

**Peynirde Proteoliz Düzeyinin Ölçülmesinde
Trinitro Benzen Sülfonik Asit ve Tamponlama Kapasitesi
Ölçüm Yöntemlerinin Karşılaştırılması**

Yusuf Tunçtürk*, Leman Suner, Z. Abidin Sualp

Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Müh. Bölümü, Van

* yusuftunckturk@yahoo.com

Özet

Olgunlaşma, peynirlerin kendilerine özgü fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özellikleri kazandıkları, oldukça kompleks bir süreç olup, peynir bileşenlerinde meydana gelen değişiklikler sonucunda şekillenmektedir. Bu değişikliklerden en önemlisi, peynirin tekstür ve tat-aroması üzerinde de belirleyici olan proteolizdir. Peynirlerde proteoliz düzeyini ve tipini belirlemek için farklı analiz teknikleri uygulanabilmektedir. Bu çalışmada da piyasadan temin edilen farklı çeşitlerden 20 ayrı peynir örneğinde, serbest amino gruplarının miktarını ölçmeye dayalı spektrofotometrik yöntemlerden biri olan trinitro benzen sülfonik asit (TNBS) yöntemi ile, proteinlerdeki asidik ve bazik grupların reaksiyonuna dayalı tamponlama kapasitesi ölçüm yöntemleri kullanılarak proteoliz tayini yapılmış ve bu iki yöntemin birbirleriyle uyumluluğu araştırılmıştır. Yapılan korelasyon analizinde, bu iki yöntem arasındaki korelasyon katsayısı 0.763 ($p < 0.001$) olarak çok önemli bulunmuştur. Tamponlama kapasitesi ölçümünde kullanılan titrasyon yöntemi, tekrarlanabilirlik özelliği biraz düşük olmasına rağmen, işlemlerinin basitliği ve hızlı sonuç vermesi dolayısıyla, hızlı sonuç alınması gerekli durumlar için elverişli bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Peynir, proteoliz, tamponlama kapasitesi

Giriş

Peynir, bir kısmı taze olarak tüketilse bile, genellikle olgunlaşma sürecine tabi tutulan bir üründür. Peynirin olgunlaşması esnasında peynir ortamında oldukça kompleks biyokimyasal reaksiyonlar gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonlar, temel olarak peynir proteininin parçalanması, yağların daha basit bileşenlere ayrılması, süt şekeri laktozun parçalanarak asit ve diğer basit organik bileşenlere dönüşmesi şeklinde gelişir ve sonuçta peynirin tekstüründe, lezzet (tat ve aroma) ve diğer duyuşsal özelliklerinde büyük değişiklikler oluşur (1). Yerli peynirlerimizde, florasında küf bulunan bazı peynirlerimiz hariç (civil, külek vb.), olgunlaşma özelliklerini daha çok proteoliz sonucu oluşan ürünler belirlemektedir. Proteinlerin parçalanmasıyla oluşan ürünler, hem yapı ve

tekstür üzerinde, hem de tat ve aroma üzerinde etkili olmaktadır. Peynirde proteoliz tipini ve değerini belirlemek için çok farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar içerisinde en fazla kullanılanlar ise selektif çöktürme yöntemleri, kromatografik yöntemler, elektroforez, fonksiyonel grup veya bağların reaktivitesine bağlı spektrofotometrik yöntemlerdir. Spektrofotometrik yöntemlerde, uygun bir reaktif madde ile proteinlerin fonksiyonel gruplarının (amino grubu gibi) veya spesifik bağlarının (peptit bağı) reaksiyona girerek renk oluşturması ve bu oluşan renk yoğunluğuna bağlı absorpsiyon değerinin ölçülmesi söz konusudur (2). Süt ürünlerinin tamponlama kapasitesi, içerdikleri asidik ve bazik grupların miktarına bağlı olarak değişmektedir. Bunlar inorganik fosfat, sitrat, organik asitler ve süt proteinleri olarak sıralanabilir. Peynirde kazeinin enzimatik parçalanması, serbest amino ve karboksil gruplarının oluşmasını sağladığı için tamponlama kapasitesini arttırmaktadır (3, 4). Bu çalışmada, piyasadan temin edilen farklı çeşitlerden 20 peynir örneğinde spektrofotometrik (trinitrobenzen sülfonik asit, TNBS) yöntem ile serbest amino gruplarının miktarı ölçülmüş ve bulunan değerler, örneklerin tamponlama kapasiteleri ile karşılaştırılarak korelasyon analizi yapılmıştır.

