

KEÇİ SÜTÜNDEN ÜRETİLMİŞ BEYAZ PEYNİRLERDE OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE MEYDANA GELEN DEĞİŞİMLER

Zübeyde Öner*, Ayşe Mine Sarıdağ

Süleyman Demirel Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta/ Türkiye

Geliş / *Received*: 21.02.2019; Kabul / *Accepted*: 06.06.2019; Online baskı / *Published online*: 19.06.2019

Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2019). Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynirlerde olgunlaşma süresince meydana gelen değişimler. *GIDA* (2019) 44 (3): 523-533 doi:10.15237/gida.GD19048

Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2019). *The changes during maturation of the white cheese produced from goat milk. GIDA* (2019) 44 (3): 523-533 doi:10.15237/gida.GD19048

ÖZ

Bu çalışmada; keçi sütü kullanılarak üretilmiş peynirlerin kimyasal, mikrobiyolojik özelliklerini belirlemenin yanı sıra proteoliz olayı sırasında oluşan peptitlerin antioksidan aktivitelerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla; çiğ keçi sütünden geleneksel yöntemle beyaz peynir üretilmiştir. Peynirlerde 0, 3., 6, 9 ay, kimyasal ve mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. Proteolitik değişimler protein, suda çözünen azot, %12 triklor asetik asit (TCA) de çözünen azot, %5 fosfotungustik asit (PTA) de çözünen azot, serbest aminoasit tayinleri ile belirlenmiştir. Olgunlaşma boyunca görülen proteolitik değişim ve peptit oluşumları RP-HPLC cihazı ile tespit edilmiştir. Peptit fraksiyonları toplanmış ve liyofilize edilmiştir. Elde edilen liyofilize fraksiyonların antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir. Keçi peynirinde antioksidan aktivite 29,34-55,12 mM Troloks/g bulunmuştur. Keçi peynir fraksiyonlarının liyofilize sonrası antioksidan aktiviteleri 6 ayda F3 fraksiyonunun da 112.13 mM Troloks/g, F4 fraksiyonunda 841.04 mM Troloks/g F5 fraksiyonunda ise 416.95 mM Troloks/g, 9 ayda ise F3 fraksiyonunda 895.44 mM Troloks/g, F4 de 841.14 mM Troloks/g, F6 da 595.88 mM Troloks/g bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Biyoaktif peptit, proteoliz, keçi peyniri

THE CHANGES DURING MATURATION OF THE WHITE CHEESE PRODUCED FROM GOAT MILK

ABSTRACT

In the main purpose of this study is to determine chemical and microbiological properties of cheese produced from goat milk, and to identify the antioxidant properties of peptides during proteolysis. For this aim; Cheese samples were produced from goat raw milk by traditional method. Chemical and microbiological properties of cheeses were determined 0th, 3rd, 6th, 9th months of ripening. To determine the level of proteolysis during ripening period of the cheeses, total protein, water soluble nitrogen, 12 % TCA soluble nitrogen 5% PTA soluble nitrogen, and total free amino acid analysis were carried out. The peptide profile of the cheese samples was determined by RP-HPLC during ripening period. Peptide fractions were collected and lyophilized. Antioxidant activity of the lyophilized fractions was determined. Antioxidant activity of goat cheese were found 29.34-55.12 mM Trolox/g. Antioxidant activity were found in the F3, F4, F5 fractions in 6 month 112.13mM Trolox/g, 841.04 mM Trolox/g, 416.95mM Troloks/g, and in the F3, F4, F6 fractions of 9.month 895.44 mM Trolox/g, 841.14 mM Trolox/g, 595.88 mM Trolox/g respectively.

Keywords: Bioactive peptides, proteolysis, goat cheese

* Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ zubeydeoner@sdu.edu.tr,

☎ (+90) 246 211 1596,

☎ (+90) 246 211 1538

GİRİŞ

Birçok süt ürününün işlenmesine uygun olan keçi sütü, beslenme fizyolojisi açısından büyük öneme sahiptir. İçerdiği yüksek besin maddeleri nedeni ile dünyada özellikle Avrupa'da keçi sütüne verilen önem gün geçtikçe artmaktadır (Koyuncu vd., 2005). Ülkemizde de ulusal süt konseyi verilerine göre keçi varlığı %42 oranında artarak 10.3 milyon başa yükselmiştir (USK 2016 raporu). Keçi sütü sağlık üzerine olumlu etkiye sahip olmasından dolayı içme sütü teknolojisinin yanı sıra peynir, dondurma gibi süt ürünlerinin üretimi için aranan bir süt çeşididir. İçerdiği vitaminler (A ve B vitaminleri) ve mineral maddeler (kalsiyum, klor, fosfor, potasyum, magnezyum, selenyum) yanı sıra riboflavin, niasin, esansiyel yağ asidi, kısa ve orta zincirli yağ asitleri olan kaproik, kaprilik ve kaprik asit içermesi nedeni ile önemlidir. Yağ globül çaplarının küçük olması ve lipaz enziminin kısa ve orta zincirli yağ asitlerine kolay etki etmesinden dolayı keçi sütü ürünlerinin sindirimi daha kolay olmaktadır. Yüksek oranda azotlu bileşikler ve fosfat içermesi nedeni ile mide hastaları için önerilen bir gıdadır (Metin 2005, Önür 2015, Ünal vd. 2018).

