



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BAZI ÜRETİM PARAMETRELERİNİN KEÇİ PEYNİRİNİN
PEPTİT PROFİLİ VE *IN VITRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

HASAN UZKUÇ

Tez Danışmanı

PROF. DR. YONCA KARAGÜL YÜCEER

ÇANAKKALE – 2023



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**BAZI ÜRETİM PARAMETRELERİNİN KEÇİ PEYNİRİNİN PEPTİT PROFİLİ
VE *IN VITRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

HASAN UZKUÇ

Tez Danışmanı

PROF. DR. YONCA KARAGÜL YÜCEER

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir.

Proje No: FBA-2021-3585

ÇANAKKALE – 2023



T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



Hasan UZKUÇ tarafından Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER yönetiminde hazırlanan ve **19/06/2023** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Bazı üretim parametrelerinin keçi peynirinin peptit profili ve *in vitro* biyoerişilebilirliği üzerine etkilerinin belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

.....

(Danışman)

Prof. Dr. Emin YILMAZ

.....

Doç. Dr. Sercan KARAV

.....

Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU

.....

Prof. Dr. Nurcan KOCA

.....

Tez No : 10215969

Tez Savunma Tarihi : 19/06/2023

.....
Dr. Öğr. Üyesi İsmail Onur TUNÇ
Enstitü Müdürü V.

.././2023

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Hasan UZKUÇ

19/06/2023

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın gerçekleştirilmesinde ve lisansüstü eğitim hayatım boyunca her zaman destek olan, hayat görüşünü, bilimsel çalışma anlayışını, iş disiplini ve rehberliğini örnek aldığım, tez danışmanım ve çok değerli hocam Sayın Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER'e,

Jüri üyeleri Sayın Prof. Dr. Emin YILMAZ, Sayın Doç. Dr. Sercan KARAV, Sayın Prof. Dr. Ali Adnan HAYALOĞLU, Sayın Prof. Dr. Nurcan KOCA'ya

Süt tedarikine destek olan İmbroz Ltd. Şti. ve peynir üretimi için işletme imkanlarını paylaşan Ekozey AŞ. yöneticilerine,

Peynir üretiminde yardımcı olan değerli eski mesai arkadaşlarım Ercan KESKİN, Feryal GÜNGÖR KESKİN ve Nihal YILMAZ'a,

Duyusal değerlendirme ve laboratuvar çalışmalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU ve değerli arkadaşım Gıda Yüksek Mühendisi Mehmet Mert BERBER'e,

Hayatım boyunca her daim bana destek olan kıymetli aile bireylerim annem Fatma UZKUÇ ve ablam Esmâ TAŞ'a,

Manevi desteğini hep hissettiğim canım Babam merhum Raif UZKUÇ'a,

Yol arkadaşım ve en büyük destekçim, sevgili eşim Arş. Gör. Nesrin Merve ÇELEBİ UZKUÇ'a

Doktora eğitimim sırasında dünyaya gelip hayatıma anlam katan canım oğlum Alp UZKUÇ'a,

Teşekkürü borç bilirim.

Hasan UZKUÇ
Çanakkale, 2023

ÖZET

BAZI ÜRETİM PARAMETRELERİNİN KEÇİ PEYNİRİNİN PEPTİT PROFİLİ VE *IN VITRO* BİYOERİŞİLEBİLİRLİĞİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Hasan UZKUÇ

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

19/06/2023, 138

Bu tezde; ısıtma işlemi, starter kültür ve bitkisel pıhtılaştırıcının keçi peynirinin peptit profili ve biyoaktif peptitlerinin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla; çiğ ve ısıtma işlemi uygulanmış keçi sütleri starter kültür ilave edilerek ve edilmeksizin pıhtılaştırılmıştır. Süt pıhtılaştırmada buzağı şirdeni ve *Cynara cardunculus* L. kaynaklı pıhtılaştırıcılardan yararlanılmıştır. Üretilen peynirler 90 gün süreyle buzdolabı koşullarında depolanıp, 1, 30, 60 ve 90. depolama günlerinde kimyasal, duyu ve mikrobiyolojik özellikler ile proteoliz seviyeleri ve peptit profilleri belirlenmiştir. Peynirlere *in vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu uygulanmış ve örneklerin küçük molekül ağırlıklı peptit (< 3 kDa) fraksiyonlarının antioksidan ve ACE inhibitör aktiviteleri belirlenmiştir. Farklı pıhtılaştırıcılar kullanılarak üretilen peynirler arasında kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu özellikler ile proteoliz seviyeleri açısından önemli fark bulunmamıştır, ancak ısıtma işlemi ve starter kültür ilavesinin etkisi, peynir özelliklerinin çoğunu etkilemiştir. ABTS bağlama bakımından depolamanın 1. gününde, CUPRAC değerleri bakımından ise tüm depolama günlerinde belirlenen antioksidan aktiviteler starter kültür kullanılmadan üretilen çiğ süt peynirlerinde daha yüksek bulunmuştur. ACE inhibitör aktiviteler bakımından ısıtma işlemi uygulanmış sütlerden starter kültür kullanılmadan üretilen peynirlerin düşük değerlere sahip olduğu, 30 gün ve daha uzun süre depolanmış peynirler arasında starter kullanılmadan üretilen çiğ süt peynirlerinin daha yüksek değerlere sahip olduğu bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynirlerde 90 günlük

depolama süresince ACE inhibitör aktivitelerde, biyoaktif peptitlerin salınımı ve parçalanmasıyla ilişkilendirilen, artış ve azalışlar olduğu belirlenmiştir.

Sonuç olarak peynirlerin belirlenen özellikleri üzerine ısı işlem ve starter kültürün farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımına kıyasla daha etkili olduğu bulunmuştur. Buna bağlı olarak keçi peyniri üretiminde pıhtılaştırıcı enzim olarak *C. cardunculus* L. proteazının hayvansal rennete alternatif olarak kullanılabilceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Keçi peyniri, Biyoaktif peptit, Bitkisel pıhtılaştırıcı, *In vitro* sindirim, Biyoerişilebilirlik

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF CERTAIN PRODUCTION PARAMETERS ON PEPTIDE PROFILE AND *IN VITRO* BIOACCESSIBILITY OF GOAT CHEESE

Hasan UZKUÇ

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Doctoral Dissertation in Food Engineering

Advisor: Prof. Dr. Yonca KARAGÜL YÜCEER

06/19/2023, 138

In this thesis; the effects of heat treatment, starter culture, and plant coagulant on the peptide profile of goat cheese and the *in vitro* bioaccessibility of its bioactive peptides were investigated. For this purpose, raw and heat-treated goat milk was coagulated without adding starter culture and with adding starter culture. Coagulants originating from the abomasum of calf and *Cynara cardunculus* L. were used in milk coagulation. Cheeses produced were stored in refrigerator conditions for 90 days, and chemical, sensory, and microbiological properties, proteolysis levels, and peptide profiles were determined on the 1st, 30th, 60th, and 90th storage days. Cheeses were digested by *in vitro* gastrointestinal digestion simulation, and antioxidant and ACE inhibitory activities of small molecular weight peptide (< 3 kDa) fractions of samples were determined. There were no significant differences in chemical, microbiological, and sensory properties and proteolysis levels between cheeses produced using different coagulants, but the interaction of heat treatment and starter culture addition affected most of the cheese properties. Antioxidant activities determined on the 1st day of storage in terms of ABTS binding and in all storage days in terms of CUPRAC values were found to be higher in raw milk starter-free cheeses. In terms of ACE inhibitor activities, cheeses produced without using starter from heat-treated milk were found to have low values, but raw milk cheeses produced without the addition of starter culture, among cheeses stored for 30 days or longer, were found to have higher values. It was determined that there were increases and decreases in ACE inhibitory activities associated with the release and

degradation of bioactive peptides during 90 days of storage in cheeses produced from raw milk.

Consequently, it was determined that heat treatment and starter culture were more effective on the determined properties of cheeses compared to the use of different coagulant enzymes. Accordingly, *C. cardunculus* L. protease could be used as an alternative to animal rennet in the production of goat cheese.

Keywords: Goat cheese, Bioactive peptide, Plant coagulant, *In vitro* digestion, Bioaccessibility

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
JÜRİ ONAY SAYFASI.....	i
ETİK BEYAN.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR.....	xi
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xvi

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

1

İKİNCİ BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

6

2.1. Biyoaktif Peptit Kaynağı Olarak Keçi Sütü.....	6
2.1.1. ACE İnhibitör Peptitler.....	9
2.1.2. Antioksidan Peptitler.....	12
2.2. Peynir Üretim Parametrelerinin Biyoaktif Peptitler Üzerine Etkisi.....	14
2.2.1. Isıl İşlem.....	15
2.2.2. Starter Kültür.....	17
2.2.3. Sütün Pıhtılaşması.....	18
2.2.4. Depolama ve Olgunlaştırma.....	21
2.3. Keçi Peynirinde ACE İnhibitör ve Antioksidan Peptitler.....	24

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL YÖNTEM

31

3.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Hammaddeler.....	31
--	----

3.1.1. Süt.....	31
3.1.2. Pıhtılaştırıcı Enzim.....	31
3.1.3. Starter Kültür.....	31
3.2. Peynir Üretimi.....	31
3.3. Peynir Randımanlarının Belirlenmesi.....	32
3.4. Peynir Bileşim Analizleri.....	34
3.4.1. Kurumadde Analizi.....	34
3.4.2. Yağ Analizi.....	34
3.4.3. Toplam Azotlu Madde ve Protein Analizi.....	35
3.4.4. Tuz Analizi.....	35
3.4.5. Kül Analizi.....	36
3.5. pH Ölçümü ve Titrasyon Asitliği Analizi.....	36
3.5.1. pH Ölçümü.....	36
3.5.2. Titrasyon Asitliği Analizi.....	37
3.6. Suda Çözünen Azotlu Maddelerin Ekstraksiyonu.....	37
3.7. Peynir Proteoliz Analizleri.....	37
3.7.1. Suda Çözünen Azot Analizi.....	37
3.7.2. Toplam Serbest Amino Asit Analizi.....	38
3.7.3. Suda Çözünmeyen Fraksiyonların Urea-PAGE Analizi.....	38
3.8. RP-HPLC ile Peptit Profili Analizi.....	38
3.9. Mikrobiyolojik Analizler.....	39
3.9.1. Mikrobiyolojik Analizler İçin Örnek Hazırlama.....	39
3.9.2. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı.....	39
3.9.3. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı.....	40
3.9.4. Koliform Grubu Bakteri Sayımı.....	40
3.9.5. Maya ve Küf Sayımı.....	40
3.10. Duyusal Değerlendirme.....	40
3.11. SPME-GC/MS ile Uçucu Bileşen Analizi.....	41
3.12. <i>In vitro</i> Gastrointestinal Sindirim Simülasyonu.....	42
3.13. Küçük Molekül Ağırlıklı (< 3 kDa) Peptitlerin Ultrafiltrasyonu.....	43
3.14. ACE İnhibitör Aktivite Analizi.....	43
3.15. Antioksidan Aktivite Analizleri.....	44
3.15.1. ABTS Radikal Giderme Yöntemi.....	44
3.15.2. CUPRAC Yöntemi.....	45

3.16. İstatistiksel Analizler.....	45
------------------------------------	----

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI 47

4.1. Randıman ve Peynir Bileşim Değerleri.....	47
4.2. pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri.....	55
4.3. Toplam Azot, Suda Çözünür Azot ve Toplam Serbest Amino Asit Oranları.....	59
4.4. Urea-PAGE Sonuçları.....	64
4.5. RP-HPLC Peptit Profil Analizi Sonuçları.....	67
4.6. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları.....	72
4.7. Duyusal Değerlendirme Sonuçları.....	76
4.8. Uçucu Bileşen Sonuçları.....	81
4.9. ACE İnhibitör Aktivite Sonuçları.....	88
4.10. Antioksidan Aktivite Sonuçları.....	93

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER 104

KAYNAKÇA.....	108
EKLER.....	I
EK 1 Peynir Üretim Resimleri.....	II
EK 2 Lösün Standart Eğrisi.....	IX
EK 3 RP-HPLC Peptit Profil Analizinde Kullanılan Standart Kromatogramı.....	X
EK 4 Duyusal Değerlendirme Formu.....	XI
EK 5 <i>In Vitro</i> Sindirim Sıvıları ve Sindirim Enzimlerinin Hazırlanışı.....	XII
EK 6 Troloks Standart Eğrisi 1.....	XIII
EK 7 Troloks Standart Eğrisi 2.....	XIV
ÖZGEÇMİŞ.....	XV

SİMGELER VE KISALTMALAR

R	Çiğ süttten üretilen peynir grubu
H	Isıl işlem uygulanmış süttten üretilen peynir grubu
RF	Çiğ süt + starter ilavesiz peynir grubu
RS	Çiğ süt + starter ilaveli peynir grubu
HF	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilavesiz peynir grubu
HS	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilaveli peynir grubu
R1	Çiğ süt + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir grubu
R2	Çiğ süt + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir grubu
H1	Isıl işlem uygulanmış süt + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir grubu
H2	Isıl işlem uygulanmış süt + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir grubu
RF1	Çiğ süt + starter ilavesiz + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
RF2	Çiğ süt + starter ilavesiz + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
RS1	Çiğ süt + starter ilaveli + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
RS2	Çiğ süt + starter ilaveli + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
HF1	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilavesiz + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
HF2	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilavesiz + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
HS1	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilaveli + bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
HS2	Isıl işlem uygulanmış süt + starter ilaveli + hayvansal pıhtılaştırıcı ile üretilen peynir
%	Yüzde oran
KM	Kurumadde
TA	Toplam azot
SÇA	Suda çözünen azot
TFAA	Toplam serbest amino asit
Urea-PAGE	Üre poliakrilamid jel elektroforezi
SPME	Katı faz mikroekstraksiyon

GC/MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
LA	Laktik asit
LAB	Laktik asit bakterileri
<i>Lb.</i>	<i>Lactobacillus</i>
<i>Lc.</i>	<i>Lactococcus</i>
<i>S.</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>C.</i>	<i>Cynara</i>
S.H	Standart hata
TMAB	Toplam mezofilik aerobik bakteri
NSLAB	Starter olmayan laktik asit bakterileri
kob	Koloni oluşturan birim
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim
EC (numarası)	Enzim komisyonu numarası
IC50	Yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu
ABTS	2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) radikali
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
AAE	Askorbik asit eşdeğeri antioksidan kapasite
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeyen antioksidan kapasite
DPPH	1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil radikali
FRAP	Ferrik iyon indirgeme kapasitesi
MDS	Çok boyutlu ölçekleme analizi
mM	Milimolar
L	Litre
mL	Mililitre
μ L	Mikrolitre
U	Enzim birimi
IMCU	Uluslararası süt pıhtılaştırma aktivitesi
Pa	Paskal
dk	Dakika
sa	Saat
s	Saniye
kDa	Kilodalton
MWCO	Moleküler ağırlık ayırma sınırı

N	Normalite
M	Molarite
RP-HPLC	Ters faz-yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HHL	hipüril–histidin–lösin
mm	Milimetre
nm	Nanometre
rpm	Dakikadaki devir sayısı
TFA	Trifloroasetik asit
RI	Alıkonma indisi
Amu	Atomik kütle birimi
Na-CN	Sodyum kazeinat
2M3H	2-metil-3-heptanon
2MVA	2-metilvalerik asit
MALDI-TOF	Matris destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyonu
UV-VIS	Ultraviyole görünür ışık
PBS	Tuzlu fosfat tampon çözeltisi
PAS	Peyniraltı suyu

TABLolar DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	Depolama süresince peynirlerde belirlenen bazı bileşim oranları ve randıman sonuçları.....	48
Tablo 2	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği bileşim özellikleri.....	51
Tablo 3	Depolama süresince peynirlerde belirlenen pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	57
Tablo 4	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının pH ve titrasyon asitliği değerleri.....	59
Tablo 5	Depolama boyunca peynirlerde belirlenen toplam azot, suda çözünür azot oranları ve toplam serbest amino asit miktarları....	61
Tablo 6	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının toplam azot, suda çözünür azot oranları ve toplam serbest amino asit miktarları.....	63
Tablo 7	Peynir üretiminde kullanılan süt gruplarının mikroorganizma sayıları.....	73
Tablo 8	Peynirlerde depolama süresince belirlenen mikroorganizma sayıları.....	74
Tablo 9	Peynirlerin depolama süresince belirlenen duyuşal değerlendirme sonuçları.....	77
Tablo 10	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının duyuşal değerlendirme sonuçları.....	78
Tablo 11	1 ve 90 gün depolanmış peynirlerde belirlenen uçucu bileşen miktarları.....	83
Tablo 12	Depolama süresince <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen ACE inhibitör aktivite değerleri.....	90
Tablo 13	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynir gruplarının % ACE inhibitör aktivite sonuçları.....	91
Tablo 14	Depolama süresince <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları.....	95

Tablo 15	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları.....	97
Tablo 16	Isıl işlem uygulaması ve enzim kaynağının etki ettiği <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları.....	99
Tablo 17	Depolama süresince <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen antioksidan kapasite (CUPRAC) sonuçları.....	101
Tablo 18	Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği <i>in vitro</i> sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (CUPRAC) sonuçları.....	102



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1	Peynir üretim akış şeması.....	33
Şekil 2	<i>In vitro</i> gastrointestinal sindirim simülasyonu akış diyagramı.....	42
Şekil 3	Santrifüj ekipmanı ve ultrafiltrasyon akış şeması.....	43
Şekil 4	1 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü.....	65
Şekil 5	30 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü.....	66
Şekil 6	60 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü.....	66
Şekil 7	90 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü.....	67
Şekil 8	1 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri.....	68
Şekil 9	30 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri.....	69
Şekil 10	60 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri.....	69
Şekil 11	90 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri.....	70
Şekil 12	Eşlenmiş tercih testi sonuçları.....	80
Şekil 13	Peynirlerin uçucu bileşen analizi sonuçlarına göre geometrik dağılımı.....	88

BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ

Besleyici değeri ve sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle tüketicilerin fonksiyonel gıdalara olan ilgisi artmaktadır. Diyetimizin önemli bir parçası olan süt ve süt ürünleri kalsiyum, folik asit, B6 ve B12 vitaminleri, konjuge linoleik asit ve biyoaktif peptitler gibi önemli besin elementleri içeren, bağışıklık sistemini koruyucu, biyolojik olarak aktif bileşenlerin kaynağı olan bir gıdadır (Clare ve Swaisgood, 2000). Sütün besin değerinin önemi yanında içerdiği peptitlerin amino asit içeriği ve dizilimine bağlı olarak çeşitli biyolojik fonksiyonlara sahip olabileceği belirlenmiştir (Pihlanto-Leppala, 2001). Peptitlerin biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi ve vücut fonksiyonları üzerine olumlu etkilerinin ortaya konmasıyla biyoaktif peptitlerin en önemli kaynaklarından olan süt ve süt ürünleri üzerine yapılan araştırmalar yoğunlaşmıştır (Choi vd., 2012).

Biyoaktif peptitler vücut fonksiyonları üzerinde pozitif etkiye sahip olan ve dolayısıyla insan sağlığını geliştirici rolü bulunan, spesifik protein parçacıkları olarak tanımlanmaktadır (Kitts ve Weiler, 2003). Biyoaktif peptitler polipeptit zinciri içerisinde inaktif halde bulunan, kazeinomakropeptit (64 amino asit) dışında 2-20 amino asit içeren kısa zincirli bir yapıya sahip peptit dizileridir (Hartmann ve Meisel, 2007). Biyoaktif peptitler gıdalara uygulanan proses işlemleri sırasında fiziksel veya kimyasal etkilerle, fermantasyon veya sindirim esnasında enzimatik aktivite sonucu açığa çıkmaktadır (Pihlanto-Leppala, 2001; Smacchi ve Gobbetti, 2000). Bitkisel ve hayvansal proteinler potansiyel biyoaktif diziler içermesine rağmen, süt proteinleri biyoaktif peptitler için temel kaynaktır (Pihlanto-Leppala, 2001). Sütün temel protein fraksiyonları; kazein, α -laktalbumin, β -laktoglobulin, immüoglobulin, laktoferrin, proteoz pepton fraksiyonları (ısıya dayanıklı, asitte çözünebilen fosfoglikoproteinler) ve diğer peyniraltı suyu proteinleri olan transferrin ve serum albüminidir. Bu protein fraksiyonlarının hidroliziyle ortaya çıkan biyoaktif peptitler; kardiyovasküler sistem (antihipertansif, antioksidatif, antitrombotik, hipokolesterolemik), sinir sistemi (opioid, agonistik, antagonistik etki), gastrointestinal sistem (mineral bağlama, iştah kesici etki, antimikrobiyel etki) ve bağışıklık sistemi (sitomodülatör, immünomodülatör ve anti-mikrobiyel etki) üzerinde olumlu etkilere sahiptir (Guo vd., 2009; Korhonen ve Pihlanto, 2006).

Biyoaktif peptitler süt, yoğurt, kefir ve peynir gibi çoğu süt ürününden izole edilmekte, fermentasyon sırasında oluşan veya katkı olarak eklenen biyoaktif peptitleri içeren çeşitli fonksiyonel fermente süt içecekleri pazarlanmaktadır (Hafeez vd., 2014; Korhonen ve Pihlanto, 2006). Süt rnleri arasında besin içeriği ve sağlık yararları nedeniyle keçi sütü ve ürünlerine olan ilgi giderek artmaktadır (Hodgkinson vd., 2018). Keçi sütü, inek sütüne kıyasla daha az alerjenik protein fraksiyonu, sindirilebilir daha fazla protein ve lipit fraksiyonu içermesi, kaliteli mineral bileşimi ve biyoyararlığı ile öne çıkmaktadır (Ceballos vd., 2013). Bileşim yönünden sahip olduğu bu avantajlarla keçi sütünün insan beslenmesinde önemli bir yeri bulunmaktadır (Barlowska vd., 2018). Keçi sütü ve keçi sütü ürünleri fonksiyonel özelliklere sahip biyoaktif peptit sekansları için potansiyel kaynaktır (Park vd., 2017). Keçi sütü, fermente gıdalar, fonksiyonel gıdalar ve kozmetik gibi çeşitli ürünlere dnstrlmekle beraber keçi sütünün en etkili değerlendirme ve saklama yöntemlerinden biri kuşkusuz peynir üretimidir. Süt rnleri arasında peynir, yüksek protein içeriği, üretiminde kullanılan enzim kaynaklarının çeşitliliği ve olgunlaşma boyunca devam eden proteoliz nedeniyle süt kaynaklı biyoaktif peptitlerin doğal ve önemli bir kaynağıdır (Park vd., 2007). Dünyada 1000'den fazla peynir çeşidi olduğu bilinmektedir (Fox vd., 2017a). Peynir genel olarak, birkaç üretim girdisi (süt, peynir mayası, mikroorganizmalar, tuz) ve prosesin (ıslı işlem, süt pıhtılaştırma, teleme işleme, olgunlaştırma) kombinasyonları ile çeşitlendirilebilmektedir. Üretimde kullanılan yöntemlere bağlı olarak gerçekleşen çeşitli biyoteknolojik süreçlerin sonucunda peynirler karakteristik tat, aroma ve tekstür kazanmaktadır (Hassan vd., 2013). Glikoliz, lipoliz, proteoliz gibi başlıca biyokimyasal değişiklikler ve bunların metabolitleri peynirin karakterize edilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu biyokimyasal olaylardan proteoliz, peynirin olgunlaşması sırasında meydana gelen en önemli reaksiyondur. Olgunlaşma sırasında, rennet enzimi proteinazlarının, starter bakteri ve ikincil mikroflora peptidazları ve endojen süt enzimlerinin etkisiyle çeşitli peptitler ve amino asitler açığa çıkmakta ve ürün özellikleri şekillenmektedir (Pino vd., 2009a). Aynı zamanda proteoliz ile açığa çıkan biyoaktif peptitler peynire fonksiyonel özellikler kazandırmakta ve besleyici değerini arttırmaktadır (Choi vd., 2012). Peynir retim sürecinde kontrolsüz bir şekilde gelişen hidroliz ürünlerinin ise biyoaktivitenin azalması, acı peptitlerin açığa çıkması gibi olumsuz bazı reaksiyon ürünlerinin oluşması söz konusudur. Bu nedenle peynirin olgunlaştırılmasında biyokimyasal süreçlerin optimize edilmesi önem kazanmaktadır. Peynir yapımında büyük bir öneme sahip olan olgunlaşma, tam anlamıyla öngörülemeyen ve kontrol edilemeyen bir proses olsa da

(Sihufe vd., 2010), ısıl işlem, starter kültür ilavesi, depolama koşulları gibi bazı üretim parametreleri kontrol edildiğinde, proteolizin ve buna bağlı olarak peynirlerin olgunlaşma düzeyleri ve biyoaktif özellikleri yönetilebilir.

Peynir üretim sürecinde açığa çıkan peptitlerin fonksiyonel özellikleri, peptitlerin gastrointestinal sindirimi esnasında uğrayacağı değişikliklere ve sonrasındaki emilimine bağlıdır (Hernandez-Ledesma vd., 2004). Gıdalarda biyoaktif peptitlerin varlığı, bu peptitlerin sindirildikten sonraki fizyolojik etkisini garanti etmediğinden, peynir tüketimi sonucunda oluşacak potansiyel sağlık yararlarını aydınlatmak için *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar gereklidir. Buna bağlı olarak üretim sürecini tamamlanmış peynirin insan sağlığı açısından biyoyararlı olabilmesi için asıl önemli aşama, tüketimi sonrası uğrayacağı sindirim sırasında maruz kalacağı enzimatik aktivite sonucu, içerdiği biyoaktif özellik gösteren fragmentlerin ortaya çıkmasıdır. Bundan dolayı besinlerin biyoyararlanımlarını değerlendirmeyi amaçlayan *in vivo* sindirim çalışmaları keçi peynirlerinin biyoyararlılığının belirlenmesinde elzem adımlarından biridir. Ancak *in vivo* sindirim uygulamaları, yüksek analiz maliyeti ve uygulama zorluğu gibi faktörlerle sınırlanmaktadır. Çoğu durumda *in vivo* koşulları taklit etmek için hızlı ve basit bir yol sunan *in vitro* sindirilebilirlik testleri tercih edilmektedir (Parrot vd., 2003). Son 20 yıldan bu yana, özellikle biyoaktif peptitlerin mevcudiyeti açısından, keçi sütü proteinlerinin ve bunların fraksiyonlarının araştırılmasına odaklanan çok az çalışma vardır. Bu nedenle, temel olarak biyoaktif peptitler alanında, keçi sütü ve ürünlerinde hala keşfedilmemiş bilgiler olduğu düşünülmektedir (Guha vd., 2021). Literatürde fermente keçi sütü, fermente keçi sütü ürünleri ve sınırlı sayıda çalışmada keçi peynirinin peptit profili tanımlanmış ve bu peptitlerin ACE inhibitör ve antioksidan aktiviteleri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Süt proteini orijinli fazla sayıda peptit belirlenmesine rağmen bu peptitlerin çok azının *in vitro* koşullarda kanıtlanmış antihipertansif özellik gösterdiği bildirilmiştir (Li vd., 2004; Takano, 2002). Bundan dolayı keçi peynirlerinin antioksidan ve ACE inhibitörü aktiviteleri üzerine yapılacak araştırmaların *in vitro* gastrointestinal sindirim koşulları altında yapılarak peptitlerin biyoerişilebilirliklerinin ortaya konması önem taşımaktadır.

Beslenmenin temelindeki süt ve süt ürünleri arasında keçi sütü ve ürünleri toplum tarafından sağlıklı yaşamın önemli öğelerinden biri olarak kabul edilmektedir. Bilimsel çalışmalarla biyoaktif bileşenlerin insan sağlığına olumlu etkilerinin ortaya konması, en

önemli biyoaktif peptit kaynağı olan süt ürünleri üzerinde araştırmaların artmasına neden olmuş ve hatta süt kaynaklı destek gıdaların üretiminin önünü açmıştır. Üretim parametrelerindeki çeşitlilik dikkate alındığında, peynir üretimiyle süt proteinleri kaynaklı çok sayıda biyoaktif peptit elde edilebileceği, peynir üretim parametrelerin etkilerinin ortaya konmasıyla, ilave katkıları kullanmadan, biyoyararlı peynirlerin üretiminin optimize edilebileceği açıktır.

Keçi peyniri, keçi yetiştiriciliği faaliyetlerine bağlı olarak çoğunlukla küçük ölçekte, çiftlik/köy ortamında, sütün sağıldığı haliyle mayalanmasıyla elde edilmektedir. Endüstriyel üretimlerde ise ısıtma işlemi, starter kültür, farklı pıhtılaştırıcılar ve bazı teknolojik işlemler uygulanarak yapılmaktadır. Her iki üretim şeklinde fiziksel, kimyasal, duyu ve fonksiyonel karakteristikleri farklı peynirler üretilmektedir. Literatürde dünya genelinde üretilen önemli peynirlerin biyoaktif peptitleri, peptitlerin biyoerişilebilirlikleri ile ilgili çalışmalar bulunmasına rağmen peynir üretim parametrelerinin keçi peynirinin fonksiyonel özelliklerine ve biyoaktif peptitlerinin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri ile ilgili çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında keçi peyniri biyoaktif peptitlerinin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri üzerine peynir üretim aşamalarından ısıtma işlemi uygulaması, starter kültür ilavesi, pıhtılaştırıcı kaynağı ve depolama prosesi etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Amaç kapsamında tez çalışmasında uygulanacak aşamalar aşağıda sıralanmıştır;

- Keçi peynirinin çiftlik/köy tipi üretime benzer olarak süte ısıtma işlemi uygulanmaksızın ve endüstriyel üretime benzer şekilde ısıtma işlemi uygulanarak üretilmesi.
- Keçi peynirinin, sütün doğal mikroflorası ile fermantasyonuyla, süte ticari starter kültür ilave edilerek fermantasyonuyla ve fermantasyon olmaksızın üretilmesi.
- Keçi sütünden hayvansal ve bitkisel pıhtılaştırıcı kullanılarak peynir üretilmesi.
- Üretilen keçi peynirlerinin 6-8 °C sıcaklıkta 90 gün süre ile depolanması.
- Keçi peynirlerinin proteoliz düzeyinin ve peptit profilinin belirlenmesi.
- Keçi peynirlerinin duyu özelliklerinin ve uçucu bileşen profilinin belirlenmesi.
- 1, 30, 60 ve 90 gün depolanmış peynir örneklerine *in vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu uygulanması.

- *In vitro* gastrointestinal sindirimi uygulamış örneklerden 3 kDa'dan küçük potansiyel biyoaktif peptitleri içeren fraksiyonların ultrafiltrasyonla ekstrakte edilmesi.
- Elde edilen peptit ekstraktlarında antioksidan ve ACE inhibitör aktivitelerin belirlenmesi.



İKİNCİ BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Biyoaktif Peptit Kaynağı Olarak Keçi Sütü

Koyun ve keçiden oluşan dünya küçükbaş hayvan varlığının % 47'sini 1,13 milyar baş sayı ile keçi oluşturmaktadır (FAO, 2022a). Dünyadaki keçi varlığının % 1,1'ine sahip olan ülkemizde, ülke içi küçükbaş hayvan varlığının % 22,2'sine denk gelen yaklaşık 12 milyon baş keçi bulunmaktadır (TÜİK, 2022). Ülkemizde 2020 yılında yaklaşık 23 milyon ton süt üretilmiş olup mevcut üretimin % 2,5'ini keçi sütü oluşturmaktadır. 2010 yılında 10 milyon ton olan dünya keçi sütü üretimi, 2020 yılında iki kat artarak 20,6 milyon ton civarına ulaşmıştır (FAO, 2022b). Keçi sütü üretim miktarının hızlı artışı, artan dünya nüfusunun yanında, tüketicilerin bilinçlenerek fonksiyonel gıdalara yönelmesi ve bu konuda bilimsel araştırmalarla birçok sağlık yararı kanıtlanan keçi sütüne olan talebin hızla artmasına bağlanabilir. Son yıllarda keçi sütü ve ürünlerinin tüketiciler tarafından, yüksek besin değerleri ve biyoaktif bileşenlerin varlığı nedeniyle sağlıklı yaşam için gerekli olan dengeli bir beslenme kaynağı olarak ilgi gördüğü araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Hammam vd., 2022; Lad vd., 2017; Nayik vd., 2021; Verruck vd., 2019).

Keçi sütünün birçok avantajı ve sağlık yararı bulunmaktadır. Keçi sütündeki yağ globülleri daha küçüktür, bu durum inek sütünden daha uzun süre süspansiyon halinde kalmasını sağlamakla birlikte homojenizasyon ihtiyacını azaltmaktadır. İçeriğindeki kısa ve orta zincirli yağ asitleri keçi sütünün daha kolay sindirilebilir olmasını sağlamaktadır (Lad, vd., 2017). Ayrıca keçi sütünün yağ kompozisyonundaki çoklu doymamış yağ asitleri, keçi sütünün antikanser özelliğinin başlıca kaynağıdır (dos Santos vd., 2023). Daha düşük oranda laktoz içermesinden dolayı keçi sütünün laktoz intoleransı olan hastalar için inek sütünden daha yararlı olduğu belirtilmektedir (Kumar vd., 2016). Keçi sütünde bulunan taurinin kardiyovasküler hastalık ve hipertansiyon etkilerini azaltıcı etki gösterdiği bildirilmektedir (Silanikove vd., 2010). Keçi sütü, inek sütüne göre daha yüksek miktarda mineral ve vitamin içerdiğinden insan bağırsağında biyoyararlanımı daha yüksektir. Bu sayede insan beslenmesinde ihtiyaç duyulan bazı takviyelerin keçi sütü ile değiştirilebileceği bildirilmiştir (Saikia vd., 2022). Keçi sütünde bulunan sialik asidin de hızlı beyin gelişimine yardımcı olduğu bildirilmektedir (De Sousa vd., 2015). Besleyici özelliklerinin yanı sıra keçi sütünün,

bebekler, yaşlılar ve tedavi gören hastalarda birçok ihtiyacı karşılayabilecek güçlü nutrasötik özelliklere sahip olduğu (Kumar vd., 2016), kolay sindirilebilirliği, güçlü tamponlama kapasitesi, alkalilik ve bazı terapötik özellikleri nedeniyle inek sütüne tercih edilebileceği bildirilmiştir (Zenebe vd., (2014).

Besleyici değeri, teknik işlevselliği ve biyoaktif özellikleri açısından değerlendirildiğinde süt proteinleri en çok fonksiyonel özelliğe sahip süt bileşenlerinin başında gelmektedir (Guha vd., 2021). Teknik işlevsellik olarak süt proteinleri, süt ürünlerine karakteristik bir yapı, çözünürlük, su bağlama, viskozite ve ısı stabilizasyonu gibi özellikler sağlarken (Augustin ve Udabage, 2007), nutrasötik açıdan değerlendirildiğinde süt proteini ve fraksiyonlarının antitrombotik, antimikrobiyal, antioksidatif, antihipertansif, immünomodülatör gibi çeşitli biyolojik aktivitelere sahip değerli biyoaktif peptitlerin kaynağı olduğu bildirilmektedir (Park ve Nam, 2015).

Kazein fraksiyonları (α_{s1} -, β -, α_{s2} - ve κ -kazein) keçi sütü proteinlerinin % 80'ini, serum proteinleri ise (serum albümini, α -laktalbumin, β -laktoglobulin, immünoglobülinler, proteoz peptonlar ve laktoferrin) % 20'lik kısmını oluşturmaktadır. Sütteki protein miktarı ırka, türe, laktasyon süresine, meme sağlığına, beslenmeye ve çevre koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Kondyli vd., 2012; Park vd., 2007). Keçi sütü proteinleri, keçilerin geniş genetik polimorfizmi nedeniyle, farklı amino asit bileşimine sahip olabilir, bu da keçi sütü ürünlerinin duyuşal, sindirilebilirlik ve biyoaktif özelliklerinde önemli farklılıklara yol açabilir (Ballabio vd., 2011; Haenlein, 2004). Kazein fraksiyonlarından α -, β -, ve κ -kazeinlerle birlikte serum proteinlerinden β -laktoglobulin ve α -laktalbumin keçi sütünün ana proteinleridir. Bununla birlikte immünoglobülinler, serum albümini ve proteoz-peptonlar daha düşük konsantrasyonlarda bulunur (dos Santos vd., 2023). Küçük miktarlarda bulunan başka bir çözünür peyniraltı suyu proteini laktoferrindir ve ayrıca rennet koagüle peynirden biyoaktif özelliği bulunan kazeinomakropeptit açığa çıkmaktadır (Hernandez-Ledesma vd., 2011).

Son yıllarda peptitlerin biyolojik aktivitelerinin ortaya konmasıyla, keçi sütü proteinlerinin tanımlanmasına ve moleküler bileşimine artan bir ilgi vardır. Süt proteinleri arasında kazein keçi sütünde bulunan en önemli proteindir ve biyoaktif peptitlerin öncüsüdür (Dhasmana vd., 2021). Keçi sütünden elde edilen kazein miselleri, inek sütünden daha küçük

boyut, daha yüksek çözünürlük, daha düşük çökelme hızı, daha düşük ısı stabilitesi ve daha yüksek kalsiyum ve fosfor içeriğine sahip olup (Al-Saadi vd., 2014; Chen vd., 2012) ve ayrıca keçi sütünün daha düşük konsantrasyonlarda α_{s1} -kazein ve daha yüksek konsantrasyonlarda κ -kazein ve β -kazein içermesi, kolay sindirilebilir olmasına ve daha düşük alerjeniteye sahip olmasına katkıda bulunmaktadır (Ballabio vd., 2011; Verruck vd., 2019).

Biyoaktif peptitler ana protein zinciri içinde iken, etki göstermeyen suskun veya inaktif haldedirler. Ana protein zincirinden salınmaları sindirim enzimleriyle hidroliz, proteolitik mikroorganizmalarla hidroliz ve mikroorganizma veya bitki kökenli enzimlerle hidroliz olmak üzere üç şekilde olmaktadır (Turan, 2022). Sütün fermantasyonu ile biyolojik olarak aktif peptitlerin aktif olmayan protein formlarından salınma olasılığı, bunların spesifik dizilişi ve salınan peptitlerin uzunluğu iki ana faktör tarafından belirlenir: (a) hayvan türüne ve hatta ırka bağlı olarak sıralaması farklılık gösteren öncü protein ve (b) starter kültür suşlarının proteolitik enzimleridir (Moreno-Montoro vd., 2017). Gastrointestinal sistemdeki protein sindirim kinetiği ve bunun sonucunda sindirim işlemi sırasında peptitlerin salınması, gıda matrisinin yapısı, proteinin gıdada bulunduğu pH ve direnci içeren çeşitli faktörlere bağlıdır. Bu faktörler midede oluşan kimusun yapısını, pepsin etkisinin optimum pH değerine ulaşması için gereken süreyi ve sindirim enzimlerinin protein yapılarındaki hidroliz bölgelerine erişimini etkiler (Barbe vd., 2014). Süt matriksinin protein sindirim kinetiğindeki önemi ve peptitlerin gastrointestinal kanalda salınması, her süt çeşidi ve bunlardan üretilen ürünlerin biyoaktif peptitlerin biyoerişilebilirliğinin değerlendirilmesi ihtiyacını ortaya çıkarmakta, farklı süt ürünlerinde protein matriksinin yapısındaki farklılık nedeniyle, sindirim sırasında farklı yapısal değişiklikler ve protein hidrolizi modelleri buna bağlı olarak farklı peptit profili oluşacağı bildirilmektedir (Asensio-Grau vd., 2019; Do ve Kong, 2018).

Keçi sütü kaynaklı biyoaktif peptitler, keçi sütünün doğrudan tüketildiği durumda ancak sütün içerdiği doğal proteazların aktivitesi ve tüketilmesi sonrası gastrointestinal sindirimi ile açığa çıkabilir. Sütün, tüketim öncesi ısıl işleme tabi tutulması, proteinlerin uğrayacağı enzimatik süreçlerin tamamında, hem sütün içerdiği enzim ve mikrofloranın ısıl işlemle etkilenmesi ile hem de süt proteinlerinin yapısında ısıl işleme bağlı olarak meydana gelecek değişimler ile doğrudan etkilenmesine yol açabilir. Keçi sütünün kefir, yoğurt ve

peynir gibi ürünlere dönüştürüldüğünde hem bu ürünlerin üretimi esnasında gerçekleşecek peptit salınmaları hem de bu ürünlerin sindiriminde meydana gelecek peptitlerin dönüşümüyle çok sayıda biyoerişilebilir peptidin oluşması muhtemeldir. Biyoaktif peptitlerin üretimine ilişkin çoğu çalışmada, protein substratı olarak inek sütü kullanılmaktadır, ancak diğer süt türleri, özellikle keçi sütü, bu peptitlerin potansiyel bir kaynağı olarak vurgulanmıştır (Didelot vd., 2006). Keçi sütü proteinlerinin hidroliz işlemlerinin, antihipertansif, antioksidan, hipoglisemik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, opioid veya immünomodülatör aktivitelere sahip peptitler ürettiği bildirilmiştir (Ahmed vd., 2015; Du vd., 2022; Hernandez-Ledesma vd., 2011; Rohmah vd., 2015). Nielsen vd. (2017) süt proteinli kaynaklı biyoaktif peptitler üzerine yapılmış olan çalışmalarını inceleyip derleyerek süt proteinleri kaynaklı biyoaktif peptitleri içeren kapsamlı bir veri bankası oluşturmuşlardır. Bu veri bankası 944 farklı biyoaktif peptit içermektedir. Bu çalışmada derlenen biyoaktif peptitlerin çoğunun süt proteinlerinin *in vitro* sindirimi sonrası açığa çıktığı belirtilirken diğerlerinin peynir, yoğurt, kefir gibi farklı süt ürünlerinde doğal yolla oluştuğu bildirilmiştir.

2.1.1. ACE İnhibitör Peptitler

Dünya genelinde hipertansiyonun yaygın olması nedeniyle peptitlerin biyolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalar, hipertansiyon etkilerinin azaltılması üzerine yoğunlaşmaktadır (Guo vd., 2009; Korhonen ve Pihlanto, 2006). Kardiyovasküler hastalıklar, kalp ve kan damarları hastalıklarını içeren gruba verilen genel isimdir. Kardiyovasküler hastalıkların oluşumu ACE tarafından düzenlenen kan basıncı ile doğrudan ilişkilidir. Angiotensin I dönüştürücü enzim ekzopeptidazdır ve çeşitli peptit substratlarının C terminal uçlarından dipeptitleri açığa çıkarmaktadır (Pihlanto-Leppala, 2001; Schanbacher vd., 1998). ACE inhibitör peptitlerin ACE'ye bağlanmak için C-terminalini kullandığı (Stuknyte vd., 2015) ve enzimin C-terminalinde hidrofobik amino asit içeren peptitleri substrat olarak tercih etme eğiliminde olduğu bilinmektedir (Fitzgerald ve Meisel, 2000; Meisel, 1998). C-terminalinde arjinin, triptofan, tirozin, fenilalanin, lizin veya prolin bulunan peptitler ACE'ye daha kolay bağlanarak inhibitör aktivitesi gösterebilen peptitlerdir (Hernandez-Ledesma vd., 2011). Hidrofobik amino asit içermenin yanında moleküler ağırlığın da ACE inhibitör aktivite göstermede önemli bir özellik olduğu ve ACE inhibitör

peptitlerinin çoğunlukla kısa zincirli, düşük molekül ağırlığına sahip peptitler olduğu bildirilmektedir (Hayes ve Tiwari, 2015).

ACE (EC 3.4.15.1) klasik olarak periferik kan basıncını düzenleyen renin-anjiyotensin sistemi ile ilişkilendirilmektedir (Hong vd., 2008; Meisel, 1998). ACE, anjiyotensinojenden açığa çıkarılan anjiyotensin I'i kuvvetli damar daraltıcı anjiyotensin II'ye renin ile dönüştürerek kan basıncını arttırmaktadır. ACE ayrıca damar genişletici brady-kinin enzimini parçalamakta ve adrenal kortekste aldosteronun açığa çıkmasını da stimüle etmektedir. ACE inhibitör peptitler bu etkileri çeşitli yollardan bloke ederek kan basıncını düzenlemekte, vücudu kardiyovasküler hastalıklara karşı korumaktadır (Hernandez-Ledesma vd., 2004; Jakala ve Vapaatalo, 2010). ACE inhibitör peptitler genellikle prolin gibi polar amino asit dizilimlerini içeren kısa peptit zincirlerinden oluşmaktadır (Espejo-Carpio vd., 2013; Meisel, 2005). Keçi sütü kazein ve serum proteinleri kaynaklı ACE inhibitör peptitler tanımlanmıştır. Örneğin α_{s1} -kazeinin AYFY (143-146) fragmenti, α_{s2} -kazeinin KFAWPQ (174-179) ve PYVRYL (203-208) fragmentleri, κ -kazeinin PYY (59-61), MAIPPK (106-111) ve MAIPPKK (106-112) fragmentleri, β -laktoglobulinin LKPTPEGD (46-53), LQKW (58-61), LLF (103-105 ve LVRT (122-125) fragmentleri ACE inhibitörüdür (Gomez-Ruiz vd., 2006; Hernandez-Ledesma vd., 2002; Lee vd., 2005; Quiros vd., 2005). *In vitro* çalışmalar, ACE inhibitör peptitlerin, özellikle mide proteazları ve laktik mikroorganizmalar tarafından süt ve keçi peyniraltı suyu proteinlerinin hidrolizinden elde edilebileceğini göstermektedir. Keçi sütü proteinlerinin subtilisin ve tripsin proteazları tarafından hidrolizi ile yüksek ACE inhibe edici aktiviteye sahip peptitlerin oluştuğu saptanmıştır (De Gobba vd., 2014; Espejo-Carpio vd., 2013; 2016).

Tagliazucchi vd. (2017) yağsız keçi sütünün *in vitro* gastrointestinal sindiriminin ACE inhibitör peptitlerin salınmasına neden olduğunu, antihipertansif tripeptitler valin-prolin-prolin ve izolösin-prolin-prolin konsantrasyonlarının ise sırasıyla 1829,8 ve 141,4 $\mu\text{g/L}$ olduğunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada ACE inhibitör aktivitenin sindirimin peptik fazının sonunda en yüksek iken pankreatik fazda sürekli olarak azaldığı, pankreas sonrası sindirilmiş numunenin ultrafiltrasyonu ile elde edilen küçük peptitlere sahip < 3 kDa fraksiyonunun sindirilmiş sütün ACE inhibitör aktivitesinden sorumlu olduğu bildirilmiştir.

Keçi sütü proteininin sulu ekstraktlarının *in vitro* sindirim simülasyonu sonrası ACE inhibitörü aktivitesinin incelendiği çalışmada: β -laktoglobulinden PEQSLACQCL (113-122), β -kazeinden QSLVYPFTGPI (56-66) ve κ -kazinden gelen ARHPPHLSFM (96-106)  ACE inhibitör peptit tanımlanmıştır. Peyniraltı suyu ve kazeinlerden elde edilen peptitlerin, sırasıyla 4,45 μ M ve 4,27 μ M'lik IC50 değerlerinde, antihipertansif bir ilaç olan kaptoprile kıyasla belirgin bir ACE inhibitörü aktivitesi gösterdiklerini bildirilmiştir (İbrahim vd., 2017).

Shu vd. (2018a) yağsız inek ve keçi sütünü, alkalın proteaz, tripsin, bromelain ve papain ticari proteazlarını kullanarak hidroliz ettikleri çalışmada, hidroliz süresinin artmasıyla hidroliz derecelerinin arttığını, alkali proteazla işlenmiş peptit hidrolizatların en yüksek ACE inhibitör aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca keçi sütünden elde edilen peptit hidrolizatlarının inek sütünden elde edilen hidrolizatlardan daha yüksek ACE inhibitör aktiviteye sahip olduğunu, bu nedenle keçi sütünün, inek sütü ile karşılaştırıldığında ACE inhibitörü aktiviteye sahip biyoaktif peptitleri elde etmek için iyi bir kaynak olduğunu bildirmişlerdir.

Didelot vd. (2006) keçi sütü kaynaklı peyniraltı suyunun *Lb. paracasei* ve *Candida parapsilosis* ile fermente ettikleri çalışmada α -laktalbminden kaynaklanan WLAHK (104-108) olarak tanımlanan ve en güçlü ACE inhibe edici peptit olarak karakterize edilen biyoaktif peptitlerin olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer bir şekilde Hamme vd (2009), *Kluyveromyces marxianus* ve *Lb. rhamnosus* içeren kültür kullanarak keçi peyniraltı suyu α -laktalbmininden salınan NYW (102-104) ve W'ye (104) ek olarak WLAHK peptitlerinin ACE inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu ve bu peptitlerin *in vitro* olarak simüle edilen gastrointestinal sindirime dirençli olduğunu bulmuşlardır. Bu bağlamda, araştırmacılar keçi sütü ve keçi peyniraltı suyundan elde edilen ACE inhibitör peptitleri, hipertansiyonun hem önlenmesinde hem de tedavisinde potansiyel taşıdığını bildirmişlerdir.

Parmar vd. (2018) *Lb. casei* ve *Lb. fermentum* ile fermente edilen keçi sütünün ACE inhibitör aktivite ve di-tri peptidaz aktivitesi gösterdiğini, 3, 5 ve 10 kDa ayrımlı filtreler kullanılarak elde edilen tüm permeat ve retentatlar arasında *Lb. casei* ile fermente edilen örneklerin en yüksek ACE inhibitör aktiviteyi gösterdiğini bildirmişlerdir. 3 kDa ayrımlı filtrelerden elde edilen permeat ve retentat örnekleri arasında *Lb. casei* ile fermente edilenler

en yüksek ACE inhibitör aktiviteyi (sırasıyla % 36.26 ve % 43,58) gösterirken, *Lb. fermentum* ile fermente edilenlerin en düşük ACE inhibitör aktiviteyi (sırasıyla % 14.40 ve % 29,46) gösterdiği bildirilmiştir.

Parmar vd. (2020) beş farklı *Lactobacillus* kültürü arasında *Lb. casei* ile fermente edilen keçi sütünün 24 saat sonunda en yüksek ACE inhibitör aktiviteyi (% 66,99) gösterdiğini saptamışlardır. *Lb. helveticus* PR4 proteinazını kullanılarak altı farklı türün (inek, koyun, keçi, domuz, manda ve insan) sütünden antimikrobiyal ve ACE inhibitör peptitler elde edildiği rapor edilmiştir (Minervini vd., 2003).

2.1.2. Antioksidan Peptitler

Serbest radikallerin insan vücudunda neden olacağı olası hasarı önlemek için tedavi amaçlı antioksidan takviyeler kullanılmakta ve pek çok gıda maddesinin güçlü antioksidan niteliği dolayısıyla doğal tedavi ajanı olarak kullanım olanakları araştırılmaktadır (Xiong, 2010). Doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanlar, sentetik antioksidanların bazılarının kanserojenik etkilerinin bulunmasından dolayı, daha fazla tercih edilmektedir (Liu vd., 2005). Çünkü gıda kaynaklı protein, peptit ve amino asitlerin, düşük maliyetleri, güvenilirlikleri ve yüksek besinsel değerleri nedeniyle, antioksidan olarak kullanımına taleplerin arttığı bildirilmiştir (Park vd., 2008). Serbest radikaller ile antioksidan mekanizmaların fizyolojik koşullarda denge halinde olduğu, dengenin oksidanlar lehine değişmesi durumunda oksidatif stres, çeşitli vasküler rahatsızlıkların meydana geldiği bilinmektedir. Ayrıca serbest radikallerin membran lipidlerini, hücrel proteinleri, DNA ve hücrel süreçleri kontrol eden enzimleri oksitlemek suretiyle hücrel düzeyde öldürücü etkiler yaratabileceği bildirilmiştir (Sharma vd., 2012). Proteinlerin antioksidan aktivitesi ACE inhibitör aktivite gösteren peptitlerde olduğu gibi yapılarındaki amino asitlerden, amino asitlerin dizilimlerden ve peptidazların neden olduğu enzimatik hidroliz ile meydana gelen genellikle 5-11 amino asit içeren biyoaktif peptitlerden kaynaklanmaktadır. Örneğin prolin, histidin, tirozin veya triptofan gibi hidrofobik bazı amino asitler ve bunların türevlerinin antioksidan aktivite gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca, pozitif yüklü grupların, geçiş metallerini elektrostatik itme kuvvetiyle lipit damlacıklarından uzaklaştırarak, lipit oksidasyonunun inhibisyonuna yardım etmelerinden dolayı peptitlerin katyonik karakterinin de antioksidan özellikleri için önemli olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 1998). Yapılan

araştırmalarda süt kazeinlerinden ve serum proteinlerinden antioksidan özellikte peptitler elde edildiği bildirilmiştir (Hernandez-Ledesma vd., 2005; Suetsuna vd., 2000). Süt proteinlerinden elde edilen çoğu α -kazein kaynaklı peptitlerin esansiyel yağ asitlerinin enzimatik ve enzimatik olmayan peroksidasyonunu önlediği bildirilmiştir (Fitzgerald ve Murray, 2006). Suetsuna vd. (2000) kazein hidrolizatlarının süperoksit anyonunu, hidroksil radikalini ve DPPH radikalini tutucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Radikal tutucu etki için kazein orijinli glutamin-lösin sekansının önemli olduğu öne srlmştir. Bu nedenle antioksidan aktivitenin belirlenmesinde proteinin birincil yapısının önemli bir rol oynadığı bildirilmektedir. Kullisaar vd. (2003) fermente keçi sütünün içerdiği antioksidan peptitlerin, lipoprotein fraksiyonlarının oksidasyonu azaltma, peroksitlenmiş lipoprotein miktarını azaltma, düşük dansiteli lipoproteinleri oksitleme ve toplam antioksidan aktiviteyi artırma özelliklerine bağlı olarak fermente keçi sütü tüketiminin bireylerin kalp sağlığını olumlu yönde etkilediğini ifade etmişlerdir.

