

KOYUN VE İNEK SÜTÜ KARIŞIMINDAN YAPILAN BEYAZ PEYNİRLERDE SÜT TÜRÜ ORANININ BELİRLENMESİ

DETERMINATION OF SHEEP'S AND COW'S MILK RATIO IN THE WHITE CHEESE MADE FROM MIXTURE OF THESE TWO MILK

Bedia ŞİMŞEK¹, Tümer URAZ²

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Isparta

²Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt Teknolojisi Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi: 14 Haziran 2007

ÖZET: Bu çalışmada, Beyaz peynir üretiminde kullanılan süt türlerinin tanımlanmasında elektroforez (SDS-PAGE ve native-PAGE) yöntemlerinin ayırma düzeyi incelenmiştir. Peynirler koyun, inek sütü karışımından (% 3, 5, 10, 20 ve 100) elde edilmiştir. Elektroforetik analizler, çiğ süt ve 1, 30, 60, ve 90 günlük peynir örnekleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gerek SDS-PAGE, gerekse native-PAGE ile koyun sütünde inek sütü varlığının %5 oranına dek olanı tespit edilebilmiştir. Peynirlerde ise inek sütünün belirlenmesi daha zor bir durum göstermesine rağmen, inek α_s -kazeininin belirleyiciliğinden yararlanıldığında, burada da %5' lik bir oranın sağlanabileceği anlaşılmıştır.

Anahtar kelimeler: Beyaz peynir, SDS-PAGE, native-PAGE

ABSTRACT: In this study, we investigated a distinguish level of electrophoresis (SDS-PAGE and native-PAGE) methods for identification of the kind of milk used in cheese making. The cheeses were manufactured from the mixes of cow's and sheep's milk (3, 5, 10, 20 and 100%). For electrophoretic analysis, samples were taken samples of mixtures of milk after mixing (raw); samples of each of the resulting cheeses after ripening 1, 30, 60 and 90 days. By SDS-PAGE and native-PAGE 5% of cow's milk in sheep's milk (raw) was measurable. Although detection of cow's milk in cheese were more difficult, they were possible to detect 5% by a band similar to bovine α_s -casein.

Keywords: White cheese, SDS-PAGE, native-PAGE

GİRİŞ

Peynir, dünyanın hemen her tarafında yapılan ve sütün kazein ile yağını yüksek oranda bileşiminde bulunduran bir süt mamulüdür (1). Farklı tür hayvanların (koyun, keçi, inek, manda) sütünden elde edilebilir. Ancak kaliteli bazı peynirlerin işlenmesinde koyun sütünden de yararlanılmaktadır.

Peynir imalatında koyun sütü kullanmanın en baş nedeni, hem kurumaddesi, özellikle de kazein ve yağ oranının yüksekliğinden, hem de kendine özgü lezzetinden kaynaklanmaktadır. Bu da doğal olarak koyun sütüne ayrı bir değer kazandırmakta ve her zaman inek sütüne oranla daha yüksek fiyatlarla piyasa bulmaktadır (2).

Sütlerde ve peynirlerde, süt türünü belirlemek amacıyla kullanılan yöntemler, genellikle süt yağı ya da süt proteinin bileşimine dayandırılarak uygulanmıştır. Ancak yağı alınmış sütlerin ürüne karıştırılması durumunda, yağ asitlerine dayalı yöntemlerin kullanılması pek yararlı olmamıştır. Peynir bileşimine giren sütlerin ayırımında kullanılmak istenen basit kimyasal yöntemlerin sonuçlarının (pH, kül, yağ, kurumadde, tuz, toplam azot, suda eriyen azot ve olgunlaşma indeksi gibi) karşılaştırılması da türlerin tespitinde pek başarılı sonuçlar vermemiştir (3, 4 ve 5).

[†]Bedia Şimşek'in doktora tezinden alınmıştır.

*E-posta: Bedia@mmf.sdu.edu.tr

Daha sonraki çalışmalarda çok sayıda araştırmacı süt ürünlerinde, farklı tür sütlerin saptanmasında oldukça güvenilir sonuçlar veren elektroforez ve kromatografi düzenlerinden yararlanmışlardır (5, 6, 7, 8, 9, 10 ve 11). Bu amaca dayalı olarak son yıllarda ELISA, kapılar elektroforez, immunodotting ve isoelektrik focusing gibi yeni tekniklerde kullanıma sokulmuştur (12, 13, 14, 15, 16, 17 , 18 ve 19).

Araştırmada, bir süreden beri birçok ülkede kontrol laboratuvarlarına girmiş bulunan poliakrilamid jel elektroforezi (PAGE) yardımıyla geleneksel bir ürünümüz olan Beyaz peynirde kazein fraksiyonlarındaki farklılıklara dayalı olarak süt türlerinin (koyun ve inek) oranlarını saptayabilme düzeyini belirlemek amaçlanmıştır. Bu bakımdan çalışmanın araştırmacılara ve süt ürünleri ihracatçılarına yardımcı olacağı umulmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Araştırma, Isparta ili Merkez İlçesi Çünür Mahallesinde bulunan inek ve koyun yetiştiricilerinden sağlanan sütler üzerinde gerçekleştirilmiştir. Sağımdan hemen sonra peynir üretiminin yapıldığı yer olan, Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma Deneme Ün-Süt İşletmesine getirilen sütler burada işleme koyulmuştur.

