

*A. Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Kürsüsü*  
*Prof. Dr. Ethem Ersoy*

## **İNEK SÜTÜ VE YOĞURDU ÜZERİNDE AMİNO ASİT SPEKTRUMU, TOTAL PROTEİN VE LAKTOZ YÖNÜNDE ARAŞTIRMALAR\*.**

**Nihat Bayşu\*\***

### **The amino acids, protein and lactose contents of cow's milk and yoghurt.**

**Summary:** The purpose of this study was to investigate the possible changes in amino acid spectrum, protein and lactose contents of milk during fermentation.

In this study, 25 milk and 25 yoghurt samples were used. The yoghurt was made in our laboratory by the incubation of milk which was fermented with 2 % yoghurt yeast at 40°C for 12 hours.

The amino acid determination was carried out using an automatic amino acid analyzer. The protein content was determined by Kjehldal method and the polarimetric method was used for the determination of lactose.

The mean values of the amino acids as g/100 g of protein in milk and yoghurt were as follows, respectively:

Lysine  $8.17 \pm 0.116$ ,  $7.90 \pm 0.146$ ; histidine  $2.78 \pm 0.047$ ,  $2.70 \pm 0.097$ ; ammonia  $2.51 \pm 0.095$ ,  $2.46 \pm 0.089$ ; arginine  $3.39 \pm 0.050$ ,  $3.21 \pm 0.051$ ; aspartic acid  $7.61 \pm 0.122$ ,  $7.62 \pm 0.116$ , threonine  $4.08 \pm 0.074$ ,  $4.05 \pm 0.081$ ; serine  $4.91 \pm 0.097$ ,  $4.88 \pm 0.101$ ; glutamic acid  $20.86 \pm 0.223$ ,  $20.65 \pm 0.268$ ; proline  $9.66 \pm 0.138$ ,  $9.53 \pm 0.142$ ; glycine  $1.99 \pm 0.037$ ,  $2.06 \pm 0.045$ ; alanien  $3.24 \pm 0.054$ ,  $3.41 \pm 0.127$ ; half cystine  $0.59 \pm 0.012$ ,  $0.57 \pm 0.011$ ; valine  $6.42 \pm 0.084$ ,  $6.40 \pm 0.090$ ; methionine  $2.55 \pm 0.066$ ,  $2.50 \pm 0.064$ ; isoleucine  $5.32 \pm 0.075$ ,  $5.33 \pm 0.060$ ; leucine  $9.62 \pm 0.157$ ,  $9.46 \pm 0.134$ ; tryosine  $4.70 \pm 0.066$ ,  $4.49 \pm 0.067$ ; phenylalanine  $4.81 \pm 0.068$ ,  $4.69 \pm 0.061$ .

The difference between milk and yoghurt samples in the arginine content was found statistically significant at 5 % level.

\* Bu araştırma Berlin Vet. Fak. Biyokimya enstitüsünde yapılmış ve 1972 yılında doçentlik tezi olarak kabul edilmiştir. Bu yayın, tezin özetidir.

\*\* A.Ü. Veteriner Fakültesi Biyokimya Kürsüsü Doçenti.

The mean values for total protein in milk and yoghurt samples were  $3.38 \pm 0.022$  and  $3.39 \pm 0.023$  %, respectively and they were not significantly different. The mean values for lactose in milk and yoghurt samples were  $4.80 \pm 0.036$  and  $3.86 \pm 0.034$  %, respectively. The difference between them was significant at 1 % level.

On the other hand, the mean pH value for yoghurt was 3.90 while it was 6.67 for milk. They were also significantly different at 1 % level.

In addition to these, no differences were found among the yoghurt samples which were prepared by the incubation of milk for 12, 24, 36, 48, 60 and 72 hours at 40°C in their protein and amino acids contents. But their lactose contents and also pH values decreased gradually.

In conclusion, the biochemical reactions during the fermentation effected on the arginine and lactose contents and pH values of milk significantly.

**Özet:** Bu çalışma, sütün amino asit spektrumu, total protein ve laktoz katımının yoğurtlaşma sırasında bir değişikliğe uğrayıp uğramadığını tesbit etmek amacıyla yapılmıştır. Çalışmamızda Meirei Zentrale-Berlin firmasından temin ettiğimiz 25 inek sütü ile bu sültere % 2 oranında yoğurt mayası ilâve ettikten sonra 40°C de 12 saat süre ile bekletmek suretiyle kendi yaptığımız 25 yoğurt kullanılmıştır. Süt ve yoğurtlardaki amino asitler, Beckman 120/B otomatik amino asit analizlerle tayin edilmiş, total protein tayininde Kjehldal metodu ve laktoz tayininde de polarimetrik metod kullanılmıştır.

Süt ve yoğurtların amino asitler yönünden analizinde bulduğumuz sonuçlar aşağıda kaydedilmiştir. Bunlardan her amino asit karşısına (ortalama gr/100 gr. protein cinsinden) yazılan ilk rakam süte, ikincisi de yoğurda aittir:

Lizin:  $8.17 \pm 0.116$ ,  $7.90 \pm 0.146$ ; histidin:  $2.78 \pm 0.047$ ,  $2.70 \pm 0.097$ ; amonyak:  $2.51 \pm 0.095$ ,  $2.46 \pm 0.089$ ; arginin:  $3.39 \pm 0.050$ ,  $3.21 \pm 0.051$ ; aspartik asit:  $7.61 \pm 0.122$ ,  $7.62 \pm 0.116$ ; treonin:  $4.08 \pm 0.074$ ,  $4.05 \pm 0.081$ ; serin:  $4.91 \pm 0.097$ ,  $4.88 \pm 0.101$ ; glutamik asit:  $20.86 \pm 0.223$ ,  $20.65 \pm 0.268$ ; prolin:  $9.66 \pm 0.138$ ,  $9.53 \pm 0.142$ ; glisin-  $1.99 \pm 0.037$ ,  $2.06 \pm 0.045$ ; alanin:  $3.24 \pm 0.054$ ,  $3.41 \pm 0.127$ ; sistin/2:  $0.59 \pm 0.012$ ,  $0.57 \pm 0.011$ ; valin:  $6.42 \pm 0.084$ ,  $6.40 \pm 0.090$ ; methionin:  $2.55 \pm 0.066$ ,  $2.50 \pm 0.064$ ; izoloysin:  $5.32 \pm 0.075$ ,  $5.33 \pm 0.060$ ; loysin:  $9.62 \pm 0.157$ ,  $9.46 \pm 0.134$ ; tirozin:  $4.70 \pm 0.066$ ,  $4.49 \pm 0.067$ ; fenilalanin:  $4.81 \pm 0.068$ ,  $4.69 \pm 0.061$  olarak bulunmuştur. Bu sonuçlardan yoğurdun arginin miktarındaki % 0,18 gr. lik azalma istatistik önem taşımakta olup, diğer amino asitlerin miktarları arasında önemli bir fark bulunmamıştır.

Materyalimiz olan sülterde total protein miktarı, ortalama %  $3.38 \pm 0.022$  gr., yoğurtlarda da %  $3.39 \pm 0.023$  gr. olarak bulunmuş ve bu kıymetler arasında istatistik bir fark tesbit edilmemiştir.

