



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TEK AŞAMALI ÜRETİM TEKNİĞİ İLE ENZİM MODİFİYE PEYNİR
ÜRETİMİ

ENİSE BETÜL BOLAT
YÜKSEK LİSANS



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

TEK AŞAMALI ÜRETİM TEKNİĞİ İLE ENZİM MODİFİYE PEYNİR
ÜRETİMİ

ENİSE BETÜL BOLAT
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
DOC. DR. ZAFER ERBAY

ADANA 2021



Bu tezde yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm bilgiler için atıf verdiğimi ve kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Enise Betül BOLAT

ÖZET

TEK AŞAMALI ÜRETİM TEKNİĞİ İLE ENZİM MODİFİYE PEYNİR ÜRETİMİ

Enise Betül BOLAT

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Zafer ERBAY

Ağustos 2021, 90 sayfa

Peynir lezzetini geliştirmek veya yoğunlaştırmak için, taze peynirin kontrollü koşullarda enzimle işlenmesi sonucu elde edilen ürüne enzim modifiye peynir (EMP) denilmektedir. EMP, çeşitli gıda formülasyonlarında doğal lezzet katkısı olarak kullanılmaktadır. EMP üretiminin temeli; süt, pıhtı veya taze peynirin ekzojen enzim ve/veya mikroorganizmalarla inkübe edilmesine dayanmaktadır. EMP temel olarak üç yöntem ile üretilebilir. Bu yöntemlerden biri "tek aşamalı üretim tekniği"dir. Bu yöntem süre, maliyet ve endüstriyel uygulanabilirlik açısından avantajları olan; ancak işlem kontrolü ve optimizasyonu diğer yöntemlere göre görece daha zor olan üretim tekniği olarak değerlendirilmektedir. EMP üretim teknikleri ve üretim parametreleri, istenilen lezzette ve kararlılıkta bir EMP ürünü elde etmek için önem arz etmektedir.

Bu tez çalışmasında, "tek aşamalı üretim tekniği" ile Beyaz peynir lezzetinde EMP üretimi gerçekleştirilmiş ve üretimdeki işlem koşulları optimize edilmiştir. Çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada üretimde etkili işlem koşullarının EMP özellikleri üzerine etkileri ve etkilerin önem düzeyleri incelenmiştir. İlk aşamanın sonunda, EMP özellikleri üzerinde etkisi en yüksek olan 3 işlem koşulu; inkübasyon sıcaklığı (30-60 °C aralığı), inkübasyon karıştırma hızı (50-250 rpm aralığı) ve inkübasyon süresi (12-48 saat aralığı) olarak belirlenmiştir. İkinci aşamada ise, seçilen işlem koşullarının optimizasyonu yanıt yüzey yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimizasyonda hedeflenen yanıtlar ve kriterler; trikloroasetik asitte çözünür azotun, suda çözünür azota oranı (TCA-ÇA/SÇA), oranı için minimum değer, serbest amino asit indeksi (SAI) için maksimum değer, toplam serbest yağ asitleri için maksimum değer, toplam uçucu serbest yağ asitleri için minimum değer, toplam

uçucu bileşik miktarı için maksimum değer, olgun Beyaz peynire duyusal benzerlik için ise en yüksek değer olarak belirlenmiştir. Tek aşamalı üretim tekniği ile EMP retiminde optimum işlem koşulları, 46.8  C inkübasyon sıcaklığı, 205 rpm karıştırma hızı, 34 saat 42 dakika inkübasyon süresi olarak saptanmıştır. Optimizasyonun doğrulması yapılmış; doğrulama sonucu elde edilen deneysel veriler ile optimizasyonda oluşturulan modeldeki tahmin edilen değerler arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı ($P>0.05$) saptanmıştır.

Bu çalışmada, daha önce iki aşamalı üretimi ve üretim optimizasyonu yapılmış olan olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP'nin, tek aşamalı olarak üretilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonucunda, hedeflenen lezzet özelliklerine sahip EMP "tek aşamalı üretim tekniği" ile üretilmiş ve optimizasyonu yapılmıştır. Olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP, tek aşamalı üretim tekniği ile, iki aşamalı üretim tekniğine göre daha kısa sürede üretilmiştir.

Anahtar Kelimeler: enzim modifiye peynir, proteoliz, lipoliz, uçucu bileşikler, optimizasyon

ABSTRACT

ENZYME MODIFIED CHEESE PRODUCTION WITH A ONE-STAGE PRODUCTION TECHNIQUE

Enise Betül BOLAT

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zafer ERBAY

August 2021, 90 pages

Enzyme modified cheese (EMC) is the product obtained by processing fresh cheese with enzymatic treatments under controlled conditions to improve or intensify cheese flavor. EMC as a natural flavor additives are used to give or enhance cheese flavor in the formulations of various foods. The basis of EMC production; is based on the incubation of milk, cheese curd or fresh cheese with exogenous enzymes and/or microorganisms. EMC can be produced with three different production techniques. One of these methods is the "one-stage production technique". This method has advantages in terms of time, cost and industrial applicability; however, process control and optimization are considered as a production technique that is relatively more difficult than other methods. EMC production techniques and production parameters are important to obtain an EMC product with the desired flavor and stability.

In this thesis, EMC in white cheese flavor was produced with the "one-stage production technique" and the processing conditions in the production were optimized. The thesis work consists of two stages. In the first stage, the effects of processing conditions in production on the EMC properties and the importance levels of the effects were investigated. At the end of the first stage, the 3 process conditions with the highest impact on the EMC properties; incubation temperature (range 30-60 °C), incubation agitation speed (range 50-250 rpm), and incubation time (12-48 hours). In the second stage, the optimization of the selected process conditions was carried out using the response surface method. The response targeted in the optimization and the criteria for the response; the minimum value for ratio of nitrogen soluble in trichloroacetic acid to water soluble nitrogen (TCASN/WSN), the maximum value for free

amino acid index (FAAI), the maximum value for total free fatty acids, the minimum value for total volatile free fatty acids, the maximum value for total volatile, and the highest value for sensory similarity to ripened white cheese were determined. Optimum processing conditions were determined as 46.8 °C incubation temperature, 205 rpm agitation speed, 34 hours 42 minutes incubation time in EMC production with one-stage production technique. The optimization has been verified. It was determined that there was no statistically significant difference ($P>0.05$) between the experimental data obtained as a result of the validation and the estimated values in the model created in the optimization.

In this study, it is aimed to produce an EMC with ripened white cheese flavor, which has been previously produced and production optimized via "two-stages production technique", by using "one-stage production technique". As a result of the study, EMC in targeted flavor characteristics was produced by using "one-stage production technique" and production was optimized. EMC in white cheese flavor was produced in a shorter time with the one-stage production technique compared to the two-stage production technique.

Keywords: enzyme-modified cheese, proteolysis, lipolysis, volatile compounds, optimization

Tez çalışmamı anneme ve babama ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin başından beri bana inanan, bilgi ve birikimiyle her konuda ışık tutan, tez çalışmamın her aşamasında yardım ve desteğini esirgemeyen çok değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Zafer ERBAY'a;

Jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Mustafa ÇAM ve Sayın Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU'na;

Yüksek lisans eğitimimin başlamasına vesile olan, çalışma sürecim boyunca analizlerde yardım ve desteğini esirgemeyen, zor süreçlerde yanımda olan doktora öğrencisi Pelin SALUM'a;

Çalışmalarım süresince desteği ve arkadaşlığı için yüksek lisans öğrencisi Aysun ALTINYÜZÜK'e

Her zaman olduğu gibi yüksek lisans dönemimde desteğini esirgemeyen, yanımda olduğu için kendimi sonsuz şanslı hissettiğim yol arkadaşım Ömer Aydın GEDİK'e,

Hayatımın her döneminde maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme,

Sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Bu tez 120O115 proje numarası ile Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK) tarafından desteklenmiştir. TÜBİTAK'a sağladıkları maddi destekten ötürü teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
2.1. Doğal Bir Peynir Lezzet Katkısı: EMP	4
2.2. EMP Lezzeti.....	6
2.3. EMP Lezzeti ile ilgili Yapılan Çalışmalar	11
2.4. EMP'nin Katkı Olarak Kullanımı ile ilgili Çalışmalar	12
2.5. Enzim Modifiye Peynir Üretimi.....	14
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	24
3.1. Malzeme	24
3.2. Yöntem	24
3.2.1. Enzim Modifiye Peynir Üretim Prosedürü.....	24
3.2.2. Deneme Planı	26
3.2.3. Uygulanan Analiz Yöntemleri	26
3.2.3.1. Bileşim Analizleri	26
3.2.3.2. Çözünür Azot Fraksiyonlarının Tayini ve Olgunlaşma İndeksi Düzeyleri	27
3.2.3.3. Serbest Yağ Asidi Bileşiminin ve Miktar Analizi	28
3.2.3.4. Uçucu Bileşen Analizi.....	29
3.2.3.5. Duyusal Analiz	30
3.2.3.6. İstatiksel Analiz	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	33
4.1. Aşama 1: Etkili İşlem Koşullarının Belirlenmesi	33
4.1.1. Enzim Modifiye Peynirlerinin Proteolitik Olgunlaşma Düzeyi.....	33
4.1.2. Enzim Modifiye Peynirlerinin Lipolitik Olgunlaşma Düzeyi	35
4.1.3. Enzim Modifiye Peynirlerinin Uçucu Bileşenleri ve Miktarı	38
4.1.4. Enzim Modifiye Peynirler Üzerinde En Etkili 3 Üretim Koşulunun Belirlenmesi	42
4.2. Aşama 2: Seçilen İşlem Koşullarının Optimizasyonu	43
4.2.1. EMP'lerin Proteolitik Olgunlaşma Düzeyi	44
4.2.2. EMP'lerin Lipolitik Olgunlaşma Düzeyi	47

4.2.3.	EMP'lerin Uçucu Bileşikleri ve Miktarları	50
4.2.4.	EMP'lerin Duyusal Değerlendirmesi	51
4.2.5.	Optimizasyon ve Doğrulama	53
5.	SONUÇLAR.....	55
	KAYNAKLAR.....	57



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.Amino asit katabolizması.....	7
Şekil 2.2.Yağ asitleri katabolizması.....	10
Şekil 2.3.İki aşamalı üretim tekniği ile EMP üretimi	19
Şekil 2.4.Bileşen bazlı üretim yaklaşımı ile EMP üretimi	20
Şekil 2.5.Tek aşamalı üretim tekniği ile EMP üretimi.....	21
Şekil 3.1.Tez çalışmasında kullanılan EMP üretim tekniği	25
Şekil 4.1. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon karıştırma hızı ile sıcaklığı değişiminin TCA- ÇA/SÇA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği	45
Şekil 4.2.Sabit inkübasyon sıcaklığında (45°C), inkübasyon karıştırma hızı ile süresinin TCA- ÇA/SÇA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey ve grafiği.	46
Şekil 4.3.Sabit sürede (30 sa), karıştırma hızı ile inkübasyon sıcaklığı değişiminin SAI değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.....	47
Şekil 4.4.Sabit sürede (40.7sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin SAI değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.....	47
Şekil 4.5.Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin TSYA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.....	48
Şekil 4.6.Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin TUSYA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.....	49
Şekil 4.7.Sabit karıştırma hızında (150 rpm), inkübasyon sıcaklığı ile süresinin değişiminin Uçucu SYA üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.	50
Şekil 4.8.Sabit sürede (30 sa), inkübasyon karıştırma hızı ile sıcaklığı değişiminin toplam uçucu bileşik değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.	51
Şekil 4.9.Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin olgun beyaz peynir lezzetine benzerlik duyusal değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.	52
Şekil 4.10.Sabit karıştırma hızında (150 rpm), inkübasyon sıcaklığı ile süresinin değişiminin olgun beyaz peynir lezzetine benzerlik duyusal değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.	52

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1 Üretim tekniklerinin temel avantaj ve dezavantajları.	18
Tablo 2.2. Enzimler arası etkileşim ile ilgili yapılan bazı literatür çalışmaları.....	22
Tablo 3.1. Çalışmanın 1. aşamasında kullanılan 2 Düzeyli Fraksiyonel Faktöriyel Deneme Tasarımı.....	31
Tablo 3.2. Çalışmanın 2. aşamasında, optimizasyonda kullanılan Merkezi Karma Dönel Tasarım deneme planı.	32
Tablo 4.1. Çalışılan işlem koşullarının çözünür azot fraksiyonları ve olgunlaşma indeksleri üzerine etkileri*	35
Tablo 4.2. Çalışılan işlem koşullarının kısa zincirli SYA'lerine etkileri*	37
Tablo 4.3. Çalışılan işlem koşullarının SYA'leri üzerine etkileri*	38
Tablo 4.4. Çalışılan işlem koşullarının uçucu asitler üzerine etkileri*	39
Tablo 4.5. Çalışılan işlem koşullarının aldehitler ve ketonlar üzerine etkileri*	40
Tablo 4.6. Çalışılan işlem koşullarının diğer uçucu bileşikler üzerine etkileri*	42
Tablo 4.7. Seçilen 6 yanıt için ANOVA analizi sonucu p-değerleri.	44
Tablo 4.8. Belirlenmiş olan teorik optimum işlem koşullarının deneysel verilerle doğrulaması.	54

KISALTMALAR

EMP	: Enzim modifiye peynir.
ANOVA	: Varyans analizi.
IDF	: Uluslararası Sütçülük Federasyonu (International Dairy Federation).
GC	: Gas Chromatography (Gaz Kromatografisi).
FID	: Flame Ionization Detector (Alev İyonlaşma Dedektörü).
SPME	: Solid-Phase Microextraction (Katı Faz Mikroekstraksiyon).
LRI	: Linear Retention Index (Linear Alıkonma İndeksi).
TA	: Toplam Azot.
SÇA	: Suda Çözünür Azot.
TCA	: Trikloroasetik asit.
TCA-ÇA	: Trikloroasetik asitte çözünür azot.
PTA	: Fosfotungustik asit.
PTA-ÇA	: Fosfotungustik asitte çözünür azot.
OUI	: Olgunlaşma Uzama İndeksi.
OYİ	: Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi.
SAİ	: Serbest Amino Asit İndeksi.
SYA	: Serbest Yağ Asitleri.
TSYA	: Toplam Serbest Yağ Asitleri.
TSYA-UZUN	: Uzun Zincirli Serbest Yağ Asitleri.
TUSYA	: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asitleri.
SH	: Ortalama Standart Hata.
µm	: Mikrometre
°C	: Santigrat derece
m	: metre
mL	: Mililitre
s	: Saniye
sa	: Saat

1. GİRİŞ

Peynir, 1.000'den fazla çeşidi olan en önemli süt ürünlerinden biridir (Fox, 2011). Peynir, kahvaltılarda vazgeçilmez bir süt ürünü olduğu gibi, endüstriyel sektörde, ev/catering (yemek servisi) sektörlerinde ve mutfak yemeklerinin hazırlanmasında doğrudan bir bileşen olarak kullanılmaktadır. Bu anlamda peynir, doğrudan tüketilmesinin yanında, gıda uygulamalarında peynir lezzeti kazandırmak veya gıdada var olan peynir lezzetini artırmak için lezzet verici/artırıcı bir bileşen olarak da kullanılabilir. Peynir, gıdaların lezzetini arttırmak ve ağız hissi özelliklerini iyileştirmek için kullanılabildiği gibi, görünüm ve yapışkanlık özellikleri gibi fonksiyonel özelliklerinden dolayı da bir gıda bileşeni olarak kullanılabilmektedir. Bu işlevsel özellikleri elde edilmesi ve arzu edilen lezzetin gelişmesi için olgunlaştırılması ve işlenmesi gerekmektedir (Fox, Guinee, Cogan ve McSweeney, 2000; Guinee, 2011; Guinee ve Kilcawley, 2004). Bununla birlikte, olgun peynirlerin lezzet katkısı olarak doğrudan kullanımlarında çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu sorunlar; standart olmayan veya yetersiz peynir lezzeti, son üründe aşırı laktoz veya yağ düzeyleri, ürünlere doğrudan işlenmesinde uygulanabilirlik sorunları ve olgunlaşma sürecinin uzunluğundan kaynaklı yüksek maliyetler olarak sıralanabilir. Bütün bu sorunlara çözüm arayışları, alternatif peynir lezzet katkılarının geliştirilmesini sağlamıştır. Olgun peynirlere alternatif olarak geliştiren peynir lezzet katkıları ile ilgili çalışmalar bilimsel literatürde artış göstermektedir. Bununla birlikte son yıllarda piyasada peynir lezzet katkılarının kullanımı da hızla yaygınlaşmaktadır. Bu lezzet katkıları içerisinde ön plana çıkan ürünlerden birisi enzim modifiye peynirdir (EMP).

EMP, olgun peynirlere kıyasla 15-30 kat yoğun lezzetli ve uygun maliyetli alternatif doğal lezzet katkılarından biridir. Peynir lezzetinin geliştirilmesi veya yoğunlaştırılması için veya başka bir ifade ile olgunlaşma sürecini kısaltmak için, peynirin enzim ile işlenmesi sonucu elde edilen ürüne EMP denilmektedir (Moskowitz ve Noelck, 1987). EMP üretiminin temeli, dışarıdan ilave edilen proteolitik ve lipolitik enzimlerle hedeflenen peynir lezzetine ulaşmaktır. Hedeflenen peynir lezzetine ulaşmayı kolaylaştırmak amacıyla, hedeflenen peynirin taze hali veya peynir pıhtısı EMP üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Bu hammadde homojen ve stabil bir akışkana dönüştürülmekte ve sonrasında kontrollü

koşullarda enzimatik hidroliz ile hedeflenen lezzete ulaşılmaktadır. Enzimatik reaksiyonlar ise ısı ile durdurulmaktadır.

EMP üretiminin 3 farklı yolla yapılmasının mümkün olduğu belirtilmektedir (Kilcawley, Wilkinson ve Fox, 1998; Moskowitz ve Noelck, 1987; Wilkinson, Doolan ve Kilcawley, 2011). Literatür çalışmalarında kullanılan üretim tekniği "iki aşamalı üretim tekniği"dir. Bu teknikte taze peynir kontrollü koşullarda, önce proteolize uğratılmakta, proteoliz sonucu enzimatik aktivite ısı ile durdurulmakta, sonrasında ise ürün lipolitik enzimlerle muamele edilmektedir (Kilcawley, Wilkinson ve Fox, 2006; West, 2007). Diğer üretim tekniği ise "bileşen bazlı üretim yaklaşımı"dır ve bu teknikte lipoliz ile proteoliz farklı hammaddelerde ayrı ayrı gerçekleştirilmektedir. Krema veya sade yağın lipolizi ile elde edilen ve taze peynirin proteolizi ile elde edilen ara ürünler istenilen oranlarda karıştırılarak EMP üretilmektedir (Kilcawley ve diğerleri, 1998; Wilkinson ve diğerleri, 2011). Üçüncü üretim tekniği ise, "tek aşamalı üretim tekniği"dir. Bu teknikte, tek bir hammaddeden, tek bir tankta, proteoliz ve lipoliz eşzamanlı olarak gerçekleştirilmektedir. Tek aşamalı üretim tekniği maliyet ve endüstriyel uygulanabilirlik açısından diğer yöntemlere göre daha avantajlı olmasına karşın, hedeflenen özgün lezzetin elde edilmesi ve sürecin tasarımı görece zordur. Bundan dolayı, "tek aşamalı üretim tekniği" ile EMP üretimi literatürde hiç çalışılmamıştır.

Bu tez çalışmasında, daha önce iki aşamalı üretimi ve üretim optimizasyonu yapılmış olan olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP'nin tek aşamalı olarak üretilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, tek aşamalı üretimde etkili işlem koşullarına dair literatürde herhangi bir bilgi de bulunmadığı için, öncelikle üretim koşullarının EMP özellikleri üzerine etkileri ve etkilerin önem düzeylerini belirlenmiş, daha sonra ise bu işlem koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Tez çalışması iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama, üretimde etkili işlem koşullarının belirlenmesi; ikinci aşama ise üretimin optimizasyonu olacak şekilde ele alınmıştır. Çalışmanın ilk aşamasında, 6 üretim koşulu belirlenmiştir. Bunlar; inkübasyon süreci üzerinde etkili olduğu düşünülen işlem koşulları (inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi ve inkübasyon karıştırma hızı), kullanılacak enzimlerin konsantrasyonları (proteolitik ve lipolitik enzimlerin oranları) ve ön işlem olarak homojenizasyon işlemidir. Bu amaç doğrultusunda, EMP üretimi gerçekleştirilmiş, üretilen EMP'lerin azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikler belirlenmiştir. Analiz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilerek işlem koşullarının EMP özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. EMP

özellikleri üzerinde etkisi en yüksek 3 işlem koşulu; inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi ve inkübasyon karıştırma hızı olarak belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında, seçilen işlem koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda, belirlenen 3 koşulda çalışılarak, “tek aşamalı üretim tekniği” ile EMP üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen EMP'lerin azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikleri ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Analiz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilerek, optimum koşullar belirlenmiştir. Son olarak, hesaplanmış olan optimum koşullarda doğrulama amacıyla ek üretim ve analizler yapılmış, hesaplanan değerlerle deneysel değerlerin uyumu saptanmıştır.



2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Doğal Bir Peynir Lezzet Katkısı: EMP

Hazır gıdaların gelişimi ile lezzet katkılarına olan talep artmıştır. Lezzet katkıları içerisinde peynir lezzeti önemli bir yer tutmakta ve kullanımı da yaygınlaşmaktadır. Peynir lezzeti veren/arttıran katkılara olan bu talep, peynir lezzet katkılarını gelişmesini sağlamıştır. Peynir lezzeti sağlayan katkılar, üretim tekniğine bağlı olarak doğal, doğala özdeş veya yapay olabilir. Bununla birlikte, doğala özdeş ve/veya yapay peynir aromaları üretimi, peynir aromasının karmaşık ve dinamik yapısı nedeniyle çok zordur (Kilcawley ve diğerleri, 1998, 2006; Salum, Erbay ve Selli, 2019; Sibeijn ve Wouters, 2009). Üretim tekniklerinde, özellikle aroma bileşiklerinin kimyasal sentezinde karşılaşılan bazı problemler vardır. Bu süreçler çevre dostu değildir maliyetlidir (Longo ve Sanroman, 2006; Salum ve diğerleri, 2019). Ayrıca son yıllarda doğal ürünlere yönelik artan eğilim sonucu sentetik lezzet katkıları tercih edilmemektedir. Peynir lezzeti sağlayan doğal katkı maddeleri ise, peynir tozu ve enzim modifiye peynir olarak iki ana gruba ayrılabilir (Erbay ve Koca, 2015; Guinee ve Kilcawley, 2004; West, 2007).

Katkı maddesi/lezzet artırıcı olarak peynir lezzetini üretmenin en basit yolu, peynirin emülsifiye edici tuzlarla işlenmesi sonucu (ısı ve mekanik etki ile) elde edilen homojen peynir bulamacının püskürtmeli kurutma ile toza dönüştürülmesidir. Bu şekilde, peynir lezzeti toz forma dönüştürülebilmekte ve endüstriyel olarak peynirlerin doğrudan kullanımında karşılaşılan pratik sorunların önemli bir kısmı aşılabilmektedir. Aynı zamanda, üretim tekniğinin kolaylığı, uzun raf ömrü ve artan lezzet yoğunluğu (2-5 kat fazla) peynir tozunun kullanımını ve peynir tozu ile ilgili yapılmış bilimsel çalışmaları son yıllarda artmıştır (da Silva, Ahrne, Larsen, Hougaard ve Ipsen, 2018a; da Silva, Hirschberg, Larsen, Hougaard ve Ipsen, 2018b; da Silva, Larsen, Hougaard, ve Ipsen, 2017; da Silva ve diğerleri, 2019; da Silva ve diğerleri, 2020a, da Silva ve diğerleri, 2020b; Erbay ve Koca, 2015, 2019; Erbay, Koca, Kaymak-Ertekin ve Ucuncu, 2015; Koca, Erbay ve Kaymak, 2015; Sahin, Erbay ve Koca, 2018; Varming, Andersen, Petersen ve Ardö, 2011; Varming, Beck, Petersen, ve Ardo, 2013). Buna karşın, kaliteli bir peynir tozu elde edebilmek için de hammadde olarak olgun peynirlerin kullanımı kaçınılmazdır ve olgun peynirlerin kullanımından kaynaklanan sorunlar

(olgunlaşma sürecinden kaynaklı yüksek maliyetler, standart ürün eldesinde sorunlar vb) peynir tozu için de geçerli olmaktadır. Buna ilave olarak, püskürtmeli kurutma işlemi sırasında gerçekleşen lezzet kayıpları gibi bazı teknik sorunlarla karşılaşilmektedir. Diğer doğal lezzet katkısı alternatifi olan EMP’de ise, hammadde olarak taze peynir veya pıhtı kullanılmakta ve olgunlaşma süreci kontrollü koşullarda taklit edilmektedir. Yani, olgun peynir kullanımına olan bağımlılık bu yöntemle ortadan kalkmakta ve olgun peynir kullanımından kaynaklanan sorunlar da aşılabilmektedir.

Peynir lezzetinin geliştirilmesi veya yoğunlaştırılması için veya başka bir ifade ile olgunlaşma sürecini kısaltmak için peynirin enzim ile işlenmesi sonucu elde edilen ürüne enzim modifiye peynir (EMP) denilmektedir. EMP’lerde, olgun peynirde bulunan lezzetin 15-30 kat daha yoğun haline 1-7 gün gibi kısa sürelerde ulaşılabilir. Yüksek lezzet yoğunluğu nedeniyle EMP’ler, gıdalara genellikle çok düşük seviyelerde (%0.1-2.0, w/w) eklenir (Kilcawley ve diğerleri, 1998). EMP ile ilgili herhangi bir tebliğ veya standart bulunmamakla birlikte, EMP’lerin sıvı formda olanlarının nem içeriği genellikle %40-60 ve toz formdakilerin ise %5-10 aralığında olduğu bilinmektedir (Erbay, Salum ve Gökçe, 2017). Ayrıca EMP’lerde kalıntı enzim aktivitesinin bulunmaması gerekmektedir. Lezzet katkısı olarak EMP kullanımının tarihsel sürecinin, ilk olarak eritme peynirinin eldesi ile başladığı söylenebilir. 1911 yılında İsviçre’de eritme peyniri üretilmiş ve homojen yapıda pastörize bir peynir ürünü elde edilmiştir. EMP üretim teknolojisi ise eritme peynirine enzim ilavesi ile başlamış, 1969’da Amerika Birleşik Devletleri’nde onaylanmıştır. EMP’nin büyük ölçekli kullanımı ise 1970’lerin ortalarında başlamıştır. Günümüzde, Avrupa’da tatlandırıcı preparat olarak sınıflandırılırken, ABD’de GRAS (Generally Recognized as Safe; Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen) onaylıdır (Fox, McSweeney, Cogan, ve Guinee, 2004). EMP’nin gıda formülasyonlarında çok farklı ürünlere katıldığı bilinmektedir. Peynir lezzeti içeren salata soslarında, soslarda, çorbalarda, mezelerde, çeşnilerde, kuruyemiş ve çerezlerde, cipslerde, krakerlerde, bisküvilerde, fırın ve pastacılık ürünlerinde, kek karışımlarında, tatlılarda, çikolata ve şekerleme sanayinde, makarna ürünlerinde, dondurulmuş gıdalarda, hazır yemeklerde, konserve ürünlerinde, dolgu ve kaplamalarda, omletlerde, gratinlerde, blok veya sürülebilir eritme peynirlerinde, az yağlı veya yağsız peynirlerde, doğal peynir olgunlaşmasının hızlandırılmasında, peynir taklit ve benzerlerinde kullanılmaktadır (Erbay ve diğerleri, 2016).

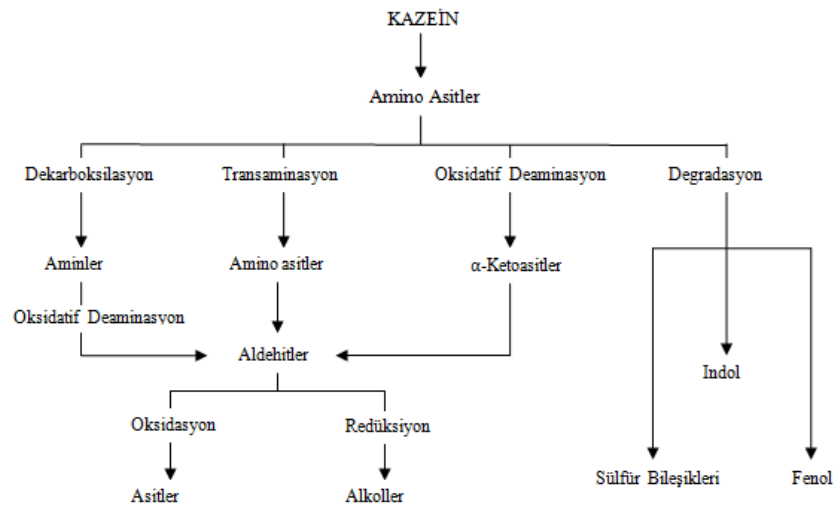
EMP, endüstriyel prosese uygulanabilirliği ile olgun peynirlere doğal ve ekonomik bir alternatiftir ve çeşitli avantajlara sahiptir. Bu avantajların başında; yoğun lezzete sahip olması ve olgunlaşma süresini kısa sürelerle indirmesi gelmektedir. Bir diğer avantajı ise, düşük yağlı ürünlerin üretimine ve farklı lezzet ve lezzet yoğunluklarında çeşitli ürünlerin geliştirilmesine uygun olmasıdır. EMP'ler, peynir içeren dondurulmuş ürünler için idealdir. Peynirdeki proteinler dondurulduklarında pıhtılaşma eğilimindedir. Ancak, EMP'deki proteinler daha çözünür peptitlere ve aminoasitlere hidrolize edildiğinden, bu problemlerin üstesinden gelinebilmektedir. Bu sayede doku ve ağız hissini olumsuz etkilemeden, yüksek kaliteli donmuş ürünler üretilebilir. EMP'ler, ikamesi olarak kullanılan olgun peynirlere kıyasla, dokunun kalite açısından bir önemi olmaması ve EMP ile ilgi son üründe mevzuatta sınır olmaması nedeniyle üretimde kolaylık sunar. Proses kontrolünün sağlanabilmesi ile standart ürün üretimi ve üretimde farklı işlem koşullarının uygulanabilir olması, endüstriyel kullanımındaki bir diğer kolaylıklarındandır. Üretimde hasar görmüş peynir kalıpları, EMP üretim sürecinde değerlendirilerek hammaddede maliyet avantajı sağlayabilmektedir. Özellikle toz formu, yüksek lezzet yoğunluğu sayesinde, düşük hacimlerde istenilen lezzeti sağlayarak depolama ve üretim maliyetlerini alt seviyelere indirir. Maliyet açısından bir diğer avantajı ise üretim süresinin kısa olması ve tek hammaddeden farklı son ürün eldesi olarak sıralanabilir. Ayrıca EMP'ler sağlık açısından yararlı veya fonksiyonel özelliklere sahip olan anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibe edici peptitler gibi biyoaktif peptit kaynağı olduğu literatürde belirtilmektedir (Erbay, Salum, ve Kilcawley, 2021).

2.2. EMP Lezzeti

EMP, peynir olgunlaşmasının kontrollü koşullarda enzim ilavesi ile taklit edilmesidir (Kilcawley ve diğerleri,2006). Peynir olgunlaşması glikoliz, lipoliz ve proteoliz olmak üzere üç temel metabolizma sonucu oluşmaktadır. Bunlardan ilki kalıntı laktoz, laktat ve sitrat metabolizmalarını kapsayan glikolizdir. Glikoliz, peynir olgunlaşmasının ilk evrelerinde gerçekleşmekle birlikte olgunlaşma sürecinde de kısmen devam etmektedir. Bununla birlikte, EMP lezzeti oluşumunda karakteristik peynir lezzet bileşenleri temel olarak protein ve yağ metabolizması sonucu oluşmaktadır. Ayrıca serbest yağ asitleri ve aminoasit metabolizmasının ikincil reaksiyonları sonucu oluşan uçucu bileşiklerde lezzet açısından önem taşımaktadır (Salum ve diğerleri, 2019). Peynirin aromasından uçucu bileşenler

sorumludur, tat ise aminoasitler, organik asitler, küçük peptitler ve tuzlar gibi suda çözünür bileşenlerden kaynaklanmaktadır (McSweeney ve Sousa, 2000).

Proteoliz ile, peynirde bulunan kazeinin büyük peptitlere, peptitlerinde aminoasitlere dönüşümü gerçekleşmekte; devam eden aminoasit katabolizması ile de çeşitli lezzet bileşikleri oluşmaktadır. Proteoliz sonucu oluşan serbest aminoasitler ve küçük peptitler gibi uçucu olmayan tat bileşikleri, peynirin arka plan tadına doğrudan katkı sağlamaktadır. Ayrıca dolaylı olarak, aminoasitlerin katabolizmasında gerçekleşen transaminasyon, dekarboksilasyon ve indirgeme gibi ikincil reaksiyonlar ile oluşan uçucu lezzet bileşiklerinin oluşumu ile peynir aromasına katkı sağlamaktadır (Moskowitz ve Noelck, 1987; Marilley ve Casey 2004; Erbay ve diğerleri, 2021). Aminoasit katabolizması Şekil 2.1.'de gösterilmiştir (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Peynir olgunlaşmasının ilk safhalarındaki düşük pH ortamında, serbest aminoasitlerin karboksil grubundan CO₂ uzaklaşarak (dekarboksilasyon) aminler oluşmakta; yükselen pH ortamında ise aminoasitlerden amino grubunun uzaklaşması ile (oksidatifdeaminasyon) α -ketoasitler oluşmaktadır. Oluşan aminlerin, α -ketoasitlerin ve aminoasitlerin deaminasyonu, transaminasyonu ve Strecker parçalanması sonucu aldehitler oluşmaktadır. Aldehitlerin indirgenmesi veya asitle oksidasyonu ile alkoller; oksidasyonu ile de asitler oluşmaktadır. Aminoasitlerin katabolizması sonucu oluşan bir diğer lezzet bileşikleri ise degradasyon sonucu oluşan kükürtlü bileşiklerdir (McSweeney ve Sousa, 2000).



Şekil 2.1. Amino asit katabolizması.