Peynir ülkemizde en fazla tüketilen süt ürünlerinden birisidir. Ulusal süt konseyi verilerine göre (2016) peynir üretim miktarı 658 bin ton kadardır. Peynir çeşitleri arasında beyaz peynir ilk sırayı almaktadır. Peynirde tat ve aromanın oluşmasını sağlayan en karmaşık olay proteolizdir (McSweeney, 2004). Üretimden itibaren başlayan proteinlerdeki değişim olgunlaşma süresince devam eder ve çeşitli kazein fraksiyonları ortaya çıkar. Bunların yanı sıra serbest amino asit, tiol, amin ve çeşitli aroma bileşikleri meydana gelir. Bu bileşikler peynirde olgunlaşmaya neden olur (Fox, 2003). Olgunlaşmanın ileri aşamasında proteolitik değişimler peynirlerde acılaşıma ve bozulmalara neden olmaktadır. Doğal olgunlaşma sonucu peynirlerde biyopeptitler meydana gelir (Baptista vd., 2017; Lu vd., 2016; Pritchard vd., 2010). Proteoliz miktarı enzimatik aktiviteye, kültür tipine ve olgunlaşma süresine göre değişim gösterir bu durum biyoaktif peptit oluşumuna etki eder (Sieber vd., 2010; Corrons vd., 2017; Baptista vd., 2018). Protein oranı yüksek olan ürünlerde

biyoaktif peptitler yan etkisi olmayan alternatif ürün olarak karşımıza çıkmaktadır. Spesifik aminoasit dizilerine bağlı olarak oluşan sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle biyoaktif peptitlere karşı ilgi artmıştır (Egger ve Menard 2017; Rashidinejad vd., 2017; Ünal vd., 2018). Bu peptitlerin çoğu, ana proteinlerde inaktif halde bulunur ve gıda işleme, fermantasyon veya gastrointestinal sindirimi sırasında parçalanarak ortaya çıkar. Biyoaktif peptitler, çeşitli ürünlerden elde edilerek fonksiyonel gıdaların üretilmesinde kullanılmaktadır (Park vd., 2008). Bu amaçla farklı kaynaklardan ve farklı işlemler uygulanarak elde edilen peptitlerin antioksidan özelliklerinin belirlenmesi önemlidir (Park vd., 2007; Safitri vd., 2017; Santiago-López vd., 2018).

Biyoaktif peptitler, sindirim sistemindeki proteoliz sırasında oluşmalarının yanı sıra çeşitli süt ürünlerinin üretimi sırasında da ortaya çıkmaktadırlar. Bu araştırmada ülkemizde üretilen keçi peynirlerinde olgunlaşma sırasında meydana gelen kimyasal ve mikrobiyolojik değişimlerin izlenmesinin yanı sıra proteolitik değişimler sonucu oluşan peptitlerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL METOT

Materyal

Isparta bölgesinde farklı üreticilerden sağlanan keçi sütünden geleneksel yöntemlerle keçi Beyaz peyniri üretilmiştir (Öner vd. 2006). Peynirler 3 tekerrür analizler 2 paralel yapılmıştır. Peynir örnekleri depolama süresince 4°C'de muhafaza edilmiş ve 0. (1. Gün), 3. 6. ve 9. aylarda kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

Metot

Kimyasal analizler

Peynirde; toplam kuru madde IDF (2001), titrasyon asitliği (TS 591), yağ (ISO, 2008) ve tuz (IDF, 1988) miktarları belirlenmiştir. pH ölçümleri pH metre yardımıyla gerçekleştirilmiştir (IDF, 1989). Peynirde kuru madde gravimetrik yöntemle belirlenmiştir.

Peynirlerde toplam serbest amino asit miktarı, suda çözünen azot (SÇA), % 12'lik Trikloroasetik Asitte Çözünen Azot (TCA-N), % 5

fosfotungstik asitte (FTA) çözünen azot, toplam serbest aminoasit miktarı belirlenmiştir (Polychroniadou vd., 1999; Folkertsma and Fox, 1992). Protein ve miktarı Suda Çözünen Azot (SÇA) oranı Kjeldahl Metodu ile saptanmıştır (IDF, 1993)

Olgunlaşma Değeri=% SÇA/% Toplam azot *100

Toplam Serbest Aminoasit Miktarı Forkertsma ve Fox (1992) tarafından uygulandığı şekliyle yapılmıştır. Cd-ninhydrin reaktifi ile hazırlanan örneğin 507 nm'deki absorpsansı ile belirlenmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler

Mikrobiyolojik analizlerden koliform grubu, maya-küf, toplam mezofilik aerobik bakteri, laktik asit bakterinin sayımı gerçekleştirilmiştir. Koliform grubu mikroorganizmaların analizi için Eosin Metile Blue agar (EMB) küf sayımı için ise Potato Dextrose Agar (PDA) kullanılmıştır. Toplam mezofilik aerobik bakteri Plate Count Agar (PCA), Enterokok sayımı için Aside Dekstroz Agar kullanılmıştır. Laktik asit bakterilerinin sayımı, M17 ve MRS agar besiyerlerinde yapılmıştır Stafilokoklar için Baird Parker Agar (BPA) besiyeri kullanılmıştır (de Man vd., 1960; Terzaghi ve Sandine, 1975; Lourens-Hattingh ve Viljoen, 2001).

Biyoaktif peptitlerin eldesi

Biyoaktif peptitlerin eldesi için peynir örneklerinin hazırlanması Donkor vd., (2007) göre yapılmıştır.

HPLC analizi

Peynirdeki suda çözünen peptitlerin analizinde ters faz Shimadzu LC-20 AT serisi HPLC, Zorbax 300 SB-C8 monomerik kolon (250 x 9,4 mm i.d., 6.5 µm partikül büyüklüğü, 300 Å por çapı, Agilent, Waldbronn, Almanya) kullanılmıştır. Örnekler 0.2g/5mL oranında, % 0.1 TFA içerisinde çözülmüş ve 0.45 µm çaplı filtreden geçirilerek HPLC kolonuna 750 µL enjekte edilmiştir. Çalışılan programda 3.dak B %10, 10dak %15, 20 dak %20, 80 dakikaya kadar B %44 kadar izokritik olarak artmış 85. dak B % 50 olmuştur.

