T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI GELENEKSEL PEYNİRLERİN BİYOAKTİF PEPTİT PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Neslihan TURAN

DOKTORA TEZİ
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı

Danışman
Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK

Mayıs, 2022

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI GELENEKSEL PEYNİRLERİN BİYOAKTİF PEPTİT PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Neslihan TURAN tarafından hazırlanan tez çalışması 25.05.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Banu METİN , Üye
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi _____

Doç. Dr. Fatih TÖRNÜK , Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Dr. Öğretim Üyesi Ertan ERMİŞ, Üye
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Bazı Geleneksel Peynirlerin Biyoaktif Peptit Profillerinin Belirlenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Neslihan TURAN

İmza

Bu çalışma, Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü' nün TAGEM/HSGYAD/A/19/A3/P2/1151 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Zafer'e ve
biricik kızım Toprak'a

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim ve tez çalışmam süresince beni yönlendiren ve benden desteğini esirgemeyen tez danışmanım sayın Doç.Dr. Muhammed Zeki DURAK'a,

Doktora eğitimim boyunca verdikleri desteklerden dolayı Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü yönetimine ve Tez projeme maddi destekte bulunan Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM)'ne,

Tez çalışmamda değerli katkılarından dolayı biyolog Dr. Şafak ANDİÇ'e, Gıda Yüksek Mühendisi Dr. Banu AKGÜN'e, teknik konularda destek olan Redoks Lab'dan Zekeriya YILMAZ'a,

Her zaman desteklerini hissettiğim, tüm eğitim hayatım boyunca hep yanımda olan annem Cemile ATLIHAN ve kardeşim H.Serkan ATLIHAN'a,

Doktora eğitimim süresince her zaman beni destekleyen sevgili eşim Zafer'e, varlığıyla bana güç veren biricik kızım Toprak'a çok teşekkür ederim.

Neslihan TURAN

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ ix

KISALTMA LİSTESİ xi

ŞEKİL LİSTESİ xii

TABLO LİSTESİ xiv

ÖZET xvi

ABSTRACT xviii

1 GİRİŞ 1

1.1 Literatür Özeti . . . 1

1.2 Tezin Amacı . . . 2

1.3 Hipotez . . . 3

2 GENEL BİLGİLER 4

2.1 Peynir . . . 4

2.1.1 Beyaz Peynir . . . 4

2.1.2 Eski Kaşar Peyniri . . . 5

2.1.3 Erzincan Tulum Peyniri . . . 6

2.1.4 İzmir Tulum Peyniri . . . 6

2.1.5 Mihaliç Peyniri . . . 7

2.1.6 Kars Gravyer Peyniri . . . 7

2.2 Biyoaktif Peptitler . . . 8

2.2.1 Peynir Üretimi Biyoaktif Peptit Oluşumu . . . 9

2.2.2 Peynirlerde Olgunlaşma ve Biyoaktif Peptit Oluşumu . . . 10

2.2.3 Süt Proteinlerinden Biyoaktif Peptitlerin Üretilmesi . . . 12

2.2.4 Biyoaktif Peptitlerin Fonksiyonları . . . 16

2.3 Biyoaktif Peptitlerin Tanımlanmaları . . . 27

2.3.1 Numune Hazırlama ve Saflaştırma . . . 27

2.3.2 Peptit Diziliminin Belirlenmesi . . . 27

2.3.3 Peptitlerin Tanımlanması . . . 29

3 MATERYAL VE YÖNTEM **32**
3.1 Materyal 32
3.1.1 Peynir Örnekleri 32
3.1.2 Alet Ekipman Tanımları 32
3.1.3 Kullanılan Kimyasallar 35
3.2 Yöntem 35
3.2.1 Peynir Örneklerinde Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi 35
3.2.2 Peynir Örneklerinde Toplam Azot Miktarının Belirlenmesi . . . 35
3.2.3 Peynir Örneklerinde Protein Miktarlarının Belirlenmesi 35
3.2.4 Peynir Örneklerinde Suda Çözünür Azot Miktarlarının Belirlenmesi 35
3.2.5 Peynir Örneklerinde Olgunlaşma İndeksinin Belirlenmesi 37
3.2.6 Suda Ekstraksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu 37
3.2.7 Suda Çözünen Ekstraktların Fraksiyonlarına Ayrılması ve Liyofilizasyonu 38
3.2.8 Peptit Fraksiyonlarında Protein Miktar Analizi 39
3.2.9 ACE-inhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi 39
3.2.10 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi 40
3.2.11 Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi 40
3.2.12 *İn Vitro* Sindirim 41
3.2.13 Peptitlerin Tanımlanması 41
3.2.14 İstatistiksel Analizler 43

4 BULGULAR VE TARTIŞMA **44**
4.1 Peynir Örneklerinin Protein Miktarları 44
4.2 Peynir Örneklerinin Toplam Azot ve Suda Çözünen Azot Miktarları ile Olgunlaşma Dereceleri 45
4.3 Suda Ekstraksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu 47
4.4 Suda çözünen ekstraktların hazırlanması 47
4.4.1 HPLC ile suda çözünen ekstraktlarda bulunan peptit profillerinin belirlenmesi 48
4.5 Suda Çözünen Ekstraktların Liyofilizasyonu 51
4.6 Peptit Fraksiyonlarının Protein Miktarı 51
4.7 ACE-inhibisyon Aktivitesi ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi 51
4.8 Antioksidan Aktivite ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi . . . 54
4.8.1 FRAP Testi 54
4.8.2 ABTS Testi 57
4.9 Antibakteriyel Aktivite ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi . . 62
4.10 Biyoaktif Peptitlerin Tanımlanması 64

4.10.1 Erzincan Tulum Peynirinde Tanımlanan Peptitler 66
4.10.2 Kars Gravyer Peynirinde Tanımlanan Peptitler 71
4.10.3 İzmir Tulum Peynirinde Tanımlanan Peptitler 74
4.10.4 Eski Kaşar Peynirinde Tanımlanan Peptitler 78
4.10.5 Mihaliç Peynirinde Tanımlanan Peptitler 81
4.10.6 İnek Peynirinde Tanımlanan Peptitler 84
4.10.7 Keçi Peynirinde Tanımlanan Peptitler 88
4.10.8 Ezine Peynirinde Tanımlanan Peptitler 91

5 SONUÇ VE ÖNERİLER **94**
5.1 Sonuç 94
5.2 Öneriler 96

KAYNAKÇA **97**

A PEPTİT TANIMLAMADA KULLANILAN PROTEİN DİZİLİMLERİ **110**

B PEYNİRLERİN ALT FRAKSİYONLARINDA TANIMLANAN PEPTİTLER **113**

C PEYNİRLERİN ÜST FRAKSİYONLARINDA TANIMLANAN PEPTİTLER **140**

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **146**

SİMGE LİSTESİ

A	Alanin
R	Arjinin
N	Asparajin
D	Aspartik Asit
F	Fenil alanin
G	Glisin
E	Glutamik Asit
Q	Glutamin
g	Gram
ρ	Güven seviyesi
v/v/v	Hacim/hacim/hacim
H	Histidin
I	İzolösin
kDa	Kilodalton
kV	Kilovolt
m/z	Kütle/Yük
K	Lizin
L	Lösin
M	Metiyonin
μ	Mikro
m	Mili
P	Prolin
psi	İnçkare başına libre

C	Sistein
S	Serin
Y	Tirozin
T	Treonin
W	Triptofan
U	Ünite
V	Valin

KISALTMA LİSTESİ

ABTS	2,20-Azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit)
ACE	Anjiyotesin Dönüştürücü Enzim
ANOVA	Varyans Analizi
DAD	Fotodiyot Dizisi Detektör
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
E.	*Echerichia*
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
FRAP	Plazmanın Demir İndirgeme Yeteneği
HPLC	Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
IC	İnhibitör Konsantrasyon
KN	Kazein
LAB	Laktik Asit Bakterileri
LC-MS/MS	Likit Kromatografi Tandem Kütle Spektrometresi
MS	Kütle Spektrometresi
ROT	Reaktif Oksijen Türleri
RP	Ters Faz
S.	*Salmonella*
SÇA	Suda Çözünen Azot
Sp.	Türleri
SPE	Katı Faz Ektraksiyon
S. aureus	*Staphylococcus aureus*
TA	Toplam Azot
TS	Türk Standartları

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Süt türevi biyoaktif peptitler ve bunların fonksiyonları 9
Şekil 2.2 Süt proteinlerinden biyoaktif elde etmek için kullanılan temel yöntemler 13
Şekil 2.3 *Lactococcus* 'un proteolitik sisteminin özeti 17
Şekil 2.4 Renin anjiyotensin sistemi 19
Şekil 3.1 Klasik yöntemle biyoaktif peptitlerin tanımlanması 36
Şekil 4.1 Suda çözünen ekstraktlar 48
Şekil 4.2 Suda çözünen ekstraktların RP-HPLC kromatogramları 49
Şekil 4.3 Molekül filtresinde ayrılmış olan alt ve üst fraksiyonlar 50
Şekil 4.4 Liyofilize edilmiş örnekler 50
Şekil 4.5 Peynir fraksiyonlarının ACE-inhibisyon aktiviteleri 54
Şekil 4.6 Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-FRAP testi 56
Şekil 4.7 Sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-FRAP testi 58
Şekil 4.8 Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-ABTS testi 59
Şekil 4.9 *İn vitro* sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-ABTS testi . . . 61
Şekil 4.10 *İn vitro* sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-ABTS testi . . . 61
Şekil 4.11 Antimikrobiyal aktivite 63
Şekil 4.12 Alt fraksiyonlarda tanımlanan peptitlerin sayıları 65
Şekil 4.13 Üst fraksiyonlarda tanımlanan peptitlerin sayıları 66
Şekil 4.14 Erzincan tulum peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 68
Şekil 4.15 Erzincan tulum peyniri alt fraksiyonlarında tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 69
Şekil 4.16 Kars gravyer peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 72
Şekil 4.17 Kars gravyer peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 73
Şekil 4.18 İzmir tulum peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 75
Şekil 4.19 İzmir tulum peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 76
Şekil 4.20 Eski kaşar peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 79

Şekil 4.21 Eski kaşar peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 80
Şekil 4.22 Mihaliç peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 82
Şekil 4.23 Mihaliç peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 83
Şekil 4.24 İnek peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 85
Şekil 4.25 İnek peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 86
Şekil 4.26 Keçi peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 89
Şekil 4.27 Keçi peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 90
Şekil 4.28 Ezine peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları 92
Şekil 4.29 Ezine peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri 93

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 Enzim ve fermantasyonla süt proteinlerinden üretilen biyoaktif peptitler 14
Tablo 2.2 Süt proteinlerinde bulunan aminoasitler ve özellikleri 15
Tablo 2.3 Olgunlaştırılmış peynirlerde tanımlanan biyoaktif peptitler 18
Tablo 2.4 Olgunlaştırılmış peynirlerde belirlenen biyoaktiviteler 20
Tablo 2.5 Biyoaktif peptitlerin keşfi ve geliştirilmesi için kullanılan veritabanları 30
Tablo 3.1 Peynir örnekleri 34
Tablo 3.2 HPLC akış gradienti 38
Tablo 3.3 Liyofilizasyon parametreleri 38
Tablo 3.4 LC-MS/MS akış gradienti 42
Tablo 3.5 Kütle spektroskopisi koşulları 42
Tablo 3.6 Fasta dosyaları erişim kodları 43
Tablo 4.1 Peynir örneklerinin kuru madde ve protein miktarları 45
Tablo 4.2 Peynir örneklerinin suda çözünen azot ve toplam azot miktarları ile olgunlaşma indeksleri 46
Tablo 4.3 Suda çözünen ekstraktların miktarları 47
Tablo 4.4 Farklı ekstraksiyon koşullarında belirlenen toplam pik alanları . . . 50
Tablo 4.5 Peptit fraksiyonlarının protein miktarları 52
Tablo 4.6 Peptit fraksiyonlarının ACE-inhibisyon aktiviteleri 53
Tablo 4.7 Peptit fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-FRAP testi 56
Tablo 4.8 Alt fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-FRAP testi 57
Tablo 4.9 Peptit fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-ABTS testi 59
Tablo 4.10 Alt fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-ABTS testi 60
Tablo 4.11 Üst fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-ABTS testi 60
Tablo 4.12 Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları 63
Tablo 4.13 Erzincan tulum peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 70
Tablo 4.14 Kars gravyer peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 74
Tablo 4.15 İzmir tulum peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 77

Tablo 4.16 Eski kaşar peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 80
Tablo 4.17 Mihaliç peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 83
Tablo 4.18 İnek peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 87
Tablo 4.19 Keçi peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 90
Tablo 4.20 Ezine peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler 93
Tablo A.1 İnek sütü kazein dizilimleri 110
Tablo A.2 Koyun sütü kazein dizilimleri 111
Tablo A.3 Keçi sütü kazein dizilimleri 112
Tablo B.1 $\alpha s1$-kazein türevi peptitler 113
Tablo B.2 $\alpha s2$-kazein türevi peptitler 123
Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler 127
Tablo B.4 κ-kazein türevi peptitler 138
Tablo C.1 $\alpha s1$-kazein türevi peptitler 140
Tablo C.2 $\alpha s2$-kazein türevi peptitler 142
Tablo C.3 β-kazein türevi peptitler 143
Tablo C.4 κ-kazein türevi peptitler 145

ÖZET

Bazı Geleneksel Peynirlerin Biyoaktif Peptit Profillerinin Belirlenmesi

Neslihan TURAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Muhammed Zeki DURAK

Bu tez çalışmasında, Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, Mihaliç, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirlerinin biyoaktiviteleri, *in vitro* sindirimin biyoaktivite üzerine etkisi ve bu peynirlerin içerdikleri peptitler incelenmiştir. Bu amaçla peynirlerin suda çözünen ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktlar 3 kDa kesme noktalı filtreler ile iki fraksiyona ayrılmıştır. 3 kDa'dan küçük molekül ağırlığına sahip alt fraksiyon ile 3 kDa'dan büyük molekül ağırlığına sahip üst fraksiyonlarda ACE (Anjiyotensin dönüştürücü enzim)-inhibisyon, antioksidan ve antibakteriyel aktivite testleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda peynir çeşitlerinin ACE-inhibisyon aktivitelerinin alt fraksiyonda yoğunlaştığı ve aktivitenin % 4,37-19,76 arasında değiştiği belirlenmiştir. ACE-inhibisyon aktivitesi yüksek olan fraksiyonların aktiviteleri *in vitro* sindirim ile kaybedilmiştir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler 2,20-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) radikalini temizleme kapasitesini ölçen ABTS testi ile ferrik demir indirgeme yeteneğini ölçen FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) testidir. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için kullanılan FRAP testinde aktivite 3 kDa'dan düşük molekül ağırlığına sahip fraksiyonda yoğunlaşmıştır ve 0,45-1,37 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein aralığında belirlenmiştir. Antioksidan aktivite *in vitro* sindirim sonrası artış göstermiştir. ABTS testinde ise İzmir tulum, Mihaliç, eski kaşar ve Ezine peynirleri için iki fraksiyonun antioksidan aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değilken diğer peynir çeşitleri için alt fraksiyonda yoğunlaşmıştır. *İn vitro* sindirim sonrası ABTS testleri sonucunda antioksidan aktivite ya değişmemiş ya da artmıştır. Antibakteriyel etkinin

belirlenmesi için *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 bakterileri kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite sadece alt fraksiyonlarda belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite testinde *E.coli*'ye karşı aktivite belirlenemezken, *S.* Typhimurium'a karşı Kars gravyer, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirleri aktivite göstermiştir. Ancak, *in vitro* sindirim sonrası *S.* Typhimurium'a karşı antibakteriyel aktivite tespit edilememiştir. Bununla birlikte, Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirleri *S. aureus* gelişimini inhibe etmiştir. *İn vitro* sindirim sonrası, Kars gravyer ve keçi peyniri antibakteriyel aktivitelerini kaybederken diğer çeşitler aktivitelerini korumuşlardır.

Peynir fraksiyonlarının likit kromatografi-kütle spektroskopisi ile analizi sonrası içerdikleri peptitlerin dizilimleri belirlenmiştir. Peynirlerin sulu ekstraktlarının alt fraksiyonlarında 620 ve üst fraksiyonlarında 115 olmak üzere toplam 735 peptit dizilimi tanımlanmıştır. Tanımlanan peptitler BIOPEP-UWM ve Milk Bioactive Peptide Database (MBPDB) veri tabanlarında araştırılarak ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, opioid, kolesterol çözünürlüğünü inhibe edici, bağışıklık düzenleyici, antidiyabetik, antiamnestik, opioid gibi pekçok biyoaktiviteye sahip biyoaktif peptit belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif peptit, ACE-inhibisyon, antibakteriyel, antioksidan, Orbitrap-MS

ABSTRACT

Determination of Bioactive Peptide Profiles in Some Traditional Cheeses

Neslihan TURAN

Department of Food Engineering
Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Muhammed Zeki DURAK

In this thesis, the bioactivity of Erzincan Tulum, Kars Gruyere, İzmir Tulum, Mihaliç, old kashar, cow, goat, and Ezine cheeses, the effect of *in vitro* digestion on bioactivity, and the peptides contained in these cheeses were investigated. For this purpose, water-soluble extracts of cheese were prepared and separated into two fractions with 3 kDa cut-off filters. The ACE (angiotensin-converting enzyme)-inhibition, antioxidant, and antibacterial activities of the lower fraction with a molecular weight less than 3 kDa and the upper fraction with a molecular weight greater than 3 kDa were determined. As a result of the studies, the ACE-inhibition activities of cheese varieties were concentrated in the lower fraction, ranging between 4.37-19.76%. The activities of the fractions with high ACE-inhibitory activity were lost with *in vitro* digestion. Two different methods were used to determine the antioxidant activity. These methods are the ABTS test, which measures the cleaning capacity of 2,20-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) radical, and the FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) test, which measures the ferric iron reducing ability. In the FRAP test, the activity was concentrated in the fraction with a molecular weight of less than 3 kDa. The FRAP activities were evaluated in the range of 0.45-1.37 mol Fe^{2+} equivalent/g protein. The antioxidant activity increased after *in vitro* digestion. On the other hand, in the ABTS test, the difference between the antioxidant activities of the two fractions for İzmir Tulum, Mihaliç, old kashar, and Ezine cheeses was not statistically significant, while it was concentrated in the lower fraction for other cheese varieties. As a result of ABTS tests following *in vitro* digestion, the antioxidant activity either remained unchanged or increased. In order

to determine the antibacterial activity *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, and *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 bacteria were used. Antibacterial activity was determined only in the lower fractions. The water-soluble fractions of cheese varieties were found to be not effective against *E.coli*. On the other hand, Kars gruyere, old kashar, cow, goat, and Ezine cheeses exhibited antibacterial effect against *S.* Typhimurium. Following *in vitro* digestion antibacterial activity against *S.* Typhimurium could not be detected. However, fractions of Erzincan Tulum, Kars gruyere, Izmir Tulum, old kashar, cow, goat, and Ezine cheeses inhibited *S. aureus* growth. Among these cheeses, Kars gruyere and goat cheese lost the antibacterial activity after *in vitro* digestion while, the others preserved their activity.

The fractions of cheese varieties were analyzed by liquid chromatography-tandem mass spectroscopy, and the sequences of peptides they contained were determined. A total of 735 peptide sequences were identified, 620 in the lower fractions and 115 in the upper fractions of the aqueous extracts of cheeses. Various bioactivities including ACE-inhibition, antioxidant, antimicrobial, opioid, cholesterol solubility inhibitor, immunomodulatory, antidiabetic, opioid, antiamnestic have been detected in identified peptides using BIOPEP-UWM and Milk Bioactive Peptide Database (MBPDB).

Keywords: Bioactive peptide, ACE-inhibition, antibacterial, antioxidant, Orbitrap-MS

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Peynir protein, vitaminler, mineraller ve kısa zincirli yağ asitleri gibi beslenme açısından esansiyel bileşenlerin kaynağı olarak önemli bir süt ürünüdür. Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'nde (Tebliğ No: 2015/6) peynir, hammaddenin uygun bir pıhtılaştırıcı kullanılarak pıhtılaştırılması ve pıhtıdan peynir altı suyunun ayrılmasıyla ya da sütün permeatının ayrılmasından sonra pıhtılaştırılmasıyla elde edilen, farklı sertliklerde ve yağ içeriklerinde, salamura ile ya da kuru tuzlama ile tuzlanarak ya da tuzlanmadan, starter kültür kullanarak ya da kullanmadan, telemesi haşlanarak ya da haşlanmadan, çeşnili ya da çeşnisiz olarak, tekniğine uygun olarak üretilen, olgunlaştırılmadan ya da olgunlaştırıldıktan sonra tüketilen, çeşidine özgü karakteristik özellikleri gösteren süt ürünü olarak tanımlanmaktadır. Aynı tebliğde olgunlaştırılmış peynir olgunlaşma sürecinden sonra piyasaya arz edilen peynirler olarak tanımlanmaktadır.

Peynirin tarihte ilk ortaya çıkışı, Orta Asya'da koyun ve keçi türlerinin evcilleştirildiği ve ilk çobanların süt tükettiği milattan önce 10.000'li yıllara dayanmaktadır. Günümüzde dünyada yapım tekniğine göre farklı aroma, tat, yapı ve şekle sahip 1.000'i aşkın peynir çeşidi üretilmektedir [1]. Peynirde farklılık oluşturan etkenler arasında; ham madde sütün elde edildiği tür (inek, koyu, keçi sütü peyniri), pıhtı oluşturma yöntemi (asit, maya peynirleri), süte uygulanan ısıl işlemler, yağ oranı (tam yağlı, yağlı, az yağlı, yağsız peynir), peynirin yapısı (çok sert, sert, yumuşak peynirler), tuz oranı (tuzlu, tuzsuz peynirler), kullanılan katkı maddeleri (çeşitli ot ve baharatlar, eritici tuzlar, küf gelişimi desteklenerek yapılan peynirler), olgunlaşma süresi (taze, yarı olgun, olgun peynirler) yer almaktadır [2].

Peynir ve diğer fermente süt ürünleri zengin besinsel içeriklerinin yanı sıra büyük miktarda biyoaktif peptit içermektedir. Biyoaktif peptitler, taşıyıcı protein dizilimleri içinde gizli halde iken gıda işleme prosesleri ve sindirimleri sonrasında salınırlar ve vücutta çeşitli fonksiyonların yürütülmesini sağlarlar [3]. Bazı peptitler içsel peptitlere

benzer yapısal özellikler gösterebilmekte, organizmada hormon, nörotransmitter (nöronlar arasında veya bir nöron ile başka bir hücre arasında iletişimi sağlama) veya antibiyotik gibi davranabilmektedir [4, 5]. Biyoaktif peptitler pek çok gıdada bulunmakla birlikte ilk kez süt ürünlerinde keşfedilmişlerdir ve sağlık yararları nedeniyle süt ürünleri çok çalışılmıştır [6–9]. Ayrıca, tüketiciler tarafından beğenilen ve yüksek miktarda tüketilen süt ürünleri özellikle fermente süt ürünleri biyoaktif peptitlerin alımı için en popüler gıdalardır [10]. Bilinen pek çok biyoaktif peptit dizilimi 2-20 aminoasit kalıntısından oluşan kısa zincirlerdir ve molekül ağırlıkları 6.000 Da'dan küçüktür [6]. Kısa zincirlerin avantajı büyük moleküllere göre sindirim kanallarından daha kolay geçerek kan dolaşımına girebilmek ve hedef dokulara ulaşabilmektir [4]. Süt ürünlerinde bulunan biyoaktif peptitlerin etkileri arasında; ACE (Anjiyotensin dönüştürücü enzim)-inhibisyon, opioid, mineral bağlama, antioksidan, antibakteriyel etki, antitrombotik etki sayılabilmektedir [4, 11–14]. Ayrıca gıdalarda koruyucu olarak kullanılabilecekleri değerlendirilmektedir [6]. Farklı kaynaklar kullanarak biyoaktif peptit üretme ve bunları fonksiyonel gıda, ilaç veya kozmetik üretiminde kullanma konusuna ilgi artmaktadır [15]. Literatürde farklı peynir çeşitleri ve süt ürünlerinde bulunan biyoaktif bileşenlerle ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır. Türkiye'de üretilen geleneksel peynir çeşitleriyle ilgili çalışmalar sınırlı olmakta birlikte son yıllarda artış göstermektedir [1, 16–18].

1.2 Tezin Amacı

Geleneksel peynir çeşitleri genellikle ticari starter kültür kullanılmadan üretilmektedir. Bu nedenle peptit profilleri, peynir üretim uygulamaları ve sütün doğal mikrobiyotasına ve buna bağlı olan proteolitik sisteme dayanmaktadır. Bu çalışmada, geleneksel peynir çeşitlerinin biyoaktivitelerinin belirlenmesi ve bu peynirlerde bulunan peptitlerin tanımlanmaları hedeflenmiştir. Bu çalışmada piyasada satışa sunulan geleneksel yöntemlerle üretilmiş olgunlaştırılmış peynir çeşitlerinden Eski kaşar, Kars gravyer, Erzincan tulum, İzmir tulum, Mihaliç, inek, keçi ve Ezine peynirlerinin suda çözünen ekstraktlarında ACE-inhibisyon, antioksidan (FRAP ve ABTS testleri) ve antibakteriyel etkinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Her bir peynir çeşidi için biyoaktivitesi yüksek fraksiyonlarda *in vitro* sindirimin aktivite üzerine etkisi belirlenerek ve biyoyararlanımları değerlendirilmiştir. Ayrıca yüksek çözünürlüklü likit kromatografi kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) kullanılarak bu peynirlerin peptit profillerinin tanımlanması ve bu peptitler arasında bulunan biyoaktif peptitlerin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Günümüzde gıdaların besin ihtiyacını karşılamanın yanında sağlık yararları giderek önem kazanmaktadır. Diyetimizde önemli bir yere sahip olan süt ürünleri ve peynirler besinsel özelliklerine ek olarak biyoaktif peptitlerinde kaynaklarıdır.

Geleneksel yöntemle üretilen ve olgunlaştırılan bu peynirlerin kendilerine özgün üretim teknikleri nedeniyle farklı peptit içeriklerine sahip oldukları değerlendirilmektedir.

Bu peptit dizilimleri arasında pek çok biyoaktif peptidin bulunması olasıdır.

Bu tez çalışmasında araştırılan peynirlerden inek ve keçi sütünden üretilmiş olan beyaz peynir ile Ezine, Erzincan tulum, Kars gravyer, Mihaliç ve İzmir tulum peynirlerinin biyoaktiviteleri ve peptit içerikleri ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Ancak bu peynirlerin ACE-inhibisyon, antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin bulunması beklenmektedir.

Bu çalışmada araştırılan biyoaktivitelerin kaynakları peptitler olduğundan *in vitro* sindirim sonrası aktivitelerde değişimler olabilir.

2
GENEL BİLGİLER

2.1 Peynir

Ülkemizde farklı bölgelerde geleneksel olarak üretilen ve tüketilen çeşitli peynirler bulunmaktadır. Türkiye'de yaygın olarak tüketilen beyaz peynir, kaşar peyniri, tulum peynirinin yanı sıra Kars Gravyer peyniri, Mihaliç peyniri, lor, çökelek peyniri, dil peyniri, Çerkez peyniri, otlu peynir gibi yöresel çeşitler bulunmaktadır. Bu bölümde bu tez çalışmasında kullanılacak olan geleneksel olgunlaştırılmış peynir çeşitlerinin özellikleri ve üretim yöntemleri yer almaktadır.

2.1.1 Beyaz Peynir

Beyaz peynir ülkemizde üretilnen en önemli peynir çeşitlerinden biridir ve beyaz peynir üretimi Türkiye'de üretilen toplam peynir üretiminin %60'ını oluşturmaktadır [19]. Beyaz peynir çiğ veya pastörize sütün şirden ile mayalanması, pıhtılaşma sonrası peynir altı suyunun uzaklaştırılması ve salamurada olgunlaştırılması ile üretilmektedir [2, 19]. Geleneksel olarak beyaz peynir koyun veya keçi sütünden üretilmektedir [19]. Ancak koyun ve keçi sütünün sınırlı üretimi nedeniyle inek sütü beyaz peynir üretiminde kullanılmaktadır. Beyaz peynir yarı sert ve gözeneksiz yapıdadı r [2, 20]. Ezine peyniri Türkiye'nin kuzeybatısında bulunan Ezine, Bayramiç ve Ayvacık ilçelerinde, doğal bitki örtüsü ve su kaynaklarıyla beslenen koyun, keçi ve ineklerden elde edilen sütlerin mevsime göre belirli oranlarda karıştırılmasıyla üretilen yöresel bir peynirdir [21]. 2006 yılında Ezine Peynirini ve Mandıracılarını Koruma Geliştirme ve Tanıtma Derneği Türk Patent Enstitüsü'ne başvuruda bulunarak Ezine peyniri için coğrafi işaret tescil belgesi (menşei işareti) almıştır [22]. Ezine peynirinin kendine has aroma ve tadının gelişmesinde bu bölgede yetiştirilen hayvanların sütleri, geleneksel üretim yöntemleri önemlidir. Ezine peyniri bir beyaz peynir çeşidi olmakla birlikte, üretiminde kullanılan sütün karışım olması ve starter kültür veya $CaCl_2$ kullanılmadan uzun süre olgulaştırılarak üretilmesiyle beyaz peynirden ayrılmaktadır. Ezine peynirinin karakteristik tat ve aroması bu olgunlaşma periyodu sırasında oluşmaktadır. Ezine peyniri üretmek için öncelikle

pastörize süt şirden enzimi ile 32-34 °C'de pıhtılaştırılmaktadır. Pıhtı kesilerek peynir altı suyunun ayrılmakta ve içinde cendere bezi serili olan peynir kalıplarında baskı uygulanarak süzülmektedir. Bu şekilde elde edilen teleme kesilmekte ve salamura içinde bekletilerek olgunlaştırılmaktadır. Salamuradan çıkarılan peynir kuru tuz serpilerek 10–12 saat süreyle dinlendirilmekte ve suyu ayrılmaktadır. Peynirler son olarak tenekelere yerleştirilmekte üzerine salamura eklenerek ve hava almayacak şekilde kapatılarak olgunlaşmaya bırakılmaktadır. Peynir 32-34 °C'de en az 8 ay olgunlaştırılarak istenilen tat ve aromaya sahip olmaktadır. Ezine Peyniri beyaza dönük açık sarı renkte olup, orta sertlikte kırılgan olmayan bir yapıya sahiptir. Peynir kitlesinde az sayıda ve küçük çaplı gözenekler bulunmaktadır.

2.1.2 Eski Kaşar Peyniri

Eski kaşar peyniri, pıhtısı haşlanan 'plastik temelli' ya da 'haşlama peynirler' grubunda yer almaktadır. Kaşar peyniri ortalama 41.000 ton yıllık üretimi ile Türkiye'nin ikinci geleneksel peyniri olarak bilinmektedir [23]. Türkiye'de kaşar peyniri bütün bölgelerde üretilmekle birlikte, Trakya, Orta Anadolu ve Doğu Anadolu'da daha yaygındır [2]. Kaşar peynirinin üretimi baskılama aşamasına kadar beyaz peynirle aynıdır. Teleme 0,3 milimetre çapındaki rendelerden iki kez geçirilmektedir. Ardından rendelenmiş bu beyaz peynir rendesi teleme çapında delikleri olan krom sepetlere doldurularak, % 3-5 oranında tuz bulunan 75-80 °C'deki haşlama suyunda 2-3 dakika sakız gibi uzayıncaya kadar pişirilmektedir. Ardından haşlanmış teleme elle yoğrulup kesilerek metal kalıplara basılmaktadır. Bir gün sonra kalıptan çıkarılarak tuzlanmakta ve 12-18 °C arasında sıcaklığa ve % 60-70 arası bağıl nem oranına sahip tuzlama dinlendirme (ön dinlendirme) odasına alınmaktadır. Burada 30-40 gün olgunlaştırılan ham ürün daha sonra son olgunlaştırma için iç sıcaklığı 8 °C ve nem oranı % 60-65 olan soğuk hava depolarında bekletilmektedir. Olgunlaşma süresi süt tipi, kalitesi, peynir üretim yöntemi, haşlanma koşulları ve depolama sıcaklığı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir [24]. Kars ve Ardahan bölgesinde üretilen kaşar peyniri ile Malkara bölgesinde üretilen eski kaşar peynirleri için coğrafi işaret belgesi alınmıştır [22].

Kaşar peyniri geleneksel olarak koyun sütünden yapılmakla beraber günümüzde inek sütünden üretilmektedir [2]. Kaşar peyniri sert ve sarımtrak renkli, gözenek içermeyen yapıdadır. Eski kaşarda proteoliz, glikoliz ve lipoliz etkisiyle kendine has yoğun bir aroma oluşur. Lezzeti hafif tuzludur ve ağızda kolayca dağılmaktadır.

2.1.3 Erzincan Tulum Peyniri

Peyniri tuluma basmak Türklerin Orta Asya'dan günümüze kadar uyguladıkları yöntemlerden biridir [2]. Erzincan tulum peyniri üretimi Erzincan ilinde yoğunlaştırığından bu isimle anılmaktadır, ancak daha önceleri üretimini gerçekleştiren Tunceli'de yerleşim gösteren Şavak aşiretinin ismiyle bilinmekteyken günümüzde Tunceli, Erzincan, Bingöl, Elazığ yüksek rakımlı yaylalarda Mayıs-Eylül ayları arasında yerel olarak üretilmektedir. Erzincan tulum peyniri 2000 yılında coğrafi işaret almış ilk olarak coğrafi işaret almış ürün olmuştur [22].

Besin değeri yüksek bir peynir olan tulum peyniri genzi yakan bir acılığa sahiptir. Gözeneksiz, yağlı, kolay dağılmayan, keskin kokuludur, deri tulumlarda üretilen peynirlerin deriyle temas ettiği kısım sarı iç kısımları beyaz renktedir. Tüm bu özellikleri işleme ve olgunlaşma işlemlerine bağlı gelişmektedir. Tulum keçi derisinden yapılan bir paketleme materyalidir, hava ve nem aktarımını sağlamak için küçük porları bulunmaktadır [1].

Erzincan tulum peyniri üretiminde koyun sütü veya koyun, keçi ve inek sütü karışımı kullanılmaktadır. Çiğ süt süzüldükten sonra 28-32 °C sıcaklıklarda ticari mayalarla mayalanmaktadır. Mayalanma sonrası oluşan pıhtı parçalanır, bazen pıhtı 15-20 dakika 45 °C'de ısıtılabilmektedir. Çuvallara alınan pıhtı 14-16 saat bekletilerek veya 2-3 saat baskılama yapılarak suyu süzülmektedir. Peynir altı suyu süzüldükten sonra sonra teleme elle iyice parçalanmakta ve son aşamada teleme % 2-5 oranında tuz eklenerek kuru tuzlama yapılmaktadır. Suyu iyice süzülen teleme geleneksel yöntemde keçi derisinden yapılan tulumlara günümüzde ise plastik bidonlara hava almayacak şekilde doldurulmaktadır. Ardından 3-6°C sıcaklık ve % 70-85 bağıl nem koşullarında olgunlaştırılmaktadır.

Erzincan tulum peynirinin en önemli özelliklerinden biri üretiminde doğal tuzlu suyun güneşte buharlaştırılması sonucu elde eden Kemah tuzunun kullanılmasıdır [2]. Kemah tuzu peynirin erimemesini, dağılmamasını ve suyunu dışa vermesini sağlamasıdır.

2.1.4 İzmir Tulum Peyniri

İzmir tulum peyniri, Ege bölgesinde İzmir, Aydın, Manisa, Denizli ve Muğla illerinde koyun, keçi ve inek sütünden üretilen önemli bir peynir çeşididir. Üretim yöntemi, Erzincan Tulum peynirine benzemektedir ancak salamurada olunlaştırılmasıyla farklılaşmaktadır. İzmir tulum peynirinin üretiminde pastörize süt mayalanmakta, pıhtılaştırılmakta ve teleme küçük parçalara ayrılmaktadır. Ardından süzme ve baskılama ile suyu ayrılmaktadır. Suyunu salan peynir bıçakla kesilerek

parçalanmakta ve kuru tuzlamaya alınmaktadır. Son aşamada peynir altı suyundan hazırlanan % 12-14 tuz içeren salamura içerisinde olgunlaştırılmaktadır. Günümüzde ticari işletmelerde starter kültür olarak *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei* türlerinin kullanıldığı ve olgunlaşmada önemli bir rol oynadıkları bildirilmiştir [25].

2.1.5 Mihaliç Peyniri

Bursa ve Balıkesir illerinin Karacabey, Gönen, Manyas ve Mustafa Kemal Paşa ilçelerinde üretilen bir peynir çeşididir. Sert peynir çeşitlerinden olan Mihaliç peyniri "Kelle" peyniri olarak da bilinmektedir [26]. Mihaliç peyniri sert, kesit yüzeyi delikli bir peynirdir. Dışta 3 - 4 mm kalınlığında beyaz sert kabuğun altında sarımtırak - beyaz orta kısım ve kenara doğru gittikçe azalan delik oluşumu karakteristiktir. Deliklerin küçük ve içlerinin sıvı ile dolu olması istenmektedir, büyük ve sert delikler kusur sayılmaktadır [27].

Mihaliç peyniri üretiminde süt öncelikle mevsimine göre 26-35 °C arasında 1-1,5 saat mayalanmaktadır [26]. Oluşan pıhtı kesilerek sıcak su ile karıştırılmakta ve karışım 40-45 °C olduğunda 5-10 dakika haşlanır veya pişirilir. Pişirilen pıhtı kendi haline bırakılarak çöktürülmekte süzme bezi içinde askıya alınmaktadır. Süzülen pıhtı kelle denilen parçalar halinde kesilmektedir. Kesilen kelleler farklı tuz konsantrasyonlarında salamura içinde 2 veya 3 aşamada tuzlanmaktadır. İki aşamalı işlemde kesilen kelleler öncelikle % 15 tuz içeren hafif salamurada 1-1,5 gün bekletilmekte ve ardından % 20-22 tuz içeren kuvvetli salamurada 2-10 gün bekletilmektedir. Üç aşamalı işlemde sırasıyla % 15, % 16-17 ve % 18-20 tuz içeren yumuşak veya gevşek, orta ve sert salamurada sırasıyla 2, 2-3, 4-15 gün bekletilmektedir. Salamurada tuzlanan peynirler aralarına tuz serpilerek fıçılara yerleştirildikten sonra sert salamura eklenmekte ve fıçıların ağzı kapatılarak serin bir yerde olgunlaştırmaya bırakılmaktadır. Kalıpların dış yüzeylerinde kabuk oluşumu ve peynirin sertleşmesi bu aşamada gerçekleşmektedir [27].

2.1.6 Kars Gravyer Peyniri

Gravyer öncelikle İsviçre, bunun yanı sıra Fransa, Avusturya ve Finlandiya'da üretilen sert bir peynir çeşididir. Yapısı ve üretim şekli Emmental peynirine çok benzerdir. Peynirin kökeni İsviçre Alplerinde bulunan Greyerz (Gruyère) kasabasıdır ve üretimi 12. yy' a dayanmaktadır [28]. Kars'a Ruslar tarafından getirilmiş ve üretimi başlamıştır [29]. TS 2174 standardına göre Gravyer, sert kabuklu, kendine has şekil, koku, renk, tat ve aromaya sahip sert bir peynirdir, çiğ veya pastörize sütten özel tekniğine göre üretilmektedir. Gravyer üretiminde çiğ süt buzağı renneti ve termofilik

starter kültürle (propiyonik asit bakterileri) üretilmektedir. Bu peynir çeşidi, açık sarı renkli ve orta büyüklükte eşit aralıklarla deliklidir, 6-12 ay olgunlaştırıldığı için güçlü bir aromaya ve altın sarısı kahverengimsi kabuğa sahiptir. Kokusu ve tadı kendine has ve eşsizdir. Emmental peynirinden farklı olarak delikleri daha küçüktür (bezelye veya fındık büyüklüğünde), aroması daha güçlüdür. Gravyer Türkiye'de yerel bir peynir çeşidi olarak ekonomik olarak önemli bir Avrupa stili peynirdir. Kars ilinde Gravyer peyniri kaşar ve tulum peynirlerinden sonra en çok üretilen peynir çeşididir. Bu bölgede çiğ sütten geleneksel yöntemlerle az sayıda ticari fabrikanın yanı sıra küçük işletmelerde üretilmektedir. Türkiye'de tüketilen gravyer peynirinin yaklaşık % 90'ı (214 ton/yıl) Kars'ta üretilmektedir [28].

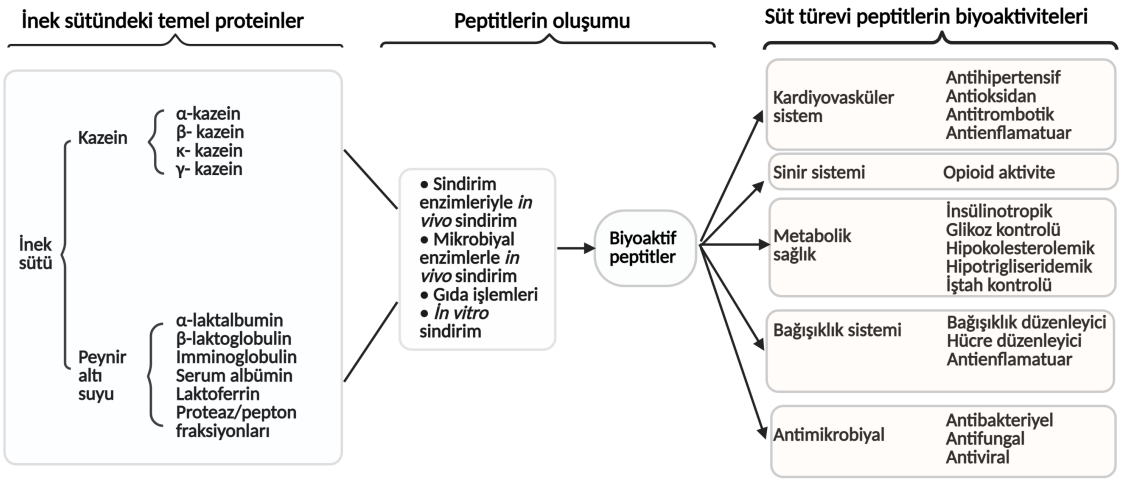
Gravyer peyniri üretiminde starter kullanılmamaktadır. Peynirin oluşmasında asit oluşturan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus* çiğ sütten delik oluşturan *Propionibacterium shermanii* ile kullanılan alet ekipman ve havadan bulaşmaktadır. Bazı üretim yöntemlerinde rendelenmiş eski gravyer peyniri süte veya telemeye katılarak kullanılmaktadır. Süt buzağı renneti ile mayalanarak 45 dakika pıhtılaştırılmaktadır, pıhtı 0,4-0,8 cm büyüklüğünde kesilmekte ve 55-57 °C'ye ısıtılmaktadır. Bu sırada parçalanan pıhtı sürekli karıştırılmaktadır. İstenilen sıcaklığa gelindiğinde 5-10 dakika beklenmekte, pıhtı ele alınıp sıkıldığında ele yapışmayacak kıvama geldiğinde cendere bezine alınarak kasnak kalıplarına yerleştirilmektedir. Kalıpların üzerine ağırlıklar konularak baskı uygulanmaktadır. İlk üç saatte kalıplar ters yüz edilmekte ve daha sonra 16-24 saat baskı altında bekletilmektedir. Baskıdan alınan peynirlerin alt ve üst yüzeyleri tuzlanmaktadır, her gün bir iki defa tuzlanarak 4-5 gün 10-13 °C'de bekletilmektedir ardından % 25-30 tuz içeren salamura içinde bir hafta bekletilmektedir. Tuzlama işlemi sonrası, sıcaklığı 28-32 °C, bağıl nemi % 85-90 olan odalarda 10-13 gün bekletilerek gözeneklerin oluşması ve peynir hacminin gelişmesi sağlanmaktadır. Buradan alınan peynirleri 10-13 °C'de bekletilerek an az 6 ay olgunlaştırılmaktadırlar.

2.2 Biyoaktif Peptitler

Biyoaktif peptitler, hedef hücrelerin üzerine spesifik reseptörlerle bağlanarak ve farklı biyolojik tepkiler başlatarak biyolojik fonksiyonları değiştirebilen, ilaç veya hormon benzeri özellikler gösteren spesifik peptit dizilimleridir [3]. Bu peptitlerin biyoaktiviteleri, aminoasit kompozisyonlarına ve dizilimlerine bağlıdır [30, 31]. Yapılan pek çok çalışmada ACE-inhibitör, opioid, antioksidan, antibakteriyel, antirombotik, bağışıklığı düzenleyici etkilere sahip biyoaktif peptitler tanımlanmıştır [4, 32–35]. Ayrıca, biyoaktif peptitler anormal sinyal yollarından sorumlu genlerin ekspresyonunu düzenleyebilmekte ve kolesterol metabolizmasını geliştirmektedir

[36].

Bilinen pek çok biyoaktif peptit 2-20 aminoasit kalıntısı içeren kısa zincirli bir yapıya sahiptir, ancak 64 aminoasit içeren kazeinomakropeptid gibi daha uzun zincirli biyoaktif peptitler de tanımlanmıştır [37]. Biyoaktif peptitler, genellikle kısa zincirli dizilimler olmalarının yanı sıra hidrofobik özelliktedirler. Biyoaktif peptit dizilimlerinin küçük ve hidrofobik olmaları, büyük moleküllere göre sindirim kanallarından kolayca geçebilme ve kan dolaşımına ulaşıp hedef dokulara ulaşabilme gibi avantajlara sahip olmalarını sağlamaktadır [1, 4]. Biyoaktif peptitler ana protein zinciri içinde iken etki göstermeyen suskun veya inaktif haldedirler. Ana protein zincirinden salınmaları üç şekilde olur; sindirim enzimleriyle hidroliz, proteolitik mikroorganizmalarla hidroliz ve mikroorganizma veya bitki kökenli enzimlerle hidroliz (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Süt türevi biyoaktif peptitler ve bunların fonksiyonları [32]

2.2.1 Peynir Üretimi Biyoaktif Peptit Oluşumu

Peynir üretimi sırasında ısıl işlem, homojenizasyon, basınç uygulamaları, sütün koagülasyonu ve olgunlaştırma gibi teknolojik işlemler uygulanmaktadır. Bu işlemler tat, koku gibi duyusal özelliklerin yanı sıra biyoaktif peptit içeriğini de etkilemektedir [7]. Peynir çeşidi, kullanılan kültür ve olgunlaşma süresi gibi enzimatik aktiviteyi etkileyen parametreler son ürünün peptit profilini etkilemekte ve olgunlaşmanın farklı aşamalarında farklı peptitler oluşmaktadır [7, 11].

Süte uygulanan teknolojik işlemler arasında yer alan ısıl işlem hemen tüm süt ürünlerinin üretimi sırasında farklı sıcaklık-süre normlarında uygulanmaktadır. Isıl işlem peynir kompozisyonu ve dolayısıyla peynir kalitesi ile biyoaktif peptit

içeriğini de etkilemektedir [8, 38]. Isıl işlem sütün stabilitesinin belirlenmesinde ve fonksiyonel performansında önemli rol oynamakta, ayrıca ısıl işlem sonucu proteinlerin yapılarında oluşan değişimler biyoaktivitelerini etkileyebilmektedir [39]. Isıl işlemler sonucu peynir altı suyu proteinlerinin denatürasyona uğraması proteinlerin katlanmasını ve hidrofobik grupların maruziyetini belirleyebilmektedir. Sıcaklık ve işlem süresindeki artışla birlikte α-laktalbumin ve β-laktoglobulin denatüre olarak kompleksler oluştururlar ve her iki proteinde moleküller arası disülfit bağlarıyla bunlarda kazein (KN) misellerinin yüzeyine bağlanırlar [40]. Düşük sıcaklıkta uygulanan ısıl işlem sonucu ise β-laktoglobulin ve κ-KN arasındaki kompleks hidrofobik etkileşimlerle oluşur ve daha zayıftır. Süt ve süt ürünlerinin buzdolabında saklanmaları sırasında, β-KN, kalsiyum, magnezyum ve fosfor, hidrofobik etkileşimin zayıflamasıyla beraber kazein misellerinden ayrılmaktadır. Bu nedenle, miseller fazda β-KN'in görece miktarı azalır ve su fazda kazein konsantrasyonu artmaktadır. Isıl işlemlerin diğer bir etkisi ise sütte bulunan doğal enzimlerin aktivitelerindeki değişimlerdir. Bu değişimler sütün ve bu sütle üretilen ürünlerin peptit içeriğini etkilemektedir [8].

Hidroliz işlemini etkileyen bir diğer önemli faktör yağ oranıdır [40]. Bazı peynir çeşitlerinin üretimi sırasında yüksek sıcaklık ve rennet ilavesi ile beraber yüksek yağ içeriğinin peynir altı suyu proteinleri ile kazein miselleri arasındaki etkileşimi güçlendirdiği bildirilmiştir. Bu durum proteinlerin proteolizine karşı bir koruma oluşturmaktadır.

2.2.2 Peynirlerde Olgunlaşma ve Biyoaktif Peptit Oluşumu

Peynirin olgunlaşması, bir dizi karmaşık mikrobiyolojik ve biyokimyasal değişim içermektedir. Mikrobiyolojik değişimler, starter kültür hücrelerinin ölümü, avantajlı starter olmayan kültürün gelişmesi ve bazı peynirlerde ikincil mikrofloranın gelişmesidir. Olgunlaştırılmış peynirlerin mikrobiyal nişi; laktik asit bakterileri (LAB), mayalar ve bazı küflerin bulunduğu karmaşık bir ortamdır. Bütün bu mikroorganizmalar son ürünün kendine has duyusal özelliklerinin gelişmesi açısından önemlidir. Peynirde bulunan bir kısım LAB üretim sırasında starter olarak katılabilirken, bir kısmı peynirde doğal olarak bulunmaktadır (starter olmayan LAB; örneğin, laktobasiller, pediokoklar, enterokoklar, *Leuconostoc*). Süt starter olmayan LAB için temel kaynak olmakla birlikte peynir katkıları veya üretimde kullanılan alet-ekipmanlardan da ürüne LAB bulaşabilmektedir [8]. Olgunlaşma sırasında LAB biyoaktif peptitler, ekzopolisakkaritler, vitaminler, gama aminobütirik asit (GABA) ve oligosakkaritlerin salınmasını sağlamaktadır. Üretim sırasında geleneksel üretimde yer almayan bazı kültürlerin ilave kültür olarak kullanımı biyoaktif etkileri

artırabilmektedir [41–44].

Olgunlaşma sırasında gerçekleşen biyokimyasal değişimler 3 kategoriye ayrılabilir [45];

- Laktoz, laktat ve sitrat metabolizması,
- Lipoliz ve yağ asitlerinin metabolizması,
- Proteoliz ve aminoasit katabolizması.

Laktoz ve laktatın fermentasyonu tüm peynir çeşitlerinin üretiminde önemlidir. Sütteki laktozun çoğu peynir altı suyunun ayrılması sırasında ayrılmakla birlikte peynir pıhtısı olgunlaşmanın başlangıcında düşük miktarda laktoz içermektedir ve bu laktoz olgunlaşmayla birlikte hızlı bir şekilde kaybolur [46]. Olgunlaşma sırasında gerçekleşen lipolizden sorumlu enzimler sütte bulunan lipaz ve zayıf lipolitik olan starter ve starter olmayan LAB'nin sahip oldukları lipaz ve esterazlardır [45]. Sütün pastörize edilmesiyle sütte bulunan sıcaklığa duyarlı lipaz aktivitesini kaybeder, bu nedenle özellikle çiğ sütten üretilen peynirlerin olgunlaşmasında etkilidirler. Olgunlaşma süresince uzun zaman peynirde bulunan LAB cheddar, gouda ve benzer peynirlerin tipik lipolizine zayıfta olsa katkıda bulunurlar. Ayrıca LAB nin parçalanmaları sonrası hücresi içi lipazların ve esterazların salınmasıyla lipoliz arasında bir ilişki bulunmaktadır [46].