Laktoz miktarı, sülterde ortalama %  $4.80 \pm 0.036$  gr. iken, bu sülterden yukarıda bildirdiğimiz şekilde hazırladığımız yoğurtlarda ortalama %  $3.86 \pm 0.034$  gr. olarak bulunmuştur. Bu değerler arasındaki fark, istatistik önem taşımaktadır.

Keza ortalama olarak sülterde 6.67 olan pH kıymeti de yoğurtlarda 3.90 a düşmüş olup bu düşüşün de istatistik bakımdan önemli olduğu tesbit edilmiştir.

Ayrıca, sütü yoğurt mayası ile mayaladıktan sonra 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat sürelerle 40°C de bekleterek hazırladığımız yoğurtlar arasında, amino asitler ve total protein bakımından önemli bir değişiklik bulunmadığı, laktoz miktarları ile pH kıymetlerinin ise gittikçe düştükleri tesbit edilmiştir.

Sonuç olarak, sütün yoğurtlaşması sırasında meydana gelen biyokimyasal olaylar nedeniyle katımındaki laktoz ve arginin miktarları azalmakta, pH kıymeti de düşmektedir

## Giriş

Çok eskidenberi Türk ülkelerinde yapılmakta olan yoğurt, toplumumuzun beslenmesinde önemli bir yer tutmakta ve Türklerin milli bir yiyeceği olarak kabul edilmektedir.

Yoğurt, sağlığı koruyucu bir özelliğe sahiptir. Bu özellik, onun birçok mikroplara karşı gösterdiği bakterisid ve bakteriyostatik etkisinden ileri gelmektedir. Yoğurt, içerisinde bulunan süt asidi ve diğer koruyucu maddeler sebebiyle süte nazaran daha dayanıklı bir maddedir. İhtiva ettiği maddeler, onu âdeta konserve etmektedir. Memleketimizin sıcak günlerinde birkaç saat dahi dayanmayan süt, yoğurt yapıldığı takdirde birkaç gün dayanabilmektedir<sup>49</sup>.

Yoğurt, eski zamanlardanberi sıcak memleketlerde çeşitli hazırlama koşulları ve isimler altında sağlığa yararlı bir besin olarak tüketilmekte, pediatri ve geriatride çok faydalı bir madde olarak kullanılmaktadır<sup>10,20</sup>.

Besin maddelerinin katımlarının bilinmesinde, özellikle gelişmekte olan canlıların beslenmeleri bakımından büyük yararlar vardır. Memleketimizin önemli bir besin maddesi olan yoğurt üzerindeki bilimsel çalışmalar, son yıllarda hız kazanmıştır. Türkiye dahil diğer muhtelif memleketlerde, daha çok yoğurdun teknolojisi ile ilgili çalışmalar yapılmış olup, amino asit katımı üzerinde hemen hemen durulmamış denebilecek kadar az çalışma yapılmıştır.

Süt, bilhassa ihtiva ettiği amino asitler, protein ve laktoz bakımından önemli bir besin maddesidir. Sütün yoğurt elde etmek amacıyla mayalanması, sütte çeşitli biyokimyasal değişikliklerin meydana gelmesine ve bazı yeni maddelerin teşekkül etmesine sebep olmaktadır. Bu bakımdan sütün yoğurda dönüşmesi sırasında meydana gelecek biyokimyasal değişmelerin bir sonucu olarak, süt ve yoğurdun katımları arasında bazı farkların ortaya çıkabileceğini düşündük. Bu araştırmanın maksadı da, inek sütü ve yoğurdunun amino asitler, total protein ve laktoz miktarını tesbit etmek ve yoğurtlaşma sırasında, bunlarda kalitatif veya kantitatif bir değişiklik meydana gelip gelmediğini belirtmektir. Ayrıca yoğurtlaşma olayı sırasında bir ekşime vukua geldiğinden, bu ekşimeye bağlı olarak pH kıymetlerinin tayinini de yapmayı faydalı bulduk.

### Süt:

Süt, meme bezindeki alveoller tarafından salgılanan bir sıvı olup, özellikle büyümekte olan canlılar için iyi bir besin maddesidir. Meme

bezinin doğumdan sonraki ilk salgısı olan kolostrum ise hakiki süttten büyük ölçüde ayrılır<sup>13</sup>.

Süt proteinlerinin teşekkülü konusunda değişik görüşler mevcut olup, daha ziyade kan amino asitlerinden meydana geldiği üzerinde durulmaktadır<sup>8</sup>.

İnek sütü proteinden oldukça zengin bir besin maddesidir<sup>13,14</sup>. Schulz ve Anglemier<sup>41</sup>, inek sütünde % 3.5 kadar protein bulunduğunu kaydetmektedirler. Platt<sup>34</sup>, bu miktarın % 3,8 e kadar çıkabildiğini bildirmektedir.

Bütün sütlerde olduğu gibi, inek sütünde de miktarları ve amino asit katımları türden türe farklılık gösteren başlıca 3 protein fraksiyonu vardır. Bunlar kazein, laktalbumin ve laktoglobulin'dir<sup>40</sup>.

Stojslavljević ve arkadaşları<sup>43</sup>, çeşitli sütlerin triptofan ve sistin'in dışında kalan amino asit miktarları üzerinde yaptıkları araştırmada, inek sütünün en fazla glutamik asit ve prolin, en az da glisin ihtiva ettiğini bildirmektedirler.

Sasaki ve Taniguchi<sup>37</sup>, normal inek sütünün total azot değerinin % 432-462 mg. arasında, pH değerinin de 6,48-6,62 arasında değiştiğini bildirmektedir.

Sütün ihtiva ettiği diğer belli başlı maddelerden biri de laktozdur. Laktoz, sütün karakteristik karbonhidratı olup, memenin alveolar hücreleri tarafından yapılır. Bu disakkarid, sütün fermentasyonu esnasında laktik aside döner<sup>39</sup>.

Laktozun organizmada özellikle, gastrointestinal kanal üzerine olumlu etkisi vardır<sup>1</sup>. İnek sütündeki laktoz miktarını Sasaki ve Taniguchi<sup>37</sup> % 4.42-4.50 gr., Walsh ve arkadaşları<sup>45</sup>, % 4.33-4,72 gr. ve Leydolph ve Ulrich<sup>23</sup> de % 4,7 gr. olarak bildirmektedirler.

#### Yoğurt:

Yoğurt, binlerce yıldanberi Türkler tarafından bilinmekte ve muhtelif memleketlerde değişik isimlerle tanınmaktadır<sup>39</sup>.

Yoğurt kolay sindirilebilen, biyolojik değeri yüksek olan, barsak florası üzerine olumlu etkiye sahip<sup>21</sup> ve gastroenteroloji'de başarı ile kullanılan bir besin maddesidir<sup>35,42,48</sup>.

Yoğurt *Str. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un simbiyotik etkisiyle meydana gelen özel bir tat ve aromaya sahip, karışık bir kültürdür. Yoğurdun aroması, hasıl olan süt asidi, diasetil ve asetaldehiden ileri gelmektedir<sup>32,33</sup>.

*Str. thermophilus*, yoğurdun oluşumunda ve arzulanan aromanın meydana gelmesinde önemli olan bir mikroorganizmadır. Havalı yerde gelişemez. Opt. pH derecesi 6,0-6,5 tur. *L. bulgaricus*'a göre daha düşük asidliği tercih eder. Yeni mayalanmış sütte asidliğin düşüklüğü nedeniyle daha çok bu mikroorganizma aktiftir. Optimal ısı 37°C olduğu halde 50°C ye kadar gayet iyi çalışır. 55°C de faaliyeti yavaşlar ve 80°C de durur.