Peynir Fraksiyonlarının Antioksidan aktivite tayini

HPLC için hazırlanmış olan peynir örneklerinin ve HPLC'den elde edilen fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS metodu ile belirlenmiştir (Re vd., 1999; Cemeroglu, 2007).

İstatistik Değerlendirme

İstatistiksel analizler SPSS versiyon18 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Depolama süresince meydana gelen değişim Duncan çoklu karşılaştırma testine göre $P < 0.05$ önem düzeyinde test edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Peynirlerde Meydana Gelen Kimyasal Değişimler

Peynirlerin % kuru madde değerleri olgunlaşma boyunca azalma göstermiştir (Çizelge 1). TGK Peynir Tebliğine göre beyaz peynirlerde kuru madde oranı %52.55 ile başlangıç aşamasında yarı sert peynir tipine uygun iken olgunlaşma sonucunda meydana gelen kuru maddedeki azalma nedeni ile yarı yumuşak peynir tipi için verilen değerlere (%38.43) düşmüştür. Gürsel vd. (2003), yaptıkları beyaz peynirde tam yağlı kontrol örneğinde kuru madde miktarını %46.95-38.78, az yağlı kontrol örneğinde ise % 41.51-33.90 olarak belirlemişlerdir. Gürsoy vd. (2001) ise olgunlaşmamış taze peynirde kuru madde oranını % 46.94 olduğunu olgunlaşma sonucunda bu değer % 39.05 e düştüğünü belirtmişlerdir.

Salum vd. (2018) piyasa taraması şeklinde yapmış oldukları farklı bölgelerdeki beyaz peynirlerdeki kuru madde oranlarının %50.0-54.6 arasında değiştiğini belirtmişlerdir.

Beyaz peynir, salamurada olgunlaştırılan bir peynir türü olup depolama süresince peynir içine tuz difüzyonu ya da protein hidrolizatlarının salamuraya difüzyonu söz konusudur. Bu nedenle depolama süresince rutubet değeri değişim göstermektedir. Yapılan istatistiksel değerlendirmede olgunlaşma süresince meydana gelen değişimin önemli olduğu tespit edilmiştir ($P < 0.05$). Feta peynirlerinde ve salamurada bekletilen beyaz peynirlerde olgunlaşmanın ileriki evrelerinde rutubet miktarının artması, peptit

bağlarının hidrolizi ve yeni iyonik grupların oluşması sonucu salamuradan peynir içine su difüze olmasından kaynaklanmaktadır (Sarantinopoulos vd., 2002).

Deneme peynirlerinin ortalama kuru madde üzerinden yağ değerlerine ait veriler Çizelge 1’de

verilmiştir. Üretilen peynirlerde bu değer 40.57-53.60 arasında değişmiştir. Başlangıç ve olgunlaşma süresince kuru maddelerdeki farklılıklar bu sonuçların oluşmasına neden olmuştur.

Çizelge 1. Peynirlerin kimyasal analiz sonuçları (n=3)
Table 1. Chemical analysis results of cheeses (n=3)

Olgunlaşma süresi	Kuru Madde %	Asitlik (°SH)	Asitlik (pH)	Tuz/KM %	Yağ/KM %
<i>Ripening time</i>	<i>Dry matter (%)</i>	<i>Acidity (°SH)</i>	<i>Acidity (pH)</i>	<i>Salt/Dry matter %</i>	<i>Fat/Dry matter (%)</i>
0. Ay 0.month	52.55±2.9a	64.67±1.9c	5.62 ± 0.2a	3.7±0.3b	40.57
3. Ay 3.month	51.27±2.0a	75.00±1.7b	5.52 ± 0.2a	3.67±0.3b	44.08
6. Ay 6.month	42.44±0.6b	66.67±7.26c	5.11 ± 0.2b	10.70±0.8a	49.67
9. Ay 9.month	38.43±0.63c	81.83±4.5a	4.88±0.04c	10.85±0.62a	53.60

*Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık $P < 0.05$ düzeyinde önemlidir.
The different letter in the same column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Peynirlerde oluşan asitlik mikroorganizmalar tarafından laktozun fermentasyonu ile meydana gelir. Çeşitli mikroorganizmalar laktik asidin yanı sıra asetik asit, formik asit, bütirik asit vb asitler üreterek titrasyon asitliğini artırırlar. Peynirlerde olgunlaşmaya bağlı olarak titrasyon asitliğinde artış görülür. Ancak Çizelge 1’de görüldüğü üzere keçi sütünden üretilen peynirlerde 64.67-81.83 SH arasında değişmiştir. İstenmeyen mikroorganizmaların üzerine laktik asit bakterilerinin inhibisyon etkisi göstermesi için salamura peynirlerde asit gelişimi çok önemlidir (Bintis ve Papademas 2002; Hayaloğlu vd., 2005). Çizelgeden görüldüğü üzere pH değeri depolama süresince değişim göstermiştir. Laktik asit bakterileri depolama süresince peynirde kalan laktozu laktik aside fermente ederek beyaz peynire özgü asidik tadın oluşmasına katkıda bulunur. Ancak çiğ süttten yapılan beyaz peynirlerde kontrollü fermentasyon sağlanamadığı için ortamdaki hakim flora değişkenlik göstermiştir. Olgunlaşmanın ilerleyen dönemlerinde titrasyon asitliğinde meydana gelen dalgalanmalar, olgunlaşma sırasında proteolize bağlı olarak bazik

karakterdeki maddelerin ortamda oluşmasından ve kuru maddedeki değişimden kaynaklanmıştır. İstatistiksel değerlendirme sonucunda titrasyon asitliğindeki farklılığın üzerine olgunlaşma süresinin önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Hayaloğlu vd. (2013) Saanen ırkı keçi sütü kullanarak klasik yöntemle ürettikleri keçi peynirinde kuru madde oranını % 37.56, yağ oranını % 16.18, tuz oranını % 4.43, protein oranını % 14.40, kül oranını % 3.80 değerlerinde bulmuşlardır. Tuz miktarı dışında belirlenen diğer bileşen oranları çalışmada belirlenen değerlerden düşük bulunmuştur.