Proteoliz olgunlaşmanın en önemli ve karmaşık biyokimyasal değişim safhasıdır [45]. Proteoliz sırasında, para-KN matriksi parçalanarak peynirde gerekli yapı oluşmakta ve ortaya çıkan yeni karboksil ve amino grupları vasıtasıyla su bağlama kapasitesi artmaktadır. Ayrıca, proteoliz sonucu serbest hale gelen aminoasitlerin katabolizmaları amonyak oluşumuna ve buna bağlı olarak da pH'da yükselmeye neden olmaktadır. Peynirlerin olgunlaşması sırasında kazeinler proteinazlarla büyük peptitlere parçalanmakta ve ikinci aşamada peptidazlarla küçük peptitlere ve aminoasitlere indirgenmektedir [12]. Kazeinin indirgenmesinden sorumlu hidroliz enzimlerinin kaynakları arasında kazein kalıntı koagülantları, doğal süt enzimleri, starter kültür enzimleri, ikincil kültürler ve starter olmayan laktik asit bakterilerinin enzimleri yer almaktadır [11]. Pek çok peynir çeşidinde, kazein ilk olarak kalıntı koagülantların etkisiyle hidrolizlenir, bunların yanı sıra düşük oranda sütte bulunan plazmin ve kimozin gibi enzimler etkili olur. Bu hidroliz sonucu oluşan büyük peptitler starter ve starter olmayan LAB proteinazları ve peptidazları tarafından parçalanmaktadır. Kazein ve kazein türevi büyük oligpeptitlerin hidrolizi, 5-30 aminoasit uzunluğundaki oligopeptitleri salgılayabilen LAB hücre zarı proteazlarınca

gerçekleştirilmektedir [47]. Ardından hücre içine taşınarak sitoplazmik peptidazlarca ileri hidroliz sonrası küçük peptitler ve serbest aminoasitler oluşmaktadır. Bu durum kimozin ve iç proteolitik enzimlerin peynirin pıhtılaşma aşaması ve daha sonraki birkaç saat içinde starter LAB etkisiyle peptit profilinin domine edildiğini göstermektedir [47]. Bunun yanı sıra, olgunlaşmanın başlangıcında düşük sayıda bulunan starter olmayan LAB olgunlaşmayla birlikte gelişmekte, peynirin çeşidine ve olgunlaşma koşullarına göre gelişip yüksek sayılara ulaşabilmekte ve proteoliz deseni üzerinde etkili olmaktadır [45]. Permiano Prado peynirinin peptit profilini araştıran araştırmacılar olgunlaşma sonrası starter olmayan LAB'nin baskın popülasyon olduğu durumda peptit profilinde dramatik bir değişim olduğunu belirlemişledir [47]. Olgunlaşmanın farklı seviyelerinde biyoaktivitenin değişimiyle ilgili pek çok çalışma bulunmaktadır [1, 11–13, 42, 48]. Peynir üretiminde kullanılan farklı proses değişkenlerinin peynirin olgunlaşması sırasında oluşan peptit profili üzerine etkilerinin anlaşılması maksimum biyoaktiviteye ulaşılması için önem arz etmektedir [11].

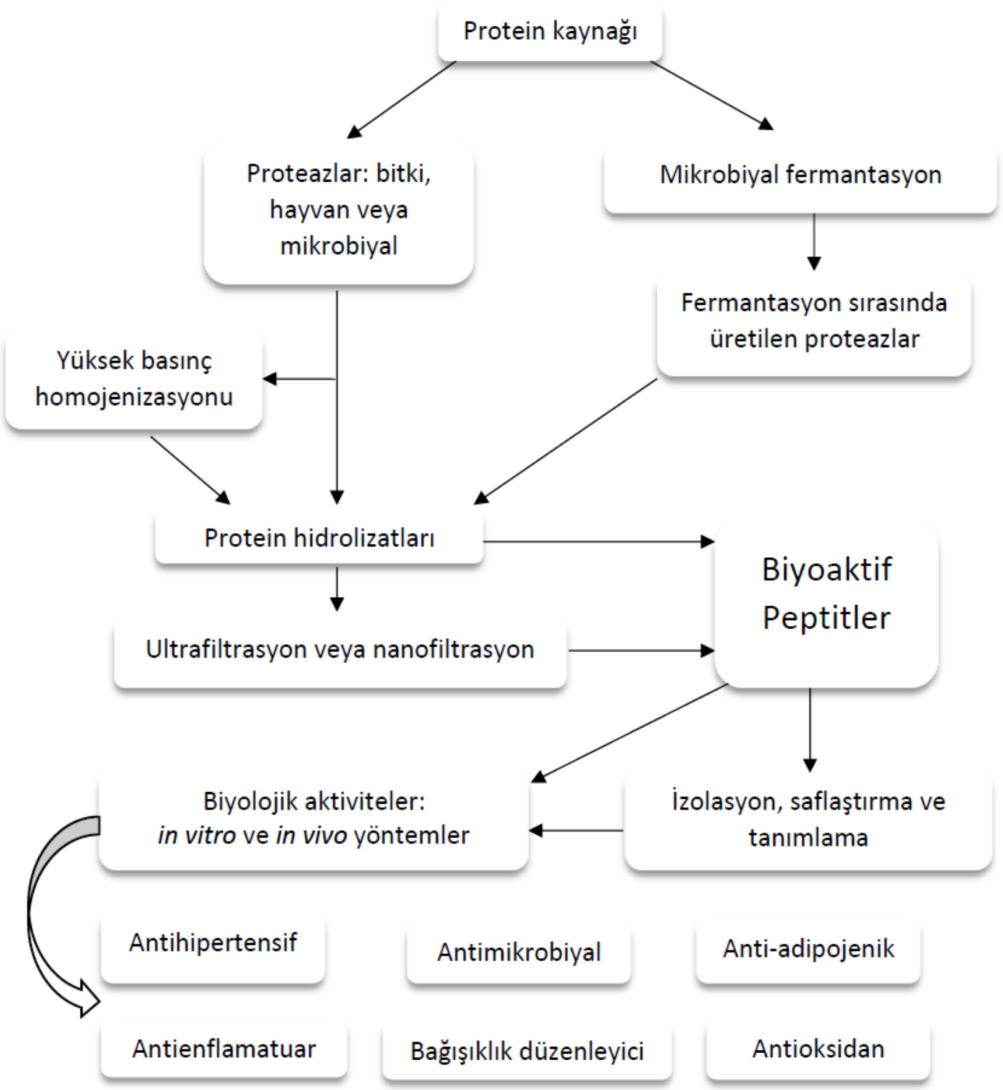
Aminoasitlerin katabolizmaları ise iki temel yolla olmaktadır. Çoğu aminoasit ilk olarak aminotransferaz ile amino grubunun bir alıcı bir moleküle (çoğu zaman –ketoglutarat) taşınması ve sonuçta orijinal aminoasidin bir keto asidi ve yeni bir aminoasit genellikle glutamik asit) oluşmaktadır. Keto asitler çoğunluğu peynirin tadına etki eden bileşiklere indirgenmektedir. İkinci yol ise eliminasyon reaksiyonlarıyla başlamaktadır, metiyoninin katabolizması uçucu kükürt bileşiklerinin oluşması nedeniyle önemlidir. Bu temel yollara ilave olarak, serbest aminoasitler aminleri oluşturmak üzere dekarboksilazlarla katabolize olmaktadır.

2.2.3 Süt Proteinlerinden Biyoaktif Peptitlerin Üretilmesi

Temelde, biyoaktif peptit üretmek için iki yaklaşım bulunmaktadır (Şekil 2.2). Birincisi fermente süt ürünlerinde laktik asit bakterilerinin proteolitik enzimlerinin kullanılması, ikincisi ise süt proteinlerinin proteaz ve peptidazların tek başlarına veya kombinasyonlarının kullanılarak *in vitro* hidrolizidir (Tablo 2.1).

2.2.3.1 Biyoaktif Peptitlerin Enzimlerle Üretimi

Proteinlerin fonksiyonel ve biyolojik özelliklerinin geliştirmek için enzimlerle biyoaktif peptit üretimi, hızlı, güvenli ve kolay kontrol edilebilen bir tekniktir. Enzimlerle biyoaktif peptitlerin üretilmesiyle ilgili pek çok çalışmada, hidroliz için farklı kaynaklardan elde edilen sindirim enzimleri ile substrat olarak ticari peynir altı suyu tozu, saflaştırılmış peynir altı suyu proteinleri, mikrofiltrasyon permeatları ve süt endüstrisi yan ürünleri kullanılmıştır [4, 50, 51, 54, 55].



Şekil 2.2 Süt proteinlerinden biyoaktif elde etmek için kullanılan temel yöntemler [6]

Tablo 2.1 Enzim ve fermantasyonla süt proteinlerinden üretilen biyoaktif peptitler

Mikroorganizma/ Proteaz	**Substrat**	**Fermantasyon/ hidroliz koşulları**	**Biyoaktivite**[1]	**Kaynak**
Lactobacillus helveticus PR4 Proteinazı	İnek, koyun, keçi, domuz, manda ve insan sütü	pH 4,6; 35°C; 10 dakika	ACE-i ve antibakteriyel etki	[33]
Lactobacillus acidophilus DPC6026	Kazein	pH 7,0; 37°C; 24 saat	Antibakteriyel	[49]
Bacillus sp. proteaz P7	Koyun peyniri peynir altı suyu	pH 8,0; 45°C; 0,5-6 saat	ACE-i, antioksidan	[50]
Alkalaz	Peynir altı suyu	pH 7,0–9,0; 50–70°C; 2–8 saat	Antioksidan	[51]
Kluyveromyces marxianus	Süt	37 °C; 12 saat	ACE-i	[52]
Papain, pepsin ve tripsin	Manda sütü	Papain, tripsin ve pepsin için sırasıyla pH 6,0-8,0-2,0; 37°C; 4 saat	ACE-i, antioksidan	[53]
Lactobacillus helveticus suş 881315 ve Flavourzyme®	Yağsız süt	37 °C; 12 saat	Antihipertensif	[10]
Tripsin	Peynir altı suyu	pH 7,5-9,0; 37-50°C; 1 saat	ACE-i, antioksidan	[54]

1 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitör

Proteazlar proteinlerdeki peptit bağlarının hidrolizini katalizler ve ester veya amid bağlarını etkileyebilirler. Tüm proteazlar, genellikle ayrılacak bağın etrafında bulunan aminoasit dizilimine bağlı olarak belli bir ölçüde substrat spesifitesine sahiptir [6]. Bu spesifite ve hidroliz koşulları (pH, sıcaklık, süre) hidrolizatın biyoaktivitesini etkileyen serbest aminoasit miktarını, peptit zincirlerinin aminoasit dizilimini ve büyüklüğünü etkilemektedir. Gıda proteinlerinin kırılma bölgeleri her bir enzime göre farklıdır [9]. Örneğin, tripsin proteinleri karbon uçtan arjinin ve lisin kalıntılarından parçalarken, kimotripsin karbon uçtan aromatik veya hidrofobik aminoasit kalıntılarından parçalamaktadır. Aminoasitlerin bazı özellikleri Tablo 2.2'de özetlenmiştir. Pepsin A ise karbon uçta fenil alanin, lösin veya glutamik asit bulunduğunda etkilidir. Bunun sonucunda kullanılan substrat ve enzime bağlı olarak elde edilen peptitlerin profili değişebilmektedir. Bu nedenle hedef peptitleri elde edebilmek için en uygun peptidaz ve substratın seçilmesi önemlidir. Ana enzim dışında yan enzim aktiviteleri barındıran ve açık bir şekilde tanımlanmamış

Tablo 2.2 Süt proteinlerinde bulunan aminoasitler ve özellikleri

Aminoasit	Kısaltma	Simge	Yapı
Alanin	Ala	A	Nötral, hidrofobik
Arjinin	Ala	R	Bazik, hidrofilik
Asparajin	Arg	N	Nötral, hidrofilik
Aspartik asit	Asp	D	Asidik, hidrofilik
Fenilalanin	Phe	F	Nötral, hidrofobik
Glisin	Gly	G	Nötral, hidrofobik
Glutamin	Gln	Q	Nötral, hidrofilik
Glutamik asit	Glu	E	Asidik, hidrofilik
Histidin	His	H	Bazik, hidrofilik
İzolösin	Ile	I	Nötral, hidrofobik
Lizin	Lys	K	Bazik, hidrofilik
Lösin	Leu	L	Nötral, hidrofobik
Metiyonin	Met	M	Nötral, hidrofobik
Prolin	Pro	P	Nötral, hidrofobik
Serin	Ser	S	Nötral, hidrofilik
Sistein	Cys	C	Nötral, hidrofilik
Treonin	Thr	T	Nötral, hidrofilik
Triptofan	Trp	W	Nötral, hidrofilik
Tirozin	Tyr	Y	Nötral, hidrofilik
Valin	Val	V	Nötral, hidrofobik

ticari peptidazlar ile hidroliz işlemi hidroliz derecesini ve oluşan peptit ve/veya aminoasitleri etkilemektedir [9].

Farklı türlerin sütlerinin kazeinlerinin sekans ve konformasyonlarındaki farklılık nedeniyle parçalanmaları sonu farklı biyoaktif peptitler oluşmaktadır [33]. *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinazını kullanılarak altı farklı türün (inek, koyun, keçi, domuz, manda ve insan) sütünden antimikrobiyal ve ACE-inhibitor etkili peptitler oluşturmuşlardır [33]. Araştırmacılar papainle hidrolize uğrattıkları manda sütünden ACE-inhibitör peptit dizilimleri (FPGPIPK, IPPK, QPPQ) tanımlamışlardır [53]. Bir başka çalışmada araştırmacılar β-laktoglobulinden türevlendirilen 6 sentetik peptidin (WY, WYS, WYSL, WYSLA, WYSLAM, WYSLAMA) ACE-inhibitör ve antioksidan kapasitesini araştırmış ve bunlardan dipeptit WY nin f(19-20) güçlü bir ACE-inhibitörü olduğunu belirlemişlerdir [56]. Koyun peynirinin peynir altı suyu *Bacillus* sp. P7 proteinazı ile hidrolize edilerek ACE-inhibitör peptitler oluşturulduğu bir çalışmanın sonucunda ACE-inhibitör aktivitenin hidroliz süresine bağlı olduğu belirtilmiştir [50].

2.2.3.2 Biyoaktif Peptitlerin Fermantasyonla Üretimi

Fermantasyonla biyoaktif peptit üretimi için biyoaktif moleküllerin doğal taşıyıcısı olan sütün kullanılması yaygındır. Sütün fermantasyonu, fermente ürünün

kimyasal, biyokimyasal ve besinsel özelliklerini önemli ölçüde etkileyen metabolitlerin oluşmasından sorumlu bir seri metabolik yol içermektedir. Laktik asit bakterilerinin (LAB) proteolitik sistemleri üç temel bileşen içeren kompleks bir sistemdir (Şekil 2.3) [6].

Bu mikroorganizmaların proteolitik enzimleri üretebilme yetenekleri onları potansiyel biyoaktif peptit üreticileri yapmaktadır. Literatürde sıkça bildirilen ve biyoaktif peptitlerin salınması ve protein hidrolizi için etkili proteolitik sistemlere sahip olan bakteriler arasında *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus, Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* ve *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophylus* bulunmaktadır [57]. Bu mikroorganizmaları canlı olarak kullanma dışında bunların proteolitik enzimleri de izole edilerek enzimatik hidroliz ile biyoaktif peptit üretiminde kullanılmaktadır.

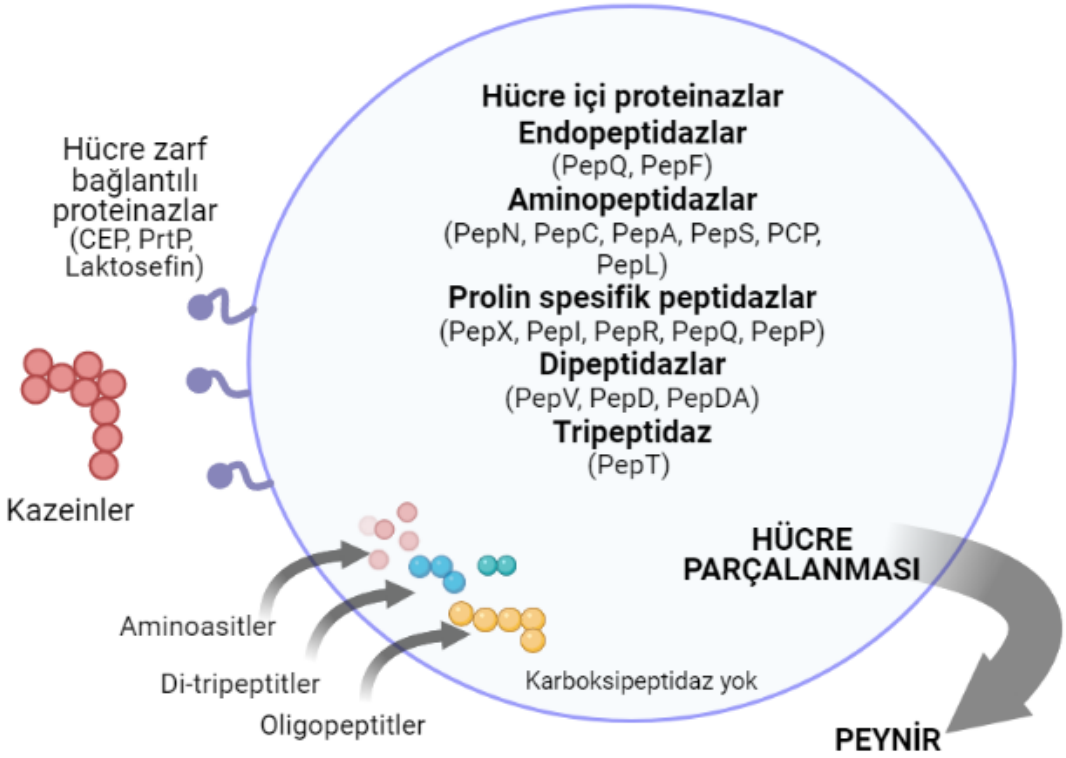
- Hücre duvarına bağlı proteazlar, ilk olarak kazeini oligosakkaritlere parçalar
- Spesifik taşıyıcılar oligopeptitleri sitoplazmaya taşır
- Hücre içi peptidazlar oligopeptitleri serbest aminoasitlere ve/veya düşük molekül ağırlıklı peptitlere parçalayarak hidroliz işlemini sonlandırır.

İlave kültür kullanımıyla peynir üretimi, kazeinin spesifik olarak hidrolizi ve çeşitli biyoaktivitelere sahip peptitlerin salınımı açısından araştırılmaktadır [11, 42, 44]. İlave kültür seçiminde son ürün istenilen özellikler ve üretimde uygulanacak olan üretim prosesleri dikkate alınmalıdır. Optimum gelişme sıcaklığı 42-45 °C olan termofilik *Lactobacillus helveticus* suşları sert ve yarı-sert peynirlerde acılığı artıran peptitlerin oluşmasını ve aromanın gelişmesini artırmanın yanı sıra biyoaktif peptit salınımı da artırmaktadır [11].

LAB dışında *Pichia kudriavzevii* KL84A ve *Kluyveromyces marxianus* KL26A gibi mayalar ve *Saccharomyces cerevisia*'dan elde edilen proteaz-B de sütten biyoaktif peptit oluşturmak için değerlendirilmiştir [52].

2.2.4 Biyoaktif Peptitlerin Fonksiyonları

Süt ürünleri ve özellikle fermente süt ürünleri yüksek tüketim oranları nedeniyle biyoaktif peptitlerin alımı için popüler gıdalardır [10]. Biyoaktif peptitler aminoasit kompozisyonu ve dizilimlerine bağlı olarak vücutta ACE-inhibitör, antioksidan, opioid, antimikrobiyal, antitrombotik, bağışıklığı düzenleyici etkiler göstermektedir [4, 5]. Olgunlaştırılmış peynirlerde tanımlanan peptit dizilimleri ve belirlenen biyoaktiviteler sırasıyla Tablo 2.3 ve Tablo 2.4'de özetlenmiştir.



Şekil 2.3 *Lactococcus* 'un proteolitik sisteminin özeti [45]

Tablo 2.3 Olgunlaştırılmış peynirlerde tanımlanan biyoaktif peptitler

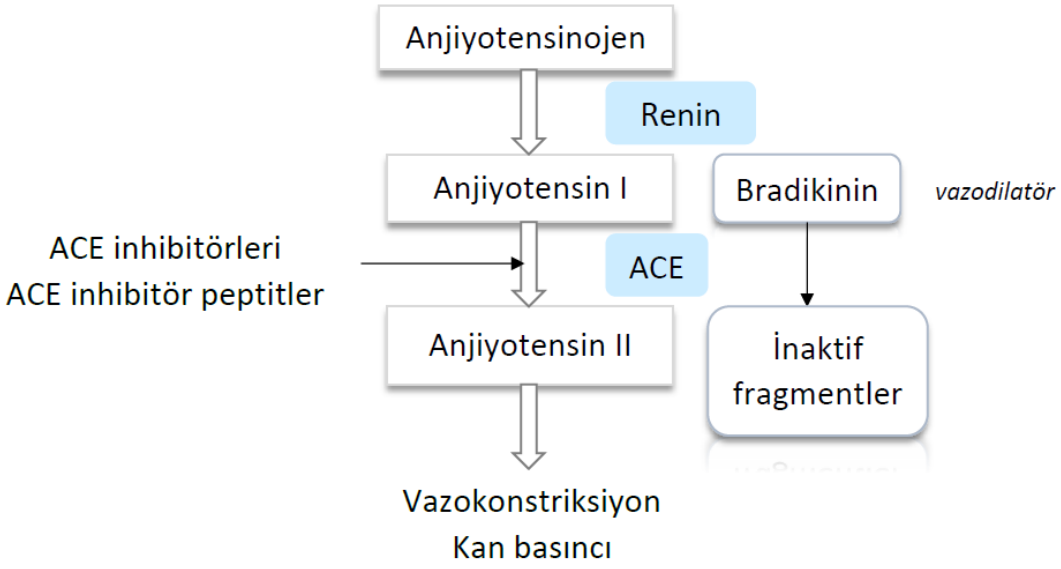
Peynir	**Peptit Dizilimi**	**Biyoaktivite**[1]	**Kaynak**
Gouda, Emmental, Blue, Camembert, Havarti	RPKHPIKHQ, RPKHPIKHQGLPQ, YPFPGPIPN MPFPKYPVQPF	*in vivo* ve *in vitro* ACE-i	[13]
Pecorino Romano, Canestrato Pugliese, Caprino del Piemonte, Caciocavallo, Crescenza	RFVVAPFPE, FVAPFPEVFG, GLSPEVLNENLL, MAIPPKKNQD, YPFTGPIPN	Antibakteriyel	[34]
Cabrales, Mahón, Idiazábal, Roncal, Manchego ve keçi peyniri	VRGP, PFP, QP, DKIHP, PKHP, FP, PP, DKIHPF	ACE-inhibisyon	[48]
Cheddar	RPKHPIKHQ, RPKHPIK, RPKHPI, DKIHPF, FVAPFPEVF, KKYKVPQLE, YQEPVLGPVRGPFPIIV	ACE-i	[42]
Cheddar	ARHPHPH, RPKHPIKHQ, RPKHPIK, RPKHPI, FVAPFPEVF, YQEPVLGPVRGPFPIIV	ACE-inhibisyon	[58]
Asiago d'allevo	PFPE, DKIHPF, FVAPFPE, NVPGEIVE, RELEEL, FVAPFPEVF, YQEPVLGPVRGPFPIIV	ACE-i	[59]
Coalho (Brezilya)	İsrasidin (αs1-KN f(1-23))	Antioksidan, antimikrobiyal, çinko bağlama	[60]
Stracchino (İtalya)	EAMAPK, AVPYPQ	Antioksidan	[61]
Kaşar peyniri	RPKHPIK-H-Q, RPKHPIK+H, RPKHPIKH+Q	Antioksidan	[16]
Prato peyniri (Brezilya)	β-KN f194-209	ACE-i	[11]
Bulgar olgunlaştırılmış beyaz peyniri	İnek peyniri: αs1-KN (f1-9) ve β-KN (f194-203 ve f203-219); keçi peyniri: αs1-KN (f1-9 ve f24-30) ve β-KN (f194-209 ve f203-219); koyun peyniri: αs1-KN ve β-KN fraksiyonları	Antioksidan, antihipertensif, antimikrobiyal ve bağışıklığı düzenleyici	[62]
Anamur, Mut ve Karaman yöresi tulum peynirleri	İnek, koyun ve keçi sütü αs1, αs2-KN ve β-KN fraksiyonları	Antioksidan, antihipertensif, antimikrobiyal ve bağışıklığı düzenleyici	[17]

1 ACE-i: anjiyotensin düzenleyici enzim inhibitör

2.2.4.1 ACE-inhibisyon, Antihipertensif Etki

Dünya'da yetişkin nüfusun yaklaşık olarak % 30'unu etkileyen hipertansiyon kan damarlarındaki basıncın sürekli olarak artması olarak tanımlanmaktadır [72, 73]. Kardiyovasküler hastalıklar ve felç için önemli bir risk faktörü olan hipertansiyon, kontrol edilebilir bir hastalık olmakla birlikte yaygınlığı ve ciddi sonuçları nedeniyle kalp sağlığı için önemli bir tehdittir [44, 72]. Epidemiyolojik, kısa ve uzun süreli çalışmalar süt ürünleri özellikle az yağlı süt ürünleri tüketiminin kan basıncı seviyeleriyle ters orantılı olduğunu göstermiştir [35]. Son yıllarda bakteriyel ve enzimatik fermantasyon sonrası oluşan kısa zincirli ACE-inhibisyon etkili peptitler dikkat çekmiştir.

ACE çeşitli peptitleri karbon uçtan parçalayarak dipeptitler oluşturan bir dipeptidilkarboksipeptidazdır (EC 3.4.15.1). Bu enzim renin-anjiyotensin ve bradikinon yolaklarında kan basıncının düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır (Şekil 2.4). Angiotensin-I oktapeptittir ve bu halde inaktiftir, hidrolizi sonrası bir hegzapetit olan angiotensin-II oluşmaktadır. Angiotensin-II kan damarlarında büzüşmeye neden olan güçlü bir vazokonstriktördür. ACE, angiotensin-I'in angiotensin-II'ye dönüşümünü katalizleyerek kan basıncını etkilemektedir [6, 44, 74]. Ayrıca kan damarlarını açan (vasodilator) bradikinini parçalayarak tansiyonu kontrol etmektedir. Bu enzim çeşitli şekillerde inaktive edilerek kan basıncı düşürülmekte ve tansiyon kontrol edilebilmektedir [48]. Biyoaktif peptitler, çeşitli yan etkilere neden olan Captopril ve enalapril gibi sentetik ACE-inhibitörleri yerine daha güvenli ve daha sağlıklı doğal alternatifler olarak kabul edilmektedir [48, 52, 75].



Şekil 2.4 Renin anjiyotensin sistemi [74]

Tablo 2.4 Olgunlaştırılmış peynirlerde belirlenen biyoaktiviteler

Mikroorganizma/ Proteaz	**Biyoaktivite**[1]	**Kaynak**
Cheddar	Antioksidan etki ilave kültür kullanımıyla artmıştır ve olgunlaşmaya bağlıdır	[41]
Brie, Rokpol, Edamski, Gouda, Kasztelan	Agonistik ve antagonistik opioid	[14]
Montagnard, Blue, Pont-l'eveque, Brie, Camembert, Danablue	Antiproliferatif (Lösemi hücre kültürü)	[63]
Parmigiano-Reggiano	Antioksidan etki olgunlaşmadan ve gastrik sindirimden etkilenmemiştir	[64]
Parmigiano Reggiano ve Grana Padano	*in vitro* ACE-i aktivite ve *in vivo* antihipertensif	[65]
Tulum peyniri (keçi ve inek)	Antioksidan, antimikrobiyal, Fe^{2+} bağlama etkileri süt elde edilen türe göre değişmiştir	[1]
Kalari Peyniri (Himalayalar)	Antikanser, antimikrobiyal, bağışıklık düzenleyici, antidiyabetik etkiler probiyotik ilave kültür kullanımıyla artmıştır	[66]
Chiapas (Meksika)	Antihipertensif, ACE-i, antioksidan	[67]
Koopeh peyniri (İran)	Antioksidan ve antimikrobiyal	[68]
Sırp beyaz peyniri	ACE-i, antioksidan ve antimikrobiyal	[69]
Keçi sütünden üretilmiş beyaz peynir	ACE-i ve antioksidan aktivite *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus bulgaricus* ilave kültür kullanımı ile artmıştır	[70]
Van otlu peyniri	Antioksidan ve antimikrobiyal etki çeşitli bitkilerin kullanımıyla artmıştır	[71]

1 ACE-i: anjiyotensin düzenleyici enzim inhibitör

Pek çok gıda protein kaynağından ACE-inhibitör peptitler elde edilebilmektedir, bununla birlikte süt proteinleri antihipertensif peptitlerin ana kaynakları olarak kabul edilmektedir [52]. ACE' nin var olan iki katalitik bölgesine pek çok peptit bağlanabilmekte ve böylece enzimi inaktive edebilmektedir [42, 48]. Ancak bağlanma peptidin kimyasal yapısına bağlıdır, karbon ucunda bulunan tripeptit yapıda aromatik veya dallanmış yani hidrofobik yapılar bulunması bağlanma için gereklidir [42]. Ayrıca karbon uçta serin aminoasitinin bulunması ACE aktivitesinin düşürücü bir etki göstermektedir [76].

Antihipertensif peptitler içeren bazı ticari ürünler satışa sunulmuştur. Bunlardan BioZate biyoaktif peptit olarak β-laktoglobulin fragmentleri içermektedir [7]. Japonya'da üretilen Calpis ekşi sütünün (CalpisCoLtd, Tokyo, Japan) fermantasyonunda *Saccharomyces cerevisiae* ve *Lactobacillus helveticus* kullanılmaktadır ve içeriğinde güçlü ACE-inhibitörleri VPP ve IPP bulunmaktadır (Hernández-Ledesma vd., 2005). Bu peptitler, β-KN'den salınmaktadır ve yapılan çalışmalar bunların kan basıncını düşürdüğünü göstermektedir [12, 35]. Finlandiya'da satışa sunulan kalsiyumla zenginleştirilmiş fermente bir süt ürününde yine bu iki peptit bulunmaktadır [7]. Bu iki peptidin karbon uçta bulunan PP dizilimleri proteazlar ve peptidazlarla ileri sindirime dirençlidir ve kolayca intestinal sistemden geçebildikleri belirtilmiştir [5]. Ayrıca, IPP peptidi Hep G2 ve caco-2 hücrelerine kronik uygulandığında sitotoksik etki göstermemiştir [35].

Gouda, Blue, Edam ve Havarti peynirlerinin farklı olgunluk sürelerinde ACE-inhibitör ve antihipertensif etkileri *in vitro* ve *in vivo* olarak araştırılmıştır [13]. *İn vitro* testlerin sonucunda en yüksek ACE-inhibitör aktivite 24 aylık Gouda peynirinde belirlenirken, *in vivo* çalışmalarda 8 ay olgunlaştırılmış Gouda, Blue, Edam ve Havarti peynirlerinin tüketilmesi sonucu kan basıncı düşmekle birlikte en güçlü antihipertensif etkinin Gouda peynirinde olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Manchengo peynirinin farklı olgunluk sürelerinde antihipertensif etkisi değişmekle beraber en yüksek seviyeye 8 ay olgunlaşmayla ulaştığı bildirilmiştir (Gómez-Ruiz vd., 2002). İspanya'da üretilen Cabrales, Idiazábal, Roncal, Manchego, Mahón ve keçi peynirinde ACE-inhibitör etkili peptitler tanımlanmış ve bunlardan 8 tanesi (VRGP, PFP, QP, DKIHP, PKHP, FP, PP, DKIHPF) sentezlenerek ACE-inhibitör etki sentetik peptitlerde de belirlenmiştir [48]. Araştırmacılar, ACE-inhibitör aktivitenin 1000 Da daha küçük molekül ağırlığına sahip permeatta daha yoğun olduğunu bildirmişlerdir. 39 İsviçre peyniri ile bazı diğer ülke peynirlerinin VPP ve IPP içeriği likit kromatografi kütle spektrometresi (LC-MSMSMS) ile belirlenmiştir [12]. Bu çalışmada IPP ve VPP peptitlerinin konsantrasyonlarıyla ACE inhibisyonu belirlenen için IC50 değerlerinin korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Çiğ sütten üretilen olgunlaştırılmış peynirlerin, pastörize sütten üretilen yumuşak peynirlerden daha yüksek ACE-inhibitör aktiviteye sahip oldukları değerlendirilmiştir.

Geleneksel kültürlerin yanı sıra çeşitli LAB kültürleri kullanılarak ürünlerin biyoaktif etkileri artırılmaya çalışılmaktadır [11, 42, 44, 58, 77].

2.2.4.2 Antioksidan Etkili Peptitler

Serbest radikaller normal hücre metabolizmasının yan ürünleri olarak oluşan kararsız bileşiklerdir. Süperoksit, hidroksil radikalleri gibi serbest radikaller ile radikal olmayan hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin (ROT) oluşmasıyla oksidatif stres ortaya çıkmaktadır [32]. Düşük ROT konsantrasyonları, işgalci patojenleri öldürmek, yara iyileştirme, doku tamir prosesleri, hücre sinyallerinin düzenlenmesi, protein fosforilasyonu sırasında redoks düzenlenmesi, iyon kanalları ve transkripsiyon faktörleri gibi yararlı etkilere sahip olmakla birlikte, fazla miktarları proteinlere zarar vermekte, membran fosfolipidlerini ve düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) okside edebilmekte, DNA mutasyonuna, hücre hasarına ve apoptosise neden olabilmektedir [6, 7, 40]. Bu radikallere aşırı maruziyet sonrası ateroskleroz, diyabet ve kanser gibi hastalıklar gelişebilmekte, gastrointestinal sistemde fazlaca üretilmesi de intestinal dokunun geçirgenliğini artırarak gastrik kanser, ülser ve kronik intestinal inflamasyon gibi gastrointestinal sistem hastalıklarına katkıda bulunmaktadır [6, 40]. Antioksidan kullanımı ile bu hastalıkların önüne geçilebilmekte ve yaşlanma yavaşlatılabilmektedir [76]. Ayrıca, antioksidanca zengin diyetler insan ve farelerde kan basıncını düşürmektedir [56].

C ve E vitaminleri, polifenoller ve karatenoidlere ek olarak, gıdalarda doğal olarak bulunan glutatyon (γ-ECG) ve karnosin (β-alanil-L-histidin) gibi bazı peptitler de antioksidan etkiye sahiptir. Bunların yanı sıra proteinlerin hidrolizleri sonucu antioksidatif peptitler elde edilebilmektedir [6]. Antioksidan etkili peptitlerin lipid peroksidasyonunu önlediği, serbest radikalleri uzaklaştırdığı, metal iyonlarıyla şelat oluşturduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir [6, 7, 51]. Antioksidan etkinin mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, aminoasit kompozisyonu ve aminoasitlerin dizilimleri antioksidan aktiviteyi etkileyebilmektedir [6, 7]. Özellikle peroksi radikallerini tutma ve şelat oluşturma özelliklerine sahip histidin ve hidrofobik hedeflere erişimini artıran hidrofobik aminoasitlerin peptit yapısında yüksek miktarda olması antioksidan etkinin potansiyelini artırmaktadır [7].

Ülkemizde yapılan bir çalışmada, kaşar peynirinde antioksidan aktivitenin peynirin olgunlaşma derecesiyle ilgili olduğu belirlenmiş ve antioksidan etkiye sahip üç adet peptit dizilimi (RPKHPIK-H-Q, RPKHPIK, RPKHPIKH+Q) tanımlanmıştır [16]. Gupta vd., (2009) Cheddar peynirinin antioksidan etkisinin olgunlaşmanın dördüncü ayında maksimum seviyeye ulaşıp düşmeye başladığını ve yedinci aydan sonra benzer seviyelerde kaldığını belirlemişlerdir [41]. Benzer bir çalışmada inek

ve keçi sütünden üretilen Erzincan tulum peynirlerinin antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır [1]. Peynir yapımında kullanılan sütün çeşidi ve peynirin olgunlaşma derecesinin antioksidan aktivite üzerine etkili olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, farklı olgunlaşma düzeylerindeki Permigiano Reggiano peynirinin olgunlaşma süresi ve *in vitro* gastrointestinal sindirimden etkilenmeyen yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [64]. Köse ve Ocak (2020) yaptıkları çalışmada 12 farklı yerel bitki türü, inek ve koyun sütü kullanılarak Van otlu peyniri üretmişler ve bu örneklerde antioksidan aktivite araştırmışlardır [71]. Bu çalışma sonucunda antioksidan aktivitenin çiğ sütten hazırlanan örneklerde daha yüksek olduğu ve çeşitli bitki türleriyle zenginleştirmenin peynir çeşitlerinin antioksidan aktivitesini artırmada etkili olduğu belirtilmiştir.

Basilicata vd., (2018) manda sütünden üretilen süt ürünlerinin antioksidan aktivitelerini inceleyerek biyoulaşılabilir peptitleri tanımlamışlardır [40]. Tanımlanan peptitler arasında bulunan bir laktoglobulin kalıntısı olan YVEELKPTPEGDL, f:60-72 diziliminin intestinal epitel hücreler üzerinde hidrojen peroksitle indüklenmiş oksidatif stresi önemli ölçüde azalttığını bildirmişlerdir.

2.2.4.3 Antimikrobiyal Aktivite

Gıda kaynaklı hastalıklar toplum sağlığını ve oluşacak kayıplar nedeniyle de ekonomileri tehdit etmektedir [78]. Gıdalar kontaminasyon sonucu insanlarda hastalıklara neden olabilen bakteri, virüs ve parazitleri taşıyabilmektedirler. Bu nedenle, gıdalarda bozulmalara karşı ve gıda kaynaklı hastalıkların temel nedeni olan mikrobiyal gelişimi yavaşlatmak veya engellemek için koruyucu katkı maddeleri kullanılmaktadır. Ancak bu koruyuculara karşı mikroorganizmalar direnç geliştirebilirler. Benzer şekilde, bakterilerin enfeksiyon hastalıklarına karşı kullanılan geleneksel antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç ve aynı zamanda yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi çalışmalarındaki yavaşlama nedeniyle doğal kaynaklardan düşük toksisite ve yüksek spesifikliğe sahip antimikrobiyal maddelerin elde edilmesi önemlidir. Antimikrobiyal peptitler doğal koruyucular olarak gıdalarda besinsel ve duyusal özellikler üzerine olumsuz etkileri olmadan kullanılabilirler ve antimikrobiyal olarak kullanılan bazı sentetik maddelerin sağlığa karşı olumsuz etkilerinin azaltılması için eşsiz alternatiflerdir [78]. Ayrıca, kanda ve serumda stabil olan antimikrobiyal peptitler enfeksiyon kontrolünde kullanılabilirler [79]. Farklı kaynaklarda bulunabilen antimikrobiyal peptitler doğada yaygın olarak bulunmaktadırlar ve organizmaya dışarıdan gelen mikroorganizmaların kolonizasyonuna karşı ilk savunmayı oluşturmaktadır [6, 78]. Anne sütünde bulunan imminoglobulin, lizozim, laktoferrin, laktoperoksidaz sistemi ve peptitlerin

antimikrobiyal etkisi yeni doğanlar için hayati öneme sahiptir [80]. Antimikrobiyal peptitler zincir büyüklüğü, yapısı ve aminoasit kompozisyonunda oldukça heterojen olmakla beraber, göreceli olarak küçük (20-46 aminoasit kalıntısı), bazik (lizin veya arjinince zengin), amfifildir (hem hidrofilik hem de hidrofobik özellikte) ve net yükleri pozitiftir [9, 78]. Antimikrobiyal peptitlerin etki mekanizmaları iyi bilinmemekle birlikte, yapılarına ve patojen hücre zarıyla etkileşim mekanizmasına göre etki göstermektedir. Antimikrobiyal peptitler, özellikle patojenlerin hücre zarına zarar vererek membran içinde porlar ve kanallar oluşturur, anabolik proseslerin oluşumunun bozulmasıyla da hücre ölümü gerçekleşmektedir [44, 81]. Hem Gram (-) hem de Gram (+) bakteriler negatif yüklü membran fosfolipidleri içerir, ayrıca Gram (+) bakteriler negatif yüklü teikhoik asit ve Gram (-) bakteriler negatif yüklü lipopolisakkaritler içermektedir [78]. Bu nedenle antimikrobiyal peptitlerin pozitif net yüklü olamları bakteriyel membrana bağlanabilmeleri için gereklidir. Doğal antimikrobiyal peptitlerin yapılarında bulunan lizin, arjinin, triptofan ve hidrofobik aminoasitler peptidin membrana bağlanma yeteneğini artırmakta, hidrojen bağları negatif yüklü yüzeylerle etkileşime yardım etmektedir [78]. Antimikrobiyal etkileri belirlenen peptitler arasında laktenin, kazeidinler, israsidin, kazosidin-1, kappasin ve laktoferrin yer almaktadır [34].

Rizzello vd.(2005) İtalyan peynirlerinin (Parmigiano Reggiano, Pecorino Romano, Fossa, Canestrato Pugliese, Caciocavallo, Gorgonzola, Crescenza, Mozzarella ve Caprino del Piemonte) *Escherichia coli* K12, *Yersinia enterocolitica* X8, *Bacillus megaterium* F6, *Listeria innocua* DSM20649, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 ve *Lactococcus lactis* spp. *cremoris* WG2, *Salmonella* spp., *Lactobacillus sakei* A15, *Lactobacillus helveticus* PR4 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır [34]. Reggiano, Fossa ve Gorgonzola peynirleri antimikrobiyal aktivite göstermezken, Crescenza, Caprino del Piemonte, Caciocavallo, Pecorino Romano, Canestrato Pugliese ve Crescenza peynirleri çeşitli düzeylerde antimikrobiyal etki göstermiştir. Aktivite gözlenmeyen peynirlerde aşırı olgunlaşma nedeniyle oluşan ileri proteolizin etkili olduğu ayrıca, farklı türlerin sütleriyle üretilen peynirlerde bulunan antibakteriyel peptitlerin benzer yapılara sahip olduğu ve kimozinin antimikrobiyal peptit oluşumu için esas etken olduğu değerlendirilmiştir. Brezilya'da üretilen Coalho peynirinde *Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis, E. coli* ve *Pseudomonas aeroginosa* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisi bulunan ve kimozinin α-s1-KN'i hidrolizi sonucu salınan israsidin f(1-23) tanımlanmıştır [60]. Probiyotik suşlar *Lactobacillus plantarum* NCDC 012, *Lactobacillus casei* NCDC 297 ve *Lactobacillus brevis* NCDC 021 ilave kültürüyle üretilen Himalayalara özgü Kalari peyniri *E. coli* ATCC 25922, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *S. aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas perfringens* ATCC, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Salmonella typhii* ATCC

6539 bakterilerine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir [66]. Barac vd. (2019) Sırp beyaz peynirinde yaptıkları çalışmada peynir örneklerinin *S. aureus* ATCC 6538, *Bacillus cereus* (klinik izolat), *Micrococcus flavus* ATCC 10240, *Listeria monocytogenes* NCTC 7973 bakterileri üzerine etkilerinin olmadığını ancak, *Aspergillus fumigatus* ATCC 1022, *Aspergillus ochraceus* ATCC 12066, *Aspergillus versicolor* ATCC 11730, *Trichoderma viride* IAM 5061, *Penicillium ochrochloron* ATCC 9112 ve *Penicillium funiculosum* ATCC 36839 küflerinin üzerine ortalama bir etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir [69]. Torres-Salas vd. (2021), Meksika'da üretilen Zacazonapan peynirinin olgunlaşma sürelerine göre *E. coli* K12 (30 gün % 7.16 ± 1.64), *Listeria innocua* ATCC3309 (% 8.76 ± 1.29 0 gün, % 5.12 ± 1.32 30 gün ve % 7.84 ± 1.42 180 gün), *Micrococcus luteus* (% 20.22 ± 0.89 30 gün ve % 20.54 ± 1.21 180 gün) farklı oranlarında inhibe ettiğini belirlemiştir [82].

Keçi ve inek sütüyle üretilen tulum peynirlerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, keçi sütünden üretilen tulum peynirinin olgunlaşmanın 90. gününden sonra araştırılan bakterilerden (*E.coli* ATCC 25922, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Bacilluscereus* ATCC 11778 ve *Salmonella typhimurim* ATCC 14028) sadece *S.typhmurium* ATCC 14028' e karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği, ancak inek tulum peynirinin antimikrobiyal aktivite göstermediği belirlenmiştir [1]. Van otlu peynirlerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, *S. aureus* ATCC 29213, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Enterococcus faecalis* ATCC 33186, *E. coli* ATCC 11303, *S. typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 19429 ve *Yersinia enterocolitica* ATCC 27729 suşlarına karşı herhangi bir aktivite belirlenmemiştir [71].

2.2.4.4 Antikanser Etkisi

Kanser, kontrolsüz ve normal olmayan hücre büyümesiyle özelleşen ve farklı organları etkileyebilen bir hastalıktır. Özellikle sindirim sistemini etkileyen kanserlerde beslenme alışkanlıkları önemlidir (Sultan vd., 2018). Diyet çeşitli kanser türlerinin önlenmesinde önemlidir, süt ürünleri proteinleri ve fraksiyonları kanser tedavisinde potansiyele sahiptir [7]. Fermente süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda kazein türevi hücre düzenleyici etkili peptitler kanser hücrelerinin gelişimini engelleyerek veya immünokompetan hücrelerin aktivitesi ve neonatal bağırsak hücrelerini desteklemektedirler [7]. Mozarella peynirinin üretimi sırasında oluşan peynir altı suyunun ve bu peynir altı suyundan üretilen bir peynir türü ile Cheddar peynirinin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi kolon kanser hücre (CaCo2) kültürüyle belirlenmiştir [4, 83]. Yine Cheddar peynirinin insan akciğer kanser hücrelerinin gelişmesini hücre döngüsünü bozup aşırı apoptosisi uyararak inhibe ettiği

belirlenmiştir [84].

2.2.4.5 Opioid Etkili Peptitler

Sütte doğal olarak opioid etkili peptitler bulunabileceği gibi, fermantasyon, olgunlaşma veya gastrointestinal sindirimle de opioid etkili peptitler oluşabilmektedir [35]. Opioid peptitler agonistik veya antagonistik aktivitelere sahip opioid reseptör ligandlarıdır [7]. Opioid reseptörleri sinir, endokrin ve bağışıklık sistemlerinde ve gastrointestinal sistemde bulunmaktadırlar; iç ligandlar, dış opioidler ve opioid antagonistleriyle etkileşim kurabilmektedirler. Bu nedenle, opioid peptitlerin oral tüketimi midedeki absorpsiyon proseslerini düzenleyerek gastrointestinal fonksiyonu iki şekilde etkiler; ilki yumuşak kasları etkileyerek geçiş süresini kısaltma, ikincisi bunların anti-salgılayıcı etkilerini açıklayan elektrolitlerin intestinal taşınımını etkilemeleridir. İyi bilinen opioid peptitler arasında β-KN bileşenleri olan β-kazomorfinler ve β-kazomorfin-7, α-KN'den oluşan α-ekzofinler, κ-KN'den oluşan kazoksinlerdir, peynir altı suyu proteinlerinden oluşan opioid etkili peptitler, α-laktalbuminden α-laktorfinler ve β-laktalbuminden β-laktorfinlerdir [35]. İlginç olarak, αs1-KN türevi peptit f(91-100) antiksilotik benzeri stres azaltıcı özelliklere sahiptir [7]. Bu peptit, şekerleme ve yumuşak içeceklerde ticari olarak kullanılmaktadır. Opioid etkili β-kazomorfinler analjezik ve bağışıklık düzenleyici etkiye sahiptir; besin alımı, solunum, kan basıncı, hormon ve enzim seviyelerini düzenlemektedir [14]. Sienkiewicz-Szapka vd. (2009) yaptıkları çalışmada Brie, Rokpol, Edamski, Gouda ve Kasztelan peynirlerinde antagonistik opioid peptitler kazoksin-6, kazoksin-C ve laktoferroksin A belirlemişlerdir [14].

2.2.4.6 Bağışıklığı Düzenleyici Etkili Peptitler:

Süt protein hidrolizatları ve kazein ile peynir altı suyu proteinlerinden türevlenen peptitlerin bağışıklık hücrelerini geliştirici etkileri lemfosit artışı, antikor sentezi ve sitokin düzenlenmesi olarak belirlenmiştir [7]. LAB ile fermente edilen β-KN tek çekirdekli hücreler ve T hücreleri üzerine bağışıklık düzenleyicidir ve inek sütü κ- kazein, β-kazomorfin-7 ve β-kazomorfin-10 dizilimleri insan lemfosit hücreleri gelişimini doza bağlı olarak artırmaktadır [7]. Süt türevi peptitlerin bağışıklığı düzenleyici etkilerinin mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte bu aktivite için azot veya karbon uçta arjinin bulunmasının biyoaktivite için önemli olabileceği belirtilmiştir [7].

2.2.4.7 Antitrombotik Peptitler:

Tromboz kan damarlarında yıkıcı fibrinoliz veya platel aktivitesinde artış ve birikimler sonucu ortaya çıkmaktadır. Kalp krizi ve felcin en önemli nedeni arteryal trombozdur, ve kan damarları arteroskleroz nedeniyle hasara uğradığında ortaya çıkmaktadır [7]. Laktoferrin ve kazeinden türevlenen peptitler platel birikimini inhibe ettiği *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar göstermiştir [35]. Özellikle, koyun sütünün kazeinoglikopeptidinin hidrolizi sonucu elde edilen KDQDK, TAQVTSTEV ve QVTSTEV *in vitro* denemelerde trombinle başlatılan platel birikimini tamamen engellemiştir [7].

2.3 Biyoaktif Peptitlerin Tanımlanmaları

Biyoaktif peptitlerin tanımlanmaları ve dizilimlerinin belirlenmesi işlemleri için öncelikle karışık gıda matrikslerinden etkili bir şekilde ayrılmaları ve saflaştırılmaları gerekmektedir. Numune hazırlama prosedürü peptitleri serbest bırakırken, deneysel hatayı azaltmalı ve tekrar üretilebilir olmalıdır [85]. Homojenize örneklerdeki peptitler çoğunlukla su ile farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarında ekstrakte edilir ve çeşitli yöntemlerle fraksiyonlarına ayrıldıktan sonra liyofilize edilirler. Bununla birlikte metanol, etanol ve aseton gibi organik çözücülerde süt ürünlerinden peptitlerin ekstraksiyonu için kullanılmıştır [71]. Liyofilizasyon örneklerin konsantrasyonlarının artırılmasının yanı sıra hassas bileşenlerin kaybını da önlemektedir [85].

2.3.1 Numune Hazırlama ve Saflaştırma

Peptitlerin bioaktivitelerinin analizi ve dizilim belirlenmesi için tek tek saflaştırılmaları gerekmemekle beraber peptit karışımındaki karmaşıklığın azaltılması peptitlerin doğru değerlendirilmeleri için önemlidir [86]. Bu amaçla çeşitli ayırma teknikleri kullanılmaktadır. Ultrafiltrasyon, kromatografik yöntemler ve akrilamid jel elektroforez gibi yöntemler ile peptitler fraksiyonlarına ayrılabilirler. Ultrafiltrasyon ile peptitler molekül ağırlıklarına göre fraksiyonlarına yarılabilirken kromatografik yöntemlerle ayırmada peptitlerin polarite, moleküler büyüklüğü, hidrofobikliği, elektrik yükü gibi özellikleri dikkate alınmaktadır [86].

2.3.2 Peptit Diziliminin Belirlenmesi

Peptit dizilimlerinin tanımlanması için kullanılan ilk yaklaşım Edman indirgemesidir. Bu yöntemde ilk olarak çok kapsamlı ve zaman alıcı bir saflaştırma gerekmektedir ve otomatik sistemlerde 50 dizilim ile sınırlı bir süreçtir [86]. Kütle spektrometresi (MS)

ile dizi tanımlama standart MS ve proteomik teknolojisine dayanmaktadır. Bu yöntem daha karmaşık karışımlarla çalışmaya olanak sağlamaktadır.

LC-MS ile peptit tanımlama prosedürlerinde genellikle ters faz HPLC sistemi kullanılmaktadır. Burada, sabit faz olarak hidrofobik taneciklerle dolu bir kolon ve polaritesi giderek azalan bir gradientle akış uygulanmaktadır. Bu sırada peptitler kolondan geçerken hidrofobik segmentlerine göre kolon dolgu maddesine tutunur ve peptitler kolonda alıkonma sürelerine göre ayrılırlar. Benzer molekül ağrılığına sahip peptitler hidrofobikliklerine göre farklı zamanlarda kütle spektrometresine giderler ve böylece üst üste binmelerin önüne geçilmiş olur. Bu durum sonuç olarak pik çözünürlüğünü ve dolayısıyla pik kapasitesini artırmaktadır.