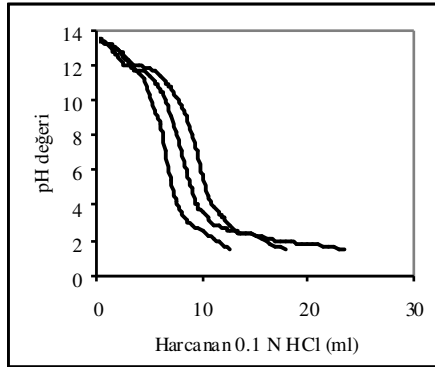
Materiyal ve Yöntem

Çalışmada kullanılan 7 adet otlu peynir, 6 adet beyaz peynir, 3 adet kaşar peyniri, 1 adet örgü peyniri, 1 adet Diyarbakır peyniri, 1 adet keçi sütünden yapılmış beyaz peynir ve 1 adet de Civil peyniri örneği Van piyasasından temin edilmiştir. Peynir örneklerinde serbest amino gruplarının konsantrasyon ölçümü, Polychroniadou (5) tarafından verilen TNBS metoduyla gerçekleştirilmiştir. Tamponlama kapasitesinin ölçümünde 10 g peynir örneği alınarak Bütikofer vd'nin (6) vermiş olduğu yöntemle, suda çözünen azotlu maddeler ekstrakte edilmiş ve Whatman 40 filtre kâğıdından süzülerek 20 ml örnek alınmıştır. Alınan örnek üzerine 1 N NaOH ilave edilerek pH değeri 13.5'e yükseltilmiştir. Daha sonra örneklerin pH değerleri 1.5'e düşüncüye kadar 0.1 N HCl ile titre edilmiştir. pH değeri her 0.5 ml titrasyon çözeltisi ilavesinde bir kaydedilmiştir. Harcanan titrasyon çözeltisi miktarına karşı, pH değerleri değişimi yerleştirilerek titrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Hem TNBS ölçümü, hem de tampon kapasitesi belirlemesi her örnek için paralelli yapılmıştır. Ayrıca TNBS değerleri ile toplam harcanan asit çözeltisi değerleri korelasyon analizine tabi tutularak, bu iki yöntemin uyumluluğu test edilmiştir.

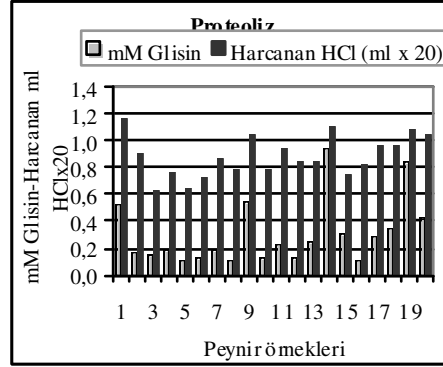
Bulgular ve Tartışma

Peynir örneklerine ait suda çözünen azotlu madde ekstraktlarından elde edilen tipik pH değişimini göstermek üzere, 3 örneğin değişim seyri Şekil 1'de