Keçi sütünden üretilmiş olan peynirlerde protein değerleri % 16.3-7.95 arasında değişmiştir. Olgunlaşma indeksi başlangıç aşamasında % 13.28 iken 9.ayda bu değer % 61.87 ye ulaşmıştır (Çizelge 2). Depolama sürecinde metabolik aktiviteye bağlı olarak toplam protein oranı azalırken düşük molekül ağırlıklı azot fraksiyonunda artış meydana gelmiştir. Azot fraksiyonlarının bazıları salamuraya geçer ve

salamura ortamında çözünen azot fraksiyonlarının konsantrasyonunda artış meydana gelir (Hayaloğlu vd., 2002; Öner ve Sarıdağ 2018). Salamurada olgunlaştırılan peynirlerde depolama boyunca suda çözünen azot fraksiyonları dengeye gelinceye kadar salamuraya geçer. Çiğ süttten üretilen peynirlerde zengin mikroorganizma içeriğine göre proteoliz oranı değişim

göstermektedir. Olgunlaşma indeksinin 9. ayda % 61.87 olması çiğ sütte bulunan mikrobiyal flora ve onların proteolitik aktivitesine bağlı olarak arttığını göstermiştir. İstatistiksel değerlendirme sonucunda olgunlaşma süresince protein oranındaki değişimin önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Çizelge 2. Peynirlerin protein ve proteoliz değerleri (n=3)
Table 2. Protein and proteolysis values in cheeses (n=3)

Olg.süresi Rip. period	% Protein % Protein	%SCP WSP%	Oİ RI	%TCA-SN %TCA-SN	%PTA -SN %PTA-SN	FAA FAA
0.Ay 0.month	16.30±0.19 ^a	2.16±0.01 ^d	13.28	0.18±0.005 ^d	0.07±0.002 ^d	0.070
3. Ay 3.month	11.06±0.08 ^b	2.76±0.11 ^c	25.02	0.32±0.006 ^c	0.13±0.003 ^c	0.136
6. Ay 6.month	9.44±0.04 ^c	3.75±0.13 ^b	39.69	0.44 ±0.008 ^b	0.19±0.004 ^b	0.174
9. Ay 9.month	7.95±0.08 ^d	4.92±0.15 ^a	61.87	0.48±0.009 ^a	0.23±0.007 ^a	0.215

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık $P < 0.05$ düzeyinde önemlidir.

The different letter in the same column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

SCP: Suda çözünen protein, Oİ: Olgunlaşma indeksi, %TCA-SN: %12 trikloroasetik asitte çözünen azot, PTA-SN: %5 fosfotungstik asitte çözünen azot, FAA: Serbest amino asit (mg Leu 100 g⁻¹)

WSP: Water-soluble protein; RI: Ripening index, %TCA-SN: 12% trichloroacetic acid-soluble nitrogen, PTA-SN: 5% phosphotungstic acid-soluble nitrogen, FAA: free amino acid. (mg Leu 100 g⁻¹)

% 12 TCA da çözünen azotlu madde miktarı olgunlaşma boyunca artmıştır (Çizelge 2). Bu artış peptitlerin oluşumunu göstermektedir. Suda çözünen azotlu maddelerden farkı peptit yapılarının daha küçük olmasından kaynaklanmaktadır (2-22 amino asitten oluşan peptitler). Peynir üretiminden hemen sonra α_{s1} -kazeininin Phe₂₃-Phe₂₄ arasındaki peptit bağları hidrolize olur ve f1-23 ve f24-199 fraksiyonlarını oluşturur. Küçük zincir uzunluğuna sahip olan α_{s1} -kazein (f-23) fraksiyonu, mikrobiyel proteinazlarca (Gln₉-Gly₁₀ ve Gln₁₃-Gln₁₄ arası peptit bağları) hızlı bir şekilde hidrolize edilerek serbest amino asitler ve küçük molekül ağırlıklı peptitleri oluşturur (Fox vd., 1996). Oluşan bu öğeler % 12 lik TCA'da çözünen ve proteolizin değerlendirilmesi açısından önemlidir. Ardö ve Polychroniadou (1999), TCA da çözünen azotlu maddelerin 600-15000 Da arasındaki molekül ağırlığa sahip peptitlerden oluştuğu ve bu peptitlerin α_{s1} -kazeinin hidroliz ürünleri olduğunu

bildirmiştir. TCA da çözünen madde azotlu madde bazında olgunlaşma indeksi ileri düzeyde proteoliz hakkında bilgi vermektedir. Olgunlaşma süresince peynirlerin % 12 TCA'da çözünen azot oranlarındaki artışın önemli olduğu saptanmıştır ($P < 0.05$).

Peynirin % 5 PTA'da çözünen azot fraksiyonları 600-700 Dalton'dan küçük peptitler (di-, tri- ve tetra- peptitler) ile amino asitleri içerdiği belirtilmektedir. (McSweeney ve Fox, 1997). Peynirlerin fosfotungstik asitte çözünen azot oranları olgunlaşma süresince artış göstermiştir. %5 PTA ya göre belirlenen olgunlaşma değerinin zamana bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği belirlenmiştir ($P < 0.05$) (Çizelge 2).

