

## SÜT ALKALİ PROTEİNAZİ PLAZMİN

### THE MILK ALKALINE PROTEINASE PLASMIN

Oğuz AYDEMİR, Muhammet DERViŞOĞLU\*, Hasan TEMİZ, Fehmi YAZICI

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Samsun

Geliş tarihi: 17.08.2007

**ÖZET:** Plazmin, tripsin benzeri, kan kaynaklı bir alkali serin proteinazdır. Sütte az miktarda aktif olmak üzere daha çok inaktif zimojeni olan plazminojen olarak bulunur. Isıya karşı dirençli bir enzim olan plazmin  $\beta$ -,  $\alpha_{s1}$ - ve  $\alpha_{s2}$ - kazeinler üzerine etkilidir. Bu nedenle süt ürünlerinin lezzet ve tekstürü üzerine de etkilidir. Bu özellikleri nedeniyle araştırmalar daha çok plazminin peynir ve UHT sütteki etkileri üzerine yoğunlaşmıştır. Bu derlemede, sütteki plazmin sistemi, plazminin süt proteinlerine ve süt ürünlerinin kalitesi üzerine olan etkileri incelenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Plazmin, süt, proteoliz

**ABSTRACT :** Plasmin is a trypsin-like alkaline serine proteinase originating in the blood. Most of the enzyme in milk is present as the inactive zymogen called plasminogen whereas a little amount of enzyme is active. Plasmin which is a heat-stable enzyme has activity on  $\beta$ -,  $\alpha_{s1}$ -, and  $\alpha_{s2}$ - CN. Because of its properties, most of the studies have been focused on its effects on cheese and UHT milk. In this review, plasmin system in milk, effects of plasmin on milk proteins and quality of milk products were investigated.

**Keywords:** Plasmin, milk, proteolysis

### GİRİŞ

Çiğ süt, kan veya immün sistem bileşiklerinden süte geçiş yoluyla sağlanan zengin bir proteolitik ve lipolitik enzim kaynağıdır. Bununla birlikte, süte ısı işlem uygulandığında süt enzimlerinin farklı oranlarda inaktivasyonu gerçekleşir (1). Plazmin süte en fazla bulunan ve üzerinde en fazla araştırmanın yapıldığı proteinazlardanır. Isıya karşı direnci yüksektir ve pek çok süt ürünüde süt proteinlerinin parçalanmasına neden olur. Süt proteinlerinin hidrolizi, lezzet ve tekstürü etkilemektedir. Bu etki, etkinlik ve ürün çeşidine bağlı olarak olumlu ya da olumsuz olabilmektedir (2). Süt endüstrisindeki yüksek bakteriyel kalite, çiftlik ve işletmelerde uzun depolama süresi, yüksek sıcaklıkta işlenmiş süt girişi gibi uygulamalar gelişim gösterdiğinden plazminin önemi artmıştır (3).

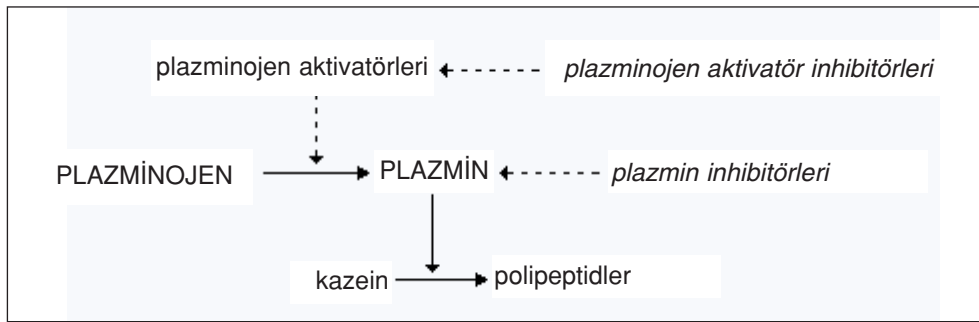
### SÜTÜN PLAZMİN SİSTEMİ

Sütte baskın olan proteinaz plazmindir (fibrinolizin, EC 3.4.21.7) (4,5,6). Plazmin bir alkali serin proteinazdır (2). Ortalama 7.5 pH ve 37 °C'de optimum etkinliğe sahip, kan kaynaklı tripsin benzeri bir serin proteinazdır. Kandaki plazmin, kan pıhtılaşması sırasında fibrin pıhtılarının parçalanmasında fizyolojik görev görür. Dolayısıyla kandaki plazmin etkinliği sıkı kontrol altında olmalıdır. Ayrıca plazminojen aktivatörlerinin etkinliği yoluyla bir inaktif ön madde olan plazminojenden üretilir (6). Plazmin, kendi zimojeni (plazminojen), plazminojen aktivatörleri (PA), plazmin inhibitörleri ve plazminojen aktivatör inhibitörlerinden oluşan karmaşık bir sistemin parçasıdır (Şekil 1) (7). Bu sistem süte kandan geçer. Plazmin etkinliği mastik bir enfeksiyonda ve laktasyonun ilerleyen dönemlerinde artış gösterir. Her iki durumda da kandaki unsurların süte geçişi artar (3).

