

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**

**TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİYLE PROTEİNİ MODİFİYE EDİLMİŞ  
SÜTTEN YAPILAN AYRANLARIN BAZI NİTELİKLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Tuba ŞANLI**

**SÜT TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA**

**2009**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Tuba ŞANLI tarafından hazırlanan “**Transglutaminaz Enzimiyle Proteini Modifiye Edilmiş Sütten Yapılan Ayranların Bazı Niteliklerinin Araştırılması**” adlı tez çalışması 23/12/2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliğı ile Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı’nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman :** Prof. Dr. Emel SEZGİN  
Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi ABD

### **Jüri Üyeleri:**

**Başkan :** Prof. Dr. Celalettin KOÇAK  
Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi ABD

**Üye :** Prof. Dr. Emel SEZGİN  
Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi ABD

**Üye :** Prof. Dr. Metin ATAMER  
Ankara Üniversitesi Süt Teknolojisi ABD

**Üye :** Prof. Dr. Nevzat ARTIK  
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliğı ABD

**Üye :** Prof. Dr. Yaşar Kemal ERDEM  
Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliğı ABD

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. Orhan ATAKOL**

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

### DOKTORA TEZİ

#### TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİYLE PROTEİNİ MODİFİYE EDİLMİŞ SÜTTEN YAPILAN AYRANLARIN BAZI NİTELİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tuba ŞANLI

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Süt Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Emel SEZGİN

İki aşamalı olarak gerçekleştirilen bu çalışmanın birinci aşamasında; transglutaminaz enzimi ile süt proteinlerinin modifikasyonunun ayran üretiminde uygulanabilirliği ve ürünün bazı kalite kriterleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmanın ikinci aşamasında ise; ayran üretiminde transglutaminaz enzimi ilavesi; kalite artırımında kullanımı önerilen diğer yöntemlerden ekzopolisakkarit üreten starter kültür kullanımı ve stabilizatör ilavesi ile karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir.

Geleneksel yöntemle ve sütü sulandırarak olmak üzere iki farklı yöntemle ayran üretiminde enzim ilavesinin denendiği çalışmanın birinci aşamasında; her iki yöntemde de enzim ilavesinin ürünün teknolojik niteliklerini olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir. Bununla birlikte; sütü sulandırarak gerçekleştirilen üretimde pastörizasyondan sonra sütün enzimle muamelesinin ürünün viskozitesinde daha büyük oranda artış sağladığı ve serum ayrılmasını önlediği bulunmuştur. Elektron mikroskop çalışmaları da enzim ile süt proteinlerinin çapraz bağlanması sonucunda ayran jelinde proteinlerin daha düzenli dağıldığını ve daha sıkı bir mikrostrüktürel yapının oluştuğunu ortaya koymuştur.

Çalışmanın ikinci aşamasında elde edilen sonuçlara göre; ayran üretiminde transglutaminaz enzimi kullanımının, ekzopolisakkarit üreten starter kültür kullanımı ve stabilizatör ilavesine göre daha üstün niteliklere sahip ürün üretime olanak sağladığı tespit edilmiştir. Çalışmada kullanılan enzim konsantrasyonunun (1 unit enzim/g süt proteini) ürünün karakteristik tat-aroma oluşumunda olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığı aroma bileşenlerinin tespiti ile ortaya konmuştur.

**Aralık 2009, 114 sayfa**

**Anahtar Kelimeler :** Ayran, Fermente süt ürünleri, Transglutaminaz enzimi, Enzimatik modifikasyon, Ekzopolisakkaritler, Stabilizatörler

## ABSTRACT

Ph. D. Thesis

A STUDY ON SOME PROPERTIES OF AYRANS PRODUCED FROM MILK, THE  
PROTEIN OF WHICH IS MODIFIED BY TRANSGLUTAMINASE ENZYME

Tuba ŞANLI

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Dairy Technology Department

Supervisor: Prof. Dr. Emel SEZGİN

At the first stage of this two – stage study; applicability of modification of milk proteins by transglutaminase enzyme in ayran production and the effects of enzyme addition on quality criteriaes of product were investigated. At the second stage; transglutaminase enzyme addition was compared with other methods recommended for quality increase such as the use of exopolysaccharide-producing starter culture and stabilizer addition in ayran production.

Two different production methods were applied in the manufacture of ayran as traditional method and dilution of milk. At the first stage of the investigation addition of enzyme was examined and it was determined that this parameter was positively effected the technofonctional properties of product in both production methods. However, in the production by dilution of milk, enzyme treatment of milk after pasteurization made the viscosity firmer and prevented the serum seperation. Electron microscopic studies showed that transglutaminase enzyme treatment of milk lead to obtain firmer protein network and more regular distrubition of the proteins in the ayran gel.