Peynir Yapımı

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Ün-süt işletmesinde gerçekleştirilen peynir yapımı birer hafta ara ile üç kez yinelenmiştir. İşletmeye getirilen sütlerin, %100'ü koyun sütü (A), %3'ü inek+%97'si koyun (B), %5'i inek+%95'i koyun (C), % 10'u inek+% 90'ı koyun (D), % 20'si inek+% 80'i koyun (E), % 100'ü inek (F) olmak üzere hazırlanmış ve ardından 72 ± 1 °C' de iki dakika tutulmak suretiyle pastörizasyona alınmıştır. Daha sonra mayalama sıcaklığına (30 ± 2 °C) kadar soğutulan bu sütler %0.02 oranında kalsiyum klorür (CaCl_2) ve %1 oranında da starter kültürü (Cheese Mix 6, Wisby) ilave edilerek ön olgunlaşma uygulanmıştır. Sütler maya katıldıktan sonra, kesim olgunluğuna gelen pıhtı özel kesme bıçağı ile kesilip, kendi halinde süzölmeye bırakılmıştır. Bu şekilde beklemenin ardından pıhtı baskılı süzmeye alınmış, işlem bittiğinde teleme %14 tuz içeren salamurada 6 saat kadar tuzlamaya tabi tutulmuştur. Salamuradan çıkarılan peynir kalıpları, yukarıda tuz içeriği belirtilen salamura ile birlikte hava almayacak şekilde kapanabilen polietilen torbalar içine konulmuştur. Bu torbalar olgunlaşmanın gerçekleşmesini sağlamak üzere 5 ± 1 °C sıcaklığındaki soğuk hava deposuna 3 ay süre için yerleştirilmiştir (20, 21 ve 22).

Yöntem

Çiğ süt örnekleri IDF (23) ve AOAC (24)'ye göre analize hazırlanmıştır. Beyaz peynirden örnek alma ve bunların analize hazırlaması IDF (23, 25)'e göre yapılmıştır.

Uygulanan Kimyasal Analizler

Çiğ süte uygulanan analizler

Toplam kurumadde, yağ, titrasyon asitliği (26), toplam azot ve kazein azotu Alais (27)'e göre belirlenmiştir. pH; dijital pH metre (HANNA tipi HI 9321, Portekiz) ile tespit edilmiştir.

Peynirlere uygulanan analizler

Toplam kurumadde, titrasyon asitliği ve tuz tayini TSE (28) 'ye; yağ ise TSE (29)'ye göre saptanmıştır. pH, dijital pH metre(HANNA tipi HI 9321, Portekiz) ile belirlenmiştir. Toplam azot, suda eriyen azot Grippon et al (30)'e göre yapılmıştır. Olgunlaşma katsayısı, suda eriyen azotlu maddelerin toplam azotlu maddelere oranı olarak hesaplamayla bulunmuştur.

Çiğ Süt ve Peynirlere Uygulanan Elektroforetik Analizler

Çiğ sütte ve Peynirde Kazeinin elde edilmesi

Devir sayısı 3000 / dakika olan santrifüj tüplerinde 5 dakika santrifüj edilerek yağı ayrılan süt yaklaşık 5 katı kadar sulandırıldıktan sonra 1 N asetik asit ile pH'sı 4.6'a getirilmiştir. Bu pH' da ve 35°C' de 5 dakika bekletilerek kazeinin çökmesi sağlandıktan sonra santrifüjde (3000 dev/dak) 20 dakika santrifüj edilip, çöken kazeinin ayrılması sağlanmıştır. İki kez damıtık su ile yıkanarak ayrılan kazein, gerekiyorsa kurutulabilmektedir (31).

Peynirden alınan 10 g örnek, 5 katı damıtık su ile karıştırıldıktan sonra, bir mikser yardımı ile çok iyi derecede homojen hale getirilmiştir. Bu işlem sırasında yüzeyde ve çeperlerde toplanan yağ ayrılmış ve 1 N asetik asit ile bunun da pH'sı 4.6'a ayarlanmıştır. Sütte olduğu gibi 3000 dev/dak' da 3 dakika santrifüj edilerek ayrılan kazein iki kez damıtık su ile yıkanıp kurutulmuştur. Elde edilen kazeinler 7 M üre çözeltisi içerisinde 1 ml için 2 mg olacak şekilde çözündürülmüştür. Çözündürme işleminin başarılı olarak gerçekleştirilebilmesi için 37°C' de iki saat kadar bekletilen çözelti hiç tortu kalmayacak şekilde karıştırılmış ve arkasından 1 N NaOH yardımıyla ortamın pH sı 7'e ayarlanmıştır (32).

Elektroforez jelinin hazırlanması

SDS-PAGE ve Native-PAGE jelinin hazırlanmasında Özer (33) tarafından verilen yöntemden yararlanılmıştır. Tüm protein standartları son konsantrasyonda 1 mg/ml olacak şekilde örnek tamponu ile 1:1 oranında karıştırılmış ve kuyucuğa toplam 15 µl olacak şekilde ilave edilmiştir. Kazein standardı olarak κ-kazein (Sigma C0406), α-kazein (α_{s1}- ve α_{s2} 'nin karışımı) (Sigma C6780) ve β-kazein (Sigma C6905) kullanılmıştır.