\* E-posta : mderviso@omu.edu.tr

Sütte plazmin, plazminojen ve PA esas olarak kazein miselleri ile ilişkiliyken (peynir pıhtısında kalırlar), plazmin inhibitörleri ve PA inhibitörleri serumda bulunur ve peynir altı suyu ile ayrılırlar (6). Plazmin, sütte az bir miktarı aktif olmak üzere daha çok inaktif plazminojen olarak bulunur. Enzim, süt pH'sında kazeine belirli bir ilgi gösterir. Bununla birlikte düşük pH'da kazeinden ayrılır. Özellikle yüksek pH'da aktiftir (8). Hem plazmin hem de plazminojen bir glikoproteindir (9). PA, plazminojenin plazmine dönüşümünü sağlayan serin proteinazlardır (10). Sığır plazminojeni 786 aminoasitten oluşan, 88092 Da molekül kütleli, tek zincirli bir glikoproteindir. Plazminojenin Arg<sub>557</sub> – Ile<sub>558</sub> peptid bağının spesifik proteinazlarca (ürokinaz-tip ve doku-tip PA) parçalanmasıyla plazmin açığa çıkar (3).

Ürokinaz-tip PA esas olarak somatik hücrelerle, doku-tip PA ise kazeinle ilişkilidir (2).



Şekil 1. Sütteki plazmin/plazminojen sisteminin şematik görünümü (6)

Plazmin, karboksil grubuna lizin veya arginin veren peptid bağlarına yüksek spesifiklik gösterir (7). Plazmin, otokatalitik olarak Arg-plazminojen oluşumunu sağlayan Lys<sub>77</sub> – Arg<sub>78</sub> bağınyı parçalar. Ancak Arg-Ile bağınyı parçalayamaz. Plazminojenin Lys-Arg bağınyı plazmin tarafından parçalanması, önaktivasyon peptidinin açığa çıkmasına ve plazminojende belirgin bir biçimsel değişikliğin oluşumuna yol açar. Bu durum, PA tarafından plazmine dönüştürülmesi daha kolay olan plazminojenin yeni bir şeklini meydana getirir (2).

Taze sütteki plazminojen konsantrasyonu (0.8-2.8 µg/mL) plazmin konsantrasyonundan (0.1-0.7 µg/mL) daha fazladır. Ancak depolama süresince plazminojen aktivatörlerinin etkinliği nedeniyle plazmin konsantrasyonu artarken plazminojen konsantrasyonu azalmaktadır (2). PA gibi plazmin ve plazminojen de kazein miselleri ile ilişkilidir ve pH 4.6'ya düştüğünde kazeinden ayrılırlar. Benfeldt ve ark. (11) süt yağ globülü zarında düşük düzeyde plazmin etkinliğinin bulunduğunu ve bunun, zar üzerine adsorbe olmuş kazein misellerine plazminin adsorbsiyonundan kaynaklandığını bildirmişlerdir. Sütte plazmin ve plazminojen konsantrasyonu ilerleyen laktasyon ile artar. Baldi ve ark. (12)'na göre plazmin etkinliği ve PA düzeyi arasında pozitif bir korelasyon vardır. Aynı zamanda PA somatik hücre sayısı ile de pozitif olarak ilişkilidir. Sütün 4 °C'de 6 gün depolanması süresince plazminojenin plazmine dönüşüm eğilimi belirlenmemiştir. Esasen plazmin ve potansiyel plazmin (plazminojen) etkinliği bu koşullarda azalmıştır (7). Sütteki plazmin etkinliği laktasyon aşaması, cins, hayvanın yaşı ve mastitis gibi faktörlere bağlıdır. Plazmin ve plazminojen sistemi, pastörizasyon sıcaklıklarında oldukça stabildir. 110 °C'nin üzerinde işlem görmüş sütte kalıntı plazmin etkinliği belirlenmiştir (13). İnek sütündeki plazmin ve plazminojenin, özellikle β-laktoglobulin yokluğunda, ısıya karşı dirençleri yüksektir. Kazein, plazmini inaktivasyona karşı korurken, β-laktoglobulin inaktivasyonu artırmaktadır (2). Denature β-laktoglobulin, sülfidril-disülfid yer değiştirme reaksiyonu sonucu plazmini inhibe eder (7). Metwalli ve ark. (14), proteinlerin varlığı ve yokluğunda sığır plazmininin ısı direncini çalışmışlardır. Kazein yokluğunda, 65 °C'nin üzerine ısıtmanın aşırı inaktivasyona sebep olduğu bununla birlikte, kazein varlığında 77 °C'ye ısıtmanın aşırı bir inaktivasyona yol açmadığı görülmüştür. β-laktoglobulin ve sistein varlığında 65 °C'nin üzerine ısıtma, β-laktoglobulin veya sisteindeki ve aynı zamanda enzimin kendisindeki sülfidril ve disülfid grupları arasındaki bir interaksiyon ve protein bağlarının kırılmasının bir kombinasyonu sebebiyle etkinlikte azalmaya neden olmaktadır (13). Plazmin UHT