Proteinlerdeki toplam serbest amino asit miktarları, amino asitlerin fonksiyonel amino gruplarının kromofor bir madde ile boyanmasıyla belirlenmektedir. Serbest amino asitler ikincil

katabolik değişimlerde substrat olarak kullanılmakta ve daha küçük molekülle lezzet bileşenleri oluşmaktadır. Peynir çeşidi ve olgunlaşma koşullarına bağlı olarak konsantrasyonları değişebilmektedir. Ancak, peynirin kendisine özgü aromasının oluşumunda yüksek konsantrasyonda amino asit oluşumu gerekli olmasına rağmen, bu amino asitlerin ileri parçalanma ürünlerine kadar katabolize olması gerekmektedir (Avşar vd., 2011). Peynirlerin serbest amino asit miktarları Çizelge 2'de verilmiştir.

Depolama süresince peynirlerde meydana gelen proteoliz miktarına göre serbest amino asit oluşumunun artışı izlenmiştir. Birçok çalışmada

peynir olgunlaşması sırasında serbest amino asit miktarının artışı belirtilmiştir (Oneca vd.2007; Wishah 2007; Emirmustafaoglu ve Coşkun 2012).

Keçi Beyaz Peynirlere Ait Mikrobiyal Analiz Sonuçları

Olgunlaşma boyunca mikroorganizma gelişimleri 3' er aylık periyotlarda izlenmiştir. Çizelge 3 ve 4'de olgunlaşma süresince keçi beyaz peynirlerin bakteri profillerindeki değişim görülmektedir. Laktik asit bakterileri (laktokok, laktobasil ve enterokok) peynirlerde dominant floradır. Olgunlaşmanın 1. gününde 6.88 log kob/g olan laktobasil sayısı olgunlaşma boyunca artış göstermiştir. Laktokok sayım sonuçlarında ise dalgalanma görülmüştür.

Çizelge 3. Peynirlerde mikrobiyolojik analiz sonuçları (log kob/g)
Table 3. Results of microbiological counts of cheeses (n=3) (log cfu/g)

Olgunlaşma süresi <i>Ripening period</i>	TMAB <i>TMAB</i>	Lc <i>Lc</i>	Lb <i>Lb</i>
0. Ay <i>0.month</i>	6.95±0.08b	7.39±0.28 a	6.88±0.31b
3. Ay <i>3.month</i>	7.00±0.23b	6.99±0.37b	6.72±0.27b
6. Ay <i>6.month</i>	7.69±0.15a	7.70± 0.27a	7.77±0.29a
9. Ay <i>9.month</i>	7.75±0.08a	7.37±0.10a	7.77±0.29a

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık $P < 0.05$ düzeyinde önemlidir.

The different letter in the same column are significantly different from each other (P < 0.05).

TMAB: Toplam Mezofilik Aerob Bakteri, Lb: Lactobacillus, Lc: Lactococcus

TMAB: Total Mesophilic Aerob Bacteria, Lb: Lactobacilli, Lc: Lactococci

Hijyenik kalite kriterlerinden olan koliform bakteri, Stafilokok sayısı peynir üretiminin ilk gününden itibaren sayımlarda belirlenmiştir (Çizelge 4). Bu mikroorganizma gruplarının ortamda yüksek oranda bulunması üretimde çiğ süt kullanılmasından kaynaklanmıştır. Koliform, maya-küf, Stafilokok sayıları 9 ay boyunca tamamen ortamdaki kalkmamıştır. Bu durum ortamın asitlik değerinin aşırı yükselmemesinden kaynaklanmıştır. *E. coli* 6. aydan itibaren peynirde tespit edilmemiştir. Başlangıçta <10 olan enterokok sayısı 6. ayda 6.39 log kob/g 9. ayda ise 6.6 log kob/g ulaşmıştır. Geleneksel yöntemle çiğ süten üretilen beyaz peynire, çiğ süten, üretim aşamalarında ve sonrasında patojen bakteriler kontamine olmaktadır. Beyaz peynir üzerinde

yapılan çalışmalarda yüksek oranda enterokok, koliform ve *S.aureus* tespit edilmiştir. Araştırmacılar, olgunlaşma boyunca enterococci türü bakteri sayısının nispeten sabit kaldığını, koliform, Staphylococcus ve Micrococcus türü bakteri sayılarının ise azaldığını ve değişik faktörlere göre peynir mikroflorasının değişebildiğini belirtmişlerdir (Turantas vd. 1989; Karakuş ve Alperden 1995; Demirtaş ve Coşkun 2018).

Keçi Peynirlerinin ve Fraksiyonlarının Antioksidan Aktiviteleri

Peynirlerin antioksidan aktivite tayini ABTS yöntemi ile yapılmıştır. Sonuçlar Çizelge 5'de verilmiştir. 9 aylık depolama süresince Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC)

değerlerindeki değişim önemli bulunmuştur ($P < 0.05$). Peynirlerin depolanması sırasında açığa çıkan peptit miktarına bağlı olarak antioksidan aktivitenin arttığı izlenmiştir. Antioksidan aktivite ile proteolitik aktivite karşılaştırıldığında liyofilize peynir örneklerinde proteolizin oluşum hızıyla antioksidan aktivitedeki değişimin benzer olduğu

ve aralarında pozitif bir korelasyon olduğu görülmektedir. Laktik asit bakterilerinin antioksidan peptitlerin oluşturma çalışmalarında radikal giderme aktivitesinin suşa bağlı özellik olduğu ve bu durumun proteolizle ilişkili olduğu görülmektedir (Virtanen vd., 2007; Gupta et.al.2009).