Tagliazucchi vd. (2017) yağsız keçi sütünün *in vitro* gastrointestinal sindirimi ile oluşan kısa peptitlerin antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Keçi sütü *Lb. casei* starter kültürü kullanılarak fermente edildikten sonra *in vitro* sindirim simülasyonu uygulanmış, fermente ürünün hidroksil radikalini bağlama aktivitesinin % 56,50'den % 88,01 oranına ve DPPH radikal bağlama oranının ise % 41,97'den % 63,48'e yükseldiği bildirilmiştir (Shu vd., 2018b). Moxoto keçi sütünün papain enzimi ile hidrolizi sonucu oluşan antioksidatif biyoaktif peptitler tanımlanmış, en yüksek antioksidan aktivite düzeyi 2329,6 mM Troloks/mg olarak belirlenmiştir (Bezerra vd., 2013). Diğer bir çalışmada kazein ve serum proteinleri olarak fraksiyonlara ayılan keçi sütünde *in vitro* sindirim sonrası önemli antioksidan aktivite belirlenmiş ve aktif peptit fraksiyonundaki lösin varlığı ve serin-lösin/triptofan-lösin/prolin-lösin peptitlerinin bu antioksidan aktiviteye katkı sağladığı bildirilmiştir (Ahmed vd., 2015). Araştırmacılar ayrıca keçi sütü proteinlerinden açığa çıkan biyoaktif peptitlerin hipoglisemik aktivite gösterebileceğini ve ayrıca diyabet komplikasyonlarını önleyebileceğini bildirmişlerdir.

Keçi sütü proteini fraksiyonlarının proteazlar (subtilisin ve tripsin) ile işlenmesinin, ACE ihhibitr aktivitenin yanında serbest radikalleri yakalamada, metal iyonlarını şelatlamada ve lipid oksidasyonunun yan ürünlerinin oluşumunu engellemede etkili olan,

potansiyel antioksidan peptitleri saldığı *in vitro* alışmalarda ortaya koymuştur (De Gobba vd., 2014; Espejo-Carpio vd., 2016; Li vd., 2013).

Lb. helveticus MTCC 5463 ile fermente edilmiş keçi sütünün güçlü antioksidan aktivite sergilediği, % 2 mikroorganizma inokülasyon edilen örneklerin 37 C'de ve 48 saat fermentasyonu sonucu, % 49 radikal (ABTS) inhibisyonu gösteren antioksidan aktiviteye sahip olduğu (Panchal vd., 2021a), benzer koşullarda *Lb. fermentum* ile fermente edilen keçi sütünün % 57,09 radikal (ABTS) inhibisyonu gösteren güçlü antioksidatif özelliklerle karakterize edildiği bildirilmiştir (Panchal vd., 2021b).

Mikroorganizmaların veya gastrik enzimlerin keçi sütü üzerindeki etkisi başta ACE inhibitörü ve antioksidan olmak üzere antimikrobiyal, immünomodülatör, hipoglisemik, antiinflamatuvar ve diğerlerini içeren biyolojik aktivitelere sahip peptitler üretebileceği, bu bağlamda, keçi sütü ve ürünlerinin tüketimini teşvik etmek ve fonksiyonel potansiyeli ne çıkarmak için yeni süt ürünleri geliştirilebileceği bildirilmiştir (Baptista ve Gigante, 2021; Moreno-Montoro vd., 2018).

2.2. Peynir retim Parametrelerinin Biyoaktif Peptitler zerine Etkisi

Peynir retimi sırasında ısıl işlem, homojenizasyon, yüksek basınç vb. prosesler, sütün fermentasyonu ve koagülasyonu ve olgunlaştırma gibi birçok işlem uygulanmaktadır. Bu işlemler tat, koku gibi duysal özelliklerin yanı sıra biyoaktif peptit içeriğini de etkilemektedir (Korhonen ve Pihlanto, 2006). Peynir retimi sırasında süte uygulanan ısıl işlem ve mikrobiyal enzimler ile gerçekleşen hidroliz sonucunda açığa çıkan çeşitli biyoaktif peptitlerin peynirin sağlıklı bir gıda olarak düşünülmesinin nedenlerinden olduğu bildirilmiştir (Choi vd., 2012; Hafeez vd., 2014). Biyoaktif zellik gösteren çoğu protein ve peptitlerin süt kaynaklı olmalarının yanı sıra birçoğunun peynir üretim sırasında oluştuğunu bildirilmektedir (Power vd., 2013). Peynir eşidi, kullanılan kültür ve depolama süresi gibi enzimatik aktiviteyi etkileyen parametreler son ürünün peptit profilini etkilemekte ve olgunlaşmanın farklı aşamalarında farklı peptitler oluşmaktadır (Baptista vd., 2018; Korhonen ve Pihlanto, 2006). Süte uygulanan ısıl işlem, pıhtılaştırıcı türü, kullanılan starter kültürler ve olgunlaşma süresi, peynirlerde biyoaktif peptitlerin oluşumuyla ilgili olduğu

birçok çalışmada bildirilmiştir (Babtista vd., 2018; Babtista vd., 2020, Galli vd., 2019; Sieber vd., 2010; Timon vd., 2019).

2.2.1. Isıl İşlem

Süt proteinlerini etkileyen önemli işlemlerden biri ısı işlem uygulamasıdır. Peynir üretiminde kullanılan sütün pastörizasyonu, endüstriyel üretimlerde önemli bir proses aşamasıdır (Rafiq vd., 2021). Isıl işlem süt ve süt ürünlerinde hastalık etmeni mikroorganizmaların inhibe edilmesinin yanında ürünün duyu niteliklerine de katkı sunmaktadır. Sütün bileşimi göz önüne alındığında ısı işlem, serum proteinlerinin denatürasyonu, denatüre serum proteinlerinin kazein miselleri de dahil olmak üzere diğer proteinlerle interaksiyonları ve kazein misel ayrışma reaksiyonlarına etki etmektedir (Anema, 2009). Peynir üretiminde uygulanan ısı işlem, sütün pıhtılaşma özelliklerini değiştirerek peynir olgunlaşma sürecine; endojen enzimleri inaktive ve doğal mikroflorayı tahrip ederek, starter mikroorganizma proteazları veya pıhtılaştırıcı enzimlerinin protein fraksiyonlarına hidrolitik erişilebilirliğini değiştirerek, farklı şekillerde müdahale etmektedir (Benfeldt ve Sorensen, 2001). Isıl işlem sütün stabilitesinin belirlenmesinde ve fonksiyonel performansında önemli rol oynamakta ve ayrıca ısı işlem sonucu proteinlerin yapılarında oluşan değişimler biyoaktivitelerini etkileyebilmektedir (Otağ ve Hayta, 2013). Isıl işlemler sonucu peyniraltı suyu proteinlerinin denatürasyona uğraması proteinlerin yapılarını ve hidrofobik grupların etkileşimlerini etkileyebilmektedir. Sıcaklık ve ısı işlem süresindeki artışla birlikte α -laktalbumin ve β -laktoglobulin denatüre olarak moleküller arası disülfid bağlarıyla kompleksler oluşturmakta ve her iki protein de kazein misellerinin yüzeyine bağlanmaktadır (Basilicata vd., 2018).

Bütikofer vd. (2007) pastörize süttten elde edilen peynirlere kıyasla çiğ süttten üretilen peynirlerde antihipertansif tripeptit valin-prolin-prolin ve izolösin-prolin-prolin konsantrasyonlarının daha yüksek olduğunu bildirmişler, bu durum, kazeinlerin küçük peptitlere parçalanmasını hızlandırabilen, NSLAB proteinazları ve peptidazlarının proteolitik etkisiyle ilişkilendirilmiştir. Benzer şekilde kontrollü koşullarda yapılan bir çalışmada Gomez-Ruiz vd. (2002) çiğ süttten elde edilen 8 ay olgunlaştırılmış Manchego peynirinde, pastörize sütle ve farklı laktik kültürlerin eklenmesiyle yapılan peynirlere kıyasla daha yüksek ACE inhibitör aktivite bulmuşlardır. Çiğ ve pastörize süttten elde edilen koyun

peynirinin peptit profilinin kıyaslandığı bir çalışmada benzer şekilde çiğ süttten elde edilen peynirlerde peptitlerin daha yüksek ACE inhibitör aktivite gösterdikleri bulunmuştur (Pisanu vd., 2015). McSweeney vd. (1993), çiğ süt veya pastörize sütle yapılan taze Cheddar peynirleri arasında primer proteolizde anlamlı bir fark bulunmadığını, ancak proteolizdeki farklılıkların olgunlaşmayla başladığını ve olgunlaşma boyunca arttığını bildirmişlerdir.

Ren vd. (2023) ısıl işlemin yağsız keçi sütü proteinlerinin sindirimi üzerindeki etkilerini belirledikleri çalışmada, yağsız keçi sütünün sindirimini hem süpernatantta hem de mide pıhtısında incelemişlerdir. Sonuçlar olarak ılımlı ısıl işlem uygulanan örneklerle (≤ 75 °C) karşılaştırıldığında, ≥ 80 °C'de ısıl işlem uygulanan örneklerin daha yüksek protein sindirim oranıyla daha kapsamlı gastrik pıhtı oluşumu gösterdiğini, ancak aynı zamanda daha fazla miktarda sindirilmemiş peyniraltı suyu proteini içerdiği saptanmıştır. Bu çalışmada β -kazeinin, biyoaktif peptitlerin ana kaynağı olduğu, 65 °C'de ısıtılan örneklerin daha yüksek biyoaktif peptit içeriğine sahip olduğu, 75 °C'yi aşan sıcaklıklarda uygulanan ısıl işlem sonucu peptitlerin daha küçük peptitlere parçalandığı bulunmuştur.

El-Fattah vd. (2020) tam yağlı çiğ keçi sütlerinde DPPH radikal yakalama testi ile belirlenen antioksidan aktivitenin güçlü olduğunu, pastörizasyon işleminden sonra aktivitenin azaldığını ancak kaybolmadığını belirlemişler ve ayrıca sütün sterilizasyonunun antioksidan kapasiteyi artırma eğiliminde olduğunu bildirmişlerdir.

Bazı peynir çeşitlerinin üretimi sırasında yüksek sıcaklık ve rennet ilavesi ile yüksek yağ içeriğinin peyniraltı suyu proteinleri ile kazein miselleri arasındaki etkileşimi güçlendirdiği bildirilmiştir. Bu durum proteinlerin proteolizine karşı bir koruma oluşturmaktadır (Basilicata vd., 2018). Bazı peynir çeşitleri için önemli bir aşama olan pıhtı haşlama, farklı peynir çeşitlerinde telemenin 31 °C ile 55 °C arasında değişen sıcaklıklarda kesilmesinden sonra gerçekleştirilen peynir üretiminde kilit bir işlemdir (Fox vd., 2000). Haşlama sıcaklığının, biyoaktif peptitlerin sentezini büyük ölçüde etkilediği, bununla birlikte, peynir olgunlaşması sırasında, haşlama sıcaklığının artmasıyla ACE inhibitör peptitlerin konsantrasyonlarının azaldığı bildirilmiştir (Rafiq vd., 2021).

2.2.2. Starter Kültür

Peynir üretiminde starter kültür kullanımı temelde peynir asitliğinin gelişmesine etki ederek pıhtılaştırıcı enzim aktivitesi, pıhtılaştırıcı enzimin pıhtıda alıkonması, randıman, peynir kurumaddesi, peynirin fiziksel özellikleri ve en önemlisi olgunlaşma esnasında peynirde gerçekleşen biyokimyasal değişimler gibi birçok faktör üzerinde etki göstermektedir (Pappas vd., 1996). Peynir üretiminde ısı işlem uygulanmadığı durumlarda starter olmayan mikroflora fermentasyona katkı sağlamaktadır. Pastörize süttten peynir üretiminde starter kültür kullanımı ve starter kültür seçimi en önemli aşamalardan birisidir (Bintsis ve Papademas, 2002). Peynir üretiminde starter kültür olarak proteolitik aktivitesi yüksek *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus* suşlarından oluşan termofilik ve/veya mezofilik starter kültür kombinasyonlarının kullanıldığı (Hayaloğlu vd., 2002), özellikle Beyaz peynir üretiminde yaygın olarak *Lc. lactis* subsp. *lactis* ve *Lc. lactis* subsp. *cremoris* bakterilerinden oluşan starter kültürlerin tercih edildiği bildirilmiştir (Hayaloğlu vd., 2004).

Peynirlerde proteoliz seviyesi ve biyoaktif peptitlerin üretimi, starter ve NSLAB'nin aktivitelerine bağlıdır (Fitzgerald ve Murray, 2006). Starter ve destek kültürlerdeki laktik asit bakterileri (LAB), peynirlerin olgunlaşmasında meydana gelen proteolizde önemli rol oynayan proteinazlar ve peptidazlardan oluşan karmaşık bir proteolitik sisteme sahiptir (Hayek ve İbrahim, 2013). LAB'nin proteolitik sistemleri, hücre zarına bağlı hücre dışı proteazlardan, hücre zarfı proteinazlarından, mikrobiyal hücreye peptit taşıma sistemlerinden ve hücre içi peptidazlardan oluşmaktadır (Kunji vd., 1996). Dolayısıyla peynir yapım sürecinde kullanılan starter kültürler, çeşitli proteolitik aktiviteleri sayesinde peynirlerde peptit profilinin oluşumunda önemli bir rol oynar (Timon vd., 2019). Farklı LAB türlerinin kompleks proteolitik sistemlerinin varlığı ve bunların enzimlerinin biyoaktif peptitlerin salınmasındaki etkisi göz önüne alındığında, süt proteinlerini hidrolize edebilen ve biyoaktif peptitleri salma yeteneğine sahip destek kültürlerin kullanımı, peynir üretiminde önemli bir proses aşaması veya kontrol yöntemi olarak kabul edilmektedir. Destek starter kültürlerin kullanımı, süt endüstrisinde yaygın ve uygulaması kolay bir yöntem olsa da peynirin peptit profilini birinci derecede etkileyen kültürün seçimi hem biyoaktif peptitleri oluşturma potansiyeli taşıması hem de ürünün duyuusal karakteristiklerini olumsuz etkilememesi açısından stratejik öneme sahiptir (Baptista vd., 2020; Kocak vd., 2020; Ong vd., 2007).

Yapılan çalışmalarda *Lb. delbruckii* subsp. *bulgaricus*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris* (Gobbetti vd., 2000) *Lb. rhamnosus* (Hernandez-Ledesma vd., 2004), *S. thermophilus* ve *Lc. lactis* subsp. *lactis*'in (Ashar ve Chand, 2004) Cheddar peyniri üretiminde kullanımıyla ACE inhibitör peptitlerin açığa çıktığı, düşük yağlı probiyotik peynir (Festivo) üretiminde *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Propionibacterium*, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarının kullanımıyla biyoaktif peptitlerin üretildiği (Ryhanen vd., 2001), farklı probiyotik destek kültürlerin kullanımının Cheddar peynirinde yüksek konsantrasyonda ACE inhibitör peptitler üretilmesini sağladığı bildirilmiştir (Ong vd., 2007).

Songisepp vd. (2004) peynir üretiminde starter kültürlerle ilave olarak kullanılan probiyotik *Lb. fermentum* suşunun proteolitik aktivitesi sonucu kazein kaynaklı çok sayıda peptit açığa çıkardığını, probiyotik peynirlerin starter kültür kullanılarak üretilen peynirlere kıyasla depolama süresince antioksidan aktivitelerinin daha fazla arttığını belirtmişlerdir.

Peynirlerde proteolitik ve otolitik özelliği yüksek suşların kullanımının ACE inhibitör peptit içeriğini artırdığını, artan olgunlaşma süresi ve yüksek olgunlaşma sıcaklığının da bu peptitlerin konsantrasyonlarının artmasını sağladığı, dolayısıyla ACE inhibitör aktivitenin artmasında önemli bir etkisinin olduğu bildirilmiştir (Sahingil, 2014).

Starter kültürle üretilen peynirlerin aksine geleneksel peynir çeşitleri starter kültür kullanılmadan üretildiklerinden peptit profilleri ve biyoaktif peptit içerikleri starter olmayan ancak olgunlaşma sırasında gelişen proteoliz üzerinde etkili olan doğal mikrofloraya bağlıdır (Turan, 2022). Antioksidan özellikteki peptitlerin daha çok ikincil proteoliz sırasında açığa çıktığı, bu nedenle zengin mikrofloraya sahip peynirlerde daha fazla sayıda antioksidan peptit açığa çıktığı bildirilmiştir (Mushtaq vd., 2016). Peynirlerin peptit profillerinin yanı sıra mikrobiyotalarının belirlenmesi ve gerçekleşen proteolizin daha detaylı şekilde incelenmesiyle, biyoaktif peptit üretiminde kullanılacak yeni mikroorganizmaların keşfedilebileceği bildirilmiştir (Turan, 2022).

2.2.3. Sütün Pıhtılaşması

Peynir üretiminin en temel aşaması sütün pıhtılaştırılmasıdır. Sütün pıhtılaşması süte enzim ilavesi, asitlendirme, ısı işlem uygulaması veya bu yöntemlerin birlikte kullanılması

sonucu protein fraksiyonlarının stabilizasyonunun bozularak sütün sıvı halden jel haline geçmesi olarak tanımlanmaktadır (Fox, 1989). Yaygın olarak üretilen Cheddar, Gouda, Emmental, Parmesan, Beyaz Peynir, Feta, Mozzarella gibi süte pıhtılaştırıcı enzim ilave edilerek üretilen rennet-pıhtı peynirleri toplam peynir üretiminin % 77'sini oluşturmaktadır (Fox ve McSweeney, 1996). Sütü pıhtılaştırıcı enzimler hidrolazlar ana grubuna dahil olan endopeptidazlardan olup hayvanlardan, bitkilerden ve mikroorganizmalardan elde edilmektedirler. Peynir üretiminde süt emme döneminde olan geviş getiren hayvanların şirdeninden elde edilen kimozi/pepsin (90/10) içeriğindeki rennet enzimi yaygın olarak kullanılmaktadır. Kimozi (EC, 3.4.23.4) süt proteini κ -kazeini fenilalanin-metionin (105-106) peptit bağından kırarak çözünmeyen para- κ -kazeini oluşturmada ve sütü pıhtılaştırmaktadır. Kimozi bu işlem için çok spesifik olup aşırı bir proteoliz oluşturmadan proteinle peptitler arasında uygun oranı sağlamada ve olgunlaşma sırasında da aşırı proteolizi engellemektedir. Bunun aksine pepsin belirli bir bölgeyi hedeflemeyen proteolitik aktivitesinden dolayı rennette yüksek yüzdelerde bulunduğunda aşırı proteolize neden olarak peynirde yapısal bozukluklara ve verim kaybına neden olmaktadır (Çakmakçı vd., 2017). Süte ilave edilen pıhtılaştırıcı enzimler büyük oranda peyniraltı suyu ile ayrılmada ve bu enzimlerin ancak % 0-15 kadarı pıhtıda kalmaktadır (Sousa vd., 2001). Pıhtıda kalan enzim kaynağı ve miktarına bağlı olarak, peynirin olgunlaşması sırasında farklı kazein fraksiyonlarını hidrolize ederek peynirlerin duysal ve fonksiyonel özelliklerine önemli ölçüde etki etmektedir (Barac vd., 2016; Fox ve McSweeney, 1996).

Peynir endüstrisinde yaygın olarak kullanılan pıhtılaştırıcıların ana bileşeni olan kimozinin peynir pıhtısındaki kalıntısı, olgunlaşmanın başında α_s1 -kazeinin fenilalanin-fenilalanin (23-24) bağı ve β -kazeininin lösin-tirozin (192-193) bağıni hidrolize etmektedir (Ardö vd., 2017). Bu hidroliz sonrasında sırasıyla biyoaktif özelliğe sahip α_s1 -kazeinin (1-23) ve β -kazeininin (193-209) peptitlerinin salınmasını sağladığı, (Birkemo vd., 2009; Lahov vd., 1996; Rojas-Ronquillo vd., 2012) ve ayrıca geleneksel rennette az miktarda bulunan pepsin enziminin kazeini hidrolizi sonucu güçlü kan basıncını düşürme etkileri olan iki peptidi (RYLGY ve AYFYPEL) serbest bıraktığı bildirilmiştir (Contreras vd., 2009).

Pıhtılaştırıcının proteoliz üzerindeki etkisi düşünüldüğünde, pıhtılaştırıcı seçiminin biyoaktif peptit çeşitliliğini etkileyebileceği açıktır (Baptista ve Gigante, 2021). Timon vd. (2019) farklı pıhtılaştırıcıların (hayvansal rennet, mikrobiyal pıhtılaştırıcı ve bitki kökenli

bir pıhtılaştırıcı olan *C. cardunculus*) sert peynirin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkilerini inceledikleri çalışmada, mikrobiyal kökenli pıhtılaştırıcıdan elde edilen peynirlerde daha yüksek antioksidan aktivite bulunduğunu bildirmişlerdir. Keçi sütünün *C. cardunculus* proteazı kullanarak pıhtılaştırıldığı peynir benzeri bir sistemde β -kazein sekansının 190-191 (lösin-tirozin) bağının yıkımı ile elde edilen peptitlerin ABTS bağlama aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir (Silva vd., 2006). Yaygın kullanılan hayvansal rennetlere kıyasla bitkisel pıhtılaştırıcılar içerdikleri proteazlarla çeşitli biyoaktif peptitlerin üretimi için önemli bir potansiyele sahiptir.

Sütü pıhtılaştırmada kullanılabilecek bitkisel kaynaklı enzimlerle ilgili çeşitli araştırmalar mevcuttur. Yapılan çalışmalarda *Onopordum turcicum* (Tamer, 1993), kiwifruit (*Actinidia chinensis* Deliciosa) (Puglisi vd., 2014), *Solanum elaeagnifolium* (Chavez-Garay vd., 2016), *C. cardunculus* (Abd El-Salam vd., 2017) ve farklı çok sayıda bitkinin (Say ve Güzeler, 2016) süt pıhtılaştırma özelliği araştırılmıştır. Halihazırda hayvansal rennet ile ilgili dezavantajların (arz eksikliği, yüksek maliyet, dinsel ve etik faktörler, diyet) ve bazı ülkelerde rekombinant buzağı mayasının kullanım kısıtlarının bulunması bitkisel pıhtılaştırıcılara olan ilgi ve talebi artırmaktadır (Shah vd., 2014).

Bitkisel proteazların genellikle aspartik proteaz grubunda yer aldığı, bazı sistein ve serin proteaz grubundaki enzimlerin de uygun koşullarda aspartik proteazlar gibi sütü pıhtılaştırabildiği bilinmektedir. Bitkisel enzimlerin, bazı durumlarda aşırı proteolitik aktiviteye gösterdiğinden, elde edilen pıhtıda düşük randımana neden olma, olgun peynirde lezzet (acılık) ve tekstür (yumuşama) kusurlarına yol açma ihtimalleri vardır (Shah vd., 2014). Bitkisel proteazların aktivitesi kontrol edildiğinde peynirdeki kusurların minimize edilmesi buna bağlı olarak süt kaynaklı yeni biyoaktif peptitlerin elde edilme potansiyeli bulunmaktadır.

Ülkemizde ticari peynir üretiminde bitkisel pıhtılaştırıcı kullanılmamaktadır. Ancak *C. cardunculus* L. (yabani enginar) bitkisinin kurutulmuş çiçeklerinden elde edilen proteaz, diğer bitkisel proteazlardan farklı olarak, yüzyıllardır farklı coğrafyalarda geleneksel peynirlerin üretiminde kullanılmaktadır. Ticari üretimi de yapılan bu pıhtılaştırıcı, Akdeniz ülkelerinde, çoğunlukla koyun, keçi gibi küçükbaş hayvan sütlerinden üretilen peynirlerde kullanılmaktadır (Shah vd., 2014). Farklı ticari kültürler ve yabani enginar (*C. cardunculus*)

ekstraktı kullanılarak üretilen keçi peynirlerinin fizikokimyasal ve tekstürel özelliklerinin incelendiği bir çalışmada, farklı starter kültürlerin peynirlerin kurumaddeleri, asitlikleri, azot fraksiyonları ve sertlikleri üzerine etkili olduğu bulunmuş, mezofilik starter kültürlerin sert peynirler üreterek peynirlere doğru asitlenme hızı ve düşük pH değerleri sağladığını, termofilik starter kültürlerin daha az sert peynirler ürettiği, karışık starter kültürlerin ise proteoliz seviyesi daha düşük peynirlerin elde edilmesine neden olduğu bildirilmiştir (Garcia vd., 2014). Ülkemizde yapılan bir çalışmada farklı sıcaklıkta ısıl işlem uygulanmış inek sütlerinden yabancı enginar (*C. cardunculus*) özütü, hayvansal rennet ve bunların karışımları kullanılarak üretilen beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince α -kazein ve β -kazein parçalanmasının hayvansal rennet kullanılarak üretilen peynirlere kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Göncü-Sürü, 2009). Bitkisel kaynaklardan elde edilen enzimlerin sütü pıhtılaştırma özellikleri, enzimin bitkinin hangi kısmından (kök, gövde, yaprak, çiçek veya özüt) elde edildiğinin yanında ekstraksiyon yöntemi, kullanım şekli, pıhtılaştırılan sütün özellikleri ve pıhtılaşma koşulları gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Say ve Güzeler, 2016). Dolayısıyla peynirlerde proteoliz boyunca rennine kıyasla kazein fraksiyonlarına farklı etkileri olan ve yeni biyoaktif peptitleri oluşturma potansiyeli bulunan bitkisel pıhtılaştırıcı enzimlerin araştırılması ve peynir üretiminde kullanımının optimize edilmesi önem arz etmektedir.

2.2.4. Depolama ve Olgunlaştırma

Peynir olgunlaşması süresince gerçekleşen en karmaşık ve en önemli biyokimyasal reaksiyon proteolizdir. Peynir üretimi ve depolanması süresince proteoliz; sütün doğal mikroflorası, süte uygulanan ısıl işlem, pıhtının pH'sı, pıhtılaştırıcı enzimler (hayvansal, bitkisel, mikrobiyal ve rekombinant proteazlar), sütün doğal enzimleri (plazmin ve çok az katepsin D ve diğer somatik hücre proteazları), LAB enzimleri, NSLAB enzimleri, *Penicillium*, *Propionibacterium*, *Brevibacterium* vb ikincil kültür suşlarının enzimleri, peynir olgunlaşmasını hızlandırmak amacıyla dışarıdan katılan proteinaz ve peptidazlar ile olgunlaştırma koşulları (tuz/su oranı, nem oranı, depolama süresi ve sıcaklık) gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Fox ve McSweeney, 1996; Park ve Jin, 1998; Sousa vd., 2001). Genel olarak proteolizin birinci aşamasında kazein önce pıhtılaştırıcı enzimler ve sütün doğal enzimleri tarafından büyük molekül ağırlığına sahip peptitlere, daha sonra LAB, NSLAB enzimleri ile de düşük molekül ağırlığına sahip peptitlere parçalanmaktadır.

Proteolizin ikinci aşamasında ise oluşan peptitlerin yine LAB, NSLAB ve diğer mikroorganizmaların peptidazları tarafından serbest amino asitlere kadar parçalanarak peynir olgunlaşmaktadır (Sousa vd., 2001). Proteoliz sonucu her peynirin karakteristik peptit profilini oluşturan peptitlerden ACE inhibitörü (Ong vd., 2007; Torres-Llanez vd., 2011; Vermeirssen vd., 2004) veya antioksidan (Abadia-Garcia vd., 2013; Ahmed vd., 2015; Gupta vd., 2009; Timon vd., 2014) gibi biyolojik aktivitesi olanlar biyoaktif peptit olarak tanımlanmaktadır.

Peynir kültüründe bulunan mikrobiyal enzimlerin proteolitik aktivitesi sonucu doğal olarak meydana gelen biyoaktif peptitleri içermesinden dolayı bazı olgunlaşmış peynir çeşitlerinin doğal olarak fonksiyonel peptitlerin olduğu gıdalara iyi bir örnek olabileceği bildirilmiştir (Meisel, 2004). Al-Dhaheri vd. (2017), az yağlı Akawi peynirlerde antihipertansif aktivitenin olgunlaşmanın etkisiyle ACE inhibitör aktivitesinde artış gözlemlendiğini belirtmişlerdir. Olgunlaşmanın etkisiyle mozzarella peynirinde antihipertansif aktivitenin arttığı (Ayyash vd., 2011) bildirmiştir. Peynirin olgunlaşma süresi ve sıcaklığı peptitlerin üretimine ve biyoaktivitelerine büyük ölçüde katkıda bulunmaktadır (Ryhanen vd., 2001; Ong ve Shah, 2008). Ancak çok uzun süren olgunlaşma periyodunda ileri proteoliz reaksiyonlarından dolayı açığa çıkan biyoaktif peptitlerin inaktif olabileceği bildirilmiş (Meisel vd., 1997), bu durum keçi peynirinde 60 günlük olgunlaşmaya kadar ACE inhibitörü ve antioksidan aktivitelerinde bir artış, ardından bu süreden sonra biyoaktivitelerde bir azalma şeklinde Kocak vd. (2020) tarafından rapor edilmiştir. Benzer şekilde olgunlaştırılmış peynirlerde antihipertansif peptit üretimi ile proteoliz düzeyi arasında pozitif bir ilişkinin olduğu, ancak daha sonra proteoliz belli bir seviyeyi aştığında biyoaktivitenin azaldığı belirtilmiştir (Conlin vd., 2000; Lopez-Fandino vd., 2006; Pripp vd., 2006). Sieber vd. (2010) orta derecede olgunlaştırılmış peynirlerin daha yüksek ACE inhibitör aktivitesine sahip olduğunu bildirmiş, Choi vd. (2012) orta derecede olgunlaştırılmış Gouda peynirinin, daha uzun süre olgunlaştırılanlardan 2 kat yüksek ACE inhibitör aktivite değerine sahip olduğunu bulmuşlardır. Peptitlerin, peynir olgunlaşması sırasında parçalanması sonucu daha düşük ACE inhibitör aktiviteye sahip peptit ve amino asitlere dönüşebileceği ve ACE inhibitör aktivite değerinin azalabileceği bildirilmiştir (Gonzalez-Gonzalez vd., 2019; Gupta vd., 2013; Meira vd., 2012). Yapılan çalışmalar, her bir peynir çeşidinde maksimum biyoaktivite seviyelerini elde etmek için gereken olgunlaşma sürelerinin belirlenmesi, her bir olgunlaşma faktörünün etkilerinin, özellikle sürece dahil

olan farklı enzim kaynaklarının dikkate alınması ve kontrol edilmesi ihtiyacını ortaya koymaktadır.

Olgunlaşmanın farklı seviyelerinde peptitlerin biyoaktivite değişimleriyle ilgili çeşitli çalışmalar mevcuttur (Baptista vd., 2018; Bütikofer vd., 2007; Ong vd., 2007; Saito vd., 2000). Peynir üretiminde kullanılan farklı proses işlemlerinin peynirin olgunlaşması sırasında oluşan peptit profili üzerine etkilerinin anlaşılmasının, peynirlerde daha yüksek biyoaktiviteye ulaşılması için önem arz ettiği bildirilmiştir (Baptista vd., 2018). Bununla birlikte peynir örneklerinde bulunmayan biyoaktif sekansların, gastrointestinal sindirim sırasında (Baptista vd., 2020; Sanchez-Rivera vd., 2014), enzim hazırlama, sıcaklık, pH ve inkübasyon süresi ve erişilen proteoliz seviyesine bağlı olarak salınabileceği, gastrointestinal sindirim koşullarının peptit biyoaktivitelerini etkileyebileceği bildirilmiştir (Vermeirssen vd., 2003). Biyolojik olarak erişilebilir peptitler, sindirim sistemindeki spesifik reseptörlerle etkileşim yoluyla gastrointestinal kanalda lokal işlevsellik gösterebilir veya bağırsakta emilerek hedef organlarda veya dokularda fizyolojik bir işlevde kullanılmak üzere iletilebilirler (Fernandez-Tome, 2020; Guerra vd., 2012). Peynirlerde biyoaktif peptitlerin salınması ile ilişkili faktörlerin daha iyi anlaşılması, peynirlerde biyoaktivite gelişimini en üst düzeye çıkarmak için kullanılacak teknolojik stratejilere öncülük etmesine rağmen, peynirlerin gerçek biyoaktif potansiyelini belirlemek için peptitlerin gastrointestinal geçiş sırasında modifikasyonlarını incelemenin gerekli olduğu bildirilmiştir (Baptista ve Gigante, 2021). Sindirim sırasında proteinler ve peptitler pepsin, tripsin, kimotripsin ve bağırsak epitel hücrelerinde bulunan peptidazlar gibi enzimler ve mikrobiyota faaliyetlerinin etkisiyle hidrolize edilerek çeşitli zincir boyutlarında peptitlerin salınmasına neden olmaktadır (Picariello vd., 2013). Böylece, peynirlerin mide-bağırsak sindirimi hem gıdada bulunan proteinlerden ve peptitlerden yeni biyoaktif peptitlerin salınması hem de biyoaktif peptitlerin hidrolizi ile biyolojik olarak aktif olmayan sekansların salınmasına yol açarak biyolojik aktiviteyi önemli ölçüde etkileyebilmektedir (Sanchez-Rivera vd., 2014). Peynirlerin gastrointestinal sindirimi sırasında biyoaktif peptit profilinde meydana gelen değişiklikleri belirlemek için *in vitro* gastrointestinal sindirimi simüle eden statik ve dinamik modeller kullanılarak çeşitli çalışmalar yapılmıştır (Baptista vd., 2020; Basirico vd., 2015; Cattaneo vd., 2017; Egger vd., 2021; Pepe vd., 2016; Sanchez-Rivera vd., 2014; Stuknyte vd., 2015; Turan ve Durak, 2022). Peynirlerde biyoaktif peptitlerin salınma mekanizmalarının, bu peptitlerin oluşumu ve stabilitesi ile ilişkili çeşitli faktörlerin daha iyi anlaşılmasıyla, peynir

sindirim kinetiğinin incelenmesi ve gastrointestinal sindirim sırasında peptitlerin hidrolizi ve biyoaktif peptitlerin salınması ile ilgili yeni araştırma konuları önem kazanmıştır (Baptista ve Gigante, 2021).

2.3. Keçi Peynirinde ACE İnhibitör ve Antioksidan Peptitler

Fermente ürünler arasında peynir ACE inhibitör peptitlerin önemli kaynaklarından (Akan, 2020). Peynirlerde biyoaktif peptitler starter ve NSLAB'nin faaliyeti yanında rennet enzimi etkisiyle açığa çıkmakta ve potansiyel antioksidan ve ACE inhibitörleri olarak etki göstermektedirler (Smacchi ve Gobetti, 1998). ACE inhibitör aktivitenin peynir üretimi ve olgunlaşması sırasında devam eden proteoliz, biyoaktif ve biyoaktif olmayan peptitlerle güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bildirilmiştir (Ong ve Shah, 2008). Peynirdeki biyoaktif peptitlerin enzimle aktivasyonu üzerine, üretimde kullanılan süt kaynağı ve üretimde uygulanan teknolojik işlemler ile proteolize dahil olan bakterilerin suş seçiminin etkili olduğu belirtilmiştir (Gupta vd., 2009).

Özellikle kazein kaynaklı peptitler antioksidan aktivite göstermektedir (Power vd., 2013). Sommerer vd. (2001) keçi peynirinde 26'sı kazein kaynaklı olmak üzere 28 küçük peptit tanımlamışlardır. Kazein, oksijen ve azot reaktif türlerini veya serbest radikalleri süpürücü farklı mekanizmaları ile peynirde antioksidan aktiviteden sorumlu tutulmaktadır (Sarmadi ve Ismail, 2010). Kazeinlerin antioksidan mekanizması, kazeindeki amino asitlerin oksidasyonu yoluyla serbest radikalın su kaybetmesi olarak açıklanmaktadır (Barac vd., 2017). Antioksidan ve ACE inhibitör aktivite bu peynirlerin protein içeriğine, peynir çeşidine, olgunlaşma süresi ve koşullarına göre değişmektedir (Meisel, 1997). Yapılan çalışmalarda ticari peynirlerde antimikrobiyal (Fialho vd., 2018; Pritchard vd., 2010; Rizzello vd., 2005), opioid (De Noni vd., 2015; Sienkiewicz-Szlapka vd., 2009), antioksidan (Pritchard vd., 2010; Silva vd., 2012), mineral bağlama (Silva vd., 2012), antihipertansif (Saito vd., 2000) ve ACE inhibitör (Baptista vd., 2020; Basirico vd., 2015; Cattaneo vd., 2017; Egger vd., 2021; Lu vd., 2016; Pepe vd., 2016; Pritchard vd., 2010; Sanchez-Rivera vd., 2014; Stuknyte vd., 2015;) aktivite etki gösteren peptitlerin oluşumunda etkili olan faktörler rapor edilmiştir. Bununla birlikte peynirin kompleks protein matriksi ve peynirde proteoliz süresi boyunca sürekli olarak yeni peptitlerin oluşması nedeniyle peptitlerin

ayrılmasının ve tanımlanmasının sorun oluşturabileceği bildirilmiştir (Akan, 2020; Barac vd., 2017).

Kocak vd. (2020) keçi sütünden salamura Beyaz peynir üretiminde *Lactococcus* kültür suşlarına destek kültür olarak *Lactobacillus* suşlarını kullandıkları çalışmada; üretimde kullanılan yardımcı kültürlerin biyoaktif peptitlerin açığa çıkmasını sağladığını, peptitlerin antioksidan ve ACE inhibitör aktivitelerinin kullanılan kültürlerin suşuna bağlı olduğunu belirlemişlerdir. En yüksek ACE inhibitör aktivite *Lb. casei* içeren peynirde, en yüksek antioksidan aktivite ise *Lb. bulgaricus* içeren peynirde elde edilmiştir. Keçi sütü kullanılarak salamura Beyaz peynir üretiminde destek kültür kullanımının, azotlu bileşikler dışında peynir pH'sını ve genel kimyasal bileşimi önemli ölçüde etkilemediği bildirilmiştir. Peynir üretiminde destek kültür kullanımının, depolamanın 60. gününe kadar suda çözünen azotlu bileşiklerdeki artışla beraber ACE inhibitörü ve antioksidan aktivitelerde de bir artışa yol açtığı rapor edilmiştir.

Silva vd. (2006) *C. cardunculus* proteazı kullanarak pıhtılaştırdıkları çiğ keçi sütünün suda çözünür ekstraktında, pastörize edilen sütlerden elde edilen ekstraktlardan daha yüksek ACE inhibitörü aktivitesi bulmuşlardır. Aynı çalışmada β -kazein kaynaklı tirozin-glutamin-glutamikasit-prolin, valin-prolin-lizin-valin-lizin ve tirozin-glutamin-glutamikasit-prolin-valin-lösin-glisin-prolin peptitlerin ve α_{s1} -kazein kaynaklı arjinin-prolin-lizin ve arjinin-prolin-lizin-histidin-prolin-izolösin-lizin-histidin peptitlerinin ACE inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Gomez-Ruiz vd. (2004) önceki çalışmalarında Manchego peynirinin HPLC fraksiyonlarında tanımladıkları (Gomez-Ruiz vd., 2002) 11 peptit sekansını laboratuvar koşullarında sentezlemişler ve VRYL ve KKYNVPQL sırasıyla peptit sekanslarının 24,1 ve 77,1 μ M IC50 değerlerinde, en yüksek ACE inhibitör aktiviteyi gösterdiklerini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada sentezlenen peptitlerin ACE inhibitör aktivitesi üzerine *in vitro* gastrointestinal sindirimin etkisi de değerlendirilmiş, buna göre seçilen peptitlerin bazıları, pepsin ve ardından pankreas ile hidrolize direnç gösterdiği bulunmuştur. *In vitro* sindirimi sonrası α_{s2} -kazein kaynaklı TQPKTNAIPY (195-204) peptit sekansının aktivitesinin 6 kat arttığı, VRYL ve KKYNVPQL peptit sekanslarının aktivitelerinin kısmen

azaldığı ve diğer peptitlerin ACE inhibitör aktivitelerinde büyük oranda değişim gözlenmediği bildirilmiştir.

Norveç'te üretilen Gamalost ve Norvegia peynirlerinin pH 4,6'da çözünen fraksiyonlarının *in vitro* gastrointestinal modelde mide ve bağırsak sindirimi boyunca ACE inhibitör aktivitelerindeki değişimler araştırılmıştır (Quershi vd., 2013). Çalışmada hem Gamalost hem de Norvegia peynirinin mide sindirimi boyunca ACE inhibitör aktivitesinin arttığı belirlenmiştir. Ancak oniki parmak bağırsağında sindirim sonrasında Gamalos peynirinin ACE inhibitör aktivitesinin değişmediği, Norvegia peynirinin ise belirgin bir şekilde yüksek ACE inhibitör aktivitesi gösterdiği belirtilmiştir.

Barac vd. (2016) keçi sütüne 90 °C 10 dk ısı işlem uygulayarak hazırladıkları salamura peynirde 50 günlük depolama sonunda suda çözünen ve suda çözünmeyen protein fraksiyonlarının toplam antioksidan kapasitelerinin (TEAC) arttığını belirlemişlerdir. Aynı çalışmada araştırmacılar taze peynirin suda çözünen fraksiyonun, suda çözünmeyen fraksiyona göre toplam antioksidan kapasitesinin yaklaşık üç kat yüksek olduğunu, ortalama toplam antioksidan kapasitelerinin sırasıyla 34,62 mM troloks/kg ve 12,74 mM troloks/kg olarak bulunduğunu, depolama ile antioksidan kapasitelerin arttığını bildirmişlerdir.

Pastörize inek ve keçi sütünden üretilen Valdeon peynirinde *in vitro* sindirim öncesi ve sonrası peptitler izole edilerek peptit profilleri belirlenmiş ve antihipertansif ve antioksidatif biyoaktif peptitler tanımlanmıştır (Sanchez-Rivera vd., 2014). Bu çalışmada özellikle β -kazein (60–93, 128–140 ve 193–209) olmak üzere fosfoserinlerin bulunduğu, β -kazein (30–46) ve α_{s1} -kazein (40–55 ve 109–118) kaynaklı *in vitro* sindirime dirençli biyoaktif peptitlerin varlığı rapor edilmiştir.

Barac vd. (2019) keçi ve inek sütlerinden ısı işlem uygulaması (90° C'de 10 dk) öncesi sütü 4° C sıcaklıkta kimozen ile muamele ederek ürettikleri peynirlerin suda çözünen ve suda çözünmeyen fraksiyonlarında *in vitro* sindirimi öncesi ve sonrasında antioksidan kapasitelerini (TEAC) belirlemişlerdir. Keçi peynirlerinin suda çözünür fraksiyonlarında antioksidan aktivitenin daha yüksek olduğu, ancak suda çözünmeyen fraksiyonlar bakımından depolanmış inek peynirlerinin daha yüksek değerler aldığı bildirilmiştir. *In vitro* sindirim ile peynirlerin suda çözünür fraksiyonlarının antioksidan aktivitesinin bir miktar

arttığı ancak suda çözünmeyen fraksiyonların TEAC değerlerinin *in vitro* sindirimle iki katından fazla arttığı rapor edilmiştir.

Hernandez-Galan vd. (2017) pastörize süttten starter kültür kullanmadan ürettikleri keçi peynirlerinde; pH 4,6'da çözünen azot, protein olmayan azot ve % 70 etanolde çözünen azot fraksiyonlarında önemli antioksidan aktivite belirlediklerini, protein olmayan azot fraksiyonlarında (% 62,89) pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonuna (% 22,11) göre daha yüksek DPPH radikal bağlama aktivitesi bulunduğunu bildirmişlerdir.

Öztürk ve Akın (2018) inek ve keçi sütü kullanarak ürettikleri Tulum peynirlerinin suda çözünür fraksiyonlarında en yüksek peptit sayısını (>500 mAU) tüm peynirlerde depolamanın 120. gününde belirlemişler ve keçi sütünden üretilen Tulum peynirinin daha yüksek sayıda peptit içerdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada depolama süresi boyunca gerçekleşen proteoliz ile peptit sayılarının arttığı ve keçi Tulum peynirinden elde edilen peptit ekstraktlarında DPPH değerlerinin daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir.

Turan (2022), Erzincan tulum, Kars Gravyer, İzmir Tulum, Mihaliç, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirlerinin ACE inhibitör, antioksidan ve antibakteriyel aktivitelerini incelediği çalışmasında peynirlerin suda çözünen ekstraktlarını 3 kDa ayırma sınırı olan filtrelerden geçirmiş ve *in vitro* sindirimin etkilerini araştırmıştır. Tüm peynir çeşitleri için ACE inhibitör aktivitenin alt fraksiyonlarda yoğunlaştığını ancak *in vitro* sindirim sonrası ACE inhibitör aktivite değerlerinde azalma olduğunu, bu aktivite kaybının fraksiyonların içerisinde bulunan ACE inhibitör aktiviteye sahip peptitlerin *in vitro* sindirim nedeniyle daha küçük peptitlere ve amino asitlere parçalanmasından kaynaklanabileceğini bildirmiştir. Tüm peynirler arasında sindirim sonrası en yüksek ACE inhibitör ve antioksidan aktiviteyi keçi peynirinin gösterdiği bildirilmiştir.

Farklı tür hayvanların yaz ve kış sezonu sütlerinden üretilen peynirlerde antioksidan kapasitelerin araştırıldığı bir çalışmada, olgunlaşmanın başında en yüksek antioksidan aktivite keçi sütünden üretilen peynirde belirlenmiştir (Revilla vd., 2016). Aynı çalışmada araştırmacılar, yaz sütü ile yapılan keçi peynirlerinde depolama başlangıcından sonraki ilk ayda çok belirgin antioksidan aktivite artışı olduğunu, 4. aya kadar az miktarda artış olduğunu ancak depolamanın 5. ayında antioksidan aktivitelerde keskin bir düşüş olduğunu

bulmuşlardır. 6 aylık olgunlaşma sonunda koyun peynirlerinin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu, onu sırasıyla keçi ve inek peynirinin takip ettiği bildirilmiştir.

Yılmaz Kısak (2021) koyun ve keçi sütü kullanarak ürettiği İzmir Tulum peynirlerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonlarında ACE inhibitör ve antioksidan aktivite özelliklerini belirlemiştir. Koyun sütü kullanılan peynirin depolama başlangıcında, keçi sütü kullanılan peynire göre daha yüksek ACE inhibitör aktiviteye sahip olduğu ancak artan depolama süresi ile peynirler arasındaki farkın azaldığı, her iki peynirin ACE inhibitör aktivitesinin 150 günlük depolama sonunda en yüksek değere ulaştığı bildirilmiştir. Antioksidan aktivitenin (ABTS) her iki peynir çeşidi için depolama ile artış gösterdiği, ancak peynirlerin DPPH radikalini süpürme kapasitesinde depolama boyunca artış ve azalışlar görüldüğü, İzmir Tulum peynirinde antioksidan aktiviteyi peynir çeşidi ve depolama süresinin birlikte önemi derece etkilediği belirlenmiştir.

Vazquez-Garcia vd. (2021) pastörize keçi sütünden ürettikleri geleneksel Meksika keçi peynirlerinin protein olmayan azot ve pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonlarında 90 günlük depolama boyunca antioksidan kapasitelerini (DPPH) incelemiştir. Çalışmada her iki fraksiyonda depolama (13-14 °C) başlangıcından itibaren antioksidan aktivite belirlenmiştir. Protein olmayan azot fraksiyonunda olgunlaşma boyunca daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği, antioksidan aktivitenin 55. günden sonra önemli ölçüde arttığı, buna karşın asitte çözünen fraksiyonda önemli değişiklikler olmaksızın tüm olgunlaşma süresi boyunca aynı kaldığı bildirilmiştir.

Sulejmani vd. (2020) farklı sütlerden ürettikleri Beyaz Peynir, Beaten ve Kashkaval peynirlerinden geleneksel Makedonya peyniri olan Beaten peynirini sade ve otlu (*Origanum vulgare*) olarak keçi sütünden üretilen ACE inhibitör ve antioksidan aktivitelerini belirlemiştir. Telemesi 95° C'de 20 dk haşlanan ve salamurada 2 ay olgunlaştırılan bu sade ve otlu peynirlerde sırasıyla antioksidan aktiviteler (DPPH) % 79,53-111,25; ACE inhibitör aktiviteler % 98,72-85,48 olarak bulunmuştur.

Halıcı Demir (2021) pastörize koyun, keçi ve inek sütleri ile Edirne Beyaz Peyniri üretmiş ve 180 günlük depolama süresince peynirlerin suda çözünür fraksiyonlarında ACE inhibitör ve antioksidan aktivite değerlerini belirlemiştir. Depolamanın ilk 90 gününde keçi

Edirne Beyaz Peyniri ACE inhibitör aktivitesinin koyun ve inek peynirlerinden yüksek olduğu bulunmuş ve keçi peynirinin depolamanın 90. gününde en yüksek ACE inhibitör aktivite değerine ulaştığı (% 76,15) belirlenmiştir. Keçi peynirinin suda çözünür fraksiyonlarının TEAC değerinin depolamanın 30. gününe kadar arttığı, depolamanın 30. ve 90. günü ile 150. ve 180. gününde belirlenen TEAC değerlerinin benzer olduğu bildirilmiştir.

Atanasova vd. (2021) pastörize keçi, koyun ve inek sütlerinden *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *S. thermophilus* starter kültürlerini kullanarak ürettikleri salamura Bulgar Beyaz Peynirlerinde 60 günlük olgunlaşma sonrasında oluşan biyoaktif peptitler belirlemişlerdir. Yapılan MALDI-TOF analizi sonucunda, inek peynirlerinde 51, koyun peynirlerinde 31 ve keçi peynirlerinde 22 peptit tanımlanmıştır. Keçi peynirinde α_{s1} -kazein (1-9 ve 24-30) ve β -kazein kaynaklı (194-209 ve 203- 219) fragmanların yoğunlukta olduğu, belirlenen biyoaktif peptitler arasında α_{s1} -kazein kaynaklı 6, β -kazein kaynaklı 1 ACE inhibitör peptit olduğu rapor edilmiştir.

Ogunlade vd. (2019) keçi sütünden *Calotropis procera*, *Carica papaya*, limon suyu ve tahıl (mısır, darı ve sorgum) olmak üzere farklı biyokoagülantlar kullanarak yumuşak keçi peyniri üretmişler ve peynirlerin antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Peynirler arasında *Carica papaya* ile pıhtılaştırılmış peynirin en yüksek DPPH indirgeme (% 1,93) ve limon suyu ile pıhtılaştırılan peynirin en yüksek FRAP değerine (10,31 mg AAE/g) sahip olduğu bulunmuştur.