Kütle spektrometresi, iyonize moleküllerin kütle-yük oranını (m/z) ölçer. Kütle spektrometresinin temel bileşenleri iyon kaynağı, kütle analizörü ve iyon detektörüdür. İyon kaynağında peptitler iyonlaştırılır ve ardından iyonlar manyetik veya elektrik alandan kütle analizörüne aktarılır. İyonlaştırma teknikleri arasında elektron etkisi, kimyasal iyonizasyon, hızlı atom bombardımanı, alan desorpsiyonu, elektrosprey iyonizasyonu (ESI) ve lazer desorpsiyonu bulunur ve bunlar genellikle peptitlere protonların eklenmesi ile çalışırlar. Bu iyon kaynakları analiz edilecek analite göre belirlenmektedir ve peptit çalışmalarında genellikle ESI ve matriks-destekli lazer desorpsiyon/iyonizasyon (matrix-assisted laser desorption/ionization-MALDI) yaygın olarak kullanılmaktadır [87]. ESI yönteminde örnek, atmosferik basınçta sıvı formda hazırlanır ve yüksek gerilime maruz kalan örnek yüksek yüklü moleküller bırakır. ESI, peptitleri sıvı solüsyonda doğal olarak barındırdığı için LC-MS için en etkili arayüzdür. ESI, kimyasal bağları koparmadan ve peptitleri daha fazla parçalamadan iyonlaşmaya ulaştığı için yumuşak bir iyonizasyon yöntemidir.

Kütle analizörü, bir enstrümantal cihazın hassasiyeti, çözünürlüğü ve kütle doğruluğu özellikleri için anahtar parçadır. Hassasiyet, bir aletin düşük miktarda peptitleri tespit etme, çözünürlük çok benzer m/z değerlerine sahip iyonları ayırt etme kabiliyeti ve doğruluk gerçeğe çok yakın kütle ölçümleri elde etme kabiliyeti olarak tanımlanabilmektedir. Temel kütle analizörleri, dört kutuplu, iyon tuzağı, uçuş zamanı, Fourier dönüşümü iyon siklotron rezonansı ve yörünge tuzağı kütle analizörleridir. Farklı kütle analizörlerinin birlikte kullanılabildiği ardışık MS'de (MS/MS veya MSn olarak anılır), numune ard arda iki MS turuna maruz bırakılmaktadır. MS/MS cihazlarında ilk MS (MS1) taramasında bulunan yoğun (yüksek bolluklu) piklere karşılık gelen iyonlar (öncü veya ana iyonlar) belirlenerek MS2 de bu iyonlar parçalanırlar ve tekrar tarama yapılır. Bu süreç, bir ana taramanın tüm aday pikleri bitene kadar tekrarlanır [87]. Böylece, peptidin kimyasal yapısı

hakkında ayrıntılı bilgi sağlayan ve tanımlamada temel oluşturan bir fragmentasyon deseni elde edilir. MS çalışmalarında MS1 taramasında dikkate alınmayan iyonlar ikinci MS de tekrar parçalanmayıp taranmayacağından bazı peptitler yetersiz örnekleme ile gözden kaçırılabilmektedir. MS/MS zaman alıcı olmakla birlikte proteomikler için yaygın olarak kullanılan peptit ve protein tanımlamada temel bir yöntemdir.

2.3.3 Peptitlerin Tanımlanması

Karmaşık matrikslerde peptitlerin tanımlanmasında MS analizinde elde edilen fragmentasyon desenleri çeşitli programlar vasıtasıyla işlenerek peptit dizilimleri belirlenmektedir. Bu çalışmada kullanılan program Proteome Discoverer üzerinde iki farklı algoritma ile peptit tanımlaması yapılabilmektedir. Mascot ve Sequest HT algoritmaları programa yüklenen fasta dosyalarında bulunan protein dizilimlerinden yola çıkarak peptit dizilimlerini belirlemektedir.

2.3.3.1 Biyoaktif Peptit Veritabanları

Bilimsel çalışmalar sonucunda tanımlanan peptit dizilimlerinin sayısı arttıkça bu dizilimlerin daha önce tanımlanan dizilimlerle karşılaştırılması olası biyoaktivitelerinin belirlenmesi için gerekli olmaktadır. Bu amaçla oluşturulan pek çok veritabanı bulunmaktadır. Bu veri tabanları peptit dizilimlerinin yanı sıra biyoaktiviteleri ve belirlendiği çalışmalarla ilgili detayları içermektedir (2.5).

Tablo 2.5 Biyoaktif peptitlerin keşfi ve geliştirilmesi için kullanılan veritabanları [88]

	Veritabanı ve araçlar
Protein dizilimlerini içeren veritabanları	MBPDB, http://mbpdb.nws.oregonstate.edu/ BIOPEP-UWM, http://www.uwm.edu.pl/biochemia/ PepBank, http://pepbank.mgh.harvard.edu/ BioPD, http://biopd.bjmu.edu.cn/ SwePep, http://www.swepep.org/ EROP-Moscow, http://erop.inbi.ras.ru/ MilkAMP, http://milkampdb.org/ PeptideDB, http://www.peptides.be/ AMPer, http://marray.cmdr.ubc.ca/cgi-bin/amp.pl UniProtKB, http://www.uniprot.org/ NCBI Protein, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein RCSB Protein Data Bank, https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do
Potansiyel biyoaktivitelerin tahmini	PeptideRanker, http://bioware.ucd.ie/ compass/biowareweb/ BIOPEP, http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/en/biopep AntiBP2, http://www.imtech.res.in/raghava/antibp2/ PeptideLocator, http://bioware.ucd.ie/ MBPDB, http://mbpdb.nws.oregonstate.edu/
Toksisite/Alerjenisite tahmini	ToxinPred, http://www.imtech.res.in/raghava/toxinpred/ AlgPred, http://www.imtech.res.in/raghava/algpred/ Allerdictor, http://allerdictor.vbi.vt.edu/ EPIMHC, http://bio.dfci.harvard.edu/epimhc/ SORTALLER, http://sortaller.gzhmu.edu.cn/ ProPepper, https://propepper.net/
Tat potansiyelinin tahmini	BIOPEP, http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index.php/en/biopep BitterDB, http://bitterdb.agri.huji.ac.il/dbbitter.php BitterPredit, http://bitterdb.agri.huji.ac.il/dbbitter.phpBitterPredict

BIOPEP-UWM

Yaygın olarak kullanılan veri tabanları arasında bulunan BioPep Polonya, Olsztyn'deki Warmia ve Mazury Üniversitesi Gıda Biyokimyası Kürsüsü tarafından geliştirilen bir veri tabanıdır [89]. Bu veri tabanında peptit ve proteinlerinin dizilimleri ve aminoasit kalıntılarının sayısı, kimyasal ve monoizotopik kütle ve referansları içermektedir (http://www.uwm.edu.pl/biochemia/index/en.php). BIOPEP-UWM veri tabanı BioPep in geliştirilmiş bir versiyonudur [90]. Bu veri tabanında proteinler, alerjik proteinler ile bunların epitopları, duyusal peptitler ve aminoasitler bulunmaktadır.

MBPDB

MBPDB (Milk Bioactive Peptide Database) literatürde yer alan memeli türlerinin sütlerinde belirlenmiş fonksiyonel peptitleri kapsayan bir veritabanıdır [91]. MBPDB tüm türlerin sütlerinde bulunan biyoaktif peptitleri içermektedir.Ayrıca bir türün sütünde belirlenmiş olan biyoaktif peptitlerin bilgisi kullanılarak diğer sütlerde bulunabilecek biyoaktif peptitlerin tahminlenmesi için kullanılabilmektedir.

3
MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Peynir Örnekleri

Tüm peynir örnekleri Bursa ilinde bulunan yerel marketlerden temin edilmiştir. Çalışma için alınan örneklerin coğrafi işaret belgesi olmasına dikkat edilmiştir. Mihaliç, Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, Eski kaşar, inek , keçi ve Ezine peynirlerinden (Tablo 3.1) üçer adet toplam 24 peynir örneği çalışmada kullanılmıştır. İnek, keçi ve Ezine peynirleri aynı firma tarafından aynı yöntemle üretilmişlerdir.

3.1.2 Alet Ekipman Tanımları

- Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi (OrbiTrap Q Exactive Focus, Thermo Fisher Scientific, ABD)
- Ascentis®Express Peptide ES-C18 kolon (150x2,1 mm; 2,7 μm) (Merck, Almanya)
- HPLC Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (1100) DAD dedektör (Agilent, ABD)
- Phenomenex C18 RP-HPLC kolon (250x4,6 mm; 5 μm)
- Spektrofotometre UV-1800 (Shimadzu, Japonya)
- Epsilon 2-4 LSCplus liyofilizatör (Christ, Almanya)
- Ultra Turrax homojenizatör (IKA, Almanya)
- Su banyosu (Nüve BM30, Türkiye)
- Etüv (Nüve, Türkiye)
- pH metre (Mettler Toledo, ABD)

- Otomatik pipetler (Eppendorf, Almanya)
- Santrifüj (Sigma 2-6E, Almanya)
- Amicon^{TM} Ultra-4 membran filtre (3 KDa kesme noktalı)
- Polietersülfon ve rejenere selüloz filtreler (0,22 μm)
- C8 katı faz ektraksiyon (SPE) kartuşları (Supelclean ^{TM}LC-8 SPE, 500 mg, 3 mL)
- Laboratuvar cam malzemeleri (HPLC flakonu, mezür, erlenmayer, balonjoje, pipet vb.)
- Hassas terazi (± 0.0001 g hassasiyette) (HM-200, ABD)

Tablo 3.1 Peynir örnekleri

Peynir	**Süt**	**Starter Kültür**	**Renet**	**Pişirme**	**Olgunlaşma Süresi (ay)**
Erzincan tulum	inek, koyun ve keçi sütü karışımı, çiğ	-	Şirden	-	6
Kars gravyer	inek, çiğ	-	Şirden	55-57°C, 5-10 dakika	6
İzmir tulum	inek, çiğ	-	Ticari rennet	-	4
Eski kaşar	inek, çiğ	-	Şirden	75-80°C, 2-3 dakika	6
Mihaliç	inek, çiğ	-	Şirden	40-45°C, 5-10 dakika	4
İnek Peyniri	inek, çiğ	-	Şirden	-	9
Keçi Peyniri	keçi (%95), inek (%5), çiğ	-	Şirden	-	12
Ezine Peyniri	koyun (%40), keçi(%45), inek(%5), çiğ	-	Şirden	-	12

3.1.3 Kullanılan Kimyasallar

Çalışmada kullanılan enzimler ACE, pepsin ve tripsin liyofilize toz halinde Sigma markasından temin edilmiştir. Asetonitril (LC-MS saflığında), trifloro asetik asit, fromik asit, etil asetat, sodyum borat tampon, sodyum bikarbonat, hidroklorik asit, kjeldahl tabletleri, borik asit, sodyum hidroksit, Bradford çözeltisi, inek serum albumini, N-hippüril-His-Leu hidrat, asetik asit, sodyum asetat, demir (III) klorür, 2,4,6-tris-s-triazine, demir sülfat, potasyum persülfat, 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu, indolicidin, cecrophin sigmadan temin edilmiştir. Mueller-hinton agar ve disk difüzyon diskleri Oxoid firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan *E. coli* 25922, *S. aureus* 25923, *S.* Typhimurium 14028 Bursa Gıda ve Yem Kontrol Merkez Araştırma Enstitüsü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

3.2 Yöntem

Bu çalışmada klasik yöntemle biyoaktif peptitler belirlenmiştir. bunun için öncelikle peynir örneklerinde ACE-inhibisyon, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteler belirlenmiş ve ardından aktif olduğu belirlenen örneklerde bulunan peptitler likit kromatografi tandem kütle spektrometrisi (LC-MS/MS) ile tanımlanmıştır (Şekil 3.1).

3.2.1 Peynir Örneklerinde Kuru Madde Miktarının Belirlenmesi

Kuru madde miktarı, TS EN ISO 5534 standart metoduna göre belirlenmiştir.

3.2.2 Peynir Örneklerinde Toplam Azot Miktarının Belirlenmesi

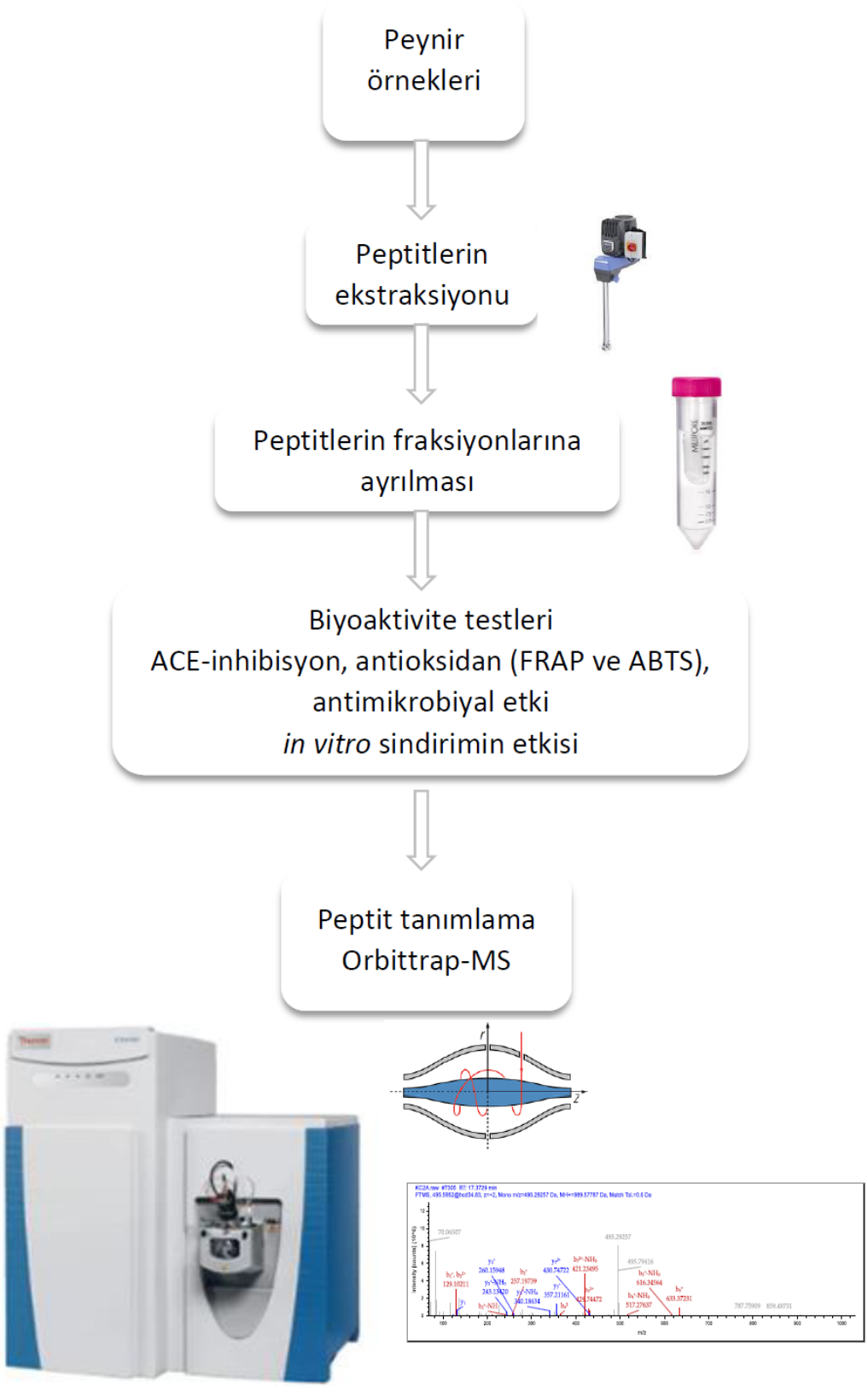
Peynir örneklerinde toplam azot ve suda çözünür azot referans yöntem olan Kjeldahl metoduyla belirlenmiştir [92].

3.2.3 Peynir Örneklerinde Protein Miktarlarının Belirlenmesi

Toplam azot miktarı azotun peynir için protein dönüşüm katsayısı 6,38 ile çarpılarak belirlenmiştir. Peynirlerde proten miktarı kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

3.2.4 Peynir Örneklerinde Suda Çözünür Azot Miktarlarının Belirlenmesi

Suda çözünür azot (SÇA) miktarının belirlenmesi için 4,0 g homojenize peynir örneği 50 mL falkon tüpü içine tartılmış ve üzerine 20 mL saf su eklenmiştir. Örnekler 1 saat karıştırıcıda ardından 1 saat ultrasonik banyoda tutulmuştur. Örnekler Whatman



Şekil 3.1 Klasik yöntemle biyoaktif peptitlerin tanımlanması

No:1 filtre kağıdından süzülerek 50 mL'lik balon jojeye alınmış ve saf su ile çizgisine tamamlanmıştır. Bu ekstraktlardan Kjeldahl metoduyla suda çözünen azot miktarı % olarak belirlenmiştir [92].

3.2.5 Peynir Örneklerinde Olgunlaşma İndeksinin Belirlenmesi

Olgunlaşma indeksi (suda çözünen azot / toplam azot)*100 olarak hesaplanmıştır.

$$O(\%) = \frac{SA}{TA} x100 \tag{3.1}$$

Oİ: Olgunlaşma indeksi

SÇA: Suda çözünen azot

TA: Toplam azot

3.2.6 Suda Ekstraksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu

Peynir örneklerinden elde edilecek suda çözünen ekstraktların hazırlanması için bir optimizasyon çalışması yapılmıştır. Bu çalışmada örnek olarak Mihaliç peyniri kullanılmıştır. Farklı sıcaklık ve süre kombinasyonlarında ekstraksiyonlar yapılıp peptit profilleri belirlenmiştir. Çalışmanın devamında peynirlerin ekstraksiyonu için en yüksek pik alanının elde edildiği sıcaklık-süre kombinasyonu seçilmiştir.

3.2.6.1 Suda çözünen ekstraktların hazırlanması

Suda çözünen ekstraktların hazırlanması için literatürde bulunan çeşitli çalışmalarda farklı sıcaklık ve sürelerde ekstraksiyon yapıldığı belirlenmiştir [12, 15, 44, 83, 93]. Bu çalışmalarda belirtilen ekstraksiyon sıcaklık ve süreleri göz önünde bulundurularak dört farklı sıcaklıkta (4°C, 20°C, 30°C ve 40°C) ve üç farklı sürede (30 dk, 60 dk, 90 dk) ekstraksiyon yapılmıştır. Öncelikle, Ultra Turrax ile homojenize edilen peynir örneğinden 10 g tartılmış ve üzerine 10 mL saf su eklenerek 30 dk çalkalanmıştır. Örnekler 20, 30 ve 40°C için Nüve BM30 su banyosunda, 4°C için buzdolabında 30, 60 ve 90 dk bekletilmiştir. Ardından 4°C ' de 5.000 x g 30 dk santrifüj edilip yağ fazının altındaki sıvı faz pipetle alınarak Whatman filtre kağıdından (No:41) süzülmüştür. Elde edilen ekstraktlar 0,22 μm rejenere selüloz filtreden süzülerek HPLC flakonuna alınmıştır.

3.2.6.2 HPLC ile suda çözünen ekstraktlarda bulunan peptit profillerinin belirlenmesi

Farklı sıcaklık ve süre kombinasyonlarıyla elde edilen suda çözünen ekstraktların peptit profillerinin belirlenmesi amacıyla RP-HPLC (Agilent HPLC 1100) kullanılmıştır. Kromatografik ayrım, Phenomenex C18 RP-HPLC kolonunda (C18 250x4,6 mm 5 μm Phenomenex protein/peptit kolonu) gerçekleştirilmiştir. DAD dedektör ile 214 nm'de ölçüm yapılmıştır. Örnek enjeksiyon hacmi 5 μL ve akış hızı 0,5 mL/dk olarak belirlenmiştir. Mobil faz A % 0,1 trifloroasetik asit içeren saf su, mobil faz B asetonitril olarak hazırlanmış ve gradientli akış uygulanarak peptitlerin kromatografik olarak ayrılmaları sağlanmıştır [44] (Tablo 3.2).

Tablo 3.2 HPLC akış gradienti

Zaman (dk.)	Mobil faz B (%)
0	5
25	15
35	25
45	50
55	75
65	95
70	5

3.2.7 Suda Çözünen Ekstraktların Fraksiyonlarına Ayrılması ve Liyofilizasyonu

Suda çözünen ekstraktlar belirlenen parametrelere göre hazırlandıktan sonra 3 KDa kesme noktalı moleküler filtreye (Amicon Ultra-4 membran 3KDa) 4 mL eklenmiş ve filtrenin kullanım şartları doğrultusunda 4.000 x g 40 dk oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Ardından ayrılan fraksiyonlar alt ve üst olarak ayrılıp liyofilizasyon için uygun viallere alınmıştır.

Viallere alınan peptit fraksiyonları -80°C'de bir gece bekletilip ardından liyofilizatörde (Epsilon 2-4 LSCplus) kurutulmuştur. Liyofilizatörde kullanılan kurutma şartları Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3 Liyofilizasyon parametreleri

	Dondurma	**Vakum Pompası Isıtma**	**Birinci Kurutma**	**İkinci Kurutma**
Bölüm süresi (saat:dakika)		0:10	24:00	7:00
Raf Sıcaklığı (°C)	-50	-50	-50	
Vakum (mbar)			0,10	0,090

3.2.8 Peptit Fraksiyonlarında Protein Miktar Analizi

Peptit fraksiyonlarının protein miktarları Bradford yöntemi ile belirlenmiştir [94]. Liyofilize örneklerden bir miktar tartılıp saf suda çözülmüştür. Bu çözeltiden 0,1 mL protein örneği test tüpüne alındıktan sonra, üzerine 3 mL Bradford reaktifi eklenmiş, 30 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra ve 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansı okunmuştur. Saf suda hazırlanan 0-2 mg/mL aralığındaki konsantrasyonlarda inek serum albümini kullanılarak standart kurve oluşturulmuştur ve örnek konsantrasyonu standart kurveye göre hesaplanmıştır. Örnek konsantrasyonu standart kurvenin dışında kaldığında uygun şekilde seyreltme yapılarak test tekrarlanmıştır. Tüm örnekler üç tekrarlı çalışılmış ve sonuç ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.9 ACE-inhibisyon Aktivitesinin Belirlenmesi

ACE-inhibisyon aktivitesi, ACE katalizörlüğünde hippuril-L-histidil-L-lösinden (HHL) oluşan hippürik asit miktarı spektrofotometrede ölçülerek belirlenmiştir. [95].

Analiz için liyofilize örneklerden bir miktar tartılıp 0,05 M sodyum borat tamponu (pH 8,2) içinde çözülerek hazırlanmıştır. Yöntemde 0,3 mol/L NaCl içeren 0,125 mL 0,05 M sodyum borat tamponu (pH 8,2) içinde 5 mM HHL ve 0,025 mL ACE (2,5 mU) bulunan test karışımına örnekler ilave edilmiş ve 37 °C 30 dk inkübe edilmiştir. Reaksiyon 0,2 mL 1 mol/L HCl eklenerek durdurulmuştur. Pridin (0,4 mL) ve 0,2 mL benzen sülforil klorid eklenmiştir ve 1 dk beklenip buz üzerinde soğutulmuştur. 410 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçülmüştür. Her analizde kör olarak deney tüpüne ACE ve örnek yerine tampon kullanılmıştır ve % 100 ACE aktivitesini görebilmek için örnek yerine tampon kullanılmıştır.

ACE-inhibisyon derecesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$ACE-inhibisyonu(\%) = \frac{A1-A2}{A1-A3}x100 \tag{3.2}$$

A1: Örnek eklenmemiş ACE çözeltisinin absorbansı

A2: Test edilen örneklerin absorbansı

A3: HHL çözeltisinin absorbansı (ACE çözeltisi ve örnek yerine tampon çözelti eklenir)

Tüm örnekler üç tekrarlı çalışılmış ve sonuç ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.10 Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi

Antioksidan aktivite tayini ABTS serbest radikalini bağlama ve demir indirgeme özelliklerini belirleyen iki farklı yöntemle yapılmıştır.

3.2.10.1 FRAP Testi

FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) antioksidanların ferrik demiri indirgeme yeteneğini ölçmektedir. Yöntem, ferrik demir ve 2,3,5-trifeniltetrazolyum klorid (TPTZ) kompleksinin düşük pH'da ferröz demir oluşturmasına dayanmaktadır [96]. Yöntemde 180 μL saf suda çözünmüş örnek ve 180 μL saf su 2700 μL 10 mM TPTZ ve 20 mM $FeCl_3$ içeren FRAP çözeltisi ile 37°C'de 30 dk inkübe edilmiştir. Daha sonra 595 nm de absorbansı ölçülmüştür. Örneklerle birlikte 100, 250, 500, 750 ve 1000 μM konsantrasyonlarda hazırlanan $FeSO_4.7H_2O$ standart olarak aynı yöntemle çalışılmıştır. $FeSO_4.7H_2O$ standartlarının absorbanslarıyla çizilen kurveden örneklerin antioksidan ferrik indirgeme değerleri l mol Fe^{2+} eşdeğeri/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır ve sonuç üç çalışmanın ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.10.2 ABTS Testi

ABTS [2,20-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)] radikali temizleme kapasitesi spektrofotometrik bir metotla belirlenmiştir [97]. 2,45 mM potasyum persülfat içinde 7 mmol/L ABTS içeren ABTS radikal stok çözeltisi 16 saat karanlıkta oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bu stok çözelti 0,05 M sodyum borat tamponu (pH 8,2) seyreltilerek 734 nm'de 0,70 ± 0,02 absorbansa sahip olacak şekilde hazırlanmıştır. Liyofilize peptit farksiyonları tartılmıştır ve 0,05 M sodyum borat tamponu (pH 8,2) ile çözülerek test örnekleri hazırlanmıştır. Hazırlanan örnekler standart kurvenin dışında kaldığında aynı tamponda çözülerek seyreltilmiş ve test tekrarlanmıştır. Testte 60 μL örnek 2940 μL ABTS reaktifi ile karıştırılıp, karanlıkta 30°C'de 10 dk bekletilmiş ve 734 nm de absorbansı ölçülmüştür. Sonuç 0-1 mg/mL konsantrasyonlarda hazırlanan askorbik asit ile yapılan ABTS test sonuçlarına göre çizilen standart kurveye göre mg askorbik asit eşdeğeri antioksidan kapasitesi/g protein olarak hesaplanmıştır. Sonuç üç tekrarın ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

3.2.11 Antibakteriyel Etkinin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesi için disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır [34]. Bursa Gıda ve Yem Araştırma Merkezi kültür koleksiyonunda bulunan *Escherichia coli* 25922, *Salmonella* Typhimurium 14028 ve *Staphylococcus aureus* 25923 suşları

kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak Gram(-) bakterilere karşı etkili olan Cecropin P1 ve Gram(+) bakterilere karşı etkili olan indolicidin kullanılmıştır [49]. İndolicidin ve cecropin P1 antimikrobiyal aktiviteye sahip peptitlerdir. İndolicidin ve cecrophin P1 0,5 mg/mL konsantrasyonda sırasıyla saf su ve 0,1 mol/L pH 6,4 fosfat tamponda çözülerek hazırlanmıştır. Mueller-Hinton katı besiyeri hazırlanmış ve bakteri kültürleri ile bu besiyeri üzerine ekim yapılmıştır. Ardından 5 mm çaplı diskler yerleştirilmiş ve bu diskler üzerine 20 μL 0,05 M sodyum borat tamponda (pH 8,2) çözünmüş örnek eklenmiştir. Her bir suş için antimikrobiyal etkili peptitler örnek yerine kullanılarak pozitif kontrol çalışılmıştır. 37 °C 'de 24 saat inkübasyon sonrası diskler etrafında zon oluşumu kontrol edilmiş ve zon oluşan örnekler pozitif olarak değerlendirilmiştir.

3.2.12 *İn Vitro* Sindirim

Her bir peynir çeşidi için biyoaktivitesi yüksek olan fraksiyon *in vitro* sindirimine uğratılmış ve sindirimin biyoaktivite üzerine etkisi belirlenmiştir. Bu amaçla pepsin ve tripsin sindirimi Bernabucci vd. 'nde anlatılan yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır [98]. Peptit fraksiyonları belirli miktar tartılarak saf suda çözülmüştür. Daha sonra 5 mol/L HCl ile pH 2,0'a ayarlanmış ve pepsin ilave edildikten sonra 37°C'de 1,5 saat inkübe edilmiştir. Ardından 1 mol/L sodyum bikarbonat ile pH 6,5'e ayarlanmış ve üzerine tripsin eklenmiştir. Bu çözelti 37°C'de 2 saat inkübe edilmiştir. Enzimler her bir fraksiyona 1 g enzim/ 100 g protein oranında ilave edilmiştir. Her bir fraksiyonun hacmi saf su ile 3-5 mL olacak şekilde tamamlanmış ve santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant ayrılarak saklanmış ve biyoaktifvite testlerinde kullanılmıştır. Bu örneklerde ACE-inhibisyon, FRAP ve ABTS testleriyle antioksidan ve antibakteriyel etki daha önce anlatıldığı gibi çalışılmıştır.

3.2.13 Peptitlerin Tanımlanması

3.2.13.1 Örnek Hazırlama

Biyoaktif etkisi belirlenen örneklerde bulunan tuzların ve şekerlerin uzaklaştırılması için katı faz ekstraksiyon uygulanmıştır. Bu amaçla polimerik ters faz (C8) kartuş kullanılmıştır [99]. Bu çalışma için peptit hazırlama çözeltisi, aktivasyon çözeltisi, yıkama/şartlandırma çözeltisi ve peptit elüsyon çözeltisi aşağıda anlatıldığı gibi hazırlanmıştır.

- Peptit hazırlama çözeltisi: % 2 asetonitril, % 0,1 trifloroasetik asit, % 97,9 saf su (v/v/v) karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Aktivasyon çözeltisi: % 99 asetonitril, % 0,1 trifloroasetik asit, % 0,9 saf su (v/v/v) karıştırılarak hazırlanmıştır.

- Yıkama/şartlandırma çözeltisi: % 1 asetonitril, % 0,1 trifloroasetik asit, % 98,9 saf su (v/v/v) karıştırılarak hazırlanmıştır.
- Peptit elüsyon çözeltisi: % 80 asetonitril, % 0,1 trifloroasetik asit, % 19,9 saf su (v/v/v) karıştırılarak hazırlanmıştır.

Katı faz ekstraksiyon için öncelikle örnekler tartılarak 1 mL peptit hazırlama çözeltisi içinde çözdürülmüştür. SPE kartuşlar 3 defa 1 mL aktivasyon çözeltisi geçirilerek hazır hale getirilmiştir. Ardından 3 defa 1 mL yıkama/şartlandırma çözeltisi geçirilerek şartlandırılmıştır. Şartlandırma sonrası 1 mL örnek kartuştan geçirilmiş ve daha sonra 3 defa 1 mL yıkama/şartlandırma çözeltisi geçirilerek yıkanmıştır. Yıkama sonrası kartuşa eklenen 1 mL peptit elüsyon çözeltisi ile peptitler toplanmıştır. Toplanan örnekler 0,22 μm por genişliğine sahip polietersülfon filtreden süzülerek HPLC flakonuna alınmıştır.

3.2.13.2 Kütle Spektroskopisi ile peptitlerin tanımlanması

Peptitlerin tanımlanması için yörünge tuzağı (orbitrap) LC-MS/MS (Exactive Focus, Thermo Fisher Scientific, ABD) sistemi kullanılmıştır. Peptitlerin ayrılması için Express Peptide ES C18 (150 mm x 2,1 mm x 2,7 μm) kolon 45 °C kolon fırını sıcaklığında kullanılmıştır. Mobil faz A % 0,1 formik asit içeren saf su, mobil faz B ise asetonitril olarak hazırlanmış ve 0,3 mL/dk. akış hızı ile 60 dk. gradientli akış (Tablo 3.4) uygulanmıştır. Örneklerden 2 μL enjeksiyon yapılmıştır [99] . Kütle spektroskopisinin diğer detayları Tablo 3.5' de verilmiştir.

Tablo 3.4 LC-MS/MS akış gradienti

Zaman (dk.)	Mobil faz B (%)
0	5
50	35
53	80
54	80
55	5
60	5

Tablo 3.5 Kütle spektroskopisi koşulları

Sprey voltajı	+3,5 kV
Kılıf gazı basıncı	30 psi
Yardımcı gaz basıncı	10 psi
Kapiler Sıcaklığı	250 °C
Taranan m/z aralığı	300-2000

Kütle spektroskopisinden elde edilen .raw uzantılı dosyalar Thermo Scientific Proteome Discoverer 2.4 programında Sequest HT algoritması kullanılarak peptit dizilimleri belirlenmiştir [99]. Araştırma parametreleri şöyledir: enzim yok; taşıyıcı kütle toleransı 10 ppm; yavru kütle toleransı 0,6 Da; modifikasyonlar, oksidasyon (metiyonin) ve fosforilasyon (serin, tirozin). Peptitlerin tanımlanmasında kullanılan protein dizilimleri https://www.uniprot.org/ veri tabanından inek, koyun ve keçi sütü kazein dizilimleri fasta dosyası formatında indirilmiş ve erişim kodları Tablo3.6'da protein dizilimleri ise EK-A'da verilmiştir. Tanımlanan peptit dizilimleri BIOPEP-UWM ve Milk Bioactive Peptide Database (MBPDB) veritabanlarında taranmıştır [90, 91]. Sadece daha önce biyoaktivitesi belirlenen peptitlerle %100 homoloji gösteren dizilimler dikkate alınmıştır.

Tablo 3.6 Fasta dosyaları erişim kodları

Tür	**αs1-KN**	**αS2-KN**	**β-KN**	**κ-KN**
İnek	P02662	P02663	P02666	P02668
Koyun	P04653	P04654	P11839	P02669
Keçi	P18626	P33049	P33048	P02670

3.2.14 İstatistiksel Analizler

Tüm çalışmalar 3 tekrarlı olarak yürütülmüştür. Sonuçlar 3 farklı peynir örneği için yapılan çalışmaların ortalamaları ± standart sapma olarak verilmiştir. Farklılıkların önemi ρ<0,05 serbestlik derecesinde ANOVA ile belirlenmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testi ile ikili karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir (ρ<0,05).

4
BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Peynir Örneklerinin Protein Miktarları

Peynir örneklerinin kuru madde miktarları ve kuru madde üzerinden hesaplanan protein miktarları Tablo 4.1'de verilmiştir. Sonuçlara göre peynirlerin kuru madde miktarlarının Türk Gıda Kodeksi Peynir Tebliği'ne uygun olduğu belirlenmiştir. Protein içerikleri bakımından karşılaştırıldıklarında en yüksek % protein miktarlarına sahip olan peynir Kars gravyerdir. Satışa sunulan 40 farklı Kars gravyer peyniri ile yapılan bir çalışmada kuru madde ve protein miktarları sırasıyla % 63,2-79,6 ve 23,7-28,8 aralığında bulunmuştur [28]. Bu çalışmada Kars gravyer için bulunan kuru madde ve protein miktarları bu aralıktadır. İzmir tulum, eski kaşar ve Mihaliç peynirlerinin protein miktarları sırasıyla % 25,8 ± 1,0, 25,6 ± 0,7 ve 25,3 ± 0,6 olarak bulunmuştur. Bu üç peynir çeşidinin protein miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Yine her bir peynir çeşidi için yapılan çalışmalara bakıldığında bulunan değerler diğer çalışmalarla uyumludur. İzmir tulum peyniri bir çalışmada 21 adet peynir örneği değerlendirilmiş ve kuru madde ve protein içerikleri % 56,53-68,65 ve 24,48-27,37 aralığında bulunmuştur [100]. Olgunlaştırılmış kaşar peyniri ve Mihaliç peynirleri ile yapılan çalışmalarda protein içerikleri sırasıyla % 22,3-30,2 ve 18,6-24,6 aralığında bulunmuştur [101, 102]. Her iki peynirin verileride daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur. Erzincan tulum peynirlerinin protein içerikleri % 16,91-28,10 aralığında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada araştırılan Erzincan tulum peynirinin % protein miktarı 20,4 ± 1,2 olarak bulunmuştur ve daha önceki çalışmaların sonuçlarıyla uyumludur. İnek peyniri, keçi peyniri ve Ezine peyniri için protein miktarıları sırasıyla % 18,0 ± 0,9, 17,8 ± 0,6 ve 17,9 ± 0,5 olarak belirlenmiştir. Bu üç peynir çeşidi için protein miktarları arasındaki fark anlamlı değildir. Ülkemizin farklı bölgelerinde üretilen beyaz peynirlerle yapılan bir çalışmada kuru madde ve protein içerikleri sırasıyla % 45,4-50,0 ve 17,1-18,7 aralığında bulunmuştur [19]. İnek ve keçi peynirleri ile Ezine peyniri çin kuru madde ve protein miktarları bu aralıklarda bulunmuştur.

Tablo 4.1 Peynir örneklerinin kuru madde ve protein miktarları

Peynir	Kuru Madde (%)	Protein (%)
Erzincan Tulum	55,4 ± 0,3 ^{a}	20,4 ± 1,2^{a}
Kars Gravyer	65,9 ± 1,0 ^{b}	32,1 ± 1,6^{b}
İzmir Tulum	55,5 ± 0,2^{a}	25,8 ± 1,0^{c}
Eski Kaşar	60,6 ± 0,3^{c}	25,6 ± 0,7^{c}
Mihaliç	55,4 ± 0,2 ^{a}	25,3 ± 0,6^{c}
İnek Peyniri	53,9 ± 0,6^{d}	18,0 ± 0,9^{d}
Keçi Peyniri	47,8 ± 0,8^{e}	17,8 ± 0,6^{d}
Ezine Peyniri	47,9 ± 0,4^{e}	17,9 ± 0,5^{d}

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak peynirler arasındaki farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

4.2 Peynir Örneklerinin Toplam Azot ve Suda Çözünen Azot Miktarları ile Olgunlaşma Dereceleri

Proteoliz peynirlerin olgunlaştırılması sırasında gerçekleşen en kritik biyokimyasal işlemdir [20]. Proteoliz tekstür ve aromanın oluşmasının yanı sıra proteoliz ürünlerinin katabolizması sonrası oluşan aroma kaybına neden olması nedeniyle de önemlidir. Peynir üretiminde kullanılan enzimler, çiğ sütün yapısında doğal olarak bulunan enzimler, starter kültür ve starter olmayan mikro organizmaların enzimleri peynirde bulunan kazeinlerin parçalanmasına neden olmaktadır [17]. Kazeinlerin parçalanması sonucu oluşan peptitler, serbest amino asitler ve azotlu bileşikler suda çözünen azotu oluşturmaktadır. Proteolizin belirlenmesi için farklı yöntemler bulunmakla birlikte bakteriyel faktörlerle olgunlaştırılan peynirlerin proteoliz derecesinin belirlenmesi için suda çözünen azot miktarı ugyun olarak değerlendirilmiştir [103]. bu nedenle peynir çeşitlerinin olgunluk derecelerinin belirlenmesi için olgunlaşma derecesi suda çözünen azot miktarının toplam azota oranı olarak belirlenmiştir. Peynirlere ait toplam azot, suda çözünen azot ve olgunlaşma dereceleri tablo 4.2'de verilmiştir.

Peynir çeşitlerinin olgunlaşma indeksi değerleri, her bir çeşit için alınan üç örnek için yapılan üç tekrarlı çalışma ile dokuz sonucun ortalaması kullanılarak belirlenmiştir. Olgunlaşma indeksi değerleri Erzincan Tulum, İzmir Tulum, and Kars gravyer peynirleri için sırasıyla 29,1 ± 1,1; 29,0 ± 1,4 ve 30,4 ± 0,3 olarak bulunmuştur ve bunlar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir (ρ<0,05). Diğer peynir çeşitlerinin olgunlaşma indeksi değerleri inek peyniri, keçi peyniri, Ezine peyniri ve kaşar peyniri için sırasıyla 22,3 ± 2,0; 17,7 ± 0,7; 15,4 ± 1,0 ve 15,6 ± 0,1 olarak belirlenmiştir. Ezine peyniri ve kaşar peynirinin olgunlaşma indeksi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Olgunlaşma indeksi en düşük peynir çeşidi Mihaliç

Tablo 4.2 Peynir örneklerinin suda çözünen azot ve toplam azot miktarları ile olgunlaşma indeksleri

Peynir	**Toplam azot (%)**	**Suda çözünen azot (%)**	**Olgunlaşma indeksi (%)**
Erzincan Tulum	3,20 ± 0,14^{a}	0,93 ± 0,01^{a}	29,1±1,1^{a}
Kars Gravyer	5,03 ± 0,19^{b}	1,45 ± 0,01^{b}	29,0±1,4^{a}
İzmir Tulum	4,04 ± 0,12^{c}	1,23 ± 0,03^{c}	30,4±0,3^{a}
Eski Kaşar	4,01 ± 0,09 ^{c}	0,63± 0,01^{d}	15,6±0,1^{b}
Mihaliç	3,97 ± 0,08^{c}	0,53 ± 0,03^{e}	13,4±0,6^{b}
İnek Peyniri	2,82 ± 0,12^{d}	0,63 ± 0,07^{d}	22,3±2,0^{c}
Keçi Peyniri	2,78 ± 0,07^{d}	0,49 ± 0,01^{f}	17,7±0,7^{d}
Ezine Peyniri	2,80 ± 0,05^{d}	0,43 ± 0,05^{g}	15,4±1,0^{b}

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak peynirler arasındaki farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

peyniridir (13,9 ± 0,6). İzmir tulum peyniri için yapılan bir çalışmada toplam azot ve suda çözünen azot miktarları % 3,84-4,29 ve 0,81-1,21 aralığında bulunmuştur [100]. Bu çalışmada İzmir tulum peyniri için toplam azot miktarı ve suda çözünen azot miktarı % 4,04 ± 0,12 ve 1,23 ± 0,03 olarak belirlenmiştir. Her iki değerde daha önce belirlenmiş aralıktadır veya bu aralığa yakın bulunmuştur. Erzincan tulum peyniri için ise olgunlaşma indeksi % 19,93-34,30 arasında belirlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen olgunlaşma indeksi % 29,1±1,1 olarak belirlenmiş ve diğer çalışmaların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Kars gravyer peynirinin toplam azot ve suda çözünen azot miktarı ile olgunlaşma derecesi sırasıyla % 5,03 ± 0,19, 1,45 ± 0,01 ve 29,0±1,4 olarak belirlenmiştir. Kars gravyer peynirinin suda çözünen azot miktarı ve olgunlaşma indeksi ile ilgili bir veri bulunamakla birlikte Yunanistan'da üretilen 6 ay olgunlaştırılmış gravyer peynirlerinin olgunlaşma indeksi % 30,72 ± 3,79 olarak belirlenmiştir. Her iki çalışmada belirlenen olgunlaşma indeksi birbirleriyle uyumludur.

Olgunlaştırılmış kaşar peyniri örneklerinin toplam azot, suda çözünen azot ve olgunlaşma indeksi % 3,5-4,5, 1,3-1,9 ve 33,3-48,5 olarak bulunmuştur [101]. Bu çalışmada toplam azot miktarı % 4,01 ± 0,09 olarak bulunmuş ve önceki çalışmalarla uyumludur. Ancak, suda çözünen azot ve olgunlaşma indeksi değerleri olgunlaştırılmış kaşar peynirlerine göre daha düşük bulunmuştur. Bu nedenle eski kaşar peyniri örneğinin olgunlaşmasının ve proteolizin tamamlanmamış olabileceği değerlendirilmiştir. Türkiye'nin farklı bölgelerinde üretilen altı ay olgunlaştırılmış beyaz peynirlerin olgunlaşma indekslerinin % 16,76-32,79 arasında olduğu belirlenmiştir [19]. Benzer bir çalışmada Ezine peynirinin olgunlaşma indeksi olgunlaşmanın 6. ayında % 13,78 ± 0,49 iken, 9. ve 12. aylarında sırasıyla % 15,21

± 1,01 ve % 20,10 ± 0,69 olarak belirlenmiştir. Peynir üretiminde kullanılan sütün doğal proteinazları ve mikrobiyal proteinazlar olgunlaşma için önemlidir [45]. Farklı kaynaklardan elde edilen sütler (inek, koyun, keçi ve deve) sindirilebilirliklerinin farklı olduğu da bildirilmiştir [104]. Farklı kaynakların sütleri proteolitik enzimlerle farklı derecelerde hidrolize olmaktadırlar. Bu çalışmada araştırılan inek peynirinin olgulaşma süresi 9 aydır. Keçi peyniri ve Ezine peyniri ise 12 ay olgunlaştırılmıştır. İnek peynirinin keçi peyniri ve Ezine peynirine göre daha kısa bir olgunlaşma süresine sahip olmasına rağmen olgunlaşma indeksinin daha yüksek bulunması kullanılan sütün kaynağı ile ilişkilendirilebilir.

Mihaliç peynirleriyle yapılan bir araştırmada suda çözünen azot miktarı % 0,26-0,84 gibi geniş bir arallıkta dağılım gösterdiği belirlenmiştir [102]. Suda çözünen azot miktarının düşük olması enzimatik proteolize daha dirençli olan serum proteinlerinin varlığına bağlı olduğu değerlendirilirmiştir. Yüksek suda çözünen azot içeriği ise sütte bulunan doğal proteazlar ve rennet ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmada Mihaliç peynirinin suda çözünen azot miktarı 0,53 ± 0,03 daha önce belirlenen aralıkta bulunmuştur.

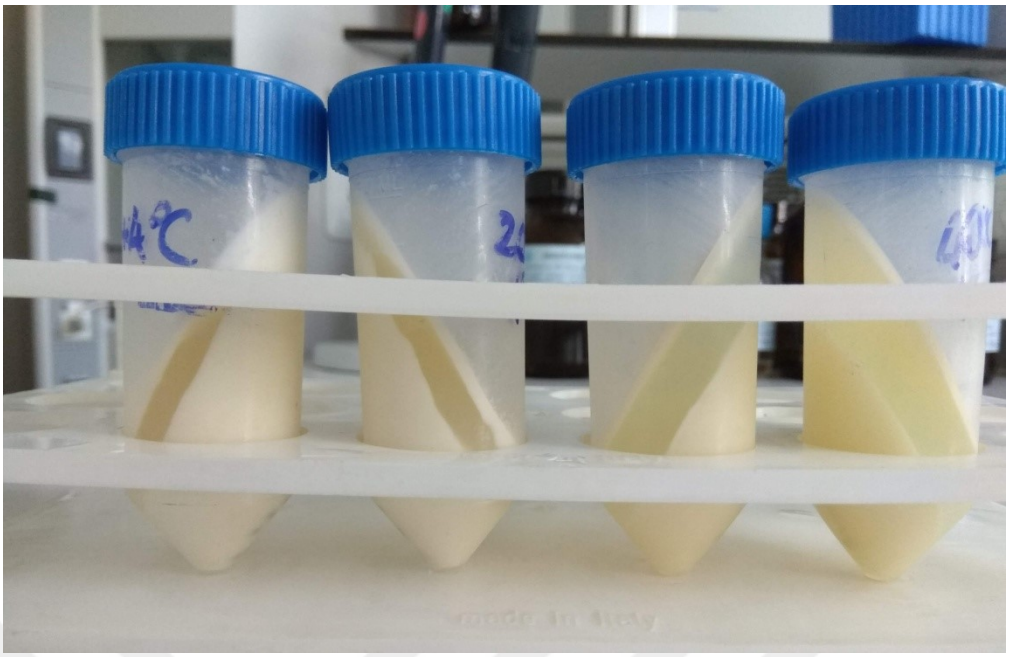
4.3 Suda Ekstraksiyon Parametrelerinin Optimizasyonu

4.4 Suda çözünen ekstraktların hazırlanması

Suda çözünen ekstraktların hazırlanması için dört farklı sıcaklık ve üç farklı süre ile denemeler yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda soğutmalı santrifüjle yağ fazının belirgin şekilde ayrıldığı görülmüştür (Şekil 4.1). Elde edilen ekstrakt miktarları değerlendirildiğinde +4 ve 20 ºC ‘ de elde edilen ekstrakt miktarları 30 ºC ve 40 ºC ‘de elde edilen ekstrakt miktarlarına göre daha düşüktür. +4 ºC ‘de yapılan ekstraksiyon sonrası yaklaşık olarak 3,0-4,5 mL ekstrakt elde edilirken, bu miktar 20 ºC için 3,5-5,0 mL, 30 ºC için 6,5-7,0 mL ve 40 ºC için 7,5-8,0 mL olarak gerçekleşmiştir. Elde edilen ekstraktların miktarları Tablo 4.3’ de verilmiştir.

Tablo 4.3 Suda çözünen ekstraktların miktarları

Ekstraksiyon	Ekstraksiyon süresi (dk)		
sıcaklığı (ºC)	**30**	**60**	**90**
+4	4,5 mL	3,0 mL	3,0 mL
20	3,5 mL	3,5 mL	5,0 mL
30	7,0 mL	7,0 mL	6,5 mL
40	8,0 mL	7,5 mL	7,5 mL

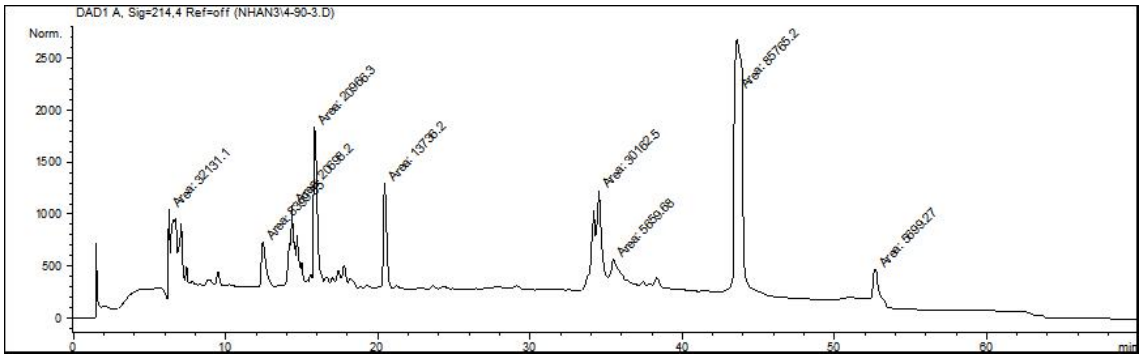


Şekil 4.1 Suda çözünen ekstraktlar

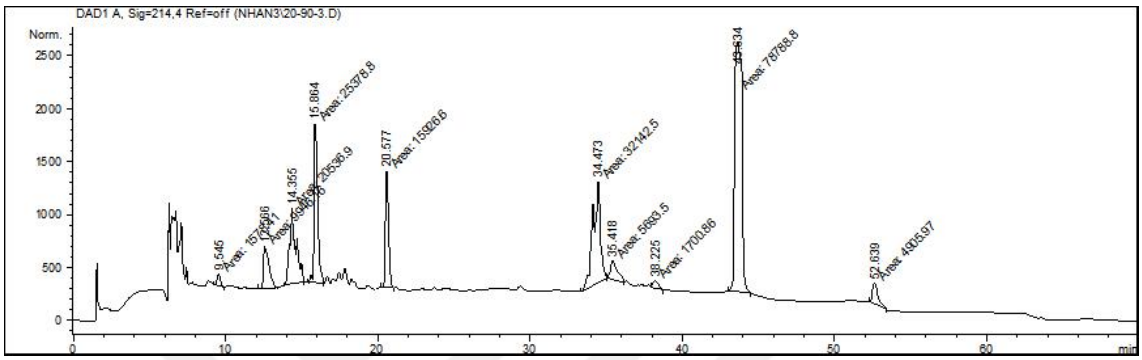
4.4.1 HPLC ile suda çözünen ekstraktlarda bulunan peptit profillerinin belirlenmesi

Farklı sıcaklık-süre kombinasyonlarıyla elde edilen ekstraktların RP-HPLC ile belirlenen peptit profillerine örnek olarak 90 dk yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen kromatogramlar Şekil 4.2'de verilmiştir.