işlemi sonucu kısmen yapısını koruyabilmektedir (3). Plazminin D değeri, 72.5 °C'de 12.4-35.7 dakika ve 142.5 °C'de 7-10 saniyedir. Hem plazmin etkinliği hem de plazminojen aktivasyonu sütün pastörizasyonu sonucu artış gösterir. Bu durum, ısıya duyarlı plazmin inhibitörleri ve PA inhibitörlerinin inaktivasyonu nedeni ile gerçekleşir. Plazminojenin plazmine göre ısıya karşı direnci düşüktür. Ancak inaktivasyon oranları benzerdir (2).

Plazminojen aktivatörlerinin, plazmin ve plazminojene göre ısıya karşı dirençleri daha fazladır. Sütteki PA'nin desimal azalma süresi (70 °C'de 109 dakika ve 140 °C'de 32 saniye), pastörizasyon koşullarında inaktive olmadıklarını ve UHT işleminde büyük ölçüde bozulmadan kaldıklarını göstermektedir (2).

Sütte, etkili bir proteolize neden olacak kadar yeterli plazmin bulunmaktadır. Ancak bu, inhibitörlerin varlığı nedeniyle gerçekleşmez. Eğer kazein miselleri ultrasantrifüj işlemi ile çöktürülüp bir tamponda yeniden çözündürülürse, ultrasantrifüjle inhibitörler ortamdaki uzaklaştırılacağı için depolamada yoğun proteoliz meydana gelecektir. Mikrobiyal proteinazların, sütün 4 °C'de 6 gün depolanması sırasında plazminden daha fazla proteolize neden oldukları bildirilmiştir (7).

Plazmin inhibitörleri ve PA inhibitörleri ısıya karşı hassastırlar ve serum fraksiyonunda bulunurlar. Çeşitli araştırmacılar kolostrumda ve inek sütünde proteaz inhibitörlerinin varlığını belirtmişlerdir. Sütte bir  $\alpha_1$ -antitripsin izole ve kısmen karakterize edilmiştir. Ayrıca  $\alpha_2$ -antiplazmin (bir plazmin inhibitörü) ve PA inhibitörü-1 (bir PA inhibitörü) de tanımlanmıştır ve kısmen saflaştırılmıştır. Bu son iki inhibitör büyük ihtimalle süt plazmin sistemindeki enzimleri etkilemektedir (2).

Politis (15)'e göre, sığır sütünde artan plazmin ve PA etkinliği, laktasyonun gerileme aşaması ile ilişkilidir. Sığır somatotropini ile muamele, laktasyonun gerileme aşamasında plazmin artışını engeller. Çünkü plazminojenin plazmine dönüşümünü önlemektedir (16).

