



Özgün Araştırma/Original Article

Çiğ Süt, Süt Tozu ve Peyniraltı Suyu Tozlarında Gerçek Protein Değeri Tayini ve NPN Tağışlarının Önlenmesinde Kullanım Olanaklarının Araştırılması

Determination of True Protein in Raw Milk, Milk Powder and Whey Powder and Investigation of Usage Possibilities for Preventing NPN Adulterations

Ferhat POLAT¹, Meral KAYGISIZ²

¹ Dr. Veteriner Hekim, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü BURSA/TÜRKİYE, ORCID ID:0000-0002-6289-1051

² Kimya Yüksek Mühendisi, Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü BURSA/TÜRKİYE, ORCID ID:0000-0003-1250-3679

*:Yazışmalardan sorumlu yazar /Corresponding author, polatferhat@tarimorman.gov.tr

Geliş Tarihi:11.09.2020

Kabul Tarihi:11.12.2020

Özet

Amaç: Gerçek protein (GP) kavramı Ham proteinin (HP) aksine protein olmayan azotlu maddeleri (Non-Protein Nitrogenous Substances=NPN) hesaplamaya dahil etmez. Dolayısıyla NPN tağışlarından HP kadar etkilenmez. Bu çalışmada, süt, süt tozu ve peyniraltı suyu tozu örneklerindeki gerçek protein miktarının belirlenmesi ve bu parametrenin NPN tağışlarını önlemede kullanım imkanları araştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem: Çalışmada protein ve NPN içeriği belirli referans materyal kullanılarak GP analizi için metot validasyon/modifikasyonları yapılmış ve devamında kızılötesi cihaz kalibrasyonları yapılarak örnekler analiz edilmiştir. İkinci aşamada ise süt tozuna farklı oranlarda üre katılarak gerçek protein değerinin tağışlarda etkin olup olmadığı değerlendirilmiştir.

Bulgular ve Sonuç: Analiz edilen örneklere ait ortalama HP, GP miktarları ile GP/HP ve NPN/HP oranları sırasıyla 100 adet çiğ süt örneğinde %3,25±0,23, %3,06±0,01, %94,08, %5,92, 40 adet süt tozu örneğinde %32,51±2,25, %30,35±0,06, %93,36, %6,64, 15 adet yüksek proteinli peyniraltı suyu tozu örneğinde %12,18±0,71, %8,29±0,04, %67,84, %32,16 ve 5 adet proteinli peyniraltı suyu tozu örneğinde %8,05±0,67, %6,11±0,03, %75,37, %24,63 olarak belirlenmiştir.

Yapılan tağış çalışmasında üre miktarındaki artışa (%5, 10, 20) paralel olarak HP miktarı sırasıyla %35,59, 109,95, 221,09 artarken GP miktarı kullanılan NPN miktarına bağlı olarak azalmıştır.

Sonuç olarak süt ve süt ürünlerinin etiket bilgisinde gerçek protein değerine yer verilmesi NPN tağışlarının önlenmesine katkı sağlayabilir. Ancak metodun bilinen NPN maddeleri üzerindeki performansının ayrıca değerlendirilmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Gerçek Protein, Ham Protein, Çiğ Süt, Süt Tozu, Peyniraltı suyu tozu, NPN, Tağış.

Abstract

Objective: True protein (TP) does not contain non-protein nitrogenous substances (NPN), unlike crude protein (CP). Therefore, it is not affected by NPN adulterations as much as crude protein. In this study, determining the amount of TP in milk, milk powder (MP) and whey powder (WP) samples and the possibility of using this parameter to prevent NPN adulterations was investigated.

Materials and Methods: Method validation/modifications were made for GP analysis using protein and NPN content specific reference material and subsequently infrared device calibrations were performed and samples were analyzed. In the second stage of the study, the effectiveness of the true protein value in NPN adulterances was evaluated by adding urea to MP in different proportions.

Results: Average CP, TP amounts and TP/CP and NPN/CP ratios of analyzed 100 raw milk, 40 MP and 15 high proteinaceous and 5 proteinaceous WP were 3,25±0,23%, 3,06±0,01%, 94,08%, 5,92%; 32,51±2,25%, 30,35±0,06%, 93,36%, 6,64%; 12,18±0,71%, 8,29±0,04%, 67,84%, 32,16% and 8,05±0,67%, 6,11±0,03%, 75,37%, 24,63% respectively.

In the performed adulteration study it was determined that the amount of CP increased by 35,59, 109,95, 221,09% due to the increased amount of urea (5, 10, 20% respectively) while the amount of true protein decreased by.

Conclusions: As a result, putting the true protein value in the label information of milk and dairy products may contribute to the prevention of NPN adulterations. However, the performance of the method on known NPN substances should be evaluated separately.

Keywords. True Protein, Crude Protein, Raw Milk, Milk Powder, Whey Powder, NPN, Adulteration.

1.Giriş

İnek sütünün protein içeriği %2,8-3,7 aralığında değişmekle birlikte ortalama %3,3 kabul edilmektedir. Diğer bir ifadeyle 1 litre sütte yaklaşık 33 gram protein bulunur (Ribadeau-Dumas ve Grappin 1989). Süt toplam proteini; kazein, serum proteinleri ve protein olmayan azotlu maddeleri içerir (Ruska ve Jonkus 2014). Kazein/serum proteini oranı inek, koyun, keçi ve manda sütlerinde 80:20 şeklindedir (Fox ve McSweeney 1998). Protein olmayan azotlu maddelerin (NPN) toplam azot içerisindeki payı ise %5-6 aralığındadır (DePeters ve Ferguson 1992). Bunlar arasında amonyak, üre, kreatinin, ürik asit, nitrat, serbest amino asitler, fosfatidler gibi maddeler yer alır (Kurdal ve ark. 2016).