*L. bulgaricus*, yoğurdun tipik aromasının teşekkülünde rol oynar. Havasız ortamda gelişir. Laktozdan süt asidi yapma gücü fazladır. Bunun için süt ürünlerinde bariz ekşiliğe sebep olur. Ekşi yoğurt ve mayada miktar itibariyle fazla bulunur. Optimum pH derecesi 5,2-5,5 tur. Çok az olarak azotlu maddeleri parçalayarak valin ve diğer bazı amino asitleri hasıl etmek suretiyle mayalanmış sütte hem kendileri ve hem de simbiyoz olarak çalıştıkları *Str. thermophilus*lar için uygun bir ortam yaratırlar. Bu mikroorganizmanın optimal ısı 40°C olup, 45°C den sonra faaliyeti yavaşlar ve 70°C de ise durur. İyi bir mayada bu iki tip bakteri yarı yarıya bulunmalıdır.

Yoğurt yapılacak sütün önce, 84°-90°C de belirli bir süre ısıtılması gerekir<sup>20,24,38</sup>. Sütün 1/2 saati geçmemek şartıyla, 15-30 dakika süre ile ısıtılması normal sayılmaktadır. Süt, kaç derecede mayalanacaksa bunun 3°C yukarısına kadar soğutulur. Örneğin; mayalanma 44°C de yapılacaksa süt 47°C ye kadar soğutulmalıdır. Sütün mayalanma ısı genellikle 42°C dir. Bu ısıdaki süte % 2-3 oranında maya karıştırılır<sup>49</sup>.

Miller ve Kandler<sup>26</sup>, yoğurdun serbest amino asitleri üzerinde yaptıkları araştırmalar neticesinde bulgularını şöyle özetlemektedirler:

*L. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* ihtiva eden yoğurt, litrede 300-500 mg. gibi yüksek seviyede serbest amino asit ihtiva etmekte ve bu seviye, ekşimiş yoğurtlarda daha da yükselmektedir. Bu araştırmacılara göre<sup>27</sup>; *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*'dan daha az protein parçalamaktadır.

Miller ve arkadaşları<sup>28</sup>, 30 dakika süre ile kaynatıldıkları süte % 3 oranında maya ilavesiyle 44°C de hazırladıkları yoğurdun serbest amino asit katımı üzerinde araştırma yaparak; yapıldığı süte nazaran taze yoğurtta bütün serbest amino asitlerin özellikle serbest prolin'in arttığını bildirmektedirler.

Rašić ve arkadaşları<sup>36</sup>, sütün yoğurtlaşması sırasında amino asit katımında önemli bir değişme olmadığını bildirmektedirler. A-

raştırmacılar, yoğurtta esansiyel amino asitlerden en fazla valin, lizin ve loysin bulunduğunu tesbit ettiklerini kaydetmektedirler.

Yoğurt bakterileri laktoz üzerine de etki yaparak onu laktik aside parçalamaktadır.

Galanos ve arkadaşları<sup>9</sup>, oda ısısında 3 gün bekletilen yoğurtta bulunan laktoz miktarının yaklaşık olarak % 50 sinin hidrolize uğradığını kaydetmektedirler.

Muhtelif yoğurtların hazırlanışındaki küçük farklar nedeniyle araştırmacıların çeşitli yoğurtlarla karşı karşıya kaldıkları ve böylece değişik materyalin incelenmesi sonunda bulunan değerlerin de farklılık gösterdikleri belirtilmektedir<sup>49</sup>.

### Materyal ve Metod

#### *Materyal:*

Materyal olarak Meierei-Zentrale Berlin firmasından temin edilen inek sütleri ve bu sütlerden kendi yaptığımız yoğurtlar kullanıldı. Denemelerimizde kullandığımız 25 sütün herbirinden ikişer numune alındı. Bunların birer numunesi üzerinde süt analizleri yapıldı. Geri kalanları da, 85°C de 20 dakika tutulup 43°C ye soğutulduktan sonra % 2 oranında yoğurt mayası ilâve edilerek mayalandı ve ağızları kapatılıp 40°C de 12 saat bırakılmak suretiyle yoğurt haline getirildi ve sonra da analize edildi. Bu şekilde hazırlanan süt ve yoğurt numunelerinde bulunan amino asitlerin (lizin, histidin, arginin, aspartik asit, treonin, serin, glutamik asit, prolin, glisin, alanin, sistin, valin, methionin, izoloysin, loysin, tirozin, fenilalanin) analizleri yapıldı. Ayrıca 3 paralel tayinle total protein ve laktoz miktarları da tesbit edildi. Bundan başka 5 ayrı inek sütü alınarak yukarıda anlatıldığı şekilde ısıtılıp, yoğurt mayası ile mayalandı. Elde edilen yoğurtlar 40°C ısıda muhafaza edildiler ve üzerinde muhtelif aralıklarla (inkubasyondan 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat sonra) amino asit, total protein ve laktoz tayinleri yapıldı.

#### *Metod:*

Materyalimiz olan süt ve yoğurtlarda önce elektrometrik olarak pH kıymetleri ölçüldü.

Total protein tayinleri, Kjehldal metodu<sup>25</sup> ile yapıldı. Bu metodda prensip şudur: Numune, sülfürik asit ve selendioksit ile Kjehldal cihazında yakılır. Büchi cihazında konsantre sodyum hidroksit ile

amonyak halinde bağlanan azot, reaksiyon karışımından, içinde % 2 lik borik asit bulunan erlenmeyere distile edilir. Sonra da mişin-dikatör'e (Bromkrezol yeşili) karşı 0.02 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile titre edilir. Tit-rasyonda sarfedilen asit miktarından da hesapla total azot ve total protecin miktarları bulunur.

Laktoz tayinleri, Horwitz<sup>11</sup>'in tarif ettiği polarimetrik metodla yapıldı. Bu metoda göre, civa -II-iyodür ve fosfotungstik asitle deproteine edilen numunenin filtratındaki laktoz miktarı, nonius tak-simatlı bir Carl-Zeiss polarimetresiyle tayin edildi. Laktoz tayinleri de total protecin tayinleri gibi 3 paralel işlemle yapıldı ve elde edilen sonuçların ortalamaları alındı.

Daha sonra süt ve yoğurt numunelerinin amino asit spektrumları tayin edildi. Bunun için de numuneler, önce hidroliz ve oksidasyona tâbi tutuldu. Numunelerde materyal bölümünde adı geçen amino asitlerin tayinleri yapıldı. Ancak triptofan, hidroliz esnasında önemli kayıba uğrayan bir amino asit olduğundan<sup>6,44</sup> bu amino asidin tayini yapılmadı.

Amino asit spektrumu tayin edilmek istenen analiz materyali, yani süt ve yoğurt, Krampitz<sup>17,18</sup> ve Kedenburg ve Schwarz<sup>12</sup>'in tarif ettikleri şekilde hidrolize edilerek elde edilen hidrolizat, amino asit analizere tatbik edildi ve mevcut amino asitler kalitatif ve kan-titatif olarak tayin edildiler. Amino asit spektrumunun tayininde metoda ilişkin literatür kayıtlarına uyularak<sup>15,16</sup> birisi 24 saat, diğeri de 72 saat süre ile hidrolize tâbi tutulan 2 türlü materyal kullanıldı. 24 saat süre ile hidrolize edilen materyalde tesbit edilen amino asit-lerden treonin ve serin kıymetleri, 72 saat süre ile hidrolize edilen materyalde tesbit edilen amino asitlerden valin, methionin ve izo-loysin kıymetleri olduğu gibi alındı. Lizin, histidin, arginin, aspar-tik asit, glutamik asit, prolin, glisin, alanin, loysin, tirozin, fenila-lanin amino asitleri için ise 24 ve 72 saatlik hidrolizatlardan elde edilen analiz sonuçlarının ortalama değerleri alındı.