Peynirdeki başlıca proteolitik ajanlar şunlardır: süt proteinazları (plazmin, somatik hücre proteinazları), koagülantlar (kimozen, pepsin), starter bakteriler kaynaklı ve dışardan eklenen proteinazlar ve peptidazlar (Fox, 1988; Kilcawley ve diğerleri, 1998). EMP üretiminde kullanılan proteazlar, çok büyük oranda mikrobiyal kökenli ve *Bacillus*, *Aspergillus* ile *Rhizomucor* kaynaklıdır (Kilcawley, Wilkinson ve Fox, 2002). Bu proteolitik enzimler hem proteinaz, hem de peptidaz aktivitesine sahiptirler. Peptidazlar katalitik etkilerine göre endopeptidaz ve ekzopeptidaz olarak ikiye ayrılır. Endopeptidazlar kazein türevi peptitleri daha düşük molekül ağırlıklı protein ve/veya peptitlere dönüştürürler. Ekzopeptidazlar ise, protein ve/veya peptitleri C- veya N- terminallerdeki peptit bağlarını hidrolize ederek dipeptit veya serbest aminoasit oluşmasını sağlarlar. Başka bir ifade ile, endopeptidazlar ile içten parçalama sağlanır, parçalanmış peptitler daha küçük peptit ve aminoasitlere ekzopeptidaz enzimler ile parçalanır. Bu nedenle EMP üretiminde endopeptidazların ve ekzopeptidazların kullanımı arasındaki denge önemlidir. EMP'de proteolizin kontrolsüz olması sonucunda ise peynirlerin aşırı olgunlaşmasında karşılaşılan acılaşıma sorununa sebep olan peptitler oluşmaktadır. Acı peptitler, 3-15 aminoasit içeren, genellikle β -kazeinden türetilen, hidrofobik peptitlerdir. Bu peptitler, prolin başta olmak üzere izolösin, lösin, tirozin, valin, triptofan ve fenilalanin ile karakterize edilmektedir (Wilkinson ve diğerleri, 2011; Baş, Kendirci, Salum, Govce ve Erbay, 2019). Endopeptidaz ve ekzopeptidaz enzimlerinin birlikte kullanımı ile acılaşıma neden olan peptitlerin daha küçük peptitlere ve serbest aminoasitlere hidroliz edilmesi sonucunda acılık azaltılabilmektedir (Kilara ve Chandan, 2011; Erbay ve diğerleri, 2021).

EMP üretiminde kullanılan Neutrase, *Bacillus* kaynaklı bir endopeptidazdır ve tek başına kullanımında acı peptitlerin birikmesine neden olma eğilimindedir. Bu birikimin, özellikle proline özgü peptidazlarla daha fazla muamele edilerek azaltılabildiği belirtilmiştir (Habibi Najafi ve Lee, 2007). EMP'de proteoliz sonucu oluşan acılığın incelendiği kimi çalışmalar literatürde bulunmaktadır.

Habibi Najafi ve Lee (2007), Cheddar peyniri bulamacını Neutrase® 0.5 L ile inkübe etmiş, ardından *Lactobacillus casei* ssp. *casei* LLG'den elde edilen enzim ekstraktı ile muamele etmiştir. EMP'nin enzim ekstraktı ile muamelesinden sonra Neutrase'ın sebep olduğu acılığın tamamen ortadan kalktığı belirtilmiştir. Ayrıca acı tat oluşumundan 6 amino asit (Ala- Pro-

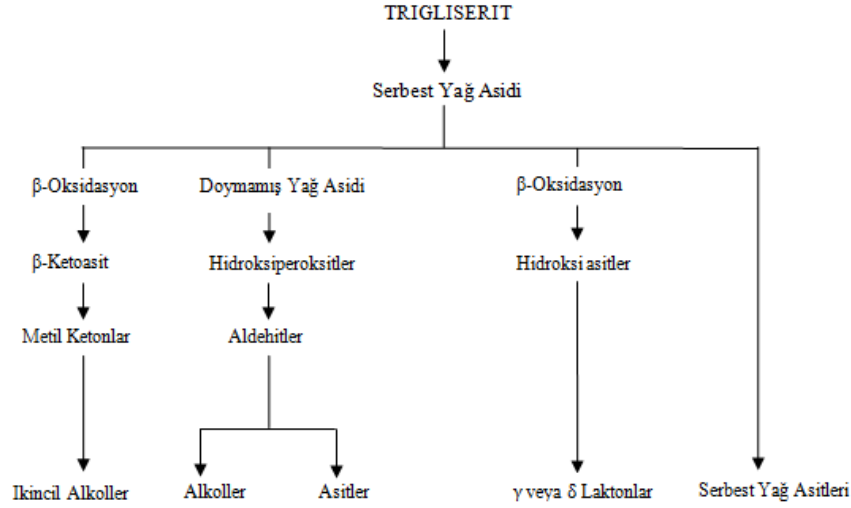
Phe-Pro-Glu-Val) içeren α_{s1} -kazeinin bir fraksiyonunun ve 3 amino asit (Phe-Leu-Leu) içeren bir β -kazein fraksiyonunun sorumlu olduğu rapor edilmiştir.

Azarnia, Lee, Yaylayan ve Kilcawley (2010), Neutrase (*B. Subtilis* kaynaklı ticari proteinaz) varlığında, *Lactobacillus rhamnosus* S93 suşundan türetilen doğal ve rekombinant aminopeptidazları, enzimle modifiye edilmiş Cheddar peynirine ilave etmiş; proteoliz üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda; tek başına rekombinant aminopeptidaz içeren EMP, bir günlük olgunlaşma süresinden sonra prolinin tamamen kaybolmasına neden olarak acılığı azalttığı belirtilmiştir.

Bir diğer çalışmada, EMP üretiminde proteoliz sonucu oluşan acı tadı gidermek amacıyla *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus helveticus* kültürleri kullanılmıştır. Yapılan çalışmada, dondurularak şoklanmış *Lactobacillus helveticus* kullanımıyla, tespit edilebilir acılık olmadan EMP üretim gerçekleştirilmiştir (Kumar, Jha ve Singh, 2013).

Benzer bir çalışmada ise, EMP üretiminde zayıflatılmış *Lactobacillus helveticus* DPC 4571'in kullanımı mikrobiyal, kimyasal, enzimatik ve duyuşal açıdan değerlendirilmiştir. *Lactobacillus helveticus* DPC 4571'in ısı şoklu hücrelerinin kullanılmasının, proteolizin ikincil reaksiyonlarında artışa sebep olduğu belirtilmiştir. Ayrıca önemli uçucu bileşiklerin oluşumuyla ve güçlü tuzlu tada yol açarak duyuşal analizde olumlu sonuçlar alınmıştır (Lee, Kilcawley ve Hannon, 2007).

Peynirde lipoliz; trigliseritlerin, digliseritlerin ve monogliseritlerin lipolitik enzimlerle hidrolizi sonucu oluşur. Lipoliz sonucu oluşan serbest yağ asitlerinden uzun zincirli yağ asitleri, yüksek algı eşik değerlerine sahip olmalarından ötürü lezzette çok az rol oynamaktadırlar. Buna karşın, kısa zincirli serbest yağ asitleri lezzet oluşumunda doğrudan rol oynarlar. Lipoliz sonucu oluşan kısa zincirli ve çift sayılı yağ asitleri (C_{4:0}-C_{10:0}) genellikle uçucu serbest yağ asidi olarak değerlendirilir ve algılama eşik değerleri düşük olması nedeniyle peynirde karakteristik lezzet oluşumuna doğrudan katkıda bulunurlar. Aynı zamanda serbest yağ asitleri olgunlaşma sürecinde lezzet gelişimine etki eden metil ketonlar, laktonlar, esterler, sekonder alkoller ve aldehitler gibi lezzet bileşiklerine dönüşmektedirler (Kendirci, Salum, Bas ve Erbay, 2020). Yağ asitleri katabolizması Şekil 2.2.'de gösterilmiştir (Hayaloğlu ve Özer, 2011).



Şekil 2.2. Yağ asitleri katabolizması

Yağların enzimatik modifikasyonu lipaz ve esterazlarla yürütülmektedir. Peynirde lipolizi sağlayan lipaz ve esterazlar, sütte bulunan lipoprotein lipazlardan, rennet preparatlarından gelen lipazlardan, starterlerden, starter olmayan bakterilerden ya da peynir üretimi sırasında ilave edilen enzimlerden (pregastrik esteraz) oluşmaktadır. Lipazlar, trigliseritleri, serbest yağ asitleri ile mono- ve di-gliseritlere parçalamaktadır. Lipazlar hayvansal ve mikrobiyal kaynaklı olabilmektedir. Hayvansal kaynaklı enzimler içerisinde pregastrik lipaz ve esteraz önemli bir yer tutmaktadır. Hayvansal kaynaklı olanlar, trigliseritlerin *sn*-1 ve *sn*-3 pozisyonundan serbest yağ asidi kopararak önemli oranda kısa zincirli serbest yağ asitleri oluşturmaktadır. Bu şekilde, özellikle *sn*-3 pozisyonunda bulunan bütirik asit gibi aroma aktif kısa zincirli yağ asitlerinin miktarını artırmaktadır. Mikrobiyal lipazlar da benzer şekilde etki göstermekte, ancak enzimin tipine göre etki pozisyonu ve etki yoğunluğu değişmektedir (McSweeney ve Sousa, 2000; Erbay ve diğerleri, 2021). Lipazlar ve esterazlar katalizledikleri substratın karbon sayısına göre farklılık göstermektedir. Lipazlar karbon sayısı 10 ve 10'dan fazla karbon sayılı açıl esterleri hidrolize ederken, esterazlar 2-8 karbon sayılı açıl esterleri hidrolize ederler. Ayrıca lipazlar yağ-su arayüzünde bulunan emülsiyon halindeki substrata karşı aktivite göstermektedirler (Colins, McSweeney ve Wilkinson, 2003). EMP'deki lipoliz derecesi, normal peynirden 10-100 kat daha fazla olabilmektedir (Salum ve diğerleri, 2019). EMP prosesinin başlangıcında gerçekleşen substratın emülsifikasyon; yağ-su arayüzü oluşumunu arttırarak lipaz ile emülsiyon halindeki substratın etkileşimini desteklemektedir. Sonuç olarak bu arayüzde bulunan trigliseritlerin lipolizini oldukça arttırmaktadır. Aşırı (kontROLSÜZ) lipoliz sonucunda ise; kısa zincirli ve uzun zincirli serbest yağ asitleri oranının

dengeşiz oluşumu meydana gelir. Bu lezzet kusurunu önlemek için lipoliz aşamasında esteraz-lipaz aktivitesinin kombinasyonu önerilmektedir. Ayrıca monosodyumglutamat, maya ekstraktı, tuz, organik asit eklenerek bu tip lezzet kusurları maskelenebilmektedir (Wilkinson ve diğerleri, 2011).

2.3. EMP Lezzeti ile ilgili Yapılan Çalışmalar

EMP'lerin lezzet özelliklerini etkileyen birçok faktör vardır. Bu faktörler içerisinde en önemlilerinden birisi, hammadde olarak kullanılan taze peynirin özellikleridir. Kullanılan hammaddenin yanı sıra, üretim tekniğı, işlem koşulları, lezzet üzerinde belirleyici etkisi olan kimi anahtar bileşiklerin üretilmesi için özel işlemlerin yapılması veya bu bileşiklerin dışarıdan ilave edilmesi de EMP lezzeti üzerinde etkili diğer faktörlerdir.

Yapılan literatür çalışmalarında, hammaddenin EMP üzerinde belirgin etkilerinin olduğunu görülmüştür. Kilcawley, Wilkinson ve Fox (2000) tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda; aynı firmalar tarafından farklı dönemlerde üretilen ticari EMP ürünlerinde standart kalitenin elde edilebildiğı görülmüştür. Buna karşın, farklı firmalar tarafından üretilen ve aynı peynir lezzetini sahip EMP'lerin kimyasal özelliklerinin; hem birbirlerinden hem de temsil ettiğı olgun peynirlerden büyük ölçüde farklılıklar içerdiği saptanmıştır. Ticari CheddarEMP'lerinde çok farklı oranlarda laktik asit ve asetat saptanmış, bu farklılığın 2 nedeninin; hammadde olarak kullanılan taze Cheddar peynirlerinin özellikleri ve bazı örneklere bu bileşiklerin dışarıdan ilave edilmesi olduğu bildirilmiştir. Bazı ticari CheddarEMP'lerinde ise propiyonat saptanmıştır ve bunun hammaddeye katılan İsviçre tipi peynirlerden kaynaklandığı iddia edilmiştir (Hulin-Bertaud, Kilcawley, Wilkinson ve Delahunty, 2000; Kilcawley, Wilkinson ve Fox, 2000, 2001).

Salum ve diğerleri (2019), benzer şekilde, Parmesan lezzetine sahip EMP'lerde yüksek miktarda asetik asit saptanmış ve Parmesan peynirinin karakteristik lezzetinde etkili olan bu bileşiğın dışarıdan ilave edildiğı fikrine varılmıştır. Mavi damarlı peynir lezzetine sahip ve Türkiye'de üretilen bir ticari EMP'nin ise taze peynir veya pıhtıdan değil, doğrudan doğruya kremadan üretildiğı ve üretimlerinde küf kullanıldığı, kimyasal ve uçucu bileşik analizleriyle gösterilmiştir. Yine Türkiye'de üretilen ve keçi peyniri lezzetine sahip bir ticari EMP'nin

retiminde, zgn lezzetin oluşunu için yüksek şiddette ısı l işlem uygulandığı, üründe ısı l işlem kaynaklı uçucu bileşiklerin saptanması ile anlaşılmıştır.

İran yöresel peyniri olan Lighvan peyniri lezzetinde EMP retimi gerçekleştirilmiştir. Yapılan duyusal analiz sonucunda, üretimde kullanılan enzimlerin uygun seviyeleri %0,1 Flavourzyme (peptidaz) ve %0,1 Neutrase (proteaz) olarak ve inkübasyon süresi 72 saat olarak kabul edilmiştir. Fakat bu enzimlerin seviyesinin ve inkübasyon süresinin, başlangıç substratının yüksek tuz içeriğinden dolayı acılığı önemli ölçüde etkilemediği ifade edilmiştir (Habibi-Najafi ve Miri, 2020).

EMP'nin fiziksel özelliklerinin saptanması için literatürde yapılmış olan çalışmalar, hamur formunda üretilmiş EMP'lerin reolojik davranışlarının belirlenmesi ile sınırlı kalmıştır. Viskozimetre kullanılarak yapılan bir çalışma sonucunda EMP'nin tiksotropik, kayma ile incelen bir akışkan özelliği gösterdiği saptanmıştır. Tiksotropik akışkanlar, sabit bir kayma hızında zamana bağlı olarak kayma geriliminde ve viskozitesinde azalma gösteren akışkanlardır. Jel yapısındaki akışkanlar sıklıkla bu tip bir davranış sergilerler. Uygulanan mekanik etki ile jel yapısı bozularak sol hale geçiş gerçekleşir ve zamanla viskozitede azalmalar gerçekleşebilir (Jao, Chen, Chaudhari ve Goldstein,1981).

Bir diğer çalışmada ise EMP retimindeki enzim dozajı, sıcaklık ve karıştırma hızının viskozite üzerindeki etkileri fuzzy modeli ile saptanmaya ve genetik algoritma ile optimize edilmeye çalışılmıştır (Mohebbi ve diğerleri, 2008).

2.4. EMP'nin Katkı Olarak Kullanımı ile ilgili alışmalar

EMP'lerin çeşitli gıda ürünlerinin formülasyonlarında lezzet katkısı olarak kullanımı son yıllarda artış göstermektedir. Bugün itibariyle Cheddar (farklı olgunluklarda) başta olmak üzere, Blue, Emmental, Edam, Gouda, Parmesan, Brick, Gruyere, Keçi peyniri, Koyun peyniri, Feta, Ezine gibi çok farklı peynirlerin lezzetlerine sahip EMP'ler piyasada ticari birer ürün olarak kullanılmaktadır (Moskowitz ve Noelck, 1987; Kilcawley ve diğerleri, 1998; Erbay ve diğerleri, 2017).

Bilimsel literatürde EMP'nin katkı olarak kullanımı ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan literatür çalışmaları sonucunda, EMP'lerin gıda ürünüde peynir lezzeti vermek için kullanılmasının yanı sıra peynir lezzetini artırmak, bir ürüne belirli bir peynir aroması karakteri sağlamak veya diğer aromaları uyumlu hale getirmek için de kullanılabildiği bilinmektedir. Ayrıca, geleneksel süt ürünlerindeki doymuş yağ ve kolesterolün sağlıkla ilgili endişeleri nedeniyle yağ içeriğini azaltmak veya düşük yağlı ürünlerdeki yağ işlevselliğini değiştirmek içindüşük yağlı ürünlerin üretiminde EMP'nin kullanıldığı görülmektedir.

Düşük yağlı ürünlerin lezzet özelliklerini geliştirmek amacı ile EMP'nin kullanıldığı çalışmalar literatürdebulunmaktadır. Az yağlı Cheddar peyniri üretiminin çalışıldığı bir çalışmada; istenmeyen lezzetin oluşumu maskelenerek, olgun peynir lezzeti arttırmak için EMP gibi lezzet bileşenlerin kullanımı gerektiği vurgulanmıştır (Amelia, Drake ve Nelson, 2013). Bir diğer çalışmada, EMP ilavesi ile az yağlı Cheddar üretilmiş; olgun peynirin karakteristik aromasına sahip kabul edilebilir lezzette ürün elde edilmiştir (Farkye ve Arnold, 2008).

Bu kapsamda gerçekleştirilenbaşka bir çalışmada, az ve çok yağlı krema peyniri üretiminde EMP kullanımı duyusal yönden incelenmiştir. Krema peynirine ilave edilen optimum EMP seviyesi; yağlı krema peyniri için %1'den az, az yağlı krema peyniri için en az %5 olarak belirlenmiştir. Az yağlı krema peynirlerinde EMP kullanımının duyusal özellikleri geliştirdiği saptanmıştır (Miri ve Habibi-Najafi, 2011).

Diğer bir çalışmada, yağı azaltılmış eritme peyniri üretiminde formülasyona EMP ilavesinin etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada, taze peynir ve EMP'nin beraber kullanımı ile üretilen ve olgun peynir kullanılarak üretilen eritme peynirleri kıyaslanmıştır. EMP ile yapılan peynirler ile olgun peynirlerden yapılan peynirler arasında lezzet açısından fark tespit edilememiştir. Çalışma sonucunda, EMP kullanımı sayesinde olgun peynir kullanımına ihtiyaç kalmadığı vurgulanmıştır (Hassan, Awad ve Mistry, 2007). Eritme peynirinde EMP kullanımı ile ilgili yapılan bir diğer çalışmada, genel kabul edilebilirlik ve lezzet özellikleri açısından EMP'nin olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir (Habibi-Najafi, Sabouri ve Mahallati, 2010).

EMP'nin peynir üretiminde katkı maddesi olarak kullanıldığı bir çalışmada olgunlaşmayı hızlandırmak amaçlanmıştır. Bu amaçla, olgun Cheddar üretiminde, tuzlama aşamasında

peynire EMP ilave edilmiş ve üretilen peynirler 6 ay olgunlaştırılmıştır. Çalışmada EMP dışında taze Cheddar'dan üretilmiş olan peynir tozu kullanımı da denenmiştir. Çalışma sonucunda, (%1) EMP kullanımı ile 6 aylık olgun Cheddar lezzetinin 4 ay sonunda elde edilebildiği belirlenmiştir (Hannon, Kilcawley, Wilkinson, Delahunty ve Beresford, 2006).

Taklit peynir üretiminde EMP kullanımı denenmiştir. Kullanılan EMP örneklerinin lipoliz düzeylerinin son ürün lezzetini doğrudan etkilediği saptanmıştır. Aynı zamanda, son ürün pH'sının azalmasının, lezzet üzerindeki EMP etkisini arttırdığı belirlenmiştir. Bu çalışma, taklit peynirlerin aromalarının, onları lezzetlendirmek için kullanılan EMP'lerin lipoliz düzeylerinden ve peynir bazının pH'sından etkilendiğini göstermiştir (Noronha, Cronin, O'Riordan ve O'Sullivan, 2008a).

Taklit peynir üretimi üzerine yapılan bir diğer çalışmada, peynirdeki yağ oranı artışının lezzet üzerindeki EMP etkisini artırdığı belirlenmiştir. Bu durum, EMP'nin büyük oranda yağda çözünen lezzet bileşenlerine sahip olması ile açıklanmıştır. Çalışma sonucunda EMP'lerin eklenmesi taklit peynirlerin genel işlevselliğini etkilemezken, pH'da sebep olduğu değişiklikler ile peynir aroma ve dokusunda etkili olduğuna varılmıştır (Noronha, Cronin, O'Riordan ve O'Sullivan, 2008b).

2.5. Enzim Modifiye Peynir Üretimi

EMP üretiminin özü, dışarıdan ilave edilen proteolitik ve lipolitik enzimlerle hedeflenen peynir lezzetine ulaşmaktır. Bu amaçla, hedeflenen peynirin taze hali veya peynir pıhtısı EMP üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır. Bu hammadde homojen ve stabil bir akışkana dönüştürülmekte ve sonrasında kontrollü koşullarda enzimatik hidroliz ile hedeflenen lezzete ulaşılmaktadır. Enzimatik reaksiyonlar ise ısı ile durdurulmaktadır.

EMP üretiminde substrat olarak peynirin taze hali veya pıhtısı kullanılır. Genellikle, istenilen peynir lezzetine ulaşmayı kolaylaştırmak amacıyla hedeflenen peynir çeşidinin taze hali kullanılmaktadır. EMP üretim sürecinde önem taşıyan ilk adım; substratın kararlı bir emülsiyon haline getirilmesidir. Enzim/substrat etkileşiminde uygun koşulların oluşturulması açısından kararlı bir emülsiyonun eldesi önem arz etmektedir (Erbay ve diğerleri, 2021). EMP üretiminde kararlı emülsiyonlar, proteinin Ca^{+2} şelatlama ile çözünür hale getiren eritme

tuzlarının eklenmesi ile elde edilir (Wilkinson ve diğerleri, 2011). Yaygın olarak bulunan eritme tuzları, disodyum fosfat, trisodyum fosfat ve trisodyum sitrat gibi kalsiyumu zayıf bir şekilde bağlayan tuzlardır. Bu tuzlar pH'ı kontrol etmek için de kullanılabilir ve bazıları ek bakteriyostatik etkilere sahiptir. Eritme tuzları tek başlarına emülgatör değildir; ısıtma ve karıştırma yardımıyla çözünmeyen kazeinat veya kalsiyum para-kazeini suyu bağlayabilen aktif hidratlı forma dönüştürürler (Fox ve diğerleri, 2004). Çözünmüş proteinler (dağılmış hidratlı kazeinat), dağılmış serbest yağ damlacıklarının yüzeylerini kaplayarak serbest yağ için emülgatör görevi görür. Başka bir ifadeyle; para-kazeinatın nispeten yüksek su bağlama kapasitesi, sıvı fazın yüksek viskozitesinde ve dolayısıyla emülsiyonlaştırılmış yağ parçacıklarının çarpışma frekansında bir azalmaya yol açtığı için emülsiyon stabilitesini artırır (Wilkinson ve diğerleri, 2011; Guinee, 2011). EMP üretiminde, aşırı hidroliz seviyesi emülsiyon stabilitesini olumsuz yönde etkileyebilir ve böylece lezzet gelişme hızını etkileyebilir. Bu sorunu hafifletmek için, emülsifiye edici tuzların, enzimlerin ve substrat bileşiminin optimum seviyede olması gereklidir (Guinee ve Kilcawley, 2004)

Üretimin ikinci ve önemli adımı; ekzojen enzimler kullanılarak proteoliz ve lipoliz yoluyla olgun peynir lezzeti oluşturmaktır. Bu aşamada EMP'nin karakteristik lezzet oluşumunu sağlar. Proteoliz, EMP lezzetinin genellikle arka plan notlarını sağlarken; lipoliz, lezzet yoğunluğunu arttırmaktadır. Son olarak; enzim inaktivasyonu için ısıl işlem uygulanmaktadır. Uygulanan ısıl işlem ile enzimler etkisiz hale getirilerek, son üründe istenmeyen lezzet oluşumu engellenir ve peynir lezzeti korunur.

EMP üretiminde emülgatör veya stabilizatör olarak mono/digliseritler, fosfatlar, sitrik asit ve/veya ksantan gam kullanılabilen; formülasyona antioksidan olarak tokoferol gibi yağda çözünen vitaminler ilave edilebilmektedir (Law, 2010). Ayrıca, lezzet üzerindeki etkisinden ötürü, üretim sırasında bileşime ekstra tereyağı veya krema ilavesi yapılabilmekte ve lezzeti geliştirmek için üretimde monosodyumglutamat, maya ekstraktı, tuz, organik asitler ve/veya starter kültür ekstraktları da (mevzuata uygunluğunu gözetmek ve etikette belirtmek şartıyla) kullanılabilir (Kilcawley ve diğerleri, 1998; Wilkinson ve diğerleri, 2011). EMP üretiminde starter kültür kullanımı ile ilgili sınırlı bilgi olmakla birlikte; laktik asit bakterileri (*Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus casei*) ve küflerin (*Aspergillus niger* ve *Aspergillus oryzae*) kullanıldığı çalışmalar mevcuttur (Kumar ve diğerleri 2013; Lee ve diğerleri 2007; Moosavi-Nasab, Radi ve Jouybari, 2010). Laktik asit bakterileri peptidazlar, proteinazlar ve

esterazlar için çok iyi kaynaktırlar. Fakat asitliğin aşırı artmasına sebep olabilmektedirler. Dolayısıyla asit üretimini geciktirecek şekilde zayıflatılmış suşların veya yardımcı kültürlerin kullanımı önerilmektedir (Erbay ve diğerleri, 2021) .

EMP üretiminde uygulanan enzimatik reaksiyonlar, kullanılan enzim tipleri, farklı enzimlerin beraber kullanımı durumunda birbirleri ile etkileşimleri ve işlem koşulları (sıcaklık, pH, inkübasyon süresi, karıştırma hızı vs.) gibi değişkenler istenilen ve kararlı bir EMP ürünü elde etmek için üretim sürecinde önem arz etmektedir. Bu etmenler üretim tekniklerine ve istenilen peynir lezzetine göre farklılık göstermektedir.

Literatür çalışmalarında, EMP üretimi ve üretim parametrelerini değerlendiren çalışmaların sayısı oldukça azdır. Bu alandaki temel çalışmalar Kilcawley ve diğerleri tarafından 2000-2006 yılları arasında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma dizisinde; piyasada var olan ticari Cheddar lezzetli EMP'lerin bileşimi, temel proteolitik, lipolitik ve glikolitik parametreleri incelenmiştir (Kilcawley ve diğerleri, 2000; Kilcawley ve diğerleri, 2001). Bu EMP'ler içerisinde duyuşal özellikleri açısından en uygun olanı seçilmiştir (Hulin-Bertaud ve diğerleri 2000). Üretimde farklı enzim kombinasyonları ve inkübasyon koşulları çalışılarak, seçilen EMP'nin özelliklerine en yakın EMP “iki aşamalı üretim tekniği” ile üretilmiştir. Hedeflenen lezzete ulaşmak için kullanılması gereken en uygun enzimler ve inkübasyon koşulları belirlenmiştir (Kilcawley ve diğerleri, 2006).

Ali ve diğerleri (2017-2019) benzer şekilde, aynı yöntemi kullanarak, soya sütü ve inek sütü karışımından, genel peynir lezzetine sahip EMP üretimi gerçekleştirilmiştir. EMP “iki aşamalı üretim tekniği” ile üretilmiş, daha sonra püskürtmeli kurutucularda kurutularak EMP tozu elde edilmiştir. Püskürtmeli kurutma işleminin optimizasyonu için de çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Ali ve diğerleri, 2017; Amighi, Emam-Djomeh ve Madadlou 2013, 2016). Bir diğer çalışmalarında ise, taze Beyaz peynirden EMP üretimi gerçekleştirilmiş ve püskürtmeli kurutucularda kurutarak EMP tozu elde edilmiştir. Üretim sonrası toz EMP'lerin çözünürlük, termal stabilite ve morfolojisi gibi fiziksel özelliklerini incelenmiştir (Ali ve diğerleri, 2019).

EMP üretimi ile ilgili bir diğer çalışma dizisi ise, Erbay ve diğerleri (2017-2020) tarafından gerçekleştirilmiştir. İlk olarak, Türkiye'de üretilen EMP ürünlerinin bileşim ve olgunlaşma

özellikleri ile lezzet bileşenleri incelenmiştir. Daha sonra, piyasada var olmayan olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP, “iki aşamalı üretim tekniği” ile üretilmiş ve istatistiksel ve deneysel doğrulamaları ile birlikte üretim koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmaların devamında, üretilen olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP üretiminin proteoliz ve lipoliz aşamaları ayrı ayrı ve ayrıntılı olarak incelenmiştir. Proteoliz aşamasında farklı endopeptidaz ve ekzopeptidaz enzimlerinin tek tek ve kombinasyon halinde kullanımları denenmiş ve en uygun enzim kombinasyonu ile enzimatik reaksiyon koşullarına karar verilmiştir. Sonrasında ise 4 farklı lipolitik enzim ve 3 farklı inkübasyon süresi çalışılarak; olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP üretiminde formülasyon ve işlem koşulları optimize edilmiştir (Baş ve diğerleri, 2019; Erbay ve diğerleri, 2017, 2018; Kendirci ve diğerleri, 2020; Salum, Gokce, Kendirci, Bas ve Erbay, 2018; Salum ve diğerleri, 2019).

Literatürde, EMP üretiminin 3 farklı yolla yapılmasının mümkün olduğu belirtilmektedir (Kilcawley ve diğerleri, 1998; Moskowitz ve Noelck, 1987; Wilkinson ve diğerleri, 2011). Bu üretim teknikleri: (i) tek bir hammaddeye, proteolitik ve lipolitik enzimlerin eş zamanlı eklendiği “tek aşamalı üretim tekniği”, (ii) farklı hammaddelerde ayrı ayrı proteoliz ve lipolizin gerçekleştiği “bileşen bazlı üretim yaklaşımı”, (iii) tek bir hammaddenin sırasıyla önce proteoliz ve sonra lipoliz edildiği “iki aşamalı üretim tekniği”dir.

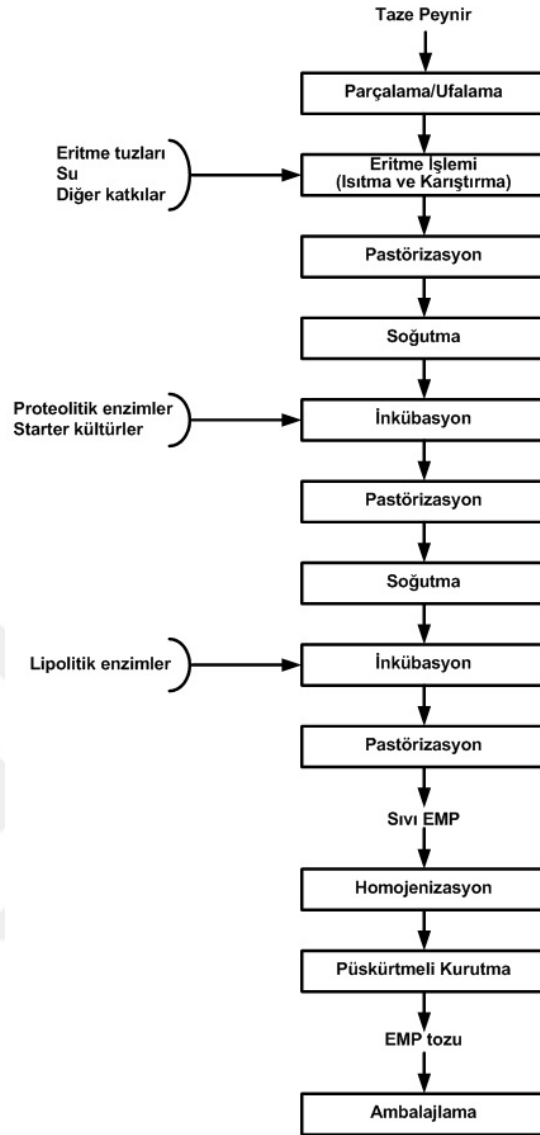
Literatürde, üretim amaçlı yapılan çalışmalar incelendiğinde hedeflenen lezzete ulaşmanın görece kolay olduğu çok aşamalı farklı üretim teknikleri önerilmiştir (Kilcawley ve diğerleri, 2006; West, 2007). Her bir üretimin kendine göre ve farklı çeşit EMP’nin üretimlerine göre avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bu tekniklerin temel avantaj ve dezavantajları Tablo 2.1.’de özetlenmiştir.

EMP'nin üretimi ile ilgili yapılmış literatür çalışmalarında kullanılan teknik “iki aşamalı üretim tekniği”dir (Şekil 2.3). Bu teknikte taze peynir kontrollü koşullarda, önce proteolize uğratılmakta, proteoliz sonucu enzimatik aktivite ısıl işlemle durdurulmakta, sonrasında ise oluşan ara ürün lipolitik enzimlerle muamele edilmektedir (Kilcawley ve diğerleri, 2006; West, 2007).

Tablo 2.1. Üretim tekniklerinin temel avantaj ve dezavantajları.