According to results obtained from the second stage of the investigation; the use of transglutaminase enzyme in ayran production made possible to obtain ayran having more excellent properties when compared with ayran produced by using stabilizer and exopolysaccharide-producing starter culture. Determination of aroma compounds was also performed in order to reveal that there is no negative effect of the ezyme concentration used in the study (1 unit enzyme / g milk protein) on the characteristic flavour and aroma formation.

**December 2009, 114 pages**

**Key Words :** Ayran, Fermented milk products, Transglutaminase enzyme, Enzymatic modification, Exopolysaccharides, Stabilizers

## TEŐEKKÖR

Çalıőmamda bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bana araştırma olanağı sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Emel SEZGİN'e (Ankara Üniwersitesi Ziraat Faköltesi) denemeleri birlikte gerçekteőtirdiđim arkadaőtım Dr. Ebru ŐENEL'e ve tez çalıőmam süresince desteği ve anlayıőtıyla yanımda olan eőtım Araőt. Gör. Hasan ŞANLI'ya teőtökkörlerimi sunarım.

Tuba ŞANLI

Ankara, Aralık 2009

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ.....	5
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	24
3.1 Materyal.....	24
3.2 Yöntem.....	24
3.2.1 Üretim Yöntemi.....	24
3.2.2 Uygulanan analizler.....	30
3.2.2.1 Hammadde süt analizleri.....	30
3.2.2.2 Ayran analizleri.....	30
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	33
4.1 Birinci Aşama Araştırma Bulguları.....	33
4.1.1 Geleneksel yöntemle ayran üretimi araştırma bulguları.....	33
4.1.1.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar.....	33
4.1.1.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerine ait sonuçlar.....	33
4.1.2 Sütü sulandırarak ayran üretimi araştırma bulguları.....	53
4.1.2.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar.....	53
4.1.2.2 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerine ait sonuçlar.....	54
4.2 İkinci Aşama Araştırma Bulguları.....	73
4.2.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar.....	73
4.2.2 TGase, EPS <sup>+</sup> ve stabilizatör içeren ayran örneklerine ait sonuçlar.....	74
4.2.3 Genel özellikler.....	74
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	93
KAYNAKLAR.....	95
EKLER.....	99
EK 1 Aroma bileşenlerine ait standart kromatogram .....	100

Ek 2 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	101
Ek 3 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 2 nolu ayran örneğinin 1'inc tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	102
Ek 4 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 3 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	103
Ek 5 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 4 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	104
Ek 6 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram.....	105
Ek 7 Birinci şama sütü sulandırarak üretilen 2 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram.....	106
Ek 8 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 3 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram.....	107
Ek 9 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 4 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram .....	108
Ek 10 İkinci aşama 1 nolu kontrol örneğinin 2'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram .....	109
Ek 11 İkinci aşama 2 nolu TGase enzimi içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	110
Ek 12 İkinci aşama 3 nolu EPS üreten starter kültür içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram .....	111
Ek 13 İkinci aşama 4 nolu stabilizatör içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram.....	112
Ek 14 Duyusal değerlendirme tablosu.....	113
ÖZGEÇMİŞ.....	114

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Proteinlerin fonksiyonel nitelikleri üzerine enzimatik çapraz bağlanmanın etkisi .....	8
Çizelge 2.2 Süt proteini ve süt ürünlerinde TGase'ın potansiyel kullanımı.....	17
Çizelge 4.1 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri.....	33
Çizelge 4.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikleri.....	34
Çizelge 4.3 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin pH değerleri.....	34
Çizelge 4.4 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların titrasyon asitliği (°SH)değerleri	35
Çizelge 4.5 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların laktik asit değerleri (g/100 g)....	37
Çizelge 4.6 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların tirozin değerleri (mg / 5 ml)....	38
Çizelge 4.7 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların viskozite değerleri (cp).....	40
Çizelge 4.8 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların serum ayrılması değerleri (%).....	41
Çizelge 4.9 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların duyuşal değerlendirme sonuçları.....	44
Çizelge 4.10 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların karbonil bileşenleri (ppm).....	50
Çizelge 4.11 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri.....	53
Çizelge 4.12 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler.....	54
Çizelge 4.13 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin pH değerleri.....	54
Çizelge 4.14 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (°SH).....	56
Çizelge 4.15 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerleri (g/100 g) .....	57
Çizelge 4.16 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tirozin değerleri (mg/5 ml) .....	58
Çizelge 4.17 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin viskozite değerleri (cp)...	59

