya 2-heptanon, 2-nonanon ve 2-undecanon’dan oluşan metil keton karışımı buna örnek olarak gösterilebilir (Matheis, 2007).

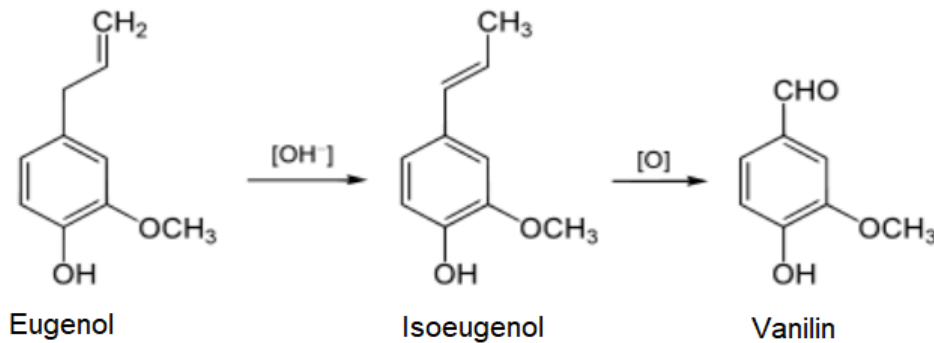
Her ne kadar Türk Dil Kurumu’na göre doğal kelimesinin anlamı “doğada bulunan, insan eliyle yapılmamış, yapay karşıtı” olsa da doğal aromaları sadece gıdada bulunan, enzimatik veya mikrobiyel prosesler sonucu oluşan aromalar olarak düşünmemek gerekir. Doğal aroma katkıları gıda üretim süreci boyunca gıdanın muhatap olduğu işlemler sonucu da oluşabilir. Gıda hazırlama sürecinde oluşan doğal aromalara ısıl işlem sonucu oluşan aromalar örnek verilebilir. Bunlar ekmeğın, etin, sebzelerin pişmesi veya

kızzartılması sonucu oluşan aromalardır (Baines, 2012). Bu grupta en önemli örneklerden biri Maillard reaksiyon ürünleridir.

Pişmiş ette binden fazla aroma maddesi olduğu bildirilmiştir. Pişmiş ette aroma bileşenleri, çiğ ette bulunan aroma öncüllerinden Maillard reaksiyonu ve lipitlerin oksidasyonu ile degradasyonu sonucu oluşmaktadır. Olgunlaştırılmış fermente gıdalarda aroma gelişimini anlamak için incelenmesi gereken anahtar başlığın peynirde aroma gelişimi olduğu belirtilmektedir. Peynirde aroma gelişimi sırasında önemli fermantasyon basamaklarının neredeyse tümü gözlenmektedir (O'Hare ve Grigor, 2005).

### 2.2.2. Doğala Özdeş Aroma Katkıları

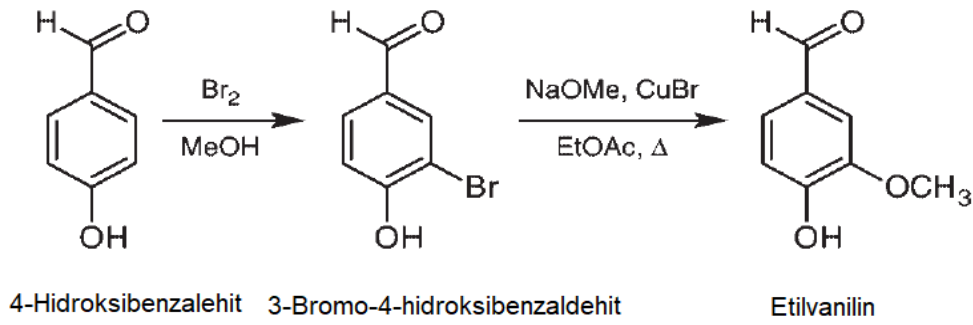
Doğala özdeş aroma katkıları, aromatik doğal bir kaynaktan kimyasal prosesler ile izole veya sentez edilen ve doğal kaynaktan bulunan bileşen ile kimyasal yapı açısından farklılık göstermeyen işlem görmüş veya görmemiş bileşenlerin tümüdür. Aroma aktif bileşenlerin sentezi için birçok metot geliştirilmiştir. Doğala özdeş aroma katkılarının sentezinde substrat olarak doğal bir kaynak kullanılmaktadır (Matheis, 2007). Örneğin, karanfil yağı, fesleğen, defne yaprağı gibi bitkisel kaynaklardan elde edilen eugenolün iki basamaklı reaksiyon zinciri Şekil 2.1'de gösterilmiştir. Eugenolün birinci basamakta çift bağda gerçekleşen izomerizasyonu sonucu oluşan izoeugenol, ikinci basamakta oksidasyon sonucu vaniline dönüşmektedir. Eugenolden elde edilen vanilin doğal kaynaktan sentezlenmesi sebebiyle doğala özdeş aroma katkısı olarak sınıflandırılır.



Şekil 2.1. Eugenolden doğala özdeş vanilin eldesi (Lampman ve ark., 2009).

### 2.2.3. Sentetik Aroma Katkıları

Sentetik aroma katkıları en temel tanımı ile kimyasal sentez yoluyla oluşturulan aroma bileşenleri olarak tanımlanabilir (IOFI, 2012). Sentetik aroma bileşenleri herhangi bir bitkisel veya hayvansal doğal kaynaktan bulunmayan bileşenlerdir. Sentetik aroma bileşenlerinin bir çoğu uçucudur ve petrol türevidir (Ramesh ve ark., 2018). Aroma katkıları elde edilmiş biçimlerine göre vanilya aroması üzerinden incelendiğinde Şekil 2.2’de gösterilen reaksiyon zinciri sonucu 4-hidroksibenzaldehitten etil vanilin sentezi, sentetik vanilya aroması üretimine örnek olarak gösterilebilir. Bitkisel veya hayvansal bir kaynaktan elde edilmeyen 4-hidroksibenzaldehitten bir takım reaksiyon sonucu elde edilen etilvanilin sentetik aroma katkısı olarak sınıflandırılır.



Şekil 2.2. Sentetik vanilin sentezinin reaksiyon zinciri (Taber ve ark., 2009).

### 2.3. Peynir Aroması ve Biyokimyası

Peynir, dünyanın her yerinde oldukça farklı aroma, tekstür ve formda üretilen süt bazlı fermente ürünlerin bir grubunun genel ismi olarak tanımlanabilir (Fox ve ark., 2017a). Günümüzde iki binden fazla peynir çeşidi olduğu bilinmektedir. Peynir aroması peynir türüne göre değişkenlik gösterip peynir türüne özgü olgunlaştırma süresince temel olarak biyokimyasal üç ana iz yolu üzerinden gerçekleşmektedir. Bunlar, (i) laktoz, laktat, sitrat metabolizması ve kalıntı laktozun glikolizi, (ii) lipoliz ve yağ asidi katabolizması ve (iii) proteoliz ve amino asit katabolizmasıdır. Şekil 2.3’te bu üç biyokimyasal süreç özetlenmiştir. Peynir aromasının oluşumunda büyük payı olan uçucu bileşenler, büyük oranda lipit ve protein metabolizması sonucu oluşmaktadır. Lipoliz sonucu



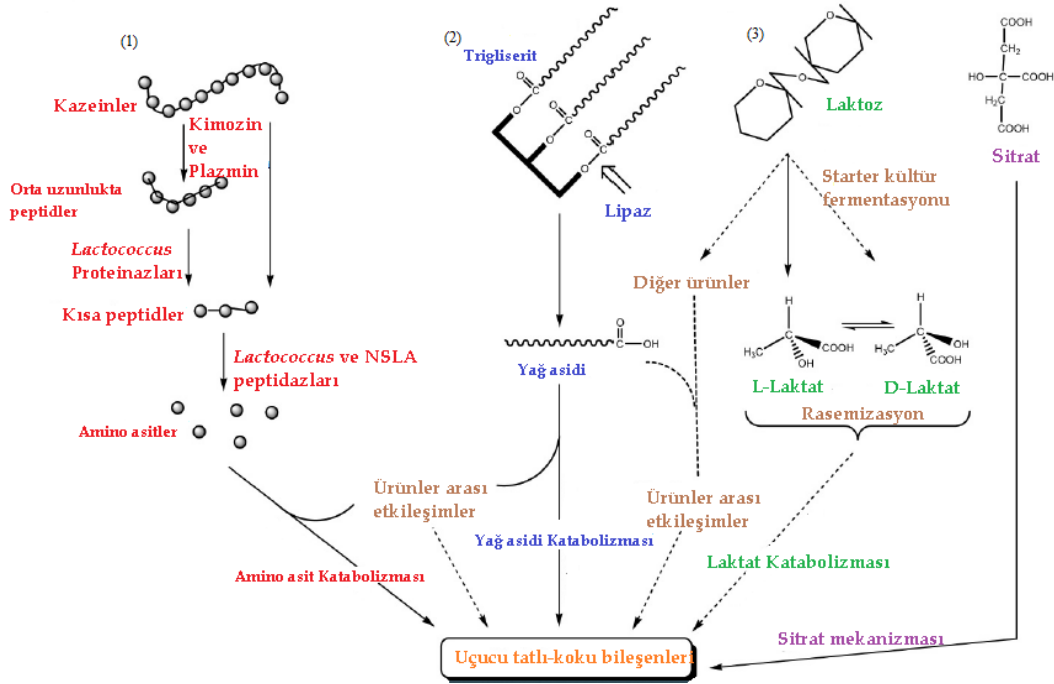
trigliseritlerden ayrılan serbest yağ asitleri ve bu yağ asitlerinin çeşitli uçucu aroma bileşenlerine metabolize olması, kazein matriksinin degradasyonu sonucu oluşan peptitler ve bu peptitlerin serbest amino asitlere hidrolizi peynir aromasını oluşturan başlıca biyokimyasal olaylardır. Serbest amino asitler bir seri reaksiyon sonucu karboksilik asitler, kükürtlü bileşenler gibi önemli aroma bileşenlerini oluştururlar (McSweeney, 2007).

### **2.3.1. Laktoz, Laktat ve Sitrat Metabolizması**

Peynir fermente bir süt ürünü olduğundan laktozun laktata dönüşme metabolizması tüm peynir çeşitleri için elzemdir. Peynir pıhtısı, olgunlaşma süresinin ilk dönemlerinde farklı reaksiyon basamakları ile katabolize edilen laktatı oluşturacak kalıntı laktozu az miktarda da olsa içermektedir (McSweeney, 2004; McSweeney, 2017). Starter laktik asit bakterileri, peynire işlenecek sütte gelişerek ve laktik asit üreterek ve daha sonra proteolitik enzimleri ile peynir aromasına büyük katkıda bulunmaktadır. Laktik asit üretimi oluşturduğu tamponlama kapasitesi ile peynirin pH'sını dolayısıyla peynir aromasını oluşturacak olan mikroflorayı ve enzimatik reaksiyonları doğrudan etkilemektedir (Wilkinson ve Kilcawley, 2007). Peynirde kullanılan starter kültürün cinsine bağlı olarak laktoz ya glikolitik iz yolu üzerinden ya da fosfoketolaz iz yolu üzerinden metabolize edilir. Çoğu starter bakteri glikolitik iz yolunu izlerken, *Leuconostoc* spp. fosfoketolaz iz yolunu izlemektedir. Laktoz metabolizmasının birincil ürünü L- veya D-laktat veya bunların rasemik karışımıdır (McSweeney ve Sousa, 2000). Laktat, ortamda yeterli miktarda oksijen bulunması durumunda ve starter olmayan laktik asit bakterisi popülasyonuna göre oksidasyona uğrayarak asetata dönüşmektedir. İsviçre tipi peynirlerde *Propionibacterium* spp. gelişimine ve aktivitesine bağlı olarak oluşan asetik asit ve propiyonik asit bu tip peynirlere karakteristik tat ve kokusunu veren önemli aroma bileşenleridir (Fox ve ark., 2017b).

Laktoz, starter kültürler tarafından glukoz ve galaktoza hidrolize edilir. Glukoz Embden-Meyerhof-Parnas iz yolu üzerinden pürivata okside olur. Pürivat, diasetil, asetoin, asetat, asetaldehit ve etanol gibi önemli kısa zincirli aroma maddelerinin oluşumunda substrat olarak rol oynamaktadır (Marilley ve Casey, 2003). Peynirin aroma gelişiminde diğer bir önemli basamak sitrat metabolizmasıdır. Sitrat, bazı sitrat pozitif (Cit<sup>+</sup>) laktokok türleri

tarafından diasetil, asetat, asetoin ve CO<sub>2</sub>'ye metabolize edilir (McSweeney, 2017a). Sitratin laktik asit bakterileri ve starter olmayan laktik asit bakterileri tarafından metabolize edilmesi sonucu 2,3-bütandiol ve 2-bütanon da oluşmaktadır. Bu iki bileşik peynirde tereyağı ve aseton aromasının algılanmasına katkıda bulunmaktadır (Bulat, 2011).



Şekil 2.3. Peynirin olgunlaşma sürecinde meydana gelen biyokimyasal olaylar (McSweeney, 2017).

### 2.3.2. Lipoliz ve Yağ Asitlerinin Katabolizması

Peynir aromasının oluşumunda önemli biyokimyasal olaylardan bir diğeri lipoliz sonucu trigliseritlerin serbest yağ asitlerine, gliserol, mono- veya digliseritlere dönüşmesidir. Tüm bu bileşenler peynir aromasını oluşturan temel bileşenlerdir (McSweeney, 2004; Thierry ve ark., 2017). İlerleyen reaksiyon aşamalarında serbest yağ asitlerinin katabolizması peynir aroması için önemli aroma bileşenlerini meydana getirmektedir. Bunlar metil ketonlar, tiyoesterler, laktonlar ve bazı diğere uçucu bileşenlerdir (Murtaza ve ark., 2014). Peynirde lipoliz, esterazların ve lipazların aktivitesi sonucu gerçekleşmektedir. Bu enzimler peynirin yapıldığı süttten, rennet preparatından, starter kültür veya ek kültürden ya da dışardan eklenen enzim preparatlarından gelmektedir.

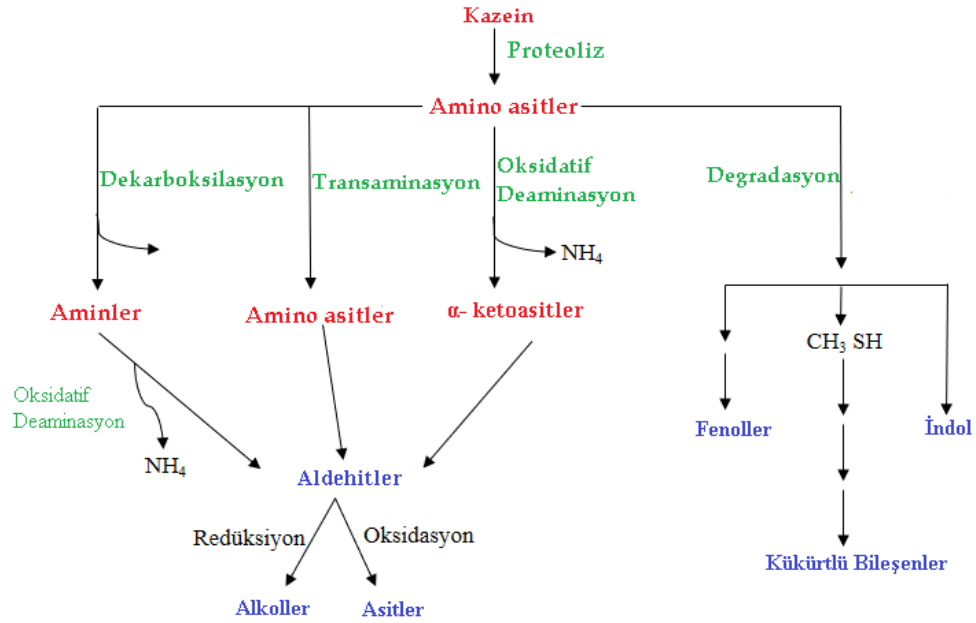
Peynir cinsine göre lipoliz derecesi farklılık göstermektedir. Genellikle İtalyan tipi peynirlerde, rokfor tipi peynirlerde ve yüzey olgunlaştırılmış peynirlerde aşırı lipoliz, İsviçre tipi peynirlerde orta seviyede lipoliz, Cheddar ve Alman tipi peynirlerde düşük lipoliz istenmektedir (Wilkinson, 2007).

Lipoliz sonucu oluşan serbest yağ asitlerinin özellikle kısa ve orta zincir uzunluğunda olanları doğrudan peynir aromasına katkıda bulunmaktadır. Uzun zincirli yağ asitlerinin (> 12 C atomu) algı eşiği daha yüksek olduğu için peynir aromasına katkısı daha sınırlı kalmaktadır. Kısa zincirli ve orta zincirli yağ asitleri ise (C<sub>4:0</sub> – C<sub>12:0</sub>) düşük algı eşiğine sahip olmalarından dolayı tüketici tarafından kolaylıkla hissedilirler ve peynire çoğu kez karakteristik aromasını verirler. Bütanoik asit (C<sub>4:0</sub>) peynirde ransitliği, hekzanoik asit (C<sub>6:0</sub>) acı, rokfor tipi peynir aromasını veren karakteristik kısa zincirli yağ asididir. Serbest yağ asitlerinin bir kısmı β-oksidasyon ile önce β-ketoasitlere ardından metil ketonlara ve ikincil alkollere, bir kısmı ise 4- veya 5-hidroksiasitlere ve ardından γ- ve δ-laktonlara dönüşmektedir. Doymamış yağ asitleri ise önce aldehitlere sonra asitlere ve alkollere dönüşmektedir (Collins ve ark., 2003). Tüm bu bileşenler peynirin son aromasına katkıda bulunan veya peynir tipine göre peynire karakteristik tat ve kokusunu veren bileşenlerdir.

### **2.2.3. Proteoliz ve Amino Asitlerin Katabolizması**

Peynirin olgunlaşma sürecinde gerçekleşen en karmaşık biyokimyasal basamak proteoliz ve amino asit katabolizmasıdır. Proteoliz sırasında çok çeşitli ve önemli biyokimyasal reaksiyonlar gerçekleşmektedir ve bu reaksiyonlar sonucu oluşan her bir ürünün peynir aromasına önemli katkıları bulunmaktadır (McSweeney, 2004; McSweeney, 2017; McSweeney ve ark., 2017). Proteoliz, kazeinin peptitlere ve amino asitlere parçalanması ile gerçekleşen belirli proteolitik enzimlerin katalize ettiği bir dizi biyokimyasal olayı kapsamaktadır. Proteolizin peynirin olgunlaşmasına ilk katkısı tekstür üzerine gerçekleşmektedir. Peptit bağlarının hidrolizi ile serbest kalan amino grupları ve iyonize karboksilik asitlerin su bağlama kapasitesini artırması ve buna bağlı olarak su aktivitesinin azalması ve protein matrisinin kırılması peynir yapısının gelişimine katkıda bulunur. Proteolizin peynirin olgunlaşmasında sağladığı diğer bir katkı ise proteoliz kaynaklı peptitler, amino asitler ve bunların dekarboksilasyon, transaminasyon,

desülfürasyon, deaminasyon gibi reaksiyonlara girmesi sonucu oluşan ürünlerin peynir tat, koku ve aromasına katkı sağlamasıdır (Bulat, 2011; McSweeney ve ark., 2017). Amino asitler, aminler, aldehytler, alkoller, amonyak gibi uçucu aroma bileşenlerinin öncülleridir. Peynir aromasının oluşmasında anahtar rol oynayan bu bileşenler amino asit katabolizması sonucu oluşmaktadır (Murtaza ve ark., 2014). Serbest amino asitlerin katabolizması Şekil 2.4'te gösterilmiştir.



**Şekil 2.4.** Serbest amino asit katabolizması (McSweeney ve Sousa, 2000).

Protein ve amino asit katabolizmasının birinci aşamasında proteoliz sonucu meydana gelen peptitler ve amino asitler tatlı, bitter gibi kendine has aroma karakteristiğine sahiptir. Ancak bunlar peynirin sadece temel tat ve kokusuna katkıda bulunurlar (Smit ve ark., 2005). İkinci aşamada ise amino asitlerin, aminlere ve α-ketoasitlere bunların da aldehytlere ve oksidasyon sonucu asitlere dönüşmesi, ayrıca, kükürt içeren aminoasitlerin (metiyonin, sistein) metabolizması sonucu oluşan kükürtlü bileşenler farklı peynirlerde karakteristik aromaların oluşumuna katkıda bulunmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000; Ganesan ve Weimer, 2017; Smit ve ark., 2005). Lösin ve metiyonin amino asitlerinin katabolizması Cheddar ve Camambert peynirlerinde aroma profilinin oluşumunda etkili olmaktadır. Metiyoninin metabolizması sonucu oluşan metiyonal, metantiyol, dimetilsülfit, dimetiltrisülfit ve diğer oksidasyon ürünleri başlıca aroma bileşenleridir.

İzovalerik asit ve 3-metilbütanal ise lösin amino asidinin katabolizması sonucu oluşmaktadır. Emmental peynirinde metiyonal ve 3-metilbütanal tipik tatlı karamel aromayı sağlamaktadır. Bütirik asit lipoliz sonucu oluşan Camembert ve Cheddar peyniri aromasında etkin rol oynayan önemli bir kısa zincirli yağ asididir. Valin amino asidinden türeyen ve karboksilik asit olan izobütirik asit bütirik aside oldukça yakın aroma sağlamaktadır. Valinden türeyen diğer bir ester etilbütirat ise Cheddar peynirinde fazla miktarda bulunması halinde kusur olarak kabul edilen meyvemsi aromadan sorumludur (McSweeney ve Sousa, 2000; Yvon ve Rijnen, 2001).

#### **2.4. Peynir Aroması Sağlayan Katkılar**

Günümüzde peynir ve peynir katkılarının tamamını üç ana başlık altında incelemek mümkündür. Bunlardan ilki sofralık peynir olarak adlandırılan, istenilen son ürün doğrultusunda peynir çeşidine göre uygun üretim metotları izlenilerek üretilen peynirlerdir. Bu gruptaki peynirler perakende olarak evsel tüketime veya gıda sektöründe tüketime sunulmak üzere üretilmektedir. İkinci başlık gıda katkısı olarak üretilen peynirlerdir. Gıda katkısı olarak peynirin, kullanıldığı gıdanın hazırlanmasını kolaylaştırıcı ve duyuşal özelliklerini geliştirici işlevleri bulunmaktadır. Gıda katkısı olarak peynirin yaygın olarak kullanıldığı alanlara Cheddar, Mozzarella ve Emmental gibi peynirlerin, lazanya, pizza, omletler, tost ve buna benzer gıdalarda kullanımı örnek olarak verilebilir. Gıda katkısı olarak kullanılan peynirler ürüne kattığı işlevsellik açısından ısıt işlemler uygulanan ve ısıt işlemler uygulanmayan peynirler olarak iki alt kategoride incelenebilir. Gıda katkısı olarak kullanılan ve ısıt işlemler uygulanan peynirlerin eklendiği gıdada genel görünümü geliştirmesi, aroma ve tadı, akışkanlık özelliğini ve yağlanmayı artırması istenirken, ısıt işlemler uygulanmayan peynirlerde ise ürünün dilimlenebilirlik, yayılabilirlik, parçalanabilirlik gibi özelliklerinin geliştirilmesi beklenmektedir. Son olarak üçüncü ana başlık peynir bazlı katkılardır. Bunlar doğrudan peynirden veya peynirin bileşenlerinden, süt tozu, peynir altı suyu tozu veya süt yağından uygun ikincil işlemler sonucu üretilen farklı birçok amaç için kullanılmaya veya işlenmeye hazır olan endüstriyel ürünlerdir (Guinee ve Kilcawley, 2004). Kurutulmuş peynirler, peynir tozları, proses peynir ve proses peynir ürünleri, dilimlenmiş peynirler ve EMP peynir katkılarına örnek olarak verilebilir (Guinee, 2011).

## 2.5. Enzim Modifiye Peynir ve Konsantre Peynir Aroması

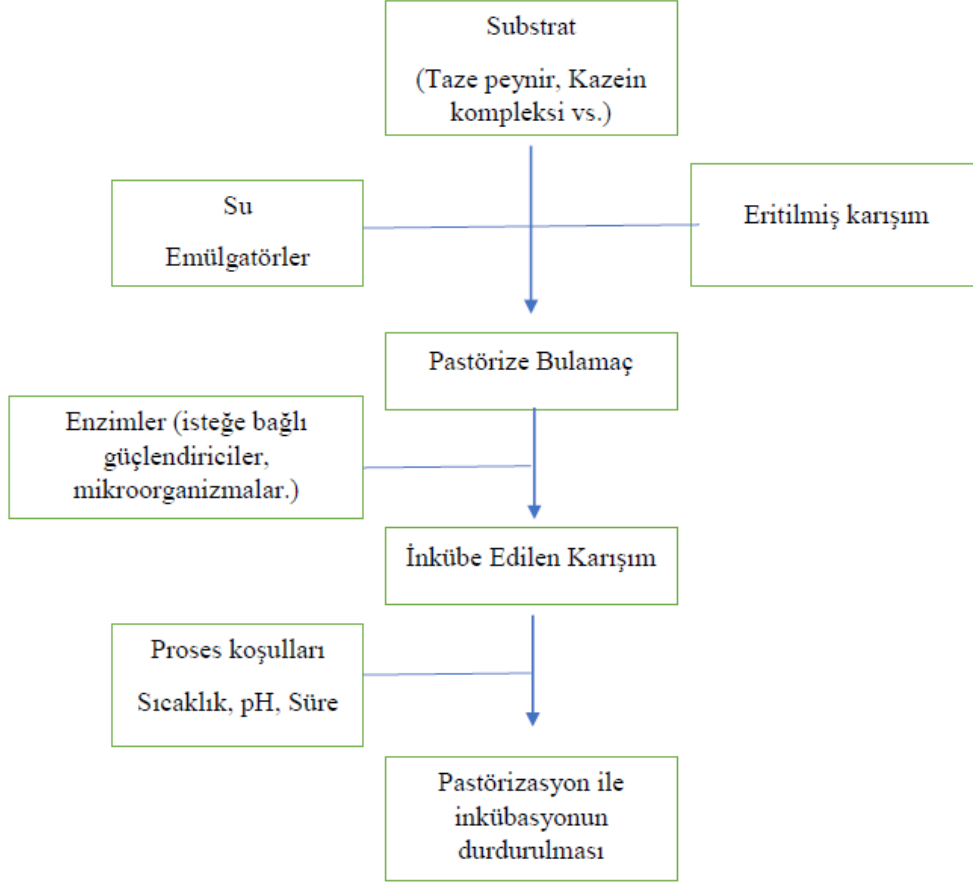
Peynirin gıda katkısı olarak kullanılmasında birtakım kısıtlamalar bulunmaktadır. Peynir olgunlaşma ve/veya depolanma süresi boyunca biyokimyasal ve mikrobiyolojik değişimler devam ettiği için aroma stabilitesi düşük ve aroma içeriği değişken bir üründür. Talep edilen aroma yoğunluğunu sağlamak için katkı olarak kullanılması gereken peynir miktarının fazla olması, yoğun aromaya sahip peynirlerde olgunlaşma süresinin uzun olması ve katkı olarak kullanılacak olan peynirin formülasyona eklenmeden önce ufalanması gerekmesi gibi kısıtlayıcılardan ötürü peynirin aroma katkısı olarak kullanılması son derece zor, pahalı ve verimsiz hale gelmekte ve standart ürün eldesini zorlaştırmaktadır (Guinee ve Kilcawley, 2017).

Gıda endüstrisinde klasik peynirler, peynir aroması olarak kullanılmak üzere peynir geleneksel olarak püskürmeli kurutucularda kurutulmuş ürüne istenilen yönde aroma ve tekstür geliştirmek için eklenmektedir. Ancak geleneksel yöntemlerde, kullanılan peynir türüne bağlı olarak kullanılacak peynir miktarı, genel aroma ve son ürünün kalitesi değişiklik göstermektedir. Mevsimsel değişikliklere bağlı olarak sütün bileşiminin değişmesi, peynirin fazla olgunlaşması gibi nedenler de son ürünün fonksiyonelliğini ve stabilitesini olumsuz etkileyebilmektedir. Geleneksel yöntemler maliyeti yüksek, ekonomik kayıpları fazla olan yöntemlerdir. Peynir aroması oldukça kompleks bir yapıda olup bir dizi karakteristik aroma bileşiğinden oluşmaktadır. Toplam aroma algısı, aroma bileşiklerinin sentezi veya kısmi sentezi, ham maddenin aroma bileşiminden belirli aroma bileşiklerinin izolasyonu veya aroma kompleksinin fiziksel veya kimyasal sentezi ile elde edilebilir. Spesifik aroma aktif maddelerin sentezi oksidasyon-redüksiyon gibi biyodönüşümlerle, mikrobiyel fermantasyon veya spesifik enzim sistemlerinin kullanılması ile gerçekleştirilebilir. Bu nedenle peynir aroması üretiminde en ekonomik yol istenilen peynir notasını veren belirli bileşenlerin üretimini sağlayan yöntemler geliştirmektir. Bu üretim için en iyi uygulama peynirin enzimatik modifikasyonudur (Kilcawley ve ark., 1998).

EMP, hem doğal aroma katkılarına duyulan talebin artması hem de sağladığı avantajlardan ötürü konsantre peynir aroması üretiminde popüler hale gelmektedir. EMP, farklı olgunluktaki peynirlerden, bir kazein kompleksinden, peynir altı suyu tozundan,

yağsız süt tozundan veya süt yağına enzim ilavesi ile enzimatik hidroliz yoluyla üretilen doğal kaynaklı konsantre peynir aroması sağlayıcı katkı olarak tanımlanabilir. EMP için genel üretim prosesi peynirin ekzojen enzimler ve/veya mikroorganizmalar ile 24-72 saat gibi kısa inkübasyon sürelerinde ve 30- 45 °C inkübasyon sıcaklığında inkübe edilmesini ve 70-85 °C sıcaklık aralığında yapılan bir ısıtma uygulaması ile reaksiyonun durdurulması şeklinde gerçekleştirilir. EMP üretimi iki farklı proses ile gerçekleştirilmektedir. Bunlardan ilki lipoliz ile proteolizin birlikte gerçekleştiği tek aşamalı üretim prosesi, diğeri ise farklı aroma gruplarının ayrı ayrı üretilip ardından son ürünlerdeki spesifikasyonuna göre karıştırıldığı bileşen yaklaşımı üretim prosesi olarak tanımlanmaktadır (Kilcawley ve ark., 1998; Wilkinson ve ark., 2011).

EMP üretimine ilişkin prosesin akım şemaları Şekil 2.5 ve Şekil 2.6'da verilmektedir. Enzim uygulaması geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında işlem süresinde önemli bir kısalma sağlamanın yanı sıra aroma konsantrasyonunda 5-30 kat arası artışlar sağlamaktadır (Sibeijn ve Wouters, 2009). EMP aromaları Cheddar, Mozzarella, Romano, Parmesan, Gouda, Rokfor tipi ve diğer birçok peynir türünün aroma bileşimini içeren geniş bir yelpaze sağlamaktadır. EMP'lerin aroma profili klasik peynirinkinden oldukça farklı olabilir ancak uygulanan enzim ve reaksiyonlara bağlı olarak istenilen peynir aroma notaları elde edilebilmektedir (Kilcawley ve ark., 1998). EMP aromaları proses peynir, atıştırmalıklar, hazır çorbalar, soslar, salata sosları, bisküviler, evcil hayvan gıdaları, konserve gıdalar, kek karışımları, yağı azaltılmış ve yağsız peynir ürünleri ve dondurulmuş gıdalar gibi gıda endüstrisinin hemen hemen her bölümünde kullanılmaktadır (Haileselassie, 1999; Kilcawley ve ark., 1998).

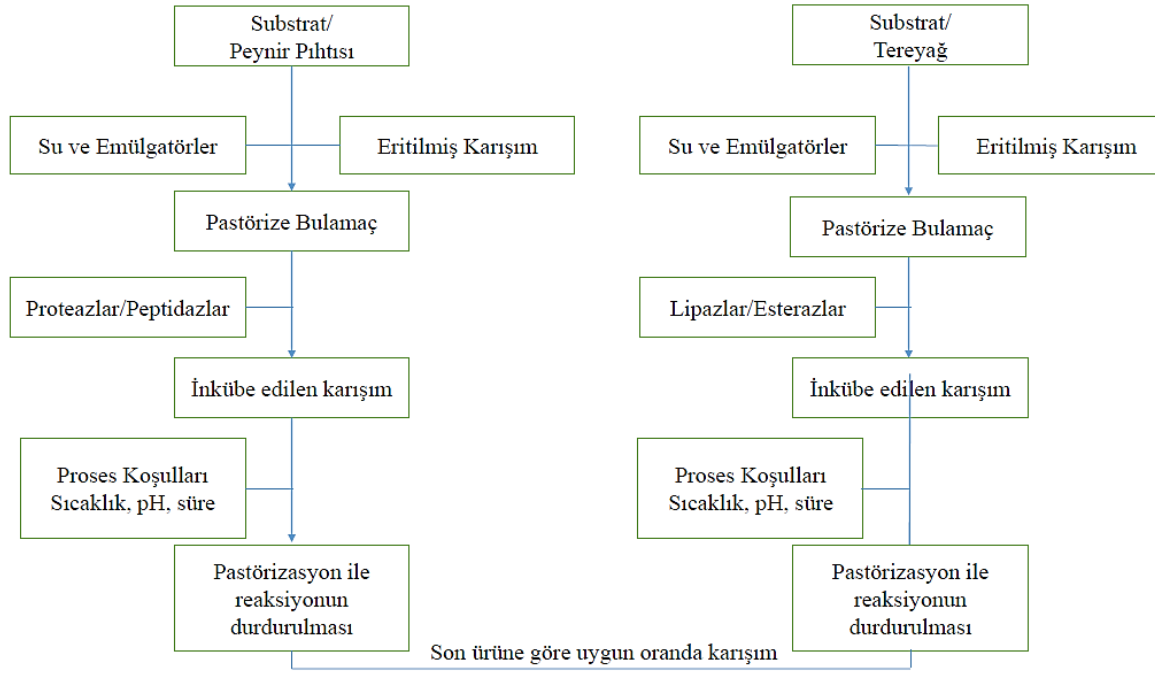


**Şekil 2.5.** EMP üretiminde tek aşamalı üretim prosesi akım şeması (Kilcawley ve ark., 1998; Wilkinson ve ark., 2011).

EMP'nin başlıca avantajı az miktarda (%0.1-2, a/a) kullanım ile yoğun peynir aroması sağlaması ve böylece ürün maliyetini %40-80 oranında azaltmasıdır. EMP kullanımının diğer bir avantajı ürünün yağ içeriği artmadan istenilen peynir aromasının sağlanmasıdır. EMP proteinlerin çözümlü peptitlere ve aminoasitlere hidrolize olmuş formlarını içerdiğinden peynir içeren dondurulmuş ürünlerde kumlu yapı sorununun üstesinden gelinmesinde ideal bir ürün olarak karşımıza çıkmaktadır (Haileselassie, 1999). EMP'nin diğer peynir aroması sağlayan kaynaklara göre avantajları yüksek seviyede aroma yoğunluğu sağlamanın yanı sıra, farklı oranlarda aroma yoğunluğu elde etmenin mümkün olması, üretim maliyetinin düşük ve raf ömrünün uzun olmasıdır. Standart ürün üretimi ve proses kontrolüne imkan sağlamaktadır. EMP kullanımı ile çok daha kararlı bir son ürün elde edilebilmektedir. Farklı lezzet yoğunluklarında ürünlere ve ürün çeşitliliğine imkan sağlamaktadır (Erbay, 2016).



Teknolojik açıdan önem arz eden ve depolamanın kolaylaşmasını sağlayan diğer avantajları ise püskürtmeli kurutucularda kurutulmuş olarak elde edilebilmesidir. Bu yönü hem depolamada kolaylık sağladığı için hem de ürün formülasyonlarında homojen kullanım olanağı yarattığı için EMP'nin diğer peynir aroması sağlayan katkılara üstünlüğüdür (Kilcawley ve ark., 1998).



**Şekil 2.6.** EMP üretiminde bileşen yaklaşımli iki aşamalı proses akım şeması şeması (Kilcawley ve ark., 1998; Wilkinson ve ark., 2011).

## 2.6. Ezine Peynirinin Aroma Kimyası ve Biyokimyası

Ezine peyniri, Çanakkale’de Kaz dağlarının Kuzey ve Batısında yer alan Ezine, Bayramiç ve Ayvacık ilçelerinin doğal bitki örtüsü ile beslenen keçi, koyun ve ineklerden elde edilen sütlerin mevsime bağlı olarak uygun oranda karışımından elde edilen süt ile üretilmektedir. Genellikle üretimde kullanılan süt karışımında, keçi sütü en az % 40, koyun sütü % 45 ile % 55, inek sütü en fazla % 15 oranda bulunmaktadır. Ancak, bu dağılım mevsimsel olarak farklılık gösterebilmektedir (Karagul-Yuceer ve ark., 2007). Ezine peyniri, salamurada olgunlaştırılan peynirler grubundadır. Türk Patent Enstitüsü tarafından 05.08.2006 tarihinde yayınlanan Coğrafi İşaret Tescil Belgesi ile coğrafi işaretli ürün olarak Menşee işaretine sahiptir (Yuceer ve ark., 2009).

Ezine peynirinin aroma kimyası ve biyokimyasında belirtilen coğrafi bölgenin doğal bitki örtüsü ve su kaynakları önemli rol oynamaktadır. Kaz dağlarının farklı kesimlerinde yetişen bazı bitki türleri; *Thymus zygoides* (kaya kekiği), *Melissa officinalis* (oğul otu), *Salvia tomentosa* (adaçayı), *Origanum vulgare* (güveyi otu), *Mentha lonifolia* L. (nane) ve daha yüzlerce bitki, hayvanlar tarafından tüketilmesi sonucu, Ezine peynirine özgü tat ve aroma oluşumunda etkin rol oynamaktadır (Bulut, 2013; Hayaloglu, 2017). Ayrıca, üretimde starter kültür kullanılmaması ve salamurasında deniz tuzu kullanıldığı için peynirde kırıntılı yapı ya da yumuşama gibi kusurlar gözlenmemesi Ezine peynirini diğer beyaz peynirlerden ayırmaktadır. Ezine peynirinin üretiminde peynir altı suyu içerisinde şirden ilave edilerek hazırlanan peynir mayası kullanılmaktadır. Ezine peynirinin bileşim değerleri: % 43.2-% 51.7, titrasyon asitliği % 0.72-2.14, kurumaddede yağ değeri % 49.3-58.9, kurumaddede tuz % 5.7-11.8 aralığında gözlenmektedir. Ransit, pişmiş, kremamsı, keçimsi, tuzlu ve asit tatlar algılandığı ve tekstürel olarak yarı sert olduğu belirtilmiştir (Çakmakçı, 2021).

Ezine peynirinin aromasının oluşumunda baskın rol oynayan kimyasal gruplar aldehitler, ketonlar, esterler, asitler, sülfür içeren bileşenler ve alkoller olarak belirtilmiştir (Hayaloglu, 2017; Yüceer ve ark., 2009). Ezine peynirinin karakteristik aromasının oluşumu için gerekli temel bileşenler: dimetil sülfid, etil bütirat, hekzanal, (Z)-4-heptenal, 1-okten-3-on, asetik asit, *p*-kresol, etil pentanoat, etil bütanoat, etil asetat, limonen, 2-bütanon, 3-hidroksi 2-bütanon, 2-bütanol, etanol, limonen gibi aroma bileşenleri olarak saptanmıştır. Ayrıca Ezine peynirinde orta düzeyde lipolize bağlı olarak palmitik asit ve oleik asidin yapıdaki baskın yağ asitleri olduğu belirtilmiştir. Ezine peynirinin mineral içeriği Mg, Fe, Cu, Zn, Al, Ca, Mn olarak saptanmış miktar olarak 0.04 ile 38.58 mg/100 g peynir aralığındaki değerlerde bulunduğu tespit edilmiştir (Çakmakçı, 2021). Kimi aroma bileşenleri için genel bilgiler aşağıda verilmiştir.

**Serbest Yağ Asitleri;** peynir tat-kokusunun oluşumunda en büyük paya sahip aroma olan bileşikleridir. Peynirin olgunlaşma sürecinde lipoliz aşamasında sütteki trigliseritlerin parçalanması sonucu oluşurlar. Yağ asitleri peynir tat-kokusuna doğrudan katkı sağladıkları gibi metil ketonlar, ikincil alkoller, laktonlar ve aldehitler gibi önemli aroma bileşiklerinin öncül maddeleri oldukları için peynir aroması açısından önemli role

sahiptir. Serbest yağ asitleri içerisinde kısa zincirli yağ asitleri oldukça uçucu aroma bileşikleridir ve algılanma eşiği çok düşük olduğu için peynir aromasında önemli bir etkiye sahiptir. Örneğin düz zincirli yağ asitlerinden asetik asit ve propanoik asit sirke tat- kokusu ile karakterize edilirken bütanoik asit tatlımsı/peynirimsi olarak tanımlanır ve bunların hemen hemen tüm peynirlerin aromasında önemli bir katkısı bulunmaktadır. Pentanoik asit, hekzanoik asit, oktanoik asit, dekanolik asit gibi yağ asitleri ise peynirde keçimsi aromadan sorumlu olduğu bilinmektedir. Dallanmış yağ asitlerinde ise 2-metil propanoik asit peynir ve ransit tereyağı notasından ve 3-metil bütanoik asit ise tatlımsı notadan sorumlu yağ asitleridir (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Bulat, 2017).

**Aldehitler;** aminoasitlerin, transaminasyon, dekarboksilasyon, oksidatif deaminasyon tepkimeleri veya Stecker degradasyonu sonucu oluşan bileşiklerdir. Aldehitler, peynir aromasına doğrudan katkıda bulunduğu gibi aynı zamanda olgunlaşma sürecinde redüksiyon ile birincil alkollere ve oksidasyon sonucu kendilerine karışıklık gelen asitlere dönüşmektedirler (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Mcsweeney, 2004). Düz zincirli aldehitlerin oluşum mekanizması ise doymamış yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonudur. Düz zincirli aldehitler belli bir yoğunluğun üzerinde ransidite olarak adlandırılan tat-koku kusurlarına neden olurlar. Bunlara ek olarak Laktik asit bakterileri de glikozu asetaldehit gibi kısa zincirli aldehitlere dönüştürebilmektedir (Raines, 2012). Hekzanal, heptanal, oktanal, nonanal, dekanal gibi düz zincirli aldehitler peynir aromasında ot, fındık, çiçek notası ile tanımlanırken, 2-etil-2-hekzanal ve benzaldehit gibi dallanmış ve halkalı yapıdaki aldehitler peynirde badem tat-kokusundan sorumlu bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Collins ve ark., 2004; Bulat, 2017).