Sütün gerçek protein fraksiyonunu ise kazein ve serum proteinleri oluşturur. Kazein sütteki proteinlerin %80'ini ve süt kütesinin de %2,63'ünü oluşturmaktadır. Organizmanın sentezleyemediği esansiyel amino asitleri (lizin, löysin, izölöysin, metiyonin, triptofan vb.) yüksek miktarda içerir. Sütte miseller halinde bulunan, asit veya enzimlerle çöktürülebilen bir fosfoprotein olan kazeinin izoelektrik noktası pH 4,6-4,7 olup, bu pH'da kazeinde topaklanma ve pıhtılaşma görülür (Patır 2005; Kurdal ve ark. 2016).

Serum proteinleri ise süt proteininin %20'sini oluşturur (Patır 2005). Peynir üretimi sırasında peyniraltı suyunda kaldığı için peyniraltı suyu proteinleri olarak da adlandırılır. α -laktalbumin (%12) ve β -laktoglobulin (%50) serum proteinlerinin önemli bir kısmıdır (Ribadeau-Dumas ve Grappin 1989). Serum proteinleri için izoelektrik noktası 4,5'tir. Isı arttıkça çözünürlüğü düşmekte olup bunun denaturasyona bağlı olabileceği değerlendirilmektedir (Pelegri ve Gasparetto 2005).

Sütün toplam azotu içerisinde %5-6 oranında bulunan protein olmayan azotlu maddeler (NPN) çok çeşitli faktörlere (beslenme, ırk, sıcaklık, hastalık, laktasyon, mevsim, doğum sayısı vb.) bağlı az ya da çok değişkenlik gösterebilir (DePeters ve Ferguson 1992). Amonyak, üre, kreatinin, ürik asit, nitrat, fosfatidler gibi NPN'ler sütin doğal yapısında bulunan NPN'lerdendir (Kurdal ve ark. 2016).

Süt ve süt ürünleri başta olmak üzere herhangi bir örneğin protein içeriğini belirlemede çok sayıda yöntem kullanılmaktadır. Bunlar; Azot Temelli Metotlar (Kjeldahl, Dumas, Lassaigne vb.), Bakır Bağlama Metotları (Biüret Metodu, Lowry Metodu, Bisinkoninik asit Metodu), Boya Bağlama Metotları (Anyonik Boya Bağlama Metodu (Udy Dye Binding Metodu), Bradford Metodu), Ultraviyole Absorbsiyon, Kızılötesi (Mid-Infrared Transmittans, Near Infrared Reflektans), Aminoasit metotları (Ninhidrin temelli toplam amino asit içeriği, Kromatografik amino asit kompozisyonu analizi, Formol titrasyonu vb.), Türbidometrik/Nefelometrik metotlar ve Spektral Problar Kullanılarak Spektrofotometrik metotlardır (Moore ve ark. 2010). Ancak dünya genelinde Kjeldahl metodu iyi bilinen ve en yaygın olarak kullanılan bir metottur (Mihaljev ve ark. 2015). Buna karşın Kjeldahl ve Dumas gibi ham protein odaklı metotlar sütin yapısında doğal olarak bulunan NPN maddelerini de ölçüme dahil ettiği için taşış amacıyla düşük molekül kütleli ve azotça zengin maddelerin kullanımı konusunda bir açık oluşturmaktadır (DeVries ve ark. 2017). Çünkü bu yöntemlerde süt ürünlerindeki toplam azot değeri belirlenmektedir. Süt proteinleri ortalama %15,65 azot içermekte olduğundan tespit edilen bu azot miktarı ise 6,38 kat sayısı ile çarpılarak protein değerine çevrilmektedir (Ribadeau-Dumas ve Grappin 1989; Anonim 1999; Walstra ve ark. 2006; Moor ve ark. 2010). Böylelikle örnek içerisinde tespit edilen azotun tamamı protein olarak kabul edilmektedir. Söz konusu bu açık nedeniyle geçmişte taşış skandalları yaşanmıştır.

Dünyada bilinen en büyük NPN taşış skandallarından biri 2008 yılında Çin'de gerçekleşmiştir. Bir NPN kaynağı olan Melamin ile taşış edilmiş bebek mamalarından 294.000'den fazla bebek hastalanırken bunlardan 51.900'ü yatarak tedavi altına alınmış ve 6 bebek ölmüştür. Olayda adı geçen melamin %67 civarında azot içermektedir (Yang ve ark. 2009).

