

## EZİNE PEYNİRİ II. OLGUNLAŞMA SÜRESİNCE PROTEOLİZ DÜZEYİ

N. Barış Tuncel, Onur Güneşer, Burcu Engin,  
Kurban Yaşar, N. Nükhet Zorba, Yonca Karagül-Yüceer\*

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Çanakkale

Geliş tarihi / Received: 08.07.2008

Düzeltilerek geliş tarihi / Received in revised form: 25.09.2008

Kabul tarihi / Accepted: 30.09.2008

### Özet

Bu çalışmada, Ezine peynirinin olgunlaşma süresi boyunca proteoliz düzeyindeki değişim incelenmiştir. Bir yıllık olgunlaşma periyodu boyunca suda çözünür azot, %12'lik trikloroasetik asitte çözünen azot ve %5'lik fosfotungustik asitte çözünen azot oranları belirlenmiş ve peynirin elektroforetik analizi gerçekleştirilmiştir. Olgunlaşma süresince, Ezine peynirinin toplam azot içeriği değişmezken, azot fraksiyonlarının oranı önemli düzeyde artmıştır. Elektroforetik analiz sonuçları depolama süresince  $\beta$ -kazein fraksiyonundaki parçalanmanın  $\alpha_s$ -kazeininkinden daha yavaş olduğunu göstermiştir.

**Anahtar kelimeler:** Ezine peyniri, olgunlaşma, proteoliz, üre-PAGE

## EZINE CHEESE II. PROTEOLYSIS LEVEL DURING RIPENING

### Abstract

In this study, changes in proteolysis level of Ezine cheese was investigated during ripening period. The rates of water soluble nitrogen, 12% trichloroacetic acid soluble nitrogen and 5% phosphotungustic acid soluble nitrogen were determined and electrophoretic analysis was carried out during one-year ripening period. While total nitrogen level did not change, the rates of nitrogen fractions increased significantly during ripening. The results of electrophoretic analysis showed that degradation of  $\beta$ -casein fraction was slower than  $\alpha_s$ -casein fraction during storage.

**Keywords:** Ezine cheese, ripening, proteolysis, urea-PAGE

\* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ yoncayuceer@comu.edu.tr, ☎ (+90) 286 218 0018, 📠 (+90) 286 218 0541

## GİRİŞ

Ezine peyniri Kazdağı'nın Kuzey ve Batı kesimlerinde yer alan Ezine, Bayramiç ve Ayvacık ilçelerinin doğal bitki örtüsü ve su kaynaklarıyla beslenen koyun, keçi ve ineklerden elde edilen sütlerin mevsime göre belirli oranlarda karıştırılmasıyla üretilen yöresel bir peynirdir (1). Üretiminde keçi, koyun ve inek sütü karışımının kullanılması, starter kültür kullanılmaması ve üretiminin geleneksel yöntemle gerçekleştirilmesi Ezine peynirine ayrıcalıklı bir özellik kazandırmaktadır. Peynirin olgunlaşma sürecinde glikoliz, proteoliz ve lipoliz gibi birçok biyokimyasal reaksiyon meydana gelmektedir. Söz konusu bu biyokimyasal reaksiyonlar sonucu oluşan ürünler peynirin hem yapısı hem de aroma ve lezzeti üzerine etkili olmaktadır. Ancak, bu reaksiyonlar tüm peynir çeşitleri için aynı olmamakla beraber oluşan reaksiyonların önem derecesi de farklı olabilmektedir. Örneğin Tulum peynirinin olgunlaşmasında lipoliz birinci derecede önemli iken, Emmental ve Swiss tipi peynirlerde aroma oluşumu için glikoliz önemli olmaktadır (2).