Densitometrik Analizler

Jeller HP PSC 500 scanner da taranarak görüntüleri bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Molekül ağırlıkları ve bant kalınlıklarına göre jellerin incelenmesi UV Transilluminator 2000 (Biolab-İtalya) (UVI Photo MW V.99 Software for windows 95) ile 302 nm'de gerçekleştirilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Araştırmalar sırasında elde edilen kimyasal ve elektroforez analiz sonuçlarının değerlendirmesi; gruplar ve depolama zamanları arasındaki ilişkiler istatistiksel olarak incelenmiştir. Değerlendirme, Windows V7 için hazırlanmış SAS sisteminden yararlanılarak yapılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Peynir yapımında kullanılan çiğ koyun sütlerinin kurumadde (%), titrasyon asitliği (LA %), pH, yağ (%), toplam azot (%), kazein azotu (%) değerleri sırasıyla; 17.4535±0.4818; 0.2220±0.0104; 6.59±0.04; 8.117±0.249; 0.7303±0.0413; 0.5094±0.0446 olarak bulunurken, çiğ inek sütü değerleri sırasıyla; 11.1004±0.6252; 0.1687±0.0047; 6.51±0.11; 3.633±0.249; 0.5250±0.0152 ve 0.3948±0.0147 olarak tespit edilmiştir.

Deneme peyniri örneklerinin, olgunlaşmanın 1. ve 90. günündeki pH, laktik asit (%), kurumadde (%), yağ (%) ve tuz (%) ortalama değerleri, standart hataları ile birlikte Çizelge 1'de verilmiştir. Sözü edilen çizelge incelendiğinde, Beyaz peynir örneklerinin pH değerlerinin olgunlaşma süresince (1. ve 90. gün) düştüğü gözlemlenmektedir. Deneme peynirlerinin tümünde ortaya çıkan bu değişimi bazı araştırmacılar da doğrulamaktadırlar (22,34). Olgunlaşma başlangıcında beyaz peynirlerde pH değerleri; kullanılan süt ve starter kültürün tipi, miktarı, uygulanan üretim tekniği, ön olgunlaştırma sıcaklığı ve benzer etkenlere bağlı olarak değişik düzeylerde olabilmektedir. Olgunlaşma sonunda kendini gösteren pH değerleri; peynirlerin başlangıç asitliği, olgunlaşma sıcaklığı ve süresine de bağlı bulunmaktadır.

Araştırmaya konu olan peynirlerin titrasyon asitlikleri de olgunlaşmanın başında (1.gün) ve sonunda (90. gün) artış yönünde benzer bir değişim ortaya koymuştur. İlk gün peynirlerinde en az 0.765±0.13 (C peyniri), en çok da 0.907±0.12 (F peyniri) olarak belirlenen titrasyon asitliği 90. günde her peynirde, ancak farklı düzeyde artış göstermiştir. Değişik araştırmacılar tarafından örneğin Samsun ve Ankara piyasasından sağlanan Beyaz

Çizelge 1. Beyaz peynirlerin depolamanın 1. ve 90. gününde elde edilen kimyasal analiz sonuçları

| Ör | pH | | LA (%) | | Toplam kurumadde (%) | | Yağ (%) | | Tuz (%) | |
|----|-----------|-----------|------------|------------|----------------------|-------------|------------|------------|------------|------------|
| | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün |
| A | 5.33±0.15 | 4.98±0.22 | 0.855±0.11 | 1.282±0.18 | 44.636±0.86 | 37.023±3.24 | 22.08±2.17 | 18.50±2.64 | 4.992±0.33 | 7.566±0.07 |
| B | 5.39±0.12 | 5.22±0.30 | 0.892±0.05 | 0.997±0.21 | 41.426±0.90 | 37.026±2.60 | 22.00±1.12 | 18.25±0.94 | 4.914±0.58 | 7.098±0.33 |
| C | 5.53±0.22 | 5.12±0.18 | 0.765±0.13 | 1.177±0.15 | 42.110±0.96 | 38.293±2.60 | 21.83±0.44 | 20.00±1.15 | 4.914±0.93 | 7.254±0.81 |
| D | 5.34±0.12 | 5.00±0.22 | 0.870±0.09 | 1.207±0.11 | 40.666±0.66 | 37.000±0.48 | 20.33±0.33 | 17.66±1.01 | 4.368±0.38 | 7.254±0.35 |
| E | 5.40±0.12 | 5.18±0.18 | 0.840±0.09 | 1.143±0.13 | 39.566±1.51 | 38.473±0.70 | 19.75±1.37 | 20.00±0.94 | 4.446±0.58 | 7.566±0.28 |
| F | 5.34±0.16 | 5.12±0.22 | 0.907±0.12 | 1.136±0.15 | 42.046±0.49 | 37.956±1.69 | 21.16±2.31 | 18.25±0.75 | 3.705±0.52 | 7.665±0.21 |

*A: %100'de koyun sütü, B: %3'ü inek +%97'si koyun, C: %5'i inek+%95'i koyun, D: %10'u inek+%90'ı koyun, E: %20'si inek+%80'i koyun, F:%100'ü inek

peynirlerin titrasyon asitliği 1.240 (% LA), başka bir araştırmada ise 0.872 ile 1.927 (% LA) değerleri arasında tespit edilmiştir (35, 36). Gürsoy (34)' da yaptığı çalışmada laktik asit içeriğinin olgunlaşma süresince belli bir oranda artış gösterdiğini işaret etmektedir.