**Ketonlar;** serbest yağ asitlerinin oksidatif degradasyonu ile oluşan bileşiklerdir. Ketonların oluşumunda serbest yağ asitlerinin  $\beta$ -oksidasyonu önemli rol oynamaktadır. Düşük eşik değerleri nedeniyle peynirde az miktarda bulunsalar dahi aromaya önemli katkıda bulunurlar. Çoğunlukla Rokfor tipi küflü peynirlerde metil ketonlar aromaya önemli etkisi olan bileşiklerdir. Bu bileşikler meyvemsi, küflü ve çiçeksi notadan sorumludur. Peynirde bulunan bazı önemli ketonlar olan diasetil, 3- hidroksi 2- bütanon ve 2,3-bütandion tereyağımsı tat-kokudan, 4- oktanon toprak kokusundan, 2- okten-4-on tipik

mantar kokusundan, 2- nonanon küflü meyvemsi tat-kokudan sorumludur (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Bulat, 2017).

**Alkoller**, peynir aromasında diğer bir önemli grup olarak karşımıza çıkmaktadır. Birincil alkoller ve ikincil alkoller olmak üzere iki sınıfta incelenirler. Peynirin olgunlaşma sürecinde alkoller birden fazla biyokimyasal reaksiyon sonucu oluşurlar. Bunlar laktoz metabolizması, aminoasit metabolizması, metil ketonların indirgenmesi veya linoleik asit ve linolenik asidin degradasyonudur. Birincil alkoller tıpkı lösinden 3-metil 1- bütanol oluşumunda olduğu gibi aminoasitlerin Stecker degradasyonu veya Erhlich yolu ile oluşabilirler (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Avşar ve ark., 2009). Ayrıca laktoz metabolizması sonucu peynirde önemli alkollerden biri olan etanol oluşmaktadır. Peynir tat-kokusunun oluşumunda önemli birincil alkollerden bazılarının aromatik özellikleri 1-heptanol için çiçek/çimen, 1-dekanol için saman olarak tanımlanmıştır (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Bulat, 2017). İkincil alkoller ise çoğunlukla yağ asitlerinden  $\beta$ -oksidasyon sonucu oluşan metil ketonların enzimatik indirgenmesi ile oluşmaktadır (Smit ve ark., 2005; Avşar ve ark., 2009). Peynirde yaygın olarak bulunan ikincil alkollerden bazıları olan 3- heptanol bitki/yağmsı, 4-heptanol toprak 2-oktanol ise peynire mantar/hindistan cevizi aromatik özelliği vermektedir.

**Esterler**; peynirde aroma oluşumuna önemli katkısı bulunan bu grup kısa ve orta zincir uzunluğundaki yağ asitleri ile birincil ve ikincil alkoller arasında gerçekleşen esterifikasyon reaksiyonları sonucu oluşan aroma bileşiklerini içermektedir. Esterler genel olarak peynir aromasında meyvemsi, çiçek ve tatlı olarak tanımlanan aromatik özelliklerden sorumludur. Peynir aroma biyokimyası açısından özellikle etil esterler meyvemsi aromadan sorumlu olmaları sebebiyle önemli bir yer almaktadır. Peynire verdiği aromatik özellik açısından metil bütanoat meyvemsi/elma, metil hekzanoat ananas, etil nonanoat ise çiçek notası ile tanımlanmıştır (Mcsweeney ve Sousa, 2000; Bulat, 2017; Khattab ve ark., 2019).

**Laktonlar**; yapısında asit ve alkol fonksiyonel grubu içeren ve bu uçların esterleşme reaksiyonuna katılması ile oluşan halkalı yapıdaki bileşenlerdir. Peynirde hindistan cevizi, şeftali, kayısı gibi meyvemsi aromatik özelliklerden ve karakteristik tereyağmsı

aromadan sorumlu bileşiklerdir. Peynirler genel olarak görülen lakton yapısı  $\delta$ -laktondur. Bunun birlikte  $\gamma$ -laktonların algılanma eşiği çok düşük olduğundan az miktarda dahi karakteristik aromaya katkıda bulunurlar (McSweeney ve Sousa, 2000; Raines, 2012; Khattab ve ark., 2019).

**Sülfür içeren bileşikler;** metiyoninin karbon ve sülfür arasındaki bağının metiyonindemetiyonaz enzimi aktivitesi sonucu parçalanması ile oluşan bileşiklerdir ve bu bileşiklerin algı eşiği çok düşük olduğu için kuvvetli sarımsak ve sülfür (haşlanmış yumurta) kokusu verirler (McSweeney ve Sousa, 2000). Peynirde en çok öne çıkan sülfürlü bileşik metiyonaldır ve bu bileşik Stecker degradasyonu sonucu oluşup karakteristik haşlanmış patates kokusundan sorumludur (Avşar ve ark., 2009).

**Terpenler;** özellikle çayır ve meralarda yeşil ot yiyen hayvanlardan elde edilen sütlerden peynir aromasına geçerek aromaya katkıda bulunan bileşiklerdir. Bu bileşikler hayvanın tükettiği bitkinin yapısında bulunmaktadır böylece önce süte daha sonra da peynire geçmektedirler. Peynir yapımında kullanılan sütün elde edildiği hayvanın otlandığı düzlüklerin rakımına göre sütteki terpen miktarı değişiklik göstermektedir. Ezine peyniri gibi coğrafi bölge işareti almış peynirlerde sadece o yöreye ait otlar ile beslenen hayvanlardan elde edilen sütlerden peynir elde edilmesi sebebiyle terpenler karakteristik aroma için daha önemli hale gelmektedir. Limonen ve  $\alpha$ -pinen Ezine peynirindeki terpenlere örnek gösterilebilir (Avşar ve ark., 2009).

**Nitrojen içeren bileşikler;** arasında peynir aroma kimyası açısından en önemli özellik gösteren bileşiklerden biri indoldür. Triptofanın parçalanma ürünü olarak oluşmaktadır. Peynir aromasında saptanan diğer bir nitrojen içeren bileşik ise skotoldür. Ancak bu bileşiklerin toplam aromaya etkisinin sınırlı olduğu belirlenmiştir (Avşar ve ark., 2009).

**Pirazinler;** mailard reaksiyonları veya mikrobiyal sentez yoluyla oluşabilmektedir. Peynir aromasında fındığımsı, kavruk, toprak ve çiğ patates aromatik özelliğinden sorumlu gruptur. Bazı peynirler için bu aromatik bileşikler aromaya olumlu katkı sağlarken bazı peynirlerde ise aroma kusurlarına yol açabilirler. Algılanma eşiği çok

düşük olduğu için aromaya katkısı bulunduğu miktara bağlı olarak daha önemli hale gelmektedir (Qian ve Burbank, 2007; Avşar ve ark., 2009).

**Fenolik bileşikler**, peynir aromasına düşük konsantrasyonda olumlu etkileri olan bileşiklerdir. Peynir aroması açısından en önemli fenolik bileşiklerden biri *p*-kresol (4-metil fenol)'dür. *p*-kresol tirozinden meydana gelmektedir. Peynire kattığı aromatik özellik ilaç benzeri olarak tanımlanmıştır. Fenolik bileşiklerin genel aromatik algısı ise keskin, tütüsü, dumanımsı, ahır, dışkı olarak tanımlanmaktadır (Ha ve Lindsay, 1991; Avşar ve ark., 2009).

## 2.7. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE) 1879 yılında Hannay ve Hogarth'ın süperkritik akışkan ortamındaki çözünen maddeleri gözlemlenmeleri ile yeni bir çözücü ortamı olabileceği fikrini ortaya atmaları ile çıkmıştır. Ancak, 1960'tan sonra SFE'nin ticari üretim süreçlerinde uygulanabilirliği kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. SFE'nin endüstriyel uygulamaları 1990'ların başlarından bu yana yeni patentler ile güçlü bir gelişme yaşamıştır (Herrero ve ark., 2010).

Saf bir maddenin kritik sıcaklık ( $T_c$ ) ve kritik basınç ( $P_c$ ) değerinin üzerine çıktığında süper kritik faz başlar ve bu fazda maddeler koşullara göre gaz ile sıvı arasında farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olurlar. Örneğin, yüksek basınçta süperkritik akışkanın çözünürlük ve yoğunluk özellikleri sıvılara yakınken, difüze edilebilirliği oldukça artar ve viskozitesi azalır. Difüze edilebilirliğin artması ve viskozitenin düşmesi kütle aktarımını olumlu yönde artırır ve ekstraksiyon süresinin kısalmasını sağlar (Morgan, 2000). SFE hızlı bir tekniktir. Genellikle, 10-60 dakikada tamamlanırken, sıvılar ile gerçekleştirilen ekstraksiyon saatler hatta günler alabilir. Bir süperkritik akışkanın çözücü gücü basıncı ve sıcaklığı değiştirilerek geliştirilebilir (Ahangari ve ark., 2021). Bu sebeple, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon yapılırken, basınç ve sıcaklık ekstrakt için en uygun değerlere ayarlanabilir (Ahangari ve ark., 2021; Mukhopadhyay, 2000)

Çözücü olarak karbondioksit (CO<sub>2</sub>) kullanılması CO<sub>2</sub>'nin ucuz olması, saf halde kolay temin edilebilir olması, toksik olmaması, kritik sıcaklık ve basıncının kolay ulaşılabilir olması (31.1 °C ve 72.9 atm), diğer organik çözücülere kıyasla çevre dostu olması, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) ve Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından güvenli kabul edilmesi gibi bir çok yönden avantaj sağlamasından dolayı tercih edilmektedir (Herrero ve ark., 2010; Morgan, 2000). CO<sub>2</sub> sahip olduğu düşük kritik sıcaklık sayesinde oda sıcaklığına yakın bir sıcaklıkta uygulama yapma imkânı sağlamaktadır. Bu özelliğinden dolayı CO<sub>2</sub> ısıya duyarlı ve uçucu bileşenlerin bozulmasını önlediği gibi gıdaların fizikokimyasal, duyuusal ve besleyici özelliklerinde meydana gelen değişimi de minimuma indirir ve böylece yüksek kaliteli ürün elde etmesini sağlar. Ayrıca, sahip olduğu ılımlı kritik basınç sayesinde diğer süperkritik akışkanlara kıyasla enerji ve yatırım maliyeti oldukça düşüktür (Amaral ve ark., 2017). Süperkritik akışkanların çoğu oda koşullarında gaz halindedir. Bu nedenle çözeltilerdeki analitlerin geri kazanılması geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre çok daha kolaydır. Çünkü sıvıları ekstrakttan ayırmak için ısıtarak buharlaştırmak gerekir ve bu yöntem ısıya duyarlı ve uçucu aroma bileşenlerinin kaybedilmesine neden olur. SC-CO<sub>2</sub> özellikle aroma bileşenleri gibi ısıya duyarlı bileşenler için uygun bir çalışma prosesi sağlamaktadır (Costa ve ark., 2012).

Süperkritik akışkanlar sadece basıncı azaltarak analitten ayrılırlar. Bu nedenle hem işletme maliyeti düşer hem de ürün kalitesine önemli bir katkı sağlanmış olur (Erbatur ve ark., 2008). Ayrıca SC-CO<sub>2</sub> ile aroma ekstraksiyonunda antioksidanların da yağ ile birlikte ekstrakste edilmesi nedeniyle ürünün raf ömrü daha uzundur (Mukhopadhyay, 2000a). SC-CO<sub>2</sub>'nin başlıca dezavantajı ise polaritesinin düşük olmasıdır. Ancak, polarite düzenleyici olarak yardımcı solventlerin kullanılması ile bu problemin üstesinden gelinmektedir. Yardımcı solvent, süperkritik akışkanın polaritesini değiştirerek çözücü gücünü artırmaktadır. Ayrıca yardımcı solvent ekstrakste edilecek bileşen ile bulunduğu matriks arasındaki etkileşimi de azaltmakta ve böylece ekstraksiyon verimini artırmaktadır (Herrero ve ark., 2010).

SFE sistemi dinamik ekstraksiyon modu veya statik ekstraksiyon modu olmak üzere iki kullanım modundan birine göre çalışabilir (Erbatur ve ark., 2008). Dinamik ekstraksiyon modunda örnek sürekli olarak taze süperkritik akışkan ile beslenir ve ekstrakste edilen

analitler sürekli olarak toplama kabına alınır. Statik ekstraksiyon modunda ise ekstraksiyon çıkışı kapatılır ve statik koşullar altında basınç uygulanır. Uygun ekstraksiyon süresinin ardından analitler statik ekstraksiyondan geri kazanılırlar ve genellikle ekstraksiyon hücresinin çıkış vanası açılarak kısa bir süre dinamik ekstraksiyon uygulanır (Hawthorne, 1993).

SFE analitik amaçla kullanılıyorsa ekstrakte edilen bileşen doğrudan cihazın ilgili bölümüne gönderilir. Bu sistem genellikle bir gaz kromatografi cihazıdır ve bu uygulamaya on-line analiz adı verilir. Eğer ekstrakte edilen bileşen toplandıktan sonra analizi gerçekleştirilecekse bu uygulamaya off-line analiz adı verilir. Off-line analiz yapılacaksa ekstraksiyon sisteminin çıkışı birkaç mL çözücü sıvıya batırılıp, gaz halindeki süperkritik akışkan havaya giderken ekstrakt çözeltide tutulur. On-line analizin başlıca avantajları, ekstraksiyon ve ölçme basamakları arasında ayrıca bir numune hazırlama işlemine gerek olmaması ve analitin seyrelmesi problemi olmadığı için duyarlılığın yükselmesidir (Eratur ve ark., 2008; Larrayoz ve ark., 1999, 2000)

SFE'ye dayalı yöntemler gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bilinen en yaygın uygulamalar kahveden kafeinin ekstraksiyonu ile kafeinsiz kahve üretimi, şarap ve biradan alkol ekstraksiyonu, ette veya süt ürünlerinde yağ miktarının azaltılması, baharat özütlerinin eldesidir (Woźniak ve ark., 2017). Meyve ve sebzelerden esansiyel yağların, yağ asitlerinin ve biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu, farklı kaynaklardan aroma bileşenlerinin ekstraksiyonu, bitkilerden tıbbi bileşenlerin ve alkaloidlerin elde edilmesi, antioksidanların ekstraksiyonu gibi farklı prosesler için de SFE'nin kullanımı yaygındır (Ahangari ve ark., 2021; Herrero ve ark., 2010; Morgan, 2000).

De Haan ve ark. (1990) tarafından yapılan çalışmada SC-CO<sub>2</sub> ile süt yağından aroma bileşenleri konsantrasi elde edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı 40-50 °C arasında değişmektedir. İki aşamalı ekstraksiyon prosesi ile yoğunlukları 600-700 kg/m<sup>3</sup> arasında değişen süt yağı laktonları 500 kat konsantre edilmiştir. Tek aşamalı ekstraksiyon prosesinde ise yalnızca 20 kat konsantre elde edilebilmiştir. Sıcaklık ve basınç arttıkça, süt yağı trigliseritlerinin çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak lakton konsantrasyonunun azaldığı tespit edilmiştir.



Tuomala ve Kallio (1996) tarafından yapılan çalışmada SFE ile olgun ve yarı olgun Emmental peynirinden serbest yağ asitleri ve diğer uçucu aroma bileşenlerinin ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon koşulları 40 °C ve 10 MPa olarak seçilmiştir. 7 dakika statik ekstraksiyon, 3 dakika dinamik ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlar GC-FID ve GC-MS tekniği ile incelenmiştir. Üç ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraksiyon verimi ortalama %82 olarak hesaplanmıştır. Kısa zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Orta ve uzun zincirli yağ asitlerinin ise daha yavaş ekstrakte edildiği belirtilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı yağ asitlerinin CO<sub>2</sub>'deki çözünürlüğünün daha az olduğu yorumu yapılmıştır. On-line SFE-CO<sub>2</sub>, Emmental peynirinde serbest yağ asidi ve minör aroma bileşenlerinin tespitinde eş zamanlı analiz sonuçlarının alındığı hızlı bir yöntem olarak belirlenmiştir.

Larráyo ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada SFE ile Idiazabal peynirinden uçucu aroma bileşenlerinin ekstrakte edilebilirliğini etkileyen dolaylı parametrelerin optimizasyonu yapılmıştır. Çalışmada dolaylı parametreler olarak örnek hazırlama, örnek/çözücü oranı, tutulma sıcaklığı ve ekstraksiyon hücresinin türü incelenmiştir. Uygulamada yardımcı solvent olarak 0.5 mL metanol kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlar GC tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Liyofilize peynir örneklerinde uçucu bileşenlerin liyofilize edilmemiş örneklerle kıyasla kaybedildiği, ultrason uygulanmış örneklerde ultrason uygulanmamış örneklerle kıyasla daha az miktarda uçucu bileşen elde edildiği belirlenmiştir. Ekstraksiyon hücresinin türü polar oktadesilsilika ve tutulma sıcaklığı -5 °C olarak belirlenmiştir.

Larráyo ve ark. (2000) tarafından yapılan çalışmada SFE ile Roncal peynirinden aroma ekstraktları elde edilmiştir. Çalışmada çözücü olarak n-hekzan, n-hekzan:aseton (2:1) ve n-hekzan:aseton (4:1) kullanılmıştır. Ekstraksiyon parametreleri olan sıcaklık 50 °C ve basınç 109 bar olmak üzere hem statik hem de dinamik ekstraksiyon yapılmış ve toplamda ekstraksiyon süresi 40 dk olarak belirlenmiştir. Çalışmada proses parametrelerinin optimizasyonu ve ekstraksiyon verimine etkisi incelenmemiştir. Elde edilen ekstraktlar üzerinde duyu analizler yapılmış bunun için sıralama benzerlik ve eşleştirme testleri yapılmıştır. Karşılaştırma yapabilmek için krema, quark, Ricotta tipi peynir ve tulum

peyniri olmak üzere dört farklı süt ürünü test edilmiştir. Roncal peynirinin aroma özelliklerine en yakın aromanın elde edildiği ekstraksiyonun çözücü karışımı n-hekzan:aseton (2:1) olarak belirlenmiştir.

Lamsen ve Zhong (2011) tarafından yapılan çalışmada SC-CO<sub>2</sub> ile whey protein izolatından istenmeyen koku bileşenlerinin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Ekstraksiyon koşulları sıcaklık (30-65 °C), basıncı (70-300 bar) ve ekstraksiyon süresi (10-90 dk) olarak belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktlar GC/MS tekniği kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlara göre yüksek sıcaklık ve basıncı kombinasyonunun uçucu bileşenlerin ayrılmasında daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte süperkritik akışkanın düşük yoğunluk şartlarında da (100 bar, 65 °C; 75 bar, 35 °C; 100 bar 35 °C) kıyaslanabilir miktarda uçucu bileşenlerin uzaklaştırılabileceği bildirilmiştir. Böylece SC-CO<sub>2</sub> ile whey protein izolatlarının kalitesinin geliştirilmesinde evre dostu yeni bir teknolojik uygulama ortaya konulmuştur.

Raines (2012) tarafından yapılan çalışmada, Rokfor tipi peynir rneği ve Batık Kültür Fermantasyonu ile üretilen Rokfor tipi peynir aroması örneklerinden SC-CO<sub>2</sub> ile peynir aroması elde edilmiştir. Rokfor tipi peynir rneği i) 35 °C ve 78 bar ii) 45 °C ve 90 bar, Batık Kültür Fermantasyonu ile üretilen Rokfor tipi peynir aroması rneği ise i) 35 °C ve 73 bar ii) 45 °C ve 77 bar olmak üzere iki farklı koşulda ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlar GS/MS ile analiz edilmiştir. İkinci örnekte elde edilen aroma bileşenlerinin daha fazla olduğu, ekstraksiyon veriminin ise sıcaklık ve basıncın yanı sıra aroma bileşenine göre de değiştiği tespit edilmiştir.

Yee ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, SC-CO<sub>2</sub> kullanılarak az yağlı Cheddar ve Parmesan peyniri geliştirmek amaçlanmıştır. Elde edilen az yağlı peynirlerin aroma bileşimi tam yağlı peynirlerin aroma bileşimine kıyasla incelenmiştir. Bu amaçla, SC-CO<sub>2</sub> parametreleri sıcaklık 35 ve 40 °C, basıncı 200 ve 350 bar ve CO<sub>2</sub> akış hızı 500 ve 1000 g/dk olarak seçilmiştir. Cheddar peyniri için maksimum verim mevcut yağın % 51'inin uzaklaştırılması ile 200 bar, 40 °C, 1000 g/dk CO<sub>2</sub> koşullarında; Parmesan peyniri için maksimum verim mevcut yağın % 55.56'sının uzaklaştırılması ile 350 bar, 35 °C, 1000 g/dk CO<sub>2</sub> koşullarında elde edilmiştir. SC-CO<sub>2</sub> ile ekstrakte edilen lipitlerin polar

olmayan lipitler olduğu, polar lipitlerin peynir matriksinde kaldığı gözlenmiştir. Araştırma SFE teknolojisinin süt endüstrisinde az yağlı peynir geliştirmek için kullanılabileceğini önermektedir.

Yee ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada, peynir türünün ve peynirde olgunlaşma süresine bağlı olarak oluşan proteoliz ürünlerinin ekstraksiyon prosesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda 9 ay olgunlaştırılmış Cheddar ve Parmesan peyniri örnekleri ile 24 ay olgunlaştırılmış Cheddar ve Parmesan peyniri örneklerine 35 °C, 350 bar, 20 g/dk çözücü akış hızı ile 55 dk süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu uygulanmıştır. Cheddar ve Parmesan peyniri örneklerinde kontrol grubu olarak analizleri yapılmak üzere 100 g örnek 35 °C, atmosferik basınç altında 55 dk boyunca bir inkübatörde tutulmuştur. Elde edilen verilere göre peynirlerin cinsine göre yağ ekstraksiyon veriminin farklılık gösterdiği ancak peynirin olgunlaşma süresine göre yağ ekstraksiyon veriminin anlamlı farklılık göstermediği tespit edilmiştir.

Sánchez-Macías ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada Gouda tipi keçi peyniri ile Majorero keçi peynirinde ekstraksiyon basıncının değişimine bağlı olarak ekstrakte edilen yağ miktarı, mikrobiyel yük, polar yağ profili ve mikro yapının ortaya koyulması amaçlanmıştır. Bu amaçla 10, 20, 30, 40 x10<sup>6</sup> Pa basınçta, 35 °C ve 50 dk ekstraksiyon yapılmıştır. Ayrıca, kontrol örneği olarak her iki peynir örneği 35 °C ve 50 dk inkübatörde bekletilmiştir. Elde edilen verilere göre basınç değişimine bağlı olarak kuru madde ve protein değerlerinde istatistiksel açıdan önemli bir değişimin olmadığı, yağ miktarında ise yaklaşık %50 oranda azalma meydana geldiği gözlemlenmiştir. SC-CO<sub>2</sub> uygulanan peynirlerde mikrobiyel yükün azaldığı böylelikle peynirde raf ömrünün uzatılabileceği yorumu yapılmıştır. Ayrıca peynirde trigliserit ve kolesterol miktarının azalmasına bağlı olarak keçi peynirinde daha sağlıklı bir seçenek oluşturulabileceği tespit edilmiştir.

### 3. MATERYAL VE METOT

#### 3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan klasik Ezine peyniri (sadece Ezine peynir olarak da tez içinde ifade edilmiştir) ve EMP Ezine Peyniri Maysa Gıda A.Ş. tarafından temin edilmiştir. Ekstraksiyon uygulanmış örnekler pelet olarak adlandırılmıştır. Peynir numunelerinde, peletlerde ve ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlarda aşağıda belirtilen analizler yapılmıştır. Ekstraksiyon koşullarına göre ekstraktlara verilen kodlar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Ekstraksiyon koşulları ve örnek kodları.

<b>Ezine Peynirinden Elde Edilen Ekstraktlar</b>	<b>EMP Ezine Peynirinden Elde Edilen Ekstraktlar</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Basınç (Bar)</b>	<b>Yardımcı Solvent (Etanol) (%)</b>
AAA	XXX	35	100	0
BAA	YXX	45	100	0
CAA	ZXX	55	100	0
ABA	XYX	35	200	0
BBA	YYX	45	200	0
CBA	ZYX	55	200	0
ACA	XZX	35	300	0
BCA	YZX	45	300	0
CCA	ZZX	55	300	0
AAB	XXY	35	100	4
BAB	YXY	45	100	4
CAB	ZXY	55	100	4
ABB	XYY	35	200	4
BBB	YYY	45	200	4
CBB	ZYY	55	200	4
ACB	XZY	35	300	4
BCB	YZY	45	300	4
CCB	ZZY	55	300	4
AAC	XXZ	35	100	8
BAC	YXZ	45	100	8
CAC	ZXZ	55	100	8
ABC	XYZ	35	200	8
BBC	YYZ	45	200	8
CBC	ZYZ	55	200	8
ACC	XZZ	35	300	8
BCC	YZZ	45	300	8
CCC	ZZZ	55	300	8

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. Peynir ve Peletlere Uygulanan Analizler**

Çalışmada kullanılan klasik Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve ekstraksiyon sonrası her bir ekstraksiyon koşulunda elde edilen peletlere kuru madde analizi, pH analizi, yağ analizi, titrasyon asitliği analizi, toplam protein analizi, pH 4.6'da çözümlenir azot tayini, toplam serbest aminoasit tayini, lipoliz düzeyinin gaz kromatografisi, aroma (uçucu bileşiklerin) analizleri uygulanmıştır.

#### **3.2.1.1. Kimyasal Bileşim Analizleri**

##### **3.2.1.1.1. Kuru Madde Analizi**

Çalışmada kullanılan klasik Ezine peynirinde, EMP Ezine peynirinde ve ekstraksiyon sonrası her bir ekstraksiyon koşulunda elde edilen peletlerde toplam kuru madde miktarı gravimetrik olarak 103 °C'de 5 saat olacak şekilde yapılmıştır (IDF, 1982).

##### **3.2.1.1.2. pH Analizi**

Analizde dijital pH metre (MeterLab PHM240 pH/ion meter) ve cam elektrot (pHC3001-8, Radiometer Analytical, France) kullanılarak doğrudan pH ölçümü yapılmıştır. Elektrot örneğe direkt batırılmış ve pH değeri sabit olduğu noktada okuma yapılmıştır.

##### **3.2.1.1.3. Yağ Tayini**

Klasik Ezine peynirinde, EMP Ezine peynirinde ve ekstraksiyon sonrası her bir ekstraksiyon koşulunda elde edilen peletlerde Gerber bütirometresi kullanılarak Van Gulik metodu ile yağ miktarı belirlenmiştir (Ardö ve Polychroniadou, 1999).

##### **3.2.1.1.4. Titrasyon Asitliği Analizi**

5 g örnek 50 mL saf su ile homojen hale getirilmiş ve etil alkolde hazırlanmış fenolftalein varlığında 0.1 N NaOH ile 30 saniye kalıcı pembe renk elde edilecek şekilde titrasyon yapılmıştır. Titrasyon asitliği sonuçları % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (AOAC, 2000; Hooi ve ark., 2004; TSE, 2006).

### 3.2.1.2. Protein Analizi

Klasik Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve ekstraksiyon sonucu elde edilen peletlerde toplam azotlu maddeler tayini IDF (1993) uygun Kjeldahl yöntemi ile yapılmıştır. Elde edilen % toplam azotlu madde değeri 6.38 faktör ile çarpılarak örneklerin % protein değeri hesaplanmıştır.

### 3.2.1.3. pH 4.6'da Çözünür Azot Tayini

pH 4.6'da çözünür fraksiyon hazırlamak amacıyla, ekstraksiyon sonrası peynirlerden yeteri kadar ayrılmayan kolon dolgu maddesini uzaklaştırabilmek amacıyla, peynir ve pelet örnekleri 5 ve 10 g olacak şekilde tartılmış ve 0.5 M trisodyum sitrat çözeltisinde 50-60 °C su banyosu içerisinde örnek kapları belirli aralıklarla çalkalanarak çözülmesi sağlanmıştır (Ardö ve Polychroniadou, 1999). Örnekler 8 mL 2 N HCl eklenerek pH 4.6'ya ayarlanmıştır. pH'sı ayarlanmış örnekler bir gece 4 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra 4 °C'de ve 10000 g'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve Whatman No:113 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir. Elde edilen filtratta Kjeldahl yöntemi ile azotlu madde tayini yapılmıştır (IDF,1993). pH 4.6'da çözünür azotlu (ÇA) maddeler bazında olgunlaşma indeksi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Olgunlaşma indeksi (pH 4.6'da ÇA bazında) = pH 4.6'da ÇA / toplam azot×100

Ayrıca, filtratın bir kısmı toplam serbest amino asit analizi için kullanılmıştır.

### 3.2.1.4. Toplam Serbest Aminoasit Tayini

Peynir ve pelet örneklerindeki toplam serbest amino asit miktarını belirlemek amacıyla trinitrobenzensülfonik asit (TNBS) yöntemi kullanılmıştır (Ardö ve Polychroniadou ,1999). Analizde kimi modifikasyonlar yapılmıştır. Bu amaçla daha önceden pH 4.6 çözünür azot tayininde elde edilip ayrılan filtratlar ile % 24'lük TCA (trikloroasetik asit) çözeltisi ile 1:1 oranda karıştırılmış ve vortekslenip, 4 °C'de bir gece bekletilmiştir. Ardından, 10000 g'de ve 20 °C'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve Whatman No:1 filtre kağıdı ile süzülerek filtrat ayrılmıştır. Elde edilen filtrattan 75 µL alınmış ve üzerine 925 µL borat tamponu (0.1 M) ilave edilmiştir. Bu karışımdan 500 µL alınmış ve üzerine 500

$\mu\text{L}$  borat tamponu ve 1 mL TNBS çözeltisi ile vortekslenmiştir. Elde edilen karışım 37 °C’de su banyosunda 1 saat inkübe edilmiş ve inkübasyon sonunda 2 mL 0.1 M fosfat tamponu (1.5 mM  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  içeren) eklenmiştir. Ölçümler, 420 nm’de Thermo Scientific Evolution 201 UV-Visible Spektrofotometre (Shanghai, China) ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar mg lösin/g peynir olarak verilmiştir.

### 3.2.1.5. Lipoliz Düzeyinin Belirlenmesi

Klasik Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerde serbest yağ asitleri De Jong ve Badings (1990)’a göre ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla, klasik Ezine peynirinden ve peletinden 2.5 g, EMP Ezine peyniri ve peletinden 1 g alınarak 8 g susuz sodyum sülfat ile homojen hale gelinceye kadar ezilmiştir. Örneklerin GC analizine hazır hale getirilmesi ve konsantrasyonların hesaplanması Bulat (2011)’e uygun olarak yapılmıştır. Analizde, ThermoScientific TRACE 1300 GC (USA) model GC sistemi kullanılmıştır. GC sistem ekipmanları, otosampler (ThermoScientific TriPlus RSH) ve alev iyonlaştırma dedektöründen (FID) oluşmaktadır. Sistem ChromQuest 5.0 yazılımı ile kontrol edilmektedir. Analiz sonuçları mg serbest yağ asidi/kg ekstrakt olarak verilmiştir. Analiz koşulları Çizelge 3.2’de verilmiştir.

**Çizelge 3.2.** Yağ asidi analizleri için kullanılan GC analiz koşulları (Bulat, 2011).

Kolon tipi	TR-FFAP kolon, 30 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 $\mu\text{m}$ film kalınlığı ( Thermo Ficher Scientific, Bellefonte PA, USA)
Taşıyıcı faz	Helyum
Akış hızı	2 mL/dk
Ayırım sıcaklığı	Kolon sıcaklığı 90 °C’den başlatılmıştır. 90 °C’de 1 dk bekletme sonrası 240 °C’ye çıkarılmıştır. Bu işlem 7 °C/dk hızla yapılmıştır ve 240 °C’de 15 dk sabit tutulmuştur.
Dedektör	Alev iyonlaştırma dedektörü, 260 °C
Split oranı	40:1
Enjeksiyon sıcaklığı	250 °C

### 3.2.1.6. Uçucu Bileşen Analizi

Uçucu bileşen analizinde çözücüsüz teknik (SPME- Solid Phase Microextraction) kullanılmıştır. Ekstraksiyon öncesi klasik Ezine peyniri 3 g, EMP Ezine peyniri 0.5 g ve pelletler 3 g olacak şekilde 20 mL'lik GC-MS viallerine tartılmıştır ve iç standart olarak 2-metil-3-heptanon (20 ppm 80 µL) ve 2-metil pentanoik asit (200 ppm 80 µL) eklenmiştir. Vialler hava almayacak şekilde kapatılmıştır. Bu işlemler ekstraksiyonlar ile eş zamanlı olarak yapılmıştır ve iç standartlar günlük olarak hazırlanmıştır. Analizler 3 faz SPME fiber (1 cm, 50/30 µm, StableFlex DVB/CAR/PDMS divinylbenzene/carboxen/polydimethylsiloxane, Supelco, Bellefonte, PA) ve otosampler (ThermoScientific TriPlus RSH, Switzerland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. SPME Fiber viallerin tepe boşluğunda 45 °C'de 30 dakika bekletilmiştir ve böylece uçucu bileşiklerin adsorpsiyonu sağlanmıştır (Bulat ve Topcu, 2020). Uçucu madde analizinde ThermoScientific ISQ-QD GC-MS sistemi (ThermoFisher Scientific, USA) ve tanımlama işlemi için WILEY ve NIST kütüphaneleri kullanılmıştır. Analiz koşulları Çizelge 3.3'de verilmiştir.

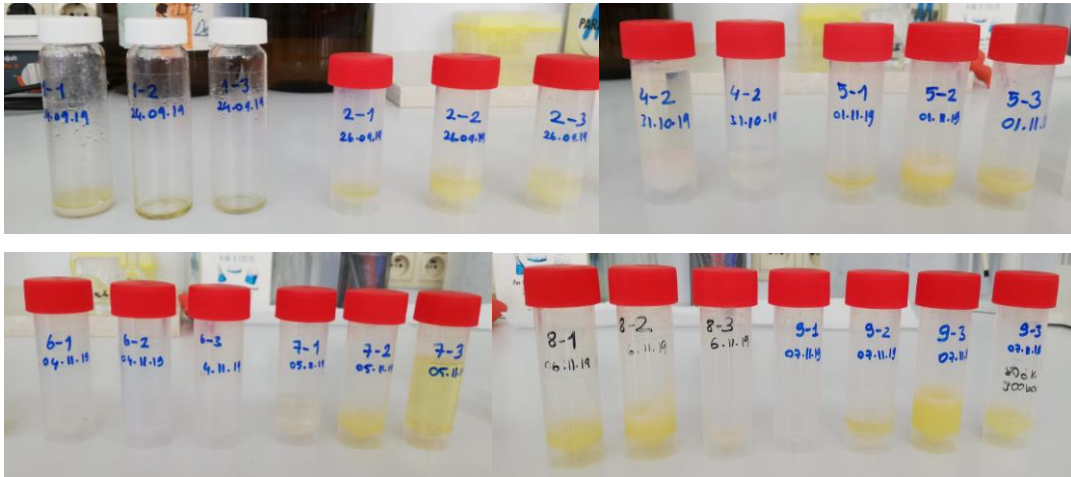
**Çizelge 3.3.** Uçucu bileşiklerin analizi için kullanılan GC-MS koşulları.

Enjektör	Splitless mode
Desorpsiyon	SPME Fiber 260 °C'de 5 dakika
Kolon	TR-WaxMS kolon (60 m uzunluk x 0.25 mm iç çap x 0.25 µm film kalınlığı, ThermoFisher Scientific, Bellefonte PA, USA)
Dedektör	ISQ-QD MS
Taşıyıcı Gaz	Helyum, 1 mL/dk akış hızı ile
Kütle Aralığı	25-350
Sıcaklık Programlaması	Sıcaklık 40 °C'de 10 dakika beklemenin ardından 5 °C/dk hızla artarak 250 °C'ye çıkarılmıştır. 250 °C'de 10 dakika bekletilmiştir.



### 3.2.2. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan klasik Ezine peyniri (40 g) ile EMP Ezine peyniri (50 g) birebir oranda silika jel ile homojen hale gelene kadar karıştırılmıştır. Örneklerin silika jel ile karıştırılmasında; silika jelin kolon dolgu maddesi/su bağlayıcı olarak görev alması (i), örneğin dağılmasına yardımcı olması CO<sub>2</sub>'nin örnekle etkileşime gireceği yüzey alanının artırılması (ii) ve CO<sub>2</sub>'nin geçişinin kolaylaşması (iii) amaçlanmıştır. Ayrıca örnekteki suyun silika tarafından tutulmasının ekstrakte edilen yağ miktarını ve dolayısıyla ekstraksiyon verimini artırdığı ön denemeler ile belirlenmiştir. Ön denemelerde; doğrudan örneğin homojenize edilip ekstraksiyon haznesine yüklenmesi (i), susuz sodyum sülfat ile birebir oranda karıştırılarak ekstraksiyon haznesine yüklenmesi (ii), cam boncuk (iii) ve silika jel (iv) ile birebir oranda karıştırılarak ekstraksiyon haznesine yüklenmesi gibi farklılıklar test edilmiştir. Her bir ekstraksiyon için klasik Ezine peynirinde toplam 80 g, EMP Ezine peynirinde ise 100 g örnek ekstraksiyon haznesine yerleştirilmiştir. Ayrıca, ekstraksiyon süresi ön denemelerle belirlenmiştir. Bu amaçla 30 dk, 60 dk, 90 dk ve 120 dk süreleri test edilmiştir. Ekstrakt verimi açısından uygun ekstraksiyon süresinin 90 dk olduğuna karar verilmiştir.



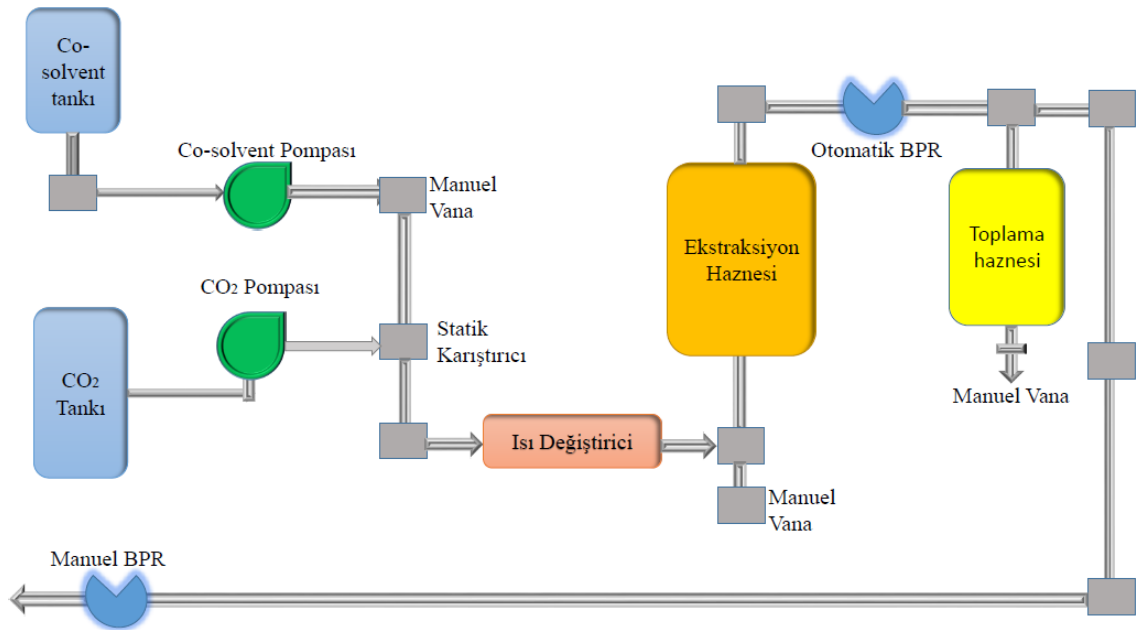
Şekil 3.1. Farklı ön deneme koşullarında elde edilen ekstraktlar.

Peynir örneklerinde ekstraksiyon işlemi Thar Instruments SFE-100-2-FMC10 (USA) ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz 100 mL hacimli ekstraksiyon haznesi, 500 mL hacimli toplama haznesi, otomatik basınç regülatörü, 6 bölgeli sıcaklık kontrolü, yüksek basınca dayanıklı

(600 Bar) P- 50 seri pompa, glikol içeren soğutma sistemi ve yardımcı çözücü için seri 3 (Thar Instruments, Series 3 Pump, Manuel) pompadan oluşmaktadır (Anonim, 2016).

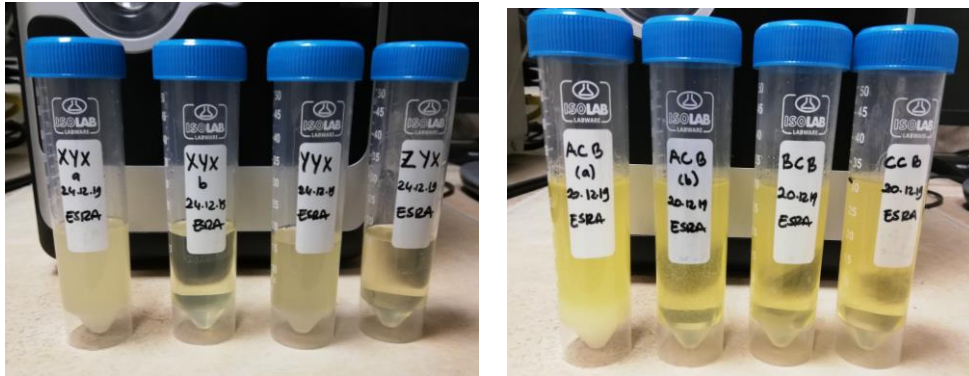


Şekil 3.2. Süperkritik akışkan ekstraktörü (SFE-100-2-FMC10, Thar Instruments, PA, USA).



Şekil 3.3. SC-CO2 proses akım şeması.

Çalışmada süperkritik akışkan olarak CO<sub>2</sub> (% 99.9 saflıkta, Linde Gaz A.Ş.), yardımcı çözücü (co-solvent) olarak etanol (% 99.8 saflıkta, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Analiz koşulları Çizelge 3.4'te verilmiştir. Etanollü ekstraksiyonlarda uygun oranda etanol cihaza komut verilerek yardımcı-solvent pompası ile statik karıştırıcıya gönderilmiş ve cihaz tarafından CO<sub>2</sub> ile karıştırılmıştır. Elde edilen çözücünün sıcaklığı ısı değiştirici tarafından girilen sıcaklığa ayarlanmıştır. Ekstraksiyon haznesindeki sıcaklık değeri de seçilen sıcaklığa sabitlenmiştir. Bu sırada ekstraksiyonun gerçekleştiği basınç değeri otomatik BPR üzerinden okunmuştur. Ekstraksiyon için belirlenen süre tamamlandığında kontrol bilgisayarı üzerinden sistem durdurulmuştur ve cihaza manuel olarak azalan basınç değerleri girilerek cihazın basıncı 20 bara kadar düşürülünce toplama haznesinden elde edilen ekstraktlar alınmıştır. Bu cihaz off-line analiz yöntemiyle çalışmaktadır. Bu nedenle çalışmada kullanılan cihaz herhangi bir analiz cihazına bağlı olmayıp, örnekler toplama haznesinin manuel vanasından örnek kaplarına alınmıştır. Elde edilen ekstraktlardan bazıları Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktlardan bazıları.