NPN taşışlerinin tespitinde dolaylı ya da doğrudan sonuç veren Nitrat miktarı tayini, melamin tayini, spektrofotometrik yöntemler, elektroforez gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır (Hafıza 2000; Salman ve ark. 2012). Ancak, bu yöntemlerin birçoğu tek başına

kullanıldığında tağşişi belirlemede yeterli olmayabilir. Bunun nedenlerinden biri de protein olmayan azotlu maddelerin çeşitliliğidir. Dolayısıyla tağşiş amaçlı kullanılan NPN'lerin tek tek tespiti yerine bunları hesaplama dışında bırakan gerçek protein değeri bir alternatif olarak düşünülebilir. Ülkemizde pek bilinmese de gerçek protein değeri halihazırda sığır yetiştiriciliğinde ileri ülkelerde süt verim özelliği için yapılan seleksiyonda süt verimi ile birlikte yağ oranı yerine, protein oranı esas alınmaktadır (Şekerden ve ark. 1999). Özellikle, Amerika Birleşik Devletlerinde 2000 yılından itibaren proteinlerin genetik değerlendirmesinde ve süt kayıt sisteminde ham protein yerine gerçek protein değeri kullanılmaktadır. Bunun yanında Fransa ve Avustralya gibi ülkelerde de benzer uygulamalar görülmektedir (Anonim 2016b). Bu ülkeler arasında Eylül 2018'den itibaren Kanada da katılmıştır (Anonim 2018, Anonim 2019b).

2. Materyal ve Metot

2.1. Materyal

Çalışmada kullanılan peyniraltı suyu referans materyali 'Muva Kempten' firmasından (muva-MO-0613), Referans Çiğ Süt Numuneleri 'Associazione Italiana Allevatori Laboratorio Standard Latte' kuruluşundan temin edilmiştir. Çalışmada analize alınan örnekler Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü'ne rutin analizler ve/veya diğer proje çalışmaları kapsamında gelen numuneler ile piyasadan temin edilen örneklerden oluşmaktadır. Bu kapsamda 100 adet çiğ inek sütü, 40 adet süt tozu ve 20 adet peyniraltı suyu tozu analize alınmıştır. Tağşiş denemesinde kullanılan üre %46,62 azot içermektedir.

2.2. Metot

Çalışmada referans materyal kullanılarak TS EN ISO 8968-4 'Süt ve süt ürünleri - Azot muhtevası tayini-Bölüm 4: Proteinden kaynaklanan ve proteinden kaynaklanmayan azot muhtevası ve doğru protein muhtevasının hesaplanması (Referans yöntem-ISO 8968-4, 2016) standardında belirtilen metodun validasyonu yapılmıştır. Bunun yanında standardın kapsamına girmeyen süt tozu ve peyniraltı suyu tozları için ise iki adet metot modifikasyonu gerçekleştirilmiştir (Anonim 2016).

Bu modifikasyonlardan ilkinde süt tozu ve peyniraltı suyu tozları 10 katı oranlarda sulandırılmış (20 g süt tozu/peyniraltı suyu tozu 180 ml saf suda çözündürülmüştür), sonra bu çözeltiden 5 gram örnek bir Kjeldahl tüpüne tartılmıştır. Bundan sonraki aşamalar standartta

belirtildiği şekilde gerçekleştirmiş ve son aşamada yakma prensibiyle protein analizine tabi tutulmuştur. Süt tozu ve peyniraltı suyu tozu için modifikasyonu yapılan ikinci metot ise sulandırma gibi uygulamaların oluşturabileceği hataları önlemek amacıyla hayata geçirilmiştir. Bu uygulamada 0,5 g süt tozu/peyniraltı suyu tozu örneği bir Kjeldahl tartım kayıkçığı ile yakma tüpüne tartılmış, üzerine tüp cidarını yıkatacak şekilde 5 ml saf su eklendikten sonra Kjeldahl tüpü vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karışıma 50 ml trikloroasetik asit (TCA) eklenerek 5 dk beklemeye bırakılmış, tüp içeriği Whatman No:1 filtre kağıdından süzöldükten sonra 10 ml TCA çözeltisi tüpe eklenerek yeniden süzölmüştür. Bu işlem bir kez daha tekrar edilerek süzme işlemi tamamlanmıştır. Filtre kağıdı içeriği kaybedilmeyecek şekilde dikkatle katlanarak aynı Kjeldahl tüpünün içine atılmış ve müteakiben Kjeldahl prensibi ile yakma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Metot validasyon ve modifikasyonlarını takiben söz konusu metotlar kullanılarak enstitü bünyesinde mevcut Kızılötesi cihazının (Bentley FTS/FCM) kalibrasyonları gerçekleştirilmiş, 100 adet çiğ süt, 40 adet süt tozu ve 20 adet peyniraltı suyu tozunun analizleri yapılmıştır.

Çalışmanın ikinci kısmında ise süt tozu örneğine farklı oranlarda üre (%5, 10, 20) ilave edilerek bir tağşiş denemesi yapılmış, bu örnekler hem gerçek protein hem de ham protein yönünden analiz edilerek sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Elde edilen verilerin istatistik analizleri JMP® (SAS Institute Inc. 2007) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Çiğ Süt Analiz Sonuçları

Sütün bileşimi çok fazla etkene bağlı olarak değişkenlik gösterebilmekte, bunlar arasında hayvanın türü, yaşı, ırkı ve kalıtım özellikleri, meme lobu, laktasyon dönemi, yetiştirme ve bakım koşulları yanında mevsimsel etkiler, sağım süresi ve sayısı ile hastalıklar sayılabilmektedir. Dolayısıyla söz konusu faktörlere bağlı olarak sütün yapısında bulunan GP ve NPN oranları da oldukça değişken bir seyir izleyebilmektedir (Ng-Kwai-Hang ve ark. 1985, Kurdal ve ark. 2016). Ancak bir çok kaynakta sütün bileşimi için kullanılan ortalama değerler mevcuttur. Ribadeau-Dumas ve Grappin (1989), ortalama protein miktarını %3,3, Patır (2005) ise 3,6 olarak bildirmiştir. Ülkemizde çiğ süt için mevcut TS Standardında protein miktarının en az %2,8 olması gerektiği belirtilmektedir. Literatürde

sütün gerçek protein içeriği ve bunun yanında NPN, Ham Protein ve Gerçek Protein değerleri arasındaki ilişkiye dair yapılmış çalışmalara rastlanmaktadır.