Beyaz peynir örneklerimizin toplam kurumadde ve yağ oranları olgunlaşma dönemi süresince kısmi bir azalış sergilemiştir. Çizelgeden görüleceği üzere peynirlerin yağ içerikleri, 90. günde % 17.66±1.01 ile 20.00±1.15 arasında çıkmıştır (Çizelge 1). Aynı çizelgenin 5. sütununda yer alan örneklerin tuz içerikleri, olgunlaşmanın 1. gününde %3.705±0.52 (F) ile % 4.992±0.33 (A) arasında bir değişim gösterirken, daha sonraki olgunlaşma döneminde bir miktar (% 7.098±0.33 ile % 7.665±0.21 arası) yükselme ortaya koymuştur.

Peynir örneklerinde saptanan kurumadde içerisindeki yağ ve tuz değerleri ile toplam azot, suda çözünen azot ve olgunlaşma katsayısı gibi nitelikler Çizelge 2'de bir araya getirilmiştir. Sözü edilen çizelge incelendiğinde Beyaz peynirlerin kurumadde yağ değerlerinde olgunlaşma aşamasında önemli bir değişim fark edilemezken, kurumadde tuz oranlarının olgunlaşma süresince (1. ve 90. gün) artış gösterdiği anlaşılmaktadır. Beyaz peynirlerle ilgili olarak yapılan pek çok araştırmada, peynirlere ait kurumadde tuz oranlarının olgunlaşma boyunca sürekli bir biçimde yükseldiği gösterilmiştir (34, 35 ve 37).

Anılan çizelgenin (Çizelge 2) ikinci sütununda yer alan kurumadde yağ oranlarının ortalama değerlerine bakıldığında ise olgunlaşma süreci boyunca düzensiz bir değişimle karşılaşıldığı anlaşılmaktadır. Taze Beyaz peynirlerde (1. gün) kurumadde yağ oranı en düşük %49.671±5.63 ve en yüksek %53.105±4.40 iken, 90. günde bu değerler sırasıyla %48.196±2.12 ile % 52.339±1.30 arasında bulunmuştur.

Konumuz olan örneklerin toplam kurumadde, yağ ve tuz içerikleri ile kurumadde yağ ve tuz niteliklerine olgunlaşma süresinin etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarından, bu niteliklerin olgunlaşma aşamasında istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (p<0.01).

Çizelge 2 incelendiğinde, peynirlere ait toplam azotlu madde içeriklerinin olgunlaşma süresince her örneğin belli oranda bir düşüş gösterdiği anlaşılmaktadır. Benzer bir durum örneklerin suda çözünen azot oranlarında da gözlenmektedir. Söz gelişi olgunlaşmaya alınan ilk günde en düşük %0.405±0.02 (D) ve en yüksek de % 0.469±0.03 (F) düzeyinde bir değişim gösteren bu nitelik, 90. günde en az %0.382±0.02 (E) ve en yüksek % 0.457±0.01 (F) değerlerini ortaya koymuştur.

Peynirlerde olgunlaşmanın düzeyini açıklamaya yarayan "olgunlaşma katsayısı" olgunlaşma süresi boyunca 1. ve 90. gün arasında sürekli bir artış göstermiştir. Çalışmamızda elde edilen toplam azot, suda çözünen azot ve

Çizelge 2. Beyaz peynirlerin depolamanın 1. ve 90. gününde elde edilen kimyasal analiz sonuçları

| Ör | Kurumadde yağ (%) | | Kurumadde tuz (%) | | Toplam Azot (%) | | Suda Çözünen Azot (%) | | Olgunlaşma Katsayısı (%) | |
|----|-------------------|-------------|-------------------|-------------|-----------------|------------|-----------------------|------------|--------------------------|------------|
| | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün | 1. gün | 90. gün |
| A | 49.671±5.63 | 49.714±4.12 | 11.213±0.94 | 20.826±2.22 | 2.913±0.09 | 2.085±0.07 | 0.413±0.03 | 0.382±0.04 | 14.25±1.39 | 18.22±1.65 |
| B | 53.105±4.40 | 49.23±1.80 | 11.861±1.98 | 19.169±0.66 | 2.727±0.23 | 2.094±0.06 | 0.413±0.04 | 0.404±0.03 | 15.35±2.07 | 19.32±1.84 |
| C | 51.948±2.21 | 52.339±1.30 | 11.603±1.98 | 19.089±2.27 | 2.700±0.31 | 2.219±0.22 | 0.428±0.03 | 0.434±0.03 | 15.98±0.81 | 19.81±1.69 |
| D | 50.018±0.95 | 48.791±1.07 | 10.725±0.83 | 19.634±1.18 | 2.849±0.11 | 2.108±0.17 | 0.405±0.02 | 0.404±0.01 | 14.20±0.26 | 19.45±1.74 |
| E | 49.915±3.09 | 51.984±1.21 | 11.236±1.48 | 19.665±2.15 | 2.846±0.21 | 2.021±0.14 | 0.433±0.04 | 0.382±0.02 | 15.33±1.85 | 19.19±2.28 |
| F | 50.334±5.39 | 48.196±2.12 | 8.828±1.28 | 19.475±1.80 | 2.905±0.31 | 2.062±0.03 | 0.469±0.03 | 0.457±0.01 | 16.58±2.12 | 22.83±0.57 |

* A: %100'de koyun sütü, B: %3'ü inek+%97'si koyun, C: %5'i inek+%95'i koyun, D: %10'u inek+%90'ı koyun, E: %20'si inek+%80'i koyun, F: %100'ü inek

olgunlaşma katsayısı değerlerinin olgunlaşma süresindeki değişimleri bazı araştırmacıların Beyaz peynirlerde saptamış olduğu değerler ile de benzerlik göstermektedir (22, 34, 35, 36 ve 37).