Çizelge 3.4. Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyon koşulları.

Sıcaklık	35, 45, 55 °C
Basınç	100, 200, 300 bar
Yardımcı-solvent (%)	% 0, % 4, % 8
Ekstraksiyon süresi	90 dakika
CO <sub>2</sub> Akış Hızı	5 g/dk

Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri için 35, 45, 55 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık, 100, 200, 300 bar olmak üzere üç farklı basınç ve % 0, 4, 8 olmak üzere üç farklı yardımcı-solvent yüzdesinde sabit süre (90 dk) ve sabit CO<sub>2</sub> akış hızında gerçekleştirilmiştir. CO<sub>2</sub>'nin apolar karakterde bir çözücü olmasından dolayı polar karakterli aroma maddelerinin de ekstraksiyonunu sağlamak amacıyla yardımcı-solvent olarak farklı derişimde etanol kullanılmasının ekstraktın aromasına katkısının ne düzeyde olacağını belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, iki örnekte her bir parametrenin kombinasyonu olacak şekilde toplam 54 ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

Ekstraksiyon öncesi toplama kabına 20 mL ayçiçek yağı koyularak ayçiçek yağının uçucu aroma bileşikleri için tutuklama fazı (capture oil) olarak kullanılması amaçlanmıştır. Süperkritik akışkanların ekstraksiyon prosesinde bilinen en önemli avantajlarından biri akışkan üzerindeki yüksek basıncın kaldırılması ile akışkanın gaz fazına dönüşerek ekstraktı kolayca bırakması ve ek bir ayırma işlemine gerek duyulmamasıdır. Yağ fazında olmayan uçucu bileşikler için bir tutuklama fazının kullanılmasının aroma verimini artırdığı gözlemlenmiştir. Ekstraksiyon sonunda her bir örnek için elde edilen ekstrakt örnek kaplarına alınarak planlanan analizler yapılana kadar -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

### **3.2.3. Ekstraktlara Uygulanan Analizler**

#### **3.2.3.1. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre ile Termal Analiz**

Ekstraktların DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetre) ile termal analizi TA Instruments Q20 model DSC cihazı ile yapılmıştır. Ekstraksiyonlarda tutucu faz olarak kullanılan ayçiçek yağı, sadeyağ, farklı ekstraksiyon koşullarında Ezine peynirinden elde edilen beş farklı ekstrakt, EMP Ezine peynirinden elde edilen beş farklı ekstrakt olmak üzere toplam 12 örnek ile 2 paralel olacak şekilde 24 analiz yapılmıştır. Cihazda soğutucu gaz olarak % 99.9 saflıkta azot gazı 50.00 mL/dk besleme hızıyla kullanılmıştır. DSC cihazının kalibrasyonu indium (erime noktası 156.6 °C ) ile yapılmıştır. Çalışmada TA Instruments Part: 900793.901 T30714 numaralı alüminyum hermetik pan ve Part: 900793.901 T30602 alüminyum hermetik pan kapakları kullanılmıştır. Hermetik panlara tartılacak örnek

miktarı 7-8.5 mg olarak belirlenmiştir. Örnekler tartım öncesi sıcak su banyosunda homojen hale getirilmiştir. Isıtma ve presleme sırasında ortaya çıkacak taşmaları önlenmek amacıyla her örnek maksimum 8.5 mg olacak şekilde tartılıp net tartım miktarı analiz öncesi cihaza girilmek üzere kaydedilmiştir. DSC ölçümü hermetik olarak kapatılmış aynı özellikteki boş referans pana karşı yapılmıştır. Ekstraktlara uygulanacak DSC analizinin metodu farklı ön denemeler ile belirlenmiştir. Ayçiçek yağı için son kristalizasyon pikinin -60 °C ile -70 °C arasında, sade yağ için son erime pikinin 40 °C ile 50 °C arasında gözleendiği göz önünde bulundurularak metodun ısıtma ve soğutma aralığı -80 °C ‘den 60 °C’ye olacak şekilde seçilmiştir (Danthine ve ark., 2019; Tan ve Che Man, 2000). Isıtma ve soğutma için kullanılan sıcaklık artış hızı (ramp) 3 °C/dk, 5 °C/dk ve 10 °C/dk olmak üzere üç farklı yöntem ile ön denemeler yapılmıştır. En iyi pik ayrımının 3°C/dk’lık ramp ile elde edildiği gözlenmiştir. Tüm bu bilgiler ışığında DSC analiz metodu aşağıdaki şekilde uygulanmıştır:

#### DCS Analiz Metodu:

- 60 °C’de dengeye gelen örnek tamamen erimesi için 5 dk boyunca 60°C’de bekletilmiştir.
- 5 dk bekleme sonrası 60 °C’den 3 °C/dk ramp ile -80 °C’ye kadar soğutma yapılmıştır. Bu aşama kristalizasyon aşaması olarak adlandırılır ve örneğin ekzoterm elde edilmiştir. -80 °C’de 5 dk bekleme yapılmıştır.
- -80°C’de 5 dk bekletilen örnek 3 °C/dk ramp ile 60 °C’ye kadar ısıtılmıştır ve 5 dk boyunca 60 °C’de bekletilerek döngü tamamlanmıştır. Bu aşama erime aşaması olarak adlandırılır ve örneğin endoterm elde edilmiştir.

#### **3.2.3.2. Ekstraktlarda Uçucu Bileşen Analizi**

Çalışmada SC-CO<sub>2</sub> ile elde edilen ekstraktlarda uçucu bileşen analizi bölüm 3.2.1.6’da belirtildiği şekilde yapılmıştır. Ekstraktlar 2 g olarak amber renkli GC-MS viallerine tartılmış hızlı bir şekilde iç standartlar ilave edilmiş ve vialler kapatılmıştır.

### 3.2.3.3. Serbest Yağ Asidi Analizi

Çalışmada kullanılan klasik Ezine peyniri ile EMP Ezine peynirinden belirlenen ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktlardan 2 mL otomatik pipet yardımıyla erlene alınmıştır. Darası alınan erlenler ile 2 mL örneğin miktarı hassas terazi üzerinde tartılarak değerler kaydedilmiştir. Örneklerin bulunduğu erlenlere organik dispenser yardımıyla 20 mL etanol-dietileter (1:1) ve 4 damla etilalkolde hazırlanmış fenolftalein eklenmiş ve 0.05 N etanolik KOH ile titrasyon yapılmıştır (Hooi ve ark., 2004 ; Gün, 2019) . Örnekler için asit sayısı aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$AS \text{ (mg KOH / kg ekstrakt)} = (V \times N \times 56.1) \times 1000 / m$$

V; Titrasyonda harcanan KOH (ml), N; KOH normalitesi, m; örnek miktarı (g), 56.1 KOH'un moleküler ağırlığı ve 1000 ise g/kg dönüşüm faktörüdür.

### 3.2.3.4. Duyusal Analiz

Çalışmada elde edilen ekstraktların duyusal değerlendirilmesi yaşları 25 ile 55 arasında değişen 3 kadın, 2 erkek olmak üzere peynir aroması konusunda bilgili ve bu alanda çalışma yürüten toplam 5 panelist tarafından gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlar, okside, kremamsı, whey aroması, ransit, tereyağımsı, keskin, meyvemsi, hayvansal koku, ekşi olmak üzere dokuz kriter üzerinden değerlendirilmiştir. Duyusal analiz için kabul edilebilirlik testi uygulanmıştır. Bu amaçla Just About Right (JAR) skalası kullanılmıştır. Değerlendirmelerde 1 ile 5 arasında puanlama yapılmıştır. Değerlendirmede, 1 çok az; 3 neredeyse aynı; 5 ise çok fazla anlamına gelmektedir ve ekstraktlar hammadde olarak kullanılan klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirine kıyasla puanlanmıştır (Lawless ve Heymann, 2010). Duyusal analizde kullanılan değerlendirme çizelgesi EK1 ve EK2'de verilmiştir. Bu nedenle ilk değerlendirmede panelistlere hammadde peynirler değerlendirmeleri üzere sunulmuştur. Çalışmanın planlanması aşamasında, peletlerde ve etanollü ekstraktlarda da duyusal değerlendirme yapılması düşünülmüştür ancak peletlerde meydana gelen belirgin aroma azalması ile tüm peletlerde benzer hayvansı aromanın algılanması nedeniyle, etanollü ekstraktlarda ise ekstrakt üst yüzeyinde ve içerisinde aromanın algılanmasını tamamen engelleyecek miktarda etanol bulunması nedeniyle duyusal değerlendirmeye dahil edilmeleri anlamlı bulunmamıştır.

### 3.2.3.5. İstatiksel Analizler

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, SPSS 16.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılmıştır. Çalışmada analizler 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir. Varyansların homojenliği Levene testi kullanılarak tespit edilmiştir. Varyanslar arasındaki farklılığın önem kontrolü ANOVA kullanılarak  $p < 0.05$  önemlilik düzeyinde değerlendirilmiştir.

Uçucu bileşenlerin istatistiksel değerlendirilmesinde Temel Bileşen Analizi (Principal Component Analysis, PCA) yapılmış ve sonuçlar Solo 8.1 (Eigenvector Research, Inc.) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler, preprocessing işleminden önce uçucu bileşiğe ait pik alanının internal standardın pik alanına oranı şeklinde düzenlenmiştir. Verilere, autocenter ve mean center preprocessing uygulanmıştır.

Ayrıca, sıcaklık, basınç ve etilnol parametrelerinin toplam serbest yağ asidi değerleri üzerine etkilerini belirlemek için Cevap Yüzey Metodu (Response Surface Method) kullanılmıştır. Bu amaçla Minitab 18 (Minitab 18 Statistical Software) programı kullanılmıştır. Verilerin analizinde Box- Behnken deney dizaynı kullanılmıştır. Oluşturulan deney dizaynında parametreler sıcaklık ( $^{\circ}\text{C}$ ), basınç (bar) ve yardımcı çözücü konsantrasyonu (% etanol konsantrasyonu) olarak belirlenmiştir. Box-Behnken deney dizaynına göre 4 adet orta nokta tekrarı olmak üzere toplam 16 deney program tarafından belirlenmiştir (Anderson ve Whitcomb, 2017). Belirlenen bu ekstraksiyon koşullarında elde edilen çıktı verisi programa girilerek cevap yüzey metodu uygulanmıştır.

## 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Peynir ve Peletlere Ait Analizler

#### 4.1.1. Kimyasal Bileşim Analiz Sonuçları

##### 4.1.1.1. Kuru Madde

Ezine peynirinin, EMP Ezine peynirinin ve farklı ekstraksiyon koşullarında süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu sonucunda kalan peletler için kuru madde analizi sonucu hesaplanan % kuru madde değerleri Çizelge 4.1’de verilmiştir. Çalışmada kullanılan Ezine peynirinin kuru maddesi % 50.91; EMP Ezine peynirinin kuru maddesi % 44.91 olarak hesaplanmıştır. Ekstraksiyon sonrası kalan peynir örneklerinin (pelet) kuru maddesinde değişimlerin meydana geldiği saptanmıştır. Peynir örneklerinde ekstraksiyon sonrası kuru maddenin yardımcı çözücü olmadan yapılan etanolsüz ekstraksiyonlarda bir miktar arttığı, % 4 ve % 8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlarda ise belirgin şekilde azaldığı gözlenmiştir. Örnekler arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.05$ ). Kuru madde miktarının peynirden ekstrakte edilen yağın yapıdan ayrılması nedeniyle azalması beklenen sonuçtur. Ayrıca, yardımcı çözücü kullanılarak yapılan ekstraksiyonlarda apolar karakterli bileşiklerin yanı sıra polar karakterdeki bileşenlerin de ekstraksiyonunun sağlanması ekstraksiyon verimini artırdığı için artan ekstrakt miktarına ters orantılı olarak kuru madde miktarı belirgin şekilde azalmıştır. Buna ek olarak, etanollü ekstraksiyonlarda pelette kalan etanol de örneğin nem miktarını artırdığı için kuru madde değerleri belirgin şekilde azalmıştır. Sánchez-Macías ve ark., (2013) tarafından yapılan çalışmada da yağ ekstraksiyonuna bağlı olarak kuru maddenin azaldığı rapor edilmiştir. Yardımcı çözücü olmadan (% 0 etanol konsantrasyonundaki) yapılan ekstraksiyonlarda ise kuru maddenin göreceli olarak artmış olması sıcaklık artışına bağlı olarak ekstraksiyon süresince örneğin nem kaybetmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer şekilde, Yee ve ark., (2008) tarafından yapılan çalışmada SC-CO<sub>2</sub> uygulanan peynir örneklerinde nem miktarının anlamlı şekilde azaldığı rapor edilmiştir ve bunun CO<sub>2</sub>’nin proses boyunca peyniri kurutmasından kaynaklandığı yorumu yapılmıştır. Bu çalışmadaki kuru madde sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu gözlenmiştir.



**Çizelge 4.1.** Klasik Ezine peyniri ve Ezine peynirinin ekstraksiyonlarından elde edilen peletlerin % kuru madde, % yağ (kuru maddede), % yağ değişimi ve pH sonuçları.

<b>Örnek Kodu</b>	<b>% Kuru madde</b>	<b>%Yağ (Kuru maddede)</b>	<b>% Yağ Değişimi</b>	<b>pH</b>
<b>Ezine Peyniri</b>	50.91	44.78	-	4.805
<b>AAA</b>	54.85	28.32	36.75	4.458
<b>BAA</b>	53.53	26.90	39.93	4.537
<b>CAA</b>	52.41	25.19	43.75	4.597
<b>ABA</b>	53.05	19.23	57.06	4.548
<b>BBA</b>	52.58	18.26	59.23	4.591
<b>CBA</b>	54.11	15.52	65.33	4.514
<b>ACA</b>	51.64	18.59	58.49	4.620
<b>BCA</b>	52.53	18.27	59.19	4.526
<b>CCA</b>	54.08	18.86	57.88	4.565
<b>AAB</b>	47.42	17.85	60.15	4.526
<b>BAB</b>	48.46	18.57	58.53	4.671
<b>CAB</b>	45.38	21.15	52.76	4.554
<b>ABB</b>	47.06	17.85	60.15	4.522
<b>BBB</b>	46.60	16.74	62.62	4.419
<b>CBB</b>	47.44	20.24	54.81	4.310
<b>ACB</b>	49.68	21.74	51.45	4.452
<b>BCB</b>	48.84	18.43	58.85	4.244
<b>CCB</b>	49.16	17.09	61.84	4.259
<b>AAC</b>	40.28	16.38	63.41	4.560
<b>BAC</b>	37.36	25.69	42.63	4.553
<b>CAC</b>	36.42	18.12	59.54	4.352
<b>ABC</b>	41.64	14.41	67.82	4.455
<b>BBC</b>	42.33	14.17	68.35	4.447
<b>CBC</b>	44.34	12.18	72.81	4.471
<b>ACC</b>	44.27	14.91	66.71	4.497
<b>BCC</b>	46.48	9.03	79.82	4.578
<b>CCC</b>	47.86	8.78	80.40	4.749

#### **4.1.1.2. Yağ**

Çalışmada kullanılan Ezine peynirinin kuru maddede yağ miktarı %44.78; EMP Ezine peynirinin kuru maddede yağ miktarı %29.53 olarak hesaplanmıştır. Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin peletlerine ait kuru maddede % yağ değeri ve yağ miktarındaki % değişim değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Yağ ekstraksiyonuna bağlı olarak Ezine peynirinden elde edilen peletlerde yağ miktarındaki değişim en düşük oranda %36.75 ile 35 °C, 100 bar, %0 etanol konsantrasyonundaki ekstraksiyondan elde edilen AAA

peletinde, en yüksek oranda ise %80.40 ile 55 °C, 300 bar, %8 etanol konsantrasyonundaki ekstraksiyonda elde edilen CCC peletinde gözlenmiştir.

**Çizelge 4.2.** EMP Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin ekstraksiyonlarından elde edilen peletlerin % kuru madde, % yağ (kuru maddede) %yağ değişimi ve pH sonuçları.

Örnek Kodu	% Kuru madde	%Yağ (Kuru maddede)	%Yağ Değişimi	pH
EMP Ezine Peyniri	44.91	29.53	-	4.903
XXX	45.82	26.58	10.00	4.452
YXX	46.15	22.09	25.20	4.576
ZXX	45.41	25.10	15.00	4.398
XYX	45.04	21.31	27.82	4.517
YYX	46.72	20.54	30.43	4.483
ZYX	47.40	21.52	27.14	4.493
XZX	46.99	20.69	29.94	4.483
YZX	46.17	19.49	34.00	4.467
ZZX	48.82	22.12	24.10	4.523
XXY	41.85	28.67	2.91	4.348
YXY	42.08	22.81	22.76	4.338
ZXY	41.82	22.95	22.28	4.256
XYY	41.58	28.86	2.28	4.477
YYY	42.40	28.30	4.16	4.346
ZYY	44.16	28.53	3.39	4.431
XZY	42.86	28.00	5.20	4.424
YZY	42.62	28.15	4.67	4.406
ZZY	44.95	25.36	14.12	4.320
XXZ	41.55	28.88	2.22	4.549
YXZ	42.03	25.69	13.00	4.467
ZXZ	41.83	28.68	2.87	4.435
XYZ	42.25	26.98	8.64	4.547
YYZ	42.85	26.60	9.91	4.500
ZYZ	44.21	25.79	12.69	4.714
XZZ	43.09	27.85	5.71	4.506
YZZ	44.29	25.74	12.84	4.526
ZZZ	44.01	21.81	26.14	4.499

EMP Ezine peynirinden elde edilen peletlerde ise yağ miktarındaki değişim en düşük oranda % 2.22 ile 35 °C, 100 bar, % 8 etanol konsantrasyonundaki ekstraksiyondan elde edilen XXZ peletinde, en yüksek oranda ise 34.00 ile 45 °C, 300 bar , % 0 etanol konsantrasyonundaki ekstraksiyondan elde edilen YZX peletinde gözlenmiştir. Örnekler

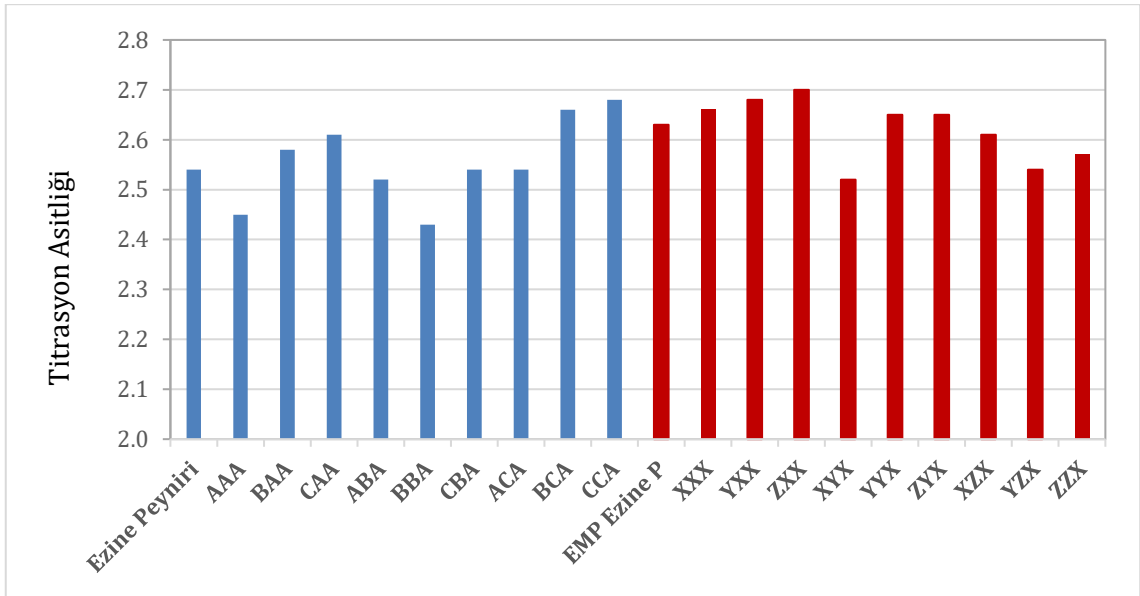
arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p<0.05$ ). Ekstraksiyonda basıncın artışına doğrusal olarak trigliseritlerin çözünürlüğü artmaktadır (Mukhopadhyay, 2000b). SC-CO<sub>2</sub>'nin yağ ekstraksiyonu ile yağı azaltılmış peynir üretiminde kullanılabilmesi ve peynir türüne bağlı olarak değişiklik göstermekle beraber yağ miktarında ortalama % 51 azaltılabileceği tespit edilmiştir (Sánchez-Macías ve ark., 2013; Yee ve ark., 2007). Yağ analizi için çalışmada elde edilen bulguların literatür ile uyumlu olduğu gözlenmektedir. EMP Ezine peynirindeki yağ miktarında meydana gelen değişimin oransal olarak Ezine peynirine kıyasla daha düşük olması, klasik Ezine peynirine kıyasla EMP Ezine peynirinin başlangıç yağ miktarının yaklaşık % 50 daha düşük olmasından ve buna bağlı olarak ekstraksiyon prosesinde elde edilen ekstrakt ve yağ miktarının daha az olmasından kaynaklanmaktadır. EMP Ezine peyniri üretim prosesinin en önemli basamaklarından biri lipolizdir ve buna bağlı olarak yüksek oranda serbest yağ asitlerini içermektedir ve bu nedenle trigliserit miktarı oldukça düşüktür. Ancak, bu durum EMP Ezine peynirinde elde edilen ekstraktın daha az aromatik olduğu anlamına gelmemektedir çünkü aroma bileşenleri büyük oranda uçucudur ve ekstraksiyon prosesinde karbondioksit tarafından tutulup ekstraksiyon sonunda basıncın ortandan kaldırılması ile gaz faza geçen karbondioksitten ayrılıp toplama haznesine bırakılırlar. Bu nedenle yağ ekstraksiyonu doğrudan aroma ekstraksiyonu olarak algılanmamalıdır. Ezine peynirinde daha fazla yağ ekstraksiyonu olmasına karşın EMP Ezine peynirinde daha fazla aroma ekstraksiyonu olduğu ileri analizler ile saptanmıştır.

#### **4.1.1.3. pH**

Ezine peynirinin, EMP Ezine peynirinin ve peletlerinin pH değerlerinin ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak gösterdiği değişimin ortaya konulması amaçlanmıştır. Örneklere ait pH değerleri Çizelge 4.4'de verilmiştir. Tüm peletlerde ekstraksiyon sonrası pH değerinin belirgin şekilde düşüş eğiliminde olduğu saptanmıştır. Bunun sebebi ekstraksiyon sırasında örnek haznesinden geçirilen karbondioksitin bir kısmının numunenin yapısında bulunan suda çözünerek karbonik asit formuna dönüşmesine ve numunenin asitliğinin artmasına bağlı olarak pH değerinin düştüğü gözlemlenmiştir (Combs ve ark., 1996). Örnekler arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p<0.05$ ). Ancak, örnekler arası pH farklılığının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi önemsiz bulunmuştur.

#### 4.1.1.4. Titrasyon Asitliği

Ezine peynirinin, EMP Ezine peynirinin ve peletlerinin % laktik asit cinsinden titrasyon asitliği değerlerinin değişen ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişim gösterip göstermediğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Bu amaçla yapılan analiz sonucu elde edilen titrasyon asitliği değerleri Şekil 4.1’de verilmiştir. Ezine peyniri ve peletleri için titrasyon asitliği değerleri % 2.43-2.68, EMP Ezine peyniri ve peletleri için % 2.52-2.68 arasında değişim göstermektedir. Ekstraksiyon prosesi boyunca olgunlaşma, laktoz fermantasyonu veya proteoliz gerçekleşmediği için titrasyon asitliği değerinde bileşimsel açıdan önemli farklılık gözlenmemiştir.



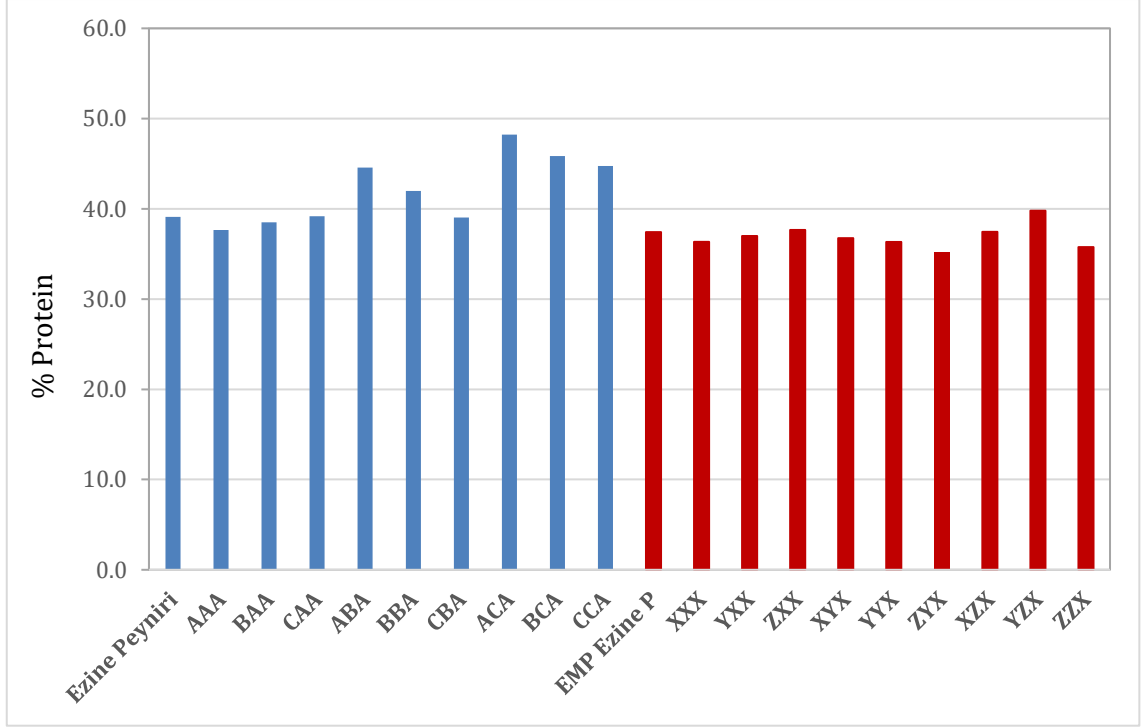
Şekil 4.1. Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin titrasyon asitliği değerleri (% laktik asit)

#### 4.1.1.5. Protein

Şekil 4.2’de görüldüğü üzere Ezine peynirinin peletleri için % protein değeri ekstraksiyon verimiyle doğru orantılı olarak artmaktadır. EMP Ezine peynirinin peletleri içinse Şekil 4.2’de verildiği üzere % protein değeri ekstraksiyon koşullarının değişmesine bağlı olarak bazen artış bazense azalma göstermektedir. SC-CO<sub>2</sub> prosesi sırasında protein içeriği açısından değişim gözlenmediği literatürde rapor edilmiştir (Yee ve ark., 2008). SC-CO<sub>2</sub> prosesi sırasında esas olarak yağ ekstraksiyonu meydana gelmektedir. İşlem sonrası

peynir yapısında bulunan yağ miktarındaki azalma ortalama % 50 ile %75 arasındadır. Bir başka deyişle SC-CO<sub>2</sub> prosesi, peleti protein açısından konsantre hale getirmektedir. Bu nedenle protein analizleri sırasında başlangıçtaki hammaddeye oranla peletlerde birim başına düşen protein miktarı artmaktadır. Meydana gelen bu konsantrasyon prosesi sebebiyle peletlerde %protein miktarında görece bir artış gözlenmektedir. Bu artışın ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişim gösterdiği de Şekil 4.2’de görülebilir. Örneğin AAA, BAA, CAA örneklerinde aynı basınçta artan sıcaklığa bağlı olarak % protein miktarı %37.66, %38.51, %39.17 olmak üzere doğrusal bir şekilde artmaktadır. Bu sonuç üzerinden aynı basınç değerinde sıcaklığın artmasına bağlı olarak yağ ekstraksiyon veriminin arttığı böylelikle pelette görece olarak protein miktarı arttığı yorumu yapılabilir. BAA, BBA ve BCA örnekleri incelendiğinde ise sabit sıcaklık değerinde (45 °C) artan basınca bağlı olarak % protein değerinin %38.51, %41.98 ve 45.86 olarak arttığı gözlemlenmektedir. Bu sonuç ışığında sabit sıcaklıkta artan basınca bağlı olarak yağ ekstraksiyon veriminin dolayısıyla pelette görece olarak protein miktarının arttığı söylenilebilir. Örnekler arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir (p<0.05). Sánchez-Macías ve ark., (2013), tarafından yapılan çalışma sonuçlarında da % protein değerlerinin ekstraksiyon basıncının artmasına bağlı olarak arttığı gözlenmektedir.

EMP Ezine peynirinde ise yağ analizi sonuçlarında da görüldüğü üzere ekstraksiyon prosesi trigliserit ekstraksiyonundan çok uçucu bileşen ekstraksiyonu üzerinde etkili olmaktadır. Bu nedenle EMP Ezine peynirinde % protein değerinde doğrusal bir artma gözlenmemektedir. XXX, XYX ve XZX örneklerinin % protein değerlerine bakıldığında artan basınca bağlı olarak yağ ekstraksiyonunun arttığı dolayısıyla protein oranının görece olarak arttığı söylenebilir ancak sıcaklığa bağlı olarak belirgin bir değişim gözlenmemiştir.

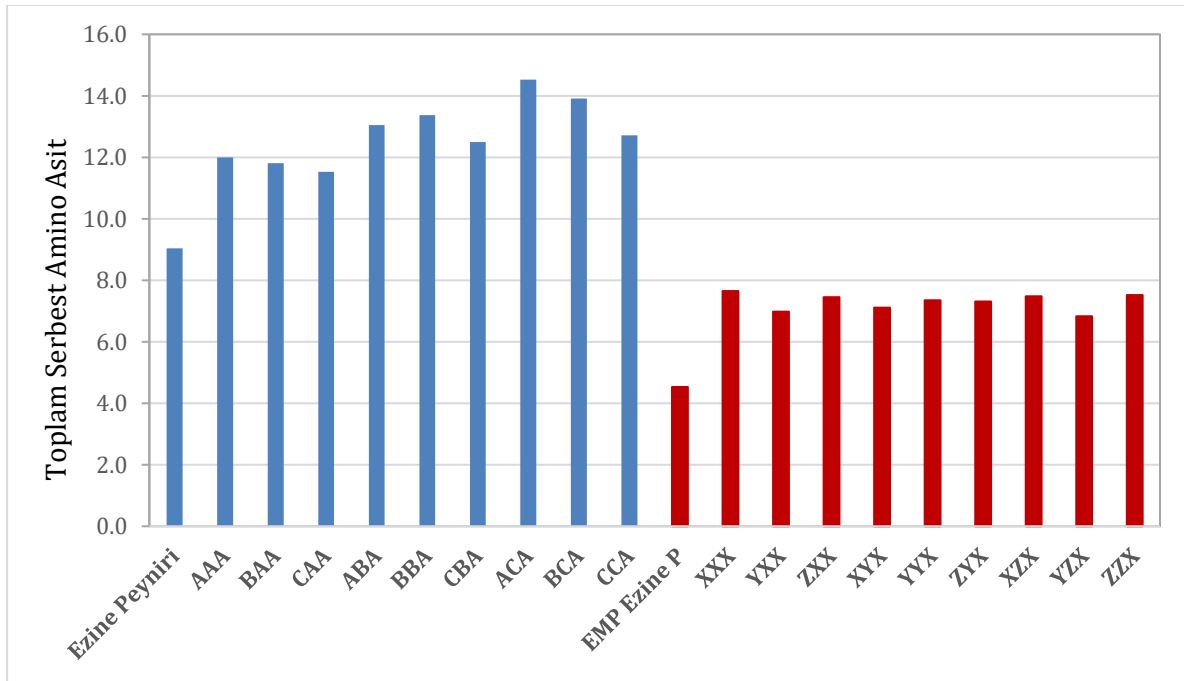


**Şekil 4.2.** Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin % protein değerleri.

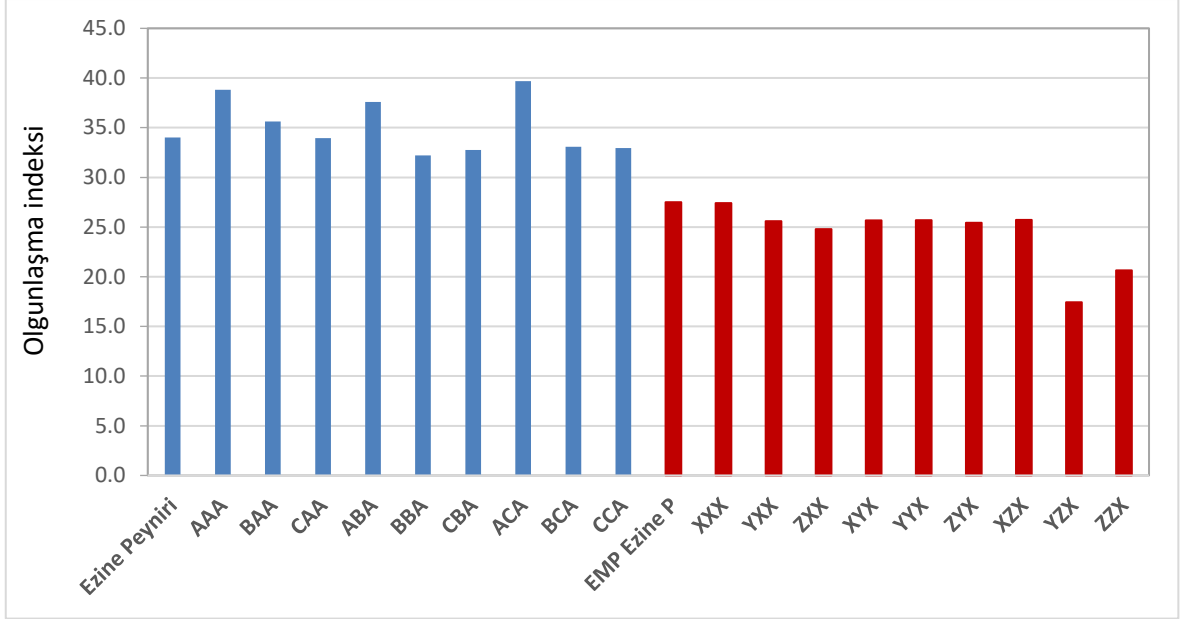
#### 4.1.2. Proteoliz Düzeyi

Peynir ve peletlerde proteoliz düzeyi pH 4.6'da çözümlenür azot tayini ve toplam serbest amino asit tayini yapılarak belirlenmiştir. Ayrıca, örnekler için pH 4.6'da çözümlenür azot bazında olgunlaşma indeksi hesaplanmıştır. Peynir örneklerinde ekstraksiyon öncesi ve sonrası proteoliz düzeyinin belirlenmesinde ekstraksiyon sırasında amino asitlerin ekstraksiyonu ile ilgili davranış ve ayrıca elde edilen ekstraktta, amino asitlerin aroma profiline etkisinin olup olmadığı ortaya konmak istenmiştir. Hem olgunlaşma indeksi hem de toplam serbest amino asit konsantrasyonu sonuçlarında her iki örnekte de peynirlerine kıyasla peletlerde belirgin bir artış saptanmıştır. Şekil 4.3'te görülebileceği üzere toplam serbest aminoasit konsantrasyonu Ezine peyniri için 9.04 mg lösin/g peynirken, peletlerinde 11.53-14.53 mg lösin/g ; EMP Ezine peyniri için 4.53 mg lösin/g peynirken peletlerinde 4.45-7.65 mg lösin/g peynir aralığında değişim göstermektedir. Gözlemlenen bu artış pelette yağın azalmasına bağlı olarak aminoasit konsantrasyonunun görece olarak artmasına bağlanmıştır ve bu sonuç % protein değerleri ile uyumludur. Ekstraksiyon koşulları açısından toplam serbest aminoasit miktarı bazında doğrusal bir değişim gözlenmemiştir. Örnekler arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p < 0.05$ ).

Şekil 4.4'te olgunlaşma indeksi sonuçları verilmiştir. Ezine peyniri için pH 4.6'da çözünür azot bazında olgunlaşma indeksi % 34; EMP Ezine peyniri içinse % 27.50 olarak saptanmıştır. ACA, BCA ve CCA örneklerinde sabit basınçta sıcaklık artışına bağlı olarak olgunlaşma indeksi % 39.68, % 33.07, % 32.94 olmak üzere doğrusal bir şekilde azalmaktadır. Bu azalmanın pH 4.6'da çözünür azot miktarının yağ ekstraksiyon veriminin artması nedeniyle göreceli olarak artış göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Örnekler arası farklılık istatistiksel açıdan önemlidir ( $p<0.05$ ). Bu sonuç yağ analizi sonuçlarını doğrular niteliktedir.



**Şekil 4.3.** Ezine peyniri, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin toplam serbest amino asit konsantrasyonu (mg lösin/g peynir).



**Şekil 4.4.** Ezine peynir, EMP Ezine peyniri ve peletlerinin olgunlaşma indeksi (pH 4.6’da çözünür azot bazında) (%).

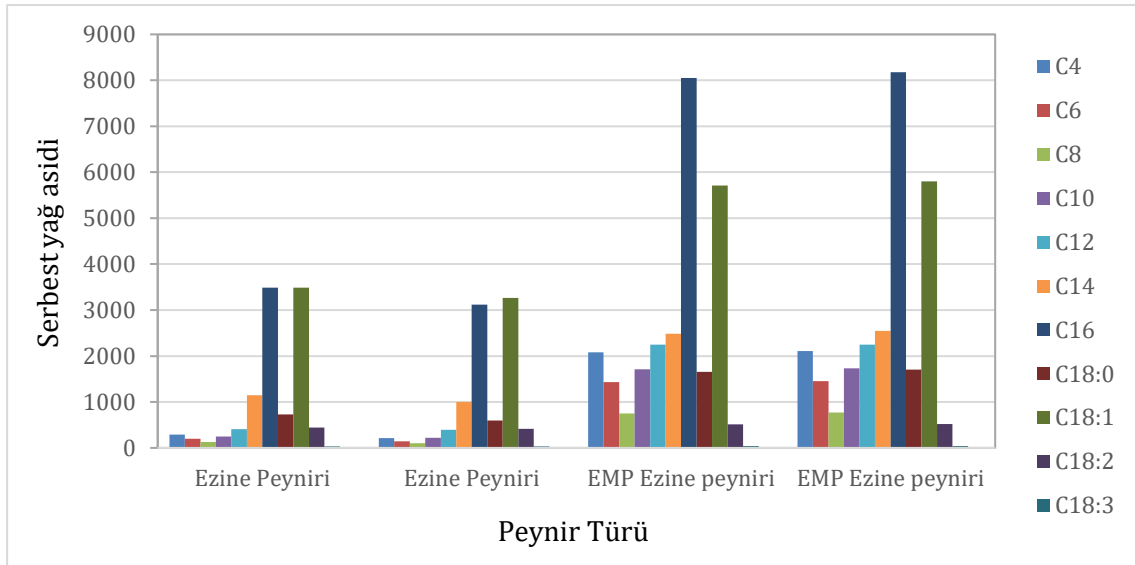
#### 4.1.3. Lipoliz Düzeyi

Peynirin olgunlaşma sürecinde yapıdaki trigliseritlerin enzimatik hidroliz yoluyla yağ asitleri ve griserol, mono- ve digliseritlere parçalanması, peynirin karakteristik tat-koku gelişimi için önemli basamaklardan birini oluşturmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000). Yağ asitleri peynir aromasına doğrudan katkıda bulunduğu gibi olgunlaşma süresince diğer aroma maddelerinin oluşumu için de öncül maddelerdir (Collins ve ark., 2003). Bu nedenle peynir aroması eldesinde yağ asidi ekstraksiyonu hem ekstrakte edilen yağ asidi kompozisyonu hem de miktarı açısından elde edilen aroma bileşimini doğrudan etkilediği için önemli bir başlık haline gelmektedir.

Tez kapsamında kullanılan Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirlerinde ve bunlardan elde edilen peletlerde serbest yağ asidi konsantrasyonunun değişimi Şekil 4.5’de verilmiştir. Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin içerdiği toplam serbest yağ asidi miktarı, toplam kısa zincirli yağ asidi ( $C_{4:0}$ - $C_{8:0}$ ) ve 12 adet serbest yağ asidinin her birinin konsantrasyonu ise Çizelge 4.3’te verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, EMP Ezine peynirinde toplam serbest yağ asidi konsantrasyonunun Ezine peynirine kıyasla yaklaşık 2.5 kat daha fazla olduğu gözlenmektedir. Bu sonuç EMP Ezine peynirinde amaçlanan



yoğun aromayı elde ederken olgunlaşma prosesinin lipoliz basamağının enzimatik aktivite ile hızlandırılması ve yoğunluğunun artırılmasından kaynaklanmaktadır. Toplam kısa zincirli yağ asitleri (C<sub>4:0</sub>-C<sub>8:0</sub>) açısından değerlendirildiğinde bütirik asit (C<sub>4:0</sub>) ve kaproik asit (C<sub>6:0</sub>) konsantrasyonunun her iki örnekte de kendi içinde yüksek olmakla birlikte EMP Ezine peynirinde yukarıda belirtilen yüksek lipolize sebebiyle Ezine peynirine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Hem Ezine peyniri hem de EMP Ezine peyniri için serbest yağ asidi kompozisyonu içerisinde palmitik asit (C<sub>16:0</sub>) ve oleik asit (C<sub>18:1</sub>) konsantrasyonunun diğer yağ asitlerine kıyasla belirgin şekilde fazla olduğu tespit edilmiştir. Şekil 4.5'deki grafikte koyu mavi ve koyu yeşil sütunlar ile temsil edilen C<sub>16:0</sub> ve C<sub>18:1</sub> yağ asitlerinin Ezine peyniri aromasında önemli rol oynadığı gözlenmektedir. Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri için elde edilen bu sonuçların literatür verileri ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Hayaloglu ve Karabulut, 2013; Salum ve ark., 2019).



