

Original article

Olgunlaşma Sürecinde Beyaz Peynirde Organik ve Yağ Asidi İçeriğinin Farklı Örnekleme Tekniği Kullanılarak Taşınabilir FTIR Spektrometre ile İzlenmesi

Monitoring the Organic Acid and Fatty Acid Content of White Cheese During the Ripening Process Using Different Sampling Techniques with a Portable FTIR Spectrometer

Hülya Yaman  a,b,*

^aDepartment of Food Science and Technology, College of Food, Agricultural, and Environmental Sciences, The Ohio State University, Ohio, USA

^bDepartment of Gastronomy and Culinary Arts, Faculty of Tourism, University of Bolu Abant İzzet Baysal, Bolu, Turkey

Özet

Peynirin tadını ve aromasına etki eden faktörler sütün kalitesi, üretim süreci, laktik asit bakterileri ve olgunlaşma sırasındaki karmaşık biyokimyasal reaksiyonlar oluşturmaktadır. Olgunlaşma dönemindeki önemli biyokimyasal yollar arasında yer alan laktoz metabolizması ile organik asitlerin oluşması, lipoliz yoluyla yağ asitlerin parçalanması peynirin tadını ve aromasının etkilenmektedir. Kromatografik analizlerle belirlenen bu özellikler doğru ancak zahmetli, pahalı ve zaman alıcıdır. Bu nedenle çalışmadaki amacımız, beyaz peynirin olgunlaşması sırasında meydana gelen bu değişiklikleri belirlemek için kızılötesi (FTIR) spektroskopisine dayalı hızlı ve basit bir enstrümantal yöntem geliştirmek ve olgunlaşmasında üretilen ana organik asitlerin eş zamanlı olarak belirlenmesi için bir tahmin algoritması geliştirmektir.

Beyaz peynir numuneleri 40 gün olgunlaştırılmış ve numuneler 1, 20 ve 40 günlük depolamadan sonra analize dilmiştir. Farklı örnekleme yöntemiyle hazırlanan örnekler FTIR bölgesinde (4000 ila 700 cm⁻¹) taşınabilir bir FTIR kullanılarak taranmıştır. Aynı zamanda HPLC ve GC ile organik ve yağ aside profili belirlenerek, toplanan spektrumların olgunlaşma süre ve organik asit içerikleri ile ilişkilendirilmiştir. Tahmin modelleri geliştirmek için sınıf analojisinin (SIMCA) yumuşak bağımsız modellemesi ve kısmi en küçük kareler regresyonu (PLSR) ile analiz edilmiştir.

SIMCA peynir örneklerinin olgunlaşma süresine göre kümelemesine izin verdi. İlginç bir şekilde, numunelerin gruplanmasını yönlendiren sinyal, peynir aromasına katkıda bulunan organik ve yağ asitlerin oluşumu ve konsantrasyonu ile ilişkili bulunmuştur. Örnekleme yöntemleri arasında peynir ekstraktlarının diğer yöntemlere göre daha iyi SIMCA model oluşturduğu gözlenmiştir. Ayrıca aynı sinyal, organik ve yağ asit seviyeleri regresyon algoritmaları (PLSR) geliştirmek için kullanılmış ve PLSR modelleri mükemmel uyum göstermiştir (r -değeri > 91). Organik asit profili 10 dakikadan daha kısa sürede doğru bir şekilde belirlenebilmiştir.

* Corresponding author:

Yaman is an assistant professor in the Department of Gastronomy and Culinary Arts at Abant İzzet Baysal University in Bolu, Turkey. Her research interests include Dairy Science, Food Science, Food Analysis, and Food Chemistry. The author had a grant from TUBITAK with 2219 programme to work in USA. So, this study was carried out at Ohio State University Food Science and Technology Department.
Email: hulyayaman@ibu.edu.tr

Sonuç olarak Portatif kızılötesi üniteler, olgunlaşma sırasında meydana gelen karmaşık biyokimyasal değişiklikleri izlemek ve beyaz peynirde dengeli bir tat gelişimi için önemli olan kalite parametrelerini tahmin etmek için hızlı, basit bir araç ve yerinde Teknik olarak kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: FTIR, peynirin olgunlaşması, suda çözünen ekstrakt, organik asit, yağ asidi.

Abstract

Factors affecting the taste and aroma of cheese are the quality of milk, the production process, lactic acid bacteria and complex biochemical reactions during ripening. The production of organic acids by lactose metabolism, which is one of the important biochemical pathways in the maturation period, and the breakdown of fatty acids by lipolysis are affected by the taste and aroma of cheese. These characteristics determined by chromatographic analysis are accurate but laborious, expensive and time consuming. Therefore, our aim in the study is to develop a rapid and simple instrumental method based on infrared (FTIR) spectroscopy to determine these changes during the ripening of feta cheese, and to develop a prediction algorithm to simultaneously determine the main organic acids produced during maturation.

Turkish white cheese samples were matured for 40 days and samples were analyzed after 1, 15, 20 and 40 days of storage. Samples prepared with different sampling methods were scanned using a portable FTIR in the FTIR region (4000 to 700 cm⁻¹). Organic and fatty acid profiles during ripening were determined by HPLC and GC methods, and correlated with of the collected spectra. It was analyzed by soft independent modeling of class analogy (SIMCA) and partial least squares regression (PLSR) to develop predictive models.

It allowed SIMCA to cluster cheese samples based on ripening time. Interestingly, the signal that drives the grouping of samples was associated with the formation and concentration of organic and fatty acids that contribute to the cheese flavor. Also, the same signal was used to develop organic and fatty acid levels regression algorithms (PLSR), and the PLSR models showed perfect fit (r-value > 91) and were able to accurately determine the organic acid profile in less than 10 minutes.