Peynirlerin olgunlaşması sırasında gerçekleşen glikoliz reaksiyonları sonucu pıhtı içerisinde kalan laktöz mikroorganizmalar tarafından parçalanarak laktat, asetat, butirat, propiyonat veya sitrat gibi bileşikler oluşmaktadır (3). Bununla beraber süt lipazları veya peynir florasında bulunan mikroorganizmalar tarafından üretilen mikrobiyal lipazlar tarafından katalizlenen lipoliz reaksiyonlarında serbest yağ asitlerinin ve peynir aromasına etki eden uçucu bileşiklerin (alkoller, metil ketonlar ve laktonlar vd.) oluşumu gerçekleşmektedir (4). Proteoliz olayında ise peynir üretim aşamasında başlayan kazein parçalanması devam etmekte ve kazein fraksiyonlarında ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  ve K kazein) değişimler meydana gelmektedir (5). Bu değişimler sonucunda kısa zincirli peptit grupları ve serbest aminoasitler açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan bu bileşikler hem peynirin su tutma kapasitesi ile su aktivitesini etkileyerek yumuşak bir yapı oluşumuna neden olmakta, hem de bir dizi ikincil katabolik reaksiyona girerek peynir lezzetinin oluşumunda görev almaktadırlar (3).

Proteolizin izlenmesi peynirlerin kalitesinin ve olgunlaşma indeksinin belirlenmesinde birinci derecede önemlidir. Peynirdeki proteoliz düzeyinin izlenmesinde kullanılan birçok yöntem olmasına karşın Üre-PAGE elektroforez tekniği kazeinin parçalanmasının ve bunun sonucu oluşan büyük polipeptitlerin izlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca suda (SÇA), % 12'lik trikloroa-

setikasitte (TCA) ve % 5'lik fosfotungustik asitte (FTA) çözünen peptit ve aminoasitler gibi ikincil proteoliz ürünlerinin miktarının belirlenmesi de olgunlaşmanın derecesi hakkında önemli bilgiler vermektedir (6). Bu çalışmanın temel amacı bir yıllık depolama süresince Ezine peynirinin azot ve protein fraksiyonlarındaki değişimi belirleyerek olgunlaşma düzeyini ortaya koymaktır.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Peynir üretimi 2006 yılının Mayıs ayında Ezine'de bulunan Şengören Süt ve Süt Ürünleri A.Ş. tesislerinde gerçekleştirilmiştir. Peynir yapımında keçi, koyun ve inek sütlerinden oluşan karışım süt kullanılmıştır. Süt 67 °C'de 30 dakika pastörize edildikten sonra rennet enzimi (Mayasan, İstanbul) ile 32-34 °C'de mayalanmıştır. Peynir üretimiyle ilgili detaylı bilgi bu çalışmanın birinci bölümünde yer almaktadır. İki kilogramlık teneke ambalajlar içinde depolanan peynir örnekleri üçer aylık periyotlarda açılarak analize tabi tutulmuşlardır. Deneme 2 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

### Kimyasal Analizler

Peynirlerde pH ölçümleri için Hanna H211 pH-metre (Hanna Instrument, Porto, Portekiz) kullanılmıştır. Titrasyon asitliği (% laktik asit), kuru madde (%), tuz içeriği (%) ve kül (%) Bradley ve ark., (7) tarafından önerilen metot kullanılarak belirlenmiştir. Yağ tayini Gerber-van Gulik metoduna (8), toplam azot oranı IDF tarafından önerilen yöntemle (9), suda çözünür azot oranı Andrews' (10) ve Hayaloğlu'na (11), %12'lik TCA'da çözünen azot oranı Polychroniadou ve arkadaşlarına (12) ve %5'lik FTA'da çözünen azot oranı Jarrett ve arkadaşlarına (13) göre yapılmıştır.

### Üre-PAGE Analizi

Peynirlerin olgunlaşma süresince kazein fraksiyonları Üre-PAGE yöntemiyle Andrews (10)'in önerdiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla üre-PAGE uygulamasında Elektroforez PROTEAN LI XI dikey slab-jel ünitesi (Bio-Rad Laboratories Ltd., Watford, UK) kullanılmıştır. Elektroforez uygulaması sonucunda elde edilen jeller Coomassie Brilliant Blue G250 ile boyanmış ve jellerin görüntüsü bilgisayar ortamına aktarılmıştır. Daha sonra jellerdeki protein bant görüntüleri optik dansitomet-

re programı (Gel-Pro Analyser Version 4) ile ölçülmüş ve kazein fraksiyonlarının ( $\alpha_s$ ,  $\beta$ -kazein) % değişim oranları belirlenmiştir.