Üretim Tekniği	Avantajları	Dezavantajları
İki Aşamalı Üretim Tekniği	Proses tasarım/optimizasyonunda kolaylık Sürekli üretim sistemine uygunluk	Görece uzun işlem süresi Çok sayıda ısıtım işlemi içermesi
Bileşen Bazlı Üretim Yaklaşımı	Proses tasarım/optimizasyonunda kolaylık Ürün lezzetini çeşitlendirmede kolaylık	Üretimde çok sayıda ekipman gerekliliği Sürekli üretim sistemine uygun olmaması Lezzet bileşimlerinin çeşitliliğindeki azlık
Tek Aşamalı Üretim Tekniği	Düşük üretim maliyeti Üretimde az sayıda ekipman gerekliliği Sürekli üretim sistemine uygunluk Az sayıda ısıtım işlemi içermesi	Proses tasarım/optimizasyonunda zorluk Öngörülmesi güç enzimatik etkileşimler

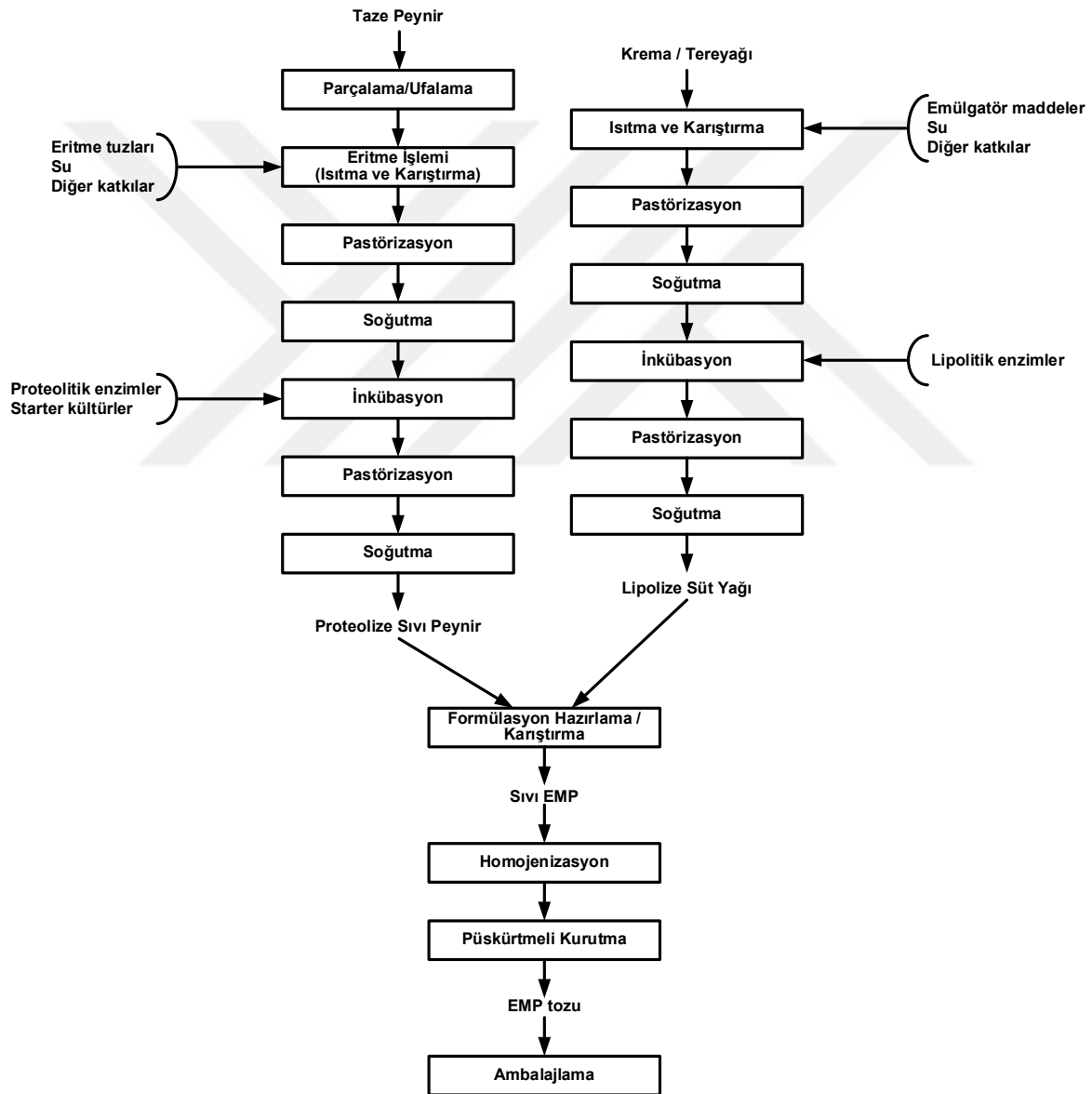
Bu teknikte, tek bir hammadde kullanılarak, çok farklı peynir lezzetlerine ulaşmak mümkündür. Ayrıca, aşamalı gerçekleştirilen işlem sayesinde enzimatik reaksiyonların kontrolü ve hedeflenen ürüne göre üretim koşullarının öngörülmesi mümkün olmaktadır. Bu avantajlar, üretim optimizasyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu tekniğin önemli bir dezavantajı, üretim tekniğinde aşama sayısının fazlalığından dolayı üretim süresinin uzun olmasıdır. Bir diğer dezavantajı ise, üretim süresince ekstra ısıtım işlemlerin gerçekleştirilmesidir. Bu işlemler son ürün lezzeti üzerinde etkili olabilmektedir. Her ne kadar enzimatik reaksiyonların kontrolü görece kolay olsa da, aşama sayısının çokluğu, beklenmeyen/istenmeyen değişimlerin bu aşamaların herhangi birisinde gerçekleşmesini olası hale getirmektedir.



Şekil 2.3. İki aşamalı üretim tekniği ile EMP üretimi

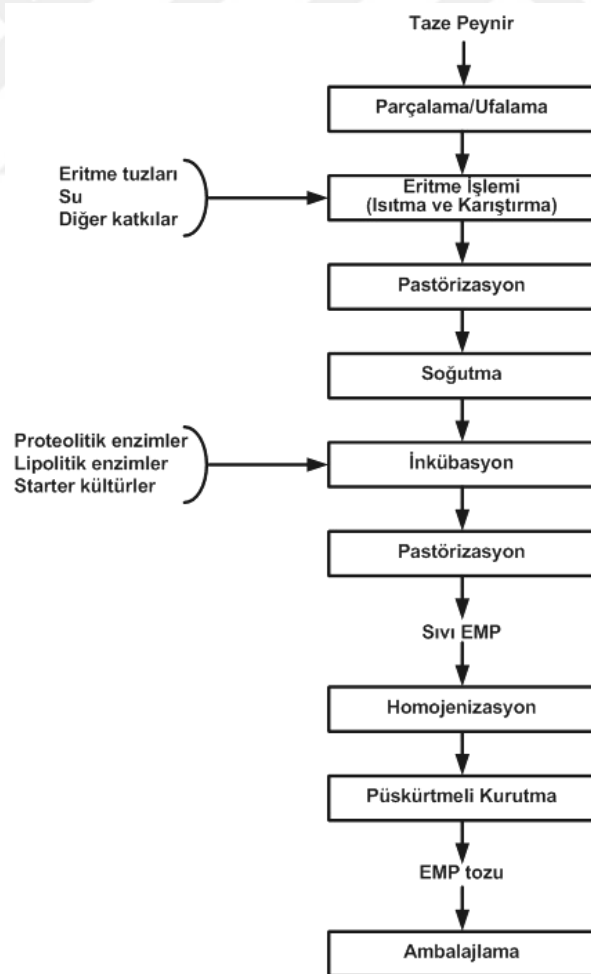
Diğer üretim tekniği ise “bileşen bazlı üretim yaklaşımı” olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.4). Bu üretim tekniğinde, lipoliz ve proteoliz farklı hammaddelerde ayrı ayrı gerçekleştirilmektedir. Üretim sürecinde öncelikle iki ara ürün oluşmaktadır. Şekil 2.4.'de gösterildiği üzere; bir taraftan krema veya sadeyağın lipolizi ile elde edilen lipolize süt yağı, diğer taraftan ise taze peynirin proteolizi ile elde edilen proteolize sıvı peynir elde edilmektedir. Enzimatik inkübasyon sonucu oluşan ara ürünler, daha sonra istenilen oranlarda karıştırılarak EMP üretilebilmektedir (Kilcawley ve diğerleri, 1998; Wilkinson ve diğerleri, 2011). Bu yöntemde, lipoliz ve proteolizin tamamen ayrı ortamlarda gerçekleştirilmesi sonucu, çok daha standart lezzetler elde edilebilmekte, lezzet karışımları ile farklı ürünlerin

eldesini mümkün olmaktadır ve üretim optimizasyonu açısından ciddi avantajlar barındırmaktadır. Ancak aynı sebepten, proteoliz ürünlerinin lipolitik enzimlerle veya lipoliz ürünlerinin proteolitik enzimlerle işlenmesi sonucu ortaya çıkabilen lezzet bileşiklerinin elde edilmesi mümkün değildir. Bundan dolayı, kimi özgün peynir lezzetleri bu teknik ile elde edilememektedir. Ayrıca, bu yöntemde sürekli üretim sisteminin mümkün olmaması ve gerekli ekipman sayısının fazla olması endüstriyel üretim için çok uygun değildir ve maliyetlidir.



Şekil 2.4. Bileşen bazlı üretim yaklaşımı ile EMP üretimi

EMP üretiminde kullanılabilecek son üretim tekniği ise tek bir hammaddeden, tek bir reaktör veya tankta, proteoliz ve lipolizin eşzamanlı olarak gerçekleştirildiği “tek aşamalı üretim tekniği”dir (Şekil 2.5). Bu üretim tekniğinde tüm süreç tek bir ekipmanda, sürekli üretim sistemi olarak kolaylıkla tasarlanabilmekte ve üretim maliyetleri diğer tüm EMP üretim tekniklerine oranla düşük olmaktadır. Aynı zamanda, üretimin tek aşamada gerçekleştirilmesi, üretim sürecini kısaltmakta ve bir kez uygulanan ısı işlemi yeterli kılmaktadır. Tüm bu nedenler göz önüne alındığında “tek aşamalı üretim tekniği” ile EMP üretimi endüstriyel açıdan çok daha uygun bir üretim tekniğidir. Ancak tüm bu avantajlarına karşın, bu yöntemle EMP üretiminde istenilen lezzete ulaşabilmek için üretimin optimizasyonunda ciddi güçlükler bulunmaktadır. Optimizasyonu zorlaştıran konuların başında, proteolitik ve lipolitik enzimlerin eşzamanlı çalışmalarının yaratabileceği olası etkileşimler, bu etkileşimlerin ürün kalite ve lezzet özellikleri üzerine yaratacağı etkiler ve bu etkileşimlerle etkilerin öngörülmesindeki zorluklar gelmektedir.



Şekil 2.5. Tek aşamalı üretim tekniği ile EMP üretimi

Eşzamanlı enzim çalışması ile enzimlerin birbirlerinin faaliyetlerini yavaşlatması/durdurması mümkündür ve enzimlerin birbirleri üzerindeki etkilerinin saptanması güçtür. Bu durum standart bir son ürün eldesinde sorunlara neden olabilir. Ancak, literatürde yapılmış bazı çalışmalar değerlendirildiğinde, proteolitik ve lipolitik enzimlerin eşzamanlı kullanımının, enzimatik reaksiyonların hızını yavaşlatmak zorunda olmadığı, hatta kimi durumlarda sinerjistik etki göstererek hızlandırdığı görülmektedir. Enzimlerin eş zamanlı kullanımında oluşabilecek enzimler arası etkileşim ile ilgili bazı literatür çalışmaları incelenmiştir (Tablo 2.2.).

Tablo 2.2. Enzimler arası etkileşim ile ilgili yapılan bazı literatür çalışmaları.

Çalışma Sahibi	Çalışmada Yapılan
Lin ve Jeon (1987)	Proteolitik ve lipolitik enzimlerin birlikte kullanımının yağların lipolizini olumlu etkilediği ve lipoliz ürünlerinde belirgin artışların görüldüğünü saptanmıştır.
Fox (1988)	Novo Nordisk A/C firmasında lipolitik ve proteolitik enzimlerin eşzamanlı kullanıldığı bildirilmiştir.
Haileselassie (1999)	Imperial Biotech EMP üretiminde bir proteolitik-lipolitik enzim karışımı eşzamanlı olarak kullanılmıştır.
Brindisi ve diğerleri (2001)	Lipolitik ve proteolitik enzim kombinasyonunun serbest yağ asitleri üretimini arttırdığı ve bunun sebebinin proteazın lipaz üzerinde sağladığı sinerjik etki olduğu bildirilmiştir.
Moosavi-Nasab ve diğerleri (2010)	İki tür küf ile (<i>Aspergillus oryzae</i> ve <i>Aspergillus niger</i>) EMP üretilmiştir. Üretimde enzim aktivitesi bilinen lipoliz ve proteoliz enzimlerini içerdiği kaba enzim ekstraktı kullanılmıştır.

Fox (1988), NovoNordisk A/C (Bagsvaerd, Danimarka) firmasındaki EMP üretiminde bir lipolitik enzimle (Palatase) proteazın eşzamanlı olarak çalıştırılabildiğini bildirmiştir. Benzer şekilde, Haileselassie (1999)'nin aktardığına göre ImperialBiotech EMP üretiminde bir proteolitik-lipolitik enzim karışımını eşzamanlı olarak kullanmıştır. Lin ve Jeon (1987) yaptıkları çalışmada, proteolitik ve lipolitik enzimlerin birlikte kullanımının yağların lipolizini olumlu etkilediğini ve lipoliz ürünlerinde belirgin artışların görüldüğünü saptamışlardır. Bir

başka çalışmada, lipolitik ve proteolitik enzim kombinasyonunun serbest yağ asitleri üretimini arttırdığı ve bunun sebebinin proteazın lipaz üzerinde sağladığı sinerjik etki olduğu bildirilmiştir (Brindisi, Parker, Turner ve Larick, 2001). Benzer şekilde, 2 farklı küften elde edilen kaba enzim ekstraktların EMP üretiminde kullanıldığı bir çalışmada, proteolitik ve lipolitik aktiviteleri bilinen bu enzim ekstraktların eşzamanlı kullanımı ile olumlu sonuçlar alındığı rapor edilmiştir (Moosavi-Nasab ve diğerleri, 2010). Ancak, bu konudaki veri sınırlıdır ve proteolitik-lipolitik enzimlerin eşzamanlı kullanımı ile olası sinerjistik etkilerin, her farklı çeşit EMP'nin üretiminde, deneysel olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Bu durumun mekanizması, ilgili çalışmada açıklanmamakla beraber, enzimatik aktivitenin pek çok faktörden (süre, sıcaklık, pH, nem içeriği, emülgatör, tuz ve/veya öncül maddelerin varlığı vb) etkilenebildiği bilinmektedir (Kilara, 2011). Süt proteinlerinin hidrolizi ile emülgatör özelliği gelişkin peptitlerin oluştuğu (Nongonierma ve FitzGerald, 2011) ve yüzey aktif bileşenlerin varlığının lipolitik aktiviteyi arttırdığı (Kilara, 2011; Kilcawley ve diğerleri, 1998) bilinmektedir. Buradaki süreçlerde de proteolitik aktivite sonucu artan yüzey aktif bileşenler ile emülsiyon kararlılığının lipolitik aktiviteyi desteklemiş olması mümkündür. Buna karşın, proteoliz için uygun koşulların, lipoliz için uygun koşullardan farklı olması mümkündür. Bu esas olarak optimum enzim performansı için gerekli olan ortam sıcaklık ve pH'sından kaynaklanmaktadır. Buna ek olarak, emülsiyon yapısı hidrolizle bozularak enzim/substrat erişimi olumsuz etkilenebilir ve ayrıca proteolitik enzimler lipazları inaktive edebilir (Kilcawley ve diğerleri, 1998; Moskowitz ve Noelck, 1987; Wilkinson ve diğerleri, 2011). Özetle, eşzamanlı proteolitik ve lipolitik enzimlerin kullanımı enzimatik reaksiyon sürecini yavaşlatabilir ve istenmeyen ürünlerin oluşumunu tetikleyebilir.

3. MALZEME VE YÖNTEM

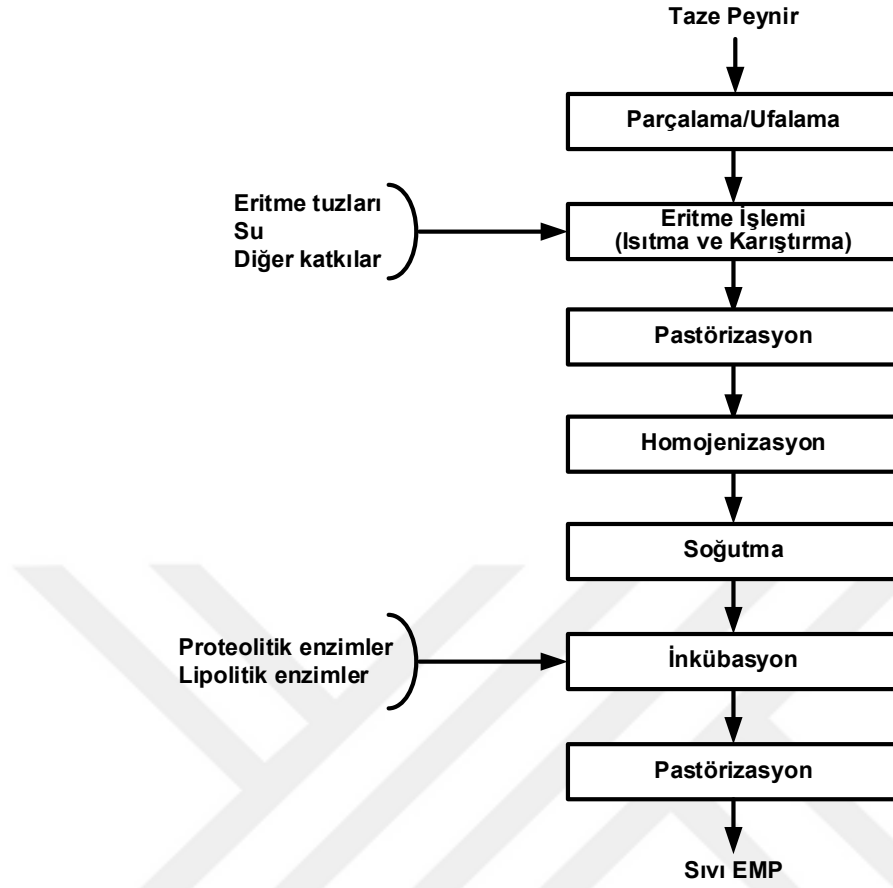
3.1. Malzeme

Hammaddede olarak, geleneksel yöntemle starter kültür kullanılmaksızın, inek sütü ile üretilmiş taze Beyaz peynir kullanılmıştır. EMP üretiminde hammadde olan taze Beyaz peynir eritme peynirine dönüştürülmektedir. Eritme peyniri üretiminde eritme tuzu olarak sodyum sitrat ile sodyum fosfat ve koruyucu olarak potasyum sorbat kullanılmıştır (Sigma-Aldrich, Darmstadt, Almanya). Üretimin proteoliz aşamasında birisi endopeptidaz, diğeri ise ekzopeptidaz olan 2 proteolitik enzim kullanılmıştır. Bu proteolitik enzimlerden endopeptidaz olanı Neutrase™ (Novozymes, Kopenhag, Danimarka), ekzopeptidaz olarak ise Flavorpro™ 937MDP (Biocatalysts, Cardiff, Galler) kullanılmıştır. Neutrase™, *Bacillus amyloliquefaciens* kaynaklı nötral bir endopeptidazdır. Bu enzimin optimum çalışma sıcaklık aralığı 40-50 °C, optimum çalışma pH'sı 7'dir. Enzimin aktivite değeri 0.8 AU (Anson unit/g)'dır. Flavorpro™ 937MDP, *Aspergillus oryzae* kaynaklı bir lösin aminopeptidazdır. Optimum çalışma pH'sı 5-7 iken, optimum çalışma sıcaklığı 45-55 °C aralığındadır. Lipoliz aşamasında ise Lipomod™ 801MDP (Biocatalysts, Cardiff, Galler) kullanılmıştır. Karma bir fungal lipaz olan Lipomod™ 801MDP, pankreatik lipaz özellikleri taşımaktadır. Aktivitesi 3900 U/g olarak belirtilmiştir. Optimum pH'sı 5-7, optimum çalışma sıcaklık aralığı 40-50 °C'dir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Enzim Modifiye Peynir Üretim Prosedürü

EMP üretiminde kullanılacak üretim akış şeması Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Tez çalışmasında kullanılan EMP üretim tekniği

EMP üretimi için öncelikle hammadde olarak kullanılan taze peynir eritme peynirine dönüştürülmüştür. Eritme peyniri eldesinde; eritme peynirinin homojen yapıda olması ve 45 °C sıcaklıklardaki uzun inkübasyon sürelerinde kararlı yapısını koruyabilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla, %25 kuru maddeli eritme peynirinin hazırlanması için formülasyonda, peynir bazında %2trisodyumsitrat, %1trisodyum fosfat ile %0.2 potasyum sorbat kullanılmıştır. Eritme işlemi Thermomix TM31 (Vorwerk, Wuppertal, Almanya) cihazında gerçekleştirilmiştir. Taze peynir rendelenerek küçük parçalara ayrılmış, Thermomix cihazında 4000 rpm’de 45 saniye ve takiben 7000 rpm’de 105 saniye karıştırılmıştır. Daha sonra, 80 °C’de saf suda çözündürülmüş eritme tuzları Thermomix’e eklenerek ve içerik 4000 rpm’de ısıtılarak karıştırılmıştır. Bulamacın sıcaklığı 80 °C’ye ulaştıktan sonra karıştırma hızı 7000 rpm’e yükseltilerek ve 10 dakika süre ile karıştırma işlemi yapılmıştır. Karıştırma sonucunda elde edilen eriyik, hızlı bir şekilde 45 °C’ye soğutularak ve çalışılan homojenizasyon basınçlarında homojenize edilmiştir. Belirlenen proteaz ve lipaz konsantrasyonlarında Neutrase™, Flavorpro™ 937MDP ve Lipomod™801MDP enzimi, 45 °C’ye soğutulmuş olan

eritme peynirine ilave edilerek karıştırılmıştır. Sonrasında çalkalamalı inkübatörde (IKA KS3000 IC, IKA®-WerkeGmbH&Co. KG, Staufen, Almanya) incelenen inkübasyon sıcaklık, süre ve karıştırma hızlarında inkübasyon gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında örnekler, otoklavda 80 °C’de 15 dakikalık bir ısıl işlemle pastörize edilerek, içerisindeki enzim aktiviteleri tamamen durdurarak ve sıvı EMP üretilmiştir.

3.2.2. Deneme Planı

Bu tez çalışması, olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP’nin “tek aşamalı üretim tekniği” ile üretimi ve üretimin optimizasyonunu kapsamaktadır. Tez iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada, EMP özellikleri üzerinde etkili işlem koşullarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, fraksiyonel faktöriyel deneme tasarımıyla yararlanılmış ve bu deneme tasarımı doğrultusunda EMP üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimde; inkübasyon sıcaklığı, inkübasyon süresi, inkübasyon karıştırma hızı, proteolitik ve lipolitik enzimlerin konsantrasyonları ve homojenizasyon işlemi olmak üzere 6 işlem koşulu ile çalışılmıştır. EMP’lerin azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikleri analiz edilmiş, analizler sonucu istatistiksel olarak değerlendirilerek ürün özellikleri üzerine önem düzeyi en yüksek olan 3 faktör belirlenmiştir.

Çalışmanın 2. aşamasında, belirlenen 3 işlem faktörü ile çalışmaya devam edilmiştir. Olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP’nin “tek aşamalı üretim tekniği” ile üretimi gerçekleştirilmiş, üretilen örneklerin azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikleri ve duyu özellikleri analiz edilmiştir. Analizler sonucunda “Yanıt Yüzey Yöntemi” (Response Surface Methodology, RSM) kullanılarak 3 faktörün optimizasyonu yapılmıştır. Optimizasyonda hedef, “iki aşamalı üretim tekniği” ile üretilmiş olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP’nin özelliklerine en yakın özelliklere sahip EMP’nin “tek aşamalı üretim tekniği” ile üretilmesidir. Son olarak, hesaplanmış olan optimum koşullarda doğrulama amacıyla ek üretim ve analizler yapılmış, hesaplanan değerlerle deneysel değerlerin uyumu saptanmıştır.

3.2.3. Uygulanan Analiz Yöntemleri

3.2.3.1. Bileşim Analizleri

Üretilen EMP’lerin nem içeriği gravimetrik yöntem ile (AOAC, 2012a), yağ oranı Gerber-Van Gulik yöntemi ile (AOAC, 2012b), protein/azot içerikleri ise Kjeldahl yöntemiyle

saptanmıştır(IDF, 1993). EMP'lerin pH değerleri pH metre (Mettler Toledo Seven Compact, Columbus, USA) kullanılarak ölçülmüştür.

3.2.3.2. Çözünür Azot Fraksiyonlarının Tayini ve Olgunlaşma İndeksi Düzeyleri

Peynirde olgunlaşma düzeyinin belirlenmesinde proteoliz önemli bir ölçüttür. Hidroliz sürecinde proteinler peptitlere ve aminoasitlere parçalanırken, parçalanmanın düzeyi örneklerdeki çözünür azot fraksiyonlarının oranlarının belirlenmesi ile saptanabilir. Protein oranının belirlenmesinde öncelikle toplam azot (TA) miktarının tayini Kjeldahl yöntemi ile gerçekleştirilmiştir (AOAC, 2012c). Proteoliz düzeyin belirlenmesinde TA miktarının yanı sıra, suda çözünür azot (SÇA), %12'lik trikloroasetik asitte (TCA) çözünür azot (TCA-ÇA) ve %5'lik fosfotungustik asitte (PTA) çözünür azot (PTA-ÇA) miktarlarının tayini yapılmıştır (Bütikofer, Rüegg ve Ardö, 1993).

SÇA Tayini

20 g örnek ile 40 °C'de 20 mL saf su bir behere alınmış ve karışım önce Ultra-Turrax ile 10000 rpm'de 1 dakika homojenize edilerek, sonrasında 1 dakika serbest halde bırakılmış, aynı koşullarda 1 dakika daha Ultra-Turrax ile karıştırılmıştır. Homojenat 1 saat boyunca 40 °C'de tutulmuş ve örnekler 4 °C'de, 3000 g'de, 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası üstte biriken yağ bir spatül ile alınıp, kalan sıvı kısım cam yünüden geçirilip, Whatman No.113 filtre kağıdı ile filtre edilmiştir. Filtre edilen kısımda (SÇA) Kjeldahl yöntemi ile azot tayini yapılmıştır.

TCA-ÇA Tayini

5 mL SÇA ekstraktı ile 5 mL %24'lük TCA karıştırılmış ve bu şekilde %12'lik TCA hazırlanmıştır. Sonrasında süspansiyon karıştırılarak, oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiş ve Whatman No.540 filtreden süzölmüştür. Süzöntünün içeriğindeki toplam azot miktarı yine Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir.

PTA-ÇA Tayini

5 mL SÇA ekstraktı, 3.5 mL 3.95 mol/L'lik sülfürik asit (H₂SO₄) çözeltisi ile ve 1.5 mL %33'lük PTA çözeltisi ile karıştırılmıştır. Karışım gece boyunca 4 °C'de bekletilmiş, sonrasında Whatman No.542 filtreden süzölmüştür. Süzöntünün toplam azot içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir.

Proteoliz temelli peynir olgunlaşmasının düzeyinin belirlenmesinde kullanılan olgunlaşma indeksleri elde edilen çözünür azot fraksiyonlarının TA miktarına oranlanmasıyla hesaplanmıştır (Pereira, Gomes, Gomesve Malcata, 2008):

$$\text{Olgunlaşma Uzama İndeksi (OUI)} = \frac{SCA}{TA} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi (OYİ)} = \frac{TCA - CA}{TA} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Serbest Amino Asit İndeksi (SAİ)} = \frac{PTA - CA}{TA} \times 100 \quad (3)$$

3.2.3.3. Serbest Yağ Asidi Bileşiminin ve Miktar Analizi

Peynirlerin olgunlaşmasında lipoliz önemli bir yer tutar ve lipoliz ürünlerinin başında serbest yağ asitleri (SYA) gelmektedir. Serbest yağ asidi bileşiminin ve miktarının belirlenmesinde, De Jong ve Badings (1990) ve Deeth, Gerald ve Snow (1983) tarafından açıklanmış olan yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Analizlerde alev iyonizasyon dedektörlü (FID) gaz kromatografi (GC-FID) cihazı (7890A, Agilent Technologies, SantaClara, ABD) kullanılmıştır. Öncelikle SYA'leri katı faz ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak ekstrakte edilmiş ve daha sonra ekstraktlar GC'ye enjekte edilerek analiz edilmiştir. Analizin ekstraksiyon aşamasında, örneklerdeki yağ hekzan-dietil eter (1:1) çözgenine geçirilmiş, çözgen vakum manifoldu aracılığıyla bond elute kolonlarında bulunan deaktive edilmiş alüminadan süzölmüş, sonrasında ise alümina kurutulmuştur. Aluminada tutunan serbest yağ asitleri, dietil eterde %3'lük formik asit çözeltisinden geçirilerek izole edilmiştir. İzole edilen serbest yağ asitleri GC'ye enjekte edilmiştir. GC'de ayırım için DB-FFAP (30 m x 0.25 µm x 0.25 mm, Agilent) kolon kullanılmıştır. GC fırın sıcaklığı başlangıçta 90 °C'ye ayarlanmış, bu sıcaklıkta 1 dk tutulmuş, ardından 7 °C/dk artışla 240 °C'ye getirilmiş ve bu sıcaklıkta 15 dk tutulmak suretiyle, 2 mL/dk sabit helyum akış hızında analiz gerçekleştirilmiştir. Enjeksiyon sıcaklığı 250 °C, FID sıcaklığı 260 °C'ye ayarlanmıştır. Her bir ekstraktan 0.5 µL enjekte edilmiş ve 1:10 split oranı kullanılarak analizler yapılmıştır. Analizlerde miktar hesaplamasında iç standart yöntemi kullanılmıştır. İç standart olarak, pentanoik asit, tridekanoik asit ve heptadekanoikasit (her biri için 0.5 mg/mL) kullanılmıştır. Analiz sonucu SYA bileşimlerinin miktarı mg/100g yağ olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.4. Uçucu Bileşen Analizi

Uçucu bileşiklerinin analizinde, ekstraksiyon tekniği olarak katı faz mikroekstraksiyon (solid-phase microextraction, SPME) tekniğinden yararlanılmıştır. Uçucu bileşiklerin ekstraksiyonunda Carboxen/Polidimetilsiloksan (CAR/PDMS, Auto Merlin 75 µm, SU57343U, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) ile kaplanmış fiber kullanılmıştır. Olgun Beyaz peynirlerin uçucu bileşiklerinin analizi için belirlenmiş olan optimum SPME koşulları kullanılmıştır (Salum, Erbay, Kelebek ve Selli, 2017). Buna göre, ekstraksiyon sıcaklığı olarak 56.2 °C, ekstraksiyon süresi olarak 84.9 dakika ve karıştırma hızı olarak ise 549 rpm uygulanmıştır.

Uçucu bileşiklerin miktarı ve tanımlanması GC (7890B, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) ve buna bağlı kütle spektrometresinde (MS) (5977A MSD, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) gerçekleştirilmiştir (Salum ve diğerleri, 2017). Dengelenme, ekstraksiyon ve enjeksiyon aşamalarında otomatik enjeksiyon modülü (GC Injector 80, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD) kullanılmıştır. Dengeleme işlemi 30 dakikada gerçekleştirilmiştir; karıştırıcının açık/kapalı zamanı 5/2 s olarak, dengeleme sıcaklığı ise ekstraksiyon sıcaklığı ile aynı olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekstraksiyon sonrasında fiberin enjeksiyon portundaki desorpsiyon süresi 180 saniye, sıcaklığı 250 °C ve septumdaki tahliye akış hızı 3.0 mL/dk olacak şekilde ayarlanmıştır. Ayırmada DB-Wax kolonundan yararlanılmıştır (30 m x 250 µm x 0.25 µm; 122-7032, Agilent Technologies, Santa Clara, ABD). Taşıyıcı gaz olarak 2 mL/dk akış hızında He gazı kullanılmıştır. Fırın sıcaklığı 40 °C’de 2 dakika kaldıktan sonra dakikada 5 °C artışla sıcaklık 70 °C’ye yükseltilecek, fırın bu sıcaklıkta bir dakika tutulduktan sonra dakikada 10 °C’lik bir artışla 240 °C’ye ulaştırılarak ve bu sıcaklıkta 4 dakika tutulduktan sonra program tamamlanmıştır. MS iyonlaşma enerjisi 70 eV, iyon kaynağı sıcaklığı 250 °C, kuadropol sıcaklığı 120 °C’ye ayarlanarak, 1 saniye aralıklarla 30-400 kütle/yük (m/e) arasında tarama yapılmıştır (Kaseleht, Leitner ve Paalme, 2010; Varming ve diğerleri, 2011). Uçucu bileşiklerin tanımlanmasında NIST11 ve Wiley7 kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Tanımlanan uçucu bileşiklerin doğrusal alıkonma indekslerini (linear retention index, LRI) hesaplamak için GC-MS analiz koşullarında alkan serisinin (C₈-C₄₀, SupelCo, PA, USA) enjeksiyonu yapılarak; elde edilen sonuçlar doğrultusunda bileşiklerin LRI değerleri hesaplanmıştır (Van den Dool ve Kratz, 1963). Uçucu bileşiklerin tanımlanmasını doğrulamak için Otomatik Kütle Spektral Dekonvolüsyon ve Tanımlama Sistemi (AMDIS) kullanılmıştır (Lamichhane ve diğerleri, 2018). Bileşiklerin

konsantrasyonunun belirlenmesinde 4-nonanol (9 µg/µL) iç standart olarak kullanılmıştır. İç standart seçiminde, daha önceki çalışmalarda EMP örneklerinde tespit edilemeyen ve EMP'de tanımlanan bileşiklerin piklerlerinin alıkonma indeksleri ile çakışmayan bileşik seçilmiştir.

3.2.3.5. Duyusal Analiz

Çalışmanın ikinci aşamasında, üretilen 20 EMP örneğin duyusal analizi gerçekleştirilmiştir. Duyusal analiz için, Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'nde 10 kişilik panelist ekibi oluşturulmuştur. Panelistler olgun Beyaz peynir lezzeti ve EMP konusunda eğitilmiştir. EMP örneklerine ait olası duyusal terimlerin tanınması amacı ile hazırlanan referans maddeler panelistlere sunulmuştur. Duyusal analizlerde, tanımlayıcı duyusal testlerden yararlanılmıştır. Panelistlerden EMP örneklerindeki acı tat, ransit lezzet, peynir lezzet yoğunluğu ve olgun Beyaz peynir lezzetine benzerlik özelliklerinin değerlendirilmesi istenmiştir. Bu özelliklerin değerlendirilmesinde tek yönlü-unipolar grafik skaladan yararlanılmıştır (Ek Şekil 1).

Duyusal analizde pastörize inek sütünden elde edilmiş, düşük yağ (%7.5) ve tuz (%2) oranı içeren Beyaz peynir, suda bekletirek tuzu azaltılmış ve (1:1) oranında su ile seyreltilerek Ultra-Turrax'ta peynir çözeltisi hazırlanmıştır. EMP'ler bu peynir çözeltisinin içerisine %15 oranında ilave edilmiştir. Duyusal analizin her oturumunda panelistlere, peynir çözeltisi ile peynir çözeltisine %15 oranında ilave edilen dört farklı EMP örneği sunulmuştur. EMP'ler panelistlere sunulurken, üç haneli rakamlar ile rastgele kodlanmış, örnekler rastgele düzende sıralanmıştır. Paneller haftada 3 gün ve günde 2 oturum olacak şekilde sabah 10.30-11.00; öğleden sonra 14:30-15:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.6. İstatiksel Analiz

Çalışmanın 1.aşamasında, işlem koşullarının EMP özellikleri üzerine etkilerinin önemlilik düzeyleri belirlemek amacı ile eleme analizi olarak 2 düzeyli fraksiyonel faktöriyel deneme tasarımından yararlanılmıştır (Tablo 3.1).

Deneme tasarımında da faktörlerin tek tek tüm ana etkilerinin (doğrusal etkiler) herhangi bir ana etki veya interaksiyon etkileşimi yerine kullanılmadığı “Resolution IV” tasarımı kullanılmıştır. Faktörlerin bireysel etkilerinin önem düzeylerinin belirlenmesi esas hedef

olarak alınmış, ikili interaksiyon etkileri ile birlikte incelenmiştir. Tablo 3.1.'de verilen deneme tasarımı doğrultusunda üretimler ve üretilen EMP'lerin analizleri gerçekleştirilmiştir. Daha sonra faktörler içerisinde en etkili 3 faktöre karar vermek için; yanıtları açıklayan modeller oluşturularak, deneysel verilerle modellerin uyumu varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmanın 1. aşamasında kullanılan 2 Düzeyli Fraksiyonel Faktöriyel Deneme Tasarımı.