Portable infrared units can be used as a fast, simple tool and on-site technique to monitor complex biochemical changes during ripening and predict quality parameters important for a balanced taste development in Artisanal white cheese.

Keywords: FTIR, cheese ripening, water soluble extract, organic acids, fatty acids.

GİRİŞ

Türk Gıda kodeksi peynir tebliğine göre peynirin tanımı; hammadde sütün peynir mayası kullanılarak pıhtılaştırılması ile elde edilen telemenin, tekniğine uygun olarak işlenmesiyle üretilen, üretim aşamalarındaki farklılıklara göre taze veya olgunlaştırılmış olarak tanımlanabilen, çeşidine özgü karakteristik özellikler gösteren salamuralı peynirdir. Ülkemizde inek sütünden veya inek, koyun veya keçi sütü karışımı kullanılarak geleneksel veya endüstriyel olarak üretilmektedir. Endüstriyel olarak inek sütünden üretilen taze klasik beyaz peynir 20 günlük olgunlaşma ile piyasaya arz edilirken ezine peyniri gibi yöresel ve coğrafi işaretleri ürünlerin olgunlaşma süresi 6 aya kadar uzayabilmektedir (Özer vd., 2011). Peynirin olgunlama boyunca izlenmesi hem olgunlaşma derecesinin hem de kalitesinin takibi açısından önemlidir. Peynirde lezzetin oluşmasında başlangıçta organik ve yağ asitlerinin oluşumu gözlenmektedir. Taze olarak değerlendirdiğimiz 20 günlük peynirde bu bileşenlerin izlenmesi, peynirin piyasaya sunulma süreci konusunda önem arz etmektedir. Peynir olgunlaşması peynir tipine Peynir olgunlaşması sırasında, proteinlerin parçalanması, yağın hidrolizi ve laktoz metabolizması dahil olmak üzere karmaşık ve dinamik biyokimyasal reaksiyonlar meydana gelmektedir (El Soda vd., 1995; McSweeney ve Sousa, 2000). Peynirin olgunlaşması süreci oluşan proteoliz, lipoliz ve glikoliz reaksiyonlarıyla ile izlenir (Singh vd., 2003; Akalin vd., 2002). Ancak, bu reaksiyonlar tüm peynir çeşitleri için aynı olmamakla beraber oluşan reaksiyonların önem derecesi de farklı olabilmektedir. Bazı peynirlerin olgunlaşmasında lipoliz birinci derecede önemli iken, Emmental ve Swiss tipi peynirlerde aroma oluşumu için glikoliz önemli olmaktadır. Biyokimyasal reaksiyonlar ile lezzete katkıda bulunan ana bileşikler organik asitler, yağ asitleri, amino asitler, kükürt bileşikleri, laktonlar, metilketonlar, alkol ve fenolik maddelerdir (Urbach, 1993).

Peynir kalitesinin belirlenmesi ve olgunlaşma takibi için yapılan analizler genelde enstrümentale dayalı, pahalı, karmaşık, zaman alıcıdır ve farklı makine ve ekipmanlar ile uzmanlık gerektirir. Ayrıca, peynir üretimi ve depolanmasının her aşamasını kontrol etmek için güvenilir metotlara ve önceden belirlenmiş bir kalite standardına sahip olması gerekir. Çok değişkenli analiz metotları ile birleştirilmiş FTIR spektroskopisi bu bileşiklerin tahminlenmesinde basit, hızlı ve güvenilir bir tekniktir. Farklı kimyasal fonksiyonel grupların uyarılmaları için farklı miktarlarda enerji (farklı dalga boyları) gerektirmesi ilkesine dayanmaktadır (Yaman, 2020). FTIR spektroskopisi (4000 ila 700 cm^{-1}), numunenin genel kimyasal bileşimini gösteren ve kimyasal bir parmak izini (spektrum) sağlamak için numunedeki işlevsel gruplar tarafından kızılötesi ışığın emilimini izlemektedir. FT-IR spektroskopisi Emmental (Karoui vd., 2006), Cheddar (Subramanian vd., 2011; Fagan vd., 2007), İsviçre (Kocavd., 2006), Comté (Boubelloutave Dufour, 2012) ve parmesan (Cevolivd., 2013) peynirlerinde olgunlaşmayı izlemek için başarıyla uygulanmıştır. Yapılan araştırmalar uzun süreli olgunlaşma içeren peynirlerde yapılmış ve beyaz peynir için uygulanabilirliği araştırılmamıştır. Bu çalışmalardan alınan referans ile çalışmanın amacı peyz peynir örneklerinde olgunlaşmanın izlenmesinde uygulanabilecek farklı

örnekleme metotlarının olgunlaşma ile ortaya çıkan bileşiklerden olan organik asit ve yağ asidi profilinin belirlenmesinde uygulanabilirliğinin araştırılmasıdır.