### Laktik Asit Bakterilerinin Sayımı

Her bir peynir örneğinden 10 g alınarak 90 ml steril %2'lik sodyum sitrat çözeltisi içerisinde homojenize edilmiştir. Gerekli desimal dilüsyonlar ise %0.1'lik peptonlu su ile hazırlanmıştır.

Laktik asit bakterilerinin sayımı Harrigan'a göre (14) MRS Agar besiyerinde çift tabaka dökme plak yöntemi kullanılarak yapılmış ve Petri kapları  $28 \pm 2$  °C'da 72 saat inkübe edilmiştir.

### İstatistiksel Analizler

Çalışma sonucunda elde edilen verilerin değerlendirilmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) tekniğinden yararlanılmıştır. Varyans analizinde önemli olan farklılıkların belirlenmesinde Tukey Çoklu Karşılaştırma testi kullanılmıştır. Söz konusu istatistiksel analizlerin yapılmasında Minitab for Windows (Version 13.20 Minitab Inc., State College, PA) paket programı kullanılmıştır.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

Olgunlaşma süresince, Ezine peynirindeki kurumadde (%), titrasyon asitliği (% LA), pH, yağ (%), tuz (%) ve kül (%) miktarlarındaki değişimler Çizelge 1'de verilmiştir. Çizelge 1 incelendiğinde depolama süresince titrasyon asitliğinin (% LA) artış gösterdiği ve bu artışın istatistiksel olarak önemli olduğu görülmektedir ( $P < 0.05$ ). Titrasyon asitliğindeki bu artış depolamanın ilk aylarında hızlı bir şekilde gerçekleşirken son aylarda yavaşlamıştır. Peynirdeki pH değeri de titrasyon asitliğinin yükselmesine bağlı olarak depolama süresince istatistiksel açıdan önemli bir düşüş göstermiştir ( $P < 0.05$ ). Sonuçlar diğer bazı çalışmalarda (11, 15, 16) elde edilen bulgularla da desteklenmektedir.

Depolama süresince, Ezine peynirinin yağ, kurumadde, tuz ve kül oranlarında önemli değişimler görülmemiştir ( $P > 0.05$ ) (Çizelge 1). Benzer sonuçlar Hayaloğlu (11) tarafından da bulunmuştur. Buna karşın, Şimşek ve Uraz (16) koyun ve inek sütlerinin (% 3, 5, 10, 20 ve 100) karıştırılması ile üretilen starter kültürlü Beyaz peynirlerin depolama boyunca kurumadde tuz oranlarının arttığını, kurumadde yağ oranının ise depolama boyunca kısmen azaldığını ifade etmişlerdir. Diğer taraftan, olgunlaşma süresinin peynirlerin tuz oranına ve pH değerleri üzerine etkisinin de istatistiksel açıdan önemli olduğunu belirlemişlerdir.

Olgunlaşma süresince Ezine peynirinin azot fraksiyonlarındaki değişimler Çizelge 2'de görülmektedir. Depolama süresince peynirin toplam azot oranında önemli bir artış olmadığı ( $P > 0.05$ ) ancak suda çözünür azot (SÇA), %12'lik trikloroasetik asitte çözünen azot (TCA) ve %5'lik fosfotungstik asitte çözünen azot (FTA) oranlarında önemli artışların olduğu görülmektedir ( $P < 0.01$ ) (Çizelge 2). Hayaloğlu (11) tarafından yapılan bir çalışmada da farklı kültürler kullanılarak üretilen Beyaz peynirlerin toplam azot oranında 90 günlük depolama süresince değişim olmadığı ortaya konmuştur.