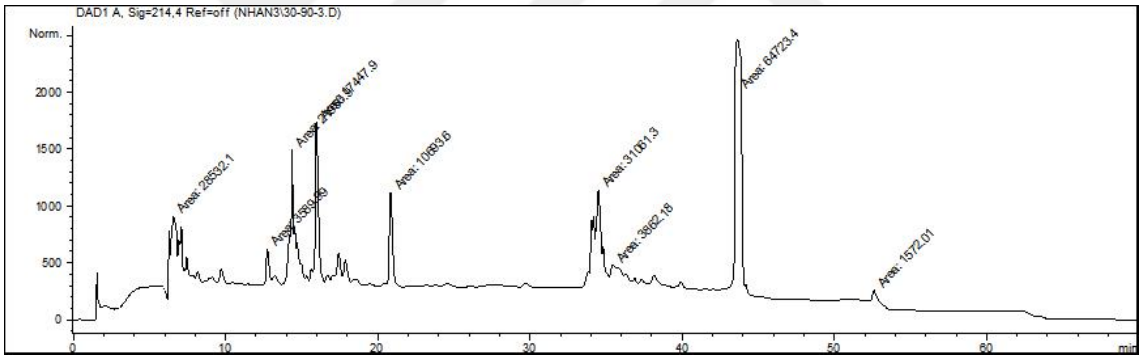
Kromatogramlar incelendiğinde genel olarak tüm ekstraktlarda benzer alıkonma sürelerinde gelen pikler görülmüştür. Gradientli akış kullanılarak peptitlerin hidrofobik/hidrofilik yapılarına göre sabit faz olan kolondan hareketli fazdaki su miktarına göre farklı sürelerde çözülmeleri ve farklı zamanlarda kolondan çıkarak kromatogramda piklerin dağılması sağlanmıştır. Akış gradientinde su miktarının azalmasıyla daha hidrofobik peptitler çözülmeye başlamakta ve akışdaki organik çözücü maksimuma ulaştığında en hidrofobik peptitlerde elüe olarak kolondan çıkmaktadır. Kromatogramlardaki piklerin büyüklükleri değerlendirildiğinde +4 ^{o}C' de yapılan ekstraksiyonlarda toplam pik alanının daha büyük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.4). En düşük ekstrakt miktarının bu sıcaklıkta elde edildiği değerlendirildiğinde, ekstrakt miktarı düşmekle birlikte ekstraktta bulunan peptitlerin yoğunluklarının arttığı düşünülmektedir. Genel olarak sıcaklık yükseldikçe piklerin alanları düşmüştür. Ancak yüksek sıcaklıklarda daha yüksek miktarda ekstrakt elde edildiği göz önünde bulundurulduğunda, peptit konsantrasyonunun düşmesi sonucu daha düşük alanların elde edilmesi beklenen bir durumdur. Çalışılan tüm sıcaklıklarda ekstraksiyon süresi uzadıkça elde edilen piklerin alanları artmıştır. En yüksek toplam pik alanı 90 dk ekstraksiyon sonucu belirlenmiştir (Tablo 4.4).



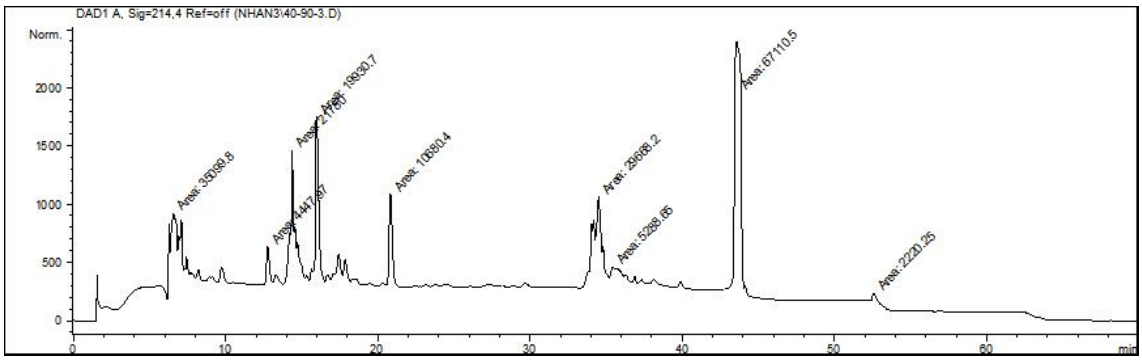
+4 ºC - 90 dk ekstraksiyon



+20 ºC - 90 dk ekstraksiyon



+30 ºC - 90 dk ekstraksiyon

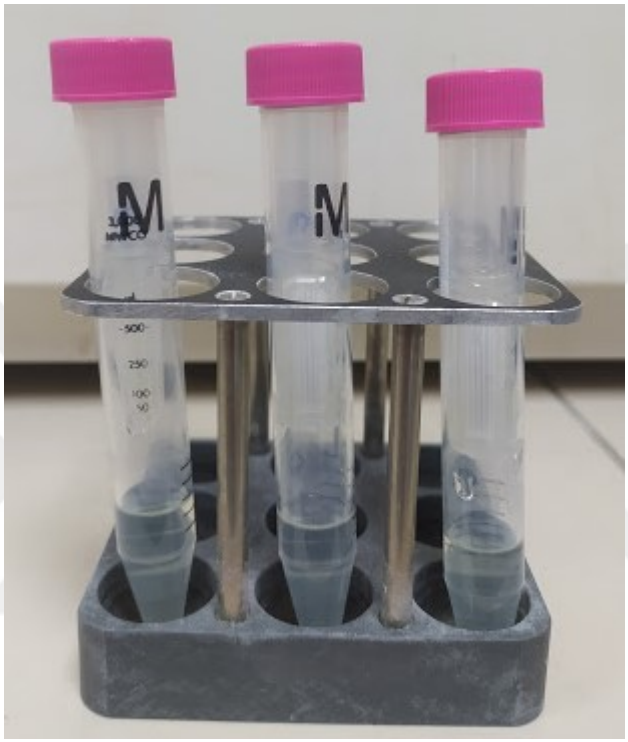


+40 ºC - 90 dk ekstraksiyon

Şekil 4.2 Suda çözünen ekstraktların RP-HPLC kromatogramları

Tablo 4.4 Farklı ekstraksiyon koşullarında belirlenen toplam pik alanları

Ekstraksiyon	Ekstraksiyon süresi (dk)		
sıcaklığı (°C)	**30**	**60**	**90**
+4	220.053	231.566	232.215
20	201.124	210.794	220.014
30	187.621	176.118	183.432
40	164.023	196.037	196.222



Şekil 4.3 Molekül filtresinde ayrılmış olan alt ve üst fraksiyonlar



Şekil 4.4 Liyofilize edilmiş örnekler

Çalışmanın devamında kullanılacak olan 3 kDa kesme noktalı filtrenin (Amicon Ultra-4 membran 3 kDa) kapasitesi 4 mL'dir ve +4 ºC'de elde edilen ekstrakt miktarının yeterli olacağı değerlendirilmiştir. Bu ön çalışmanın neticesinde ileri aşamalarda kullanım için yeterli miktarda ve daha konsantre ekstraktların elde edildiği +4 ºC - 90 dk ekstraksiyon ile devam edilmiştir.

4.5 Suda Çözünen Ekstraktların Liyofilizasyonu

Suda çözünen ekstraktlar hazırlandıktan sonra molekül filtresi kullanılarak 3 kDa dan küçük peptitler içeren alt fraksiyon ve 3 kDa dan büyük peptitler içeren üst fraksiyon olarak iki fraksiyon elde edilmiştir (Şekil 4.4). Bu fraksiyonlar liyofilize edilerek -20°C'de saklanmıştır. Liyofilizasyon sonrası peptit fraksiyonlarının uzun süre saklanabilmesinin yanı sıra suyun uzaklaştırılması sonucu konsantre halde elde edilmeleri sağlanmıştır.

4.6 Peptit Fraksiyonlarının Protein Miktarı

Molekül filtresi kullanılarak ayrılan peptit fraksiyonlarının (alt ve üst fraksiyonlar) protein miktarları Bradford yöntemiyle belirlenmiştir [94]. Tüm çalışmalar üç tekrarlı olarak yapılmış ve sonuçlar bunların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir (Tablo 4.5). Sonuçlara göre, üst fraksiyonların protein oranları alt fraksiyonların protein oranlarından daha yüksektir. Üst fraksiyonlar arasında, en yüksek protein oranı Kars Gravyer ve eski kaşar peynirlerinde; en düşük protein oranı ise Mihaliç ve keçi peynirlerinde belirlenmiştir. Alt fraksiyonlarda ise eski kaşar, Kars Gravyer peynirleri en yüksek protein oranına sahipken inek ve keçi peynirleri en düşük protein oranına sahiptir. Peynir fraksiyonlarında belirlenen ACE-inhibisyon ve antioksidan aktivite gibi biyoaktivitelerin peptit içeriklerine bağlı olması nedeniyle biyoaktiviteler protein miktarı üzerinden hesaplanmıştır [59, 60].

4.7 ACE-inhibisyon Aktivitesi ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi

Hippuril-L-histidil-L-lösin (HHL) ACE katalizörlüğünde parçalanarak hippürik asit oluşturmaktadır. Oluşan hippurik asit miktarı belirlenerek ACE inhibisyon aktivitesi belirlenmiştir. Sonuçlar suda çözünen ekstraktta bulunan 10 μg proteinin enzim aktivitesinde neden olduğu azalmanın % olarak değeri şeklinde hesaplanmıştır (Tablo 4.6). Farklı peynirlerin sonuçlarının karşılaştırlabilmesi için üç peynir örneğinin % ACE-inhibisyon aktivitesi değerlerinin ortalamaları kullanılmıştır. Çalışmanın

Tablo 4.5 Peptit fraksiyonlarının protein miktarları

Peynir çeşidi	Suda Çözünen Ekstraktın Protein Miktarı(%)	
	Alt fraksiyon	**Üst fraksiyon**
Erzincan Tulum	$1{,}30 \pm 0{,}14^{a,A}$	$9{,}66 \pm 0{,}42^{a,B}$
Kars Gravyer	$2{,}65 \pm 0{,}56^{b,A}$	$15{,}29 \pm 1{,}40^{b,B}$
İzmir Tulum	$2{,}81 \pm 0{,}31^{b,A}$	$10{,}60 \pm 0{,}66^{\ b,B}$
Eski Kaşar	$3{,}94 \pm 1{,}02^{b,A}$	$13{,}59 \pm 1{,}59^{\ b,B}$
Mihaliç	$2{,}55 \pm 0{,}51^{b,A}$	$9{,}45 \pm 1{,}99^{a,B}$
İnek Peyniri	$1{,}03 \pm 0{,}10^{a,A}$	$13{,}87 \pm 2{,}27^{b,B}$
Keçi Peyniri	$1{,}13 \pm 0{,}34^{b,A}$	$7{,}93 \pm 1{,}16^{a,B}$
Ezine Peyniri	$2{,}80 \pm 0{,}53^{b,A}$	$11{,}64 \pm 2{,}26^{b,B}$

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

sonucuna göre tüm peynir çeşitlerinde ACE-inhibisyon aktivite 3 kDa'dan küçük molekül ağrılığına sahip olan alt fraksiyonlarda yoğunlaşmıştır. Asiago d'allevo peynirinin ACE-inhibisyon aktivitesi 3 kDa ve 10 kDa molekül filtreleri kullanılarak iki fraksiyona ayrılmıştır [59]. Bu çalışmada ACE-inhibisyon aktivitesinin 3 kDa'dan düşük molekül ağırlığına sahip fraksiyonda yoğunlaştığı belirlenmiştir. Bu bulgular bizim çalışmamızdaki bulgular ile uyuşmaktadır. Genel olarak değerlendirildiğinde ise keçi peyniri en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Keçi peynirini inek peyniri ve Ezine peyniri takip etmiştir. Bu üç peynirin üretim teknolojisi aynı olduğu için sütün kaynağının ACE-inhibisyonundaki farklılığa neden olduğu düşünülmektedir. Sırp beyaz peynirlerinin biyoaktivitelerinin belirlendiği bir çalışmada inek peynirinin koyun peynirine göre daha yüksek ACE-inhibiyonuna neden olduğu bildirilmiştir [69]. Diğer peynir çeşitlerinden Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum ve eski kaşar peynirlerinin ACE-inhibisyon atkiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Olgunlaşma indeksi daha yüksek olan peynirlerin ACE-inhibisyon aktivitelerinin daha düşük bulunması proteolizin ilerlemiş olmasından kaynaklanmış olabilir. Olgunlaşma indeksi daha düşük olan iki peynirden Mihaliç peyniri ise Erzincan tulum, İzmir tulum ve Kars gravyer peynirine göre daha yüksek ACE-inhibisyon aktivitesi göstermiştir. Ancak eski kaşar peynirinin ACE-inhibisyon aktivitesi Mihaliç peynirine göre daha düşüktür. Bu da peynir üretiminde uygulanan işlemlerin farklılığına bağlı olabilir. Olgunlaştırılmış peynirlerin ACE-inhibisyon etkisi olgunlaşmaya bağlı olarak değişebilmektedir [13, 42, 59]. Cheddar peynirinin olgunlaşması sırasında ACE-inhibisyon aktivitesi özellikle ilk 6 hafta hızlı bir şekilde yükselmiş ve 24. haftada maksimum seviyeye ulaşılmıştır [58]. Olgunlaşma sırasında aktivite maksimum seviyesine ulaştıktan sonra proteolizin devam etmesine

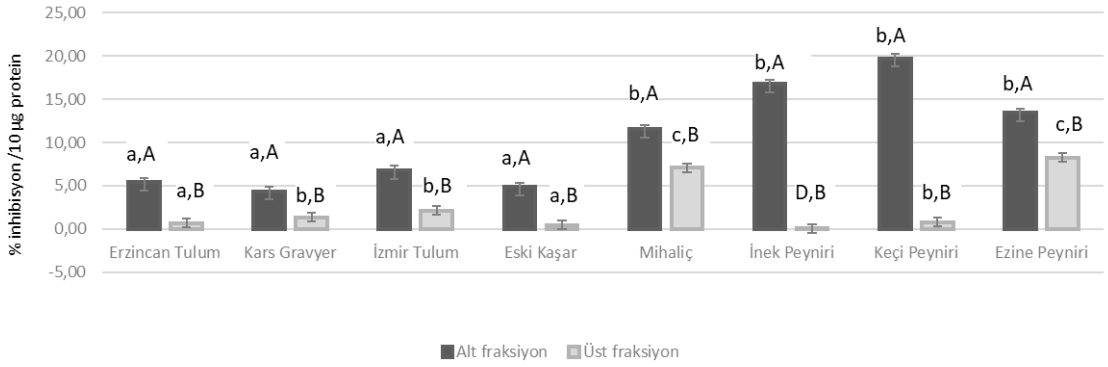
Tablo 4.6 Peptit fraksiyonlarının ACE-inhibisyon aktiviteleri

Peynir çeşidi	Suda Çözünen Ekstraktların ACE-inhibisyon aktiviteleri (%)	
	Alt fraksiyon	Üst fraksiyon
Erzincan Tulum	$5,42 \pm 1,04^{a,A}$	$0,67 \pm 0,29^{a,B}$
Kars Gravyer	$4,37 \pm 1,07^{a,A}$	$1,31 \pm 0,23^{b,B}$
İzmir Tulum	$6,80 \pm 1,55^{a,A}$	$2,12 \pm 0,60^{b,B}$
Eski Kaşar	$4,84 \pm 0,97^{a,A}$	$0,42 \pm 0,09^{a,B}$
Mihaliç	$11,55 \pm 1,52^{b,A}$	$7,07 \pm 1,09^{c,A}$
İnek Peyniri	$16,80 \pm 4,02^{b,A}$	$0,03 \pm 0,01^{d,B}$
Keçi Peyniri	$19,76 \pm 5,03^{b,A}$	$0,80 \pm 0,27^{b,B}$
Ezine Peyniri	$13,40 \pm 2,27^{b,A}$	$8,27 \pm 1,69^{c,B}$

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

ve ACE-inhibisyon etkili peptitlerin de hidrolize olmasına bağlı olarak aktivite azalmaktadır. Bir İtalyan peynir çeşidi olan Asiago d'allevo peynirinin ACE-inhibisyon aktivitesi 6, 12 ve 18. aylarda belirlenmiştir [59]. Cheddar peynirinden farklı olarak Asiago d'allevo peynirinde 6 aylık olgunlaşma periyodu sonrası % 11,9 ± 9,8 olarak belirlenen ACE-inhibisyonu 12. ayda % 3,6 ± 3,5 ve 18. ayda % 3,4 ± 4,2 ' e gerilemiştir. Bununla beraber, İsviçre Gravyer peynirinde ACE-inhibisyon etkili olan IPP ve VPP peptitlerinin konsantrasyonlarının olgunlaşma süresi ile korelasyon göstermediği ve farklı olgunluk derecelerinde çok fazla değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir [12]. Peynirlerin ACE-inhibisyon aktivitelerini etkileyen faktörler arasında olgunlaşma süresinin yanı sıra, peynirin üretildiği sütün çeşidi, süte uygulanan ön işlemler ve kullanılan starter kültürler gibi etmenlerde yer almaktadır [105].

Peptit fraksiyonlarının biyoaktiviteleri belirlendikten sonra her bir peynir çeşidi için aktivitesi yüksek olanlar belirlenmiş ve *in vitro* sindirime tabi tutulmuştur. Alt ve üst fraksiyonlar arasındaki biyoaktivite farkı istatistiksel olarak anlamlı olmayan peynir çeşitleri için her iki fraksiyon içinde *in vitro* sindirim uygulanmış ve gerekli testler tekrarlanmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçlarına göre ACE-inhibisyon aktivite koyun Ezine peyniri için hem alt hem üst frakiyonda, diğer peynir çeşitleri için ise sadece alt fraksiyonlarda tekrarlanmıştır (Tablo 4.6). Tekrar yapılan test sonuçlarında göre *in vitro* sindirim sonrası ACE-inhibisyon aktivitesi belirlenememiştir. Benzer çalışmalarda *in vitro* sindirim peynirlerin sulu ekstraktlarının ACE-inhibisyon etkisini azaltmıştır [59, 69]. *İn vitro* sindirimin ACE-inhibisyondan sorumlu olan peptitlerin hidrolizine ve bunun sonucu olarak aktivitenin kaybına neden olduğu değerlendirilmiştir.



Şekil 4.5 Peynir fraksiyonlarının ACE-inhibisyon aktiviteleri

---

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

4.8 Antioksidan Aktivite ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi

Protein ve peptit örneklerinin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için *in vitro* testler birincil yöntemlerdir. Antioksidanların karmaşık yapıları tek bir yöntemle toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesine engel olmaktadır. Antioksidan aktivitenin kimyasal mekanizmasına göre antioksidan testleri elektron transferi ve hidrojen atom transferi temelli yöntemler olarak sınıflandırılabilmektedir [106]. Bu mekanizmalar aynı anda birarada bulunabilir ve baskın mekanizma anitoksidan bileşiğin yapısı, bulunduğu ortamda çözünürlüğü, iyonizasyon potansiyeli ve bağ kırma enerjisine bağlıdır. Bu çalışmada uygulanan antioksidan aktivite testlerinden biri olan ABTS testi, elektron transferi ile önceden hazırlanmış bir radikalin inhibisyonunu spektorofotometrik olarak ölçülmesine dayanan bir yöntemdir. Antioksidanlar bunların yanı sıra indirgen bileşikler olarak da etki gösterebilirler. FRAP testi düşük pH'da ferrik 2,4,6-tripiridil-*s*-triazin (TPTZ) kompleksinin [Fe(III)-$(TPTZ)_2$]$^{3+}$ ferröz [Fe(II)-$(TPTZ)_2$]$^{2+}$ kompleksine indirgenmesiyle ferrik iyon indirgeme kapasitesini ölçmektedir [96].

4.8.1 FRAP Testi

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için uygulanan analizlerden FRAP testinde örneklerin antioksidan aktivitesi mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.7). En yüksek aktivite gösteren peynir çeşitleri inek peyniri ve Ezine peyniri için demir indirgeme aktivitesi sırasıyla 1,37 ± 0,42 ve 1,09 ± 0,26 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olmuştur (4.6). Bunları demir indigeme yeteneği bakımından

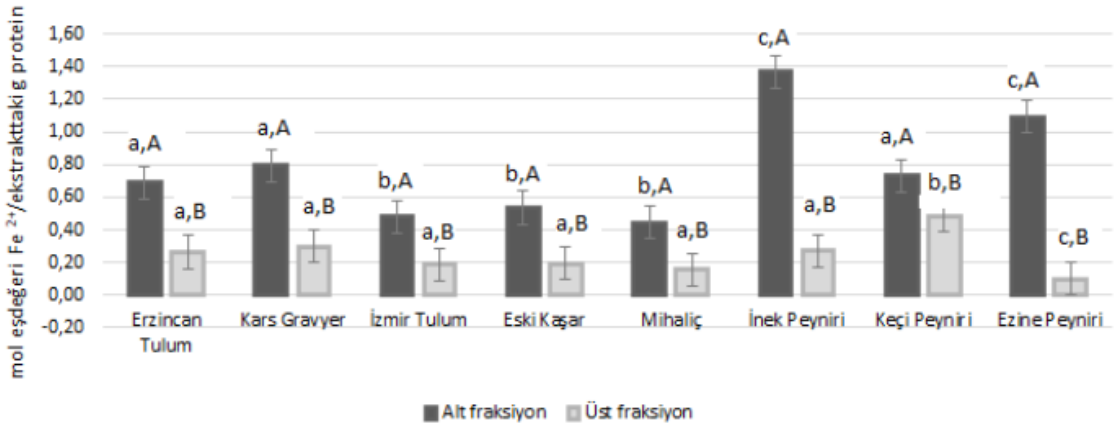
aralarındaki fark istatistiksel olarak önemsiz olan Kars gravyer, keçi peyniri ve Erzincan tulum peyniri takip etmiştir. Kars gravyer, keçi ve Erzincan tulum peynirleri için FRAP aktivitesi sırasıyla 0,80 ± 0,14, 0,73 ± 0,06 ve 0,69 ± 0,15 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olarak belirlenmiştir. İzmir tulum, eski kaşar ve Mihaliç peynirleri için sonuçlar sırasıyla 0,48 ± 0,07, 0,54 ± 0,02 ve 0,45 ± 0,03 Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olarak belirlenmiştir. Yine bu üç peynir çeşidinin aktivitesi arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, eski kaşar, Mihaliç ve inek peynirlerinin üst fraksiyonlarının aktiviteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Keçi ve Ezine peynirlerinin üst fraksiyonlarının aktiviteleri diğer peynir çeşitlerinden daha düşük bulunmuştur. Peynirin antioksidan aktivitesi büyük oranda makro ve mikro besin öğelerine, enzim sistemlerine, hidrolize proteinlere ve serbest amino asitlere bağlıdır, ancak olgunlaşma derecesi antioksidan aktivite üzerinde belirgin derecede etkilidir [8, 41]. Pek çok biyoaktif peptit ana protein diziliminden olgunlaşma sırasında gerçekleşen proteolizle salınmaktadırlar. Cheddar peynirinin antioksidan aktivitesinin olgunlaşmanın ilk 4 ayında yükseldiği ardından düşmeye başladığı belirlenmiştir [41]. Tulum peyniriyle yapılan bir çalışmada benzer şekilde olgunlaşma sırasında antioksidan aktivitenin arttığı bildirilmiştir [93]. Üretim teknolojisi aynı olan inek, Ezine ve keçi peynirlerinin FRAP aktiviteleri en yüksek aktivite gösteren peynir çeşitleri arasında bulunmaktadır. Benzer bir peynir çeşidi olan Sırp beyaz peynirlerinin indirgeme yeteneğini farklı bir yöntemle belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda inek sütünden üretilen beyaz peynirlerin indirgeme yetenekleri koyun sütünden üretilen peynirlere göre daha yüksek bulunmuştur. İnek, Ezine ve keçi peynirlerinin demir indirgeme yetenekleri arasındaki farklılığın kaynağıda sütün kaynağı olabilir. Diğer peynir çeşitleri arasında olgunlaşma indeksi yüksek olan Erzincan tulum ve Kars gravyer peynirlerinin demir indirgeme yetenekleri daha yüksektir. Benzer bir olgunlaşma derecesine sahip olan İzmir tulum peynirinin demir indirgeme yeteneği daha düşük bulunmuştur. Bu farklılığın üretim yönteminden kaynaklandığı değerlendirilmiştir.

Tüm peynir çeşitleri için alt ve üst fraksiyonların ferrik demir indirgeme yetenekleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ve FRAP aktivitesi alt fraksiyonlarda yoğunlaşmıştır (Tablo 4.7). Bu nedenle tüm alt fraksiyonlar için *in vitro* sindirim sonrası FRAP testi tekrar edilmiş ve sonuçlar tablo 4.8'de sunulmuştur. *İn vitro* sindirim tüm peynir çeşitlerinin 3 kDa'dan küçük molekül ağırlıklı fraksiyonlarında demir indirgeme yeteneğinin artmasını sağlamıştır (4.7). Sindirilmiş örneklerin FRAP aktiviteleri incelendiğinde en yüksek antioksidan aktivite keçi peynirinde belirlenmiştir (10,83 ± 1,60 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein). Keçi peynirini eski kaşar 5,43 ± 0,39 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein ile takip etmiştir. Keçi ve eski kaşar *in vitro* sindirim sonrası demir indirgeme yeteneğinin artması ana protein dizilimlerinden

Tablo 4.7 Peptit fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-FRAP testi

Peynir çeşidi	Antioksidan aktivite (mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein)	
	Alt fraksiyon	Üst fraksiyon
Erzincan Tulum	$0,69 \pm 0,15^{a,A}$	$0,26 \pm 0,06^{a,B}$
Kars Gravyer	$0,80 \pm 0,14^{a,A}$	$0,30 \pm 0,11^{a,B}$
İzmir Tulum	$0,48 \pm 0,07^{b,A}$	$0,19 \pm 0,06^{a,B}$
Eski Kaşar	$0,54 \pm 0,02^{b,A}$	$0,19 \pm 0,02^{a,B}$
Mihaliç	$0,45 \pm 0,03^{b,A}$	$0,16 \pm 0,06^{a,B}$
İnek Peyniri	$1,37 \pm 0,42^{c,A}$	$0,27 \pm 0,15^{a,B}$
Keçi Peyniri	$0,73 \pm 0,06^{a,A}$	$0,49 \pm 0,02^{b,B}$
Ezine Peyniri	$1,09 \pm 0,26^{c,A}$	$0,10 \pm 0,03^{c,B}$

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).



Şekil 4.6 Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-FRAP testi

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

Tablo 4.8 Alt fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-FRAP testi

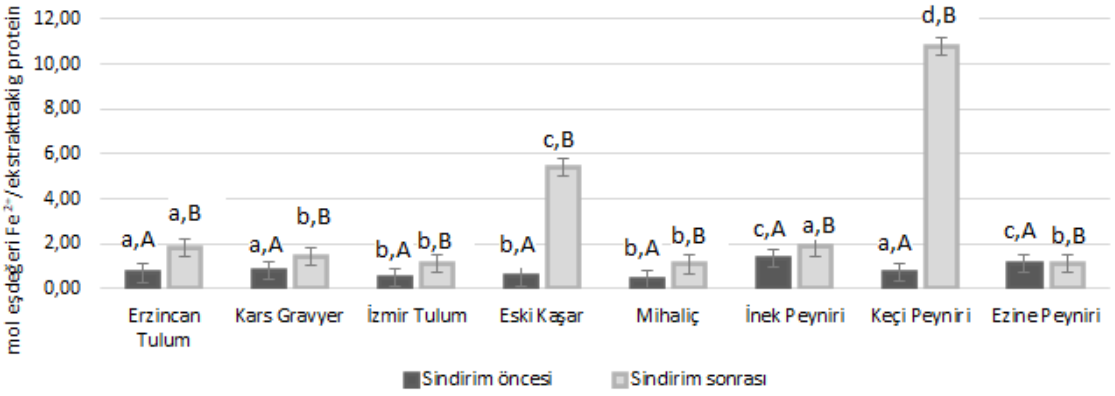
Peynir çeşidi	Antioksidan aktivite (mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein)	
	Sindirim öncesi	**Sindirim sonrası**
Erzincan Tulum	$0,69 \pm 0,15^{a,A}$	$1,79 \pm 0,29^{a,B}$
Kars Gravyer	$0,80 \pm 0,14^{a,A}$	$1,43 \pm 0,40^{b,B}$
İzmir Tulum	$0,48 \pm 0,07^{b,A}$	$1,14 \pm 0,23^{b,B}$
Eski Kaşar	$0,54 \pm 0,02^{b,A}$	$5,43 \pm 0,39^{c,B}$
Mihaliç	$0,45 \pm 0,03^{b,A}$	$1,09 \pm 0,27^{b,B}$
İnek Peyniri	$1,37 \pm 0,42^{c,A}$	$1,87 \pm 0,44^{a,B}$
Keçi Peyniri	$0,73 \pm 0,06^{a,A}$	$10,83 \pm 1,60^{d,B}$
Ezine Peyniri	$1,09 \pm 0,26^{c,A}$	$1,13 \pm 0,19^{b,B}$

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

biyoaktif peptitlerin salınmasından kaynaklanmış olabilir. Sırp beyaz peynirlerinin indirgeme yeteneklerinin de *in vitro* sindirim sonrası arttığı ve yine inek peynirinin aktivitesinin koyun peynirine göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir [69]. Benzer şekilde inek peyniri *in vitro* sindirim sonrası demir indirgeme aktivitesi Ezine peynirine göre daha ytüksek bulunmuştur. Üretim yöntemleri aynı olan inek, keçi ve Ezine peynirlerinin *in vitro* sindirim sonrası aktivitelerindeki farklılık da inek, keçi ve koyun sütünün sindirilebilirliklerinin farklı olmasından kaynaklanmış olabilir. İnek, keçi ve koyun sütlerinin *in vitro* sindirimleri sonucu farklı süt türlerinden farklı peptitler salınmakta ve bunun sonucunda biyoaktiviteleri farklı olmaktadır [104].

4.8.2 ABTS Testi

Suda çözünen ekstraktların antioksidan aktivitesini belirlemede kullanılan ABTS testi hassas ve kullanılabilir olarak değerlendirilmiştir [41]. Peptit fraksiyonlarının ABTS test radikalini indirgeme testi sonuçları alt fraksiyonlar için 12,18 - 86,85 mg askorbik asit eşdeğeri/g protein arasında değişmektedir (Tablo 4.9). Alt fraksiyonlar değerlendirildiğinde Erzincan tulum peyniri 86,85 ± 11,06 mg askorbik asit eşdeğeri/g protein ile en yüksek radikal temizleme aktivitesi göstermiştir. Erzincan tulum peynirini keçi peyniri, Kars gravyer ve inek peyniri takip etmiştir ve bu üç peynir çeşidinin aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. İzmir tulum, eski kaşar, Mihaliç ve Ezine peynirlerinin alt fraksiyonları en düşük aktiviteye sahiptir ve bu dört peynir çeşidinin aktiviteleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Üst fraksiyonların ABTS radikal temizleme aktiviteleri ise 7,32 - 16,38 mg



Şekil 4.7 Sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-FRAP testi

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin arasındaki istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05).

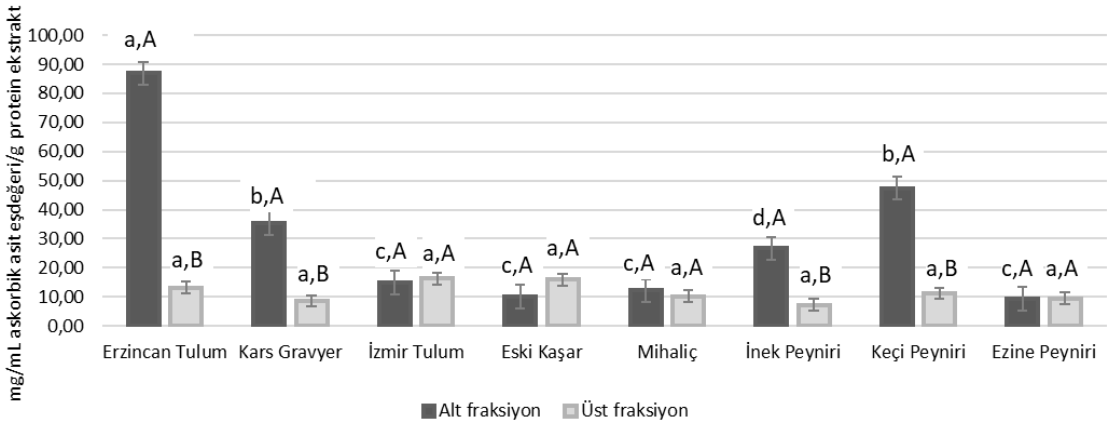
askorbik asit eşdeğeri/g protein arasında değişmektedir (Tablo 4.9). Üst fraksiyonlar incelendiğinde alt fraksiyonlara göre daha düşük sonuçlar elde edilmiştir. İncelenen tüm peynir çeşitlerinin üst fraksiyonlarının ABTS temizleme aktivitesi benzerdir ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Her bir peynir çeşidinin alt ve üst fraksiyonlarının aktiviteleri karşılaştırıldığında Erzincan tulum, Kars gravyer, inek ve keçi peynirlerinin alt fraksiyonları üst fraksiyonlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek aktiviteye sahip olarak değerlendirilmiştir (4.8). İzmir tulum, eski kaşar, Mihaliç ve Ezine peynirlerinin her iki fraksiyonlarının ABTS radikal temizleme aktivitesi arasındaki fark istatistiksel olarka anlamlı değildir.

Yapılan pek çok çalışmada antioksidan aktivitenin peynir üretiminde kullanılan sütün kaynağı, uygulanan işlemler ve peynirin olgunlaşma süresine bağlı olduğu bildirilmiştir [38, 41, 93]. ABTS aktivitesi yüksek olan Erzincan tulum ve Kars Gravyer peynirlerinin ABTS radikalini temizleme aktivitesinin yüksek olması olgunlaşma indekslerinin yüksek olması nedeniyle beklenen bir durumdur. Bununla birlikte bu iki peynir çeşdidine benzer bir olgunlaşma indeksi değerine sahip olan İzmir tulum peynirinin antioksidan aktivitesi bekleneceği gibi yüksek değildir. Benzer olgunluk düzeyinde olan ancak farklı üretim teknikleriyle üretilen peynirlerin biyoaktiviteleri arasındaki farklılığın peynir üretim işlemlerinden kaynaklanmış olabileceği değerlendirilmiştir. Aynı yöntemle üretilen inek, keçi ve Ezine peynirlerinin aktiviteleri arasındaki farklılık peynirin üretildiği süt ile açıklanabilmektedir. İnek, koyun ve keçi sütünün sindirim sonrası ABTS radikali temizleme aktiviteleri araştırıldığında koyun ve keçi sütünün aktivitesinin inek sütünden daha yüksek olduğu bildirilmiştir [104]. Bunun yanı sıra, keçi sütü en yüksek sindirilebilirliği gösterirken

Tablo 4.9 Peptit fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-ABTS testi

Peynir çeşidi	Antioksidan aktivite(mg askorbik asit eşdeğeri/g protein)	
	Alt fraksiyon	Üst fraksiyon
Erzincan Tulum	$86,85 \pm 11,06^{a,A}$	$13,20 \pm 0,83^{a,B}$
Kars Gravyer	$35,32 \pm 5,04^{b,A}$	$8,66 \pm 1,69^{a,B}$
İzmir Tulum	$14,97 \pm 1,09^{c,A}$	$16,38 \pm 3,77^{a,A}$
Eski Kaşar	$10,07 \pm 4,79^{c,A}$	$15,99 \pm 3,62^{a,A}$
Mihaliç	$12,18 \pm 2,53^{c,A}$	$10,28 \pm 3,58^{a,A}$
İnek Peyniri	$26,64 \pm 2,12^{d,A}$	$7,32 \pm 3,10^{a,B}$
Keçi Peyniri	$47,45 \pm 11,93^{b,A}$	$11,23 \pm 4,54^{a,B}$
Ezine Peyniri	$9,40 \pm 1,83^{c,A}$	$9,46 \pm 1,16^{a,A}$

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-e}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).



Şekil 4.8 Peynir fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri-ABTS testi

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin alt ve üst fraksiyonları arasındaki istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

Tablo 4.10 Alt fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-ABTS testi

Peynir çeşidi	Antioksidan aktivite (mg askorbik asit eşdeğeri/ g protein)	
	Sindirim öncesi	**Sindirim sonrası**
Erzincan Tulum	86,85 ± 11,06^{a,A}	107,67 ± 14,14^{a,A}
Kars Gravyer	35,32 ± 5,04^{b,A}	33,54 ± 4,92^{a,A}
İzmir Tulum	14,97 ± 1,09^{c,A}	28,44 ± 8,24^{b,B}
Eski Kaşar	10,07 ± 4,79^{c,A}	35,67 ± 17,41 ^{b,A}
Mihaliç	12,18 ± 2,53 ^{c,A}	28,66± 6,14^{b,B}
İnek Peyniri	26,64 ± 2,12^{d,A}	33,24 ± 1,36^{b,B}
Keçi Peyniri	47,45 ± 11,93 ^{b,A}	43,47 ± 4,52^{c,A}
Ezine Peyniri	9,40 ± 1,83 ^{c,A}	13,63 ± 2,10 ^{d,A}

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-d}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

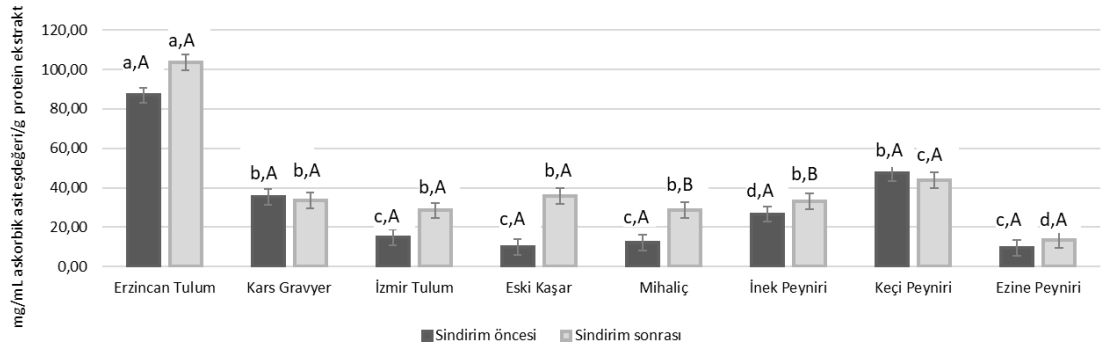
Tablo 4.11 Üst fraksiyonların *in vitro* sindirim sonrası antioksidan aktiviteleri-ABTS testi

Peynir çeşidi	Antioksidan aktivite (mg askorbik asit eşdeğeri/ g protein)	
	Sindirim öncesi	**Sindirim sonrası**
İzmir Tulum	16,38 ± 3,77^{a,A}	36,82 ± 2,20^{a,B}
Eski Kaşar	15,99 ± 3,62^{a,A}	51,70 ± 2,48 ^{b,B}
Mihaliç	10,28 ± 3,58 ^{a,A}	23,39 ± 2,81^{a,B}
Ezine Peyniri	9,46 ± 1,16 ^{a,A}	27,49 ± 4,40 ^{a,B}

Sonuçlar ± standart sapma ile birlikte verilmiştir (n=9).
$^{a-c}$ Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).
$^{A-B}$ Aynı satırda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklılıkları göstermektedir (ρ<0,05).

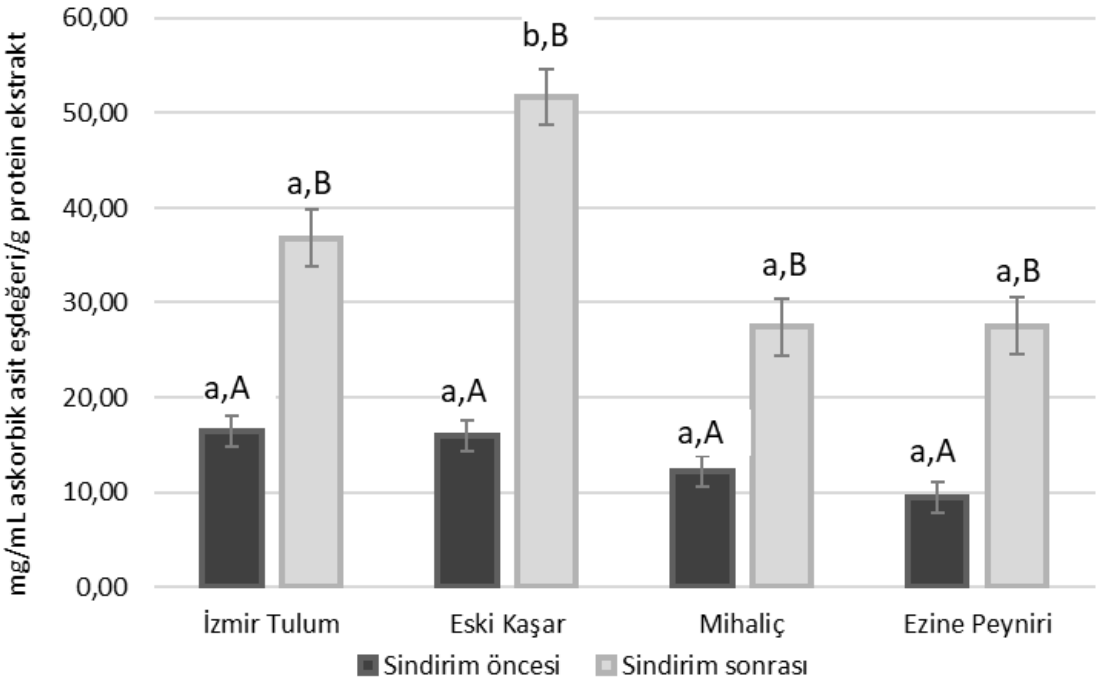
en düşük sindirilebilirliği koyun sütü sergilemiştir. Bu veriler ışığında sindirim sonrası süt örneklerinin ABTS radikali temizleme aktiviteleri hidrolizin düzeyinden daha çok oluşan peptitlerin spesifiklikleri ve miktarına bağlı olduğu değerlendirilmiştir. Bu bağlamda farklı peynir çeşitlerinin üretiminde kullanılan sütlerin elde edildiği türler kadar peynirlerin olgunlaşması sırasında gerçekleşen proteoliz sırasında bu sütlerin proteinlerinin farklı peptitler oluşturacak şekilde hidrolize olmaları ve oluşan peptitlerin miktarları etkili olmuştur.

Erzincan tulum, Kars gravyer, inek ve keçi peynirlerinin sadece alt fraksiyonları İzmir tulum, eski kaşar, Mihaliç ve Ezine peynirlerinin hem alt hem de üst fraksiyonları *in vitro* sindirime tabi tululmuş ve ardından ABTS testi ile antioksidan aktivite belirlenmiştir. İncelenen örneklerin aktiviteleri *in vitro* sindirim sonrası ya artmış



Şekil 4.9 *İn vitro* sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-ABTS testi

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin arasındaki istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05).



Şekil 4.10 *İn vitro* sindirimin antioksidan aktivite üzerine etkisi-ABTS testi

$^{a-e}$ Farklı peynirlerin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin arasındaki istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05). $^{A-B}$ Aynı peynirin sindirim öncesi ve sonrası aktivitelerinin istatistiksel olarak farklılıklarını göstermektedir (ρ<0,05).

ya da değişmemiştir. *İn vitro* sindirim sonrası Erzincan tulum peynirinin ABTS radikalini temizleme aktivitesi tüm peynirler arasında en yüksek bulunmuştur ve *in vitro* sindirim öncesi aktivitesi ile farkı istatistiksel olarak anlamlı değildir. Ancak İzmir tulum, Mihaliç ve inek peynirlerinin ABTS radikali temizleme aktivitesi *in vitro* sindirim sonrası istatistiksel olarak anlamlı ölçüde artmıştır. Alt fraksiyonda bulunan protein fragmentlerinin sindirim enzimleriyle ileri parçalanmaları sonucu aktivite gösteren yeni peptitlerin oluşması veya antioksidan aktiviteye sahip serbest amino asitlerin oluşması sonucu ABTS radikali temizleme aktivitesi artmış olabilir. Sindirim sonrası anitoksidan aktivitesi tekrar belirlenen tüm peynirlerde aktivite artmıştır. bunun sebebi yine sindirim sonrası antioksidan peptitlerin ortaya çıkmış olmaları olrak değerlendirilmiştir. Uzun dönem (41 ay) olgunlaştırmanın Parmigiano-Reggiano peynirinin antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada antioksidan aktivitenin anlamlı ölçüde değişmediği bildirilmiştir [64]. Uzun dönem olgunlaştırma sırasında aktivitenin değişmemesi, antioksidan kapasiteden sorumlu olan amino asit yan zincirlerinin peptit-protein dizilimi içinde yer aldıklarında ve serbest halde olduklarında aynı anitoksidan kapasiteye sahip olmalarıyla ilişkilendirilmiştir. Benzer bir durum aktivitesinde değişim olmayan peynirlerde de geçerli olabilir.

4.9 Antibakteriyel Aktivite ve *İn Vitro* Sindirimin Aktivite Üzerine Etkisi

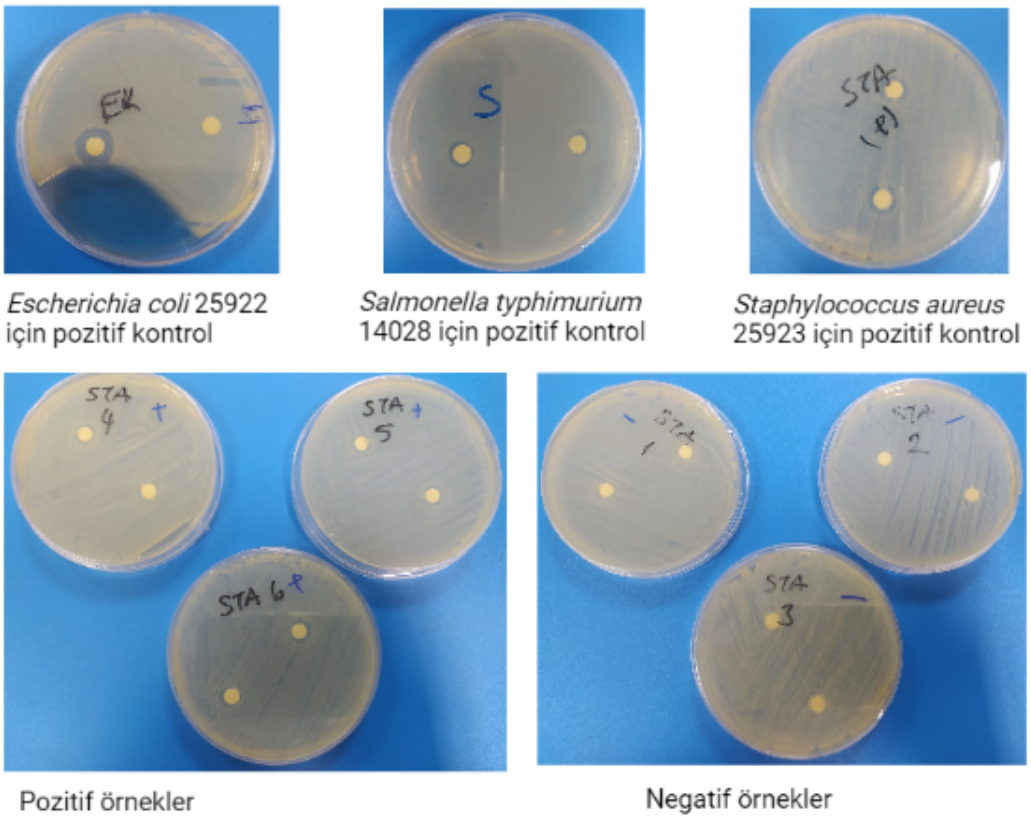
E. coli 25922, *S.* Typhimurium 14028 ve *S. aureus* 25923 suşlarına karşı antibakteriyel aktivite disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan indolicidin ve cecropin P1 antimikrobiyal peptitlerdir; indolicidin Gram (+) bakteriler üzerinde etkiliyken cecropin P1 daha çok Gram (-) bakterileri inhibe etmektedir [49]. Çalışmada test edilen örneklerden hiç biri *E. coli* 25922 suşuna karşı aktivite göstermemiştir. *S.* Typhimurium 14028 ve *S. aureus* 25923 suşlarına karşı etkili olan fraksiyonlar Tablo 4.12' da verilmiştir. 3 kDa'dan yüksek molekül ağırlığına sahip olan üst fraksiyonlarda etki belirlenmemiştir. Tüm etkili fraksiyonlar 3 kDa'dan düşük molekül ağırlığına sahip olan alt fraksiyonlarda belirlenmiştir (Şekil 4.11).

S. Typhimurium 14028 suşunun gelişmesini inhibe eden fraksiyonlar Kars gravyer, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirlerinin alt fraksiyonları olmuştur. Ancak bu *in vitro* sindirim sonrası aktivite kaybedilmiştir. *S. aureus* 25923 suşuna karşılı etkili peynirler ise Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirleridir. *İn vitro* sindirim sonrası Kars gravyer ve keçi peyniri aktivitesini tamamen kaybederken diğer peynir çeşitleri aktivitelerini korumuşlardır. Peynirlerin antimikrobiyal etkileri hakkındaki çalışmaların sayısı ACE-inhibisyon aktivitesi kadar olmasa da Avustralya cheddar peyniri, Brezilya coalho ve canastra

Tablo 4.12 Antimikrobiyal aktivite testi sonuçları

Peynir çeşidi	***E. coli* 25922**	***S.* Typhimurium 14028**		***S. aureus* 25923**	
	Sindirim öncesi	**Sindirim öncesi**	**Sindirim sonrası**	**Sindirim öncesi**	**Sindirim sonrası**
Erzincan Tulum	—	—	-	+++	+–
Kars Gravyer	—	-++	-	-++	-
İzmir Tulum	—	—	-	+++	++-
Eski Kaşar	—	+–	-	+++	++-
Mihaliç	—	—		—	
İnek Peyniri	—	+–	-	+–	+–
Keçi Peyniri	—	+–	-	+–	-
Ezine Peyniri	—	++-	-	+–	+–

+: Antimikrobiyal aktivite tespit edildi.
-: Antimikrobiyal aktivite tespit edilemedi.



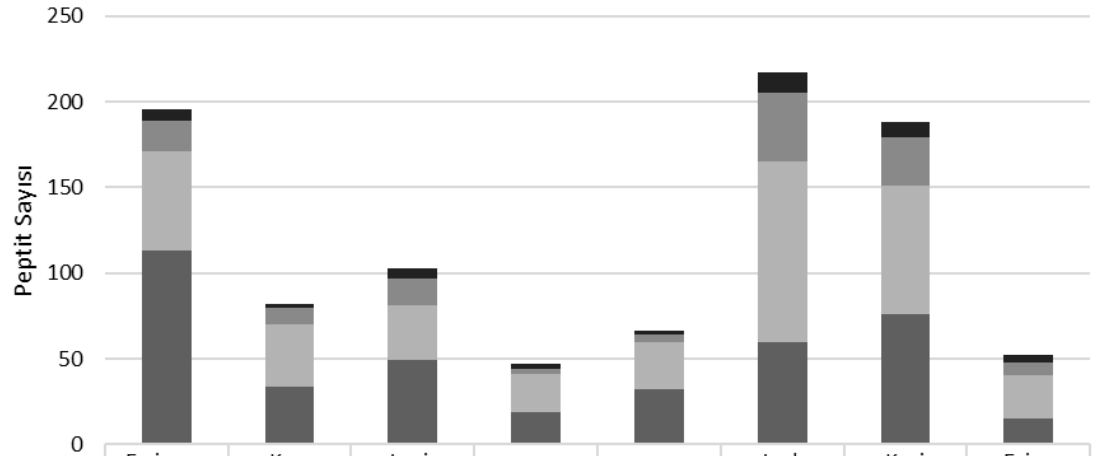
Şekil 4.11 Antimikrobiyal aktivite

peynirleri, Sırp beyaz peyniri, tulum peyniri, çeşitli İtalyan peynirleri antimikrobiyal aktivite yönünden araştırılmıştır [1, 34, 60, 69, 107, 108]. Avustralya'da ticari olarak satışı yapılan cheddar peynirlerinin *E. coli*, *Bacillus megaterium* ve *S. aureus* bakterilerine karşı farklı düzeylerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir [107]. Benzer şekilde çeşitli İtalyan peynirlerinin suda çözünen peptitlerinin *E. coli*, *Bacillus megaterium*, *S. aureus*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella spp.* ve *Listeria innocua*'ya karşı yüksek antimikrobiyal aktivite (0,6–1,0 mg/ml peptit konsantrasyonu) gösterdiği bildirilmiştir [34]. Brezilya'nın farklı bölgelerine özgü olan coalho ve canastra peynirlerinin antimikrobiyal aktiviteleri *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *E. coli* üzerine etkili oldukarı bildirilmiştir [60, 108]. İnek ve koyun sütünden üretilmiş Sırp beyaz peynirlerinin *in vitro* sindirim sonrası antibakteriyel aktivite gözlenmezken, bazı *Aspergillus* ve *Penicillium* türlerine karşı antifungal aktivite gösterdikleri belirlenmiştir [69]. İtalya'da starter kültür kullanılmadan üretilen keçi peynirinin de *Lactobacillus sakei* A15, *Listeria innocua* DSM 20649, *Bacillus megaterium* F6 and *E. coli* K12'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği bildirilmiştir [34]. Beyaz peynire benzer bir peynir olan feta peyniri ve keçi peyniriyle oluşturulan sindirilmiş peynir-meyve kombinasyonlarının *E. coli*, *Listeria monocytogenes* ve grup B *Streptococcus*'a karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmış ancak sadece grup B *Streptococcus*'a karşı inhibe edici etki belirlenmiştir [109].