MATERYAL ve METOT

Peynir Üretimi

Tam yağlı inek sütü, Ohio Eyalet Üniversitesi (Columbus, OH) mandıra çiftliğinden elde edilerek 1:1 protein: yağ oranlarına standardize edildi. 65 ° C'de 30 dakika pastörize edilmesinin ardından pıhtılaşma için 32 ° C'ye soğutuldu. Beyaz peynir üretimi için önerilen mezofilik kültür (*Lactococcus lactis subsp. Lactis*, *Lactococcus lactis subsp. cremoris*) (Choosit MA11, Danisco, Fransa) süte % 2 oranında ilave edilerek 15-20 dakika dinlendirildi. pH 6.4 seviyelerine ulaşınca % 0.2 CaCl₂ ve peynir mayası (CHY-MAX, Chr. Hansen, Denmark) ilavesinden sonra 90 dakika pıhtılaşma için bekletildi. Oluşan pıhtı 1x1 cm küpler halinde kesildi ve 30 dakika dinlenmeye bırakıldı. Daha sonra pıhtı 4 saat süreyle preslendi, 7x7 cm küpler halinde kesilerek ve 12 saat 20 ° C'de % 16 salamura çözeltisine yerleştirildi. Peynir blokları daha sonra % 12 tuzlu salamura ile su geçirmez plastic torbalarda ayrı ayrı paketlenildi ve analize kadar buzdolabında (4°C) depolandı. Peynirler 2 tekerrür olarak üretilmiş ve örnekler, 1, 20 ve 40. olgunlaşma günlerinde spektroskopik ve HPLC ve GC gibi referans analiz teknikleri kullanılarak belirlenen parametreler için regresyon analizi yapılmıştır. Çalışmada amaç peynirde olgunlaşma derecesinin belirlenmesinde spektroskopik yöntemlerin uygunluğu test edildiğinden sadece 40 günlük depolama süresi için denemeler yapıldı ve beyaz peynir için farklı örnekleme metotları denendi.

Yağ Asitlerinin Belirlenmesi

Yağ asidi profili, Sert vd'ne (2014) göre yağ asitlerinin metal esterlerine esterleştirilmesiyle belirlenmiştir. Peynir örneklerinin yağı, 1/20 oranında hekzan:metanol (2:1v/v) karışımı ile 20 dakika çalkalandıktan sonra düşük hızda (2,000 rpm) santrifüjlendi. Hekzan-lipid fazından oluşan üst tabaka başka bir tüpe aktarılmış ve hekzan kısmı vakum altında buharlaştırılarak yağ elde edilmiştir. Metil esterler, 100 µl yağ numunesinin 10 ml hekzan ile çözülmesi ve 100 µl 2N potasyum hidroksit metanol solüsyonu içinde eklenmesi ile üretilmiştir. Üst katman, 2 ml'lik bir cam GC flakonuna aktarılmış ve bir aleviyonizasyon detektörü ile donatılmış bir Agilent 6890 N serisi (Santa Clara, CA) gaz kromatografisi (GC) ile 20:1'lik bir split oranı enjekte edilmiştir (1 µL). Yağ asitlerinin ayrılması, taşıyıcı gaz olarak helium kullanılarak bir HP-88 kapiler kolonunda (100m x 0.25mm x 0.2 um) (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) gerçekleştirildi. Giriş sıcaklığı ve detector sırasıyla 250 °C ve 280° C'ye ayarlandı. Fırın koşulları başlangıçta 1 dakika 60 °C'de tutulmuş, sonra 190°C'ye (20°C/dk) yükseltilmiş ve 60 dk tutulmuş ve son olarak 220 ° C'ye (1 ° C / dk) yükseltilmiş ve 10 saniye bekletilmiştir. Yağ asitlerinin tanımlanmasında alıkonma süresi ve bileşen yüzdesi referans standartlarla (Supelco 37 Bileşen FAME Mix, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) karşılaştırılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

Organik Asitlerin belirlenmesi

Organik asitler HPLC yöntemi ile belirlenmiştir (Subramanian vd, 2006). Peynir örnekleri azot gazı ile toz haline getirildikten sonra 1,5 gr toz peynir 5 mL kloroform ile 10 saniye süreyle sonikasyona tabi tutuldu (Ultrasonic Dismembrator, Fisher Scientific). Daha sonra 2 mL damıtılmış su ilave edildi ve 3400 g' de ve odasıcaklığında 5 dakika santrifüjlendi. Süpernatant toplandı ve analizden önce bir C18 katıfaz ekstraksiyon kolonunda (ODS-4, Whatman Inc., Sanford, ME, ABD) ve 0.2 mm naylon filtreden (Whatman Inc., Clifton, NJ, ABD) geçirildikten sonra çalıştırıldı. Standart organik asit eğrileri ve örneklerin analizi Prevail Organik Asit Kolonu (150 x 4.6 mm x 5 mm, Alltech Associates Inc., Deerfield, IL, ABD) ile donatılmış HP1050 (Agilent Technologies) cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Mobil faz olarak pH 2.5'te (H₂SO₄ kullanılarak ayarlanmış) asitlendirilmiş su kullanıldı. Hazırlanan numunenin tam olarak 10 mL'si HPLC'ye enjekte edildi. Akış hızı 1.5 mL dak ayarlandı ve UV detektörü kullanılarak 200 nm'de yapıldı. Her numune için bağımsız kopyaların ortalaması alındı.

FTIR Spektrometre Ölçümleri

Peynir örneklerinin FTIR spektroskopi ölçümleri üç farklı örnekleme yöntemiyle (peynirden direk ölçüm, azotla peynir tozunun elde edilmesi ve suda çözünen ekstrakt). Ölçümler oda sıcaklığında ve her bir örnekleme yönteminden yapılan ölçümler 5 paralel spectra toplanma esasıyla elde edilmiş, her spectra arasında etil alkol ile sislinerek background alınmıştır. Birinci örnekleme yönteminde hızlı işlem yapabilmek için peynir örneklerinden direk ölçüm alınmıştır. Bu amaçla peynir örnekleri önce kaba filtre kağıdı arasında sıkıştırılarak nemi alınmış ve örnek elmas kristal üzerine yerleştirilerek örnek sıkıştırılmış ve spektraller toplanmıştır. İkinci örnekleme yönteminde daha homojen bir yapı için bir miktar peynir örneği blendıra koyularak azot gazı ilave edilmiş ve öğütülerek homejen hale getirilmiştir. Peynir tozu örnekleri yine kristal üzerine yerleştirilmiş ve sıkıştırılarak ölçüm alınmıştır. Son örnekleme yönteminde ise 0.2 gr peynir örneği üzerine 0.5 ml saf su, 0.5 ml etanol ve 0.5 ml kloroform ilave edilerek vortekslenmiş ve oda sıcaklığında 15 g de 15 dk santrifüjendikten sonra üst faz alınarak buradan 10 µl örnek kristal üzerinde vakum ile kurutulduktan sonra spektraller toplanmıştır (Subramanian vd, 2011).