**Şekil 4.5.** Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

**Çizelge 4.3.** Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

	<b>Ezine Peyniri</b>	<b>EMP Ezine Peyniri</b>
<b>C<sub>4:0</sub></b>	252.2	2,094.3
<b>C<sub>6:0</sub></b>	169.0	1,443.4
<b>C<sub>8:0</sub></b>	114.1	760.4
<b>C<sub>10:0</sub></b>	235.9	1,719.0
<b>C<sub>12:0</sub></b>	397.9	2,246.8
<b>C<sub>14:0</sub></b>	1,070.2	2,515.3
<b>C<sub>16:0</sub></b>	3,303.0	8,115.0
<b>C<sub>18:0</sub></b>	659.5	1,679.1
<b>C<sub>18:1</sub></b>	3,375.4	5,757.9
<b>C<sub>18:2</sub></b>	427.4	518.3
<b>C<sub>18:3</sub></b>	30.6	40.7
<b>C<sub>20:0</sub></b>	9.1	19.7
<b>∑ (C<sub>4:0</sub>-C<sub>8:0</sub>)</b>	535.3	4,298.2
<b>Toplam</b>	10,044.3	26,909.8

Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin serbest yağ asidi içeriğinin belirlenmesi literatüre sağlayacağı katkı açısından önemli bir adımdır ancak tez kapsamında kullanılan hammaddelerde ve ekstraksiyon sonrası kalan pelet örneklerinde serbest yağ asidi analizi yapılması asıl amacı örneklerde ekstraksiyon sonrası kalan serbest yağ asidi miktarını tayin edebilmek ve böylece değişen ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak ekstrakte edilen serbest yağ asidi miktarı hakkında fikir edinmek ve ekstraktlardaki yağ asidi analizi sonuçlarını destekleyebilmektir.

Ezine peynirine dolayısıyla başlangıç konsantrasyonuna kıyasla, etanolsüz ekstraksiyonlardan elde edilen peletlerdeki serbest yağ asidi konsantrasyonundaki değişim Şekil 4.6’da verilmiştir. Çizelge 4.4’te ise Ezine peynirine kıyasla AAA, ABA, ACA, BAA, BBA, BCA, CAA, CBA, CCA peletlerindeki serbest yağ asidi kompozisyonu ve her birine ait konsantrasyon verileri bulunmaktadır. Bu kıyaslama tablosu ve grafiği için örnekler Ezine peynirine karşı aynı sıcaklık değerinde artan basınçlar olmak üzere 3’erli gruplar halinde verilmiştir.

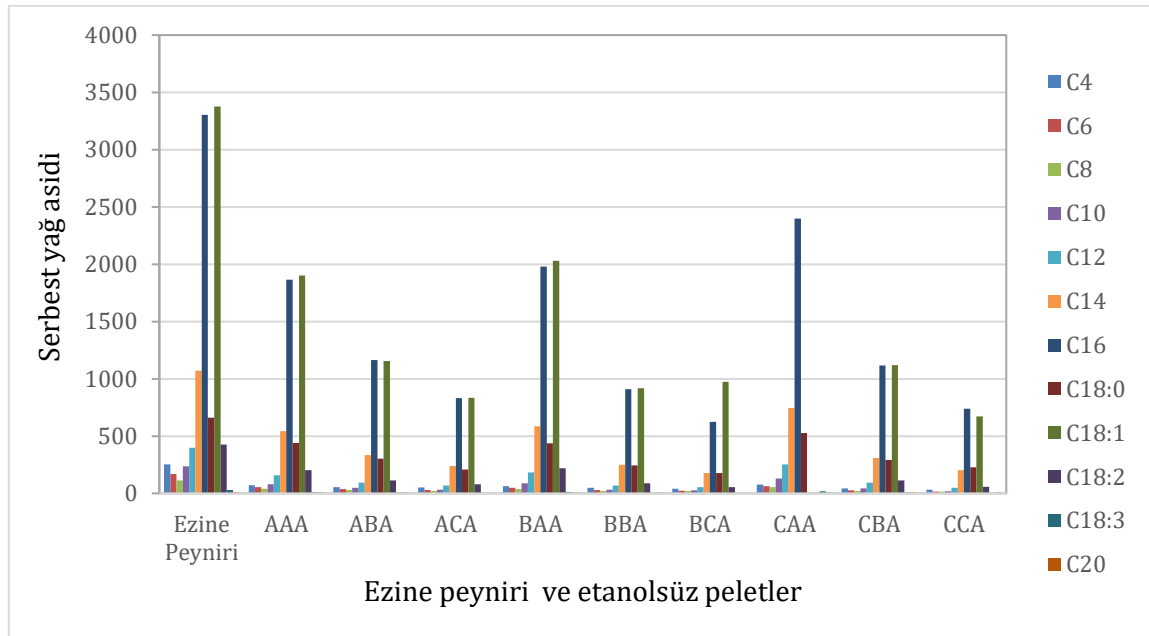
AAA, ABA, ACA örnekleri 35 °C’de 100, 200, 300 bar ekstraksiyonlarının peletleri, BAA, BBA, BCA örnekleri 45 °C’de 100, 200, 300 bar ekstraksiyonlarının peletleri, CAA,

CBA, CCA örnekleri ise 55 °C'de 100, 200, 300 bar ekstraksiyonlarının peletleridir. Kıyaslama düzeninin tüm örneklerde bu şekilde verilmesinin amacı ekstraksiyon verimi üzerinde basınç artışının sıcaklığa göre daha etkili olması bu sıralama ile azalan serbest yağ asidi miktarının daha net gözlemlenebilmesidir.

Şekil 4.6'da görülebileceği üzere tüm peletlerdeki serbest yağ asidi konsantrasyonu Ezine peynirinin başlangıç serbest yağ asidi konsantrasyonuna kıyasla belirgin şekilde azalmıştır. Ekstraksiyon koşullarının değişimine bağlı olarak peletlerde kalan serbest yağ asidi konsantrasyonu ise 35 °C, 45°C ve 55 °C'de gerçekleştirilen tüm ekstraksiyonlarda basıncın artmasına bağlı olarak doğrusal biçimde azalma göstermektedir. Ayrıca serbest yağ asidi bazında ekstraksiyon koşullarının serbest yağ asidi ekstraksiyon verimi üzerine etkisini de Şekil 4.6'da görmek mümkündür. Örneğin yüksek sıcaklık düşük basınç ekstraksiyonu olan CAA peletinde palmitik asit (C<sub>16:0</sub>) konsantrasyonunun diğer peletlere kıyasla belirgin şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çizelge 4.4'e göre etanolsüz ekstraksiyonlarda serbest yağ asidi konsantrasyonundaki azalmanın en fazla olduğu örnek yüksek sıcaklık ve basınç koşullarında yapılan ekstraksiyondan kalan CCA peletidir. Toplam yağ asidi miktarına paralel olarak kısa zincirli yağ asitleri bazında sonuçlara bakıldığında Çizelge 4.4'te sıcaklık ve basınç artışına bağlı olarak pelette kalan kısa zincirli yağ asidi miktarının doğrusal olarak azaldığı gözlenmektedir. Bu sonuç SC-CO<sub>2</sub> yöntemi ile peynirden kısa zincirli yağ asitlerini etkili bir şekilde ekstrakte edilebileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, Tuomala ve Kallio, (1996) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da kısa zincirli yağ asitlerinin etkili biçimde ekstrakte edildiği belirtilmiştir ve bütirik asit için ekstraksiyon verimi % 95, propiyonik asit için %87 asetik asit için %87 olarak rapor edilmiştir. Çizelge 4.6'da verilen değerlere göre hesaplanan bütirik asit (C<sub>4:0</sub>), kaproik asit (C<sub>6:0</sub>) ve kaprilik asit (C<sub>8:0</sub>) ekstraksiyon veriminin %64.50 (CAA örneği için) ile %88.12 (CCA örneği için) arasında değişmesi hem sonuçların literatür verileri ile uyumlu olduğunu hem de elde edilen ekstraktın Ezine peynirinin karakteristik yağ asidi profilini sergilediğini göstermektedir. Ezine peyniri aroması için önemli yağ asitlerinden biri olan kaprik asit (C<sub>10:0</sub>) için ise ekstraksiyon veriminin %93.64 olduğu tespit edilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Ezine peyniri ve etanolsüz ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

		% 0 Etanol Ekstraksiyonu								
		35 °C			45 °C			55 °C		
		100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar
(mg/ kg peynir)	Ezine Peyniri	AAA	ABA	ACA	BAA	BBA	BCA	CAA	CBA	CCA
C <sub>4:0</sub>	252.2	71.8	54.8	50.6	63.3	48.5	41.6	75.5	42.8	32.7
C <sub>6:0</sub>	169.0	53.8	39.1	28.7	48.6	28.5	24.3	61.6	25.9	16.6
C <sub>8:0</sub>	114.1	40.4	29.9	19.9	38.1	20.7	20.0	53.5	21.3	14.2
C <sub>10:0</sub>	235.9	80.5	47.7	32.5	87.2	32.4	26.8	131.0	43.3	18.0
C <sub>12:0</sub>	397.9	157.3	93.2	68.6	183.3	67.9	53.9	253.9	94.1	48.0
C <sub>14:0</sub>	1,070.2	543.6	332.5	240.0	584.9	250.3	176.7	745.8	309.0	203.1
C <sub>16:0</sub>	3,303.0	1,865.2	1,164.7	830.2	1,980.1	909.8	624.2	2,398.8	1,117.3	739.4
C <sub>18:0</sub>	659.5	439.2	304.1	207.1	437.3	243.8	177.9	527.5	291.7	227.5
C <sub>18:1</sub>	3,375.4	1,902.0	1,154.3	835.0	2,028.5	917.8	975.0	2.3	1,119.6	671.3
C <sub>18:2</sub>	427.4	202.9	114.4	78.5	219.3	86.8	53.3	4.8	112.4	56.4
C <sub>18:3</sub>	30.6	10.5	6.8	4.3	11.6	4.9	2.5	19.0	6.8	2.4
C <sub>20:0</sub>	9.1	7.9	6.7	5.5	8.2	5.9	5.1	7.6	6.3	6.0
∑ C <sub>(4-8)</sub>	535.3	165.9	123.8	99.2	149.9	97.6	85.9	190.6	90.0	63.6
C <sub>10</sub>	235.9	80.5	47.7	32.5	87.2	32.4	26.8	131.0	43.3	18.0
<b>Toplam</b>	<b>10,044.3</b>	<b>5,375.0</b>	<b>3,348.2</b>	<b>2,400.7</b>	<b>5,690.4</b>	<b>2,617.2</b>	<b>2,181.2</b>	<b>4,281.2</b>	<b>3,190.5</b>	<b>2,035.6</b>



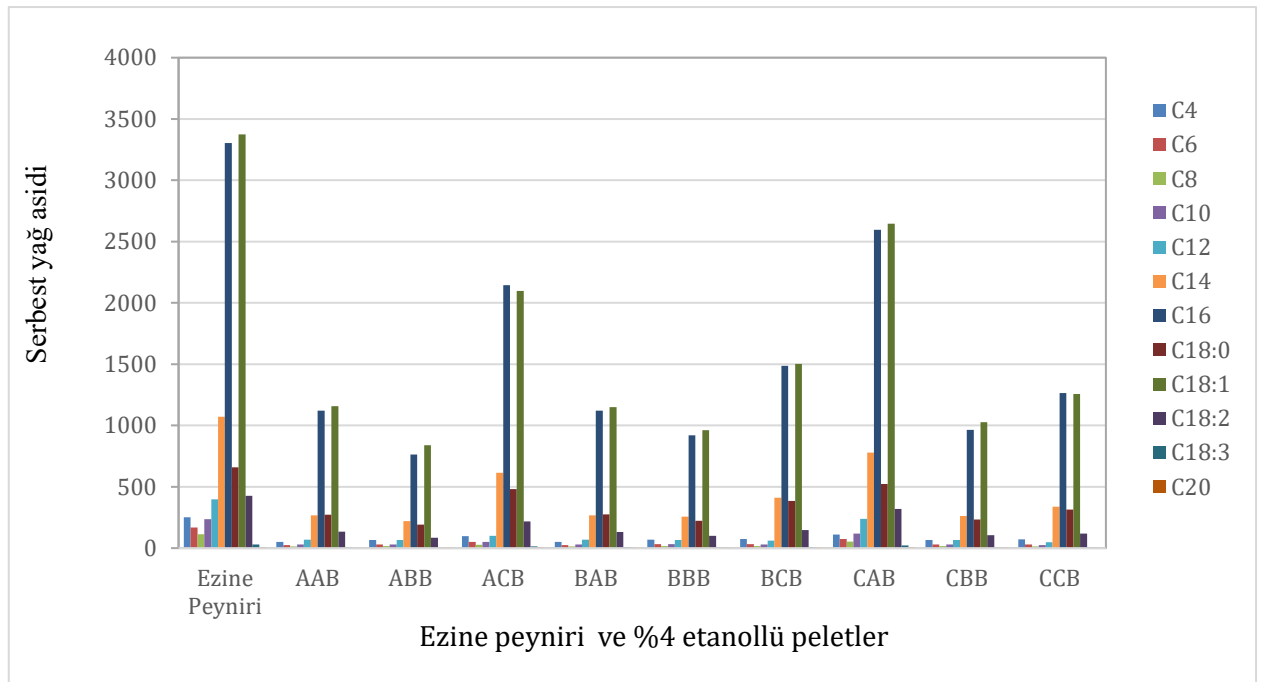
**Şekil 4.6.** Ezine peyniri ve etanolsüz ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

%4 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan kalan peletlerin serbest yağ asidi sonuçları Çizelge 4.5'te verilmiştir. Ezine peynirine kıyasla tüm peletlerde toplam serbest yağ asidi miktarının azaldığı gözlenmektedir. Şekil 4.7'de serbest yağ asidi bazında değişime dair davranışın örnekler arasında ekstraksiyon koşullarının değişimine bağlı olarak farklılık gösterdiği gözlemlenmektedir. Etanollü ekstraksiyonlarda ekstraksiyon sonrası pelette bir miktar etanol kaldığı gözlemlenmiştir. Ancak değişen ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak kalan etanol miktarını standardize edilemediği için serbest yağ asidi örneklerinde etanol miktarının değişmesine bağlı olarak bir takım farklılıklar gözlenmiş olabileceği düşünülmüştür. Bu nedenle etanollü peletlerde sıcaklık ve basınca bağlı olarak doğrusal bir azalma gözlenmemiştir. Bu bağlamda ekstraktlarda yapılan serbest yağ asidi analizi bilgi verici olacaktır.

**Çizelge 4.5.** Ezine peyniri ve %4 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan peletlet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

		% 4 Etanol Ekstraksiyonu								
		35 °C			45 °C			55 °C		
		100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar
(mg/ kg peynir)	Ezine Peyniri	AAB	ABB	ACB	BAB	BBB	BCB	CAB	CBB	CCB
C4:0	252.2	50.0	65.8	97.6	51.7	70.1	74.3	110.6	67.3	71.6
C6:0	169.0	24.4	30.0	50.5	25.2	32.5	33.4	73.4	29.5	30.5
C8:0	114.1	14.6	16.4	27.9	14.8	17.8	17.5	52.5	15.8	14.8
C10:0	235.9	28.9	30.6	51.8	29.4	32.9	29.4	118.8	29.3	23.4
C12:0	397.9	67.7	66.0	100.0	69.1	67.6	59.9	237.7	67.3	48.6
C14:0	1,070.2	266.6	220.1	615.6	267.0	257.2	410.0	778.4	261.6	337.4
C16:0	3,303.0	1,121.9	764.1	2,143.3	1,120.0	920.6	1,485.8	2,597.3	965.2	1,264.4
C18:0	659.5	273.1	190.7	481.8	274.8	222.3	385.2	523.0	234.5	313.4
C18:1	3,375.4	1,158.5	839.5	2,098.7	1,150.2	961.8	1,502.8	2,646.0	1,027.0	1,256.8
C18:2	427.4	133.8	85.7	217.6	132.8	101.5	147.1	318.4	105.4	118.8
C18:3	30.6	5.5	4.9	14.6	8.5	6.3	8.9	23.3	6.4	7.1
C20:0	9.1	0.0	5.2	7.9	5.9	5.3	7.4	8.0	5.5	5.8
∑ C(4-8)	535.3	89.0	112.2	175.9	91.8	120.5	125.2	236.4	112.6	116.9
<b>Toplam</b>	10,044.3	3,145.0	2,318.9	5,907.3	3,149.6	2,696.0	4,161.8	7,487.3	2,814.8	3,492.6

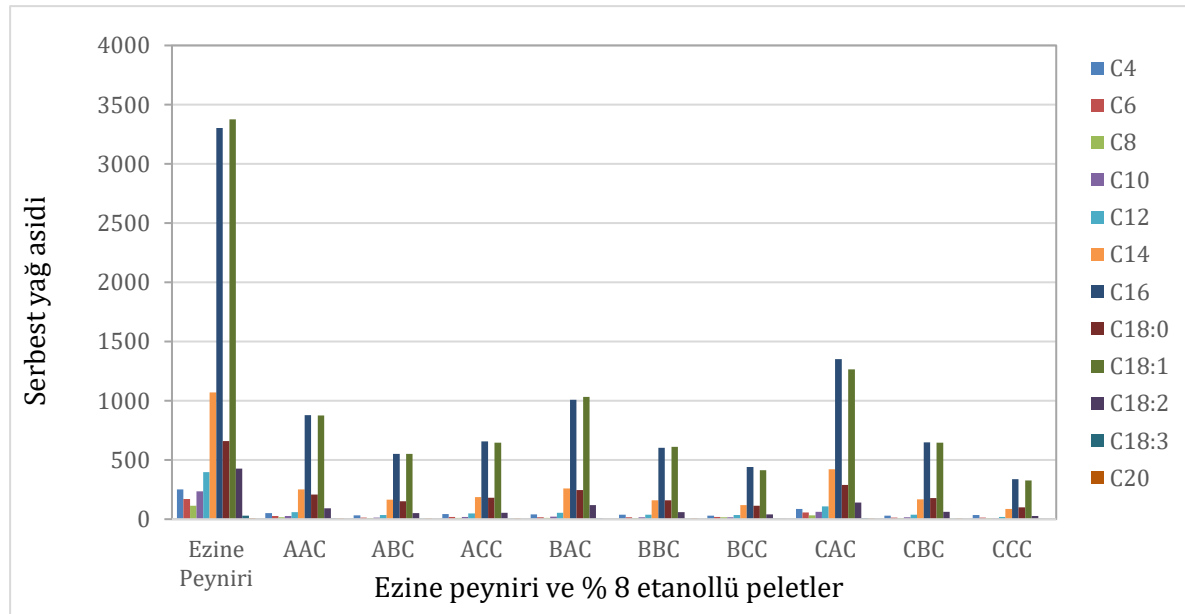
%8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan kalan peletlerin serbest yağ asidi sonuçları Çizelge 4.6’da verilmiştir. Ezine peynirine kıyasla tüm peletlerde toplam serbest yağ asidi miktarının belirgin şekilde azaldığı gözlenmektedir. Şekil 4.8’de de görülebileceği üzere tüm peletlerdeki serbest yağ asidi konsantrasyonu Ezine peynirinin başlangıç serbest yağ asidi konsantrasyonuna kıyasla belirgin şekilde azalmıştır. Peletler arasında incelendiğinde en fazla serbest yağ asidi ekstraksiyonunun gerçekleştiği pelet bir başka deyişle en az serbest yağ asidi içeriğine sahip olan pelet 55 °C, 300 bar, % 8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyondan kalan pelet örneği olan CCC örneğidir. Çizelge 4.6’da verildiği üzere CCC örneği için Ezine peynirinde 10044.3 mg/kg peynir olan serbest yağ asidi konsantrasyonu 964.8 mg/kg peynir’e kadar düşmüştür. Tüm peletlerde aynı sıcaklık düzeylerinde basınç artışına bağlı olarak peletlerde kalan toplam yağ asidi konsantrasyonu değerlendirildiğinde BAC, BBC, BCC peletlerinde ve CAC, CBC ve CCC peletlerinde sıcaklık ve basınç değişimine bağlı olarak serbest yağ asidi ekstraksiyonunun doğrusal olarak arttığı söylenebilir.



**Şekil 4.7.** Ezine peyniri ve % 4 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

**Çizelge 4.6.** Ezine peyniri ve % 8 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerine ait serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

		% 8 Etanol Ekstraksiyonu								
		35 °C			45 °C			55 °C		
		100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar	100 bar	200 bar	300 bar
(mg/ kg peynir)	Ezine Peyniri	AAC	ABC	ACC	BAC	BBC	BCC	CAC	CBC	CCC
C <sub>4:0</sub>	252.2	51.6	33.1	44.2	41.3	36.6	29.3	87.0	30.6	35.2
C <sub>6:0</sub>	169.0	26.8	14.0	18.5	17.4	16.3	19.9	57.5	13.2	14.3
C <sub>8:0</sub>	114.1	15.1	7.7	9.8	10.2	9.0	15.1	32.9	8.4	8.7
C <sub>10:0</sub>	235.9	28.4	14.0	18.7	20.9	15.0	16.1	61.0	15.1	6.7
C <sub>12:0</sub>	397.9	59.5	34.1	48.3	54.3	36.6	34.8	108.7	38.6	20.3
C <sub>14:0</sub>	1,070.2	251.2	164.9	185.8	260.0	158.8	120.3	422.0	166.5	86.2
C <sub>16:0</sub>	3,303.0	879.7	551.6	657.1	1,007.0	602.0	440.7	1,350.2	648.6	336.9
C <sub>18:0</sub>	659.5	209.1	150.2	180.7	245.4	159.7	114.4	290.4	179.4	100.1
C <sub>18:1</sub>	3,375.4	876.0	550.8	645.7	1,033.6	609.9	414.6	1,263.7	645.5	327.5
C <sub>18:2</sub>	427.4	91.9	52.4	55.0	117.9	59.3	40.9	139.8	62.3	28.4
C <sub>18:3</sub>	30.6	4.9	2.3	2.4	4.3	2.9	1.7	9.0	3.5	0.5
C <sub>20:0</sub>	9.1	5.0	4.4	4.9	0.0	4.2	3.8	5.8	4.9	0.0
∑ (C <sub>4:0</sub> -C <sub>8:0</sub> )	535.3	93.4	54.9	72.5	68.8	61.9	64.3	177.5	52.2	58.2
C <sub>10</sub>	235.9	28.4	14.0	18.7	20.9	15.0	16.1	61.0	15.1	6.7
<b>Toplam</b>	10,044.3	2,499.2	1,579.6	1,871.0	2,812.3	1,710.1	1,251.6	3,828.0	1,816.5	964.8



**Şekil 4.8.** Ezine peyniri ve %8 etanol düzeyinde yapılan ekstraksiyonlardan kalan pelet örneklerinde serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu (mg/kg peynir).

## 4.2. Ekstraktlara Uygulanan Analizlerin Sonuçları

### 4.2.1. Serbest Yağ Asidi Analizi

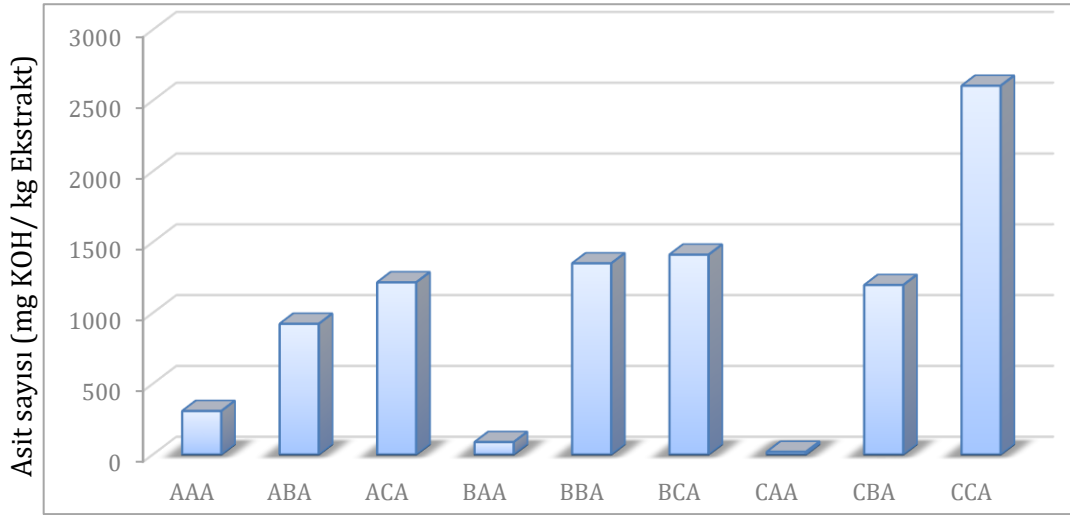
Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda titrimetrik yöntem ile gerçekleştirilen toplam serbest yağ asidi sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

**Çizelge 4.7.** Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların asit sayısı değerleri (mg KOH/kg ekstrakt).

Etanol konsantrasyonu (%)	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Örnek Kodu	Asit Sayısı (mg KOH/kg ekstrakt)
% 0 Etanol konsantrasyonu	35 °C	100	AAA	306.7
		200	ABA	922.5
		300	ACA	1215.2
	45 °C	100	BAA	87.5
		200	BBA	1349.4
		300	BCA	1410.6
	55°C	100	CAA	18.1
		200	CBA	1196.2
		300	CCA	2603.4
% 4 Etanol konsantrasyonu	35°C	100	AAB	1473.4
		200	ABB	1574.5
		300	ACB	1862.2
	45°C	100	BAB	1074.6
		200	BBB	1716.6
		300	BCB	2216.4
	55°C	100	CAB	492.7
		200	CBB	1531.2
		300	CCB	2048.5
% 8 Etanol konsantrasyonu	35°C	100	AAC	1315.4
		200	ABC	1591.5
		300	ACC	1504.0
	45°C	100	BAC	1676.1
		200	BBC	2049.5
		300	BCC	1897.1
	55°C	100	CAC	1072.9
		200	CBC	2350.0
		300	CCC	1501.5
% 4 Etanol konsantrasyonu	45°C	200	BBB	1692.4
		200	BBB	1606.8
		200	BBB	1697.9



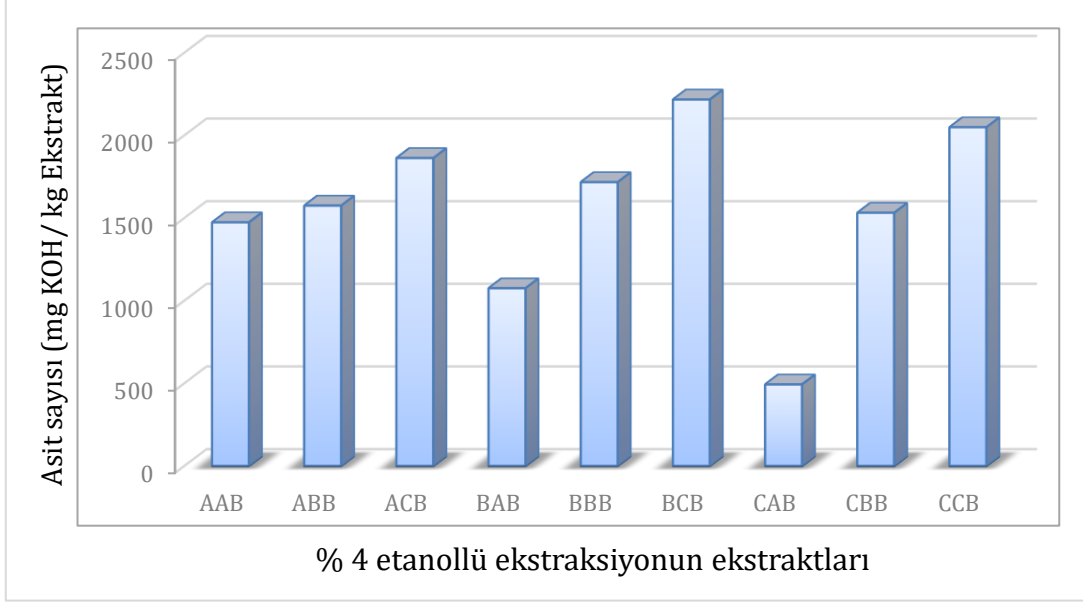
%0 etanol konsantrasyonunda elde edilen ekstraktlar kendi aralarında incelendiğinde aynı sıcaklıkta basınç arttıkça asit sayısı doğrusal artış göstermektedir. Aynı sıcaklık değerinde basınç artışıyla doğru orantılı olarak serbest yağ asidi ekstraksiyonunun arttığı gözlemlenmektedir. Bununla birlikte sabit basınçta artan sıcaklık değerlerine bakıldığında aynı doğrusallık saptanmamıştır. Örneğin ACA, BCA, CCA örneklerinde 300 bar basınçta artan sıcaklığa bağlı olarak 1215.2, 1410.6 ve 2603.4 mg KOH/kg ekstrakt olarak asit sayısı doğrusal artış gösterirken; AAA, BAA ve CAA örneklerinde 100 bar basınçta asit sayısı 306.7, 87.5 ve 18.1 mg KOH/kg ekstrakt olarak saptanmıştır. Şekil 4.9’da görülebileceği üzere en yüksek asit sayısı CCA örneğinde saptanmıştır. Bu sonuçlara dayanarak serbest yağ asidi açısından ekstraksiyon verimi üzerinde basıncın etkisinin önemli olduğu yorumu yapılmıştır.



Etanolsüz ekstraktlar

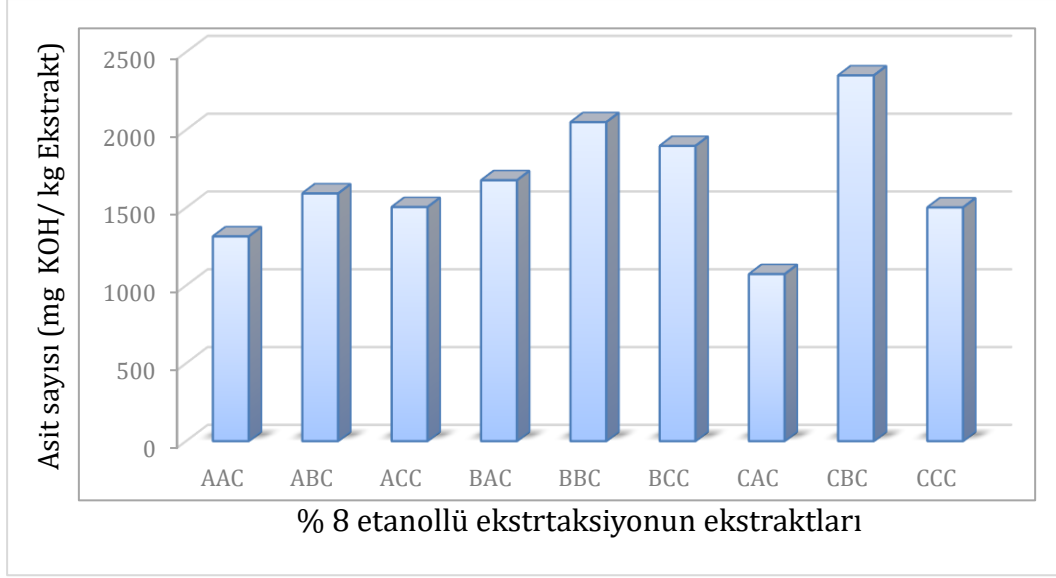
**Şekil 4.9.** Ezine peynirinden etanolsüz ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği.

Ezine peynirinde %4 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlarda, tüm ekstraktlarda aynı sıcaklık değerinde basınç arttıkça asit sayısının artış gösterdiği Çizelge 4.7’de ve Şekil 4.10’da görülmektedir. %0 etanol konsantrasyonuna benzer şekilde sıcaklık değişimine bağlı olarak ekstraksiyon verimindeki değişim ekstraktlar arasında doğrusal bir davranış göstermemektedir.



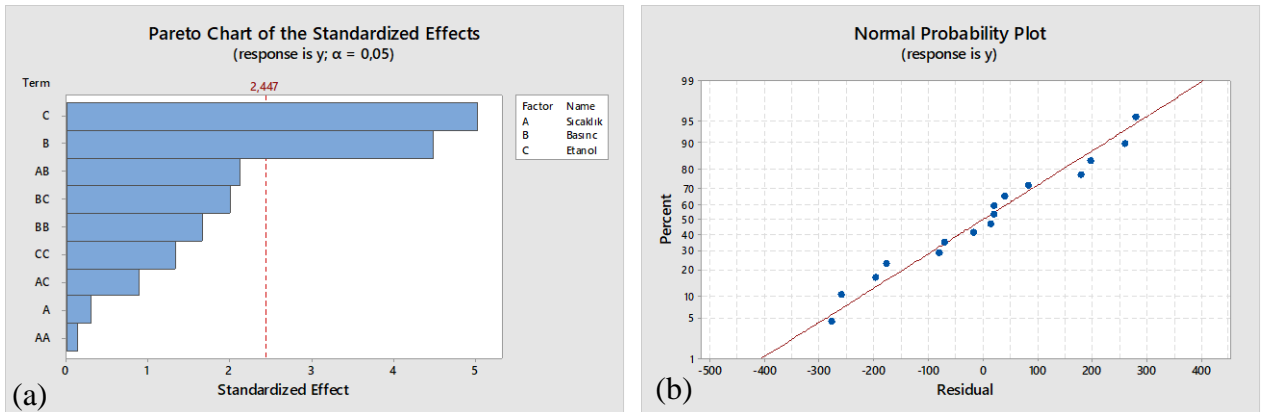
**Şekil 4.10.** Ezine peynirinden %4 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği.

Ezine peynirinde %8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlarda elde edilen ekstraktlarda ise en yüksek asit sayısı değerleri BBC ve CBC örneklerinde gözlenmiştir. %8 etanol konsantrasyonunda diğerlerinden farklı olarak, asit sayısı 2049.5 ve 2350.0 mg KOH/kg ekstrakt olmak üzere BBC ve CBC örneklerinde aynı basınçta sıcaklık artışına bağlı olarak asit sayısında artış gözlenmiştir. %8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktlar için asit sayısındaki değişim grafiği Şekil 4.11’de verilmiştir. % 8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyon veriminin % 0 ve % 4 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlara göre daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Elde edilen bu sonuç peletlere uygulanan serbest yağ asidi analizi sonuçları ile karşılaştırıldığında % 8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyondan kalan peletlerde kalan serbest yağ asidi miktarının diğer etanol konsantrasyonundakilere göre daha düşük olduğu gözlenmektedir. Bu açıdan da sonuçlar tutarlı bulunmuştur.



**Şekil 4.11.** Ezine peynirinden %8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişim grafiği.

Ezine peynirinden SC-CO<sub>2</sub> yöntemiyle aroma ekstraksiyonunda ekstraksiyon koşullarının aroma yoğunluğuna etkisini daha net görebilmek amacıyla Cevap Yüzey Metodu uygulanmıştır. Oluşturulan deney dizaynında parametreler sıcaklık (°C), basınç (bar) ve yardımcı çözücü konsantrasyonu (% etanol) olarak belirlenmiştir. Minitab 18. tarafından Box-Behnken deney dizaynına göre belirlenen 16 deneye ait sonuç (3 parametre için; -1 en düşük düzey, 0 orta düzey, +1 en yüksek düzey olmak üzere 3 düzey olmak üzere) ekstraktlarda serbest yağ asidi analizinden elde edilen asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt) verileri çıktı (y) değeri olarak girilmiştir.



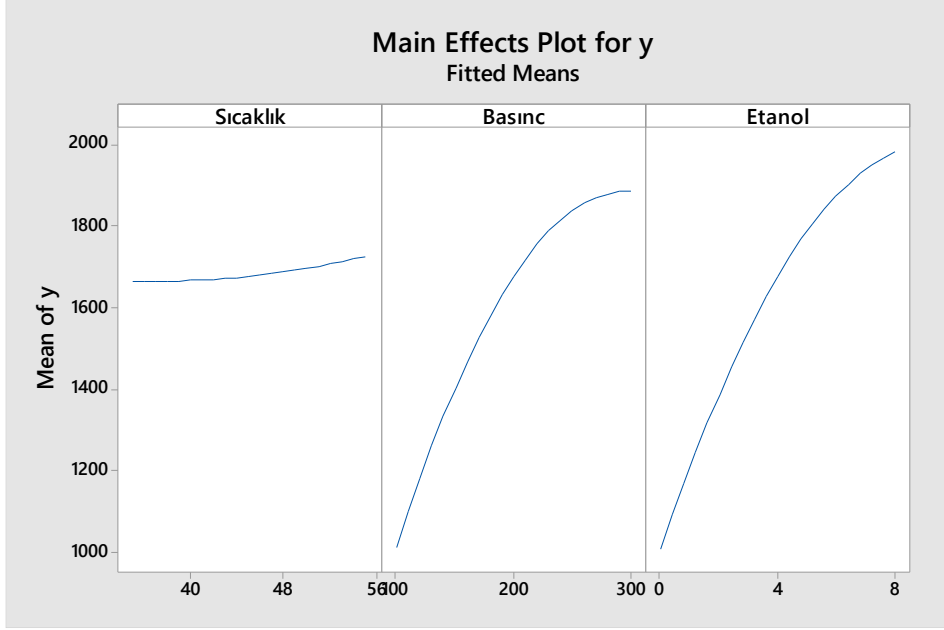
**Şekil 4.12.** Ezine peynirinde asit sayısı için Pareto çizelgesi ve verilerin normallik testi.

Ayrıca oluşturulan modelin hata payının tahmini için deney dizaynında merkez nokta olarak adlandırılan (0;0;0) BBB örneği için 45 °C, 200 bar ve %4 etanol konsantrasyonunda 4 farklı ekstraksiyon yapılmıştır ve merkez noktada 4 tekrarlı çalışılmıştır. Merkez noktaya ait asit sayısı değerleri Çizelge 4.9'da verilmiştir.

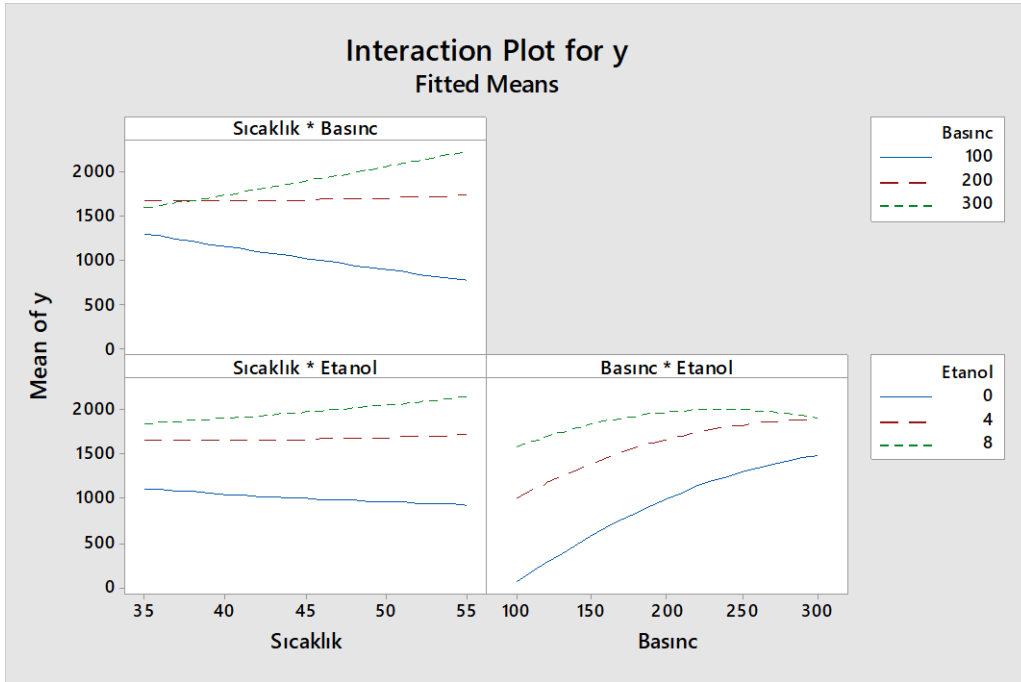
Şekil 4.12 (b)'de asit sayısı değerlerinin dağılımının normal olduğu görülmektedir. Ayrıca değişkenlerin model üzerine etkisinin önemini  $p < 0.05$  düzeyinde gösteren Pareto tablosu Şekil 4.12 (a)'da verilmiştir. Asit sayısı değerlerine göre elde edilen Pareto tablosunda sıcaklık değişkeni A, basınç değişkeni B ve etanol konsantrasyonu C ile simgelenmektedir. Pareto tablosunda B ve C değerlerinin standart etkinin üzerinde olduğu görülmektedir. Bu durum oluşturulacak model üzerinde basınç ve etanol konsantrasyonu değişkenlerinin etkisinin  $p < 0.05$  düzeyinde önemli olduğunu göstermektedir. Şekil 4.13'te verilen çıktı değeri üzerine ekstraksiyon koşullarının ana etkileri grafiğinde de basınç ve % etanol konsantrasyonunun artışına bağlı olarak asit sayısının arttığını, sıcaklığa bağlı olarak ise asit sayısındaki değişimin sınırlı olduğu gözlenmektedir.

Şekil 4.14'te ise sıcaklık, basınç ve % etanol konsantrasyonu parametrelerinin arasındaki etkileşimin asit sayısı üzerine etkisi gösterilmektedir. Grafikte x eksenini üzerinden sıcaklık kolonunda bakıldığında sıcaklık\*basınç etkileşiminin % 8 etanol konsantrasyonunda yağ asidi ekstraksiyonu üzerinde artış eğiliminde olduğu gözlemlenmektedir.

Sıcaklık\*etanol etkileşiminin ise y eksenini boyunca yatay seyretmesi değişimin sınırlı olduğunu göstermektedir. Buradan sabit % etanol konsantrasyonunda sıcaklık\*etanol etkileşiminin etkisinin önemli olmadığı anlaşılmaktadır. Basınç\*etanol etkileşimine bakıldığında ise tüm % etanol konsantrasyonlarında basınç\*etanol etkileşiminin asit sayısı üzerinde pozitif etkisi görülmektedir. Basınç\*etanol etkileşimi açısından en fazla artışın ise % 8 etanol konsantrasyonunda gerçekleştiği gözlemlenmektedir. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında artan basınç ve etanol konsantrasyonunda ekstraksiyon veriminin arttığı gözlemlenmektedir.



Şekil 4.13. Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin asit sayısı üzerine ana etkisi.



Şekil 4.14. Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin arasındaki etkileşimlerinin asit sayısı üzerine etkisi.

EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda titrimetrik yöntem ile gerçekleştirilen serbest yağ asidi sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. % 0 etanol konsantrasyonunda elde edilen ekstraktlar kendi içinde değerlendirildiğinde aynı sıcaklık değerinde basınç artışına

doğru orantılı olarak asit sayısı bir başka deyişle ekstrakte edilen serbest yağ asidi miktarı artmaktadır. En yüksek sıcaklık düzeyinde (55 °C) 100, 200 ve 300 bar basınçta yapılan ekstraksiyonlarda elde edilen ZXX, ZYX ve ZZX örnekleri için asit sayısı 969.5, 4164.2 ve 6287.1 mg KOH/kg ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.15'te asit sayısının aynı sıcaklık düzeyine basınca bağlı olarak doğrusal artış gösterdiği verilmiştir.