Lopez-Villafana vd. (2023) pastörize inek ve keçi sütlerinden ürettikleri peynirlerin 28 günlük depolama süresince suda çözünür fraksiyonlarında % 11,59 ile % 83,11 aralığında DPPH inhibisyonu belirlemişler ve keçi peynirlerinin inek peynirlerine kıyasla daha güçlü olan antioksidan aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Peynirlerde belirlenen antioksidan aktivitenin suda çözünür peptit ekstraktında bulunan peptitlerle % 92 oranında ilişkili olduğu rapor edilmiştir.

Peynirlerde biyoaktif peptitlerin biyoerişilebilirlikleri ve biyoyararlılıkları başta proteinlerin kaynağı olan sütün protein fraksiyonları olmak üzere, proteolizi etkileyen peynir üretim basamakları ve sindirim ile şekillenen karmaşık bir süreçtir. Biyoaktif peptitlerin oluşum sürecinde sindirim aşaması kritik öneme sahiptir; çünkü sindirime giren peynirin

içerdiği peptit dizileri sindirim enzimlerinin aktivitesiyle değişmektedir. Bunun sonucunda; bazı peptitler parçalanarak aktivitesi daha yüksek veya daha düşük peptitlere dönüşmekte, bazı peptitler aktivitesini tamamen kaybetmekte, daha önce biyoaktif özellik göstermeyen peptit dizileri içinde şifrelenen sekanslar açığa çıkarak biyoaktif özellik gösterebilmektedir. Dolayısıyla peynirlerin gerçek biyoaktif potansiyelini belirlemek için peptitlerin gastrointestinal geçiş sırasında modifikasyonlarını incelemenin daha yararlı olacağı düşünülmüştür. Literatürde keçi peynirleri üzerine yapılmış çalışmalarda çoğunlukla peynirlerin suda çözünen fraksiyonları veya farklı yöntemlerle ekstrakte edilmiş protein preparatlarında biyoaktif peptitlerin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri araştırılmıştır. Bu tez çalışmasında peynir kitlesinin doğrudan *in vitro* sindirilerek peptitlerinin biyoerişilebilirliklerinin belirlenmesi literatüre önemli katkı sağlama potansiyeline sahiptir. Bununla birlikte farklı enzim içeriğiyle geleneksel hayvansal pıhtılaştırıcılara göre peptitlerin biyoerişilebilirliklerini önemli derecede etkileme potansiyeli bulunan bitkisel kaynaklı enzim kullanılması ve serum proteinlerinin denatüre olmasına bağlı olarak sindirime giren protein profilinin önemli ölçüde değişimine neden olan yüksek sıcaklıkta ısı işlem uygulaması ile çalışmada araştırılan diğer faktörlerin (starter kültür ilavesi ve depolama) keçi peyniri peptitlerinin *in vitro* biyoerişilebilirlikleri üzerine olan etkisinin bütüncül bir şekilde araştırılması çalışmanın önemini artırmaktadır.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Peynir Üretiminde Kullanılan Hammaddeler

3.1.1. Süt

Peynirlerin üretiminde kullanılan keçi sütleri Gökçeada'da (Çanakkale) organik tarım faaliyetleri yapan İmbroz Ltd. Şti.'den temin edilmiştir. Peynir üretim gününde sabah sağımindan elde edilen 120 kg çiğ süt, çiftlikte kaba kirlerin arındırılması amacıyla filtre edilmiş, soğutulmuş ve soğuk zincirde peynir imalathanesine nakledilmiştir. Çiğ sütün pH ve kimyasal bileşim değerleri şöyle bulunmuştur: $6,49 \pm 0,01$ pH, % $12,10 \pm 0,06$ kurumadde, % $3,50 \pm 0,03$ protein ve % $3,50 \pm 0,00$ yağ.

3.1.2. Pıhtılaştırıcı Enzim

Süt pıhtılaştırmada kullanılan hayvansal kaynaklı (buzağı şirdeni) enzim için Rumeli Maya (İstanbul) firmasından rennet; bitkisel kaynaklı enzim için ise Abiasa (Pontevedra, İspanya) firmasından *C. cardunculus* L. (Coagulante Vegetal) kaynaklı enzim tedarik edilmiştir. Ürün bilgi formlarına göre hayvansal kaynaklı enzimin aktivitesi 180 IMCU/mL, bitkisel kaynaklı enzimin aktivitesi 100 IMCU/g'dir.

3.1.3. Starter Kültür

Starter kültür olarak Danisco (Kopenhag, Danimarka) firmasından temin edilen CHOOZIT™ MA 4002 isimli *Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* + *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetyllactis* + *S. thermophilus* bakteri karışımını içeren ticari peynir kültürü kullanılmıştır.

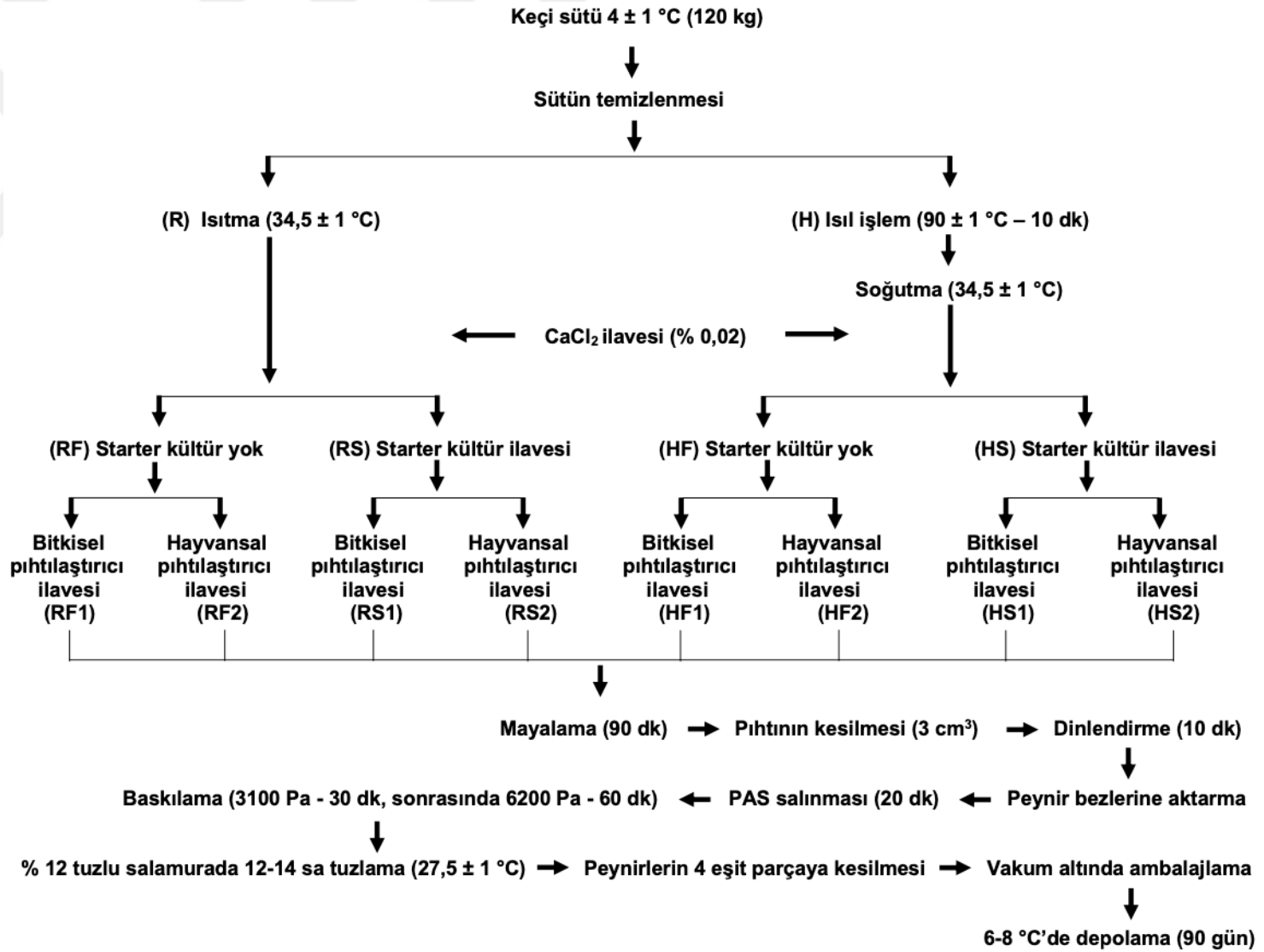
3.2. Peynir Üretimi

Peynirlerin üretimi Ekozey AŞ. Gökçeada (Çanakkale) tesislerinde iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Üretim için çiğ süt, temizlik seperatörü kullanılarak temizlendikten sonra iki gruba ayrılmıştır. Isıl işlem uygulanacak süt (H grubu) 90 °C'de 10 dk pastörize edilmiş daha sonra $34,5 \pm 1$ °C mayalama sıcaklığına soğutulmuştur. Çiğ süt (R

grubu) ise ısı işlem uygulanmaksızın doğrudan $34,5 \pm 1$ °C mayalama sıcaklığına ısıtılmıştır. Sütlere % 0,02 oranında CaCl_2 ilave edilmiştir. Sütlere starter kültür ilave edilmeyecek grup (HF ve RF) ve starter kültür ilave edilecek grup (HS ve RS) olacak şekilde her ısı işlem grubu için iki eşit miktara bölünmüştür. Starter kültür, üretimde kullanılacak kaynatılıp soğutulmuş 500 mL sütte, steril ortamda, aktiveleştirilerek ilgili gruptaki sütlere (HS ve RS) ilave edilmiştir (aktifleştirilmiş kültür sırasıyla $9,09 \pm 0,02$ ve $10,11 \pm 0,02$ log kob/mL MRS agar ve M17 agar besiyerlerinde gelişen laktik asit bakterilerini içermektedir). İlave edilen starter mikroorganizmaların süte adapte olması için yaklaşık 30-45 dakikalık ön asitlendirme (starter kültür ilave edilen örneklerin pH değeri 6,4-6,3 seviyesine gelmesi beklenmiştir) işlemi uygulanmıştır. Ön asitlendirme sonrası her alt grup süt, bitkisel (RF1, RS1, HF1, HS1) veya hayvansal (RF2, RS2, HF2, HS2) enzimle pıhtılaştırmak için tekrar ikişer gruba ayrılmıştır. Mayalama öncesinde keçi sütlerine kullanılacak enzimler için maya testi yapılmıştır. Test sonucuna göre 10 kg süt için 1,20 mL bitkisel rennet ve 1,00 mL hayvansal rennet kullanılarak mayalama işlemi gerçekleştirilmiştir. Sütlere 90 dakikada pıhtı kırım olgunluğuna gelecek şekilde mayalanmıştır. Mayalama sonucunda oluşan pıhtı, pıhtı kırma aparatlarıyla 3 cm^3 boyutlarında kesilerek bir süre bekletilmiştir. Sonrasında peyniraltı suyunu salmaya ve dibe çökmeye başlayan pıhtılar yavaş bir şekilde karıştırılmış ve pıhtı süzme bezlerine alınarak 20 dk kendi ağırlığıyla süzümüştür. Pıhtının kendi halinde süzülmesi işlemi sırasında süzme bezlerinin bağları sıkılaştırılmış ve işlem sonunda süzme bezleri sıkı şekilde bağlanarak baskı teknesine alınmıştır. Telemelere 90 dk boyunca kademeli olarak ağırlık artışıyla (ilk 30 dk yaklaşık 3100 Pa, sonraki 60 dk yaklaşık 6200 Pa) baskı uygulanarak telemelerden peyniraltı suyunun ayrılması sağlanmıştır. Elde edilen peynirler % 12 tuz oranına sahip ve $27,5 \pm 1$ °C sıcaklığındaki salamurada 12-14 s bekletilmiş ve kalıp yüzeylerinin kurumaması için bir süre salamura dışına vantilatör yardımıyla yaklaşık 1 s yüzeyleri kurutulmuştur. Tuzlanan peynirler eşit parçalara porsiyonlanarak vakum altında plastik peynir torbalarında ambalajlanmıştır. Üretilen peynirler 6-8 °C'de soğuk hava deposunda 90 gün süreyle depolanmıştır. Peynir üretim akış şeması Şekil 1'de, peynir üretimine ilişkin resimler ise Ek 1'de sunulmuştur.

3.3. Peynir Randımanlarının Belirlenmesi

Peynir randımanı 100 kg süt kullanılarak elde edilen kg peynir miktarı olarak ifade edilmiştir.



Şekil 1. Peynir üretim akış şeması

3.4. Peynir Bileşim Analizleri

Analizlerden önce peynir numuneleri rendelenmiş ve karıştırarak homojen hale getirildikten sonra analizler gerçekleştirilmiştir.

3.4.1. Kurumadde Analizi

Kurumadde analizi için gravimetrik yöntemden yararlanılmıştır (AOAC, 2010). Alüminyum kurutma kaplarına 20 g yıkanmış deniz kumu ve cam baget konularak 105 ± 1 °C 'deki etüvde (EcoCell, Münih, Almanya) sabit tartım kütesine getirilmiş ve darası alınmıştır. Bunun için tartılıp miktarı kaydedilen yaklaşık 3 g peynir, cam baget yardımıyla yıkanmış deniz kumu ile karıştırılarak kurutma kabının yüzeyine yayılmıştır. 105 ± 1 °C'deki etüvde 4-5 s kurutulan örnekler desikatörde bekletilmiş, yeterince soğuduktan sonra tartım yapılmıştır. Bu işlem birkaç kez tekrarlanarak sabit tartım veren örneklerin toplam kütesi belirlenmiştir. Sonuç Denklem 3.1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Kurumadde} = [(K_3 - K_1) / (K_2 - K_1)] \times 100 \quad (3.1)$$

K_1 = Alüminyum kabının sabit kütesi (g)

K_2 = Peynir + kurutma kabının kütesi (g)

K_3 = Kurutma sonrası toplam kütle (g)

3.4.2. Yağ Analizi

Peynirde yağ oranının belirlenmesi amacıyla Gerber Van Gulik metodundan yararlanılmıştır (NEN, 1969). Bu yöntemde 0-40 taksimatlı yöntemde özel peynir bütirometresi (Funke-Gerber, Berlin, Almanya) kullanılmıştır. Analiz için bütirometre beherciğine 3 g peynir tartılmış ve üzerine, yoğunluğu $1,52\pm 0,01$ g/mL olan 10 mL sülfirik asit ilave edilmiştir. Bütirometreler tıparları takıldıktan sonra, peynirlerin erimesi için $65-70$ °C'lik su banyosunda belli aralıklarla alt üst edilerek bekletilmiştir. Peynir tamamen eridikten sonra üzerine 1 mL amil alkol ve okumayı kolaylaştırmak amacıyla 35 taksimatına kadar aynı yoğunluktaki sülfirik asitten ilave edilerek karıştırılmıştır. Örnekler ısıtmalı Gerber santrifüjü kullanılarak (Nova-Safety, Berlin, Almanya) 65 °C'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra bütirometreler 65 °C sıcaklıktaki su banyosuna

alınmış, aynı sıcaklıkta bütirometreden direkt okuma yapılarak peynirin 100 gramında bulunan yağ miktarı (g) belirlenmiştir. Sonuçlar % yağ oranı ve kurumadde içeriğindeki yağ oranı (yağ/KM) olmak üzere iki şekilde sunulmuştur.

3.4.3. Toplam Azotlu Madde ve Protein Analizi

Peynirlerin toplam azotlu maddeleri yağ yakma işlemi uygulanarak Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir (AOAC, 2000). Toplam azotlu madde oranı Denklem 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplanan toplam azotlu madde miktarları 6,38 faktörü ile çarpılarak (Denklem 3.3) protein oranları hesaplanmıştır. Sonuçlar % toplam azot oranı, % protein oranı ve kurumadde içeriğindeki protein oranı (protein/KM) olarak sunulmuştur.

$$\% \text{ Toplam azot} = [(V_2 - V_1) \times N \times 0,014/m] \times 100 \quad (3.2)$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Toplam azot} \times 6,38 \quad (3.3)$$

V_2 = Titrasyonda harcanan HCl hacmi (mL)

V_1 = Kör deneme sonucu titrasyonda harcanan HCl hacmi (mL)

N = Titrasyonda kullanılan HCl çözeltisinin normalitesi (0,N)

0,014 = Azotun miliekivalent gramı

m = Analiz edilen örnek kütlesi (g)

3.4.4. Tuz Analizi

Peynirlerde tuz (NaCl) miktarı Mohr metodundan yararlanılarak belirlenmiştir (AOAC, 2000). Analiz için 5 g peynir bir miktar saf su (50-55 °C'de) ile karıştırılarak ezilmiş ve sulu kısım 500 mL'lik balon jöjeye aktarılmıştır. Bu işlem 4-5 kez tekrarlanmıştır. Balon jöje içerisindeki sıvı balon jöjenin kalibrasyon sıcaklığına geldiğinde saf su ile hacim 500 mL'ye tamamlanmıştır. Çözeltiden 25 mL alınarak 0,5 N K_2CrO_4 indikatörlüğünde 0,1 N $AgNO_3$ ile kırmızımsı kahverengi olana kadar titre edilmiştir. Peynirlerin tuz miktarı aşağıdaki denklemden (Denklem 3.4) yararlanılarak hesaplanmış, sonuçlar % tuz oranı ve nem içeriğindeki tuz oranı (tuz/nem) olmak üzere iki şekilde sunulmuştur.

$$\% \text{ Tuz} = [(V_2 - V_1) \times F \times 0,585] / m \quad (3.4)$$

V_2 = Titrasyonda harcanan 0,1 N AgNO₃ hacmi (mL)

V_1 = K r deneme için sarf edilen AgNO₃ hacmi (mL)

m = örnek kütlesi (g)

F = AgNO₃ faktörü

3.4.5. Kül Analizi

Peynirin kül oranı gravimetrik yöntemle kül fırını (Protherm Furnaces, Model PLF 110115, Ankara) kullanılarak belirlenmiştir. Analizde kullanılacak krozeler kül fırınında 550  C'de sabit kütleye gelmesi için 30 dk bekletilmiştir. Sabit tartımı alınan krozelere yaklaşık 1 g peynir tartılmış ve krozeler kül fırınında  n yakma işlemine tabi tutulmuştur. K l fırınının sıcaklığı kademeli olarak artırılarak 550  C'ye çıkartılmış ve örneklerin tamamen beyaz k l rengine dönmesi ile yakma işlemine son verilmiştir. Yanan  rnekler desikatörde bekletilmiş ve yeterince soğduktan sonra tartım yapılmıştır. Bu işlem birkaç kez tekrarlanarak sabit tartım veren örneklerin toplam kütlesi belirlenmiştir. Kül oranı Denklem 3.5 kullanılarak hesaplanmıştır (AOAC, 2000). Sonuçlar % kül oranı olarak sunulmuştur.

$$\% \text{ Kül oranı} = [(K_3 - K_1) / (K_2 - K_1)] \times 100 \quad (3.5)$$

K_1 = Krozenin sabit kütlesi (g)

K_2 = Peynir + krozenin kütlesi (g)

K_3 = Yakma işleminden sonraki kütle (g)

3.5. pH ölçümü ve Titrasyon Asitliği Analizi

3.5.1. pH  l m 

Peynirlerin pH ölçümü için 10 g peynir üzerine 10 mL saf su ilave edilerek karıştırılmış, karıştırıcı yardımıyla homojen hale gelmesi sağlanmıştır. Elde edilen karışımın pH değeri (Sartorius, PB-11, Göttingen, Almanya) dijital pH metre ile ölçülmüştür.

3.5.2. Titrasyon Asitliği Analizi

Titrasyon asitliği analizi için 10 g peynir 20 mL saf su ile karıştırılmış, bu karışım porselen havan yardımıyla homojen hale getirilmiştir. Elde edilen karışım fenolfitaleyn indikatörlüğünde 0,1 N NaOH ile kalıcı pembe renk oluşuncaya kadar titre edilmiştir (AOAC, 2010). Peynirlerin titre edilebilir asitlik derecesi % laktik asit (LA) cinsinden Denklem 3.6 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Laktik Asit} = (V \times 0,009 \times F \times 100) / m \quad (3.6)$$

V= Titrasyonda harcanan 0,1 N NaOH hacmi (mL)

F= NaOH faktörü

0,009= 0,1 N NaOH'ın laktik asit eşdeğeri

m= Titrasyonda kullanılan peynir kütlesi (g)

3.6. Suda Çözünen Azotlu Maddelerin Ekstraksiyonu

Peynirlerde suda çözünen azotlu maddeler Kuchroo ve Fox (1982)'un önerdiği yöntemle ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla, 20 g peynir 40 °C'de 40 mL su ile karıştırılmış ve karışım Ultra Turrax karıştırıcı (Janke & Kunkel KG, IKA, WERK) kullanılarak 2 dk homojenize edilmiştir. Karışım 40 °C'de sıcaklıkta su banyosunda 1 s bekletilmiş ve sonrasında 4 °C'de 3000 g'de 30 dk santrifüj (Eppendorf Marka, 5810 R, Hamburg, Almanya) edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra bir spatül ile üst kısımda toplanan yağ tabakası uzaklaştırılmış ve karışım Whatman No:42 filtre kağıdı kullanılarak süzölmüştür. Suda çözünür ekstraktlarda azot oranları, toplam serbest amino asit miktarları ve RP-HPLC ile peptit profilleri belirlenmiş, suda çözünmeyen kısımlarda ise urea-PAGE analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.7. Peynir Proteoliz Analizleri

3.7.1 Suda Çözünen Azot Analizi

Peynirlerin suda çözünen azot oranının belirlenmesi için hazırlanan suda çözünür azot ekstraktından 10 mL alınarak yaş yakma işlemi uygulanmış ve azot içeriği Mikro-Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir. Sonuçlar Denklem 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır

(IDF, 1993). Sonuçlar % suda çözünen azot oranı (SA) ve toplam azot içeriğindeki suda çözünen azot oranı (SA/TA) olarak sunulmuştur.

3.7.2. Toplam Serbest Amino Asit Analizi

Peynirlerin suda çözünen fraksiyonlarında toplam serbest amino asit miktarları Doi vd. (1981)'nin önerdiği ve Folkertsma ve Fox (1992)'un uyarladığı spektrofotometrik yönteme göre yapılmıştır. Bu amaçla 1000 µL Cd-ninhidrin (0,8 g ninhidrin, 80 mL etanol ve 10 mL asetik asit karışımında çözündürüldükten sonra elde edilen karışıma 1 mL suda çözündürülmüş CdCl₂ ilave edilerek hazırlanmıştır) reaktifi 500 µL saf su ile 10 kat seyreltilmiş örnekle karıştırılmıştır. Elde edilen karışım 84 °C'de 5 dk bekletilmiş ve sonrasında soğutularak UV-VIS spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Kyoto, Japonya) 507 nm dalga boyunda absorban değerleri ölçülmüştür. Standart kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için, 0-0,3 mg/mL arasında değişen konsantrasyonlarda lösün içeren standart çözeltiler kullanılmış (Ek 2), sonuçlar standart eğri yardımıyla mg lösün/g peynir olarak hesaplanmıştır.

3.7.3. Suda özünmeyen Fraksiyonların Urea-PAGE Analizi

Peynir örneklerinin suda çözünmeyen fraksiyonlarında proteolizi belirlemek amacıyla urea-PAGE elektroforetik analizleri yapılmıştır. Urea-PAGE Andrews (1983) tarafından belirtilen, Shalabi ve Fox (1987) tarafından modifiye edilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Elektroforez, PROTEAN LI XI dikey slab-jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) kullanılarak gerçekleştirilmiş ve elde edilen jeller Coomassie Brilliant Blue G250 ile direkt olarak boyanmıştır (Blakesley ve Boezi, 1977). Sonuçlar örneklerle birlikte yürütölen inek kazeini standardıyla (sodyum kazeinat) kıyaslanarak ve literatürden faydalanılarak değerlendirilmiştir.

3.8. RP-HPLC ile Peptit Profili Analizi

Peynirlerin suda çözünen ekstraktlarının peptit profili analizleri RP-HPLC sistemi (Agilent 1290 Infinity II, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak Trakya Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Geliştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinde

belirlenmiştir. Kromatografik ayırma işlemi Agilent 300SB-C8 Rapid Resolution (3,5 µm, 4,6 x 150 mm, 300 Å) (Agilent ZORBAX, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Peynirlerin suda çözünür azot fraksiyonları 1:1 oranında % 0,1 trifloroasetik asit (TFA, v/v) içeren HPLC kalitesindeki deiyonize su ile karıştırılmış, sonrasında santrifüj (15,000 rpm 30 dk) ve filtre (0,45 µm) edilerek analiz edilmiştir. Mobil faz A, % 0,1 TFA (Trifloroasetik asit, v/v) içeren HPLC kalitesindeki deiyonize su; mobil faz B % 0,1 TFA (v/v) içeren asetonitril (ultra gradient grade; Merck, Germany) şeklinde hazırlanmıştır. Ayırma işlemi 30 °C’de mobil faz A ve mobil faz B kullanılarak 0,6 mL/dk akış hızında gerçekleştirilmiştir. Elüsyon gradient akış: 0-5 dk A: % 100 ; 5-40 dk A: % 90, B: % 10; 40-45 dk A: % 60, B: % 40; 45-50 dk A: % 60, B: % 40; 50-56 dk A: % 10, B: % 90; 56-70 dk A: % 90, B: % 10’dur. Örneklerin ölçümleri 214 nm dalga boyunda yapılmıştır. Hidrofilik ve hidrofobik peptitlere ait pikleri ayırmada standart olarak tirozin, fenilalanin ve triptofan amino asitleri kullanılmış, standartlara ait kromatogram Ek 3’te sunulmuştur. HPLC kromatogramları peptit piklerinin alıkonma sürelerine, alanlarına, sayılarına ve hidrofilik/hidrofobik olmalarına göre kromatografi cihazına uyumlu veri değerlendirme programı (Agilent ChemStation, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir (Topçu ve Saldamlı, 2006).

3.9. Mikrobiyolojik Analizler

3.9.1 Mikrobiyolojik Analizler İçin Örnek Hazırlama

Mikrobiyolojik analizler için 10 g peynir numunesi aseptik olarak homojenizatör torbalarına aktararak 90 mL % 0,1 (w/v) peptonlu suyla (BPW; Merck, Darmstadt, Germany) karıştırılmıştır. Karışım homojenizatör yardımıyla (Interscience BagMixer 400 P, Fransa) oda sıcaklığında 60 s homojenize edildikten sonra elde edilen karışımla 10’lu seri dilüsyonlar daha hazırlanmıştır.

3.9.2. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri Sayımı

Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar besi ortamına yayma plak yöntemi ile ekim yapılmış, petri kapları aerobik ortamda 30°C’de 2 gün süreyle inkübe edilmiş ve koloni içeren petriyer sayılmıştır (Diliello, 1982). Sonuçlar peynirler için log kob/g, sütler için log kob/mL olarak sunulmuştur.

3.9.3. Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Laktik asit bakterilerinin sayımı MRS agar ve M17 agar besi ortamından yararlanılarak dökme plak kültürel sayım yöntemi ile yapılmıştır. M17 besi ortamında gelişen muhtemel laktokok bakterileri içeren petri kutuları aerobik ve MRS besi ortamında gelişen muhtemel laktobasil bakterileri içeren petri kutuları anaerobik ortamda 30 °C'de 48 s inkübe edilmiş ve koloni içeren petri sayılmıştır (Diliello, 1982). Sonuçlar peynirler için log kob/g, sütler için log kob/mL olarak sunulmuştur.

3.9.4. Koliform Grubu Bakteri Sayımı

Koliform grubu bakteri sayımı için Violet Red Bile Agar kullanılmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan petri kutusuna 100'er µL aktarılmış ve üzerine soğutulan (45 °C) besiyerinden yaklaşık 13-15 mL ilave edilmiştir. Katılan besiyerinin üzerine ikinci katman olarak yaklaşık 10-13 mL daha besiyeri dökülerek petri kutuları inkübasyona (37 °C'de 48 sa) bırakılmıştır. İnkübasyon bitiminde çapı 0,5 mm'den daha büyük olan kırmızı renkli koloniler sayılmış, sonuçlar peynirler için log kob/g, sütler için log kob/mL olarak sunulmuştur (Diliello, 1982).

3.9.5. Maya ve Küf Sayımı

Maya ve küf sayımı Dichloran Rose Chloramphenicol Agar besiyerine yayma plak yöntemi ile yapılmış, petri kutuları aerobik ortamda 25°C'de 5 gün inkübe edildikten sonra koloni içeren petri sayılmıştır (King vd., 1979). Sonuçlar peynirler için log kob/g, sütler için log kob/mL olarak sunulmuştur.

3.10. Duyusal Değerlendirme

Duyusal değerlendirmede Meilgaard vd. (1999) tarafından önerilen eşlenmiş kıyaslama testi kullanılmıştır. Duyusal değerlendirme sonucunda süt pıhtılaştırmada kullanılan enzim çeşidinin faktör olarak değerlendirildiği, aynı koşullarda üretilmiş iki örnek karşılaştırılmış ve panelistlerin hangi peyniri tercih ettiği belirlenmiştir. Ürün değerlendirmeleri, yaşları 25-55 arasında olan peynir ve süt ürünlerinin duyusal

değerlendirmesi üzerine deneyimli 6 panelist (5 kadın, 1 erkek) tarafından gerçekleştirilmiştir. Panelistlere küp şeklinde kesilmiş (yaklaşık 1x1x1 cm boyutlarında) iki dilim şeklinde aynı kategorideki bitkisel ve hayvansal enzim kullanılarak üretilmiş iki peynir 3 basamaklı tesadüfi numaralarla kodlanmış kaplarda sunulmuş ve belirlenen özellikleri (görünüş/reng, yapı/tekstür, tat/lezzet) her iki örnek için derecelendirmeleri istenmiştir. Örnekler arasında ağız temizlemek amacıyla ekmek ve su kullanılmıştır. Değerlendirme sonrasında panelistlerden tercih ettikleri örneği belirtmeleri istenmiştir. Panelde 9 puanlı hedonik skala kullanılmış ve duyuusal değerlendirme formu ek olarak (Ek 4) sunulmuştur. Sonuçlar depolama süresince belirlenen peynirlerin görünüş/reng, yapı/tekstür ve tat/lezzet skorları ve panelistlerin her bir eşlenmiş peynir grubu içinde tercih ettiği peynirin ilgili gruptaki tercih oranları olarak sunulmuştur.

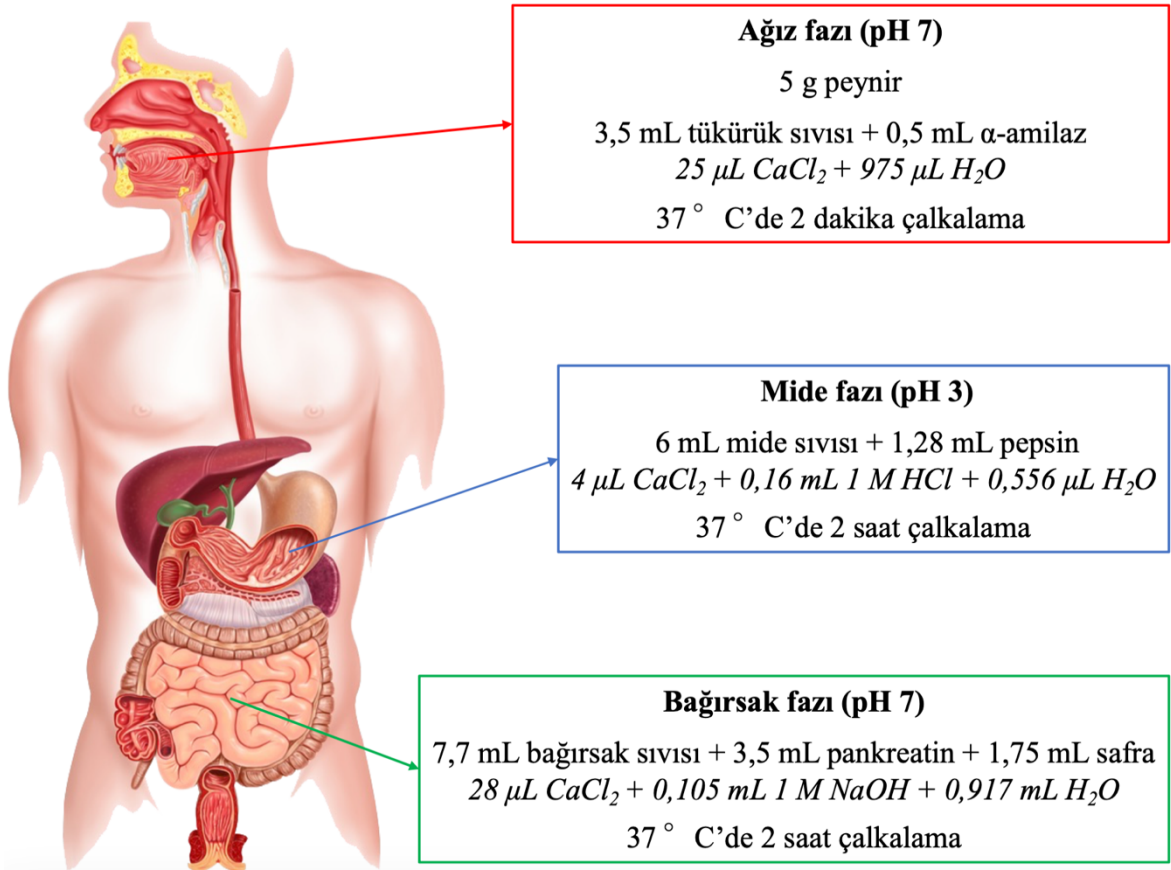
3.11. SPME-GC/MS ile Uçucu Bileşen Analizi

Peynirlerin uçucu bileşenlerinin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) ve HP-INNOWax kapiler kolonu (60 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm, 19091N-136, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Uçucu bileşenlerin ekstraksiyonu amacıyla kullanılan katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılmıştır (Uzkuç vd., 2018). GC-MS koşulları: Taşıyıcı gaz akışı 1,5 mL/dk, fırın programı başlangıç sıcaklığı 40 °C'de 1 dk, Rampa1 8 °C/dk, 230 °C, Rampa2 180 °C'de 15 dk, son sıcaklık ve süre 250 °C'de 15 dk. MS şartları; kapiler arayüz sıcaklığı 280 °C, iyonizasyon enerjisi: 70 eV; kütle aralığı 35 ile 350 amu, tarama hızı 4,45 scans/s. İç standart olarak, nötral bileşikler için 2-metil-3-heptanon (2M3H) ve asidik bileşikler için 2-metilvalerik asit (2MVA) kullanılmıştır. 3 g örnek, 1 g NaCl ve 100 µL iç standart karışımı (1,632 µg 2M3H ve 4,655 µg 2MVA içerir) 40 mL'lik amber renkli bir vialde karıştırılmış ve karışım vorteksenerek homojen hale getirilmiştir. Daha sonra vial 40 °C'de 20 dk su banyosunda bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda vial içine SPME fiber (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Supelco, Bellafonte, ABD) daldırılarak uçucu bileşenlerin absorpsiyonu için 20 dk daha beklenmiştir. Süre sonunda SPME fiberde tutunan uçucu bileşenler GC'ye enjekte edilmiştir. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında iki farklı kütüphaneden (NIST, 2008; Wiley, 2005) yararlanılmıştır. Tanımlanan uçucu bileşenlerin alıkonma indisleri (RI) Van den Dool ve Kratz (1963)

tarafından belirtildiği şekilde aynı koşullar altında bir n-alkan serisi kullanılarak, miktarları ise iç standartlarla (2-metil valerik asit ve 2-metil-3-heptanon) kıyaslanarak oransal bolluklarına göre belirlenmiş (Avsar vd., 2004) ve sonuçlar $\mu\text{g}/100 \text{ g}$ peynir şeklinde sunulmuştur.

3.12. *In vitro* Gastrointestinal Sindirim Simülasyonu

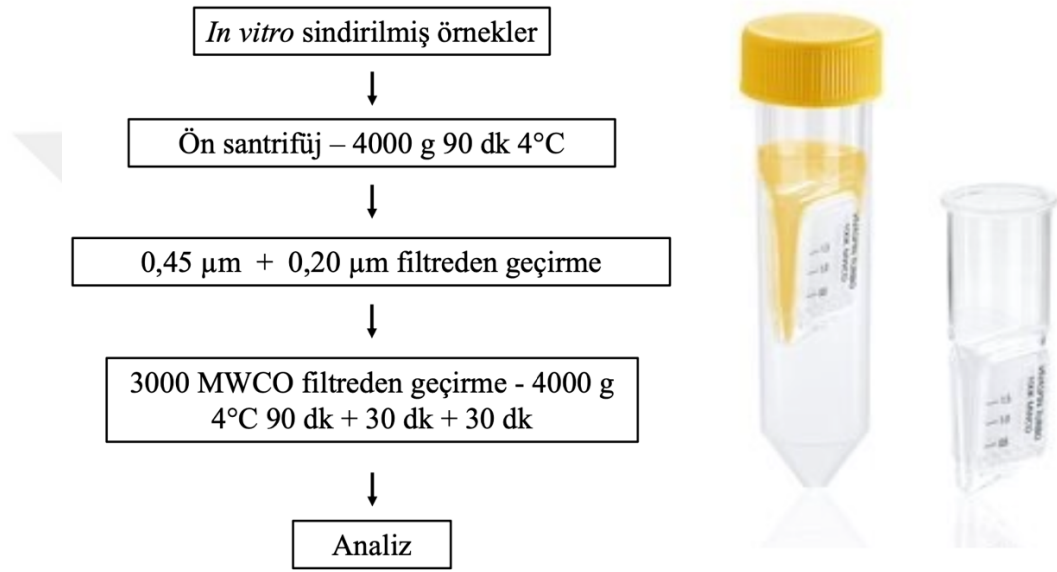
Peynir örneklerinin *in vitro* sindirimi Minekus vd. (2014) tarafından önerilen metoda göre bazı modifikasyonlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre sindirim, hazırlanışı Ek 5'te sunulan sindirim sıvıları ve enzimleri kullanılarak sırasıyla ağız, mide ve bağırsak olmak üzere 3 aşamada simüle edilmiştir. Sindirim işlemi gerçekleştikten sonra örnekler $0-1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'deki soğuk su banyosuna alınmış ve pH değerleri 9'un üzerine çıkarılarak enzim aktivitesi durdurulmuştur. Örnekler 9000 rpm'de santrifüj edilmiş ve orta fazları alınarak analizlerde kullanılmak üzere $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ derin dondurucuda saklanmıştır. Sindirim protokolü detaylarıyla Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 2. *In vitro* gastrointestinal sindirim simülasyonu akış diyagramı

3.13. Küçük Molekül Ağırlıklı (< 3 kDa) Peptitlerin Ultrafiltrasyonu

In vitro sindirimi sonrasında örneklerde potansiyel biyoaktif peptitleri içeren küçük molekül ağırlıklı peptitler 3 kDa ayırma sınırına sahip (3000 MWCO) Vivaspin Turbo 15 (Sartorius, Gloucestershire, Birleşik Krallık) santrifüj filtre birimleri kullanılarak fraksiyonlanmış, santrifüj filtre ekipmanı ve ultrafiltrasyon prosesinin akış şeması Şekil 3'te sunulmuştur.



Şekil 3. Santrifüj ekipmanı ve ultrafiltrasyon akış şeması

3.14. ACE İnhibitör Aktivite Analizi

ACE inhibitör aktivitelerin belirlenmesinde Cushman ve Cheung (1971) tarafından geliştirilen, Meira vd. (2012) tarafından modifiye edilen, ACE tarafından katalizlenen hipüril–histidin–lösin'den (HHL) hipürik asidin ayrılması esasına dayanan yöntem kullanılmıştır. Analiz için öncelikle 0,3 M NaCl içeren 0,1 M sodyum borat tamponunda (pH 8,3) HHL (5 mM) çözeltisi ve 0,1 U/mL ACE çözeltisi hazırlanmıştır. Analiz için hazırlanan HHL çözeltisinden 100 µL ve *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir örneklerinin küçük molekül ağırlıklı (< 3 kDa) peptit fraksiyonlarından 40 µL alınarak 1,5 mL deney tüpünde karıştırılmış ve 37 °C sıcaklıkta 3 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra karışıma 20 µL ACE çözeltisi ilave edilip ve 37 °C sıcaklıkta 30 dk daha inkübe edilmiştir. İnkübasyon bitiminde tüpe 150 µL 1M HCl ilave edilerek reaksiyon durdurulmuş ve 1 mL etil asetat eklenip 30 s karıştırılıp santrifüj (3000 g, 10 dk) edilmiştir. Santrifüj sonrasında deney

tüpünün üst kısmından 800 µL alınıp yeni bir deney tüpüne aktarılmış ve 100 °C’de içerisindeki etil asetat tamamen uçması sağlanmıştır. Deney tüpünün dibinde kalan tortu 800 mL distile suyla tekrar çözündürülerek spektrofotometrede absorbanası (228 nm) ölçülmüştür. ACE inhibitör aktivite Denklem 3.7 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\% \text{ ACE inhibitör aktivite} = (A_1 - A_2 / A_1 - A_3) \times 100. \quad (3.7)$$

A₁: ACE + HHL absorbanası

A₂: ACE + HHL + Örnek absorbanası

A₃: Örnek + HHL absorbanası

3.15. Antioksidan Aktivite Analizleri

In vitro sindirimi uygulanmış peynir örneklerinin küçük molekül ağırlıklı (< 3 kDa) peptit fraksiyonlarında antioksidan aktiviteler ABTS radikal giderme (Re vd., 1999) ve CUPRAC (Apak vd., 2004) metotları kullanılarak belirlenmiştir.

3.15.1. ABTS Radikal Giderme Yöntemi

ABTS radikal giderme yöntemine göre antioksidan aktivite analizi için ABTS saf su içerisinde (7 mM) çözündürüldükten sonra 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM’lık ABTS radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan radikal çözeltisi oda sıcaklığında ve karanlıkta 12-16 s bekletilerek ABTS radikal katyon çözeltisinin oluşması sağlanmıştır. Bu çözelti analiz esnasında 734 nm dalga boyunda 30 °C’de 0,700 (±0,02) absorbanas verecek şekilde 5 mM PBS (pH 7,4) ile seyreltilerek kullanılmıştır. Analiz için mikro küvet içerisine hazırlanan ABTS radikal çözeltisinden 1 mL alınıp üzerine *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir örneklerinin küçük molekül ağırlıklı (< 3 kDa) peptit fraksiyonları veya troloks eklenerek 1’er dk ara toplam 6 dk boyunca 30 °C’de ile absorbanas değerleri ölçülmüştür. 10, 20 ve 30 µL örnek hacimlerinde çalışılarak örnek miktarına bağlı % inhibisyon oranları (Denklem 3.8) hesaplanmıştır. Çalışılan hacme karşı % inhibisyon oranları grafiğe aktarılmış ve lineer regresyon uygulanarak örneğe ait eğriyi tanımlayan denklem bulunmuştur. Aynı işlemlerle son konsantrasyonları 5-20 mM arasında değişen miktarlarda troloks standartları hazırlanarak standart kurve elde edilmiştir (Ek 6). İnhibisyon yüzdesi

Denklem 3.8 ve troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) denklemi (3.9) kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar mM troloks/100 mg peynir olarak ifade edilmiştir.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = (A_1 - A_2) / A_2 \times 100 \quad (3.8)$$

A₁: A₇₃₄ kontrol

A₂: A₇₃₄ örnek

$$\text{TEAC} = (\text{İnhibisyon eğrisinin eğimi (örnek)} / \text{Standart eğrisinin eğimi}) \times \text{Seyreltme Faktörü} \quad (3.9)$$

3.15.2. CUPRAC Yöntemi

In vitro sindirimi uygulanmış örneklerin peptit fraksiyonlarında (< 3 kDa) bakır(II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite (CUPRAC) ölçüm yöntemine göre antioksidan aktivite belirlemek amacıyla 10 mM bakır(II) çözeltisi (CuCl₂.2H₂O), 7,5 mM neocuproine çözeltisi ve 1 M amonyum asetat çözeltisi hazırlanmıştır. Mikroplaka kuyucukları içerisine 70 µL bakır(II) çözeltisi, 70 µL neokuproin çözeltisi ve 70 µL amonyum asetat tamponu sırasıyla eklenmiş ve üzerine 7 µL mL örnek ardından 70 µL distile su ilave edilmiştir. Mikroplaka 10 sn boyunca çalkalanmış ve oda koşullarında ağzı kapalı olarak 30 dk boyunca bekletilmiştir. 30 dk sonunda içinde örnek bulunmayan referans çözeltiye karşı 450 nm dalga boyunda absorbans ölçülerek kaydedilmiştir. Sonuçlar troloks ile hazırlanan standart eğri (EK 7) yardımıyla Denklem 3.9 kullanılarak hesaplanmış ve troloks eşdeğerleri (mM troloks/g peynir) olarak ifade edilmiştir.

3.16. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel değerlendirme için veriler iki tekerrürlü peynir üretimi ve her bir parametre için en az iki paralelli analiz gerçekleştirilerek elde edilmiştir. Çalışmada araştırılan 4 faktörden ısıl işlem, pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültürün incelenen özellikler üzerine etkisi, depolama faktörünün ise diğer 3 üretim faktörü ile intreraksiyonu dikkate alınmadan tek başına etkisi istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Buna göre ısıl işlem, pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültürün incelenen özellikler üzerine etkisinin belirlenmesi amacıyla faktöriyel düzende varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır (Mendeş, 2013). Depolamanın peynir özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla

depolama günleri bakımından her örnek için kendi içinde varyans analizine tabi tutulmuştur. Varyans analizinin ön şartlarını (varyansların homojenliği ve normal dağılım) yerine getirmeyen veriler için farklar WELCH testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm peynirlerin depolama süresince belirlenen özellikleri üzerine depolamanın etkisi ve 3 üretim faktörünün (ısıl işlem, pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültür) 3'lü intreraksiyonuna ilişkin ayrı ayrı P değerleri Tablo 1, 3, 5, 8 (sadece depolamaya ilişkin P değeri sunulmuştur), 9, 12, 14 ve 17'de sunulmuştur. İncelenen peynir özellikleri üzerine 3'lü intreraksiyonun (ısıl işlem*pıhtılaştırıcı enzim*starter kültür) istatistiksel açıdan önemli bulunmadığı ($P > 0,01$), ancak ısıl işlem, pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültür faktörlerinin 2'li interaksiyonlarının (ısıl işlem*starter kültür, ısıl işlem*pıhtılaştırıcı enzim veya pıhtılaştırıcı enzim*starter kültür) istatistiksel açıdan önemli bulunduğu durumlara ilişkin grup ortalamaları ve P değerleri Tablo 2, 4, 6, 10, 13, 15, 16 ve 18'de sunulmuştur. Sonuçlar arasındaki önemli farkların hangi grup ya da alt gruplardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla TUKEY çoklu karşılaştırma (TUKEY-HDS) testi uygulanmış (Sheskin, 2004), depolamanın önemli düzeyde etki ettiği özellikler için örnekler arasındaki farklar aynı sütunda farklı büyük harflerle (Tablo 1, 3, 5, 8, 9, 12, 14 ve 17), ısıl işlem pıhtılaştırıcı enzim ve starter kültür faktörlerinin 2'li interaksiyonlarının önemli bulunduğu özellikler için gruplar arasındaki farklar aynı satırda farklı küçük harflerle (Tablo 2, 4, 6, 10, 13, 15, 16 ve 18) gösterilmiştir. Peynir örnekleri arasındaki geometrik dağılımı göstermek amacıyla Çok Boyutlu Ölçülendirme (MDS) analizi uygulanmıştır. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS (SPSS for Windows (version 25.0)) ve Minitab (Minitab 18.1 for Windows) istatistik paket programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Randıman ve Peynir Bileşim Değerleri

Keçi peynirlerinin kurumadde, yağ, protein ve tuz oranları 90 günlük depolama süresince 1, 30, 60 ve 90. günlerde, randıman ve kül oranları ise sadece 1. depolama gününde belirlenmiştir. Randıman ve bileşim oranları Tablo 1’de sunulmuştur. Peynir randımanı üzerine, ısıtma işlemi, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden sadece ısıtma işlemi uygulaması ve starter kültür ilavesinin etkisi önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 2), üç faktörün etkisi önemli bulunmamıştır ($P > 0,01$) (Tablo 1). Isıtma işlemi uygulanarak starter kültür ilave edilmeden üretilen peynir grubu (HF) en yüksek randımana (18,30) sahipken, çiğ süte starter kültür ilave edilerek üretilen peynir grubunun (RS) en düşük randımana (12,54) sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 2). HF peynirleri en yüksek randımanla üretilmesine rağmen bu peynir grubunun kurumadde değerleri daha düşüktür. Kaminarides vd. (2019) farklı ısıtma işlemi normları uyguladıkları (68 ° C 10 dk) tam yağlı keçi sütü ve % 50 yağ azaltılmış keçi sütüne (80 ° C 10 dk) mezofilik starter kültür ve *Penicillium candidum* ilave ederek ürettikleri keçi peynirlerinin randımanlarını sırasıyla % 17,48 ve % 17,91 olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmadaki HF peynirlerinin randımanlarının belirtilen peynirlere yakın değerlere sahip olduğu bulunmuştur. Türk Saanen keçi türünün sütünden yapılan keçi peynirleri (Hayaloğlu vd., 2013) ve ısıtma işlemi görmüş Saanen keçi sütü peynirleri (Miloradovic vd., 2017) ile RF, RS ve HS grupları benzer randıman sonuçlarına sahipken, HF1 ve HF2 peynirleri, önceki her iki çalışmadaki bulgulardan daha yüksek randımana sahiptir. Artan randıman oranlarının, uygulanan ısıtma işlemine bağlı olarak peyniraltı suyu proteinlerinin denatüre olması ve pıhtı yapısında kalan bu proteinlerin kazeinlerle birleşmesiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, ısıtma işlemi uygulaması sütteki asit üreten mikroorganizmaların inhibisyonuna neden olmuş ve bunun sonucunda sınırlı asitlik gelişimine bağlı olarak peyniraltı suyunun pıhtıdan ayrılması zorlaşmıştır. HF peynirlerinin yüksek pH ve düşük LA değerleri (Tablo 3 ve 4), HS peynirlerine göre yüksek verim, tuz içeriği ve düşük kurumadde değerleri ile ilişkilendirilebilir.

Tablo 1

Depolama süresince peynirlerde belirlenen bazı bileşim oranları ve randıman sonuçları

Özellik	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)								P
		RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
% Randıman	1	13,67±0,07	14,09±0,30	12,38±0,19	12,70±0,18	18,63±0,04	17,98±0,78	14,30±0,09	14,38±0,46	0,435
% Kurumadde	1	45,81±0,90 ^B	46,48±0,46 ^B	47,22±1,02 ^B	48,12±0,32 ^B	40,06±0,44 ^B	38,56±0,68 ^B	47,94±0,72	47,78±1,22	0,620
	30	46,86±0,85 ^{AB}	47,17±0,23 ^B	47,07±0,64 ^B	47,33±0,21 ^B	40,89±0,17 ^B	41,80±0,32 ^{AB}	47,28±0,51	47,33±0,46	0,522
	60	47,07±0,56 ^{AB}	46,84±0,31 ^B	47,34±0,23 ^B	47,33±0,36 ^B	42,76±0,50 ^A	43,51±1,56 ^A	46,13±0,39	47,88±0,66	0,709
	90	50,15±0,49 ^A	48,97±0,50 ^A	50,66±0,54 ^A	51,69±0,78 ^A	43,67±0,18 ^A	44,45±0,62 ^A	47,86±0,44	48,17±0,64	0,097
P		0,003	0,003	0,007	0,000	0,000	0,003	0,109	0,898	
% Yağ	1	22,25±0,32 ^B	24,13±0,13 ^B	24,50±0,20 ^B	24,88±0,24 ^B	19,25±0,32 ^B	18,38±0,24 ^C	24,00±0,00	24,63±0,55	0,001
	30	23,50±0,65 ^B	24,25±0,32 ^B	24,63±0,83 ^B	24,75±0,78 ^B	20,63±0,97 ^B	20,63±0,63 ^{BC}	24,13±0,83	24,75±0,92	0,568
	60	23,38±0,43 ^B	23,88±0,31 ^B	25,63±0,43 ^{AB}	25,75±0,52 ^{AB}	21,38±0,69 ^B	22,00±1,06 ^B	24,50±0,65	25,25±0,78	0,787
	90	27,50±0,91 ^A	26,88±0,59 ^A	27,63±0,38 ^A	28,13±0,69 ^A	24,75±0,43 ^A	25,25±0,72 ^A	26,75±0,60	26,38±0,75	0,315
P		0,000	0,000	0,003	0,006	0,000	0,000	0,023	0,389	
% Yağ/KM	1	48,62±1,20	51,92±0,57	51,96±1,27	51,69±0,35	48,05±0,48 ^B	47,70±1,00 ^B	50,10±0,75	51,56±0,68	0,034
	30	50,13±0,60	51,41±0,50	52,27±1,09	52,23±1,69	50,46±2,49 ^B	49,37±1,71 ^B	51,02±1,57	52,26±1,54	0,404
	60	49,72±1,38	50,99±0,88	54,12±0,69	54,41±1,02	50,01±1,65 ^B	50,51±1,01 ^{AB}	53,10±1,03	52,71±1,12	0,980
	90	54,88±2,11	54,90±1,31	54,59±1,11	54,44±1,42	56,66±0,79 ^A	56,89±2,32 ^A	55,90±1,26	54,73±1,07	0,778
P		0,041	0,032	0,263	0,299	0,007	0,008	0,022	0,288	
% Protein	1	21,62±0,42	21,09±0,32	21,28±0,67	23,34±0,57	19,19±0,43	19,00±0,26	23,46±0,51	23,23±0,47	0,061
	30	21,34±0,23	21,60±0,32	21,76±0,07	21,41±0,49	17,42±0,59	18,08±0,94	21,60±0,89	21,33±0,68	0,844
	60	21,37±0,55	20,56±0,36	20,00±0,07	20,39±0,67	16,90±0,50	17,35±0,73	21,04±1,15	20,04±0,54	0,154
	90	20,52±0,36	20,33±0,51	20,42±0,13	20,10±0,33	16,67±0,52	17,21±0,31	20,30±0,72	20,04±0,55	0,618
P		0,291	0,147	0,015	0,024	0,019	0,218	0,107	0,015	

Tablo 1'in devamı...