Kanada'da yapılan bir çalışmada 3600 inekten 28.390 süt örneği toplanmış ve bu sütlerin ortalama ham protein düzeyleri $3,51 \pm 0,002$, gerçek protein düzeyleri $3,31 \pm 0,002$ ve NPN miktarları $31,70 \text{ mg}/100\text{ml} \pm 0,12$ olarak tespit edilmiştir (Ng-Kwai-Hang ve ark. 1985).

Ruska ve Joncus (2014), farklı çiftliklerden topladıkları süt örneklerinde ham protein miktarını $3,43 \pm 0,039$ ve kazein miktarını ise $2,65 \pm 0,028$ olarak belirlemişlerdir.

Ng-Kwai-Hang ve ark. (1985), Kanada'da 3600 inekten topladıkları 28.390 süt örneği üzerinde yaptıkları çalışmada NPN/HP oranını 5,57 olarak tespit etmişlerdir.

Kindstedt ve ark. (1983), yedi farklı peynir işletmesinden 11 ay boyunca aldıkları 146 örnekte kazein, gerçek protein ve toplam protein miktarlarını araştırmış, kazein miktarını gerçek proteinin $80,4-83,7$ 'si, ham proteini ise $74,9-79,3$ 'ü olarak tespit etmişlerdir. Bu oranlar hayvan ırkına göre de değişkenlik gösterebilmektedir. Süt işletmelerinde sıklıkla rastlanılan Holstein ırkı sığırlarda ortalama NPN oranı $4,9$ ($3,1-7,5$), Kazein/GP oranı $82,2$ ($72,3-87,1$) iken örneğin Jersey ırkı sığırlarda bu oranlar sırasıyla $3,6$ ve $83,2$ ($81,3-84,7$)'dir (Cerbulis ve Farrall 1976; Anonim 1999).

Mevcut çalışmada 100 adet çiğ süt örneği analiz edilmiştir. Bu sütlerde elde edilen ortalama toplam protein miktarı $3,25 \pm 0,23$, gerçek protein düzeyi $3,06 \pm 0,01$ ve kazein miktarı $2,36 \pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir. Analiz edilen sütlerden yalnızca 3 adedinin standartta belirtilen en az protein değerinin altında kaldığı gözlenmiştir. Ham protein ve gerçek protein sonuçları önceki çalışmalarla uyumluluk gösterirken kazein düzeyleri beklenenden düşük olarak tespit edilmiştir. Sütler için GP/HP oranı $94,08$, Kazein/GP oranı $76,97$, NPN/HP oranı $5,92$ olarak izlenmiştir. Kazein/HP oranı ise $72,41$ 'dir. Literatür bilgileri değerlendirildiğinde sütte bulunan kazein miktarının hayvanın sağlık durumuna bağlı olarak azalabildiği bilinmektedir. Böyle durumlarda oran 70 'lere inebildiği gibi hastalığın durumuna göre 50 'lere kadar da gerileyebilmektedir (Demirci 1978). Bu faktörlerin yanında $2-6^\circ\text{C}$ 'de depolama, fonksiyonel niteliklerde küçük etkiler yapmasına karşın (O'Connell ve ark. 2016) bekletme ve

soğutma süreci kazeinin yapısını değiştirerek küçük pıhtı tanecikleri haline getirebilmekte, çözünebilir beta kazein miktarını da düşürebilmektedir (Demirci 1978, Dzurec ve Zall 1985). O'Brien ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada 72-144 saat depolama sürecinde serum protein miktarında artış gözlenirken kazein miktarında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Lynch ve ark. (1998) da buzdolabında depolamanın ölçülen kazein değerlerini azalttığını bildirmişlerdir. Bunun yanında O'Connell ve ark. (2016), süt verimi, besleme, genetik faktörlerin protein oranını önemli düzeyde etkilemesinin yanında geç laktasyon döneminde sağılan sütlerde ortaya çıkan yüksek plasmin aktivitesinin de kazein fraksiyonlarında değişikliğe sebep olduğunu gösteren çalışmalar bulunduğunu da belirtmişlerdir.

Mevcut çalışma kontrollü bir çalışma olmadığı için kullanılan sütlerin elde edildiği hayvanların ırk, besleme koşulları, laktasyon periyotları ya da hastalık durumları gibi özelliklerinin bilinmesi ve takibinin yapılması mümkün değildir. Bu durumda bireysel farklılıkların değerlendirilmesi anlamını yitirmekte ve elde edilen sonuçlara yukarıda bahsedilen durumların etkisi değerlendirilememektedir. Bununla birlikte çalışma sürecinde bazı süt örnekleri analiz amacıyla donmuş şekilde enstitümüze gelmiş, bazı örneklerse hemen analize alınamadığı durumlarda kesilme/bozulma olasılığını önlemek için hızlıca dondurulmuştur. Kazein miktarlarındaki düşük seyirin dondurma ve depolama sürecinin etkisine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