Deneme peynirlerinin toplam azot, suda çözünen azot oranlarına ve olgunlaşma katsayısı üzerine sürenin etkisini belirlemek amacıyla yapılan varyans analizi sonuçlarından, bu niteliklerin olgunlaşma sürecinden istatistiksel açıdan $p < 0.01$ düzeyinde önemli olarak etkilendiği tespit edilmiştir.

Koyun ve inek sütlerinin karışımından hazırlanan çiğ süt ve peynir örneklerinin SDS-PAGE ve Native-PAGE ile analizleri de yapılmıştır. Böylece, bu iki metodun karışımdaki inek sütlerini ayırt etmede sağlanan sonuçları karşılaştırılmıştır.

Değişik oranlarda karıştırılmış inek ve koyun sütlerinin kazeinlerine ait elektroforez diyagramlarından, karışım oranlarının saptanması üzerine Pierre and Portmann (38) tarafından geliştirilen hesaplama yönteminden yararlanılmıştır. Genel anlamda incelenen numunelerin içerdiği inek α_s -kazeinine dayandırmak suretiyle elde edilen bu hesaplama, aşağıda verilen formüle göre yapılmaktadır:

$$X = 100r\beta_k / (\alpha_T - r) (\beta_I - \beta_k)$$

$$r = \frac{\text{Örnekteki inek } \alpha_s\text{-kazein alanı (mm}^2\text{)}}{\text{Örnekte inek+koyun } \beta\text{-kazein alanı (mm}^2\text{)}}$$

X= % inek sütü proteini,

α_T = tüm kazein içindeki % inek α_s -kazeini,

β_I = tüm kazein içindeki % inek β_s -kazeini,

β_k = tüm kazein içindeki % koyun β -kazeini,

r=bazı ölçüm hatalarını elemine etmek için, karışımdaki inek α_s -kazeininin gösterdiği alan ile karışımdaki inek ve koyun β -kazeinlerinin birlikte alanının oranını göstermektedir.

Jellerdeki her bir örnek için kazeinlere ait alanlardan yararlanarak r değeri ayrı ayrı bulunmuştur.

Çiğ süte ait örneklerin elektroforez diyagramlarından belirlenen karışım oranları (3 tekerrürün ortalaması alındıktan sonra) çizelgede gösterilmiştir (Çizelge 3). Sözü edilen değerlerden izlenebileceği üzere, %3 oranında ilave edilen inek sütü her iki analiz yöntemi (SDS-PAGE ve Native-PAGE) ile de tespit edilememiştir. Karışımdaki inek sütü oranları SDS-PAGE ve Native-PAGE' de sırası ile şu aralıklarda belirlenmiştir; %7.58±1.19-100.64±3.00 ve %6.61±0.34-99.90±2.00.

Beyaz peynirlerin olgunlaşması sırasında SDS-PAGE ve Native-PAGE ile elde edilen jellerin UV Transilluminator 2000 cihazı ile incelenmesi sonucunda, belirlenen α_s - ve β - kazein oranları Çizelge 4'de verilmiştir. Bu oranlarından yola çıkarak yukarıda verilen formülle hesaplanan inek sütü katım oranları (%) ise Çizelge 5'de gösterilmiştir. Olgunlaşmanın ilerlemesi ile birlikte bantların kalınlıklarında ve sayılarında bir miktar artış meydana gelmiştir. Böylece inek sütüne ait tanımlayıcı bandın görülmesi her iki (SDS-PAGE, Native-PAGE) analiz yönteminde de zorlaşmıştır. Sonuç olarak, inek sütü varlığının tespit edilme oranı giderek düşmüş ve inek sütünün katılma miktarını belirlemedeki yanılma payı da artmıştır. Örneğin koyun sütüne %20 düzeyinde inek sütü ilave edildiğinde, 90 günlük peynirde bu değer SDS-PAGE yönteminde ancak %8.89±0.84, Native-PAGE' de ise %9.92±0.24 olduğu belirlenmiştir. Bu değerlerin, %5'lik katım oranlarında daha az yerlerde bulunduğu aynı çizelgeden izlenebilmektedir. Peynirlerde (90.gün) inek ve koyun sütü karışımlarının kazeinlerine ait SDS-PAGE ve Native-PAGE elektroforegramları Şekil 1'de verilmiştir.