Çizelge 4. Keçi beyaz peynirinde mikrobiyolojik analiz sonuçları (n=3) (log kob/g)

Table 4. Microbiological counts of cheeses (n=3) (log cfu/g)

Olgunlaşma süresi <i>Ripening period</i>	Staph. spp. <i>Staph. spp.</i>	Koliform <i>Coliform</i>	<i>E.coli</i> <i>E.coli</i>	Maya-küf <i>Yeast-Mould</i>	Enterokok <i>Enterococ</i>
0.Ay <i>0.month</i>	4.75±0.12 ^a	6.88±0.47 ^a	6.06±0.31 ^a	4.72±0.29 ^b	<10 ^b
3. Ay <i>3.month</i>	3.26±0.22 ^b	5.28±0.06 ^b	4.10±0.15 ^b	5.02±0.12 ^b	<10 ^b
6. Ay <i>6.month</i>	3.22±0.08 ^b	4.94±0.32 ^b	<10 ^c	4.96±0.73 ^b	6.39±0,41 ^a
9. Ay <i>9.month</i>	3.14±0.51 ^b	4.01±1.02 ^c	<10 ^c	6.06±0.65 ^a	6.6 ±0,26 ^a

* Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık $P < 0.05$ düzeyinde önemlidir.

The different letter in the same column are significantly different from each other ($P < 0.05$).

Çizelge 5. Peynirlerin antioksidan aktivite değerleri (n=3)

Table 5. Antioxidant activity values of the cheeses (n=3)

Ay <i>Month</i>	mM Troloks/g <i>mM Troloks/g</i>
0	29.34
3	54.18
6	55.01
9	55.12

Öztürk ve Akın (2018) tarafından yapılan keçi sütünden üretilmiş tulum peynirinde antioksidan aktivitenin yüksek olduğu belirlenmiş bu durumun keçi sütünde bulunan yüksek orandaki hidrofilik peptit varlığından kaynaklandığı belirtilmiştir. Aynı şekilde Mushtaq vd. (2015) yaptıkları çalışmada keçi sütünden üretilen peynirlerde DPPH inhibisyon oranının manda sütünden üretilen peynirlere göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Peynirlerin proteoliz olayını izlemek amacı ile yapılan kromatografik ayırmada 0, 3., 6. ve 9.ay peynirlerinin kromatogramlarına göre 10'ar

dakika ara ile peptit fraksiyonları, fraksiyon kolektör vasıtası ile toplanmış ve fraksiyonların antioksidan aktiviteleri ABTS yöntemi ile belirlenmiştir.

Toplanan fraksiyonların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için önce tüm fraksiyonlar liyofilize edilmeden ön deneme olarak % inhibisyon oranları belirlenmiştir. İnhibisyon oranı yüksek çıkan fraksiyonlar liyofilize edildikten sonra troloks eş değeri olarak hesaplanmaları yapılmıştır. Olgunlaşmanın 6. ve 9. ayındaki peynirlerde en yüksek antioksidan aktivite oranı gösteren fraksiyonlar Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 6. Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktivite miktarı (n=3)

Table 6. Amount of antioxidant activity of the cheeses fractions (n=3)

6.ay <i>6.month</i>	mM Troloks/g	9.ay <i>9.month</i>	mM Troloks/g
5	416.951	6	595.887
4	841.040	4	841.148
3	1112.131	3	895.441

Çizelge 3 ve Çizelge 4'de görüldüğü üzere çiğ süten elde edilen peynirlerde bulunan mikrobiyolojik yük aylara göre farklılıklar göstermektedir. Mikroorganizma içeriğine bağlı olarak başlangıçta 10'dan daha az sayıda olan enterokok sayısında 6. ve 9 aylarda büyük artış izlenmiş sayım sonuçları ile antioksidan aktivite arasında korelasyon bulunmuştur ($P < 0.01$). ABTS radikal giderme aktivitenin proteolizin ilerlemesi ile artış gösterdiği ve genellikle fermantasyon süresince aktivitenin arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Peptit profilleri karşılaştırıldığında 4-20 kDa arasındaki bileşenlerin ABTS analizinde daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Virtanen vd., 2007). Elde ettiğimiz sonuçları incelediğimizde (Çizelge 6) erken gelen fraksiyonların en fazla antioksidan aktiviteye sahip oldukları görülmektedir.

SONUÇ

İnsan beslenmesinde önemli bir yeri olan süt proteinleri son 20 yıl içinde yapılan çalışmalar sonucunda çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahip peptitlerin ortaya çıkmasıyla daha da önem kazanmıştır. Bu durum, sütün sadece bir gıda maddesi olarak değil, aynı zamanda biyoaktif bileşenlerin bir kaynağı olarak da ortaya çıkmasına neden olmuştur. Peynirlerde oluşan biyoaktif peptitler süt ve ürünlerinde bulunan proteinlerin parçalanması ile ortaya çıkmaktadır. Zengin bir peynir çeşitliliğine sahip ülkemizde en çok tüketilen peynirlerde bulunan peptitlerin özelliklerinin belirlenmesi önemlidir. Çalışma sonucunda peynir örneklerinde hidrofilik ve hidrofobik bölgede görülen piklerin fraksiyon kollaktörle toplanması sonucu fraksiyonların değişik antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu peptitlerin fonksiyonel ürün üretimi için kullanılması için öncelikle sentezinin yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

Anonymous (2015). Türk gıda kodeksi. Peynir tebliği (2015/6). Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı 8 Şubat 2015 tarih ve 29261 sayılı Resmî Gazete, Ankara.

Anonymous (1989). T.S.E. Beyaz peynir standardı (TS 591), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Ardö, Y., Polychroniadou, A. (1999). Nitrogen Fractionation. *Laboratory Manual For Chemical Analysis Of Cheese*. Publication Office of the European Communities, Luxemburg, pp: 31-40.