Suda çözünen azot oranlarını, çoğunlukla pıhtılaştırıcı enzimler ve çok az miktarda da plazmin enzimi tarafından kazeinin parçalanması sonucunda oluşan büyük peptitler etkilemektedir (17). Cinbaş ve Kılıç (18) tarafından Beyaz peynir üzerine yapılan bir çalışmada da suda çözünen azot miktarına pıhtılaştırıcı enzimlerin önemli etkisinin olduğu ve üç aylık depolama süresince bu azot fraksiyonunda artış olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada ise depolama süresince Ezine peynirinde suda çözünür azot oranının %3.29 ile %22.66 arasında değiştiği ( $P < 0.01$ ) belirlenmiştir (Çizelge 2). 2-20 aminoasit içeren kısa zincirli peptitler, serbest aminoasitler, amonyak ve diğer iz bileşenlerin göstergesi olan %12'lik TCA'da çözünen azot oranının ise depolama süresince yaklaşık 7 kat artarak %1.49'dan %10.01'a ulaştığı belirlenmiştir. TCA'da

Çizelge 1. Depolama Süresince Ezine Peynirinin Kimyasal Analiz Sonuçları ( $\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$ )

Gün	pH	Laktik Asit (%)	Yağ (%)	Kurumadde (%)	Tuz (%)	Kül (%)
1	5.60±0.02 <sup>a</sup>	0.32±0.01 <sup>b</sup>	25.88±0.63 <sup>a</sup>	49.03±1.36 <sup>a</sup>	4.02±0.16 <sup>a</sup>	5.59±0.01 <sup>a</sup>
90	5.51±0.03 <sup>a</sup>	0.78±0.13 <sup>ab</sup>	25.25±0.25 <sup>a</sup>	49.15±0.25 <sup>a</sup>	3.93±0.53 <sup>a</sup>	5.45±0.40 <sup>a</sup>
180	5.53±0.07 <sup>a</sup>	0.88±0.07 <sup>a</sup>	25.25±0.25 <sup>a</sup>	50.30±1.35 <sup>a</sup>	3.92±0.17 <sup>a</sup>	5.21±0.06 <sup>a</sup>
270	4.97±0.07 <sup>b</sup>	1.18±0.01 <sup>a</sup>	25.38±0.38 <sup>a</sup>	48.16±1.70 <sup>a</sup>	4.45±0.59 <sup>a</sup>	5.40±0.24 <sup>a</sup>
360	5.03±0.07 <sup>b</sup>	1.17±0.14 <sup>a</sup>	23.75±0.01 <sup>a</sup>	48.13±0.03 <sup>a</sup>	4.63±0.18 <sup>a</sup>	5.66±0.29 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P < 0.05$ ).

çözünen azot fraksiyondaki en büyük değişim 90. ve 180. günler arasında saptanmıştır. Benzer şekilde 700 veya 600 Dalton'dan küçük olan peptitler ile serbest aminoasitlerin bir göstergesi olan %5'lik fosfotungustik asitte çözünen azot fraksiyonlarındaki değişimlerin de depolama süresince artış gösterdiği ve en belirgin artışın 90. günden sonra olduğu görülmektedir (Çizelge 2).

Özer ve arkadaşları (15) geleneksel Urfa peyniri üzerine yaptıkları bir çalışmada, inek ve koyun sütünden ayrı ayrı yapılan peynirlerde toplam azot miktarının depolama süresince (90 gün) azaldığını, bu azalmanın inek sütlerinden yapılan peynirlerde istatistiksel açıdan önemli olduğunu, koyun sütünden yapılan peynirlerde ise azalmanın 30. günden sonra önemli olduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, hem koyun sütünden hem de inek sütünden yapılan peynirlerde suda çözünen azot, fosfotungustik asitte çözünen azot, protein ve protein olmayan azot miktarlarında depolama boyunca bir artışın olduğu ifade edilmiştir. Depolamanın 1. ve 90. günlerinde suda çözünen azot ve protein olmayan azot miktarları sırasıyla 0.30-0.52 (g/100g) ve 0.26-0.47 (g/100g) olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada Ezine peynirinde %12'lik TCA'da ve %5'lik FTA'da çözünen azot oranları diğer bazı çalışmalarda (5, 18) bulunan değerlerden düşük bulunmuştur. Bunun nedenleri peynir üretiminde kullanılan süte uygulanan ısı işlem sonucunda doğal florada bulunan mikroorganizmaların sayısındaki azalmaya veya Ezine peyniri üretiminde kültür kullanılmamasına bağlanabilir. Hayaloğlu ve ark. (19) pastörize inek sütünden starter kültür ilaveli ve ilavesiz Beyaz peynir yaparak 90 günlük olgunlaşma süresince azot fraksiyonlarındaki değişimi incelemişlerdir. Sonuç olarak starter kültür ilavesiz peynirlerin %12'lik TCA ve %5'lik FTA'da çözünen azot oranları, kültür ilaveli peynirlere göre önemli derece düşük bulunmuş ve bunun nedenin de starter bakterilerin düşük molekülü peptit ve