## PLAZMİNİN SÜT PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Plazminin kazeinleri parçalama sırası şu şekildedir:  $\beta$ -kazein  $\approx$   $\alpha_{s2}$ -kazein  $>$   $\alpha_{s1}$ -kazein.  $\kappa$ -kazein fraksiyonunun ise bu proteinaza karşı dirençli olduğu görülmüştür. Plazminin  $\beta$ -,  $\alpha_{s2}$ - ve  $\alpha_{s1}$ -kazeinlere karşı spesifikliği bilinmemektedir. Ancak bu enzimin peynirdeki en önemli substratı  $\beta$ -kazeindir (6). Plazminin en önemli etkilerinden birisi,  $\beta$ -kazeini  $\gamma$ -kazein ve proteoz peptonlara parçalamasıdır. (9). Enzim,  $\beta$ -kazeini üç noktadan hidrolize eder: Lys<sub>28</sub>-Lys<sub>29</sub>, Lys<sub>105</sub>-His<sub>106</sub> ve Lys<sub>107</sub>-Glu<sub>108</sub>. Bu parçalama işlemi sonucunda  $\gamma_1$ -kazein ( $\beta$ -kazein f29-209),  $\gamma_2$ -kazein ( $\beta$ -kazein f106-209) ve  $\gamma_3$ -kazein ( $\beta$ -kazein f108-209), proteoz pepton-8 hızlı ( $\beta$ -kazein f1-28), proteoz pepton-8 yavaş ( $\beta$ -kazein f29-105 ve f29-107) ve proteoz pepton-5 ( $\beta$ -kazein f1-105 ve  $\beta$ -kazein f1-107) oluşur (6). Çözelti içerisinde, plazmin  $\beta$ -kazeini Lys<sub>28</sub>-Lys<sub>29</sub>, Lys<sub>105</sub>-His<sub>106</sub> ve Lys<sub>107</sub>-Glu<sub>108</sub> bağları yanında, Lys<sub>113</sub>-Tyr<sub>114</sub>, Arg<sub>183</sub>-Asp<sub>184</sub> bağlarından da parçalar ancak bu bağların sütte hidrolize olup olmadıkları bilinmemektedir.  $\gamma$ -Kazeinler, normal olarak toplam azotun %3'ünü oluşturur, fakat laktasyon sonunda %10'a kadar çıkabilir. Toplam azotun yüzdesi olarak, proteoz-peptonların miktarı ise  $\gamma$ -kazeinlerinkinin yaklaşık yarısı kadardır (7).

$\alpha_{s2}$ -Kazein de plazmine karşı oldukça hassastır. Peynirlerin olgunlaşması sırasında çok sık görülen bu fraksiyonun parçalanması durumuna muhtemelen plazmin sebep olmaktadır (6). Çözeltideki  $\alpha_{s2}$ -kazein, plazmin tarafından çok hızlı bir şekilde Lys<sub>21</sub>-Gln<sub>22</sub>, Lys<sub>24</sub>-Asn<sub>25</sub>, Arg<sub>114</sub>-Asn<sub>115</sub>, Lys<sub>149</sub>-Lys<sub>150</sub>, Lys<sub>150</sub>-Thr<sub>151</sub>, Lys<sub>181</sub>-Thr<sub>182</sub> ve Lys<sub>188</sub>-Ala<sub>189</sub> bağlarından parçalanır. Fakat süt içerisindeki durum karakterize edilmemiştir.  $\alpha_{s2}$ - veya  $\beta$ -kazeinden daha dirençli olmasına rağmen, çözelti içerisinde  $\alpha_{s1}$  - kazein de plazminle kolaylıkla hidrolize edilir. Ancak,  $\lambda$  - kazeinin plazmin etkisiyle  $\alpha_{s1}$  - kazeinden üretildiği ileri sürülmesine rağmen,  $\alpha_{s1}$  - kazeinin sütte önemli bir düzeyde hidrolize olduğu görülmemiştir (7). Le Bars ve Gripon (17)  $\alpha_{s1}$  -kazeinde plazmine duyarlı yedi Lys-X ve dört Arg-X bağı tanımlarken, McSweeney ve ark. (18) 12 Lys-X ve 5 Arg-X bağı (Lys<sub>3</sub>-His<sub>4</sub>, Lys<sub>7</sub>-His<sub>8</sub>, Arg<sub>22</sub>-Phe<sub>23</sub>, Lys<sub>34</sub>-Glu<sub>35</sub>, Lys<sub>36</sub>-Lys<sub>37</sub>, Lys<sub>58</sub>-Gln<sub>59</sub>, Lys<sub>79</sub>-His<sub>80</sub>, Arg<sub>90</sub>-Tyr<sub>91</sub>, Arg<sub>100</sub>-Leu<sub>101</sub>, Lys<sub>102</sub>-Lys<sub>103</sub>, Lys<sub>103</sub>-Tyr<sub>104</sub>, Lys<sub>105</sub>-Val<sub>106</sub>, Arg<sub>119</sub>-Leu<sub>120</sub>, Lys<sub>124</sub>-Glu<sub>125</sub>, Gln<sub>131</sub>-Lys<sub>132</sub>, Arg<sub>151</sub>-Gln<sub>152</sub>, Lys<sub>193</sub>-Thr<sub>194</sub>) tanımlamışlardır.