Spektrumlar, üçlü yansımali elmas zayıflatılmış toplam yansıtma (ATR) aksesuarı ile donatılmış taşınabilir bir FT-IR 4500a ünitesi (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, ABD) kullanılarak toplanmıştır. Üniteye Çinko Selenit (ZnSe) ışın ayırıcılar, düşük güçlü katı hal lazeri, tel sargılı elemanlı kızıl ötesi kaynak ve termo elektrik olarak soğutulmuş DTGS (deuterated triglycine sulfate) dedektörü bağlanmıştır. Peynir örnekleri doğrudan elmas kristalin üzerine yerleştirilmiş ve spektrumlar, 4 cm⁻¹ çözünürlükle 4000-700 cm⁻¹ aralığında ve sinyal-gürültü oranını iyileştirmek için 64 taramanın birlikte eklenmesiyle toplanmıştır. Spektral veriler absorbans cinsinden gösterilmiş ve Agilent MicroLab PC yazılımı (Agilent Technologies Inc., Danbury, CT, ABD) kullanılarak kaydedilmiştir (Subramanian vd, 2011).

Veri analizi

FTIR verileri kemometrik yöntemler ile Pirouette® yazılımı (Sürüm 4.5, Infometrix Inc., Woodville, WA, ABD) kullanılarak değerlendirilmiştir. Tüm veriler normalizasyon ve ikinci türev fonksiyonları kullanılarak dönüştürölme işlemi gerçekleştirilmiş ve beyaz peynir örneklerinin farklı olgunlaşma günlerinin (1. Gün, 20, 40,) ayırımı Soft Independent Class Analogy Modeli (SIMCA) kullanılarak depolama günlerine göre gruplandırılmıştır. Beyaz peynirde örneklerinde referans analizi yapılan parametreler ile aynı örneklere ait spektraller Kısmi En Küçük Kareler Regresyonu (PLSR) kullanılarak tahminlemesi yapılmış ve grafikleri çizilmiştir.

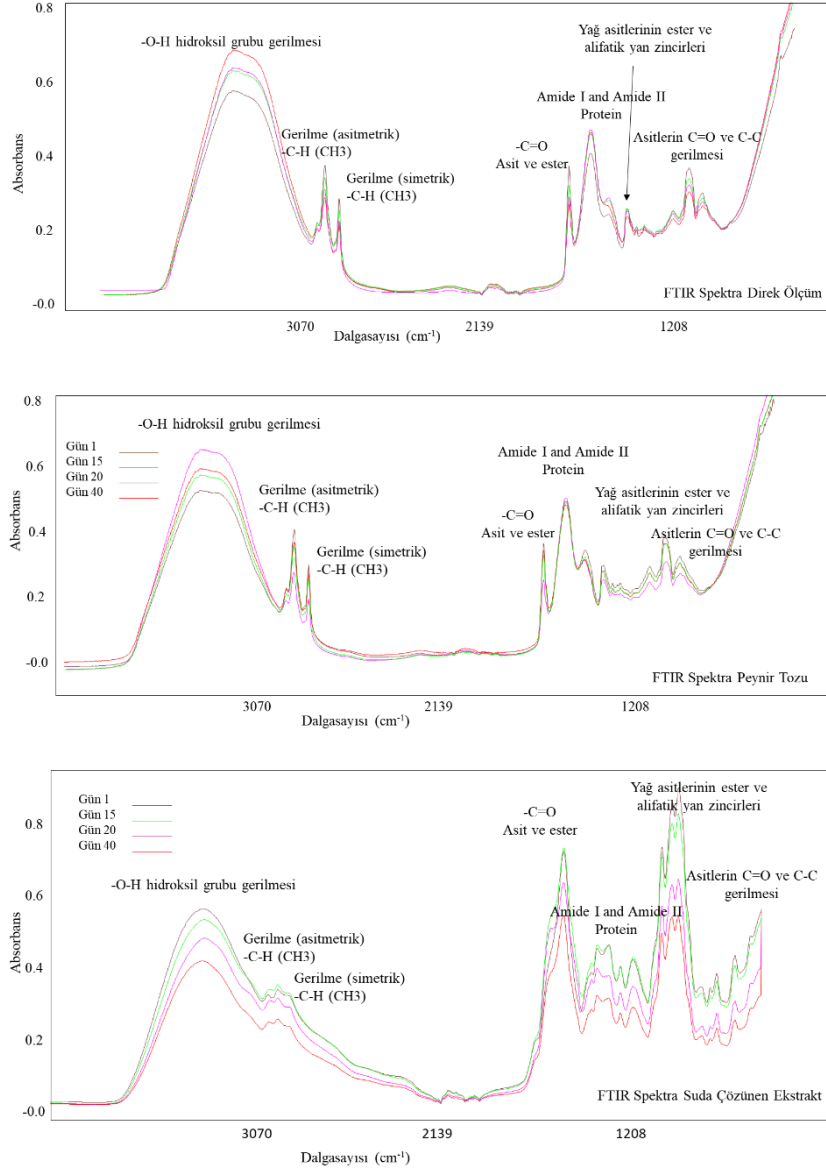
SIMCA modellerinin her titreşimli spektroskopik ekipman için performansı, sınıf projeksiyonları, yanlış sınıflandırılmış örnekler ve sınıflararası mesafeler (ICD) değerlendirilerek değerlendirildi. ICD, farklı sınıfların benzerliğini veya farklılığını tanımlayan birimsiz bir ölçüdür ve 3.0'ın üzerindeki bir ICD, sınıfların (depolama günleri) birbirinden önemli ölçüde farklı olduğunu göstermiştir (Vogt ve Knutsen, 1985).