Çalışmalarımızda kullandığımız hidroliz metodunda gerekli ayıraçlar ve metodun yapılışı kısaca aşağıya kaydedilmiştir:

#### *Ayıraçlar:*

1. 6 normal hidroklorik asit
2. 2.2 pH lı tampon çözelti (105 gr. 1 mol. su'lu sitrik asit, 42 gr. % 97 lik sodyum hidroksit, 80 ml. derişik hidroklorik asit, 0,5 ml. kaprilik asit, 25 ml. thiodiglikol ve 10 ml. brij karış-tırılıp bidistile su ile 5 lt. ye tamamlandıktan sonra pH sı ayarlanarak hazırlanır.)

*Yapılışı:*

Daha önce total protein miktarı tayin edilmiş olan numuneler, protein: asit oranı 1: 1000 olacak şekilde ( $20 \pm 0.5$  mg. protein: 20 ml. 6 N HCl) özel hidroliz balonlarına kondu. Balonların ağızları, parafilmle kapatıldı ve  $-25^{\circ}\text{C}$  de durmaya terkedildi. 30 dakika sonra hidroliz balonları özel bir düzende 3 yollu bir musluk vasıtasıyla azot gazı ve vakum pompasına bağlanarak boynundan alevde kritilmek suretiyle kapatıldı. Buraya kadarki işlem, herbir numuneden alınan iki ayrı materyale aynı şekilde uygulandı. Bir numuneye ait iki hidroliz balonundan biri 24 saat, diğeri de 72 saat süre ile  $110^{\circ}\text{C}$  ye kondu. Süresi biten balon soğutulup ağızı açıldı ve asidi vakum altında ve rotatör evaporatörde  $32^{\circ}\text{C}$  benmari kullanılarak uçuruldu. Kalan kısım yine 1: 1000 oranını koruyacak şekilde 2.2 pH lı tampon çözeltiyle karıştırıldı. 10 dakika süre ile dakikada 3000 devirde santirifüje edildi ve sonra da 589<sup>2</sup> beyaz band filtre kâğıdından süzüldü. Elde edilen süzüntü oda ısısında analizatöre tatbik edildi. Numunelerde mevcut sistin'in kromatogramlardaki pikleri kolaylıkla değerlendirilemeyecek kadar küçük olduğundan, herbir materyalden yeni bir numune alınarak bundaki sistin, Moore<sup>29</sup>'un tarif ettiği metodla sisteik aside oksitlendikten sonra analize edildi. Sistin için, oksidasyondan elde edilen hidrolizata ait değer alındı.

Çalışmalarımızda kullandığımız oksidasyon metodunda gerekli ayraçlar ve metodun yapılışı aşağıya kaydedilmiştir:

*Ayraçlar:*

1. % 48 lik bromlu hidrojen
2. Oksidasyon çözeltisi (% 30 luk hidrojen peroksit'den 1 ml. alınır. 1 saat oda ısısında tutulur, sonra  $0^{\circ}\text{C}$  ye soğutulur ve 9 ml. % 88 lik formik asitle karıştırılarak hazırlanır.)

*Yapılışı:*

Bir oksidasyon balonu alındı. İçerisine numune kondu. Üzerine numunede bulunan total proteinin herbir 2-5 mg. 1 için 2 ml. oksidasyon çözeltisi ilâve edildi. Balon, buz içerisinde 1 gece bırakıldı. Ertesi sabah yine buz içerisinde ve çeker ocakta herbir 2-5 mg. proteine karşılık 0.3 ml. % 48 bromlu hidrojen ilâve edildi. Balon içerisindeki karışım, bromun rengi geliştikten sonra vakum altında rotatör evaporatörde uçuruldu. Kalıntıya, protein: asit oranı 1: 1000 olacak şekilde 6 N hidroklorik asit kondu. Balonun ağızı vakum ve azot gazı kullanılmaksızın alevde kapatıldı ve 24 saat için  $110^{\circ}\text{C}$  ye



terkedildi. Daha sonra ise soğutulan numunenin asidi, aynı hidroliz işleminde olduğu üzere vakum altında rotatör evaporatörde uçurulup yerine aynı miktar 2.2 pH lı tampon çözelti konarak karıştırıldı, santrifüje edildi ve süzüldü. Oksidasyona tâbi tutulmuş numune hidrolizatına ait kromatogramlarda sistin, sisteik asit halinde; methionin de methionin sulfoksid halinde çizilir<sup>29,46</sup>. Bu işlemler tatbik edilerek analize hazır hale getirilen numune hidrolizatı, amino asit spektromunun tayini için Moore ve Stein<sup>30,31</sup>'in kurdukları metoda göre Beckman 120/B otomatik amino asit analizer ile analize edildi. Bazı amino asitlerin analizi için kısa kolon, asidik ve nötral amino asitlerin analizi için de uzun kolon iyon değişimi kromatografisi tatbik edildi. Analizleri mizden elde ettiğimiz sonuçların doğruluğu, cihaza numune hidrolizatı ile birlikte 0.5 ml. 0.5 mM/ml. norloysin tatbik edilerek kontrol edildi. Tatbik edilen norloysin'in konsantrasyonu, bu amino asidin kromatogramdan hesaplanan konsantrasyonu ile daima aynı kıymetleri verdi.

Numune hidrolizatında bulunan amino asitler, ninhidrin ile verdikleri kompleksin renginin şiddetine bağlı olarak analizer tarafından kromatogramlara farklı pikler halinde çizildi. Bu piklerden büyük ve simetrik olanlarının integrasyonu "Height-Width" (HW) metodu ile yapıldı. Bir diğer metod olan "Absorbance" metodu, küçük ve asimetric piklerin integrasyonlarında kullanılmaktadır. Bu hesaplar, cihaza bağlanan bir integratör tarafından da aynı prensiple otomatik olarak yapılabilmektedir. Böylece her amino asidin HW metodu ile hesaplanan kıymeti, o amino asidin standardının analizinden elde edilen pik'e ait kıymetle karşılaştırılarak, numunenin analizde kullanılan tartısındaki mM cinsinden amino asit konsantrasyonu bulundu. Bu ise, aşağıdaki formülde yerine konarak 100 gr. proteinde bulunan amino asit, gr. cinsinden elde edildi:

$$\text{amino asit (\% gr.)} = \frac{2.2 \text{ pH lı Amino Mol.} \times 10^{-3} \times 100 \times 100}{\text{tampon (ml)} \times \text{asit (mM)} \times \text{Ağ.}} \times \frac{\text{Alınan artı (gr.)} \times \text{Numunedeki total protein yüzdesi}}{100}$$

Amino asit analizlerinde kullandığımız tampon çözeltilerin katımları, aşağıda tablo 1. de gösterilmiştir:

TABLO 1.

Amino asit analizlerinde kullandığımız tampon çözeltilerin katımları.