3.2.Süt Tozu Analizleri

Genel literatür taramasında yağsız süt tozlarında bildirilen protein değerlerinin $33-37$ arasında olduğu görülmüştür (Scheidegger ve ark. 2013; Anonim 2019a; Anonim 2019b). Mevcut süt tozu standardında da protein oranı için en az 34 olması gerektiği belirtilmektedir (TS 1018). Gerçek protein değerleri ise yağlı ve yağsız süt tozlarında sırasıyla $24,3$ ve $33,6$ 'dır (Yetişemiyen 2007). Literatürde yağlı ve yağsız süt tozlarında protein içeriğinin belirlendiği çalışmalara rastlanmakta olup, Patil ve ark. (2016a) Hindistan'ın Maharashtra bölgesinin beş farklı noktasından temin edilen yağlı süt tozlarında NPN miktarlarını $0,220-0,610$, gerçek protein değerlerini $24,47-28,34$ aralığında tespit etmişlerdir. NPN ve gerçek protein değerleri bölgeden bölgeye önemli farklılıklar göstermektedir. Patil ve ark. (2016b) tarafından yapılan benzeri bir başka çalışmada ise piyasada satışı sunulan yağsız süt tozu örneklerinde gerçek

protein değerlerinin %31,17-%39,87, NPN değerlerinin 0,189-0,630 aralığında olduğu belirlenmiş, protein değerlerinde gözlenen farklılıkların bölgeden bölgeye olduğu kadar analiz edilen markalara göre de değiştiği ifade edilirken gözlemlenen bu farklılıkların nedenlerinden biri olarak ham madde sütün bileşimindeki maddelerin geniş bir varyasyon oluşturması gösterilmiştir.

Mevcut çalışmada kullanılan süt tozları yağsız süt tozu olup %10 oranında hazırlandıktan sonra analize alınmıştır. İncelenen 40 örnekte ortalama ham protein miktarı $3,25 \pm 0,23$, gerçek protein miktarı $3,03 \pm 0,01$ şeklinde belirlenmiştir. Sonuçlar sulandırma faktörü ile çarpıldığında ortalama ham protein düzeyi $\%32,51 \pm 2,25$ ve gerçek protein düzeyi $\%30,35 \pm 0,06$ olurken GP/HP oranı ve NPN/GP oranı ise sırasıyla %93,36 ve 6,64 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen değerler literatürle uyumludur.”

3.3. Peyniraltı Suyu Tozu Analizleri

Peyniraltı suyu %6 katı madde içerir ve bunun %0,6'sı gerçek protein, %0,2'si NPN'dir (Anonim 2016a). Matthews (1984), peynir altı suyunun gerçek protein içeriğini çoğunlukla %0,50 ila %0,65 aralığında bildirirken Hurst ve ark. (1990), bu oranı %0,72 olarak belirtmişlerdir. Literatür taramasında peyniraltı suyu tozu (WP) için gerçek protein değerine ait bir kaynağa rastlanmazken peyniraltı suyu protein konsantrelerinde (WPC) gerçek protein oranının %66-73 arasında değiştiği belirtilmektedir (Patel ve ark. 1990). Bu konuda yapılan bir başka çalışmada ise Regester ve ark. (1992) %75 protein içeren WPC ürünüde gerçek protein oranının mevsimsel etkilere bağlı olarak %71,7-73,0 aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Çalışmamızda kullanılan peyniraltı suyu tozu (muva-MO-0613) ise %80,02 gerçek protein (%HP: 30,93, %GP:24,75) içermektedir. Peyniraltı suyundan uygun kurutma işlemleri ile elde edilen Peyniraltı suyu tozlarının Türk Standardında (TS 11860) belirtilen bileşiminde protein miktarı az proteinli (<4), proteinli (4-9,9) ve yüksek proteinli (>10) olarak sınıflandırılmaktadır. Çalışmada analize alınan örneklerden 15 adedi yüksek proteinli (ortalama % protein $12,18 \pm 0,71$), 5 adedi proteinli (ortalama % protein $8,05 \pm 0,67$) vasfında olduğu belirlenmiştir. Gerçek protein değerleri yüksek proteinli peyniraltı suları için ortalama $\%8,29 \pm 0,04$, proteinli peyniraltı suları için ortalama $\%6,11 \pm 0,03$ olarak tespit edilmiştir. GP/HP oranı ise sırasıyla %67,84 ve 75,37, NPN/HP oranı 32,16 ve 24,63 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçların literatürle

uyumlu olduğu değerlendirilmektedir.

3.4. Tağşiş Çalışması

Süt ve süt ürünlerinde protein tağşişleri farklı şekillerde gerçekleştirilmektedir. Bunlara örnek olarak farklı protein kaynaklarıyla ya da protein olmayan azotlu maddelerle yapılan tağşişler gösterilebilir. Özellikle ihracata konu olan süt tozu ve peyniraltı suyu tozlarında protein tağşişleri ülke itibarı için de önem taşımaktadır. NPN maddeleri kullanılarak yapılan tağşişleri tespit etmekten ziyade önleyici unsurları ele almak fazlaca çeşitliliğe sahip NPN maddelerini tek tek tespit etmekten daha pratik olabilir. Bu kapsamda gerçek protein değeri değerlendirmeye alınabilir. Çünkü Kjeldahl ve Dumas gibi rutinde kullanılan ham protein ölçüm metotları, sütün doğal yapısındaki azotlu maddeler ile ilave edilmiş düşük moleküler kütleli azot yönünden zengin maddeler arasında ayırım yapamamaktadır (DeVries ve ark. 2017). Dolayısıyla süt ürünlerine bu tip azotlu maddeler ilave edildiğinde belirlenen toplam proteinin bir parçası olarak görülebilmektedir. Oysa gerçek protein kavramında protein olmayan azotlu maddeler hesaplama dışında kalmaktadır.