Organik asit ve yağ asit seviyeleri kısmi en küçük kareler regresyon (PLSR) modellemesi kullanılarak toplanan spectral verilerle ilişkilendirildi. PLSR analizinden önce, modellerin sağlamlığını değerlendirmek için very seti rastgele olarak eğitim (toplam örnek büyüklüğünün % 80'i) ve harici doğrulama (kalan% 20) grupları olarak iki alt gruba ayrıldı. Modellerin tahmin performansı, standart çapraz doğrulama hatası (SECV), belirleme katsayısı (r) ve aykırı değer teşhisi kullanılarak değerlendirildi. PLSR modellemesi sırasında, uç değerler ihmal edilerek en uygun modellemeler ęretildi.

SONUÇ ve TARTIşMA

Beyaz Peynir Örneklerinin Spektral Karakterizasyonu

Peynir örneklerinin spectral değerlendirilmesinde olgunlaşma boyunca ilk farklılık nem içeriğinin gösteren bant aralığı olan 3700-3100 cm^{-1} spektral aralıktaki göstermiştir (Woodcock vd., 2008). Yaklaşık 2960, 2914 ve 2847 cm^{-1} deki soğurma bantları, yağ asitlerine bağlı olarak -C-H esnemesini göstermektedir. Asitlerin ve esterlerin C=O gerilmesi ise 1750-1700 cm^{-1} aralığında görülebilir (Rodriguez-Saonavd., 2006). 1740 cm^{-1} deki soğurma bandı, peynir numunelerinde bulunan yağ asitleri, amino asitler ve organik asitlerin asit (HOC=O) gruplarını göstermektedir. 1680-1239 cm^{-1} arasındaki spektral aralık, Amit-I (1680-1631 cm^{-1}), Amit-II (1560-1533 cm^{-1}) ve Amit-III (1472-1239 cm^{-1}) protein bölgesi olarak rapor edilmiştir (Barth, 2007). Bu spektral aralıktaki peynir spektrumlarındaki farklılıklar, olgunlaşma döneminde proteolizin gelişmesinden kaynaklanmaktadır. 1000-1200 cm^{-1} bölgesindeki absorpsiyon bandı, karbonhidrat ve yağ asitlerinin C-C, C-O gerilmesi ile ilgilidir (Grube vd, 2002; Nicolaouvd, 2010). Farklı örnekleme yöntemlerinden olgunlaşma boyunca elde edilen spektraller Şekil 1 de sunulmuştur.