Avşar, Y.K., Karagül-Yüceer, Y., Hayaloğlu, A.A., (2011). *Peynirde Aroma, Peynir Biliminin Temelleri*, SİDAS Medya Ltd.Şti., İzmir, 263-301.

Baptista, D. P., Araújo, F. D. S., Eberlin, M. N., Gigante, M. L. (2017). A survey of the peptite profile in Prato cheese as measured by MALDI-MS and capillary electrophoresis. *J Food Sci*, 82: 386-393.

Baptista, D.P., Galli, B. D., Cavalheiro, F.G., Negrao, F., Eberlin, M.N., Gigante, M.L. (2018). *Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptite during Prato cheese ripening. *Int Dairy J*, 87: 75-83.

Bintis, T., Papademas, P. (2002). Microbiological quality of white brined cheeses: A review. *Int J Dairy Tech*, 55: 113–120.

Cemeroğlu, B. (2007). *Gıda Analizleri*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:34. 535 s. Ankara.

Corrons, M. A., Liggieri, C. S., Trejo, S. A., Bruno, M. A. (2017). ACE inhibitory peptides from bovine caseins released with peptitases from *Maclura pomifera* latex. *Food Res Int*, 93: 8–15.

De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). Medium for the cultivation of *Lactobacilli*. *J Appl Bacteriol*, 23: 130-138.

Demirtaş, M., Coşkun, H. (2018) Keçi sütünden farklı pıhtılaştırma yöntemleri ile üretilen tulum peynirlerinin olgunlaştırılması esnasında meydana gelen değişimler. *GIDA*, 43 (5): 835-845. doi: 10.15237/gida.GD18073

Donkor, O.N., Henriksson, A., Singh, T.K., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2007). ACE inhibitory activity of probiotic yoghurt. *Int Dairy J*, 17: 1321-1331.

Egger, L., Menard, O. (2017). Update on bioactive peptides after milk and cheese digestion. *Curr opin in Food Sci*, 14: 116-121.

Emirmustafaoğlu, A., Coşkun, H. (2012) Keçi sütü, inek sütü ve bu sütlerin karışımından yapılan

- otlu peynirlerde olgunlaşma boyunca meydana gelen değişimler. *GIDA* 37 (4): 211-218
- Folkertsma, B. and Fox, P.F. (1992). Use of the Cd-ninhydrin reagent to assess proteolysis in cheese during ripening. *J Dairy Res*, 59: 217–224.
- Fox P.F. (2003). Exogenous Enzymes in Dairy Technology. *Handbook of Food Enzymology*. Whitaker J.R., Voragen A.G.J., Wong D.W.S. ve Marcel Dekker, Inc.ISBN:0-8247-0686-2, P: 1108.
- Fox, P.F., O’connor, T.P., Mcsweeney P.L.H., Guinee, T.P., O’Brien, N. M. (1996). Cheese: Physical, chemical, biochemical and nutritional aspects. *Adv Food Nutr Res*, 39: 163-328.
- Gupta, A., Mann, B., Kumar, R., Sangwan, R.B. (2009). Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening. *Int J Dairy Technol*, 62 (3):339-347.
- Gürsel, A., Gürsoy, A., Şenel, E., Devenci, O., Karademir, E. (2003). The use of freze shocked lactic starters in low-fat White pickled cheese. *Milchwissenschaft*, 58(5/6):279-282.
- Gürsoy, A., Gürsel, A., Şenel, E., Devenci, O., Karademir, E. (2001). Yağ içeriği azaltılmış Beyaz peynir üretiminde ısı işlem uygulanan *Lactobacillus helveticus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* kültürlerinin kullanımı. GAP II. Tarım Kongresi, 24–26 Ekim, Şanlıurfa, Türkiye (pp. 269–278).
- Hayaloglu, A.A., Tolu, C., Yasar, K. (2013). Influence of Goat Breeds and Starter Culture Systems on Gross Composition and Proteolysis in Gokceada Goat Cheese During Ripening. *Small Ruminant Res*, 113: 231– 238.
- Hayaloğlu, A.A., Güven M., Fox, P.F. (2002). Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish White Cheese Beyaz Peynir. *Int Dairy J*, 12: 635-648.
- Hayaloğlu, A.A., Güven, M., Fox, P F. McSweeney P.L.H. (2005). Influence of Starters on Chemical, Biochemical, and Sensory Changes in Turkish White-Brined Cheese During Ripening. *J Dairy Sci*, 88: 3460–3474.
- IDF (1988). Determination of salt content, IDF Standard 12 B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (1989). Milk Fat Products and Butter. Determination of Fat Acidity. IDF Standard 6B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
- IDF (1993). Milk. Determination of the Nitrogen (Kjeldahl Method)and Calculation of the Crude Protein Content. IDF Standard 20B,Brussels: International Dairy Federation.
- IDF (2001). Reference analysis for total solids (AOAC Ovendried method), IDF 20 1- 2. Brussels: International Dairy Federation.
- ISO (2008). Cheese-Determination of fat content-Butyrometer for Van Gulik method ISO3432:2008, International Organization for Standardization.
- Karakuş, M., Alperden, İ. (1995). Effect of starter composed of various species of lactic bacteria on quality and ripening of Turkish White pickled cheese. *Lebensm-Wiss Tech*, 28: 404-409.
- Koyuncu, M., Uzun, K.Ş., Tuncel, E. (2005). Güney Marmara Bölgesi Keçicilik İşletmelerinin Genel Durumu ve Verim Özelliklerinin Belirlenmesi Üzerine Araştırmalar. I. Keçicilik İşletmelerinin Genel Durumu. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 11 (4): 373-378.
- Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J*, 11: 1-17.
- Lu, Y., Govindasamy-Lucey, S., Lucey, J.A. (2016). Angiotensin-I-converting enzyme-inhibitory peptides in commercial Wisconsin Cheddar cheeses of different ages. *J Dairy Sci*, 99: 41-52.
- Mc Sweeney, P.L.H. (2004). Biochemistry of Cheese Ripening. *Int J Dairy Tech*, 57: 127-144.
- Mc Sweeney, P.L.H., Fox, P.F. (1997). Chemical Methods for the Characterisation of Proteolysis in Cheese During Ripening. *Lait*, 77: 41–76.
- Mc Sweeney, P.L.H., Fox, P.F., Lucey J.A., Jordan, K N., Cogan, T.M. (1993). Contribution