Tampon çözelti	Sitrik asit (gr)	% 97 NaOH (gr)	Derişik HCl(ml)	Kaprilik asit(ml)	Tiodi-glikol (ml/lt)	Brij (ml/lt)	Son hacim (lt)
3.28 pH lı	420	165	213	2	5	2	20
4.25 "	420	165	100	2	5	2	20
5.28 "	491	288	136	2	-	2	20

Ninhidrin ayırıcının hazırlanması: 3 lt. süzölmüş, peroksisiz metilcellosolve üzerine, süzölmüş 4 N. Sodyum asetattan (pH = 5.51 ± 0.03) 1 lt. kondu. Karışım azot gazı altında 15 dakika süre ile manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. 80 gr. ninhidrin eklenip aynı şartlarda 30 dakika veya ninhidrin tamamen eriyinceye kadar karıştırıldı ve 1.520 gr. SnCl<sub>2</sub> konup yine aynı şartlarda 20 dakika veya SnCl<sub>2</sub> tamamen eriyinceye kadar karıştırıldı.

Protein hidrolizatında bulunan karbonhidratlar, yağlar ve yağ asitleri, amino asit analizini bozmazlar. Amonyak ve amonyum tuzları ise ciddi birer kontaminantlardır<sup>4</sup>.

### Sonuçlar

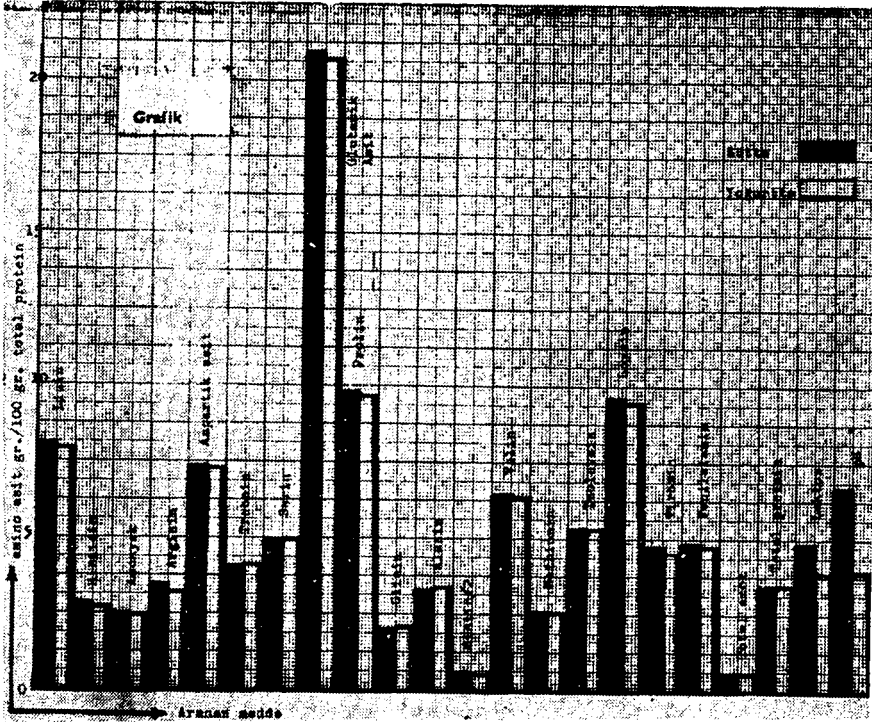
Aşağıda Tablo 2. de ve buna ait grafikte deneylerimizden elde ettiğimiz, süt ve yoğurdun amino asit, total azot, total protein, laktoz katımları ile pH derecelerine ait minimum, maksimum ve ortalama kıymetler bir arada görölmektedir.

TABLO 2.

Bulduğumuz, süt ve yoğurdun amino asit, total azot, total protein, laktoz katımları ile pH kıymetlerinin bir arada görünüşi.

Tayın edilen madde	Sütteki kıymetler (gr./100 gr. protein)		Yoğurttaki kıymetler (gr./100 gr. protein)	
	Sınırlar	Ortalama	Sınırlar	Ortalama
Lizin	6.93 — 9.01	8.17 ± 0.116	6.22 — 8.85	7.90 ± 0.146
Histidin	2.05 — 3.13	2.78 ± 0.047	2.03 — 3.13	2.70 ± 0.097
Amonyak	1.26 — 3.49	2.51 ± 0.095	1.24 — 3.29	2.46 ± 0.089
Arginin	2.75 — 3.70	3.39 ± 0.050	2.61 — 3.61	3.21 ± 0.051
Aspartik asit	6.14 — 8.38	7.61 ± 0.122	5.99 — 8.53	7.62 ± 0.116
Treonin	3.13 — 4.63	4.08 ± 0.074	3.08 — 4.69	4.05 ± 0.081
Serin	4.14 — 5.90	4.91 ± 0.097	3.72 — 5.78	4.88 ± 0.101
Glutamik asit	17.89 — 22.60	20.86 ± 0.233	17.64 — 23.18	20.65 ± 0.268
Prolin	7.55 — 10.58	9.66 ± 0.138	7.51 — 11.04	9.53 ± 0.142
Glisin	1.57 — 2.28	1.99 ± 0.037	1.31 — 2.31	2.06 ± 0.045
Alanin	2.54 — 3.65	3.24 ± 0.054	2.39 — 3.93	3.41 ± 0.127
Sistin/2	0.45 — 0.67	0.59 ± 0.012	0.48 — 0.69	0.57 ± 0.011
Valin	5.04 — 7.38	6.42 ± 0.084	5.58 — 7.48	6.40 ± 0.090
Methionin	1.72 — 3.10	2.55 ± 0.066	1.58 — 2.98	2.50 ± 0.064
İzoloysin	4.46 — 5.87	5.32 ± 0.075	4.59 — 6.06	5.33 ± 0.060
Loysin	7.00 — 10.50	9.62 ± 0.157	7.19 — 10.40	9.46 ± 0.134
Tirozin	4.01 — 5.21	4.70 ± 0.066	3.86 — 5.14	4.49 ± 0.067
Fenilalanin	3.95 — 5.20	4.81 ± 0.068	3.75 — 5.17	4.69 ± 0.061
Total azot*	0.51 — 0.57	0.54 ± 0.003	0.52 — 0.57	0.54 ± 0.005
Total protein*	3.17 — 3.54	3.38 ± 0.022	3.22 — 3.55	3.39 ± 0.023
Laktoz*	4.62 — 5.03	4.08 ± 0.036	3.64 — 4.06	3.86 ± 0.034
pH	6.60 — 6.74	6.67 ± 0.002	3.71 — 4.08	3.90 ± 0.039

\* : % gr. cinsinden.



Süt ve yoğurda ait ortalama değerlerin grafiği

Süt ve yoğurda tespit ettiğimiz amino asitler, kimyasal yapılarına, reaksiyonlarına ve esansiyel olup olmadıklarına göre gruplandırılmış ve bu gruplara ait değerler tablo 3. gösterilmiştir.

TABLO 3.

Muhtelif grup amino asitlerin 25 süt ve 25 yoğurt numunesinden elde edilen ortalama miktarları (gr./100 gr. protein).