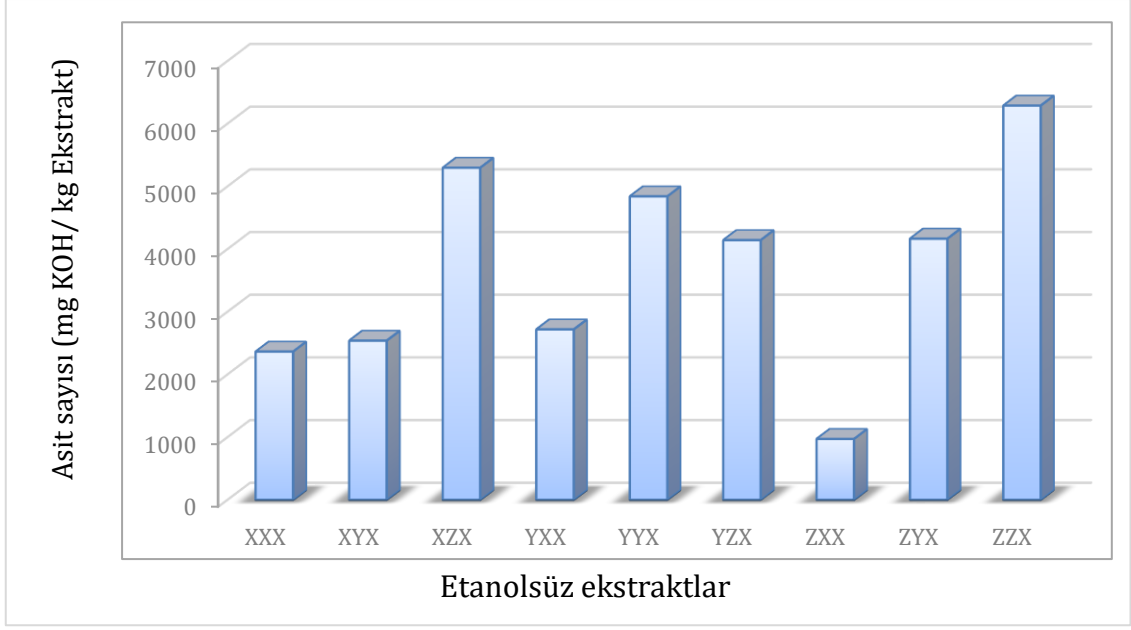
% 4 etanol konsantrasyonunda 45 °C'de yapılan ekstraksiyonlarda basıncın artışına bağlı olarak asit sayısı azalırken, 55 °C'de yapılan ekstraksiyonlarda ise basıncın artışına bağlı olarak asit sayısı artmaktadır. Çizelge 4.8'de de görülebileceği üzere düşük sıcaklıkta yapılan ekstraksiyonda ise 200 bar basınçta ekstrakte edilen serbest yağ asidi sayısı 3729.3 mg KOH/kg ekstrakt ile en yüksek değeri vermiştir. EMP Ezine peynirinde serbest yağ asidi ekstraksiyonu hem sıcaklık hem de basınca göre belirli bir doğrusal davranış göstermemektedir. Yalnızca % etanol konsantrasyonuna göre değerlendirildiğinde düşük etanol yüzdesinde ekstraksiyon veriminin arttığı tespit edilmiştir.

55°C sıcaklık, 300 bar basınçta yapılan ekstraksiyonlarda % 0, 4 ve 8 etanol konsantrasyonu için asit sayısı değerleri 6287.1, 3297.3 ve 2331.1 mg KOH/kg ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Etanol yüzdesi arttıka ekstraksiyon veriminin azaldığı gözlenmektedir. Şekil 4.16'da etanol yüzdesinin artışına bağlı olarak asit sayısının doğrusal azaldığı gösterilmiştir. Mohyuddin, (1970) tarafından gerçekleştirilen tez çalışmasında da Rokfor peynirinde 540 atm ile 680 atm basınçlarında 60 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda C<sub>4</sub>'den C<sub>14</sub> yağ asidine kadar kısa ve orta zincirli yağ asitlerinin ekstraksiyonlarında yardımcı çözücü kullanılmadan yapılan ekstraksiyonların yardımcı çözücü kullanılanlara kıyasla veriminin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Ezine peynirinden serbest yağ asidi ekstraksiyonunun optimizasyonunun yapılması amacıyla oluşturulan yüzey grafikleri ve optimizasyon grafiği EK 7A ve EK 7B'de verilmiştir. Ayrıca EK 8'de Ezine peynirinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait istatistiksel tablolar ve model denklemleri verilmiştir. Optimizasyon işleminde hedef olarak y değerinin maksimum değerinin hesaplanması programa komut olarak verilmiştir. Analiz sonucuna göre 55 °C, 300 bar ve % 7.68 etanol

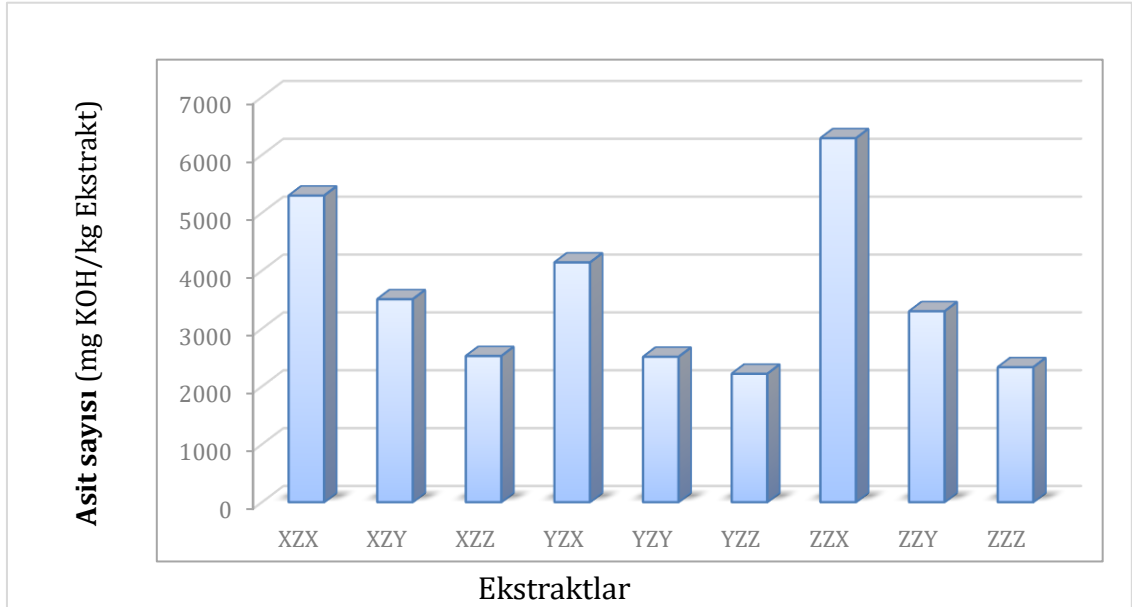
konsantrasyonu maksimum y değerininde elde edildiği proses koşulları olarak belirlenmiştir. Tahmin edilen maksimum y değeri 2378.65 mg KOH/kg ekstrakt olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.8.** EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların asit sayısı değeri (mg KOH/kg ekstrakt).

Etanol konsantrasyonu (%)	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)	Örnek Kodu	Asit Sayısı (mg KOH/kg ekstrakt)
% 0 Etanol konsantrasyonu	35 °C	100	XXX	2362.9
		200	XYX	2537.1
		300	XZX	5295.5
	45 °C	100	YXX	2717.0
		200	YYX	4839.1
		300	YZX	4140.9
	55°C	100	ZXX	969.5
		200	ZYX	4164.2
		300	ZZX	6287.1
% 4 Etanol konsantrasyonu	35°C	100	XXY	3321.6
		200	XYY	3729.3
		300	XZY	3506.0
	45°C	100	YXY	3025.5
		200	YYY	2733.5
		300	YZY	2510.3
	55°C	100	ZXY	2,892.8
		200	ZYY	2830.1
		300	ZZY	3297.3
% 8 Etanol konsantrasyonu	35°C	100	XXZ	1776.1
		200	XYZ	1187.4
		300	XZZ	2524.4
	45°C	100	YXZ	2790.0
		200	YYZ	2167.4
		300	YZZ	2217.3
	55°C	100	ZXZ	2440.3
		200	ZYZ	2365.3
		300	ZZZ	2331.1
% 4 Etanol konsantrasyonu	45 °C	200	YYY	3159.4
		200	YYY	3251.4
		200	YYY	3265.2



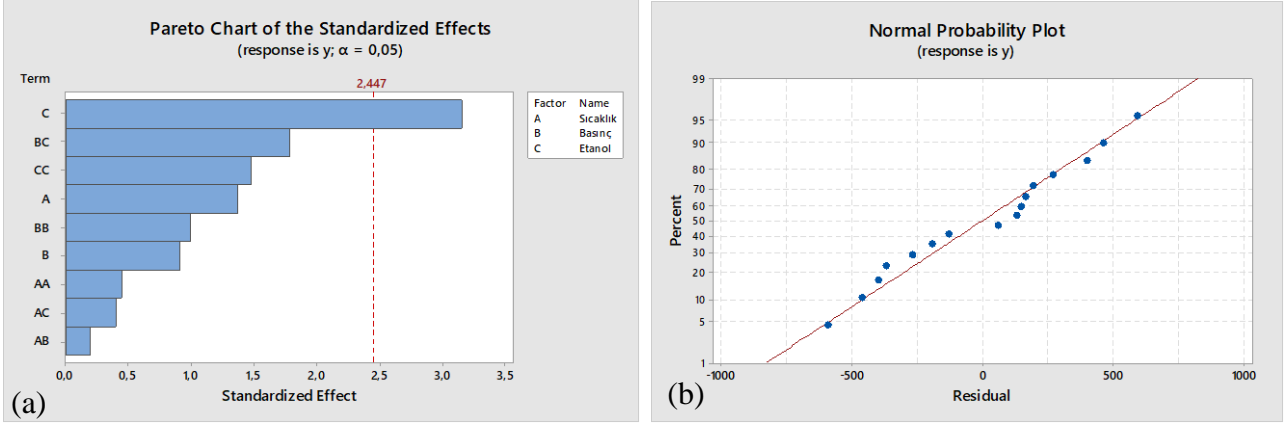
**Şekil 4.15.** EMP Ezine peynirinden etanolsüz ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktların sıcaklık ve basınç değişimine göre asit sayısındaki değişimi.



**Şekil 4.16.** EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda 300 bar basınçta 35 °C, 45°C ve 55 °C'de yapılan ekstraksiyonlarda asit sayısının % etanol konsantrasyonuna göre değişimi.

EMP Ezine peynirinden SC-CO<sub>2</sub> yöntemiyle aroma ekstraksiyonunda ekstraksiyon koşullarının aroma yoğunluğuna etkisini daha net görebilmek ve ekstraksiyon koşullarını optimize edebilmek amacıyla Cevap Yüzey Metodu uygulanmıştır. Ezine peynirinde belirtilen ile aynı deney dizaynı kullanılmıştır.

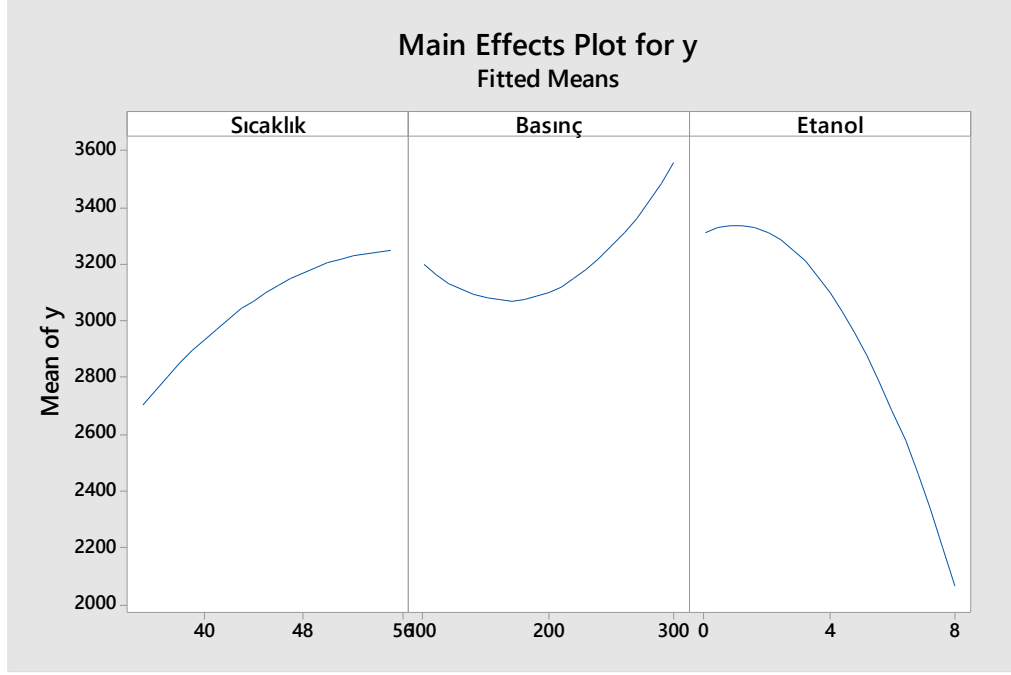




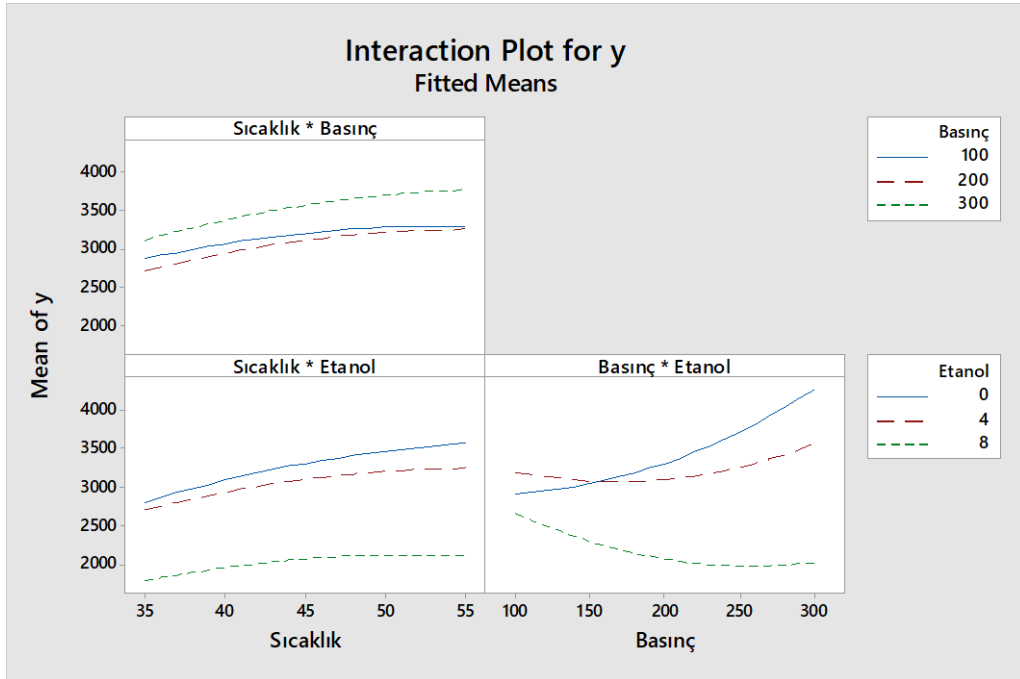
**Şekil 4.17.** EMP Ezine peynirinde asit sayısı için Pareto çizelgesi ve verilerin normallik testi.

Şekil 4.17 (b)'da EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlardaki serbest yağ asidi miktarını gösteren asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt ) değerleri için normallik varsayımı testi verilmiştir ve elde edilen çıktıların dağılımının normallik varsayımını sağladığı gözlenmiştir. Şekil 4.17 (a)'da ise Pareto tablosu verilmiştir. Pareto tablosunda ekstraksiyon parametrelerinden sadece % etanol konsantrasyonunun ( $p < 0.05$  düzeyinde) standart etkinin üzerinde olduğu gözlenmektedir. Bu sonuç EMP Ezine peynirinden yağ asidi ekstraksiyonunda etanol düzeyinin etkisinin elde edilecek model üzerinde önemli olduğu anlamına gelmektedir.

Şekil 4.18'de sıcaklık, basınç ve % etanol konsantrasyonu parametrelerinin ekstraktlardaki serbest yağ asidi miktarını gösteren asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt ) değerleri üzerine ana etkisi verilmektedir. Grafik sıcaklık açısından değerlendirildiğinde sıcaklık artışına bağlı olarak asit sayısının artış gösterdiği gözlemlenmektedir. Basınç değerleri açısından 100 bar'da elde edilen verim 200 bar'a göre daha yüksekken, en yüksek verim ise 300 bar'da elde edilmektedir. % etanol konsantrasyonu açısından ise etanol yüzdesi arttıkça ekstrakttaki yağ asidi miktarının azaldığı gözlenmektedir.

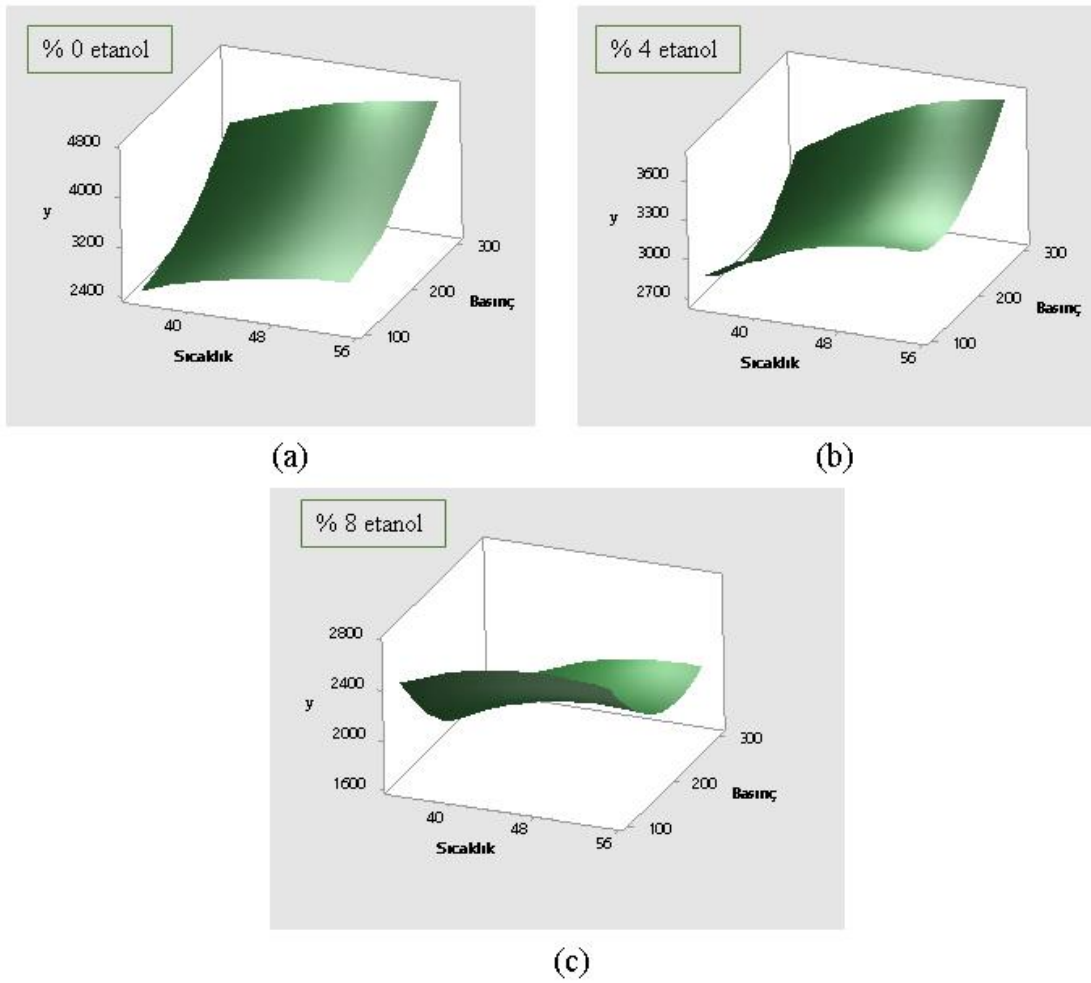


Şekil 4.18. Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin asit sayısı üzerine ana etkisi.

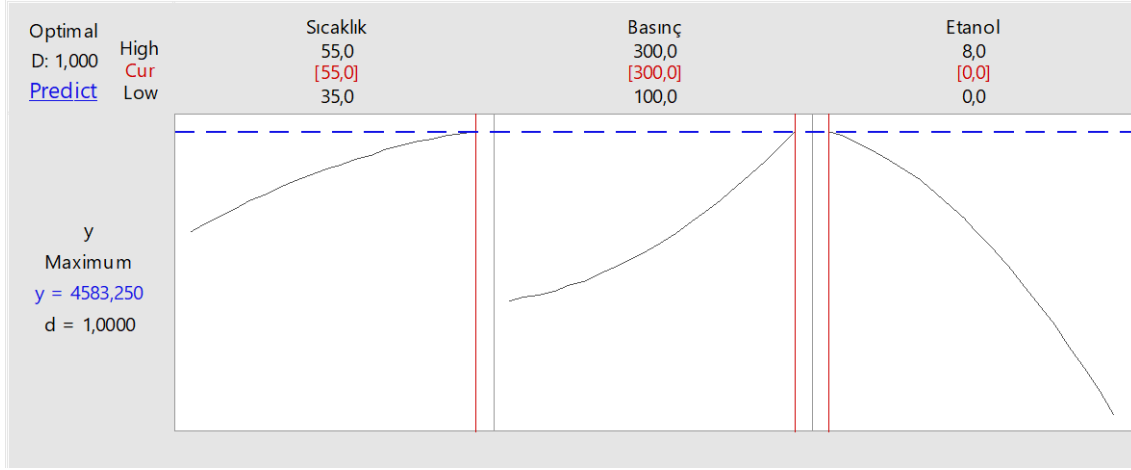


Şekil 4.19. Sıcaklık, basınç ve % etanol parametrelerinin arasındaki etkileşimlerinin asit sayısı üzerine etkisi.

Şekil 4.19’da görülebileceği üzere parametreler arası etkileşimin serbest yağ asidi ekstraksiyon verimi üzerine etkisi, sıcaklık\*basınç etkileşimi açısından etanol yüzdesi arttıkça artış göstermektedir; sıcaklık\*etanol etkileşimi açısından değerlendirildiğinde ise etanol yüzdesi azaldıkça verim azalmaktadır. Basınç\*etanol etkileşimi açısından ise sıcaklık\*etanol etkileşimine benzer olarak % 0 etanol düzeyinde ekstraksiyon veriminin en yüksek değerde olduğu gözlenmektedir. Aynı düzlemde sıcaklık\*etanol ve basınç\*etanol etkileşimlerine bakıldığında ise basınç\*etanol etkileşiminin dolayısıyla basınç parametresinin ekstraksiyon verimi üzerine da belirgin düzeyde pozitif etki gösterdiği gözlenmektedir.



Şekil 4.20. EMP Ezine peynirinde asit sayısı için % etanol konsantrasyonunun değişimine göre yüzey grafikleri.



**Şekil 4.21.** EMP Ezine peynirinde asit sayısı için optimizasyon grafiği.

Şekil 4.20 ve 4.21’de EMP Ezine peynirinden serbest yağ asidi ekstraksiyonunun optimizasyonunun yapılması amacıyla oluşturulan yüzey grafikleri ve optimizasyon grafiği verilmiştir. Şekil 4.20’de görülebileceği gibi asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt) için minimum ve maksimum değer aralığı 1000 ile 5000 mg KOH/kg ekstrakttır. Şekil 4.20 (a) % 0 etanol konsantrasyonunda y değerlerinin sıcaklık ve basınca göre değişimini göstermektedir. Grafikten görülebileceği üzere yüzey grafiğinin maximum noktası sıcaklık ve basıncın en yüksek olduğu değerlere karışık gelmektedir. Ayrıca bu grafiğin skalası 4600 mg KOH/kg ekstrakt ile diğerlerine göre en yüksek olan skaladır. Bu durum ekstraksiyon veriminin en yüksek olduğu ekstraksiyon koşullarının % 0 etanol konsantrasyonunda sağlanmasından kaynaklanmaktadır. % 4 etanol konsantrasyonunda ise y değerlerinin maksimum olduğu nokta Şekil 4.20 (b)’de görülebileceği gibi alçak sıcaklık yüksek basınç kombinasyonundan yüksek sıcaklık yüksek basınca doğru yüzey grafiği boyunca artmaktadır. Çizelge 4.8’i incelerken, yapılan 100 bar ve 300 bar basınçlarda verim artarken, 200 bar basınçta serbest yağ asidi ekstraksiyon verimi düşmüştür yorumu üç boyutlu olarak yüzey grafiğinde de görülmektedir.

Şekil 4.21 ‘de ise EMP Ezine peynirinden serbest yağ asidi ekstraksiyon koşullarına ait optimizasyon grafiği verilmiştir. Optimizasyon işlemi hedef olarak y değerinin maksimum değerinin hesaplanması programa komut olarak verilmiştir. Analiz sonucuna göre 55 °C, 300 bar ve % 0 etanol konsantrasyonu maksimum y değerinin elde edildiği proses koşulları olarak belirlenmiştir. Tahmin edilen maksimum y değeri 4583.3 mg

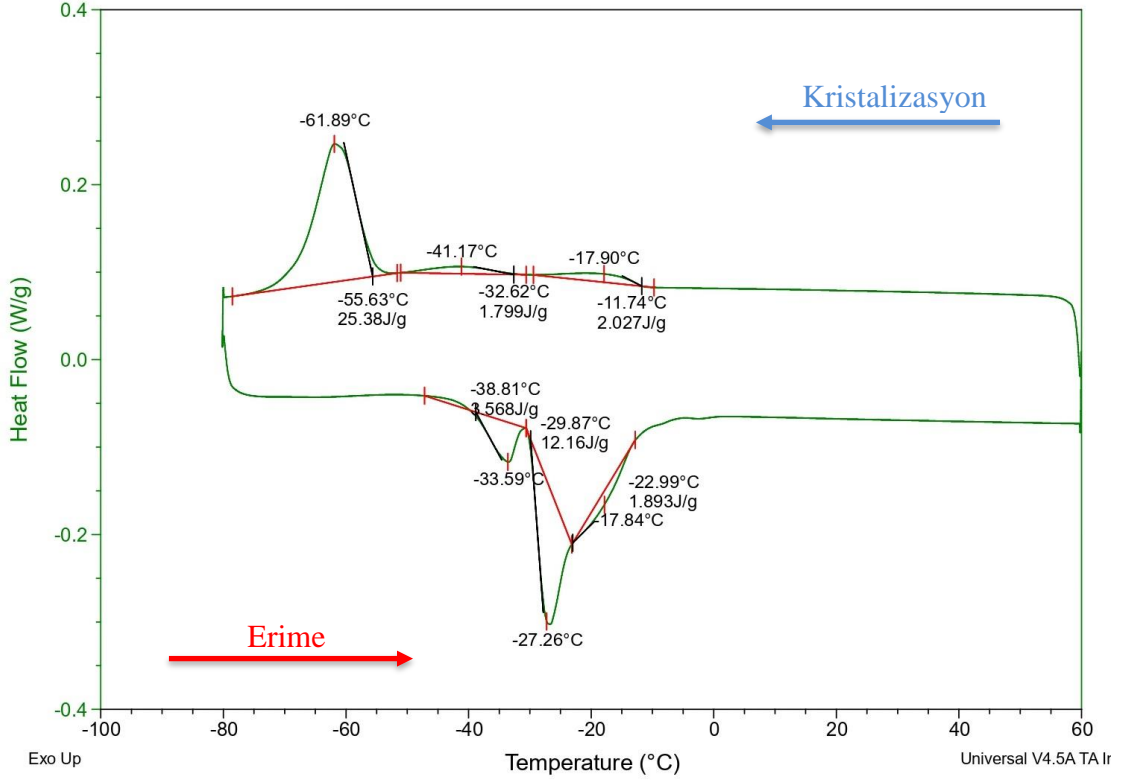
KOH/kg ekstrakt olarak bulunmuştur. Çalışma kapsamında yapılan serbest yağ asidi sonuçlarında da ZZX örneğini temsil eden bu koşulların asit sayısı 6287.1 mg KOH/kg ekstrakt olarak tespit edilmiştir. EMP Ezine peynirinde serbest yağ asidi ekstraksiyonunun optimizasyonuna bağlı olarak hesaplanan model denklemi ve istatistiksel tablolar EK 3'te verilmiştir.

#### 4.2.2. Termal Analiz

Bitkisel yağlar ve katı yağlar başta  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  olmak üzere farklı polimorfik formlarda ve farklı stabilitede, erime noktasında ve füzyon ısısında kristalize olurlar. DSC'de kristalleşmenin başladığı  $T_{onset}$  (onset temperature), hal değişikliğinin başladığı nokta olarak kabul edilir.  $T_{onset}$  kristalizasyon ya da erime pikine teğet eğim çizgisinin baseline ile kesiştiği noktadır. DSC'nin prensibi yağların soğutma ya da ısıtma eğrisini farklı TAG tiplerine karşılık gelen farklı ekzotermik/endotermik bölgelere ayırmak ve böylece numunelerin belirli parametrelerini bu bölgelerde ölçmeye dayanır (Tan ve Che Man, 2002a).

Çalışmada ekstraktların alındığı ayçiçek yağı için yapılan DSC analizinin termogramı Şekil 4.22'de verilmiştir. Ayçiçek yağı için kristalizasyon eğrisinde üç farklı pike ait üç farklı ekzotermik bölge gözlenmektedir. Bu piklerden en büyük ekzotermik pikin ( $T_{on}$ : -55.63 ) LLL, OLL ve OOL formundaki TAG'lerin kristalizasyonundan kaynaklandığı yorumu yapılmıştır. Diğer iki pikin ise ( $T_{on}$ : -32.62, -11.74) PLL ve POL/SLL gibi SUU (doymuş YA, doymamış YA, doymamış YA) yapısındaki TAG'lerin kristalizasyonundan kaynaklandığı tespit edilmiştir. Keskin ekzotermik piklerin LLL, OLL, OOL gibi yüksek oranda doymamış (UUU) TAG'nin kristalizasyon piki olduğu literatür çalışmalarınca desteklenmektedir (Tan ve Che Man, 2002a).

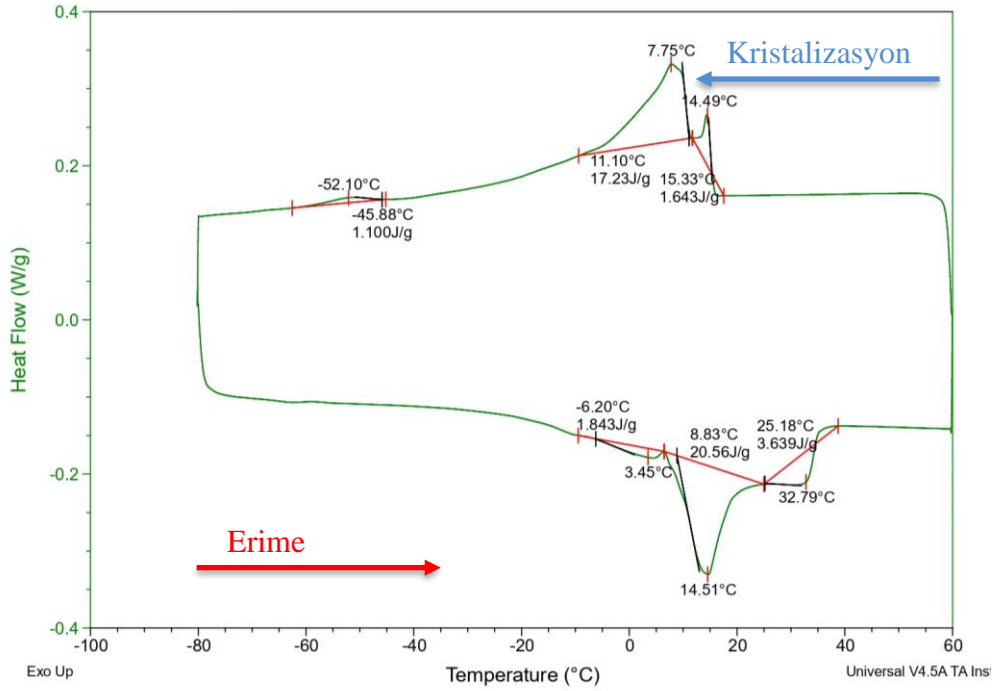
Ayçiçek yağı için erime eğrisinde üç farklı endotermik bölge tespit edilmiştir. Bu piklerden en büyük olanı ( $T_{on}$  : -38.81) doymamış (UUU) TAG'lerin erimesinden kaynaklanmaktadır, daha düşük sıcaklıklı ( $T_{on}$  : -29.87, -22.99 °C) pikleri ise POL ve POL/SLL gibi SUU TAG'lerin erimesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Ayçiçek yağında yapılan DSC analizine ait endotermik ve ekzotermik verilerin literatür çalışmaları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir (Tan ve Che Man, 2002b).



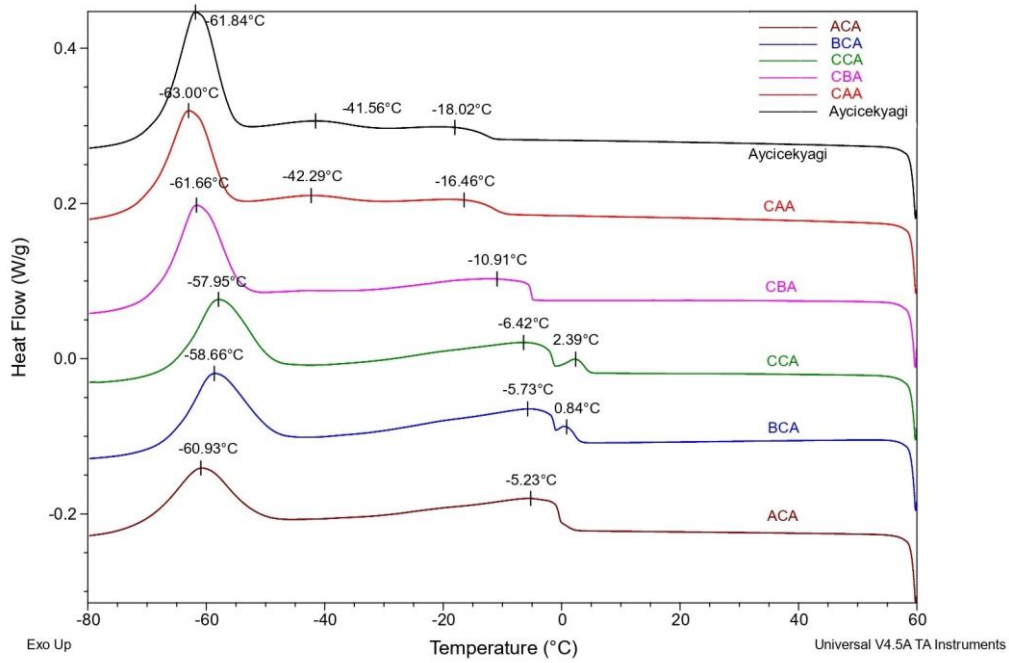
**Şekil 4.22.** Ayçiçek yağının DSC termogramı.

Çalışmada ayçiçek yağına ekstrakte edilen peynir yağının termal davranışını görebilmek amacıyla sadeyağ numunesine DSC analizi yapılmıştır. Sadeyağ numunesi için elde edilen erime ve kristalizasyon termogramı Şekil 4.23'te verilmiştir. Şekil 4.23'te görülebileceği şekilde sadeyağın kristalizasyon eğrisinde 3 adet ekzotermik bölge bulunmaktadır. Bu bölgelerden ilk kristalizasyon pikinin Ton:15.33 °C'dir ve kristalizasyon bu noktada başlamaktadır. Diğer iki pik için Ton:11.1 °C ve -45.88 °C olarak tespit edilmiştir. Sadeyağın erime eğrisi incelendiğinde ise 3 adet endotermik bölge gözlenmektedir. Çizelge 4.9'te görülebileceği üzere endotermik piklerden ilkinin Ton : -6.2°C 'dir ve erime bu noktada başlamaktadır. Diğer iki pik için Ton: 8.83 °C ve 25.18 °C olarak tespit edilmiştir. Tomaszewska-Gras,(2016)'ın çalışmasına göre tereyağı numunesinde yapılan DSC analizinde elde edilen tipik erime eğrisinde düşük erime fraksiyonu, orta erime fraksiyonu ve yüksek erime fraksiyonu olarak adlandırılan 3 adet endotermik bölge tespit edilmiştir. Çalışmada sadeyağ için yapılan DSC analizi elde edilen termogram açısından literatürde yer alan tipik tereyağ termogramı ile paralel davranış gösterdiği ancak yağ asidi kompozisyonu, trigliserit miktarı gibi içeriksel

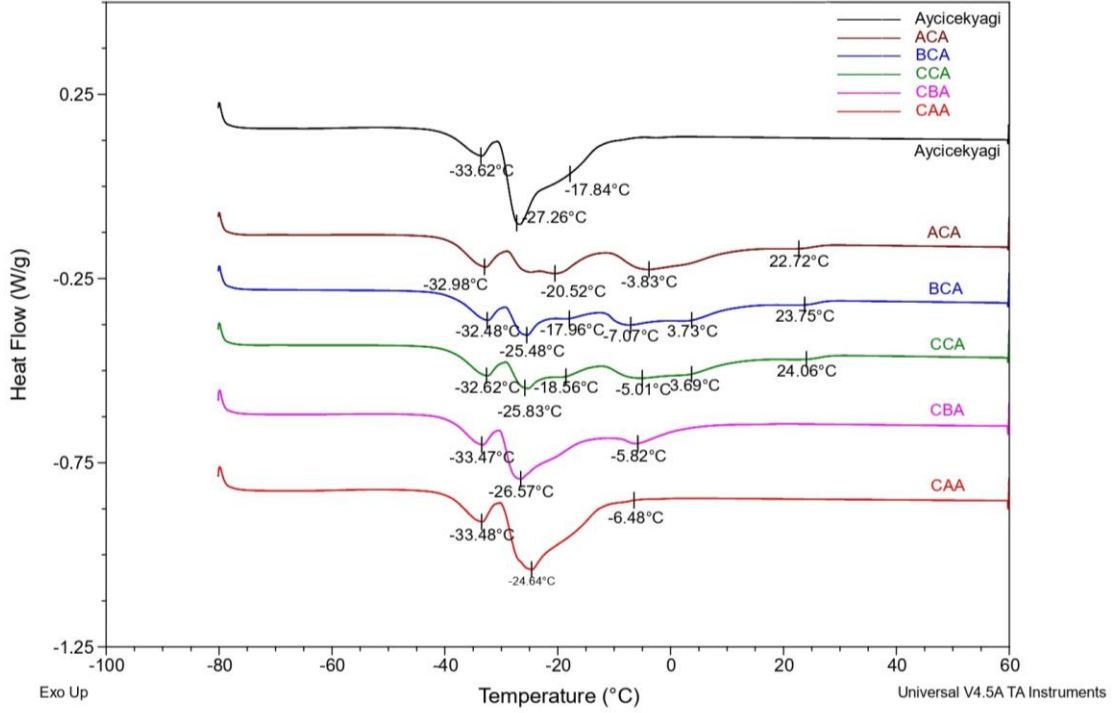
farklılıklar dolayısıyla sadeyağda elde edilen verilerin farklılık gösterdiği tespit edilmiştir ( Tomaszewska-Gras, 2016).



Şekil 4.23. Sade yağın DSC termogramı.



Şekil 4.24. Ayçiçek yağı ve Ezine peynirinin ekstraktlarının kristalizasyon termogramları



**Şekil 4.25.** Ayçiçek yağı ve Ezine peynirinin ekstraktlarının erime termogramları.

Çalışmada elde edilen ekstraktlara DSC analizi yapılmasının amacı, ekstraktlar arası dolayısıyla ekstraksiyon koşullarının değişmesine bağlı olarak ortaya çıkan farklılıkların elde edilen ekstrakttaki termal davranışa etkisinin incelenmesi ve ekstraktlardaki bileşimsel farklılıkların hızlı bir yöntem olan DSC ile ortaya konulmasıdır. Ayrıca, ilerleyen süreçte ekstraktların termal direnci, raf ömrü çalışması ve oksidatif bozulmalar ile ilgili yorumlar için elde edilen DSC sonuçlarının yol gösterici olabileceği düşünülmüştür. Bu bağlamda yapılan analiz sonucu Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlardaki DSC kristalizasyon eğrileri Şekil 4.24'te analiz sonuçları ise Çizelge 4.9'da verilmiştir. Grafikte görülebileceği üzere 55 °C, 100 bar, %0 etanol koşullarını temsil eden CAA örneği ve 55 °C, 200 bar, % 0 etanol koşullarını temsil eden CBA örneği ayçiçek yağına benzer termal profil göstermektedir. Bunun nedeni düşük basınç koşulunda ekstraksiyon veriminin daha düşük olması ve buna bağlı olarak ekstrakte edilen trigliserit miktarının daha az olmasıdır. Dolayısıyla değişen trigliserit kompozisyonu nedeniyle kristalizasyonun başladığı sıcaklıklar farklılık göstermektedir.