EMP Örneği	İnkübasyon Sıcaklığı (°C)	İnkübasyon Süresi (sa)	Karıştırma Hızı (rpm)	Proteaz Konsantrasyonu (%)	Lipaz Konsantrasyonu (%)	Homojenizasyon Basıncı (bar)
1	40	48	50	0.010	0.100	1000
2	40	12	250	0.010	0.100	0
3	40	48	50	0.010	0.050	0
4	40	12	50	0.005	0.100	1000
5	40	48	250	0.005	0.050	1000
6	50	48	50	0.005	0.100	0
7	40	48	250	0.005	0.100	0
8	50	12	250	0.005	0.100	1000
9	50	12	50	0.010	0.050	1000
10	50	12	250	0.005	0.050	0
11	50	48	50	0.005	0.050	1000
12	50	48	250	0.010	0.050	0
13	40	12	250	0.010	0.050	1000
14	40	12	50	0.005	0.050	0
15	50	12	50	0.010	0.100	0
16	50	48	250	0.010	0.100	1000

Çalışmanın 2.aşamasında ise, EMP özellikleri üzerinde etkili olduğu belirlenmiş olan 3 faktörün optimizasyonu “Yanıt Yüzey Yöntemi” kullanılarak yapılmıştır. Faktörler ve yanıtlar arasındaki ilişki bilinmediğinden ikinci dereceden polinomial bir modelle en uygun yanıt fonksiyonuna ulaşılabileceği varsayılmıştır. Bu amaçla gerekli deneysel veriler “Merkezi Karma Dönel Tasarım” (Central Composite Rotatable Design, CCRD) deneme planı seçilerek belirlenmiştir. Seçilen 3 faktörlü deneme planına göre, 2^3 faktöriyel tasarımına, 6 adet merkez noktası ve 6 adet aksel nokta ($\lambda=1.68179$) eklenmiş ve toplam 20 deneme noktası belirlenmiştir (Tablo 3.2).

Analizler sonucu elde edilen veriler, çoklu regresyon analiziyle değerlendirilerek, her bir yanıt için faktörlere bağlı ikinci dereceden polinomial denklemler oluşturulmuş ve oluşturulan modellerin deneysel verilerle uyumu için varyans analizi yapılmıştır. Elde edilen modelin

deneysel verilerle uyumluluğu istatistiksel olarak incelenmiştir. Her bir yanıt için, “istenilirlik (desirability) fonksiyonu” metodu kullanılarak, yanıtlar için belirlenmiş olan kriterleri sağlayacak şekilde modeller oluşturulmuştur. Oluşturulan modeller neticesinde, optimum koşullar belirlenmiştir. Son olarak, hesaplanmış olan optimum koşullarda doğrulama amacıyla ek üretim ve analizler yapılmış, hesaplanan değerlerle deneysel değerlerin uyumu saptanmıştır (Erbay ve diğerleri, 2015; Myers ve Montgomery, 1995). İstatistiksel değerlendirme ve optimizasyon Design Expert (Stat-Ease, 7.0.0 Trial) programı kullanılarak yapılmıştır.

Tablo 3.2. Çalışmanın 2. aşamasında, optimizasyonda kullanılan Merkezi Karma Dönel Tasarım deneme planı.

EMP Örneği	Sıcaklık (°C)	Karıştırma Hızı (rpm)	Süre (sa)
1	36,0	90,5	19,2
2	53,9	90,5	19,2
3	36,0	209,4	19,2
4	53,9	209,4	19,2
5	36,0	90,5	40,7
6	53,9	90,5	40,7
7	36,0	209,4	40,7
8	53,9	209,4	40,7
9	30	150	30
10	60	150	30
11	45	50	30
12	45	250	30
13	45	150	12
14	45	150	48
15	45	150	30
16	45	150	30
17	45	150	30
18	45	150	30
19	45	150	30
20	45	150	30

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında elde edilen bulgular 2 aşamada incelenmiştir. İlk aşamada, EMP özellikleri üzerine etkili işlem koşullarının belirlenmesi amacı ile yapılan analizlerden elde edilen bulgular tartışılmıştır. Birinci aşamanın sonunda istatistiksel değerlendirme ile 3 işlem koşulu belirlenmiştir. İkinci aşamasında ise, işlem koşullarının optimizasyonu için belirlenen koşullarda yeniden üretilen EMP'lerin analiz sonuçları incelenmiştir. Son olarak ise, belirlenen optimum koşullarda doğrulama amacıyla üretilen EMP'ler analiz edilerek, deneysel sonuçların doğrulaması yapılmıştır.

4.1. Aşama 1: Etkili İşlem Koşullarının Belirlenmesi

Bu bölümde; işlem koşullarının EMP özellikleri üzerine önem düzeyleri tartışılmıştır. EMP özellikleri üzerinde etkili işlem koşullarının belirlenmesi amacıyla yararlanılan fraksiyonel faktöriyel deneme tasarımı doğrultusunda, “tek aşamalı üretim tekniği” ile 16 farklı koşulda, ikişer paralel üretim gerçekleştirilmiştir. Üretimlerde her bir işlem koşulundan iki düzey olacak şekilde 6 işlem koşulu çalışılmıştır (Tablo 3.1). Bu doğrultuda, üretilen EMP'lerin kimyasal özellikleri, azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri ve uçucu bileşikleri incelenmiştir. EMP'lerin nem, protein, yağ ve pH değerleri Tablo Ek 1.'de verilmiştir. Yapılan analizler sonucu elde edilen deneysel sonuçlar neticesinde, işlem koşullarının her bir yanıt üzerindeki etkisinin incelenmesinde ANOVA'dan yararlanılmıştır. Analizlerde edilen istatistiksel sonuçlar, proteolitik olgunlaşma düzeyi, lipolitik olgunlaşma düzeyi ve uçucu bileşikler olmak üzere; 3 başlık altında değerlendirilmiştir.

4.1.1. Enzim Modifiye Peynirlerinin Proteolitik Olgunlaşma Düzeyi

Proteolitik olgunlaşma süreci sonucunda, peynirin arka plan lezzetine katkıda bulunan ve çeşitli lezzet bileşikleri için substrat görevi gören peptitler ile serbest amino asitler oluşmaktadır. Proteolize dayalı lezzet gelişiminin değerlendirilmesinde peynirin suda çözünür fraksiyonlarından yararlanılmaktadır (Baş ve diğerleri, 2019; Kendirci ve diğerleri, 2020; Wilkinson ve diğerleri, 2011). Bu amaçla, EMP'lerin toplam azot, suda çözünür azot (SÇA), trikloroasetik asitte (TCA) çözünür azot, fosfotungustik asitte (PTA) çözünür azot değerleri

ve proteolitik olgunlaşma indeksleri (OI) hesaplanmıştır (Tablo Ek 2). Çalışılan işlem koşullarının EMP'lerin çözünür azot fraksiyonları ve olgunlaşma indeksi değerleri üzerine etkileri istatistiksel olarak incelenmiştir (Tablo Ek 3). Yapılan istatistiksel analizleri sonucunda, çözünür azot fraksiyonları üzerine etkiye sahip olan işlem koşulları ve bu etkiye yaptıkları % katkı payları belirlenmiştir (Tablo 4.1). Tablo 4.1.'de gösterilen modeller, istatistiksel olarak anlamlıdır ve oluşturulan modellerin regresyon katsayısı oldukça yüksek (%95-96) bulunmuştur.

Proteolizin birincil reaksiyonlarında, proteolitik enzim konsantrasyonunun ve enzimlerin etki süresinin doğru orantılı olacak şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir etki gösterdiği tespit edilmiştir ($P<0.0001$). Tablo 4.1.'de proteaz konsantrasyonunun ve inkübasyon süresinin, SÇA değerleri üzerinde yaklaşık olarak %85 düzeyinde etkili olduğu ve pozitif ilişki gösterdiği görülmektedir. TCA-ÇA ve PTA-ÇA değerlerinde ise, aynı iki koşul etkili olmak ile birlikte; inkübasyon süresi, proteaz konsantrasyonundan daha yüksek katkı payı değeri ile pozitif etki göstermiştir. İki koşulun, TCA-ÇA ve PTA-ÇA değerleri üzerinde yüksek % katkı payı düzeyinde etkili olmakla birlikte; oluşturulan modelin regresyon katsayısı % 95-96 olduğu görülmektedir. Ayrıca, PTA-ÇA dışındaki çözünür azot fraksiyonlarında, anlamlı modeller oluşturulduğunda inkübasyon karıştırma hızının da oluşturulan modele katkısı olduğu görülmektedir ($P<0.0005$).

EMP'de proteoliz yoluyla oluşan acılık genellikle β -kazeinden türetilen 3-15 amino asit içeren hidrofobik peptitlerden kaynaklanmaktadır. Hidrofobik bu peptitlerin neden olduğu acılık, TCA-ÇA miktarı ile ilişkilendirilmektedir. Acılık ile TCA-ÇA değerleri doğru orantılı ve PTA-ÇA değerleri ise ters orantılı değişmektedir (Baş ve diğerleri, 2019; Lemieux ve Simard, 1992). Dolayısıyla, PTA-ÇA miktarındaki artış, acı hidrofobik peptitlerin daha küçük peptit ve serbest aminoasitlere parçalanması ile bağlantılıdır. Buna göre, PTA-ÇA ile pozitif ilişki gösteren inkübasyon süresi ve proteaz konsantrasyonu yüksek değerlerde iken acılığın azalmasının mümkün olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca bahsi geçen iki koşulun etkileşimli etkisinin aynı şekilde pozitif ilişki gösterdiği görülmektedir.

Tablo 4.1.'de görüleceği üzere, çözünür azot fraksiyonları ile benzer şekilde, olgunlaşma indeksi değerleri için proteaz konsantrasyonu ve inkübasyon süresi olmak üzere iki işlem koşulunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P<0.0001$).

Tablo 4.1. Çalışılan işlem koşullarının çözünür azot fraksiyonları ve olgunlaşma indeksleri üzerine etkileri*

İşlem Koşulu**	SÇA ¹	OUI ²	TCA-ÇA ³	OYİ ⁴	PTA-ÇA ⁵	SAI ⁶
x ₁						
x ₂	41.48 ⁺	31.26 ⁺	60.15 ⁺	51.45 ⁺	58.58 ⁺	56.69 ⁺
x ₃	43.76 ⁺	54.30 ⁺	30.24 ⁺	35.03 ⁺	29.34 ⁺	31.41 ⁺
x ₄						
x ₅	4.24 ⁺	5.77 ⁺	6.00 ⁺	6.68 ⁺		
x ₆						
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	4.37 ⁺	1.53 ⁺				
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆					7.52 ⁺	7.59 ⁺
R ² ***	0.93	0.92	0.96	0.93	0.95	0.95

* % katkı payı değerleri verilmiştir.

⁺: Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

*** R²: Model regresyon katsayısı

¹SÇA: Suda Çözünür Azot, ² OUI: Olgunlaşma Uzama İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (SÇA/Toplam Azot).³ TCA-ÇA: Trikloroasetik Asitte Çözünür Azot, ⁴ OYİ: Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (TCA-ÇA/Toplam Azot).⁵ PTA-ÇA: Fosfotungustik Asitte Çözünür Azot, ⁶ SAI: Serbest Amino Asit İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (PTA-ÇA/Toplam Azot).

4.1.2. Enzim Modifiye Peynirlerinin Lipolitik Olgunlaşma Düzeyi

EMP lezzet oluşumunda lipolitik reaksiyonlar önemli rol oynamaktadır. Lipolitik reaksiyonlar sonucu oluşan SYA'leri; doğrudan ya da dolaylı olarak lezzet gelişimine katkıda bulunmaktadır (Kendirici ve diğerleri, 2020; Liu, Holland ve Crow, 2004). Bunlardan C₄ - C₁₀ SYA'leri uçucu serbest yağ asidi olarak değerlendirilmektedir. Yapılan analizlerin istatistiksel değerlendirmesine göre, kısa zincirli SYA'lerinin değişimi üzerinde inkübasyon parametrelerinden sıcaklık, süre ve karıştırma hızının doğrusal etkileri ile sıcaklık-karıştırma hızının interaksiyon etkisi, elde edilen modele göre tüm değişimin %75-80'ini açıklamaktadır (Tablo 4.2). Aynı şekilde, Toplam Uçucu Serbest Yağ Asit (TUSYA) değeri için türetilen modele, bu 4 model teriminin katılım oranı %80'i geçmektedir. Bu koşullardan sıcaklık ve sıcaklığın karıştırma hızı ile karşılıklı etkileşimini gösteren model terimleri, kısa zincirli SYA'lerinin miktarı ile ters orantılı bir ilişki göstermiştir. Uçucu bileşiklerin uygulanan ısı ile işlem ile azaldığı genel olarak bilinmektedir ve serbest yağ asidi miktarındaki değişim ile

ilgili yapılmış çalışmalar da bu durumu desteklemektedir (Evers, Morris, Conaghan ve Palfreyman, 2000). Bunu yanı sıra, ısıtma işleminin enzimatik reaksiyonları hızlandırarak uçucu bileşiklerin oluşumunu hızlandırabilmesi de mümkün görünmektedir. Bu çalışmada, inkübasyon sıcaklığının artışı ile birlikte, lipoliz sürecinde oluşan uçucu bileşiklerin miktarında azalma görülmüştür. Bu durum ise, sıcaklık ile uçucu bileşiklerin kaybının, sıcaklık ile lipoliz hızının artışından daha etkili olduğunu düşündürmektedir. Yapılan literatür çalışmaları da bu sonucu destekler niteliktedir. Varming ve diğerleri (2011), peynir tozlarında üretim aşamalarının (eritme ve kurutma işlemleri) uçucu bileşikler üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Çalışmada, peynire uygulanan eritme işlemi sırasında uygulanan ısıtma işlemi şiddetinin artması ile çoğu uçucu bileşik miktarında azalma olduğu belirtilmiştir. Bir diğer çalışmada ise, ısıtma işleminin peynirlerinin uçucu bileşikleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır ve ısıtma işlemi ile uçucu bileşiklerin çoğunun konsantrasyonunda azalma saptanmıştır (Mariaca, Gausch, Berger, Bosset ve Schar, 1998). Bunun karşın, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı ise kısa zincirli SYA'lerini doğru orantılı etkilenmiştir. EMP üretiminde lipolizin etkilerinin incelendiği bir çalışmada, benzer şekilde, uçucu SYA'lerinin inkübasyon süresi ile pozitif ilişki gösterdiği belirtilmiştir (Kendirci ve diğerleri, 2020). Ayrıca karıştırma hızının sıcaklık ile olan ikili etkisi, C₄ - C₁₂ SYA'leri ve TUSYA değerlerinde anlamlı etki oluşturmuştur.

Tablo 4.2.'de, işlem koşullarının pH değerine etkileri incelendiğinde SYA'leri ile benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bir başka ifadeyle, asitlik artışı ile lipoliz artışının ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

İşlem koşullarının SYA'lerinin üzerine etkilerinin istatistiksel olarak incelenmesi Tablo Ek 4. ve Tablo Ek 5.'te verilmiştir. TSYA-UZUN ve TSYA değerlerinde inkübasyon sıcaklığı, süresi ve karıştırma hızı istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P < 0.0001$). Ayrıca, TSYA-UZUN ve TSYA değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı olan, belirleyici ikili etkileşimler de bulunmaktadır. Oluşturulan anlamlı modellerde sıcaklığın süre ve karıştırma hızı ile olan ikili etkileşimleri ayrı ayrı %12'lik katkı payları içermektedir.

Tablo 4.3.'e göre, inkübasyon sıcaklığı ile uzun karbon zincirli SYA'leri ters orantılı olarak ilişkilidir. Bunun yanı sıra, inkübasyon süresi ve karıştırma hızının uzun zincirli SYA'lerinin miktarının değişimi üzerinde pozitif etkisi görülmektedir.

Tablo 4.2. Çalışılan işlem koşullarının kısa zincirli SYA'lerine etkileri*

İşlem Koşulu**	C _{4:0}	C _{6:0}	C _{8:0}	C _{10:0}	C _{12:0}	TUSYA ¹	pH
x ₁	26.47	30.14	26.67	22.90	18.41	26.95	25.98⁺
x ₂	13.61⁺	14.73⁺	10.72⁺	12.71⁺	10.33⁺	13.51⁺	31.68
x ₃	1.99	1.84	2.14	1.80		1.96	
x ₄	3.08 ⁺					1.42 ⁺	
x ₅	20.13⁺	22.06⁺	31.93⁺	29.06⁺	27.57⁺	24.20⁺	23.62
x ₆	2.78	2.96	1.96	2.58	1.22	2.71	
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	6.64	6.68	4.36	5.04	5.51	1.45	3.20 ⁺
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆			1.07 ⁺				
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	16.91	13.05	15.81	18.86	26.74	16.44	2.59 ⁺
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅	4.42 ⁺	5.04	2.38	3.27	5.39	4.08	
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆							
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	2.40 ⁺		0.93 ⁺	1.24 ⁺	1.89 ⁺		1.50
R ^{2***}	0.98	0.96	0.97	0.97	0.97	0.97	0.88

* % katkı payı değerleri verilmiştir.

+ : Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) korelasyon gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

*** R²: Model regresyon katsayısı

¹ TUSYA: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asidi

Lipolitik olgunlaşmada karıştırma hızı C_{18:2} dışındaki tüm serbest yağ asitlerinin miktarının değişimi üzerinde belirgin etki göstermektedir ($P < 0.0001$) (Tablo Ek 6). Karıştırma hızının %katkı payı değerleri yüksek olmakla birlikte lipoliz ile doğru orantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu etki, karıştırma hızının yağ-su ara yüzünü arttırması ile yorumlanmıştır. Inkübasyon boyunca uygulanan karıştırma işlemi, yağ-su ara yüzünü arttırarak lipaz aktivitesini desteklemesi mümkün olduğu düşünülmüştür.

Kısaca, Uzun zincirli TSYA, TUSYA ve TSYA değerleri için inkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızı oldukça belirleyici koşullar olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra, inkübasyon süresi ve belirtilen etkilerin interaksiyon etkileri de SYA'leri üzerinde önemli etkiye sahiptir. Ek olarak, lipolitik enzim konsantrasyonunun lipolizde belirleyici olmadığı saptanmıştır (Tablo 6.). Bu durum, enzim/substrat eşleşmesinin yeterli düzeyde olduğunu, ortamda oluşan doygunluk sonrası enzim artışının lipoliz üzerinde önemli bir etki oluşturmadığını göstermiştir.

Tablo 4.3. Çalışılan işlem koşullarının SYA'leri üzerine etkileri*

İşlem Koşulu**	<i>C</i> _{14:0}	<i>C</i> _{16:0}	<i>C</i> _{18:0}	<i>C</i> _{18:1}	<i>C</i> _{18:2}	<i>C</i> _{18:3}	<i>TSYA-UZUN</i> ¹	<i>TSYA</i> ²
X ₁	22.47	7.28	20.67	8.51	14.40	38.29	13.92	16.55
X ₂	14.35⁺	6.73⁺	11.14⁺	6.13⁺	8.92⁺	12.02⁺	9.70⁺	10.72⁺
X ₃		4.60 ⁺		4.78 ⁺	4.54 ⁺		1.55 ⁺	
X ₄		1.33 ⁺	2.00 ⁺	3.89 ⁺	4.25 ⁺		1.34 ⁺	1.41 ⁺
X ₅	16.71⁺	13.46⁺	25.25⁺	21.42⁺	6.51⁺	37.29⁺	20.01⁺	21.48⁺
X ₆	7.49	1.27				1.60	1.67	1.91
X ₁ X ₂ /X ₃ X ₅	5.29	19.85⁺	7.17	16.34⁺	23.07		13.75	12.52
X ₁ X ₄ /X ₅ X ₆	4.31 ⁺	1.42 ⁺		2.45	13.70	5.05	1.87	1.42
X ₁ X ₅ /X ₂ X ₃ /X ₄ X ₆	7.62	16.33	6.25	4.70	3.02		10.69	12.06
X ₁ X ₆ /X ₄ X ₅	13.97	20.97	23.98⁺	27.63⁺	14.74⁺		22.04	18.30
X ₂ X ₄ /X ₃ X ₆		3.53 ⁺					1.37 ⁺	1.01 ⁺
X ₂ X ₅ /X ₁ X ₃	3.28 ⁺					1.28		
R ^{2***}	0.95	0.96	0.96	0.95	0.93	0.95	0.97	0.97

*% katkı payı değerleri verilmiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).*** R²: Model regresyon katsayısı

+: Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) korelasyon gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

¹TSYA-UZUN: Toplam Uzun Zincirli Serbest Yağ Asidi , ²TSYA: Toplam Sebest Yağ Asidi.

4.1.3. Enzim Modifiye Peynirlerinin Uçucu Bileşenleri ve Miktarı

Serbest yağ asitleri ve aminoasit metabolizmasının ikincil reaksiyonları sonucu oluşan uçucu bileşikler peynir karakteristik aromasından sorumlu önemli lezzet bileşikleridir (Salum ve diğerleri, 2019). EMP örneklerinde dokuz asit, altı keton, beş aldehit, altı ester, dört alkol, iki lakton, bir furan ve bir fenol olmak üzere toplam 34 farklı uçucu bileşik tanımlanmıştır (Tablo Ek 7-10). Olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP ile yapılan çalışmalar incelediğinde benzer uçucu bileşiklerin tanımlandığı görülmektedir (Baş ve diğerleri, 2019; Kendirci ve diğerleri, 2020; Salum ve diğerleri, 2019). Ayrıca, çalışılan işlem koşullarının uçucu bileşikler üzerine etkilerini belirlemek amacı ile oluşturulan modellerde istatistiksel olarak önemli etkiye sahip olan bileşiklerin *p*-değerleri ekte verilmiştir (Tablo Ek 11-12).

Peynirlerde en bol bulunan uçucu bileşikler yağ asitleridir (Collins ve diğerleri, 2003). Asetik, bütanoik, pentanoik gibi organik asitler EMP ürünlerine baskın lezzet bileşenleri olarak bilinmektedir. Bu bileşenler sadece belirli tatlar vermek veya lezzeti arttırmak için değil, aynı

zamanda diğer bileşenlerin lezzetini uyumlu hale getirmek için de kullanılır, böylece daha dengeli bir genel lezzet profili oluşturur (Guinee ve Kilcawley, 2004). Tablo 4.4.'te, yapılan varyans analizi sonucu oluşturulan modellerin katkı payları verilerek, işlem koşullarının uçucu asitlerin miktarındaki değişimi üzerindeki ilişkisini vermek amaçlanmıştır. Bu asitler içerisinde bütanoik asit, EMP aromasında önemli role sahiptir ve peynire "ransit lezzet" vermektedir. Bütanoik asit miktarındaki değişiminde sıcaklık işlem koşulunun %18 oranında etkili olduğu görülmektedir ($P<0.0001$). Oluşturulan modelde süre ve karıştırma hızı ayrı ayrı düşük %katkı payı değeri vermesine karşın, iki koşulun interaksiyon etkisi %20 oranında bütanoik asit üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Faktörlerin bireysel etkilerinin pozitif, interaksiyon etkilerinin ise negatif ilişki gösterdiği görülmektedir. Ayrıca, inkübasyon sıcaklığının homojenizasyon basıncı ile oluşturduğu ikili etki, yalnızca bütanoik asit üzerinde önemli düzeyde etki (yaklaşık %20) göstermiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Çalışılan işlem koşullarının uçucu asitler üzerine etkileri*

İşlem Koşulu**	Asetik Asit	Bütanoik Asit	Pentanoik Asit	Hekzanoik Asit	Heptanoik Asit	Oktanoik Asit	Dekanoik Asit	9- Dekanoik Asit	Dodekanoik Asit
x ₁	64.65⁺	18.14⁺	2.05	44.80	43.47	50.89	58.04	51.83	61.24
x ₂		5.67 ⁺	24.97⁺	13.17⁺	7.16⁺	14.82⁺	14.60⁺	14.06⁺	12.53⁺
x ₃	8.44 ⁺	5.23 ⁺	7.13 ⁺						
x ₄			9.98 ⁺	5.06 ⁺	10.10 ⁺	6.56 ⁺	3.28 ⁺	7.01 ⁺	5.06 ⁺
x ₅	3.93		3.57 ⁺	11.54⁺	17.13⁺	12.06⁺	8.84 ⁺	9.08 ⁺	3.21 ⁺
x ₆	3.09 ⁺	5.82 ⁺							
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅		5.81				2.40	4.64	5.39	2.42
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆			17.63	8.97	4.28	2.97	1.10		2.06
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	6.42	20.97	5.51					4.43	4.00
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅	5.47	19.68	6.38	4.12	5.56		1.86		
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆		13.21	3.02						
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	4.29		10.25	4.29	5.83				
R ²	0.96	0.94	0.90	0.91	0.93	0.93	0.92	0.91	0.90

* % katkı payı değerleri verilmiştir.

+ : Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) korelasyon gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

*** R²: Model regresyon katsayısı

Bütanoik asit ve pentanoik asit dışında diğer serbest yağ asitlerinde, sıcaklık %40-%65 oranlarında etki göstermiştir; bu etki oldukça belirleyicidir. C₆-C₇-C₈ karbon sayılı uçucu yağ asitlerinde, sıcaklığa ek olarak, inkübasyon süresi ve karıştırma hızı modeli oluşturan temel

koşullardır. C₁₀-C₁₂ karbon sayılı uçucu yağ asitleri için ise, temel olarak inkübasyon sıcaklığı ve süresi etkili olduğu görülmektedir (Tablo 4.4).

Peynirde aldehit oluşumu en çok amino asit katabolizmasıyla oluşmaktadır (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Benzaldehit, amino asit katabolizması sonucu oluşan tipik "acı badem kokusu" ile bilinen aldehittir (Baş ve diğerleri, 2019; Molimard ve Spinnler, 1996). Tablo 4.5.'e göre, benzaldehit için her bir inkübasyon parametresinin (sıcaklık, süre, karıştırma hızı) etki düzeyleri %20-25 değerindedir ve istatistiksel olarak önemlidir ($P<0.0001$). Tablo 4.5.'te inkübasyon süresinin benzaldehit bileşiğinin miktarındaki değişimi pozitif yönde etkilediği görülmektedir. Baş ve diğerleri (2019) yaptıkları çalışmada, benzer şekilde, inkübasyon süresindeki artışın; benzaldehit bileşik miktarının arttırdığını belirtmiştir ($P<0.05$).

Tablo 4.5. Çalışılan işlem koşullarının aldehitler ve ketonlar üzerine etkileri*

İşlem koşulu**	Benzaldehit	Hekzanal	Oktanal	Nonanal	2-Heptanone	2-Nonanone	2-Undekanone	2-Tridekanone
x ₁	26.42 ⁺	44.24 ⁺	80.11 ⁺	24.63 ⁺	69.06 ⁺	48.53	59.60	53.84
x ₂	24.56 ⁺	15.99	3.84	15.70 ⁺		28.44 ⁺	25.64 ⁺	19.30 ⁺
x ₃				6.11 ⁺	1.31			
x ₄						8.14 ⁺		2.27 ⁺
x ₅	20.59 ⁺	21.07	7.41		14.90		3.26 ⁺	4.56 ⁺
x ₆								6.48
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	3.29 ⁺	3.66 ⁺	2.20 ⁺	48.49 ⁺	8.24	2.94		
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆						3.41		
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆		3.88 ⁺		1.20 ⁺			2.52	7.40
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅								
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆								
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	15.79 ⁺	3.42						
x ₂ x ₆ /x ₃ x ₄								3.20 ⁺
R ²	0.90	0.92	0.93	0.96	0.93	0.91	0.91	0.97

* % katkı payı değerleri verilmiştir.

+ : Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) korelasyon gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

*** R²: Model regresyon katsayısı

Aldehitler içinden hekzanal, oktanal ve nonanal, amino asitlerin katabolizması sırasında değil, doymamış yağ asitlerinin β-oksidasyonu ile oluşmaktadır. (Fox ve diğerleri, 2000; McSweeney ve Sousa, 2000). Bu aldehitlerde sıcaklık ve sürenin etkili olduğu görülmektedir. Özellikle oktanal bileşiğinin, sıcaklık koşulu ile %80 ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

EMP lezzetinde önemli yer tutan metil ketonlar SYA'lerinin β -oksidasyonu sonucu oluşmaktadır. 2-nonanon, 2-undekanon ve 2-tridekanon gibi metil ketonlar meyveli, çiçeksi ve küflü koku ile, 2-heptanon ise küflü peynir kokusu ile karakterize edilirler (Curioni ve Bosset, 2002). Tablo 4.5.'e göre, genel olarak metil ketonların inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile toplamda %70-85 ilişkili olduğu görülmektedir. 2-heptanon için ise farklı olarak, %70 katkı payı ile sıcaklığın pozitif etkisi, %15 katkı payı ile karıştırma hızının negatif etkisi görülmektedir.

Esterler uçucuların önemli bir grubudur ve peynirde meyvemsi koku oluşumunda önemli rol oynarlar (Wolf, Perotti ve Zalazar, 2010; Salum ve diğerleri, 2019). Ayrıca bu bileşikler, yağ asitlerinin neden olduğu keskinliği ve aminler tarafından verilen acılığı en aza indirerek peynirin aromasına katkıda bulunabilmektedir (Gallois ve Langlois, 1990; Curioni ve Bosset, 2002). Etil hekzanoat bileşiği karıştırma hızı ile yüksek seviyede ve negatif bir ilişki göstermiş, sıcaklık ile ise pozitif ilişki göstermiştir. Tablo 4.6.'da gösterilen diğer 3 ester ile ise sıcaklık ile ters orantılı olarak ilişkili ve %40-65 etkili olduğu görülmektedir.

Laktonlar, hidroksi asitlerin molekül içi esterifikasyonu sonucu oluşan meyvemsi aromadan sorumlu halkalı bileşiklerdir (McSweeney, 2004). Yapılan analiz sonuçlarına göre, laktonların inkübasyon parametreleri (sıcaklık, süre ve karıştırma hızı) ile ilişkili olduğu görülmektedir ($P<0.0001$). Peynirde tanımlanan en yaygın ve önemli laktonlardan biri δ -dekalaktondur. Tablo 4.6.'e göre, δ -dekalakton uçucu bileşiğinin miktarındaki değişim sıcaklık ve süre ile pozitif yönde etkilenirken, karıştırma hızı ile ise negatif yönde bir etki göstermiştir.

Fenol bir diğer aminoasit katabolizması sonucu oluşan keskin kokulu bir bileşiktir. Fenol bileşiğinin sıcaklık ile pozitif; karıştırma hızı ve iki koşulun interaksyonu ile negatif ilişki gösterdiği görülmektedir (Tablo 4.6). Buna göre, fenol bileşiği yüksek sıcaklık ve düşük karıştırma hızında yüksek değer vermektedir. Furanlar, maillard reaksiyonu yoluyla aminler ve amino asitlerin varlığında karbonil grupların termal etkileşim ile meydana gelen bileşiklerdir (Curioni & Bosset, 2002). Pentil furan miktarının sıcaklık ve süredeki artış ile olumlu etkilendiği; karıştırma hızındaki artış ile olumsuz etkilendiği görülmektedir (Tablo 4.6). Dolayısıyla inkübasyon koşullarında, sıcaklık ve süre yüksek; karıştırılma hızı ise düşük değer alındığında, en yüksek pentil furan miktarına ulaşılması ön görülmektedir.

Tablo 4.6. Çalışılan işlem koşullarının diğer uçucu bileşikler üzerine etkileri*

İşlem Koşulu**	Etil hekzanoat	Etil oktanoat	Etil dekanoat	Etil 9- dekanoat	γ -bütirolakton	δ -dekalakton	Fenol	Pentil furan
x ₁	25.18 ⁺	41.65	54.67	64.25	24.78 ⁺	23.06 ⁺	24.23 ⁺	54.87 ⁺
x ₂	5.55		22.80 ⁺	7.11 ⁺		28.91 ⁺		11.73 ⁺
x ₃	3.70			5.61			7.17 ⁺	
x ₄	7.90 ⁺	9.52 ⁺	8.12 ⁺	10.46 ⁺	5.39			
x ₅	42.55	23.88			38.77	14.19	8.19	13.11
x ₆						0.20		
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	6.86 ⁺		10.37	3.64			9.45	7.03 ⁺
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆		1.11		1.80				
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	5.59 ⁺	16.32			15.89 ⁺	19.73	41.85	8.28 ⁺
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅					8.98	4.30 ⁺		
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆								
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃				3.75				1.28 ⁺
x ₂ x ₆ /x ₃ x ₄								
R ²	0.97	0.92	0.95	0.96	0.93	0.90	0.90	0.96

* % katkı payı değerleri verilmiştir.

†: Pozitif (+) korelasyonu ifade etmektedir. Negatif (-) korelasyon gösteren sonuçlar ise herhangi bir simge ile belirtilmemiştir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

*** R²: Model regresyon katsayısı

4.1.4. Enzim Modifiye Peynirler Üzerinde En Etkili 3 Üretim Koşulunun Belirlenmesi

EMP'lerin proteolitik olgunlaşma özellikleri incelendiğinde, proteolitik enzim konsantrasyonu ve inkübasyon süresi ön plana çıkmaktadır. Buna ek olarak, karıştırma hızının kısmen etkili olduğu, sıcaklığın ise ön plana çıkmadığı görülmektedir. SYA'leri ve uçucu bileşikler üzerinde anlamlı etkiye sahip işlem koşullarının ise inkübasyon sıcaklığı ve süresi ile karıştırma hızı olduğu görülmektedir. Inkübasyon süresinin incelenen tüm özellikler üzerinde belirgin etkiye sahip olduğu görülmüştür. Inkübasyonda uygulanan karıştırma hızının da genel anlamda önemli olduğu saptanmıştır. Sıcaklığın ise SYA'leri ve uçucu bileşiklerin oluşumunda anlamlı etkisi çok belirgindir. Buna karşın, proteolitik olgunlaşma değerlerinde sıcaklığın etkisi istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sıcaklığın, proteolitik olgunlaşmada anlamlı etkisi olmasa bile, lipolizde belirgin etkiye sahip olmasının yanı sıra serbest yağ asidi ile aminoasit katabolizması sonucu oluşan uçucu bileşikler üzerinde de anlamlı etkiye sahip olması, tek aşamalı teknikle EMP üretiminde önemli bir faktör olduğuna karar verilmesine yol açmıştır. Sonuç olarak, EMP üzerinde belirgin etkiye sahip en önemli üç işlem koşulu; inkübasyon sıcaklığı, süresi ve karıştırma hızı olarak seçilmiştir.