Amino asit grupları	M i k t a r ı	
	Sütte	Yoğurtta
Aromatik amino asitler	9.51	9.18
Heterosiklik amino asitler	12.44	12.23
Alifatik amino asitler	79.93	79.11
Mono-amino mono-karboksilik asitler	38.72	38.59
Mono-amino di-karboksilik asitler	28.47	28.27
Di-amino mono-karboksilik asitler	11.56	11.11
Di-amino di-karboksilik asitler	1.18	1.14
Bazik amino asitler	14.34	13.81
Asidik ve nötral amino asitler	86.36	85.64
Esansiyel amino asitler	43.75	43.03
Esansiyel olmayan amino asitler	56.95	56.42

Ayrıca, 5 ayrı inek sütünün yoğurt mayası ile mayalanmasından elde ettiğimiz yoğurtların 40°C ısıda çeşitli sürelerle bekletilmesi halinde, total protein, amino asit, laktoz ve pH kıymetlerinin değişip değişmediği araştırılmış; bunlardan total protein ve amino asit kıymetlerinde beklemekle kayda değer bir değişiklik meydana gelmediği görülmüştür. Laktoz ve pH değerleri ise beklemekle farklı olarak bulunmuştur. Tablo 4 de, 5 inek sütüne ve bu sütlerin yoğurt mayası ile mayalandıktan sonra 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat sürelerle inkubasyona tâbi tutulmasıyla elde edilen yoğurtlara ait ortalama amino asit, total protein, laktoz ve pH kıymetleri gösterilmiştir.

TABLO 4.

Beş inek sütü ile bunlardan elde edilen yoğurtlarda tesbit ettiğimiz ortalama amino asit, total protein, laktoz ve pH kıymetleri.

Madde	Süt	Süt mayalandıktan sonra inkubasyon süresi					
		12 saat	24 saat	36 saat	48 saat	60 saat	72 saat
Lizin	8.26	8.20	8.14	8.13	8.19	8.10	8.25
Histidin	2.76	2.66	2.71	2.66	2.72	2.69	2.75
Amonyak	1.25	1.24	1.25	1.26	1.23	1.29	1.32
Arginin	3.55	3.18	3.07	3.06	3.08	3.05	3.09
Aspartik asit	8.21	8.17	7.98	7.96	8.15	8.29	8.07
Treonin	4.34	4.32	4.19	4.14	4.26	4.36	4.19
Serin	5.25	5.12	4.94	4.97	5.13	5.11	5.00
Glutamik asit	22.78	22.44	21.91	22.07	22.23	22.02	22.08
Prolin	10.03	9.95	9.80	9.51	9.62	9.74	9.86
Glisin	2.05	2.09	2.02	2.04	2.05	2.19	2.13
Alanin	3.24	3.38	3.24	3.31	3.31	3.34	3.33
Sistin/2	0.63	0.63	0.63	0.62	0.62	0.62	0.62
Valin	6.64	6.71	6.56	6.49	6.51	6.48	6.55
Methionin	2.63	2.62	2.50	2.43	2.49	2.59	2.63
İzoloysin	5.44	5.35	5.31	5.16	5.37	5.34	5.30
Loysin	9.79	9.67	9.29	9.68	9.66	9.45	9.54
Tirozin	5.16	5.22	5.50	5.10	4.93	5.04	5.04
Fenilalanin	5.14	5.05	4.92	4.82	4.97	4.94	4.96
Total protein	4.49	3.48	3.48	3.47	3.47	3.47	3.48
Laktoz	4.82	3.88	3.50	3.38	3.07	3.01	2.93
pH	6.65	3.86	3.66	3.54	3.44	3.40	3.40

Not: Amino asitler, gr./ 100 gr. protein,  
Total protein ve laktoz % gr. olarak verilmiştir.

### Tartışma

Yoğurt, memleketimizde önemli bir yiyecek maddesi olarak büyük ölçüde tüketilmektedir. Yoğurdun içerisinde bulunan maddelerin süte nazaran durumunun tesbit edilmesinde, onun besinsel kıymetinin daha iyi anlaşılması bakımından fayda vardır. Bu çalışmada, inek sütü ve yoğurdunun pH kıymetleri ile laktoz, total protein ve

amino asit katımları tesbit edilmiş ve istatistik karşılaştırmaları<sup>2</sup> yapılmıştır.

Sütlerde ortalama  $6.67 \pm 0,002$  (6.60 - 6,74) olan pH kıymeti, 12 saat inkubasyonla elde edilen yoğurtlarda ortalama  $3,90 \pm 0,039$  (3,71 - 4,08)a düşmüştür. Kanaatımızca; bu düşme, yoğurdun oluşumu ile ilgilidir. Sütte mevcut laktoz, yoğurtlaşma olayı sırasında laktik aside dönmek suretiyle ortamın pH sınırın düşmesinde başlıca rolü oynamaktadır. Sütleri mayaladıktan sonra muhtelif sürelerle (12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat) inkube ederek hazırladığımız çeşitli yoğurtlarda pH kıymetleri farklılık göstermişlerdir. 12 saatlik inkubasyon yoğurtlarında en fazla düşme ve 24 saatlik inkubasyon yoğurtlarında buna nispetle daha az bir düşme olmuş; 36, 48, 60 ve 72 saatlik inkubasyon yoğurtlarında ise daha da hafif bir azalma görülmüştür.

Laktoz'un sütlerde bulduğumuz %  $4.80 \pm 0.036$  gr. lık ve 12 saatlik inkubasyonla elde edilen yoğurtlarda bulduğumuz %  $3.86 \pm 0.034$  gr. lık kıymetleri karşılaştırıldığında; yoğurtta görülen %  $0.94$  gr. lık azalmanın istatistik önem taşıdığı tesbit edilmiştir. Kullandığımız sütlerde bulduğumuz laktoz kıymetleri, Leydolph ve Ulrich<sup>23</sup>, Sasaki ve Taniguchi<sup>37</sup> ve Walsh ve arkadaşları<sup>45</sup>'nin inek sütü için bildirdikleri laktoz kıymetlerine uygunluk göstermiştir. Diğer taraftan sütü mayalayıp inkubasyon ısısında 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saatlik sürelerle bekleterek hazırladığımız yoğurt numunelerinde laktoz kıymetleri, önceleri daha süratli olmak üzere gittikçe azalmış ve nihayet 72 saatlik yoğurtta yapıldığı süte nazaran hemen hemen yarıya düşmüştür. Burada da en büyük düşmenin 12 ve 24 saatlik inkubasyon yoğurtlarında olduğu müşahade edilmiştir.

Sütün yoğurtlaşması sırasında laktoz miktarında meydana gelen azalma, kanaatımızca, Schulz<sup>39</sup> ile Kristoffersen ve Nelson<sup>19</sup>'un bildirdiklerine uygun olarak, süt şekerinin yoğurtlaşma sırasında büyük ölçüde süt asidine dönmesinden ve muhtelif bakterilerin, bu arada yoğurt bakterilerinin çoğalma ve enerji temini için laktozu kullanmalarından ileri gelmektedir.

Gerek materyalimiz olan süt ve yoğurtlar ve gerekse sütü aynı şartlarda 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saat sürelerle inkube ederek hazırladığımız çeşitli yoğurtların total protein kıymetleri arasında istatistik önemi haiz bir değişiklik meydana gelmemiştir. Sütte bulduğumuz total protein kıymetleriyle, Schulz ve Anglemier<sup>41</sup>'in inek sütü proteini için bildirdikleri kıymetler arasında büyük bir benzerlik vardır.