4.10 Biyoaktif Peptitlerin Tanımlanması

Peynir örneklerinden elde edilen suda çözünen ekstrakların 3 kDa molekül ağırlığından küçük molekülleri içeren alt fraksiyonları ile 3 kDa molekül ağırlığından büyük molekülleri içeren üst fraksiyonlarının tamamı Q-Exactive Focus-Orbitrap kütle spektrometrisi ile analiz edilmiştir. Kütle spektrometrisinden elde edilen veriler Proteome Discoverer programında analiz edilerek fraksiyonlarda bulunan peptitlerin dizilimleri belirlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda alt fraksiyonlarda 620 ve üst fraksiyonlarda 115 adet toplamda 735 peptit dizilimi tanımlanmıştır (EK B-C). Alt fraksiyonlarda αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN kaynaklı peptitlerin sayıları sırasıyla 230, 97, 260 ve 33 olarak bulunmuştur (şekil 4.12). Üst fraksiyonlarda αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN kaynaklı peptitlerin sayıları ise sırasıyla 27, 14, 70 ve 4 olarak bulunmuştur (şekil 4.13). Çalışılan peynir örneklerinde tanımlanan peptitler MBPDB ve BIOPEP-UWM veritabanlarında karşılaştırılmıştır [90, 91]. Karşılaştırma yapılırken sadece % 100 homoloji gösteren peptitler dikkate alınmıştır.

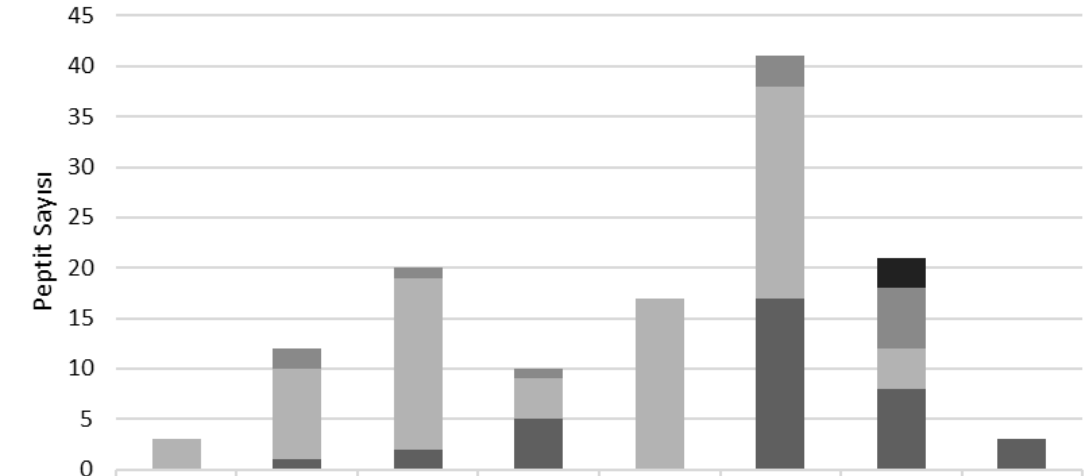
Alt ve üst fraksiyonlarda tanımlanan αs1-KN türevi peptitler genel olarak proteinin N terminal ve orta bölgelerinden oluşmaktadır. Kars gravyer, İzmir tulum, Mihaliç, inek, keçi ve Ezine peynirlerinde tanımlanan αs1-KN türevi peptitlerin çok küçük bir



	Erzincan Tulum	Kars Gravyer	Izmir Tulum	Eski Kaşar	Mihaliç	Inek Peyniri	Keçi Peyniri	Ezine Peyniri
κ-KN	7	2	6	3	2	12	9	4
αs2-KN	18	10	16	3	4	40	28	8
αs1-KN	58	36	32	22	28	105	75	25
β-KN	113	34	49	19	32	60	76	15

Şekil 4.12 Alt fraksiyonlarda tanımlanan peptitlerin sayıları

kısmı C terminal bölgeden oluşmuştur. Peynirlerde bulunan peptitlerin tanımlandığı diğer çalışmalarda da αs1-KN türevi peptitlerin genellikle N terminal ve orta bölgeden oluştuğu bildirilmiştir [13, 17, 75]. Tüm peynirlerde çok fonksiyonlu bir αs1-KN türevi olan israsidin (16-38) parçaları belirlenmiştir [60]. Benzer bir şekilde αs2-KN türevi peptitler genel olarak C terminal ve orta bölgeden oluşmuştur. αs2-KN, peynir üretiminde kullanılan enzimler ile süt ve sütte bulunan mikroorganizmların enzimlerinin aktivitesi sonucu C terminal ve orta bölgelerinden hidrolize olmaktadır [17]. Çalışılan tüm peynirlerde suda çözünen ekstraktların alt fraksiyonlarında belirlenen αs2-KN türevi peptitlerin çoğunun C terminal ve orta bölgeden oluştuğu görülmüştür. Peynirde plazmin hidrolizine daha açık olan β-KN olgunlaşma sırasında daha çok N terminal ve orta bölgelerden parçalanmaktadır [110]. Peynirlerin suda çözünen ekstraktlarında tanımlanan β-KN türevi peptitlere bakıldığında çoğunlukla N terminal ve ota bölgeden oluşan peptitler görülmektedir. Para-κ-KN peynirde proteolize en dirençli proteindir [110]. Ancak Brie, Parmigiano-Reggiano ve cheddar gibi peynirlerde κ-KN türevi peptitler tanımlanmıştır. Diğer kazeinlere göre oldukça az sayıda olmakla birlikte suda çözünen ekstraktların alt ve üst fraksiyonlarında κ-KN türevi peptitler tanımlanmıştır.



	Erzincan Tulum	Kars Gravyer	Izmir Tulum	Eski Kaşar	Mihaliç	İnek Peyniri	Keçi Peyniri	Ezine Peyniri
κ-KN	0	0	0	0	0	0	3	0
αs2-KN	0	2	1	1	0	3	6	0
β-KN	3	9	17	4	17	21	4	0
αs1-KN	0	1	2	5	0	17	8	3

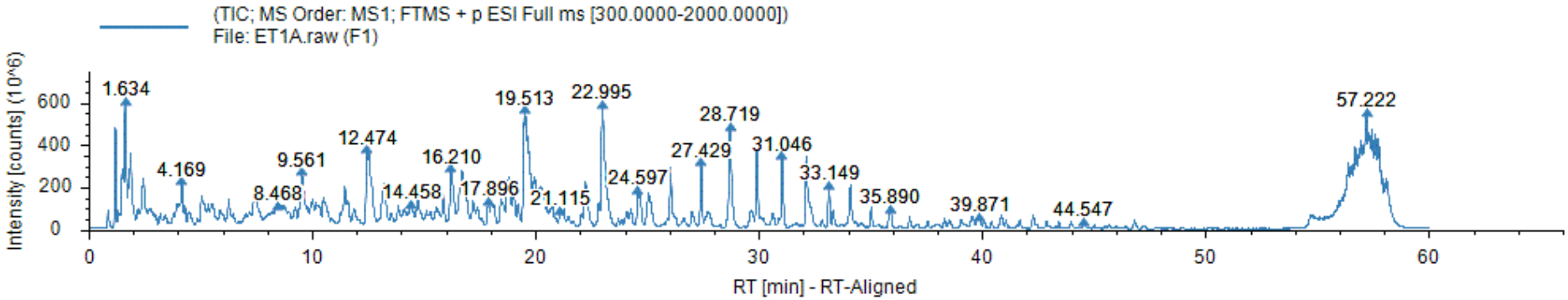
Şekil 4.13 Üst fraksiyonlarda tanımlanan peptitlerin sayıları

4.10.1 Erzincan Tulum Peynirinde Tanımlanan Peptitler

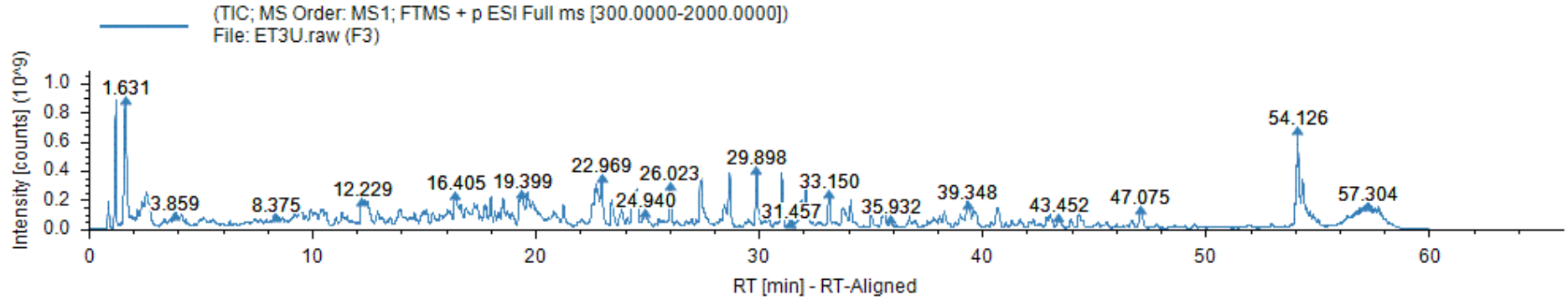
Erzincan tulum peynirinin suda çözünen ekstraktının alt ve üst fraksiyonlarına ait örnek LC-MS/MS kromatogramları şekil 4.14'de sunulmuştur. Erzincan tulum peynirinin suda çözünen ekstraktlarının üst fraksiyonlarında 3 kDa'dan büyük molekül ağırlığına sahip 3 adet β-KN türevi peptit tanımlanmıştır. Alt fraksiyonlarında ise αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 58, 18, 113 ve 7, toplamda 196 olmuştur (şekil 4.15). Ülkemizde yapılan bir doktora çalışmasında Mut, Karaman, Ereğli ve Anamur yörelerinde üretilen tulum peynirlerinin peptit profilleri 6 aylık olgunlaşma süresince takip edilmiştir [17]. Olgunlaşma periyodunun sonunda Mut, Karaman, Ereğli ve Anamur yörelerinde üretilen tulum peynirlerinde tanımlanan peptit dizilimlerinin sayıları sırasıyla 160 (57 αs1-KN, 6 αs2-KN, 97 β-KN türevi), 143 (39 αs1-KN, 5 αs2-KN, 99 β-KN türevi), 158 (66 αs1-KN, 3 αs2-KN, 89 β-KN türevi) ve 96 (37 αs1-KN, 2 αs2-KN, 57 β-KN türevi) şeklindedir. Erzincan tulum peynirinde bu 4 tulum peynirine göre daha fazla peptit tanımlanmıştır. Tulum peynirlerinde tanımlanan peptit dizilimleri daha çok β-KN türevleridir, bunları αs1-KN ve αs2-KN türevlerinin takip ettiği görülmektedir. Erzincan tulum peynirinde diğer yörelerin tulum peynirlerinden farklı olarak 7 adet κ-KN türevi peptit tanımlanmıştır. Tulum peynirlerinin peptit içeriklerindeki farklılıklar kullanılan sütün kaynağına, sütün doğal kompozisyonu, peynirin doğal mikrobiyotası ve üretim metoduna bağlı olmaktadır.

Erzincan tulum peynirinde tanımlanan peptitlerin MBPDB ve BIOPEP-UWM veritabanlarında araştırıldığında 30 peptit dizilimi biyoaktif peptitlerle eşleşme göstermiştir. Eşleşme gösteren peptitler, bunların biyoaktiviteleri ve bu aktivitelerin belirlendiği çalışmalar tablo 4.3'de sunulmuştur. Erzincan tulum peynirinde belirlenen biyoaktif peptitlerin fonksiyonları arasında ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, sitomodülatör, DPP-IV-inhibisyon, osteoanabolik, kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu ve antidiyabetik bulunmaktadır. Peptitlerin biyoaktiviteleri arasında en yaygın olan aktivite ACE-inhibisyonu olmuştur. ACE-inhibisyon aktivitesine sahip 22 peptidin 5 tanesi diğer aktivitelerle birlikte çok fonksiyonlu peptitlerdir. Antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip peptitlerin sayıları sırasıyla 2 ve 5 olarak belirlenmiştir.

Çin süt ürünlerinden izole edilen *Lactobacillus helveticus* CICC 22171 ile kazeinin hidrolizi sonrası elde edilen EPVLGPVRGP peptidinin Caco-2 hücrelerinin apoptosisini hızlandırdığı, ancak IEC-6 hücreleri üzerine önemli bir etkilerinin bulunmadığı belirlenmiştir [111]. Yine β-KN türevi olan EPVLGPVRGPFP, FPPQS, HQPHQPLPPT, KVLPVP, LHLPLP, LVYP, SQSKVLPVPQ, TGPIPN, VLGPVRGPFP ve VVPP peptitleri sadece Erzincan tulum peynirinde bulunmaktadır. Bu peptitlerden EPVLGPVRGPFP ve SQSKVLPVPQ kazeinin *Lactobacillus animalis* DPC6134 ile fermente edilmesiyle elde edilmiştir ve sentetik peptitlerin üretilmesiyle ACE-inhibisyon etkileri gösterilmiştir [112]. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581 ile fermente edilen sütte belirlenen FPPQS peptidinin ACE enzimini %13,88 oranında inhibe ettiği bildirilmiştir [113]. İnsan sütünde belirlenen LHLPLP ve LVYP dizilimlerinin IC_{50} değerleri sırasıyla 2,9 ve 170 μM olarak belirlenmiştir [114, 115]. LHLPLP peptidinin yüksek ACE-inhibisyon aktivitesinin peptitdeki aminoasit sayısının artması yani peptidin büyüklüğünün artmasıyla azaldığı görülmüştür. Yine bu peptidin bulunduğu β-KN bölgesinin insan, inek ve koyun sütünde korunduğu bildirilmiştir. Nitekim Erzincan tulum peynirinde LHLPLP peptidi inek sütü β-KN türevi olarak tanımlanmıştır. TGPIPN içeren keçi sütü hidrolizatıyla beslenen farelerde uzun dönemde antihipertensif etki görülmüştür [116]. Sentetik olarak üretilen VVPP ise 258,24 μM IC_{50} ile ACE-inhibisyon aktivtesi göstermiştir [117]. Erzincan tulum peynirinde belirlenen β-KN türevi biyoaktif peptitlerden YPFPGPIPN 8 ve 12 ay olgunlaştırılmış Gouda peynirlerinden izole edilmiş ve ACE-inhibisyon ve DPP-IV-inhibisyon etkileri belirlenmiştir [13, 118]. Aynı peptit dizilimi saf olarak sentezledikten sonra antioksidan aktivitesi ABTS ve oksijen radikal absorbans kapasitesi (Oxygen Radical Absorbance Capacity, ORAC) testleriyle belirlenmiştir. Koyun ve keçi sütünün *Cynara cardunculus* peptidazı ile hidrolize edilmesiyle üretilen peynir benzeri bir üründe belirlenen YQEPVLGP peptidinin ACE-inhibisyonu ve antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir [38].

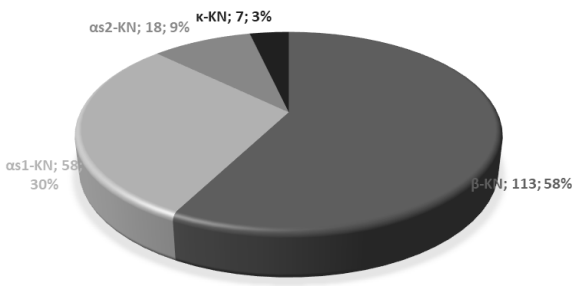


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.14 Erzincan tulum peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.15 Erzincan tulum peyniri alt fraksiyonlarında tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

HKEMPFPK, *E. coli* PTCC 1399, *S. aureus* PTCC 1431, *Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643 ve *Lactobacillus casei* PTCC 1608 bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite gösteren plazmin ile hidrolize edilmiş inek sütü β kazeini fraksiyonlarında tanımlanmıştır [119]. Biyoaktif peptitlerin katyonlukları ve hidrofobiklikleri antimikrobiyal aktivite için elzem özelliklerdir. Bunların yanı sıra peptidin C terminal pozisyonundaki amino asitin lizin (K), histidin (H) ve arjinin (R) gibi bazik amino asitler olmasının negatif yüklü bakteriyel membran ve hücre duvarı gibi yapılarla etkileşimin kurulmasında önemli olduğu vurgulanmıştır [119]. YQKFPQY ve YQKFPQYLQY $\alpha s2$ kazeinin orta bölgesinden türevlenmektedir. Keçi sütünün *Cynara cardunculus* peptidazı ile hidrolize edilmesiyle elde edilen ürünlerin suda çözünen ekstraktlarında bulunan YQKFPQY ACE-inhibisyonu için IC_{50} 95,46 μM iken antioksidan aktivitesi 0,068 mM trolox-eşdeğeri antioksidan kapasite olarak belirlenmiştir [38]. Aynı peptit dizilimi, pepsin ile hidrolize edilmiş inek kazeininde de tanımlanmıştır [134]. Bu çalışmada ACE-inhibisyonu için IC_{50} 20,08 μM, antioksidan aktivitesi 2,033 mmol trolox eşdeğeri/ mmol peptite (ORAC testi) olarak belirlenmiştir. YQKFPQYLQY ise kazeinin pepsin ve tripsin ile hidroliziyle üretilmiştir [135]. ACE-inhibisyon aktivitesine sahip bu peptidin IC_{50} değeri 11,1 μM olarak belirlenmiş ve farklı sıcaklık ve pH koşullarında korunduğu belirtilmiştir. Ayrıca YQKFPQYLQY diziliminin pepsin ve tripsin hidrolizine direçli olduğu bildirilmiştir. Yine bir $\alpha s2$-KN türevi olan NPWDQVKR yüksek glikoz ile tedavi edilen HepG2 hücrelerinde insülin direncini geliştirerek antidiyabetik etki göstermiştir [133].

Daha önce biyoaktivitesi belirlenmiş peptitlerin yanı sıra Erzincan tulum peynirinde bulunan diğer bazı peptitlerinin de biyoaktivite sahibi olması olsıdır. Peptitlerin antioksidan aktiviteleri için amino asit içeriği ve dizilimi önemli faktörlerdir [106]. Tirozin (T), lisin (K) ve fenilalanin (F) gibi aromatik amino asitler ile valin (V) ve lösin (L) gibi hidrofobik amino asitler antioksidan aktivite için öne çıkan amino asitlerdir. Ayrıca, PVVVPPF, TPVVVPPF ve TQTPVVVPPF peptitleri potansiyel antioksidan olarak değerlendirilmiştir [136]. Erzincan tulum peynirinde bu peptitlerin

Tablo 4.13 Erzincan tulum peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	Protein Fragmenti[1]	Biyoaktivite[2]	Kaynak
DKIHP	β-KN-(62-66)	ACE-i	[48]
DKIHPF	β-KN-(62-67)	ACE-i	[48]
EPVLGPVRGP	β-KN-(210-219)	Sitomodülatör	[111]
EPVLGPVRGPFP	β-KN-(210-221)	ACE-i	[112]
FPPQS	β-KN-(172-176)	ACE-i	[113]
HKEMPFPK	β-KN-(121-128)	Antimikrobiyal	[119]
HQPHQPLPPT	β-KN-(100-109)	ACE-i	[120]
KVLPVP	β-KN-(184-189)	ACE-i	[121]
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120]
LHLPLP	β-KN-(148-153)	ACE-i	[114]
LVYP	β-KN-(73-76)	ACE-i	[115]
RDMPIQAF	β-KN-(198-206)	ACE-i	[122]
SQSKVLPVPQ	β-KN-(181-190)	ACE-i	[112]
TGPIPN	β-KN-(78-83)	ACE-i	[116]
VLGPVRGPFP	β-KN-(212-221)	ACE-i	[123]
VLPVPQ	β-KN-(185-190)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VVPP	β-KN-(108-111)	ACE-i	[117]
VVVPPF	β-KN-(107-112)	ACE-i	[125]
YPFPGPIPN	β-KN-(75-83)	ACE-i, antioksidan, DPP-IV-i	[13, 118, 126]
YQEPVLGP	β-KN-(208-215)	ACE-i, antioksidan	[38]
YQEPVLGPVR	β-KN-(208-217)	ACE-i, antioksidan, antitrombotik, antienflamtuar, bağışıklık düzenleyici	[127–130]
EDVPSER	$\alpha s1$-KN-(99-105)	Osteoanabolik	[131]
GYLEQ	$\alpha s1$-KN-(108-112)	Antioksidan	[132]
KEDVPSE	$\alpha s1$-KN-(98-104)	ACE-i	[113]
RPKHPIK	$\alpha s1$-KN-(16-22)	Antimikrobiyal	[34]
RPKHPIKHQ	$\alpha s1$-KN-(16-24)	ACE-i	[13]
VAPFPE	$\alpha s1$-KN-(40-45)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
NPWDQVKR	$\alpha s2$-KN-(122-129)	Antidiyabetik	[133]
YQKFPQY	$\alpha s2$-KN-(104-120)	ACE-i, antioksidan	[38, 134]
YQKFPQYLQY	$\alpha s2$-KN-(104-123)	ACE-i	[135]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668, P11839, P34653, P04654, P02669, P33049, P02670, P18626 ve P33048

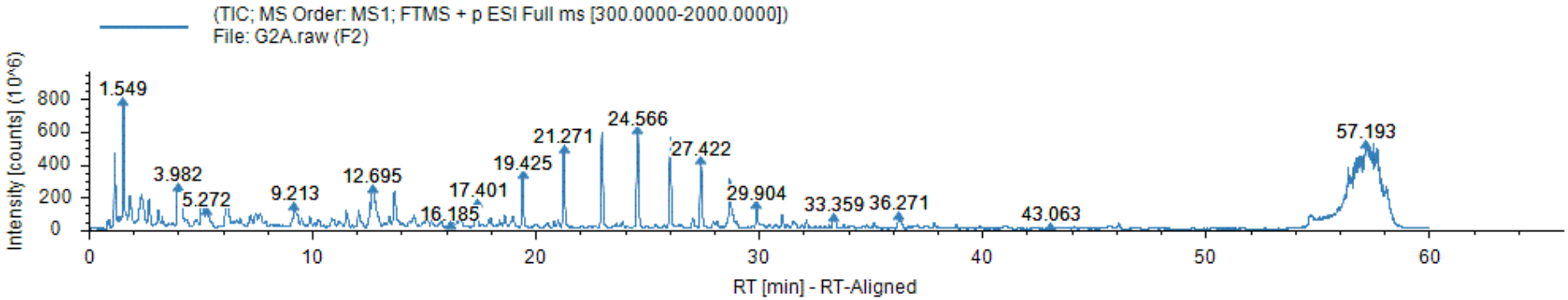
2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyonu, DPP-IV-i: dipeptidil peptidaz IV-inhibisyonu

yanı sıra aromatik ve hidrofobik amino asitleri içeren peptit dizilimleri yüksek sayıda bulunmaktadır. Erzincan tulum peynirinin yüksek antioksidan kapasitesi bu peptitler ve aminoasitlerden kaynaklanmış olabilir.

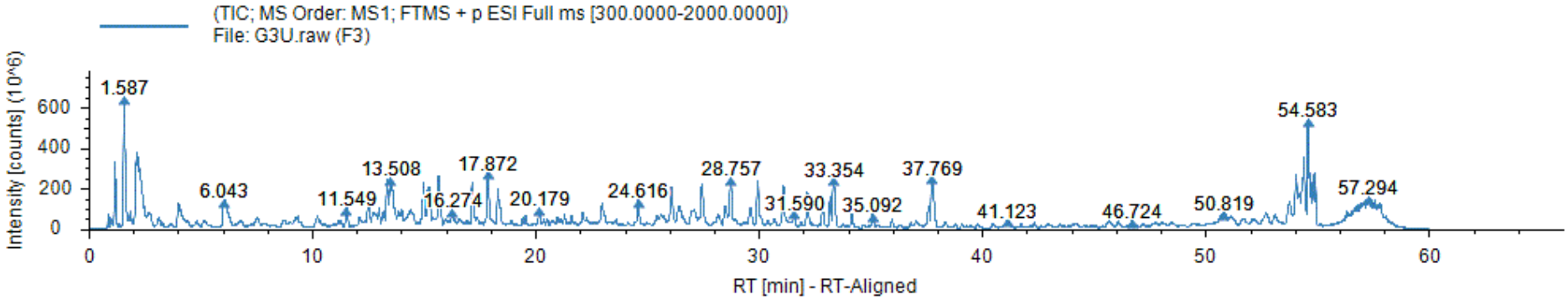
4.10.2 Kars Gravyer Peynirinde Tanımlanan Peptitler

Kars gravyer peynirinin suda çözünen ekstraktının alt ve üst fraksiyonlarının LC-MS/MS ile analizi sonucu elde edilen kromatogramlar şekil 4.16'de sunulmuştur. Kars gravyer peynirinin alt fraksiyonlarında 82, üst fraksiyonlarında ise 12 peptit tanımlanmıştır. Alt ve üst fraksiyonlarda tanımlanan peptitlerin ana proteinleri ve sayıları şekil 4.17'de sunulmuştur. Alt fraksiyonlarda $\alpha s1$-KN, $\alpha s2$-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 34, 10, 36 ve 2 olarak belirlenmiştir. Üst fraksiyonlarda ise 9 β-KN, 2 $\alpha s1$-KN ve 1 $\alpha s2$-KN türevi peptit bulunurken κ-KN türevi peptit belirlenememiştir. Erzincan tulum ile karşılaştırıldığında daha az sayıda peptit belirlenmiştir, ancak Erzincan tulum peynirinin üretiminde koyun, keçi ve inek sütü karışımının kullanılmış olması bu peynirdeki peptit sayısının fazla olmasının nedeni olabilir.

Kars gravyer peynirinde tanımlanan peptit dizilimlerinden 7 tanesi daha önce biyoaktivitesi belirlenmiş peptitlerle eşleşmiştir. Bu peptitlerin biyoaktiviteleri arasında ACE-inhibisyon, antimikrobiyal, osteoanabolik, antienflamtuar ve kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu etkileri bulunmaktadır. Yapılan yeni bir araştırmada, süt *Lactobacillus helveticus* R0389 ve *Lactocaseibacillus rhamnosus* R0011 ile fermente edilmiş ve oluşan peptitlerin biyoaktiviteleri araştırılmıştır [120]. Bu peptitlerden biyoaktif oldukları daha önce belirlenen dizilimler sentezlenerek ACE-inhibisyon ve antienflamatuar etkileri belirlenmiştir. Bir β-KN türevi olan KVLPVPQ araştırılan diğer peptitlere göre daha düşük ACE-inhibisyonu gösterdiği ve antienlamatuar etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu araştırmada en yüksek ACE-inhibisyon aktivitesini IPP ve VPP peptitleri göstermiştir. Yine bir β-KN türevi YPQRDMPIQ farklı enzimlerle modifiye edilen peynirlerin suda çözünen ekstraklarında belirlenmiş ve tanımlanmıştır. Manda sütü kazeini hidrolizatlarında belirlenen EDVPSER peptidinin osteoroporoza karşı koruyucu olabileceği bildirilmiştir [131]. Gouda peynirinde belirlenen ve olgunlaşmanın farklı dönemlerinde belirlenen temel peptitlerden olduğu belirtilen RPKHPIKQ peptidinin ACE-inhibisyon etkili olduğu bildirilmiştir [13]. VAPFPE peptidinin ise kolesterol misellerinin çözünürlüğünü azaltarak *in vitro* kolesterol düşürücü bir etkinin teorik temellerini oluşturduğu bildirilmiştir [124].

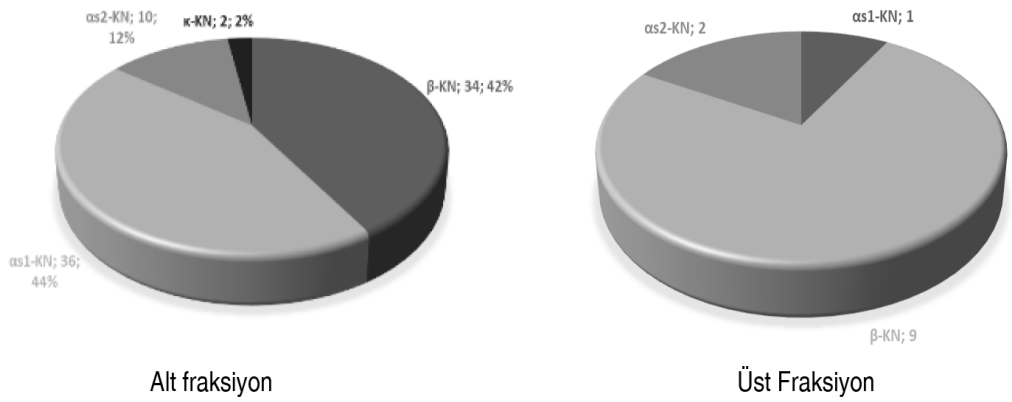


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.16 Kars gravyer peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.17 Kars gravyer peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

Antimikrobiyal etkili peptitler VLNENLLR ve IQPKTKVIPYVR $\alpha s2$-kazeinin N ve C terminal bölgelerinden türevlenen peptitlerdir. Kazeinin *Lactobacillus acidophilus* DPC6026 ile fermantasyonu sonucu oluşan VLNENLLR sentezlenerek saf peptidin *E. coli* JM109 DPC6053, *E. coli* O157:H7 DPC6054, *E. coli* O157:H7 DPC6055, *Cronobacter sakazakii* ATCC 12868 DPC6090, *Cronobacter sakazakii* NCTC 8155 DPC6091, *Listeria innocua* DPC3306, *Lactobacillus bulgaricus* ATCC 11842 DPC5383 ve *Streptococcus mutans* DPC4069 suşlarına karşı antibakteriyel etki gösterdiği bildirilmiştir [49]. Diğer antimikrobiyal peptit IQPKTKVIPYVR yine kazein hidrolizatında tanımlanmış ve ardından saf olarak sentezlenerek *E. coli* NBRC 3301 ve *Bacillus subtilis* NBRC 3134 suşlarına karşı aktivitesi belirlenmiştir [138].

Kars gravyer peynirinin dikkate değer bir antioksidan aktivite potansiyeli olmakla birlikte içeriğinde tanımlanan peptitlerin biyoaktiviteleri arasında antioksidan etki bulunmamaktadır. Bununla birlikte, sadece Kars gravyer peynirinde belirlenen β-kazeinin 41-61 bölgesinden türevlenen EDELQ, EEQQQTEDELQ, EQQQTEDELQ, FQSEEQQQTE, FQSEEQQQTEDELQ, IEKFQSEE, IEKFQSEEQQ, IEKFQSEEQQQTEDELQ, INKKIEKFQSEEQQQTEDELQ, KFQSEEQQ, KFQSEEQQQTEDELQ, KIEKFQSEEQQQTEDE, KIEKFQSEEQQQTEDELQ, QSEEQQQTEDELQ, SEEQQQTEDELQ ve TEDELQ dizilimlerinin potansiyel antioksidan aktivitenin kaynağı olabileceği düşünülmektedir. Antioksidan aktivite için glutamin (Q), prolin (P), histidin (H), glisin (G) ve lösin (L) önemli amino asitlerdir [139]. Bunun yanı sıra, kazein türevi antioksidan peptitlerin tipik olarak C terminal konumunda glutamin (Q), prolin (P) ve lösin (L) amino asitleri bulunmaktadır [106]. Kars gravyer peynirinde tanımlanan β-kazeinin 41-61 bölgesinden türevlenen peptitler bahsi geçen amino asitlerce zengin peptitlerdir. Bu nedenle antioksidan aktivite için önemli olabilecekleri değerlendirilmektedir. Ayrıca, β-KN türevi olan

Tablo 4.14 Kars gravyer peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	Protein Fragmenti[1]	Biyoaktivite[2]	Kaynak
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120]
YPQRDMPIQ	β-KN-(195-203)	ACE-i	[137]
EDVPSER	$\alpha s1$-KN-(99-105)	Osteoanabolik	[131]
RPKHPIKQ	$\alpha s1$-KN-(16-23)	ACE-i	[13]
VAPFPE	$\alpha s1$-KN-(40-45)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VLNENLLR	$\alpha s2$-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]
IQPKTKVIPYVR	$\alpha s2$-KN-(209-220)	Antimikrobiyal	[138]

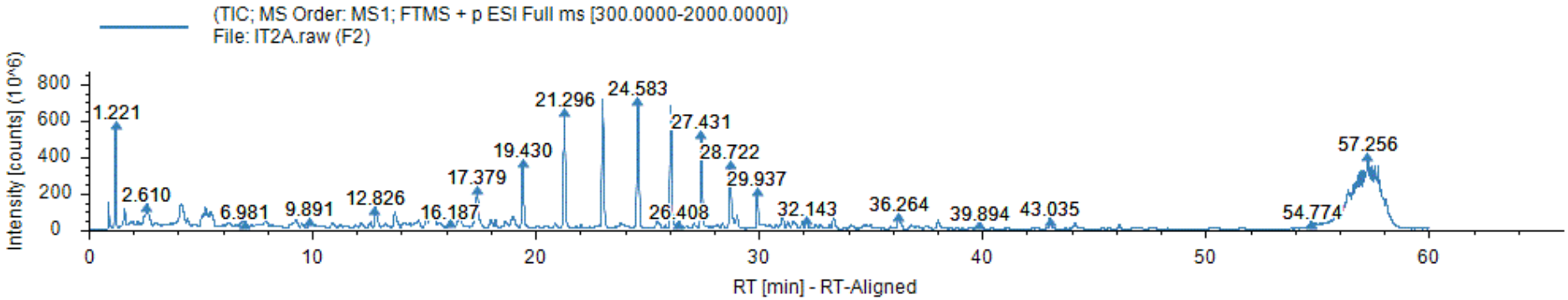
1 Protein dizilimi erişim kodları: P02662, P02666, P02663, P02668
2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon

RELEEL peptidinin antioksidan aktivitesinin C terminal konumunda bulunan EL dipeptidine bağlı olduğu değerlendirilmiştir [140]. Kars gravyerde tanımlanan ELEEL peptidinde aynı pozisyonda EL dipeptidi korunmuştur, bu peptidin de antioksidan aktivite konusunda etkili olabileceği düşünülmektedir. Antioksidan aktivitenin kaynağı olarak serbest amino asit içeriği de önemlidir. Tirozin (Y), metiyonin (M) ve triptofan (W) gibi antioksidatif serbest amino asitlerin varlığı da antioksidan aktiviteye katkı sağlamış olabilir [64].

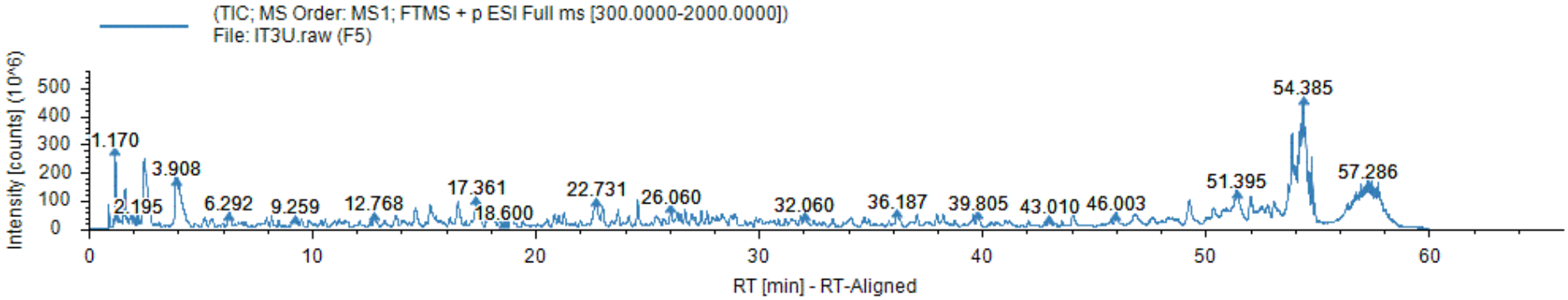
4.10.3 İzmir Tulum Peynirinde Tanımlanan Peptitler

İzmir tulum peynirinin suda çözünen ekstraktının alt ve üst fraksiyonlarına ait örnek LC-MS/MS kromatogramları şekil 4.18'de sunulmuştur. İzmir tulum peynirinin suda çözünen ekstraktlarının üst fraksiyonlarında 12 adet 3 kDa'dan büyük molekül ağırlığına sahip peptit tanımlanmıştır. Bu 12 peptidin 1 tanesi $\alpha s1$-KN, 2 tanesi $\alpha s2$-KN ve 9 tanesi β-KN türevidir. Alt fraksiyonlarında ise $\alpha s1$-KN, $\alpha s2$-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 32, 16, 49 ve 6, toplamda 103 olmuştur (şekil 4.19). Bu çalışmada araştırılan Erzincan tulum peyniri ile Mut, Karaman, Ereğli ve Anamur yörelerine ait tulum peynirlerinde tanımlanan peptitlerin sayıları farklıdır. Her ne kadar tüm bu peynirler tulum peyniri olarak anılsa da üretim yöntemleri farklıdır ve üretildiği bölgeye göre peynirin üretiminde kullanılan sütün kaynağı, doğal mikrobiyolojik ortamı ve üretim metodu peynirde bulunan peptitlerin sayısına ve dizilimlerine etki etmiştir.

İzmir tulum peynirinde tanımlanan peptitlerde 16 tanesi daha önce biyoaktivitesi belirlenen peptitlerdir (4.15). İzmir tulum peynirinde bulunan biyoaktif peptitlerin biyoaktiviteleri arasında DPP-IV-inhibisyon, ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, bağışıklık düzenleyici, antifungal ve antienflamatuar bulunmaktadır.

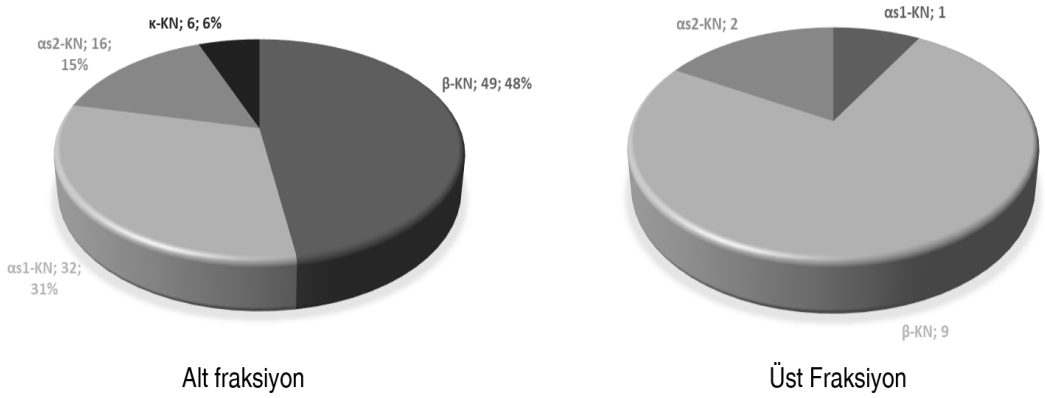


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.18 İzmir tulum peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.19 İzmir tulum peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

İzmir tulum peynirinde bulunan β-KN türevi biyoaktif peptitler arasında bulunan LNVPGEIVE ve VPGIEVE N terminal bölgeden türevlenmiştir. Sadece İzmir tulum peynirinde bulunan bu iki peptit diziliminden LNVPGEIVE *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SS1 ile üretilen fermente sütte tanımlanmıştır [141]. Sentetik olarak üretilen LNVPGEIVE için IC_{50} 300,1 μmol/L olarak belirlenmiştir. VPGIEVE ise DPP-IV-inhibisyon aktivitesi göstermiştir [142]. Bir amino dipeptidil peptidaz olan DPP-IV, inkretin hormonları, glikoza bağımlı insülinotropik polipeptit, glukagon benzeri peptit-1 (GLP-1) ve peptit YY (PYY) yi hidrolize ederek inaktive etmektedir. DPP-IV'ün inhibisyonu inkretin hormonlarının hidrolizini önleyerek bunların insülinotropik aktivitelerinin devamını sağlamaktadır [142]. DPP-IV inhibitörleri tip 2 diyabetin tedavisinde kulanılmaktadır. İzmir tulum peynirinde bulunan diğer DPP-IV inhibisyon etkili peptitler FPGPIPN, VPITPT ve IPPLTQTPV Japonya'da üretilen 12 ay olgunlaştırılmış gouda tipi bir peynirde belirlenmiştir [118]. Bu peptitlerden IPPLTQTPV çok fonksiyonlu bir peptit olup ACE-inhibisyon aktivitesine sahip olduğu da bildirilmiştir [141]. Sadece İzmir tulum peynirinde bulunan bir biyoaktif peptit olan FVAPFPEVFG *Lactobacillus helveticus* NCC 2765 ile üretilen kazein hidrolizatında belirlenmiş ve sentezlendikten sonra ACE-inhibisyon aktivitesi için IC_{50} değeri 650 μM olarak belirlenmiştir [143]. İzmir tulum peynirinde tanımlanan çok fonksiyonlu bir peptit olan TTMPLW αs1-KN C terminal bölgesinden türevlenmiştir ve farklı çalışmalarda antimikrobiyal, atifungal, ACE-inhibisyon, bağışıklık düzenleyici etkilere sahip olduğu belirlenmiştir [144–146]. YLEQLLR ise αs1-KN orta bölgesinden türevlenen % 42 oranında hidrofobik olan nötral bir peptit dizilimidir. Bu peptidin *E. coli* NEB 5α, *E. coli* ATCC 25922 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6051 suşlarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirilmiştir [147].

Tablo 4.15 İzmir tulum peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	**Protein Fragmenti**[1]	**Biyoaktivite**[2]	**Kaynak**
FPGPIPN	β-KN-(77-83)	DPP-IV-i	[118]
HKEMPFPKYPVEPFTESQ	β-KN-(121-138)	Antioksidan	[148]
IPPLTQTPV	β-KN-(64-71)	DPP-IV-i	[118, 141]
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120]
LNVPGEIVE	β-KN-(21-29)	ACE-i	[141]
VPGIEVE	β-KN-(23-29)	DPP-IV-i	[142]
VVVPPF	β-KN-(107-112)	ACE-i	[125]
YQEPVLGPVR	β-KN-(208-217)	ACE-i, antioksidan, antitrombotik, antienflamtuar, bağışıklık düzenleyici	[127–130]
FVAPFPEVFG	αs1-KN-(39-48)	ACE-i	[143]
TTMPLW	αs1-KN-(201-214)	Antimikrobiyal, atifungal, ACE-i, bağışıklık düzenleyici	[144–146]
VAPFPE	αs1-KN-(40-45)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VLNENLLR	αs1-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]
YLEQLLR	αs1-KN-(109-115)	Antimikrobiyal	[147]
IQPKTKVIPYVR	αs2-KN-(209-220)	Antimikrobiyal	[138]
VPITPT	αs2-KN-(130-137)	DPP-IV-i	[118]
HPHPHLSF	κ-KN-(119-126)	ACE-i, osteoanabolik	[131, 149]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668

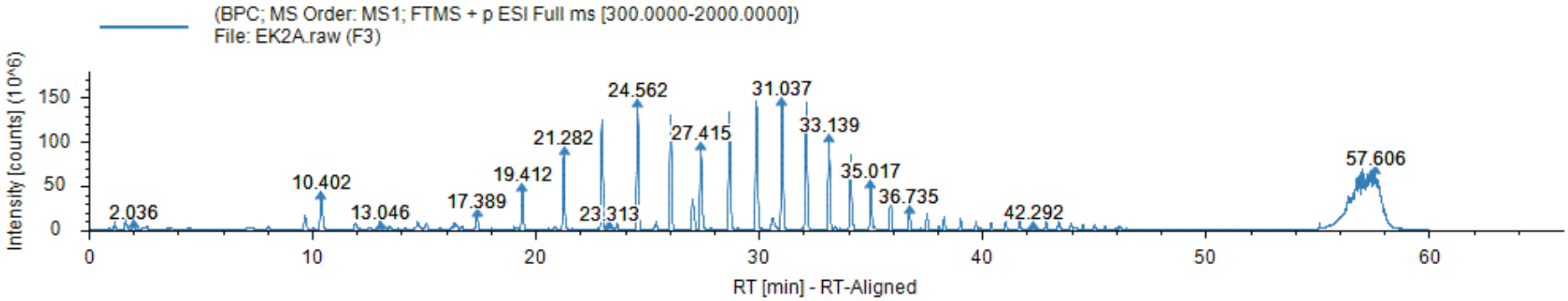
2 2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon, DPP-IV-i: dipeptidil peptidaz IV-inhibisyon

4.10.4 Eski Kaşar Peynirinde Tanımlanan Peptitler

Eski kaşar peynirinin suda çözünen ekstraktının alt ve üst fraksiyonlarının LC-MS/MS ile analizi sonucu elde edilen kromatogramlar şekil 4.20'de sunulmuştur. Eski kaşar peynirinin alt ve üst fraksiyonlarında sırasıyla 47 ve 10 olarak belirlenmiştir (4.17). Alt fraksiyonlarda $\alpha s1$-KN, $\alpha s2$-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 22, 3, 19 ve 3 olarak belirlenmiştir. Üst fraksiyonlarda ise 5 $\alpha s1$-KN, 1 $\alpha s2$-KN ve 4 β-KN türevi peptit bulunurken κ-KN türevi peptit belirlenememiştir. Alt fraksiyonlarında en az sayıda peptit içeren peynir eski kaşar olmuştur. Alt ve üst fraksiyonların toplamında ise 57 peptit içeren eski kaşar peyniri Ezine peynirinin toplam peptit sayısına göre daha fazla peptit içermektedir.

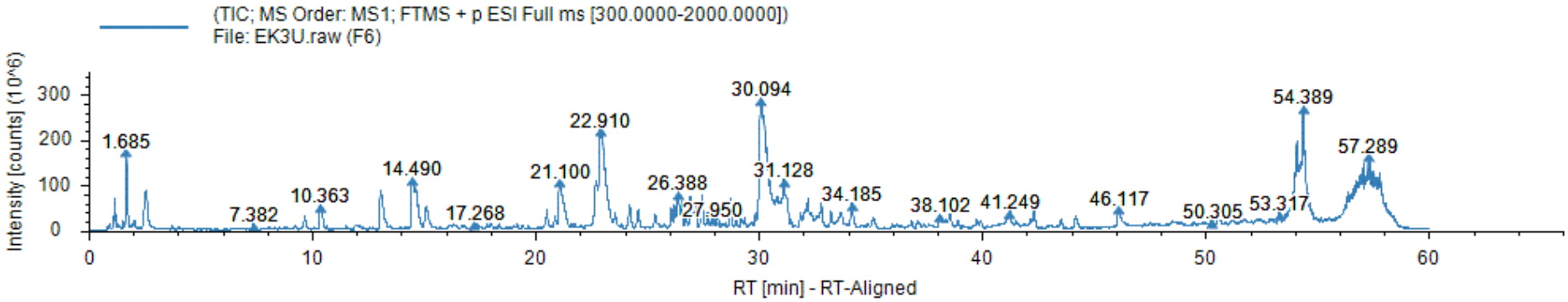
Eski kaşar peynirinde bulunan peptitlerin 13 peptit dizilimi daha önce yapılan çalışmalarda farklı biyoaktivitelerle ilişkilendirilmiştir (4.16). Eski kaşar peynirinde bulunan biyoaktif peptitlerin biyoaktiviteleri arasında ACE-inhibison, fosfoenolpiruvat (PEP)-inhibisyon, DPP-IV-inhibisyon, antioksidan, antiamnestik, antienflamatuar ve antimikrobiyal aktivite bulunmaktadır. Eski kaşar peynirinde bulunan RDMPIQAF β-kazeinin *Lactobacillus helveticus* CP790 proteinazı ile hidrolizi sonucu elde edilen etkili bir ACE-inhibisyon etkisine sahip olduğu bildirilmiştir (IC_{50}=25 μM) [122]. β-KN türevi bazı peptitlerin ACE-inhibisyon aktivitelerinin sindirim enzimleri ile muamele sonucu aktivitelerindeki değişikliklerin araştırıldığı bir çalışmada VVVPPF peptidinin ACE-inhibisyon kapasitesinin sindirim sonrası arttığı gözlenmiştir [125]. VVVPPF peptit diziliminin sindirim enzimlerinin etkisiyle hidrolizi sonucu VVVPP fragmentinin oluşabileceği ve bu fragmentin C terminal bölgede bulunan VPP dizilimine sahip olması nedeniyle ACE-inhibisyon aktivitesinde artışa neden olabileceği değerlendirilmiştir. VPP insan ve hayvan denemelerinde antihipertensif etkisi kanıtlanmış güçlü bir ACE-inhibisyon etkisine sahiptir.

Yine eski kaşar peynirinde bulunan bir β-KN-(208-217) fragmenti YQEPVLGPVR ACE-inhibisyon, antioksidan, antitrombotik, bağışıklık düzenleyici ve antienflamtuar etkilere sahip bir çok fonksiyonlu biyoaktif peptittir. Bu peptit düşük konsantrasyonda lemfosit sayısının artışını inhibe ederken, yüksek konsantrasyonda tersi bir etkiyle lemfosit sayısının artışını teşvik etmektedir [127]. Aynı peptit dizilimi ticari olarak satılan cheddar peynirlerinin farklı olgunluk seviyelerinde belirlenmiş ve ACE-inhibisyon aktivitesiyle ilişkilendirilmiştir [129]. Bir başka çalışmada ise YQEPVLGPVR diziliminin trombini aktif bölgesiyle etkileşime girerek inhibe ettiği belirlenmiştir [128]. Son olarak bu peptidin antienflamatuar etkileri ve antioksidan etkileri (ABTS ve ORAC testleri) belirlenmiştir [130].



Alt fraksiyon

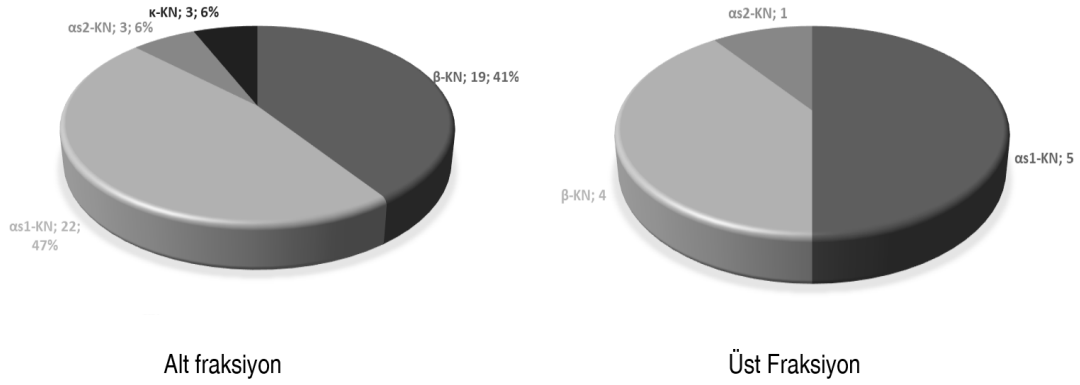
(a)



Üst fraksiyon

(b)

Şekil 4.20 Eski kaşar peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.21 Eski kaşar peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

Tablo 4.16 Eski kaşar peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	**Protein Fragmenti**[1]	**Biyoaktivite**[2]	**Kaynak**
DKIHP	β-KN-(62-66)	ACE-i	[48]
DKIHPF	β-KN-(62-67)	ACE-i	[48]
IHPFAQTQ	β-KN-(64-71)	PEP-i, antiamnestik	[150, 151]
IPPLTQTPV	β-KN-(64-71)	DPP-IV-i, ACE-i	[118, 141]
RDMPIQAF	β-KN-(198-206)	ACE-i	[122]
VPGIEVE	β-KN-(23-29)	DPP-IV-i	[142]
VVVPPF	β-KN-(107-112)	ACE-i	[125]
YQEPVLGPVR	β-KN-(208-217)	ACE-i, antitrombotik, antioksidan, antienflamtuar, bağışıklık düzenleyici	[127–130]
FFVAP	αs1-KN-(38-42)	ACE-i	[120, 152]
FPEVFGK	αs1-KN-(43-49)	ACE-i	[146]
RPKHPIK	αs1-KN-(16-22)	Antimikrobiyal	[34]
RPKHPIKHQ	αs1-KN-(16-24)	ACE-i	[13]
VLNENLLR	αs1-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668
2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon, PEP-i: fosfoenolpiruvat-inhibisyon, DPP-IV-i: dipeptidil peptidaz IV-inhibisyon

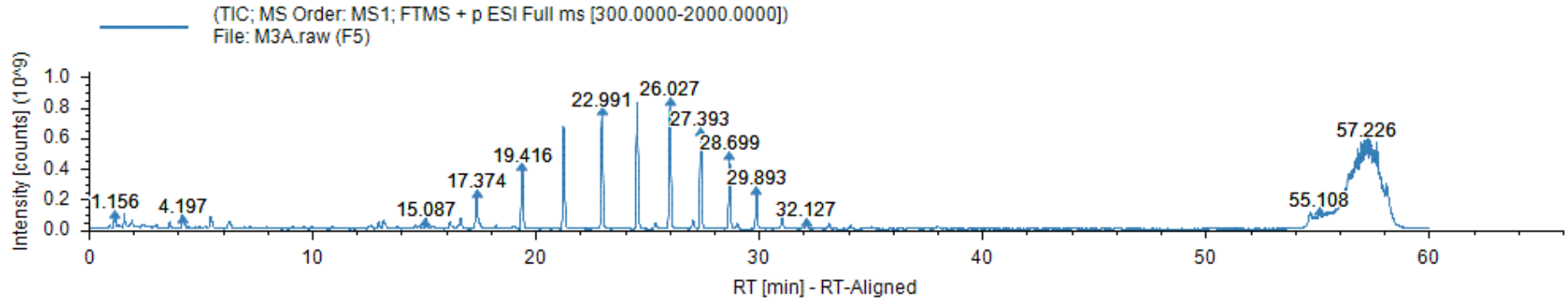
Eski kaşar peynirinde tanımlanan αs1-KN türevi FFVAP ACE-inhibisyon etkisine sahip olan inek kazeininin hidrolizatında tanımlanmıştır [152]. 2020 yılında yine aynı peptit saf olarak sentezlenmiş ve ACE-inhibisyon aktivitesi gösterilmiştir [120]. FPEVFGK kazein hidrolizatında tanımlandıktan sonra sentezlenmiş ve IC_{50} değeri 140 μM olarak belirlenmiştir [146]. Kaşar peynirinin antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada 3 ay olgunlaştırılmış kaşar peynirinde suda çözünen ekstraktların yüksek aktiviteye sahip fraksiyonlarında RPKHPIK-H-Q, RPKHPIK+H ve

RPKHPIKH+Q peptitleri tanımlanmıştır [16]. Bunlar, farklı biyoaktivitelere sahip olan israsidin αs1-KN (1-23) parçalarıdır [60]. Aynı zamanda RPKHPIK ve RPKHPIKHQ dizilimlerinin antimikrobiyal ve ACE-inhibisyon etkisine sahip olduğu belirlenmiştir [13, 34].