4.2. Aşama 2: Seçilen İşlem Koşullarının Optimizasyonu

Çalışmanın ikinci aşamasında, EMP özellikleri üzerinde etkili olduğu belirlenen 3 işlem koşulunun optimizasyonu “Yanıt Yüzey Yöntemi” kullanılarak yapılmıştır. Optimizasyonda temel işlem değişkenleri olarak, inkübasyon sıcaklığı (30-60°C aralığı), inkübasyon karıştırma hızı (50-250 rpm aralığı) ve inkübasyon süresi (12-48 saat aralığı) belirlenmiştir. Bu doğrultuda, belirlenen 3 koşulda çalışılarak, “tek aşamalı üretim tekniği” ile EMP üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretimde yararlanılan deneysel veriler, “Merkezi Karma Dönel Tasarım” deneme planı ile belirlenmiştir. Deneme tasarımı doğrultusunda, belirlenen işlem koşullarında 20 EMP üretimi gerçekleştirilmiştir (Tablo 3.2). Üretilen örneklerin kimyasal özellikleri, azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikler ve duyu özellikleri analiz edilmiştir. EMP'lerin kimyasal özellikleri Tablo Ek 13'te yer almaktadır.

Analizler sonucu proteolitik ve lipolitik olgunlaşma düzeyleri, uçucu bileşen ve duyu analizi değerleri optimizasyonda yanıt olarak değerlendirilmiştir. Her bir yanıt çoklu regresyon analiziyle değerlendirilerek, işlem koşullarına bağlı ikinci dereceden polinomiyal denklemler oluşturulmuş ve oluşturulan bu modellerin deneysel verilerle uyumu için varyans analizi yapılmıştır. Buna göre, öncelikle her bir yanıt için uygun model belirlenmiştir. Tüm yanıtlar içerisinde; işlem değişkenlerinin yanıtlara doğrusal, ikinci dereceden ve etkileşim etkileri dikkate alınarak, bütünü en iyi ifade edebileceğimiz 6 yanıt belirlenmiştir. Bunlar; TCA-ÇA/SÇA (%), SAI (%), TSYA (mg/100g yağ), TUSYA (%), Toplam Uçucu (mg/kg) ve olgun Beyaz peynir lezzetine duyu benzerliktir. Optimizasyonda kullanmak için seçilen 6 yanıtın ANOVA analiz sonuçları Tablo 4.7.'de gösterilmiştir. İkinci dereceden polinomiyal denklemler ile oluşturulan modellerin, deneysel verilerle uyumluluğunda; “*lack of fit*”, model regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı ($Adj-R^2$), tahminlenmiş çoklu regresyon katsayısı ($Pred-R^2$) ve yeterli kesinlik ($Adeq.Precision$) değerleri incelenmiştir. Buna göre tüm modellerin, varyasyonun büyük bir kısmını açıkladığı görülmektedir ($R^2>0.94$). Bu değerler dikkate alındığında, oluşturulan modellerin istatistiksel olarak uygun olduğu görülmektedir.

Elde edilen modellerde, yanıtlar üzerinde etkisi istatistiksel olarak önemli bulunan işlem koşulları için yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafiklerde, işlem koşullarından birisi sabit tutulurken, diğer ikisinin değişiminin yanıtlara etkisi belirlenmektedir. Optimizasyona dahil edilen 6 yanıt için ayrı ayrı incelenmiş ve 4 başlık

altında (proteolitik olgunlaşma, lipolitik olgunlaşma, uçucu bileşikler ve duyuşal değerdendirme) tartışılmıştır.

Tablo 4.7. Seçilen 6 yanıt için ANOVA analizi sonucu p-değerleri.

İşlem Koşulları	TCA-ÇA/SÇA ¹	SAI ²	TSYA ³	TUSYA ⁴	Toplam Uçucu ⁵	Benzerlik ⁶
	p- değeri	p-değeri	p-değeri	p-değeri	p-değeri	p-değeri
Model	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
A-Sıcaklık	< 0.0001	0.0653	< 0.0001	< 0.0001	0.0011	< 0.0001
B-Karıştırma Hızı	< 0.0001	0.0532	0.0031	0.0128	< 0.0001	0.0688
C-Süre	0.0011	< 0.0001	< 0.0001	0.0001	0.0028	0.0350
AB	< 0.0001	< 0.0001	0.0747	0.0036	0.0004	0.0070
AC				0.0872		0.0182
BC	0.0008					
A ²	< 0.0001	< 0.0001	0.0003	0.0528	0.0021	< 0.0001
B ²	< 0.0001	0.0048	< 0.0001		< 0.0001	0.0235
C ²	0.0745	0.0272			0.0003	< 0.0001
Lack of Fit	0.2167	0.6568	0.4102	0.7980	0.2371	0.2128
R ²	0.9833	0.9562	0.9551	0.9511	0.9399	0.9537
Adj R ²	0.9712	0.9306	0.9345	0.9285	0.9049	0.9200
Pred R ²	0.9268	0.8730	0.8673	0.8796	0.7591	0.7895
Adeq Precision	26.1198	18.3622	22.2570	25.8596	16.3947	15.9534

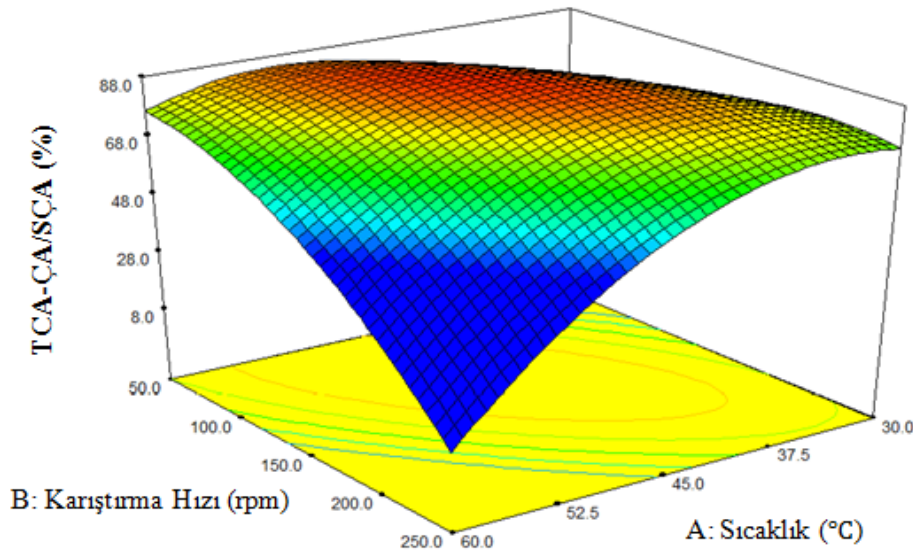
¹ TCA-ÇA/SÇA: Trikloroasetik Asitte Çözünür Azotun, Suda Çözünür Azota Oranı (%). ² SAI: Serbest Amino Asit İndeksi(Suda çözünür azot cinsinden) (PTA-ÇA/Toplam Azot) (%). ³ TSYA: Toplam Sebest Yağ Asidi miktarı (mg/100g yağ). ⁴ TUSYA: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asidi (%) (C_{4:0}- C_{10:0}). ⁵ Toplam Uçucu: Toplam Uçucu Bileşik Miktarı (mg/kg). ⁶ Benzerlik: Duyusal analiz değerdendirmesinde, olgun Beyaz peynir lezzetine benzerliğin ortalama değeri.

4.2.1. EMP'lerin Proteolitik Olgunlaşma Düzeyi

EMP'lerin çözünür azot fraksiyonları ortalama değerdleri ile proteolitik olgunlaşma indekslerinin ortalama değerdleri Tablo Ek 14'te verilmiştir. Ekte yer alan bu değerdler içinden proteolitik olgunlaşma düzeyinin optimizasayona dahil edilmesi amacıyla iki parametre seçilmiş ve modele dahil edilmiştir. Bu iki değerd seçilirken yapılan istatistiksel analizlerden ve literatürden yararlanılmışır. Olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP üretiminde proteoliz aşamasının incelendiği çalışmada, TCA-ÇA/SÇA ve PTA-ÇA/SÇA oranlarının proteolize dayalı lezzet gelişiminin değerdlendirilmesinde yararlanıldığı ve TCA-ÇA/SÇA ve PTA-ÇA/SÇA oranlarının en aza indirilmesinin, istenen olgun Beyaz peynir aromasıyla sonuçlandığı belirtilmiştir (Baş ve diğerdleri, 2019; Moatsou, Massouras, Kandarakisve Anifantakis, 2002). Bu literatür bilgisine göre, TCA-ÇA/SÇA oranı proteolitik olgunlaşma

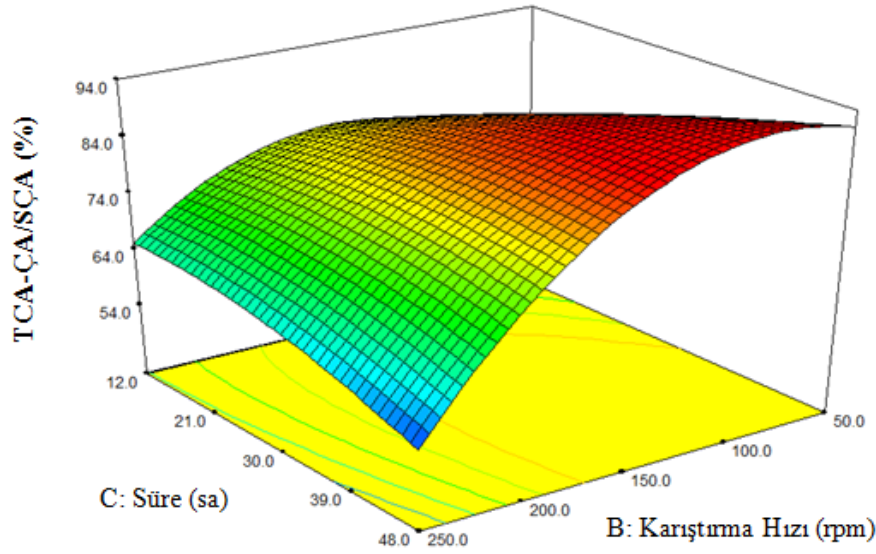
düzeyi kapsamında modele dahil edilmiş ve minimize edilmiştir. Buna ek olarak, istatistiksel olarak uygun olması ve proteolizin alt fraksiyonları içermesi sebebiyle SAI değeri modele dahil edilmiş ve proteoliz kaynaklı acılığın minimize edilmesi hedefiyle optimizasyonda maksimize edilmeye çalışılmıştır.

Tablo 4.7.'de inkübasyon karıştırma hızı ile inkübasyon sıcaklığının doğrusal, kare ve interaksiyon değerlerinin tamamı TCA-ÇA/SÇA oranı üzerinde istatistiksel anlamlı bulunmuştur ($P<0.0001$). Şekil 4.1.'de, inkübasyon karıştırma hızı ile inkübasyon sıcaklığı interaksiyon etkisinin TCA-ÇA/SÇA üzerindeki değişimini gösteren yanıt yüzey grafiği verilmiştir. Bu grafiğe göre, EMP üretiminde düşük TCA-ÇA/SÇA değeri elde etmek için inkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızı yüksek değerlerde çalışılması gerektiği görülmektedir.



Şekil 4.1. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon karıştırma hızı ile sıcaklığı değişiminin TCA-ÇA/SÇA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği

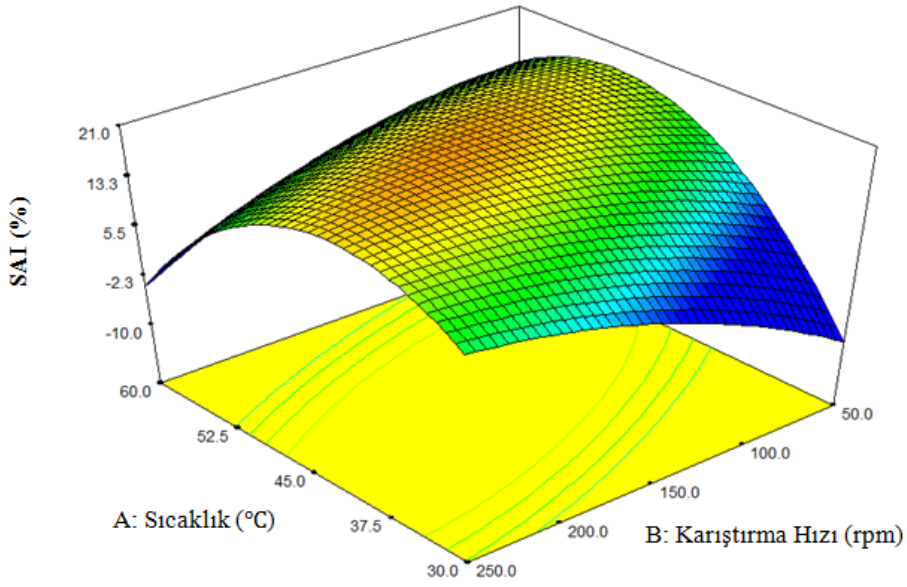
Tablo 4.7.'de, inkübasyon karıştırma hızı ile inkübasyon süresinin interaksiyon etkisinin TCA-ÇA/SÇA değeri için etkili olduğu görülmektedir ($p=0.0008$). İki işlem koşulunun interaksiyon etkisinin TCA-ÇA/SÇA değeri üzerindeki değişimini veren yanıt yüzey grafiği Şekil 4.2.'de incelenmiştir. Grafikte görüldüğü üzere, süre ve karıştırma hızı yüksek değerlerde iken TCA-ÇA/SÇA değeri düşük sonuç vermiştir.



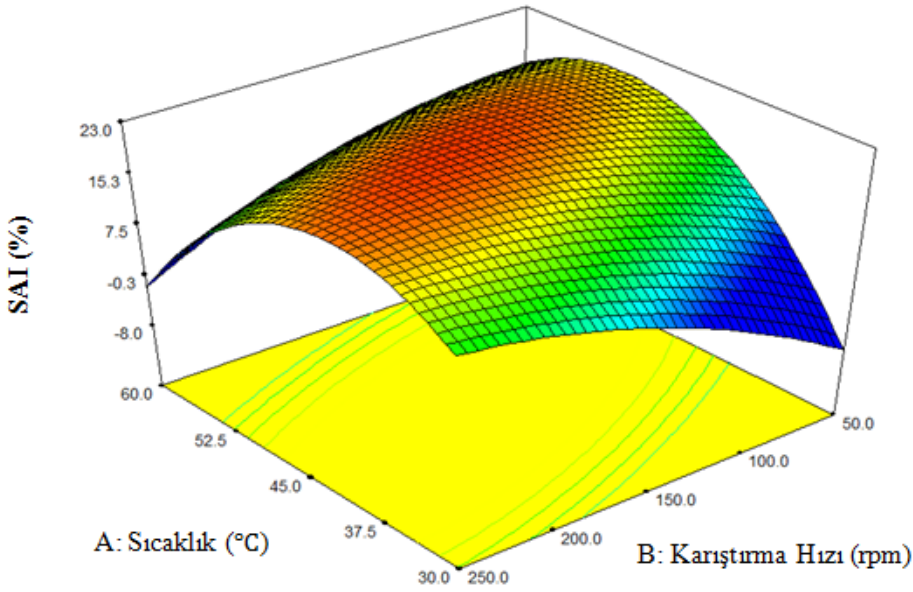
Şekil 4.2.Sabit inkübasyon sıcaklığında (45°C), inkübasyon karıştırma hızı ile süresinin TCA-ÇA/SÇA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey ve grafiği.

İnkübasyon koşullarının SAI değeri üzerine etkileri incelendiğinde, sıcaklık ve karıştırma hızının *p*-değerleri 0.05'ten büyük bulunmuştur (Tablo 4.7). Bunun yanı sıra, bahsi geçen ikili etkinin interaksiyon etkisinin ise istatistiksel olarak önemli olduğu de görülmektedir ($P < 0.0001$). Sıcaklık ve karıştırma hızının interaksiyon etkisinin SAI üzerindeki değişimi Şekil 4.3.'te verilmiştir. İnkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızının her ikisinin de yüksek ya da her ikisinin de düşük olduğu değerlerde SAI değeri düşük sonuç vermiştir. Yüksek değerde SAI değeri için ise, orta noktalarda sıcaklık ve karıştırma hızı seçilmelidir.

Çalışmanın ilk aşamadasında, SAI değeri ile süre yüksek düzeyde pozitif ilişki göstermiştir. SAI değeri yüksek düzeyde incelenmek istenildiğinde; sürenin yüksek olduğu nokta seçilmiş ve yanıt yüzey grafiği oluşturulmuştur (Şekil 4.4). Buna göre, karıştırma hızı yüksek; sıcaklık ise orta noktalarda (45-52°C aralığında) iken SAI indeksi değeri yüksek sonuç vermiştir.



Şekil 4.3. Sabit sürede (30 sa), karıştırma hızı ile inkübasyon sıcaklığı değişiminin SAI değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

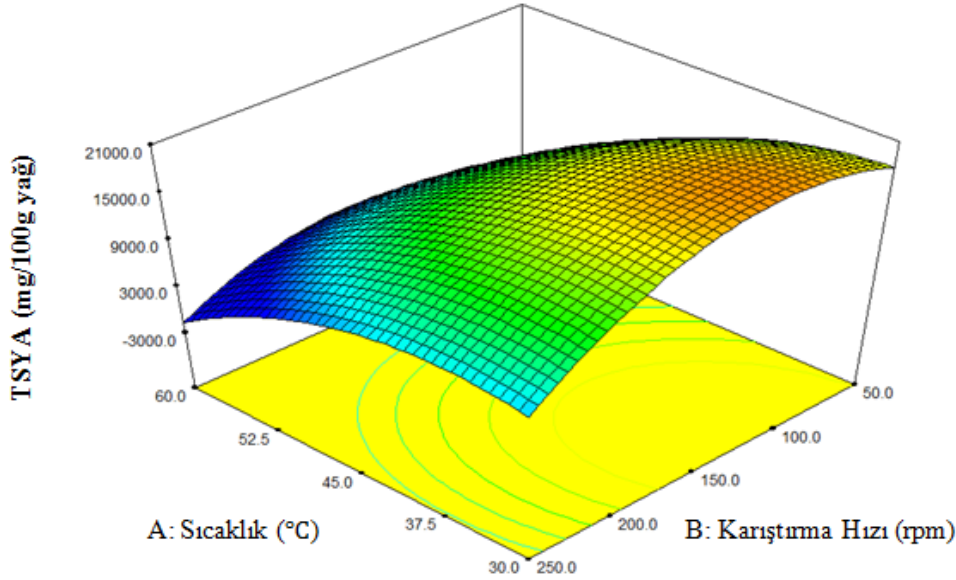


Şekil 4.4. Sabit sürede (40.7sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin SAI değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

4.2.2. EMP'lerin Lipolitik Olgunlaşma Düzeyi

Lipolitik reaksiyonlar sonucu oluşan SYA'lerinin bileşimi ve miktarı belirlenmiştir (Tablo Ek 15-16). SYA'lerindeki artış peynir lezzetini olumlu yönde etkilemiştir (Salum ve diğerleri, 2018). Yapılan istatistiksel değerlendirmeler ve literatür bilgisine göre, TSYA değeri

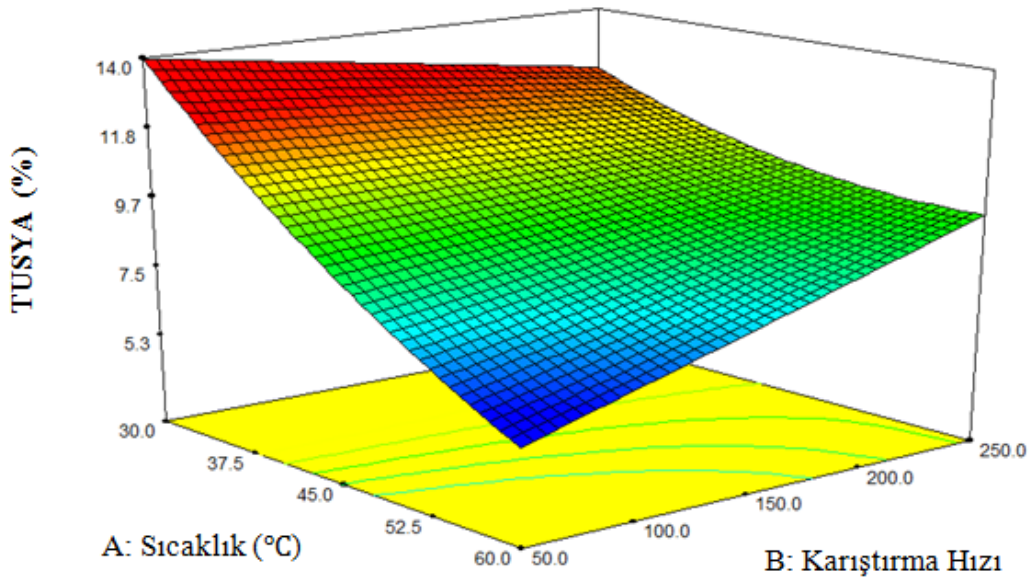
hedeflenen lezzete ulaşmak için maksimize edilmiştir. Tablo 4.7.'de, inkübasyon karıştırma hızı ile inkübasyon sıcaklığının interaksiyon etkisinin TSYA üzerinde etkili olduğu görülmektedir ($p=0.07$). İki işlem koşulunun interaksiyon etkisinin TSYA değeri üzerindeki değişimini veren yanıt yüzey grafiği incelendiğinde, düşük sıcaklık ve düşük karıştırma hızı değerlerinde TSYA değeri yüksek sonuç vermiştir (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin TSYA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

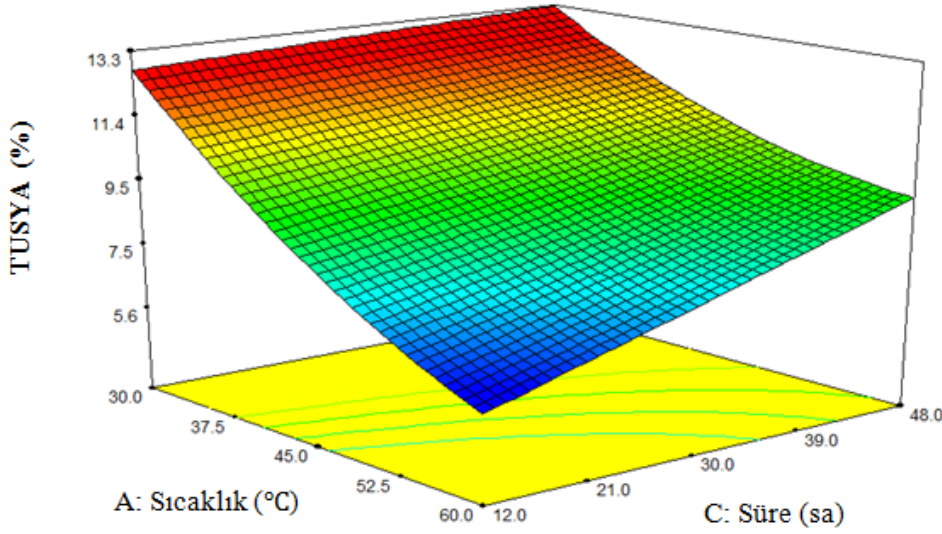
Kendirci ve diğerleri (2020), EMP'lerin toplam SYA içeriğinin yaklaşık %10.7-12.3'ünün uçucu serbest yağ asitlerinin oluşturduğu bildirmiştir. Ayrıca yaptıkları duyusal değerlendirme sonucunda uçucu SYA'leri oranının yüksek olmasının ürünün tercih edilirliliğini düşürdüğünü ifade etmişlerdir. Buna doğrultuda, TUSYA (%) değeri modele dahil edilmiş ve istatistiksel değerlendirmeler sonucu, hedef lezzete ulaşmak amacıyla minimize edilmiştir. TUSYA değerinin işlem koşulları ile değişimi istatistiksel olarak incelendiğinde anlamlı bir model oluşturulmuştur ($P<0.0001$). Bu modele göre, sıcaklığın TUSYA için önemli olduğu belirlenmiştir. Bunu yanı sıra, sıcaklığın süre ve karıştırma hızı ile interaksiyon etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (Tablo 4.7). Sıcaklığın interaksiyon etkilerinin TUSYA değeri için yanıt yüzey grafikleri oluşturulmuştur. Şekil 4.6.'da sıcaklığın karıştırma hızı ile interaksiyon etkisinin yanıt yüzey grafiği verilmiştir. Grafiğe göre, EMP'lerin üretiminde inkübasyon sıcaklığı yüksek ve karıştırma hızı düşük değerlerde iken, TUSYA en düşük değerlerde olduğu görülmektedir. Sıcaklığın düşük olduğu değerlerde ise, TUSYA değeri en yüksek seviyelerdedir. Buna göre, TUSYA'lerinin sıcaklığın yükselmesi ile

azaldığı oldukça belirgindir. Ayrıca, yüksek sıcaklık aralığında karıştırma hızının değerindeki artış TUSYA'lerini olumlu yönde etkilemiştir. Bu sonuçlar, işlem koşullarının kısa zincirli SYA'lerine etkilerinin incelendiği ilk aşamada elde edilen sonuç ile uyumludur. İlk aşamada Tablo 4.2.'de TUSYA (mg/100g yağ) değerinin inkübasyon sıcaklığı ile negatif; karıştırma hızı ile pozitif ilişki gösterdiği görülmektedir. Yanıt yüzey grafiğinden elde edilen sonuç bunu destekler niteliktedir.



Şekil 4.6. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin TUSYA değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

Tablo 4.7.'de varyans analiz sonucuna göre inkübasyon süresinin TUSYA değeri üzerine istatistiksel olarak anlamlı etki oluşturduğu ($P < 0.0001$) görülmektedir. Şekil 4.7.'de verilen yanıt yüzey grafiğinde, sabit karıştırma hızında (150 rpm), inkübasyon sıcaklığı ile süresinin değişiminin TUSYA üzerine etkisi incelenmiştir. Buna göre, yüksek sıcaklıkta ve düşük sürede TUSYA en düşük değerlerinde olmak ile birlikte; artan süre ile TUSYA değerinde artış görülmektedir. Tablo 4.2.'de TUSYA değeri için benzer sonuç elde edilmiştir; inkübasyon süresi ile uçucu SYA'leri pozitif ilişkisi göstermektedir. Kendirci ve diğerleri (2020) yaptıkları çalışmada, EMP'de farklı enzim ve süreler çalışılmış ve lipolitik olgunlaşma düzeyi incelenmiştir. Çalışmada, TUSYA değerinin inkübasyon süresi ile pozitif ilişki gösterdiğini belirtilmiştir.

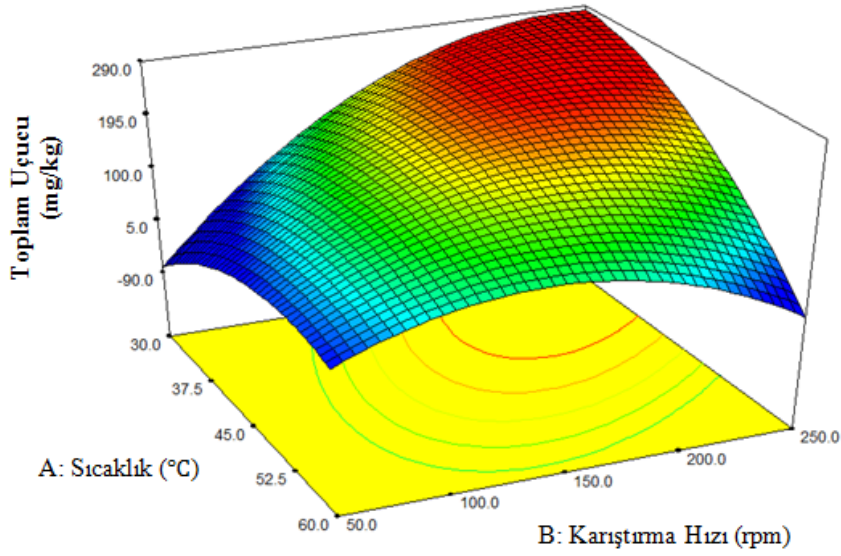


Şekil 4.7. Sabit karıştırma hızında (150 rpm), inkübasyon sıcaklığı ile süresinin değişiminin TUSYA üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

4.2.3. EMP'lerin Uçucu Bileşikleri ve Miktarları

EMP örneklerinde on asit, beş keton, beş lakton, dört ester, dört aldehit, üç alkol olmak üzere toplam 31 farklı uçucu bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan uçucu bileşiklerin miktarları gruplar halinde ekte verilmiştir (Tablo Ek 17-20). Uçucu bileşikler peynir lezzetinin önemli lezzet bileşenleridir. Çoğu uçucu bileşik farklı karakteristik lezzet özelliği içermektedir. Yapılan bir çalışmada, Beyaz peynir lezzetinin karakteristik lezzeti, belirleyici bir lezzet özelliğinden ziyade SYA'leri, esterler ve laktonlar gibi çeşitli bileşik gruplarının dengeli olması ile sağlandığı belirtilmiştir. Ek olarak, SYA, ester ve laktonlardaki artışın peynir aromasını olumlu etkilediği belirtilmiştir (Kendirci ve diğerleri, 2020; Salum, Gokce, Kendirci, Bas, ve Erbay, 2018). Bu literatür bilgisine göre, uçucu bileşiklerin toplam değeri (Toplam Uçucu) modele dâhil edilmiş ve maksimize edilmiştir.

Toplam Uçucu değeri için varyans analiz sonucu istatistiksel olarak anlamlı model oluşturulmuştur ($P < 0.0001$). Tablo 4.7.'e göre inkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızının doğrusal ve karesel etkilerinin Toplam Uçucu değeri üzerinde önemli düzeyde etkili bulunmuştur. Şekil 4.8.'de ise, bu iki koşulun interaksiyon etkisinin Toplam Uçucu değeri üzerine değişimini veren yanıt yüzey grafiği gösterilmektedir. Grafiğe göre, inkübasyon karıştırma hızı yüksek; sıcaklık ise düşük değerlerde tutulduğunda EMP örneklerinde yüksek değerlerde Toplam Uçucu değeri görülmektedir.

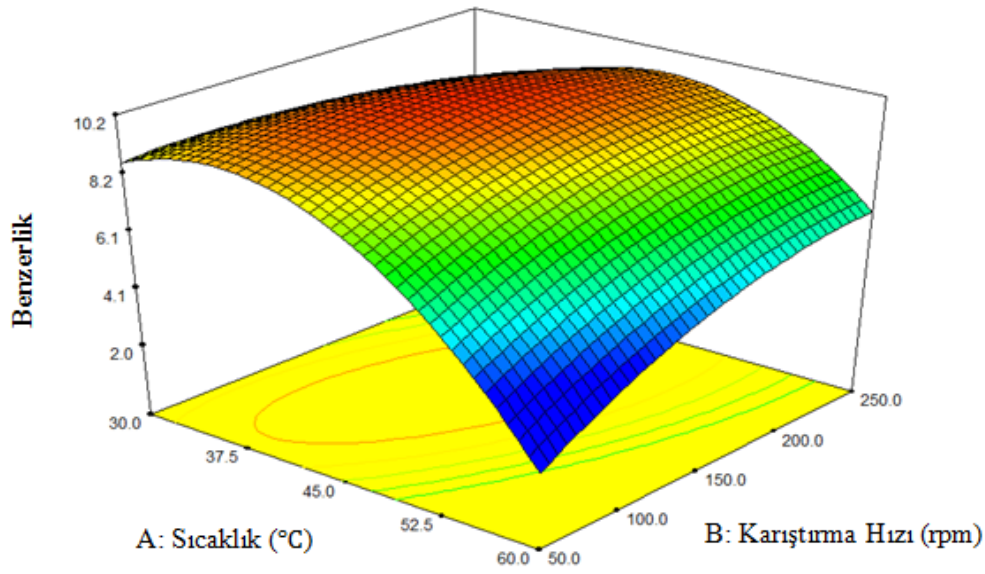


Şekil 4.8. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon karıştırma hızı ile sıcaklığı değişiminin toplam uçucu bileşik değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

4.2.4. EMP'lerin Duyusal Değerlendirmesi

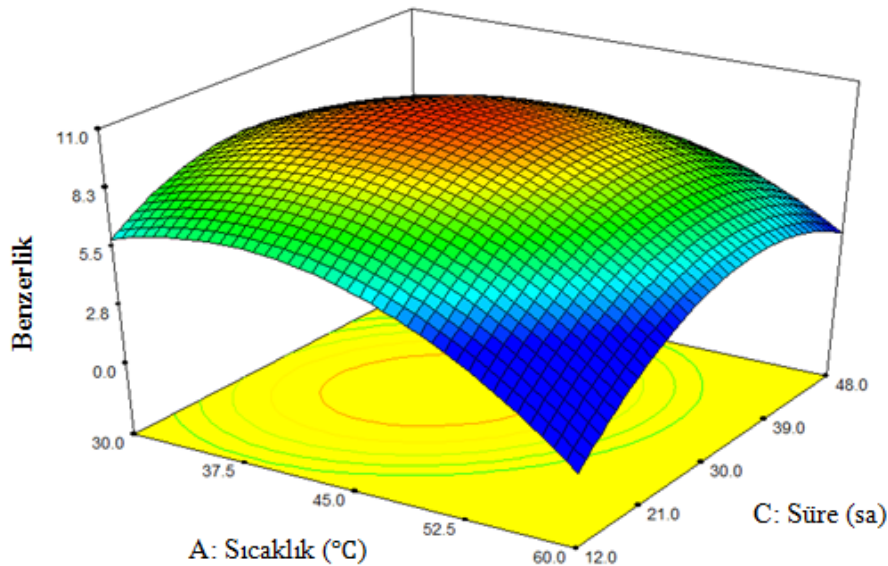
EMP örneklerinin acı tat, ransit lezzet, peynir lezzet yoğunluğu ve olgun Beyaz peynir lezzetine benzerlik özellikleri, unipolar grafik skaladan yararlanılarak, hesaplanmıştır. Değerlerin ortalamaları, sapmalar ile birlikte Tablo Ek 21.'de verilmiştir. Optimizasyonda hedef olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP olduğu için olgun Beyaz peynir lezzetine "Benzerlik" değeri optimizasyona dahil edilmiş ve maksimize edilmiştir.

Tablo 4.7.'de, Benzerlik değeri için alınan yanıtlarla anlamlı model oluşturulmuştur ($P < 0.0001$). Bu modelde; inkübasyon sıcaklığının doğrusal, kare ve ikili interaksiyonların etkileri önemli kabul edilmiştir. Sıcaklığın yanı sıra, karıştırma hızı da benzerlik üzerine etkili olduğu görülmektedir ($P < 0.0001$). Yapılan ANOVA sonucunda, Şekil 4.9.'da inkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızının interaksiyon etkisinin benzerlik değeri üzerine etkilerini gösteren yanıt yüzey grafiği oluşturulmuştur. Şekil 4.9.'da anlaşılabacağı üzere, benzerlik değeri inkübasyon sıcaklığı orta noktalarda iken yüksek değeri vermiştir. Sürenin sabit/orta noktada olduğu durumda inkübasyon sıcaklığı 37.5-45 °C'de iken, model için istenilen benzerlik değeri elde edilmektedir.