Çizelge 3. Çiğ peynir sütlerinde SDS-PAGE ve Native-PAGE ile tespit edilen inek sütü oranları

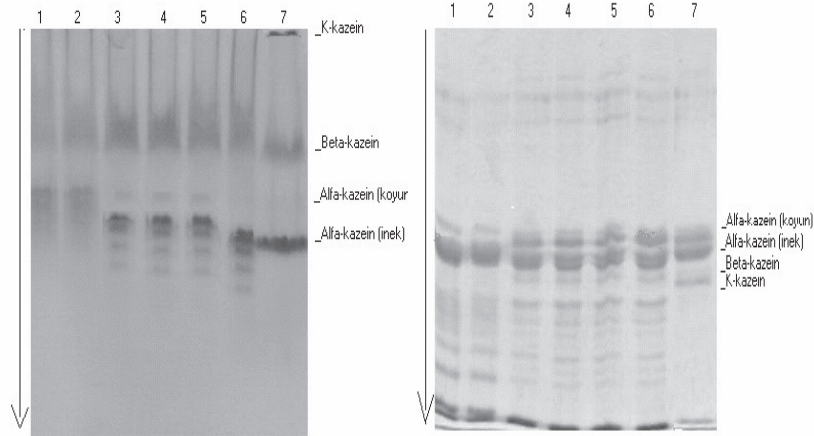
| Gerçek bileşim | Karışımdaki inek sütü oranları (%) | | | | |
|----------------|------------------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|
| | 3 | 5 | 10 | 20 | 100 |
| SDS-PAGE | - | 7.58±1.19 | 15.81±1.6 | 22.54±1.8 | 100.64±3 |
| Native-PAGE | - | 6.61±0.34 | 11.07±0.4 | 22.31±0.7 | 99.90±2 |

Çizelge 4. Beyaz peynirlerin olgunlaşması sırasında SDS-PAGE ve Native-PAGE jelleri üzerindeki α_s -kazein (koyun ve inek) ve β -kazein (koyun ve inek) oranları (%)

| | SDS-PAGE | | | | Native-PAGE | | | |
|----------------------------|----------|---------|---------|---------|-------------|---------|---------|---------|
| | 1. gün | 30. gün | 60. gün | 90. gün | 1. gün | 30. gün | 60. gün | 90. gün |
| α_s -kazein (koyun) | 22.34 | 18.12 | 16.52 | 13.86 | 23.80 | 17.07 | 17.50 | 12.60 |
| β -kazein (koyun) | 60.65 | 57.25 | 53.48 | 52.14 | 60.20 | 59.95 | 57.50 | 52.40 |
| α_s -kazein (inek) | 39.52 | 35.31 | 32.24 | 30.98 | 40.37 | 38.54 | 35.75 | 30.12 |
| β -kazein (inek) | 36.48 | 32.68 | 28.76 | 26.02 | 37.62 | 32.45 | 29.25 | 28.88 |

Çizelge 5. Olgunlaşma süresince Beyaz peynirlerde SDS-PAGE ve Native-PAGE analizleri ile tespit edilen % inek sütü içeriği (%)

| Gerçek Kompozisyon | SDS-PAGE | | | | Native-PAGE | | | |
|--------------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|------------|
| | 1. gün | 30. gün | 60. gün | 90. gün | 1. gün | 30. gün | 60. gün | 90. gün |
| 100 | 99.24±0.77 | 98.83±7.72 | 95.96±0.28 | 95.36±3.59 | 98.89±0.96 | 95.59±0.88 | 93.46±0.30 | 92.33±2.60 |
| 20 | 20.27±1.25 | 15.84±0.6 | 13.03±0.60 | 8.89±0.84 | 21.91±0.63 | 15.91±0.20 | 14.02±1.69 | 9.92±0.24 |
| 10 | 11.36±0.68 | 7.63±0.48 | 7.08±0.50 | 3.82±0.52 | 12.14±0.58 | 8.95±0.75 | 6.33±0.60 | 5.09±0.32 |
| 5 | 4.56±0.52 | 3.91±0.87 | 3.26±0.64 | 1.93±0.72 | 5.22±0.56 | 3.47±0.37 | 3.42±0.23 | 2.17±1.91 |
| 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |



Şekil 1. Beyaz peynirlerde (90. Gün) inek ve koyun sütü karışımlarının kazeinlerine ait Native-PAGE ve SDS-PAGE elektroforegramları (%100 Koyun sütü, %3 İnek sütü + %97 Koyun sütü, %5 İnek sütü + %95 Koyun sütü, %10 İnek sütü + %90 Koyun sütü, %20 İnek sütü + %80 Koyun sütü, %100 İnek sütü, Kazein Standartları)

Çiğ sütler ve Beyaz peynirlerin 90. gün örneklerinden sağlanan SDS-PAGE ve Native-PAGE görünümünün hesapla bulunan değerleri, tek tek "eş yapma yöntemi" kullanılarak karşılaştırıldığında, %10 oranında inek sütü ilave edilmiş örneğin dışında hiçbirinin önemli bir farklılık göstermediği belirlenmiştir ($p < 0.01$).

Ramos et al. (39)'nın yapmış olduğu çalışmada Manchego peynirlerine ait PAGE analizleri sonucunda saptanan en az inek sütü karışım oranının, %10 düzeyinde olabileceği ifade edilmiştir. Gönülalan (40), Native-PAGE kullanarak Beyaz peynirler üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada ise inek sütü karışım oranının en az %3.5 düzeyinde belirlenebileceğini ortaya koymuştur. Mutluer vd. (41), yine Beyaz peynirlerde ELISA yönteminden yararlanılarak karışım oranının %1 düzeyinde tespit edilebileceğini göstermişlerdir. Bizde bu oranın %5 olarak bulunması, peynirler arasındaki olgunlaşma sürelerinin farklılığına, peynirlerin yapım yöntemindeki değişikliklere ve belirleme yöntemlerinin özelliği gibi nedenlere bağlanabilir.