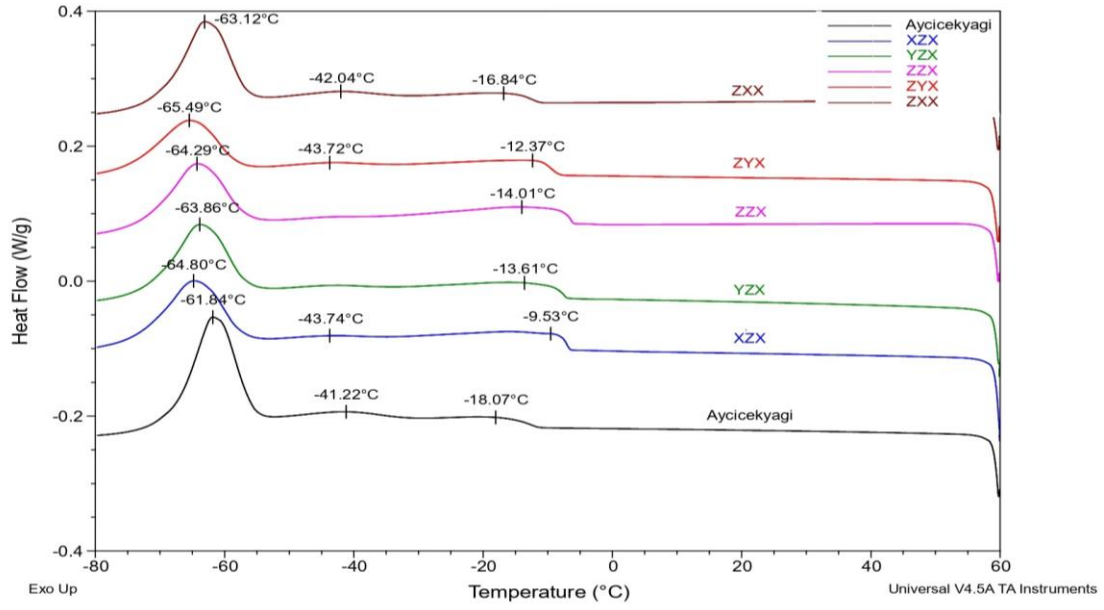
CAA örneği ayııek yağı ile daha paralel bir ekzoterm verirken, CBA örneği ise basıncın artmasına bağlı olarak hem ayııek yağından gelen 2. bölgedeki pikini kaybetmekte hem de artan trigliserit miktarına bağlı olarak kristalizasyonun başladığı Ton sıcaklığı -4.89 °C'ye kadar düşmektedir. Şekil 4.24'te Ezine peynirinden elde edilen diğer ekstraktlar ise ACA, BCA ve CCA numuneleridir. Bu numuneler ise % 0 etanol konsantrasyonunda 300 bar basınçta yapılan ekstraksiyonlarda 35, 45, 55 °C olmak üzere sıcaklık artışına bağlı olarak ekstraktın yağ asidi ve trigliserit kompozisyonunda meydana gelen değişime ve dolayısıyla yağın faz geçişlerinin termodinamik davranışını gözlemlememize olanak sağlamıştır. Elde edilen termogramlara göre yüksek basınçta artan sıcaklığa bağlı olarak ekstrakte edilen yağ miktarının artış gösterdiği artan kristalizasyon pik sayısı ve Ton sıcaklıkları ile tespit edilmiştir. Ezine peynirinden elde edilen aynı ekstraktların endotermik davranışlarını gösteren erime termogramları ise Şekil 4.25'te ayııek yağının erime termogramıyla birlikte verilmiştir. Şekilden anlaşılacağı üzere tıpkı kristalizasyon grafiğinde olduğu gibi düşük sıcaklık ve basınçtaki ekstraksiyon örneği olan CAA ayııek yağına çok yakın bir sonuç vermektedir.

Ancak, artan sıcaklık ve basınca bağlı olarak, ACA, BCA ve özellikle CCA örneğinde 3 adet endotermik bölge içerikte artan trigliserit miktarına ve cinsine bağlı olarak gözlemlenmektedir. Yağlarda DSC termogramlarından elde edilen pikler analiz edilirken bazen ne olduğu anlaşılamayan omuzlanmalar görülebilmektedir. Bunlar yağların kompleks yapıdaki TAG içerikleri ve polimorfik yapılarından kaynaklanmaktadır (Sür, 2017). Ancak, DSC, yağların kimyasal bileşimi hakkında doğrudan bir bilgi sağlamamaktadır. Yağların fiziksel hal değişikliklerini içeren termodinamik davranışları hakkında fikir vermektedir (Tan ve Che Man, 2000). Trigliseritlerin kristal yapılarını ve formlarını ortaya koymak amacıyla DSC'ye ek olarak X-ışını kırınımı analizinden yararlanılabilir (Sür, 2017). EMP Ezine peynirinden farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen DSC kristalizasyon termogramları Şekil 4.26'da verilmiştir. Ayrıca EMP Ezine peynirinde elde edilen ekstraktların DSC analiz sonuçları Çizelge 4.13'de verilmiştir. Ezine peynirinden elde edilen DSC sonuçlarına benzer şekilde EMP Ezine peyniri için de ayııek yağına kıyasla ZXX ve ZYX ekstraktları düşük basınçta yapılan ekstraksiyonlarda yağ ekstraksiyon veriminin daha düşük olduğunu doğrular nitelikte benzer termogram vermiştir. XZX, YZX ve ZZX ekstraktları ise 300 bar basınçta artan sıcaklığa bağlı olarak artan trigliserit ekstraksiyonunu doğrular şekilde 2. ekzotermik

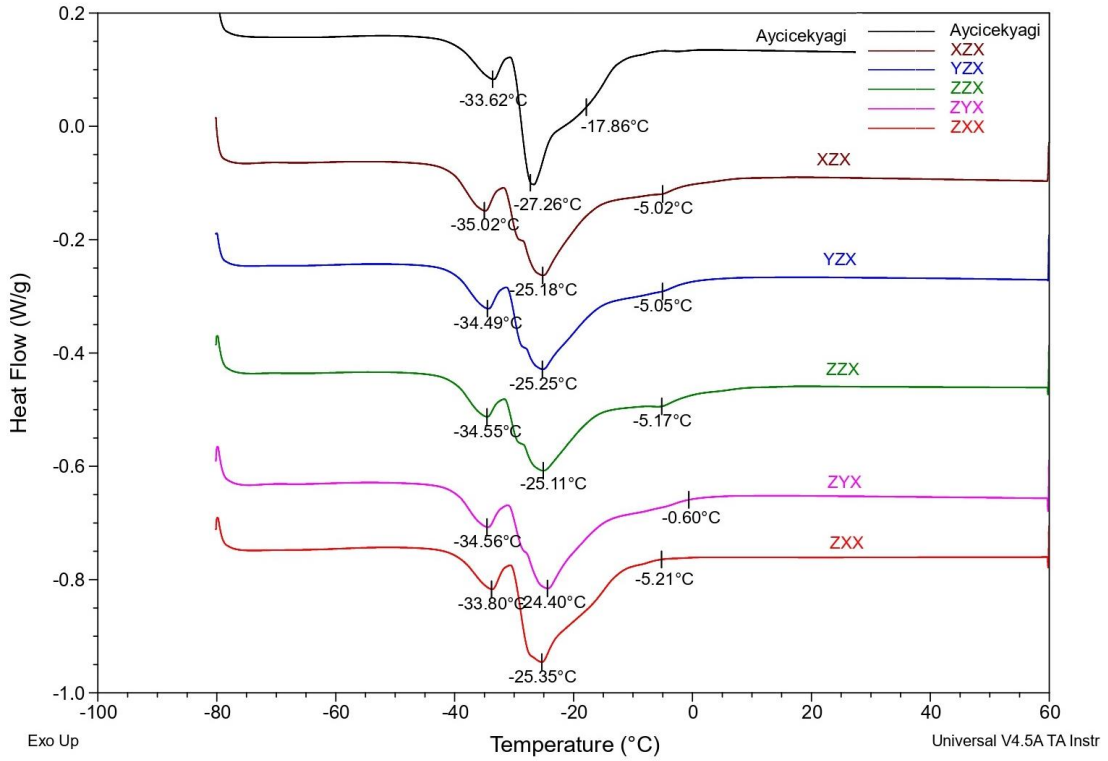
pikin kaybolduğu ve  $T_{on}$  sıcaklıklarının arttığı gözlenmektedir. EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların erime termogramları Şekil 4.27’de verilmiştir. Endotermik termogramların ayçiçek yağının erime termogramına benzer termal davranış gösterdiği tespit edilmiştir. Ancak tüm örneklerde ayçiçek yağına kıyasla erimenin başladığı  $T_{on}$  sıcaklığının arttığı gözlenmektedir. Bu durum ekstraksiyon sırasında trigliserit ekstraksiyonunun gerçekleştiğini ancak EMP Ezine peynirinin ileri lipoliz nedeniyle yapısında Ezine peynirine kıyasla daha az trigliserit ihtiva etmesi ve başlangıç yağ miktarının daha düşük olması nedeniyle trigliserit ekstraksiyonunun daha düşük olduğu bulgusunu destekler niteliktedir. Ayrıca, Ezine peynirinin ekstraktlarından elde edilen erime termogramlarındaki omuzlanmaların ve piklerin EMP Ezine peynirinde gözlenmemesi yine EMP Ezine peynirindeki aroma ekstraksiyonunun serbest yağ asitlerinden kaynaklandığını ortaya koymaktadır. DSC verilerine bakıldığında Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinde yağ ve aroma ekstraksiyonunun bileşimsel olarak farklılık gösterdiği ve bu sonuçların yağ analizi ve serbest yağ asidi sonuçlarını destekler biçimde olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, hem ayçiçek yağı hem de süt yağı için DSC verileri literatür ile uyumlu bulunmuştur. İleri çalışmalarda bu veriler ile ekstraktlarda termal stabilite, oksidatif bozulmanın önlenmesi ve raf ömrü çalışmaları gibi ekstraktların ürüne dönüştürülmesi amacıyla yeni bir çalışma fikrinin ortaya koyulabileceği yorumu yapılmıştır.

**Çizelge 4.9.** Ayçiçek yağı ve sade yağın DSC termogramlarının analiz sonuçları.

Örnek	Başlangıç (°C)	Onset(°C)	Maks.(°C)	Bitiş (°C)	Pik Alanı ( J/g)
<b>Ayçiçek Yağı</b>	-51.66	-55.63	-61.89	-78.54	25.38
	-30.6	-32.62	-41.17	-51.08	1.80
	-9.75	-11.74	-17.9	-29.43	2.03
	-47.2	-38.81	-33.59	-30.59	3.57
	-30.59	-29.87	-27.26	-23.15	12.16
	-23.15	-22.99	-17.84	-12.8	1.89
<b>Sade Yağ</b>	-45.21	-45.88	-52.1	-62.58	1.10
	11.69	11.1	7.75	-9.41	17.23
	17.55	15.33	14.49	11.69	1.64
	-9.46	-6.2	3.45	6.46	1.84
	6.46	8.83	14.51	24.98	20.56
	24.98	25.18	32.79	38.78	3.64



Şekil 4.26. Ayçiçek yağı ve EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının kristalizasyon termogramları.



Şekil 4.27. Ayçiçek yağı ve EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının erime termogramları.

**Çizelge 4.10.** Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların DSC termogramlarının analiz sonuçları.

Örnek	Başlangıç (°C)	Onset(°C)	Maks.(°C)	Bitiş (°C)	Pik Alanı ( J/g)
<b>ACA</b> (35 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-44.76	-51.17	-60.92	-79.6	18.84
	4.26	0.1	-5.21	-44.01	17.19
	-52.71	-37.77	-32.91	-28.94	2.16
	-28.94	-28.56	-20.52	-11.79	12.12
	-11.79	-10.06	-3.81	16.77	13.05
	16.77	17.45	22.9	29.02	0.47
<b>BCA</b> (45 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-43.38	-48.38	-58.64	-79.56	21.10
	-0.99	-1.07	-5.73	-43.38	11.24
	5.1	2.44	0.75	-0.99	0.28
	-49.24	-37.15	-32.5	-29.22	2.05
	-29.22	-28.87	-25.7	-20.02	5.41
	-20.02	-20.01	-17.87	-12.56	0.21
	-12.56	-11.42	-7.07	14.04	11.77
14.04	17.82	23.75	29.46	0.59	
<b>CCA</b> (55 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-42.54	-48.75	-57.95	-79.05	20.06
	-0.91	-1.24	-6.42	-42.54	12.60
	6.62	4.38	2.39	-0.91	0.72
	-50.73	-36.87	-32.53	-29.6	0.84
	-29.6	-29.12	-25.97	-21.14	5.20
	-21.14	-20.53	-17.7	-12.69	0.34
	-12.54	-12.03	-8.15	14.9	8.78
14.9	17.55	23.98	28.84	0.66	
<b>CBA</b> (55 °C, 200 bar, 0 ethanol)	-49.64	-54.13	-61.66	-78.91	22.65
	-3.89	-4.89	-10.92	-34.87	8.94
	-46.63	-38.03	-33.47	-30.59	3.10
	-30.59	-29.95	-26.57	-11.57	20.95
	-11.57	-9.34	-5.82	7.95	2.87
<b>CAA</b> (55 °C, 100 bar, 0 ethanol)	-53.58	-56.99	-63.14	-79.31	23.48
	-31.68	-33.04	-42.5	-53.58	2.00
	-9.46	-12.59	-17.49	-31.68	2.06
	-46.61	-38.71	-33.48	-30.2	4.95
	-30.2	-29.61	-24.62	-10.31	35.86
	-10.31	-8.27	-5.99	-3.22	0.18

**Çizelge 4.11.** EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların DSC termogramlarının analiz sonuçları.

Örnek	Başlangıç (°C)	Onset (°C)	Maks.(°C)	Bitiş (°C)	Pik Alanı ( J/g)
<b>XZX</b> (35 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-53.07	-57.15	-64.8	-79.6	19.02
	-36.36	-36.84	-43.87	-53.07	0.51
	-4.12	-6.65	-9.55	-35.39	7.43
	-50.78	-39.57	-35	-31.66	2.46
	-31.66	-31.3	-25.16	-10.78	27.25
<b>YZX</b> (45 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-10.78	-3.54	-0.22	7.71	0.34
	-52.75	-56.57	-63.86	-79.6	19.99
	-4.8	-7	-13.3	-52.75	8.33
	-49.1	-39.15	-34.47	-31.32	2.77
	-31.32	-30.82	-25.25	-12.8	25.33
<b>ZZX</b> (55 °C, 300 bar, 0 ethanol)	-10.68	-	-4.97	-1.73	0.35
	-53.05	-56.74	-64.29	-79.47	18.65
	-1.6	-6	-13.96	-52.29	11.94
	-49.5	-38.97	-34.71	-31.68	1.65
	-31.68	-31.25	-25.16	-11.84	22.70
<b>ZYX</b> (55 °C, 200 bar, 0 ethanol)	-11.84	-9.25	-5.19	3.4	0.82
	-53.97	-58.07	-65.49	-79.42	15.44
	-33.69	-35.47	-43.7	-53.39	0.86
	-7.24	-8.35	-12.3	-33.11	5.20
	-51.83	-39.03	-34.53	-30.91	2.15
<b>ZXX</b> (55 °C, 100 bar, 0 ethanol)	-30.91	-30.57	-24.41	-11.61	25.3
	-11.61	-5.32	-0.39	5.96	0.97
	-53.1	-56.53	-63.12	-78.98	21.21
	-31.53	-33.32	-42.04	-52.81	1.61
	-9.54	-11.47	-16.69	-30.38	2.34
<b>ZXX</b> (55 °C, 100 bar, 0 ethanol)	-46.77	-38.89	-33.8	-30.53	3.98
	-30.53	-30.04	-25.37	-11.41	33.09
	-11.12	-	-5.25	1.96	1.13

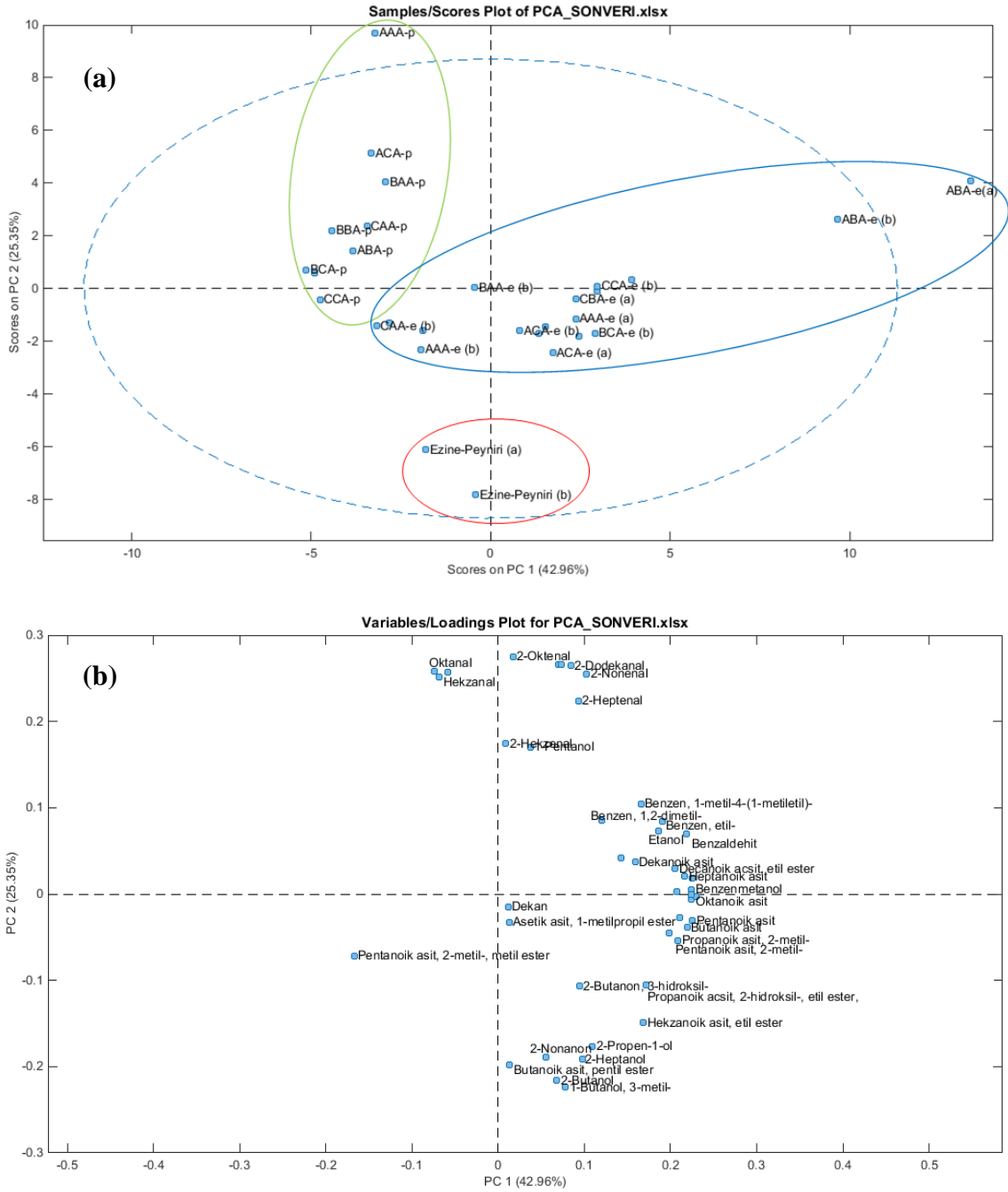
#### 4.2.3 Uçucu Bileşen Analizi

Ezine peynirinin aromasının oluşumunda baskın rol oynayan kimyasal gruplar aldehitler, ketonlar, esterler, asitler, sülfür içeren bileşenler ve alkollerdir (Hayaloglu, 2017; Yüceer ve ark., 2009). Peynirin olgunlaşma sürecinde meydana gelen lipolize bağlı olarak trigliseritlerin lipolitik enzimler tarafından parçalanmasıyla oluşan yağ asitleri doğrudan aromaya katkıda buldukları gibi, bunların bir kısmı  $\beta$ -oksidasyon ile önce  $\beta$ -ketoasitlere ardından metil ketonlara ve ikincil alkollere, bir kısmı ise 4- veya 5-hidroksiasitlere ve ardından  $\gamma$ - ve  $\delta$ -laktonlara dönüşmektedir (Collins ve ark., 2003). Yine olgunlaşma sürecinde proteoliz sonucu oluşan peptitler ve aminoasitlerin aromaya katkısı olduğu gibi bunların dekarboksilasyon, degradasyon, transaminasyon ve oksidatif deaminasyon reaksiyonlarından elde edilen aminler, aminoasitler,  $\alpha$ -ketoasitler aromaya

önemli katkıda bulunan alkoller, asitler ve kükürtlü bileşenlerin öncül maddeleridir (McSweeney ve Sousa, 2000).

Ezine peynirinin aroma karakterizasyonu ile ilgili yapılan çalışmada, asetaldehit (yeşil elma), 2-nonanon (yağimsı), nonanal (sabunsu), asetik asit (sirke), bütirik asit (ransit), 2-metilbütanal (meyvemsi), diasetil (tereyağimsı), heptanal (yaprak), hekzanal (kesilmiş çimen) olarak tanımlanmıştır (Yüceer ve ark., 2009). Ezine peyniri ve EMP Ezine peyniri ile bu peynirlerden elde edilen ekstraktlarda ve ekstraksiyon sonrası kalan peletlerde uçucu bileşiklerin değişimi GC-MS-SPME ile belirlenmiştir. Uçucu bileşik analizi yalnızca % 0 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktlar ve peletlerde yapılmıştır. % 4 ve % 8 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlarda elde edilen ekstrakt ve peletlerin numunesi hazırlanıp GC-MS-SPME'ye yüklenmiştir. Ancak, bu örneklerdeki yoğun etanol içeriğinden dolayı etanol pikinin diğer uçucu bileşiklerin piklerini maskeleydiği gözlenmiştir. Bu nedenle Ezine peyniri için AAA, BAA, CAA, ABA, BBA, CBA, ACA, BCA, CCA örneklerinin; EMP Ezine peyniri için XXX, YXX, ZXX, XYX, YYX, ZYX, XZX, YZX ve ZZX örneklerinin ekstrakt ve peletlerinde uçucu bileşik analizi yapılması uygun bulunmuştur.

Ezine peynirinin ve EMP Ezine peynirinin, bunların her birine ait peletlerin ve ekstraktların uçucu bileşik profilleri arasındaki farklılıklar Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da verilmiştir. Ezine peynirindeki uçucu bileşen analizi sonuçları PCA metoduyla değerlendirilmiştir. Şekil 4.28'de görülebileceği üzere Ezine peyniri, peletleri (yeşil daire ile işaretlenmiştir) ve ekstraktları (mavi daire ile işaretlenmiştir) gruplar halinde birbirlerinden belirgin şekilde ayrılmıştır. Şekil 4.28 (a)'da görülebileceği üzere yeşil daire ile gruplandırılan pelet örneklerinde ekstraksiyon basıncının değişimine bağlı olarak PC 2 boyunca ayırım gözlenmektedir. Şekil 4.28 (a) ve (b) birlikte değerlendirildiğinde ise uçucu bileşikler açısından peletler ve ekstraktların % 42.96 oranında PC 1'e göre ayrıldığı gözlenmektedir. Ayrıca, peletlerin PC 1'göre ve aldehitler (örneğin; oktanal, 2-heptanal, 2-nonenal, 2-dodekanal) bazında ayrıldığı, ekstraktların ise yağ asitleri, ketonlar ve esterler (örneğin; hekzanoik asit, 2-nonanon, hekzanoik asit etil ester) bazında ayrıldığı gözlenmektedir.



**Şekil 4.28.** Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlere ait temel bileşim analizi.

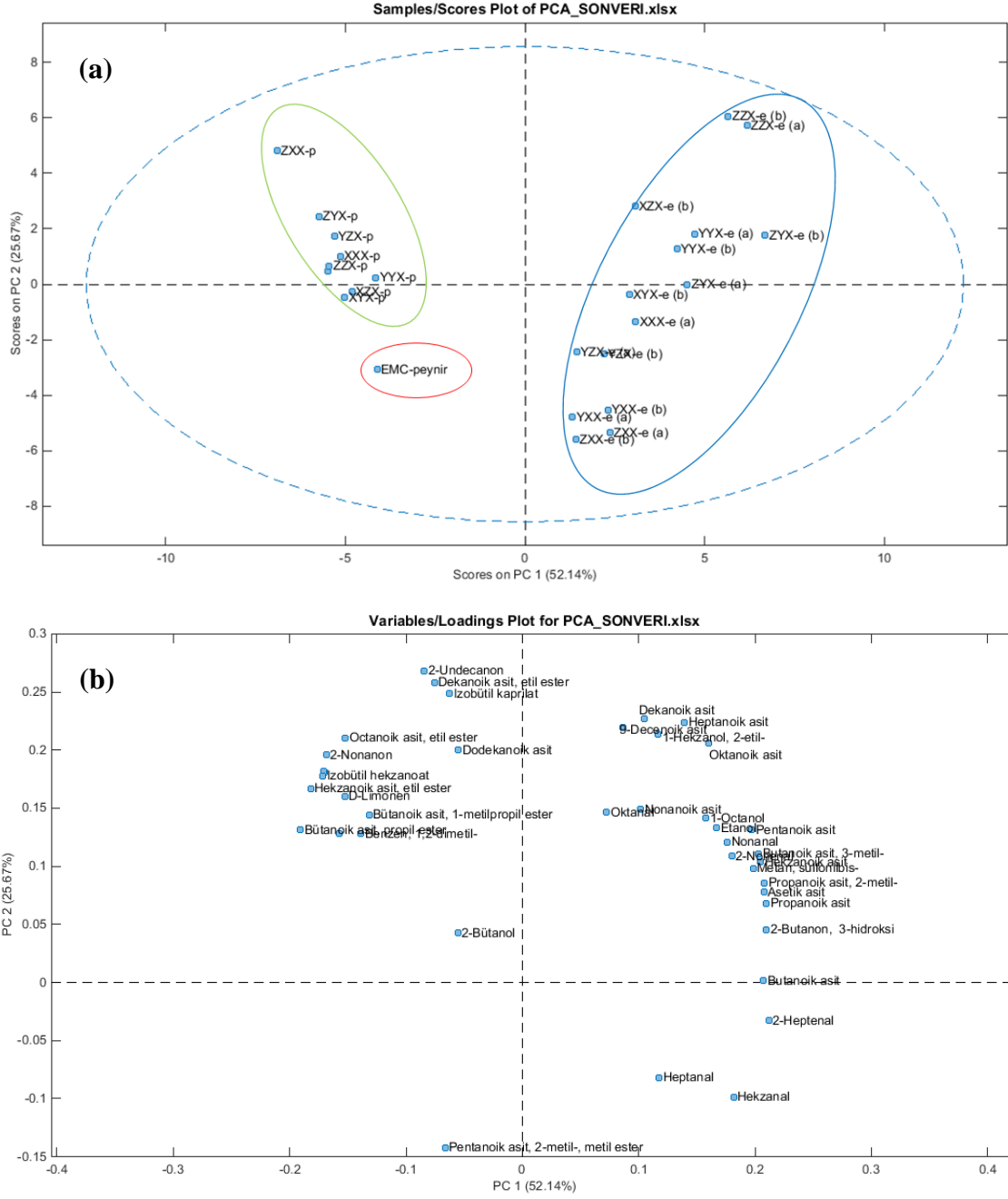
Şekil 4.29’da EMP Ezine peyniri, peletleri ve ekstraktları için uçucu bileşen analizi sonuçlarına uygulanan PCA analizi sonuçları verilmiştir. Şekil 4.29 (a)’da görülebileceği üzere peynir, peletler (yeşil daire ile işaretlenmiştir) ve ekstraktlar (mavi daire ile işaretlenmiştir) gruplar halinde birbirinden belirgin şekilde ayrılmıştır.

Yeşil daire ile gruplandırılan pelet örnekleri kendi içinde değerlendirildiğinde sıcaklık veya basınca göre net bir ayırım gözlenmemiştir. Ancak, ekstraktlara kıyasla uçucu bileşik bazında değerlendirilmek amacıyla Şekil 4.29 (b) ile birlikte incelendiğinde, peletler PC 1'e göre ketonlar (2-undekanon, 2-nonanon) ve yağ asidi esterleri (oktanoik asit etil ester, dekanolik asit etil ester) bazında ayırım göstermektedir.

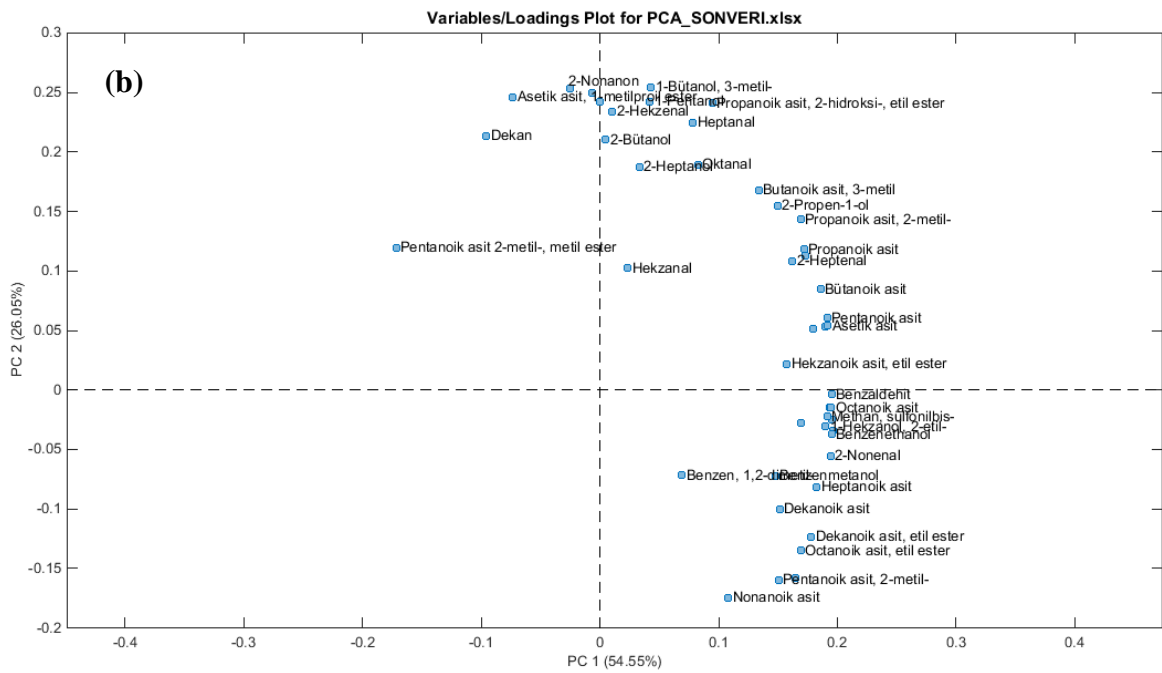
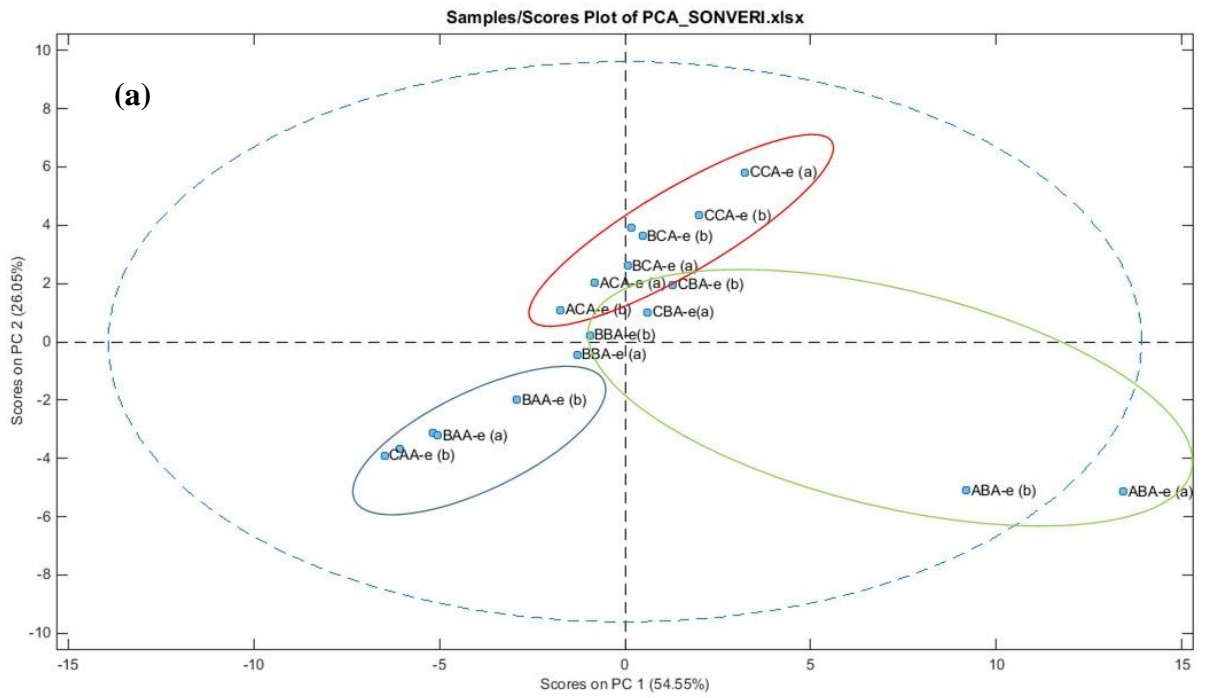
Peletlerdeki ayırımın ekstraktlara ve peynir hammadde örneğine kıyasla belirgin olduğunun tespit edilmesi uygulanan ekstraksiyon metodunun aroma eldesinde etkili bir metod olduğunu göstermesi nedeniyle önemlidir. Ancak, ekstraksiyon metodunun etkisinin farklı proses parametrelerine göre uçucu bileşen açısından nasıl değişiklik gösterdiğini anlayabilmek amacıyla ekstraktlarda ayrı ayrı PCA analizi uygulanmıştır.

Şekil 4.30'da Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlardaki PCA analizi sonuçlarına ait grafikler verilmiştir. Şekil 4.30 (a)'ya göre ekstraktların PC 1'e göre % 54.55 oranında basınç parametresi bazında ayırım gösterdiği gözlenmektedir. Mavi daire ile gruplandırılan örnekler 100 bar basınçta farklı sıcaklıkta yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen ekstraktlardır. Bunların kendi içinde PC 2'ye göre sıcaklık değişimine bağlı olarak ayırım gösterdiği gözlenmektedir. Yeşil daire ile gruplandırılan örnekler 200 bar basınçta elde edilen ekstraktlardır ve bu örneklerde de PC 2'ye göre sıcaklık değişimine bağlı olarak ayırım gerçekleşmektedir. Son olarak kırmızı dairedeki grupta ise 300 bar basınçta elde edilen ekstraktlar gruplanmaktadır bu örneklerde de benzer şekilde PC 2'ye göre sıcaklık değişimi bazında ayırım gözlenmiştir. Uçucu bileşikler bazında Şekil 4.30 (b) incelendiğinde PC 1'e göre aldehitler ketonlar ve yağ asitleri bazında ayırım sağlanmıştır. PC 2'ye göre ise uzun zincirli ve kısa zincirli yağ asitleri ile bunların etil esterleri açısından ayırım gözlenmektedir. Analize ait bi-plot grafiği EK 4A ve 4B'de verilmiştir.





**Şekil 4.29.** EMP Ezine peyniri, EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlere ait temel bileşim analizi.

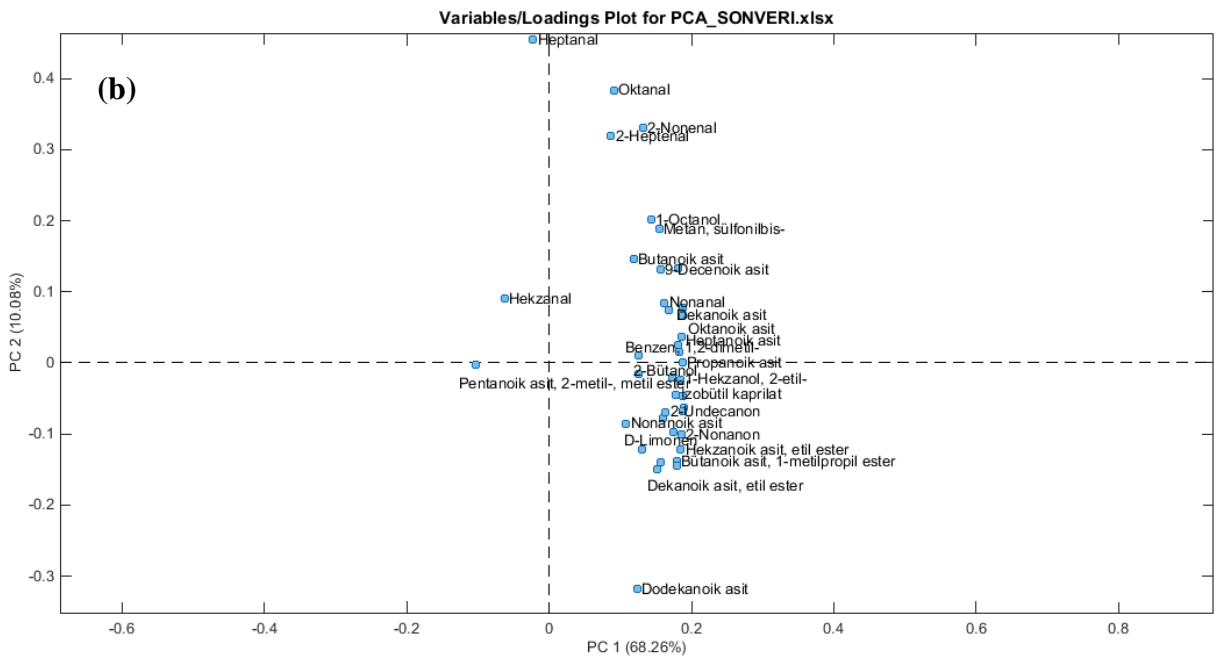
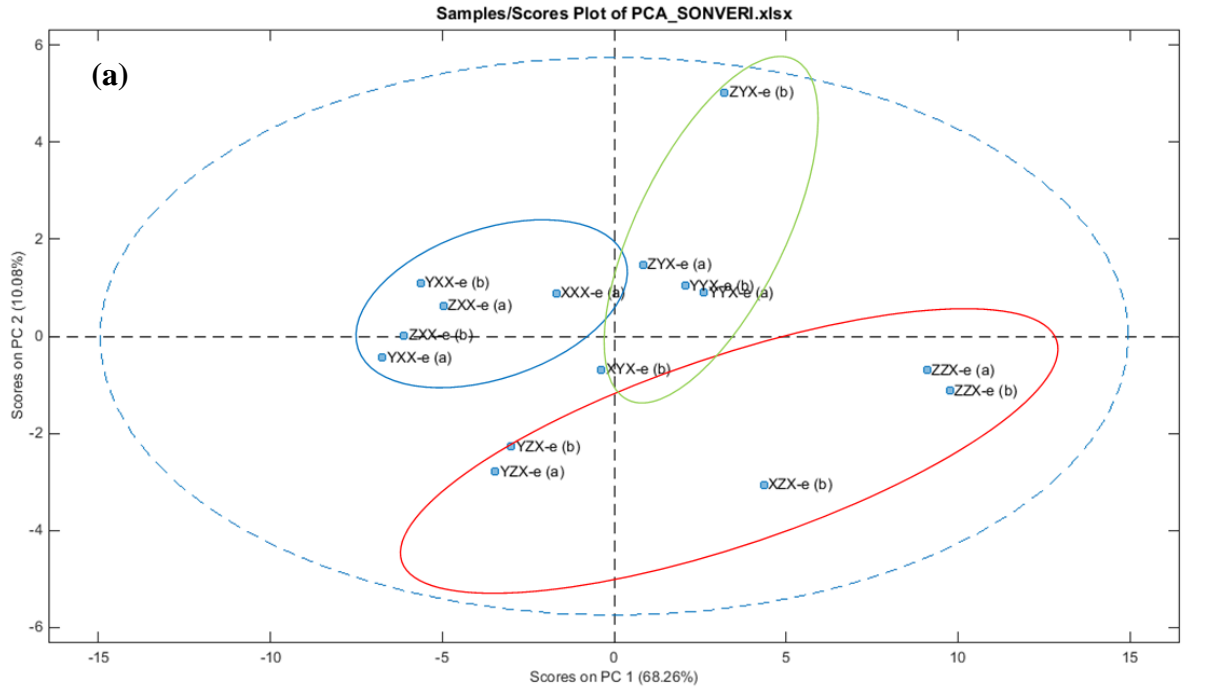


**Şekil 4.30.** Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi.

Şekil 4.31’de EMP ezine peynirinden elde edilen ekstraktlardaki PCA analizi sonuçları verilmiştir. Şekil 4.31 (a)’da EMP Ezine ekstraktlarının proses parametrelerine göre ayrımı gösterilmektedir. Ekstraktlar basınç değişimine bağlı olarak gruplar halinde birbirinden ayrılmaktadır. Mavi daire ile işaretlenen ekstraktlar 100 bar, yeşil daire içindekiler 200 bar ve kırmızı daire içindeki ekstraktlar ise 300 bar basınçta elde edilmiştir. Basıncın etkisinin uçucu bileşik dağılımı üzerinde önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca, ekstraktlar aynı basınç düzeyinde sıcaklık değişimine göre kendi içinde değerlendirildiğinde 100 ve 200 bar’daki ekstraktlar PC 2’ye göre sıcaklık bazında ayırım göstermektedir. 300 bar’da elde edilenlerde ise sıcaklık bazında ayırım PC’1 e göre gerçekleşmiştir.

Şekil 4.31 (b)’ de uçucu bileşikler bazında ayırım incelendiğinde, PC 2’ye göre ayırım gerçekleşmiştir. 200 bar ekstraktlarının PC 2’ye göre heptanal, oktanal, 2-nonanal gibi aldehitler; bütanoik asit, oktanoik asit, heptanoik asit gibi kısa ve orta zincirli yağ asitleri bazında ayırım göstermektedir. 300 bar ekstraktlarında ise PC 2’ye göre dekanolik asit etil ester, bütanoik asit 1-metil propil ester gibi yağ asitleri esterleri ve 2-undekanon, 2-nonanon gibi ketonlar bazında ayırım sağlandığı gözlenmiştir. Analize ait bi-plot grafiği EK 5A ve 5B’de verilmiştir. Şekil 4.32’de Ezine peynirinden ve EMP Ezine peynirinden farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktlara ait uçucu bileşik analiz sonuçlarına uygulanan PCA analizi sonuçları verilmiştir. Şekil 4.32 (a)’da kırmızı daire ile işaretlenen ekstraktlar EMP Ezine peynirinden elde edilen, mavi daire ile işaretlenenler ise Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlardır. Peynir cinsi bazında elde edilen ekstraktlar % 58.52 oranda PC 1’e göre ayırım göstermektedir.