Şekil 4.9. Sabit sürede (30 sa), inkübasyon sıcaklığı ile karıştırma hızı değişiminin olgun Beyaz peynir lezzetine benzerlik duyusal değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

Tablo 4.7.'de inkübasyon süresi ve sıcaklık ile sürenin interaksiyon etkisi, benzerlik değeri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Şekil 4.10.'da, inkübasyon süresi ile sıcaklığın interaksiyon etkisinin benzerlik değeri üzerindeki değişim grafiği verilmiştir. Grafığe göre, sıcaklık ve sürenin orta noktalarda çalışması durumuna benzerlik yüksek sonuç vermektedir.



Şekil 4.10. Sabit karıştırma hızında (150 rpm), inkübasyon sıcaklığı ile süresinin değişiminin olgun Beyaz peynir lezzetine benzerlik duyusal değeri üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafiği.

4.2.5. Optimizasyon ve Doğrulama

Bu çalışmanın 2.aşamasında üretilen EMP'lerin analizleri sonucunda, optimizasyon çalışmasında yanıt olarak TCA-ÇA/SÇA (%), SAI (%), TSYA (mg/100g yağ), TUSYA (%), Toplam Uçucu (mg/kg) ve olgun Beyaz peynir lezzetine benzerlik değerleri seçilmiştir. Deneysel veriler çoklu regresyon analiziyle değerlendirilmiş ve her bir yanıt için işlem değişkenlerine bağlı ikinci dereceden denklemler oluşturulmuştur. Oluşturulan modellerin deneysel verilerle uyumu için varyans analizi yapılmıştır (Tablo 4.7). Elde edilen modelin deneysel verilerle uyumluluğuna, “*lack of fit*”, model regresyon katsayısı (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısı ($Adj-R^2$), tahminlenmiş çoklu regresyon katsayısı ($Pre-R^2$) ve yeterli kesinlik ($Adeq.Precision$) değerlerine bakılarak karar verilmiştir ($lack\ of\ fit > 0.1$; $R^2 > 0.9$; $(Adj-R^2 - Pre-R^2) < 0.2$; $Pre-R^2 > 0.7$; $Adeq.Precision > 4$) (Erbay ve Icier, 2009; Erbay ve diğerleri, 2015; Myers ve Montgomery, 1995; Salum ve diğerleri, 2017).

ANOVA analizi sonucu elde edilen modellerden hareketle, seçilen 6 yanıt için hedef kriterler belirlenmiştir. Optimizasyonda hedeflenen kriterler TCA-ÇA/SÇA oranı için minimum değer, SAI indeksi için maksimum değer, TSYA için maksimum değer, TUSYA için minimum değer, Toplam Uçucu için maksimum değer, Benzerlik için ise en yüksek değer olarak seçilmiştir. Bu kriterleri sağlayan modeller ve model katsayıları, her bir yanıt için belirlenen modellerin eş zamanlı çözümüne dayanan, “istenilirlik (desirability) fonksiyonu” yöntemi ile oluşturulmuştur. Sonuç olarak elde edilen optimum işlem koşulları %63.8 istenilirlik oranında belirlenmiştir. İstenilirlik fonksiyonu sonucunda; optimum işlem koşulları 46.8 °C inkübasyon sıcaklığı, 205 rpm karıştırma hızı, 34 saat 42 dakika inkübasyon süresi olarak hesaplanmıştır. Belirlenen optimum koşullarda çalışılması durumunda seçilen altı yanıtı dair tahmin edilmiş olan değerler Tablo 4.8.’de verilmiştir. Optimizasyon çalışmasının sonunda, tahmini değerler ile elde edilen teorik sonucun deneysel veriler ile doğrulaması yapılmıştır.

Doğrulama amacıyla, optimum işlem koşullarında, “tek aşamalı üretim tekniği” ile, 4 adet EMP üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen 4 EMP örneğinin proteolitik olgunlaşma düzeyi, lipolitik olgunlaşma düzeyi ve uçucu bileşenleri belirlenmiş, son olarak, duyu analizi yapılmıştır. Doğrulama amacı ile üretilen EMP'lerin analiz sonuçları ekte verilmiştir. Doğrulamada, optimizasyona dahil edilen 6 yanıtı dair deneysel veriler incelenmiştir. Her bir yanıt için, elde edilen deneysel verilerin ortalama sonuçları ile modelden tahmin edilen

değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Elde edilen deneysel veriler ve bu sonuçların istatistiksel analizi Tablo 4.8.'de verilmiştir.

Tablo 4.8. Belirlenmiş olan teorik optimum işlem koşullarının deneysel verilerle doğrulaması.

Yanıt	Tahmin edilen Değer	Deneysel Sonuçlar ^a	SH ^b	Fark	%Hata ^c	<i>p</i> -değeri
TSYA (mg/100g yağ)	13779.5	14376.4 ± 391.3	195.7	596.9	4.15	0.055
TUSYA (%)	9.96	10.73 ± 0.59	0.30	0.76	7.08	0.081
SAI (%)	20.52	20.28 ± 0.54	0.27	-0.25	1.22	0.430
TCA-ÇA/SÇA (%)	73.88	74.38 ± 0.39	0.19	0.50	0.67	0.083
Toplam Uçucu (mg/kg)	225.9	228.0 ± 3.2	1.6	2.1	0.91	0.282
Benzerlik (-)	9.68	9.45 ± 0.27	0.13	-0.23	2.58	0.184

^a Ortalama deneysel değer ± standart sapma.

^b Ortalama standart hata.

$$^c \%Hata = \frac{|y_{deneysel} - y_{tahmin\ edilen}|}{y_{deneysel}} \times 100$$

Buna göre, doğrulama üretimleri sonrasındaki analizler sonucunda elde edilen ortalama değerler ve standart sapmalar sırasıyla, TSYA (%) 14376.4 ± 391.3, TUSYA (%) 10.73 ± 0.59, SAI (%) 20.28 ± 0.54, TCA-ÇA/SÇA (%) 74.38 ± 0.39, toplam Uçucu (mg/kg) 228.0 ± 3.2, Benzerlik 9.45 ± 0.27 olarak belirlenmiştir. Bu değerler, tahmin edilen değerlere oldukça yakın değerlerdir. Tablo 4.8.'de görüleceği üzere, tüm yanıtlar için doğrulama analizlerinden elde edilen deneysel veriler ile modelden tahmin edilen değerler arasında, istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı (*P*>0.05) saptanmıştır. En düşük *p*-değeri 0.055 ve en yüksek % hata değeri %7.08 olarak hesaplanmıştır.

5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP “tek aşamalı üretim tekniği” ile üretilmiş ve üretiminde etkili işlem koşullarının optimizasyonu yapılmıştır.

EMP üretimde, enzimlerin eşzamanlı kullanımı sonucu birbirleri ile etkileşimi, substrata uygulanan işlemler, inkübasyon koşulları gibi pek çok parametre, hedeflenen lezzetin oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir. Bu doğrultuda, çalışmada ilk olarak inkübasyon sıcaklığı, süresi ve karıştırma hızı, proteolitik ve lipolitik enzim konsantrasyonları ve homojenizasyon işlemi olmak üzere 6 işlem koşulunun EMP özellikleri üzerine etkileri belirlenmiştir. Çalışma ilk aşamasından elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir:

- Üretilen bütün EMP'lerin azot fraksiyonları, serbest yağ asidi profilleri, uçucu bileşikler analiz sonuçları istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve EMP özellikleri üzerinde etkisi en yüksek olan 3 işlem koşulu, inkübasyon sıcaklığı, süresi ve karıştırma hızı olarak belirlenmiştir.
- Proteolitik enzim konsantrasyonu ve inkübasyon süresinin, EMP'lerin proteolitik olgunlaşması üzerindeki etkisinin, toplam etkideki katkı payının %75-80 düzeyinde olduğu bulunmuştur ($P<0.0001$). Sıcaklık işlem koşulunun, proteolitik olgunlaşma üzerinde önemli sayılabilecek bir etkisi tespit edilememiştir.
- EMP'lerin lipolitik olgunlaşmasında, inkübasyon sıcaklığı ve karıştırma hızının oldukça belirleyici etkiye sahip olan faktörler olduğu tespit edilmiştir. Lipolitik enzim konsantrasyonunun ise, lipolizde belirleyici olmadığı görülmüştür.
- Kısa karbon zincirine sahip ($C_4 - C_{10}$) Uçucu SYA'lerinde sıcaklığın etkisinin katkı payının %18-30 oranlarında olduğu görülmüştür. Ayrıca, inkübasyon parametreleri (sıcaklık, süre, karıştırma hızı) ve sıcaklık ile karıştırma hızının birlikte etkisinde toplamdaki etkinin %80'ini açıkladığı bulunmuştur.
- EMP örneklerinde dokuz asit, altı keton, beş aldehit, altı ester, dört alkol, iki lakton, bir furan ve bir fenol olmak üzere toplam 34 farklı uçucu bileşik tanımlanmıştır. Her bir uçucu bileşik için işlem koşullarının etkisi ayrı değerlendirilmiştir. Genel olarak,

pentanoik asit hariç, tüm uçucu bileşiklerin oluşumunda sıcaklığın anlamlı etkisi göze çarpmaktadır.

- pH değeri ile lipoliz arasında pozitif bir ilişkinin olduğu, artan lipoliz ile asitliğin arttığı tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında ise, ilk aşamada belirlenen 3 işlem koşulunun optimizasyonu yapılmıştır. Üretiminde etkili işlem koşullarının optimizasyonunda “Yanıt Yüzey Yöntemi” kullanılmıştır. İkinci aşamanın sonucunda elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

- Optimizasyonda hedeflenen yanıtlar ve kriterler; TCA-ÇA/SÇA oranı için minimum değer, SAI indeksi için maksimum değer, TSYA için maksimum değer, TUSYA için minimum değer, Toplam Uçucu için maksimum değer, olgun Beyaz peynire duyusal benzerlik için ise en yüksek değer olarak belirlenmiştir.
- Optimum koşulların belirlenmesinde “istenilirlik fonksiyonu” yönteminden yararlanılmıştır. Buna göre, “Tek Aşamalı Üretim Tekniği” ile EMP üretiminde optimum inkübasyon işlem koşulu 46.8 °C inkübasyon sıcaklığı, 205 rpm karıştırma hızı, 34 saat 42 dakika inkübasyon süresi olarak belirlenmiştir.
- Optimum üretim koşullarında üretilen EMP'lere ait önemli lezzet özellikleri, ortalama değerler ve standart sapmalar sırasıyla, TSYA (mg/100g) 14376.4 ± 391.3 , TUSYA (%) 10.73 ± 0.59 , SAI (%) 20.28 ± 0.54 , TCA-ÇA/SÇA (%) 74.38 ± 0.39 , Toplam Uçucu (mg/kg) 228.0 ± 3.2 , Benzerlik 9.45 ± 0.27 olarak belirlenmiştir.

Yapılan bu çalışmanın, “tek aşamalı üretim tekniği” ile EMP üretimi ile ilgili ilk defa çalışılması nedeniyle literatüre ve endüstriye katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Olgun Beyaz peynir lezzetine sahip EMP'nin “iki aşamalı üretim tekniği” ile üretiminin optimizasyonu sonucu, proteoliz aşaması için inkübasyon süresi 12 saat, lipoliz aşaması için ise 48 saat olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında ise, “tek aşamalı üretim tekniği” ile EMP üretiminde inkübasyon süresi toplamda 34 saat 42 dakikadadır. Sonuç olarak, benzer lezzet özelliklerine sahip EMP, daha az ısı işlem uygulanarak ve yaklaşık iki kat daha kısa sürede üretilmiştir. Kısaca, “tek aşamalı üretim tekniği” ile daha kısa sürede EMP üretiminin mümkün olduğu görülmektedir. İşlem koşullarının hedeflenen lezzet üzerinde etkisi göz önüne alındığında, EMP üretiminde işlem koşullarının etkisi ile ilgili çalışmalara bilimsel literatürde ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKLAR

- Ali, B., Khan, K. Y., Majeed, H., Xu, L., Wu, F., Tao, H. & Xu, X. (2017). Imitation of soymilk–cow’s milk mixed enzyme modified cheese: their composition, proteolysis, lipolysis and sensory properties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(5), 1273-1285. doi:10.1007/s13197-017-2534-7
- Ali, B., Khan, K.Y., Majeed, H., Xu, L., Bakry, A.M., Raza, H., Shoaib, M., Wu, F. & Xu, X. (2019). Production of ingredient type flavoured white enzyme modified cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 1683-1695. doi:10.1007/s13197-018-3526-y
- Amelia, I., Drake, M. A. & Nelson, B. (2013). A new method for the production of low-fat Cheddar cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 96, 4870–4884. doi:10.3168/jds.2012-6542
- Amighi, F., Emam-Djomeh, Z. & Madadlou, A. (2013). Spray drying of ACE-inhibitory enzyme-modified white cheese. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(11), 2276-2282. doi:10.1111/ijfs.12214
- Amighi, F., Emam-Djomeh, Z. & Madadlou, A. (2016). Optimised production and spray drying of ACE-inhibitory enzyme modified cheese. *Journal of Dairy Research*, 83, 125-134. doi:10.1017/S0022029915000424
- AOAC International. 2012a. “Loss on Drying (Moisture) in Cheese”. Official Method 926.08. Official Methods of Analysis of AOAC International (19. Basım). Editör: Latimer Jr., G.W. Gaithersburg, MA: AOAC International.
- AOAC International. 2012b. “Fat Content of Raw and Pasteurized Whole Milk, Gerber Method by Weight”. Official Method 2000.18. Official Methods of Analysis of AOAC International (19. Basım). Editör: Latimer Jr., G.W. Gaithersburg, MA: AOAC International.
- AOAC International. 2012c. “Determination of Nitrogen (Total) in Cheese, Kjeldahl Method”. Official Method 2001.14. Official Methods of Analysis of AOAC International (19. Basım). Editör: Latimer Jr., G.W. Gaithersburg, MA: AOAC International.
- Azarnia, S., Lee, B. H., Yaylayan, V. & Kilcawley, K.N. (2010). Proteolysis development in enzyme-modified Cheddar cheese using natural and recombinant enzymes of

- Lactobacillus rhamnosus* S93. *Food Chemistry*, 120, 174–178. doi:10.1016/j.foodchem.2009.10.003
- Bas, D., Kendirci, P., Salum, P., Govce, G. & Erbay, Z. (2019). Production of enzyme-modified cheese (EMC) with ripened white cheese flavour: I-effects of proteolytic enzymes and determination of their appropriate combination. *Food and Bioprocess Technology*, 117, 287-301. doi:10.1016/j.fbp.2019.07.016.
- Brindisi, J. A., Parker, J. D., Turner, L. G., & Larick, D. K. (2001). Chemical profiles of hydrolyzed milk samples after treatment with commercial enzymes. *Journal of food science*, 66(8), 1100-1107.
- Bütikofer, U., Rüeegg, M. & Ardö, Y. (1993). Determination of nitrogen fractions in cheese: Evaluation of a collaborative study. *Food Science and Technology– Lebensmittel – Wissenschaft & Technologie*, 26(3), 271-275.
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L. H. & Wilkinson, M.G., (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: A review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13, 841–866.
- Curioni, P. M. G. & Bosset, J. O. (2002). Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry. *International Dairy Journal*, 12(12), 959-984. doi:10.1016/S0958-6946(02)00124-3
- da Silva, D. F., Ahrne, L., Larsen, F. H., Hougaard, A. B. & Ipsen, R. (2018a). Physical and functional properties of cheese powders affected by sweet whey powder addition before or after spray drying. *Powder Technology*, 323, 139-148. doi:10.1016/j.powtec.2017.10.014
- da Silva, D. F., Hirschberg, C., Ahrné, L., Hougaard, A. B. & Ipsen, R. (2018b). Cheese feed to powder: Effects of cheese age, added dairy ingredients and spray drying temperature on properties of cheese powders. *Journal of Food Engineering*, 237, 215-225. doi:10.1016/j.jfoodeng.2018.05.015
- da Silva, D. F., Larsen, F. H., Hougaard, A. B. & Ipsen, R. (2017). The influence of raw material, added emulsifying salt and spray drying on cheese powder structure and hydration properties. *International Dairy Journal*, 74, 27-38. doi:10.1016/j.idairyj.2017.01.005
- da Silva, D. F., Tziouri, D., Ahrné, L., Bovet, N., Larsen, F. H., Ipsen, R. & Hougaard, A. B. (2020b). Reconstitution behavior of cheese powders: Effects of cheese age and dairy

- ingredients on wettability, dispersibility and total rehydration. *Journal of Food Engineering*, 270, 109763. doi:10.1016/j.jfoodeng.2019.109763
- da Silva, D. F., Vlachvei, K., Geng, X., Ahrné, L., Ipsen, R. & Hougaard, A. B. (2020a). Effect of cheese maturation on physical stability, flow properties and microstructure of oil-in-water emulsions stabilised with cheese powders. *International Dairy Journal*, 103, 104630. doi:10.1016/j.idairyj.2019.104630
- da Silva, D. F., Vlachvei, K., Tziouri, D., Hougaard, A. B., Ipsen, R. & Ahrné, L. (2019). Cheese powder as emulsifier in oil-in-water (O/W) emulsions: Effect of powder concentration and added emulsifying salt during cheese powder manufacture. *Food Science & Technology*, 103, 266-270. doi:10.1016/j.lwt.2019.01.007
- De Jong, C. & Badings, H.T. (1990). 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, 94-8.
- Deeth, H.C., Gerald, F. & Snow, J. (1983). A gas chromatographic method for the quantitative determination of free fatty acids in milk and milk products. *New Zealand Journal of Dairy Science and Technology*, 18, 13-20.
- Erbay, Z., Baş, D., Kendirci, P., Çam, M., Kelebek, H., Salum, P. & Selli, S. (2016). Lezzet Katkısı Olarak Peynir ve Enzim Modifiye Peynir Tekniğinde Güncel Durum. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 14(2), 209-217.
- Erbay, Z., & Icier, F. (2009). Optimization of hot air drying of olive leaves using response surface methodology. *Journal of food engineering*, 91(4), 533-541. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2008.10.004
- Erbay, Z. & Koca, N. (2019). Effects of using whey and maltodextrin in white cheese powder production on free fatty acid content, nonenzymatic browning and oxidation degree during storage. *International Dairy Journal*, 96, 1-9. doi:10.1016/j.idairyj.2019.04.002
- Erbay, Z., Koca, N., Kaymak-Ertekin, F. & Ucuncu, M. (2015). Optimization of spray drying process in cheese powder production. *Food and Bioprocess Processing*, 93, 156-165. doi:10.1016/j.fbp.2013.12.008
- Erbay, Z., Salum, P. & Gökçe, G. (2017). Türkiye’de üretilen enzim modifiye süt ürünlerinin lipolitik ve proteolitik olgunlaşma düzeylerinin incelenmesi. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 23(7), 919-925. doi:10.5505/pajes.2016.48830

- Erbay, Z., Salum, P. & Kilcawley, K. N. (2021). Enzyme modified cheese. L. Kelly & L. B. Larsen (Ed.), *Agents of Change: Enzymes in Milk and Dairy Products* içinde (s. 785), Switzerland: A Springer International Publishing. doi:10.1007/978-3-030-55482-8_16
- Erbay, Z. & Koca, N. (2015). Effects of whey or maltodextrin addition during production on physical quality of white cheese powder during storage. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8391-8404. doi:10.3168/jds.2015-9765
- Evers, J. M., Morris, A., Conaghan, E. F., & Palfreyman, K. R. (2000). The BDI method-part II: the effect of the whole milk powder manufacturing process on free fatty acid levels. *Australian Journal of Dairy Technology*, 55(1), 37-39.
- Farkye, N. Y. & Arnold, M. (2008). A novel technology for making low fat cheese. Symposium: Dairy Foods: Advances in Low Fat Cheese Research, Joint annual meeting abstract içinde(s.154). No:140, Dairy Foods Division.
- Fox, P. F. (1988). Acceleration of cheese ripening. *Food Biotechnology*, 2(2), 133-185.
- Fox, P.F. (2011). History of Dairy Products and Processes. J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Ed.), *Volume 1: Encyclopedia of Dairy Sciences*, (2rd. ed., s. 12-17), London, UK: Elsevier Academic Press.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. & McSweeney, P. L. H. (Ed.). (2000). *Chapter 19 Fundamentals of Cheese Science* içinde(s. 452-483), Gaithersburg, Maryland: Aspen Publication.
- Fox, P. F., McSweeney, P. L., Cogan, T. M. & Guinee, T. P. (Ed.). (2004). *Cheese: chemistry, physics and microbiology, volume 2: major cheese groups*, içinde (3rd. ed. s. 419-421), London, UK: Elsevier.
- Gallois, A. & Langlois, D. (1990). New results in the volatile odorous compounds of French cheeses. *Le Lait*, 70, 89–106
- Guinee, T.P. (2011). Cheese as a Food Ingredient. J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde (s. 288), London, UK: Elsevier Academic Press.
- Guinee, T.P. (2011). Cheese: Cheese as a Food Ingredient. J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Ed.), *Volume 1: In Encyclopedia of Dairy Sciences*, içinde (2rd. ed., s. 822-832), London, UK: Elsevier Academic Press.
- Guinee, T.P. & Kilcawley, K.N. (2004). Cheese as an Ingredient. P. F. Fox, P. L. H. McSweeney, T. M. Cogan & T. P. Guinee (Ed.), *Volume 2: Cheese: Chemistry*,

- Physics and Microbiology* içinde (3rd ed., s. 395-428), London, UK: Elsevier Academic Press.
- Habibi-Najafi, M. B. & Miri, M. A. (2020). Production and evaluation of enzyme modified lighvan cheese using different levels of commercial enzymes. *Journal of Clinical Microbiology And Biochemistry Technology*, 3. doi:10.29328/journal.ijcmbt.1001009
- Habibi-Najafi, M. B. & Lee, B. H. (2007). Debittering of tryptic digests from beta-casein and enzyme modified cheese by x-prolyl dipeptidylpeptidase from *Lactobacillus casei* ssp. casei. LLG. *Iran Science and Technology Trans A Sci* 31, 263–270.
- Habibi-Najafi, M.B., Sabouri, S. & Mahallati, M. N. (2010, Mart). *Formulation optimization of process cheese using enzyme modified cheese*. Proceedings of International Conference of Food Science and Technology vol L34. Chester.
- Haileselassie, S. S. B. (1999). Production of enzyme-modified cheese and bioactive peptides by lactobacillus and commercial enzymes, Thesis for Master of Science, McGill University Montreal, Quebec, Canada.
- Hannon, J. A., Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G., Delahunty, C. M. & Beresford, T. P. (2006). Production of ingredient-type Cheddar cheese with accelerated flavor development by addition of enzyme-modified cheese powder. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 3749-3762.
- Hassan, A. N., Awad, S. & Mistry, V. V. (2007). Reduced fat process cheese made from young reduced fat Cheddar cheese manufactured with exopolysaccharide-producing cultures. *Journal of Dairy Science*, 90, 3604–3612. doi:10.3168/jds.2007-0141
- Hayaloğlu, A. A. & Özer, B. (Ed.). (2011). *Peynir biliminin temelleri*. İzmir: Sidas Medya Ltd.
- Hulin-Bertaud, S., Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Delahunty, C. M. (2000). Sensory and compositional relationships between commercial Cheddar-flavored enzyme-modified cheeses and natural Cheddar. *Journal of Food Science*, 65(6), 1076-1082.
- IDF (International Dairy Federation). (1993). Milk. Determination of the nitrogen (Kjeldahl method) and calculation of the crude protein content. IDF Standard 20B. International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- Jao, Y.C., Chen, A.H., Chaudhari, R.V., Goldstein, W.E., (1981). Rheology of enzyme modified cheese. *Journal of Food Science* 46(1): 254-262.

- Kaseleht, K., Leitner, E. & Paalme, T. (2010). Determining aroma-active compounds in Kama flour using SPME-GC/MS and GC-olfactometry. *Flavour and Fragrance Journal*, 26(2), 122-128.
- Kendirci, P., Salum, P., Bas, D. & Erbay, Z. (2020). Production of enzyme-modified cheese (EMC) with ripened white cheese flavour: II-Effects of lipases. *Food and Bioproducts Processing*, 122, 230-244. doi:10.1016/j.fbp.2020.05.010
- Kilara, A. (2011). Enzymes exogenous to milk in dairy technology: Lipases. J.W. Fuquay, P.F. Fox & P.L.H. McSweeney (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde, (s. 284) London, UK: Elsevier Academic Press.
- Kilara, A. & Chandan, R. C. (2011). Enzyme-modified dairy ingredients. R. C. Chandan, A. Kilara (Ed.), *Dairy ingredients for food processing* içinde, (s. 317-334), USA: Wiley, Blackwell Publishing Ltd.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Fox, P. F. (1998). Enzyme-modified cheese. *International Dairy Journal*, 8(1), 1-10.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Fox, P. F. (2000). A survey of the composition and proteolytic indices of commercial enzyme-modified Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 10(3), 181-190.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Fox, P. F. (2001). A survey of lipolytic and glycolytic end-products in commercial Cheddar enzyme-modified cheese. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 66-73.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Fox, P. F. (2002). Properties of commercial microbial proteinase preparations. *Food Biotechnology*, 16, 29–55.
- Kilcawley, K. N., Wilkinson, M. G. & Fox, P. F. (2006). A novel two-stage process for the production of enzyme-modified cheese. *Food Research International*, 39(5), 619-627. doi:10.1016/j.foodres.2005.12.006
- Koca, N., Erbay, Z. & Kaymak-Ertekin, F. (2015). Effects of spray-drying conditions on the chemical, physical, and sensory properties of cheese powder. *Journal of Dairy Science*, 98(5), 2934-2943. doi:10.3168/jds.2014-9111
- Kumar, S., Jha, Y. K. & Singh, P. (2013). Influence of adjuncts as debittering aids on the sensory and biochemical properties of enzyme modified cheese-base. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 83, 347–355. doi:10.1007/s40011-012-0146-6
- Lamichhane, P., Pietrzyk, A., Feehily, C., Cotter, P.D., Mannion, D.T., Kilcawley, K.N., Kelly, A.L. & Sheehan, J.J., (2018). Effect of milk centrifugation and incorporation of

- high heat-treated centrifugate on the microbial composition and levels of volatile organic compounds of Maasdam cheese. *Journal of Dairy Science*. 101, 5738–5750. doi:10.3168/jds.2017-14180
- Law, B. A. (2010). Enzymes in dairy product manufacture. R. J. Whitehurst & M. van Oort (Ed.), *In Enzymes in Food Technology* içinde, (s. 88) West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- Lee, B.H., Kilcawley, K.N. & Hannon, J.A. (2007). The use of viable and heat-shocked *Lactobacillus helveticus* DPC 4571 in enzyme-modified cheese production. *Food Biotechnology*, 21, 129–143. doi:10.1080/08905430701410530
- Lemieux, L. & Simard, R. E. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Lait*, 72, 335–382.
- Lin, J. C. C. & Jeon, I. J. (1987). Effects of commercial food grade enzymes on free fatty acid profiles in granular Cheddar cheese. *Journal of Food Science*, 52(1), 79-83.
- Liu, S. Q., Holland, R. & Crow, V. L. (2004). Esters and their biosynthesis in fermented dairy products: A review. *International Dairy Journal*, 14, 923–945. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.010>
- Longo, M. A. & Sanroman, M. A. (2006). Production of food aroma compounds: Microbial and enzymatic methodologies. *Food Technology and Biotechnology*, 44, 335–353.
- Mariaca, R., Gausch, R., Berger, T., Bosset, J. O. & Schaër, W. (1998). Volatile compounds of Swiss processed cheeses. *Mitteilungen aus dem Gebeite der Lebensmittel-untersuchung un Hygiene*, 89, 625–638.
- Marilley, L. & Casey, M. G. (2004). Flavours of cheese products: metabolic pathways, analytical tools and identification of producing strains. *International Journal of Food Microbiology*, 90, 139–159. doi:10.1016/S0168-1605(03)00304-0
- McSweeney, P. L. (2004). Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 127-144.
- McSweeney, P. L. H. & Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait*, 80, 293–324.
- Miri, M. A. & Habibi Najafi, M. B. (2011). The effect of adding enzyme-modified cheese on sensory and texture properties of low- and high-fat cream cheeses. *International Journal of Dairy Technology*, 64, 92–98. doi:10.1111/j.1471-0307.2010.00624.x

- Moatsou, G., Massouras, T., Kandarakis, I. & Anifantakis, E., (2002). Evaluation of proteolysis during the ripening of traditional Feta cheese. *Lait* 82, 601–611. doi:10.1051/lait:2002036.
- Mohebbi, M., Barouei, J., Akbarzadeh-T, M. R., Rowhanimanesh, A. R., Habibi-Najafi, M. B. & Yavarmanesh, M., (2008). Modeling and optimization of viscosity in enzyme-modified cheese by fuzzy logic and genetic algorithm. *Computers and Electronics in Agriculture*, 62, 260- 265. doi:10.1016/j.compag.2008.01.010
- Molimard, P. & Spinnler, H.E., (1996). Compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: origins and properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169-184. doi:10.3168/jds.S0022-0302(96)76348-8.
- Moosavi-Nasab, M., Radi, M. & Jouybari, H. A. (2010). Investigation of enzyme modified cheese production by two species of *Aspergillus*. *African Journal of Biotechnology*, 9(4), 508-511.
- Moskowitz, G. J. & Noelck, S. S. (1987). Enzyme-modified cheese technology. *Journal of Dairy Science*, 70(8), 1761-1769.
- Myers, R. H. & Montgomery, D. C.(1995). Response surface methodology. *Process and product optimization using designed experiments, 2nd Edition*, New York, NY: John Wiley and Sons.
- Nongonierma, A. B. & FitzGerald, R. J. (2011). Enzymes exogenous to milk in dairy technology: Proteinases. J. W. Fuquay, P. F. Fox & P.L.H. McSweeney (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde, (s. 288). London, UK: Elsevier Academic Press.
- Noronha, N., Cronin, D. A., O’Riordan, E. D. & O’Sullivan, M. (2008a). Flavouring of imitation cheese with enzyme-modified cheeses (EMCs): Sensory impact and measurement of aroma active short chain fatty acids (SCFAs). *Food Chemistry*, 106(3), 905-913. doi:10.1016/j.foodchem.2007.06.059
- Noronha, N., Cronin, D., O’Riordan, D. & O’Sullivan, M. (2008b). Flavouring reduced fat high fibre cheese products with enzyme modified cheeses (EMCs). *Food Chemistry*, 110(4), 973-978. doi:10.1016/j.foodchem.2008.03.011
- Pereira, C. I., Gomes, E. O., Gomes, A. M. P. & Malcata, F. X. (2008). Proteolysis in model Portuguese cheeses: Effects of rennet and starter culture. *Food Chemistry*, 108, 862-868. doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.050

- Sahin, C. C., Erbay, Z. & Koca, N. (2018). The physical, microstructural, chemical and sensorial properties of spray dried full-fat white cheese powders stored in different multilayer packages. *Journal of Food Engineering*, 229, 57-64. doi:10.1016/j.jfoodeng.2017.11.022
- Salum, P., Erbay, Z., Kelebek, H. & Selli, S. (2017). Optimization of headspace solid-phase microextraction with different fibers for the analysis of volatile compounds of white-brined cheese by using response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 10, 1956-1964
- Salum, P., Erbay, Z. & Selli, S. (2019). 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(3), 416-426. doi:10.1111/1471-0307.12591
- Salum, P., Gokce, G., Kendirci, P., Bas, D. & Erbay, Z. (2018). Composition, proteolysis, lipolysis, volatile profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey, *International Dairy Journal*, 87, 26-36. doi:10.1016/j.idairyj.2018.07.011
- Sibeijn, M. & Wouters, J. A. (2009). Production of dairy aromas and flavours: new directions. M. Corredig (Ed.), *Dairy-derived ingredients: food and nutraceutical uses* içinde, (s.470-481) Boca Raton: Woodhead Publishing.
- Van den Dool, H. & Kratz, P. D. (1963). A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *Journal of Chromatography*, 11, 463–471.
- Varming, C., Andersen, L. T., Petersen, M. A. & Ardö, Y. (2013). Flavour compounds and sensory characteristics of cheese powders made from matured cheeses. *International Dairy Journal*, 30(1), 19-28. doi:10.1016/j.idairyj.2012.11.002
- Varming, C., Beck, T. K., Petersen, M. A. & Ardo, Y. (2011). Impact of processing steps on the composition of volatile compounds in cheese powders. *International Journal of Dairy Technology*, 64(2), 197-206.
- West, S. (2007). Production of flavours, flavour enhancers and other protein-based speciality products. Rastall R. (Ed.), *In Novel enzyme technology for food application* içinde(s. 183-204), Boca Raton, FL, USA: CRC Press.

- Wilkinson, A.G., Doolan, I.A. & Kilcawley, K.N. (2011). Enzyme-Modified Cheese. J. W. Fuquay, P. F. Fox & P. L. H. McSweeney (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* içinde (s.799-808), London, UK: Elsevier Academic Press.
- Wolf I. V., Perotti, M. C. & Zalazar, C. A. (2011). Composition and volatile profiles of commercial Argentinean blue cheeses. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 91, 385–393.



TABLO EKLER:**Tablo Ek 1.** 1.Aşamada Üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin kimyasal özellikleri.

EMP	Nem (%)	Protein (%)	Yağ (%)	pH
1	71.06 ± 0.25	9.62 ± 0.33	14.65 ± 1.15	5.56 ± 0.06
2	72.95 ± 1.31	8.87 ± 0,30	12.43 ± 1.18	5.55 ± 0.00
3	73.95 ± 0.76	8.86 ± 0.40	11.66 ± 1.16	5.55 ± 0.07
4	74.09 ± 1.99	9.20 ± 0.44	11.66 ± 2.32	6.04 ± 0.07
5	73.45 ± 1.22	9.32 ± 0.29	12.41 ± 0.85	5.42 ± 0.01
6	70.74 ± 0.61	9.79 ± 0.32	14.46 ± 0.52	5.76 ± 0.08
7	73.10 ± 0.18	9.50 ± 0.15	12.14 ± 0.68	5.31 ± 0.00
8	75.07 ± 0.40	8.72 ± 0.24	11.44 ± 0.44	5.75 ± 0.03
9	75.45 ± 0.98	9.08 ± 0.29	10.76 ± 0.87	6.02 ± 0.08
10	72.79 ± 0.30	9.66 ± 0,23	11.86 ± 0.34	5.92 ± 0.02
11	73.45 ± 1.57	9.58 ± 0.11	11.40 ± 1.41	5.86 ± 0.03
12	72.26 ± 0.90	9.61 ± 0.16	12.60 ± 1.01	5.71 ± 0.06
13	72.41 ± 0.41	9.35 ± 0.17	12.37 ± 0.57	5.64 ± 0.01
14	72.35 ± 0.26	9.85 ± 0.26	12.51 ± 0.55	5.86 ± 0.11
15	74.17 ± 1.23	9.37 ± 0.14	10.70 ± 1.48	5.97 ± 0.13
16	72.95 ± 0.29	9.53 ± 0.11	12.36 ± 0.74	5.67 ± 0.01

Tablo Ek 2. 1.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin proteolitik olgunlaşma % değerleri.