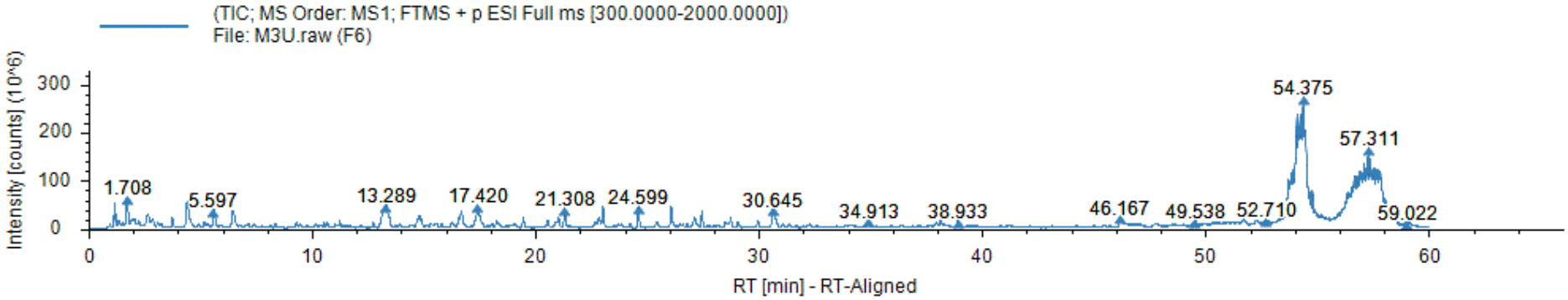
4.10.5 Mihaliç Peynirinde Tanımlanan Peptitler

Mihaliç peynirinin suda çözünen ekstraktlarının alt ve üst fraksiyonlarına ait örnek LC-MS/MS kromatogramları şekil 4.22'de sunulmuştur. Mihaliç peynirinin suda çözünen ekstraktlarının üst fraksiyonlarında β-KN türevi olan 17 peptit tanımlanmıştır. Alt fraksiyonlarında ise αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 28, 4, 32 ve 2, toplamda 66'dir (şekil 4.23). Mihaliç ppeynirinde eski kaşara göre daha fazla sayıda peptit bulunmakla birlikte olgunlaşma indeksi yüksek olan Erzincan tulum, İzmir tulum ve Kars gravyer peynirlerine göre daha az sayıda peptit içermektedir.

Mihaliç peynirinde tanımlanan toplan 66 peptit dizilimi içinde 11 peptit dizilimi, bilinen biyoaktif peptitlerle eşleşmiştir (4.17). Mihaliç peynirinde bulunan biyoaktif peptitlerin biyoaktiviteleri arasında dipeptidil peptidaz (DPP) IV-inhibisyon, ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, antiamnestik, antienflamatuar, DPP-IV-inhibisyon, PEP-inhibisyon ve kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu bulunmaktadır. İspanya'da üretilen Manchego, Roncal, Idiazábal, Cabrales ve keçi peynirlerinde tanımlanan DKIHP ve DKIHPF peptitlerinin ACE-inhibisyon aktivitesi sentetik peptitlerle doğrulanmış ve IC_{50} değerleri sırasıyla 113,1 ve 2419,4 μM olarak belirlenmiştir [48]. Bir biyoaktif peptidin ACE-inhibisyon kapasitesi C terminaldeki amino aside güçlü şekilde bağlıdır [9]. C terminalde bulunan arjinin (R), prolin (P) ve lizin (K) gibi hidrofobik amino asitler peptit-ACE bağına katkıda bulunmakta ve böylece ACE-inhibisyon kapasitesi artmaktadır. DKIHP ve DKIHPF peptitlerinin ACE-inhibisyon kapasiteleri arasındaki farkın C terminaldeki amino asitten kaynaklandığı değerlendirilmiştir. C terminalde fenilalanin ayrıldığında oluşan peptidin C terminalinde bulunan prolin ACE-inhibisyon aktivitesinin artmasını sağlamıştır.

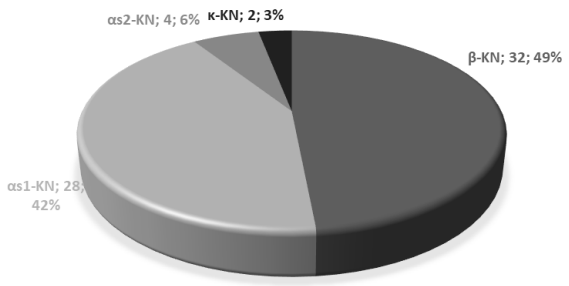


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.22 Mihaliç peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.23 Mihaliç peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

Sentetik olarak üretilen IHPFAQTQ PEP-inhibisyonu etkisi göstermiştir [150]. Prolil endopeptidaz (PEP) enzimi inhibitörlerinin antiamnestik ajan olarak davranabileceği belirtilmiştir. Mihaliç peynirinde bulunan bir $\alpha s1$-KN türevi AYFYPE, *in vivo* ve *in vitro* olarak antioksidan ve ACE-inhibisyon aktivitesi göstermiştir [122]. Son yıllarda yapılan bir çalışmada aynı peptit dizilimi sentezlenerek ACE-inhibisyon ve antioksidan aktiviteleri (ORAC ve ABTS testleri) doğrulanmıştır [50, 126, 153]. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581 ile elde edilen kazein hidrolizatlarında ACE-inhibisyon etkili peptitler arasında GLPQE tespit edilmiştir [113]. GLPQE diziliminin ACE-inhibisyon kapasitesi %13,99 olarak belirlemiştir.

Tablo 4.17 Mihaliç peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	**Protein Fragmenti**[1]	**Biyoaktivite**[2]	**Kaynak**
DKIHP	β-KN-(62-66)	ACE-i	[48]
DKIHPF	β-KN-(62-67)	ACE-i	[48]
IHPFAQTQ	β-KN-(64-71)	PEP-i, antiamnestik	[150, 151]
IPPLTQTPV	β-KN-(64-71)	DPP-IV-i, ACE-i	[118, 141]
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120]
VPGIEVE	β-KN-(23-29)	DPP-IV-i	[142]
AYFYPE	$\alpha s1$-KN-(158-163)	ACE-i, antioksidan	[122, 126, 153]
GLPQE	$\alpha s1$-KN-(25-29)	ACE-i	[113]
KEDVPSE	$\alpha s1$-KN-(98-104)	ACE-i	[113]
VAPFPE	$\alpha s1$-KN-(40-45)	Kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VLNENLLR	$\alpha s1$-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]

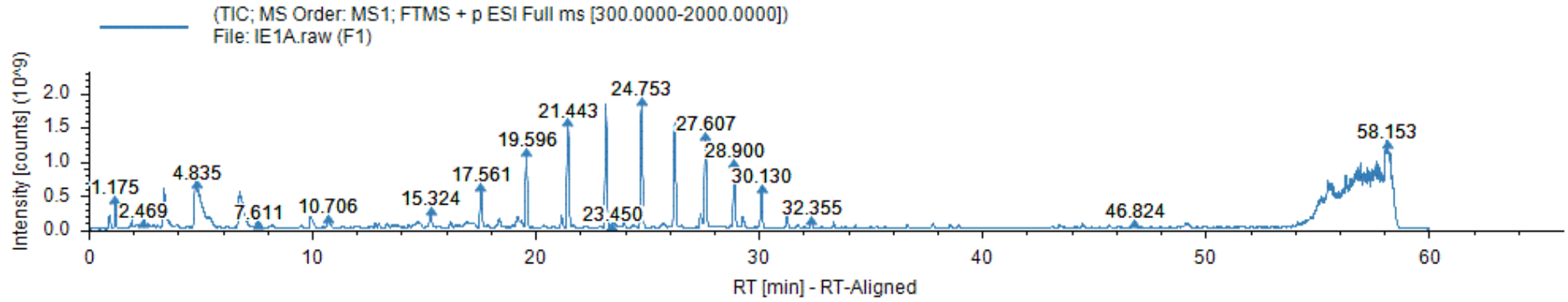
1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668
2 ACE-i: Anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon PEP-i: fosfoenolpiruvat-inhibisyon, DPP-IV-i: dipeptidil peptidaz IV-inhibisyon

4.10.6 İnek Peynirinde Tanımlanan Peptitler

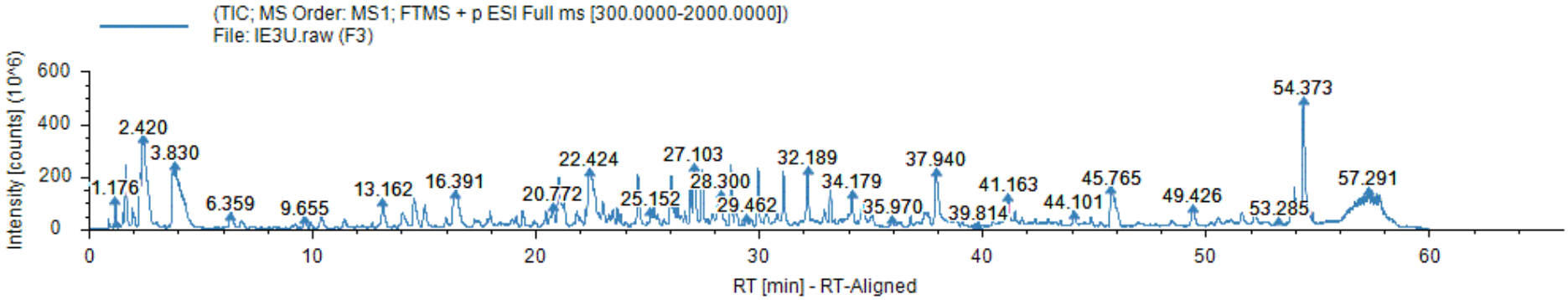
İnek peynirinin suda çözünen ekstraktının alt ve üst fraksiyonlarına ait örnek LC-MS/MS kromatogramları şekil 4.24'de sunulmuştur. İnek peynirinin suda çözünen ekstraktlarının alt fraksiyonlarında αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 105, 40, 60 ve 12, toplamda 217 olmuştur (şekil 4.25). Üst fraksiyonlarında ise αs1-KN, αs2-KN ve β-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 17, 3 ve 21, toplamda 41 olmuştur (şekil 4.25). Üst fraksiyonlarda κ-KN türevi peptit bulunmamıştır. Araştırılan 8 peynir çeşidi içinde en fazla sayıda peptit tanımlanan peynir çeşidi inek peyniri olmuştur. Ayrıca inek peynirinde tanımlanan peptitlerin büyük bir çoğunluğu αs1-KN'den türevlenmiştir. Tulum peynirlerinde tanımlanan peptit dizilimlerinin daha çok β-KN türevleri olduğu görülmüştür. Sadece inek sütüyle üretilmiş olmakla birlikte inek peynirindeki peptit sayısının diğer peynirlere göre daha yüksek olmasının sütün doğal kompozisyonu, peynirin doğal mikrobiyotası ve üretim metoduna bağlı olduğu düşünülmektedir.

İnek peynirinde tanımlanan peptitlerin MBPDB ve BIOPEP-UWM veritabanlarında araştırıldığında 35 peptit dizilimi biyoaktif peptitlerle eşleşme göstermiştir. Eşleşme gösteren peptitler, bunların biyoaktiviteleri ve bu aktivitelerin belirlendiği çalışmalar tablo 4.18'de sunulmuştur. İnek peynirinde belirlenen biyoaktif peptitlerin fonksiyonları arasında ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, osteoanabolik, kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu ve antidiyabetik etkiler bulunmaktadır. En yaygın biyoaktivite olan ACE-inhibisyon aktivitesine sahip 17 peptidin 8 tanesi farklı biyoaktivitelerle birlikte çok fonksiyonlu peptitlerdir. Antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip peptitler en çok bulunan diğer biyoaktif peptitlerdir.

İnek peynirinde tanımlanan EAMAPK β-KN orta bölgesinden türevlenen bir antimikrobiyal peptittir [119]. *E. coli* PTCC 1399, *S. aureus* PTCC 1431, *Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643 ve *Lactobacillus casei* PTCC 1608 bakterilerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir. Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı MIK (minimum inhibitör konsantrasyon) değerleri sırasıyla 20-30 ve 60 mg/mL olarak belirlenmiştir ve bu peptidin Gram(+) bakterilere karşı etkisinin daha güçlü olduğu belirtilmiştir. LHLPLPL, SKVLPVPQ, SQSKVLPVPQ ve YQEPVL β-KN türevi ACE-inhibisyon etkili peptitlerdir [112, 122, 123, 154]. LHLPLPL *Enterococcus faecalis* ile fermente edilmiş sütte belirlenmiştir ve IC_{50} değeri 425 μM olarak hesaplanmıştır [123]. SQSKVLPVPQ 92 μM IC_{50} değeri ile daha etkili bir ACE-inhibisyon etkisine sahiptir [112]. SQSKVLPVPQ diziliminin içinde yer alan SKVLPVPQ IC_{50} değeri ise 39 μg/mL olarak belirlenmiştir. Yoğurttan saflaştırılarak elde edilen YQEPVL ise 6,09 μg/mL olan IC_{50} değeri ile etkili bir ACE-inhibisyon aktivitesi göstermiştir [154].

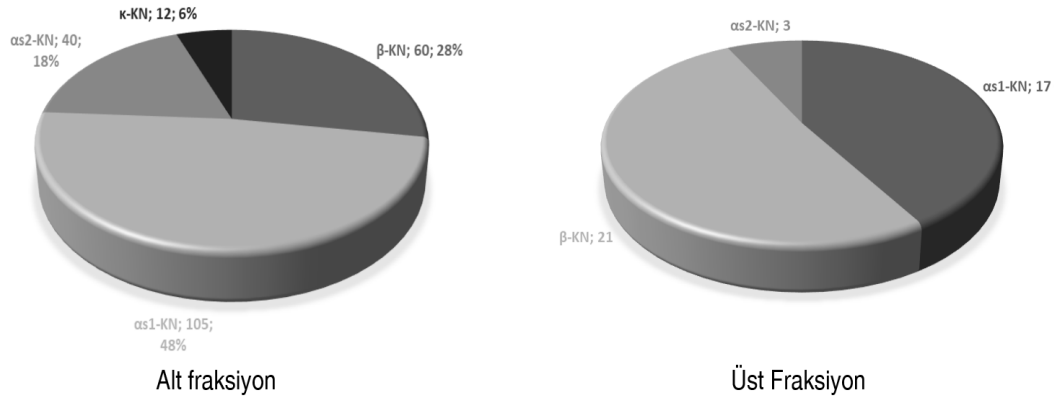


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.24 İnek peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.25 İnek peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

α-KN türevi olan ACE-inhibisyon aktivitesine sahip peptitler arasında bulunan AYFYPEL ve YLGYLE aynı zamanda antioksidan aktiviteye de sahiptir. AYFYPEL ve YLGYLE için IC_{50} değerleri 6,58 ve 85,76 μM olarak belirlenmiştir [126, 134]. AYFYPEL ORAC testinde antioksidan aktivite gösterirken YLGYLE diziliminin antioksidan aktivitesi ORAC ve ABTS testleriyle belirlenmiştir. Diğer ACE-inhibisyon etkili peptitler EKVNELSK ve ENLLRF ise kazein hidrolizatı ve keçi sütü kefirinde tanımlanmışlardır [155]. EKVNELSK kazein hidrolizaında tanımlandıkltan sonra sentezlenmiş ve ACE-inhibisyon etkisinin mekanizması incelenmiştir [155, 156]. Bu araştırma sonucunda EKVNELSK peptidinin ACE'nin hem aktif hem de inaktif bölgelerine bağlanarak enzimi inhibe eden, karışık tip ACE-inhibisyon modunu sergilediği belirlenmiştir. Keçi sütünden üretilen kefirde tanımlanan ENLLRF peptidi sentezlendikten sonra ACE-inhibisyon etkisi ve *in vitro* sindirimin aktivite üzerine etkisi belirlenmiştir [156]. Sindirim sonucu ENLLRF parçalanmış ve IC_{50} değeri 0,065 mg/mL'den 0,406 mg/mL'ye yükselmiştir. İnek peynirinde tanımlanan, IKHQGLPQE peptidi *E. coli*, *Cronobacter sakazakii*, *Streptococcus mutans* ve *Listeria innocua* üzerinde yüksek derecede antibakteriyel aktivite göstermiştir [49]. YLEQLLR ise *E. coli* NEB 5α, *E. coli* ATCC 25922 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6051 bakterilernekarşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir [147]. YFYPE ise deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda opioid agonistik aktivite göstermiştir [157].

αs2-KN türevi olan LKKISQ, TKVIPYVRYL ve WIQP sadece inek peynirinde bulunan peptit dizilimleridir. Bunlardan LKKISQ ve TKVIPYVRYL antimikrobiyal peptitlerdir. LKKISQ *E. coli* ATCC 25922, *Listeria innocua* CECT 910 T, *Staphylococcus epidermidis* CECT 231, *Enterococcus faecalis* CECT 795, *Serratia marcescens* CECT 854 ve *Staphylococcus carnosus* CECT 4491T bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. TKVIPYVRYL diziliminin antimikrobiyal aktivitesi ise *Listeria monocytogenes* LO28 ve

Tablo 4.18 İnek peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	Protein Fragmenti[1]	Biyoaktivite[2]	Kaynak
DKIHPF	β-KN-(62-67)	ACE-i	[48]
EAMAPK	β-KN-(115-120)	Antimikrobiyal	[119]
IPPLTQTPV	β-KN-(64-71)	DPP-IV-i, ACE-i	[118, 141]
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120]
LHLPLPL	β-KN-(148-153)	ACE-i	[123]
PVVVPPFLQPE	β-KN-(96-105)	Antimikrobiyal	[158]
QEPVLGPVRGPFP	β-KN-(209-221)	ACE-i, antidiyabetik	[113, 133]
SKVLPVPQ	β-KN-(183-190)	ACE-i	[122]
SQSKVLPVPQ	β-KN-(181-190)	ACE-i	[112]
VLPVPQ	β-KN-(185-190)	Kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
YQEPVL	β-KN-(208-213)	ACE-i	[154]
YQEPVLGP	β-KN-(208-215)	ACE-i, antioksidan	[38]
YQEPVLGPVR	β-KN-(208-217)	ACE-i, antioksidan, antitrombotik, antienflamtuar, bağışıklık düzenleyici	[127–130]
AYFYPE	αs1-KN-(158-163)	ACE-i, antioksidan	[122, 126]
AYFYPEL	αs1-KN-(158-164)	ACE-i, opioid	[126, 159]
EDVPSER	αs1-KN-(99-105)	Osteanabolik	[131]
EKVNELSK	αs1-KN-(50-57)	ACE-i	[155]
ENLLRF	αs1-KN-(33-38)	ACE-i	[156]
GLPQE	αs1-KN-(25-29)	ACE-i	[113]
GYLEQ	αs1-KN-(108-112)	Antioksidan	[132]
IKHQGLPQE	αs1-KN-(21-29)	Antimikrobiyal	[49]
RPKHPIKHQ	αs1-KN-(16-24)	ACE-i	[13]
VAPFPE	αs1-KN-(40-45)	Kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VLNENLLR	αs1-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]
YFYPE	αs1-KN-(30-37)	Opioid	[157]
YLEQLLR	αs1-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[147]
YLGYLE	αs1-KN-106-111)	Antioksidan, ACE-i	[126]
IQPKTKVIPYVR	αs2-KN-(209-220)	Antimikrobiyal	[138]
LKKISQ	αs2-KN-(179-184)	Antimikrobiyal	[160]
TKVIPYVRYL	αs2-KN-(213-211)	Antimikrobiyal	[161]
WIQP	αs2-KN-(213-211)	ACE-i	[162]
YQKFPQY	αs2-KN-(104-120)	Antioksidan, ACE-i	[38]
HPHPHLSF	κ-KN-(119-126)	ACE-i, osteoanabolik	[131, 149]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668
2 PEP: fosfoenolpiruvat, DPP dipeptidil peptidaz

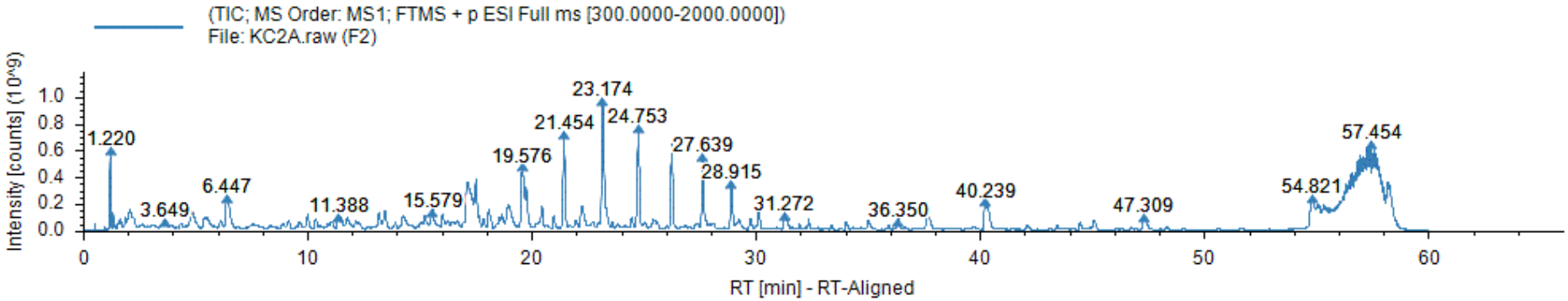
Cronobacter sakazakii DPC6440 bakterilerine karşı etkileri ile ortaya konmuştur [161]. WIQP ise *Aspergillus niger*'den elde edilen proteinaz ile hidrolize edilen ACE-inhibisyon

aktivitesine sahip kazein fraksiyonlarında belirlenmiştir [162].

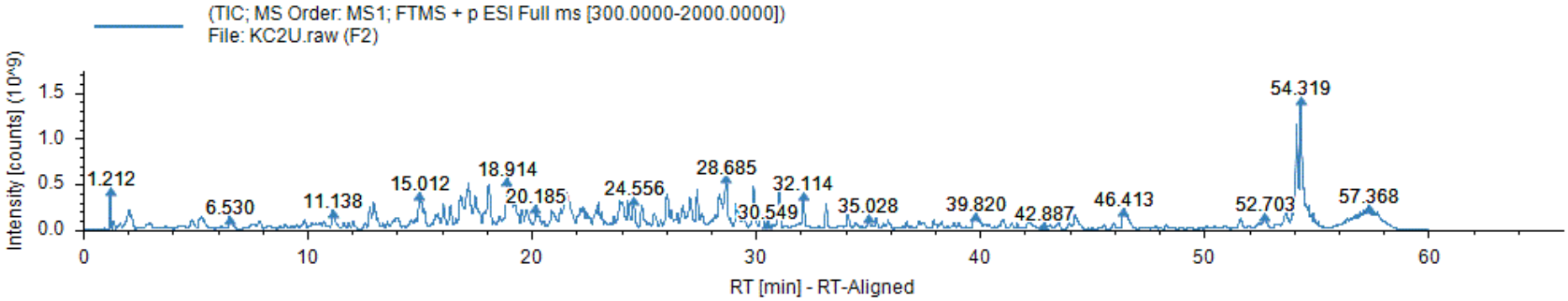
4.10.7 Keçi Peynirinde Tanımlanan Peptitler

Keçi peynirinin suda çözünen ekstraktlarının alt ve üst fraksiyonlarına ait örnek LC-MS/MS kromatogramları şekil 4.26'de sunulmuştur. Keçi peynirinin suda çözünen ekstraktlarının üst fraksiyonlarında αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 8, 6, 4 ve 3 olarak belirlenmiştir. Alt fraksiyonlarında ise αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen peptitlerin sayısı sırasıyla 75, 76, 28 ve 9, toplamda 188'dir (şekil 4.27). Keçi peyniri içerdiği peptit sayısı açısından inek ve Erzincan tulum peynirlerinin ardından gelmektedir. İnek peyniri ile aynı yöntemle üretildiğinden peptit sayıları arasındaki farkın peynirin olgunlaşma süresi ve sütün çeşidinden kayaklandığı düşünülmektedir. Farklı kaynaklardan elde edilen kazeinlerin dizilimleri benzer olmakla birlikte, bunların sindirimleri sonucu elde edilen peptitlerin dizilimleri farklı olabilmektedir. *İn vitro* sindirime uğratılmış inek sütünden keçi ve koyun sütlerine göre daha fazla peptit dizilimi bulunduğu bildirilmiştir [104]. Bununla birlikte, keçi ve koyun sütünde daha fazla ortak peptit dizilimi belirlenmiştir.

Keçi peynirinde ACE-inhibisyon, antimikrobiyal, antioksidan, kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu, antidiyabetik, antienflamatuar ve osteoanabolik etkilere sahip olan 18 farklı biyoaktif peptit tespit edilmiştir (4.19). Diğer peynir çeşitlerinde olduğu gibi biyoaktif peptitlerin aktivitelerinde ACE-inhibisyon en yaygın etkidir. Bunu antioksidan etkiye sahip peptitler izlemektedir. Keçi peynirinde bulunan biyoaktif peptitlerden KIHPFAQAQ ve QEPVLGPVRGPFP ACE-inhibisyon etkili β-KN türevleridir. Bu peptitlerden KIHPFAQAQ keçi sütünden üretilen kefirde tanımlanmıştır [156]. ACE-inhibisyonu için IC_{50} değeri 0,138 mg/mL iken, *in vitro* sindirim sonrası peptidin hidrolize olmasına bağlı olarak aktivitesi azalarak 0,215 mg/mL olmuştur. QEPVLGPVRGPFP ise *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581 ile fermente edilen sütün en yüksek ACE-inhibisyon aktivitesine (% 98,61) sahip olan fraksiyonunda tanımlanan iki peptit diziliminden biridir [113]. QEPVLGPVRGPFP aynı zamanda insülin direncini tedavi ederek antidiyabetik etki gösteren keçi sütü kazein hidrolizatlarında tanımlanmıştır [133]. Araştırmacılar, QEPVLGPVRGPFP diziliminde bulunan glisin (G) ve prolinin (P) insülin hassasiyetinde önemli rol oynadıklarını değerlendirmişlerdir. KVLPVPQK peptidinin serbest radikal üreten lipoksigenaz, linoleik asitin okdsidasyonu ve hemoglobinle katalizlenmiş linoleik hidroperoksit oksidasyonu testleriyle antioksidan aktivitesi belirlenmiştir [163]. Sentetik peptitlerle yapılan bir çalışmada FPKYPVEPF diziliminin *in vitro* antioksidan etkisi yüksek iken *in vivo* testlerde oksidatif stresi azaltmada etkisi sınırlı olmuştur.

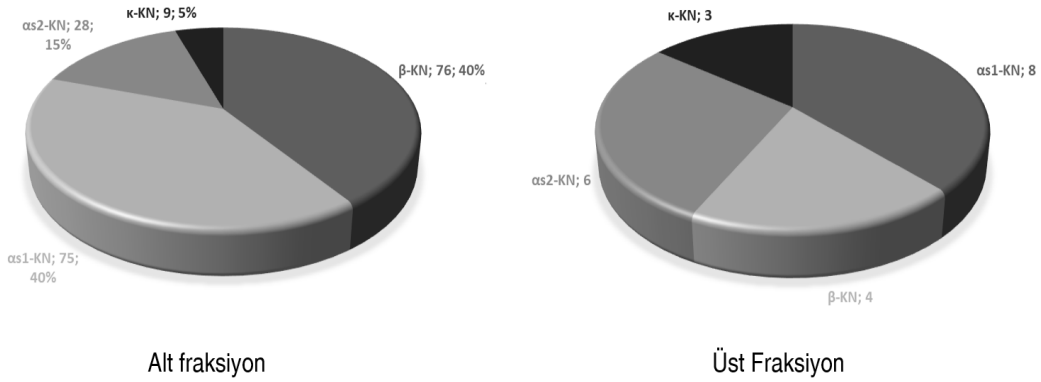


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.26 Keçi peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.27 Keçi peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

Tablo 4.19 Keçi peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	**Protein Fragmenti**[1]	**Biyoaktivite**[3]	**Kaynak**
FPKYPVEPF	β-KN-(126-134)	Antioksidan	[148]
FPPQS	β-KN-(172-176)	ACE-i	[113]
KIHPFAQAQ	β-KN-(63-71)	ACE-i	[156]
KVLPVP	β-KN-(184-189)	ACE-i	[121]
KVLPVPQ	β-KN-(184-190)	ACE-i, antienflamatuar	[120, 121]
KVLPVPQK	β-KN-(184-191)	Antioksidan	[148, 163]
PVVVPPFLQPE	β-KN-(96-106)	Antimikrobiyal	[158]
QEPVLGPVRGPFP	β-KN-(209-221)	ACE-i, antidiyabetik	[113, 133]
VLPVPQ	β-KN-(185-190)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
YQEPVLGP	β-KN-(208-215)	ACE-i, antioksidan	[38]
EDVPSER	αs1-KN-(99-105)	Osteoanabolik	[131]
GYLEQ	αs1-KN-(108-112)	Antioksidan	[132]
KEDVPSE	αs1-KN-(98-104)	ACE-i	[113]
KKYNVPQ	αs1-KN-(117-123)	ACE-i	[164]
RPKHPIKHQ	αs1-KN-(16-24)	ACE-i	[13]
VAPFPE	αs1-KN-(40-45)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
YQKFPQY	αs2-KN-(104-120)	ACE-i, antioksidan	[38]
HPHPHLSF	αs2-KN-(119-126)	ACE-i, osteoanabolik	[131, 149]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668, P33049, P02670, P18626 ve P33048
2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon

Proteolitik bir bakteri olan *Arsukibacterium ikkense* kullanılarak üretilen kazein hidrolizatlarının yüksek antioksidan aktivite gösteren HPLC fraksiyonlarında αs1-KN türevi olan GYLEQ tanımlanmıştır [132]. αs1-KN türevi olan biyoaktif peptitler arasında yer alan KEDVPSE ve KKYNVPQ ise ACE-inhibisyonu aktivitesi göstermiştir

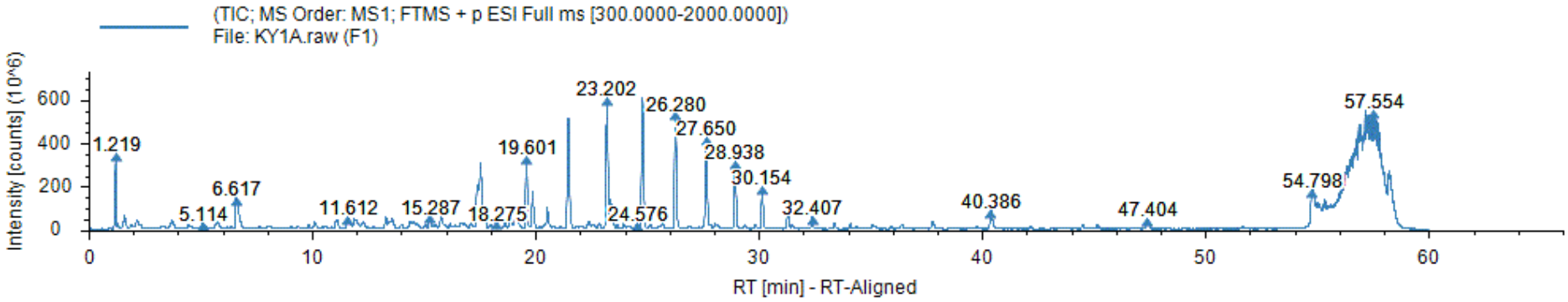
[113, 164]. KEDVPSE *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581 ile fermente edilen sütte düşük ACE-inhibisyon aktivitesine (% 13,99) sahip olan fraksiyonda tanımlanmıştır [113]. KKYNVPQ de yine düşük ACE-inhibisyon aktivitesine sahip bir peptittir (IC_{50} değeri 716,9 μM)[164].

4.10.8 Ezine Peynirinde Tanımlanan Peptitler

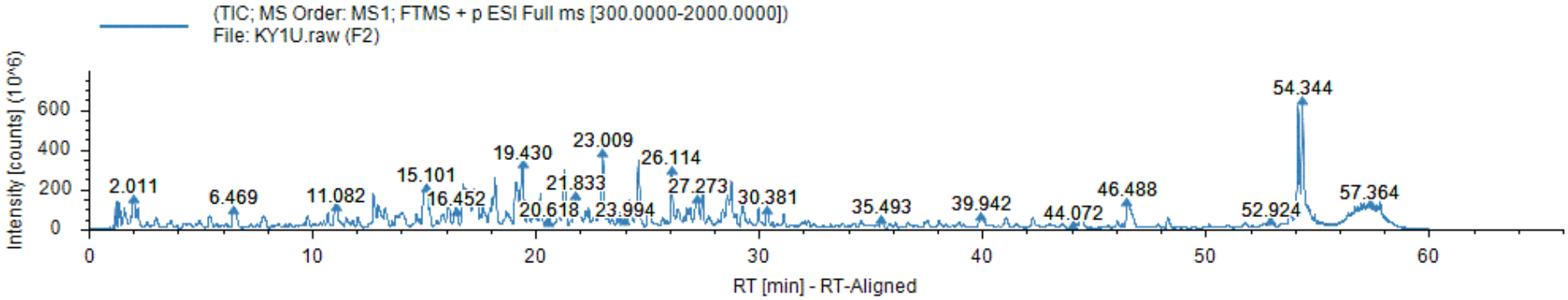
Ezine peynirinin suda çözünen ekstraktlarının alt ve üst fraksiyonlarının kütle spektrumlarını gösteren kromatogramlar şekil 4.28'de sunulmuştur. Ezine peynirinin alt fraksiyonlarında αs1-KN, αs2-KN, β-KN ve κ-KN'den türevlenen 25, 8, 15 ve 4 olmak üzere toplam 52 peptit tanımlanmıştır (4.29). Üst fraksiyonlarda ise αs1-KN'den türevlenen 3 peptit dizilimi tanımlanmıştır. Alt ve üst fraksiyonlar tanımlanan peptitlerin toplam sayısına bakıldığında en az sayıda peptit içeren peynir çeşidi Ezine olmuştur.

Ezine peynirinde tanımlanan peptitler veritabanlarında araştırıldığında bunlardan 7 tanesi biyoaktif peptitlerle eşleşme göstermiştir (4.20). Ezine peynirinde tanımlanan peptitlerin biyoaktiviteleri arasında ACE-inhibisyon, antimikrobiyal, antioksidan, osteoanabolik ve kolesterol çözünürlüğünün inhibisyonu bulunmaktadır.

Tanımlanan biyoaktif peptitler arasında bulunan tek κ-KN türevi biyoaktif peptit HPHPHLSF sadece İzmir tulum, inek, keçi ve Ezine peynirlerinde bulunmaktadır. Bu peptidin osteoanabolik etkisi bulunduğu belirlenmiştir [131]. Ayrıca, 28,9 μM IC_{50} değeri ile güçlü bir ACE-inhibisyon aktivitesine sahiptir [149].

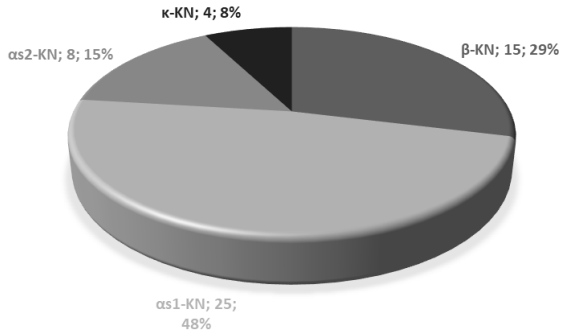


Alt fraksiyon



Üst fraksiyon

Şekil 4.28 Ezine peyniri alt ve üst fraksiyonlarının toplam iyon kromatogramları



Şekil 4.29 Ezine peynirinde tanımlanan peptitlerin ana proteinleri

Tablo 4.20 Ezine peynirinde tanımlanan biyoaktif peptitler

Peptit Dizilimi	**Protein Fragmenti**[1]	**Biyoaktivite**[2]	**Kaynak**
PVVVPPFLQPE	β-KN-(96-106)	Antimikrobiyal	[158]
VLGPVRGPFP	β-KN-(212-2221)	ACE-i	[123]
FVAPFPEVFG	αs1-KN-(39-48)	ACE-i	[143]
VAPFPE	αs1-KN-(40-45)	Kolestrol çözünürlüğünün inhibisyonu	[124]
VLNENLLR	αs1-KN-(30-37)	Antimikrobiyal	[49]
YQKFPQY	αs2-KN-(104-120)	ACE-i, antioksidan	[38]
HPHPHLSF	αs2-KN-(119-126)	ACE-i, osteoanabolik	[131, 149]

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P02666, P02663, P02668, P11839, P34653, P04654, P02669, P33049, P02670, P18626 ve P33048
2 ACE-i: anjiyotensin dönüştürücü enzim-inhibisyon

5
SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Sonuç

Bu çalışmada Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, Mihaliç, eski kaşar, inek, keçi, Ezine peynirlerinin ACE-inhibisyon, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla peynirlerin suda çözünen ekstraktları hazırlanmış ve bu ekstraktlar 3 kDa kesme noktalı molekül filtresinden geçirilerek iki fraksiyona ayrılmıştır. Her iki fraskiyonda, 3 kDa molekül ağırlığından küçük molekülleri içeren alt fraksiyon ve 3 kDa molekül ağırlığından büyük molekülleri içeren üst fraskiyon, liyofilize edilerek -20°C'de saklanmıştır. Bu fraksiyonların protein miktarları belirlenmiş ve fraksiyonların biyoaktiviteleri protein miktarı üzerinden hesaplanmıştır. Her bir peynir için yüksek aktiviteli fraksiyon istatistiksel analizlerle belirlenmiş ve yüksek aktiviteye sahip fraksiyonların aktivitelerinde *in vitro* sindirimin etkileri araştırılmıştır.

ACE-inhibisyon aktiviteleri, fraksiyonlarda bulunan 10 μg proteinin neden olduğu ACE aktivitesindeki kaybın yüzde değeri olarak hesaplanmıştır. Tüm peynir çeşitleri için ACE-inhibisyon aktivitesi alt fraksiyonlarda yoğunlaşmıştır. Alt fraksiyonların ACE-inhibisyon aktiviteleri % 4,37-19,76 arasında değişirken, üst fraksiyonların aktiviteleri % 0,03-8,27 arasında değişmiştir. Alt fraksiyonların ACE-inhibisyon aktiviteleri *in vitro* sindirim sonrası kaybedilmiştir. Fraksiyonların içerisinde bulunan ACE-inhibisyon aktivitesine sahip peptitlerin *in vitro* sindirim nedeniyle daha küçük peptitlere ve amino asitlere parçalanmasının aktivite kaybına neden olduğu değerlendirilmektedir. Peynirler arasında en yüksek ACE-inhibisyon aktivitesini % 19,76 ± 5,03 ile keçi peyniri göstermiştir. Keçi peynirini inek peyniri ve Ezine peyniri takip etmiştir. Aynı yöntemle üretilen ve üretiminde kullanılan süt kaynağı farklı olan bu peynirlerin diğer peynirlerden daha yüksek ACE-inhibisyon potansiyeli taşıması süt kaynağının etkisini göstermektedir.

Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için iki farklı yöntem FRAP ve ABTS testleri kullanılmıştır. FRAP testi ile örneğin ferrik demiri indirgeme yeteneği

belirlenmektedir. Peynir çeşitlerinin alt fraksiyonları 0,45-1,37 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein aralığında FRAP aktivitesi gösterirken, üst fraksiyonlarda FRAP aktivitesi 0,10-0,49 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olarak belirlenmiştir. Tüm peynirler için alt fraksiyonların FRAP aktiviteleri üst fraksiyonlardan daha yüksek omuştur. Bu nedenle, peynirlerin sulu ekstraktlarının alt fraksiyonları *in vitro* sindirim sonrası tekrar FRAP aktivitesinin belirlenmesi için analiz edilmiştir. Sindirim sonrası FRAP testi sonuçları 1,09-10,83 mol Fe^{2+} eşdeğeri/g protein olarak belirlenmiş ve tüm peynirler için *in vitro* sindirim aktivitenin gelişmesini sağlamıştır. Sindirim öncesi inek peyniri en yüksek aktiviteye sahipken, sindirim sonrası en yüksek aktivite keçi peynirinde belirlenmiştir. ABTS testinde ise İzmir tulum, Mihaliç, eski kaşar ve Ezine peynirlerinin alt ve üst fraksiyonlarının antioksidan aktiviteleri istatistiksel olarak farklı değildir. Ancak diğer peynir çeşitleri için FRAP testinde olduğu gibi alt fraksiyonlarda ABTS aktivitesi yoğunlaşmıştır. Alt fraksiyonların ABTS radikalini temizleme kapasiteleri 9,40-86,85 mg askorbik asit eşdeğeri/g protein aralığında olarak belirlenirken, üst fraksiyonların aktiviteleri 7,32-16,38 mg askorbik asit eşdeğeri/g protein aralığında olmuştur. İzmir tulum, Mihaliç, eski kaşar ve Ezine peynirlerinin alt ve üst fraksiyonları, diğer peynir çeşitlerinin ise sadece alt fraksiyonları *in vitro* sindirim sonrası ABTS aktivitesi için analiz yapılmıştır. Sindirim sonrası alt fraksiyonların 13,63-107,67 mg askorbik asit eşdeğeri/g protein olmuştur. Erzincan tulum, Kars gravyer, eski kaşar, keçi ve Ezine peynirlerinin alt fraksiyonlarının ABTS radikali temizleme yeteneği sindirim sonrası değişmemiştir. İzmir tulum, Mihaliç ve inek peynirlerinin alt fraksiyonlarının ABTS radikali temizleme aktivitesi ise sindirim sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Üst fraksiyonların ABTS radikali temizleme kapasitesinin sindirim sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı belirlenmiştir.

Antibakteriyel etkinin *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028 bakterilerine karşı belirlenmiştir. Tüm peynir çeşitleri içinde antibakteriyel etki göstermeyen tek peynir Mihaliç olmuştur. Diğer peynir çeşitlerinin ise sadece alt fraksiyonlarında *S.* Typhimurium ve/veya *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite tespit edilmiştir. Ancak araştırılan peynir ekstrakları *E.coli* gelişimini etkilememiştir. Kars gravyer, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirleri *S.* Typhimurium'un gelişimini inhibe etmişlerdir. Ancak, *in vitro* sindirim sonrası *S.* Typhimurium'a karşı antibakteriyel aktivite korunamamıştır. Diğer yandan, Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, eski kaşar, inek, keçi ve Ezine peynirleri *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. *İn vitro* sindirim sonrası, Erzincan tulum, İzmir tulum, eski kaşar, inek ve Ezine peynirleri antibakteriyel aktivitelerini korumuşlardır.

Peynir fraksiyonları likit kromatografi-kütle spektroskopisi ile analiz edilmiş ve Proteome Discoverer programında fraksiyonların içine bulunan peptitlerin

dizilimleri belirlenmiştir. Peynirlerin sulu ekstraktlarının alt fraksiyonlarında 620 ve üst fraksiyonlarında 115 olmak üzere toplam 735 peptit dizilimi tanımlanmıştır. Tanımlanan peptitler BIOPEP-UWM ve Milk Bioactive Peptide Database (MBPDB) veri tabanlarında araştırılarak ACE-inhibisyon, antioksidan, antimikrobiyal, opioid, kolesterol çözünürlüğünü inhibe edici, bağışıklık düzenleyici, antidiyabetik, antiamnestik, opioid gibi pek çok biyoaktiviteye sahip biyoaktif peptit belirlenmiştir. Tüm peynirlerde bulunan biyoaktif peptit sayısı 67 olarak belirlenmiştir. Peynir çeşitlerinde tanımlanan alt ve üst fraksiyonlarda bulunanan toplam peptit sayısı inek, keçi, Erzincan tulum, İzmir tulum, Mihaliç, Kars gravyer, eski kaşar ve Ezine peynirleri için sırasıyla 258, 209, 199, 123, 83, 74, 57 ve 55 olarak belirlenmiştir. İnek peyniri yüksek sayıda peptit içeriği ile birlikte en fazla biyoaktif peptit içeren peynirdir. Biyoaktif peptit içeriğinde inek peynirini Erzincan tulum peyniri takip etmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde araştırılan biyoaktivitelerin yanında farklı biyoaktivitelere sahip peptitler de bulunmaktadır.

5.2 Öneriler

Bazı geleneksel olgunlaştırılmış peynir çeşitlerinin biyoaktiviteleri, *in vitro* sindirimin aktivite üzerine etkisi ve peptit içerikleri belirlenmiştir. Erzincan tulum, Kars gravyer, İzmir tulum, eski kaşar, Mihaliç, inek, keçi ve Ezine peynirleri için bu çalışmada elde edilen verilerle tüm bu peynir çeşitlerinin biyoaktif peptit içerikleri ile fonksiyonel özelliklere sahip oldukları ortaya konmuştur. Ayrıca farklı yöntemlerle üretilen ve farklı sürelerde ogunlaştırılan peynirlerin peptit profilleri ve biyoaktif peptit içeriklerinin de farklı olduğu belirlenmiştir. Peynirlerin üretim teknikleri ve kullanılan sütün iç faktörlerinin biyoaktivite ve peptit profilleri üzerine etkisi ileri çalışmalarla belirlenebilir. Her bir peynir çeşidi için olgunlaşma sırasında biyoaktivite ve biyoaktif peptit içeriği daha detaylı bir şekilde incelenebilir. Bilinen biyoaktif peptitler dışında yeni olası biyoaktif peptit dizilimleri belirlenerek sentezlenebilir ve bu peptitlerle biyoaktivite testleri gerçekleştirilerek lirteratüre yeni biyoaktif peptit dizilimileri kazandırılabilir. Ayrıca, özellikle antioksidan aktivite için önemli olan serbest aminoasit içeriğinin belirlenmesi antioksidan kapasitenin kaynağının belirlenmesi açısından yararlı olacaktır.

Geleneksel peynir çeşitleri starter kültür kullanılmadan üretildiklerinden peptit profilleri ve biyoaktif peptit içerikleri starter olmayan ancak olgunlaşma sırasında gelişen proteoliz üzerinde etkili olan mikrobiyotaya bağlıdır. Peynirlerin peptit profillerinin yanı sıra mikrobiyotalarının belirlenmesi ve gerçekleşen proteolizin daha detaylı şekilde incelenmesiyle, biyoaktif peptit üretiminde kullanılabilecek yeni mikroorganizmaların belirlenebilir.

KAYNAKÇA

[1] H. I. Öztürk, "Geleneksel yöntemle üretilen tulum peynirlerinin bazı kalite özelliklerinin, biyoaktif peptid içeriklerinin ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2015.

[2] F. Durlu-Özkaya, İ. Gün, "Anadolu'da peynir kültürü," *ICANAS, Uluslararası Asya ve Kuzey Afrika Çalışmaları Kongresi*, pp. 10–15, 2007.

[3] H. Korhonen, A. Pihlanto, "Food-derived bioactive peptides-opportunities for designing future foods," *Current Pharmaceutical Design*, vol. 9, no. 16, pp. 1297–1308, 2003.

[4] C. De Simone *et al.*, "Characterisation and cytomodulatory properties of peptides from Mozzarella di Bufala Campana cheese whey," *Journal of Peptide Science: an official publication of the European Peptide Society*, vol. 15, no. 3, pp. 251–258, 2009.

[5] A. Skwarek, M. Darewicz, J. Borawska-Dziadkiewicz, "Ripened cheese as a source of bioactive peptides," *Biotechnology and Food Science*, vol. 82, no. 1, 2018.

[6] R. J. S. De Castro, H. H. Sato, "Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries," *Food Research International*, vol. 74, pp. 185–198, 2015.

[7] H. Korhonen, A. Pihlanto, "Bioactive peptides: Production and functionality," *International Dairy Journal*, vol. 16, no. 9, pp. 945–960, 2006.

[8] L. Santiago-López, J. E. Aguilar-Toalá, A. Hernández-Mendoza, B. Vallejo-Cordoba, A. M. Liceaga, A. F. González-Córdova, "Invited review: Bioactive compounds produced during cheese ripening and health effects associated with aged cheese consumption," *Journal of Dairy Science*, vol. 101, no. 5, pp. 3742–3757, 2018.

[9] F. Toldrá, M. Reig, M.-C. Aristoy, L. Mora, "Generation of bioactive peptides during food processing," *Food Chemistry*, vol. 267, pp. 395–404, 2018.

[10] F. B. Ahtesh, L. Stojanovska, V. Apostolopoulos, "Processing and sensory characteristics of a fermented low-fat skim milk drink containing bioactive antihypertensive peptides, a functional milk product," *International Journal of Dairy Technology*, vol. 71, pp. 230–239, 2018.

[11] D. P. Baptista, B. D. Galli, F. G. Cavalheiro, F. Negrão, M. N. Eberlin, M. L. Gigante, "*Lactobacillus helveticus* LH-B02 favours the release of bioactive peptide during prato cheese ripening," *International Dairy Journal*, vol. 87, pp. 75–83, 2018.

[12] U. Bütikofer, J. Meyer, R. Sieber, D. Wechsler, "Quantification of the angiotensin-converting enzyme-inhibiting tripeptides Val-Pro-Pro and Ile-Pro-Pro in hard, semi-hard and soft cheeses," *International Dairy Journal*, vol. 17, no. 8, pp. 968–975, 2007.

[13] T. Saito, T. Nakamura, H. Kitazawa, Y. Kawai, T. Itoh, "Isolation and structural analysis of antihypertensive peptides that exist naturally in Gouda cheese," *Journal of Dairy Science*, vol. 83, no. 7, pp. 1434–1440, 2000.

[14] E. Sienkiewicz-Szłapka, B. Jarmołowska, S. Krawczuk, E. Kostyra, H. Kostyra, K. Bielikowicz, "Transport of bovine milk-derived opioid peptides across a Caco-2 monolayer," *International Dairy Journal*, vol. 19, no. 4, pp. 252–257, 2009.

[15] P. B. Kunda, F. Benavente, S. Catalá-Clariana, E. Giménez, J. Barbosa, V. Sanz-Nebot, "Identification of bioactive peptides in a functional yogurt by micro liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry assisted by retention time prediction," *Journal of Chromatography A*, vol. 1229, pp. 121–128, 2012.