Çizelge 4.18 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri (%).....	62
Çizelge 4.19 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin duysal değerlendirme sonuçları.....	63
Çizelge 4.20 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin karbonil bileşenleri (ppm).....	69
Çizelge 4.21 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri.....	73
Çizelge 4.22 İkinci aşama ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler.....	74
Çizelge 4.23 İkinci aşama ayran örneklerinin pH değerleri.....	75
Çizelge 4.24 İkinci aşama ayran örneklerinin titrasyon asitliği (°SH) değerleri.....	76
Çizelge 4.25 İkinci aşama ayran örneklerinin laktik asit değerleri (g/100 g).....	77
Çizelge 4.26 İkinci aşama ayran örneklerinin tirozin değerleri (mg / 5 ml).....	79
Çizelge 4.27 İkinci aşama ayran örneklerinin viskozite değerleri (cp).....	80
Çizelge 4.28 İkinci aşama ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri (%).....	81
Çizelge 4.29 İkinci aşama ayran örneklerinin duysal değerlendirme sonuçları.....	83
Çizelge 4.30 İkinci aşama ayran örneklerinin karbonil bileşenleri (ppm).....	89

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Transglutaminaz enzimi ile proteinlerin modifikasyonu 1-Aminlerin birleşmesi 2-Çapraz bağlanma 3-Deamidasyon.....	10
Şekil 3.1 Geleneksel yöntemle ayran üretim şeması.....	26
Şekil 3.2 Sütü sulandırarak ayran üretim şeması.....	27
Şekil 3.3 İkinci aşama ayran üretim şeması.....	29
Şekil 4.1 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim.....	35
Şekil 4.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim.....	36
Şekil 4.3 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerlerindeki değişim.....	38
Şekil 4.4 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim.....	39
Şekil 4.5 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim.....	41
Şekil 4.6 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim.....	42
Şekil 4.7 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim.....	45
Şekil 4.8 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim.....	46
Şekil 4.9 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin genel puanlarındaki değişim.....	46
Şekil 4.10 1 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	48
Şekil 4.11 2 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	48
Şekil 4.12 3 nolu örneğe SEM görüntüsü.....	49
Şekil 4.13 4 nolu örneğe SEM görüntüsü.....	49
Şekil 4.14 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin asetaldehit miktarlarındaki değişim.....	51

Şekil 4.15 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin aseton miktarlarındaki değişim.....	52
Şekil 4.16 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin diasetil miktarlarındaki değişim.....	53
Şekil 4.17 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim.....	55
Şekil 4.18 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim.....	56
Şekil 4.19 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerlerindeki değişim.....	57
Şekil 4.20 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim.....	59
Şekil 4.21 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim.....	61
Şekil 4.22 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim.....	62
Şekil 4.23 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim.....	64
Şekil 4.24 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim.....	65
Şekil 4.25 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin genel duyuşal puanlarındaki değişim.....	66
Şekil 4.26 1 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	67
Şekil 4.27 2 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	67
Şekil 4.28 3 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	68
Şekil 4.29 4 nolu örneğe ait SEM görüntüsü.....	68
Şekil 4.30 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin asetaldehit miktarlarındaki değişim.....	70
Şekil 4.31 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin aseton miktarlarındaki değişim.....	71
Şekil 4.32 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin diasetil miktarlarındaki değişim.....	72

Şekil 4.33 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin bütanon-2 miktarlarındaki değişim.....	73
Şekil 4.34 İkinci aşama ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim.....	75
Şekil 4.35 İkinci aşama ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim.....	77
Şekil 4.36 İkinci aşama ayran örneklerinin laktik asitliği değerlerindeki değişim.....	78
Şekil 4.37 İkinci aşama ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim.....	79
Şekil 4.38 İkinci aşama ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim.....	81
Şekil 4.39 İkinci aşama ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim.....	83
Şekil 4.40 İkinci aşama ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim.....	84
Şekil 4.41 İkinci aşama ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim.....	85
Şekil 4.42 İkinci aşama ayran örneklerinin genel duyuşsal puanlarındaki değişim.....	85
Şekil 4.43 1 nolu kontrol örneğinin SEM görüntüsü.....	87
Şekil 4.44 2 nolu TGase katkılı örneğinin SEM görüntüsü.....	87
Şekil 4.45 3 nolu EPS <sup>+</sup> içeren örneğinin SEM görüntüsü.....	88
Şekil 4.46 4 nolu stabilizatör katkılı örneğinin SEM görüntüsü.....	88
Şekil 4.47 İkinci aşama ayran örneklerinin asetaldehit içeriklerindeki değişim.....	90
Şekil 4.48 İkinci aşama ayran örneklerinin aseton içeriklerindeki değişim.....	91
Şekil 4.49 İkinci aşama ayran örneklerinin diasetil içeriklerindeki değişim.....	91
Şekil 4.50 İkinci aşama ayran örneklerinin bütanon-2 içeriklerindeki değişim.....	92