	1	47,28±1,65 ^A	45,39±1,08 ^A	45,14±1,90 ^A	48,41±1,11 ^A	47,95±1,58 ^A	49,33±1,09 ^A	49,00±1,13 ^A	48,61±0,38 ^A	0,080
% Protein/KM	30	45,59±0,84 ^{AB}	45,80±0,73 ^A	46,25±0,65 ^A	45,19±1,21 ^{AB}	42,58±1,34 ^{AB}	43,20±1,97 ^B	45,76±2,32 ^{AB}	45,07±1,51 ^{AB}	0,992
	60	45,47±1,70 ^{AB}	43,90±0,66 ^{AB}	42,25±0,34 ^{AB}	43,09±1,37 ^{BC}	39,53±1,11 ^B	39,89±0,93 ^B	45,69±2,86 ^{AB}	41,84±0,78 ^B	0,112
	90	40,92±0,71 ^B	41,52±0,89 ^B	40,32±0,23 ^B	38,93±0,99 ^C	38,20±1,34 ^B	38,92±1,23 ^B	42,42±1,56 ^B	41,60±1,04 ^B	0,844
	<i>P</i>	0,007	0,006	0,006	0,001	0,001	0,001	0,010	0,001	
	1	3,00±0,17	3,12±0,16	3,14±0,10	3,10±0,89	3,92±0,05	3,54±0,22	2,66±0,13	2,82±0,06	0,092
% Tuz	30	3,15±0,10	3,05±0,04	2,76±0,21	2,79±0,08	3,69±0,11	3,54±0,08	2,89±0,08	2,58±0,13	0,379
	60	3,17±0,03	3,36±0,25	2,63±0,67	2,58±0,10	3,38±0,16	3,39±0,18	2,57±0,05	2,51±0,01	0,620
	90	2,93±0,04	2,99±0,09	2,43±0,19	2,48±0,19	3,25±0,18	3,29±0,06	2,63±0,17	2,69±0,02	0,937
	<i>P</i>	0,315	0,381	0,201	0,270	0,200	0,588	0,278	0,055	
	1	5,53±0,31	5,84±0,34	5,94±0,10	5,86±0,25	6,54±0,04	5,77±0,35	5,13±0,32	5,40±0,09	0,074
% Tuz/Nem	30	5,93±0,14	5,78±0,07	5,23±0,56	5,31±0,17	6,24±0,20	6,08±0,15	5,48±0,16	4,89±0,27	0,323
	60	6,00±0,08	6,32±0,46	4,96±0,15	4,89±0,22	5,91±0,27	5,99±0,16	4,76±0,09	4,82±0,09	0,512
	90	5,88±0,10	5,85±0,21	4,93±0,40	5,12±0,35	5,77±0,32	5,92±0,86	5,04±0,31	5,29±0,09	0,777
	<i>P</i>	0,329	0,595	0,141	0,245	0,147	0,780	0,256	0,068	
% Kül	1	4,43±0,02	4,74±0,10	3,71±0,07	3,82±0,14	4,81±0,06	4,62±0,06	3,36±0,13	3,58±0,04	0,024

^{A-C} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$).

R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, Hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Yağ/KM, kurumaddede yağ oranı; Protein/KM, kurumaddede protein oranı; Tuz/Nem, nemde tuz oranı; S.H, standart hata.

90 günlük depolama süresince çiğ süttten üretilen keçi peynirlerinin kurumadde değerleri % 45,81 ile % 51,69, ısıl işlem uygulanmış süttten üretilen peynirlerin kurumadde değerleri % 38,56 ile % 48,17 aralığında değerler almıştır (Tablo 1). Peynir kurumaddeleri üzerine, ısıl işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 2), üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı kurumadde değerlerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 1). Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre peynir gruplarının ortalamaları Tablo 2’de sunulmuştur. HS peynirleri dışında diğer peynirlerin kurumadde değerleri depolama boyunca artmıştır ($P \leq 0,01$) (Tablo 1). Peynirlerde kurumadde; kullanılan süttün bileşimi, işleme tekniği ve olgunlaştırma prosesinden doğrudan etkilenmektedir. Beyaz peynir üretiminde tuzlama işlemi ile peynir kitlesinde tuz merkeze doğru hareket ederek peynirin yapısında dağılmaktadır. Bu işlem peynir kitlesinde tuzun tamamen homojen olarak dağılmasına kadar olgunlaşma süresince devam etmektedir. Tuz geçişi ve buna bağlı olarak peynirden su çıkışı gerçekleşmesi sonucu peynirlerin kurumadde oranları değişebilmektedir (Soltanı, 2013). Üretilen peynirler 12-14 saat salamurada bekletildikten sonra vakum altında paketlenmiştir. RF, RS ve HF gruplarında 90 gün depolanan peynirlerin taze peynirlerden daha yüksek kurumadde içeriğine sahip olması peynir bünyesinde devam eden olgunlaşma süresince gerçekleşen tuz hareketine bağlı olarak peynirden su salınması ve bu su kaybı neticesinde nem oranının azalmasına bağlanabilir. Bu üç peynir grubunun aksine HS grubu peynirlerde depolama süresince kurumadde içeriği değişmemiştir (Tablo 1). HS peynirlerinin depolamanın ilk gününde nihai pH ve titrasyon asitliği değerlerine ulaştığı ve depolama süresinin bu peynir grubu için diğer gruplardaki gibi bir olgunlaşma prosesi niteliği taşımamasına bağlı olarak kurumadde oranlarının değişmediği söylenebilir. Çayır ve Güzeler (2020) keçi süttü kullanarak ürettikleri olgunlaşmamış keçi peynirinde yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara benzer kurumadde değerleri elde etmişlerdir. Barac vd. (2019) 90° C’de 10 dk ısıl işlem uygulaması öncesi düşük sıcaklıkta (4° C) kimozin ile muamele ederek ürettikleri geleneksel Sırbistan keçi peynirlerinde 50 günlük depolama boyunca önemli oranda artan kurumadde oranlarını % 44,88 ile % 49,45 değer aralığında belirlemişler ve bu değerler aynı ısıl işlem normu kullanılarak üretilen H grubu peynirlerle benzerlik göstermiştir. Depolama boyunca elde edilen kurumadde ortalamaları farklı çalışmalardaki keçi süttünden yapılan peynirlerin kurumadde oranlarıyla da benzer bulunmuştur (Kondyli vd., 2016; Trujillo vd., 2002; Uzkuç vd., 2018).

Tablo 2

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği bileşim özellikleri

Özellik	Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
		RF	RS	HF	HS	
% Randıman	1	13,88±0,17 ^b	12,54±0,14 ^c	18,30±0,37 ^a	14,34±0,19 ^b	0,001
% Kurumadde	1	46,15±0,49 ^a	47,67±0,52 ^a	39,31±0,47 ^b	47,86±0,66 ^a	0,000
	30	47,01±0,41 ^a	47,23±0,32 ^a	41,34±0,24 ^b	47,30±0,32 ^a	0,000
	60	46,95±0,43 ^a	47,33±0,20 ^a	43,13±0,77 ^b	47,00±0,49 ^a	0,003
	90	49,56±0,93 ^b	51,17±0,48 ^a	44,06±0,33 ^d	48,02±0,37 ^c	0,006
% Protein	1	21,35±0,26 ^b	22,31±0,56 ^{ab}	19,09±0,23 ^c	23,35±0,32 ^a	0,000
	30	21,47±0,19 ^a	21,59±0,24 ^a	17,75±0,53 ^b	21,46±0,52 ^a	0,000
	60	20,97±0,34 ^a	20,20±0,32 ^a	17,13±0,42 ^b	20,54±0,62 ^a	0,000
	90	20,42±0,29 ^a	20,26±0,17 ^a	16,94±0,30 ^b	20,17±0,42 ^a	0,000
% Protein/KM	1	46,34±0,98	46,81±1,20	48,64±0,93	48,81±0,66	0,872
	30	45,69±0,52	45,72±0,67	42,89±1,11	45,42±1,29	0,230
	60	44,69±0,89 ^a	42,67±0,67 ^{ab}	39,71±0,68 ^b	43,77±1,55 ^a	0,006
	90	41,22±0,54 ^{ab}	39,62±0,54 ^{ab}	38,48±0,85 ^b	42,01±0,88 ^a	0,002
% Tuz	1	3,06±0,11 ^b	3,12±0,07 ^b	3,73±0,13 ^a	2,74±0,07 ^b	0,000
	30	3,10±0,05 ^b	2,78±0,11 ^c	3,61±0,07 ^a	2,73±0,09 ^c	0,002
	60	3,26±0,12	2,61±0,07	3,39±0,11	2,54±0,03	0,330
	90	2,96±0,05	2,46±0,12	3,27±0,09	2,66±0,08	0,575
% Tuz/Nem	1	5,69±0,22 ^{ab}	5,92±0,09 ^{ab}	6,15±0,22 ^a	5,27±0,16 ^b	0,008
	30	5,85±0,08	5,27±0,23	6,16±0,12	5,19±0,18	0,244
	60	6,16±0,23	4,93±0,12	5,95±0,15	4,79±0,06	0,824
	90	5,87±0,11	5,03±0,25	5,85±0,16	5,11±0,15	0,773
% Kül	1	4,58±0,08 ^a	3,76±0,08 ^b	4,71±0,05 ^a	3,47±0,08 ^c	0,002

^{a-d} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Protein/KM, kurumaddede protein oranı; Tuz/Nem, nemde tuz oranı; S.H, standart hata.

Peynirlerin kurumaddeleri üzerine ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etkisi sonucu, peynir randımanını etkileyen faktörlerin kurumadde içeriğini aksi yönde etkilemesi sebebiyle, peynir gruplarının kurumaddeleri ile randımanları arasında beklendiği üzere ters ilişki olduğu görülmektedir (Tablo 2). Buna göre en yüksek randımana sahip HF grubu peynirlerin tüm depolama günlerinde en düşük kurumadde oranlarına sahip olduğu, depolamanın 1, 30 ve 60. günlerinde RF, RS ve HS grupları kurumadde oranları bakımından benzer sonuçlar aldığı belirlenmiştir (Tablo 2). 90 gün depolanmış peynirler arasında çiğ süt peynirlerinde daha yüksek kurumadde değerleri belirlenirken, aynı ısı işlem grubundaki peynirler arasında starter kültür ilaveli RS (% 51,17) ve HS (% 48,02) gruplarının RF (% 49,56) ve HF (% 44,06) gruplarından daha yüksek kurumadde değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Garcia vd. (2014) Murciano-Granadina keçi sütünden *C. cardunculus* proteazı ve farklı starter kültürler kullanarak ürettikleri keçi peynirlerinde, çalışmadaki depolamaya bağlı kurumadde artışına benzer eğilimde depolama ile peynirlerin nem miktarının azaldığını belirlemişlerdir.

Peynirlerin yağ oranları % 18,38-28,13 ve yağ/KM oranları % 47,70-56,89 aralığında bulunmuştur (Tablo 1). Peynirlerin yağ ve yağ/KM oranları üzerine ısı işlem uygulaması, starter kültür ilavesi ve farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımının etkisi önemli bulunmamıştır ($P > 0,01$) (Tablo 1). RF, RS ve HF peynirlerinin yağ oranları ile HF peynirlerinin yağ/KM oranları depolama boyunca artmıştır ($P \leq 0,01$) (Tablo 1). Depolama süresince kurumadde oranlarındaki değişimle ilişkili olarak RS, RF ve HF peynirlerinin yağ oranları artmış ancak depolamanın 1. gününde nihai bileşim oranlarında olan HS grubu peynirlerinin yağ oranları değişmemiştir. Feta tipi keçi peynirinde 180 günlük depolama boyunca yağ oranları % 24,00-25,50 değer aralığında (Kondyli vd., 2016), 2 ay olgunlaştırılmış sade Beaten keçi peynirinde yağ oranı % 23,75 olarak belirlenmiş (Sulejmani vd., 2020), çalışmadaki peynirlerin yağ oranları Beaten ve Feta keçi peynirlerinin yağ oranına benzer bulunmuştur. Yağ miktarının kurumadde içindeki yüzdesi olarak ifade edilen yağ/KM oranlarına göre ise tüm depolama günlerinde HF grubu dışındaki peynirlerindeki artışın istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 1). Öner ve Sarıdağ (2019) keçi peynirlerinin yağ/KM oranlarını depolama başlangıcında % 40,57, depolamanın 90. gününde % 44,08 olarak belirlemişler ve depolama ile önemli derecede değişmeyen yağ/KM oranlarının depolamanın 270. gününde % 53,60'a ulaştığı rapor edilmiştir. Pappa vd. (2022a) termofilik ve mezofilik starter kültürler kullanarak pastörize süttten ürettikleri taze yumuşak

keçi peynirlerinde 60 günlük depolama süresince yağ/KM oranlarını % 49,8-54,2 değer aralığında, bu çalışmada belirlenen yağ/KM oranlarıyla benzer bulunmuştur.

Peynirlerin protein oranlarının % 16,67 ile % 23,45 aralığında belirlenmiştir (Tablo 1). Peynirlerin protein oranlarında depolama boyunca önemli derecede değişim gerçekleşmemiş ($P > 0,01$) ancak protein/KM oranları tüm peynirlerde depolama boyunca azalmıştır ($P \leq 0,01$) (Tablo 1). Depolamanın 1. gününde peynirlerin protein/KM oranları % 45,14-49,33 değer aralığında iken bu değerler depolamanın 90. gününde % 38,20-42,42 aralığında bulunmuştur. Peynirlerin değişen depolama ile değişen kurumadde oranları protein/KM oranlarının değişiminde etkili olmuştur. Uzkuç vd., (2018) keçi peynirlerinin protein oranlarını % 16,14-17,17; Kondyli vd., (2016) keçi Feta peynirinin protein oranlarını % 16,01-17,45 aralığında bulmuşlar, HF peynirlerinin 60 ve 90. gün örnekleri hariç diğer peynirlerin protein oranı bu iki çalışmada belirlenen protein oranlarından daha yüksek bulunmuştur. Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre peynir gruplarının ortalamaları Tablo 2’de sunulmuştur. 1, 30, 60 ve 90 gün depolanan peynirlerin protein oranları ile 60 ve 90 gün depolanan peynirlerin protein/KM oranları üzerine ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 2). HF grubu peynirlerin protein oranları bakımından tüm depolama günlerinde diğer tüm peynir gruplarından daha düşük değerler aldığı, depolamanın 30, 60 ve 90. günlerinde RF, RS ve HS gruplarının protein oranları bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Keçi peynirlerinin yağ ve protein içerikleri uygulamalardan önemli ölçüde etkilenmemiştir ($P > 0,01$) (Tablo 1). Peynirlerin yağ ve protein içerikleri, çiğ sütün bileşiminde ve peynir yapım prosedürlerinde küçük farklılıklar olmasına rağmen genel olarak önceki çalışmalarla uyumludur (Barlowska vd., 2018; Miloradovic vd., 2017; Pappa vd., 2022b; Say, 2022; Vyhmeister vd., 2019). Peynirlerin yağ ve protein oranları Kawecka ve Pasternak (2022) tarafından Karpat keçi sütünden üretilen peynirlerden (% 21,33 yağ, % 16,74 protein) daha yüksek bulunmuş, bu duruma öncelikli olarak çalışmada kullanılan Karpat keçi sütünün Türk Saanen keçi sütünden daha düşük bileşim oranlarına (% 2,82 yağ, % 2,88 protein) sahip olmasının neden olduğu düşünülmektedir. Diğer bir çalışmada yine Karpat keçi sütü kullanılarak üretilen asit-rennet peynirlerinde % 20,45 yağ oranı, % 26,50 protein oranı belirlenmiş (Kajak-Siemaszko vd., 2022), elde edilen protein oranı bu çalışmadan daha düşük bulunmuştur. İki çalışmada da Karpat keçi ırkından elde edilen sütler kullanılmasına rağmen yapılan tez çalışmasındaki peynirlerin bu iki çalışmaya göre düşük ve yüksek protein

oranlarına sahip olması peynir yapım tekniklerine bağlı olarak peynirler arasında bileşim farklılıklarının olabileceğini açıkça göstermektedir.

Peynirlerin tuz ve tuz/nem oranları depolama boyunca önemli derecede değişmemiştir ($P > 0,01$) (Tablo 1). Peynirlerin tuz oranlarının % 2,43-3,92 tuz/nem oranları % 4,76-6,54 aralığında olduğu saptanmıştır (Tablo 1). Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre peynir gruplarının ortalamaları Tablo 2’de sunulmuştur. 1 ve 30 gün depolanan peynirlerin tuz oranları ile 1 gün depolanan peynirlerin tuz/nem oranları üzerine ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etkisi önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 2). Depolama başlangıcında peynirlerin tuz ve tuz/nem içeriği bakımından HF grubu peynirlerin diğer gruplardan farklılaştığı görülmektedir. RF, RS ve HF grubundan daha yüksek nem içeriğine sahip HF grubunun bu durumla ilişkili olarak peynir bünyesinde bulunan suda göreceli olarak daha fazla tuz çözünmesine bağlanabilecek daha yüksek tuz ve tuz/nem içeriğine sahip olduğu söylenebilir. Genel olarak starter kültür ilave edilen peynirlerin daha düşük tuz içeriğine sahip olduğu belirlenmiş ancak peynirler arasındaki farklar % tuz oranı bakımından sadece depolamanın 30. gününde, tuz/nem oranları bakımından ise depolamanın sadece 1. gününde HF ve HS grupları arasında istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 2). Barac vd. (2016) 90 °C 10 dk ısıl işlem uygulayıp ve starter kültür ilavesiz keçi sütünden ürettiği peynirleri, üretildiği gece boyunca peynir kütesinin yaklaşık % 3’ü kadar tuz kaplayıp, depolama boyunca % 8 tuz içeren salamurada bekletmiştir. Depolama başlangıcında tuz içermeyen peynirler, 20 gün sonunda % 2,14 tuz içeriğine sahip olmuş ve 20. günden sonra 50 gün boyunca tuz oranları arasında fark bulunmamıştır. Çalışmadaki tüm peynirler Barac vd. (2016)’nın çalışmalarında belirlenen tuz oranlarından daha yüksek tuz içeriğine sahip olup, tuz içeriğindeki farklılıkların tuzlama tekniğinden ve tuzlama süresindeki farklılardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmada belirlenen tuz/nem oranları Kocak vd. (2020) tarafından belirlenen salamura keçi peynirlerinin tuz/nem içeriğine benzerlik göstermekte, ancak araştırmacılar salamura keçi peynirinde depolama ile tuz/nem oranının önemli derece arttığını bunun depolama sonucu peynirlerin kurumadelerinin azalmasına bağlı olarak su içeriğindeki artıştan kaynaklandığını, peynirde su oranı artışı ile difüzyonun hızlandığı ve buna bağlı olarak salamuradan absorbe edilen tuz miktarı artışının, tuz oranlarında artışa neden olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmadan farklı olarak tez çalışması peynirleri

salamurada depolanmadığı için depolama süresince tuz/nem oranlarında istatistiksel olarak önemli derecede değişim belirlenmemiştir.

Kül oranları üzerine ısı işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 2), üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı kurumadde değerlerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 1). Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre peynir gruplarının kül oranları Tablo 2’de sunulmuştur. Her bir ısı işlem grubunda starter kültür ilave edilmeyen peynirlerin kül oranları starter kültür ilave edilen peynirlerden daha yüksek bulunmuştur. Diğer gruplardan daha yüksek kül içeriğine sahip RF ve HF grubunun sırasıyla % 4,58 ve 4,71 kül oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Pastörize süttten starter kültür ilavesiyle üretilen keçi peynirlerinde kül oranı % 4,50 olarak belirlenmiş (Vyhmeister vd., 2019), bu peynir starter kültür kullanımı yönünden RF ve HF gruplarından farklı olmasına rağmen, üretimde kullanılan keçi sütü bileşimi ve üretim tekniği farkından kaynaklanması muhtemel, kül içeriği bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Starter kültür ilaveli peynir grupları arasında ise çiğ süttten üretilen peynirler ısı işlem görmüş süttten üretilen peynirlerden daha yüksek kül içeriğine sahiptir. Kaminarides vd. (2019) % 50 yağı azaltılmış keçi sütüne 80 ° C 10 dk ısı işlem uyguladıktan sonra *Lc. lactis* subsp. *lactis* + *Lc. lactis* subsp. *cremoris* içeren starter kültür ve *Penicillium candidum* destek kültür ilave ederek ürettikleri keçi peynirlerinde depolamanın ilk ve 14. gününde kül oranlarını sırasıyla % 2,89 ve % 3,71 olarak belirlendiğini bildirmişler, RS ve HS peynirlerinin kül oranları 14 gün depolanmış yağı azaltılmış keçi peynirinin kül oranına benzer bulunmuştur.

4.2. pH ve Titrasyon Asitliği Değerleri

Peynirlerde depolama boyunca belirlenen pH ve titrasyon asitliği değerleri Tablo 3’te, ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre peynir gruplarının ortalamaları Tablo 4’te sunulmuştur. Peynirlerin pH ve LA değerleri üzerine ısı işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 4), üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı pH ve LA değerlerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 3). Peynir asitliği, üretimde

kullanılan çiğ sütün doğal ve gelişen asitliği üzerine sürece dahil olan mikroorganizmalar ve pıhtılaşmanın katkısıyla olgunlaşma süresince gelişmektedir. Peynirdeki asitliğin bir kısmı kazein ve para-kazeinden, önemli bir kısmı ise LAB'nin faaliyeti sonucunda laktozun fermantasyonu sonucu üretilen asitler ile meydana gelmektedir (Fox vd., 2017b). Özellikle peynir sütüne ilave edildiğinde starter kültürler, asit üretme kapasiteleri sayesinde peynir sütünün pH ve asitliğine önemli katkıda bulunmaktadır (Hayaloğlu vd., 2005; Pappas vd., 1996). Bu ifadeyle uyumlu olarak starter kültür ilaveli peynirlerin, aynı ısıl işlem grubundaki starter kültür ilavesiz peynirlere göre 1 ve 30. Depolama günlerinde önemli ölçüde daha yüksek LA ve daha düşük pH değerlerine sahip olduğu bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 4). HS1 ve HS2 peynirleri üretim sonrası depolamanın 1. gününde 4,52 ve 4,53 pH değerlerine ulaşmış ve diğer peynirlerden farklı olarak bu peynirlerin pH değerleri depolama boyunca değişmemiştir. Bu sonuçlar HS peynirlerinin, ısıl işlem görmüş sütteki starter kültürün aktivitesi sayesinde depolamanın ilk gününde nihai pH ve LA değerlerine ulaştığını göstermektedir (Tablo 3). Peynirler arasında RS1-RS2 peynirlerinin 90. günde en yüksek LA değerlerine (sırasıyla 2,53 ve 2,40) sahip olduğu bulunmuştur. Vyhmeister vd. (2019) pastörize keçi sütüne starter kültür ilave ederek ürettikleri peynirlerin % LA değerlerinin depolamanın 1. gününde 1,46 olduğunu bildirmişlerdir. Bu değer starter kültür ilavesiyle üretilen taze RS ve HS peynirlerinin LA değerinden düşük bulunmuştur. Kocak vd. (2020) pastörize (72-74° C'de 15-20 s) keçi sütüne farklı starter kültürler ilave ederek ürettikleri salamura keçi peynirlerinde pH değerlerinin depolamanın 1. gününde 4,91-4,95, depolamanın 90. gününde 4,59-4,68 değer aralığında bulunduğunu, 30 günlük depolama ile peynirlerin pH değerlerinin düştüğünü 30. günden sonra ise sabit kaldığını bildirmişlerdir. Bu çalışmadaki peynirlere ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesi yönünden nispeten benzerlik gösteren HS peynirlerinde pH değerleri benzer bulunsada depolama boyunca değişim belirlenmemiştir. İki çalışma arasındaki küçük farkların çalışmalardaki ısıl işlem normu ve üretim tekniklerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Peynirin fizikokimyasal özelliklerini etkileyen birkaç faktör arasında pH değeri, sütteki kazein misellerinin ve minerallerin stabilitesini doğrudan etkilediği için kritik olduğu bildirilmiştir (Pastorino vd., 2003). Bu nedenle, HF1 ve HF2, üretiminde starter kültür içermeyen ve ısıl işlem görmüş keçi sütü kullanıldığından, diğer peynirlerden farklı pH, LA değerleri, randıman ve kimyasal bileşime sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 1 ve 2).

Tablo 3

Depolama süresince peynirlerde belirlenen pH ve titrasyon asitliği değerleri

Özellik	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)								P
		RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
pH	1	5,64±0,04 ^A	5,66±0,02 ^A	4,92±0,02 ^A	4,88±0,02 ^A	6,27±0,03 ^A	6,20±0,02 ^A	4,52±0,05	4,53±0,00	0,118
	30	5,62±0,06 ^A	5,74±0,02 ^A	4,88±0,01 ^{AB}	4,89±0,01 ^A	6,38±0,02 ^A	6,17±0,16 ^A	4,68±0,03	4,70±0,00	0,080
	60	5,45±0,03 ^A	5,51±0,10 ^A	4,82±0,00 ^B	4,71±0,00 ^{AB}	6,35±0,03 ^A	6,08 ±0,13 ^A	4,62±0,02	4,65±0,00	0,026
	90	4,79±0,04 ^B	4,83±0,05 ^B	4,62±0,01 ^C	4,62±0,07 ^B	5,14±0,09 ^B	5,37±0,12 ^B	4,71±0,04	4,73±0,01	0,977
P		0,000	0,001	0,000	0,002	0,000	0,001	0,061	0,018	
% LA	1	1,04±0,01 ^C	0,92±0,02 ^B	1,71±0,01 ^C	1,83±0,03 ^B	0,51±0,01 ^B	0,48±0,01 ^B	1,95±0,06	1,96±0,02	0,025
	30	0,99±0,02 ^C	0,99±0,03 ^B	1,82±0,05 ^C	1,89±0,03 ^B	0,59±0,01 ^B	0,72±0,01 ^B	1,90±0,01	2,01±0,02	0,224
	60	1,27±0,04 ^B	1,10±0,08 ^B	1,96±0,03 ^B	1,98±0,03 ^B	0,69±0,02 ^B	0,69±0,02 ^B	1,90±0,02	1,92±0,02	0,169
	90	2,19±0,09 ^A	1,95±0,05 ^A	2,53±0,03 ^A	2,40±0,09 ^A	1,50±0,08 ^A	1,40±0,01 ^A	2,01±0,06	1,98±0,04	0,892
P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,201	0,172	

^{A-C} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$).

R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. LA, laktik asit cinsinden titrasyon asitliği; S.H, standart hata.

HF peynirlerinin depolama sırasında artan asitliği, peynir yapımı sırasındaki kontaminasyondan ve depolama sırasında bu mikroorganizmaların gelişmesinden kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca bu grupta 90. günde belirlenen nispeten keskin pH düşüşleri (Tablo 3), peynirde ısıl işlemle inhibe edilemeyen LAB'nin aktivitesine ve zamanla sayılarının artmasına bağlanabilir. Bununla ilişkili olarak mayalama öncesi tekne sütlerinde belirlenen ve süt işleme sırasında kontamine olan veya ısıl işlemle inaktive edilemeyen HF peynir grubu sütüne ait TMAB ve LAB gibi mikroorganizmaların sayıları Tablo 7'de gösterilmiştir. Barac vd. (2019) yüksek ısıl işlem uygulanmasına ve herhangi bir starter kültür eklenmemesine rağmen taze keçi peynirlerin pH değerlerinin 5,77 olduğunu, çiğ süte göre peynirlerin pH değerindeki azalmanın süte uygulanan ön işlemler sırasında ve ısıl işlemden sonra meydana gelen asitlenme ile açıklanabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca pıhtılaşma, kesme ve kalıplama sırasında, muhtemelen dış kontaminasyondan kaynaklanan mikrobiyal popülasyon artışının peynirlerin depolama süresince pH değerlerinin azalmasına katkıda bulunduğu ifade edilmiştir. 90 °C 10 dk ısıl işlem uygulanan ve starter kültür kullanılmadan üretilen keçi salamura keçi peynirinde depolamanın başlangıcında pH 6,28 olarak belirlenmiş (Barac vd., 2016), aynı koşullarda üretilen HF peynirlerinin 1 gün depolanmış örneklerinde benzer pH değerleri bulunmuştur. Sulejmani vd. (2020) starter kültür ilave etmeden, pıhtısını haşlayarak ürettiği, 2 ay depolanmış Beaten peynirinde pH değerini 5,43 olarak belirlemişler ve çiğ süttten starter kültür ilave edilmeden üretilen RF peynirlerinin pH değeri Beaten peynirinin pH değerine benzer bulmuşlardır. Hayaloglu vd. (2013) keçi sütü kullanarak ürettikleri peynirlerde 90 günlük depolama süresince LA değerlerini % 0,15 ve 0,71 arasında belirlemişlerdir. Bulgular depolama günlerinin ortalamaları bakımından elde edilen sonuçlardan düşük, depolama süresiyle orantılı asitlik artış eğilimiyle benzer bulunmuştur. RF peynirlerinde üretiminde keçi sütüne starter kültür ilave edilmemesine rağmen, sütün doğal mikroflorası peynir üretim süreci ve depolama boyunca tüm peynirlerin asitliğinin artmasında etkili olmuştur (Tablo 3). Bu peynir grubu 90 günlük depolama sonunda, RS peynir grubu ise depolamanın 60. gününde, HS peynirleri ile benzer pH ve LA değerlerine ulaşmıştır (Tablo 4). RF peynirlerin pH değerleri ve depolama süresince pH değışimi Öner ve Sarıdağ (2019)'ın çiğ keçi sütünden geleneksel yöntemlerle ürettikleri keçi peynirlerinin pH değerleriyle benzer değerlerde ve azalma eğiliminde olduğu bulunmuştur.

Tablo 4

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının pH ve titrasyon asitliği değerleri

Özellik	Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
		RF	RS	HF	HS	
pH	1	5,65±0,02 ^b	4,90±0,02 ^c	6,24±0,03 ^a	4,52±0,02 ^d	0,000
	30	5,67±0,04 ^b	4,88±0,01 ^c	6,27±0,09 ^a	4,69±0,01 ^d	0,000
	60	5,48±0,05 ^b	4,76±0,03 ^c	6,21±0,10 ^a	4,63±0,01 ^c	0,000
	90	4,81±0,03 ^b	4,62±0,03 ^b	5,33±0,06 ^a	4,72±0,02 ^b	0,001
% LA	1	0,98±0,02 ^c	1,77±0,03 ^b	0,50±0,01 ^d	1,96±0,03 ^a	0,000
	30	0,99±0,01 ^c	1,85±0,03 ^b	0,64±0,03 ^d	1,95±0,02 ^a	0,000
	60	1,18±0,05 ^b	1,97±0,02 ^a	0,69±0,02 ^c	1,91±0,01 ^a	0,000
	90	2,07±0,07 ^b	2,46±0,05 ^a	1,45±0,04 ^c	2,00±0,03 ^b	0,000

^{a-d} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. LA, laktik asit cinsinden titrasyon asitliği; S.H, standart hata.

4.3. Toplam Azot, Suda Çözünür Azot ve Toplam Serbest Amino Asit Oranları

Peynirlerde depolama boyunca belirlenen toplam azot, suda çözünür azot oranları ve serbest amino asit miktarları Tablo 5'te sunulmuştur. Peynirlerin TA oranları % 2,61 ile % 3,68 değer aralığında bulunmuştur. Peynirlerin toplam azot oranlarında depolama boyunca gerçekleşen değişim önemli bulunmamıştır ($P > 0,01$) (Tablo 5). Protein hidrolizi, küçük ve orta zincir uzunluklu peptitlerin ve serbest amino asitlerin oluşumundan kaynaklanan ŞÇA'deki artışla açıkça gösterilmektedir (Guiziani vd., 2006; Zaravela vd., 2021). Ayrıca TFAA değeri sütün doğal enzimleri, pıhtılaştırıcılar ve peynir mikrobiyotası kaynaklı proteolizin bir göstergesi olarak bilinmektedir (Say, 2022). Tüm peynirlerin ŞÇA, ŞÇA/TA ve TFAA oranları depolama ile önemli ölçüde artmıştır ($P \leq 0,01$) (Tablo 5). Peynirler arasında sadece HF grubu, yüksek nem içeriği ile ilişkilendirilebilecek düşük toplam azot içeriğine sahiptir. En yüksek ŞÇA/TA ve TFAA değerleri HS grubu peynirlerde depolama sırasında belirlenerek sırasıyla % 30,26 ve 12,72 (mg lösin/g peynir) değerlerine ulaşmıştır. Peynirdeki suda çözünür azotlu bileşikler esas olarak pıhtılaştırıcının etkisiyle

üretilmektedir, ancak starter bakteriler veya plazmin tarafından da üretilebilmektedirler (Visser, 1977). Kocak vd. (2020) farklı starter kültürler kullanarak ürettikleri keçi peynirlerinde SÇA oranlarının depolamanın 30, 60 ve 90. günlerinde farklı starter kültür kullanımına bağlı olarak farklılık gösterdiğini bildirmişlerdir. Proteolize bağlı olarak protein parçalanması üretim ve depolama süresince devam etmekte ve ortamda oluşan serbest amino asitler ve peptitlerin miktarı artmaktadır (Sousa vd., 2001). HS peynirlerindeki daha yüksek proteoliz seviyesi, depolamanın 1. gününde starter kültür aktivitesi ile peynirlerin 4,6'ya ulaşan uygun pH değerlerine bağlanabilir (Tablo 3 ve 4). Guizani vd. (2006), pastörize keçi sütünün starter kültür ile fermente edilmesiyle üretilen yarı sert keçi peynirinde benzer TA değerleri bulmuşlar, ancak SÇA değerlerinin olgunlaşma başlangıcından itibaren % 17,46'dan % 42,40'a yükseldiğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışmayla karşılaştırıldığında, kısa sürede hızla artan proteoliz ilerlemesindeki farklılık, olgunlaşma faktörlerinin daha aktif olmasını sağlayan nispeten yüksek depolama sıcaklığından (14°C) kaynaklanmış olabilir. Diğer bir çalışmada (Garcia vd., 2014), farklı starter kültür kullanımının, *C. cardunculus* proteazı ile pıhtılaştırılmış süttten üretilen, keçi peynirinin SÇA oranlarını önemli düzeyde etkilediği, depolama süresinin artmasıyla üretimde kullanılan starter kültür çeşidinden bağımsız olarak peynirlerin SÇA oranlarının arttığı belirtilmiş olup elde edilen bulgular tez çalışmasıyla benzer bulunmuştur.

Peynirlerin TA, SÇA, SÇA/TA ve TFAA değerleri üzerine ısı işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden, ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş olup ($P \leq 0,01$) (Tablo 6) üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı bu değerleri önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 5). Peynirlerin proteoliz düzeyi ile doğrudan ilişkili olan SÇA/TA ve TFAA sonuçlarının uyum içinde olduğu görülmektedir (Tablo 6). Peynir grupları arasında HS peynirlerinin tüm depolama günlerinde en yüksek SÇA/TA (% 29,66) ve TFAA (12,61 mg lösin/g peynir) değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. Her bir ısı işlem grubunda 90 gün depolanmış peynirler arasında starter kültür ilave edilen peynirlerde daha yüksek düzede proteoliz gerçekleştiği belirlenmiştir. Olgunlaştırılmış peynirler arasında en düşük TA, SÇA, SÇA/TA ve TFAA değerleri ise HF grubunda belirlenmiştir (Tablo 6).

Tablo 5

Depolama boyunca peynirlerde belirlenen toplam azot, suda çözümlü azot oranları ve toplam serbest amino asit miktarları

Özellik	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)								P
		RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
% TA	1	3,39±0,07	3,31±0,05	3,34±0,11	3,66±0,09	3,01±0,07	2,98±0,04	3,68±0,08	3,64±0,07	0,061
	30	3,35±0,04	3,39±0,05	3,41±0,01	3,36±0,08	2,73±0,09	2,83±0,15	3,39±0,14	3,34±0,11	0,844
	60	3,35±0,09	3,22±0,06	3,13±0,01	3,20±0,10	2,65±0,08	2,72±0,11	3,30±0,18	3,14±0,08	0,154
	90	3,22±0,06	3,19±0,08	3,20±0,02	3,15±0,05	2,61±0,08	2,70±0,05	3,18±0,11	3,14±0,09	0,618
P		0,291	0,147	0,015	0,024	0,019	0,218	0,107	0,015	
% SÇA	1	0,26±0,02 ^C	0,26±0,03 ^D	0,33±0,03 ^C	0,30±0,05 ^C	0,17±0,04 ^B	0,14±0,04 ^B	0,52±0,04 ^B	0,51±0,08 ^B	0,994
	30	0,39±0,03 ^B	0,38±0,03 ^C	0,54±0,04 ^B	0,47±0,01 ^B	0,21±0,05 ^A	0,22±0,04 ^{BC}	0,76±0,06 ^B	0,70±0,04 ^B	0,767
	60	0,48±0,04 ^B	0,50±0,02 ^B	0,60±0,05 ^{AB}	0,56±0,03 ^B	0,22±0,06 ^A	0,23±0,04 ^{AB}	0,83±0,05 ^B	0,76±0,04 ^B	0,204
	90	0,64±0,03 ^A	0,63±0,03 ^A	0,74±0,02 ^A	0,72±0,03 ^A	0,32±0,05 ^A	0,31±0,04 ^A	0,92±0,08 ^A	0,95±0,08 ^A	0,074
P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
% SÇA/TA	1	7,68±0,58 ^C	7,99±0,79 ^C	9,80±1,59 ^C	8,12±1,40 ^C	5,51±0,30 ^C	4,57±0,27 ^C	14,13±1,60 ^C	14,14±0,43 ^C	0,722
	30	11,56±0,81 ^{BC}	11,21±0,79 ^{BC}	15,77±0,99 ^B	14,00±0,19 ^B	7,59±0,24 ^B	7,78±0,63 ^B	22,47±1,18 ^B	21,00±1,62 ^B	0,250
	60	14,33±1,06 ^B	15,41±0,68 ^B	19,10±0,70 ^B	17,46±0,91 ^B	8,44±0,71 ^B	8,60±0,48 ^B	25,26±0,45 ^{AB}	24,21±0,78 ^B	0,033
	90	19,97±1,17 ^A	19,83±0,63 ^A	23,01±0,35 ^A	22,80±0,72 ^A	12,22±0,17 ^A	11,64±0,56 ^A	29,05±0,83 ^A	30,26±0,53 ^A	0,885
P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	
TFAA	1	0,82±0,17 ^C	0,77±0,22 ^C	1,12±0,21 ^D	1,00±0,18 ^D	0,35±0,19 ^C	0,38±0,14 ^B	1,70±0,15 ^C	1,88±0,46 ^C	0,748
	30	1,34±0,14 ^C	1,50±0,52 ^{BC}	3,41±0,58 ^C	3,13±0,50 ^C	0,94±0,16 ^{BC}	0,98±0,23 ^{AB}	7,02±0,63 ^B	6,75±0,38 ^B	0,041
	60	2,72±0,38 ^B	3,15±0,47 ^B	5,11±0,95 ^B	4,93±0,51 ^B	1,61±0,39 ^{AB}	1,55±0,92 ^{AB}	8,80±1,25 ^B	7,96±1,02 ^B	0,232
	90	5,94±1,08 ^A	5,88±1,23 ^A	10,28±0,65 ^A	8,98±1,37 ^A	1,98±0,62 ^A	2,05±0,69 ^A	12,72±0,42 ^A	12,51±1,03 ^A	0,238
P		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000	

^{A-D} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$).

R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. TA, toplam azot; SÇA, suda çözümlü azot; SÇA/TA, toplam azot içeriğindeki suda çözümlü azot; TFAA, toplam serbest amino asit (mg lösin/g peynir); S.H, standart hata.

Pappa vd. (2022a) tarafından yapılan çalışmada 60 gün depolanmış yumuşak keçi peynirlerinde SÇA/TA oranlarını % 19,19 ve % 19,41 olarak belirlenmiş olup tez çalışmasındaki 60 gün depolanmış çiğ süt peynirlerinin yumuşak keçi peynirleriyle SÇA/TA oranları bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Turan ve Durak (2022) çiğ keçi sütünden hayvansal rennet kullanılarak üretilmiş ve 12 ay olgunlaştırılmış keçi peynirlerinde TA, SÇA ve SÇA/TA oranlarını sırasıyla % 2,78; % 0,49 ve % 17,70 olarak bulmuşlar ve benzer koşullarla üretilen 90 gün depolanmış RF peynirlerinin ilgili azot oranlarının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. 90 günlük depolama süresince, çiğ süttten üretilen Xinotyri keçi peynirlerinin SÇA/TA oranlarının pastörize sütle üretilenlerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Pappa vd., 2022b). Isıl işlem ve starter kültür ilavesi açısından HF grubuyla benzer peynir yapım prosedürlerinin kullanıldığı bir çalışmada (Barac vd., 2016), taze peynirler için benzer SÇA sonuçları elde edilmiş ancak olgunlaştırılmış peynirlerinde tez çalışmasındaki değerlerden daha yüksek değerler bildirilmiştir. Diğer bir çalışmasında ise HF grubuyla benzer peynir ısıtma işlem ve starter kültür normları uygulanarak üretilen keçi peynirlerinde 50 gün depolama sonunda SÇA/TA oranını % 8,43 olarak 60 gün depolanmış HF1 (% 8,44) ve HF2 (% 8,60) peynirlerinin SÇA/TA oranlarıyla benzer bulunmuştur (Barac vd., 2019). Araştırmacılar peynirlerin yüksek pH değerlerine sahip olması ve starter kültür içermemesine rağmen artan SÇA değerlerini kimozin ve plazmin tarafından üretilen ürünlerle ilişkilendirmişlerdir. Bu bilgilere ek olarak ısıtma işlem sonrası peynire kontamine olan bakterilerin aktivitesi HF peynirlerinin proteolizine katkıda bulunmuş olabilir. Bazı araştırmacılar, peynirlerin TFAA değerlerinin depolama boyunca artmasını peptitlerin bakterilerin etkisiyle serbest amino asitlere parçalanmasına bağlamışlardır (Delgado vd., 2011a; Juan vd., 2016). Pino vd. (2009b) yapılan çalışmaya benzer bir şekilde *C. cardunculus* proteazı ile hayvansal renneti karşılaştırdıkları çalışmada keçi peynirlerinin TFAA değerlerinin 120 günlük depolama süresince önemli derecede arttığını ancak bitkisel ve hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı kullanımının keçi peynirlerinin TFAA değerini önemli derecede farklılaştırmadığını bildirmişlerdir. Trujillo vd. (2002) keçi sütüne yüksek basınç işlemi uygulanarak üretilen keçi peynirlerinin 45 günlük depolama süresince TFAA değerlerinin çiğ ve pastörize süttten üretilen keçi peynirlerinin değerlerinden daha yüksek olduğunu, süttü pastörize etmenin çiğ süte göre TFAA değerlerini değiştirmediğini rapor etmişlerdir. Aynı çalışmada depolama ile SÇA/TA ve TFAA değerlerinin arttığı, TFAA değerinden farklı olarak 45 günlük depolama sonunda pastörize süttten üretilen peynirin SÇA/TA oranının çiğ süttten üretilen peynirden daha yüksek olduğu bulunmuştur. Keçi

peyniri üzerine yapılan araştırmalarda RF, RS ve HS peynirleri ile uyumlu TFAA değerleri Tomaszewska-Gras vd. (2019) (7,24 mg lösin/g peynir) ve Say (2022) (8,06 mg lösin/g peynir) tarafından rapor edilmiştir.

Tablo 6

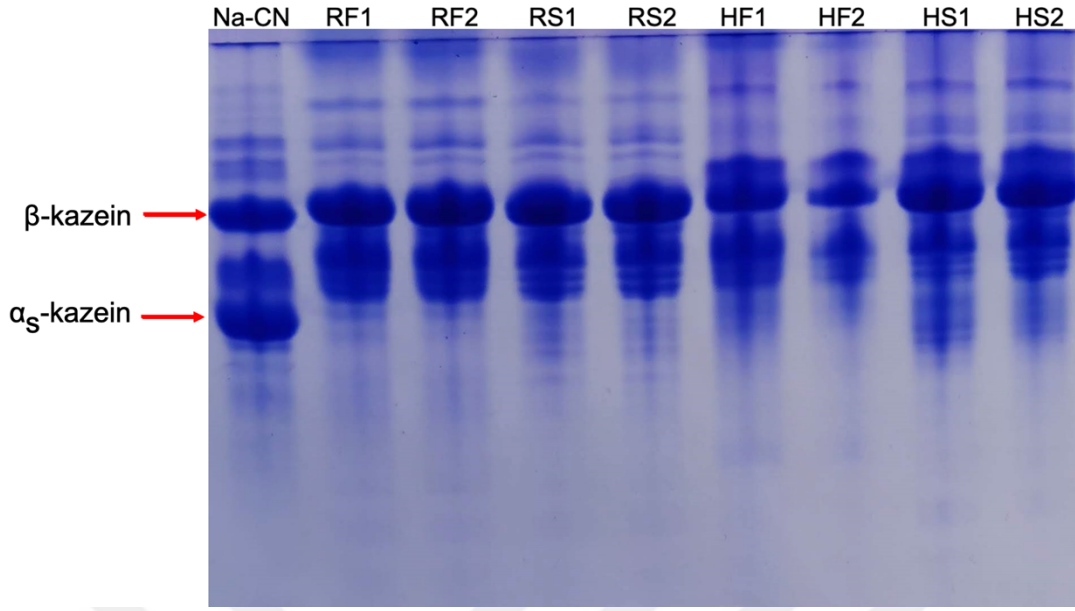
Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının toplam azot, suda çözüner azot oranları ve toplam serbest amino asit miktarları

Özellik	Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
		RF	RS	HF	HS	
% TA	1	3,35±0,04 ^b	3,50±0,09 ^{ab}	2,99±0,04 ^c	3,66±0,05 ^a	0,000
	30	3,37±0,03 ^a	3,38±0,04 ^a	2,78±0,08 ^b	3,36±0,08 ^a	0,000
	60	3,29±0,05 ^a	3,17±0,05 ^a	2,68±0,07 ^b	3,22±0,10 ^a	0,000
	90	3,20±0,05 ^a	3,18±0,03 ^a	2,66±0,05 ^b	3,16±0,07 ^a	0,000
% SÇA	1	0,26±0,01 ^b	0,31±0,03 ^b	0,15±0,02 ^c	0,51±0,02 ^a	0,010
	30	0,38±0,02 ^c	0,50±0,02 ^b	0,21±0,02 ^d	0,74±0,04 ^a	0,009
	60	0,49±0,02 ^c	0,58±0,03 ^b	0,23±0,02 ^d	0,80±0,04 ^a	0,000
	90	0,64±0,02 ^b	0,73±0,01 ^b	0,32±0,03 ^c	0,93±0,03 ^a	0,000
% SÇA/TA	1	7,83±0,46 ^{bc}	9,10±0,96 ^b	5,04±0,49 ^c	14,14±0,87 ^a	0,000
	30	11,39±0,53 ^c	14,89±0,58 ^b	7,69±0,45 ^d	21,74±1,14 ^a	0,000
	60	14,87±0,62 ^b	18,29±0,86 ^b	8,52±0,40 ^c	24,74±0,46 ^a	0,000
	90	19,90±0,62 ^c	22,97±0,45 ^b	11,93±0,29 ^d	29,66±0,51 ^a	0,000
TFAA	1	0,79±0,06 ^b	1,06±0,06 ^b	0,36±0,04 ^c	1,79±0,10 ^a	0,000
	30	1,42±0,12 ^c	3,27±0,16 ^b	0,96±0,05 ^c	6,89±0,39 ^a	0,000
	60	2,93±0,16 ^c	5,02±0,23 ^b	1,58±0,23 ^d	8,38±0,42 ^a	0,000
	90	5,91±0,41 ^c	9,63±0,39 ^b	2,02±0,20 ^d	12,61±0,21 ^a	0,000

^{a-d} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıl işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. TA, toplam azot; SÇA, suda çözüner azot; SÇA/TA, toplam azot içeriğindeki suda çözüner azot; TFAA, toplam serbest amino asit (mg lösin/g peynir); S.H, standart hata.

4.4. Urea-PAGE Sonuçları

Depolama boyunca peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarında belirlenen Urea-PAGE elektroforetogramları Şekil 4, 5, 6 ve 7’de sunulmuştur. Urea-PAGE elektroforetogramlarında starter kültür ilavesi ve ısıl işlemin proteolizi etkilediği, bitkisel pıhtılaştırıcı veya hayvansal peynir mayasının bu iki faktör kadar proteolizi etkilemediği bulunmuştur. α_s -kazeinlerin altındaki ve β -kazeinlerin üstündeki bantlar, peynirin olgunlaşması sırasında kazeinlerin enzimler tarafından parçalanmalarından türetilen peptidlere karşılık gelmektedir (Franco vd., 2003). Depolamanın ilk gününde çiğ süt peynirleri (R) neredeyse benzer bir α_s -kazein parçalanma eğilimi göstermiştir (Şekil 4), ancak RS peynirlerinde, özellikle 30 günlük depolamadan sonra daha net bir degradasyon olduğu görülmektedir. Depolamanın 1. gününde H grubu peynirlerin β -kazein bandının, çiğ süt peynirlerine göre, üst kısma doğru daha geniş olduğu görülmektedir. Bu durum muhtemelen süte uygulanan ısıl işlem sonucu serum proteinlerinin denatürasyonu ve β -laktoglobulinin kazeinlerle birleşerek kompleks oluşturmasından kaynaklandığı, benzer bir sonucun 80 °C’de 10 dk ısıl işlem uygulanmış keçi sütünden üretilen keçi peynirlerinde gözlemlendiği bildirilmiştir (Kaminarides vd., 2019). Urea-PAGE jel görüntüsünde depolama süresinin artmasıyla kazein fraksiyonlarının parçalanmaya başladığı, özellikle 90. gün peynirlerinde α_s -kazein parçalanma ürünlerine ait bantlar daha belirgin olduğu görülmektedir (Şekil 7). Peynir pıhtısında kalan kalıntı pıhtılaştırıcı enzimler, α_s -kazeinler üzerinde spesifik bir etkiye sahipken β -kazeinler bu etkiye daha az maruz kaldıkları için parçalanmaları çok kısıtlı olmaktadır (Fox, 1993). 60 ve 90 gün depolanan peynirlerde sırasıyla Şekil 6 ve Şekil 7’de β -kazein degradasyonunun α_s -kazeine kıyasla daha az olduğu görülmekte ve keçi peynirinde α_s -kazeinin proteolitik değişimlerinin β -kazeinden daha belirgin olduğu bilinmektedir (Hayaloglu vd., 2013; Miloradovic vd., 2017). Pino vd. (2009a) *C. cardunculus* bitkisel proteazı ve hayvansal rennet kullanarak ürettikleri keçi peynirlerinin Urea-PAGE jel görüntüsünde 2. günden itibaren β -kazeinlerde parçalanma sonucu kısmen değişim gözlemlendiğini bildirmişlerdir. α_s -kazeinlerde her iki pıhtılaştırıcı türü için 2. ve 15. günler arasında hızlı bir parçalanma olduğu, ancak degradasyonun ilerleyen günlerde azaldığı, bitkisel pıhtılaştırıcı ile üretilen peynirlerde gerçekleşen degradasyonun hayvansal rennetle üretilenlere göre nispeten daha belirgin olduğu rapor edilmiştir.