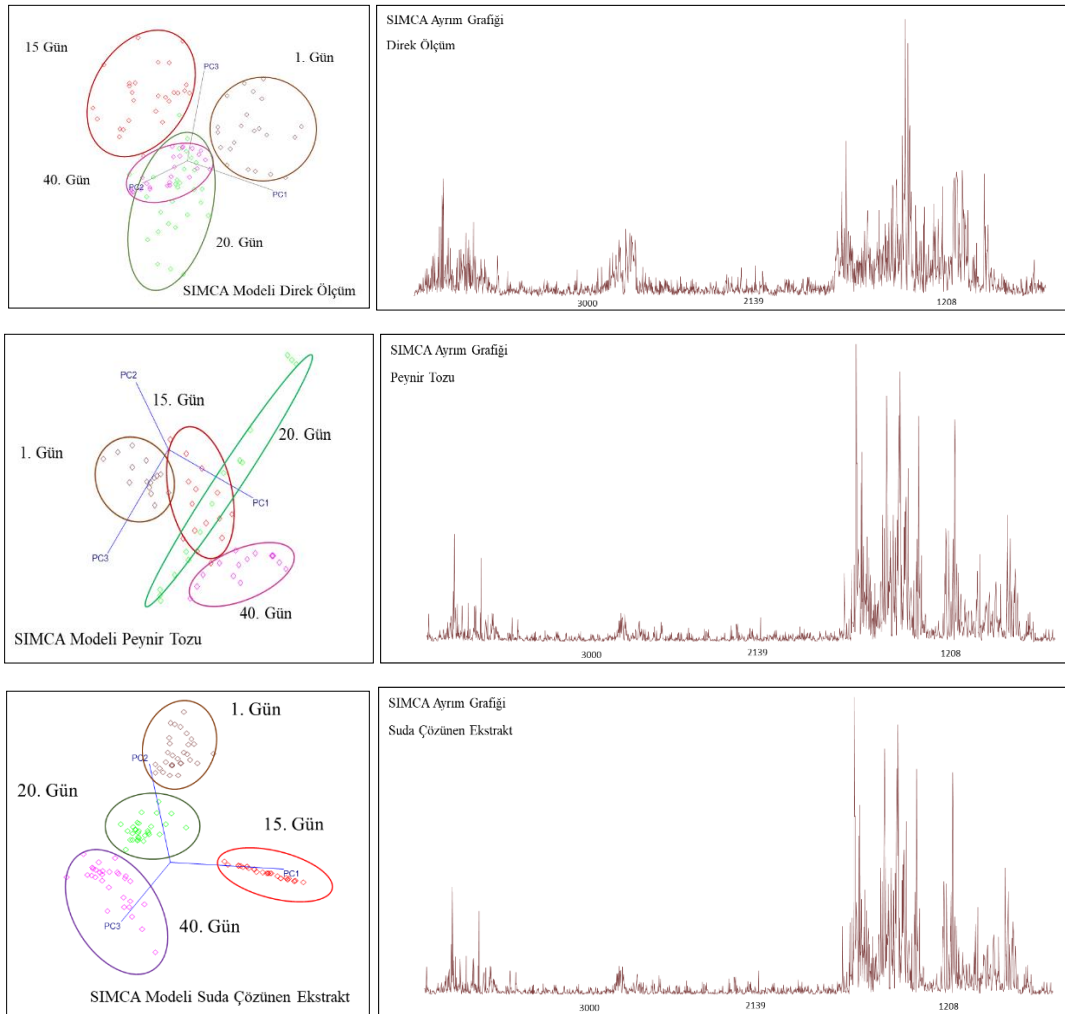


Şekil 1. Beyaz peynir örneklerinin farklı örnekleme metotlarının 1-40 günlerdeki karakteristik FT-IR (700–4000 cm⁻¹) spektrumları (üst: direk ölçüm; orta: peynir tozu; alt: ekstrakt)

Olgunlaşma Yaşına Göre Türk Beyaz Peyniri SIMCA Modellemesi

FT-IR spectral verileri, farklı olgunlaşma aşamalarında olan örneklerin sınıflandırılmasında SIMCA analizi kullanıldı (Şekil 2). Peynirden direk ölçüm alınan örnekler ile peynir tozu örneklerinden elde edilen verilerin ICD değerleri 3.0 ın altında olduğundan depolama boyunca değişim gözlenmemiştir. Suda çözünen ekstraktların ICD değerleri ise 3.3 ile 7.7 arasında değişmekte ve tüm depolama süreleri arasındaki ayırım belirlenebilmektedir. Bu durum peynirdeki biyokimyasal değişikliklerin ayırım yapmak için ekstraktların elde edilmesinin yeterli olduğunu göstermektedir. Peynirin FTIR spektroskopisinde direk ölçümünün alınması peynir içindeki tüm bileşenleri verdiğiinden

hedeflenen bileşenlerin ayırt ediciliği azalmaktadır. FT-IR modeli için ayırt edici güç grafiği (Şekil 2), baskın bantların şu şekilde ortalandığını göstermiştir: 1090 ila 1120 cm^{-1} ve 1045 cm^{-1} , olgunlaşma sırasında laktik asit miktarındaki değişikliklere karşılık gelir (Martí'n-del-Campo vd., 2007), 1470 cm^{-1} ile 1390 cm^{-1} arasındaki bantlar, lipidlerin ve protein yan zincirlerinin bükülme titreşimlerini CH_2 ve CH_3 grupları ile ilişkilidir (Aykasve Rodriguez-Saona, 2016). Yaklaşık 1630 ve 1540 cm^{-1} 'deki bantlar sırasıyla amid I ve amid II protein bantları ile ilişkilidir (Martí'n-del-Campo vd., 2007), 1710-1755 cm^{-1} aralığı Yağasidi esterlerinin $\text{C}=\text{O}$ grupları (Rodríguez Saonavd., 2006) ve 2800-3000 cm^{-1} arasındaki bantlar, uzun zincirli yağasitlerinin CH_2 'sinin asimetrik ve simetrik gerilme titreşimleri ile ilişkilidir (Positive Orr, 1976). Son olarak, olgunlaşma süresi, 3000-3400 cm^{-1} spektral aralıkta gözlemlenen nem içeriğindeki artışla ilişkilendirilmiştir (Woodcock vd., 2008).



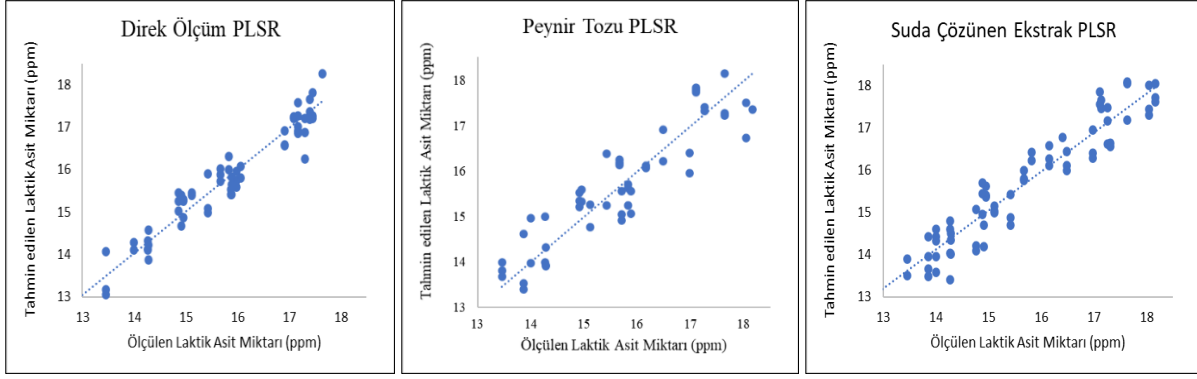
Şekil 2. (Sol taraf) 40 günlük olgunlaşma dönemi için peynir örneklerinin SIMCA modeli (Sağ taraf) ilgili SIMCA modellerine dayalı olarak sınıf ayırımından sorumlu bantları ve bölgeleri gösteren ayırım güç grafiği.