EMP	TA ¹ (%)	SÇA ² (%)	TCA-ÇA ³ (%)	PTA-ÇA ⁴ (%)	OUI ⁵ (%)	OYİ ⁶ (%)	SAİ ⁷ (%)
1	1.50 ± 0.05	0.99 ± 0.02	0.86 ± 0.01	0.24 ± 0.01	65.65 ± 0.54	57.14 ± 0.16	16.43 ± 0.59
2	1.39 ± 0.04	0.90 ± 0.02	0.76 ± 0.02	0.11 ± 0.00	65.13 ± 0.82	54.88 ± 1.25	8.00 ± 0.85
3	1.38 ± 0.06	0.98 ± 0.01	0.91 ± 0.01	0.27 ± 0.01	71.07 ± 0.27	65.73 ± 0.55	19.62 ± 1.34
4	1.44 ± 0.06	0.72 ± 0.03	0.51 ± 0.03	0.05 ± 0.00	50.19 ± 0.145	35.65 ± 3.70	3.52 ± 0.12
5	1.46 ± 0.04	0.85 ± 0.00	0.78 ± 0.00	0.12 ± 0.00	58.72 ± 1.52	53.62 ± 1.357	8.31 ± 0.16
6	1.53 ± 0.05	0.86 ± 0.03	0.76 ± 0.04	0.16 ± 0.06	56.12 ± 0.45	49.48 ± 0.99	10.71 ± 0.02
7	1.48 ± 0.02	0.87 ± 0.00	0.82 ± 0.00	0.15 ± 0.00	58.81 ± 0.98	55.67 ± 0.94	10.51 ± 0.21
8	1.36 ± 0.03	0.74 ± 0.01	0.58 ± 0.03	0.06 ± 0.00	54.65 ± 1.67	42.39 ± 1.34	4.93 ± 0.52
9	1.42 ± 0.04	0.81 ± 0.01	0.68 ± 0.02	0.11 ± 0.00	57.35 ± 1.31	47.99 ± 2.28	7.97 ± 0.26
10	1.51 ± 0.30	0.75 ± 0.00	0.56 ± 0.01	0.08 ± 0.00	50.11 ± 0.89	37.56 ± 0.22	5.25 ± 0.01
11	1.50 ± 0.01	0.89 ± 0.04	0.75 ± 0.03	0.15 ± 0.01	59.61 ± 1.04	50.40 ± 1.25	10.36 ± 0.67
12	1.50 ± 0.02	1.14 ± 0.01	1.03 ± 0.03	0.31 ± 0.01	75.86 ± 0.57	68.37 ± 0.42	21.10 ± 1.07
13	1.46 ± 0.02	0.92 ± 0.02	0.73 ± 0.01	0.11 ± 0.01	63.18 ± 0.43	49.89 ± 0.56	7.59 ± 0.67
14	1.54 ± 0.04	0.76 ± 0.00	0.47 ± 0.01	0.06 ± 0.01	49.29 ± 1,21	30.44 ± 1.10	4.47 ± 0.66
15	1.46 ± 0.02	0.85 ± 0.02	0.67 ± 0.02	0.11 ± 0.06	58.39 ± 1.16	46.02 ± 1.06	7.59 ± 0.09
16	1.49 ± 0.01	1.05 ± 0.02	0.94 ± 0.03	0.31 ± 0.03	70.39 ± 1.39	63.33 ± 2.47	20.78 ± 0.39

¹ TA: Toplam Azot, ² SÇA: Suda Çözünür Azot, ³ TCA-ÇA: Trikloroasetik Asitte Çözünür Azot, ⁴ PTA-ÇA: Fosfotungustik Asitte Çözünür Azot, ⁵ OUI: Olgunlaşma Uzama İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (SÇA/Toplam Azot). ⁶ OYİ: Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (TCA-ÇA/Toplam Azot). ⁷ SAI: Serbest Amino Asit İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (PTA-ÇA/Toplam Azot).

Tablo Ek 3. İşlem koşullarının proteolitik olgunlaşma düzeyleri üzerine etkileri*

İşlem Koşulları**	<i>pH</i>	<i>SÇA</i> ¹	<i>OUI</i> ²	<i>TCA-ÇA</i> ³	<i>OYİ</i> ⁴	<i>PTA-ÇA</i> ⁵	<i>SAİ</i> ⁶
Model	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁	<0.0001						
x ₂	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₃		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₄							
x ₅	<0.0001	0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001		
x ₆							
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	0.0140	0.0002	0.0233				
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆							
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	0.0252					<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅							
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆							
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	0.0818						
x ₂ x ₆ /x ₃ x ₄							
<i>Lack of Fit</i>	0.0315	0.0064	<0.0001	0.0142	0.0002	<0.0001	<0.0001
<i>R</i> ²	0.8857	0.9386	0.9287	0.9639	0.9316	0.9544	0.9569
Adj- <i>R</i> ²	0.8582	0.9295	0.9181	0.9600	0.9243	0.9496	0.9523
Pre- <i>R</i> ²	0.8127	0.9138	0.8998	0.9528	0.9107	0.9405	0.9437
Adeq.precision	17.422	28.411	26.736	43.724	31.727	32.404	33.475
PRESS	0.27	0.035	184.89	0.035	306.85	0.014	58.25
C.V.	1.41	3.45	3.66	4.19	5.73	12.51	12.08

*Hepsi *p* değerlerini vermektedir.** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).¹ SÇA: Suda Çözünür Azot, ² OUI: Olgunlaşma Uzama İndeksi(Suda çözünür azot cinsinden) (SÇA/Toplam Azot). ³ TCA-ÇA:Trikloroasetik Asitte Çözünür Azot, ⁴ OYİ: Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi, ⁵ PTA-ÇA: Fosfotungstik Asitte Çözünür Azot, ⁶ SAI: Serbest Amino Asit İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (PTA-ÇA/Toplam Azot).

Tablo Ek 4. 1.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin kısa zincirli serbest yağ asidi (mg/100g yağ) miktarı ve lipolitik olgunlaşma değerleri.

EMP	<i>C_{4:0}</i>	<i>C_{6:0}</i>	<i>C_{8:0}</i>	<i>C_{10:0}</i>	TUSYA ¹	TSYA ²
1	385.2 ± 21.9	226.3 ± 16.4	117.9 ± 6.3	275.5 ± 23.0	1004.9 ± 32.0	15053.7 ± 1168.7
2	781.1 ± 48.9	511.1 ± 45.9	295.1 ± 16.3	589.4 ± 41.0	2176.7 ± 127.9	22318.7 ± 489.8
3	541.9 ± 58.0	465.9 ± 38.5	227.4 ± 13.3	444.0 ± 29.5	1679.3 ± 88.9	21479.1 ± 904.5
4	163.3 ± 3.8	117.5 ± 16.4	85.9 ± 1.4	177.4 ± 12.6	544.2 ± 34.9	9457.2 ± 447.4
5	1039.4 ± 112.1	698.8 ± 68.5	414.1 ± 43.4	781.3 ± 57.2	2933.6 ± 264.4	23428.7 ± 1643.8
6	351.4 ± 30.3	222.4 ± 9.9	154.5 ± 8.4	324.9 ± 20.5	1053.2 ± 46.0	12685.8 ± 409.7
7	1601.9 ± 146.3	928.3 ± 64.1	463.5 ± 32.5	927.1 ± 83.4	3920.9 ± 239.6	28834.2 ± 1211.4
8	343.3 ± 25.6	255.2 ± 13.2	173.3 ± 21.1	342.4 ± 28.2	1114.2 ± 66.7	1829.5 ± 1115.3
9	197.7 ± 11.2	103.6 ± 5.5	86.4 ± 5.6	211.4 ± 17.1	599.2 ± 26.5	1497.8 ± 451.9
10	148.1 ± 13.3	144.2 ± 7.7	113.4 ± 11.4	246.0 ± 20.4	651.8 ± 36.7	11507.4 ± 470.9
11	249.5 ± 22.9	192.3 ± 14.5	110.7 ± 9.8	285.7 ± 19.7	838.2 ± 42.8	14362.6 ± 1071.6
12	289.8 ± 22.9	201.7 ± 19.9	151.4 ± 18.9	319.8 ± 36.6	962.7 ± 76.4	14475.6 ± 1109.1
13	492.1 ± 52.4	348.5 ± 28.0	238.3 ± 23.6	445.7 ± 42.5	1524.5 ± 59.8	16758.8 ± 486.2
14	273.2 ± 26.4	193.3 ± 26.2	129.8 ± 10.9	270.4 ± 34.7	866.7 ± 54.2	13980.2 ± 882.4
15	258.9 ± 23.2	149.1 ± 13.6	104.4 ± 10.0	273.4 ± 17.8	14864.5 ± 656.2	15650.3 ± 672.9
16	387.4 ± 19.5	260.0 ± 19.5	165.8 ± 20.0	357.3 ± 20.7	1170.5 ± 31.7	17879.1 ± 741.2

¹TUSYA: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asidi , ² TSYA: Toplam Sebest Yağ Asidi.

Tablo Ek 5. 1.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin orta ve uzun zincirli serbest yağ asidi (mg/100g yağ) miktarı ve lipolitik olgunlaşma değeri.

EMP	$C_{12:0}$	$C_{14:0}$	$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	TSYA-Uzun ¹
1	356.2 ± 40.2	1177.4 ± 89.5	5179.2 ± 505.1	1900.3 ± 153.7	5202.9 ± 457.3	206.7 ± 25.3	26.3 ± 1.8	14048.8 ± 1155.5
2	736.9 ± 47.6	2788.0 ± 136.3	7168.6 ± 124.0	2707.5 ± 56.6	6487.5 ± 316.0	218.4 ± 4.3	35.1 ± 3.2	20142 ± 436.4
3	544.7 ± 42.0	3282.1 ± 380.7	6840.4 ± 415.0	2424.6 ± 65.6	6419.3 ± 187.2	256.9 ± 28.8	31.8 ± 4.0	19799.8 ± 886.6
4	233.7 ± 24.3	1014.6 ± 71.8	2856.5 ± 148.8	1226.0 ± 46.6	3462.7 ± 238.4	103.0 ± 4.0	16.5 ± 4.0	8913.1 ± 428.1
5	931.3 ± 57.2	3532.7 ± 429.5	7168.0 ± 669.1	2506.5 ± 202.5	6071.2 ± 380.0	243.6 ± 15.0	41.9 ± 5.3	20495.1 ± 1486.5
6	435.8 ± 35.3	1636.8 ± 120.1	4026.6 ± 159.0	1302.3 ± 121.5	4044.3 ± 148.8	162.9 ± 15.6	23.9 ± 1.7	11632.6 ± 385.6
7	1072.5 ± 105.5	4377.7 ± 306.9	8360.9 ± 403.3	3248.7 ± 111.1	7563.2 ± 423.3	249.3 ± 21.5	41.1 ± 3.4	24913.3 ± 1026.3
8	442.8 ± 37.5	1918.8 ± 202.1	6238.9 ± 441.3	2165.6 ± 96.6	6162.4 ± 452.3	226.1 ± 17.6	26.4 ± 4.1	17181.0 ± 1115.3
9	456.0 ± 20.7	1379.5 ± 45.1	5653.9 ± 354.5	1593.4 ± 136.5	5112.2 ± 305.5	174.3 ± 9.3	4.3 ± 0.2	14373.6 ± 450.5
10	317.8 ± 15.1	1120.8 ± 84.6	3672.0 ± 142.9	1398.6 ± 99.2	4210.8 ± 143.6	116.7 ± 7.7	19.0 ± 1.8	10855.7 ± 447.0
11	394.5 ± 24.0	1462.6 ± 155.9	5050.4 ± 388.8	1850.1 ± 222.9	4625.4 ± 359.5	130.0 ± 9.7	11.4 ± 0.6	13524.4 ± 1078.5
12	431.9 ± 36.6	1842.7 ± 205.0	4891.3 ± 503.6	1602.9 ± 125.0	4583.5 ± 407.7	134.2 ± 5.4	26.3 ± 2.0	13512.9 ± 1135.9
13	588.3 ± 47.6	1973.9 ± 237.7	5205.3 ± 231.1	1955.5 ± 90.6	5297.4 ± 210.1	178.6 ± 13.7	35.2 ± 3.3	15234.3 ± 464.4
14	356.0 ± 52.1	2085.8 ± 280.5	4410.6 ± 430.1	1538.6 ± 77.1	4537.2 ± 322.8	160.7 ± 11.8	24.6 ± 4.8	13113.6 ± 883.5
15	360.3 ± 25.4	1609.1 ± 185.9	6059.4 ± 319.5	1439.8 ± 156.7	5205.6 ± 378.0	181.9 ± 15.3	8.4 ± 0.4	14864.5 ± 656.2
16	468.1 ± 24.3	2192.2 ± 190.3	5571.6 ± 181.0	2133.8 ± 131.5	6113.1 ± 376.7	203.0 ± 22.3	26.8 ± 1.7	16708.7 ± 735.3

¹TSYA-Uzun: Toplam Uzun Zincirli Serbest Yağ Asid

Tablo Ek 6. Çalışılan işlem koşullarının SYA'leri üzerine etkileri*

İşlem Koşulları**	$C_{4:0}$	$C_{6:0}$	$C_{8:0}$	$C_{10:0}$	$C_{12:0}$	$C_{14:0}$	$C_{16:0}$	$C_{18:0}$	$C_{18:1}$	$C_{18:2}$	$C_{18:3}$	$TUSYA^1$	$TSYA$ - $Uzun^2$	$TSYA^3$
Model	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₂	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₃	<0.0001						0.0001		<0.0001					
x ₄	<0.0001						0.0208	0.0012	0.0002	0.00075				0.0029
x ₅	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.00014	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₆	<0.0001	0.0013	0.0040	0.0012	0.0052	<0.0001					<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0008
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001		<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆			0.0266			0.0001	0.0173		0.0016	<0.0001	<0.0001		0.0159	0.0028
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0241		<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0004	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001		0.0005	<0.0001	<0.0001
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆							0.0005							0.0097
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	<0.0001		0.0374	0.0172	0.0008	0.0006								
Lack of Fit	0.0019	<0.0001	0.0001	0.0008	0.0392	0.0128	0.0006	0.0471	0.2765	0.0079	0.0186	<0.0001	<0.0001	0.0045
R ²	0.9842	0.9465	0.9583	0.9567	0.9707	0.9549	0.9552	0.9646	0.9586	0.8861	0.9426	0.9394	0.9364	0.9739
Adj-R ²	0.9767	0.9309	0.9412	0.9416	0.9605	0.9365	0.9338	0.9543	0.9416	0.8465	0.9315	0.9218	0.9143	0.9614
Pre-R ²	0.9634	0.9049	0.9117	0.9161	0.9432	0.9046	0.8959	0.9371	0.9123	0.7796	0.9130	0.8923	0.8769	0.9393
Adeq.precision	41.028	28.010	26.044	29.111	36.232	27.122	22.790	33.962	27.066	15.384	31.291	26.431	26.053	33.470
PRESS	1.6×10 ⁵	1.5×10 ⁵	3.4×10 ⁴	1.1×10 ⁵	8.9×10 ⁴	2.6×10 ⁶	6.5×10 ⁶	6.1×10 ⁵	3.1×10 ⁶	1.5×10 ⁴	321.63	2.7×10 ⁶	6.3×10 ⁷	4.5×10 ⁷
C.V.	12.25	19.01	14.35	12.70	8.79	11.41	6.62	12.08	4.89	10.25	11.45	18.76	7.66	5.69

*Hepsi *p* değerlerini vermektedir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

¹ TUSYA: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asidi. ²TSYA-UZUN: Toplam Uzun Zincirli Serbest Yağ Asidi, ³ TSYA: Toplam Sebest Yağ Asidi.

Tablo Ek 7. 1.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan asitler (pik alanı/1000).

EMP	Asetik Asit	Bütanoik Asit	Pentanoik Asit	Hekzanoik Asit	Heptanoik Asit	Oktanoik Asit	Dekanoik Asit	9-Dekonoik Asit	Dodekanoik Asit
1	7218 ± 332	212354 ± 3171	5783 ± 167	751022 ± 34867	12735 ± 765	677934 ± 14193	285615 ± 20636	24920 ± 1609	34780 ± 1456
2	9494 ± 628	203791 ± 11051	6087 ± 282	820344 ± 14177	14893 ± 860	661974 ± 16293	259888 ± 16876	25868 ± 1223	32032 ± 2536
3	7575 ± 513	203234 ± 13577	5982 ± 220	847011 ± 15184	13902 ± 677	684348 ± 16978	296306 ± 10755	25143 ± 1535	32705 ± 2653
4	6685 ± 452	125079 ± 10414	3297 ± 197	570515 ± 21638	9907 ± 1414	536368 ± 13860	204503 ± 22098	17978 ± 2607	23906 ± 2054
5	6364 ± 555	200865 ± 9810	5294 ± 257	832037 ± 16760	12990 ± 903	737684 ± 12471	315819 ± 29795	29856 ± 2105	39358 ± 2657
6	16551 ± 40	238150 ± 7982	5623 ± 214	633929 ± 13102	10566 ± 171	519795 ± 32638	158472 ± 13303	17027 ± 1383	24403 ± 1092
7	7631 ± 318	263855 ± 15055	5804 ± 366	826372 ± 23904	15534 ± 1063	828014 ± 31669	365587 ± 19863	35394 ± 1677	44912 ± 1865
8	13606 ± 1171	228296 ± 9727	5623 ± 361	694545 ± 19051	12680 ± 747	609324 ± 35681	207074 ± 15561	17201 ± 1089	19042 ± 1703
9	28365 ± 2036	318782 ± 3663	3949 ± 224	406138 ± 11291	6157 ± 430	378512 ± 28651	111577 ± 8427	9466 ± 687	10836 ± 235
10	10059 ± 814	190122 ± 16280	3701 ± 241	461391 ± 22700	7942 ± 813	423601 ± 17948	138351 ± 5262	11670 ± 599	14476 ± 1295
11	21943 ± 483	252655 ± 14638	4746 ± 471	520415 ± 15766	8209 ± 850	475329 ± 29502	156591 ± 10166	13311 ± 223	17379 ± 198
12	15765 ± 1231	183947 ± 15787	4329 ± 344	521772 ± 23075	8599 ± 438	476261 ± 34481	174531 ± 6823	14011 ± 1100	17000 ± 1425
13	8669 ± 400	218183 ± 18727	5439 ± 45	748734 ± 9705	13218 ± 819	625544 ± 40222	243614 ± 15297	21498 ± 1762	30540 ± 2401
14	7542 ± 148	159143 ± 5096	4604 ± 444	628547 ± 34488	10441 ± 1030	574667 ± 32111	216556 ± 10429	15617 ± 1439	26874 ± 2245
15	22286 ± 1779	211364 ± 9434	4845 ± 237	472715 ± 13022	7361 ± 629	439598 ± 20556	157805 ± 3635	15038 ± 1532	21742 ± 527
16	24040 ± 1609	272715 ± 12571	6388 ± 307	729269 ± 873	12198 ± 215	605179 ± 9241	219672 ± 8050	17100 ± 799	22273 ± 1145

Tablo Ek 8. 1. Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan aldehit ve ketonlar (pik alanı/1000).

EMP	Hekzanal	(E)-2-Pental	Oktanal	Nonanal	Benzaldehit	2-Heptanon	Asetoin	2-Oktanon	2-Nonanon	2-Undekanon	2-Tridekanon
1	798.8 ± 8.6	1732 ± 248	471.5 ± 29.8	1443 ± 6	4848 ± 571	27694 ± 2171	1613 ± 468	-	18597 ± 1119	7969 ± 992	2128 ± 66
2	444.8 ± 12.2	-	456.1 ± 91.3	1587 ± 70	6943 ± 565	19649 ± 536	-	-	14997 ± 829	7497 ± 182	2551 ± 55
3	642.7 ± 55.4	1795 ± 161	441.6 ± 35.6	1364 ± 42	6588 ± 542	23457 ± 2129	681.6 ± 329.8	220.0 ± 9.7	18616 ± 407	8472 ± 793	1995 ± 133
4	2710 ± 110	2846 ± 29	675.5 ± 30.1	1597 ± 64	6595 ± 554	39895 ± 3175	935.3 ± 748.1	135.4 ± 2.9	13221 ± 1283	4054 ± 524	1216 ± 111
5	668.4 ± 65.0	1404 ± 116	277.8 ± 17.1	1109 ± 30	12079 ± 63	14939 ± 201	-	154.0 ± 18.8	17023 ± 162	9553 ± 1076	2684 ± 138
6	3239 ± 267	-	1168 ± 68	2699 ± 172	11594 ± 1024	66549 ± 20	7647 ± 1868	-	14349 ± 914	4054 ± 389	1553 ± 110
7	416.3 ± 21.3	-	287.3 ± 19.6	753.1 ± 84.8	11185 ± 499	11791 ± 535	-	-	17587 ± 793	10630 ± 692	3065 ± 259
8	2088 ± 134	-	1022 ± 132	1098 ± 115	8256 ± 582	46805 ± 2476	566.8 ± 67.1	-	12451 ± 1329	2775 ± 259	399.6 ± 35.0
9	6437 ± 161	6178 ± 749	1240 ± 21	1511 ± 100	9663 ± 708	52052 ± 3778	6918 ± 753	-	8718 ± 776	1490 ± 177	323.4 ± 32.2
10	3666 ± 78	12863 ± 32	861.0 ± 81.1	1201 ± 91	9526 ± 948	44138 ± 3578	713.5 ± 104.3	-	8774 ± 10	2366 ± 214	851.5 ± 70.6
11	2958 ± 188	-	1008 ± 40	2642 ± 166	9404 ± 845	63683 ± 4462	19225 ± 3511	-	12269 ± 105	5446 ± 186	1180 ± 72
12	1300 ± 19	1247 ± 97	923.6 ± 88.4	3223 ± 113	15873 ± 1332	54268 ± 4108	29539 ± 1233	-	10514 ± 422	4665 ± 406	1226 ± 174
13	630.3 ± 22.9	1578 ± 147	560.7 ± 29.9	1734 ± 31	6491 ± 379	24786 ± 2330	-	-	13030 ± 19	6545 ± 322	1680 ± 184
14	1591 ± 157	3075 ± 313	639.5 ± 12.7	1569 ± 27	5526 ± 257	36969 ± 3525	483.3 ± 155.5	209.4 ± 10.9	13258 ± 1333	5749 ± 107	1689 ± 94
15	3647 ± 247	-	1059 ± 70	1466 ± 49	7792 ± 901	50575 ± 2804	2156 ± 84	-	11660 ± 827	3449 ± 318	1162 ± 32
16	1507 ± 49	-	964.9 ± 8.2	3335 ± 127	18064 ± 477	43723 ± 3174	19293 ± 2569	-	13362 ± 204	5089 ± 122	1386 ± 17

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 9. 1. Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan esterler (pik alanı/1000).

EMP	Etil Hekzanoat	Etil Heptanoat	Etil Oktanoat	Etil Nonanoat	Etil Dekanoat	Etil 9- Dekanoat
1	29786 ± 1699	1129 ± 48	53314 ± 3563	732.5 ± 93.9	29524 ± 1708	2886 ± 285
2	13740 ± 687	495.5 ± 2.7	29644 ± 2402	-	18627 ± 1449	1942 ± 75
3	22513 ± 1762	869.9 ± 45.6	47921 ± 1555	738.3 ± 18.8	27593 ± 850	2014 ± 101
4	50992 ± 1024	1175 ± 24	53442 ± 1605	676.7 ± 16.3	20359 ± 1573	2687 ± 232
5	10811 ± 63	466.5 ± 32.0	33231 ± 2177	499.6 ± 5.4	23961 ± 738	2615 ± 278
6	49934 ± 743	-	32891 ± 2045	-	15928 ± 1408	1408 ± 160
7	8578.6 ± 362.9	-	34047 ± 300	560.4 ± 7.0	30381 ± 2227	3658 ± 101
8	38053 ± 284	-	29445 ± 1588	-	13424 ± 801	1179 ± 148
9	40590 ± 1207	-	20363 ± 1541	-	8656 ± 651	926.9 ± 252.2
10	32059 ± 1460	-	22614 ± 2241	388.2 ± 44.2	10669 ± 1159	870.2 ± 59.3
11	41007 ± 2610	-	21810 ± 1948	-	12144 ± 1071	1144 ± 40
12	26939 ± 1821	-	17137 ± 1625	-	11620 ± 1097	903.6 ± 19.4
13	21368 ± 1875	500.1 ± 3.3	22672 ± 492	592.6 ± 17.5	14426 ± 430	1438 ± 109
14	42959 ± 1331	1095 ± 219	47749 ± 3949	610.9 ± 13.0	14495 ± 1236	2126 ± 129
15	40619 ± 991	-	29995 ± 926	-	12422 ± 1183	1238 ± 10
16	34667 ± 736	-	28000 ± 1107	350.4 ± 14.0	13949 ± 361	1253 ± 36

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 10. 1. Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan diğer uçucu bileşikler (pik alanı/1000).

EMP	Gama-Bütürolakton	Delta-Dekalakton	Fenol	Pentil Furan	3-Metil Bütanol	1-Pentanol	1-Hekzanol	2-Etil Hekzanol
1	505.1 ± 49.0	1235 ± 57	2373 ± 158	1348 ± 111	-*	-	-	-
2	421.7 ± 29.0	1154 ± 38	2548 ± 181	957.0 ± 21.4	-	-	-	-
3	779.4 ± 28.5	1282 ± 28	2649 ± 209	1098 ± 76	-	-	-	-
4	389.9 ± 21.5	1102 ± 20	1827 ± 129	818.7 ± 36.3	624.4 ± 161.2	-	273.8 ± 1.6	597.7 ± 62.9
5	508.8 ± 32.9	1241 ± 20	2463 ± 114	1040 ± 131	-	-	-	-
6	974.8 ± 65.5	1474 ± 99	3183 ± 148	3663 ± 228	1236 ± 128	2155 ± 528	1551 ± 257	582.5 ± 21.2
7	453.0 ± 23.4	1297 ± 89	2791 ± 59	693.4 ± 59.7	-	-	-	-
8	581.3 ± 51.9	1169 ± 33	2534 ± 94	1348 ± 73	-	-	-	505.5 ± 67.6
9	1247.5 ± 121.3	1421 ± 15	3844 ± 90	2171 ± 28	1469 ± 352	1466 ± 184	1705 ± 265	1646 ± 177
10	446.7 ± 52.4	1120 ± 41	2323 ± 216	1175 ± 99	873.1 ± 14.6	299.7 ± 42.2	431.9 ± 1.8	606.0 ± 17.9
11	1238.0 ± 109.9	1492 ± 42	3052 ± 144	3306 ± 285	2707 ± 510	2431 ± 116	2379 ± 251	732.2 ± 272.6
12	463.3 ± 50.3	1259 ± 69	2292 ± 130	2327 ± 135	687.1 ± 8.2	-	1328 ± 93	641.2 ± 48.6
13	456.7 ± 25.2	1131 ± 61	2554 ± 181	952.7 ± 39.0	-	-	-	324.6 ± 23.0
14	664.9 ± 70.3	1136 ± 19	1956 ± 99	903.8 ± 87.7	-	-	-	446.7 ± 14.5
15	875.5 ± 75.0	1288 ± 34	3624 ± 244	2301 ± 245	-	-	770.3 ± 133.4	630.8 ± 41.3
16	570.0 ± 61.9	1311 ± 28	2543 ± 100	1996 ± 145	-	333.2 ± 33.6	820.4 ± 9.8	406.9 ± 12.9

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 11. İşlem koşullarının asitler ve esterler üzerine etkileri*

İşlem Koşulları**	Asetik Asit	Bütanoik Asit	Pentanoik Asit	Hekzanoik Asit	Heptanoik Asit	Oktanoik Asit	Dekanoik Asit	9-Dekonoik Asit	Dodekanoik Asit	Etil Hekzanoat	Etil Oktanoat	Etil Dekanoat	Etil 9- Dekanoat
Model	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁	<0.0001	<0.0001	0.0454	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₂		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001		<0.0001	<0.0001
x ₃	<0.0001	0.0001	0.0007							<0.0001			<0.0001
x ₄			0.0001	0.0007	<0.0001	<0.0001	0.0038	<0.0001	0.0015	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₅	<0.0001		0.0105	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0088	<0.0001	<0.0001		
x ₆	0.0002	<0.0001											
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅		<0.0001				0.0067	0.0008	0.0004	0.0208	<0.0001		<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆			<0.0001	<0.0001	0.0006	0.0030	0.0760		0.0316		<0.0001		0.0015
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆	<0.0001	<0.0001	0.0022					0.0011	0.0040	<0.0001	<0.0001		
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅	<0.0001	<0.0001	0.0012	0.0018	0.0001	0.0011	0.0237						
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆		<0.0001	0.0173										
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	<0.0001		0.0001	0.0015	0.0001								<0.0001
<i>Lack of Fit</i>	0.51	0.40	0.07	0.89	0.94	0.61	0.90	0.79	0.68	0.02	0.10	0.19	0.36
R ²	0.96	0.94	0.90	0.91	0.93	0.93	0.92	0.91	0.90	0.97	0.92	0.95	0.96
Adj-R ²	0.95	0.92	0.85	0.89	0.91	0.91	0.90	0.89	0.87	0.96	0.91	0.95	0.95
Pre-R ²	0.93	0.89	0.77	0.85	0.88	0.88	0.86	0.86	0.83	0.95	0.88	0.94	0.93
Adeq. precision	28.41	29.54	14.86	19.50	22.57	23.05	20.32	21.94	17.57	35.98	21.91	34.76	30.67
PRESS	1.06×10 ¹⁴	6.98×10 ¹⁵	7.3×10 ¹²	1.0×10 ¹²	2.9×10 ¹³	5.5×10 ¹⁶	2.1×10 ¹⁶	2.1×10 ¹⁴	4.7×10 ¹⁴	2.5×10 ¹⁴	4.8×10 ¹⁴	8.4×10 ¹³	1.2×10 ¹²
C.V.	11.85	5.76	7.65	7.41	7.52	6.26	10.31	11.77	12.99	7.65	10.76	8.56	9.78

*Hepsi *p* değerlerini vermektedir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

Tablo Ek 12. İşlem koşullarının diğer uçucu bileşikler üzerine etkileri*

İşlem Koşulları**	Benzaldehit	Hekzanal	Oktanal	Nonanal	2-Heptanon	2-Nonanon	2-Undekanon	2-Tridekanon	Gama-Bütürolaktone	Delta-Dekalactone	Fenol	Pentil furan
Model	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₂	<0.0001	<0.0001	0.0004	<0.0001		<0.0001	<0.0001	<0.0001		<0.0001		<0.0001
x ₃				<0.0001	0.0276						0.0001	
x ₄						<0.0001		0.0003	<0.0001			
x ₅	<0.0001	<0.0001	<0.0001		<0.0001		0.0041	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₆								<0.0001		0.4718		
x ₁ x ₂ /x ₃ x ₅	0.0056	0.0020	0.0052	<0.0001	<0.0001	0.0060					<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₄ /x ₅ x ₆						0.0034						
x ₁ x ₅ /x ₂ x ₃ /x ₄ x ₆		0.0016		0.0088			0.0105	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
x ₁ x ₆ /x ₄ x ₅									<0.0001	0.0026		
x ₂ x ₄ /x ₃ x ₆												
x ₂ x ₅ /x ₁ x ₃	<0.0001	0.0027										0.0070
x ₂ x ₆ /x ₃ x ₄								<0.0001				
Lack of Fit	0.16	<0.0001	0.17	0.49	0.59	0.21	0.20	0.99	0.29	0.93	0.31	0.12
R ²	0.90	0.92	0.93	0.96	0.93	0.91	0.91	0.97	0.93	0.90	0.90	0.96
Adj-R ²	0.88	0.90	0.92	0.95	0.92	0.89	0.89	0.96	0.92	0.88	0.89	0.95
Pre-R ²	0.85	0.87	0.90	0.94	0.90	0.87	0.87	0.94	0.90	0.84	0.86	0.93
Adeq.precision	21.05	20.71	24.97	32.74	27.42	21.58	22.63	36.05	23.90	20.36	23.59	29.15
PRESS	5.9×10 ¹³	1.1×10 ¹²	2.7×10 ¹¹	1.0×10 ¹²	8.0×10 ¹⁴	3.9×10 ¹³	2.7×10 ¹³	9.7×10 ¹¹	2.3×10 ¹¹	7.7×10 ¹²	1.2×10 ¹²	1.5×10 ¹²
C.V.	13.13	25.31	11.36	9.35	11.91	7.29	14.92	9.64	11.62	3.47	6.78	11.79

*Hepsi *p* değerlerini vermektedir.

** x₁: inkübasyon sıcaklığı (°C), x₂: inkübasyon süresi (sa), x₃: proteaz konsantrasyonu (%), x₄: lipaz konsantrasyonu (%), x₅: inkübasyon karıştırma hızı (rpm), x₆: homojenizasyon basıncı (bar).

Tablo Ek 13. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin kimyasal özellikleri.

#	Nem (%)	Protein (%)	Yağ (%)	pH
1	76.13 ± 0.54	9.24 ± 0.03	11.48 ± 0.01	5.27
2	73.88 ± 0.84	9.79 ± 0.27	12.45 ± 0.07	6.13
3	73.85 ± 0.24	9.43 ± 0.01	12.14 ± 0.37	5.56
4	72.87 ± 0.35	9.45 ± 0.06	12.13 ± 0.34	6.10
5	73.07 ± 0.21	9.65 ± 0.11	11.96 ± 0.06	5.37
6	74.84 ± 0.11	9.29 ± 0.23	11.67 ± 0.39	6.09
7	73.11 ± 0.11	9.39 ± 0.07	12.38 ± 0.03	5.72
8	72.80 ± 0.23	9.75 ± 0.15	12.45 ± 0.02	6.11
9	70.71 ± 0.03	11.06 ± 0.09	12.79 ± 0.00	5.29
10	72.08 ± 0.43	10.07 ± 0.09	12.36 ± 0.02	6.22
11	74.75 ± 0.74	9.46 ± 0.44	11.93 ± 0.03	5.83
12	73.18 ± 0.17	9.46 ± 0.08	11.88 ± 0.00	5.51
13	74.36 ± 0.60	9.33 ± 0.08	12.39 ± 0.00	5.64
14	74.36 ± 0.01	10.07 ± 0.44	11.96 ± 0.04	5.46
15	71.24 ± 0.09	10.15 ± 0.15	12.49 ± 0.00	5.60
16	71.12 ± 0.15	10.27 ± 0.02	12.21 ± 0.36	5.43
17	71.34 ± 0.08	9.72 ± 0.00	12.40 ± 0.02	5.43
18	71.52 ± 0.20	10.30 ± 0.28	11.72 ± 0.32	5.48
19	70.84 ± 0.02	10.56 ± 0.44	12.69 ± 0.33	5.40
20	71.72 ± 0.16	10.14 ± 0.25	11.96 ± 0.03	5.40

Tablo Ek 14. 2.Aşamada üretilen Enzim Modifiye Peynir (EMP) örneklerinin proteolitik olgunlaşma ortalama % değerleri.