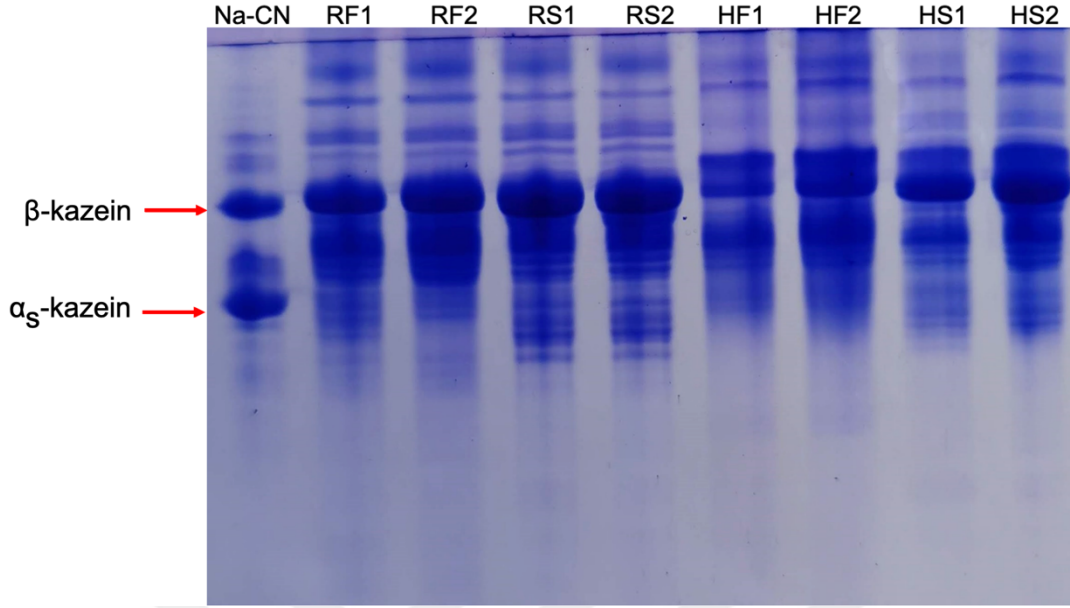


Şekil 4. 1 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Na-CN; Sodyum kazeinat.

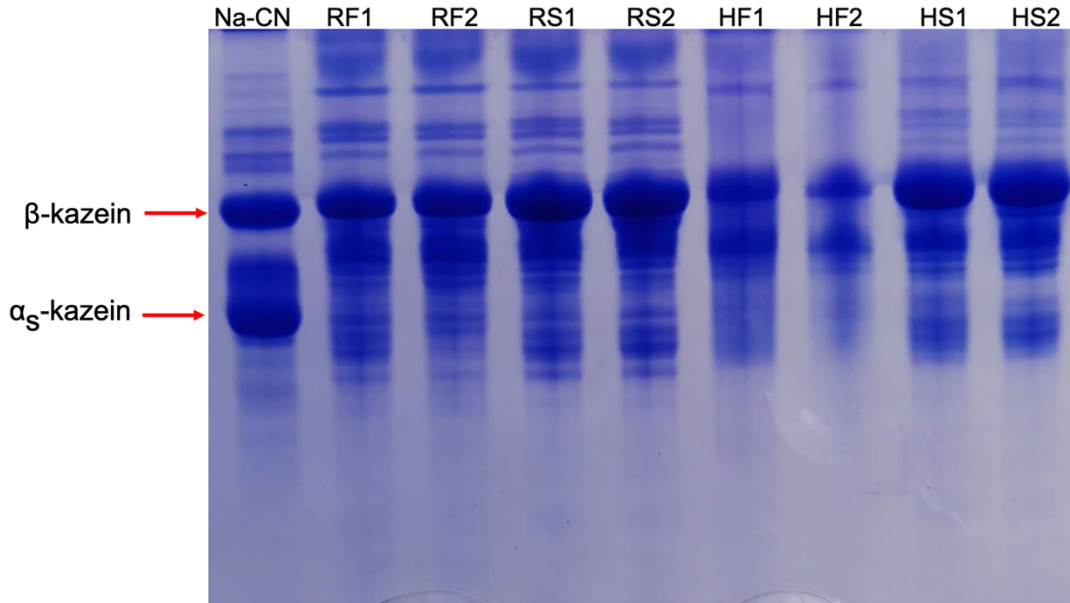
Uygulanan ısıtılmış işleme sürecine bağlı olarak H peynirlerinin bünyesinde daha çok kalan peyniraltı suyu proteinlerinin etkileşimi nedeniyle, H peynirlerindeki β -kazein ve β -kazeinden daha yavaş olan β -kazein parçalamaya ürünlerinin nispi miktarında R peynirleri ile kıyaslandığında gözle görülür bir fark oluşmuştur. Bununla birlikte, tüm peynirlerde kısıtlı β -kazein degradasyonu, olgunlaşma ile artan asitliğinin plazmin aktivitesini kısıtlayarak β -kazeinin alt fraksiyonlara parçalanmasının yavaşlamasına bağlanmaktadır (Miloradovic vd., 2017).

Peynirler arasında tüm depolama günlerinde SÇA/TA ve TFAA sonuçları ile uyumlu şekilde HF1 ve HF2 peynirlerinde diğer peynirlerden daha düşük düzeyde proteoliz gerçekleştiği, 90 gün depolanan HF peynirlerinde dahi α_s -kazein degradasyon ürünlerinin oluşmadığı veya çok sınırlı miktarda oluştuğu görülmektedir (Şekil 7). Proteoliz seviyesinin göstergesi olan bu urea-PAGE sonuçlarından *C. cardunculus* bitkisel proteazlarının buzağı rennetine benzer seviyede keçi sütünü pıhtılaştırdığı ve depolama süresince ileri düzeyde proteolize neden olmadığı söylenebilir.



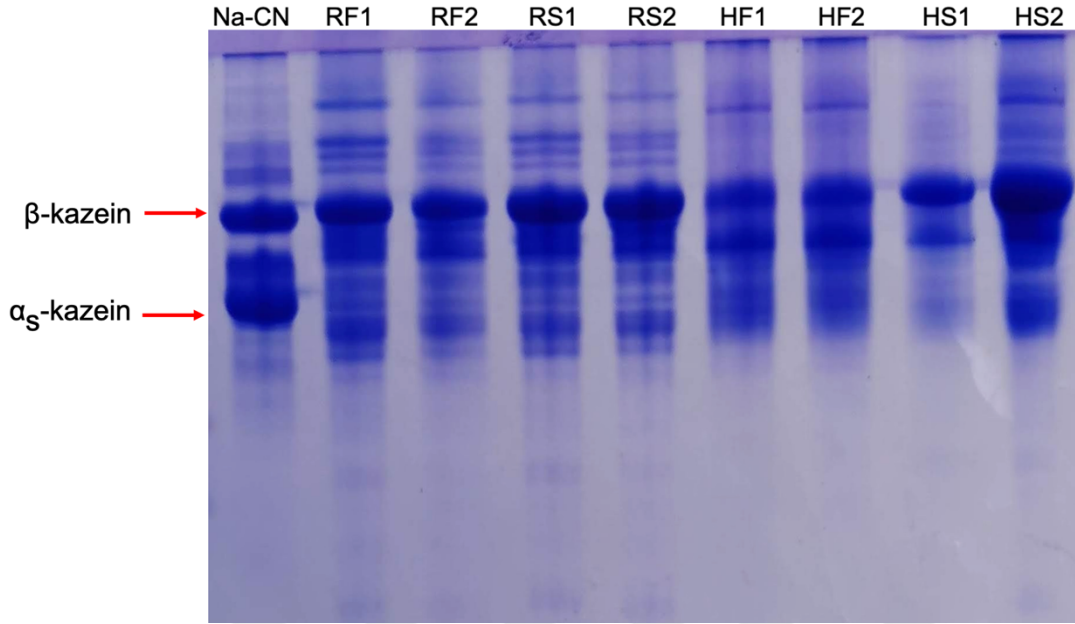
Şekil 5. 30 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Na-CN; Sodyum kazeinat.



Şekil 6. 60 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Na-CN; Sodyum kazeinat.



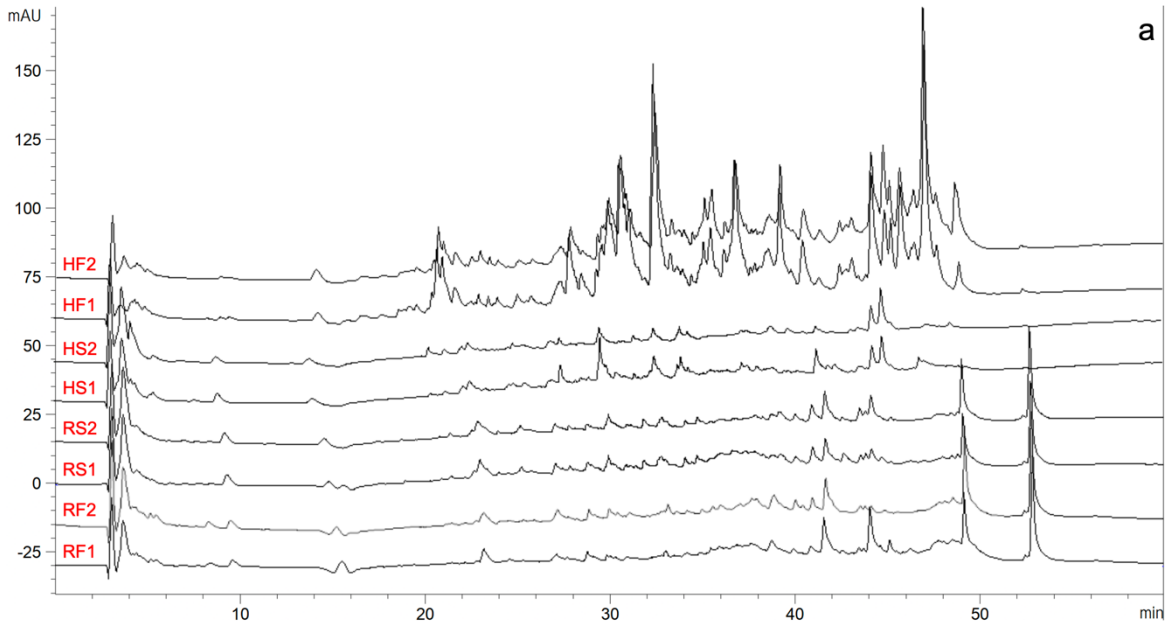
Şekil 7. 90 gün depolanan peynirlerin suda çözünmeyen azot fraksiyonlarının Urea-PAGE görüntüsü*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. Na-CN; Sodyum kazeinat.

4.5. RP-HPLC Peptit Profil Analizi Sonuçları

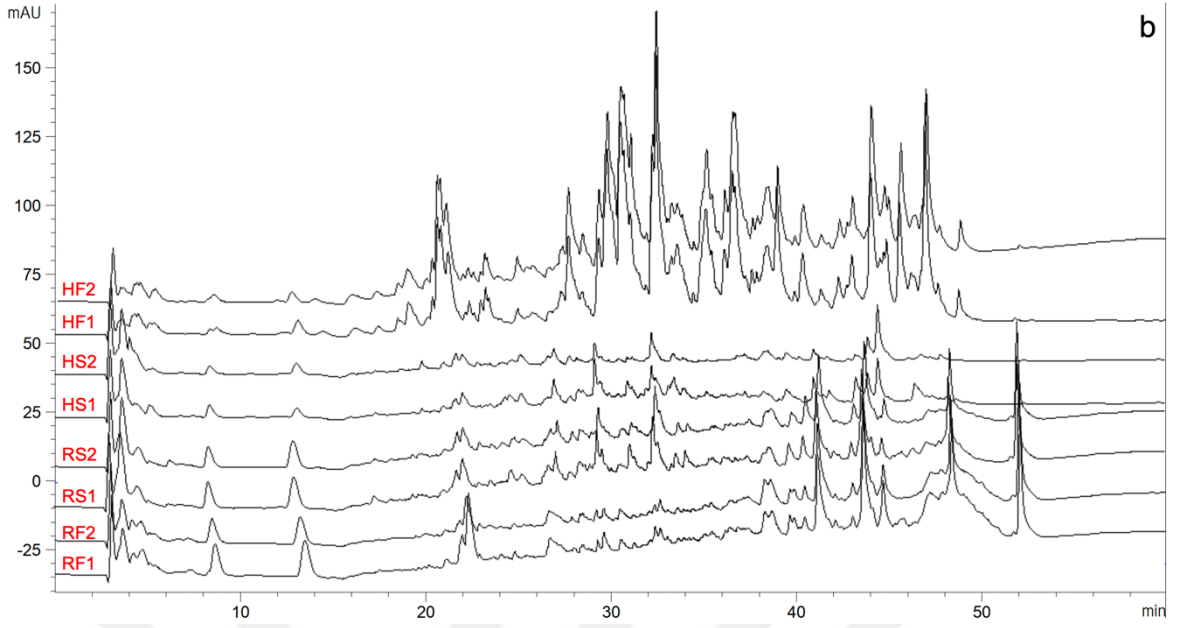
RP-HPLC ile peptit profili analizi, peynirlerden ekstrakte suda çözünür fraksiyondaki peptitlerin karakterize edilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Peynirlerin suda çözünen fraksiyonlarındaki peptitleri RP-HPLC tekniği ile ayırma, sabit fazın değişen hidrofobisite dereceleri ve molekül ağırlıklarına göre çözünen peptitlerin geri dönüşümlü olarak alıkonmalarına dayanmakta, ayırma erken alıkonan peptitler düşük molekül ağırlık ve hidrofilik yapı, geç tutulma zamanında ayrıştırılan peptitler ise hidrofobik yapı ile karakterize edilmektedir Fox vd., 1996; Hayaloğlu vd., 2004; Şahingil, vd., 2014). Değerlendirme peptit piklerinin sayısına, alanlarına ve alıkonma sürelerine bağlı olarak

hidrofilik/hidrofobiklik durumuna göre yapılmakta, pik alanlarındaki azalma peptitlerin daha küçük sekanslara ve amino asitlere hidrolizini göstermektedir. Hidrofilik ve hidrofobik peptitlere ait pikleri ayırmada kullanılan standart amino asit (tirozin, fenilalanin ve triptofan) piklerine ait kromatogram Ek 3’te sunulmuştur. Buna göre tirozin (dk 9.88) ve triptofan (dk 23.30) amino asitleri arasında gelen peptitler hidrofilik, triptofan amino asidinden sonra gelen peptitler hidrofobiktir (Hayaloğlu ve Özer, 2011). Peynirlerin suda çözünür fraksiyonlarındaki peptitlerin HPLC kromatogramları Şekil 8, 9, 10 ve 11’de sunulmuştur. Keçi peynirlerinin suda çözünen ekstraktlarında belirlenen peptit profillerine bakıldığında tüm peynirler için tüm depolama günlerinde peptit piklerinin hidrofobik bölgede yoğunlaştığı, piklerin çoğunun kromatogramın 20 ve 50. dakikaları arasında salındığı görülmektedir. Bu sonuç, Koçak vd. (2020)’nin keçi sütü kullanarak ürettikleri salamura Beyaz peynirde elde edilen sonuçlarla benzer bulunmuştur.



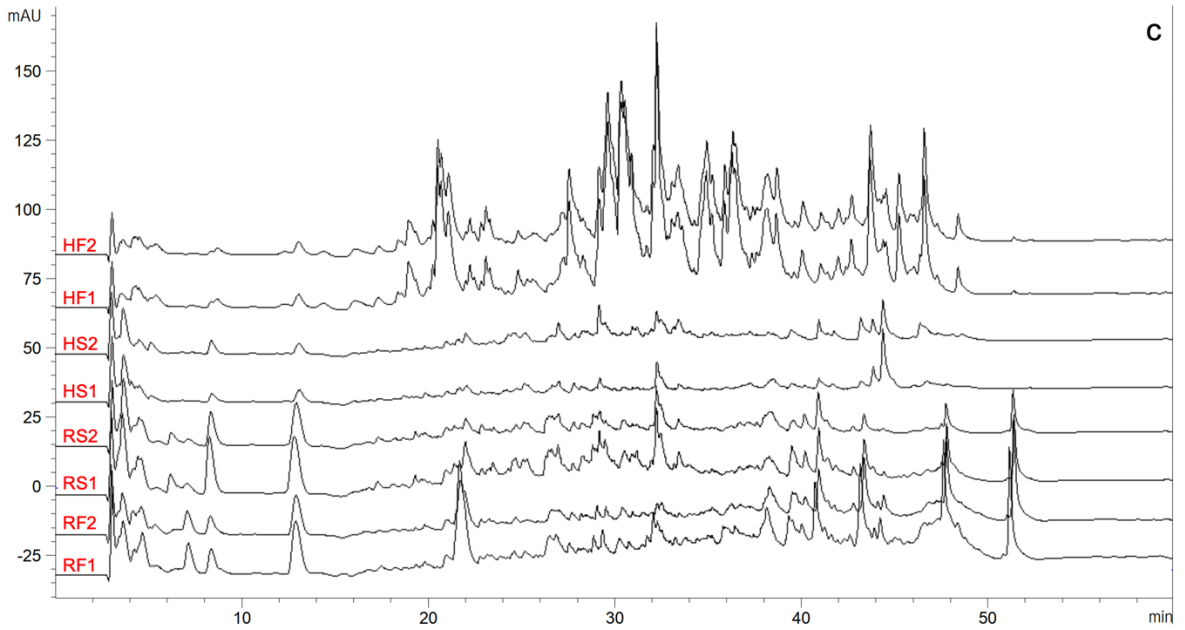
Şekil 8. 1 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.



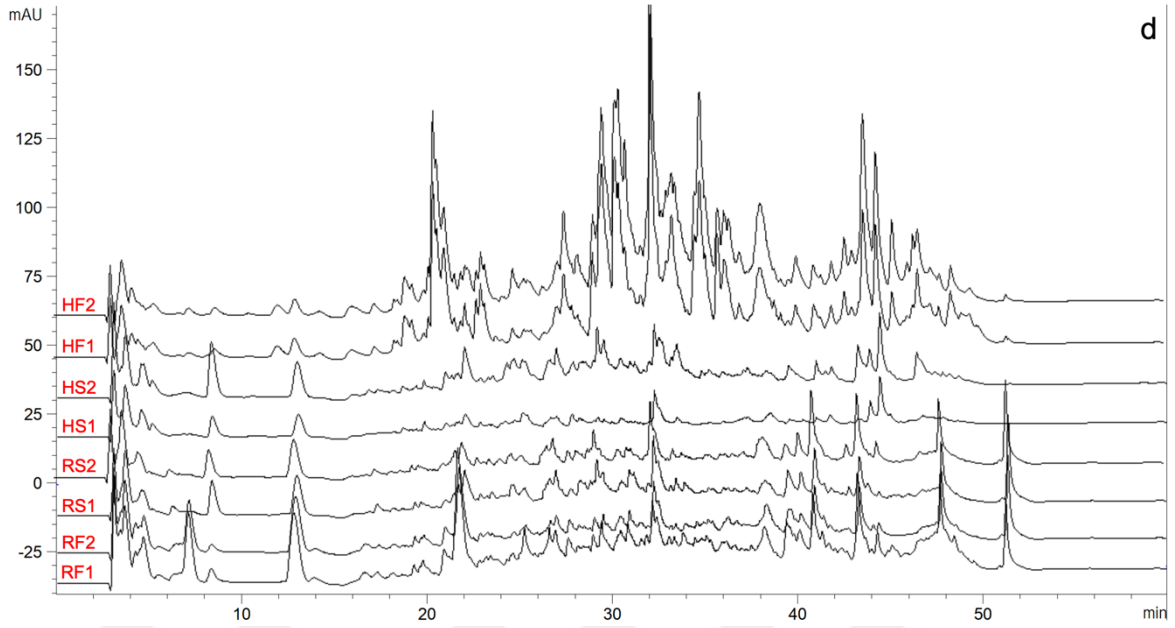
Şekil 9. 30 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.



Şekil 10. 60 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.



Şekil 11. 90 gün depolanan peynirlerin peptit profilleri*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.

Elde edilen kromatogramlar, peynir üretiminde uygulanan faktörler arasından ısıtılmış işlemin, keçi peynirlerinin peptit profillerini önemli derecede farklılaştırdığını ortaya koymuştur. Özellikle HF peynirlerinin depolamanın 1. gününden itibaren yüksek miktarlarda hidrofobik pikler içerdiği, depolama ile peptit piklerinin alanlarının kısmen arttığı görülmektedir. Vyhmeister vd. (2019) pastörize keçi sütüne starter kültür ilave ederek ürettikleri peynirlerde olgunlaşmanın 1, 14 ve 42. günlerinde peynirlerin < 3 kDa suda çözünür ekstraktlarının RP-HPLC peptit profilini belirlemiş ve depolamanın artmasıyla peptit piklerinin alanlarının arttığını rapor etmiştir. 90 gün depolanan HS1 peynirinde de hem kendi içinde depolamanın diğer günlerine göre hem depolamanın 90. günündeki HS2 peynirinden daha büyük hidrofobik peptit pikleri içerdiği görülmektedir. Peynirlerin içerdiği bu hidrofobik peptitler duyuşal değerlendirmede bu peynirlerde belirlenen acı tat ile ilişkilendirilebilir.

Çiğ süt peynirlerinde depolamanın tüm günlerinde (R) ısıtılmış sütlerden üretilen peynirlerde (H) olmayan bazı spesifik peptit pikleri (48 ve 52. dk) görülmektedir. Bu pikler çiğ keçi sütünden üretilen peynirlerde bulunan doğal mikrofloranın veya sütün

inhibe olmayan doğal enzimlerinin etkinliği sonucu oluşan peptitlerin göstergesi olabilir. Depolamanın 30. gününde çiğ süt peynirlerinde 90. gününde ise HF peynirleri dışında diğer peynirlerde belirgin hidrofilik peptit pikleri olduğu (8 ve 13. dk) görülmektedir. RF peynirlerinde 22. dakikada salınan, depolamanın 30. gününden itibaren net bir şekilde görülen peptit piki tespit edilmiştir. Kaminarides vd. (2019) keçi peynirlerinin 14 günlük olgunlaşmasından sonra RP-HPLC kromatogramında yeni peptit piklerinin ortaya çıktığını, 1. günde var olan diğer piklerin alanlarının değiştiğini bildirmişlerdir. Starter kültür kullanılarak üretilen peynirlerde depolamanın başlangıcında daha küçük alana sahip olan, depolamanın 30. gününde belirgin olarak görülen ve depolama ile artış ve azalış gösteren peptit grupları (29 ve 32. dk) belirlenmiştir (Şekil 9). Yılmaz Kısak (2021) keçi sütünden üretilen İzmir Tulum peynirinde depolama süresinin artmasıyla peptit piklerinin alanlarının bir miktar arttığını, bununla birlikte bazı peptit piklerin kaybolup yeni peptit piklerin oluştuğunu bildirmiştir. Ayrıca toplam pik sayısının artış ve azalışlar göstermekle beraber olgunlaşma sonunda başlangıca göre azaldığını, bu durumun olgunlaşma süresince meydana gelen proteoliz sonucu peptitlerin amino asitlere parçalanmasından kaynaklandığını ve peynirlerin artan toplam amino asit değerleriyle RP-HPLC peptit pik alanlarındaki değişimin uyumlu olduğunu bildirmiştir. Diezhandino vd. (2015) İspanyol mavi peynirinde olgunlaşma boyunca peptit miktarında bir artış olduğunu saptamışlardır. Olgunlaşma periyodu boyunca pik sayısının artması, peptitlerin ve proteinlerin hidrolizinden kaynaklanmaktadır. Olgunlaşma günlerinin sayısına bağlı olarak, peynirde plazmin, diğer proteolitik enzimler, mikrobiyal enzimler ve artık pıhtılaştırıcı aktivite nedeniyle kazeinlerden türetilen bir dizi büyük ve orta boy peptit oluşmaya başlamakta, daha sonra bu bileşenler, ikincil mikroflora tarafından daha kısa peptitlere ve amino asitlere dönüştürülmektedir (Gupta vd., 2009). 90 gün depolanmış peynir örnekleri arasında en düşük pik alanı HS peynirlerinde belirlenmiştir. HF peynirlerinin HPLC kromatogramları, süte starter kültür ilavesi yapılmadan ısıtma işlem uygulamanın peynirlere tamamen farklı peptit profilleri verdiğini göstermiştir. TFAA ve SÇA sonuçlarıyla uyumlu olarak (Tablo 5 ve 6), HF peynirlerinin, kontamine mikroorganizmalar içermesine rağmen, depolamanın ilk gününde daha büyük peptitlere sahip olduğu ve depolamanın ilerlemesiyle gerçekleşen kısıtlı düşük proteolize rağmen bu büyük peptitlerin büyük oranda varlığını sürdürdüğü söylenebilir. Peynir grupları arasında peptit sayısı ve alanları kıyaslandığında, HF peynirleri tüm peynirler arasında en yüksek pik alanına sahipken en düşük pik sayısına sahip olduğu, çiğ süt peynirlerinin daha yüksek sayıda peptit içerdiği görülmektedir. Isıtma işlem

uygulanmadığı için sütün içerdiği doğal enzimler ve doğal mikrobiyotanın enzimatik faaliyetleri bağlı olarak bu peynirlerde ısıl işlem uygulanmış sütlerden üretilen peynirlere kıyasla çeşitlilik ve sayı bakımından daha fazla peptit bulunması muhtemeldir. Öztürk (2015) keçi ve inek Tulum peynirlerinin RP-HPLC peptit profillerini incelediği çalışmada, depolamanın 90. gününe kadar keçi Tulum peynirinin inek peynirinden daha yüksek peptit piki sayısına sahip olduğunu, 120 günlük depolama sonucunda her iki peynirin de benzer miktarda peptit içerdiğini bulmuştur. Aynı çalışmada keçi sütünden üretilen peynirde daha yüksek sayıda peptit piki bulunduğunu bunun keçi peynirinde daha fazla proteolitik enzim bulunması kaynaklı olabileceğini bildirmiştir. Ayrıca süttten gelen mikrofloranın ve olgunlaşma süresince gelişen mikrofloranın inek sütünden üretilen peynirlere kıyasla daha çeşitli ve aktif olmasının keçi peynirinin daha yüksek sayıda peptit piki içermesiyle ilişkilendirilebileceğini belirtmiştir.

4.6. Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Peynir üretiminde kullanılan süt gruplarının mikroorganizma sayıları Tablo 7'de, peynirlerde depolama süresince belirlenen mikroorganizma sayıları Tablo 8'de sunulmuştur. Tablo 8'de belirtildiği üzere koliformlar dışındaki tüm mikroorganizma grupları 90 günlük depolama süresince peynirlerdeki varlığını sürdürmüştür. Tüm peynirlerde laktokok ve laktobasiller kantitatif olarak baskın gruplar olarak belirlenmiştir. RS ve HS grubu keçi sütlerinde pıhtılaşma başlangıcında 8,14 ve 8,20 log kob/mL laktobasil ve 7,52 ve 8,03 log kob/mL laktokok belirlenmiştir (Tablo 7). RS ve HS peynirleri, peynir sütüne ilave edilen starter bakterilerin etkisiyle depolamanın ilk gününde, beklendiği gibi, diğer peynirlere kıyasla daha yüksek laktokok, laktobasil ve TMAB sayılarına sahiptir. Peynirlerin depolama süresince, HF1 peynirleri dışındaki peynirlerde laktokok sayıları azalmış özellikle HS peynirlerinde önemli azalmalar olduğu belirlenmiştir ($P \leq 0,01$) (Tablo 8). Pappa vd. (2022a) termofilik ve mezofilik starter kültürler kullanarak pastörize süttten (65 °C 30 dk) ürettikleri taze yumuşak keçi peynirlerinde depolama başlangıcında 6,7 log kob/g laktobasil ve 7,7 log kob/g laktokok belirlemişler ve 60 günlük depolama ile sayıların her iki bakteri grubu için 4,9 ve 5,8 log kob/g seviyelerine azaldığını rapor etmişlerdir. Depolamanın 1. gününde peynirlerde belirlenen laktik asit bakteri gruplarının sayıları taze yumuşak keçi peynirlerinden daha yüksek bulunmuş ve depolama süresince benzer azalma eğilimi gözlenmiştir. Starter kültür ilave edilmeden üretilen Nicastrese keçi peynirlerinde telemeden

60 günlük peynir depolama sürecine kadar yapılan mikrobiyal analiz sonuçlarında benzer azalma olduğu belirlenmiştir (Pino vd., 2018). Çiğ süttten üretilen keçi peynirinin olgunlaştırıldığı bir çalışmada depolama süresince peynirlerin mikroorganizma sayılarında, bu tez çalışmasındakine benzer şekilde, değişimlerin olduğu rapor edilmiştir (Dalzini vd., 2014). Depolamanın başlangıcından itibaren starter kültürler tarafından kontrollü fermantasyon ve hızlı asit üretimi, HS peynirlerinde laktokokların ve laktobasillerin varlığını baskılamış olabilir. Ancak çiğ süt peynirlerinde LAB'ye ek olarak, çiğ süttün doğal mikroflorasında bulunan ve peynirlerde nispeten daha yavaş gelişen NSLAB varlığını daha uzun süre devam ettirebilmektedir. Çiğ süt peynirlerinde peynirlerde NSLAB'nin laktoz dışındaki enerji kaynaklarını kullanarak büyüebilmesi ve gelişimi engelleyici çevresel faktörlere daha dirençli olması sayesinde daha yavaş gelişerek olgunlaştırılmış peynirin baskın mikroflorası haline gelebilmektedir (Gatti vd., 2014). Peynirlerde belirlenen mikroorganizma sayıları peynirlerin pH ve LA bulgularıyla (Tablo 3 ve 4) da uyumludur; çiğ süt peynirlerinin pH sonuçlarında olgunlaşma sırasında önemli değişimler olurken HS peynirlerindeki değişimler istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Öte yandan, RF, RS ve HS peynirlerinde TMAB sayımlarının düşme eğilimi oksijen eksikliğinden kaynaklanıyor olabilir. Pappa vd. (2022b) çiğ veya pastörize keçi süttü kullanarak, starter kültürler kullanmadan ürettikleri geleneksel sert Xinotyri peynirinde, süt pastörizasyonundan bağımsız olarak taze peynirlerde belirlenen TMAB sayılarının ($> 8,58 \log \text{ kob/g}$) olgunlaşmanın 45. gününde azaldığını ($> 7,84 \log \text{ kob/g}$) rapor etmişlerdir.

Tablo 7

Peynir üretiminde kullanılan süt gruplarının mikroorganizma sayıları

Mikroorganizma grubu	Süt grubu (Ortalama \pm S.H)			
	RF Süttü	RS Süttü	HF Süttü	HS Süttü
TMAB	5,85 \pm 0,15	7,48 \pm 0,02	2,96 \pm 0,04	7,69 \pm 0,02
Laktobasil	6,58 \pm 0,01	8,14 \pm 0,01	3,96 \pm 0,01	8,20 \pm 0,01
Laktokok	5,92 \pm 0,03	7,52 \pm 0,02	3,19 \pm 0,15	8,03 \pm 0,01
Koliform	5,96 \pm 0,03	5,70 \pm 0,05	-	-
Maya ve küf	2,64 \pm 0,04	2,86 \pm 0,14	-	-

Sonuçlar log kob/mL olarak sunulmuştur. R, çiğ süt; H, ısıtılmış işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. TMAB, toplam mezofilik aerobik bakteri; S.H, standart hata.

Tablo 8

Peynirlerde depolama süresince belirlenen mikroorganizma sayıları

Mikroorganizma grubu	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)							
		RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2
TMAB	1	8,81±0,23 ^A	8,89±0,09 ^A	10,75±0,03 ^A	10,88±0,11 ^A	7,35±0,13 ^{AB}	7,65±0,32	10,34±0,85 ^A	9,52±0,29 ^A
	30	8,12±0,02 ^{AB}	8,18±0,08 ^B	9,14±0,15 ^B	9,22±0,25 ^B	7,04±0,04 ^B	6,76±0,47	7,61±0,11 ^B	8,46±0,19 ^{AB}
	60	8,56±0,30 ^{AB}	8,17±0,08 ^B	8,20±0,03 ^C	8,92±0,17 ^B	6,05±0,12 ^C	6,71±0,40	6,87±0,29 ^B	8,84±0,28 ^B
	90	7,88±0,06 ^B	7,94±0,10 ^B	7,66±0,05 ^D	7,67±0,03 ^C	7,50±0,07 ^A	7,53±0,03	4,45±0,10 ^C	4,24±0,06 ^C
	<i>P</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,158	0,000	0,000
Laktobasil	1	9,03±0,02 ^A	9,01±0,06 ^A	9,85±0,02 ^A	9,85±0,03 ^A	6,55±0,02 ^B	8,48±0,20	9,97±0,08 ^A	10,66±0,20 ^A
	30	8,97±0,04 ^A	8,92±0,03 ^A	9,31±0,05 ^B	9,55±0,03 ^A	6,24±0,27 ^B	8,04±0,42	5,11±0,26 ^B	7,36±0,14 ^B
	60	8,58±0,07 ^B	8,57±0,04 ^B	8,75±0,17 ^C	8,49±0,03 ^B	6,71±0,11 ^B	7,80±0,46	4,80±0,13 ^B	6,74±0,28 ^B
	90	8,73±0,06 ^B	8,35±0,49 ^B	8,41±0,03 ^C	8,42±0,01 ^B	8,38±0,06 ^A	8,32±0,02	4,60±0,05 ^B	4,20±0,16 ^C
	<i>P</i>	0,002	0,006	0,000	0,000	0,000	0,496	0,000	0,000
Laktokok	1	9,10±0,02 ^{AB}	9,18±0,10 ^A	10,00±0,05 ^A	10,06±0,12 ^A	7,73±0,04 ^B	8,56±0,23	10,92±0,59 ^A	10,68±0,22 ^A
	30	9,18±0,03 ^A	9,19±0,03 ^A	9,82±0,17 ^A	10,16±0,33 ^A	6,85±0,16 ^C	8,01±0,46	9,00±0,20 ^A	9,71±0,28 ^B
	60	8,83±0,07 ^B	8,64±0,04 ^B	8,76±0,13 ^B	9,43±0,18 ^A	6,72±0,16 ^C	7,94±0,53	6,71±0,57 ^B	7,71±0,11 ^C
	90	7,81±0,11 ^C	7,70±0,03 ^C	8,30±0,02 ^C	8,37±0,05 ^B	8,27±0,07 ^A	7,78±0,01	5,64±0,45 ^B	4,99±0,05 ^D
	<i>P</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,497	0,000	0,000
Koliform	1	7,91±0,05 ^A	8,39±0,13 ^A	6,85±0,02 ^A	6,84±0,4 ^A	5,54±0,31 ^A	5,57±0,46 ^A	1,17±0,68 ^A	0,65±0,40
	30	7,03±0,03 ^B	7,02±0,03 ^B	4,40±0,05 ^B	4,50±0,03 ^B	2,81±0,04 ^B	3,34±0,61 ^{AB}	0,25±0,25 ^B	0,33±0,33
	60	6,30±0,02 ^C	6,66±0,07 ^B	3,80±0,10 ^B	3,75±0,24 ^B	2,59±0,26 ^B	2,53±0,25 ^B	-	-
	90	5,51±0,04 ^D	4,87±0,19 ^C	0,69±0,40 ^C	1,21±0,47 ^C	1,48±0,51 ^B	1,93±0,75 ^B	-	-
	<i>P</i>	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,003	0,002	0,269
Maya ve Küf	1	3,03±0,08 ^A	2,96±0,05 ^A	2,86±0,03 ^B	2,75±0,01 ^B	2,45±0,06 ^C	1,25±0,95 ^B	2,90±0,01 ^B	1,08±0,62 ^C
	30	2,88±0,07 ^A	2,95±0,05 ^A	3,26±0,28 ^B	2,76±0,04 ^B	2,99±0,13 ^B	1,68±0,12 ^B	2,90±0,37 ^B	1,85±0,20 ^{CB}
	60	2,69±0,02 ^{AB}	2,71±0,04 ^B	3,51±0,14 ^{AB}	3,02±0,10 ^B	3,85±0,08 ^A	2,58±0,09 ^A	4,23±0,04 ^A	3,17±0,22 ^{AB}
	90	2,46±0,14 ^B	2,37±0,02 ^C	3,98±0,12 ^A	4,65±0,06 ^A	3,80±0,04 ^A	2,52±0,10 ^A	4,15±0,04 ^A	4,25±0,01 ^A
	<i>P</i>	0,003	0,000	0,004	0,000	0,000	0,009	0,000	0,000

Sonuçlar log kob/g olarak sunulmuştur. ^{A-D} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. TMAB, toplam mezofilik aerobik bakteri; S.H, standart hata.

Isıl işlem uygulanıp starter kültür ilave edilmemesine rağmen, HF peynirlerinde LAB'nin varlığı ve nispeten yüksek sayıları beklenmedik bir durumdur. Pıhtılaşma öncesi sütlerde belirlenen mikrobiyolojik analiz sonuçları, HF peynir sütünde LAB varlığını göstermiş olup, bu süt grubunda laktokok ve laktobasil sayıları 3,96 ve 3,19 log kob/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 7). HF ve HS peynir sütünde koliform bakteri, maya ve küf bulunmamasına rağmen TMAB ve LAB'nin varlığı ısıl işlemin etkinliğinden çok iki nedene bağlı olabilir. Bunlar, üretimin starter kültür ilavesi veya tekne sütünün asitlendirmesi aşamalarında HS sütünden HF sütüne starter kontaminasyonu olması veya ısıl işleme rağmen çiğ keçi sütünün mikroflorasında bulunan ısıya dayanıklı LAB'nin varlığını devam ettirmesi olabilir. TMAB ve LAB'nin (laktokoklar ve laktobasiller) sayıları, HF peynirlerinde depolama sırasında değişen eğilimlerde artış veya azalış göstermiş, HF1'de belirlenen değişiklikler istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 8).

Çiğ süttten üretilen keçi peynirlerinde nispeten yüksek sayıda koliform bakteri sayısı belirlenmiştir. Çiğ süt peynirlerinde depolamanın ilk gününde koliform sayıları 6,85-8,39 log kob/g arasında değişmektedir (Tablo 8). RF ve RS peynirlerindeki koliform bakterilerin ana kaynağı çiğ süttür. Koliform bakteri sayısı RF ve RS peynir sütlerinde sırasıyla 5,96 ve 5,70 kob/mL olarak belirlenmiştir (Tablo 7). Etkili ısıl işlem uygulamasına bağlı olarak HF ve HS peynir sütlerinde koliform bakteri bulunmamasına rağmen, peynirlerde (1. gün) koliform varlığı, peynir yapımı sırasında ekipman ve çevre veya ambalaj malzemesi kaynaklı kontaminasyon sonucu olduğu düşünülmektedir. Isıl işlem uygulanmış sütlerden üretilen peynirlerde depolama süresince koliform bakteri sayısı önemli ölçüde azalmıştır ($P \leq 0,01$). HS1 ve HS2 peynirlerinde 60 ve 90. günlerde koliform bakteri bulunmazken, RS peynirlerinde starter kültür aktivitesinden dolayı koliform bakteri sayısında önemli oranda azalma meydana gelmiştir. Cacioricotta peyniri (Faccia vd., 2012) ve çiğ süttten üretilen keçi peynirleri (Öner ve Sarıdağ, 2019) için benzer koliform sayıları bildirilmiştir.

Peynirlerde maya ve küf sayıları 1,08-4,65 log kob/g arasında değişmektedir (Tablo 8). Maya ve küf sayısı, tüm peynirlerde depolama süresince önemli ölçüde değişmiştir ($P \leq 0,01$). Kajak-Siemaszko vd. (2022) ürettikleri taze asit-rennet keçi peynirlerinde 3,68 log kob/g maya ve küf belirlemiş, RS, HF ve HS peynirlerinde olduğu gibi depolama ile maya ve küf sayısının arttığını rapor etmiştir. Pappa vd. (2022b) Xinotyri peynirinde çiğ veya pastörize keçi sütü kullanımı fark etmeksizin taze peynirlerde belirlenen maya ve küf

sayısının (3,59 log kob/g) depolama süresince arttığını, 60 günün sonunda peynirlerin maya ve küf sayısının 5,86 log kob/g seviyesine yükseldiğini rapor etmişlerdir. Mayalar ve küfler, birçok peynir çeşidi için doğal olmayan dış kaynaklı bulaşanlardır. Depolama sırasında mayaların sürekli varlığı, laktik asidi kullanmaları ile aerobik ve asit toleranslı olmalarıyla ilişkilendirilmiştir (Fox ve Cogan, 2004). Keçi sütünden yapılan Bouhezza peynirinde olgunlaşma sırasında artan bir eğilim ile nispeten daha yüksek maya ve küf sayıları bildirilmiş ve bu durum uygun asidik koşullar (düşük pH ve yüksek asitlik) ve mayalar için uygun tuz içeriği ile ilişkilendirilmiştir (Medjoudj vd., 2018).

4.7. Duyusal Değerlendirme Sonuçları

Peynirlerin duyusal değerlendirmesinde her depolama günü için düzenlenen ayrı panellerde süt pıhtılaştırmada kullanılan bitkisel ve hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcının faktör olarak kabul edildiği eşlenmiş tercih testi gerçekleştirilmiştir. Buna göre bitkisel ve hayvansal enzim kullanılarak üretilen eşlenmiş örneklerde görünüş/reng, yapı/tekstür ve tat/lezzet özellikleri değerlendirilmiştir. Peynirlerde depolama süresince belirlenen duyusal değerlendirme skorları Tablo 9'da sunulmuştur. Peynir duyusal özellikleri üzerine ısıl işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 10), bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı peynirlerin duyusal özelliklerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 9). Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının duyusal değerlendirme sonuçları Tablo 10'da sunulmuştur. Çiğ süt peynirlerinin görünüş/reng ve yapı/tekstür skorları depolama boyunca artmıştır ($P \leq 0,01$) (Tablo 9). Mezofilik, termofilik starter kültür katkılı veya starter kültür ilave edilmeden üretilen Saanen keçi sütü peynirlerinin görünüm ve tekstür özellikleri açısından bu çalışmayla benzer eğilimler gösterdiği belirlenmiştir (Hayaloğlu vd., 2013). Çiğ keçi sütü peynirlerinin tat/lezzet puanları depolama ile artmış ancak bu özellik HF1 ve HF2 peynirlerinde depolama ile azalmıştır. 9 puanlık skala üzerinden tat/lezzet skoru en yüksek 8,08 (RF2) ve en düşük 2,75 (HF1) olarak belirlenmiştir (Tablo 9). Depolama süresi HS1 ve HS2 peynirlerinin duyusal özelliklerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 9). Miloradoviç vd. (2017), ısıl işlem görmüş ve starter kültür ilaveli keçi sütünden üretilmiş peynirleri inceledikleri çalışmada görünüm skorları hariç benzer sonuçlar bildirmişlerdir.

Tablo 9

Peynirlerin depolama süresince belirlenen duyuşal değerlendirme sonuçları

Özellik	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)								P
		RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
Görünüş/Renk	1	7,33±0,14 ^C	7,42±0,15 ^B	6,33±0,14 ^B	6,33±0,14 ^B	7,92±0,08	7,92±0,08	6,42±0,19	5,92±0,31	0,389
	30	7,67±0,14 ^{BC}	7,58±0,15 ^B	7,58±0,15 ^A	7,67±0,14 ^A	7,75±0,13	7,50±0,19	6,42±0,19	6,25±0,22	0,853
	60	7,92±0,08 ^{AB}	7,83±0,11 ^{AB}	7,33±0,19 ^A	7,25±0,18 ^A	7,58±0,19	7,50±0,19	6,67±0,26	6,50±0,26	0,781
	90	8,42±0,19 ^A	8,25±0,18 ^A	7,75±0,13 ^A	7,75±0,13 ^A	7,58±0,15	7,50±0,15	6,50±0,19	6,42±0,19	0,725
P		0,002	0,001	0,005	0,005	0,426	0,127	0,054	0,078	
Yapı/Tekstür	1	6,92±0,29 ^B	7,00±0,21 ^A	5,92±0,31 ^B	5,67±0,54 ^B	6,17±0,34	6,50±0,31	5,25±0,28	5,50±0,23	0,859
	30	7,50±0,19 ^{AB}	7,58±0,19 ^{AB}	7,17±0,34 ^A	7,42±0,31 ^A	5,83±0,34	5,67±0,36	5,75±0,30	6,00±0,17	0,919
	60	7,33±0,22 ^{AB}	7,25±0,18 ^{AB}	7,17±0,32 ^A	7,25±0,30 ^A	5,83±0,21	5,58±0,19	6,17±0,21	6,25±0,28	0,762
	90	7,83±0,18 ^A	7,92±0,15 ^A	7,07±0,19 ^A	7,17±0,27 ^A	5,50±0,36	5,58±0,34	5,92±0,15	6,17±0,11	0,805
P		0,008	0,006	0,000	0,000	0,325	0,375	0,761	0,853	
Tat/Lezzet	1	7,00±0,28 ^B	7,00±0,25 ^B	5,17±0,32 ^B	5,67±0,33 ^B	5,92±0,40 ^A	6,50±0,16 ^A	5,83±0,34	5,83±0,27	0,503
	30	7,17±0,27 ^{AB}	7,17±0,21 ^B	7,58±0,29 ^A	7,75±0,18 ^A	4,33±0,22 ^B	4,67±0,28 ^B	6,50±0,23	6,67±0,22	0,172
	60	7,58±0,19 ^{AB}	7,42±0,19 ^{AB}	7,42±0,15 ^A	7,67±0,14 ^A	2,75±0,13 ^C	3,00±0,21 ^C	6,58±0,26	6,50±0,19	0,884
	90	8,00±0,21 ^A	8,08±0,23 ^A	7,33±0,19 ^A	7,75±0,25 ^A	3,17±0,37 ^C	3,08±0,42 ^C	6,58±0,40	6,67±0,28	0,998
P		0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,000	0,076	0,188	

^{A-C} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$).

R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Tablo 10

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının duyuşal değerlendirme sonuçları

Özellik	Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
		RF	RS	HF	HS	
Görünüş/Renk	1	7,38±0,10 ^b	6,33±0,10 ^c	7,92±0,06 ^a	6,17±0,19 ^c	0,004
	30	7,87±0,07 ^a	7,63±0,10 ^a	7,63±0,12 ^a	6,33±0,14 ^b	0,000
	60	7,62±0,10 ^a	7,29±0,13 ^a	7,42±0,17 ^a	6,58±0,18 ^b	0,009
	90	8,33±0,13 ^a	7,75±0,09 ^b	7,54±0,10 ^b	6,46±0,13 ^c	0,007
Yapı/Tekstür	1	7,08±0,18	5,79±0,31	6,33±0,23	5,38±0,18	0,477
	30	7,29±0,14	7,29±0,23	5,75±0,24	5,88±0,17	0,760
	60	7,42±0,13	7,21±0,22	6,17±0,26	5,92±0,20	0,920
	90	7,96±0,13 ^a	7,13±0,16 ^b	5,54±0,24 ^c	6,04±0,09 ^c	0,000
Tat/Lezzet	1	6,67±0,25	5,42±0,19	6,21±0,23	5,83±0,19	0,047
	30	7,50±0,22 ^a	7,68±0,17 ^a	4,50±0,18 ^c	6,58±0,16 ^b	0,000
	60	7,38±0,16 ^a	7,54±0,10 ^a	2,88±0,13 ^c	6,42±0,17 ^b	0,000
	90	7,96±0,15 ^a	7,54±0,16 ^a	3,13±0,27 ^c	6,63±0,24 ^b	0,000

^{a-c} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıl işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

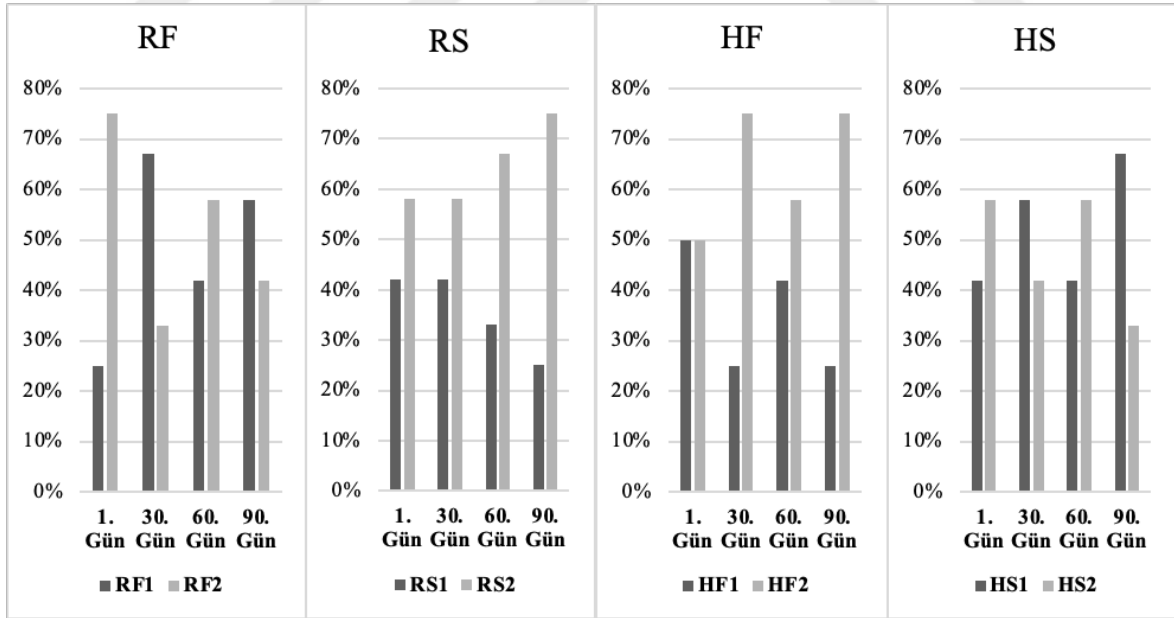
Üretiminde kullanılan pıhtılaştırıcı enzim etkisinden bağımsız olarak ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği peynir gruplarının duyuşal değerlendirme sonuçlarına göre peynirler arasındaki en belirgin farklar panelistler tarafından tat/lezzet özelliklerinde belirlenmiştir. Çiğ süt peynirleri yüksek tat/lezzet skorları alırken HS peynirleri ortalama puanlar almış, HF peynirleri ise düşük tat/lezzet puanları almışlardır. Depolamanın 1. gününde peynirler arasındaki tat/lezzet skoru farkları önemli bulunmamıştır ($P > 0,01$) (Tablo 9). Montel vd. (2014), çiğ sütlerin çeşitli ve zengin bir mikrobiyota içeriğinden dolayı çiğ süttten üretilen peynirlerin işlenmiş peynirlere göre daha yoğun ve zengin lezzete sahip olduğunu bildirmişlerdir. RF peynirlerinin en yüksek görünüş/renk (7,96) ve yapı/tekstür (7,96) puanlarına sahip olurken, HS peynirleri en düşük görünüş/renk (6,17) ve genel olarak ısıl işlem uygulanmış süttten üretilen peynirlerin düşük yapı/tekstür

puanlarına sahip olduğu belirlenmiştir. Depolamanın tüm günlerinde görünüş/reng skorları ile sadece depolamanın 90. gününde yapı/tektür özelliği bakımından peynirler arasındaki farklar önemli bulunmuştur ($P \leq 0,01$) (Tablo 10). Duyusal değerlendirmede panelistler ısı işlem uygulanmış süt peynirlerinin çiğ süt peynirlerine göre daha kırılğan yapıda olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca değerlendirilen peynir küplerinin renk olarak benzer olduğu ancak çiğ süt peynirlerinin daha pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu belirtilmiştir. Isıl işlem nedeniyle peynir yapısında kalan denatüre serum proteinleri, HF ve HS peynirlerinin yapı skorlarının daha düşük olmasına neden olmuş olabilir.