- of the indigenous Microflora to the Maturation of Cheddar Cheese. *Int Dairy J*, 3: 613-634.
- Metin M. 2005 (). *Süt Teknolojisi-Sütün Bileşimi ve İşlenmesi*. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 6. Baskı, İzmir, s:802.
- Mushtaq, M., Gani, A., Shetty, P.H., Masoodi, F., Ahmad, M. (2015). Himalayan cheese (Kalari/kradi): effect of different storage temperatures on its physicochemical, microbiological and antioxidant properties. *Lebensmittel-Wissenschaft (LWT) Food Sci and Tech*, 63(2): 837-845. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2015.04.054>.
- Oneca, M., Ortigosa, M., Irigoyen, A., Torre, P. 2007 (). Proteolytic activity of some *Lactobacillus paracasei* strains in a model ovine milk curd system: Determination of free amino acids by RP_HPLC. *Food Chem*, 100: 1602-1610.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aloğlu, H. (2006). Changes in the microbiological and chemical characteristics of an artisanal Turkish white cheese during ripening. *Lebensmittel-Wissenschaft (LWT) Food Sci and Tech*, 39: 449-454.
- Öner, Z., Sarıdağ, A.M. (2018). Proteolysis in the Beyaz (White) Cheese Produced From Various Milk. *J Agric Sci*, 24 (2): 269-277.
- Önür, Y.Z. (2015) Keçi ve Koyun Sütlerinin Kimyasal Bileşimleri. *GIDA* 40: 363-370 doi: 10.15237/gida.GD15026
- Öztürk H.I., Akın, N. (2018). Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk Tulum cheeses during ripening. *Food Sci Tech, Campinas*, 38(4): 674-682. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.11917>
- Park, E. Y., Morimae, M., Matsumura, Y., Nakamura, Y., and Sato, K. (2008). Antioxidant activity of some protein hydrolysates and their fractions with different isoelectric points. *J Agric Food Chem*, 56 (19): 9246-9251.
- Park, Y.W., Juárez, .M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Res*, 68: 88-113.
- Polychroniadou, A., Michaelidou, A., Paschaloudis, N. (1999). Effect of time, temperature and extraction method on the trichloroacetic acidsoluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9: 559-568.
- Pritchard, S. R., Philipps, M., Kailasapathy, K. (2010). Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese. *Food Res Int*, 43: 1545-1548.
- Rashidinejad, A., Bremer, P., Birch, J., Oey, I. (2017). Nutrients in Cheese and Their Effect on Health and Disease. *Nutrients in Dairy and Their Implications on Health and Disease*. 177-192.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26 (9/10): 1231-1237.
- Safitri, N.M., Herawati, E.Y., Hsu, J.L. (2017). Antioxidant Activity of Purified Active Peptide Derived from *Spirulina platensis* Enzymatic Hydrolysates. *Research J of Life Sci*, 4(2): 119-128.
- Salum, P., Govce, G., Kendirci, P., Bas, D., Erbay, Z. (2018). Composition, proteolysis, lipolysis, volatile compound profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey. *Int Dairy J*, 87: 26-36.
- Santiago-López, L., Aguilar-Toalá, J.E., Hernández-Mendoza, A., Vallejo-Cordoba, B., González-Córdova A.F. (2018). Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption. *J Dairy Sci*, 3742-3757.
- Sarantinopoulos, P., Kalantzopoulos, G. , Tsakalidou, E. (2002). Effect of *Enterococcus faecium* on microbiological, physicochemical and sensory characteristics of Greek Feta cheese, *Int J Food Microbiol*, 76: 93-105.
- Sieber, R., Bütikofer, U., Egger, C., Portman, R., Walther, B., Wechsler, D. (2010). ACE-inhibitory activity and ACE-inhibiting peptides in different cheese varieties. *Dairy Sci and Tech*, 90: 47-73.

Terzaghi, B.E., Sandine, W.E. (1975). Improved medium for lactic Streptococci and their bacteriophages. *Appl Microbiol*, 29(6): 807–813.

Turantaş, F., Ünlütürk, A., Gökten, D. (1989). Microbiological and compositional status of Turkish White cheese. *Int J Food Microbiol*, 8: 19-24.

USK (Ulusal Süt Konseyi), (2016). *Dünya ve Türkiye'de Süt Sektör İstatistikleri*, <http://ulusalsutkonseyi.org.tr/wp-content/uploads/2016-sut-raporu.pdf>

Ünal, M.Ü., Şener, A., Cemek, K. (2018). Biyoaktif peptitlerin sağlık üzerine etkileri. *Gıda*, 43 (6): 930-942.

Virtanen,T., Pihlanto, A., Akkanen S., Korhonen, H. (2007). Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria, *J Appl Microbiol*,102: 106-115.

Wishah, R. (2007). Utilization of some adjunct bacteri strains in cheese production in addition to starter culture and their effects on the cheese properties. Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Yüksek Lisans Tezi. Ankara. Türkiye. 101 s.