DeVries ve ark. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada TCA ile proteinlerin çöktürülmesi, tannik asitle proteinlerin çöktürülmesi ve moleküler kütle filtrasyonunu içeren üç farklı metot, süt tozlarının çeşitli NPN maddeleriyle tağşişinin tespiti yönünden kıyaslanmıştır. Çalışma sonunda çöktürme metotlarının NPN tağşişlerinde etkin olarak kullanılabileceği fakat metotların kullanılan farklı tağşiş maddelerinde (melamin, üre, disiyandiamid, amonyum fosfat dibazik vb.) farklı sonuçlar verebileceği belirtilmiştir. Söz konusu çalışmada TCA ile protein çöktürülmesi metodunda melaminin geri kazanım oranı 1000 ppm düzeyinde %97,6 olurken 3800 ppm düzeyinde %7,9 olarak belirlenmiştir. Ancak literatürde farklı TCA oranlarının metot performansını olumsuz etkileyebileceği bildirilmektedir (Anonim 2015). Söz konusu çalışmada elde edilen verilerin kullanılan %28'lik TCA oranıyla da ilgisinin olabileceği düşünülmektedir. Gao ve ark. (2015) ise kontrolle birlikte farklı NPN maddeleri ile tağşiş edilmiş sütlerde Kjeldahl yöntemiyle gerçek protein tayinini yaparak bir NPN indeksi belirlemişlerdir. Tağşişli sütlerin NPN düzeylerinin belirlenen aralığın (0.8084 to 1.4987) dışında olduğu ve ortaya konan bu indexin NPN tağşişlerinin tespitinde kullanılabileceği bildirilmiştir. Bununla birlikte TCA ile çöktürme uygulanan metotta ise tağşiş amaçlı katılan melaminin 0,2 mg/kg'ın altında

olması durumunda tespit edilemediği de ifade edilmiştir.

Mevcut çalışmada ham protein ve gerçek protein içeriği referans Kjeldahl metodu ile belirlenen süt tozuna belirli oranlarda (%5, 10, 20) üre ilave

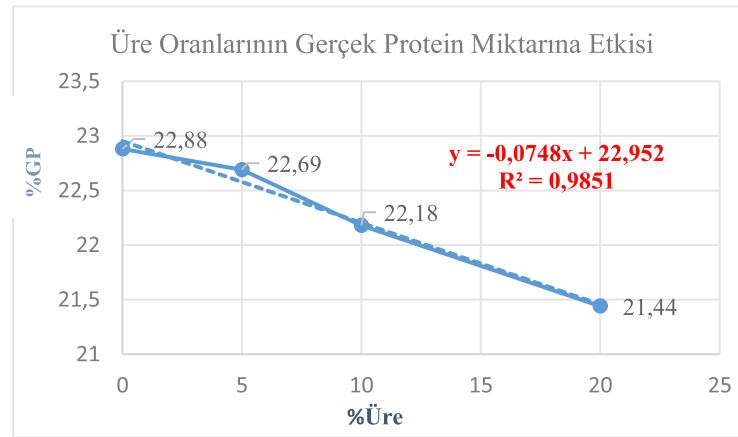
edilmiş ve bu karışımların gerçek protein ve ham protein değerlerindeki değişimler belirlenmiştir (Çizelge 1).

Çizelge 1: Süt tozu + üre karışımları için analiz sonuçları.

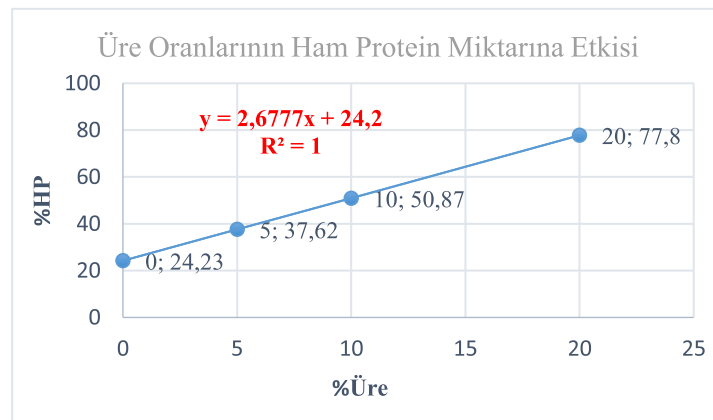
%Üre**	%GP	%HP	%GP/HP	%NPN/HP
0	22,88 ^a ±1,58	24,23 ^d ±1,68	94,40 ^a	5,60 ^d
5	22,69 ^b ±1,57	37,62 ^c ±2,60	60,31 ^b	39,69 ^c
10	22,18 ^c ±1,53	50,87 ^b ±3,52	43,60 ^c	56,40 ^b
20	21,44 ^d ±1,48	77,80 ^a ±5,38	27,56 ^d	72,44 ^a

*Farklı harfle gösterilen değerler istatistiki olarak farklıdır ($p < 0,05$).