İnek sütünün amino asidlerine ait sonuçlarımız (gr./100 gr. protein cinsinden) Beaton ve Mc Henry<sup>3</sup>, Block ve Bolling<sup>5</sup>, Feat-

herson ve arkadaşları<sup>7</sup>, Kleiner ve Orten<sup>13</sup>, Lenkheit<sup>22</sup>, Stojslavljević ve arkadaşları<sup>43</sup> ile Williams ve Lansford<sup>47</sup>'un inek sütünün amino asitleri için bildirdikleri kıymetlere büyük ölçüde benzerlik göstermişlerdir.

İnek sütünü mayaladıktan sonra 40°C de 12 saat inkube ederek elde ettiğimiz yoğurtlarda yapıldığı süte nazaran lizin, histidin, arginin, treonin serin, glutamik asit, prolin, sistin/2, valin, methionin, loysin, tirozin, fenilalanin amino asitleriyle aromatik, heterosiklik, alifatik, mono-amino mono-karboksilik, mono-amino di-karboksilik, di-amino mono-karboksilik, di-amino di-karboksilik, bazik, asidik ve nötral, esansiyel ve esansiyel olmayan amino asit gruplarına ait kıymetlerde azalma; buna karşılık aspartik asit, glisin, alanin ve izoloysin amino asitlerine ait kıymetlerde artmalar meydana gelmiştir. Ancak bu farklardan yoğurda ait arginin'de görülen azalmanın % 95 güven eşiğinde istatistik önem taşıdığı tesbit edilmiş olup, yukarıda bildirilen diğer azalma ve artmalar istatistik önem taşımamaktadırlar. Gerek süt ve gerekse yoğurt numunelerinde en fazla glutamik asit ve prolinin, en az glisin ve sistin'in; esansiyel amino asitlerden en çok loysin, lizin ve valin'in, en az da histidin ve methionin'in bulunduğu tesbit edilmiştir. Bu bulgularımız, Stojslavljević ve arkadaşları<sup>43</sup>'ın bulgularına paralellik göstermektedir. Bu araştırmacılar, inek sütünde bulunan amino asitleri (sistin hariç) analize etmişler ve en çok glutamik asit, prolin ve loysin, en az ise glisin bulunduğunu tesbit ettiklerini bildirmişlerdir. Keza Rašić ve arkadaşları<sup>36</sup> da, inek sütünü % 2 maya ile mayaladıktan sonra 42°C de 3 saat bekleterek hazırladıkları yoğurdun amino asit katımını incelemişler; yoğurtta en çok glutamik asit ve prolin'in, esansiyel amino asitlerden de en çok loysin, lizin ve valin'in bulunduğunu; süt amino asitlerinin yoğurtlaşma esnasında önemli bir değişmeye uğramadıklarını bildirmişlerdir. Bizim bulgularımızla, bu araştırmacıların bulguları arasında da büyük ölçüde benzerlik mevcuttur. Çalışmalarımızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre, inek sütlerinden materyal bölümünde bildirdiğimiz şekilde hazırladığımız yoğurtların amino asit spektrumları, genellikle yoğurtlaşma olayı sırasında istatistik önem taşıyacak derecede değişiklik göstermemekte, sadece arginin seviyesinde % 95 güven eşiğinde istatistik önemi haiz bir azalma meydana gelmektedir. Literatürde muhtelif yoğurtların hazırlanış şekilleri arasındaki farkların, araştırmacıları çeşitli yoğurt katımlarıyla karşı karşıya getirdiği belirtilmektedir<sup>49</sup>. Çalışmalarımızda sütü mayaladıktan sonra 40°C de 12, 24, 36, 48, 60 ve 72 saatlik sürelerle inkube ederek hazırladığımız yoğurtların da amino asit spektrumlarını karşılaştırdık ve 12 saatlik inkubasyon yoğurtla-

rıyla 24, 36, 48, 60 ve 72 saatlik inkubasyon yoğurtları arasında kayda değer bir değişiklik tesbit edemedik.

Bütün bu sonuçlardan anlaşılacağı üzere; sütün yoğurtlaşması sırasında meydana gelen biyokimyasal olaylar nedeniyle katımındaki laktoz ve arginin miktarları azalmakta, pH kıymeti de düşmektedir.

### Literatür

- 1- **Atkinson, R. L. et al.** (1957): *Lactose in animal and human feeding: A Review.* J. Dairy Sci., 40: 1114-1132.
- 2- **Batu, S. et al.** (1957): *Biometrik (Variation Statistique)* Sh. 20-21, Ank. Üniv. Vet. Fak. Yayını, 92, Yeni Desen Matbaası, Ankara.
- 3- **Beaton, G. H. and Mc Henry, E. W.** (1964): *Nutrition. A comprehensive treatise.* Vol. I, pp. 118-159, Academic Press, New York and London.
- 4- **Beckman** (1966): *Schematic for Model 120/B Amino Acid Analyzer.* Published by Spinco Division of Beckman Instruments, Inc., Stanford Industrial Park, Palo Alto, California.
- 5- **Block, R. J. and Bolling, D.** (1951): *The amino acid composition of proteins and foods.* Analytical methods and results. 2 nd edn., p. 490, Charles C Thomas. Publisher Springfield, Illionis U.S.A.
- 6- **Eggum, B. O.** (1968): *Determination of tryptophan.* Acta agric. scand., 18: 127-131.
- 7- **Featherson, W. R. et al.** (1964): *Constancy of amino acid composition of cow's milk protein under changing ration.* J. Dairy Sci., 47: 1417-1418.
- 8- **Folley, S. J.** (1956): *The physiology and biochemistry of lactation.* pp. 119-136, Charles C Thomas Publisher Springfield, Illionis. U.S.A.
- 9- **Galanos, S. D. et al.** (1961): *Fermentation of sugars during the storage of yoghurt.* Chim. Chronica, (Athens, Greece) 26: 1-4, (Alınmıştır: Chem. Abstr., 1961, 59: 12691).
- 10- **Haenel, H. et al.** (1963): *Versuche über den Einfluss Bulgarischer Sauermilch (Joghurt) auf die fackale mikroökologie gesunder Erwachsener.* Milchwissenschaft, 18: 454-461.
- 11- **Horwitz, W.** (1965): *Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists.* 10 th edn., p. 224, Publishing by