Bazı panelistler 90 gün depolanmış peynirlerin duyusal değerlendirmesinde HS peynirlerinde eser miktarda acı tat olduğunu belirtirken, tüm panelistler 60 ve 90 gün depolanmış HF peynirlerinde daha belirgin acı tat tespit etmişlerdir. HF peynirleri depolama sırasında azalan tat/lezzet puanlarına sahip ve peynirler arasında acılık nedeniyle tat/lezzet skorları en düşük olan peynirlerdir. HF grubunun, peynirler arasında en düşük tat/lezzet skorları panelistlerin bu peynirleri acı bulmasından kaynaklanmış olabilir. Peynirdeki acılık çoğunlukla hidrofobik peptitlerden kaynaklanmakta olup ve genellikle bir kusur olarak kabul edilmektedir, ancak acı tat olgun peynirlerin arzu edilen lezzetine katkıda da bulunabilmektedir (Tejeda vd., 2006). Termal olarak indüklenmiş peyniraltı suyu proteini-kazein komplekslerinden salınan kimozen ve plazmin kaynaklı hidrofobik peptitlerin hoş olmayan acı bir tada neden olabileceği (Barac vd., 2016), HF1 peynirlerinde daha düşük seviyede proteoliz belirlenmesine rağmen, depolamanın 60 ve 90. günlerinde belirlenen acı tadın bununla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. HF peynirlerinin RP-HPLC peptit profillerinde diğer peynirlerden farklı olarak büyük hidrofobik peptit piklerini içermesi (Şekil 8, 9, 10 ve 11), duyusal değerlendirmede bu peynirlerde belirlenen acı tat ile ilişkilendirilebilir. HF grubundaki uçucu bileşenlerin nispeten düşük oranı da tatmin edici olmayan puanlarla ilişkilendirilebilir. HF peynirlerindeki acılıktan farklı olarak, HS peynirlerindeki iz acılık, starter kültürün etkisiyle peyniraltı suyu-kazein komplekslerinin proteolizi sonucu küçük peptitlerin açığa çıkmasından kaynaklanabilir. Yapılan araştırmalara göre, simbiyotik keçi peynirlerinde artan acı tat, oktanoik ve dekanoik asitlerin artan miktarlarından kaynaklanırken (Kınık vd., 2017), uzun zincirli serbest yağ asitlerinin ise İspanyol keçi peynirinde istenmeyen acı bir tat oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir (Poveda ve Cabezas, 2006). Daha önce yapılan bir çalışmada, ısı işlem görmüş keçi sütünden üretilen keçi peynirlerinin lezzet ve oral tektür özelliklerinde önemli değişiklikler

belirlenmiş ve beklentilerin aksine olgunlaştırılmış ve ısıtılmış süt peynirlerinin tüm duyu özellikleri için tatmin edici puanlar elde ettiği bulunmuştur (Miloradovic vd., 2017). Destek kültür kullanılarak üretilen yağ azaltılmış keçi peynirinde acı tat bildirilmemiştir; ayrıca depolama süresinin yapı/tekstür ve lezzeti etkilemediği bildirilmiştir (Zaravala vd., 2021). Bu tez çalışmasında elde edilen bulguların aksine Tejada vd. (2006) bitkisel ve hayvansal pıhtılaştırıcı kullanarak ürettikleri Murcia al Vino peynirleri arasında duyu özellikleri bakımından farklılıklar olduğunu, acı tadın bu peynir çeşidi için karakteristik olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca Benheddi ve Hellal (2019) keçi sütünün *C. cardunculus* kurutulmuş çiçeklerinden elde edilen ekstraktla pıhtılaştırılmasıyla üretilen geleneksel taze Cezayir peynirlerinin üretiminde farklı mikroorganizmaları içeren starter kültür kullanımının peynirlerin acı tat skorlarını etkilediğini belirtmişlerdir.

Duyu değerlendirilmede ayrıca aynı ısıtılmış uygulama ve starter kültür içeriğine sahip sadece farklı pıhtılaştırıcı enzim kullanılarak üretilmiş iki peynir eşlenerek panelistlerden tercihlerini belirtmeleri istenmiştir. Eşleştirilmiş bitkisel ve hayvansal enzim ile pıhtılaştırılmış keçi sütü peynirlerinin tercih testi sonuçları Şekil 12'de sunulmuştur.



Şekil 12. Eşlenmiş tercih testi sonuçları*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.

Panelistlerin % 75'i 1. depolama gününde RF2 peynirini tercih ederken, ilerleyen depolama günlerinde RF peynirleri arasındaki tercih oranları birbirine yaklaşmıştır (Şekil 12). RS2 peynirleri, depolamanın tüm günlerinde RS1'e tercih edilmiştir. Depolamanın ilk gününde HF1 ve HF2 peynirleri eşit tercih oranda tercih edilmiş, depolamanın ilerleyen günlerinde tercih oranı HF2 peynirleri lehine değişmiştir. Peynirler arasında tercih oranları bakımından en yakın değerler HS grubu peynirlerde belirlenmiştir (Şekil 12).

4.8. Uçucu Bileşen Sonuçları

Keçi peynirlerinde depolamanın 1 ve 90. günlerinde uçucu bileşenler SPME/GC-MS tekniği kullanılarak belirlenmiştir. GC-MS analizi sonucunda belirlenen uçucu bileşenler Tablo 11'de sunulmuştur. Peynir örneklerinde tanımlanan bileşikler asitler (8), alkoller (6), esterler (5), ketonlar (2), aldehitler (2), terpen (1) ve diğerleri (3) olmak üzere 7 gruba ayrılmıştır.

Peynir örneklerinde en yüksek konsantrasyonlarda bulunan uçucu bileşenlerin asitler olduğu belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre uçucu bileşeler açısından ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave edilme durumlarına göre peynirler arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. 1 ve 90 gün depolanmış peynirlerde bütirik, asetik, hekzanoik, 2-metil hekzanoik, oktanoik ve dekanolik asitler yüksek miktarlarda bulunmuştur. Bu asitlerin geleneksel keçi peynirlerinin önemli lezzet bileşenleri olduğu belirlenmiştir (Say, 2022). Çiğ süt peynirlerinde organik asit içeriği depolama sırasında artma eğilimi göstermiştir. 4 karbon atomundan oluşan düz zincirli karboksilik asitlerin oluşumu için lipolizin önemli bir yol olduğu, ayrıca, daha kısa karboksilik asitlerin de oksidasyon yoluyla ketonlara, esterlere ve aldehitlere dönüşebildiği bilinmektedir (Delgado vd., 2010). Lipolitik aktiviteye sahip enzimler (esteraz ve lipaz), bütirik, hekzanoik, heptanoik, oktanoik ve dekanolik asitler gibi doğrusal zincirli asitlerin salınmasına yol açabilir (Delgado vd., 2010). Bir gün depolanan peynirlerde bütirik asit konsantrasyonu 117,36 ile 6612,92 µg/100 g arasında değiştiği belirlenmiştir (Tablo 11). Isıl işlem uygulanan peynirlerde bütirik asit miktarı daha düşük bulunmuştur. Bunlardan HF1 ve HF2 peynirlerinin sırasıyla 117,36 ve 209,09 µg/100 g bütirik aside sahip olduğu belirlenmiştir. Isıl işlem uygulanan süttten üretilen peynirler, çiğ süt peynirlerinden daha düşük serbest yağ asitlerine sahiptir. Bunun nedeninin lipoprotein lipazın inhibisyonu olabileceği düşünülmektedir (Grappin ve Beuvier, 1997). Öte yandan

tüm peynir gruplarının bütirik asit içerikleri özellikle çiğ süt peynirlerinde 90 günlük depolama ile artış göstermiştir. Çiğ süt peynirlerinin bütirik asit içeriklerindeki bu artış, starter kültürden farklı olarak, lipolitik aktivitelerinden dolayı peynirde serbest yağ asitlerinin oluşumunu destekleyebilen NSLAB'nin çiğ sütteki varlığıyla ilişkili olabilir (Jia vd., 2021). Bütirik aside benzer bir artış eğilimi serbest yağ asidi katabolizması, laktoz ve sitrik asit metabolizması ile sentezlenebilen asetik asitte de gözlenmektedir (Li vd., 2020). Hekzanoik asit çoğunlukla hafif ekşimsi peynir benzeri bir kokuya veya keçi aromasına sahip peynirlerde bulunmaktadır (Jia vd., 2021; Say, 2022). Çiğ süttten üretilen peynirlerin depolamanın 1. gününde hekzanoik asit konsantrasyonlarının 6256,68 ile 13399,89 µg/100 g arasında olduğu, 90 günlük depolama sonunda peynirlerdeki bu miktarların arttığı belirlenmiştir. Buna karşılık ısı işlem görmüş süttten üretilen peynirlerde hekzanoik asit miktarı 90 günlük depolama sonunda azalma eğilimi göstermiştir. Diğer organik asitler gibi zayıf meyve asidi kokusu ve ekşi tadı ile bilinen oktanoik asit de HF peynirlerinde nispeten daha düşük bulunmuştur. Oktanoik asit, keçi peynirine keskin ve ekşi bir tat vermesiyle bilinmektedir. Ayrıca, oktanoik asit konsantrasyonu, RF peynirleri hariç, 90 günlük depolama süresince tüm peynirlerde azalmıştır. Heptanoik asit sadece çiğ süt peynirlerinde tespit edilmiştir. Genel olarak ısı işlem görmüş ve starter kültür ilave edilmeden üretilen keçi peynirlerinde asitler diğer gruplara göre daha az bulunmuştur. Bulgulara göre, çiğ süt peynirlerinde starter kültür ilave edilmemesine rağmen 90 günlük depolama ile artan asit içeriği, çiğ sütte doğal olarak bulunan lipazlardan kaynaklanmış olabilir. Asetik ve propiyonik asitlerin, 90 günlük depolama sonucunda konsantrasyonlarında meydana gelen değişimler sırasıyla LAB'nin ve propiyonik asit bakterilerinin gelişimiyle ilişkili olduğu için, değişimlerinin mikrobiyal faaliyetler sonucu gerçekleştiği sonucuna varılabilir (Ziino vd., 2005).

Terpenler, hayvan beslenmesinde kullanılan yemlerden kaynaklanan diğer önemli aroma bileşikleridir. Keçi peynirlerinin limonen içeriklerinin 49,74 ile 653,53 µg/100 g arasında değerler aldığı bulunmuştur. Tüm peynirlerde 90 günlük depolama sonunda limonen konsantrasyonları artmıştır (Tablo 11).

Tablo 11

1 ve 90 gün depolanmış peynirlerde belirlenen uçucu bileşen miktarları

Uçucu Bileşen	RI	Gün	Peynir (Ortalama±S.H)							
			RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2
Limonen	1181	1	149,4±17,5	179,1±23,5	244,8±3,7	222,6±27,9	79,95±5,2	49,74±1,8	138,7±8,2	234,6±17,1
		90	205,3±79,9	362,5±71,3	624,0±137,0	653,5±70,5	190,6±10,0	219,7±60,6	251,9±7,4	589,8±61,8
Etil hekzanoat	1217	1	1,95±0,10	1,71±0,10	-	-	-	-	-	-
		90	11,38±2,54	20,70±1,92	27,93±2,30	15,11±2,71	1,54±0,44	0,52±0,09	0,30±0,06	1,56±0,14
Stiren	1239	1	1,32±0,21	1,30±0,09	2,37±0,31	1,96±0,54	0,75±0,04	0,50±0,06	1,56±0,25	2,32±0,01
		90	0,92±0,11	1,11±0,16	8,16±0,58	5,48±0,45	-	-	1,10±0,20	1,22±0,32
1,2,3,5-Tetrametil benzen	1249	1	1,21±0,03	0,92±0,07	1,75±0,16	2,29±0,20	2,37±0,62	0,36±0,04	0,39±0,03	7,10±0,43
		90	1,53±0,05	3,54±0,52	5,93±0,50	1,95±0,27	1,02±0,05	1,28±0,20	0,91±0,18	2,00±0,17
Asetoin	1273	1	5,27±1,09	3,77±0,14	10,44±0,79	10,29±0,54	1,80±0,42	1,97±0,11	6,14±0,18	26,54±1,10
		90	0,57±0,17	0,90±0,41	4,40±0,42	3,61±0,68	0,42±0,23	1,46±0,36	2,25±0,49	3,95±0,92
2-Nonanon	1367	1	0,37±0,02	0,40±0,01	0,48±0,03	0,35±0,05	0,13±0,03	0,20±0,01	0,58±0,08	0,42±0,01
		90	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonanal	1372	1	1,28±0,21	1,00±0,12	1,56±0,31	1,56±0,21	0,35±0,05	0,30±0,10	0,28±0,03	0,11±0,01
		90	-	-	-	-	-	-	-	-
Etil oktanoat	1408	1	1,28±0,19	1,51±0,14	0,88±0,07	0,93±0,22	0,12±0,01	0,17±0,03	0,26±0,02	0,11±0,01
		90	3,46±0,90	4,14±1,13	5,33±0,91	3,68±0,94	0,69±0,26	0,32±0,16	0,10±0,01	0,30±0,02
İzobütil 2-Metilbütirat	1424	1	9,21±0,66	3,80±0,56	1,61±0,33	1,31±0,43	-	-	-	-
		90	-	-	-	-	-	-	-	-

Tablo 11'in devamı (1)...

2,6-Dimetil- 4-Heptanol	1451	1	9,40±0,74	3,13±0,45	1,76±0,14	1,33±0,23	-	-	-	-
		90	-	-	1,17±0,33	0,96±0,09	-	-	-	-
2-Metil hekzanoik asit	1745	1	2768±301	1702±337	5926±806	3148±57	229±21	636±131	6854±535	5142±109
		90	4771±677	2326±246	2695±333	5506±1047	134±33	437±65	1421±225	1333±52
2-Etil-1-Hekzanol	1461	1	0,60±0,02	0,57±0,05	0,73±0,01	0,72±0,13	0,59±0,09	0,45±0,04	0,43±0,03	2,13±0,54
		90	0,44±0,06	0,78±0,28	1,18±0,14	0,76±0,01	0,54±0,13	0,35±0,10	0,48±0,09	0,73±0,08
Benzaldehit	1509	1	1,21±0,02	0,65±0,14	1,07±0,22	1,21±0,08	0,35±0,10	0,15±0,04	0,28±0,05	0,35±0,10
		90	-	-	-	-	-	-	-	-
1,3-Bütandiol	1521	1	0,48±0,02	0,39±0,03	0,14±0,02	0,36±0,06	0,19±0,05	0,53±0,06	0,27±0,06	0,42±0,16
		90	2,84±1,35	6,96±1,63	-	-	0,97±0,56	0,49±0,29	-	-
1-Oktanol	1532	1	0,40±0,08	0,34±0,04	0,45±0,03	0,43±0,07	0,32±0,05	0,30±0,04	0,30±0,03	2,59±1,34
		90	0,27±0,08	1,78±0,40	1,09±0,26	0,85±0,13	0,61±0,16	0,24±0,05	0,18±0,01	0,35±0,03
2,3-Bütandiol	1561	1	4,49±1,17	3,39±0,09	0,83±0,18	1,04±0,09	0,16±0,01	0,27±0,05	0,54±0,13	2,85±0,58
		90	3,23±0,02	10,53±2,19	1,83±0,44	1,37±0,18	2,51±1,22	1,58±0,06	0,96±0,04	1,27±0,02
Etil dekanolat	1572	1	0,34±0,01	0,22±0,05	0,59±0,05	0,62±0,02	-	-	-	-
		90	-	-	-	2,30±0,31	0,54±0,11	0,11±0,02	-	-
Etil nonanoat	1618	1	1,18±0,04	1,21±0,08	0,62±0,06	0,54±0,13	0,09±0,01	0,05±0,01	-	-
		90	3,23±2,04	2,75±0,83	3,15±0,81	0,60±0,02	-	-	-	-
Fenetil alkol	1903	1	0,62±0,09	0,35±0,06	0,12±0,01	0,11±0,01	-	-	-	-
		90	0,42±0,17	0,38±0,08	4,13±1,52	2,56±0,35	0,66±0,09	-	0,20±0,08	-

Tablo 11'in devamı (2)...

Dimetil sülfon	1910	1	0,75±0,15	0,50±0,09	0,63±0,06	1,08±0,11	0,51±0,10	0,36±0,05	0,34±0,08	0,97±0,11
		90	0,48±0,13	0,75±0,45	0,86±0,27	0,45±0,08	0,30±0,04	0,20±0,09	0,31±0,02	0,54±0,05
Asetik asit	1429	1	5537±239	3255±275	3781±226	2969±275	99±11	114±20	4482±488	6270±165
		90	31704±74	36692±3136	8480±574	8868±1100	623±100	1568±508	1853±81	1991±322
Propiyonik asit	1512	1	-	-	-	-	-	-	-	-
		90	170,2±25,4	170,4±25,8	-	-	-	-	-	-
Bütirik asit	1609	1	3983±188	1263±337	6613±372	4420±358	117±28,5	209±5,2	2775±68	2685±45
		90	26862±2087	29957±5488	14280±3143	10116±573	5152±985	1250±166	2425±595	3432±113
Hekzanoik asit	1828	1	8983±461	6257±581	13400±2594	10050±593	347±12,8	432±27	6610±148	4391±257
		90	45998±2970	31324±6366	14338±2804	16740±1922	187±2,22	321±85	3263±442	3465±98
Heptanoik asit	1936	1	199,85±0,42	142,9±33,9	285,6±3,3	197,2±16,4	-	-	-	-
		90	405±143	223,7±26,2	117,1±19,4	155,9±27,6	-	-	-	-
Oktanoik asit	2043	1	4952±150	3332±542	10089±980	6724±115	243±57	398±70	6937±513	2617±129
		90	11639±3445	7589±739	3499±507	4611±247	69,1±8,7	132±41	1215±143	1424±38
Dekanoik asit	2254	1	3449±198	2544±316	7630±886	4786±10	274±42	275±51	4090±113	1098±10
		90	7290±2378	2530±440	1441±199	2184±154	42,2±6,4	75,3±10,3	542±55	759±68

Sonuçlar µg/100 g peynir olarak sunulmuştur. R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. -, tespit edilemeyen değer; RI, HP-INNOWax kapiler kolonu için C11-C23 n-alkan serisinden hesaplanan alıkonma indisi; S.H, Standart hata.

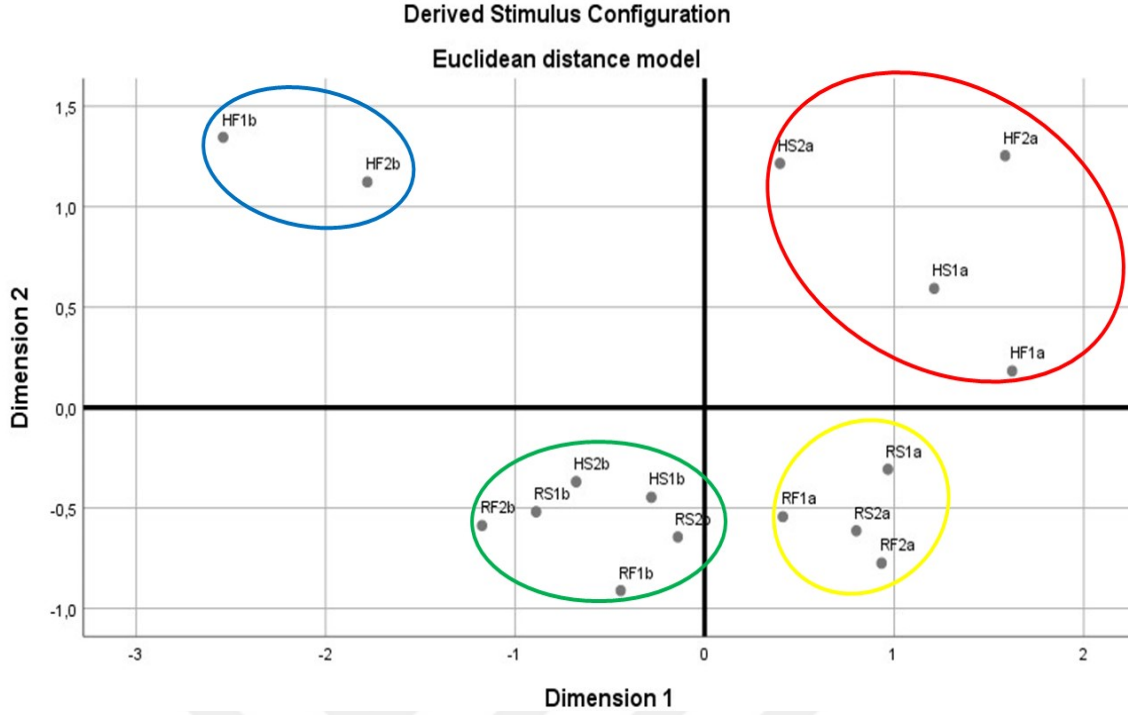
Asetoin, yumuşak ve taze peynirlerin tipik aroma bileşiklerinden biri olup genellikle tereyağımsı aromayla karakterize edilmektedir. Buna bağlı olarak peynirlerin asetoin içeriğinin peynirlerde depolamanın 1. gününde daha yüksek olduğu, özellikle starter kültür kullanılarak üretilen RS ve HS peynirlerinin daha fazla asetoin içerdiği belirlenmiştir. Asetoin içeriği tüm örneklerde 90 gün depolama ile azalmıştır. 2-nonanon ve nonanal sadece 1 gün depolanmış keçi peynirlerinde belirlenirken bu uçucu bileşenler 90 gün depolanmış keçi peynirlerinde tespit edilememiştir.

Peynirlerde tanımlanan esterler; etil oktanoat, etil hekzanoat, izobütil 2-metilbutirat, etil dekanoat ve etil nonanoattır (Tablo 11). Çiğ sütten üretilen peynirlerde etil oktanoat konsantrasyonu depolama ile artarken, ısıl işlem uygulanan sütten üretilmiş peynir grubunun nispeten sabit bir etil oktanoat konsantrasyonuna sahip olduğu bulunmuştur. Isıl işlem uygulanan sütten üretilen peynirlerde izobütil 2-metilbtirat ve etil dekanoat tespit edilmemiştir. Etil hekzanoat sadece 1 gün depolanmış RF peynirlerinde tespit edilmiştir. 90 günlük depolamanın ardından tüm örneklerde etil hekzanoat tespit edilirken RS1 peynirinde nispeten daha yüksek miktarda bulunmuştur. Bulgulara benzer şekilde, çiğ keçi sütü peynirlerinde 90 günlük depolama süresi boyunca esterlerde kademeli bir artış gözlendiği rapor edilmiştir (Delgado vd., 2011b). 90 gün depolanmış peynirlerde daha yüksek ester konsantrasyonu belirlenirken, depolamanın ilk gününde ester miktarlarının çok düşük seviyelerde olduğu tespit edilmiştir. RF1 ve RF2 peynirlerinin sırasıyla 1,95 ve 1,71 $\mu\text{g}/100$ g olarak etil hekzanoat konsantrasyonuna sahip olduğu, 90 günlük depolama sonunda konsantrasyonlarının 11,38 ve 20,70 $\mu\text{g}/100$ g seviyesine ulaştığı belirlenmiştir.

Keçi peynirlerinde belirlenen alkoller; 2,6-dimetil-4-heptanol, 2-etil-1-hekzanoal, 1,3-bütandiol, 1-oktanol, 2,3-bütandiol ve fenetil alkoldür (Tablo 11). RF peynirlerde fenetil alkol 0,62 ve 0,352 $\mu\text{g}/100$ g konsantrasyonda bulunurken, ısıl işlem görmüş peynirlerde belirleme limitlerinin altında kalmıştır. Fenetil alkol, fenilalanin yoluyla mayalar tarafından üretilen gln hoş aromasıyla bilinmektedir (Curioni ve Bosset, 2002). 2,6-dimetil-4-heptanol depolamanın başlangıcında çiğ sütten elde edilen peynirlerde bulunurken, ısıl işlem görmüş sütten üretilen peynirde tespit edilmemiştir. Depolama sırasında peynirde alkol salınımları, laktoz metabolizması, metil keton indirgemesi, amino asit metabolizması ve linoleik ve linolenik asitlerin bozunması gibi farklı metabolik yollarla ilişkilendirilmektedir (Fox vd., 2017c).

Peynirlerin uçucu bileşenler açısından MDS haritası üzerindeki geometrik dağılımı Şekil 13'te gösterilmiştir. MDS haritasında birbirine benzeyen nesnelere birbirlerine yakın konumlanmaktadır (Karagul-Yuceer vd., 2007). MDS haritasındaki öklid uzaklık modeline göre 1 ve 90 gün depolanmış peynirler uçucu bileşenler bakımından dört gruba ayrılabilir. Pıhtılaştırıcı enzim farklılığının grupların oluşumuna etki etmediği, etki sırasına öncelikle depolama olmak üzere sonrasında ısı işlem ve starter kültür etkisine göre grupların oluştuğu görülmektedir. HF peynirleri dışında en büyük grubu, 90 gün depolanan peynirler oluşturmuştur. 90 gün depolanmış RF, RS ve HS peynirleri, ısı işlem ve starter kültür katkısı dahil olmak üzere farklı işlemler kullanılarak üretilmiş olmalarına rağmen, uçucu bileşenler açısından benzer bulunmuştur. Bu peynirlerde daha yüksek asit miktarları, haritada yakın konumda bulunmalarına neden olmuş olabilir. Uzkuç vd. (2018), farklı lipolitik enzim kullanımı sonucu, olgunlaştırılmış keçi peynirlerinin içerdiği yüksek miktarlardaki farklı asit uçucu bileşenler nedeniyle MDS haritasında kontrolden farklı bir konumda yerleştiğini bildirmişlerdir. 90 gün depolanmış HF1b ve HF2b peynirlerinin diğerlerinden uzak bir grupta yer alması, çoğu duyu ve fizikokimyasal bileşim özelliğinde olduğu gibi, diğer peynirlere göre daha düşük miktarlarda uçucu bileşenler, özellikle daha düşük miktarda asitler içermesiyle ilişkilendirilebilir.

Isıl işlem uygulanarak üretilmiş ve 1 gün depolanmış peynirler (HS1a, HS2a, HF1a ve HF2a) harita üzerinde daha geniş alanda konumlanmış olup (Şekil 13) diğer 3 grupta bulunan peynirlere göre bu grupta bulunan peynirler nispeten daha az benzerlik göstermektedir. Diğer yandan çiğ süttten üretilen 1 gün depolanmış peynirler birbirlerine yakın konumlanarak başka bir grup oluşturmuştur. Nonanal, 2,6-dimetil-4-heptanol ve benzaldehit konsantrasyonu, bu grubun haritada dağılımında diğerlerinden ayrı konumda yer almasına neden olmuş olabilir. Ayrıca heptanoik asidin sadece çiğ süt peynirlerinde bulunması, bu grubun ısı işlem görmüş sütlerden üretilen peynir gruplarından ayrı noktada konumlanmasının bir başka nedeni olabilir.



Şekil 13. Peynirlerin uçucu bileşen analizi sonuçlarına göre geometrik dağılımı*

*R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış; a, 1 gün depolama; b, 90 gün depolama, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir.

4.9. ACE İnhibitör Aktivite Sonuçları

Biyoaktif bileşenlerin antihipertansif potansiyellerinin analizinde en yaygın kullanılan yöntem, biyoaktif bileşenlerin ACE inhibe etme düzeylerinin saptanmasına dayanır. Bu yöntemde HHL, ACE katalizörlüğünde parçalanarak hippürik asit oluşturmakta, oluşan hippürik asit miktarı belirlenerek ACE inhibitör aktivitesi belirlenmektedir. Peynirlerin ACE inhibitör aktivitesi süt proteinlerin hidrolizi sonucunda salınan peptitlerin ACE enzimini inhibe etmesine dayanmaktadır. Peptitlerin ACE inhibitör aktivitesi ise hidroliz sonucu açığa çıkan sekansların içerdiği amino asitlerin sayısına, dizilimine ve çeşidine bağlı olarak değişmektedir (Meisel vd., 1997). Süt ürünleri arasında peynirin, *in vitro* ACE inhibitör aktiviteye sahip biyoaktif peptitlerin iyi bir kaynağı olduğu bildirilmiştir (Paul ve Van Hekken, 2011).

Peynirlerin ACE inhibitör aktiviteleri *in vitro* sindirimi uygulanmış örneklerin 3 kDa'dan küçük peptitleri içeren ultrafiltre edilmiş fraksiyonlarında belirlenmiştir. Farklı olgunlaşmış peynir çeşitlerinde ACE inhibitör aktivitenin 3 kDa'dan küçük molekül ağırlığına sahip olan fraksiyonlarda yoğunlaştığı (Turan ve Durak, 2022), benzer şekilde Asiago d'alleva peynirinin suda çözünür fraksiyonlarının 3 kDa ve 10 kDa ayrımlı filtreler kullanılarak ayrılması sonucunda ACE inhibitör aktivitenin de 3 kDa'dan düşük molekül ağırlığına sahip fraksiyonda yoğunlaştığı (Lignitto vd., 2010) bildirilmiştir. Birçok araştırmacı da küçük molekül ağırlığına (< 3 kDa) sahip peptitlerin daha yüksek ACE inhibitör aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Abdel-Hamid vd., 2017; Gomez-Ruiz vd., 2002; Miguel vd., 2009; Tarango-Hernandez, 2015). Peynirlerdeki 2-20 amino asitten oluşan potansiyel biyoaktif peptitleri içeren bu fraksiyonların (< 3 kDa) ACE inhibitör aktiviteleri % 13,15 ile % 77,94 aralığında bulunmuş olup depolama boyunca peynirlerde belirlenen % ACE inhibitör aktivite değerleri Tablo 12'de sunulmuştur. Tüm peynirlerin ACE inhibitör aktiviteleri depolama ile önemli derecede değişmiştir ($P \leq 0,01$) (Tablo 12). Peynirlerin ACE inhibitör aktiviteleri üzerine ısıl işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 13), üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı ACE inhibitör aktivite değerlerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 12). Çiğ süt peynirlerinin ACE inhibitör aktivitelerinde depolama süresince artış ve azalışlar meydana gelmiş ve bu gruptaki peynirlerin tamamında en yüksek ACE inhibitör aktiviteler depolamanın 30. gününde belirlenmiştir (Tablo 12). Bu peynir grubunda depolamanın ilk 30 günü sonunda yükselen ACE inhibitör aktivite değerleri 60 ve 90 günlük depolama ile depolama başlangıcındaki ACE inhibitör aktivitelerine benzer seviyelere gerilemiştir. Depolamanın 30. gününde çiğ süttten üretilen peynirlerin ACE inhibitör aktivite değerleri % 67,21 ile % 76,91 aralığında değerler almıştır (Tablo 12). Keçi sütünden üretilen Edirne peynirinde (Halıcı Demir, 2021) depolamanın 90. gününde, starter kültür kullanılarak üretilen salamura keçi peynirinde (Kocak vd., 2020) ise depolamanın 60. gününde en yüksek ACE inhibitör aktivite değerlerinin sırasıyla % 76,15 ve % 51,95 olarak tespit edildiği bildirilmiştir. Kocak vd. (2020) ürettiği keçi peynirlerinde olgunlaşmanın 60. gününden sonra tüm peynirlerin ACE inhibitör aktivitesinde azalma olduğunu belirlemişler ve bu azalmanın artan proteoliz sonucunda aktif peptitlerin parçalanarak inaktif forma dönüşmesiyle ilişkilendirmişlerdir.

Tablo 12

Depolama süresince *in vitro* sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen ACE inhibitör aktivite değerleri

Gün	Peynir (ortalama \pm S.H)								P
	RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
1	55,40 \pm 3,20 ^B	52,65 \pm 1,86 ^B	40,14 \pm 1,82 ^B	38,95 \pm 3,66 ^B	15,52 \pm 3,37 ^B	13,15 \pm 2,92 ^B	76,65 \pm 4,39 ^A	77,94 \pm 2,34 ^A	0,851
30	76,91 \pm 1,76 ^A	75,43 \pm 2,48 ^A	70,23 \pm 5,48 ^A	67,21 \pm 5,20 ^A	18,10 \pm 0,81 ^B	20,24 \pm 2,16 ^B	56,82 \pm 4,38 ^{AB}	60,66 \pm 5,56 ^{AB}	0,776
60	68,45 \pm 3,31 ^{AB}	68,60 \pm 1,44 ^{AB}	57,44 \pm 2,20 ^{AB}	53,81 \pm 4,28 ^{AB}	24,99 \pm 4,30 ^B	23,63 \pm 2,93 ^B	47,32 \pm 4,92 ^B	53,25 \pm 2,45 ^B	0,285
90	59,05 \pm 5,30 ^{AB}	61,57 \pm 5,66 ^{AB}	52,37 \pm 2,28 ^{AB}	50,55 \pm 2,41 ^{AB}	49,57 \pm 3,35 ^A	45,61 \pm 4,15 ^A	45,72 \pm 1,89 ^B	43,40 \pm 2,35 ^B	0,581
P	0,007	0,002	0,010	0,004	0,005	0,007	0,008	0,009	

^{A-B} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$).

R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Bazı araştırmacılar depolama süresince peynirlerin ACE inhibitör aktivitelerinde artış ve azalışlar olduğunu saptamışlardır (Gomez-Ruiz vd., 2002; Gürkan, 2019; Meira vd., 2012; Ryhanen vd., 2001). Bu tez çalışmasındaki çiğ süt peynirlerinin ACE inhibitör aktivitelerinde meydana gelen artış ve azalışlar devam eden proteoliz sürecinde peptit zincirlerinin farklı parçalanma seviyelerinde farklı ACE inhibitör aktivite göstermesine bağlanabilir.

Tablo 13

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir gruplarının % ACE inhibitör aktivite sonuçları

Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
	RF	RS	HF	HS	
1	54,02±3,14 ^b	39,55±1,70 ^c	14,34±1,94 ^d	77,30±2,06 ^a	0,000
30	76,17±1,31 ^a	68,72±3,20 ^{ab}	19,17±1,12 ^c	58,74±3,09 ^b	0,000
60	68,52±1,47 ^a	55,62±2,23 ^b	24,31±2,16 ^c	50,29±2,82 ^b	0,000
90	60,31±3,25 ^a	51,46±1,45 ^{ab}	47,59±2,46 ^b	44,56±1,40 ^b	0,010

^{a-d} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıl işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Peynirler arasında ACE inhibitör aktivitesi depolama ile artan tek peynir grubu HF'dir. HF1 ve HF2 peynirlerinde sırasıyla depolamanın 1. gününde % 15,52 ve % 13,15 olan ACE inhibitör aktivite değerleri 90 günlük depolama ile % 49,7 ve % 45,61 değerlerine ulaşmıştır (Tablo 12). HF grubunun aksine HS grubu peynirlerde ACE inhibitör aktivitelerin depolama ile azaldığı belirlenmiştir. HS1 ve HS2 peynirlerinin ACE inhibitör aktivite değerleri sırasıyla depolama başlangıcında % 76,65-77,94 iken depolama sonunda % 45,72-43,40 seviyesine azalmıştır (Tablo 12). Hernandez-Galan vd. (2017) starter kültür kullanmadan ürettikleri keçi peynirlerinde belirledikleri ACE inhibitör peptitlerin keçi sütü içinde bulunan (Bezerra vd., 2013) ya da pıhtılaşma etkisiyle peynir yapımı sırasında oluşan (Silva vd., 2006) biyoaktif peptitlerle benzer olduğunu bildirmişlerdir. Bununla birlikte olgunlaştırılmayan peynirlerde ACE inhibitör peptitlerin starter kültürlerin proteolitik etkisiyle oluştuğu bildirilmektedir (Torres-Llanez vd., 2011). Yılmaz Kısak (2021) keçi

sütünden ürettikleri Tulum peynirlerinin pH 4,6'da çözünen azot fraksiyonlarında ACE inhibitör aktivite değerlerini 150 günlük depolama süresince bu tez çalışmasında olduğu gibi geniş bir aralıkta (% 15,07-88,37) belirlemiştir. Araştırmacılar Beyaz peynirin ACE inhibitör aktivitesinin, depolama süresi, kültür ilavesi, ambalaj materyali ve peptit büyüklüğünden önemli düzeyde etkilendiğini bildirmişlerdir (Gürkan, 2019; Sahingil vd., 2014). Tüm peynirlerin ACE inhibitör aktiviteleri göz önüne alındığında bu tez çalışmasında kullanılan hammadde ve üretim sürecine bağlı olarak peynirlerin incelenen koşullarda en yüksek % 76-77 seviyelerinde ACE inhibitör aktiviteye sahip olabildikleri görülmektedir (Tablo 12). Üretim parametreleri itibariyle taze tüketilmeye uygun olan HS ve HF grubu peynirlerinin depolama sonucu birbirleri ile ters ilişkili olarak ACE inhibitör aktivitelerinin değiştiği görülmektedir (Tablo 12). HS peynirlerinin üretiminde kullanılan starter kültürler depolamanın başında bu peynirlerde yüksek ACE inhibitör aktiviteye sahip peptitlerin oluşmasını sağlarken (Tablo 13) artan proteolizin, bu peynirlerin ACE inhibitör peptitleri için aşırı olduğu sonucuna varılabilir. HF grubunda depolamanın ilk 60 gününde belirlenen göreceli düşük ACE inhibitör aktivite, süt pıhtılaştırıcı enzim ile starter kültür yokluğunda daha düşük kalan proteoliz seviyesi, dolayısıyla daha kısıtlı proteolitik aktiviteyle ilişkilendirilebilecek düşük biyoaktif peptit oluşumuna bağlanabilir.

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesi kombinasyonu tüm depolama günlerinde peynirlerin ACE inhibitör aktivitelerini önemli derecede etkilemiştir ($P \leq 0,01$) (Tablo 13). Depolamanın 1. gününde tüm peynir gruplarının ACE inhibitör aktivite değerleri birbirinden farklı bulunmuş, HF peynirleri en düşük (% 14,34), HS peynirleri ise en yüksek (% 77,30) ACE inhibitör aktivite değerlerine sahip olmuşlardır (Tablo 13). HF peynir grubu depolamanın 1, 30 ve 60. günlerinde diğer gruplardan daha düşük ACE inhibitör aktivite değerlerine sahip olmuş, 90 gün depolama sonunda bu peynir grubunun RS ve HS peynirleriyle benzer ACE inhibitör aktivite değerlerine ulaştığı bulunmuştur (Tablo 13). Çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilen 30, 60 ve 90 gün depolanmış peynir grubu, bu depolama günlerinde ısıl işlem uygulanan sütlerden üretilmiş peynirlerden daha yüksek ACE inhibitör aktivite değerlerine sahip olmuşlardır. Bununla birlikte ısıl işlem uygulama durumu fark etmeksizin depolamanın 30, 60 ve 90. günlerinde starter kültür ilaveli peynirlerin benzer ACE inhibitör aktivite değerlerine sahip olduğu bulunmuştur (Tablo 13). Genel olarak depolama ile peynirlerin ACE inhibitör aktivite değerleri arasındaki farkın depolama başlangıcına göre azaldığı söylenebilir. Peynirlerin mikroflorasındaki farklılıkların biyoaktif

peptit içeriğini etkilediği (Sieber vd., 2010), çiğ süt peynirlerinin, pastörize süttten üretilen peynirlere göre; süttün doğal mikroflorasındaki mikroorganizmaların proteolitik enzimlerine bağlı olarak daha yüksek ACE inhibitör aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Bütikofer vd., 2008). Buna karşın üretiminde starter kültür kullanılan peynirlerde, mikroorganizmaların ACE inhibitör peptitleri daha düşük aktiviteye sahip peptit ve amino asitlere parçaladığı (Gupta vd., 2013), *Lactobscillus helveticus* türlerinin genel olarak ACE inhibitör peptit üretiminde *Lc. lactis* türlerine göre daha etkili olduğunu belirtilmiştir (Funglsang vd., 2003). Silva vd. (2006) yaptıkları çalışmada *C. cardunculus* bitkisinden ekstrakte edilen Cardosin A ve Cardosin B proteazları ile çiğ veya sterilize (110 °C’de 10 dk) keçi ve koyun sütleri kullanarak ürettikleri peynirlerin 45 günlük depolanma süresince ACE inhibitör aktivitelerini araştırmışlar, çiğ keçi süttünden üretilen peynirlerde ACE inhibitör aktivite değerlerinin % 44,95-79,43 arasında, sterilize süttten üretilenlerde ise % 16,57-48,00 arasında bulunduğunu bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar *in vitro* sindirimin peynirlerin suda çözünen fraksiyonlarındaki ACE inhibitör aktivitesini azalttığını bildirmişler (Barac vd., 2019; Lignitto vd., 2010; Turan ve Durak, 2022) ve ACE inhibitör peptitlerin sindirimin enzimleri ile hidrolizi sonucu olarak aktivitesini kaybetmiş olabileceğini belirtmişlerdir. Sulejmani vd. (2020) farklı sütlerden ürettikleri Beyaz Peynir, Beaten ve Kashkaval peynirleri arasında, keçi süttü kullanılarak üretilen geleneksel Beaten peynirinde ACE inhibitör aktiviteyi kendi çalışmalarındaki diğer peynirlerden ve bu tez çalışmasındaki tüm peynirlerden daha yüksek bulmuşlar (% 98,72) ve bu yüksek ACE inhibitör aktivitenin diğer peynirlere göre nispeten daha yüksek miktarda hidrolize proteinlere bağlanabileceğini rapor etmişlerdir. Literatür çalışmalarıyla birlikte bu tez çalışmasında elde edilen bulgular birçok noktada örtüşmekte, peptitlerin biyoaktivitesinin amino asit dizilimindeki formasyona bağlı olarak çiğ süttten başlayarak bağırsaklarda emilimine kadar geçen süreçte dinamik bir şekilde ilerlediği görülmektedir. Aynı anda birçok faktörün değerlendirildiği bu tez çalışmasının karmaşık bir süreç olan biyoaktif peptit oluşumunun keçi peyniri üretimindeki faktörlerinin belirlenmesi açısından önemli katkıları olduğu görülmektedir.

4.10. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Antioksidanlar, serbest radikallerin oksidasyonunu önleyerek vücutta oluşabilecek oksidatif hasarı ve buna bağlı olarak hastalık riskini azaltan maddeler olarak bilinmektedir. Peynirlerin antioksidan aktivitesi içerdiği protein yapısında şifrelenmiş ve üretim ve

depolama süresince açığa çıkan biyoaktif peptit ve amino asitlerden kaynaklanmaktadır (Pates vd., 2011; Pattom ve Hongsprabhas, 2013; Power vd., 2013; Yates vd., 2010). Peptitlerin hidrofobik özellikleri ile antioksidan aktiviteleri arasında doğru bir orantı olduğu (Gürkan, 2019), antioksidan peptitlerin düşük molekül ağırlığa sahip ve kolay absorbe olan peptitler olduğu bildirilmiştir (Xie vd., 2008).

Antioksidan etkinliğin belirlenmesinde DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP gibi pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin birbirine göre farklı avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bilimsel çalışmalarda, DPPH sadece organik ortamda çözülebilir olduğundan, DPPH yönteminin hidrofilik antioksidanların rolünün yorumlanmasında dezavantajlı olduğu belirtilmektedir (Büyüktuncel, 2013). ABTS yöntemi ile sulu ve organik ortamda çözünen ve buna bağlı olarak hidrofilik ve lipofilik bileşiklerin radikal inhibisyon aktiviteleri ölçülebilmektedir (Tang vd., 2010). Diğer yandan bakır iyonunun indirgenmesi ile antioksidant kapasitenin belirlenmesine dayalı CUPRAC metodu diğer antioksidan aktivite tayin yöntemlerine göre daha hızlı, basit ve kullanışlıdır. ABTS yönteminde olduğu gibi CUPRAC yönteminde de hem hidrofilik hem de lipofilik toplam antioksidan kapasite tayin edilebilmekte, DPPH radikal reaktifine göre daha kararlı olan CUPRAC radikalının sulu ve tamponlu ortamlarda antioksidan aktivite belirlenmesinde daha iyi sonuç verdiği bilinmektedir (Dinkçi vd., 2023). Bu çalışmada *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir örneklerinin küçük molekül ağırlıklı (< 3 kDa) peptit fraksiyonlarında antioksidan aktiviteler ABTS radikal giderme ve CUPRAC yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir.

Peynirlerdeki 2-20 amino asitten oluşan potansiyel biyoaktif peptitleri içeren bu fraksiyonların (< 3 kDa) ABTS radikal giderme yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivitelerin 45,95 ile 69,02 (mM troluks/100 mg peynir) aralığında değerler aldığı belirlenmiş, peynirlerin ABTS radikal giderme yöntemiyle belirlenen antioksidan aktivite değerleri Tablo 14'te sunulmuştur. Peynirlerin antioksidan aktiviteleri üzerine depolamanın 1 ve 30. günlerinde ısı işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden, ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin ikili interaksyonu (Tablo 15) ile ısı işlem uygulaması ve enzim kaynağının ikili interaksyonu (Tablo 16) ayrı ayrı önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$), tüm depolama günlerinde üç faktörün kombinasyonunun antioksidan aktivite değerlerini önemli derecede etkilemediği belirlenmiştir ($P > 0,01$) (Tablo 14).

Tablo 14

Depolama süresince *in vitro* sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları

Gün	Peynir (ortalama \pm S.H)								P
	RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
1	69,02 \pm 0,47 ^A	65,46 \pm 2,11 ^A	58,98 \pm 1,45	57,74 \pm 0,41	45,95 \pm 0,44 ^C	46,75 \pm 1,21 ^B	59,18 \pm 3,46	61,76 \pm 1,09	0,297
30	66,58 \pm 1,07 ^A	57,73 \pm 0,96 ^B	63,89 \pm 0,82	59,51 \pm 0,48	47,82 \pm 1,01 ^{BC}	49,13 \pm 1,32 ^B	57,06 \pm 1,97	59,36 \pm 1,43	0,015
60	56,42 \pm 2,83 ^B	55,89 \pm 0,80 ^B	61,05 \pm 3,64	61,21 \pm 2,60	55,98 \pm 3,48 ^{AB}	54,13 \pm 2,29 ^{AB}	59,08 \pm 0,72	58,03 \pm 1,23	0,639
90	63,00 \pm 2,03 ^{AB}	59,81 \pm 1,23 ^{AB}	62,90 \pm 1,18	60,48 \pm 2,41	58,90 \pm 2,15 ^A	59,70 \pm 2,79 ^A	59,64 \pm 4,07	57,56 \pm 2,56	0,069
P	0,002	0,003	0,396	0,573	0,002	0,002	0,808	0,094	

Sonuçlar mM troloks/100 mg peynir olarak sunulmuştur. ^{A-C} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıtılmış süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Depolama ile sadece starter kullanmadan üretilen peynirlerin antioksidan aktiviteleri önemli derecede değişmiş ($P \leq 0,01$), RS ve HS peynirlerinin antioksidan aktiviteleri depolama boyunca önemli derecede değişmemiştir ($P > 0,01$) (Tablo 14). Çiğ süttten starter kültür ilave edilmeden üretilen peynirlerin antioksidan aktiviteleri depolama süresince artmış, HF1 peynirinde depolamanın 1 ve 30, HF2 peynirinde depolamanın sadece 1. gününde, 60 gün depolanmış peynirlerden daha yüksek antioksidan aktiviteler belirlenmiştir (Tablo 14). Araştırmalar, peynir üretiminde peptit oluşumunun taze peynirlerin antioksidan kapasitesini artırdığını ve aynı kalitenin olgunlaşma sürecinde de arttığını göstermektedir (Moreno-Fernandez vd. 2019; Moreno-Montoro vd., 2017). RF1 ve RF2 peynirlerinde antioksidan aktiviteler sırasıyla depolamanın 90. gününde 63,00 ve 59,81 (mM troloks/100 mg peynir) olarak belirlenmiştir (Tablo 14). HF1 ve HF2 peynirlerinin antioksidan aktiviteleri depolama ile önemli derece artmıştır ($P \leq 0,01$). HF1 ve HF2 peynirlerinde antioksidan aktiviteler sırasıyla depolamanın başlangıcında 45,95 ve 46,75 (mM troloks/100 mg peynir) olarak belirlenmiş, bu değerler 90 gün depolama ile 58,90 ve 59,70 (mM troloks/100 mg peynir) değerlerine ulaşmıştır (Tablo 14). Revilla vd. (2016) keçi peynirlerinde en yüksek antioksidan aktivitenin (ABTS) depolamanın 90. gününde belirlendiğini, farklı mevsimlerde elde edilen sütlerden peynir üretmenin özellikle taze peynirlerde antioksidan aktiviteyi farklılaştırdığını, yaz peynirlerinin, kış peynirlerinden daha düşük hidrofobik:hidrofilik oranlara sahip olduğunu ve bunun da güçlü proteolize işaret ettiğini, buna bağlı olarak yaz aylarında üretilen taze peynirlerin daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir.

Öner ve Sarıdağ (2019) keçi sütünden üretilen beyaz peynirlerin suda çözünür fraksiyonlarında antioksidan aktiviteleri (ABTS) 9 aylık depolama süresince 29,34-55,12 mM Troloks/g aralığında bulmuşlardır. Aynı çalışmada peptit fraksiyonları HPLC fraksiyon toplayıcı ile ayrılıp en yüksek antioksidan aktiviteyi veren fraksiyonların tekrarlanan antioksidan kapasite sonuçlarında, 6 ve 9 ay depolanan keçi peynirindeki fraksiyonların en yüksek TEAC değerine sahip olduğu rapor edilmiş, bu değerler peynirlerde ilgili aylardaki enterokok sayısındaki artışla ilişkilendirilmiştir. İnek ve keçi sütlerinden starter kültür ilave edilmeden üretilen beyaz peynirlerin antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada, üretilen keçi peynirlerinin suda çözünen fraksiyonlarının *in vitro* sindirimi öncesi ve sonrası antioksidan kapasiteleri sırasıyla 159,97 ve 152,41 mM Troloks/kg, suda çözünmeyen fraksiyonlarda ise sırasıyla 25,33 ve 81,43 mM Troloks/kg olarak bulunmuştur (Barac vd.,

2019). Bu çalışmada *in vitro* sindirim ile keçi peyniri protein fraksiyonlarının antioksidan aktivitelerinin önemli derecede arttığı, depolamanın 50. gününde belirlenen TEAC değerlerinin daha az depolanan peynirlerin değerlerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Keçi İzmir Tulum peynirinin ABTS antioksidan aktivitesinin de depolama ile arttığı (Yılmaz Kısak, 2021) ancak keçi Edirne Beyaz Peynirinde TEAC değerinin depolamanın 30. gününden sonra azaldığı bildirilmiştir (Halıcı Demir, 2021).

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilave durumuna göre gruplandırılmış peynirlerin antioksidan aktivite (ABTS) sonuçları Tablo 15'te sunulmuştur. Depolamanın 1. gününde çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilen peynirlerin en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu (67,24 mM troloks/100 mg peynir), ısıl işlem görmüş süttten starter kültür kullanılmadan üretilen peynirlerin ise en düşük antioksidan aktiviteye sahip olduğu (46,34 mM troloks/100 mg peynir) bulunmuştur.

Tablo 15

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları

Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
	RF	RS	HF	HS	
1	67,24±1,21 ^a	58,36±0,74 ^b	46,34±0,27 ^c	60,47±1,68 ^b	0,000
30	62,16±1,80 ^a	61,70±0,94 ^a	48,48±0,66 ^c	58,21±1,21 ^b	0,000
60	56,16±1,36	61,13±2,07	55,05±1,96	58,55±0,69	0,366
90	61,41±1,25	61,69±1,32	59,30±1,64	58,60±2,59	0,672

Sonuçlar mM troloks/100 mg peynir olarak sunulmuştur. ^{a-c} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıl işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Isıl işlem uygulama durumu fark etmeksizin starter kültür kullanılarak üretilen peynirlerin benzer antioksidan aktivite değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. 30 gün depolanan peynirler arasında çiğ süt kullanılarak üretilenler ısıl işlem kullanılarak üretilenlerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmuştur ($P \leq 0,01$). Bu depolama

gününde de en düşük antioksidan aktivite HF grubunda belirlenmiştir (48,48 mM troloks/100 mg peynir) (Tablo 15). Antioksidan peptitler çoğunlukla starter ve NSLAB'nin etkisiyle kazeinlerden açığa çıkmaktadır (Barac vd., 2016). Bu ifadeyle ilişkili olarak 30 gün depolanan peynirler arasında çiğ süttten üretilen peynirlerde doğal mikrofloranın antioksidan aktivitelere katkı sağladığı belirlenmiş ve bunun yanında depolamanın 1 ve 30. gününde ısı işlem uygulanmış süttten üretilen peynirler arasında HS peynirlerinde kullanılan starter kültür faaliyetine bağlı olarak antioksidan kapasitelerin daha yüksek olduğu bulunmuştur. HF1 ve HF2 peynirlerindeki depolama ile artan antioksidan aktivitelere bağlı olarak (Tablo 14), 60 ve 90 gün depolanan HF grubu peynirlerin, antioksidan aktivitesi ile diğer peynirlerin antioksidan aktiviteyi arasındaki farklar önemli bulunmamıştır ($P > 0,01$) (Tablo 15). Isıl işlem uygulanarak üretilmiş peynirler arasında starter kullanılarak üretilen grup depolama boyunca daha sabit antioksidan aktivite değerlerine sahipken, starter kültür kullanılmadan üretilen grupta her depolama gününde artan ve diğer örneklere yaklaşan seviyede antioksidan aktiviteyi olduğu belirlenmiştir.