**Kullanılan üre %46,62 azot içermekte olup hesaplama $N \times 6,38$ üzerinden yapılmıştır.



Şekil 1: Süt tozuna farklı oranlarda ilave edilen üreye bağlı değişen gerçek protein oranları



Şekil 2: Süt tozuna farklı oranlarda ilave edilen üreye bağlı değişen ham protein oranları

Kullanılan üre oranlarının gerçek protein ve ham protein değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). Her iki parametrede

artışlar doğrusaldır (Şekil 1 ve 2). Çalışmada uygulanan en düşük düzeyde (%5) üre kullanımı dahi oransal olarak gerçek protein değerini aşağı

çekerken kjeldahl ham protein oranını önemli düzeyde yükselttiği gözlenmiştir. Tespit edilen NPN miktarı ise kontrolün 6,3 katıdır. Gerçek protein düşüş oranları ile Ham protein artış oranları sırasıyla %0,83, %3,06, %6,29 ve %35,59, %109,95, %221,09 olmuştur. Gerçek proteindeki azalış kullanılan ürenin hacimsel artışıyla bağıntılıdır (R^2 : 0,9851). NPN maddelerinin çeşitliliği ve dahası süt ve süt ürünlerinin yapısında doğal olarak da bulunabilmeleri söz konusuysen bu maddelerin tek tek analiz edilerek taşıyış tespitine yönelinmesi oldukça karmaşık bir husus haline gelmektedir.

5.Kaynaklar

Anonim, 1999. True Protein vs. Total Protein, https://www.usjersey.com/Portals/0/NAJ/2_Docs/TrueProteinExplained_NAJ_1999.pdf (Accessed 01.11.2016).

Anonim, 2015. FSSAI Manual of methods of Analysis of Foods: Milk and Milk Products, 1.

Anonim, 2016. TS EN ISO 8968-4. Süt ve Süt Ürünleri-Azot Muhtevası Tayini-Bölüm 4: Proteinden Kaynaklanan ve Proteinden Kaynaklanmayan Azot Muhtevası ve Doğru Protein Muhtevasının Hesaplanması (Referans yöntem). Türk Standardı. TSE Necatibey Caddesi No.112 Bakanlıklar/Ankara

Anonim, 2016a. Whey Processing. Dairy Processing Handbook, <http://www.dairyprocessinghandbook.com/chapter/whey-processing> (Accessed 01.12.2016).

Anonim, 2016b. USDA- Genetic Evaluation for True Protein, <https://aipl.arsusda.gov/reference/trueprot.htm> (Accessed 01.12.2016).

Anonim, 2018. From total protein to true protein: Overview and impact, <http://www.saskmilk.ca/media/1819/18-08-29-true-protein-notice.pdf> (Accessed 27.12.2019).

Anonim, 2019c. Türkomp, Ulusal Gıda Kompozisyon Veri Tabanı- Süt tozu, yağsız, <http://www.turkomp.gov.tr/food-24> (Accessed 27.12.2019).

Anonim, 2019a. Nutritional Composition Of

4.Sonuç

Hayvancılığı ileri bir çok ülkede yaygın olarak kullanılmasına karşın ülkemizde gerçek protein (True Protein) kavramı pek bilinmemektedir. Bu kavram protein miktarının hesaplanmasında protein olmayan azotlu maddeleri (NPN) dışarıda bırakmaktadır. Bu durum gerek besin içeriğinin doğru şekilde değerlendirilmesi gerekse NPN taşıyışlarını önlemede bir fırsat oluşturabilir. Çalışma sonuçları da bu kanıyı desteklemektedir. Ancak metodun bilinen NPN maddeleri üzerindeki seçiciliğinin de ayrıca ele alınması gerekebilir. Bunun yanında ülke mevzuatında yer almayan gerçek protein kavramının işlerlik kazanması kendisine mevzuatta yer bulmasına da bağlıdır.

Skim Milk Powder, <https://www.dairyglobalnutrition.org/Documents/Dairy%20Nutrition/NutrCompOfSMP.pdf> (Accessed 27.12.2019).

Anonim, 2019b. The Crude and True Story of Milk Protein, <https://www.progressivedairy.com/topics/herd-health/the-crude-and-true-story-of-milk-protein> (Accessed 27.12.2019).

Cerbulis, J. and Farrell, H.M., 1976. Composition of the Milks of Dairy Cattle. II. Ash, Calcium, Magnesium, and Phosphorus. *Journal of Dairy Science*, 59(4), 589-593.

Demirci, M., 1978. Çiğ Süt Kalitesine Etkili Olan Faktörler. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 9(4).

DePeters, E.J. and Ferguson, J.D., 1992. Non Protein Nitrogen and Protein Distribution in the Milk of Cows. *J Dairy Sci.*75:3192-3209.

DeVries, J.W.,Greene, G.W., Payne, A., Zbylut, S., Scholl, P.F., Wehling, P., ... Moore J.C., 2017. Non-Protein Nitrogen Determination: A Screening Tool for Nitrogenous Compound Adulteration of Milk Powder. *International Dairy Journal*, 68, 46-51.

Dzurec, Jr, D.J. and Zall, R.R., 1985. Effect of Heating, Cooling, and Storing Milk on Casein and Whey Proteins. *Journal of Dairy Science*, 68(2), 273-280.