SONUÇ

Çiğ süt ve 90 günlük olgunlaşma süresince Beyaz peynirlerde, SDS-PAGE ve Native-PAGE' in peynir sütü bileşimine giren türlerinin tanımlanmasındaki hassasiyeti yaklaşık %5 olarak tespit edilebilmiştir.

Her iki tekniğin hassasiyetleri açısından istatistiksel olarak karşılaştırılması yapıldığında ise, benzer sonuçlar verdiği ve aralarında önemli bir farklılığın bulunmadığı gözlenmiştir. Bu tekniklerin süt ve ürünlerinin denetlenmesinde, (süt türlerinin tespit edilmesinde) kullanılabileceği, anılan alanda yararlanılan analiz yöntemlerinin geliştirilmesine, standart ve tüzüklerde süt türlerinin hangi oranlarda olması gerektiğine katkı sağlayacağı ve denetim mekanizmasının daha iyi çalışır hale getirilmesini de olanaklı kılacağı umulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Uraz T. 1979. Peynirlerde Acı Tadın oluşumu. Ankara Ü. Ziraat Fak. Yayınları No: 730 Ankara.
2. Adam RC. 1974. Koyun Sütü. Ege Ü. Ziraat F. Yayın No: 195. 65 s. İzmir.
3. Amigo L, Ibanez I, Fernandez C, Santa-Maria G, and Ramos M, 1989. Comparison of an Electrophoretic and an Immunological Method for the Determination of Goat and Cow Milk in Cheese. *Milchwissenschaft*, 44 (4) 215-218.
4. Amigo L, Ramos M, Calvo L, Barbosa M. 1992. Comparison of Electrophoresis, Isoelectric Focusing and Immunodiffusion in Determinations of Cow's and Cow's milk in Serra de Estrella Cheese. *Le Lait*, 72:95-101.
5. Furtado MM. 1983. Detection of Cows Milk in Goat Milk by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Journal of Dairy Science*, 66:1822-1824.
6. Ng-kwai-hang KF, Kroeker EM. 1984. Rapid Separation and Quantification of Major Casein and Whey Protein of Bovine Milk by Polyacrylamide Gel Electrophoresis. *Journal Dairy Science*, 67:3052-3056.
7. Farkye NY, Kiely LJ, Allshouse RD, Kindstedt PS. 1991. Proteolysis in Mozzarella Cheese During Refrigerated Storage. *Journal Dairy Science*, 74:1433-1438.
8. Ramos M, Martinez-Castro I, Juarez M. 1977. Detection of Cows' Milk in Manchego Cheese. *Journal of Dairy Science*, 60 (6) 870-877.
9. Haasnoot W, Venema DP, Elenbaas HL. 1986. Determination of Cow Milk in the Milk and Cheese of Ewes and Goats By Fast Protein Liquid Chromatography. *Milchwissenschaft*, 41 (10) 642-645.
10. Iverson JL, Sheppard AJ. 1989. Detection of Adulteration in Cow, Goat and Sheep Cheeses Utilizing Gas-Liquid Chromatographic Fatty Acid Data. *J. Dairy Science*, 72:1707-1712.
11. Gonzalez de Llano D, Ramos M. 1990. Update on HPLC and FPLC Analysis of Nitrogen Compounds in Dairy Products. *Le Lait*, 70:255-277.
12. Addeo F, Moio L, Chianese L, Stingo C. 1990. Improved Procedure For Detecting Bovine and Ovine Milk Mixtures in Cheese by Soelectric Focusing of Para-K-Kazein. *Milchwissenschaft*, 45 (4) 221-224.
13. Garcia T, Martin R, Rodriguez E, Morales P, Hernandez PE, Sanz B. 1990. Detection of Bovine Milk in Ovine Milk by an Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Dairy Science*, 73:1489-1493.
14. Rodriguez E, Martin R, Garcia T, Gonzalez I, Morales P, Sanz B, Hernandez PE. 1993. Detection of Cows' Milk in Ewes' Milk and Cheese by a Sandwich Enzyme- Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *J. Sci. Food Agriculture*, 61:175-180.
15. Levieux D, Venien A. 1994. Rapid, Sensitive Two-Site ELISA for Detection of Cows' Milk in Goats' or Ewes' Using Monoclonal Antibodies. *Journal of Dairy Research*, 61:91-99.
16. Addeo F, Nichola MA, Chianese L, Moio L, Spagna Musso S, Bocca A, Del Giovine L. 1995. A control Method to Detect Bovine Milk in Ewe and Water Buffalo Cheese Using Immunoblotting. *Milchwissenschaft*, 50 (2) 83-85.
17. Cattaneo TMP, Nigro F, Toppino PM, Pasquini M, Greppi GF. 1995. Analysis of Cow, Goat and Ewe Milk Mixtures by Cappillary Zone Electrophoresis (CZE): A Preliminary Approach. Production and Utilization of Ewe and Goat Milk. Proceedings of The IDF/Greek National Committee of IDF CIRVAL Seminer. 265 p. Greece.
18. Anguita G, Martin R, Garcia T, Morales P, Haza AI, Gonzales I, Sanz B, Hernandez PE. 1996. Immunostick ELISA for Detection of Cow's Milk in Ewe's Milk and Cheese Using a Monoclonal Antibody Against Bovine β -kazein. *Journal of Food Protection*, 59 (4) 436-437.
19. Richter W, Krause I, Graf C, Sperrer I, Schwarzer C, Klostemeyer H. 1997. An Indirect Competitive ELISA for the Detection of Cows' Milk and Caseinate in Goats' and Ewes' Milk and Cheese Using Polyclonal Antibodies Against Bovine γ -kazein. *Z. Lebensm. Unters Farsch A*, 204:21-26.