PLSR Modellerinin Geliştirilmesi

Peynir örneklerinin spektrumları, çalışma veya kalibrasyon (toplam verilerin % 80'i) ile harici doğrulama setleri (kalan% 20) olmak üzere rast gelen iki alt gruba ayrılmış ve kalibrasyon ve doğrulama setleri için PLSR modellerinin sonuçları Tablo1 ve Örnek grafikler Şekil 3'de verilmiştir. Ortalamadan uzak değerler modellerden çıkarılmış ve kalibrasyon modelleri, tam bir çapraz doğrulama (birini dışarıda bırakma yaklaşımı) kullanılarak oluşturulmuştur. Optimal factor sayısı 2 ile 5 arasında değişmekte olup, en düşük standart tahmin hatası (SECV) dikkate alınarak seçilmiştir ve bu faktörler, modellerdeki varyansın % 70,2 ile 99,9'unu açıklamaktadır.

Tablo 1. Olgunlaşma sırasında peynir örneklerinde organik ve yağasitlerinin tahmini için FT-IR spektroskopisi kullanılarak geliştirilen kalibrasyon ve doğrulama modellerinin performans istatistikleri.

| Analit | Parametre | Aralık (ppm) | Örnek Hazırlama | | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|--------------|-----------------|--------------|-------|-------------|--------------|--------|-----------------------|--------------|-------|
| | | | Direk Ölçüm | | | Peynir Tozu | | | Suda Çözünen Ekstrakt | | |
| | | | Faktor | r- değeri | SECV | Faktor | r- değeri | SECV | Faktor | r- değeri | SECV1 |
| Organik Asitler | Asetik Asit (ppm) | 310-663 | 4 | 0.92 | 47.11 | 5 | 0.93 | 46.63 | 2 | 0.91 | 53.03 |
| | Laktik Asit (ppm) | 11647-18168 | 2 | 0.95 | 406.7 | 4 | 0.91 | 524.12 | 2 | 0.91 | 89.51 |
| | Sitrik Asit (ppm) | 526-1021 | 2 | 0.91 | 55.33 | 4 | 0.91 | 56.13 | 4 | 0.92 | 74.52 |
| | Propionik Asit (ppm) | 24.7-156.7 | 4 | 0.92 | 18.15 | 4 | 0.92 | 20.87 | 3 | 0.96 | 13.04 |
| Yağ Asitleri | Kaprik Asit (%) | 1.4-3.7 | 4 | 0.91 | 0.29 | 4 | 0.93 | 0.28 | 3 | 0.91 | 0.33 |
| | Lavrik Asit (%) | 2.4-4.2 | 4 | 0.90 | 0.20 | 4 | 0.93 | 0.18 | 3 | 0.91 | 0.20 |
| | Palmitik Asit (%) | 33.3-40.4 | 4 | 0.91 | 0.92 | 4 | 0.93 | 1.09 | 3 | 0.91 | 1.03 |
| | Stearik Asit (%) | 13.1-15.8 | 4 | 0.91 | 0.37 | 4 | 0.92 | 0.41 | 3 | 0.93 | 0.40 |
| | Oleik Asit (%) | 18.9-22.0 | 4 | 0.91 | 0.42 | 4 | 0.93 | 0.44 | 3 | 0.91 | 0.44 |
| | Linoleik Asit (%) | 3.1-3.9 | 4 | 0.92 | 0.09 | 4 | 0.94 | 0.11 | 3 | 0.92 | 0.48 |



Şekil 3. FTIR kullanılarak peynir örneklerindeki Laktik Asit Miktarı için kısmi en küçük kareler regresyon (PLSR) grafikleri.

Sonuç olarak olgunlaşma boyunca (1-40 gün) oluşan değişimler, IR emilimlerinden $1800-900\text{ cm}^{-1}$ ve $2800-3060\text{ cm}^{-1}$ lik aralıkta gözlenmiştir. Peynirin olgunlaşma süresince lipoliz ve glikolizin izlenmesi için organik ve yağ asidi profilinin FTIR spektroskopisi ile belirlenmesi numune hazırlama süresi dahil olmak üzere toplam analiz süresi, numune başına 10 dakikadan az süre almıştır. Bu sonuç biryandan analiz yönetiminin uygunluğu diğer açıdanda olgunlaşma takibinde kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmada ana amaç peynirde lezzet profilinin oluşmasına katkıda bulunan parametrelerden bir olan organik ve yağ asitlerinin FTIR yöntemiyle belirlenebilmesinin ortaya konması olduğundan istenilen hedefe ulaşılmıştır. Bu yöntem peynir kalitesini belirleme ve olgunlaşmayı izlemede önemli olan diğer parametrelere de uygulanarak uygulanabilirliği test edilebilir. Portatif taşınabilir FTIR cihazlarıyla uygulanabilen bu teknik, peynir endüstrisi için peynirin yerinde ve gerektiğinde olgunlaşma rafında analiz edilmesi açısından önemli bir kolaylık sağlayacaktır. Bu yöntem aynı zamanda lezzet gelişimini tahmin etmek için hızlı, ucuz ve basit bir araç olabilir. Örneklemeye metodu açısından değerlendirdiğimizde peynir, peynirtozu ve suda çözünen ekstraktlardan elde edilen veriler karşılaştırıldığında, suda çözünen ekstraktların regresyon modellerinin öngörü kabiliyetinde belirgin bir artış olduğunu açıkça göstermiştir. Ekstraktların elde edilmesinde hem su hem de etanolun kullanımı yağ ve organik asitlerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmıştır. Tüm örneklemeye yöntemleri için organik ve yağ asitlerinin FTIR spektrumlarının tahmini için > 0.91 'lik bir korelasyon katsayısı bulunmuştur ve uygulanan FTIR tekniği, olgunlaşma sırasında genel bileşimle ilgili biyokimyasal değişiklikler hakkında değerli bilgiler sağlayabilmektedir. Peynirin FTIR spektroskopisi üzerine yapılan çalışmalar daha çok uzun süreli olgunlaştırılan veya küflü peynirler için yapılmıştır. Bu çalışmada ise taze olarak veya kısa süre olgunlaştırılan bir peynir türünde de aynı tekniğin uygulanabilirliği irdelenmiş ve 0.91 lik bir korelasyon ve özellikle ekstraktlarda depolama boyunca istatistiksel olarak önemli (ICD 3.3-7.7) fark olduğu belirlenmiştir. Elde edilen veriler ve değerlendirmeler FTIR yönteminin taze ve kısa süreli olgunlaştırılan ve su oranı yüksek olan peynir tiplerinde de uygulanabilirliğini göstermiştir.