Isıl işlem uygulaması ve pıhtılaştırıcı enzim kaynağına göre gruplandırılmış peynirlerin antioksidan aktivite (ABTS) sonuçları Tablo 16'da sunulmuştur. Bir gün depolanan peynirler arasında en yüksek antioksidan aktivite çiğ süttten bitkisel enzim kullanılarak üretilen (R1) peynirde 64,00 mM troloks/100 mg peynir olarak belirlenmiştir. Bir gün depolanan peynirler arasında en düşük antioksidan aktivite değerlerine ısı işlem uygulanmış süttten bitkisel enzim kullanılarak üretilen H1 peynirinin sahip olduğu, aynı ısı işlem grubunda hayvansal pıhtılaştırıcı kullanılarak üretilen H2 peyniri ile H1 peynirinin antioksidan aktiviteyi bakımından benzer olduğu bulunmuştur. Depolamanın 30. Gününde çiğ süttten üretilen peynirler ısı işlem uygulanarak üretilen peynirlerden daha yüksek antioksidan aktivite göstermişlerdir. Çiğ süttten üretilen peynirler arasında bitkisel enzim kullanılarak üretilen grup (R1) üyelerinin ortalama antioksidan aktivitesi (65,24 mM troloks/100 mg peynir), hayvansal enzim kullanılarak üretilen grup (R2) üyelerinin ortalama antioksidan aktivitesinden (58,62 mM troloks/100 mg peynir) daha yüksek bulunurken (Tablo 16), ısı işlem uygulanan gruptaki peynirler antioksidan aktivite bakımından benzer bulunmuştur. Keçi süttünün antioksidan kapasitesinin peynir yapımı sırasında enzimatik hidroliz ile kazein çöktürme işlemi ile arttığı bildirilmiştir (Hernandez Galan vd., 2020). Çalışmada kullanılan bitkisel pıhtılaştırıcı, kimozi ve pepsine benzeyen aspartik proteazlar Cardosin A ve B enzimlerini içermektedir (Silva vd 2006). Cardosin A, κ -kazeinin

fenilalanin-metionin (105-106) peptit bağına özgü proteolitik enzim olup Cardosin B kazein zincirinde spesifik bir bağı hedeflemeyen yüksek proteolitik aktiviteye sahip bir enzimdir (Silva vd 2006). Elde edilen bulgulardan *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir örneklerinin küçük molekül ağırlıklı (< 3 kDa) peptit fraksiyonlarında 1 ve 30. Günlerde antioksidan aktiviteler (ABTS) üzerine ısı işlem uygulaması ve pıhtılaştırıcı enzim kaynağına bağlı olarak belirlenen farklar bitkisel pıhtılaştırıcının içerdiği Cardosin B enzimi ile ilişkilendirilebilir. 60 ve 90. Depolama günlerinde ısı işlem uygulaması ve pıhtılaştırıcı enzim kaynağına göre gruplandırılmış peynirlerin antioksidan aktiviteleri (ABTS) arasında önemli fark bulunmamıştır. ($P \leq 0,01$). Bu gruplarda depolamanın 60 ve 90. Günlerinde sırasıyla en düşük ve en yüksek 56,08-58,75 ve 58,63-62,95 (mM troluks/100 mg peynir) antioksidan aktivite değerleri belirlenmiştir (Tablo 16).

Tablo 16

Isıl işlem uygulaması ve enzim kaynağının etki ettiği *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (ABTS) sonuçları

Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
	R1	R2	H1	H2	
1	64,00±2,02 ^a	61,60±1,76 ^{ab}	52,56±2,98 ^c	54,25±2,84 ^{bc}	0,001
30	65,24±0,80 ^a	58,62±0,60 ^b	52,44±1,97 ^c	54,25±2,13 ^c	0,000
60	58,74±2,31	58,55±1,61	57,52±1,74	56,08±1,41	0,402
90	62,95±1,09	60,14±1,26	59,27±2,48	58,63±1,80	0,953

Sonuçlar mM troluks/100 mg peynir olarak sunulmuştur. ^{a-c} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısı işlem görmüş süt; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Proteinlerin ve peptitlerin antioksidan kapasitesi protein dizilimindeki amino asit pozisyonu, fiziksel yapı, hidrofobiklik ve molekül ağırlığı gibi pek çok faktöre bağlıdır (Pates vd., 2011; Pattom ve Hongsprabhas, 2013; Power vd., 2013; Yates vd., 2010). Medina-Navarro vd. (2010), yapısal molekül bütünlüğünün antioksidan olarak görev yapmada en önemli faktör olduğunu bildirmiştir. Peynir üretiminde peptitlerin salınmasında ve buna bağlı olarak inaktif antioksidan sekanslarının açığa çıkmasında LAB'nin önemli

rolü olduğu, LAB'nin suş özelliklerine bağlı ve proteoliz ile ilişkili olarak peptitlerin antioksidan aktivitelerinin değiştiği bildirilmektedir (Gupta vd., 2009; Virtanen vd., 2007).

Depolama süresince *in vitro* sindirimi uygulanmış peynirlerin < 3 kDa fraksiyonlarında belirlenen CUPRAC sonuçları Tablo 17'de sunulmuştur. Peynirlerin CUPRAC değerlerinin 8,85-16,88 (mM troloks/g peynir) değer aralığında olduğu bulunmuş ve sadece çiğ süttten üretilen peynirlerin antioksidan aktivitelerinin depolama ile önemli derecede değiştiği belirlenmiştir ($P \leq 0,01$) (Tablo 17). RF1 ve RF2 peynirlerinin antioksidan aktiviteleri depolamanın 1 ve 90. günlerinde sırasıyla 16,88-17,52 ve 13,06-13,98 (mM troloks/g peynir) olarak belirlenmiş ve her iki peynirde eşdeğer oranda azalma gerçekleşmiştir. Depolama ile antioksidan aktivitelerinde önemli azalma olan diğer peynirlerden RS1 ve RS2'nin antioksidan aktiviteleri, depolamanın 1 ve 90. günlerinde sırasıyla 13,94-14,00 ve 11,81-12,13 (mM troloks/g peynir) olarak belirlenmiştir. Peynirlerin CUPRAC bakımından antioksidan aktiviteleri üzerine ısı işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden ısı işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonu önemli bulunmuş ($P \leq 0,01$) (Tablo 18) olup üç faktörün kombinasyonu ve bitkisel veya hayvansal kaynaklı pıhtılaştırıcı enzim kullanımı antioksidan aktivite değerlerini önemli derecede etkilememiştir ($P > 0,01$) (Tablo 17). Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksyonuna göre gruplandırılmış peynirlerin antioksidan aktivite değerleri Tablo 18'de sunulmuştur. Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesi kombinasyonu tüm depolama günlerinde peynirlerin antioksidan aktivitelerini önemli derecede etkilemiştir ($P \leq 0,01$) (Tablo 18).

Depolamanın 1 ve 30. günlerinde tüm peynir gruplarının antioksidan aktivite değerleri birbirinden farklı bulunmuş olup (Tablo 17), sırasıyla 1 ve 30. depolama günlerinde en düşük HF peynir grubu 9,30-9,28 (mM troloks/g peynir), en yüksek RF peynir grubu 17,70-16,11(mM troloks/g peynir) antioksidan aktivite değerine sahip olmuşlardır. Keçi peyniri üretiminde çiğ süt mikroflorası kaynaklı enzimler sayesinde antioksidan aktivite gösteren daha fazla sayıda düşük molekül ağırlıklı peptitlerin açığa çıktığı yorumu yapılabilir. Buna bağlı olarak ısı işlem uygulanan ancak starter kültür içermeyen HF peynirlerinin depolamanın 1, 30 ve 60. günlerinde diğer gruplardan daha düşük antioksidan aktivite değerlerine sahip olduğu, 90 gün depolama sonunda HS peynir grubuyla benzer değerler aldığı bulunmuştur (Tablo 18).

Tablo 17

Depolama süresince *in vitro* sindirimi uygulanmış peynirlerde belirlenen antioksidan kapasite (CUPRAC) sonuçları

Gün	Peynir (ortalama \pm S.H)								P
	RF1	RF2	RS1	RS2	HF1	HF2	HS1	HS2	
1	16,88 \pm 0,18 ^A	17,52 \pm 0,34 ^A	13,94 \pm 0,36 ^A	14,00 \pm 0,02 ^A	9,01 \pm 0,34	9,65 \pm 0,30	11,15 \pm 0,28	10,71 \pm 0,32	0,557
30	16,34 \pm 0,36 ^{AB}	15,88 \pm 0,22 ^{AB}	13,70 \pm 0,12 ^A	13,96 \pm 0,14 ^A	9,15 \pm 0,28	9,41 \pm 0,14	10,85 \pm 0,02	10,63 \pm 0,16	0,072
60	14,74 \pm 0,36 ^{BC}	14,40 \pm 0,38 ^{BC}	12,63 \pm 0,20 ^{AB}	11,73 \pm 0,26 ^B	8,85 \pm 0,34	10,17 \pm 0,22	10,81 \pm 0,02	11,53 \pm 0,06	0,156
90	13,06 \pm 0,24 ^C	13,98 \pm 0,20 ^C	11,81 \pm 0,18 ^B	12,13 \pm 0,34 ^B	8,99 \pm 0,28	10,07 \pm 0,08	10,85 \pm 0,02	10,09 \pm 0,30	0,092
P	0,003	0,003	0,009	0,004	0,921	0,152	0,402	0,053	

Sonuçlar mM troloks/g peynir olarak sunulmuştur. ^{A-C} Her bir özellik için depolama süresince belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıtılmış işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli; 1, bitki kaynaklı enzim ile pıhtılaştırılmış; 2, hayvansal rennet ile pıhtılaştırılmış, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Depolama başından depolama sonuna kadar geçen süreçte antioksidan aktivitelerde meydana gelen değişime bakıldığında, en çok azalmanın çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilen peynirlerde gerçekleştiği, buna rağmen bu peynir grubunun tüm depolama günlerinde diğer peynirlerden yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 17). Çiğ süt peynirlerinin antioksidan aktivitelerindeki düşüş, artan proteolize bağlı olarak antioksidan aktivite gösteren peptitlerin parçalanarak inaktif forma dönüşmesiyle açıklanabilir.

Tablo 18

Isıl işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin etki ettiği *in vitro* sindirimi uygulanmış peynir gruplarının antioksidan kapasite (CUPRAC) sonuçları

Gün	Peynir grubu (Ortalama±S.H)				P
	RF	RS	HF	HS	
1	17,20 ± 0,24 ^a	14,00 ± 0,15 ^b	9,30 ± 0,26 ^d	10,90 ± 0,21 ^c	0,000
30	16,11 ± 0,22 ^a	13,83 ± 0,11 ^b	9,28 ± 0,15 ^d	10,74 ± 0,09 ^c	0,000
60	14,57 ± 0,23 ^a	12,18 ± 0,29 ^b	9,51 ± 0,41 ^c	11,17 ± 0,21 ^b	0,000
90	13,52 ± 0,29 ^a	11,97 ± 0,18 ^b	9,53 ± 0,33 ^c	10,47 ± 0,25 ^{bc}	0,000

Sonuçlar mM troloks/g peynir olarak sunulmuştur. ^{a-d} Her bir özellik için peynir grupları arasında belirlenen önemli istatistiksel farklılıklar aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilmiştir ($P \leq 0,01$). R, çiğ süt; H, ısıl işlem görmüş süt; F, starter kültür ilavesiz; S, starter kültür ilaveli, kodlar peynir yapımında kullanılan üretim faktörünü gösterir. S.H, standart hata.

Isıl işlem uygulanan süttten üretilen peynir grubunda çiğ süt peynir grubuna göre depolama ile daha stabil antioksidan aktive olduğu görülmektedir (Tablo 18). Turan (2022) aynı yöntemle üretilen olgunlaşmış inek, keçi ve Ezine peynirlerinin suda çözünür fraksiyonlarının (< 3 kDa) *in vitro* antioksidan aktivitelerini (ABTS ve FRAP) araştırdığı çalışmasında keçi peynirinin diğer peynirlerden daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu bildirmiştir. Ayrıca peynirler arasındaki antioksidan aktivite farklarının peynir çeşitlerinin üretiminde kullanılan sütlerin elde edildiği türler kadar, peynirlerin olgunlaşması sırasında gerçekleşen proteoliz sırasında bu sütlerin proteinlerinin farklı peptitler oluşturacak şekilde hidrolize olmaları ile oluşan peptitlerin miktarlarının etkili olmasıyla ilişkilendirmiştir. Öztürk ve Akın (2018) keçi süttünü doğal mikroflorasıyla fermente edip

süte ısıl işlem uygulamadan ürettikleri Tulum Keçi peynirinin aynı koşullarda üretilen inek Tulum peynirinden, DPPH yöntemine göre daha yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğunu, bu durum keçi sütü Tulum peynirindeki hidrofilik peptit içeriğinin daha yüksek olmasından kaynaklanmış olabileceğini bildirmişlerdir.



BEŞİNCİ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, keçi peyniri biyoaktif peptitlerinin *in vitro* sindirim koşullarında antioksidan ve ACE inhibitör aktiviteleri üzerine, pıhtılaştırıcı enzim çeşidi, ticari starter kültür ilavesi, ısıl işlem uygulaması ve depolama süresi faktörlerinin etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; çiğ ve 90 °C’de 10 dk ısıl işlem uygulanmış keçi sütleri starter kültür ilave edilerek ve edilmeksizin, hayvansal rennet veya bitkisel kaynaklı rennet (*C. cardunculus*) kullanılarak pıhtılaştırılmıştır. Üretilen peynirler 90 gün süreyle buzdolabı koşullarında (6-8 °C) depolanmış ve depolamanın 1, 30, 60 ve 90. günlerinde analizler gerçekleştirilmiştir.

Peynirlerde belirlenen özelliklerden randıman ve yağ oranı dışındaki kimyasal özellikler üzerine ısıl işlem ve starter kültür ilavesi interaksiyonunun önemli etkisinin olduğu, peynir grupları arasında ısıl işlem uygulanıp starter kültür ilave edilmeden üretilen (HF) peynirlerin genel olarak diğer peynirlerden birçok özellik bakımından ayrıldığı bulunmuştur. Isıl işlem uygulandıktan sonra starter kültür ilave edilerek üretilen HS peynirlerinin depolamanın ilk gününden itibaren birçok özellik bakımından nihai değerlerine ulaştığı, bu peynirin taze olarak tüketilebileceği belirlenmiştir.

Tüm çiğ süt peynirlerinde doğal mikroflora (RS peynirleri için ayrıca ilave edilen starter kültür), HF peynirlerinde ise muhtemelen üretim sürecinde kontamine olan mikroorganizma faaliyetine bağlı olarak depolama boyunca asitlik ilerlemesi olduğu saptanmıştır. HS peynirleri ise depolamanın ilk günü nihai asitliğine ulaşmış (pH: 4,52; % LA: 1,96), depolama boyunca bu peynirlerin pH ve titrasyon asitliği değerlerinde önemli değişim gözlenmemiştir. Çiğ süt peynirlerinin pH değerleri (4,81-4,62) 90 günlük depolama sonunda HS peynirleriyle benzer değere ulaşırken, HF peynirleri tüm depolama günlerinde daha düşük pH ve daha yüksek LA değerlerine sahip olmuştur.

Peynir üretimde uygulanan ısıl işlem ve starter kültür ilavesinin peynirlerin azot fraksiyonları üzerine etkisi değerlendirildiğinde, pH, titrasyon asitliği ve kimyasal bileşim özelliklerinde olduğu gibi, olgunlaşmanın indikatörü kabul edilen SÇA/TA ve TFAA oranları bakımından HF peynirlerinin daha düşük değerler alarak daha düşük düzeyde

proteolize uğradığı, HS peynirlerinin ise % 29,61 SÇA/TA ve 12,61 mg lösün/g değerlerine ulaşarak daha yüksek düzeyde proteolize uğradığı bulunmuştur. Tüm peynirlerin SÇA, SÇA/TA ve TFAA oranları depolama ile önemli ölçüde artmıştır. Depolama ile peynirlerin suda çözümlür fraksiyonlarındaki değışim RP-HPLC peptit profilinde de belirlenmiş, HF peynirlerinin diğler peynirlere kıyasla daha az sayıda ancak daha yüksek alanları olan hidrofobik peptitler içerdığı bulunmuştur. Çiğ süt peynirlerinde ısıl işlem görmüş gruplarda bulunmayan spesifik peptit piklerinin olduğu belirlenmiş, bitkisel enzim kullanımının peynirler üzerine peptit profilleri açısından belirgin etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Proteolizin suda çözümlenmeyen azot fraksiyonları üzerinden göstergesi olan Urea-PAGE sonuçları SÇA ve TFAA sonuçlarının uyum içinde olduğu bulunmuş, Urea-PAGE elektroforetogramlarında, ısıl işlem uygulaması, starter kültür ilavesi ve depolamanın peynirlerin kazein fraksiyonlarını etkilediğı ancak bitkisel enzim ile sütü pıhtılaştırmanın, peynirlerin proteoliz düzeyini diğler faktörler kadar etkilemediğı belirlenmiştir.

Laktik asit bakterilerinin peynirlerin baskın mikroorganizma grubu olduğu bulunmuş, tüm peynirlerde kontaminasyona bağılı olarak maya ve küf varlığı tespit edilmiştir. Çiğ süt peynirlerinde süte ısıl işlem uygulanmaması nedeniyle, ısıl işlem uygulanmış sütlerden üretilen peynirlerde kontaminasyon kaynaklı, koliform bakterilerin varlığı tespit edilmiştir. HF peynirlerinde, süte ısıl işlem uygulanıp starter kültür ilave edilmemesine rağmen muhtemelen pıhtılaşıma öncesi diğler sütlerden kontamine olduğu veya ısıl işleme rağmen tamamının inhibe edilemediğı düşünölen LAB belirlenmiştir., LAB'nin varlığının (6,24-8,65 log kob/g peynir) HF peynirlerinde gerçekleşen kısıtlı asitlik ilerlemesi ve proteoliz ile ilişkili olduğu düşünölmektedir.

Çiğ süt peynirleri, daha yüksek miktarda asidik uçucu bileşenlerle karakterize edilmiş ve doğal mikroflora sayesinde en yüksek tat/lezzet duyuşal puanlarına sahip olmuşlardır. Isıl işlem uygulanmış süte starter kültür ilave edilerek üretilmiş HS peynirleri ortalama kimyasal ve duyuşal özelliklere sahip olmuş, ancak süte ısıl işlem uygulanıp starter kültür ilave edilmeden peynir üretildiği durumda, peynirlerin (HF) daha düşük duyuşal puanlar aldığı, bu peynirlerde depolanma sırasında 60 günden itibaren acı tat oluştuğı belirlenmiştir. HF peynirlerinin düşük duyuşal değlerlendirme skorları almasının düşük düzeyde asidik uçucu madde içermesiyle ilişkili olduğu düşünölmektedir. Ayrıca peynirlerin uçucu bileşenler açısından geometrik dağılımının değlerlendirildiğı MDS haritasında 90 gün

depolanmış HF peynirlerinin diğerlerinden uzak bir grupta yer alması, çoğu duyuşal ve fizikokimyasal özelliğinde olduğu gibi, diğer peynirlere göre daha düşük miktarlarda uçucu bileşen içermesiyle ilişkilendirilmiştir.

Peynirlerdeki (*in vitro* sindirimi sonrası) 2-20 amino asitten oluşun potansiyel biyoaktif peptitleri içeren fraksiyonların (< 3 kDa) ACE inhibitör aktiviteleri üzerine, diğer özelliklerde olduğu gibi, ısış işlem, starter kültür ve pıhtılaştırıcı enzim proses faktörlerinden, ısış işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksiyonu önemli bulunmuştur. ACE inhibitör aktiviteler bakımından HF peynirlerinin düşük değerlere sahip olduğu, taze peynirler arasında HS (% 77,30), 30 gün ve daha uzun süre depolanmış peynirler arasında ise RF peynirlerinin daha yüksek değerlere (% 60,31-76,17) sahip olduğu bulunmuştur. Çiğ süttten üretilen peynirlerde 90 günlük depolama süresince ACE inhibitör aktivitelerde, biyoaktif peptitlerin salınımı ve parçalanmasıyla ilişkilendirilen, artış ve azalışlar belirlenmiştir. Isıl işlem uygulanmış süttlerden üretilen peynirlerde starter kültür varlığı ile depolama süresince ACE inhibitör aktivitelerin ileri proteolize bağlı olarak azaldığı, starter kültür bulunmadığında ise aksine arttığı saptanmıştır.

Peynirlerin *in vitro* sindirimi sonrası küçük peptit fraksiyonlarında (< 3 kDa) belirlenen ABTS antioksidan aktiviteleri üzerine depolamanın 1 ve 30. günlerinde ısış işlem uygulaması ve starter kültür ilavesinin interaksiyonu ile ısış işlem uygulaması ve enzim kaynağının interaksiyonu ayrı ayrı önemli bulunmuştur. Bu iki durumda; çiğ süttten starter kültür kullanılmadan üretilen (67,24 mM troloks/100 mg peynir) ve çiğ süttten bitkisel pıhtılaştırıcı kullanılarak üretilen (64,00 mM troloks/100 mg peynir) peynirlerin antioksidan aktiviteleri yüksek bulunmuştur. Depolama ile RF peynirlerin antioksidan aktiviteleri azalmış, HF peynirlerinin antioksidan özellikleri artmış, starter kültür ilave edilen peynirlerin antioksidan aktiviteleri değişmemiştir. CUPRAC bakımından ısış işlem ve starter kültür kullanımının etki ettiği sonuçlara göre tüm depolama günlerinde RF peynirleri en yüksek değerleri (13,52-17,20 mM troloks/g peynir) almıştır. Depolama ile çiğ sütt peynirlerinin CUPRAC değerlerinin azaldığı ancak ısış işlem uygulanarak üretilen peynirlerin değerlerinin değişmediği bulunmuştur.

Bu çalışmada amaçlandığı gibi çiğ ve ısış işlem uygulanmış süttlerden bitkisel pıhtılaştırıcı kullanılarak keçi peyniri üretilmiş ve peynirlere gastrointestinal sindirimin *in*

vitro simülasyonu uygulanarak biyoerişilebilirlikleri belirlenmiştir. Bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcıların geleneksel peynir mayalarına benzer peynirler üretmesinin beklendiği göz önüne alındığında, elde edilen sonuçlar, *C. cardunculus* türü süt pıhtılaştırıcılarının, keçi peyniri yapımı için uygun bir alternatif olabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmada araştırılan diğer faktörler, ısıl işlem, starter kültür ilavesi ve depolamanın ise üretimde kullanılan süt pıhtılaştırıcı enzimin kaynağından bağımsız olarak keçi peyniri karakteristiklerini önemli ölçüde değiştirebileceği belirlenmiştir. Çalışmada, çığ ve yüksek sıcaklıkta ısıl işlem görmüş keçi sütünden bitkisel kaynaklı pıhtılaştırıcı kullanılarak peynir üretildiğinde peynirin randımanı, peynirin sahip olacağı duyuşal özellikler, uçucu bileşenler ve biyoaktif özellikler hakkında yeni bulgular ortaya konmuştur. Bitkisel ve hayvansal pıhtılaştırıcı kullanılarak üretilen peynirlerin genel olarak duyuşal özellikler, uçucu bileşenler ve biyoaktiviteler bakımından benzer olduğu sonucuna varılmıştır. Buna bağılı olarak keçi peyniri üretiminde pıhtılaştırıcı enzim olarak yabancı enginar (*C. cardunculus*) proteazının hayvansal rennete alternatif olarak kullanılabileceği ortaya konmuştur. Sonuçlar peynir endüstrisi için faydalı olabilir ve ısıl işlem görmüş keçi sütünden peynir üretiminde bitkisel pıhtılaştırıcı kullanımının yaygınlaşmasına katkı sağlayabilir. Ülkemizde *C. cardunculus* bitkisinden elde edilen enzimin süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılması ile hayvansal rennet kullanımından kaynaklanan bazı dezavantajların aşılabileceği düşünülmektedir. Bitkisel kaynaklı bazı süt benzeri özütlerden peynir benzeri ürünlerin üretiminde *C. cardunculus* proteazı kullanımının araştırılmasıyla vegan diyetler için yeni ürünlerin geliştirilme potansiyeli bulunmaktadır. Ayrıntılı tekstür ve duyuşal analizler, peynirlerin olgunlaşması sırasındaki lipoliz ve biyoaktif bileşiklerinin değerlendirilmesi, acılığın kontrolü ve peynir üretim parametrelerinin optimizasyonu için daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

KAYNAKÇA

- Abadia-Garcia, L., Cardador, A., Martin del Campo, S. T., Arvizu, S. M., Castano-Tostado, E., Regalado-Gonzalez, C., Garcia-Almendarez, B. ve Amaya-Llano, S. L. (2013). "Influence of probiotic strains added to cottage cheese on generation of potentially antioxidant peptides, anti-listerial activity, and survival of probiotic microorganisms in simulated gastrointestinal conditions". *International Dairy Journal*, 33(2), 191–197.
- Abd El-Salam, B. A. E. Y., Ibrahim, O. A. E. H. ve El-Sayed, H. A. E. R. (2017). "Purification and characterization of milk clotting enzyme from artichoke (*Cynara cardunculus* L.) flowers as coagulant on white soft cheese". *International Journal of Dairy Science*, 12(4), 254–265.
- Abdel-Hamid, M., Otte, J., De Gobba, C., Osman, A. ve Hamad, E. (2017). "Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and antioxidant capacity of bioactive peptides derived from enzymatic hydrolysis of buffalo milk proteins". *International Dairy Journal*, 66, 91–98.
- Ahmed, A. S., El-Bassiony, T., Elmalt, L. M. ve Ibrahim, H. R. (2015). "Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins". *Food Research International*, 74, 80–88.
- Akan, E. (2020). İzmir Tulum peynirinden ekstrakte edilen endojen ve eksojen peptitlerin olası biyolojik etkilerinin değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Al-Dhaheri, A. S., Al-Hemeiri, R., Kizhakkayil, J., Al-Nabulsi, A., Abushelaibi, A., Shah, N. P. ve Ayyash, M. (2017). "Health-promoting benefits of low-fat akawi cheese made by exopolysaccharide-producing probiotic *Lactobacillus plantarum* isolated from camel milk". *Journal of Dairy Science*, 100(10), 7771-7779.
- Al-Saadi, J. S., Shaker, K. A. ve Ustunol, Z. (2014). "Effect of heat and transglutaminase on solubility of goat milk protein-based films". *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 420-426.
- Andrews, A. T. (1983). "Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins". *Journal of Dairy Research*, 50(1), 45-55.

- Anema, S. G. (2009). "The whey proteins in milk: thermal denaturation, physical interactions and effects on the functional properties of milk". In *Milk Proteins: From Expression to Food* (Second Edi), (s239-281). Academic Press.
- AOAC. (2000). *Official methods of analysis of AOAC International* (Vol. 1, 2). Gaithersburg, USA.
- AOAC. (2010). *Official methods of analysis of AOAC International*. Gaithersburg, USA.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. ve Karademir, S. E. (2004). "Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method". *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Ardö, Y., McSweeney, P. L. H., Magboul, A. A. A., Upadhyay, V. K. ve Fox, P. F. (2017). "Biochemistry of Cheese Ripening: Proteolysis". In P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, P. D. Cotter ve D. W. Everett (Eds.), "Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology" (s. 425). Academic Press.
- Asensio-Grau, A., Peinado, I., Heredia, A. ve Andres, A. (2019). "In vitro study of cheese digestion: Effect of type of cheese and intestinal conditions on macronutrients digestibility". *LWT - Food Science and Technology*, 113, 108278.
- Ashar, M. N. ve CHAND, R. (2004). "Fermented milk containing ACE-inhibitory peptides reduces blood pressure in middle aged hypertensive subjects". *Milchwissenschaft*, 59(7-8), 363-366.
- Atanasova, J., Dalgalarondo, M., Iliev, I., Moncheva, P., Todorov, S. D. ve Ivanova, I. V. (2021). "Formation of Free Amino Acids and Bioactive Peptides During the Ripening of Bulgarian White Brined Cheeses". *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(1), 261–272.
- Augustin, M. A. ve Udabage, P. (2007). "Influence of processing on functionality of milk and dairy proteins". *Advances in food and nutrition research*, 53, 1-38.
- Avsar, Y. K., Karagul-Yuceer, Y., Drake, M. A., Singh, T. K., Yoon, Y. ve Cadwallader, K. R. (2004). "Characterization of Nutty Flavor in Cheddar Cheese". *Journal of Dairy Science*, 87(7), 1999–2010.

- Ayyash, M. M., Sherkat, F. ve Shah, N. P. (2012). “The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity, probiotic survival, texture profile, and sensory properties”. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4747-4759.
- Ballabio, C., Chessa, S., Rignanese, D., Gigliotti, C., Pagnacco, G., Terracciano, L., Fiocchi, A., Restani, P ve Caroli, A. M. (2011). “Goat milk allergenicity as a function of α_{s1} -casein genetic polymorphism”. *Journal of Dairy Science*, 94(2), 998-1004.
- Baptista, D. P., Galli, B. D., Cavalheiro, F. G., Negrão, F., Eberlin, M. N. ve Gigante, M. L. (2018). “*Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptide during Prato cheese ripening”. *International Dairy Journal*, 87, 75-83.
- Baptista, D. P., Negrão, F., Eberlin, M. N. ve Gigante, M. L. (2020). “Peptide profile and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of Prato cheese with salt reduction and *Lactobacillus helveticus* as an adjunct culture”. *Food Research International*, 133, 109190.
- Baptista, D. P. ve Gigante, M. L. (2021). “Bioactive peptides in ripened cheeses: release during technological processes and resistance to the gastrointestinal tract”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(10), 4010–4017.
- Barac, M., Pesic, M., Vucic, T., Vasic, M. ve Smiljanic, M. (2017). “White cheeses as a potential source of bioactive peptides”. *Mljekarstvo*, 67(1), 3-16.
- Barac, M., Pesic, M., Zilic, S., Smiljanic, M., Stanojevic, S., Vasic, M., Despotovic, S., Vucic, T. ve Kostic, A. (2016). “Protein profiles and total antioxidant capacity of water-soluble and water-insoluble fractions of White-brined goat cheese at different stages of ripening”. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(5), 1140–1149.
- Barac, M., Pesic, M., Zilic, S., Smiljanic, M., Stanojevic, S., Ignjatovic, I. S., Vucic, T., Kostic, A. ve Milincic, D. (2019). “The influence of milk type on the proteolysis and antioxidant capacity of white-brined cheese manufactured from high-heat-treated milk pretreated with chymosin”. *Foods*, 8(4), 128.
- Barbe, F., Le Feunteun, S., Remond, D., Menard, O., Jardin, J., Henry, G., Laroche, B. ve Dupont, D. (2014). “Tracking the *in vivo* release of bioactive peptides in the gut during digestion: Mass spectrometry peptidomic characterization of effluents collected in the

- gut of dairy matrix fed mini-pigs”. *Food Research International*, 63, 147-156.
- Barlowska, J., Pastuszka, R., Rysiak, A., Krol, J., Brodziak, A., Kędzierska-Matysek, M., Wolancuik, A. ve Litwinczuk, Z. (2018). “Physicochemical and sensory properties of goat cheeses and their fatty acid profile in relation to the geographic region of production”. *International Journal of Dairy Technology*, 71(3), 699–708.
- Basilicata, M. G., Pepe, G., Sommella, E., Ostacolo, C., Manfra, M., Sosto, G., Pagano, G., Novellino, E. ve Campiglia, P. (2018). “Peptidome profiles and bioactivity elucidation of buffalo-milk dairy products after gastrointestinal digestion”. *Food Research International*, 105, 1003-1010.
- Basirico, L., Catalani, E., Morera, P., Cattaneo, S., Stuknyte, M., Bernabucci, U., De Noni, I. ve Nardone, A. (2015). “Release of angiotensin converting enzyme-inhibitor peptides during *in vitro* gastrointestinal digestion of Parmigiano Reggiano PDO cheese and their absorption through an *in vitro* model of intestinal epithelium”. *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7595–7601.
- Benfeldt, C. ve Sorensen, J. (2001). “Heat treatment of cheese milk: Effect on proteolysis during cheese ripening”. *International Dairy Journal*, 11(4–7), 567–574.
- Benheddi, W. ve Hellal, A. (2019). “Technological characterization and sensory evaluation of a traditional Algerian fresh cheese clotted with *Cynara cardunculus* L. flowers and lactic acid bacteria”. *Journal of Food Science and Technology*, 56(7), 3431–3438.
- Bezerra, V. S., Campos, J. F., Silva, R. A., da Porto, T. S., Lima Filho, J. L. de ve Porto, A. L. F. (2013). “Biotechnological richness of the northeastern semi-arid region: antioxidant activity of casein hydrolysates from Moxoto goat milk (*Capra hircus Linnaeus*, 1758) obtained by papain action”. *Food Science and Technology (Campinas)*, 33(3), 513–520.
- Bintsis, T. ve Papademas, P. (2002). “Microbiological quality of white-brined cheeses: A review”. *International Journal of Dairy Technology*, 55(3), 113–120.
- Birkemo, G. A., O’Sullivan, O., Ross, R. P. ve Hill, C. (2009). “Antimicrobial activity of two peptides casecidin 15 and 17, found naturally in bovine colostrum”. *Journal of Applied Microbiology*, 106(1), 233-240.

- Blakesley, R. W. ve Boezi, J. A. (1977). "A new staining technique for proteins in polyacrylamide gels using Coomassie Brilliant Blue G250". *Analytical biochemistry*, 82(2), 580-582.
- Bütikofer, U., Meyer, J., Sieber, R. ve Wechsler, D. (2007). "Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in hard, semi-hard and soft cheeses". *International Dairy Journal*, 17(8), 968–975.
- Bütikofer, U., Meyer, J., Sieber, R., Walther, B. ve Wechsler, D. (2008). Occurrence of the angiotensin-converting enzyme–inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in different cheese varieties of Swiss origin". *Journal of Dairy Science*, 91(1), 29-38.
- Büyüktünel, E. (2013). "Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler". *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103.
- Cattaneo, S., Stuknytė, M., Ferraretto, A. ve De Noni, I. (2017). "Impact of the *in vitro* gastrointestinal digestion protocol on casein phosphopeptide profile of Grana Padano cheese digestates". *LWT - Food Science and Technology*, 77, 356–361.
- Ceballos, L. S., Morales, E. R., de la Torre Adarve, G., Castro, J. D., Martinez, L. P. ve Sampelayo, M. R. S. (2009). "Composition of goat and cow milk produced under similar conditions and analyzed by identical methodology". *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(4), 322–329.
- Chavez-Garay, D. R., Gutierrez-Mendez, N., Valenzuela-Soto, M. E. ve Garcia-Triana, A. (2016). "Partial characterization of a plant coagulant obtained from the berries of *Solanum elaeagnifolium*". *CYTA - Journal of Food*, 14(2), 200–205.
- Chen, B. Y., Grandison, A. S. ve Lewis, M. J. (2012). "Comparison of heat stability of goat milk subjected to ultra-high temperature and in-container sterilization". *Journal of Dairy Science*, 95(3), 1057-1063.
- Chen, H. M., Muramoto, K., Yamauchi, F., Fujimoto, K. ve Nokihara, K. (1998). "Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein". *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(1), 49-53.

- Choi, J., Sabikhi, L., Hassan, A. ve Anand, S. (2012). "Bioactive peptides in dairy products". *International Journal of Dairy Technology*, 65(1), 1–12.
- Clare, D. A. ve Swaisgood, H. E. (2000). "Bioactive Milk Peptides: A Prospectus". *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1187–1195.
- Conlin, P. R., Spence, J. D., Williams, B., Ribeiro, A. B., Saito, I., Benedict, C. ve Bunt, A. M. (2000). "Angiotensin II antagonists for hypertension: are there differences in efficacy?". *American journal of hypertension*, 13(4), 418-426.
- Contreras, M. del M., Carron, R., Montero, M. J., Ramos, M. ve Recio, I. (2009). "Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity". *International Dairy Journal*, 19(10), 566–573.
- Curioni, P. M. G. ve Bosset, J. O. (2002). "Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry". *International Dairy Journal*, 12(12), 959–984.
- Cushman, D. W. ve Cheung, H. S. (1971). "Spectrophotometric assay and properties of the angiotensin-converting enzyme of rabbit lung". *Biochemical pharmacology*, 20(7), 1637-1648.
- Çakmakçı, S., Cantürk, A. ve Çakır, Y. (2017). "Peynir üretimi için sütü pıhtılaştırıcı enzimlere genel bir bakış ve güncel gelişmeler". *Akademik Gıda*, 15, 396–408.
- Çayır, M.S. ve Güzeler, N. (2020). "İnek, keçi sütü ve bunların karışımlarından üretilen Hatay köy peynirlerinin bazı kalite özellikleri". *Çukurova üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 39(9), 27-34.
- Dalzini, E., Cosciani-Cunico, E., Sfameni, C., Monastero, P., Daminelli, P., Losio, M. N. ve Varisco, G. (2014). "Microbiological and physico-chemical changes during manufacture of an Italian goat cheese made from raw milk". *Italian Journal of Food Safety*, 3(4), 222–225.
- De Gobba, C., Espejo-Carpio, F. J., Skibsted, L. H. ve Otte, J. (2014). "Antioxidant peptides from goat milk protein fractions hydrolysed by two commercial proteases". *International Dairy Journal*, 39(1), 28–40.
- De Noni, I., Stuknytė, M. ve Cattaneo, S. (2015). "Identification of β -casomorphins 3 to 7 in cheeses and in their *in vitro* gastrointestinal digestates". *LWT-Food Science and*

Technology, 63(1), 550-555.

- De Sousa, Y. R. F., da Silva Vasconcelos, M. A., Costa, R. G., de Azevedo Filho, C. A., de Paiva, E. P. ve do Egypto, R. D. C. R. (2015). “Sialic acid content of goat milk during lactation”. *Livestock Science*, 177, 175-180.
- Delgado, F. J., Gonzalez-Crespo, J., Cava, R. ve Ramirez, R. (2011a). “Free Fatty Acids and Oxidative Changes of a Raw Goat Milk Cheese through Maturation”. *Journal of Food Science*, 76(4), 669–673.
- Delgado, F. J., Gonzalez-Crespo, J., Cava, R. ve Ramirez, R. (2011b). “Formation of the aroma of a raw goat milk cheese during maturation analysed by SPME-GC-MS”. *Food Chemistry*, 129(3), 1156–1163.
- Delgado, F. J., Gonzalez-Crespo, J., Cava, R., Garcia-Parra, J. ve Ramirez, R. (2010). “Characterisation by SPME-GC-MS of the volatile profile of a Spanish soft cheese P.D.O. Torta del Casar during ripening”. *Food Chemistry*, 118(1), 182–189.
- Dhasmana, S., Das, S. ve Shrivastava, S. (2022). “Potential nutraceuticals from the casein fraction of goat’s milk”. *Journal of Food Biochemistry*, 46(6), 1–8.
- Di Cagno, R., De Pasquale, I., De Angelis, M. ve Gobbetti, M. (2012). “Accelerated ripening of Caciocavallo Pugliese cheese with attenuated adjuncts of selected nonstarter lactobacilli”. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4784–4795.
- Didelot, S., Bordenave-Juchereau, S., Rosenfeld, E., Fruitier-Arnaudin, I., Piot, J. M. ve Sannier, F. (2006). “Preparation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory hydrolysates from unsupplemented caprine whey fermentation by various cheese microflora”. *International dairy journal*, 16(9), 976-983.
- Diezhandino, I., Fernandez, D., Gonzalez, L., McSweeney, P. L. H. ve Fresno, J. M. (2015). “Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeon cheese)”. *Food chemistry*, 168, 134-141.
- Diliello, L. R. (1982). “*Methods in Food and Dairy Microbiology*”. In *AVI Technical Books, Inc.* Westport, Connecticut, USA.
- Dinkçi, N., Akdeniz, V. ve Akalın, A. S. (2023). “Probiotic Whey-Based Beverages from Cow, Sheep and Goat Milk: Antioxidant Activity, Culture Viability, Amino Acid

Contents”. *Foods*, 12(3), 610.

- Do, D. H. T. ve Kong, F. (2018). “Texture changes and protein hydrolysis in different cheeses under simulated gastric environment”. *LWT - Food Science and Technology*, 93, 197-203.
- Doi, E., Shibata, D. ve Matoba, T. (1981). “Modified colorimetric ninhydrin methods for peptidase assay”. *Analytical biochemistry*, 118(1), 173-184
- dos Santos, W. M., Guimarães Gomes, A. C., de Caldas Nobre, M. S., de Souza Pereira, A. M., dos Santos Pereira, E. V., dos Santos, K. M. O., Florentino, E. R. ve Alonso Buriti, F. C. (2023). “Goat milk as a natural source of bioactive compounds and strategies to enhance the amount of these beneficial components”. *International Dairy Journal*, 137.
- Du, X., Jing, H., Wang, L., Huang, X., Wang, X. ve Wang, H. (2022). “Characterization of structure, physicochemical properties, and hypoglycemic activity of goat milk whey protein hydrolysate processed with different proteases”. *LWT - Food Science and Technology*, 159, 113257.
- Egger, L., Menard, O., Abbühl, L., Duerr, D., Stoffers, H., Berthoud, H., Meola, M., Badertscher, R., Blaser, C., Dupont, D. ve Portmann, R. (2021). “Higher microbial diversity in raw than in pasteurized milk Raclette-type cheese enhances peptide and metabolite diversity after *in vitro* digestion”. *Food chemistry*, 340, 128154.
- El-Fattah, A. A., Azzam, M., Elkashef, H. ve Elhadydy, A. (2020). “Antioxidant properties of milk: effect of milk species, milk fractions and heat treatments”. *International Journal of Dairy Science*, 15, 1-9.
- Espejo-Carpio, F. J., De Gobba, C., Guadix, A., Guadix, E. M. ve Otte, J. (2013). “Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of enzymatic hydrolysates of goat milk protein fractions”. *International Dairy Journal*, 32(2), 175–183.
- Espejo-Carpio, F. J., Garcia-Moreno, P. J., Perez-Galvez, R., Morales-Medina, R., Guadix, A. ve Guadix, E. M. (2016). “Effect of digestive enzymes on the bioactive properties of goat milk protein hydrolysates”. *International Dairy Journal*, 54, 21-28.
- Esposito, M., Di Pierro, P., Dejonghe, W., Mariniello, L. ve Porta, R. (2016). “Enzymatic milk clotting activity in artichoke (*Cynara scolymus*) leaves and alpine thistle (*Carduus*

- defloratus*) flowers. Immobilization of alpine thistle aspartic protease”. *Food Chemistry*, 204, 115–121.
- Faccia, M., Picariello, G., Trani, A., Loizzo, P., Gambacorta, G., Lamacchia, C. ve Di Luccia, A. (2012). “Proteolysis of Caciocotta cheese made from goat milk coagulated with caprifig (*Ficus carica sylvestris*) or calf rennet”. *European Food Research and Technology*, 234(3), 527–533.
- FAO. (2022a). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Statistics database, crop statistics*. Erişim: 20.01.2022, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>
- FAO. (2022b). Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Supply utilization accounts*. Erişim: 20.01.2022, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/SCL>
- Fernandez-Tome, S., Martinez-Maqueda, D., Giron, R., Goicoechea, C., Miralles, B. ve Recio, I. (2016). “Novel peptides derived from α_{s1} -casein with opioid activity and mucin stimulatory effect on HT29-MTX cells”. *Journal of Functional Foods*, 25, 466–476.
- Fialho, T. L., Carrijo, L. C., Júnior, M. J. M., Baracat-Pereira, M. C., Piccoli, R. H. ve de Abreu, L. R. (2018). “Extraction and identification of antimicrobial peptides from the Canastra artisanal minas cheese”. *Food Research International*, 107, 406-413.
- Fitzgerald, R. J. ve Murray, B. A. (2006). “Bioactive peptides and lactic fermentations”. *International Journal of Dairy Technology*, 59(2), 118-125.
- Fitzgerald, R. J. ve Meisel, H. (2000). “Milk protein-derived peptide inhibitors of angiotensin-converting enzyme”. *British Journal of Nutrition*, 84(S1), 33-37.
- Folkertsma, B. ve Fox, P. F. (1992). “Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening”. *Journal of Dairy Research*, 59(2), 217–224.
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Cogan, T.M. ve Guinee, T. P. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Cambridge University Press: Cambridge.
- Fox, P.F. (1989). “Proteolysis During Cheese Manufacture and Ripening”. *Journal of Dairy Science*, 72(6), 1379–1400.
- Fox, P. F., Wallace, J. M., Morgan, S., Lynch, C. M., Niland, E. J. ve Tobin, J. (1996). “Acceleration of cheese ripening”. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 271-297.

- Fox, P. F. ve Cogan, T. M. (2004). Factors that affect the quality of cheese. In *Cheese: chemistry, physics and microbiology* (Vol. 1, pp. 583–608). Elsevier: Amsterdam
- Fox, P. F. ve McSweeney, P. L. H. (1996). “Proteolysis in cheese during ripening”. *Food Reviews International*, 12(4), 37–41.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. ve McSweeney, P. L. H. (2017a). Cheese: Historical aspects. In *Fundamentals of Cheese Science*, (s.1–10). Springer: New York.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. ve McSweeney, P. L. H. (2017b). Biochemistry of cheese ripening. In *Fundamentals of Cheese Science* (s.406–414). Springer: New York.
- Fox, P. F., Guinee, T. P., Cogan, T. M. ve McSweeney, P. L. H. (2017c). Cheese flavour. In *Fundamentals of Cheese Science* (s.468–471). Springer: New York.
- Franco, I., Prieto, B., Bernardo, A., Prieto, J. G. ve Carballo, J. (2003). “Biochemical changes throughout the ripening of a traditional Spanish goat cheese variety (Babia-Laciana)”. *International Dairy Journal*, 13(2–3), 221–230.
- Fuglsang, A., Rattray, F. P., Nilsson, D. ve Nyborg, N. C. (2003). “Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme *in vitro* and *in vivo*”. *Antonie van Leeuwenhoek*, 83, 27-34.
- Garcia, V., Rovira, S., Boutoial, K., Ferrandini, E. ve Lopez Morales, M. B. (2014). “Effect of starters and ripening time on the physicochemical, nitrogen fraction and texture profile of goat’s cheese coagulated with a vegetable coagulant (*Cynara cardunculus*)”. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(3), 552–559.
- Galli, B. D., Baptista, D. P., Cavalheiro, F. G., Negrão, F., Eberlin, M. N. ve Gigante, M. L. (2019). “Peptide profile of Camembert-type cheese: Effect of heat treatment and adjunct culture *Lactobacillus rhamnosus* GG”. *Food Research International*, 123, 393-402.
- Gatti, M., Bottari, B., Lazzi, C., Neviani, E. ve Mucchetti, G. (2014). “Invited review: Microbial evolution in raw-milk, long-ripened cheeses produced using undefined natural whey starters”. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 573–591.
- Gobbetti, M., Ferranti, P., Smacchi, E., Goffredi, F. ve Addeo, F. (2000). “Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4". *Applied and Environmental Microbiology*, 66(9), 3898-3904.

Gomez-Ruiz, J. A., Ramos, M. ve Recio, I. (2002). "Angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheeses manufactured with different starter cultures". *International Dairy Journal*, 12(8), 697-706.

Gomez-Ruiz, J. A., Ramos, M. ve Recio, I. (2004). "Identification and formation of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides in Manchego cheese by high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry". *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 269-277.

Gomez-Ruiz, J. A., Taborda, G., Amigo, L., Recio, I. ve Ramos, M. (2006). "Identification of ACE-inhibitory peptides in different Spanish cheeses by tandem mass spectrometry". *European Food Research and Technology*, 223(5), 595-601.

Gonzalez-Gonzalez, C. R., Machado, J., Correia, S., McCartney, A. L., Elmore, J. S. ve Jauregi, P. (2019). "Highly proteolytic bacteria from semi-ripened Chiapas cheese elicit angiotensin-I converting enzyme inhibition and antioxidant activity". *LWT - Food Science and Technology*, 111, 449-456.

Göncü-Sürü, A. (2009). Yabani enginar (*Cynara cardunculus* L.) bitkisinden elde edilen cardosin içerikli özsüt ve rennin enzimleriyle üretilen beyaz peynirlerin olgunlaşma sürecinde kimyasal, biyokimyasal ve duyuşsal özelliklerinde meydana gelen değişimlerin belirlenmesi. Doktora Tezi. Akdeniz Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.

Grappin, R. ve Beuvier, E. (1997). "Possible implications of milk pasteurization on the manufacture and sensory quality of ripened cheese". *International Dairy Journal*, 7(12), 751-761.

Guerra, A., Etienne-Mesmin, L., Livrelli, V., Denis, S., Blanquet-Diot, S. ve Alric, M. (2012). "Relevance and challenges in modeling human gastric and small intestinal digestion". *Trends in Biotechnology*, 30(11), 591-600.

Guha, S., Sharma, H., Deshwal, G. K. ve Rao, P. S. (2021). "A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species". *Food Production, Processing and Nutrition*, 3:2.

- Guizani, N., Al-Attabi, Z., Kasapis, S. ve Gaafar, O. M. (2006). "Ripening profile of semi-hard standard goat cheese made from pasteurized milk". *International Journal of Food Properties*, 9(3), 523–532.
- Guo, Y., Pan, D. ve Tanokura, M. (2009). "Optimisation of hydrolysis conditions for the production of the angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from whey protein using response surface methodology". *Food Chemistry*, 114(1), 328–333.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R. ve Sangwan, R. B. (2009). "Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening". *International Journal of Dairy Technology*, 62(3), 339–347.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R. ve Sangwan, R. B. (2013). "ACE-inhibitory activity of cheddar cheeses made with adjunct cultures at different stages of ripening". *Advances in Dairy Research*, 1, 102.
- Gürkan, H. (2019). Bazı mayaların Beyaz peynirde uçucu aroma bileşikleri ve proteoliz düzeyine katkısı ile biyoaktif peptit üretme performanslarının belirlenmesi. Doktora Tezi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- Haenlein, G. F. W. (2004). "Goat milk in human nutrition". *Small Ruminant Research*, 51(2), 155-163.
- Halıcı Demir, F. (2021). Koyun, inek ve keçi sütlerinden üretilen Edirne beyaz peynirlerinin depolama süresince fizikokimyasal, mikrobiyolojik, tekstürel ve duyuşal açıdan değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Hafeez, Z., Cakir-Kiefer, C., Roux, E., Perrin, C., Miclo, L. ve Dary-Mourot, A. (2014). "Strategies of producing bioactive peptides from milk proteins to functionalize fermented milk products". *Food Research International*, 63, 71–80.
- Hammam, A. R., Salman, S. M., Elfaruk, M. S. ve Alsaleem, K. A. (2022). "Goat Milk: Compositional, Technological, Nutritional and Therapeutic Aspects: A Review". *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 41(4), 367-376.
- Hamme, V., Sannier, F., Piot, J. M., Didelot, S. ve Bordenave-Juchereau, S. (2009). "Crude goat whey fermentation by *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus rhamnosus*:

- contribution to proteolysis and ACE inhibitory activity”. *Journal of Dairy Research*, 76(2), 152-157.
- Hartmann, R. ve Meisel, H. (2007). “Food-derived peptides with biological activity: from research to food applications”. *Current Opinion in Biotechnology*, 18(2), 163–169.
- Hassan, F. A. M., Abd El-Gawad, M. A. M. ve Enab, A. K. (2013). “Flavour compounds in cheese (review)”. *International Journal of Academic Research*, 4(5), 169–181.
- Hayaloğlu, A. A. ve Özer, B. (2011). Peynir analizleri. *Peynir Biliminin Temelleri*. (s.532-535). Sidas Medya Ltd: İzmir
- Hayaloglu, A. A., Guven, M. ve Fox, P. F. (2002). “Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White cheese “Beyaz Peynir”.” *International Dairy Journal*, 12(8), 635–648.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M., Fox, P. F., Hannon, J. A. ve McSweeney, P. L. H. (2004). “Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined strains of *Lactococcus*”. *International Dairy Journal*, 14(7), 599–610.
- Hayaloglu, A. A., Guven, M., Fox, P. F. ve McSweeney, P. L. H. (2005). “Influence of Starters on Chemical, Biochemical, and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese During Ripening”. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3460–3474.
- Hayaloglu, A. A., Tolu, C. ve Yasar, K. (2013). “Influence of goat breeds and starter culture systems on gross composition and proteolysis in Gokceada goat cheese during ripening”. *Small Ruminant Research*, 113(1), 231–238.
- Hayek S. A. ve İbrahim, S. A. (2013). “Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review”. *Food and Nutrition Sciences*, 4(11A), 73-87.
- Hayes, M. ve Tiwari, B. K. (2015). “Bioactive carbohydrates and peptides in foods: An overview of sources, downstream processing steps and associated bioactivities”. *International journal of Molecular Sciences*, 16(9), 22485-22508.
- Hernandez-Galan, L., Cardador-Martinez, A., Lopez-del-Castillo, M., Picque, D., Spinnler, H. E. ve Martin del Campo, S. T. (2017). “Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fresh goat cheese prepared without starter culture: a preliminary study”. *CyTA-Journal of Food*, 15(1), 49-57.