20. Eralp M, Metin M, Şahin M, Sezgin E. 1974. Ankara Dolayları Sütlerinden Beyaz peynir İmalatı Tekniğinin İslahı Üzerinde Araştırmalar. TÜBİTAK. TAOG/TBTTAK yay. 207, 44 s, Ankara
21. İzmen ER. 1964. Süt ve mamülleri teknolojisi. A.Ü.Z.F.Yay. No:555. A.Ü.Basımevi. 598 s, Ankara.
22. Tunail N, Uraz T, Alpar O, Halkman K. 1984. İzole suşlarla ve Ticari Laktik asit Bakterileri ile Yapılan Beyaz Peynirlerde, Mikroorganizma Kalite İlişkisinin Belirlenmesi Üzerinde Araştırmalar. TÜBİTAK projesi Tarmik-2, 77 s, Ankara..
23. IDF (International Dairy Federation). 1980. Milk and Milk Products Guide a Sampling Techniques.International Standart. IDF 50 A.
24. AOAC. 1984.Official Methods of the Analysis of Association of Official Agricultural Chemists. The Association of Agricultural Chemists..Fourteenth Edition. 308 p.Washington.
25. IDF (International Dairy Federation). 1958. Determination of Dry Matter in Cheese and Processed Cheese. International standart. IDF 4.
26. TSE (Türk Standartları Enstitüsü). 1981. Çiğ Süt. TS.1018. Ankara. 11 s.
27. Alais C. 1984. Principes des Techniques Laitiers. Science du Lait, 4é ed. 196- 197 p, Paris.
28. TSE (Türk Standartları Enstitüsü). 1989. Beyaz Peynir. TS.591. Ankara. 9 s.
29. TSE (Türk Standartları Enstitüsü). 1978. Peynirde Yağ Miktarı Tayini. (Van Gulik Metodu). TS.3046 4 s, Ankara.
30. Grippon JC, Desmazeaud MJ, et Le Beas D, Bergere JH. 1975. Role des Micro-organsmes et des Enzymes du Cours de la Maturation. Le Lait, 55 (548) 502-516.
31. Uraz T. 1978. Yoğurda İşlenen Değişik Tür Sütlerin Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi Yardımıyla Ayırt Edilmesi Üzerinde Çalışmalar. I. İnek ve Keçi Sütü Karışımı. Ankara Ü. Ziraat F. Yıllığı, 28 (2) 503-520.
32. Assenat L. 1967. Contribution a L'étude d'une Méthode d'identification des Laits et Fromages au Moyen de L'électrophorese sur Gel de Polyacrylamide. Le Lait, 468:495-502.
33. Özer HB. 1997. Rheological properties of Labneh (concantrated yoghurt). Doktora Tezi The University of Reading, UK.
34. Gürsoy A. 1995. Beyaz Peynir Tuz Geçişini Etkileyen Bazı Faktörler Üzerinde Araştırmalar. Ankara Ü. Fen Bil. Ens. Doktora tezi, Ankara.
35. Alpkent, Z. 1987. Kış Aylarında Samsun İl Merkezinde Tüketime Sunulan Beyaz Peynirlerin Tüzük ve Standarda Uygunluğu Üzerinde Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi. Ankara.
36. Uraz T, Şimşek B. 1998. Ankara Piyasasında Satılan Beyaz Peynirlerin Proteoliz Düzeylerinin Belirlenmesi. Gıda, 23 (5) 371-375.
37. Yıldırım M. 1991. Hidrojen Peroksit ile Korunmuş Sütlerden Yapılan Beyaz Peynirlerin Bazı Mikrobiyolojik Nitelikleri Üzerinde Araştırmalar.Ankara Ü. Fen Bil. Ens. Yüksek Lisans tezi. Ankara.
38. Pierre A, d Portmann A. 1970. Emploi de L'electrophorese en gel de polyacrylamide pour metre en evidence et doser le lait de vache ajoute au lait de chevre application au cas des fromages. Ann. Technol. Agric, 19 (2)107-130.
39. Ramos M, Juarez M. 1986. Chrotomatographic, Electrophoretic and Immunological Methods for Detecting Mixtures of Milk from Different Species. Bull. International Dairy Fed. 202:175-187.
40. Gönülalan Z. 1998. Peynir Bileşimine Giren Süt Türlerinin Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (PAGE) ile Tespit Edilmesi. Fırat Ü. Sağlık Bilimleri Ens. Md. (Doktora Tezi). 72 s, Elazığ
41. Mutluer B, Akgün S, Dinçer B. 1994. Koyun sütü ve Salamura Beyaz Peynirlerinde İnek Sütü Karışımlarının ELISA Yöntemi ile Saptanması. TÜBİTAK Veterinerlik ve Hayvancılık Araştırma Grubu. Proje No: VHAG-959.