$\kappa$ -Kazeinin plazmine oldukça dirençli olmasının nedeni muhtemelen C-terminal bölgesindeki karbonhidrat kısımlarından kaynaklanmaktadır (19).  $\kappa$ -Kazein pek çok lizin ve arginin içermesine rağmen, muhtemelen içer-

miş olduğu nispeten yüksek düzeydeki sekonder ve tersiyer yapı nedeniyle plazmine oldukça dirençli olduğu görülmüştür. Muhtemelen sıkı ve globüler yapıları nedeniyle, serum proteinleri de plazmine oldukça dirençlidir. Özellikle denatüre olduğunda  $\beta$ -laktoglobulin, muhtemelen yapısal olarak önemli kringleleri (küçük halkanın disülfid bağları ile bağlanarak büyük halka içinde tutulduğu çift halkalı polipeptid yapılar) bozan sülfidril-disülfid etkileşimleri yoluyla plazmini inhibe eder (7).

### **SÜT TEKNOLOJİSİNDEKİ ÖNEMİ**

UHT süt ve peynirler, plazmin etkinliğinin olumlu ve olumsuz özelliklerinin araştırıldığı başlıca süt ürünleridir (2). Rennet ile pıhtılaşma süresinin kısalması, pıhtı sertliğinin azalması, peynir veriminin düşmesi, UHT sütün zamanla jelleşmesi, sütte acı tat ve kazein esaslı ürünlerin depolama sırasında yıkımı gibi kusurlar, sütteki plazmin etkinliği ile ilişkilendirilmiştir. Üretim yönteminin, peynir altı suyu ürünlerindeki plazmin etkinliğini önemli düzeyde etkilediği belirtilmiştir. Plazmin, bu ürünleri içeren gıdalardaki proteolize katkı sağlayabilir. Aynı zamanda plazmin etkinliği, belli peynir çeşitlerinin olgunlaşması sırasında lezzet gelişiminde de çok önemlidir (20). Bununla birlikte plazmin etkinliği, kazein ve serum proteinleri gibi diğer süt ürünlerinin kalitesini de etkileyebilir. Bu nedenle süt ürünlerinin kalitesini uygun hale getirebilmek için plazminojen aktivasyonunun ve plazmin etkinliğinin kontrol edilmesi gerekir (2).

#### **UHT Süt Ürünleri**

UHT sütün depolanması sırasında, raf ömrünü sınırlayan temel sorunlardan birisi jelleşmedir. Jelleşme, üç boyutlu bir ağ oluşturan, kazein miseli kümeleşmesindeki değişimler sebebiyle olur. Mekanizma tamamen bilinmemektedir ancak bu durum ya ısıya dayanıklı süt proteinazları (plazmin) ya da mikrobiyal proteinazların etkisiyle olmaktadır (21) veya her ikisinin etkisi ile de olabilir. Plazminin, yüksek kaliteli çiğ süttten (düşük düzeyde *Pseudomonas* proteinazı içeren) üretilen UHT sütlerde sonradan görülen jelleşmeye neden olabileceği düşünülmektedir (7,3). Isıtılmış süte plazmin eklenmesi, UHT sütlerde zamanla gözlenen jelleşme olayında bir başlangıç adımı olduğu düşünülen  $\kappa$ -kazein/ $\beta$ -lg kompleksinin serbest bırakılmasından sorumlu olabileceğini göstermiştir (10). UHT sütlerde görülen jelleşme olayında plazminin etkisi üzerine çelişkili kanıtlar bulunmaktadır. Elde edilen sonuçlar ve varılan kararlara göre jelleşmenin, işleme ve depolama koşulları, plazmin düzeyi, süt konsantrasyonu ve üründe kullanılan diğer ingredientlere bağlı olduğu görülmektedir. Bununla birlikte UHT süte plazminojen veya düşük düzeyde plazmin eklendiğinde bu süt, enzim eklenmemiş halinden daha hızlı jelleşmektedir. Depolama sırasında sütün seyreilmesi ve jelleşmesi ile ilgili mekanizma açıklanıncaya kadar, UHT süt ürünlerinde oluşan kusurlardaki plazminin rolü muhtemelen tahmine dayalı kalacaktır (2).