- Fox, P.F. and McSweeney, P.L., 1998. Dairy Chemistry and Biochemistry (No. 637 F6.). London: Blackie Academic & Professional.
- Gao, P., Li, Z., Zan, L., Yue, T. and Shi, B., 2015. A Non-Protein Nitrogen Index for Discriminating Raw Milk Protein Adulteration Via the Kjeldahl Method. *Analytical Methods*, 7(21), 9166-9170.
- Hafıza, E., 2000. Süt Tozunun Peyniraltı Suyu Tozu ile Tağışının Araştırılması. Gıda Müh. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hurst, S., Aplin, R.D. and Barbano, D.M., 1990. Whey Powder and Whey Protein Concentrate Production Technology, Costs and Profitability (No. 640-2016-42991).
- Kindstedt, P.S., Duthie, A.H. and Nilson, K.M., 1983. Estimation of casein from total protein in commingled milk. *Journal of Dairy Science*, 66(12), 2459-2463.
- Kurdal, E., Özcan, T. ve Yılmaz-Ersan, L., 2016. Süt Teknolojisi. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi.
- Lynch, J.M., Barbano and D.M., Fleming, J.R., 1998. Indirect and Direct Determination of the Casein Content of Milk by Kjeldahl Nitrogen Analysis: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*, 81(4), 763-774.
- Matthews, M.E., 1984. Whey Protein Recovery Processes and Products. *Journal of Dairy Science*, 67(11), 2680-2692.
- Mihaljev, Ž.A., Jakšić, S.M., Prica, N.B., Čupić, Ž.N. and Živkov-Baloš, M.M., 2015. Comparison of the Kjeldahl Method, Dumas Method and NIR Method for Total Nitrogen Determination in Meat and Meat Products. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 21(4), 365-370.
- Moore, J.C., DeVries, J.W., Lipp, M., Griffiths, J.C. and Abernethy, D.R., 2010. Total Protein Methods and Their Potential Utility to Reduce the Risk of Food Protein Adulteration. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9: 330-357.
- Ng-Kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxley, J.E. and Monardes, H.G., 1985. Percentages of Protein and Nonprotein Nitrogen with Varying Fat and Somatic Cells in Bovine Milk. *Journal of Dairy Science*, 68(5), 1257-1262.
- O'Connell, A., Ruegg, P. L., Jordan, K., O'Brien, B. and Gleeson, D., 2016. The Effect of Storage Temperature and Duration on the Microbial Quality of Bulk Tank Milk. *Journal of Dairy Science*, 99(5), 3367-3374.
- O'Brien, B., Meaney, W.J., McDonagh, D. and Kelly, A., 2001. Influence of Somatic Cell Count and Storage Interval on Composition and Processing Characteristics of Milk from Cows in Late Lactation. *Australian Journal of Dairy Technology*, 56(3), 213.
- Patel, M.T., Kilara, A., Huffman, L.M., Hewitt, S.A. and Houlihan, A.V., 1990. Studies on whey Protein Concentrates. 1. Compositional and Thermal Properties. *Journal of Dairy Science*, 73(6), 1439-1449.
- Patır, B., 2005. Süt ve Süt Ürünleri Teknolojisi Ders Notları. s.:1-12.
- Patil, M. R., Khedkar, C.D., Chavan, S.D. and Patil, P.S., 2016a. Studies on Physico-Chemical Properties of whole Milk Powder Manufactured or Sold in Maharashtra, India. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35(3), 177-186.
- Patil, M.R., Khedkar, C.D., Chavan, S.D. and Patil, P.S., 2016b. Studies on Physico-Chemical Properties of Skim Milk Powder Sold in Maharashtra. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, 35(4), 261-269.
- Pelegrine, D.H.G. and Gasparetto, C.A., 2005. Whey Proteins Solubility as Function of Temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), 77-80.
- Regester, G.O., Smithers, G.W., Mangino, M.E. and Pearce, R.J., 1992. Seasonal Changes in the Physical and Functional Properties of whey Protein Concentrates. *Journal of dairy science*, 75(11), 2928-2936.
- Ribadeau-Dumas, B. and, Grappin, R., 1989. Milk Protein Analysis. *Lait* 69:357-416.
- Ruska, D. and Jonkus, D. 2014. Crude Protein

and Non-Protein Nitrogen Content in Dairy Cow Milk. Proceedings of the Latvia University of Agriculture, 32(1), 36-40.

Salman, M., Abdel Hameed, E.S.S., Al-Amoudi, M.S., Salman, L., Alghamdi, M.T. and Bazaid, S.A., 2012. Identification and Determination of Melamine in Milk by High Performance Liquid Chromatography – UV Detector. Der Pharma Chemica, 4 (2):737-748.

Scheidegger, D., Radici, P.M., Vergara-Roig, V.A., Bosio, N.S., Pesce, S.F., Pecora, R.P., ... Kivatinitz, S.C., 2013. Evaluation of Milk Powder Quality by Protein Oxidative Modifications. Journal of Dairy Science, 96(6), 3414-3423.

Şekerden, Ö., Erdem, H., Kankurdan, B. ve Özlü, B., 1999. Anadolu Mandalarında Süt

Kompozisyonunu Etkileyen Faktörler ve Süt Kompozisyonunun Laktasyon Dönemlerine Göre Değişimi. Tr. J. of Veterinary and Animal Sciences, 23, 505-509.

Walstra, P., Wouters, J.T.M. and Geurts, T.J., 2006. Dairy Science and Technology Second Edition. CRC Taylor & Francis Group, Boca Raton, London, New York.

Yang, R., Huang, W., Zhang, L., Thomas, M. and Pei, X., 2009. Milk Adulteration with Melamine in China: Crisis and Response. Quality Assurance and Safety of Crops & Foods. 1(2)111-116.

Yetişemiyen, A., 2007. Koyulaştırılmış ve Kurutulmuş Süt Ürünleri Teknolojisi. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Yayın No:1558, Ders Kitabı 511: 49-100, Ankara, <http://kitaplar.ankara.edu.tr/dosyalar/pdf/528.pdf> (Accessed 25.12.2019).