- the association official agricultural chemists. Benjamin Franklin Station, Washington D.C. 20044.
- 12- **Kedenburg, C-P. und Schwarz, D.** (1970): *Ein einsäulenchromatographisches Verfahren zur Aminosäurenanalyse in Futtermitteln.* Ztschr. Tierphysiol. Tierernährung, Futtermittelk., 27: 49-55.
  - 13- **Kleiner, J. S. and Orten, J. M.** (1966): *Biochemistry.* 7 th edn., pp. 14, 177-600, The C. V. Mosby Company. Saint Louis.
  - 14- **Kon, S. K.** (1947): *A Survey of the place of cow's milk in human diet and of the effect of processing on its nutritive value.* Brit. med. Bull., 5: 1108.
  - 15- **Krampitz, G.** (1957): *Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Proteinhydrolyse in Hinblick auf die Herabsetzung des Zerstörungsgrades der Eiweiss-bausteine.* 2. Mitteilung. Das Verhalten von Freien Aminosäuren unter den Bedingungen der Proteinhydrolyse. Naturwissenschaften, 44: 76-86.
  - 16- **Krampitz, G.** (1957): *Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Proteinhydrolyse in Hinblick auf die Herabsetzung des Zerstörungsgrades der Eiweiss-bausteine.* 3. Mitteilung. Untersuchungen über die Hydrolyse von reinen Proteinen. Naturwissenschaften, 44: 87-95.
  - 17- **Krampitz, G.** (1959): *Verleichende Untersuchungen zur Frage der Proteinhydrolyse in Hinblick auf die Herabsetzung des Zerstörungsgrades des Eiweiss-bausteine.* Habilitationsschrift.
  - 18- **Krampitz, G.** (1960): *Vergleichende Untersuchungen zur Frage der Proteinhydrolyse in Hinblick auf die Herabsetzung des Zerstörungsgrades der Eiweiss-bausteine.* Ztschr. Tierphysiol. Tierernährung, Futtermittelk., 15: 227-236.
  - 19- **Kristoffersen, T. and Nelson, F. E.** (1955): *Degradation of amino acids by Lactobacillus casei and some factors influencing deamination of serine.* Appl. Microbiol., 3: 268-273.
  - 20- **Kundrat, W.** (1963): *Bakteriologie der Sauermilcherzeugnisse.* Milchwissenschaft, 18: 225-228.
  - 21- **Lembke, A.** (1963): *Einfluss saurer Milcherzeugnisse auf die Darmflora.* Milchwissenschaft, 18: 215-221.
  - 22- **Lenkheit, W.** (1953): *Einführung in tierernährungsphysiologie der Haustiere,* S. 63-118, Ferdin und Enkeverlag, Stuttgart.
  - 23- **Leydolph, W. und Ulrich, A.** (1952): *Untersuchungen über das Verhalten des Milchzuckers in der Milch von Schwarzbunten Tieflandrindern.* Milchwissenschaft, 7: 328-333.



- 24- **Maupas, F. C.** (1965): *Contributonal l'etude de la flore lactique de tube digestive action.* Bactériside du yaourt. These, Toulouse.
- 25- **Merck, E. AG. Darmstad.** (1962): *Medizinische-Chemische. Untersuchungsmethoden.* 10 te Auflage, S. 108-109, Verlag Chemie GmbH. Weinheim.
- 26- **Miller, J. und Kandler, O.** (1964): *Untersuchungen über den Eiweissabbau in sauermilchen.* I. Mitteilung: Die Freien Aminosäuren in Joghurt, Bioghurt und Acidophilusmilch. Medizin und Ernährung, 5: 100-108.
- 27- **Miller, J. und Kandler, O.** (1967): *Eiweissabbau und Anreicherung freier Aminosäuren durch Milchsäurebakterien in Milch.* I. Die Veränderung der Stickstoff-Fractionen. Milchwissenschaft, 22: 1950-1959.
- 28- **Miller, J. et al.** (1964): *Das Aminosäurespektrum von Joghurt.* Milchwissenschaft, 19: 18-25.
- 29- **Moore, S.** (1963): *On the determination of cystine as cysteic acid.* J. biol. Chem., 238: 235-237.
- 30- **Moore, S. and Stein, W. H.** (1951): *Chromotography of amino acids on sulfonated polystyrene resins.* J. biol. Chem., 192: 663-681.
- 31- **Moore, S. and Stein, W. H.** (1954): *Procedures for the chromatographic determination of amino acids on four percent cross-linked sulfonated polystyrene resins.* J. biol. Chem., 221: 893-906.
- 32- **Pette, J. W. and Lolkema, H.** (1950): *Acid production and aroma formation in yoghurt.* Neth. Milk and Dairy J., 4: 261-273.
- 33- **Pette, J. W. und Lolkema, H.** (1950): *Symbiose en antibiose in mengcultures van Lactobacillus bulgaricus en Streptococcus thermophilus.* Neth. Melk. Zuivel., 4: 197-208. (Alınmıştır: Milchwissenschaft, 23: 94-100, 1968).
- 34- **Platt, B. S.** (1947): *Nutritional comparison of human and cow's milk for infant-feeding.* pp. 5, 1109.
- 35- **Raffe, E. J.** (1956): *Yoghurt in gastro-enteritis of infancy.* Lancet, 271: 1106-1107.
36. **Rašić, J. et al.** (1971): *A study on the amino acids of yoghurt.* II. Amino acids content and biological value of the proteins of different kinds of yoghurt. Milchwissenschaft, 26: 219-224.
- 37- **Sasaki, R. and Taniguchi, K.** (1956): *Sugars of cow milk.* Nippon Nagei-Kagaku Kaishi., 30: 809-812. (Alınmıştır: Chem. Abstr., 1958, 52: 20727 g).

- 38- **Schulz, M. E.** (1950): *Die Herstellung von Joghurt*. Molkerei-und Käsererei-Ztg. Hildesheim., 1: 27.
- 39- **Schulz, M. E.** (1963): *Die Technologie von sauren Milcherzeugnissen, insbesondere der Sauermilcharten und Sauerrahmarten*. Milchwissenschaft, 18: 443-454.
- 40- **Schulz, M. E.** (1964): *Milch, Milchproducte und Milchspeisen in der Diätetik*. Milchwissenschaft, 19: 290-302.
- 41- **Schulz, H. W. and Anglemier, A. F.** (1964): *Symposium of foods. Proteins and their reactions*, pp. 168-208, The Avi Publishing Comp. Inc.
- 42- **Seneca, H., and Gaymond, S.** (1957): *Clinical uses of yoghurt*. J. amer. Ger. Soc. 5: 932-935.
- 43- **Stojslavljević, T. et al.** (1971): *A study on the amino acids of yoghurt*. I. Amino acids content and biological value of proteins of different kinds of milk. Milchwissenschaft, 26: 147-151.
- 44- **Vangala, R. R. und Menden, E.** (1970): *Vergleich verschiedener methoden zur Bestimmung von Tryptophan in Proteinen*. Zeitschr. Lebensmittel-Untersuch. Forsch., 142: 195-204.
- 45- **Walsh, J. P. et al.** (1968): *The measurement of the effects of inherent and environmental factors on the lactose content of the milk of individual cows and on the herd bulk milk in a number of commercial herds*. J. Dairy Res., 35: 107-125.
- 46- **Weidner, K. and Eggum, B. O.** (1966): *Proteinhydrolysis: Description of the method used at the department of animal physiology in Copenhagen*. Acta Agric. Scand., 16: 115-119.
- 47- **Williams, R. I. and Lansford, E. M.** (1967): *The encyclopedia of biochemistry*, pp. 52-696, Reinhold Publishing Corp. A subsidiary of Chapman-Reinhold Inc., New York, Amsterdam, London.
- 48- **Yöney, Z.** (1957): *İnsan sağlığında yoğurt*. Ank. Üniv. Ziraat Fak., 1957 yıllığı, 2: 190-201.
- 49- **Yöney, Z.** (1967): *Yoğurt teknolojisi*, Sh. 7-39, Ank. Üniv. Ziraat Fak. Yayını, 289.

### Teşekkür

Bana bu araştırmayı yapmak için imkânlar hazırlayan Sayın Hocam Prof. Dr. Ethem ERSOY'a ve Batı Berlin Veteriner Fakültesi Biyokimya Enstitüsü Direktörü Prof. Dr. Kraft DREPPER'e teşekkür etmeyi zevkli bir borç bilirim.

Yazı "Dergi Yazı Kuruluna" 12. Aralık. 1972 günü gelmiştir.