#### **Peynirler**

Plazmin kaynaklı kazein hidrolizi, peynir yapımında rennet pıhtılaştırma süresini etkilemezken, plazmin belli peynirlerin olgunlaşmasında etkili olmaktadır. Peynir olgunlaşması sırasındaki proteoliz, aroma meaddelerinin oluşumu, tekstür gelişimi ve pH artışına (amonyak oluşumu nedeniyle) neden olmaktadır. Peynir olgunlaşması sırasındaki proteolize katkı konusunda plazminin önemi halen tartışma konusudur (2). Bununla birlikte, pıhtı sıklığı ve pıhtı veriminin azalması ve acı tat oluşumu gibi çeşitli kusurlarla da ilişkilendirilmiştir (20). Ancak, ya plazmin eklenmesi ya da plazminojen aktivasyonunun bir sonucu olarak, belli peynirlerin lezzet ve kalitesinin iyileştirildiği belirlenmiştir (2). Plazmin ve plazminojen, sütün rennetle pıhtılaşması sırasında kazein miselleriyle birlikte hareket ettiklerinden peynirde kalırlar. Plazmin, pıhtılaştırıcının tamamen veya yoğun şekilde inaktive edildiği bazı İtalyan ve Swiss çeşitleri gibi özellikle yüksek sıcaklıkta haşlanan peynirlerde, kazeinlerin başlangıç proteolizine katkıda bulunur. Bu peynirlerde  $\beta$ -kazein temel substrattır. Pıhtılaştırıcı enzimin temel proteinaz olduğu az haşlanan peynirlerde (Cheddar ve Gouda gibi) bile,  $\beta$ -kazeinlerin proteolizi esasen plazmin sebebiyledir. Bunun yanında  $\alpha_{s1}$ -kazein hidrolizinin bir kısmı yine plazmin tarafından gerçekleştirilir (7). Peynir olgunlaşmasında plazminin önemi, haşlama sıcaklıkları ve pH'daki farklılıklar nedeniyle peynir çeşidine bağlıdır (2).

Plazmin etkinliği, Swiss tipi peynirler gibi yüksek sıcaklıkta haşlanan peynir çeşitlerinde büyük öneme sahiptir. Bu çeşitlerde, haşlama sıcaklığında (yaklaşık 55 °C) plazmin etkilenmezken, kimozen büyük oranda kaybolur. Muhtemelen plazmin inhibitörleri ve PA inhibitörlerinin termal inaktivasyonu nedeni ile yüksek pişirme sıcaklıklarında bir kısım plazminojen plazmine dönüşür. Plazmin, pH'nın kimozen için optimum olan değerden (pH 5.3-6.3) kendisinin optimum değerine yükselmesi sonucu, olgunlaşma sırasında pH'nın artış gösterdiği smear tip (yüzeyini bakteri ve mayaların kapladığı, hafif yapışkan ve kremi ince bir tabaka içeren peynir tipi) ve küfle olgunlaştırılan peynirlerde de büyük öneme sahiptir (6).

Plazmin etkinliği peynir çeşidine göre oldukça değişmektedir. Swiss ve Cheddar peynirlerinde plazmin miktarı sırasıyla 6-13 ve 3-4.5 µg/g peynir düzeyinde bulunmuştur (5). Emmental, Parmesan ve Dutch-tipi peynirler, Cheddar tipi peynirlerden yaklaşık üç kat daha fazla plazmin etkinliğine sahiplerdir. Bu durum muhtemelen, yüksek sıcaklıkta haşlanan peynirlerde PA inhibitörlerinin inaktivasyonu ve Dutch-tipi peynir pıhtısının yıkılması (peynir suyu uzaklaştırıldığında ve suyla yer değiştirdiğinde) işleminde bu inhibitörlerin ayrılması nedeniyle, ilk gruptaki peynirlerde plazminojen aktivasyonunun daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (7). Cheddar ve Cheshire peynirlerinde plazmin etkinliği en düşüktür. Gouda peynirlerinde biraz daha fazladır ve Emmental, Blarney ve Romano tipi peynirlerde ise en yüksektir. Swiss peynirlerdeki yüksek haşlama sıcaklığı, kimozen ve diğer rennetleri inaktive ederek plazmini hakim proteaz haline getirir. Böylece plazmin, olgunlaşmada kazein hidrolizinde çok önemli bir konuma gelmiş olur (2).

Cheddar peyniri yapımında plazmin inhibitörünün eklenmesi, kontrol peynirlerine kıyasla olgunlaşma sırasında β-kazeinin daha düşük proteolizine neden olmuştur. Plazmin, yüksek pH'lı peynirlerde (örn. Emmental) düşük pH'lı olanlara (örn. Cheshire) göre daha aktiftir. Ancak Mozzarella gibi oldukça düşük pH'lı peynirlerde bile plazminin olgunlaşmaya katkıda bulunduğu dair kanıtlar vardır. Mozzarella peynirlerinin depolanması sırasında β-kazeinlerin γ-kazeinlere hidrolizi, tipik plazmin etkinliği nedeniyledir (2). β-kazeinin Gouda ve Swiss tip peynirlerinde γ-kazeinlere hidrolizi, Cheddar peynirindekinden daha hızlıdır. Bir kısım serumun, su ile yer değiştirmesi ile Gouda peynirlerinden daha fazla plazmin inhibitörlerinin ayrılması beklenebilir. Gouda peynirlerinde, daha yüksek pH ve nem içeriği plazmin etkinliğini destekler (22).