aminoasit oluşumunda önemli rol oynamasından kaynaklandığı bildirilmiştir.

Ezine peyniri ile benzer özellikler gösteren ve Yunanistan'da geleneksel olarak 3 farklı yöntemle üretilen Feta peynirinin proteoliz düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada (20), peynirin kurumadde toplam azotlu madde içeriğinin %33 ile %35 arasında değiştiği, SÇA, %12'lik TCA ve %5'lik FTA'da çözünen azot oranlarının 120 günlük depolama süresince sırasıyla 1.6-1.7, 1.9-2.2 ve 1.2-1.7 kat arttığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada Feta peynirinin proteoliz düzeyinin suda çözünen azot oranı ile daha iyi ifade edilebileceği belirtilmiştir. Yaptığımız çalışmada ise Ezine peynirinin bir yıllık depolama boyunca SÇA, %12'lik TCA ve %5'lik FTA çözünür azot oranlarının sırasıyla 6.88, 6.71 ve 3.68 kat arttığı belirlenmiştir. Koyun, keçi ve koyun+keçi (1:1) sütlerinin karışımdan elde edilen Teleme peyniri üzerine yapılan bir çalışmada (21), her üç peynir çeşidinde toplam azot içeriğinin 360 gün boyunca fazla değişim göstermediği belirtilmiştir. Ayrıca her üç peynirin SÇA miktarında depolama boyunca önemli artış olduğu ortaya konmuştur. Ancak TCA'da çözünen azot oranı depolamanın 20. 60. 180. ve 360. günlerinde keçi sütünden yapılan peynirde diğer peynirlerden düşük bulunmuştur.

Gorostiza ve ark. (22) geleneksel olarak Brezilya'da inek sütünden üretilen Prato peynirinde yaptıkları bir çalışmada, peynirin toplam azot içeriğinin olgunlaşma süresince değişmediğini, ancak %12'lik TCA'da çözünen azot fraksiyonu ile pH 4.4'de çözünen azot fraksiyonunun artış gösterdiğini belirtmişlerdir ( $P<0.05$ ).

Ezine peynirinin Üre-PAGE elektroforegramı Şekil 1'de, kalan kazein oralarındaki (%) değişim ise Şekil 2'de yer almaktadır. Şekil 1 ve 2 birlikte incelendiğinde, Ezine peynirinde  $\beta$ -kazeinin parçalanmasının depolama süresince yavaş bir şekilde gerçek-

Çizelge 2. Depolama süresince Ezine peynirinde toplam azot ve azot fraksiyonlarının değişimi ( $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ )

Gün	Toplam azot (%)	SÇA (%)	TCA (%)	FTA (%)
1	2.83 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	3.29 $\pm$ 0.17 <sup>d</sup>	1.49 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>	0.75 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>
90	2.92 $\pm$ 0.18 <sup>a</sup>	8.09 $\pm$ 1.54 <sup>c</sup>	2.98 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>	0.91 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>
180	3.14 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	14.74 $\pm$ 0.48 <sup>b</sup>	7.41 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	2.01 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>
270	2.94 $\pm$ 0.19 <sup>a</sup>	16.99 $\pm$ 1.05 <sup>b</sup>	9.73 $\pm$ 0.39 <sup>a</sup>	2.37 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>
360	2.82 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	22.66 $\pm$ 1.80 <sup>a</sup>	10.01 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>	2.76 $\pm$ 0.47 <sup>a</sup>

<sup>a-d</sup> Aynı sütünde farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P<0.05$ ).