TEŞEKKÜR

Yazar, doktora sonrası araştırma bursu için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) ve çalışmanın Ohio Eyalet Üniversitesi (Columbus, Ohio, ABD), Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü laboratuvarında yürütülmesinde verdiği destek için Prof. Luis E. Rodriguez Saona'ya teşekkür eder.

KAYNAKLAR

- Akalin, A. S., Gonc, S., and Akba, Y. 2002. Variation in organic acids content during ripening of pickled white cheese. *J. Dairy Sci.* 85:1670-1676.
- Aykas, D.P., Rodriguez-Saona, L.E. (2016) Assessing potato chip oil quality using a portable infrared spectrometer combined with pattern recognition analysis, *Anal. Methods*, 8: 731-741
- Barth A (2007) Infrared spectroscopy of proteins. *BiochemBiophys Acta* 1767
- Boubellouta, T., Dufour, É. Cheese-Matrix Characteristics During Heating and Cheese Melting Temperature Prediction by Synchronous Fluorescence and Mid-Infrared Spectroscopies. *Food Bioprocess Technol* 5, 273–284 (2012).
- Cevoli C, Alessandro Gori, Angelo Fabbri, et al. FT-NIR and FT-MIR spectroscopy to discriminate competitors, non compliance and compliance grated Parmigiano Reggiano cheese *Food Research International* (Ottawa, Ont.). 2013 Jun;52(1):214-220
- El Soda, M., N. Farkye, J. C. Vuilleumard, R. E. Simard, N. F. Olson, W. El Kholy, E. Dako, E. Medrano, M. Gaber, and L. Lim. 1995. Autolysis of lactic acid bacteria: Impact on flavour development in cheese. Pages 2205–2223 in *Food Flavours: Generation, Analysis and Process Influence*. G. Charalambous, ed. Elsevier Sciences B.V., Amsterdam, The Netherlands
- Fagan CC, O'Donnell CP, O'Callaghan DJ, et al. Application of mid-infrared spectroscopy to the prediction of maturity and sensory texture attributes of cheddar cheese. *J Food Sci.* 2007;72(3): E130-E137.
- Grube M, Bekers M, Upite D, Kaminska E (2002) Infrared spectra of some fructans. *Spectroscopy* 16:289–296
- Karoui, R., Mouazen, A.M., Dufour, E., Pillonel, L., Picque, D., De Baerdemaeker, J., Bosset J.-O. (2006) Application of the MIR for the determination of some chemical parameters in European Emmental cheeses produced during summer. *Eur. Food Res. Technol.*, 222:165-170
- Koca N, Rodriguez-Saona LE, Harper WJ, Alvarez VB. Application of Fourier transform infrared spectroscopy for monitoring short-chain free fatty acids in Swiss cheese. *J Dairy Sci.* 2007;90(8):3596-3603
- Martín-del-Campo, S.T., Picque, D., Cosío-Ramírez, R., Corrieu, G. (2007) Middle infrared spectroscopy characterization of ripening stages of Camembert-type cheeses, *International Dairy Journal*, 17(7): 835-845.
- McSweeney, P. L. H., and M. J. Sousa. 2000. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Lait* 80:293–324.
- Nicolaou N, Xu Y, Goodacre R (2010) Fourier transform infrared spectroscopy and multivariate analysis for the detection and quantification of different milk species. *J Dairy Sci* 93:5651–5660.

- Özer B, Kirmaci HA, Hayaloglu AA et al (2011) The effects of incorporating wild-type strains of *Lactococcus lactis* into Turkish white brined cheese (Beyazpeynir) on the fatty acid and volatile content. *Int J Dairy Technol* 64:494–501.
- Sert, D., Akin, N., Aktumsek, A. (2014) Lipolysis in Tulum cheese produced from raw and pasteurized goats' milk during ripening *Small Ruminant Research* 12 (2-3):351-360
- Singh, T. K., Drake, M. A., and K. R. Cadwallader. 2003. Flavor of Cheddar cheese: A chemical and sensory perspective. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2:166-189.
- Subramanian, A., Alvarez, V.B., Harper, W.J., Rodriguez-Saona, L.E. (2011) Monitoring amino acids, organic acids, and ripening changes in Cheddar cheese using Fourier-transform infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 21(6):434-440,
- Subramanian, A., Rodriguez-Saona, L. E, (2008) Rapid Extraction Method for Analysis of Cheese Flavor Using Infrared Spectroscopy. The Ohio State University, assignee. Provisional Appln. Ser. No. 61/059,890.
- Urbach, G. 1993. Relations between cheese flavor and chemical composition. *Int. Dairy J.* 3:389-422.
- Yaman, H (2020) A rapid method for detection adulteration in goat milk by using vibrational spectroscopy in combination with chemometric methods. *J Food Sci Technol* 57(8):3091–3098
- Woodcock, T., Fagan, C.C., O'Donnell, C.P. (2008) Better Quality Food and Beverages: The Role of near Infrared Spectroscopy, *Food Bioprocess Technol* 1: 117.