Artan plazmin etkinliği olgunlaşma sırasında proteolizi hızlandırır. Sonuçta, sert ve yarı-sert peynirlerde muhtemelen tekstür gelişimi de hızlanır (23). Plazmin, peynirin başlangıç proteolizine katkıda bulunur (3). Kimozen tarafından açığa çıkarılan bazı peptidleri de parçalayabilir (9). Plazmin, serumda proteoz pepton kaybı nedeniyle kazein ve peynir verimini de düşürebilir (3). Considine ve ark. (24)'na göre sütte plazmin etkili kazeinin sınırlı hidrolizinin, rennetle pıhtılaştırılan jellerin reolojisi üzerine etkisi açık değildir (9).

UF ile konsantre edilen süttten yapılan peynirlerde, plazmin inhibitörleri, PA inhibitörleri ve β-laktoglobulinin pıhtıda tutulmaları nedeniyle plazmin etkinliği düşer. UF peynirlerin proteoliz düzeyi normal peynirlerden daha düşüktür. Burada muhtemelen plazmin etkinliğinin düşük olması önemli bir etkendir (7).

Laktasyon sonu sütünde artan plazmin etkinliği, bu sütün peynir yapım özelliklerini zayıflatır. Bunun yanında, sütte artan somatik hücre seviyesinin, peynirde kusura yol açtığı görülmemiştir. İnek sütündeki kazein miselleri, sütte doğal olarak oluşan plazminin yaklaşık 10 katını bağlayabilir. Proteoliz ve olgunlaşmayı hızlandırmak amacıyla süte harici plazmin ilavesi yapılabilmektedir. Plazmin süt veya peynir pıhtısına düzgün bir şekilde karıştırılır. Peynir yapılacak süte dışarıdan diğer proteinazlar eklendiğinde, eklenen enzimlerin çoğu peynir altı suyuyla kaybolur. Böylelikle masraflar artar ve peynir altı suyunun işlenmesinde problemler meydana gelir. Teknede kazeinin erken hidrolizi nedeniyle peynir verimi de düşebilir. Cheddar tipi peynir için harici proteinazlar, tuzlama sırasında işlenmiş pıhtıya eklenebilir. Ancak enzim pıhtı parçalarının yüzeyinde konsantre olur. Sütte bulunan plazminojenin ürokinaz ilavesiyle aktivasyonu da proteolizi hızlandırır. Peynir benzeri ürünler (peynir analogları) genellikle aktif plazmin içerebilen rennet kazeinden üretilirler. β-kazeinin hidrolizi ve peynir benzeri ürünlerin reolojik özelliklerindeki istenmeyen değişimler, plazmin etkisiyle ilişkilendirilir. Proteoz-peptonların pH 4.6'da çözünür durumda oldukları, asit veya rennetle üretilen kazein pıhtısına dahil olmadıkları bilinmektedir. Bu nedenle peynir ve kazeinin verimlerinin azalması, sütteki plazmin etkinliğinden kaynaklanabilir (7).

Peynir olgunlaşması zaman alıcı ve pahalı bir işlemdir. Bu yüzden olgunlaştırmanın hızlandırılması büyük fayda sağlamaktadır. Plazminin önem taşıdığı olgunlaşmalarda, uzayan olgunlaşma süresi sebebiyle artan üretim masrafları ve/veya azalan peynir kalitesi, kazein misellerindeki azalan plazmin düzeyinden kaynaklanabilir. Kazeinden serum fraksiyonlarına aşırı bir plazmin geçişi, peynir olgunlaşma düzeyini azaltabilir. Bu durum, peynir kalitesi ve üretim masraflarını etkiler (2).