[16] Z. Öner, A. M. Sarıdağ, "Identification of bioactive peptides in kashar cheese and its antioxidant activities," *International Journal of Agriculture Environment and Food Sciences*, vol. 2, no. 2, pp. 44–49, 2018.

[17] H. I. Öztürk, "Orta Toroslar yöresinde üretilen geleneksel tulum peynirlerinde olgunlaşma süresince peptid dinamiğinin belirlenmesi," Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2020.

[18] D. Sahingil, Y. Gokce, M. Yuceer, A. A. Hayaloglu, "Optimization of proteolysis and angiotensin converting enzyme inhibition activity in a model cheese using response surface methodology," *LWT*, vol. 99, pp. 525–532, 2019.

[19] P. Salum, G. Govce, P. Kendirci, D. Bas, Z. Erbay, "Composition, proteolysis, lipolysis, volatile compound profile and sensory characteristics of ripened white cheeses manufactured in different geographical regions of Turkey," *International Dairy Journal*, vol. 87, pp. 26–36, 2018.

[20] A. A. Hayaloglu, M. Guven, P. F. Fox, "Microbiological, biochemical and technological properties of Turkish white cheese 'beyaz peynir'," *International Dairy Journal*, vol. 12, no. 8, pp. 635–648, 2002.

[21] Y. Karagul-Yuceer, M. Isleten, C. Uysal-Pala, "Sensory characteristics of Ezine cheese," *Journal of Sensory Studies*, vol. 22, no. 1, pp. 49–65, 2007.

[22] D. Saygılı, H. Demirci, U. Samav, "Coğrafi işaretli Türkiye peynirleri," *Aydın Gastronomy*, vol. 4, pp. 11–21, 2020.

[23] D. Sert, A. Ayar, N. Akın, "The effects of starter culture on chemical composition, microbiological and sensory characteristics ofTurkish kaşar cheese during ripening," *International Journal of Dairy Technology*, vol. 60, no. 4, pp. 245–252, 2007.

[24] E. Aydın, "Kaşar peynir üretiminde kullanılan farklı ot türlerinin olgunlaşmaya etkilerinin araştırılması," Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[25] G. B. Tulukoğlu, "İzmir tulum peynirinin yapımında peyniraltı suyu (PAS) kültürünün kullanımı," Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2019.

[26] T. Özcan, "Starter, proteaz ve lipaz kullanımının Mihaliç peynirinin olgunlaşma süresine etkisi," Doktora Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2000.

[27] B. Bulut, "Çiğ ve pastörize sütten işlenen Mihaliç peynirlerinin kimyasal bileşimi ve olgunlaşma sırasındaki mikrobiyal florasındaki değişimin belirlenmesi," Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.

[28] Ş. Topuk, Ç. Sezer, "Kars gravyer peynirinin bazı kalite özellikleri," *Gıda*, vol. 40, no. 2, pp. 69–75, 2015.

[29] U. Kamber, M. Elmalı, H. Yaman, "Microbiological and chemical properties of gravier cheeses," *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, vol. 3, pp. 1–7, 2008.

[30] N. P. Möller, K. E. Scholz-Ahrens, N. Roos, J. Schrezenmeir, "Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects," *European Journal of Nutrition*, vol. 47, no. 4, pp. 171–182, 2008.

[31] H. Korhonen, "Milk-derived bioactive peptides: From science to applications," *Journal of Functional Foods*, vol. 1, no. 2, pp. 177–187, 2009.

[32] S. Marcone, O. Belton, D. J. Fitzgerald, "Milk-derived bioactive peptides and their health promoting effects: A potential role in atherosclerosis," *British Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 83, no. 1, pp. 152–162, 2017.

[33] F. Minervini, F. Algaron, C. G. Rizzello, P. F. Fox, V. Monnet, M. Gobbetti, "Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed caseins of milk from six species," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 69, no. 9, pp. 5297–5305, 2003.

[34] C. Rizzello, I. Losito, M. Gobbetti, T. Carbonara, M. De Bari, P. Zambonin, "Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties," *Journal of Dairy Science*, vol. 88, no. 7, pp. 2348–2360, 2005.

[35] A. Siltari, H. Vapaatalo, R. Korpela, "Milk and milk-derived peptides combat against hypertension and vascular dysfunction: A review," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 54, no. 6, pp. 1920–1929, 2019.

[36] C. C. Udenigwe, "Bioinformatics approaches, prospects and challenges of food bioactive peptide research," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 36, no. 2, pp. 137–143, 2014.

[37] R. Hartmann, H. Meisel, "Food-derived peptides with biological activity: From research to food applications," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 18, no. 2, pp. 163–169, 2007.

[38] S. V. Silva, A. Pihlanto, F. X. Malcata, "Bioactive peptides in ovine and caprine cheeselike systems prepared with proteases from *Cynara cardunculus*," *Journal of Dairy Science*, vol. 89, no. 9, pp. 3336–3344, 2006.

[39] F. B. Otağ, M. Hayta, "Gıdalarda biyoaktif peptit oluşumu ve aktivitesi üzerine ılsıl işlem ve fermantasyonun etkileri," *Gıda*, vol. 38, no. 5, pp. 307–314, 2013.

[40] M. G. Basilicata *et al.*, "Peptidome profiles and bioactivity elucidation of buffalo-milk dairy products after gastrointestinal digestion," *Food Research International*, vol. 105, pp. 1003–1010, 2018.

[41] A. Gupta, B. Mann, R. Kumar, R. B. Sangwan, "Antioxidant activity of Cheddar cheeses at different stages of ripening," *International Journal of Dairy Technology*, vol. 62, no. 3, pp. 339–347, 2009.

[42] L. Ong, A. Henriksson, N. P. Shah, "Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity in Cheddar cheeses made with the addition of probiotic *Lactobacillus casei* sp.," *Le Lait*, vol. 87, no. 2, pp. 149–165, 2007.

[43] P. V. Padghan, B. Mann, S. Hati, "Purification and characterization of antioxidative peptides derived from fermented milk (Lassi) by lactic cultures," *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, vol. 24, no. 2, pp. 235–249, 2018.

[44] M. Torres-Llanez, A. González-Córdova, A. Hernandez-Mendoza, H. Garcia, B. Vallejo-Cordoba, "Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese," *Journal of Dairy Science*, vol. 94, no. 8, pp. 3794–3800, 2011.

[45] P. L. H. McSweeney, "Biochemistry of cheese ripening," *International Journal of Dairy Technology*, vol. 57, no. 2-3, pp. 127–144, 2004.

[46] P. L. H. McSweeney, A. A. Hayaloglu, J. A. O'Mahony, N. Bansal, "Perspectives on cheese ripening," *Australian Journal of Dairy Technology*, vol. 61, no. 2, p. 69, 2006.

[47] L. Solieri, A. Baldaccini, S. Martini, A. Bianchi, V. Pizzamiglio, D. Tagliazucchi, "Peptide profiling and biological activities of 12-month ripened Parmigiano Reggiano cheese," *Biology*, vol. 9, no. 7, 2020.

[48] J. Á. Gómez-Ruiz, G. Taborda, L. Amigo, I. Recio, M. Ramos, "Identification of ACE-inhibitory peptides in different Spanish cheeses by tandem mass spectrometry," *European Food Research and Technology*, vol. 223, no. 5, pp. 595–601, 2006.

[49] M. Hayes, R. Ross, G. F. Fitzgerald, C. Hill, C. Stanton, "Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 72, no. 3, pp. 2260–2264, 2006.

[50] A. P. F. Corrêa, D. J. Daroit, R. Fontoura, S. M. M. Meira, J. Segalin, A. Brandelli, "Hydrolysates of sheep cheese whey as a source of bioactive peptides with antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory activities," *Peptides*, vol. 61, pp. 48–55, 2014.

[51] S. Athira, B. Mann, P. Saini, R. Sharma, R. Kumar, A. K. Singh, "Production and characterisation of whey protein hydrolysate having antioxidant activity from cheese whey," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 95, no. 14, pp. 2908–2915, 2015.

[52] Y. Li, F. A. Sadiq, T. Liu, J. Chen, G. He, "Purification and identification of novel peptides with inhibitory effect against angiotensin I-converting enzyme and optimization of process conditions in milk fermented with the yeast *Kluyveromyces marxianus*," *Journal of Functional Foods*, vol. 16, pp. 278–288, 2015.

[53] M. Abdel-Hamid, J. Otte, C. De Gobba, A. Osman, E. Hamad, "Angiotensin İ-converting enzyme inhibitory activity and antioxidant capacity of bioactive peptides derived from enzymatic hydrolysis of buffalo milk proteins," *International Dairy Journal*, vol. 66, pp. 91–98, 2017.

[54] S. T. Martín-del-Campo *et al.*, "Production of antioxidant and ACE-I peptides from cheese whey discarded from Mexican white cheese production," *Antioxidants*, vol. 8, no. 6, p. 158, 2019.

[55] E. Sommella *et al.*, "Detailed peptide profiling of "Scotta": From a dairy waste to a source of potential health-promoting compounds," *Dairy Science & Technology*, vol. 96, no. 5, pp. 763–771, 2016.

[56] B. Hernández-Ledesma, L. Amigo, I. Recio, B. Bartolomé, "ACE-inhibitory and radical-scavenging activity of peptides derived from β-lactoglobulin f (19- 25). interactions with ascorbic acid," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55, no. 9, pp. 3392–3397, 2007.

[57] B. Hernández-Ledesma, M. del Mar Contreras, I. Recio, "Antihypertensive peptides: Production, bioavailability and incorporation into foods," *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 165, no. 1, pp. 23–35, 2011.

[58] L. Ong, N. P. Shah, "Release and identification of angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides as influenced by ripening temperatures and probiotic adjuncts in Cheddar cheeses," *LWT*, vol. 41, no. 9, pp. 1555–1566, 2008.

[59] L. Lignitto *et al.*, "Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of water-soluble extracts of Asiago d'allevo cheese," *International Dairy Journal*, vol. 20, no. 1, pp. 11–17, 2010.

[60] R. A. Silva *et al.*, "Can artisanal "coalho" cheese from Northeastern Brazil be used as a functional food?" *Food Chemistry*, vol. 135, no. 3, pp. 1533–1538, 2012.

[61] G. Pepe *et al.*, "Antioxidant peptides released from gastrointestinal digestion of "Stracchino" soft cheese: Characterization, *in vitro* intestinal protection and bioavailability," *Journal of Functional Foods*, vol. 26, pp. 494–505, 2016.

[62] J. Atanasova, M. Dalgalarrondo, I. Iliev, P. Moncheva, S. D. Todorov, I. V. Ivanova, "Formation of free amino acids and bioactive peptides during the ripening of Bulgarian white brined cheeses," *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, pp. 1–12, 2020.

[63] S. Yasuda *et al.*, "Effects of highly ripened cheeses on HL-60 human leukemia cells: Antiproliferative activity and induction of apoptotic DNA damage," *Journal of Dairy Science*, vol. 93, no. 4, pp. 1393–1400, 2010.

[64] C. Bottesini *et al.*, "Antioxidant capacity of water soluble extracts from Parmigiano-Reggiano cheese," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 64, no. 8, pp. 953–958, 2013.

[65] U. Bernabucci, E. Catalani, L. Basiricò, P. Morera, A. Nardone, "*In vitro* ACE-inhibitory activity and *in vivo* antihypertensive effects of water-soluble extract by Parmigiano Reggiano and Grana Padano cheeses," *International Dairy Journal*, vol. 37, no. 1, pp. 16–19, 2014.

[66] M. Mushtaq, A. Gani, F. Masoodi, "Himalayan cheese (Kalari/Kradi) fermented with different probiotic strains: *In vitro* investigation of nutraceutical properties," *LWT*, vol. 104, pp. 53–60, 2019.

[67] C. R. Gonzalez-Gonzalez, J. Machado, S. Correia, A. L. McCartney, J. S. Elmore, P. Jauregi, "Highly proteolytic bacteria from semi-ripened Chiapas cheese elicit angiotensin-I converting enzyme inhibition and antioxidant activity," *LWT*, vol. 111, pp. 449–456, 2019.

[68] S. A. Banihashemi, M. Nikoo, Z. Ghasempour, A. Ehsani, "Bioactive peptides fractions from traditional Iranian Koopeh cheese; lactic fermentation products," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 29, p. 101 798, 2020.

[69] M. Barac *et al.*, "The effect of *in vitro* digestion on antioxidant, ace-inhibitory and antimicrobial potentials of traditional Serbian white-brined cheeses," *Foods*, vol. 8, no. 3, p. 94, 2019.

[70] A. Kocak, T. Sanli, E. A. Anli, A. A. Hayaloglu, "Role of using adjunct cultures in release of bioactive peptides in white-brined goat-milk cheese," *LWT*, vol. 123, p. 109 127, 2020.

[71] S. Kose, E. Ocak, "Determination of antioxidant and antimicrobial activity of herby cheese," *Journal of Food Processing and Preservation*, vol. 44, no. 11, e14841, 2020.

[72] P. Jäkälä, H. Vapaatalo, "Antihypertensive peptides from milk proteins," *Pharmaceuticals*, vol. 3, no. 1, pp. 251–272, 2010.

[73] *Dünya Sağlık örgütü*. [Online]. Available: `https://www.who.int/cardiovascular_diseases/publications/global_brief_hypertension/en/` (visited on 04/22/2021).

[74] K. Erdmann, B. W. Cheung, H. Schröder, "The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 19, no. 10, pp. 643–654, 2008.

[75] I. Sagardia, I. Iloro, F. Elortza, C. Bald, "Quantitative structure–activity relationship based screening of bioactive peptides identified in ripened cheese," *International Dairy Journal*, vol. 33, no. 2, pp. 184–190, 2013.

[76] B. Hernández-Ledesma, B. Miralles, L. Amigo, M. Ramos, I. Recio, "Identification of antioxidant and ACE-inhibitory peptides in fermented milk," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 85, no. 6, pp. 1041–1048, 2005.

[77] M. Garbowska, A. Pluta, A. Berthold-Pluta, "Antihypertensive peptide activity in Dutch-type cheese models prepared with different additional strains of *Lactobacillus* genus bacteria," *Applied Sciences*, vol. 9, no. 8, p. 1674, 2019.

[78] A. Leon Madrazo, M. R. Segura Campos, "Review of antimicrobial peptides as promoters of food safety: Limitations and possibilities within the food industry," *Journal of Food Safety*, vol. 40, no. 6, e12854, 2020.

[79] E. Pessione, S. Cirrincione, "Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: Encrypted peptides and biogenic amines," *Frontiers in Microbiology*, vol. 7, p. 876, 2016.

[80] S. Sultan, N. Huma, M. S. Butt, M. Aleem, M. Abbas, "Therapeutic potential of dairy bioactive peptides: A contemporary perspective," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 58, no. 1, pp. 105–115, 2018.

[81] P. Castellano, L. Mora, E. Escudero, G. Vignolo, R. Aznar, F. Toldrá, "Antilisterial peptides from spanish dry-cured hams: Purification and identification," *Food microbiology*, vol. 59, pp. 133–141, 2016.

[82] V. Torres-Salas, B. E. Hernández-Rodrıguez, A. Hernández-Montes, E. Castillo, H. Zuleta-Prada, J. E. Herbert-Pucheta, "Solid-state NMR spectroscopy for disentangling structural and motional features of lyophilized ripened cheese water-soluble extracts related to antimicrobial activity," *Food Chemistry*, vol. 334, p. 127 603, 2021.

[83] N. Huma, S. Rafiq, A. Sameen, I. Pasha, M. I. Khan, "Antioxidant potential of buffalo and cow milk Cheddar cheeses to tackle human colon adenocarcinoma (Caco-2) cells," *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, vol. 31, no. 2, p. 287, 2018.

[84] S. Rafiq, N. Huma, N. Gulzar, M. A. Murtaza, I. Hussain, "Effect of Cheddar cheese peptide extracts on growth inhibition, cell cycle arrest and apoptosis induction in human lung cancer (H-1299) cell line," *International Journal of Dairy Technology*, vol. 71, no. 4, pp. 975–980, 2018.

[85] O. A. Adebo, P. B. Njobeh, J. A. Adebiyi, S. Gbashi, E. Kayitesi, "Food metabolomics: A new frontier in food analysis and its application to understanding fermented foods," *Functional Food-Improve Health through Adequate Food*, 2017.

[86] S. Piovesana *et al.*, "Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, no. 15, pp. 3425–3444, 2018.

[87] Y. V. Karpievitch, A. D. Polpitiya, G. A. Anderson, R. D. Smith, A. R. Dabney, "Liquid chromatography mass spectrometry-based proteomics: Biological and technological aspects," *The Annals of Applied Statistics*, vol. 4, no. 4, p. 1797, 2010.

[88] D. Agyei, A. Tsopmo, C. C. Udenigwe, "Bioinformatics and peptidomics approaches to the discovery and analysis of food-derived bioactive peptides," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 410, no. 15, pp. 3463–3472, 2018.

[89] P. Minkiewicz, J. Dziuba, A. Iwaniak, M. Dziuba, M. Darewicz, "BIOPEP database and other programs for processing bioactive peptide sequences," *Journal of AOAC International*, vol. 91, no. 4, pp. 965–980, 2008.

[90] P. Minkiewicz, A. Iwaniak, M. Darewicz, "BIOPEP-UWM database of bioactive peptides: Current opportunities," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 20, no. 23, p. 5978, 2019.

[91] S. D. Nielsen, R. L. Beverly, Y. Qu, D. C. Dallas, "Milk bioactive peptide database: A comprehensive database of milk protein-derived bioactive peptides and novel visualization," *Food Chemistry*, vol. 232, pp. 673–682, 2017.

[92] *Nitrogen(total) in milk - Kjeldahl methods*. [Online]. Available: `http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&products_id=1704` (visited on 04/06/2021).

[93] H. İ. Öztürk, N. Akın, "Comparison of some functionalities of water soluble peptides derived from Turkish cow and goat milk tulum cheeses during ripening," *Food Science and Technology*, no. AHEAD, pp. 0–0, 2017.

[94] M. M. Bradford, "A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding," *Analytical Biochemistry*, vol. 72, no. 1-2, pp. 248–254, 1976.

[95] V. K. Jimsheena, L. R. Gowda, "Colorimetric, high-throughput assay for screening angiotensin I-converting enzyme inhibitors," *Analytical Chemistry*, vol. 81, no. 22, pp. 9388–9394, 2009.

[96] I. F. F. Benzie, J. J. Strain, "The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay," *Analytical Biochemistry*, vol. 239, no. 1, pp. 70–76, 1996.

[97] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay," *Free Radical Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9-10, pp. 1231–1237, 1999.

[98] C. Bottesini *et al.*, "Antioxidant capacity of water soluble extracts from Parmigiano-Reggiano cheese," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, vol. 64, no. 8, pp. 953–958, 2013.

[99] D. Dallas, S. D. Nielsen, "Milk peptidomics to identify functional peptides and for quality control of dairy products," in *Peptidomics*, Springer, 2018, pp. 223–240.

[100] A. Akpınar, O. Yerlikaya, Ö. Kınık, F. Korel, C. Kahraman, H. R. Uysal, *et al.*, "Some physicochemical characteristics and aroma compounds of Izmir tulum cheese produced with different milk types," *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, vol. 54, no. 1, pp. 27–35, 2017.

[101] S. Ş. Ercan, Ç. Soysal, H. Bozkurt, "Biogenic amine contents of fresh and mature kashar cheeses during refrigerated storage," *Food and Health*, vol. 5, no. 1, pp. 19–29, 2019.

[102] S. Aday, Y. Karagul Yuceer, "Physicochemical and sensory properties of Mihalic cheese," *International Journal of Food Properties*, vol. 17, no. 10, pp. 2207–2227, 2014.

[103] P. L. H. McSweeney, P. F. Fox, "Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening," *Le Lait*, vol. 77, no. 1, pp. 41–76, 1997.

[104] D. Tagliazucchi, S. Martini, S. Shamsia, A. Helal, A. Conte, "Biological activities and peptidomic profile of *in vitro*-digested cow, camel, goat and sheep milk," *International Dairy Journal*, vol. 81, pp. 19–27, 2018.

[105] S. M. M. Meira *et al.*, "Bioactive peptides in water-soluble extracts of ovine cheeses from Southern Brazil and Uruguay," *Food Research International*, vol. 48, no. 1, pp. 322–329, 2012.

[106] O. Power, P. Jakeman, R. J. FitzGerald, "Antioxidative peptides: Enzymatic production, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides," *Amino Acids*, vol. 44, no. 3, pp. 797–820, 2013.

[107] S. R. Pritchard, M. Phillips, K. Kailasapathy, "Identification of bioactive peptides in commercial Cheddar cheese," *Food Research International*, vol. 43, no. 5, pp. 1545–1548, 2010.

[108] T. L. Fialho, L. C. Carrijo, M. J. M. Júnior, M. C. Baracat-Pereira, R. H. Piccoli, L. R. de Abreu, "Extraction and identification of antimicrobial peptides from the Canastra artisanal minas cheese," *Food Research International*, vol. 107, pp. 406–413, 2018.

[109] A. M. Plante, A. L. McCarthy, S. Lacey, F. O'Halloran, "Investigating the bioactive properties of cheese-fruit combinations following *in vitro* digestion using an elderly model," *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, vol. 9, no. 2, 2021.

[110] Y. Ardö, P. L. McSweeney, A. A. Magboul, V. K. Upadhyay, P. F. Fox, "Biochemistry of cheese ripening: Proteolysis," in *Cheese*, Elsevier, 2017, pp. 445–482.

[111] H. Zhao *et al.*, "Characterization of a bioactive peptide with cytomodulatory effect released from casein," *European Food Research and Technology*, vol. 238, no. 2, pp. 315–322, 2014.

[112] M. Hayes *et al.*, "Casein fermentate of *Lactobacillus animalis* dpc6134 contains a range of novel propeptide angiotensin-converting enzyme inhibitors," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 73, no. 14, pp. 4658–4667, 2007.

[113] J. M. Villegas, L. Brown, G. S. De Giori, E. M. Hebert, "Characterization of the mature cell surface proteinase of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* CRL 581," *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 99, no. 10, pp. 4277–4286, 2015.

[114] M. Kohmura, N. Nio, K. Kubo, Y. Minoshima, E. Munekata, Y. Ariyoshi, "Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptides of human β-casein," *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 53, no. 8, pp. 2107–2114, 1989.

[115] M. Kohmura, N. Nio, Y. Ariyoshi, "Inhibition of angiotensin-converting enzyme by synthetic peptide fragments of various β-caseins," *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 54, no. 4, pp. 1101–1102, 1990.

[116] A. Geerlings *et al.*, "Identification and characterization of novel angiotensin-converting enzyme inhibitors obtained from goat milk," *Journal of Dairy Science*, vol. 89, no. 9, pp. 3326–3335, 2006.

[117] Z.-L. Wang, S.-S. Zhang, W. Wei, F.-Q. Feng, W.-G. Shan, "A novel angiotensin i converting enzyme inhibitory peptide from the milk casein: Virtual screening and docking studies," *Agricultural Sciences in China*, vol. 10, no. 3, pp. 463–467, 2011.

[118] H. Uenishi, T. Kabuki, Y. Seto, A. Serizawa, H. Nakajima, "Isolation and identification of casein-derived dipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4)-inhibitory peptide LPQNIPPL from gouda-type cheese and its effect on plasma glucose in rats," *International Dairy Journal*, vol. 22, no. 1, pp. 24–30, 2012.

[119] M. Sedaghati, H. Ezzatpanah, M. M. A. Boojar, M. T. Ebrahimi, F. Kobarfard, "Isolation and identification of some antibacterial peptides in the plasmin-digest of β-casein," *LWT*, vol. 68, pp. 217–225, 2016.

[120] C. Adams, F. Sawh, J. Green-Johnson, H. J. Taggart, J. Strap, "Characterization of casein-derived peptide bioactivity: Differential effects on angiotensin-converting enzyme inhibition and cytokine and nitric oxide production," *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no. 7, pp. 5805–5815, 2020.

[121] M. Maeno, N. Yamamoto, T. Takano, "Identification of an antihypertensive peptide from casein hydrolysate produced by a proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790," *Journal of Dairy Science*, vol. 79, no. 8, pp. 1316–1321, 1996.

[122] N. Yamamoto, A. Akino, T. Takano, "Antihypertensive effect of the peptides derived from casein by an extracellular proteinase from *Lactobacillus helveticus* CP790," *Journal of Dairy Science*, vol. 77, no. 4, pp. 917–922, 1994.

[123] A. Quirós *et al.*, "Identification of novel antihypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis*," *International Dairy Journal*, vol. 17, no. 1, pp. 33–41, 2007.

[124] X. Jiang *et al.*, "Novel milk casein–derived peptides decrease cholesterol micellar solubility and cholesterol intestinal absorption in Caco-2 cells," *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no. 5, pp. 3924–3936, 2020.

[125] A. Quirós, M. del Mar Contreras, M. Ramos, L. Amigo, I. Recio, "Stability to gastrointestinal enzymes and structure–activity relationship of β-casein-peptides with antihypertensive properties," *Peptides*, vol. 30, no. 10, pp. 1848–1853, 2009.

[126] L. Amigo, D. Martınez-Maqueda, B. Hernández-Ledesma, "In silico and *in vitro* analysis of multifunctionality of animal food-derived peptides," *Foods*, vol. 9, no. 8, p. 991, 2020.

[127] H. Kayser, H. Meisel, "Stimulation of human peripheral blood lymphocytes by bioactive peptides derived from bovine milk proteins," *FEBS letters*, vol. 383, no. 1-2, pp. 18–20, 1996.

[128] H. Liu, M. Tu, S. Cheng, H. Chen, Z. Wang, M. Du, "An anticoagulant peptide from beta-casein: Identification, structure and molecular mechanism," *Food & function*, vol. 10, no. 2, pp. 886–892, 2019.

[129] Y. Lu, S. Govindasamy-Lucey, J. A. Lucey, "Angiotensin-İ-converting enzyme-inhibitory peptides in commercial Wisconsin Cheddar cheeses of different ages," *Journal of Dairy Science*, vol. 99, no. 1, pp. 41–52, 2016.

[130] K. Sowmya, M. I. Bhat, R. K. Bajaj, S. Kapila, R. Kapila, "Buffalo milk casein derived decapeptide (YQEPVLGPVR) having bifunctional anti-inflammatory and antioxidative features under cellular milieu," *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, vol. 25, no. 2, pp. 623–633, 2019.

[131] S. Reddi, V. P. Shanmugam, K. S. Tanedjeu, S. Kapila, R. Kapila, "Effect of buffalo casein-derived novel bioactive peptides on osteoblast differentiation," *European Journal of Nutrition*, vol. 57, no. 2, pp. 593–605, 2018.

[132] C. De Gobba, G. Tompa, J. Otte, "Bioactive peptides from caseins released by cold active proteolytic enzymes from *Arsukibacterium ikkense*," *Food Chemistry*, vol. 165, pp. 205–215, 2014.

[133] H. Gong *et al.*, "Identification of novel peptides from goat milk casein that ameliorate high-glucose-induced insulin resistance in HepG2 cells," *Journal of Dairy Science*, vol. 103, no. 6, pp. 4907–4918, 2020.

[134] M. del Mar Contreras, R. Carrón, M. J. Montero, M. Ramos, I. Recio, "Novel casein-derived peptides with antihypertensive activity," *International Dairy Journal*, vol. 19, no. 10, pp. 566–573, 2009.

[135] L. Xue *et al.*, "Identification and characterization of an angiotensin-converting enzyme inhibitory peptide derived from bovine casein," *Peptides*, vol. 99, pp. 161–168, 2018.

[136] M. Vavrusova, H. Pindstrup, L. B. Johansen, M. L. Andersen, H. J. Andersen, L. H. Skibsted, "Characterisation of a whey protein hydrolysate as antioxidant," *International Dairy Journal*, vol. 47, pp. 86–93, 2015.

[137] S. Haileselassie, B. Lee, B. Gibbs, "Purification and identification of potentially bioactive peptides from enzyme-modified cheese," *Journal of Dairy Science*, vol. 82, no. 8, pp. 1612–1617, 1999.

[138] H. A. Elbarbary, A. M. Abdou, Y. Nakamura, E. Y. Park, H. A. Mohamed, K. Sato, "Identification of novel antibacterial peptides isolated from a commercially available casein hydrolysate by autofocusing technique," *Biofactors*, vol. 38, no. 4, pp. 309–315, 2012.

[139] A. B. Shazly *et al.*, "Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from buffalo and bovine casein hydrolysates," *Food Chemistry*, vol. 232, pp. 753–762, 2017.

[140] M. L. Timón, A. I. Andrés, J. Otte, M. J. Petrón, "Antioxidant peptides (< 3 kDa) identified on hard cow milk cheese with rennet from different origin," *Food Research International*, vol. 120, pp. 643–649, 2019.

[141] M. Gobbetti, P. Ferranti, E. Smacchi, F. Goffredi, F. Addeo, "Production of angiotensin-I-converting-enzyme-inhibitory peptides in fermented milks started by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* SS1 and *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* FT4," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 66, no. 9, pp. 3898–3904, 2000.

[142] A. B. Nongonierma, R. J. FitzGerald, "Structure activity relationship modelling of milk protein-derived peptides with dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV) inhibitory activity," *Peptides*, vol. 79, pp. 1–7, 2016.

[143] M.-C. Robert, A. Razaname, M. Mutter, M. A. Juillerat, "Identification of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides derived from sodium caseinate hydrolysates produced by *Lactobacillus helveticus* NCC 2765," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 23, pp. 6923–6931, 2004.

[144] S. McClean, L. B. Beggs, R. W. Welch, "Antimicrobial activity of antihypertensive food-derived peptides and selected alanine analogues," *Food Chemistry*, vol. 146, pp. 443–447, 2014.

[145] J. Tauzin, L. Miclo, J.-L. Gaillard, "Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides from tryptic hydrolysate of bovine αs2-casein," *FEBS letters*, vol. 531, no. 2, pp. 369–374, 2002.

[146] S. Maruyama, H. Mitachi, J. Awaya, M. Kurono, N. Tomizuka, H. Suzuki, "Angiotensin I-converting enzyme inhibitors derived from an enzymatic hydrolysate of casein. Part V. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of the C-terminal hexapeptide of αs1-casein," *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 51, no. 9, pp. 2557–2561, 1987.

[147] Y. Liu, J. Eichler, M. Pischetsrieder, "Virtual screening of a milk peptide database for the identification of food-derived antimicrobial peptides," *Molecular Nutrition & Food Research*, vol. 59, no. 11, pp. 2243–2254, 2015.

[148] F. Tonolo *et al.*, "Identification of new peptides from fermented milk showing antioxidant properties: Mechanism of action," *Antioxidants*, vol. 9, no. 2, p. 117, 2020.

[149] J. Á. Gómez-Ruiz, M. Ramos, I. Recio, "Identification of novel angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides from ovine milk proteins by CE-MS and chromatographic techniques," *Electrophoresis*, vol. 28, no. 22, pp. 4202–4211, 2007.

[150] M. Asano, N. Nio, Y. Ariyoshi, "Inhibition of prolyl endopeptidase by synthetic β-casein peptides and their derivatives with a C-terminal prolinol or prolinal," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 56, no. 6, pp. 976–977, 1992.

[151] H. Meisel, H. Frister, E. Schlimme, "Biologically active peptides in milk proteins," *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, vol. 28, no. 4, pp. 267–278, 1989.

[152] S. Maruyama, K. Nakagomi, N. Tomizuka, H. Suzuki, "Angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from an enzymatic hydrolysate of casein. II. Isolation and bradykinin-potentiating activity on the uterus and the ileum of rats," *Agricultural and Biological Chemistry*, vol. 49, no. 5, pp. 1405–1409, 1985.

[153] M. del Mar Contreras, D. Sanchez, M. Á. Sevilla, I. Recio, L. Amigo, "Resistance of casein-derived bioactive peptides to simulated gastrointestinal digestion," *International Dairy Journal*, vol. 32, no. 2, pp. 71–78, 2013.

[154] O. N. Donkor, A. Henriksson, T. K. Singh, T. Vasiljevic, N. P. Shah, "ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt," *International Dairy Journal*, vol. 17, no. 11, pp. 1321–1331, 2007.

[155] M. Tu *et al.*, "Analysis and evaluation of the inhibitory mechanism of a novel angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptide derived from casein hydrolysate," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 66, no. 16, pp. 4139–4144, 2018.

[156] A. Quirós, B. Hernández-Ledesma, M. Ramos, L. Amigo, I. Recio, "Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity of peptides derived from caprine kefir," *Journal of Dairy Science*, vol. 88, no. 10, pp. 3480–3487, 2005.

[157] S. Fernández-Tomé, D. Martınez-Maqueda, R. Girón, C. Goicoechea, B. Miralles, I. Recio, "Novel peptides derived from αs1-casein with opioid activity and mucin stimulatory effect on HT29-MTX cells," *Journal of Functional Foods*, vol. 25, pp. 466–476, 2016.

[158] H. Almaas *et al.*, "Antibacterial peptides derived from caprine whey proteins, by digestion with human gastrointestinal juice," *British Journal of Nutrition*, vol. 106, no. 6, pp. 896–905, 2011.

[159] M. Stuknytė, S. Cattaneo, F. Masotti, I. De Noni, "Occurrence and fate of ACE-inhibitor peptides in cheeses and in their digestates following *in vitro* static gastrointestinal digestion," *Food Chemistry*, vol. 168, pp. 27–33, 2015.

[160] I. López-Expósito, J. Á. Gómez-Ruiz, L. Amigo, I. Recio, "Identification of antibacterial peptides from ovine αs2-casein," *International Dairy Journal*, vol. 16, no. 9, pp. 1072–1080, 2006.

[161] A. Alvarez-Ordóñez, M. Begley, T. Clifford, T. Deasy, K. Considine, C. Hill, "Structure-activity relationship of synthetic variants of the milk-derived antimicrobial peptide αs2-casein f (183–207)," *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 79, no. 17, pp. 5179–5185, 2013.

[162] R. Norris, M. B. O'Keeffe, A. Poyarkov, R. J. FitzGerald, "Peptide identification and angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity in prolyl endoproteinase digests of bovine αs-casein," *Food Chemistry*, vol. 188, pp. 210–217, 2015.

[163] S. G. Rival, C. G. Boeriu, H. J. Wichers, "Caseins and casein hydrolysates. 2. Antioxidative properties and relevance to lipoxygenase inhibition," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 49, no. 1, pp. 295–302, 2001.

[164] J. Á. G. Ruiz, M. Ramos, I. Recio, "Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchego cheese. stability under simulated gastrointestinal digestion," *International Dairy Journal*, vol. 14, no. 12, pp. 1075–1080, 2004.

A
PEPTİT TANIMLAMADA KULLANILAN PROTEIN DİZİLİMLERİ

Tablo A.1 İnek sütü kazein dizilimleri

Protein/ Erişim Kodu	Dizilim
αs1-KN P02662	MKLLILTCLV AVALARPKHP IKHQGLPQEV LNENLLRFFV APFPEVFGKE KVNELSKDIG SESTEDQAME DIKQMEAESI SSSEEIVPNS VEQKHIQKED VPSERYLGYL EQLLRLKKYK VPQLEIVPNS AEERLHSMKE GIHAQQKEPM IGVNQELAYF YPELFRQFYQ LDAYPSGAWY YVPLGTQYTD APSFSDIPNP IGSENSEKTT MPLW
αs2-KN P02663	MKFFIFTCLL AVALAKNTME HVSSSEESII SQETYKQEKN MAINPSKENL CSTFCKEVVR NANEEEYSIG SSSEESAEVA TEEVKITVDD KHYQKALNEI NQFYQKFPQY LQYLYQGPIV LNPWDQVKRN AVPITPTLNR EQLSTSEENS KKTVDMESTE VFTKKTKLTE EEKNRLNFLK KISQRYQKFA LPQYLKTVYQ HQKAMKPWIQ PKTKVIPYVR YL
β-KN P02666	MKVLILACLV ALALARELEE LNVPGEIVES LSSSEESITR INKKIEKFQS EEQQQTEDEL QDKIHPFAQT QSLVYPFPGP IPNSLPQNIP PLTQTPVVVP PFLQPEVMGV SKVKEAMAPK HKEMPFPKYP VEPFTESQSL TLTDVENLHL PLPLLQSWMH QPHQPLPPTV MFPPQSVLSL SQSKVLPVPQ KAVPYPQRDM PIQAFLLYQE PVLGPVRGPF PIIV
κs1-KN P02668	MMKSFFLVVT ILALTLPFLG AQEQNQEQPI RCEKDERFFS DKIAKYIPIQ YVLSRYPSYG LNYYQQKPVA LINNQFLPYP YYAKPAAVRS PAQILQWQVL SNTVPAKSCQ AQPTTMARHP HPHLSFMAIP PKKNQDKTEI PTINTIASGE PTSTPTTEAV ESTVATLEDS PEVIESPPEI NTVQVTSTAV

Tablo A.2 Koyun sütü kazein dizilimleri

Protein/ Erişim Kodu	Dizilim
αs1-KN P04653	MKLLILTCLV AVALARPKHP IKHQGLSSEV LNENLLRFVV APFPEVFRKE NINELSKDIG SESIEDQAME DAKQMKAGSS SSSEEIVPNS AEQKYIQKED VPSERYLGYL EQLLRLKKYN VPQLEIVPKS AEEQLHSMKE GNPAHQKQPM IAVNQELAYF YPQLFRQFYQ LDAYPSGAWY YLPLGTQYTD APSFSDIPNP IGSENSGKIT MPLW
αs2-KN P04654	MKFFIFTCLL AVALAKHKME HVSSSEEPIN ISQEIYKQEK NMAIHPRKEK LCTTSCEEVV RNADEEEYSI RSSSEESAEV APEEVKITVD DKHYQKALNE INQFYQKFPQ YLQYLYQGPI VLNPWDQVKR NAGPFTPTVN REQLSTSEEN SKKTIDMEST EVFTKKTKLT EEEKNRLNFL KKISQYYQKF AWPQYLKTVD QHQKAMKPWT QPKTNAIPYV RYL
β-KN P11839	MKVLILACLV ALALAREQEE LNVVGETVES LSSSEESITH INKKIEKFQS EEQQQTEDEL QDKIHPFAQA QSLVYPFTGP IPNSLPQNIL PLTQTPVVVP PFLQPEIMGV PKVKETMVPK HKEMPFPKYP VEPFTESQSL TLTDVEKLHL PLPLVQSWMH QPPQPLPPTV MFPPQSVLSL SQPKVLPVPQ KAVPQRDMPI QAFLLYQEPV LGPVRGPFPI LV
κs1-KN P02669	MMKSFFLVVT ILALTLPFLG AQEQNQEQRI CCEKDERFFD DKIAKYIPIQ YVLSRYPSYG LNYYQQRPVA LINNQFLPYP YYAKPVAVRS PAQTLQWQVL PNAVPAKSCQ DQPTAMARHP HPHLSFMAIP PKKDQDKTEI PAINTIASAE PTVHSTPTTE AVVNAVDNPE ASSESIASAP ETNTAQVTST EV

Tablo A.3 Keçi sütü kazein dizilimleri

Protein/ Erişim Kodu	Dizilim
αs1-KN P18626	MKLLILTCLV AVALARPKHP INHRGLSPEV PNENLLRFVV APFPEVFRKE NINELSKDIG SESTEDQAME DAKQMKAGSS SSSEEIVPNS AEQKYIQKED VPSERYLGYL EQLLRLKKYN VPQLEIVPKS AEEQLHSMKE GNPAHQKQPM IAVNQELAYF YPQLFRQFYQ LDAYPSGAWY YLPLGTQYTD APSFSDIPNP IGSENSGKTT MPLW
αs2-KN P33049	MKFFIFTCLL AVALAKHKME HVSSSEEPIN IFQEIYKQEK NMAIHPRKEK LCTTSCEEVV RNANEEEYSI RSSSEESAEV APEEIKITVD DKHYQKALNE INQFYQKFPQ YLQYPYQGPI VLNPWDQVKR NAGPFTPTVN REQLSTSEEN SKKTIDMEST EVFTKKTKLT EEEKNRLNFL KKISQYYQKF AWPQYLKTVD QHQKAMKPWT QPKTNAIPYV RYL
β-KN P33048	MKVLILACLV ALAIAREQEE LNVVGETVES LSSSEESITH INKKIEKFQS EEQQQTEDEL QDKIHPFAQA QSLVYPFTGP IPNSLPQNIL PLTQTPVVVP PFLQPEIMGV PKVKETMVPK HKEMPFPKYP VEPFTESQSL TLTDVEKLHL PLPLVQSWMH QPPQPLSPTV MFPPQSVLSL SQPKVLPVPQ KAVPQRDMPI QAFLLYQEPV LGPVRGPFPI LV
κs1-KN P02670	MMKSFFLVVT ILALTLPFLG AQEQNQEQPI CCEKDERFFD DKIAKYIPIQ YVLSRYPSYG LNYYQQRPVA LINNQFLPYP YYAKPVAVRS PAQTLQWQVL PNTVPAKSCQ DQPTTLARHP HPHLSFMAIP PKKDQDKTEV PAINTIASAE PTVHSTPTTE AIVNTVDNPE ASSESIASAS ETNTAQVTST EV

B
PEYNİRLERİN ALT FRAKSİYONLARINDA TANIMLANAN PEPTİTLER

Tablo B.1 $\alpha s1$-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
RPKHPIK	16-22	B, O	875,55554	875,55738	1,18	*			*				
RPKHPIKH	16-23	B, O	1012,61571	1012,61629	0,86	*							
RPKHPIKHQ	16-24	B, O	1140,67353	1140,67487	1,20	*	*		*		*		
RPKHPIKHQG	16-25	B, O	1197,69570	1197,69633	0,84	*							
RPKHPIKHQGLP	16-27	B	1407,83210	1407,83316	2,20		*						
RPKHPIKHQGLPQ	16-28	B, O	1535,88972	1535,89174	1,57	*					*		
RPKHPIKHQGLPQE	16-29	B	1664,93569	1664,93433	2,58				*		*		
RPKHPIKHQGLPQEV	16-30	B	1764,00222	1764,00275	8,62		*						
RPKHPIKHQGLPQEVL	16-31	B	1877,08608	1877,08681	14,81					*	*	*	
RPKHPIKHQGLPQEVLN	16-32	B	1991,12917	1991,12974	13,43		*		*		*		
RPKHPIKHQGLPQEVLNE	16-33	B	2120,17177	2120,17233	15,24		*		*		*		
RPKHPIKHQGLPQEVLNENL	16-35	B	2347,29848	2347,29932	21,45		*		*		*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
RPKHPIKHQGLPQEVLNENLL	16-36	B	2460,38442	2460,38339	26,37		*				*		
RPKHPIKHQGLPQEVLNENLLR	16-37		2616,47475	2616,48450	23,89						*		
PKHPIK	17-22	B	719,45488	719,45627	1,21			*					
PKHPIKH	17-23	B, O	856,51410	856,51518	1,18	*							
PKHPIKHQ	17-24	B, O	984,57291	984,57376	1,19	*					*		
PKHPIKHQG	17-25	B, O	1041,59443	1041,59522	0,88	*							
PKHPIKHQGLPQ	17-28	C	1379,79041	1379,79063	2,80							*	
PKHPIKHQGLPQE	17-29	B	1508,83144	1508,83322	3,95					*			
PKHPIKHQGLPQEV	17-30	B	1607,90066	1607,90164	10,74						*		
PKHPIKHQGLPQEVL	17-31	B	1720,98525	1720,98570	16,76						*		
PKHPIKHQGLPQEVLN	17-32	B	1835,02736	1835,02863	14,69			*			*		
PKHPIKHQGLPQEVLNENLLR	17-37	B	2460,38076	2460,38339	24,80			*			*		
PKHPIKHQGLPQEVLNENLLRF	17-38	B	2607,45069	2607,45180	32,25			*		*	*		
KHPIKHQ	18-24	O, C	887,51976	887,52100	1,16	*							
KHPIKHQGL	18-26	B, O	1057,62741	1057,62652	1,31	*							
KHPIKHQGLPQ	18-28	B	1282,73808	1282,73786	1,99						*	*	
KHPIKHQGLPQEVL	18-31	C	1623,93361	1623,93294	16,36							*	
KHPIKHQGLPQEVLN	18-32	C	1737,97561	1737,97586	14,63							*	
KHPIKHQGLPQEVLNENL	18-35	C	2094,14882	2094,14545	23,02							*	
HPIKH	19-23	B	631,36670	631,36746	1,17					*	*		
HPIKHQ	19-24	O, C	759,42554	759,42603	1,17	*	*	*		*	*		
HPIKHQGLPQ	19-28	B	1154,64118	1154,64290	4,57					*	*		
HPIKHQGLPQEVLN	19-32	B	1609,88010	1609,88090	16,63		*				*		
HPIKHQGLPQEVLNEN	19-34	B	1852,96451	1852,96642	17,69		*				*		
HPIKHQGLPQEVLNENL	19-35	B	1966,05349	1966,05048	25,25						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
HPIKHQGLPQEVLNENLLR	19-37	B	2235,23867	2235,23566	27,34						*		
KHQGLPQ	22-28	B	807,44719	807,44716	3,01						*		
HQGLPQ	23-28	B	679,35149	679,35220	4,55					*			
HQGLPQE	23-29	B, C	808,39409	808,39479	6,60						*	*	
HQGLPQEV	23-30	B	907,46282	907,46321	14,22		*						
HQGLPQEVL	23-31	B	1020,54772	1020,54727	22,66						*	*	
HQGLPQEVLN	23-32	B	1134,58904	1134,59020	19,59						*	*	
QGLPQ	24-28	B	542,29279	542,29329	6,42					*	*		
GLPQE	25-29	B	543,27698	543,27730	7,14					*	*		
GLSPE	25-29	C	502,25046	502,25075	5,30	*				*			
GLPQEVL	25-31	B	755,42932	755,42978	25,78						*		
GLSPEVPN	25-32	C	812,41504	812,41486	16,21							*	
GLPQEVLNE	25-33	B	998,51518	998,51530	23,43		*						
GLPQEVLNENLLRF	25-38	B	1641,89426	1641,89588	42,31				*				
LSPEVPNE	26-33	C	884,43573	884,43599	15,34							*	
EVLN	29-32	B	791,43927	791,44101	26,65				*				
EVLNEN	29-34	B	717,34088	717,34136	4,82						*		
EVLNENLLR	29-37	B	1099,60930	1099,61060	23,62			*	*		*		
EVPNENLLR	29-37	C	1083,57939	1083,57930	19,25							*	
VLNENLL	30-36	B, O	814,46613	814,46689	25,87	*							
VLNENLLR	30-37	B	970,56664	970,56801	20,83		*	*	*	*	*	*	*
VLNENLLRF	30-38	B	1117,63640	1117,63642	33,68						*		
LNENLLR	31-37	B, O	871,49901	871,49959	17,48	*	*	*	*		*	*	
LNENLLRF	31-38	B, O	1018,56743	1018,56801	31,15	*							
IKHQGLPQE	31-39	B	1049,57334	1049,57382	7,70						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
NENLL	32-36	B	602,31342	602,31442	16,08				*		*		
NENLLR	32-37	B	758,41484	758,41553	10,43				*		*		
NENLLRF	32-38	C	905,48381	905,48394	27,30							*	
ENLLR	33-37	B	644,37126	644,37260	9,40				*		*	*	
ENLLRF	33-38	B	791,44151	791,44101	27,30						*		
NLLR	34-37	B	515,33008	515,33001	7,38						*		
NLLRF	34-38	B	662,39745	662,39842	25,28	*			*		*		
FFVAP	38-42	B	580,31281	580,31296	26,14				*				
FVVAPFP	38-44	O, C	776,43341	776,43414	35,41	*							
FFVAPFPE	38-45	B	953,47546	953,47673	37,36				*				
FVVAPFPE	38-45	O, C	905,47565	905,47673	32,82	*							*
FVVAPFPEV	38-46	O, C	1004,54376	1004,54515	39,20	*							
FVAPFP	39-44	B	677,36499	677,36572	31,67	*		*	*	*	*	*	
VVAPFP	39-44	O, C	629,36548	629,36572	25,17	*						*	*
FVAPFPE	39-45	B	806,40741	806,40832	28,98	*	*	*			*	*	
VVAPFPE	39-45	O, C	758,40717	758,40832	23,28	*						*	*
VVAPFPEV	39-46	O, C	857,47600	857,47673	31,19	*							
FVAPFPEVF	39-47	B	1052,54431	1052,54515	44,60						*	*	*
VVAPFPEVF	39-47	C	1004,54486	1004,54515	40,56							*	*
FVAPFPEVFG	39-48	B	1109,56506	1109,56661	42,95			*					*
FVAPFPEVFGK	39-49	B	1237,66069	1237,66157	37,76					*	*		*
FVAPFPEVFGKE	39-50	B	1366,70342	1366,70416	38,58						*		
FVAPFPEVFGKEKV	39-52	B	1593,86753	1593,86754	36,48		*				*		
FVAPFPEVFGKEKVN	39-53	B	1707,90781	1707,91047	34,93					*			
FVAPFPEVFGKEKVNELSKD	39-58	B	2280,19033	2280,19106	34,75						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VAPFP	40-44	B	530,29724	530,29731	20,69	*	*	*		*	*	*	*
VAPFPE	40-45	B	659,33910	659,33990	19,01	*	*	*		*	*	*	*
VAPFPEV	40-46	B	758,40802	758,40832	28,18						*	*	*
VAPFPEVF	40-47	B	905,47620	905,47673	37,85						*	*	*
VAPFPEVFG	40-48	B	962,49689	962,49819	36,42			*		*			
VAPFPEVFR	40-48	C	1061,57829	1061,57784	31,87							*	*
VAPFPEVFGKE	40-50	B	1219,63628	1219,63575	31,95						*	*	
VAPFPEVFGKEK	40-51	B	1347,73093	1347,73071	27,88						*		
VAPFPEVFGKEKVN	40-53	B	1560,84208	1560,84206	28,54		*						
APFP	41-44	B, O, C	431,22882	431,22890	15,38	*					*		
APFPE	41-45	B, O, C	560,27106	560,27149	14,32	*							
APFPEV	41-46	B, O, C	659,33934	659,33990	24,33	*							
APFPEVFGK	41-49	B	991,52507	991,52474	28,27		*						
APFPEVFGKE	41-50	B	1120,56609	1120,56734	28,82			*					
APFPEVFGKEK	41-52	B	1248,66007	1248,66230	24,64				*		*		
APFPEVFGKEKVN	41-54	B	1461,77387	1461,77364	26,37						*		
FPEVF	43-47	B	638,31909	638,31844	31,03						*		
FPEVFR	43-48	C	794,41869	794,41955	24,45							*	
FPEVFGK	43-49	B	823,43364	823,43487	24,12				*		*		
VFGK	46-49	B	450,27069	450,27110	3,37						*		
VFGKE	46-50	B	579,31366	579,31369	4,43						*		
VFGKEK	46-51	B	707,40740	707,40865	1,91		*	*		*			
VFGKEKV	46-52	B	806,47679	806,47707	8,22						*		
FGKEK	47-51	B	608,33929	608,34024	1,23			*					
GKEK	48-51	B	461,27164	461,27182	1,85						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
KENINEL	49-55	O, C	859,45171	859,45197	11,73	*						*	
KEKVNELSKDIGSESTE	49-65	B	2052,87480	2052,87740	13,68		*						
ENINEL	50-55	C	731,35699	731,35701	15,25							*	
EKVNELS	50-56	B	818,42546	818,42542	4,95		*						
ENINELSK	50-56	C	946,48400	946,48400	10,05							*	
EKVNELSK	50-57	B	946,51958	946,52039	3,32						*		
EKVNELSKDIGSESTE	50-65	B	1924,78057	1924,78244	15,02		*						
KVNEL	51-55	B	602,35010	602,35080	4,94		*						
NELSKDIGSESTE	53-65	B	1568,57585	1568,57647	12,20		*						
IGSESTE	59-65	B	802,28577	802,28662	2,62		*						
LEIVP	64-68	B	570,34912	570,34974	24,57	*		*					
LEIVPK	64-69	C	698,44426	698,44470	16,89							*	
LEIVPN	64-69	B	684,39221	684,39267	20,35						*		
LEIVPNSAEER	64-74	B	1336,61321	1336,61444	19,09		*						
LEIVPKSAEEQL	64-75	C	1355,74175	1355,74167	26,37							*	
LEIVPNSAEERL	64-75	C	1449,69792	1449,69850	28,33							*	
DQAMEDAKQM	66-75	O, C	1166,48088	1166,48163	9,80	*							
DQAMEDIKQM	66-75	B	1208,52825	1208,52858	18,10		*				*		
DQAMEDAKQMK	66-76	O	1294,57573	1294,57660	7,47								*
DQAMEDIKQME	66-76	B	1337,56938	1337,57118	19,50		*						
AMEDIKQ	68-75	B	834,40294	834,40258	6,66						*		
MEDIKQ	69-74	B	763,36418	763,36547	3,87			*					
MEDIKQM	69-75	B	894,40428	894,40595	12,58		*						
EDIKQM	70-75	B	763,36510	763,36547	6,62						*		
EDIKQMEAE	70-78	B	1092,48747	1092,48777	11,16		*						