EMP	TA ¹ (%)	SÇA ² (%)	TCA-ÇA ³ (%)	PTA-ÇA ⁴ (%)	OUI ⁵ (%)	OYİ ⁶ (%)	SAİ ⁷ (%)
1	1.44 ± 0.00	0.95 ± 0.00	0.65 ± 0.02	0.06 ± 0.01	65.67	44.87	4.37
2	1.53 ± 0.04	0.96 ± 0.00	0.74 ± 0.00	0.22 ± 0.00	62.76	48.39	14.44
3	1.47 ± 0.00	1.09 ± 0.01	0.91 ± 0.03	0.17 ± 0.00	74.08	61.94	12.12
4	1.48 ± 0.01	1.05 ± 0.01	0.58 ± 0.03	0.14 ± 0.00	71.07	39.28	9.84
5	1.51 ± 0.01	1.15 ± 0.00	0.90 ± 0.03	0.16 ± 0.00	76.02	59.71	10.56
6	1.45 ± 0.03	1.10 ± 0.00	0.98 ± 0.01	0.27 ± 0.09	76.14	67.84	19.13
7	1.47 ± 0.01	1.15 ± 0.01	0.91 ± 0.06	0.28 ± 0.02	78.37	62.03	19.48
8	1.52 ± 0.02	1.17 ± 0.02	0.66 ± 0.00	0.20 ± 0.04	77.12	43.17	13.17
9	1.73 ± 0.01	1.14 ± 0.01	0.83 ± 0.04	0.12 ± 0.00	66.08	48.43	7.23
10	1.58 ± 0.30	0.92 ± 0.00	0.50 ± 0.00	0.12 ± 0.00	58.45	31.74	7.81
11	1.48 ± 0.06	1.13 ± 0.01	0.91 ± 0.00	0.23 ± 0.01	76.29	61.85	15.62
12	1.48 ± 0.01	1.21 ± 0.00	0.74 ± 0.02	0.28 ± 0.02	82.15	50.05	18.92
13	1.46 ± 0.01	0.98 ± 0.01	0.77 ± 0.04	0.19 ± 0.04	67.47	52.84	13.10
14	1.57 ± 0.04	1.26 ± 0.00	1.08 ± 0.01	0.37 ± 0.01	79.82	68.97	25.51
15	1.59 ± 0.02	1.23 ± 0.00	1.07 ± 0.01	0.32 ± 0.04	77.38	67.28	20.26
16	1.61 ± 0.00	1.21 ± 0.03	1.02 ± 0.00	0.31 ± 0.05	75.61	63.84	19.66
17	1.52 ± 0.00	1.22 ± 0.01	1.04 ± 0.03	0.32 ± 0.08	80.15	68.33	20.91
18	1.61 ± 0.04	1.23 ± 0.00	1.07 ± 0.02	0.32 ± 0.06	76.28	66.41	20.32
19	1.65 ± 0.06	1.23 ± 0.00	1.05 ± 0.00	0.30 ± 0.02	74.57	63.95	18.18
20	1.58 ± 0.03	1.24 ± 0.00	1.10 ± 0.04	0.36 ± 0.02	78.07	69.37	23.05

¹ TA: Toplam Azot, ² SÇA: Suda Çözünür Azot, ³ TCA-ÇA: Trikloroasetik Asitte Çözünür Azot, ⁴ PTA-ÇA: Fosfotungustik Asitte Çözünür Azot, ⁵ OYİ: Olgunlaşma Yoğunluk İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (TCA-ÇA/Toplam Azot). ⁶ OUI: Olgunlaşma Uzama İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (SÇA/Toplam Azot). ⁷ SAI: Serbest Amino Asit İndeksi (Suda çözünür azot cinsinden) (PTA-ÇA/Toplam Azot).

Tablo Ek 15. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin serbest yağ asidi miktarları ortalama değerleri (mg/100g yağ).

EMP	$C_{4:0}$	$C_{6:0}$	$C_{8:0}$	$C_{10:0}$	TUSYA ¹	TSYA ²
1	793.1 ± 46.7	478.0 ± 21.9	274.5 ± 5.9	470.4 ± 20.3	2016.0 ± 55.1	17919.5 ± 1047.7
2	136.6 ± 16.7	83.3 ± 8.4	74.8 ± 8.3	119.8 ± 13.4	414.5 ± 38.2	6914.3 ± 316.3
3	511.3 ± 40.8	339.4 ± 31.9	197.3 ± 11.2	324.4 ± 17.6	1372.4 ± 88.4	12209.7 ± 1023.2
4	132.1 ± 3.8	101.9 ± 6.1	89.9 ± 1.4	136.3 ± 5.4	460.2 ± 3.2	5588.4 ± 362.8
5	1146.6 ± 30.7	710.4 ± 6.3	365.6 ± 16.2	655.2 ± 26.0	2877.8 ± 5.2	23133.0 ± 729.9
6	277.1 ± 16.6	171.9 ± 4.0	153.6 ± 12.7	253.2 ± 30.5	855.8 ± 23.7	10197.8 ± 872.1
7	766.4 ± 23.9	525.0 ± 32.7	309.8 ± 30.4	552.4 ± 52.8	2153.6 ± 138.8	18535.5 ± 1521.9
8	254.9 ± 17.0	171.8 ± 7.5	155.8 ± 16.9	228.2 ± 16.9	810.5 ± 24.3	8372.4 ± 250.1
9	885.0 ± 37.4	580.4 ± 3.8	312.8 ± 12.4	542.8 ± 35.6	2320.9 ± 18.0	18427.9 ± 630.5
10	138.2 ± 3.3	88.9 ± 1.9	83.5 ± 2.1	122.4 ± 4.8	433.0 ± 11.4	5593.1 ± 144.3
11	364.4 ± 42.6	203.1 ± 7.3	163.8 ± 7.1	274.3 ± 14.1	1005.6 ± 28.5	11574.7 ± 578.2
12	314.8 ± 25.3	177.6 ± 11.8	143.9 ± 11.4	267.2 ± 16.3	903.5 ± 7.2	9185.0 ± 279.6
13	351.4 ± 27.2	280.1 ± 8.1	251.5 ± 13.8	414.1 ± 21.6	1297.0 ± 42.8	14717.5 ± 456.8
14	700.5 ± 55.0	406.9 ± 31.6	377.3 ± 27.4	690.5 ± 48.2	2175.2 ± 159.5	20171.5 ± 1147.9
15	414.7 ± 15.2	294.4 ± 0.9	276.6 ± 4.2	488.2 ± 5.2	1473.9 ± 23.8	16131.8 ± 675.4
16	539.3 ± 80.2	326.6 ± 18.6	275.2 ± 28.0	486.2 ± 46.5	1627.4 ± 73.7	16152.9 ± 1688.1
17	528.1 ± 58.3	316.8 ± 17.0	244.0 ± 25.4	436.9 ± 50.0	1525.8 ± 62.2	16474.7 ± 1872.8
18	467.1 ± 46.0	319.8 ± 28.2	254.1 ± 18.6	452.8 ± 28.4	1493.9 ± 51.1	14836.3 ± 1352.4
19	585.1 ± 30.1	356.1 ± 7.6	298.8 ± 24.4	481.9 ± 12.1	1721.9 ± 25.5	17569.2 ± 1078.6
20	436.9 ± 56.4	385.0 ± 3.2	288.0 ± 18.5	509.8 ± 9.8	1619.8 ± 81.5	18271.4 ± 591.0

²TUSYA: Toplam Uçucu Serbest Yağ Asidi , ³ TSYA: Toplam Sebest Yağ Asidi.

Tablo Ek 16. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin serbest yağ asidi miktarları ortalama değerleri (mg/100g yağ).

EMP	<i>C</i> _{12:0}	<i>C</i> _{14:0}	<i>C</i> _{16:0}	<i>C</i> _{18:0}	<i>C</i> _{18:1}	<i>C</i> _{18:2}	<i>C</i> _{18:3}	TSYA-Uzun ¹
1	563.3 ± 27.5	2151.1 ± 149.8	5332.5 ± 337.7	2189.4 ± 122.7	5085.1 ± 347.1	421.4 ± 31.0	160,7 ± 12.9	15903.5 ± 1027.6
2	168.5 ± 17.0	481.2 ± 30.3	2129.3 ± 129.5	826.6 ± 49.0	2583.1 ± 104.5	213.7 ± 10.3	97,3 ± 0.9	6499.8 ± 317.0
3	395.8 ± 19.8	1401.8 ± 146.9	3605.0 ± 281.3	1448.7 ± 109.0	3566.1 ± 345.3	304.7 ± 27.9	115,2 ± 10.8	10837.3 ± 936.2
4	183.4 ± 7.7	510.1 ± 39.2	1603.7 ± 125.5	650.6 ± 46.6	1958.9 ± 132.5	152.2 ± 10.3	69,2 ± 4.0	5128.3 ± 365.8
5	764.2 ± 24.7	3292.8 ± 189.5	6616.2 ± 361.2	2621.7 ± 140.3	6241.9 ± 2.2	521.5 ± 6.3	197,0 ± 4.8	20255.2 ± 724.7
6	327.8 ± 40.4	1016.7 ± 97.7	3083.7 ± 304.0	1203.5 ± 115.9	3304.2 ± 273.4	278.0 ± 21.7	128,2 ± 3.4	9342.1 ± 848.4
7	648.5 ± 60.9	2614.7 ± 300.9	5473.7 ± 432.8	2108.2 ± 171.4	4934.9 ± 369.7	439.1 ± 40.8	162,8 ± 12.5	16381.8 ± 1385.8
8	294.8 ± 192	765.8 ± 2.8	2406.2 ± 77.7	943.2 ± 39.2	2814.4 ± 80.1	231.3 ± 7.5	106,2 ± 4.9	7561.9 ± 225.8
9	656.9 ± 41.0	2497.6 ± 106.1	5264.8 ± 200.0	2127.9 ± 104.9	4978.6 ± 226.7	418.5 ± 11.1	162,7 ± 12.9	16107.0 ± 626.1
10	165.5 ± 6.7	472.1 ± 13.9	1691.8 ± 45.1	671.2 ± 21.6	1929.6 ± 50.4	157.2 ± 4.0	72,7 ± 1.9	5160.1 ± 138.6
11	353.4 ± 16.7	1234.1 ± 93.0	3463.6 ± 223.9	1283.6 ± 80.8	3774.2 ± 164.1	327.0 ± 14.0	133,2 ± 5.6	10569.1 ± 588.8
12	341.6 ± 17.3	1192.0 ± 50.1	2614.4 ± 142.5	991.4 ± 60.0	2809.8 ± 88.7	243.0 ± 7.9	89,3 ± 5.6	8281.5 ± 277.7
13	521.6 ± 26.8	1746.2 ± 70.3	4324.1 ± 136.4	1714.6 ± 56.9	4565.1 ± 153.9	388.0 ± 15.5	160,8 ± 5.2	13420.4 ± 414.1
14	798.6 ± 62.2	2367.4 ± 215.9	6031.5 ± 360.9	2158.7 ± 145.1	5902.3 ± 175.4	535.3 ± 24.9	202,3 ± 8.6	17996.2 ± 989.5
15	602.7 ± 4.9	1963.9 ± 114.4	4780.6 ± 279.1	1791.2 ± 109.4	4907.8 ± 128.0	436.6 ± 11.0	175,2 ± 4.9	14657.9 ± 651.6
16	603.4 ± 50.0	1953.8 ± 303.3	4710.3 ± 613.5	1765.3 ± 219.2	4883.2 ± 442.1	435.3 ± 40.0	174,2 ± 16.1	14525.5 ± 1680.0
17	552.0 ± 35.6	1959.7 ± 364.9	4996.6 ± 681.6	1850.8 ± 248.1	4976.5 ± 486.9	441.8 ± 42.1	171,5 ± 16.8	14948.9 ± 1821.9
18	564.9 ± 22.7	1817.6 ± 143.7	4314.0 ± 571.7	1613.1 ± 208.3	4470.1 ± 375.1	399.7 ± 42.9	163,0 ± 19.2	13342.4 ± 1375.6
19	639.3 ± 54.3	2215.2 ± 183.3	5192.2 ± 373.2	1920.9 ± 140.2	5219.4 ± 284.0	469.3 ± 25.0	191,1 ± 11.9	15847.2 ± 1062.5
20	624.6 ± 19.3	2280.8 ± 48.3	5499.3 ± 246.0	2030.2 ± 106.9	5539.1 ± 261.6	495.7 ± 21.5	181,8 ± 7.6	16651.6 ± 672.5

¹TSYA-UZUN: Toplam Uzun Zincirli Serbest Yağ Asidi.

TabloEk 17. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan uçucu asit miktarları ortalama değerleri (µg/kg).

EMP	Asetik Asit	Bütanoik Asit	Pentanoik Asit	Hekzanoik Asit	Heptanoik Asit	Oktanoik Asit	Nonanoik Asit	Dekanoik Asit	9-Dekonoik Asit	Dodekanoik Asit
1	282.3 ± 23,9	8985.1 ± 17.0	230.2 ± 12.0	33408.0 ± 709.4	394.1 ± 16.7	13728.7 ± 1394.1	71.2 ± 5.5	3043.4 ± 398.6	216.0 ± 21.4	195.4 ± 8.5
2	689.7 ± 11,5	7982.1 ± 112.8	368.0 ± 10.6	23014.0 ± 315.3	540.7 ± 38.2	30508.1 ± 353.2	170.9 ± 10.5	14199.5 ± 452.6	1159.2 ± 77.2	1544.4± 154.2
3	1178.7 ± 100,8	18473.0 ± 388.3	896.4 ± 61.7	77072.3 ± 447.8	1997.8 ± 130.7	74260.8 ± 4917.3	454.6 ± 7.8	32367.5 ± 2490.9	2746.1 ± 45.6	2167.4 ± 29.0
4	1090.4 ± 107.8	11160.6 ± 20.4	503.4 ± 11.8	34906.6 ± 1096.0	897.4 ± 51.9	40576.6 ± 3010.5	328.8 ± 13.9	17699.5 ± 1976.4	1267.7 ± 35.5	2130.1 ± 52.1
5	314.3 ± 13.7	7670.7 ± 308.1	224.5 ± 10.5	38416.1 ± 1189.9	383.2 ± 23.6	18206.8 ± 2.4	126.3 ± 2.3	5341.2 ± 134.6	483.0 ± 13.2	483.7 ± 18.2
6	967.5 ± 32.1	10689.5 ± 804.4	533.1 ± 32.1	34717.2 ± 3055.2	860.6 ± 89.3	42101.6 ± 389.2	334.8 ± 5.4	17126.9 ± 734.4	1386.3 ± 156.2	1731.6 ± 67.8
7	1380.2 ± 115.8	20809.1 ± 1382.6	910.2 ± 46.7	76068.2 ± 5818.2	2024.1 ± 67.1	82126.3 ± 2509.1	959.3 ± 38.2	41050.9 ± 5769.8	3624.3 ± 201.2	3524.0 ± 185.8
8	1480.5 ± 166.1	11868.6 ± 505.3	624.1 ± 17.3	37236.3 ± 134.5	956.1 ± 21.1	42179.3 ± 389.2	383.3 ± 10.8	18561.7 ± 61.7	1638.0 ± 21.0	2664.1 ± 228.1
9	3470.8 ± 1.1	16772.3 ± 832.0	779.6 ± 31.6	63041.1 ± 1751.1	1845.3 ± 73.5	68288.2 ± 2053.4	775.9 ± 67.2	38888.0 ± 4526.7	4271.8 ± 144.0	5287.7 ± 452.5
10	834.7 ± 12.6	7225.0 ± 178.8	372.8 ± 22.1	23106.0 ± 892.2	648.0 ± 58.8	31890.2 ± 1750.2	231.2 ± 7.6	14952.0 ± 1432.2	1006.7 ± 68.1	1244.0 ± 288.0
11	261.7 ± 0.0	5946.5 ± 122.5	150.9 ± 4.9	16333.0 ± 211.6	209.4 ± 4.4	11809.6 ± 203.2	123.0 ± 3.0	3628.8 ± 29.5	397.8 ± 30.0	696.6 ± 19.8
12	1356.0 ± 77.4	16757.8 ± 171.8	853.1 ± 3.1	62135.0 ± 955.3	1659.2 ± 83.7	65083.9 ± 4052.3	576.5 ± 12.8	29218.7 ± 2845.0	2877.9 ± 285.6	3052.2 ± 344.5
13	315.6 ± 2.0	6857.3 ± 268.6	148.1 ± 12.8	31136.8 ± 1368.1	689.4 ± 19.7	25913.9 ± 2028.0	65.1 ± 1.7	4557.8 ± 607.2	487.4 ± 23.7	511.2 ± 82.1
14	2174.6 ± 37.6	16199.9 ± 30.7	715.5 ± 2.0	63127.0 ± 104.0	1860.9 ± 36.3	64636.0 ± 2127.3	635.6 ± 75.8	31594.0 ± 1909.5	3653.1 ± 177.4	5486.0 ± 363.3
15	1925.8 ± 69.5	30969.3 ± 597.3	1330.4 ± 14.4	86638.4 ± 38.3	1733.3 ± 61.5	40066.7 ± 3818.8	363.9 ± 7.5	20908.0 ± 1150.8	798.3 ± 28.5	776.1 ± 81.6
16	1664.0 ± 55.0	29033.9 ± 2934.4	1227.2 ± 18.8	85861.2 ± 2365.4	1897.7 ± 151.8	65665.8 ± 6447.4	396.9 ± 7.8	18056.6 ± 2448.7	1930.1 ± 110.8	949.9 ± 42.2
17	1764.3 ± 29.0	26592.7 ± 660.7	1232.4 ± 20.7	89347.1 ± 1746.5	2165.3 ± 112.2	77290.6 ± 3306.1	503.4 ± 10.7	29192.4 ± 1125.8	2128.0 ± 187.7	1968.6 ± 160.7
18	1622.5 ± 0.3	24441.0 ± 1181.5	1020.9 ± 74.2	73671.9 ± 3893.7	1784.4 ± 172.5	62934.1± 5356.5	426.8 ± 15.7	19172.4 ± 3016.4	1809.0 ± 56.2	1926.4 ± 46.9
19	1705.4 ± 78.2	26049.1 ± 1482.8	1073.1 ± 52.2	77511.3 ± 1601.4	1873.2 ± 3.8	66400.5 ± 2249.6	410.5 ± 11.6	23457.4 ± 3321.7	2037.6 ± 139.9	1858.6 ± 105.3
20	1618.0 ± 140.9	26839.9 ± 1204.0	1095.3 ± 51.3	77976.8 ± 3916.0	2013.7 ± 108.7	75595.2 ± 2300.0	525.7 ± 2.1	21439.0 ± 495.3	2966.8 ± 69.0	2408.7 ± 5.5

Tablo Ek 18. 2. Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan aldehit ve keton miktarları ortalama değerleri (µg/kg).

EMP	Hekzanal	Oktanal	Nonanal	Benzaldehit	2-Heptanon	Asetoin	2-Nonanon	2-Undekanon	2-Tridekanon
1	40.2 ± 0.6	-*	-	160.1 ± 1.7	1281.2 ± 7.6	-	352.5 ± 6.0	97.8 ± 8.2	15.2 ± 0.0
2	123.7 ± 17.1	-	33.6 ± 17.4	2069.9 ± 17.0	3688.6 ± 15.0	25.5 ± 0.8	872.4 ± 17.5	393.8 ± 14.5	101.6 ± 1.8
3	-	-	-	974.2 ± 86.3	1521.4 ± 46.8	-	2265.7 ± 151.0	1250.9 ± 29.7	248.5 ± 7.0
4	-	-	167.5 ± 5.3	2327.0 ± 29.5	3811.5 ± 156.5	78.7 ± 0.4	1014.1 ± 43.6	453.4 ± 41.0	106.8 ± 10.2
5	-	-	-	186.4 ± 14.4	535.4 ± 36.5	-	538.3 ± 10.7	194.6 ± 4.7	47.1 ± 2.4
6	-	319.1 ± 16.2	268.3 ± 3.7	3102.7 ± 331.5	4334.1 ± 132.0	-	1394.7 ± 65.3	463.0 ± 18.1	99.1 ± 8.8
7	-	-	-	1236.2 ± 115.7	1608.8 ± 75.5	-	1885.1 ± 143.8	1596.6 ± 131.9	384.3 ± 12.0
8	-	64.9 ± 2.2	236.4 ± 21.7	4421.3 ± 349.0	4544.3 ± 296.8	-	1129.5 ± 94.7	517.2 ± 1.8	124.9 ± 11.3
9	-	-	-	2085.5 ± 80.1	2123.9 ± 251.4	649.8 ± 51.1	1712.3 ± 157.0	1201.8 ± 16.1	232.0 ± 3.2
10	-	149.2 ± 19.3	-	4182.7 ± 331.0	7044.4 ± 19.8	55.9 ± 0.9	1678.6 ± 156.5	462.8 ± 14.2	146.0 ± 13.6
11	77.8 ± 1.5	18.1 ± 1.0	64.0 ± 0.7	152.6 ± 0.8	1252.2 ± 79.4	78.7 ± 5.0	253.6 ± 11.0	111.0 ± 5.9	25.5 ± 1.6
12	40.0 ± 3.8	-	-	2331.9 ± 61.1	2229 ± 167.1	-	1872.8 ± 44.5	726.5 ± 71.2	224.0 ± 20.3
13	-	-	40.3 ± 0.4	105.9 ± 8.4	1186.4 ± 118.1	-	718.5 ± 19.4	127.3 ± 5.7	36.6 ± 1.3
14	-	-	-	1771.1 ± 74.3	1836.6 ± 113.8	333.7 ± 38.0	2067.5 ± 27.6	697.1 ± 19.4	326.6 ± 15.6
15	-	-	-	2091.5 ± 142.2	4062.5 ± 424.7	-	1835.7 ± 193.9	562.8 ± 98.5	101.3 ± 0.0
16	-	-	-	2213.8 ± 172.1	4888.5 ± 589.3	-	2154.0 ± 120.7	593.3 ± 32.8	100.1 ± 3.2
17	-	-	-	1790.1 ± 140.3	4287.5 ± 135.6	-	1863.2 ± 0.0	724.3 ± 23.4	106.8 ± 4.3
18	-	-	-	2241.4 ± 21.6	4219.5 ± 159.0	-	1953.0 ± 56.1	675.7 ± 37.0	79.5 ± 3.8
19	-	-	-	145.1 ± 11.5	4182.8 ± 193.0	-	1864.2 ± 105.1	607.9 ± 37.0	83.5 ± 1.3
20	-	-	-	1760.6 ± 44.9	4269.9 ± 196.4	-	2249 ± 52.5	851.6 ± 38.4	129.8 ± 14.1

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 19. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan ester ve alkol miktarları ortalama değerleri (µg/kg).

EMP	Etil Hekzanoat	Etil Oktanoat	Etil Dekanoat	Etil 9- Dekanoat	1-Heptanol	1-Hekzanoal	Fenol
1	1166.4 ± 49.7	729.9 ± 50.6	223.1 ± 12.7	13.8 ± 0.3	-*	-	97.1 ± 0.2
2	2252.2 ± 191.0	1504.6 ± 67.0	623.3 ± 19.8	66.1 ± 1.2	14.1 ± 0.5	35.3 ± 01	443.6 ± 32.4
3	737.4 ± 143.2	3117.0 ± 70.6	1876.3 ± 89.8	196.3 ± 15.8	-	-	1196.2 ± 111.9
4	1868.8 ± 162.6	1529.8 ± 26.9	648.8 ± 50.7	68.5 ± 4.3	56.9 ± 4.1	44.9 ± 0.8	489.8 ± 22.9
5	684.2 ± 21.2	1418.2 ± 24.6	486.8 ± 37.0	42.2 ± 1.8	-	-	100.1 ± 6.2
6	2259.8 ± 234.3	1115.3 ± 48.1	751.1 ± 31.6	75.0 ± 2.6	-	79.4 ± 11.2	574.4 ± 18.6
7	629.0 ± 70.5	3298.5 ± 256.2	2815.4 ± 238.3	228.5 ± 2.2	-	-	1112.7 ± 101.3
8	2066.8 ± 17.6	1556.1 ± 9.7	696.1 ± 6.2	84.8 ± 5.1	-	-	830.1 ± 104.7
9	467.8 ± 8.8	2543.1 ± 51.2	2032.1 ± 58.3	203.6 ± 6.5	-	-	914.7 ± 49.6
10	2251.3 ± 154.0	1139.7 ± 81.4	499.3 ± 28.8	59.6 ± 2.1	-	91.4 ± 1.2	363.6 ± 34.3
11	1309.1 ± 46.5	794.3 ± 44.7	231.3 ± 0.0	33.1 ± 1.3	-	-	71.9 ± 5.1
12	1308.2 ± 110.7	2778.4 ± 2.2	1325.3 ± 1.2	147.6 ± 9.9	-	-	834.4 ± 27.2
13	868.1 ± 34.1	697.3 ± 16.3	578.3 ± 28.6	66.8 ± 0.6	-	-	463.8 ± 5.5
14	1288.0 ± 90.6	3536.0 ± 83.1	1709.0 ± 131.9	147.2 ± 9.5	19.4 ± 0.8	-	843.6 ± 42.2
15	2621.0 ± 75.6	2608.0 ± 266.4	1265.1 ± 5.4	131.6 ± 0.0	38.7 ± 2.2	-	1205.1 ± 116.3
16	2864.7 ± 384.2	2202.3 ± 418.2	1077.0 ± 38.0	104.4 ± 8.8	45.6 ± 7.5	-	1113.9 ± 31.3
17	2387.6 ± 252.0	1980.6 ± 166.3	1498.8 ± 171.5	99.9 ± 0.5	40.8 ± 0.4	-	1071.8 ± 77.6
18	2229.2 ± 19.2	2172.0 ± 151.8	1092.1 ± 74.3	115.4 ± 2.0	-	-	983.4 ± 91.9
19	3111.9 ± 92.8	1930.8 ± 36.2	1384.4 ± 140.0	115.2 ± 0.2	263.7 ± 10.2	-	944 ± 8.1
20	2433.5 ± 123.2	2183.6 ± 26.7	1510.7 ± 25.7	162.1 ± 1.6	99.9 ± 6.6	-	1144.2 ± 51.0

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 20. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinde tanımlanan lakton miktarları ortalama değerleri (µg/kg).

EMP	Gama-Oktalakton	Delta- Oktalakton	Gama-Dekalakton	Gama-Hegzalakton	Delta-Hekzalakton
1	-	-	-	11.2 ± 0.1	-
2	76.9 ± 6.1	25.1 ± 1.1	25.1 ± 1.1	53.5	41.3 ± 0.1
3	253.1 ± 11.9	65.3 ± 0.3	65.3 ± 0.3	218.6 ± 9.7	95.6 ± 1.8
4	96.8 ± 6.5	-	-	0.0 ± 0.0	-
5	0.0 ± 0.0	-	-	15.2 ± 1.2	-
6	95.1 ± 8.0	36.6 ± 1.7	36.6 ± 1.7	78.1 ± 8.0	66.9 ± 2.4
7	244.4 ± 8.4	57.2 ± 1.0	57.2 ± 1.0	227.9 ± 4.9	94.9 ± 4.4
8	94.4 ± 2.8	32.0 ± 1.2	32.0 ± 1.2	108.5 ± 2.0	77.1 ± 3.7
9	181.4 ± 10.3	37.5 ± 0.7	37.5 ± 0.7	173.3 ± 3.2	84.2 ± 0.9
10	74.8 ± 2.8	27.6 ± 0.8	27.6 ± 0.8	68.6 ± 1.7	38.1 ± 0.4
11	-	-	-	17.1 ± 1.6	12.3 ± 1.1
12	186.9 ± 0.9	37.4 ± 0.6	37.4 ± 0.6	150.2 ± 2.3	51.8 ± 1.4
13	-	-	-	11.8 ± 0.6	9.4 ± 1.2
14	224.2 ± 2.0	55.1 ± 1.4	55.1 ± 1.4	156.4 ± 0.7	61.4 ± 0.8
15	223.8 ± 19.4	148.4 ± 1.5	148.4 ± 1.5	176.9 ± 17.4	-
16	288.2 ± 12.0	69.9 ± 6.0	69.9 ± 6.0	206.0 ± 8.6	136.0 ± 1.6
17	274.3 ± 12.0	65.4 ± 3.0	65.4 ± 3.0	227.9 ± 0.4	120.3 ± 1.6
18	253.9 ± 6.6	59.9 ± 1.3	59.9 ± 1.3	173.2 ± 1.5	109.0 ± 1.6
19	247.3 ± 21.1	60.2 ± 1.3	60.2 ± 1.3	199.5 ± 1.2	110.4 ± 1.9
20	275.2 ± 15.8	54.3 ± 1.4	54.3 ± 1.4	202.6 ± 5.5	109.6 ± 1.9

Not: "-" ifadesi bileşiğin saptanamadığını göstermektedir.

Tablo Ek 21. 2.Aşamada üretilen enzim modifiye peynir (EMP) örneklerinin duyusal analiz sonuçları.

EMP	Acı Tat	Ransit Lezzet	Yoğun Lezzet	Beyaz Peynire Benzerlik
1	9.0 ± 1.8	5.8 ± 1.9	7.0 ± 1.4	8.7 ± 1.7
2	2.5 ± 1.0	2.7 ± 1.4	5.3 ± 1.4	4.3 ± 2.0
3	12.7 ± 1.3	94 ± 1.3	10.7 ± 1.8	7.8 ± 1.6
4	7.8 ± 1.3	5.4 ± 1.8	6.7 ± 1.7	6.0 ± 1.6
5	11.5 ± 1.9	8.2 ± 1.7	10.1 ± 1.7	8.1 ± 1.6
6	6.9 ± 1.1	4.7 ± 1.5	5.8 ± 2.2	6.0 ± 1.9
7	10.7 ± 2.0	9.0 ± 1.9	10.1 ± 1.8	7.8 ± 1.9
8	5.4 ± 1.6	4.8 ± 3.0	7.7 ± 2.2	7.6 ± 2.3
9	9.2 ± 1.1	8.3 ± 1.0	9.2 ± 1.3	8.6 ± 0.6
10	2.2 ± 1.4	1.4 ± 1.0	2.3 ± 1.0	5.7 ± 2.7
11	8.2 ± 1.2	7.0 ± 1.3	7.8 ± 1.8	8.9 ± 1.3
12	8.7 ± 1.5	7.4 ± 0.7	7.7 ± 1.5	9.8 ± 1.8
13	9.0 ± 1.5	7.3 ± 2.3	8.5 ± 1.9	6.6 ± 1.8
14	6.6 ± 1.7	8.9 ± 1.7	9.1 ± 1.8	7.6 ± 1.6
15	10.8 ± 1.8	7.7 ± 1.6	10.6 ± 1.5	9.6 ± 2.1
16	10.2 ± 1.6	7.3 ± 3.3	10.6 ± 1.4	10.4 ± 1.8
17	9.8 ± 1.7	7.8 ± 3.3	10.4 ± 1.5	10.0 ± 2.0
18	10.4 ± 2.6	6.8 ± 0.7	9.8 ± 1.3	10.2 ± 2.0
19	10.5 ± 2.6	7.7 ± 2.4	10.9 ± 1.9	9.8 ± 1.2
20	10.3 ± 2.3	7.8 ± 0.9	9.5 ± 2.1	9.3 ± 2.0

Tablo Ek 22.Optimizasyon aşamasında, ANOVA analizi sonucu oluşturulan modellerin p-değerleri ve model katsayıları.

Kaynak	TCA-ÇA/SÇA		SAI		TSYA		TUSYA		Toplam Uçucu		Benzerlik	
	p- değeri	Katsayı	p- değeri	Katsayı	p- değeri	Katsayı	p- değeri	Katsayı	p- değeri	Katsayı	p- değeri	Katsayı
Model	< 0.0001	-240,0880	< 0.0001	-185,1387	< 0.0001	-14825,7816	< 0.0001	31,2301	< 0.0001	-1296,6383	< 0.0001	-11,8919
A-Sıcaklık	< 0.0001	10,2993	0.0726	6,6861	< 0.0001	1327,6885	< 0.0001	-0,7050	0.0029	32,0025	< 0.0001	0,8506
B-Karıştırma Hızı	< 0.0001	1,2430	0.0599	0,4180	0.0049	88,6818	0.0139	-0,0238	< 0.0001	6,9611	0.0819	-0,0179
C-Süre	0.0012	1,1162	< 0.0001	1,1107	0.0003	350,4286	0.0002	-0,0824	0.0065	16,6590	0.0439	0,3796
AB	< 0.0001	-0,0167	< 0.0001	-0,0064	0.0839	1,6865	0.0044	0,0010	0.0012	-0,0694	0.0100	0,0011
AC	0.2336	0,0091	0.2165	-0,0073	0.1730	-7,1662	0.0851	0,0030	0.8825	0,0131	0.0240	0,0050
BC	0.0008	-0,0051	0.9642	0,0000	0.8728	0,1204	0.1696	-0,0003	0.8768	-0,0021	0.7440	0,0001
A ²	< 0.0001	-0,0955	< 0.0001	-0,0602	0.0007	-20,8578	0.0513	0,0031	0.0052	-0,2751	< 0.0001	-0,0141
B ²	< 0.0001	-0,0014	0.0066	-0,0004	< 0.0001	-0,6324	0.5142	0,0000	0.0002	-0,0100	0.0304	-0,0001
C ²	0.0705	-0,0090	0.0321	-0,0085	0.4680	2,2872	0.3258	0,0010	0.0009	-0,2487	< 0.0001	-0,0098
<i>Lack of Fit</i>	0.2276		0.6568		0.4102		0.7980		0.2371		0.2128	
R ²	0,9857		0.9562		0.9551		0.9511		0.9399		0.9537	
Adj R ²	0,9728		0.9306		0.9345		0.9285		0.9049		0.9200	
Pred R ²	0,9196		0.8730		0.8673		0.8796		0.7591		0.7895	
Adeq Precision	25,4543		18.3622		22.2570		25.8596		16.3947		15.9534	

NOT: "Katsayı" değerleri oluşturulan modelin gerçek katsayısını vermektedir.

Şekil Ek 1. Duyusal analizde kullanılan değerlendirme formu.

EMP- DUYUSAL DEĞERLENDİRME

İsim: _____ Kod: _____ Tarih: _____

Lütfen size sunulan EMP örneğini tadarak aşağıdaki özellikler açısından değerlendiriniz. Örnek ile ilgili yorumlarınızı da belirtiniz. Teşekkürler.

ACI TAT;

Yok |-----| Aşırı

RANSİT LEZZET;

Yok |-----| Aşırı

LEZZET YOĞUNLUĞU;

Yok |-----| Aşırı

OLGUN BEYAZ PEYNİR LEZZETİ;

Yok |-----| Çok benzer

YORUMLARINIZ;-----