SÇA: Suda çözünen azot oranı (%)

TCA: %12'lik trikloroasetik asitte çözünen azot (%)

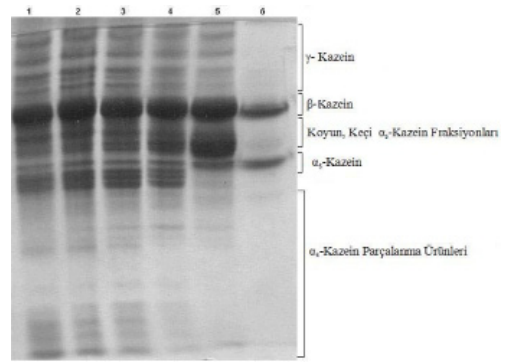
FTA: %5'lik fosfotungustik asitte çözünen azot oranı (%)



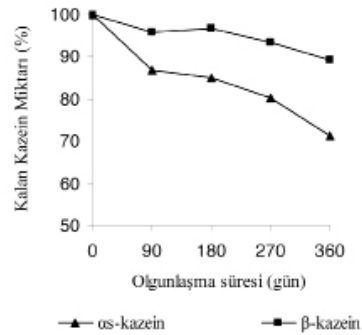
leştigi ve depolama sonunda toplam  $\beta$ -kazein oranının %89.3'ünün parçalanmadan kaldığı görülmektedir. Olgunlaşmanın ilk 6 ayında  $\beta$ -kazeinin parçalanma hızının yüksek olduğu saptanmıştır.  $\alpha_s$ -kazeinin parçalanmasının  $\beta$ -kazeine göre daha hızlı olduğu ve depolamanın 90. günden itibaren parçalanma düzeyinin arttığı görülmektedir (Şekil 1 ve 2). Depolamanın sonunda  $\alpha_s$ -kazeinin yaklaşık % 30'unun parçalandığı tespit edilmiştir (Şekil 2). Araştırmada elde edilen  $\alpha_s$  ve  $\beta$ -kazein fraksiyonlarındaki parçalanma oranları diğer çalışmalarındaki (5, 22-24) bulgularla karşılaştırıldığında her iki kazein fraksiyonunun parçalanma oranının düşük olduğu görülmektedir. Ezine peynirinde kazein fraksiyonlarında parçalanma oranının düşük olmasının nedenleri de peynir sütüne ısı işlem uygulanmasına, starter kültür kullanılmamasına ve yüksek tuz konsantrasyonuna bağlanabilir. Örneğin Brezilya'da kültür kullanılmadan üretilen Prato peyniri üzerine yapılan bir çalışmada (22)  $\beta$ -kazein ve  $\alpha_s$ -kazein fraksiyonlarındaki parçalanma Ezine peynirine benzer bir şekilde gerçekleşmiştir.  $\beta$ -kazeinin parçalanmasının  $\alpha_s$ -kazeine göre daha yavaş seyrettiği tespit edilmiştir. Olgunlaşmanın 60. gününde Prato peynirinde  $\beta$ -kazeinin %80.1'inin parçalanmadığı,  $\alpha_s$ -kazeinin ise %34.2'sinin parçalandığı belirlenmiştir.

*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ve *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* ticari starter kültürleri kullanılmış ve pastörize edilmiş ve çiğ süttten üretilen Arzua peynirlerinde proteoliz değişimlerinin karşılaştırıldığı diğer bir çalışmada (25), çiğ süttten yapılan peynirlerde  $\beta$ -kazeinin parçalanma oranının starter kullanılarak üretilen peynirlerden daha yüksek olduğu, buna karşın  $\alpha_s$ -kazeinin parçalanma oranının starter kültür eklenerek yapılmış peynirlerde daha fazla olduğu belirtilmiştir. Bu durum kullanılan starter kültür proteazının  $\beta$ -kazeinin parçalanmasına çok az katkıda bulunduğunu ve  $\alpha_s$ -kazeinin parçalanmasını hızlandırdığını ve parçalanma oranının starter kültürün çeşidine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Elektroforegramda (Şekil 1),  $\beta$  ve  $\alpha_s$ -kazein bantları arasında görülen bantların, üretimde kullanılan koyun ve keçi sütlerinden kaynaklanan farklı molekül ağırlıklarına ve mobilitelere sahip polipeptitlere ve  $\alpha_s$ -kazeine ait farklı fraksiyonların ( $\alpha_{s1}$ -V and  $\alpha_{s1}$ -VII/VIII-kazein) olabileceği düşünülmektedir (24). Yine  $\beta$ -kazeinin üst kısmındaki (Şekil 1) diğer bantların ise  $\gamma$ -kazein fraksiyonları olduğu düşünülmekte olup tanımlanmamış bu polipeptit zincirlerinin özellikle sütte doğal olarak bulunan proteinazların