## SONUÇ

Süt ve ürünlerinin kalitesini olumlu veya olumsuz yönde etkileyebilen plazmin üzerine yapılan çalışmaların büyük kısmı, onun taze sütteki etkinliğini belirleyen faktörler ve kazeinlere olan etkisiyle oluşan proteolitik ürünler üzerine yoğunlaşmıştır. Sütteki plazmin sisteminin daha iyi anlaşılmasına yönelik yeni çalışmalar sonucu elde edilecek bilgilerle enzim etkinliğinin kontrolü yoluyla süt ve ürünlerinin kalitesini geliştirmek ve üretim masraflarını azaltmak mümkün olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Farkye NY and Imafidon GI. 1995. Thermal denaturation of indigenous milk enzymes. In *Heat induced changes in milk*, P.F. Fox (eds.), (2nd ed.), pp. 331–348, Brussels, International Dairy Federation.
2. Nielsen SS. 2003. Plasmin system in milk. In *Encyclopedia of Dairy Sciences*. Vol II., H. Roginski, JW Fuquay, PF Fox (eds.), pp. 929–934. Academic Press, London, UK.
3. Fox PF and Kelly AL. 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects—Part 1. *Int Dairy J*, 16, 500–516.
4. Bastian ED and Brown RJ. 1996. Plasmin in milk and dairy products: an update. *Int Dairy J*, 6, 435–457.
5. Sousa MJ, Ardö Y and McSweeney PLH. 2001. Advances in the study of proteolysis during cheese ripening. *Int Dairy J*, 11, 327–345.
6. McSweeney PLH. 2004. Biochemistry of cheese ripening. *Int J Dairy Tech*, 57 (2/3): 127–144.
7. Fox PF. 2002. Significance of indigenous enzymes in milk and dairy products. In *Handbook of Food Enzymology*, JR Whitaker, AGJ Voragen and DWS Wong (eds.), pp. 255–277, Marcel Dekker Inc., New York, USA.
8. Walstra P, Geuris TJ, Noomen A, Jellema A and van Boekel MAJS. 1999. *Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Processes*. Marcel Dekker Inc. 727p, New York, USA.
9. Stepaniak L. 2004. Dairy enzymology. *Int J Dairy Tech*, 57 (2/3), 153–171.
10. Crudden A, Fox PF and Kelly AL. 2005. Factors affecting the hydrolytic action of plasmin in milk. *Int Dairy J*, 15, 305–313.
11. Benfeldt C, Larsen LB, Rasmussen JT, Andersen PA, and Petersen T. 1995. Isolation and characterization of plasminogen and plasmin from bovine milk. *Int Dairy J*, 5, 577–592.
12. Baldi A, Savoini G, Chali F, Fantuz F, Senatore E, Bertocchi L and Politis I. 1996. Changes in plasmin-plasminogen-activator system in milk from Italian Friesian herds. *Int Dairy J*, 6, 1045–1053.
13. Wilkinson MG and Kilcawley KN. 2005. Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *Int Dairy J*, 15, 817–830.
14. Metwalli AAM, de Jongh HHJ and van Boekel MAJS. 1998. Heat inactivation of bovine plasmin. *Int Dairy J*, 8, 47–56.
15. Politis, I. 1996. Plasminogen activator system: Implication for mammary cell growth and involution. *J Dairy Sci*, 79, 1097–1107.
16. Silanikove N, Merin U and Leitner G. 2006. Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture. *Int Dairy J*, 16, 533–545.
17. Le Bars D and Gripon JC. 1993. Hydrolysis of  $\alpha_{s1}$ -casein by bovine plasmin. *Lait*, 73, 337–344.
18. McSweeney PLH, Olson NF, Fox PF, Healy A and Højrup P. 1993. Proteolytic specificity of plasmin on bovine  $\alpha_{s1}$ -casein. *Food Biotechnol* 7, 143–158.
19. Doi H, Kawaguchi N, Ibuki F and Kanamori M. 1979. Susceptibility of  $\kappa$ -casein components to various proteases. *J Nutr Sci Vitaminol* 25, 33–41.
20. Crudden A, Afoufa-Bastien D, Fox PF, Brisson G and Kelly AL. 2005. Effect of hydrolysis of casein by plasmin on the heat stability of milk. *Int Dairy J*, 15, 1017–1025.
21. Manzi P and Pizzoferrato L. 2006. UHT thermal processing of milk. In *Thermal Food Processing: New Technologies and Quality Issues*, Da-Wen Sun (eds), pp. 299–334, USA, CRC Press.
22. Farkye NY and Fox PF. 1992. Contribution of plasmin to Cheddar cheese ripening: effect of added plasmin. *J Dairy Res*, 59 209–216.
23. Law BA. 2001. Controlled and accelerated cheese ripening: the research base for new technologies. *Int Dairy J*, 11, 383–398.
24. Considine T, McSweeney PLH and Kelly AL. 2002. The effect of lysosomal proteinases and plasmin on the rennet coagulation properties of skim milk. *Milchwissenschaft*, 57 425–428.