- Hernandez-Galan, L., Cardador-Martinez, A., Picque, D., Spinnler, H. E., Lopez-del-Castillo Lozano, M. ve Martin del Campo, S. T. (2016). "ACEI and antioxidant peptides release during ripening of Mexican Cotija hard cheese". *Journal of Food Research*, 5(3), 85.
- Hernandez-Galan, L., Vazquez-Garcia, R. ve Martin del Campo, S. T. (2020). Antioxidant activity and fresh goat cheese. In: Ekiert, H.M., Ramawat, K.G., Arora, J. (eds) *Plant Antioxidants and Health. Reference Series in Phytochemistry*. (s.1-11). Springer, Cham: New York
- Hernandez-Ledesma, B., Amigo, L., Ramos, M. ve Recio, I. (2004). "Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Activity in Commercial Fermented Products. Formation of Peptides under Simulated Gastrointestinal Digestion". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1504–1510.
- Hernandez-Ledesma, B., Davalos, A., Bartolome, B. ve Amigo, L. (2005). "Preparation of antioxidant enzymatic hydrolysates from α -lactalbumin and β -lactoglobulin. Identification of active peptides by HPLC-MS/MS". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 588–593.
- Hernandez-Ledesma, B., Recio, I., Ramos, M. ve Amigo, L. (2002). "Preparation of ovine and caprine β -lactoglobulin hydrolysates with ACE-inhibitory activity. Identification of active peptides from caprine β -lactoglobulin hydrolysed with thermolysin". *International Dairy Journal*, 12(10), 805–812.
- Hernandez-Ledesma, B., Ramos, M. ve Gomez-Ruiz, J. A. (2011). "Bioactive components of ovine and caprine cheese whey". *Small Ruminant Research*, 101(1-3), 196-204.
- Hodgkinson, A. J., Wallace, O. A. M., Boggs, I., Broadhurst, M. ve Prosser, C. G. (2018). "Gastric digestion of cow and goat milk: Impact of infant and young child *in vitro* digestion conditions". *Food Chemistry*, 245, 275–281.
- Hong, F., Ming, L., Yi, S., Zhanxia, L., Yongquan, W. ve Chi, L. (2008). "The antihypertensive effect of peptides: A novel alternative to drugs?". *Peptides*, 29(6), 1062–1071.
- Ibrahim, H. R., Ahmed, A. S. ve Miyata, T. (2017). "Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk". *Journal of Advanced Research*, 8(1), 63–71.

- IDF. (1993). International Dairy Federation. *Milk: determination of the nitrogen content (Kjeldahl method) and calculation of crude protein content*, 41.
- Jakala, P. ve Vapaatalo, H. (2010). “Antihypertensive peptides from milk proteins”. *Pharmaceuticals*, 3(1), 251–272.
- Jia, R., Zhang, F., Song, Y., Lou, Y., Zhao, A., Liu, Y., Peng, H., Hui, Y., Ren, R. ve Wang, B. (2021). “Physicochemical and textural characteristics and volatile compounds of semihard goat cheese as affected by starter cultures”. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 270–280.
- Juan, B., Zamora, A., Quevedo, J. M. ve Trujillo, A. J. (2016). “Proteolysis of cheese made from goat milk treated by ultra high pressure homogenization”. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 17–23.
- Kajak-Siemaszko, K., Zielinska, D., Lepecka, A., Jaworska, D., Okon, A., Neffe-Skocinska, K., Trzaskowska, M., Sionek, B., Szymanski, P., Dolatowski, Z. J. ve Kolozyn-Krajewska, D. (2022). “Effect of Lactic Acid Bacteria on Nutritional and Sensory Quality of Goat Organic Acid-Rennet Cheeses”. *Applied Sciences*, 12(17).
- Kaminaries, S., Scordobeki, A., Zidou, E. ve Moatsou, G. (2019). “Biochemical characteristics of reduced-fat cheese made from high-heat treated goat’s milk supplemented with *Penicillium candidum*”. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 70(3), 1669-1678.
- Karagul-Yuceer, Y., Isleten, M. ve Uysal-Pala, C. (2007). “Sensory characteristics of Ezine cheese”. *Journal of Sensory Studies*, 22(1), 49–65.
- Kawecka, A. ve Pasternak, M. (2022). “Nutritional and dietetic quality of milk and traditional cheese made from the milk of native breeds of sheep and goats”. *Journal of Applied Animal Research*, 50(1), 39–46.
- King, A. D., Hocking, A. D. ve Pitt, J. I. (1979). “Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods”. *Applied and Environmental Microbiology*, 37(5), 959-964.
- Kitts, D. ve Weiler, K. (2003). “Bioactive Proteins and Peptides from Food Sources. Applications of Bioprocesses used in Isolation and Recovery”. *Current Pharmaceutical*

Design, 9(16), 1309–1323.

- Kınık, Ö., Kesenkaş, H., Ergönül, P. G. ve Akan, E. (2017). “The effect of using pro and prebiotics on the aromatic compounds, textural and sensorial properties of symbiotic goat cheese”. *Mljekarstvo*, 67(1), 71–85.
- Kocak, A., Sanli, T., Anli, E. A. ve Hayaloglu, A. A. (2020). “Role of using adjunct cultures in release of bioactive peptides in white-brined goat-milk cheese”. *LWT - Food Science and Technology*, 123, 109127.
- Kondyli, E., Svarnas, C., Samelis, J. ve Katsiari, M. C. (2012). “Chemical composition and microbiological quality of ewe and goat milk of native Greek breeds”. *Small Ruminant Research*, 103(2-3), 194-199.
- Kondyli, E., Pappa, E. C. ve Svarnas, C. (2016). “Ripening changes of the chemical composition, proteolysis, volatile fraction and organoleptic characteristics of a white-brined goat milk cheese”. *Small Ruminant Research*, 145, 1–6.
- Korhonen, H. ve Pihlanto, A. (2006). “Bioactive peptides: Production and functionality”. *International Dairy Journal*, 16(9), 945–960.
- Kuchroo, C. N. ve Fox, P. F. (1982). “Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures”. *Milchwissenschaft*, 37(37), 331–335.
- Kullisaar, T., Songisepp, E., Mikelsaar, M., Zilmer, K., Vihalemm, T. ve Zilmer, M. (2003). “Antioxidative probiotic fermented goats’ milk decreases oxidative stress-mediated atherogenicity in human subjects”. *British Journal of Nutrition*, 90(02), 449.
- Kumar, H., Yadav, D., Kumar, N., Seth, R. ve Goyal, A. K. (2016). “Nutritional and nutraceutical properties of goat milk-a review”. *Indian Journal of Dairy Science*, 69, 513-518.
- Kunji, E. R., Mierau, I., Hagting, A., Poolman, B. ve Konings, W. N. (1996). “The proteolytic systems of lactic acid bacteria”. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70, 187-221.
- Lad, S. S., Aparnathi, K. D., Mehta, B. ve Velpula, S. (2017). “Goat milk in human nutrition and health—a review”. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 1781-1792.
- Lahov, E. ve Regelson, W. (1996). “Antibacterial and immunostimulating casein-derived

- substances from milk: casecidin, isracidin peptides”. *Food and Chemical Toxicology*, 34(1), 131-145.
- Lee, K. J., Kim, S. B., Ryu, J. S., Shin, H. S. ve Lim, J. W. (2004). “Separation and Purification of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitory Peptides Derived from Goat’s Milk Casein Hydrolysates”. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(5), 741–746.
- Li, G. H., Le, G. W., Shi, Y. H. ve Shrestha, S. (2004). “Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects”. *Nutrition Research*, 24(7), 469–486.
- Li, Z., Jiang, A., Yue, T., Wang, J., Wang, Y. ve Su, J. (2013). “Purification and identification of five novel antioxidant peptides from goat milk casein hydrolysates”. *Journal of Dairy Science*, 96(7), 4242-4251.
- Li, J., Huang, Q., Zheng, X., Ge, Z., Lin, K., Zhang, D., Chen, Y., Wang, B ve Shi, X. (2020). “Investigation of the Lactic Acid Bacteria in Kazak Cheese and Their Contributions to Cheese Fermentation”. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1–13.
- Lignitto, L., Cavatorta, V., Balzan, S., Gabai, G., Galaverna, G., Novelli, E., Sforza, S. ve Segato, S. (2010). “Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of water-soluble extracts of Asiago d’allevo cheese”. *International Dairy Journal*, 20(1), 11–17.
- Liu, J. R., Lin, Y. Y., Chen, M. J., Chen, L. J. ve Lin, C. W. (2005). “Antioxidative activities of kefir”. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(4), 567–573.
- Lopez-Fandino, R., Otte, J. ve Van Camp, J. (2006). “Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity”. *International Dairy Journal*, 16(11), 1277-1293.
- Lopez-Villafana, B. P., Rojas-Gonzalez, S., Elias-Roman, R. D. ve Rodriguez-Hernandez, G. (2023). “The evolution of antioxidative properties of protein-derived peptides of Mexican Panela goat and cow milk cheese during its shelf life”. *CYTA - Journal of Food*, 21(1), 57–63.
- Lu, Y., Govindasamy-Lucey, S. ve Lucey, J. A. (2016). “Angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory peptides in commercial Wisconsin Cheddar cheeses of different ages”. *Journal of Dairy Science*, 99(1), 41–52.

- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Lucey, J. A., Jordan, K. N. ve Cogan, T. M. (1993). "Contribution of the indigenous microflora to the maturation of cheddar cheese". *International Dairy Journal*, 3(7), 613–634.
- Medina-Navarro, R., Duran-Reyes, G., Diaz-Flores, M. ve Vilar-Rojas, C. (2010). "Protein antioxidant response to the stress and the relationship between molecular structure and antioxidant function". *PLoS One*, 5(1), e8971.
- Medjoudj, H., Aouar, L., Zidoune, M. N. ve Hayaloglu, A. A. (2018). "Proteolysis, microbiology, volatiles and sensory evaluation of Algerian traditional cheese Bouhezza made using goat's raw milk". *International Journal of Food Properties*, 20(3), S3246–S3265.
- Meilgaard, M., Civille, G. V. ve Carr, B. T. (1999). Overall Difference Tests: Does a Sensory Difference. In *Sensory Evaluation Techniques* (3. Edition), (s.416). CRC Press: Boca Raton.
- Meira, S. M. M., Daroit, D. J., Helfer, V. E., Corrêa, A. P. F., Segalin, J., Carro, S. ve Brandelli, A. (2012). "Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay". *Food Research International*, 48(1), 322–329.
- Meisel, H. (1997). "Biochemical properties of regulatory peptides derived from milk proteins". *Biopolymers*, 43(2), 119–128.
- Meisel, H. (1998). "Overview on milk protein-derived peptides". *International Dairy Journal*, 8(5–6), 363–373.
- Meisel, H. (2004). "Multifunctional peptides encrypted in milk proteins". *BioFactors*, 21(1–4), 55–61.
- Meisel, H. (2005). "Biochemical properties of peptides encrypted in bovine milk proteins". *Current Medicinal Chemistry*, 12(16), 1905–1919.
- Mendeş, M. (2013). *Uygulamalı Bilimler İçin İstatistik ve Araştırma Yöntemleri* (3), (s.491–548). Kriter Yayınevi: İstanbul.
- Miguel, M., Contreras, M. M., Recio, I. ve Aleixandre, A. (2009). "ACE-inhibitory and antihypertensive properties of a bovine casein hydrolysate". *Food Chemistry*, 112(1), 211–214.

- Miloradovic, Z., Kljajevic, N., Miocinovic, J., Tomic, N., Smiljanic, J. ve Macej, O. (2017). “High heat treatment of goat cheese milk. The effect on yield, composition, proteolysis, texture and sensory quality of cheese during ripening”. *International Dairy Journal*, 68, 1–8.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., MacIerzanka, A., MacKie, A., Marze, S., McClements, D.J., Menard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. ve Brodtkorb, A. 2014. “A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food-an international consensus”, *Food and Function*. 5(6), 1113-1124.
- Minervini, F., Algaron, F., Rizzello, C. G., Fox, P. F., Monnet, V. ve Gobbetti, M. (2003). “Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed caseins of milk from six species”. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(9), 5297-5305.
- Montel, M., Buchin, S., Mallet, A., Delbes-paus, C., Vuitton, D. A., Desmasures, N. ve Berthier, F. (2014). “Traditional cheeses : Rich and diverse microbiota with associated benefits”. *International Journal of Food Microbiology*, 177, 136–154.
- Moreno-Fernandez, J., Alferez, M. J., Lopez-Aliaga, I. ve Diaz-Castro, J. (2019). “Protective effects of fermented goat milk on genomic stability, oxidative stress and inflammatory signalling in testis during anaemia recovery”. *Scientific Reports*, 9(1), 2232.
- Moreno-Montoro, M., Olalla-Herrera, M., Rufian-Henares, J. A., Martinez, R. G., Miralles, B., Bergillos, T., Navarro-Alarcon, M. ve Jauregi, P. (2017). “Antioxidant, ACE-inhibitory and antimicrobial activity of fermented goat milk: Activity and physicochemical property relationship of the peptide components”. *Food and Function*, 8(8), 2783–2791.
- Moreno-Montoro, M., Jauregi, P., Navarro-Alarcon, M., Olalla-Herrera, M., Gimenez-Martinez, R., Amigo, L. ve Miralles, B. (2018). “Bioaccessible peptides released by *in vitro* gastrointestinal digestion of fermented goat milks”. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 3597-3606.

- Mushtaq, M., Gani, A., Masoodi, F. A. ve Ahmad, M. (2016). "Himalayan cheese (Kalari/Kradi)–Effect of different probiotic strains on oxidative stability, microbiological, sensory and nutraceutical properties during storage". *LWT-Food Science and Technology*, 67, 74-81.
- Nayik, G. A., Jagdale, Y. D., Gaikwad, S. A., Devkatte, A. N., Dar, A. H. ve Ansari, M. J. (2022). "Nutritional Profile, Processing and Potential Products: A Comparative Review of Goat Milk". *Dairy*, 3(3), 622–647.
- NEN. (1969). Netherlands standard 3059. Butyrometric determination of the fat content of cheese (Gerber van Gulik Method). *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 23, 214–220.
- Nielsen, S. D., Beverly, R. L., Qu, Y. ve Dallas, D. C. (2017). "Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization". *Food Chemistry*, 232, 673–682.
- NIST. (2008). *NIST/EPA/NIH Mass Spectral Library (NIST 08)*. Gaithersburg, USA: National Institute of Standards and Technology Standard Reference Data Program.
- Ogunlade, A. O., Oyetayo, V. O. ve Ojokoh, A. O. (2019). "Phytochemical Screening and Antioxidant Properties of Coagulants and Soft Cheese Produced from Goat Milk Using Different Biocoagulants of Plant Origin". *Asian Food Science Journal*, 7(1), 1–8.
- Ong, L. ve Shah, N. P. (2008). "Release and identification of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides as influenced by ripening temperatures and probiotic adjuncts in Cheddar cheeses". *LWT-Food Science and Technology*, 41(9), 1555-1566.
- Ong, L., Henriksson, A. ve Shah, N. P. (2007). "Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity in Cheddar cheeses made with the addition of probiotic *Lactobacillus casei* subsp.". *Le Lait*, 87(2), 149-165.
- Öner, Z. ve Sarıdağ, A. M. (2019). "The changes during maturation of the white cheese produced from goat milk". *Gıda / the Journal of Food*, 44(3), 523–533.
- Otağ, F. B. ve Hayta, M. (2013). "Gıdalarda biyoaktif peptit oluşumu, aktivitesi üzerine ısı işlem ve fermantasyonun etkileri". *Gıda*, 38(5), 307–314.
- Öztürk, H. İ. (2015). Geleneksel yöntemle üretilen Tulum peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin, biyoaktif peptit içeriklerinin ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi.

Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.

- Öztürk, H. İ. ve Akin, N. (2018). “Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening”. *Food Science and Technology*, 38(4), 674–682.
- Panchal, G., Sakure, A. ve Hati, S. (2021a). “Peptidomic profiling of fermented goat milk: considering the fermentation-time dependent proteolysis by *Lactobacillus* and characterization of novel peptides with Antioxidative activity”. *Journal of Food Science and Technology*, 1-11.
- Panchal, G. K., Das, S., Sakure, A., Singh, B. P. ve Hati, S. (2021b). “Production and characterization of antioxidative peptides during lactic fermentation of goat milk”. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12), e15992.
- Pappa, E. C., Kondyli, E., Bosnea, L., Malamou, E. ve Vlachou, A. M. (2022a). “Chemical, microbiological, sensory, and rheological properties of fresh goat milk cheese made by different starter cultures during storage”. *Journal of Food Process Engineering*, 45(7), 1–10.
- Pappa, E. C., Bontinis, T. G., Samelis, J. ve Sotirakoglou, K. (2022b). “Assessment of the Microbiological Quality and Biochemical Parameters of Traditional Hard Xinotyri Cheese Made from Raw or Pasteurized Goat Milk”. *Fermentation*, 8(1):20.
- Pappas, C. P. P., Kondyli, E., Voutsinas, L. P. P. ve Mallatou, H. (1996). “Effects of starter level, draining time and aging on the physicochemical, organoleptic and rheological properties of feta cheese”. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 49(3), 73–78.
- Park, Y. W., Juarez, M., Ramos, M. ve Haenlein, G. F. W. (2007). “Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk”. *Small Ruminant Research*, 68(1–2), 88–113.
- Park, E. Y., Morimae, M., Matsumura, Y., Nakamura, Y. ve Sato, K. (2008). “Antioxidant activity of some protein hydrolysates and their fractions with different isoelectric points”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 9246-9251.
- Park, Y.W ve Jin, Y. K. (1998). “Proteolytic patterns of Caciotta and Monterey Jack hard goat milk cheeses as evaluated by SDS–PAGE and densitometric analyses”. *Small Ruminant Research*, 28(3), 263–272.

- Park, Y. W., Jeanjulien, C. ve Siddique, A. (2017). “Factors Affecting Sensory Quality of Goat Milk Cheeses: A Review”. *Advances in Dairy Research*, 5(3):185.
- Park, Y. W. ve Nam, M. S. (2015). “Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review”. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(6), 831–840.
- Parmar, H., Hati, S. ve Sakure, A. (2018). “*In Vitro* and *In Silico* Analysis of Novel ACE-Inhibitory Bioactive Peptides Derived from Fermented Goat Milk”. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 24(3), 441–453.
- Parmar, H., Hati, S., Panchal, G. ve Sakure, A. A. (2020). “Purification and production of novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory bioactive peptides derived from fermented goat milk”. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26, 997-1011.
- Parrot, S., Degraeve, P., Curia, C. ve Martial-Gros, A. (2003). “*In vitro* study on digestion of peptides in Emmental cheese: Analytical evaluation and influence on angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides”. *Nahrung - Food*, 47(2), 87–94.
- Pastorino, A. J., Hansen, C. L. ve McMahon, D. J. (2003). “Effect of pH on the Chemical Composition and Structure-Function Relationships of Cheddar Cheese”. *Journal of Dairy Science*, 86(9), 2751–2760.
- Pates, G. O., Guler, L., Nash, J. J. ve Kenttämaa, H. I. (2011). “Reactivity and selectivity of charged phenyl radicals toward amino acids in a fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer”. *Journal of the American Chemical Society*, 133(24), 9331-9342.
- Pattorn, S. ve Hongsprabhas, P. (2013). “Effect of coagulants on antioxidant capacity of milk protein curds and their tryptic hydrolysates”. *Journal of Food Biochemistry*, 37(2), 203-211.
- Paul, M. ve Van Hekken, D. L. (2011). “Short communication: Assessing antihypertensive activity in native and model Queso Fresco cheeses”. *Journal of Dairy Science*, 94(5), 2280–2284.
- Pepe, G., Sommella, E., Ventre, G., Scala, M. C., Adesso, S., Ostacolo, C., Marzocco, S., Novellino, E ve Campiglia, P. (2016). “Antioxidant peptides released from

- gastrointestinal digestion of “Stracchino” soft cheese: Characterization, *in vitro* intestinal protection and bioavailability”. *Journal of Functional Foods*, 26, 494–505.
- Picariello, G., Mamone, G., Nitride, C., Addeo, F. ve Ferranti, P. (2013). “Protein digestomics: Integrated platforms to study food-protein digestion and derived functional and active peptides”. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 52, 120-134.
- Pihlanto-Leppla, A. (2000). “Bioactive peptides derived from bovine whey proteins: Opioid and ace-inhibitory peptides”. *Trends in Food Science and Technology*, 11(9–10), 347–356.
- Pino, Alessandra, Liotta, L., Randazzo, C. L., Todaro, A., Mazzaglia, A., De Nardo, F., Chiofalo, V. ve Caggia, C. (2018). “Polyphasic approach to study physico-chemical, microbiological and sensorial characteristics of artisanal Nicastrese goat’s cheese”. *Food Microbiology*, 70, 143–154.
- Pino, Antonio, Prados, F., Galan, E., McSweeney, P. L. H. H. ve Fernandez-Salguero, J. (2009a). “Proteolysis during the ripening of goats’ milk cheese made with plant coagulant or calf rennet”. *Food Research International*, 42(3), 324–330.
- Pino, Antonio, Prados, F., Galan, E., Vivo, R. ve Fernandez-Salguero, J. (2009b). “Amino acids evolution during ripening of goats’ milk cheese manufactured with different coagulants”. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(10), 2062–2069.
- Pisanu, S., Pagnozzi, D., Pes, M., Pirisi, A., Roggio, T., Uzzau, S. ve Addis, M. F. (2015). “Differences in the peptide profile of raw and pasteurised ovine milk cheese and implications for its bioactive potential”. *International Dairy Journal*, 42, 26–33.
- Poveda, J. M. ve Cabezas, L. (2006). “Free fatty acid composition of regionally-produced Spanish goat cheese and relationship with sensory characteristics”. *Food Chemistry*, 95(2), 307–311.
- Power, O., Jakeman, P. ve Fitzgerald, R. J. (2013). “Antioxidative peptides: enzymatic production, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides”. *Amino Acids*, 44, 797-820.
- Prripp, A. H., Sørensen, R., Stepaniak, L. ve Sørhaug, T. (2006). “Relationship between

- proteolysis and angiotensin-I-converting enzyme inhibition in different cheeses”. *LWT - Food Science and Technology*, 39(6), 677–683.
- Pritchard, S. R., Phillips, M. ve Kailasapathy, K. (2010). “Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese”. *Food Research International*, 43(5), 1545–1548.
- Puglisi, I., Petrone, G. ve Lo Piero, A. R. (2014). “A kiwi juice aqueous solution as coagulant of bovine milk and its potential in Mozzarella cheese manufacture”. *Food and Bioproducts Processing*, 92(1), 67–72.
- Quiros, A., Hernandez-Ledesma, B., Ramos, M., Amigo, L. ve Recio, I. (2005). “Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Peptides Derived from Caprine Kefir”. *Journal of Dairy Science*, 88(10), 3480–3487.
- Qureshi, T. M., Vegarud, G. E., Abrahamsen, R. K. ve Skeie, S. (2013). “Angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of the Norwegian autochthonous cheeses Gamalost and Norvegia after *in vitro* human gastrointestinal digestion”. *Journal of Dairy Science*, 96(2), 838–853.
- Rafiq, S., Gulzar, N., Sameen, A., Huma, N., Hayat, I. ve Ijaz, R. (2021). “Functional role of bioactive peptides with special reference to cheeses”. *International Journal of Dairy Technology*, 74(1), 1–16.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. ve Rice-Evans, C. (1999). “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(98), 1231–1237.
- Ren, Q., Boiani, M., He, T., Wichers, H. J. ve Hettinga, K. A. (2023). “Heating affects protein digestion of skimmed goat milk under simulated infant conditions”. *Food Chemistry*, 402, 134261.
- Revilla, I., Gonzalez-Martin, M. I. I., Vivar-Quintana, A. M. M., Blanco-Lopez, M. A. A., Lobos-Ortega, I. A. A. ve Hernandez-Hierro, J. M. (2016). “Antioxidant capacity of different cheeses: Affecting factors and prediction by near infrared spectroscopy”. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 5074–5082.
- Rizzello, C. G., Losito, I., Gobbetti, M., Carbonara, T., De Bari, M. D. ve Zambonin, P. G. (2005). “Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian

- cheese varieties”. *Journal of Dairy Science*, 88(7), 2348-2360.
- Rohmah, R. N., Hardiyanti, F. ve Fatchiyah, F. (2015). “Inhibition on JAK-STAT3 signaling transduction cascade is taken by bioactive peptide alpha-S2 casein protein from goat ethawah breed milk”. *Acta Informatica Medica*, 23(4), 233-238.
- Rojas-Ronquillo, R., Cruz-Guerrero, A., Flores-Najera, A., Rodriguez-Serrano, G., Gomez-Ruiz, L., Reyes-Grajeda, J. P., Jimenez-Guzman, J. ve Garcia-Garibay, M. (2012). “Antithrombotic and angiotensin-converting enzyme inhibitory properties of peptides released from bovine casein by *Lactobacillus casei* Shirota”. *International Dairy Journal*, 26(2), 147-154.
- Ryhanen, E. L., Pihlanto-Leppala, A. ve Pakkala, E. (2001). “A new type of ripened, low-fat cheese with bioactive properties”. *International Dairy Journal*, 11(4-7), 441-447.
- Sahingil, D., Hayaloglu, A. A., Kirmaci, H. A., Özer, B. ve Simsek, O. (2014). “Changes of proteolysis and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activity in white-brined cheese as affected by adjunct culture and ripening temperature”. *Journal of Dairy Research*, 81(4), 394-402.
- Saikia, D., Hassan, M. I. ve Walia, A. (2022). “Review: Goat milk and its nutraceutical properties”. *International Journal of Applied Research*, 8(4), 119-122.
- Saito, T., Nakamura, T., Kitazawa, H., Kawai, Y. ve Itoh, T. (2000). “Isolation and Structural Analysis of Antihypertensive Peptides That Exist Naturally in Gouda Cheese”. *Journal of Dairy Science*, 83(7), 1434-1440.
- Sanchez-Rivera, L., Martinez-Maqueda, D., Cruz-Huerta, E., Miralles, B. ve Recio, I. (2014). “Peptidomics for discovery, bioavailability and monitoring of dairy bioactive peptides”. *Food Research International*, 63, 170-181.
- Sarmadi, B. H. ve Ismail, A. (2010). “Antioxidative peptides from food proteins: A review”. *Peptides*, 31(10), 1949-1956.
- Say, D. (2022). “Physicochemical composition, nitrogen fraction and volatile profiles of goat cheese made with artisanal liquid coagulant”. *Journal of Food Science and Technology*, 59(6), 2469-2478.
- Say, D. ve Güzeler, N. (2016). “Süt Pıhtılaştırılmasında Kullanılan Bazı Bitkiler”. *Nevşehir*

Bilim ve Teknoloji Dergisi, Özel Sayı, 253–261.

- Schanbacher, F. L., Talhouk, R. S., Murray, F. A., Gherman, L. I. ve Willett, L. B. (1998). “Milk-borne bioactive peptides”. *International Dairy Journal*, 8(5-6), 393-403.
- Shah, M. A., Mir, S. A. ve Paray, M. A. (2014). “Plant proteases as milk-clotting enzymes in cheesemaking: A review”. *Dairy Science and Technology*, 94(1), 5–16.
- Shalabi, S. I. ve Fox, P. F. (1987). “Electrophoretic analysis of cheese: comparison of methods”. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 11(2), 135-151.
- Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S. ve Pessarakli, M. (2012). “Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions”. *Journal of Botany*, 2012, 1–26.
- Sheskin, D. (2004). *Handbook of parametric and nonparametric statistical procedures*. New York: Chapman and Hall, CRC Press: Boca Raton.
- Shu, G., Huang, J., Bao, C., Meng, J., Chen, H. ve Cao, J. (2018a). “Effect of different proteases on the degree of hydrolysis and angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity in goat and cow milk”. *Biomolecules*, 8(4), 101.
- Shu, G., Shi, X., Chen, L., Kou, J., Meng, J. ve Chen, H. (2018b). “Antioxidant peptides from goat milk fermented by *Lactobacillus casei* 161: Preparation, optimization, and stability evaluation in simulated gastrointestinal fluid”. *Nutrients*, 10(6), 797.
- Sieber, R., Bütikofer, U., Egger, C., Portmann, R., Walther, B. ve Wechsler, D. (2010). “ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties”. *Dairy Science & Technology*, 90(1), 47–73.
- Sienkiewicz-Szlapka, E., Jarmolowska, B., Krawczuk, S., Kostyra, E., Kostyra, H. ve Bielkowicz, K. (2009). “Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer”. *International Dairy Journal*, 19(4), 252-257.
- Sihufe, G. A., Zorrilla, S. E., Perotti, M. C., Wolf, I. V., Zalazar, C. A., Sabbag, N. G., Costa, S. C. ve Rubiolo, A. C. (2010). “Acceleration of cheese ripening at elevated temperature. An estimation of the optimal ripening time of a traditional Argentinean hard cheese”. *Food Chemistry*, 119(1), 101–107.
- Silanikove, N., Leitner, G., Merin, U. ve Prosser, C. G. (2010). “Recent advances in exploiting

- goat's milk: quality, safety and production aspects". *Small Ruminant Research*, 89(2-3), 110-124.
- Silva, S. V., Pihlanto, A. ve Malcata, F. X. (2006). "Bioactive peptides in ovine and caprine cheeselike systems prepared with proteases from *Cynara cardunculus*". *Journal of Dairy Science*, 89(9), 3336–3344.
- Silva, R. A., Lima, M. S. F., Viana, J. B. M., Bezerra, V. S., Pimentel, M. C. B., Porto, A. L. F., Cavalcanti, M. T. H. ve Lima Filho, J. L. (2012). "Can artisanal "Coalho" cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food?". *Food Chemistry*, 135(3), 1533-1538.
- Smacchi, E. ve Gobbetti, M. (1998). "Peptides from several Italian cheeses inhibitory to proteolytic enzymes of lactic acid bacteria, *Pseudomonas fluorescens* ATCC 948 and to the angiotensin I-converting enzyme". *Enzyme and Microbial Technology*, 22(8), 687–694.
- Smacchi, E. ve Gobbetti, M. (2000). "Bioactive peptides in dairy products: Synthesis and interaction proteolytic enzymes". *Food Microbiology*, 17(2), 129–141.
- Soltani, M. (2013). İran'da üretilen ultrafiltre beyaz peynirin özellikleri üzerine tuz oranı ve depolama süresinin etkileri. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Sommerer, N., Salles, C., Prome, D., Prome, J. C. ve Le Quere, J. L. (2001). "Isolation of oligopeptides from the water-soluble extract of goat cheese and their identification by mass spectrometry". *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 49(1), 402-408.
- Songisepp, E., Kullisaar, T., Hütt, P., Elias, P., Brilene, T., Zilmer, M. ve Mikelsaar, M. (2004). "A New Probiotic Cheese with Antioxidative and Antimicrobial Activity". *Journal of Dairy Science*, 87(7), 2017–2023.
- Sousa, M. J., Ardo, Y. ve McSweeney, P. L. H. (2001). "Advances in the study of proteolysis in cheese during ripening". *International Dairy Journal*, 11, 327–345.
- Stuknyte, M., Cattaneo, S., Masotti, F. ve De Noni, I. (2015). "Occurrence and fate of ACE-inhibitor peptides in cheeses and in their digestates following *in vitro* static gastrointestinal digestion". *Food Chemistry*, 168, 27–33.

- Suetsuna, K., Ukeda, H. ve Ochi, H. (2000). "Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein". *Journal of Nutritional Biochemistry*, 11(3), 128–131.
- Sulejmani, E., Sahingil, D. ve Hayaloglu, A. A. (2020). "A comparative study of compositional, antioxidant capacity, ACE-inhibition activity, RP-HPLC peptide profile and volatile compounds of herbal artisanal cheeses". *International Dairy Journal*, 111, 104837.
- Tagliazucchi, D., Shamsia, S., Helal, A. ve Conte, A. (2017). "Angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from goats' milk released by *in vitro* gastro-intestinal digestion". *International Dairy Journal*, 71, 6–16.
- Takano, D. T. (2002). "Anti-hypertensive activity of fermented dairy products containing biogenic peptides". *Antonie van Leeuwenhoek*, 82(1–4), 333–340.
- Tamer, I. M. (1993). "Identification and partial purification of a novel milk clotting enzyme from *Onopordum turcicum*". *Biotechnology Letters*, 15(4), 427–432.
- Tang, X., He, Z., Dai, Y., Xiong, Y. L., Xie, M. ve Chen, J. (2010). "Peptide fractionation and free radical scavenging activity of zein hydrolysate". *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 58(1), 587-593.
- Tarango-Hernandez, S., Alarcon-Rojo, A. D., Robles-Sanchez, M., Gutierrez-Mendez, N. ve Rodriguez-Figueroa, J. C. (2015). "Potential of Fresco-style cheese whey as a source of protein fractions with antioxidant and angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activities". *Journal of Dairy Science*, 98(11), 7635-7639.
- Tejada, L., Abellan, A., Cayuela, J. M. ve Martinez-Cacha, A. (2006). "Sensorial characteristics during ripening of the Murcia al Vino goat's milk cheese: The effect of the type of coagulant used and the size of the cheese". *Journal of Sensory Studies*, 21(3), 333–347.
- Timon, M. L., Andres, A. I., Otte, J. ve Petron, M. J. (2019). "Antioxidant peptides (< 3 kDa) identified on hard cow milk cheese with rennet from different origin". *Food Research International*, 120, 643–649.
- Timon, M. L., Parra, V., Otte, J., Broncano, J. M. ve Petron, M. J. (2014). "Identification of

- radical scavenging peptides (< 3kDa) from Burgos-type cheese”. *LWT - Food Science and Technology*, 57(1), 359–365.
- Tomaszewska-Gras, J., Cais-Sokolinska, D., Bierzunska, P., Kaczynski, L. K., Walkowiak, K. ve Baranowska, H. M. (2019). “Behaviour of water in different types of goats’ cheese”. *International Dairy Journal*, 95, 18–24.
- Topçu, A. ve Saldamli, I. (2006). “Proteolytical, chemical, textural and sensorial changes during the ripening of Turkish white cheese made of pasteurized cows’ milk”. *International Journal of Food Properties*, 9(4), 665–678.
- Torres-Llanez, M. J., Gonzalez-Cordova, A. F., Hernandez-Mendoza, A., Garcia, H. S. ve Vallejo-Cordoba, B. (2011). “Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese”. *Journal of dairy science*, 94(8), 3794-3800.
- Trujillo, A. J., Buffa, M., Casals, I., Fernandez, P. ve Guamis, B. (2002). “Proteolysis in goat cheese made from raw, pasteurized or pressure-treated milk”. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 3(4), 309–319.
- Turan, N. (2022). Bazı geleneksel peynirlerin biyoaktif peptit profillerinin belirlenmesi. Doktora Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Turan, N. ve Durak, M. Z. (2022). “The functionality, bioavailability, and bioactive peptides in white cheeses produced in Turkey”. *European Food Research and Technology*, 248(6), 1645–1652.
- TÜİK. (2022). Türkiye İstatistik Kurumu hayvancılık istatistikleri. Erişim: 01.02.2022, <https://www.tuik.gov.tr/>
- Uzkuç, H., Güneşer, O. ve Yüceer, Y. (2018). “ Lipaz enzimi ve destek kültür kullanımının keçi peynirinin olgunlaşması üzerine etkileri”. *Gıda*, 43, 250–263.
- Van den Dool, H. ve 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.
- Vazquez-Garcia, R., Cardador-Martinez, A., Orihuela-Lopez, M. A., Ramos-Hernandez, L. S. ve Martin-Del-campo, S. T. (2021). “Preliminary study of extended ripening effects on peptides evolution and DPPH radical scavenging activity in Mexican goat cheese”.

Catalysts, 11(8), 967.

- Vermeirssen, V., Van Camp, J., Decroos, K., Van Wijmelbeke, L. ve Verstraete, W. (2003). “The impact of fermentation and *in vitro* digestion on the formation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity from pea and whey protein”. *Journal of Dairy Science*, 86(2), 429-438.
- Vermeirssen, V., Camp, J. Van ve Verstraete, W. (2004). “Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitory peptides”. *British Journal of Nutrition*, 92(03), 357.
- Verruck, S., Dantas, A., ve Prudencio, E. S. (2019). “Functionality of the components from goat’s milk, recent advances for functional dairy products development and its implications on human health”. *Journal of Functional Foods*, 52, 243-257.
- Visser, F.M.W. (1977). “Contribution of enzymes from rennet, starter bacteria and milk to proteolysis and flavour development in Gouda cheese. 3. Protein breakdown: analysis of the soluble nitrogen and amino acid nitrogen fraction”. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 31, 210–239.
- Virtanen, T., Pihlanto, A., Akkanen, S. ve Korhonen, H. (2007). “Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria”. *Journal of Applied Microbiology*, 102(1), 106–115.
- Vyhmeister, S., Geldsetzer-Mendoza, C., Medel-Maraboli, M., Fellenberg, A., Vargas-Bello-Perez, E. ve Ibanez, R. A. (2019). “Influence of using different proportions of cow and goat milk on the chemical, textural and sensory properties of Chanco–style cheese with equal composition”. *LWT - Food Science and Technology*, 112, 108226.
- Wiley, 2005. *Wiley Registry of Mass Spectral Data 7. Edition* (Fred. W. McLafferty) ISBN: 978-0471473251, 2005 (CD-ROM).
- Xie, Z., Huang, J., Xu, X. ve Jin, Z. (2008). “Antioxidant activity of peptides isolated from alfalfa leaf protein hydrolysate”. *Food chemistry*, 111(2), 370-376.
- Xiong, Y. L. (2010). “Antioxidant peptides. In: *Bioactive Proteins and Peptides as Functional Foods and Nutraceuticals* in: Mine Y., Li-Chan, E., Jiang, B. (Eds.). (s33–42). Blackwell Publishing Ltd. and Institute of Food Technologists, Ames.
- Yates, Z., Gunasekaran, K., Zhou, H., Hu, Z., Liu, Z., Ketchem, R. R. ve Yan, B. (2010).

“Histidine residue mediates radical-induced hinge cleavage of human IgG1”. *Journal of Biological Chemistry*, 285(24), 18662-18671.

Yılmaz Kısak, E. (2021). Koyun ve keçi sütlerinden üretilen İzmir Tulum peynirlerinin biyoaktif özelliklerinin ve uçucu bileşiklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.

Zaravela, A., Kontakos, S., Badeka, A. V. ve Kontominas, M. G. (2021). “Effect of adjunct starter culture on the quality of reduced fat, white, brined goat cheese: part I. Assessment of chemical composition, proteolysis, lipolysis, texture and sensory attributes”. *European Food Research and Technology*, 247(9), 2211–2225.

Zenebe, T., Ahmed, N., Kabeta, T. ve Kebede, G. (2014). “Review on medicinal and nutritional values of goat milk”. *Academic Journal of Nutrition*, 3(3), 30-39.

Ziino, M., Conduro, C., Romeo, V., Giuffrida, D. ve Verzera, A. (2005). “Characterization of “Provola dei Nebrodi”, a typical Sicilian cheese, by volatiles analysis using SPME-GC/MS”. *International Dairy Journal*, 15(6), 585–593.

EKLER



EK 1 PEYNİR ÜRETİM RESİMLERİ



Resim 1: Sütün pastörizasyonu



Resim 2: Sütün soğutulması



Resim 3: Sütün mayalama tenekelerine alımı



Resim 4: Bitkisel ve hayvansal rennet



Resim 5: Pıhtı kesim olgunluğunun belirlenmesi



Resim 6: Pıhtının kırılması



Resim 7: Teleme işleme



Resim 8: Teleme süzme işlemine hazırlık



Resim 9: Telemenin süzülmesi



Resim 10: Telemenin süzülmesi



Resim 11: Telemenin süzülmesi



Resim 12: Peynirlerin salamurada bekletilmesi

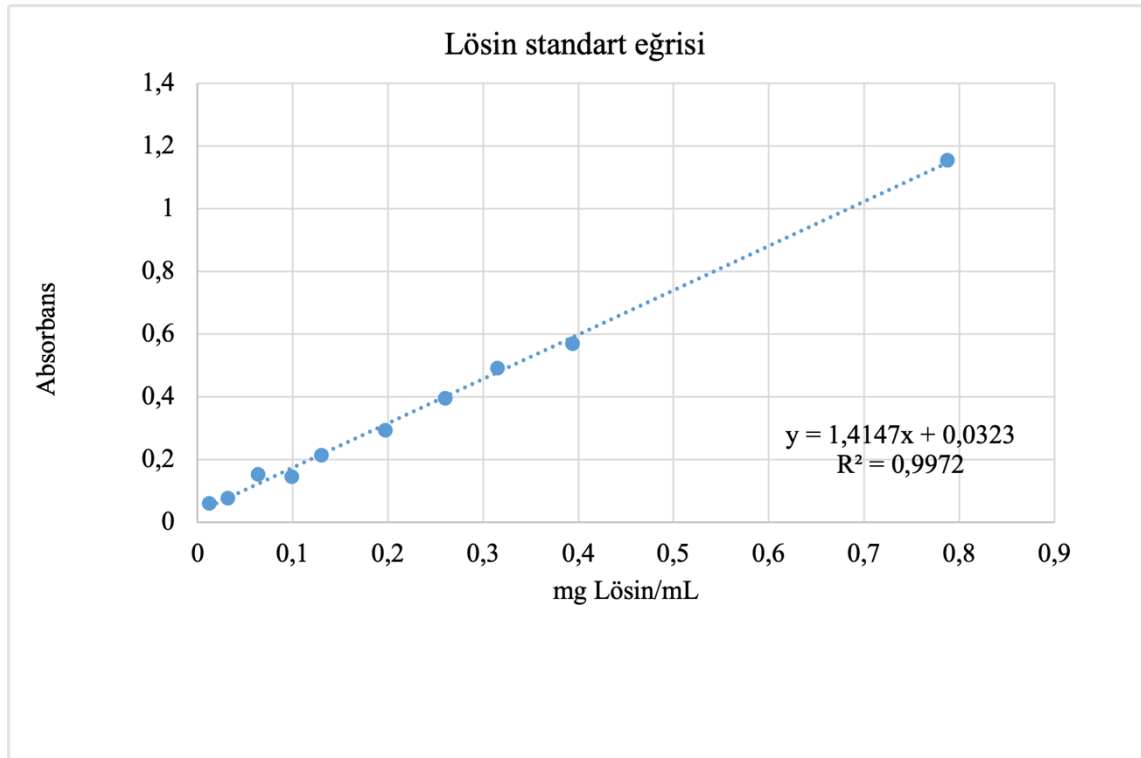


Resim 13: Peynirlerin paketlemeye hazırlanması

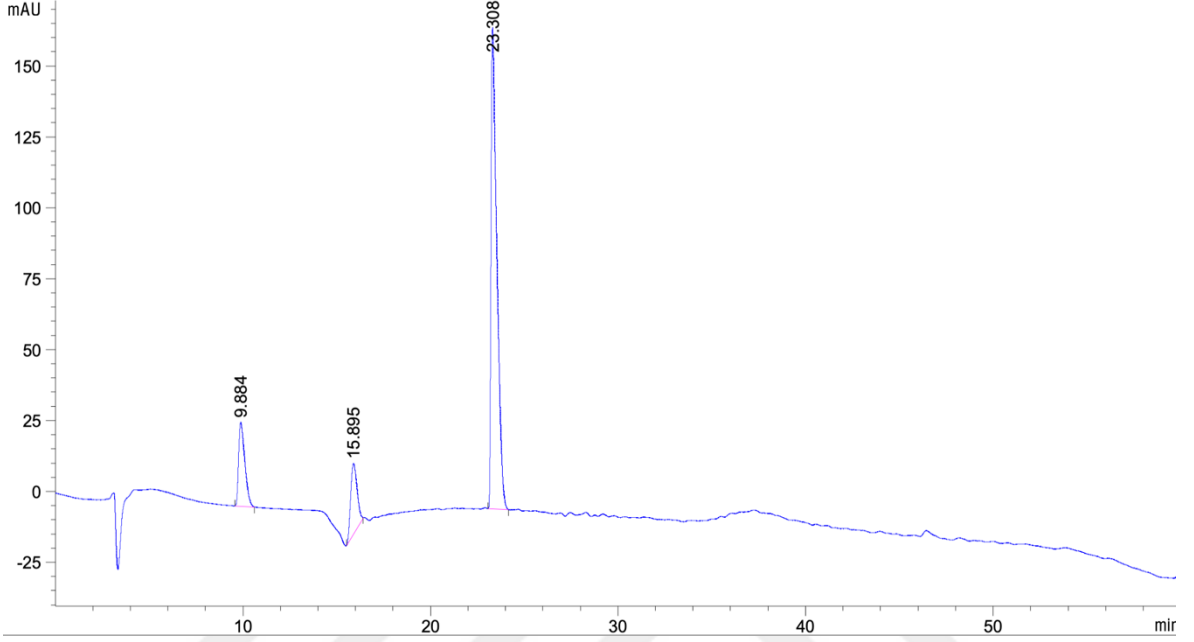


Resim 14: Peynirlerin vakumlanması

EK 2 LÖSİN STANDART EĞRİSİ



EK 3 RP-HPLC PEPTİT PROFİL ANALİZİNDE KULLANILAN STANDART KROMATOGRAMI



214 nm dalga boyunda belirlenen Tirozin (dk 9.88), Fenilalanin (dk 15.89), Triptofan (dk 23.30) pikleri

EK 4 DUYUSAL DEĞERLENDİRME FORMU

Panelist:

Tarih:

Örnek kodu		Ne beğendim								
		Hiç beğenmedim			Ne beğenmedim			Çok fazla beğendim		
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

TERCİH

Örnek kodu		Ne beğendim								
		Hiç beğenmedim			Ne beğenmedim			Çok fazla beğendim		
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

TERCİH

Örnek kodu		Ne beğendim								
		Hiç beğenmedim			Ne beğenmedim			Çok fazla beğendim		
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
<input type="text"/>	Görünüş/Renk	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Yapı/Tekstür	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat/Lezzet	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	1	2	3	4	5	6	7	8	9

TERCİH

EK 5 *IN VITRO* SİNDİRİM SIVILARI VE SİNDİRİM ENZİMLERİNİN HAZIRLANIŞI

Stok çözeltileri:

No	Bileşen	Formül	mol/L (M)	g/L
(1)	Potasyum klorür	KCl	0.5	37.5
(2)	Monopotasyum fosfat	KH ₂ PO ₄	0.5	68
(3)	Sodyum bikarbonat	NaHCO ₃	1	84
(4)	Sodyum klorür	NaCl	2	117
(5)	Magnezyum klorür heksahidrat	MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	0.15	30.5
(6)	Amonyum karbonat	(NH ₄) ₂ CO ₃	0.5	48
(7)	Hidroklorik asit	HCl	6	
(8)	Kalsiyum klorür dihidrat	CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	0.3	44.1

Sindirim Sıvıları*:

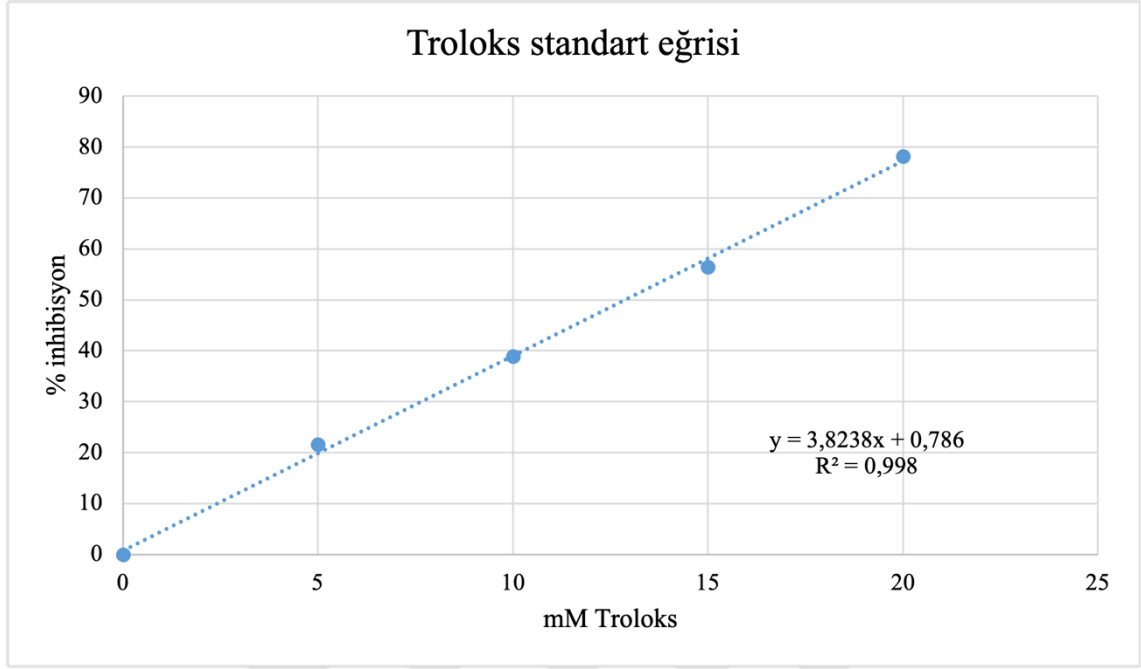
No	Tükürük sıvısı (pH:7)	Mide sıvısı (pH:3)	Bağırsak sıvısı (pH:7)
(1)	15.1 mL	6.9 mL	6.8 mL
(2)	3.7 mL	0.9 mL	0.8 mL
(3)	6.8 mL	12.5 mL	42.5 mL
(4)	-	11.8 mL	9.6 mL
(5)	0.5 mL	0.4 mL	1.1 mL
(6)	0.06 mL	0.5 mL	-
(7)	0.09 mL	1.3 mL	0.7 mL

* Tüm sindirim sıvıları distile su ile 400 mL'ye tamamlanmalıdır.

Enzimler:

Enzim	Marka	Aktivitesi	İstenen aktivite	Hazırlanışı
α -amilaz	Sigma (A1031)	300-1500 U/mL	1500 U/mL	15 mg α -amilaz + 10 mL tükürük sıvısı
Pepsin	Sigma (P7012)	\geq 2500 U/mL	25000 U/mL	100 mg pepsin + 10 mL mide sıvısı
Pankreatin	Sigma (P7545)	\geq 100 U/mL	800 U/mL	80 mg pankreatin + 10 mL bağırsak sıvısı
Safra	Sigma (B8631)	-	160 mM	250 mg safra + 10 mL bağırsak sıvısı

EK 6 TROLOKS STANDART EĞRİSİ 1



EK 7 TROLOKS STANDART EĞRİSİ 2