Şekil 1. Ezine peynirinin Üre-PAGE gel elektroforegramı (1: 360. gün; 2: 270. gün; 3: 180. gün; 4: 90. gün; 5: 1. gün; 6: inek-kazein standardı).



Şekil 2. Depolama süresince Ezine peynirinin kazein fraksiyonlarındaki (%) değişim.

(örneğin katepsin B, katepsin D, plazmin vd.) etkisi ile oluşabileceği belirtilmektedir (24).

Peynirde proteoliz düzeyi üzerine starter ve starter olmayan bakterilerin de etkisi olduğu bilinmektedir (26). Ezine peynirinin üretiminde starter kültür kullanılmamasına karşın süttün doğal florasında bulunan ve starter olmayan laktik asit bakterileri de peynirin proteoliz düzeyini etkileyebilmektedir. Bu amaçla depolama süresince peynir örneklerinde laktik asit bakterilerinin sayısı belirlenmiş olup bu sayının da 6.55-9.46 log kob/g arasında değiştiği belirlenmiştir. Genel olarak 3 ay depolanan peynirlerde laktik asit bakterilerinin sayısı diğer günlerde önemli ( $P<0.05$ ) düzeyde yüksek bulunmuş olup depolamanın diğer günlerinde bakteri sayısı bakımından önemli bir fark ortaya çıkmamıştır. Tayar (27) Bursa ve çevresinde faaliyet gösteren 3 işletmeden aldığı Beyaz peynir örneklerinde 3 aylık olgunlaşma süresi boyunca laktik asit bakterilerinin 7.99 ile 9.23 log kob/g arasında değiştiğini belirlemiştir. Bu değerler Ezine peynirinde belirlenen değerlerle benzerlik göstermektedir.

Sonuç olarak, klasik peynir çeşidi olan ve kültür kullanılmadan üretilen Ezine peynirinde depolama süresince azot fraksiyonlarında önemli artışın olduğu belirlenmiştir. Ancak, gerek azot fraksiyonlarındaki artış gerekse kazein fraksiyonlarındaki parçalanma çok fazla olmayıp özellikle 6. ve 9. aydan sonra proteolizde önemli düzeyde artış olmadığı saptanmıştır. Bunun nedenleri de Ezine peyniri üretiminde starter kültür kullanılmamış olmasına, peynirin tuz konsantrasyonuna ve süte uygulanan ısıl işlemin şiddetine bağlanabilir.