verilmiştir. Şekilden görüldüğü gibi, özellikle iki bölgede belirgin bir tamponlama meydana geldiği gözlenmektedir. Bunlardan birincisi pH 12-8 arasında, diğeri de 5-2 arasında oluşmuştur. Ollikainen (3) Swiss tipi peynirde, özellikle pH 2-5 ve 8.5-10.5 aralıklarında belirgin tamponlama gözlemiş ve bunun serbest karboksil grupları ve amino gruplarından kaynaklandığını belirtmiştir. Peynirde bulunan tamponlama özelliğine sahip bileşikler fosforik, sitrik, laktik, asetik, karbonik ve propiyonik asitler ile serbest amino asitler, peptitler ve proteinlerdir. Ayrıca karbonhidrat, lipit ve proteinlerin parçalanmasıyla ortaya çıkan karbondioksit ile pH değişimine bağlı olarak kazein misellerinden ayrılan kalsiyum fosfat miktarı da tamponlama kapasitesini etkilemektedir (7). Yine peynirin baskıya alma süresi, genel bileşimi (özellikle protein içeriği), pıhtılaştırılma şekli (enzimatik veya asit pıhtısı) ve olgunlaşma derecesi gibi faktörler de peynirin tamponlama kapasitesinde rol oynamaktadır (4). Şekil 2'de peynir örneklerine ait serbest amino grupları miktarı ve öngörülen pH değerine inilmesi için harcanan asit çözeltisi miktarları verilmiştir. Örnek bazında bakıldığında, bu iki yöntem arasında belirgin bir uyum olduğu görülmektedir. Ancak, burada TNBS yöntemi ile verilen değerlerin, doğrudan serbest amino gruplarının miktarını vermesi nedeniyle (5), proteolizin ölçülmesinde daha sağlıklı sonuçlar verdiğinin belirtilmesi gerekmektedir. Peynir örneklerinde parçalanmamış proteinlerden kaynaklanabilecek tamponlama özelliğini elemine etmek ve özellikle parçalanma ürünlerinin etkisini gözlemlemek için, suda çözünen



Şekil 1. Peynir örneklerine ait ekstraktların tipik titrasyon eğrileri



Şekil 2. Peynir örneklerine ait spektrofotometrik proteoliz ve tamponlama değerleri

ekstraktlarının kullanılmasının, proteoliz ölçüsünü belirleme açısından yararlı olduğu düşünülmektedir. Protein parçalanma ürünleri dışında birçok faktörün

Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

de (organik asitler, tuzlar vb.) tamponlama özelliklerini etkilemesi dolayısıyla (4), bu iki yöntemden elde edilen değerler birebir benzer bulunmamıştır. Ancak yapılan korelasyon analizinde, bu iki yöntemin 0.763 ($p<0.001$) gibi yüksek bir ilişki sergilemesi, bulgulardaki uyumluluğun oldukça yüksek olduğunu göstermektedir.

Sonuç

Peynirde proteoliz ölçümünde, başka faktörlerin de girişim yapmasından dolayı hassasiyeti düşük olmasına rağmen, hızlı sonuç alınması istenen durumlarda tamponlama kapasitesinin kullanılabileceği söylenebilir.

Kaynaklar

1. Grappin, R., Rank, T.C., Olson, N.F. 1985. Primary proteolysis of cheese proteins during ripening: A review. *J. Dairy Sci.*, 68: 531-540.
2. Robyt, J.F., White, B.J. 1990. *Biochemical Techniques, Theory and Practice*, Waveland Press, Inc. Illinois. ISBN 0-88133-556-8, p.407.
3. Ollikainen, P., 1990. Titration-a rapid method for the determination of proteolysis in cheese. *Journal of Dairy Res.*, 57, 149-151.
4. Salaün, F., Mietton, B., Gaucheron F. 2005. Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal* 15: 95-109.
5. Polychroniadou, A. 1988. A simple procedure using trinitrobenzene sulphonic acid for monitoring proteolysis in cheese, *J. Dairy Res.* 55: 585-596.
6. Bütikofer, U., Ruegg, M., Ardö, Y. 1993. Determination of nitrogen fractions in cheese: Evaluation of a collaborative study. *Lebensmittel wissenschaft und Technologie*, 26 (3) 271-275.
7. Lucey, J. A., Gorry, C., Fox, P. F. 1993. Changes in the acid-base buffering curves during the ripening of Emmental cheese. *Milchwissenschaft*, 48, 183-186.