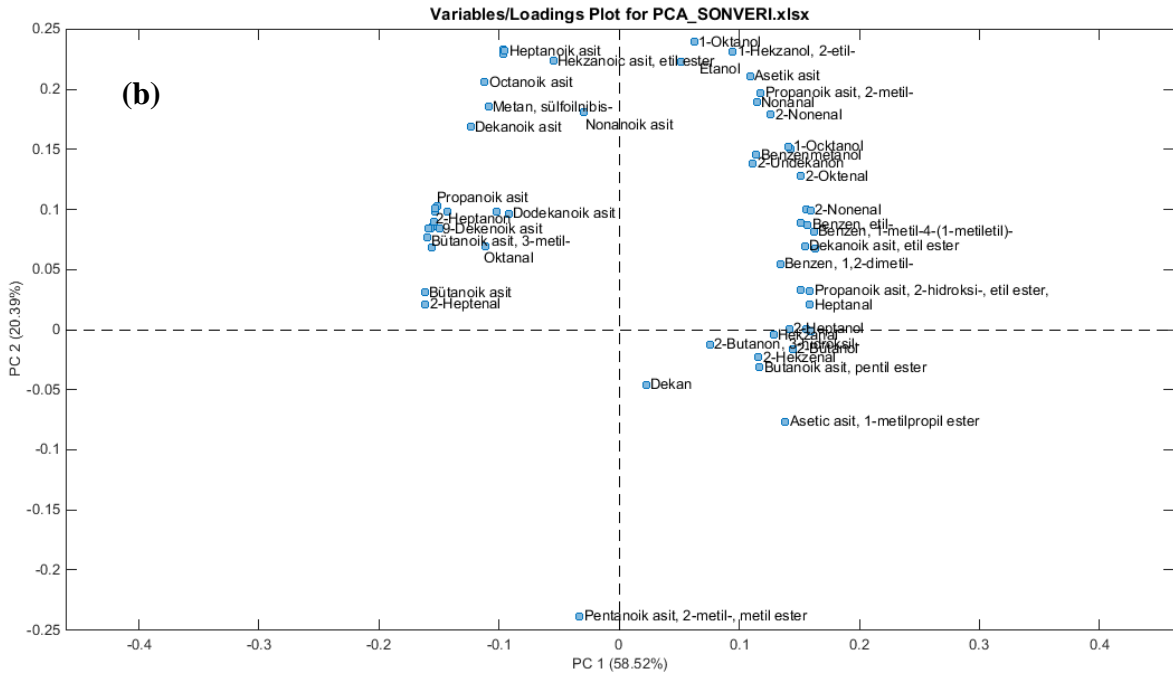
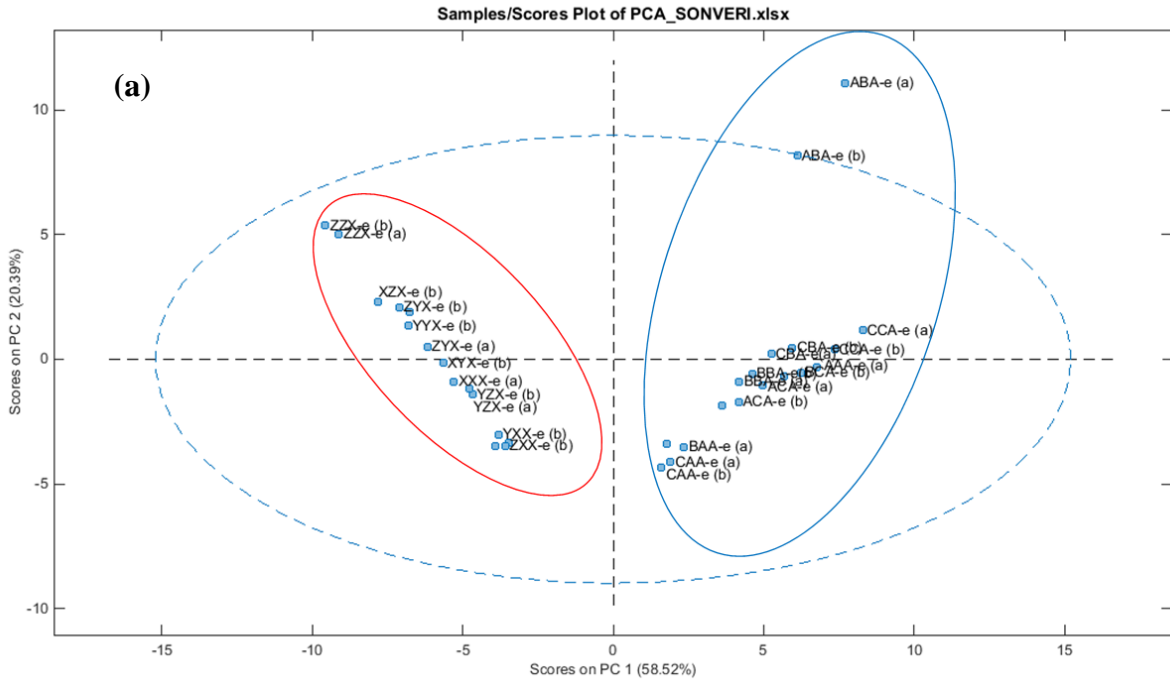
Şekil 4.32 (b)’de ise uçucu bileşik bazında PCA loadings grafiği verilmiştir. Bu grafikte peynir cinsine göre uçucu bileşik bazında % 58.52 oranda PC 1’e göre ayırım gözlenmektedir. Bu ayırımın EMP Ezine ekstraktları için yağ asitleri bazında, Ezine peyniri ekstraktları için alkoller, aldehitler ve yağ asidi esterleri bazında gerçekleştiği görülmektedir. EMP Ezine peynirinde yağ asitlerinin karakteristik aroma özelliği, asetik asit (sirke), propanoik asit (keskin), bütanoik asit (peynirimsi), dekanolik asit (peynir/keçimsi), nonanoik asit (keçimsi) olarak belirtilmiştir (Bulat ve Topcu, 2017; Erbay ve ark., 2018).



Şekil 4.31. EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi.

EMP Ezine peyniri ekstraktları için PC 2'ye göre kısa ve uzun zincirli yağ asitleri bazında ayırım gözlenmektedir. Tuomala ve Kallio, (1996) tarafından yapılan çalışmada 100 bar 40°C'de on-line SFE-GC analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre düşük basınçta kısa zincirli yağ asitleri ortalama %90 verimle elde edilmiştir. Benzer şekilde Şekil 4.28'de görüldüğü üzere YXX ve ZXX örnekleri 100 bar 45 ve 55 °C ekstraksiyonlarını temsil etmektedir ve bu örneklerin kısa zincirli yağ asitleri bazında PC 2'ye göre ayrıldığı gözlenmektedir.

Ezine peyniri ekstraktlarında ise PC 2'ye göre alkoller, aldehitler ve yağ asidi esterleri bazında ayırım gözlenmektedir. Örneğin Ezine peyniri için PC 2 düzleminde eksenin altında kalan bölgede CAA ve BAA örneklerinin diğerlerinden ayrıldığı gözlenmektedir. Bu örnekler 45 ve 55 °C'de 100 bar'da yapılan ekstraksiyonlardan elde edilmiştir. Belirtilen bölgede bu örneklerin yağ asidi esterleri bazında ayrıldığı Şekil 4.32 (b)'de görülmektedir. Benzer şekilde Torres ve ark., (2009) tarafından yapılan çalışmada 100 bar basınç ve 60 °C'de yapılan ekstraksiyonlarda kısa ve orta zincirli yağ asidi esterlerinin % 70 verimle ekstrakte edildiği saptanmıştır. Bu açıdan çalışmadaki uçucu bileşen sonuçlarının literatür ile uyumlu olduğu saptanmıştır. Analize ait bi-plot grafiği EK 6'da verilmiştir.



**Şekil 4.32.** Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara ait temel bileşim analizi.

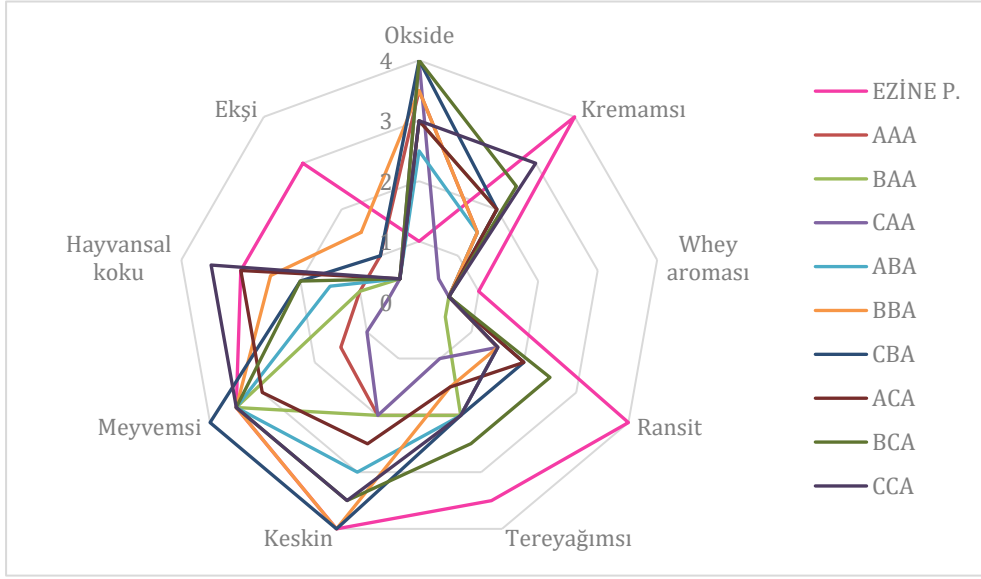
#### 4.2.4. Duyusal Analiz

Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların duyusal nitelikleri, ekstraksiyon koşullarının ekstraktın duyusal özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla incelenmiştir. Bu amaçla, peynir aroması ve duyusal değerlendirmesi hakkında tecrübe sahibi 5 kişilik panelist grubu tarafından duyusal analiz uygulanmıştır. Peynir örnekleri ve ekstraktların duyusal muayenesinde kullanılan değerlendirme tablosu EK1'de verilmiştir.

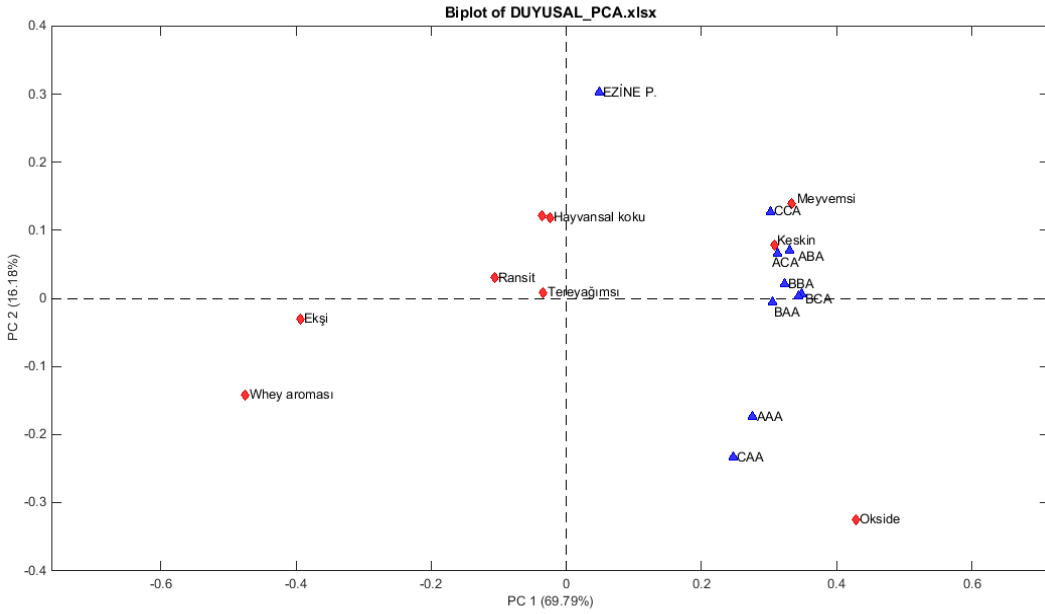
Ekstraktlar hammadde olarak kullanılan klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirine kıyasla puanlanmıştır. Duyusal analiz sadece % 0 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyonlardan elde edilen AAA, BAA, CAA, ABA, BBA, CBA, ACA, BCA, CCC, XXX, YXX, ZXX, XYX, YYX, ZYX, XZX, YZX ve ZZX örnekleri için uygulanmıştır. Etanollü örneklerde içerik açısından mevcut etanol miktarı aromanın algılanmasının önüne geçmektedir.

Peletlerde ekstraksiyon sonrası yapılan duyusal değerlendirmelerde belirgin şekilde aromanın azaldığı ve neredeyse tüm ekstraksiyon koşullarında peletlerin duyusal özelliklerinin benzer olduğu tespit edilmiştir. Peletler genel olarak yavan, hayvansal koku ve peynir niteliğinde olmayan şekilde tanımlanmıştır. Bu nedenle, peletlerde panelistler tarafından duyusal analiz yapılmamıştır.

Değerlendirmede Just About Right (JAR) skalası kullanılmıştır. Değerlendirmelerde 1 ile 5 arasında puanlama yapılmıştır. Puanlamada 1 çok az; 3 neredeyse aynı; 5 ise çok fazla anlamına gelmektedir. Ezine peyniri için duyusal tanımlayıcılar okside, kremamsı, whey aroması, ransit, tereyağımsı, keskin, meyvemsi, hayvansal koku ve ekşi olmak üzere 9 adettir. Ezine peyniri ve Ezine peynirinin farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlarından elde edilen ekstraktlar için yapılan duyusal değerlendirme sonuçları Şekil 4.33'te verilmiştir. Ayrıca Şekil 4.34'te Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyusal değerlendirmesine ait PC 1 %69.79 ve PC 2 %16.18 oranda elde edilen bi-plot PCA grafiği verilmiştir.



**Şekil 4.33.** Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucu örümcek grafiği.



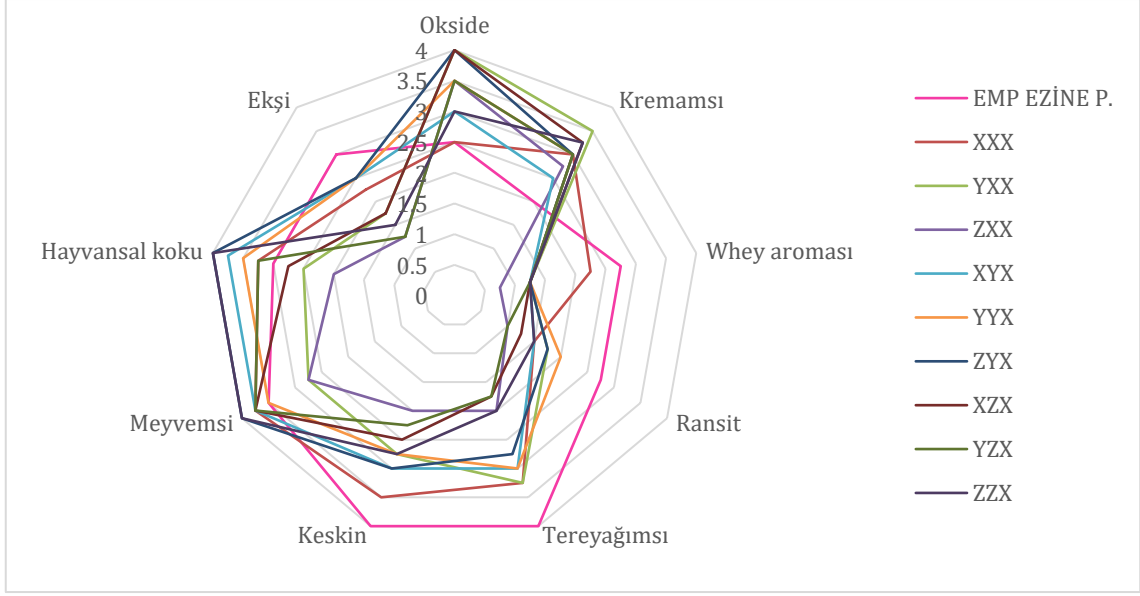
**Şekil 4.34.** Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucuna ait PCA bi-plot grafiği.

Ezine ekstraktları duyu tanımlayıcılar açısından PC 1 'e göre %69.79 oranda Ezine peynirinden ayrılmıştır. Ancak ekstraktların kendi içinde ekstraksiyon koşullarına göre ayrımı PC 2'ye göre % 16.18 oranda gerçekleşmektedir. Ekstraktların PC 2'ye göre

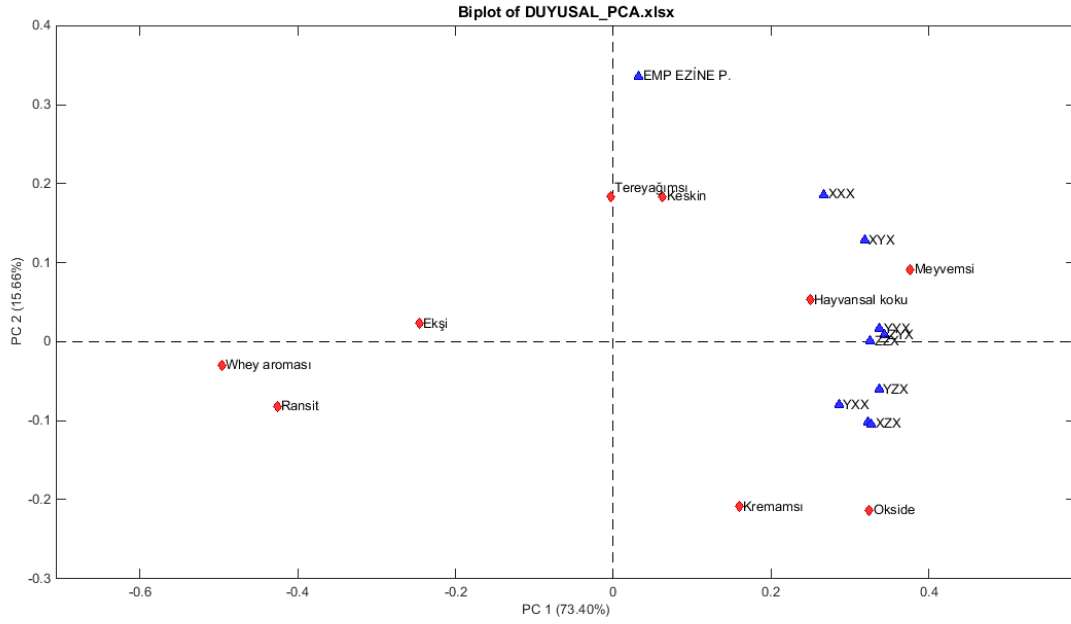


ayrımında basınç parametresinin etkili olduğu görülmektedir. AAA, BAA ve CAA örnekleri düşük basınçta (100 bar) değişen sıcaklıklarda elde edilmiştir ve bunların tanımlayıcılardan “okside” ile aynı alanda olduğu gözlenmektedir. Düşük basınç ekstraksiyonunda kısa zincirli yağ asitlerinin % 90 verimle alındığı bilinmektedir (Tuomala ve Kallio, 1996). Bu örneklerdeki okside alginın bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerinin yüksek oranda ekstraksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, Şekil 4.33’te AAA, BAA, CAA örneklerinin okside tanımlayıcısı dışında diğer tüm tanımlayıcılar için düşük puanlı olduğu görülmektedir. Yüksek basınçta elde edilen ekstraktların Ezine peyniri ile aynı bölgede ayrılması CCA, ACA örneklerinin duyuşal nitelik açısından hammaddeyle paralel olduğunu göstermektedir. Bu durum artan sıcaklık ve basıncın aroma ekstraksiyon verimini artırdığı sonucunu doğrulamaktadır.

Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarından 200 bar basınçta 45 °C ve 55 °C’de elde edilen BBA ve CBA örnekleriyle 300 bar basınçta 45 °C ve 55 °C’de elde edilen BCA ve CCA meyvemsi ve keskin tanımlayıcıları açısından en yüksek duyuşal değerlendirme puanını aldığı Şekil 4.33’te görülebilmektedir. Aroma analizi sonuçlarının bulunduğu bir önceki bölümde Şekil 4.30’da BBA, CBA, BCA ve CCA örneklerinin bütanoik asit (tatlımsı/peynirimsi) propanoik asit (keskin), pentanoik asit 2-hidroksi etil ester, heksanoik asit etil ester (meyvemsi) gibi aroma bileşenleri ile aynı bölgede yoğunlaştığı gözlenmektedir (Raines, 2012). Bu sonuç aroma analizi sonuçları ile birlikte değerlendirildiğinde BBA, CBA, BCA ve CCA örneklerinin panelistler tarafından daha yoğun şekilde meyvemsi ve keskin olarak tanımlanmasının propanoik asit, pentanoik asit 2-hidroksi etil ester, heksanoik asit etil ester gibi aromatik bileşenlerin bu ekstraksiyon koşullarında daha başarılı şekilde ekstrakte edilebildiğinden kaynaklandığını duyuşal açıdan doğrulamaktadır. Şekil 4.33’te özellikle 300 bar basınçta elde edilen ekstraktlarının duyuşal deseninin Ezine peynirinin duyuşal desenine benzer olduğu görülmektedir. Ancak, tüm ekstraktlar için duyuşal desenin Ezine peynirine kıyasla daha az yoğun olduğu gözlenmektedir. Ekstraktlar arasında ise AAA, CAA ekstraktlarının deseninin farklı olması PCA sonuçlarını doğrulamaktadır. Ayrıca, meyvemsi, keskin ve okside tanımlayıcılarının puanlarının diğerlerine kıyasla daha yüksek olduğu ve örneklerin bu eksenlerde yoğunlaştığı görülmektedir.



**Şekil 4.35.** EMP Ezine Peyniri ve EMP Ezine peynirinin ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktların duyu analizi sonucu örümcek grafiği.



**Şekil 4.36.** EMP Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyu analizi sonucuna ait PCA bi-plot grafiği.

EMP Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlarından elde edilen ekstraktlar için yapılan duyu değerlendirme sonuçlarının örümcek grafiği Şekil 4.35'te verilmiştir. Ayrıca, Şekil 4.36'da EMP Ezine

peyniri ve ekstraktlarının duyuşal değerlendirmesine ait PC 1 %73.40 ve PC 2 %15.66 oranda elde edilen bi-plot PCA grafiği verilmiştir. EMP Ezine peyniri ekstraktlarının duyuşal tanımlayıcılar bazında PC 1'e göre %73.40 oranda EMP Ezine peynirinden ayrıldığı saptanmıştır. Aynı zamanda, ekstraktlar içinde PC 2'ye göre %15.66 oranda basınç parametresinin değişimine bağlı olarak ayırım gerçekleşmektedir.

EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarından XXX rneği 35 °C'de 100 bar basınçta elde edilen edilmiştir. XXX örneğinin panelistler tarafından diğer ekstraktlara kıyasla en az oranda okside en fazla oranda ise meyvemsi olarak tanımlandığı görülmektedir. Bu sonuç aroma analizi ile birlikte incelendiğinde Şekil 4.31'de 100 bar basınçta elde edilen ekstraktların diğerinden ayrıldığı ve bunlar içinde de XXX örneğinin farklılık gösterdiği görülmektedir. Ve bu örneğin grafik hekzanal ve pentanoik asit 2-metil-metil ester ile aynı bölgede bulunduğu saptanmıştır. Örneğin yağ asitlerince daha az zengin olması panelistler tarafından okside olarak algılanmamasına, yağ asidi esterlerince zengin olması ise meyvemsi tanımlayıcısı ile yüksek puanda tanımlanmasına neden olduğu aroma sonuçlarıyla doğrulanmaktadır. Ayrıca Şekil 4.31'de YXX ve YYX rneklelerinin oktanal, 2-nonanal, 2-heptanal başlıca olmak üzere aldehitlere ve bütanoik asit (tatlımsı/peynirimsi), dekanolik asit (peynir/keçimsi) gibi yağ asitlerine göre ayırım gözlenmektedir. Bu rneklelerin panelistler tarafından yoğun olarak okside ve keskin olarak tanımlanmıştır. Şekil 4.31'de ZZX ve XZX rnekleleri ise 2-nonanon, 2-undekanon, hekzanoik asit etil ester ve bütanoik asit 1-metil propil ester gibi ketonlar ve yağ asidi esterleri ile yoğun olarak aynı bölgede ayırım göstermektedir. Bu rneklelerin duyuşal analizinde panelistler tarafından yüksek oranda meyvemsi olarak tanımlanması aroma sonuçları ile duyuşal analiz sonuçlarının uyumlu olduğunu göstermektedir. Şekil 4.35'te EMP Ezine peynirinin duyuşal açıdan meyvemsi, keskin, tereyağımsı tanımlayıcıları açısından yüksek puan aldığı görülmektedir. Ekstraktlar kendi içinde benzer desen göstermekle birlikte, yoğunlukla meyvemsi, keskin, tereyağımsı, okside ve hayvansal koku gibi tanımlayıcılar açısından EMP Ezine peynirine kıyasla daha yoğun olması ekstraktların aroma açısından peynire kıyasla daha konsantre olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda, EMP Ezine peynirine kıyasla ekstraktların okside tanımlayıcısında daha yoğun şekilde gruplaşmasının ekstraktlarda serbest yağ asitlerinin yoğun olarak bulunmasının duyuşal karşılığı olduğu yorumu yapılmıştır.

## 5. YORUM

Klasik peynirlerin gıda ingrediyesi olarak kullanıldığı miktarda peynir tat ve kokusunun yeterince kuvvetli olmaması veya klasik peynirinin olgunlaşma sürecinin devam etmesine bağlı olarak aromanın kararsız olması gibi sınırlamalardan ötürü enzim teknolojisi yoluyla, klasik peynirin aromasına kıyasla çok daha yoğun peynir aroması içeren, yüksek verimle ve daha ekonomik yollarla peynir aroması sağlayan, maliyet açısından avantajlı, peynir tat-kokusunun istenilen ürüne yönelik içerikte hazırlandığı EMP'nin geliştirilmesine neden olmuş ve konsantre peynir aroması sağlayan ingrediyenler olarak kullanımı yaygınlaşmıştır. Ancak, artan arz ve talep dengesi düşünüldüğünde daha geniş bir pazar hacmine peynir aromasını yüksek verimle sunabilmek ve kullanımda sıkça karşılaşılan yanma, ransit tat gibi kusurların giderilmesini sağlayabilmek için yağ bazında konsantre peynir aromasını üretmek için hızlı ve etkili yeni yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacı doğmaktadır.

Bu nedenle, tez kapsamında avantajlı bir ekstraksiyon metodu olan Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu (SC-CO<sub>2</sub>) kullanılarak EMP Ezine peynirinden konsantre peynir aroması elde edilmiştir. Bu amaç doğrultusunda EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar klasik Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlara kıyasla incelenmiştir. Ayrıca, tez kapsamında SC-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon verimini doğrudan etkileyen sıcaklık, basınç ve yardımcı çözücü derişimi parametrelerinin ekstraksiyona olan etkilerinin incelenmesi ve maksimum verimin sağlandığı ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, ekstraksiyon prosesi iki yönden değerlendirilmiştir. Bunlardan ilki hammaddenin ekstraksiyon öncesi ve sonrası (pelet) kimyasal bileşiminin, serbest yağ asidi ve uçucu bileşik içeriğinin ortaya konulmasıdır. Çalışmanın diğer aşaması ise elde edilen ürün yani ekstraktın amaçlanan nitelikte olup olmadığının ortaya konulmasıdır. Bu amaçla, ekstraktlarda DSC ile termal analiz, uçucu bileşik analizi (GC-MC-SPME), yağ asidi analizi ve duyu analizi yapılmıştır. Ekstraktlar kendi içinde ekstraksiyon parametreleri açısından değerlendirildiği gibi peynir cinsi açısından da birbirine kıyasla incelenmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar konuyla ilgili literatür bilgileri ile birlikte değerlendirildiğinde elde edilen sonuç, yorum ve öneriler aşağıda özetlenmiştir:

- Peletlerde % kuru maddede yağ sonuçları peynire kıyasla % değişimin hesaplanması amacıyla analiz edilmiştir. Elde edilen verilere göre Ezine peynirinde maksimum % 80.40 yağ değişimi gözlenmiştir. EMP Ezine peynirinde ise maksimum yağ değişimi % 34 ile sınırlı kalmıştır. Peynirler arası bu farklılığın görülmesi peynirlerin başlangıç yağ miktarlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Başlangıç yağ miktarı % 44.78 (kuru maddede) olan klasik Ezine peynirinde ekstraksiyon prosesinde trigliserit ekstraksiyonu fazlayken, yağ miktarı % 29.53 (kuru maddede) olan EMP Ezine peynirinde uçucu bileşen ve yağ asidi ekstraksiyonu daha fazladır.
- Peletlerde pH değerinde genelde bir azalma tespit edilmiştir. Peletlerde pH'nın düşüş göstermesi CO<sub>2</sub> ekstraksiyon sırasında bir miktar karbonik aside dönüşmesi ve artan asit miktarına bağlı olarak gerçekleşmiştir ve beklenen sonuçtur (Combs ve ark., 1996).
- Peletlerde olgunlaşma indeksi ve toplam serbest aminoasit konsantrasyonu sonuçları açısından her iki peynir de benzer davranış göstermektedir. Hem olgunlaşma indeksi değerleri hem de toplam serbest amino asit konsantrasyonu peletlerde artış göstermektedir. Toplam serbest aminoasit konsantrasyonu klasik Ezine peyniri için 9.04 mg lösin/g peynirken, peletlerinde 11.53-14.53 mg lösin/g peynir; EMP Ezine peyniri için 4.53 mg lösin/g peynirken peletlerinde 4.45-7.65 mg lösin/g peynir aralığında değişim göstermektedir. Gözlemlenen bu artış pelette yağ miktarının azalmasına bağlı olarak aminoasit konsantrasyonunun görece olarak arttığını göstermektedir ve % protein değeri sonuçlarıyla da uyumlu bulunmuştur. Klasik Ezine peyniri için pH 4.6'da çözümler azot bazında olgunlaşma indeksi % 34; EMP Ezine peyniri içinse % 27.50 olarak saptanmıştır (Şekil 4.4). ACA, BCA ve CCA peletlerinde aynı basınç değerinde sıcaklığın artmasına bağlı olarak olgunlaşma indeksi % 39.68, % 33.07, % 32.94 olmak üzere doğrusal bir şekilde azalmaktadır. Bu azalma, ekstraksiyon koşulları açısından artan sıcaklıkta yağ ekstraksiyon veriminin artmasına bağlı olarak pH 4.6'da çözümler azot miktarının göreceli artış göstermesinden kaynaklanmaktadır.
- Klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinin içerdiği toplam serbest yağ asidi miktarı, 10,044.3 mg/kg peynir ve 26,909.8 mg/kg peynir olarak saptanmıştır (Çizelge 4.3). Ezine peynirinin peletleri açısından toplam serbest yağ asidi sonuçları incelendiğinde CCA

(55 °C, 300 bar, % 0 etanol konsantrasyonu) örneğinde 2035.6 mg/kg peynir ile yağ asidi miktarında % 79.7 oranında bir azalma gözlenmektedir. Diğer peletler ile birlikte incelendiğinde ekstraksiyon proses koşulları açısından yüksek sıcaklık ve basınç değerlerinin ekstraksiyon verimini artırdığı yorumu yapılmıştır. Yağ asitleri bazında kendi içinde değerlendirildiğinde ise kısa zincirli yağ asitlerinin (bütirik asit (C<sub>4:0</sub>), kaproik asit (C<sub>6:0</sub>) ve kaprilik asit (C<sub>8:0</sub>)) ekstraksiyon veriminin % 64.50 (CAA örneği için) ile % 88.12 (CCA örneği için) arasında değiştiği, kaprik asit (C<sub>10:0</sub>) için ekstraksiyon veriminin maksimum değerinin % 93.64 olduğu gözlenmektedir. Klasik Ezine peynirinden etanollü ekstraksiyonlarda ise % 4 etanol konsantrasyonunda toplam serbest yağ asidi miktarı ABB örneğinde minimum 2318.9 mg/kg peynire düşerken % 8 etanol konsantrasyonunda ise CCC örneğinde serbest yağ asidi konsantrasyonu 964.8 mg/kg peynire kadar düşmüştür.

Çalışma kapsamında elde edilmesi hedeflenen ürün olarak ekstraktlardaki mevcut durumun ortaya konulması amacıyla yapılan analizlerin sonuçlarına bakıldığında:

- Ekstraktların termal davranışının ortaya konulduğu DSC analizi sonuçlarına göre klasik Ezine peynirinin ekstraktları içerdikleri trigliserit miktarı nedeniyle ayçiçek yağının ekzoterm ve endotermine kıyasla daha fazla sayıda pikler ve piklerde açıklanamayan omuzlanmalar göstermektedir (Şekil 4.24, Şekil 4.25). Ayrıca, ekstraktlar kendi içinde değerlendirildiğinde klasik Ezine peyniri ekstraktlarında basınç artışına bağlı olarak trigliserit miktarının artış gösterdiği tespit edilmiştir. 55 °C, 300 bar ve % 0 etanol ekstraktında (CCA) kristalizasyonun başladığı T<sub>onset</sub> sıcaklığı 4.38 °C'ye yükselmiştir. CCA örneğinde artan trigliserit miktarına bağlı olarak son erime sıcaklığının maksimum noktasında 24.06 °C'ye kadar yükseldiği gözlenmektedir (Çizelge 4.10). EMP Ezine peynirinin ekstraktları ise sınırlı trigliserit ekstraksiyonu olduğu sonucunu doğrular şekilde daha az sayıda pik ve daha düşük erime ve Kristalizasyon sıcaklığı göstermektedir. EMP Ezine peynirinde ise 35 °C, 300 bar ve % 0 etanol ekstraktında (XZX) kristalizasyonun başladığı T<sub>onset</sub> sıcaklığı -6.65 °C'ye yükselmiştir. 55 °C, 200 bar ve % 0 etanol ekstraktında (ZYX) son erime sıcaklığının maksimum noktasında -0.60 °C'ye kadar yükseldiği gözlenmektedir (Çizelge 4.11). DSC verilerinden yola çıkarak klasik Ezine peyniri ve EMP Ezine peynirinde yağ ve aroma ekstraksiyonunun bileşimsel olarak farklılık gösterdiği ve bu sonuçların yağ analizi ve serbest yağ asidi sonuçlarını desteklediği yorumu yapılabilir. Bununla birlikte, hem ayçiçek yağı hem de süt yağı elde

edilen veriler literatür ile uyumlu bulunmuştur. İleri çalışmalar için elde edilen bu veriler ekstraktların ürüne dönüştürülmesi aşamasında termal stabilite, oksidatif bozulmanın önlenmesi ve raf ömrü çalışmaları için bir altyapı oluşturacaktır.

- Ekstraktlarda titrimetrik yöntemle yapılan serbest yağ asidi analizi sonuçlarına göre klasik Ezine peyniri ekstraktları için en yüksek asit sayısı 2603.4 mg KOH/kg ekstrakt ve EMP Ezine peyniri için en yüksek asit sayısı 6287.1 ile 55 °C, 300 bar ve % 0 etanol konsantrasyonunda yapılan ekstraksiyondan elde edilmiştir. Her iki peynir örneğinde de maksimum serbest yağ asidi miktarının elde edildiği ekstraksiyon koşulları ile 55 °C, 100 bar ve % 0 etanol konsantrasyonu olarak saptanmıştır. EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda serbest yağ asidi miktarının klasik Ezine peynirine kıyasla yaklaşık 2.5 kat daha fazladır. Bu sonuç, hem EMP Ezine peynirinin aroma içeriğinden hem de bu örnekte ekstraksiyon veriminin daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum, EMP Ezine peynirinin konsantre peynir aroması eldesinde klasik Ezine peynirine kıyasla üstünlüğünü ve üretimde sağladığı avantajı göstermektedir. Bu nedenle, EMP Ezine peynirinin ekstraktlarının asit sayısı değerleri çıktı değeri olarak kabul edilmek üzere bu örneklerde proses parametrelerinin optimizasyonu amacıyla Cevap Yüzey Metodu uygulanmıştır. Elde edilen model denklemine göre etanol konsantrasyonunun ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin ( $p < 0.05$ ) önemli olduğu saptanmıştır. Parametreler arası ilişkiler incelendiğinde ise basınç\*etanol etkileşiminin basınç artışı ve etanol konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak ekstraksiyon verimini artırdığı yorumu yapılmıştır (Şekil 4.19). Optimizasyon sonucu elde edilen yüzey grafiğinde de görülebileceği üzere (Şekil 4.20) ekstraksiyon veriminin maksimum olduğu koşulların 55 °C, 300 bar ve % 0 etanol konsantrasyonu olduğu saptanmıştır (Şekil 4.21).
- Ekstraktlarda peletlere ve hammaddeye kıyasla uçucu bileşik analizi sonuçları incelendiğinde hem klasik Ezine peynirinde hem de EMP Ezine peynirinde, hammadde, pelet ve ekstraktların uçucu bileşik bazında birbirinden keskin bir biçimde ayrıldığı gözlenmiştir (Şekil 4.28, Şekil 4.29). Bu durum uçucu bileşik ekstraksiyonunun etkin biçimde gerçekleştiğini göstermektedir. Klasik Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlarda PC 1'e göre % 54.55 oranında basınç parametresi bazında ayırım gösterdiği gözlenmektedir. EMP Ezine peyniri ekstraktlarının uçucu bileşikler bazında ayırımı PC 2'ye göre ayırım gerçekleşmiştir. 200 bar ekstraktlarının PC 2'ye göre heptanal, oktanal, 2-nonanal gibi aldehytler; bütanoik asit, oktanoik asit, heptanoik asit gibi kısa ve orta

zincirli yağ asitleri bazında ayırım göstermektedir. 300 bar ekstraktlarında ise PC 2'ye göre dekanolik asit etil ester, bütanoik asir 1-metil propil ester gibi yağ asitleri esterleri ve 2-undekanon, 2-nonanon gibi ketonlar bazında ayırım sağlandığı gözlenmiştir (Şekil 4.31.). EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların uçucu bileşik analizi sonuçları Ezine peynirine kıyasla değerlendirildiğinde ise ekstraktların PC 1'e göre % 58.52 oranda uçucu bileşik bazında ayırım gösterdiği saptanmıştır. Ayırım Ezine peyniri ekstraktları için yağ asidi esterleri (bütanoik asit, pentil ester, propanoik asit, 2-hidroksi,etilester) ve aldehitler (2-nonenal, 2-oktenal, 2-nonenal) bazında ayırım sağlanırken, EMP Ezine peyniri için yağ asitleri bazında (heptanoik asit, oktanoik asit, bütanoik asit) ayırım gerçekleşmiştir. (Şekil 4.32). Hammadde cinsine göre incelendiğinde ise EMP Ezine peyniri ekstraktları için PC 2'ye göre kısa ve uzun zincirli yağ asitleri bazında ayırım gözlenmektedir. Ezine peyniri ekstraktlarında ise PC 2'ye göre alkoller, aldehitler ve yağ asidi esterleri bazında ayırım gözlenmektedir. Örneğin, YXX ve ZXX örnekleri 100 bar 45 ve 55 °C ekstraksiyonlarını temsil etmektedir ve bu örneklerin kısa zincirli yağ asitleri bazında PC 2'ye göre ayrıldığı gözlenmektedir (Şekil 4.32). Bu bilgiler ışığında elde edilmesi istenen konsantre aroma içeriği ve uçucu bileşik yoğunluğuna göre farklı proses parametrelerinin uygulanabileceği görülmektedir.

- Ekstraktlarda yapılan duyuşal analiz sonuçlarına göre klasik Ezine ekstraktları PC 1'e göre % 69.79 duyuşal tanımlayıcılar açısından Ezine peynirinden ayrılmıştır. Bununla birlikte ekstraktların kendi içinde ekstraksiyon koşullarına göre ayırımı PC 2'ye göre % 16.18 oranda gerçekleşmektedir. Yüksek basınçta elde edilen ekstraktların Ezine peyniri ile aynı bölgede ayrılması CCA, ACA örneklerinin duyuşal nitelik açısından hammaddeyle benzer olduğunu göstermektedir. Bu durum artan sıcaklık ve basıncın aroma ekstraksiyon verimini artırdığı sonucunu doğrulamaktadır (Şekil 4.34). EMP Ezine peyniri ekstraktlarının PC 1'e göre % 73.40 oranda duyuşal tanımlayıcılar bazında hammaddeden ayrıldığı gözlenmiştir. Bununla birlikte ekstraktlar içinde PC 2'ye göre % 15.66 oranda basınç parametresinin değişimine bağılı olarak ayırım gerçekleşmektedir. İki peynirin ekstraktları kıyaslandığında ise Ezine peynirinin duyuşal skoru tüm peletlerinden daha yüksektir. Bu durumun Ezine peynirinden aroma ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş olsa da bunun konsantre formda olmadığı görülmektedir. EMP Ezine peynirinin duyuşal skoru 9 duyuşal tanımlayıcının 3'ü dışında kalan tüm tanımlayıcılarda ekstraktlarıkinden daha düşüktür. Bu durum elde edilen ekstraktın hammaddeden daha



yoğun formda konsantre aroma eldesinin SC-CO<sub>2</sub> metoduyla gerçekleştirilebildiğini göstermektedir.

- Sonuç olarak tez kapsamında elde edilen tüm bu veriler doğrultusunda Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon metodu kullanılarak EMP Ezine peynirinden konsantre peynir aroması elde edilebileceği ortaya konmuştur. Ekstraksiyon koşulları maksimum toplam serbest yağ asidi miktarı için optimize edilmiştir. Böylelikle konsantre aroma eldesi için istenilen çıktı değerine göre ekstraksiyon koşullarının revize edilebileceği tespit edilmiştir. Ekstraksiyon verimi üzerine birincil etkinin basınç tarafından daha sonra sıcaklık ve etanol konsantrasyonu tarafından gerçekleştiği ortaya konulmuştur. Her iki peynir için de etanolsüz ekstraksiyonların yüksek basınç ve sıcaklıkta verimi artırdığı gözlenmiştir. Çalışmada kullanılan numuneler ile elde edilen pelet ve ekstraktlar hava almayacak şekilde azot gazı altında cam viallere alınmıştır. Bu örnekler -80 °C'de saklanmakta olup gerek duyulması halinde ölçümler/tekrarlar alınabilecektir.

## 6. KAYNAKLAR

- Ahangari, H., King, J.W., Ehsani, A., Yousefi, M., Supercritical Fluid Extraction of Seed Oils – A Short Review of Current Trends, *Trends in Food Science & Technology*, 111 (2021) 249–260.
- Amaral, G. V., Silva, E.K., Cavalcanti, R.N., Cappato, L.P., Guimaraes, J.T., Alvarenga, V.O., Esmerino, E.A., Portela, J.B., Sant’ Ana, A.S., Freitas, M.Q., Silva, M.C., Raices, R.S.L., Meireles, M.A.A., Cruz, A.G., Dairy Processing using Supercritical Carbondioxide Technology: Theoretical Fundamentals, Quality and Safety Aspects. *Trends Food Science Technology*, 64 (2017) 94–101.
- Anderson, M.J., Whitcomb, P.J., Three- level designs in RSM Simplified: Optimizing Processes using Response Surface Methods for Design of Experiment, CRC Press, Bota Raton, FL, Chapter 5, 2017.
- Anonim, Thar Instruments SFE-100-2-FMC10 User Manual. USA, 2016.
- Anonim, Grand View Research, Flavors And Fragrances Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Natural, Aroma Chemicals), By Application (Flavors, Fragrances), By Region, And Segment Forecasts, 2022-2030, <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/flavors-fragrances-market#>, (Erişim tarihi: 13 Eylül 2022).
- Ardö, Y., Polychroniadou, A., 1999. Laboratory Manual for Chemical Analysis of Cheese. Office for Official Publications of the European Communities. Luxembourg, 1999.
- AOAC. Acidity of cheese. Titrimetric Method. Official Methods of analysis of AOAC International, Official Method 926.124. Vol. 2, 17th ed., Gaithersburg, USA, 2000
- Avşar Y.K., Karagöl-Yüceer Y., Akdemir- Evrendilek G., Eştürk O., Ekonomik Önele Sahip Geleneksel Peynirlerimizin Aroma Profilinin Belirlenmesi ve Orjinalitesinin/Kalitesinin Belirlenmesinde Potansiyel Aroma-aktif Maddelerin Kullanılması, Proje No: 104-O-530, Hatay, 2009.
- Baines, D., Defining the term ‘natural’ in the context of food products, in *Natural Food Additives, Ingredients and Flavours*, Baines, D., Seal, R. (Eds.), Woodhead Publishing, Philadelphia, 1–21, 2012.