## Teşekkür

Bu çalışma, Devlet Planlama Teşkilatı (DPT) ve Ezine peyniri üreticilerinden Şengören Süt Ürünleri A.Ş. tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Karagul-Yuceer Y, Isleten M, Pala-Uysal C. 2007. Sensory characteristics of Ezine cheese. *J Sensory Stud*, 22: 49–65.
2. Akın N. 2004. Peynir kalitesine etki eden bazı faktörler. *Akademik Gıda*, 11:13-16.
3. McSweeney PLH. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *Int J Dairy Technol*, 57:127-144.
4. Üçüncü M. 2004. *A'dan Z'ye Peynir Teknolojisi Cilt-I*. Meta Basım Matbaacılık, İzmir. 543 s
5. Hayaloglu AA, Güven M, Fox PF, Hannon JA, McSweeney PLH. 2004. Proteolysis in Turkish White-brined cheese made with defined Strains of *Lactococcus*. *Int Dairy J*, 14:509-610.
6. Fox PF, McSweeney PLH. 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*. Blackie Academic & Professional, Thomson Science, London, U.K.
7. Bradley JRL, Arnold JE, Barbano DM, Semerad RG, Smith DE, Vines BK. 1992. Chemical and physical methods. In *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, R.T. Marshall (ed), American Public Health Association, Washington D.C. pp. 433-531
8. Anon 1969. NEN 3059 Netherlands Standard. Butyrometric determination of the fat content of cheese (Gerber-van Gulik method). *Neth Milk Dairy J*, 23:214-220.
9. Anon 1993. IDF Milk, determination of nitrogen content. FIL-IDF 20B, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.
10. Andrews AT. 1983. Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *J Dairy Research*, 50: 45–55.
11. Hayaloglu AA. 2007. Comparisons of different single-strain starter cultures for their effects on ripening and grading of Beyaz cheese. *Int J Food and Tech*, 42:930-938.
12. Polychroniadou A, Michaelidou A, Paschaloudis N. 1999. Effect of time, temperature and extraction method on trichloroacetic acid-soluble nitrogen of cheese. *Int Dairy J*, 9:559–568
13. Jarrett WD, Aston JW, Dulley JR. 1982. A simple method for estimating free amino acids in Cheddar cheese. *Aust J Dairy Tech*, 37:55–58.
14. Harrigan WF. 1998. *Laboratory Methods in Food Microbiology*. Academic Pres, San Diego.
15. Özer B, Atasoy F, Akın S. 2002. Some properties of Urfa cheese (a traditional White-Brined Turkish cheese) produced from bovine and ovine milks. *Int J Dairy Tech*, 55:94-99.
16. Şimşek B, Uraz T. 2008. Koyun ve inek sütü karışımlarından yapılan Beyaz peynirlerin süt türü oranının belirlenmesi. *GIDA*, 33:75-82.
17. Fox PF, McSweeney PLH. 1997. Rennets: their role in milk coagulation and cheese ripening. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk*, BA Law (ed), Chapman and Hall, London.
18. Cinbas T, Kılıç M. 2006. Proteolysis and lipolysis in White cheeses manufactured by two different production methods. *Int J Food Sci Tech*, 41: 530-537.
19. Hayaloglu AA, Güven M, Fox PF, McSweeney PLH. 2005. Influence of starters on chemical, biochemical, and sensory changes in Turkish White-Brined cheese during ripening. *J Dairy Sci*, 88:3460–3474.
20. Moatso G, Massouras T, Kandarakis I, Anifantakis E. 2002. Evolution of proteolysis during the ripening of traditional Feta cheese. *Lait*, 87:601–611.
21. Mallatou H, Pappa EC, Boumba VA. 2004. Proteolysis in Teleme cheese made from ewes, goats or a mixture of ewes and goats milk. *Int Dairy J*, 14:977-987.
22. Gorostizaa A, Cichoski A J, Valduga AT, Valdugab E, Bernardo A, Fresno JM. 2004. Changes in soluble nitrogenous compounds, caseins and free amino acids during ripening of Artisanal Prato Cheese; A Brazilian semi-hard cows variety. *Food Chem*, 85:407-414.
23. Sullivan N, Sousa M, Grady-Walsh D, Unicke T, Kelly A, McSweeney PLH. 2005. Ripening of Camembert-type cheese made from caprine milk using calf rennet or kid rennet as coagulant. *Int J Dairy Tech*, 58:13-18.
24. Susana EZ, Rubiolo AC. 1997. Kinetics of casein degradation during ripening of Fynbo cheese salted with NaCl/KCl brine. *J Food Sci*, 62:386-389.
25. Centeno J, Rodrigez-Otero JL, Cepeda A. 1994. Changes in the protein profile of Arzua cheese during ripening. *Milchwissenschaft*, 49:319-322.
26. Fox PF. 1989. Proteolysis during cheese manufacture and ripening. *J Dairy Sci*, 72: 1379–1400.
27. Tayar M. 1995. Beyaz peynirlerin olgunlaşması süresince kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerindeki değişimler. *GIDA*, 20: 97-101