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
DIKQM	71-75	B	634,32202	634,32287	5,09			*					
IVPNSVEQK	86-94	B	1093,52849	1093,52892	9,21					*			
KHIQKEDVPSER	94-105	B	1465,77610	1465,77577	1,77							*	
KYIQKEDVPSER	94-105	C	1491,78073	1491,78018	8,62							*	
YIQKEDVPSERYL	95-107	O	1639,83286	1639,83261	21,05								*
IQKEDVPSER	96-105	B	1200,62043	1200,62189	5,49	*						*	
IQKEDVPSERYLG	96-109	C	1533,79090	1533,79075	17,53							*	*
QKEDVPSERYL	97-107	C	1363,68528	1363,68522	16,87							*	
KEDVPSE	98-104	B	803,37731	803,37814	3,01	*				*		*	
KEDVPSER	98-105	B	959,47849	959,47925	1,69	*	*					*	*
KEDVPSERY	98-106	B	1122,54187	1122,54258	7,94	*						*	*
KEDVPSERYL	98-107	B	1235,62627	1235,62664	16,85						*		
KEDVPSERYLG	98-108	C	1292,64905	1292,64811	15,17							*	*
KEDVPSERYLGY	98-109	C	1455,71086	1455,71143	20,00							*	
EDVPSER	99-105	B	831,38341	831,38429	2,72	*	*				*	*	
EDVPSERYL	99-107	B	1107,53105	1107,53168	19,32	*	*						
DVPSE	100-104	B	546,24048	546,24058	2,34	*							
DVPSER	100-105	B	702,34106	702,34169	1,22	*					*	*	
DVPSERY	100-106	B	865,40459	865,40502	8,87	*							
DVPSERYL	100-107	B	978,48833	978,48909	18,45	*		*					
DVPSERYLG	100-108	B	1035,51091	1035,51055	16,84						*		
SERYLGYLE	103-111	C	1129,55242	1129,55242	24,12							*	
ERYLGY	104-109	C	800,39336	800,39373	15,07							*	
ERYLGYLE	104-111	O, C	1042,52043	1042,52039	23,24	*					*		
YLGYLE	106-111	B	757,37598	757,37668	24,04						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
LGYL	107-110	C	465,27066	465,27076	20,40							*	
LGYLE	107-111	B	594,31299	594,31335	17,87	*		*	*		*	*	
LGYLEQ	107-112	C	722,37079	722,37193	17,12							*	
LGYLEQL	107-113	B, C	835,45587	835,45600	29,76						*	*	
LGYLEQLLR	107-115	B	1104,64324	1104,64117	35,95						*		
GYLEQ	108-112	B	609,28711	609,28787	8,96	*					*	*	
YLEQL	109-113	C	665,34967	665,35047	19,82							*	
YLEQLLR	109-115	B	934,53502	934,53564	25,64			*			*		
LEQLL	110-114	B	615,37054	615,37120	23,83						*		
EQLLR	111-115	B	658,38841	658,38825	9,60						*		
LKKYNVPQL	116-124	O, C	1102,66106	1102,66191	20,17	*						*	*
KKYNVPQ	117-123	C	876,49364	876,49378	3,85							*	
KKYKVPQL	117-124	B	1003,62999	1003,62988	14,43						*	*	*
KKYKVPQLE	117-125	B	1132,67109	1132,67247	13,09			*					
KKYKVPQLEIVP	117-128	B	1441,87598	1441,87771	25,99			*					
KKYKVPQLEIVPN	117-129	B	1555,91716	1555,92064	23,66			*			*		
KKYKVPQLEIVPNSAEER	117-134	B	2208,14023	2208,14241	23,50						*		
KKYKVPQLEIVPNsAEERLH	117-136	B	2458,28098	2458,28539	24,62			*		*	*		
KKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMK	117-140	B	2804,45783	2804,45286	26,11						*		
KYKVPQ	118-123	B	762,44982	762,45085	3,69	*					*		
KYKVPQL	118-124	B	875,53472	875,53491	18,12						*	*	
KYNVPQLE	118-125	C	990,52495	990,52547	19,47							*	
KYKVPQLEIVPN	118-130	B	1555,92057	1555,92064	23,34				*				
YKVPQ	119-123	B	634,35529	634,35589	6,95	*					*		
YKVPQLE	119-125	B	876,48174	876,48254	19,77			*			*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
YNVPQLEIVPK	119-129	C	1299,72954	1299,73071	30,58							*	
KVPQL	120-124	B	584,37677	584,37662	13,58						*	*	
KVPQLE	120-125	B	713,41948	713,41922	11,84						*		
KVPQLEIVPN	120-129	B	1136,66716	1136,66739	26,06					*	*		
NVPQLEIVPK	120-129	C	1136,66741	1136,66739	26,66							*	
VPQLEIVPN	121-129	B	1008,57257	1008,57242	28,14						*		
EIVPK	125-129	O, C	585,36035	585,36064	5,73	*							
EIVPN	125-129	B	571,30835	571,30860	8,86					*			
EIVPKS	125-130	O, C	672,39128	672,39267	5,92	*							
EIVPKSA	125-131	O, C	743,42882	743,42978	8,40	*							
EIVPKSAE	125-132	O, C	952,43852	952,43870	9,24	*						*	
EIVPKSAEE	125-133	O, C	1081,48100	1081,48130	10,39	*						*	*
EIVPKSAEEQ	125-134	C	1129,57366	1129,57354	9,88							*	
EIVPKSAEEQL	125-135	C	1322,62346	1322,62394	20,55							*	*
EIVPNSAEER	125-135	C	1223,53093	1223,53037	11,21							*	
EIVPNSAEERL	125-136	B	1336,61553	1336,61444	22,12						*		
EIVPKSAEEQLHS	125-137	O, C	1546,71457	1546,71488	17,16	*							
EIVPKSAEEQLHSMK	125-139	C	1805,84856	1805,85033	20,18							*	
EIVPNSAEERLHSMKEGIHA	125-145	B	2327,08500	2327,08497	24,19						*		
IVPNSAEERL	126-135	B	1207,57170	1207,57184	18,61						*		*
SAEEQL	130-135	O, C	676,31378	676,31481	7,20	*						*	
SAEEQLH	130-136	O, C	813,37311	813,37372	2,42	*							
SAEERLH	130-136	B	921,38121	921,38259	2,24					*			
SAEEQLHSM	130-138	O, C	1031,44621	1031,44624	11,38	*							
HSMKEGIHA	136-144		1009,48743	1009,48838	3,30							*	

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.1 αs1-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
EGIH	140-143	B	455,22476	455,22487	1,47					*			
GNPAHQKQPM	141-150	O, C	1107,53510	1107,53639	1,83	*							
QKEPMIGV	146-153	B	901,48027	901,48116	18,65					*			
QKEPMIGVNQ	146-155	B	1143,58367	1143,58267	15,13						*		
KEPMIGVNQ	147-155	B	1461,74457	1461,74465	26,02			*			*		
HIQKEDVPSER	155-165	B	1337,68064	1337,68080	4,00							*	
HIQKEDVPSERYL	155-167	B	1613,82895	1613,82820	16,99							*	
AYFYPE	158-163	B	789,34436	789,34538	21,49					*	*		
AYFYPEL	158-164	B	902,42841	902,42945	33,61						*		
YFYPE	159-163	B	718,30652	718,30827	19,66						*		
IPNPIG	197-202	B	610,35535	610,35589	18,38			*			*		
SENSGKTTMPLW	203-214	C	1350,63457	1350,63583	27,79							*	*
NSEKTTMP	205-212	B	907,41887	907,41896	6,04					*			
NSEKTTMPLW	205-214	C	1206,58306	1206,58234	28,22							*	
SEKTTMPLW	206-214	B	1092,53887	1092,53941	28,08		*						
TTMPLW	209-214	B	530,29669	530,29731	20,51			*			*		
TMPLW	210-214	B	748,36847	748,36982	31,65			*					

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, P04653, P18626

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Peyniri; K: Keçi Peyniri; E: Ezine

Tablo B.2 $\alpha s2$-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
KAMKPWIQPKT	16-32	B	1327,75605	1327,75549	15,62						*		
LNEINQF	20-33	C	877,44086	877,44141	21,30							*	
SSEEPIN	21-32	C	855,31293	855,31317	4,70							*	
VDMESTEVFTK	25-30	B	1365,56377	1365,56438	21,14		*						
VIPY	25-31	B	491,28613	491,28641	15,74				*				
VIPYVR	28-34	B	746,45555	746,45594	17,50						*		
VIPYVRY	28-35	B	909,51799	909,51926	23,41				*				
VIPYVRYL	29-32	B	1022,60338	1022,60333	32,77					*			
VPITPT	32-35	B	627,37042	627,37120	12,39			*					
VYQHQKAM	35-47	B	1004,49771	1004,49821	2,34						*		
VYQHQKAMKPWIQPK	37-47	B	1882,01504	1882,01562	15,05						*		
WIQP	37-49	B	543,29266	543,29256	18,61						*		
WIQPK	38-47	B	671,38671	671,38752	11,00					*	*		
WTQPKTNAIPYVR	40-47	C	1573,84641	1573,84854	23,21							*	
YKQEKNMAINPS	41-47	B	1518,66547	1518,66582	38,02						*		
YQKFALPQ	42-47	B	994,53575	994,53564	21,83						*		
YQKFAWPQ	42-50	C	1067,53154	1067,53089	24,18							*	
YQKFPQ	56-64	C	810,41423	810,41447	10,01							*	
YQKFPQY	57-64	B, O, C	973,47777	973,47779	17,18	*					*	*	*
YQKFPQYLQ	80-86	C	1214,62041	1214,62044	23,08							*	
YQKFPQYLQY	98-104	B	1377,68328	1377,68376	27,72	*							
YVRYL	99-104	B	713,39800	713,39809	16,7753						*		
AGPFTP	104-119	O, C	589,29749	589,29804	16,76	*							

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.2 αs2-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
AINPSKENL	104-120	B	1065,49773	1065,49762	13,81						*	*	
ALPQYL	104-122	B	704,39764	704,39775	26,06						*		
AMKPWIQPKT	104-123	B	1199,66106	1199,66053	19,60						*		
AMKPWIQPKTKVIP	105-109	B	1636,95998	1636,96073	25,33						*		
AMKPWIQPKTKVIPYVR	105-110	B	2055,19179	2055,19358	25,56			*			*		
AVPITP	105-113	B	597,35962	597,36064	16,56	*							
AVPITPT	116-126	B	698,40820	698,40832	14,87						*		
AVPITPTL	117-128	B	811,49225	811,49238	27,49			*			*	*	
AWPQY	117-129	O, C	664,30786	664,30894	19,95	*							
EHVSSSEEPINIFQ	117-130	C	1695,72344	1695,72617	30,13							*	
EVVRNANE	121-129	B	930,46398	930,46393	1,81						*		
FALPQYLKT	122-129	B	1080,60869	1080,60881	31,33							*	
FAWPQY	130-137	O, C	811,37677	811,37735	30,47	*							
FAWPQYLK	131-136	C	1052,55705	1052,55638	32,61							*	
GPFTPT	131-137	C	619,30865	619,30860	13,31							*	
GPIVLNPWDQVK	131-138	B	1365,74993	1365,75251	32,58		*	*			*		
GPIVLNPWDQVKR	131-141	B	1365,75151	1365,75251	33,09						*	*	
GPIVLNPWDQVKRN	132-137	B	1521,85198	1521,85362	29,93		*	*					
HQKAMKPWIQPK	133-137	B	1491,82387	1491,82530	12,40						*		
HVSSSEESIISQ	133-138	B	1671,55669	1671,55879	15,45			*					
IISQE	154-158	B	589,31842	589,31917	3,88			*					
IPYVR	154-163	B	647,38725	647,38752	13,96						*		
IQPKTKVIP	156-163	B	1023,65471	1023,65609	13,86			*					
IQPKTKVIPY	158-164	B	1186,71770	1186,71942	17,94			*	*		*		
IQPKTKVIPYVR	159-163	B	1441,88761	1441,88895	17,35		*	*			*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.2 αs2-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
KEVVRNANEEE	167-179	B	1316,64374	1316,64408	1,61								*
KHKMEHVSSSEEPINIF	179-184	C	2251,88871	2251,88958	29,21							*	*
KNMAIHPR	179-185	C	966,53015	966,53018	2,49							*	
KPWIQPK	179-186	B	896,53447	896,53525	11,31			*					
KPWIQPKT	179-188	B	997,58127	997,58293	13,35			*					
KPWIQPKTK	186-193	B	1125,67765	1125,67789	8,86						*		
KPWIQPKTKVIPYVR	187-194	B	1853,11428	1853,11599	23,18						*		
KPWTQPKT	189-197	O, C	985,54566	985,54654	6,96	*							
KPWTQPKTN	190-195	O, C	1099,58896	1099,58947	5,62	*							
KPWTQPKTNAI	190-195	O, C	1283,70513	1283,71065	2,09	*							
KQEKNMAIHPR	190-197	C	1351,72634	1351,72631	1,86							*	*
KQEKNMAIHPRKE	191-195	O	1608,86152	1608,86387	1,40								*
KTKVIPY	191-196	B	848,52355	848,52402	13,42						*		
KTKVIPYVR	191-197	B	1103,69345	1103,69354	13,17						*		
KVIPYVR	196-215	B	874,54991	874,55090	14,37		*	*		*	*		
LKKISQ	197-203	B	716,46550	716,46650	1,97						*		
LKKISQR	198-205	B, C	872,56761	872,56761	1,29						*	*	
LKKISQRY	198-212	B	1035,63077	1035,63094	4,69						*		
LKKISQRYQK	201-212	B	1291,78362	1291,78448	2,20						*		
LKTVDQHQKAMKPWTQPKTN	203-213	O, C	2379,25855	2379,26016	12,81	*							
LNPWDQVKR	204-213	B	1155,62519	1155,62692	18,71	*	*						
LPQYLK	204-217	B	761,45500	761,45560	17,14						*		
LPQYLKT	204-220	B	862,50255	862,50328	18,94		*						
MAIHPR	205-220	C	724,39177	724,39229	4,75							*	*
MESTEVFT	206-212	B	1023,37201	1023,37406	17,46		*						

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.2 αs2-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
MKPWIQPKTKVIPYVR	206-213	B	1984,15566	1984,15647	25,70						*		
NAGPFTPTVNR	206-214	O, C	1173,60063	1173,60110	16,87	*						*	*
NAVPITPT	206-220	B	812,45001	812,45124	16,14			*			*		
NEINQF	207-214	C	764,35620	764,35734	15,67							*	
NMAIHPR	207-215	C	838,43498	838,43522	6,28							*	
NPWDQVKR	207-217	B, O, C	1042,54190	1042,54285	13,68	*							
QEKNMAIHPR	208-211	C	1223,63193	1223,63135	3,90							*	
QETY	208-212	B	540,22992	540,23002	2,64					*			
QGPIVLNPWDQ	209-217	B	1266,64502	1266,64771	36,85	*							
QKFPQ	209-218	B	647,35063	647,35114	4,85	*							
QKFPQY	209-220	B	810,41362	810,41447	14,44	*							
QKFPQYLQY	209-221	B	1214,61894	1214,62044	26,07	*							
SIISQET	212-218	B	777,39783	777,39887	13,22			*					
SIISQETY	212-220	B	940,46088	940,46220	19,17			*					
SSEEPINIF	213-218	C	1115,46575	1115,46565	31,64							*	
STEVFTK	213-220	B	891,38573	891,38594	9,67		*						
TEVFT	213-222	B	596,29242	596,29262	11,84		*						
TIDME	214-220	O, C	608,25873	608,25960	9,35	*							
TKLTEEEKNRLNF	214-221	C	1621,85428	1621,85441	18,18							*	*
TKVIPY	215-219	B	720,42871	720,42905	16,84						*		
TKVIPYVR	215-220	B	975,59827	975,59858	16,53						*		
TKVIPYVRYL	215-221	B	1251,74704	1251,74597	29,58						*		
TNAIPYVR	215-222	C	933,51439	933,51524	18,18							*	
TVYQHQK	216-220	B	903,46854	903,46829	1,41						*		
VAPEEIK	217-222	C	785,43956	785,44035	7,95							*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02663, P04654, P33049
2 B: bovine, O: ovine, C: caprine
3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Peyniri; K: Keçi Peyniri; E: Ezine

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
ARELEEL	15-21	B	859,45213	859,45197	11,92							*	
RELEE	16-20	B	675,32976	675,33080	2,41				*				
ELEE	17-20	B	519,23016	519,22968	3,20						*		
ELEEL	17-21	B	632,31287	632,31375	16,53		*	*		*	*	*	
ELEELNVPG	17-25	B	999,49750	999,49932	23,21						*		
ELEELNVPGE	17-26	B	1128,54077	1128,54191	23,67						*		
ELEELNVPGEIVE	17-29	B	1469,73621	1469,73698	31,87						*		
LEELNVP	18-24	B	813,43457	813,43526	24,03		*						
LEELNVPGE	18-26	B	999,49846	999,49932	22,07		*	*			*		
LEELNVPGEIVE	18-29	B	1340,69267	1340,69439	30,52			*					
EELNVPGE	19-26	B	886,41461	886,41525	16,79						*		
EELNVPGEIVE	19-29	O, C	1227,60869	1227,61032	26,75			*			*		
LNVPGE	21-26	B	628,32990	628,33007	14,59						*		
LNVPGEIVE	21-29	B	969,52325	969,52514	25,34			*					
NVPGEIVE	22-29	B	856,43964	856,44107	17,49			*	*	*	*		
VPGEIVE	23-29	B	742,39722	742,39815	15,49			*		*			
VVGETVE	23-29	O, C	812,34277	812,34374	7,39	*							
GEIVE	25-29	B	546,27747	546,27697	7,22						*		
SITHINK	37-43	C,O	812,46202	812,46248	2,94							*	
ITHINK	38-43	O, C	725,42919	725,43045	1,50	*							

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
INKKIE	41-46	B	744,46013	744,46142	1,63			*		*			
INKKIEK	41-47	B	872,55481	872,55638	1,24			*					
INKKIEKFQSEEQQQTEDELQ	41-61	B	2672,24224	2672,24510	17,87		*						
NKKIEKFQSEEQQQTEDELQ	42-61	B	2559,15849	2559,16103	15,74		*						
KKIEK	43-47	B, O, C	645,42828	645,42939	1,17					*			
KIEKF	44-48	B, O, C	664,40184	664,40284	5,10	*							
KIEKFQSEEQQQTE	44-57	B	1831,80766	1831,81096	10,36								*
KIEKFQSEEQQQTEDE	44-59	B	2075,87871	2075,88050	11,62		*						
KIEKFQSEEQQQTEDELQ	44-61	B, O, C	2317,02104	2317,02314	17,29		*					*	
IEKFQSEE	45-52	B	1089,45000	1089,45000	9,50		*						
IEKFQSEEQQ	45-54	B	1345,56487	1345,56715	9,17		*						
IEKFQSEEQQQTEDELQ	45-61	B	2188,92754	2188,92818	18,39		*						
KFQSEEQQ	47-54	B	1103,44097	1103,44050	2,33		*	*					
KFQSEEQQQ	47-55	B	1231,50005	1231,49907	1,23					*			
KFQSEEQQQTEDELQ	47-61	B	1946,80058	1946,80152	15,32		*						
FQSEE	48-52	B	639,26141	639,26205	2,67	*							
FQsEEQ	48-53	B	847,28571	847,28696	1,26					*			
FQSEEQQ	48-54	B, O, C	1103,40373	1103,40411	2,45			*					
FQSEEQQQTE	48-57	B, O, C	1333,49260	1333,49438	4,13		*						
FQSEEQQQTEDELQ	48-61	B	1738,73833	1738,74023	14,93		*						
QSEEQQQTEDELQ	49-61	B	1671,63738	1671,63815	12,18		*						
SEEQQQTEDELQ	50-61	B	1543,57805	1543,57957	9,02		*						
EEQQQTEDELQ	51-61	B	1376,58098	1376,58121	8,15		*						
EQQQTEDELQ	52-61	B, O, C	1247,53789	1247,53862	7,06		*						
TEDEL	56-60	B	606,26086	606,26171	7,00			*					

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
TEDELQ	56-61	B	734,31946	734,32029	4,53		*	*				*	
TEDELQD	56-62	B	849,34613	849,34723	5,74			*					
TEDELQDKIHPFAQTQ	56-71	B	1670,80057	1670,80204	23,29			*					
EDELQ	57-61	B, O, C	633,27191	633,27261	3,02		*						
DELQD	58-62	O, C	619,25629	619,25696	2,77	*		*					
DKIHPFAQAQS	58-62	C	1241,62529	1241,62731	12,71	*						*	
DELQDKIHP	58-66	B	1094,54619	1094,54766	15,39			*		*			
DKIHPFAQTQ	58-66	B, O, C	1184,60428	1184,60585	12,67			*					
DELQDKIHPFAQTQSL	58-73	O, C	1869,93106	1869,93412	27,75				*				
DKIHPFAQTQSL	58-73	B	1384,72190	1384,72194	20,96		*						
ELQDKIHP	59-67	B, O, C	979,52011	979,52072	11,93	*							
ELQDKIHPFAQTQ	59-72	B	1554,79355	1554,79108	20,30						*		
DKIHP	62-66	B	609,33490	609,33549	1,77	*			*	*			
DKIHPF	62-67	B	756,40325	756,40390	12,52	*			*		*		
DKIHPFAQ	62-69	B	955,49919	955,49959	12,51						*	*	
DKIHPFAQA	62-70	C	1026,53691	1026,53671	14,40							*	
DKIHPFAQAQ	62-71	C	1154,59490	1154,59528	13,29							*	
KIHPFAQ	63-69	C	840,47148	840,47265	10,01						*		
KIHPFAQA	63-70	C	911,51006	911,50976	11,70							*	
KIHPFAQAQ	63-71	C	1039,56719	1039,56834	10,59							*	
KIHPFAQTQ	63-71	B	1069,57752	1069,57890	10,07					*			
IHPFAQTQ	64-71	B	941,48351	941,48394	12,83					*			
AQAQSL	68-73	O, C	617,32465	617,32532	4,42	*							
AQTQSL	68-73	B	647,33527	647,33588	4,64		*						
LVYP	73-76	B, O, C	491,28613	491,28641	17,44	*							

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VYPFP	74-78	B	622,32281	622,32353	26,77			*		*			
VYPFTGPIPN	74-83	O, C	1104,57141	1104,57242	31,13	*							
YPFPGPIPN	75-83	B	1001,50847	1001,50909	30,08	*							
PFTGPIP	76-82	O, C	728,39685	728,39775	25,70	*							
FPGPIPN	77-83	B	741,39185	741,39300	23,34			*					
FTGPIPNSLPQ	77-87	C	1170,61450	1170,61535	27,90							*	
FTGPIPNSLPQN	77-88	C	1284,65764	1284,65828	26,05							*	
TGPIPN	78-83	O, C	598,31915	598,31950	9,57	*							
TGPIPNSLPQ	78-88	C	1023,54827	1023,54694	22,59							*	
GPIPN	79-83	B, O, C	497,27188	497,27182	7,60	*							
GPIPNSLPQ	79-87	B, O, C	922,49768	922,49926	21,30			*			*		
NSLPQ	83-87	B, O, C	558,28778	558,28820	4,14					*		*	
SLPQNILP	84-91	O, C	881,50818	881,50909	30,22	*							
SLPQNILPL	84-92	O, C	994,59300	994,59316	38,08	*							
IPPLTQTPVVVPPF	89-102	B	1504,87615	1504,87738	44,41					*			
IPPLTQTPVVVPPFLQPE	89-106	O, C	1972,11199	1972,11538	47,11					*			
IPPLT	89-93	B	540,33868	540,33918	18,01			*		*	*		
IPPLTQ	89-94	B	668,39703	668,39775	17,34	*	*	*		*	*		
IPPLTQTP	89-96	B	866,49713	866,49819	21,95			*					
IPPLTQTPV	89-97	B	965,56476	965,56661	26,23			*		*	*		
LTQTPVVVPPF	92-102	B	1197,68596	1197,68779	36,75				*				
LTQTPV	92-97	B	658,37592	658,37702	10,31			*					
TQTPVVVPP	93-101	B, O, C	937,53448	937,53531	21,78	*							
TQTPVVVPPF	93-102	B, O, C	1084,60205	1084,60372	34,54	*							
TQTPVVVPPFLQ	93-104	B, O, C	1325,74565	1325,74636	39,22	*							

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
QTPVVVPP	94-101	C	836,48657	836,48763	24,81	*							
TPVVVP	95-100	B, O, C	611,37500	611,37629	19,56	*							
TPVVVPP	95-101	B, O, C	708,42822	708,42905	20,14	*							
TPVVVPPF	95-102	B, O, C	855,49609	855,49747	34,07	*		*					
TPVVVPPFLQ	95-104	B, O, C	1096,63933	1096,64011	39,12	*							
TPVVVPPFLQPE	95-106	B	1322,73499	1322,73546	39,41			*					
TPVVVPPFLQPEVM	95-108	B	1552,84277	1552,84436	45,59			*					
PVVVPP	96-101	B	607,38055	607,38137	18,57	*	*					*	
PVVVPPF	96-102	B, O, C	754,44867	754,44979	33,38	*							
PVVVPPFLQ	96-104	B, O, C	995,59113	995,59243	38,79	*							
PVVVPPFLQP	96-105	B, O, C	1092,64458	1092,64519	40,58	*							
PVVVPPFLQPE	96-106	B, C	1221,68852	1221,68779	39,56						*	*	*
PVVVPPFLQPEVM	96-108	B	1451,79753	1451,79668	46,03								*
VVVPP	97-101	B, O, C	510,32816	510,32861	13,30	*				*		*	
VVVPPF	97-102	B, O, C	657,39594	657,39702	29,95	*		*	*				
VVVPPFL	97-103	B, O, C	770,48010	770,48109	40,05	*		*		*		*	
VVVPPFLQP	97-105	B, O, C	995,59137	995,59243	38,44	*						*	
VVPP	98-101	B, O, C	411,25983	411,26020	6,94	*				*			
VVPPF	98-102	B, O, C	558,32819	558,32861	24,45	*							
VVPPFL	98-103	B, O, C	671,41162	671,41267	34,76	*		*					
VVPPFLQ	98-104	B, O, C	799,47058	799,47125	30,94	*							
VVPPFLQP	98-105	B, O, C	896,52294	896,52402	33,39	*							
PPFLQPEV	100-108	B	926,49835	926,49819	28,51						*		
FLQPEVMGV	102-110	B, O, C	1019,52336	1019,52303	32,58		*						
VPPFL	109-113	C	572,34393	572,34426	30,27	*		*				*	

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
GVSKVK	109-114	B	617,39819	617,39809	1,21					*	*	*	
VPPFLQ	109-114	B, O, C	700,40167	700,40284	26,33	*						*	
GVPKVKE	109-115	C	756,46044	756,46142	4,04	*							
GVSKVKE	109-115	B	746,43945	746,44068	1,32						*	*	
VPPFLQP	109-115	B, O, C	797,45453	797,45560	29,74	*					*		
VPPFLQPE	109-116		926,49677	926,49819	28,09			*			*	*	
VPPFLQPEVM	109-118		1156,60600	1156,60709	36,90			*				*	
GVSKVKEAMAPK	109-120	B	1244,70307	1244,70312	6,79						*	*	
VSKVK	110-114	B	560,37616	560,37662	1,18					*			
VPKVKE	110-115	O, C	699,43926	699,43995	2,16	*							
SKVKEAMAPK	111-120	B	1088,61161	1088,61324	1,76			*					
KVKEAM	112-116	B	705,39629	705,39637	1,65						*		
KVKEAMAPK	112-120	B	1001,57920	1001,58121	1,54					*		*	
KVKEAMAPKH	112-121	B	1138,63945	1138,64012	1,22				*				
KVKETMVPKH	112-121	C	1196,68091	1196,68199	2,24							*	
VKEAM	113-117	B	577,30078	577,30141	2,46			*					
VKETMVPKH	113-121	C	1068,58619	1068,58703	4,49							*	
VKEAMAPKHK	113-122	B	1138,64067	1138,64012	1,22						*		
VKEAMAPKHKEMPFPKYPVEPF	113-134	B	2600,33796	2600,34038	27,49		*						
EAMAPK	115-120	B	646,32274	646,32287	1,90						*		
ETMVPK	115-120	C	704,36443	704,36474	6,30							*	
ETMVPKH	115-121	C	841,42314	841,42365	3,97							*	
TMVPKHK	116-122	O, C	840,47557	840,47602	1,35	*							
TMVPKHKEMP	116-125	O, C	1197,61036	1197,61186	8,70	*							
AMAPKHKEMPFPKYPVEPF	116-134	B	2244,13296	2244,13441	28,72		*						

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VPKHKEMPFPKY	117-129	O, C	1500,80300	1500,80317	15,50	*							
APKHKEMPFPKYPVEP	118-133	B	1894,98879	1894,98840	21,76		*						
HKEMPFPK	121-128	B, O, C	1013,52253	1013,52370	10,30	*							
HKEMPFPKYPVEPFTESQ	121-138	B, O, C	2191,04953	2191,05285	28,91			*					
HKEMPFPKYPVEPFTESQSL	121-140	O, C	2391,16550	2391,16894	32,29			*					
KEMPFPKYP	122-130	B	1136,57939	1136,58088	22,11					*			
KEMPFPKYPVEP	122-133	O	1461,74329	1461,74465	26,06		*						
KEMPFPKYPVEPFTESQSLTL	122-143	B	2468,23844	2468,24177	38,47								*
EMPFP	123-127	C	620,27454	620,27486	25,50							*	
MPFPKYP	124-130	B, O, C	879,44286	879,44332	25,30	*							
FPKYP	126-130	B	651,34990	651,35007	17,12						*		
FPKYPVEP	126-133	B	976,51348	976,51384	23,23						*	*	
FPKYPVEPF	126-134	C	1123,58135	1123,58226	31,97							*	
KYPVEPFTE	128-136	B	1109,55168	1109,55135	22,64							*	
YPVEP	129-133	C	604,29712	604,29770	13,76	*							
YPVEPFT	129-134	C	852,41235	852,41380	24,83						*		
PVEPFT	130-135	B, O, C	689,34973	689,35047	18,21	*							
SQSLTL	137-148	O, C	648,35632	648,35628	18,55							*	
SQSLTLTDVEKL	137-154	O, C	1333,71965	1333,72094	30,37	*							
TLTDVEK	141-147	O, C	805,42967	805,43017	6,88	*							
TLTDVENLHLPLPLLQ	141-156	B	1816,02788	1816,02148	47,53			*					
TDVEKL	143-148	O, C	704,38176	704,38250	9,38	*							
NLHLPLPL	147-154	B	916,56151	916,56146	40,64						*		
LHLPLP	148-153	B, O, C	689,43370	689,43447	31,24	*			*				
LHLPLPL	148-154	B, O, C	802,51720	802,51854	39,77						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
LHLPLPLVQ	148-156	B, O, C	1029,64519	1029,64553	38,68	*							
HLPLPLVQ	149-156	O, C	916,56059	916,56146	31,17	*							
HLPLPLVQS	149-157	C	1003,59386	1003,59349	30,67							*	
HLPLPLVQSW	149-158	B	1189,67034	1189,67281	39,83	*							
WMHQPPQPLPPT	158-169	O	1428,70781	1428,70927	23,74	*							
MHQPPQPLPP	159-168	B	1141,58183	1141,58228	17,30	*							
HQPHQPLPPT	160-169	B, O, C	1151,59375	1151,59562	9,61	*							
QPHQPLPPT	161-169	O	1014,53575	1014,53671	12,56	*							
QPPQPLPPTVMFPPQS	161-176	O	1760,90203	1760,90400	36,58	*							
VMFPPQ	170-175	B, O, C	718,35754	718,35926	20,34	*							
VMFPPQS	170-176	B, O, C	805,39032	805,39129	20,30	*							
FPPQ	172-175	B, O, C	488,25015	488,25036	8,12	*						*	
FPPQS	172-176	B, O, C	575,28210	575,28239	9,40	*						*	
FPPQSVL	172-178	O, C	787,43445	787,43487	27,59							*	*
FPPQSVLSLSQSKVLPVPQKAVPYP	172-193	B	2706,50619	2706,52290	0,86	*							
SLSQPK	179-184	O, C	659,37169	659,37227	1,96	*							
SLSQPKVLP	179-187	O	968,57787	968,57751	21,24							*	
SLSQPKVLPVP	179-189	O, C	1164,69817	1164,69869	27,60	*							
SLSQPKVLPVPQ	179-190	O, C	1292,75701	1292,75726	24,95							*	*
LSQPKVLPVP	180-189	O, C	1077,66570	1077,66666	27,07	*							
LSQSKVLPVPQ	180-190	B	1195,70268	1195,70450	21,55						*	*	*
LSQSKVLPVPQK	180-191	B	1323,79868	1323,79946	16,70				*				
LSQPKVLPVPQKAVPQ	180-195	O, C	1729,03543	1729,03707	23,16	*					*		
SQPKVLPVPQ	181-190	O, C	1092,64092	1092,64117	19,91	*						*	
SQSKVLPVPQ	181-190	B	1082,61992	1082,62044	17,94	*			*	*	*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
SQPKVLPVPQK	181-191	O	1220,73539	1220,73613	15,63							*	
SQPKVLPVPQKAVP	181-194	O, C	1487,89377	1487,89442	22,08	*							
SQPKVLPVPQKAVPQ	181-195	O, C	1615,95389	1615,95300	20,04	*						*	
SQPKVLPVPQKAVPQRDMPIQ	181-201	O, C	2356,31540	2356,31695	24,48							*	
SQSKVLPVPQKAVPYPQRDMPIQA	181-204	B	2677,44546	2677,44942	27,70						*		
QSKVLPVP	182-189	B	867,52837	867,52983	19,53	*							
QSKVLPVPQ	182-190	B	995,58824	995,58841	18,10						*	*	
SKVLPVPQ	183-190	B	867,53032	867,52983	18,04						*		
SKVLPVPQK	183-191	B	995,62369	995,62479	12,68						*		
SKVLPVPQKAVPYPQ	183-197	B	1650,95615	1650,95775	23,13					*	*		
SKVLPVPQKAVPYPQRDMPIQA	183-204	B	2462,36001	2462,35881	27,68						*		
KVLPVP	184-189	B, O, C	652,43840	652,43922	19,53	*						*	
KVLPVPQ	184-190	B, O, C	780,49620	780,49780	16,20	*	*	*		*	*	*	
KVLPVPQK	184-191	O	908,59276	908,59276	11,41							*	
KVLPVPQKAVPYPQ	184-197	B	1563,92466	1563,92573	22,41			*					
KVLPVPQKAVPYPQRDMPIQ	184-203	B	2304,28725	2304,28967	26,24						*		
VLPVP	185-189	B, O, C	524,34662	524,34426	22,61	*							
VLPVPQ	185-190	B, O, C	652,40178	652,40284	17,93	*					*	*	
VLPVPQKAVPQ	185-195	O, C	1175,71330	1175,71467	20,15	*						*	
VLPVPQKAVPQRDMPIQA	185-202	C	1987,11618	1987,11573	26,64							*	
VLPVPQKAVPYPQRDMPIQ	185-203	B	2176,19126	2176,19471	28,40		*	*					
LPVPQKAVPQ	186-195	C	1205,72539	1205,72523	24,55							*	
KAVPYP	191-196	B	674,38591	674,38719	11,99				*				
KAVPYPQ	191-197	B	802,44457	802,44577	9,71				*	*	*		
KAVPQRDMPIQ	191-201	O	1282,69158	1282,69362	12,79	*						*	

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
KAVPQRDMPIQAF	191-203	O, C	1500,79767	1500,79914	24,14	*							
AVPYP	192-196	B	546,29193	546,29223	15,30				*				
AVPYPQ	192-197	B	674,35028	674,35080	12,09					*			
AVPQRDMP	192-199	O, C	913,45610	913,45601	10,83	*							
AVPQRDMPIQ	192-201	O	1154,59734	1154,59865	15,71								*
AVPQRDMPIQA	192-202	O	1225,63481	1225,63577	18,66							*	*
YPQRDMPIQ	195-203	B	1147,55644	1147,55645	15,86		*						
RDMPIQA	196-202	O, C	830,41765	830,41890	13,13	*						*	
DMPIQ	197-201	B, O, C	603,28021	603,28067	11,58	*		*			*	*	*
DMPIQA	197-202	B	674,31775	674,31779	16,11						*		
RDMPIQAF	198-205	B	977,48674	977,48731	24,50	*			*				
RDMPIQAFL	198-206	B	1090,56999	1090,57138	35,12	*					*		
MPIQ	200-203	B	488,25348	488,25373	8,62						*		
LLYQEPVLGPVRGPFP	206-219	B, O, C	1781,99393	1781,99487	39,75	*							
YQEPVLGPVRGPFPIL	206-221	C	1781,99419	1781,99487	45,06							*	
YQEPVLGPVRGPFPILV	206-222	O, C	1881,06131	1881,06328	46,88	*						*	
YQEPV	208-212	B	635,30255	635,30352	9,49	*					*	*	
YQEPVL	208-213	B	748,38708	748,38758	20,71						*		
YQEPVLGP	208-215	B	902,46094	902,46181	21,11	*					*	*	
YQEPVLGPV	208-216	B	1001,53021	1001,53022	26,86						*	*	
YQEPVLGPVR	208-217	B	1157,63054	1157,63133	20,77	*		*			*		
YQEPVLGPVRGPFP	208-221	B	1555,82480	1555,82674	34,16	*					*		
QEPVLGP	209-215	B	739,39716	739,39848	16,68	*							
QEPVLGPV	209-216	B	838,46552	838,46689	23,25							*	*
QEPVLGPVR	209-217	B	994,56651	994,56801	17,25	*	*	*				*	

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
QEPVLGPVRGPF	209-220	B	1295,70903	1295,71065	35,53	*						*	
QEPVLGPVRGPFP	209-221	B	1392,76335	1392,76341	32,19				*		*	*	
QEPVLGPVRGPFPI	209-222	B	1505,84648	1505,84747	42,95	*		*	*		*	*	*
QEPVLGPVRGPFPILV	209-222	C	1717,99956	1717,99995	46,30							*	*
EPVLGP	210-215	B	611,33923	611,33990	15,79	*							
EPVLGPVR	210-217	B	866,50865	866,50943	16,77					*			
EPVLGPVRGP	210-219	B	1020,58367	1020,58366	20,97	*							
EPVLGPVRGPFP	210-221	B	1264,70586	1264,70483	32,33	*							
PVLGP	211-215	B, O, C	482,29715	482,29731	14,04	*							
PVLGPVR	211-217	B, O, C	737,46593	737,46684	14,68	*							
PVLGPVRGPFP	211-221	B	1135,66155	1135,66224	31,13	*	*	*					
VLGPVRGP	212-219	B	794,48735	794,48830	15,68	*							
VLGPVRGPFP	212-221	B, O	1038,60906	1038,60948	28,85	*			*				*
GPVRGPFPILV	212-222	C	1151,69316	1151,69354	39,10	*						*	*
VLGPVRGPFPI	212-222	B	1151,69170	1151,69354	35,93			*	*				
LGPVRGP	213-219	B, O, C	695,41875	695,41989	12,44	*							
LGPVRGPFPI	213-222	B, O, C	1052,62419	1052,62513	34,17	*							
GPVRGPF	214-220	B	729,40361	729,40423	16,13	*						*	
VRGPFPI	214-220	B, O, C	785,46636	785,46684	27,55							*	
GPVRGPFP	214-221	B	826,45720	826,45700	19,46	*					*		
GPVRGPFPI	214-222	B	939,54100	939,54106	28,86					*		*	
VRGPFPILV	214-222	C	997,61882	997,61931	37,66							*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02666, P11839, P33048

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Peyniri; K: Keçi Peyniri; E: Ezine

Tablo B.4 κ-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
EQNQEQPIR	23-31	B	1141,56084	1141,55963	4,27						*		
EQPIR	27-31	B	642,35594	642,35695	2,25					*	*		
FDDKIAK	39-45	O, C	836,45000	836,45124	7,30	*						*	
KYIPIQY	45-51	B	924,51915	924,51893	22,68						*		
VLSRYPSYGL	52-61	B	1154,61968	1154,62044	24,15	*							
LPYPYY	77-82	B	815,39679	815,39742	25,74	*							
AVRSPA	87-92	B	600,34551	600,34639	1,84	*							
SPAQILQWQVL	90-100	B	1282,71594	1282,71540	41,66			*					
WQVLPN	97-102	O, C	756,40259	756,40390	25,20	*							
WQVLSNTVPA	97-106	B	1114,58557	1114,58914	28,92						*		
WQVLSNTVPAK	97-107	B	1242,68291	1242,68410	23,88						*		
QVLSNTVPA	98-106	B	928,50909	928,50982	17,07						*		
QVLPNTVPAK	98-107	C	1066,62590	1066,62552	16,20							*	
VLPNTVPAK	99-107	C	938,56682	938,56694	13,30							*	*
VLSNTVPAK	99-107	B	928,54552	928,54621	9,81						*		
VLPNTVPAKS	99-108	C	1025,59807	1025,59897	13,16							*	
AQPTTM	111-116	B	648,30145	648,30214	4,96						*		
TMARHPHPHLSF	115-126	B	1430,70984	1430,71100	14,18			*			*		
MARHPHPHL	116-124	B	1095,56156	1095,56288	3,05			*					
LARHPHPHLSF	116-126	C	1311,70603	1311,70690	14,11							*	
MARHPHPHLSF	116-126	B	1329,66190	1329,66332	13,38			*					
ARHPHPHLS	117-125	B	1051,55408	1051,55442	1,29	*	*		*				
ARHPHPHLSF	117-126	B	1198,62311	1198,62284	11,41		*		*		*		*

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo B.4 κ-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
RHPHPHLSF	118-126	C	1127,58542	1127,58572	11,03							*	
HPHPHL	119-125	B	737,38324	737,38417	2,43			*			*		
HPHPHLSF	119-126	B	971,48352	971,48461	13,98			*			*	*	*
IPPKKDQDKTEIPAINT	129-145	C	1908,04262	1908,04367	17,43							*	
IPPKKN	130-135	B	696,43707	696,44029	29,86					*			
KTEIPAINT	137-145	O	986,55138	986,55169	18,47	*							
TEIPTIN	139-145		787,41766	787,41961	19,51				*				
IASAEPTVHSTPTTE	146-160	O	1540,74700	1540,74894	12,98								*
SAEPTVHSTPTTEA	148-161	C	1427,66496	1427,66488	10,87							*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02668, P02669, P02670

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Peyniri; K: Keçi Peyniri; E: Ezine

C PEYNİRLERİN ÜST FRAKSİYONLARINDA TANIMLANAN PEPTİTLER

Tablo C.1 $\alpha s1$-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
PKHPIKHQGLPQEVLNENLLRFFVAPFPEVFGK	17-49	B	3826,0975	3826,0955	48,82			*					
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAM	39-69	B	3588,5866	3588,5893	38,86							*	
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAME	39-70	B	3717,6295	3717,6319	38,40				*				
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMED	39-71	B	3832,6534	3832,6588	38,19						*		
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIK	39-72	B	4073,8341	4073,8379	38,54						*		
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQ	39-73	B	4201,8944	4201,8964	37,95						*	*	
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQ	39-73	B	4281,8543	4281,8628	38,05						*		
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQM	39-74	B	4332,9258	4332,9369	41,18				*		*		
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQME	39-75	B	4461,9777	4461,9795	41,49						*		
FVAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQMEAE	39-77	B	4662,0534	4662,0592	42,31						*		
VAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQ	40-74	B	4054,8244	4054,8280	34,55						*		

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo C.1 $\alpha s1$-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VAPFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQM	40-75	B	4185,8600	4185,8685	38,29				*		*		
APFPEVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQ	41-74	B	3955,7526	3955,7596	33,20				*		*		
EVFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIK	45-73	B	3335,5253	3335,5236	17,66							*	
VFGKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQ	46-74	B	3494,4667	3494,4723	25,54						*		
RKENINELSKDIGSESIEDQAMEDAKQM	48-74	O, C	3368,4404	3368,4423	29,24							*	*
GKEKVNELSKDIGSESTEDQAMEDIKQME	48-75	B	3428,4521	3428,4522	29,38						*	*	
RKENINELSKDIGSESTEDQAMEDAKQMK	48-75	O, C	3496,5343	3496,5373	27,29							*	*
KENINELSKDIGSESTEDQAMEDAKQMK	49-75	O, C	3328,3971	3328,3998	24,31							*	*
HIQKEDVPSERYLGYLEQLLRLKKYKVPQLEIVPNSAEER	95-134	B	4888,5709	4888,5761	41,14			*					
LRLKKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEG	114-141	B	3372,7824	3372,7862	26,86		*						
LRLKKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEGIHA	114-144	B	3693,9589	3693,9663	28,19						*		
KKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEGIHA	117-144	B	3311,6947	3311,6970	27,14						*	*	
KKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEGIHAQQK	117-147	B	3695,9062	3695,9091	24,79				*				
KKYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEGIHAQQKEPMIGVNQEL	117-157	B	4806,4344	4806,4471	30,25						*		
KYKVPQLEIVPNSAEERLHSMKEGIHA	118-144	B	3183,5966	3183,6020	29,06						*		
EIVPNSAEERLHSMKEGIHAQQKEPMIGVNQ	125-155	B	3579,6991	3579,7084	25,71						*		

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02662, 904653, P18626

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Beyaz; K: Keçi Beyaz; E: Ezine

Tablo C.2 αs2-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VKITVDDKHYQKALNEINQFYQKFPQYLQY	84-113	B	3761,9279	3761,9326	39,79					*			
ITVDDKHYQKALNEINQFYQKFPQYLQYL	87-112	B	3647,8493	3647,8533	46,17					*			
YQKFPQYLQYPYQGPIVLNPWDQVK	104-128	B	3112,5875	3112,5931	42,10							*	
YQKFPQYLQYPYQGPIVLNPWDQVKR	104-129	B	3268,6871	3268,6942	39,75							*	
KTKLTEEEKNRLNFLKKISQRYQKF	166-190	B	3169,7804	3169,7844	25,85			*					
FALPQYLKTVYQHQKAMKPWIQPKTKVIPY	189-221	B	3645,0172	3645,0178	36,17							*	
ALPQYLKTVYQHQKAMKPWIQPKTKVIPYVRYL	190-222	B	4029,2564	4029,2663	34,55						*		
LKTVDQHQKAMKPWTQPKTNAIPYVR	196-221	C	3078,6652	3078,6670	20,70							*	
KTVYQHQKAMKPWIQPKTKVIPYVRYL	196-222	B	3343,8781	3343,8864	27,06						*		
TVYQHQKAMKPWIQPKTKVIPYVRYL	197-222	B	3215,7882	3215,7914	28,63				*				
KTVDQHQKAMKPWTQPKTNAIPYVRYL	197-223	C	3241,7268	3241,7303	27,57							*	
VYQHQKAMKPWIQPKTKVIPYVRYL	198-222	B	3114,7387	3114,7438	28,35						*	*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02663, P04654, P33049

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Beyaz; K: Keçi Beyaz; E: Ezine

Tablo C.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
INKKIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQ	41-69	B	3409,6269	3409,6312	27,08			*	*				
INKKIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQ	41-69	B	3608,7224	3608,7269	26,50						*		
KIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPF	44-67	B	3054,4088	3054,4092	27,51							*	
KIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFA	44-68	B	3125,4406	3125,4463	27,50						*	*	
KIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQ	44-71	B	3452,5954	3452,6006	26,79						*	*	
KIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQAQS	44-73	C	3539,6305	3539,6326	26,51							*	
KIEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQAQSL	44-74	C	3652,7120	3652,7167	30,30							*	
IEKFQSEEQQQTEDELQDKIHPFAQ	45-69	B	3125,4049	3125,4099	28,50			*			*		
FAQTQSLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPE	67-106	B	4368,3241	4368,3319	54,27			*					
FAQTQSLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMG	67-109	B	4655,4540	4655,4622	54,59			*					
FAQAQSLVYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPK	67-112	C	4983,6940	4983,7097	54,81							*	
AQTQSLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMG	68-109	B	4508,3782	4508,3938	54,49		*						
SLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQP	72-105	B	3664,0257	3664,0189	54,59			*					
SLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVM	72-108	B	4023,1717	4023,1704	54,73			*					
SLVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSKVKEA	72-115	B	4821,6154	4821,6304	54,11		*						
SLVYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKET	72-116	O, C	4895,7306	4895,7035	54,62							*	
LVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPE	73-106	B	3608,7248	3608,7269	26,57			*					
LVYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPE	73-106	C, O	3726,0494	3726,0557	54,83								*
LVYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVM	73-108	B	3936,1468	3936,1384	54,82			*	*		*	*	
LVYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKV	73-113	C	4450,4769	4450,4863	54,97							*	
LVYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKE	73-114	C	4707,6141	4707,6238	54,62							*	
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPE	74-106	B	3592,9122	3592,9454	54,03		*	*					

sonraki sayfada devam etmektedir

Tablo C.3 β-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
VYPFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPE	74-106	C	3612,9774	3612,9716	54,66							*	
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEV	74-107	B	3692,0101	3692,0138	54,46		*						
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVM	74-108	B	3823,0486	3823,0543	54,65		*	*		*	*		
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMG	74-109	B	3880,0704	3880,0758	54,57			*					
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMGV	74-110	B	3979,1385	3979,1442	54,83		*						
VYPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSK	74-112	B	4194,2435	4194,2712	54,19		*						
YPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPE	75-106	B	3493,8812	3493,8770	53,46			*					
YPFPGPIPNSLPQNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVM	75-108	B	3723,9807	3723,9859	54,56			*					
PFTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPK	76-119	C	4888,6862	4888,7123	53,56							*	
FTGPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPKH	77-121	C	4928,7169	4928,7185	52,02							*	
GPIPNSLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPK	79-120	C	4543,5363	4543,5435	52,07							*	
SLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKET	84-106	C	3610,0298	3610,0328	52,18							*	
SLPQNILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPKH	84-121	C	4202,3442	4202,3484	49,32							*	
QNIPPLTQTPVVVPPFLQPEVMGVSKVKEAMAPKH	87-121	B	3887,0324	3887,0363	53,66		*						
ILPLTQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPK	89-128	B	3526,0136	3526,0191	48,44							*	
TQTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPKHKEMPFPKYPVEPF	93-134	O, C	4816,5668	4816,5683	43,00	*							
QTPVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPKH	94-121	C	3125,7230	3125,7254	40,10							*	
PVVVPPFLQPEIMGVPKVKETMVPKHK	96-122	O, C	3024,7114	3024,7141	37,99							*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02666, P11839, P33048

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Beyaz; K: Keçi Beyaz; E: Ezine

Tablo C.4 κ-kazein türevi peptitler

Peptit Dizilimi	Aralık[1]	Tür[2]	Gözlenen Kütle	Teorik Kütle	Alıkonma Süresi	Peynir[3]							
						ET	KG	İT	EK	M	İ	K	E
MAIPPKKDQDKTEIPAINTIASAEPTVHSTPTTE	127-160	C	3631,8402	3631,8524	28,18							*	
AIPPKKDQDKTEIPAINTIASAEPTVHSTPTTE	128-160	C	3500,8114	3500,8119	26,51							*	
EPTSTPTTEAVESTVATLEDSPEVIESPPEI	151-181	B	3495,4406	3495,4516	25,25							*	

1 Protein dizilimi erişim kodları; P02668, P02669, P02670

2 B: bovine, O: ovine, C: caprine

3 ET: Erzincan tulum; KG: Kars gravyer; İT: İzmir tulum; EK: Eski kaşar; M: Mihaliç; İ: İnek Beyaz; K: Keçi Beyaz; E: Ezine

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Makale

1. N. Turan, M.Z. Durak, "The functionality, bioavailability, and bioactive peptides in white cheeses produced in Turkey", *European Food Research and Technology*. DOI: 10.1007/s00217-022-03992-2.

2. N. Turan, M.Z. Durak, "The identification of antioxidant and ACE-I peptides in different Turkish ripened cheeses", *Journal of Food Science and Technology*. DOI: 10.1007/s13197-022-05414-3.

Proje

1. Geleneksel Peynir Çeşitlerinde Bulunan Bazı Biyoaktif Peptitlerin Belirlenmesi, Neslihan Turan, TAGEM/HSGYAD/A/19/A3/P2/1151, 2019-2021.