- 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., Topcu, A., Oxidation-Reduction Potential of UF White Cheese: Impact on Organic Acids, Volatile Compounds and Sensorial Properties. *Lwt- Food Science and Technology*, 131 (**2020**) 109770.
- Bulat, T., Oksidasyon-Redüksiyon Potansiyelinin Ultrafiltre Beyaz Peynirin Olgunlaşma Süreci Üzerine Etkisi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2017**.
- Bulut, A., Coğrafi İşaretler Ve Kırsal Kalkınma: Ezine Peyniri Örneği, Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Çanakkale, **2013**.
- Çakmakçı, S., Türkiye Peynirleri, Peynir Biliminin Temelleri, Hayaloglu, A.A., Özer, B. (Eds.), Nobel, Ankara, 739–771, **2021**.
- Castro-Muñoz, R., Pervaporation: The Emerging Technique for Extracting Aroma Compounds From Food Systems, *Journal of Food Engineering*, 253 (**2019**) 27–39.
- CCFA, The Codex Committee on Food Additive, Guidelines for the Use of Flavourings, Codex Alimentarius Commission (CAC/GL 66-2008), **2008**.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., Lipolysis and Free Fatty Acid Catabolism in Cheese: A Review of Current Knowledge. *International Dairy Journey*, 13 (**2003**) 841–866.
- Collins, Y.F., McSweeney, P.L.H., Wilkinson, M.G., Lipolysis and catabolism of fatty acids in cheese in *Cheese Chemistry, Physics and Microbiology General Aspects* P.F. Fox, P.L.H. McSweeney, T.M. Cogan, T.P. Guinee, (Eds), Vol. 1, pp. 373–389, Elsevier Academic Press, Amsterdam, **2004**.
- Combs, M.T., Ashraf-khorassani, M., Taylor, L.T., pH Effects on the Direct Supercritical Fluid Extraction of Phenols from Aqueous Matrices. *Journal of Supercritical Fluids*, 9 (**1996**) 122–127.

- Costa, R, Dugo, P and Mondello, R., Sampling and sample preparation techniques for the determination of the volatile components of milk and dairy products in Comprehensive Sampling and Sample Preparation Analytical Techniques for Scientists, Pawliszyn, J. (Ed.), Academic Press, Messina, 43-59, **2012**.
- Danthine, S., Vors, C., Agopian, D., Durand, A., Guyon, R., Carriere, F., Knibbe, C., Létisse, M., Michalski, M.C., Homogeneous triacylglycerol tracers have an impact on the thermal and structural properties of dietary fat and its lipolysis rate under simulated physiological conditions. Chemistry and Physics of Lipids, 225 (**2019**) 104815.
- De Haan, A.B., De Graauw, J., Schaap, J.E., Badings, H.T., Extraction of Flavors from Milk Fat With Supercritical Carbon Dioxide. Journal of Supercritical Fluids, 3 (**1990**) 15–19.
- 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 (**1990**) 94–98.
- Erbatur, O., Ekinci M.S., Büyükalaca, S., Özköse, E., Akyol, İ., Genetik Modifikasyonlarla Geliştirilmiş *Ganoderma lucidum* Şuşlarından Süperkritik Karbondioksit ile Ekstraksiyon ve Fraksiyonlama Sonucu Deriştirilmiş Biyoaktif Bileşen Ekstrelerinin Elde Edilmesi Proje No : 104M119, Adana, **2008**.
- Erbay, Z., 2016. Lezzet Katkısı Olarak Peynir ve Enzim Modifiye Peynir Tekniğinde Güncel Durum, Akademik Gıda 14(2), (**2016**) 209-217.
- Erbay, Z., Salum, P., Gövce, G., Türkiye’de Üretilen Enzim Modifiye Süt Ürünlerinin Lipolitik ve Proteolitik Olgunlaşma Düzeylerinin İncelenmesi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 23 (7) (**2017**) 919–925.
- EU., Flavourings And Certain Food Ingredients With Flavouring Properties For Use In And On Foods And Amending Council Regulation, Official Journal of the European Union, Regulation (EC) No 1334/2008, **2008**.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., Cheese: Historical Aspects, Fundamentals of Cheese Science. Springer, New York, 1–10, **2017a**.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H., Biochemistry of Cheese Ripening, in Fundamental of Cheese Science. Springer, New York, 391–439, **2017b**.

- Ganesan, B., Weimer, B.C., Amino acid catabolism and its relationship to cheese flavor outcomes in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology General Aspects, Mcsweeney, P.P., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (Eds.), Academic Press, London, Volume 1, 483–511, **2017**.
- Guinee, T.P., Cheese as a food ingredient in Encyclopedia of Dairy Sciences, Fuquay, J.W., Fox, P.F., McSweeney, P.L.H. (Eds.), Elsevier, UK, 822–833, **2011**.
- Guinee, T.P., Kilcawley, K.N., Ingredient cheese and cheese-based ingredients in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology General Aspects, Mcsweeney, P.L., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (Eds.), Academic Press, London, Volume 1, 715–749, **2017**.
- Guinee, T. P., Kilcawley, K.N., Cheese as an Ingredient in Cheese Chemistry, Physics and Microbiology Major Cheese Groups, Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M., Guinee, T. P. (Eds.), Elsevier Academic Press, UK, Volume 2 , 395–428 **2004**.
- Gün, İ., Peynir analizleri, Süt ve Ürünlerinde Laboratuvar Uygulamaları Analiz Yöntemleri, Kırdar S.S. (Ed.), Bölüm 14, Sidas, İzmir, 391-425, **2019**.
- Ha, J. K., Lindsay, R. C., Volatile branched-chain fatty acids and phenolic compounds in aged Italian cheese flavors. *J. Food Sci.* 56, 1241-1250, **1991**.
- Ha, J. K., Lindsay, R. C., Volatile Branched-Chain Fatty Acids and Phenolic Compounds in Aged Italian Cheese Flavors. *Journal of Food Science*, 56 (**1991**) 1241-1250.
- Haileselassie, S.S., Production of Enzyme- Modified Cheese And Bioactive Peptides by Lactobacillus and Commercial Enzymes, Master of Science, Macdonald Campus of McGill University, Department of Food Science and Agricultural Chemistry, Montreal Canada, **1999**.
- Hawthorne, S.B., Methodology for off-line supercritical fluid extraction in Supercritical Fluid Extraction and Its Use in Chromatographic Sample Preparation, Westwood, S.A. (Ed.), Springer, India, 39–63, **1993**.
- Hayaloglu, A.A., Cheese Varieties Ripened Under Brine in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology, Mcsweeney, P.P., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (Eds.), Academic Press, London, 997–1035, **2017**.
- Hayaloglu, A.A., Karabulut, I., Characterization and Comparison of Free Fatty Acid

- Profiles of Eleven Varieties of Turkish Cheeses. *International Journal of Food Properties*, 16 (2013)1407–1416.
- Herrero, M., Mendiola, J.A., Cifuentes, A., Ibáñez, E., *Supercritical Fluid Extraction: Recent Advances and Applications*, *Journal Of Chromatography A*, 1217 (2013) 2495–2511.
- Herta, Z., *A Dynamic Business With Taste – The Flavour Industry in Flavourings; Production, Composition, Applications, Regulations*, Herta, Z (Ed.), Wiley, Weinheim, 1–15, 2007.
- Hooi, R., Barbano, D.M., Bradley, R.L., Buddle, D., Bulthaus, M., Chettiar, M., Lynch, J., Reddy, R., *Chemical and Physical Methods in Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, Wehr, H.M., Frank, J.F (Ed.), American Public Health Association, Washington, 363-532, 2004.
- IDF, *Cheese and Processed Cheese. Determination of The Total Solids Content*. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, 1982.
- IDF, *Determination of The Nitrogen (Kjeldahl Method) and Calculation of the Crude Protein Content*, Brussels, Belgium, 1986.
- IOFI, *International Organization of the Flavor Industry Code of Practice*, Update version 1.3, 2012.
- Karagul-Yuceer, Y., Isleten, M., Uysal-Pala, C., *Sensory Characteristics of Ezine Cheese*. *Journal of Sensory Studies*, 22 (2007) 49–65.
- Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., Farag, M. A., *Cheese Ripening: A Review on Modern Technologies Towards Flavor Enhancement, Process Acceleration and Improved Quality Assessment*. *Trends in Food Science & Technology*, 88 (2019) 343-360.
- Kilcawley, K.N., Wilkinson, M.G., Fox, P.F., *Enzyme-Modified Cheese*. *International Dairy Journal*, 8 (1998) 1–10
- Korthou, H., Verpoorte, R., *Vanilla in Flavours and Fragrances Chemistry, Bioprocessing and Sustainability*, in: Berger, R.G. (Ed.), Springer, Heidelberg, 203–213, 2007.
- Lampman, G.M., Andrews, J., Bratz, W., Hanssen, O., Kelley, K., Perry, D., Ridgeway, A., *Preparation of Vanillin from Eugenol and Sawdust*. *Journal of Chemical*

- Education, 54 (2009) 776.
- Lamsen, M.R.L., Zhong, Q., Impacts of Supercritical Extraction on GC/MS Profiles of Volatiles in Whey Protein Isolate Sampled by Solid-Phase Microextraction. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35 (2011) 869–883.
- Larráyo, P., Carbonell, M., Ibáñez, F., Torre, P., Barcina, Y., Optimization of Indirect Parameters Which Affect The Extractability of Volatile Aroma Compounds from Idiazabal Cheese Using Analytical Supercritical Fluid Extractions (SFE). *Food Chemistry*, 64 (1999) 123–127.
- Larráyo, P., Ibáñez, F.C., Ordóez, A.I., Torre, P., Barcina, Y., Evaluation of Supercritical Fluid Extraction as Sample Preparation Method for the Study Of Roncal Cheese Aroma. *International Dairy Journal*, 10 (2000) 755–759.
- Lawless, H.T., Heymann, H., Acceptance Testing in Sensory Evaluation of Food, Heldman, D.R. (Ed), Springer, New York 325-344, 2010.
- Marilley, L., Casey, M., Flavours of Cheese Products: Metabolic Pathways, Analytical Tools and Identification of Producing Strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90 (2003) 139–159.
- Matheis, G., Raw Materials for Flavourings in Flavourings Production, Composition, Applications, Regulations, Ziegler, H. (Ed.), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 135–377, 2007.
- McSweeney, P.L.H., Biochemistry of Cheese Ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57 (2004) 127–144.
- McSweeney, P.L.H., Biochemistry of Cheese Ripening: Introduction and Overview in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology Volume 1 General Aspects. McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P., Everett, D. (Eds.), Academic Press, London, 379–386, 2017.
- McSweeney, P.L.H., Cheese manufacture and ripening and their influence on cheese flavour in Improving the Flavour of Cheese, Weimer, B. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, 1–26, 2007.
- McSweeney, P.L.H., Magboul, A.A.A., Upadhyay, V.K., Fox, P.F., Biochemistry of cheese ripening: proteolysis in Cheese Chemistry, Physics & Microbiology Volume

- 1 General Aspects, McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D., Everett, D.W. (Eds.), Academic Press, London, pp. 445–472, **2017**.
- McSweeney, P.L.H., Sousa, M.J., Biochemical Pathways for the Production of Flavour Compound in Cheese During Ripening, *Lait*, 80 (**2000**) 293–324.
- Mohyuddin, G., The Supercritical Fluid Extraction and Chromatographic Analysis of Fatty Acids in Blue Cheese. Degree of Doctor of Philosophy, Food Science in the Graduate College of the University of Illinois at Urbana-Champaign, **1993**.
- Morgan, E.D., Supercritical Fluid Extraction, Encyclopedia of Separation Science. Michael C. And Colin F.P (Ed.), Akademic Press, UK, 3451–3459, **2000**.
- Mukhopadhyay, M., Flavor and Fragrance Extracts, Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press, Boca Raton, Florida, 327p, **2000**.
- Murtaza, M.A., Ur-Rehman, S., Anjum, F.M., Huma, N., Hafiz, I., Cheddar Cheese Ripening and Flavor Characterization: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 54 (**2014**) 1309–1321.
- O’Hare, L., Grigor, J., Flavor Generation in Food in Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances, Rowe, D. (Ed.), Blackwell Publishing, UK, 35–52, **2005**.
- Raines, J.,. Factors Affecting the Production of Concentrated Blue Cheese Flavorings. Master of Science, Clemson University, USA, **2012**.
- Qian, M.C, Burbank, H.M., Hard Italian cheeses: parmigiano-reggiano and grana padano, in *Improving the Flavour of Cheese*, Weimer, B.. (Ed.), CRC Press, Boca Raton, FL, 421–443, **2007**.
- Ramesh, M., Muthuraman, A., Flavoring and coloring agents: health risks and potential problems, in *Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes*, Grumezescu, E., Alexandru M.G., Holban, A.M. (Eds.), Academic Press, United Kingdom, 1–24, **2018**.
- Salum, P., Erbay, Z., Selli, S.,. The Compositional Properties, Proteolytic–Lipolytic Maturation Parameters and Volatile Compositions of Commercial Enzyme-Modified Cheeses with Different Cheese Flavours. *International Journal of Dairy Technology*, 72 (**2019**) 416–426.
- Sánchez-Macías, D., Laubscher, A., Castro, N., Argüello, A., Jiménez-Flores, R., Effects



- of Supercritical Fluid Extraction Pressure on Chemical Composition, Microbial Population, Polar Lipid Profile, And Microstructure of Goat Cheese. *Journal of Dairy Science*, 96 (2013)1325–1334.
- Sibeijn, M., Wouters, J., Production of dairy aromas and flavors: New directions in Dairy-Derived Ingredients : Food and Nutraceutical Uses, Corredig, M. (Ed.), CRC Press, UK, 470–480, 2009.
- Smit, G., Smit, B.A., Engels, W.J.M., Flavour Formation by Lactic Acid Bacteria and Biochemical Flavour Profiling of Cheese Products. *FEMS Microbiology Reviews*, 29 (2005) 591–610.
- Sür, A., Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu İle Ekstrakte Edilen Menengiç (*Pistacia Terebinthus L.*) Ekstraktının ve Yağının İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2017.
- Taber, D.F., Patel, S., Hambleton, T.M., Winkel, E.E., Vanillin Synthesis from 4-Hydroxybenzaldehyde. *Journal of Chemical Education*, 84 (2009) 1158.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., Comparative Differential Scanning Calorimetric Analysis of Vegetable Oils: I. Effects of Heating Rate Variation. *Phytochemical Analysis*, 13 (2002a) 129–141.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., Comparative Differential Scanning Calorimetric Analysis of Vegetable Oils: II. Effects of Cooling Rate Variation. *Phytochemical Analysis*, 13 (2002b) 142–151.
- Tan, C.P., Che Man, Y.B., Differential Scanning Calorimetric Analysis of Edible Oils: Comparison of Thermal Properties and Chemical Composition. *Phytochemical Analysis*, 13 (2000)142–151.
- Thierry, A., Collins, Y.F., Mukdsi, A.M., Mcsweeney, P.P., Wilkinson, M.G., Spinnler, E., Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese in *Cheese Chemistry, Physics & Microbiology Volume 1 General Aspects*, Mcsweeney, P.P., Fox, P.F., Cotter, P., Everett, D.. (Eds.), Academic Press, London, 423–438, 2017.
- Tomaszewska-Gras, J., Rapid Quantitative Determination of Butter Adulteration with Palm Oil Using the DSC Technique. *Food Control*, 60 (2016) 629–635.
- Torres, C.F., Torrelo, G., Señoráns, F.J., Reglero, G., Supercritical Fluid Fractionation

- Of Fatty Acid Ethyl Esters From Butteroil. *Journal of Dairy Science*, 92 (2009) 1840–1845.
- TSE, Beyaz peynir standardı (TS-591). Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, 2006.
- Tuomala, T., Kallio, H., Identification of Free Fatty Acids and Some Other Volatile Flavour Compounds From Swiss Cheese Using On-Line Supercritical Fluid Extraction - Gas Chromatography, *Z Lebensm Unter Forsch*, 203 (1996) 236–240.
- Wilkinson, M.G., Lipolysis and cheese flavour development in Improving the Flavour of Cheese, Weimer, B.. (Ed.), CRC Press, London, 102–115, 2007.
- Wilkinson, M.G., Doolan, I.A., Kilcawley, K.N., 2011. Cheese: Enzyme-Modified Cheese. *Encyclopedia of Dairy Science*, Second Edition, 799–804, 2011.
- Wilkinson, M.G., Kilcawley, K.N., Carbohydrate metabolism and cheese flavour development in Improving the Flavour of Cheese, Weimer, B.C. (Ed.), CRC Press, Cambridge, pp. 55–66, 2007.
- Woźniak, Ł., Marszałek, K., Skąpska, S., Jędrzejczak, R., The Application of Supercritical Carbon Dioxide and Ethanol for the Extraction of Phenolic Compounds from Chokeberry Pomace, *Applied Sciences*, 7 (2017) 32.
- Yee, J.L., Khalil, H., Jiménez-Flores, R., Flavor Partition and Fat Reduction in Cheese by Supercritical Fluid Extraction: Processing Variables. *Dairy Science and Technology*, 87 (2007) 269–285.
- Yee, J.L., Walker, J., Khalil, H., Jiménez-Flores, R., Effect of Variety and Maturation of Cheese on Supercritical Fluid Extraction Efficiency. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56 (2008) 5153–5157.
- Yüceer, Y.K., İşleten, M., Mendeş, M., Ezine Peyniri I . Aroma Karakterizasyonu. *Gıda*, 34 (2009) 373–380.
- Yvon, M., Rijnen, L., Cheese Flavour Formation by Amino Acid Catabolism. *International Dairy Journal*, 11 (2001) 185–201.

## EKLER

**EK 1.** Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyuusal değerlendirme tablosu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Örnek Kodu:	Ezine Peyniri	AAA	BAA	CAA	ABA	BBA	CBA	ACA	BCA	CCA
Puan	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
Aroma										
Okside										
Kremamsı										
Whey aroması										
Ransit										
Tereyağımsı										
Keskin										
Meyvemsi										
Hayvansal koku										
Ekşi										

**EK 2.** EMP Ezine peyniri ve ekstraktlarının duyuusal değerlendirme tablosu

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Örnek Kodu:	EMP Ezine Peyniri	XXX	YXX	ZXX	XYX	YYX	ZYX	XZX T	YZX	ZZX
Puan	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
Aroma										
Okside										
Kremamsı										
Whey aroması										
Ransit										
Tereyağımsı										
Keskin										
Meyvemsi										
Hayvansal koku										
Ekşi										

### EK 3. EMP Ezine peynirinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait istatistiksel tablolar ve model denklemleri

#### Box-Behnken Design

##### Design Summary

Factors:	3	Replicates:	1
Base runs:	16	Total runs:	16
Base blocks:	1	Total blocks:	1

Center points: 4

##### Design Table (randomized)

Run	Blk	A	B	C
1	1	0	0	0
2	1	1	0	-1
3	1	-1	-1	0
4	1	-1	0	1
5	1	1	0	1
6	1	1	-1	0
7	1	0	1	1
8	1	1	1	0
9	1	0	-1	1
10	1	-1	1	0
11	1	0	0	0
12	1	0	0	0
13	1	0	1	-1
14	1	-1	0	-1
15	1	0	0	0
16	1	0	-1	-1

## Response Surface Regression: y versus Sıcaklık; Basınç; Etanol

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	6084315	676035	2,15	0,182
Linear	3	3970493	1323498	4,20	0,064
Sıcaklık	1	587257	587257	1,87	0,221
Basınç	1	259236	259236	0,82	0,399
Etanol	1	3124000	3124000	9,92	0,020
Square	3	1054663	351554	1,12	0,413
Sıcaklık*Sıcaklık	1	62876	62876	0,20	0,671
Basınç*Basınç	1	307859	307859	0,98	0,361
Etanol*Etanol	1	683929	683929	2,17	0,191
2-Way Interaction	3	1059159	353053	1,12	0,412
Sıcaklık*Basınç	1	12111	12111	0,04	0,851
Sıcaklık*Etanol	1	50445	50445	0,16	0,703
Basınç*Etanol	1	996603	996603	3,17	0,125
Error	6	1888592	314765		
Lack-of-Fit	3	1700551	566850	9,04	0,052
Pure Error	3	188041	62680		
Total	15	7972908			

### Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
561,040	76,31%	40,78%	0,00%

### Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	3102	281	11,06	0,000	
Sıcaklık	271	198	1,37	0,221	1,00
Basınç	180	198	0,91	0,399	1,00
Etanol	-625	198	-3,15	0,020	1,00
Sıcaklık*Sıcaklık	-125	281	-0,45	0,671	1,00
Basınç*Basınç	277	281	0,99	0,361	1,00
Etanol*Etanol	-413	281	-1,47	0,191	1,00
Sıcaklık*Basınç	55	281	0,20	0,851	1,00
Sıcaklık*Etanol	-112	281	-0,40	0,703	1,00
Basınç*Etanol	-499	281	-1,78	0,125	1,00

### Regression Equation in Uncoded Units

$$y = -703 + 140 \text{ Sıcaklık} - 6,8 \text{ Basınç} + 426 \text{ Etanol} - 1,25 \text{ Sıcaklık} * \text{Sıcaklık} + 0,0277 \text{ Basınç} * \text{Basınç} - 25,8 \text{ Etanol} * \text{Etanol} + 0,055 \text{ Sıcaklık} * \text{Basınç} - 2,81 \text{ Sıcaklık} * \text{Etanol} - 1,248 \text{ Basınç} * \text{Etanol}$$

### Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	y	Fit	Resid	Std Resid	
6	4164	3572	593	2,11	R
7	1187	1780	-593	-2,11	R

R Large residual

### Effects Plot for y

### Effects Pareto for y

## Response Surface Regression: y versus Sıcaklık; Basınç; Etanol

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	6084315	676035	2,15	0,182
Linear	3	3970493	1323498	4,20	0,064
Sıcaklık	1	587257	587257	1,87	0,221
Basınç	1	259236	259236	0,82	0,399
Etanol	1	3124000	3124000	9,92	0,020
Square	3	1054663	351554	1,12	0,413
Sıcaklık*Sıcaklık	1	62876	62876	0,20	0,671
Basınç*Basınç	1	307859	307859	0,98	0,361
Etanol*Etanol	1	683929	683929	2,17	0,191
2-Way Interaction	3	1059159	353053	1,12	0,412
Sıcaklık*Basınç	1	12111	12111	0,04	0,851
Sıcaklık*Etanol	1	50445	50445	0,16	0,703
Basınç*Etanol	1	996603	996603	3,17	0,125
Error	6	1888592	314765		
Lack-of-Fit	3	1700551	566850	9,04	0,052
Pure Error	3	188041	62680		
Total	15	7972908			

### Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
561,040	76,31%	40,78%	0,00%

### Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	3102	281	11,06	0,000	
Sıcaklık	271	198	1,37	0,221	1,00
Basınç	180	198	0,91	0,399	1,00
Etanol	-625	198	-3,15	0,020	1,00
Sıcaklık*Sıcaklık	-125	281	-0,45	0,671	1,00
Basınç*Basınç	277	281	0,99	0,361	1,00
Etanol*Etanol	-413	281	-1,47	0,191	1,00
Sıcaklık*Basınç	55	281	0,20	0,851	1,00
Sıcaklık*Etanol	-112	281	-0,40	0,703	1,00
Basınç*Etanol	-499	281	-1,78	0,125	1,00

### Regression Equation in Uncoded Units

$$y = -703 + 140 \text{ Sıcaklık} - 6,8 \text{ Basınç} + 426 \text{ Etanol} - 1,25 \text{ Sıcaklık}^2 + 0,277 \text{ Basınç}^2 - 25,8 \text{ Etanol}^2 + 0,055 \text{ Sıcaklık} \cdot \text{Basınç} - 2,81 \text{ Sıcaklık} \cdot \text{Etanol} - 1,248 \text{ Basınç} \cdot \text{Etanol}$$

### Fits and Diagnostics for Unusual Observations

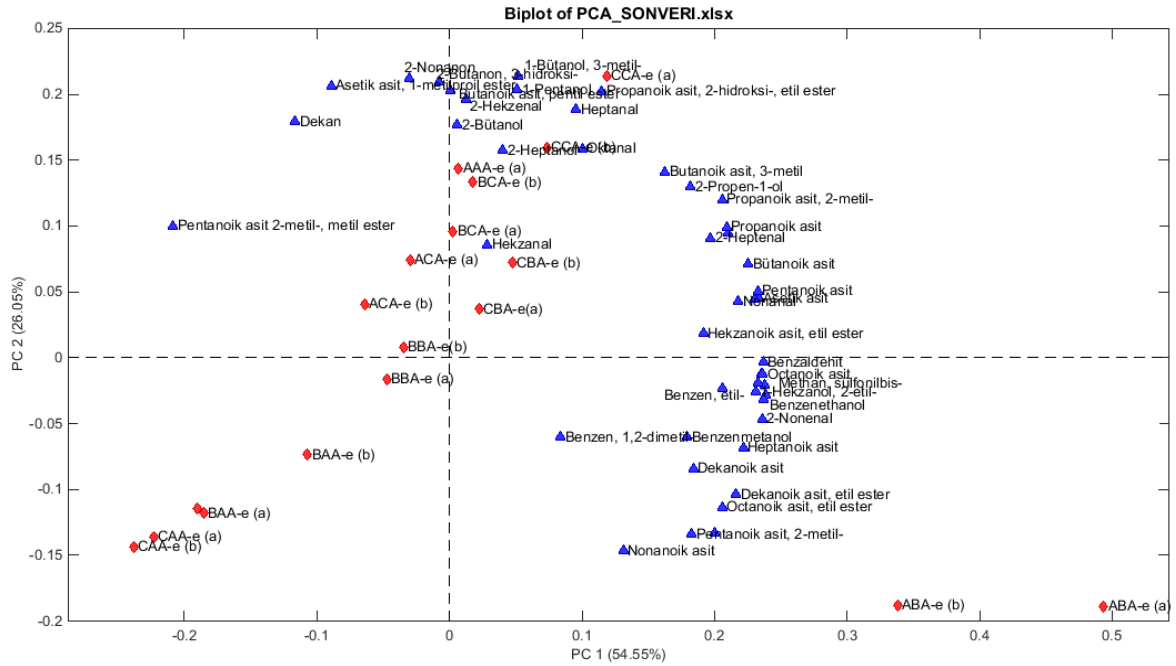
Obs	y	Fit	Resid	Std Resid	
6	4164	3572	593	2,11	R
7	1187	1780	-593	-2,11	R

R Large residual

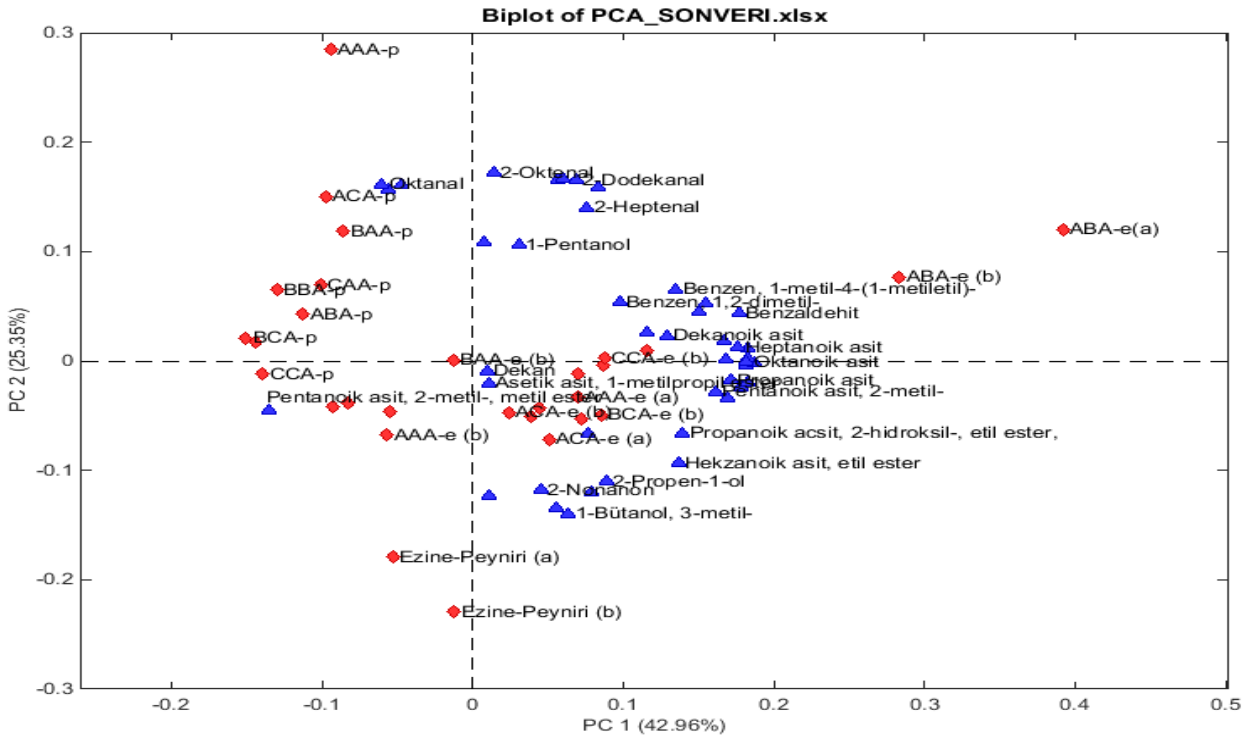
### Effects Pareto for y

### Normplot of Residuals for y

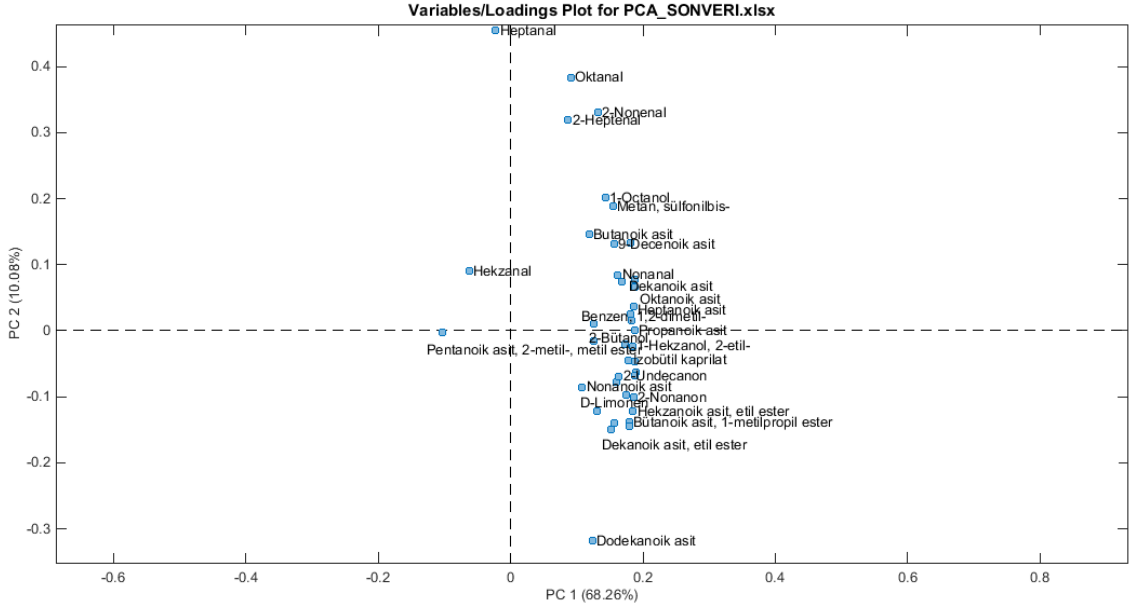
**EK 4A.** Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği



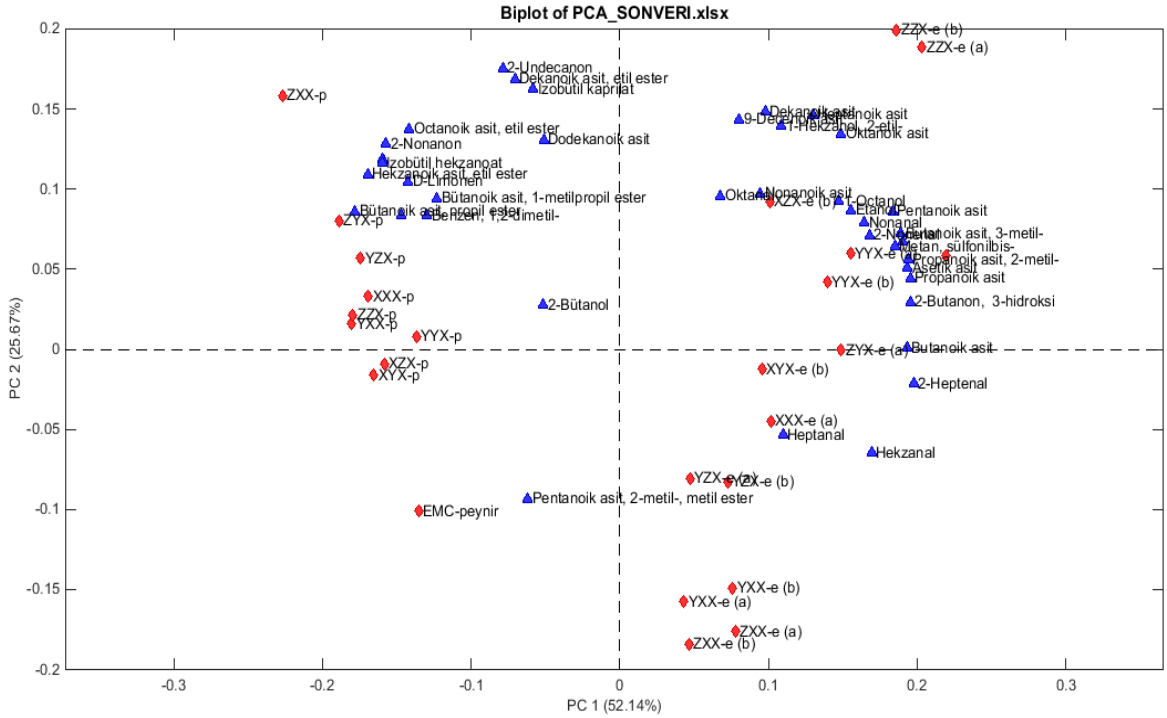
**EK 4B.** Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlerin temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği



**EK 5A.** EMP Ezine peynirinden elde edilen ekstraktların temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği



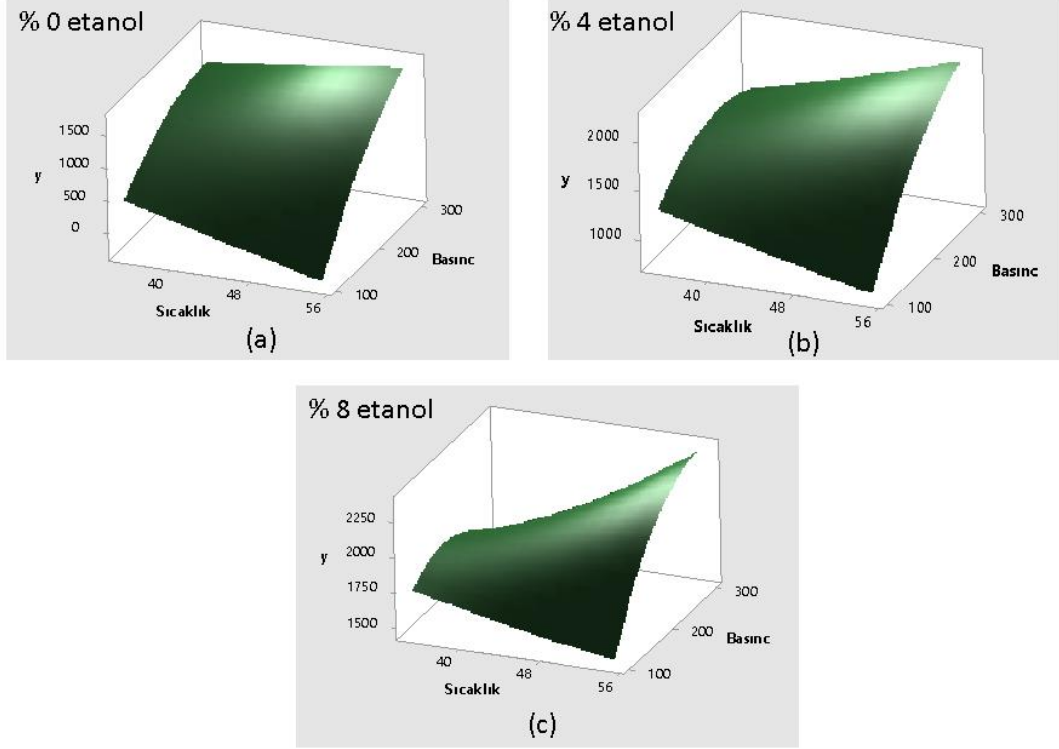
**EK 5B.** Ezine peyniri, Ezine peynirinden elde edilen ekstraktlar ve peletlerin temel bileşim analizine ait bi-plot grafiği



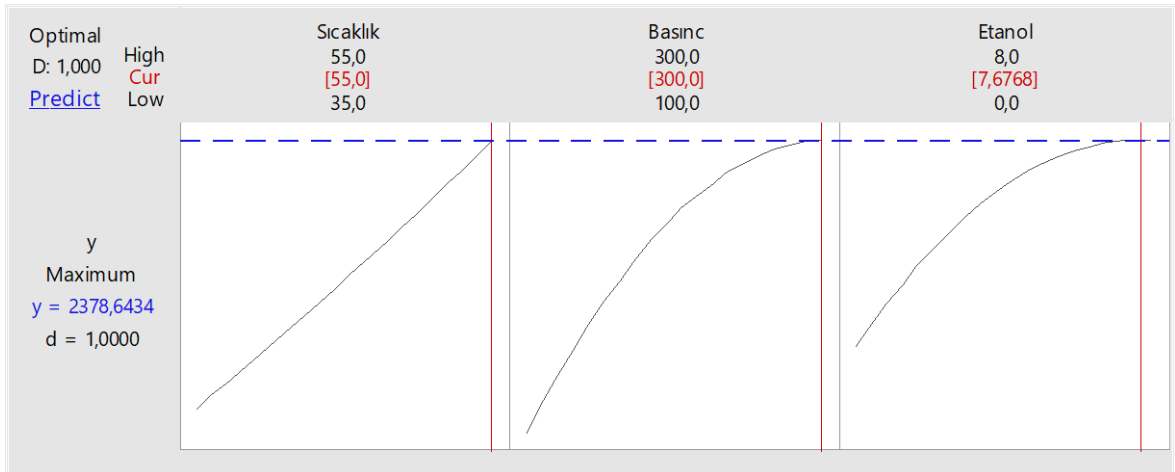




**EK 7A.** Ezine peynirinde asit sayısı (mg KOH/kg ekstrakt) için % etanol konsantrasyonunun değişimine göre yüzey grafikleri.



**EK 7B.** Ezine peynirinde asit sayısı için (mg KOH/kg ekstrakt) için optimizasyon grafiği



**EK 8.** Ezine peynirinde ekstraksiyon koşullarının optimizasyonuna ait istatistiksel tablolar ve model denklemini

## Box-Behnken Design

### Design Summary

Factors:	3	Replicates:	1
Base runs:	16	Total runs:	16
Base blocks:	1	Total blocks:	1

Center points: 4

### Design Table (randomized)

Run	Blk	A	B	C
1	1	0	0	0
2	1	1	-1	0
3	1	0	1	1
4	1	1	1	0
5	1	0	0	0
6	1	0	-1	1
7	1	0	0	0
8	1	-1	0	-1
9	1	-1	1	0
10	1	0	1	-1
11	1	1	0	1
12	1	-1	-1	0
13	1	-1	0	1
14	1	1	0	-1
15	1	0	-1	-1
16	1	0	0	0

## Response Surface Regression: y versus Sıcaklık; Basınc; Etanol

### Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	4473258	497029	6,59	0,016
Linear	3	3427554	1142518	15,16	0,003
Sıcaklık	1	7076	7076	0,09	0,770
Basınc	1	1521246	1521246	20,18	0,004
Etanol	1	1899232	1899232	25,20	0,002
Square	3	342822	114274	1,52	0,304
Sıcaklık*Sıcaklık	1	1447	1447	0,02	0,894
Basınc*Basınc	1	208330	208330	2,76	0,147
Etanol*Etanol	1	133044	133044	1,77	0,232
2-Way Interaction	3	702882	234294	3,11	0,110
Sıcaklık*Basınc	1	340448	340448	4,52	0,078
Sıcaklık*Etanol	1	58749	58749	0,78	0,411
Basınc*Etanol	1	303686	303686	4,03	0,092
Error	6	452268	75378		
Lack-of-Fit	3	445109	148370	62,18	0,003
Pure Error	3	7159	2386		
Total	15	4925526			

### Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
274,551	90,82%	77,04%	0,00%

### Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	1678	137	12,23	0,000	
Sıcaklık	29,7	97,1	0,31	0,770	1,00
Basınc	436,1	97,1	4,49	0,004	1,00
Etanol	487,2	97,1	5,02	0,002	1,00
Sıcaklık*Sıcaklık	19	137	0,14	0,894	1,00
Basınc*Basınc	-228	137	-1,66	0,147	1,00
Etanol*Etanol	-182	137	-1,33	0,232	1,00
Sıcaklık*Basınc	292	137	2,13	0,078	1,00
Sıcaklık*Etanol	121	137	0,88	0,411	1,00
Basınc*Etanol	-276	137	-2,01	0,092	1,00

### Regression Equation in Uncoded Units

$$y = 2095 - 85 \text{ Sıcaklık} + 3,12 \text{ Basınc} + 214 \text{ Etanol} + 0,19 \text{ Sıcaklık*Sıcaklık} - 0,0228 \text{ Basınc*Basınc} - 11,40 \text{ Etanol*Etanol} + 0,292 \text{ Sıcaklık*Basınc} + 3,03 \text{ Sıcaklık*Etanol} - 0,689 \text{ Basınc*Etanol}$$

### Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	y	Fit	Resid	Std Resid	
2	493	771	-278	-2,03	R
3	1862	1584	278	2,03	R

R Large residual

### Effects Pareto for y

### Normplot of Residuals for y