## 1. GİRİŞ

Fermente süt ürünlerinin insan beslenmesindeki önemi uzun yıllardan beri bilinmektedir. Günümüzde bu ürünlerin probiyotik özellikleri daha da geliştirilmiş ve dolayısıyla önemleri bir kat daha artmıştır. Söz konusu ürünlerin başında gelen yoğurdun en önemli tüketim Őekillerinden biri ayrveir. Geleneksel bir süt ürünümüz olan ayran yoğurda su katılarak veya kurumaddesi ayarlanan süte yoğurt kültürü ilave edilerek içilebilir kıvamda hazırlanan fermente bir süt ürünüdür (Anonim 2001). Ülkemizde ağırlıklı olarak yoğurdun belirli orvea seyreltilmesi ile ayran üretimi yaygındır. Bununla birlikte; bazı büyük ölçekli yoğurt işletmeleri direkt olarak seyreltilmiş sütün fermantasyonu yoluyla da ayran üretmektedirler (zer 2006).

Gıdalarda tekstürel özellikler ürünün kalitesi ve tüketici tarafından kabul edilebilirliği açısından önemli kriterlerdir ve bu özellikler gıda matriksi içerisinde proteinler, yağ ve suyun interaksiyonlarıyla moleküler düzeyde belirlenmektedir (Pereira vd. 2003). Yoğurt başta olmak üzere fermente süt ürünlerinin kendine özgü karakteristik yapısının oluşmasında etkili olan en önemli bileşim unsurları proteinlerdir (Tamime ve Robinson 1985).

Ayran ve benzeri fermente süt ürünlerinde serum ayrılması ve viskozite önemli kalite kriterleridir. Serum ayrılması; ısı uygulaması ve asitlik gelişimine bağlı olarak kolloidal yapısı bozulmuş olan süt proteinlerinin özgül ağırlık farkı ve yerçekimi etkisiyle içinde buldukları serumun tabanına çökmeleri olarak tanımlanabilir (znl vd. 2007). Fermente süt ürünlerinde görülen viskozite ve serum ayrılması gibi tekstürel özelliklerin sütün protein içeriği ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir (Renner 1991, Pereira vd. 2003).

Fermente süt ürünlerinin üretimi sırasında jel oluşumuna kazein kompleksinin asit etkisi ile destabilizasyonu, serum proteinlerinin 80 °C'nin üzerinde uygulanan ısıl işlemlerle denatürasyonu ve sonuçta bu iki proteinin fraksiyonları arasında meydana gelen interaksiyonlar neden olmaktadır. Bu interaksiyonlar sonucunda ortam koşulları ve

interaksiyon kuvvetlerinin etkinliğine bağlı olarak değişen fiziksel özelliklere sahip bir jel yapısı elde edilmektedir. Oluşan pıhtı ayran üretimi sırasında bozulmakta ve serum ayrılması meydana gelmektedir (Özünü vd. 2007).

Fermente süt ürünlerinde tekstürel yapıda gözlemlenen olumsuzlukların giderilmesi amacıyla yağsız kuru madde artırımı, stabilizatör ilavesi ve son yıllarda ekzopolisakkarit üreten starter kültür kullanımı bilinen etkili yöntemlerdir. Bununla birlikte; kuru madde artırımının ek maliyet getirmesi ve stabilizatör kullanımının önünde yasal engeller bulunması yeni metotların geliştirilmesi zorunluluğunu yaratmıştır.

Yoğurt üretiminin en kritik işlem basamaklarından birisi sütün toplam yağsız kurumadde içeriğinin artırılmasıdır. Kurumadde artırımının temel gerekçesi; son üründe arzu edilen fiziksel ve duyuşsal niteliklerin elde edilmesi ve yüksek düzeyde tüketici beğenisinin sağlanmasıdır (Özer 2006). Bu nedenle ayrana işlenecek süte ve yoğurda ilave edilen su miktarı arttıkça süt bileşenlerinde azalma meydana gelmekte ve viskozite düşmektedir. Bunun yanında serum ayrılması da artmaktadır. Çünkü; seyreltme oranındaki artış ile birlikte proteinler arasındaki mesafe artmakta ve koloidal formdaki madde miktarı göreceli olarak azalmaktadır. Buna bağlı olarak da viskozite düşmektedir (Özer 2006, Özünü vd. 2007).

Ayran üretiminde viskoziteyi artırmak ve serum ayrılmasını önlemek amacıyla uygulanan en yaygın yöntem stabilizatör ilavesidir (Kılıç vd. 2004, Engez vd. 2006, Özer 2006). Ayran üretiminde en çok kullanılan stabilizatörler; karboksimetil selüloz (CMC), pektin, karregen ve keğiboynuzu sakızıdır (Özer 2006, Özünü vd. 2007). Hidrokolloidler olarak da adlandırılan stabilizatörler; yoğurt ve benzeri fermente süt ürünlerinde iki temel fonksiyonu yerine getirirler, bunlar; su bağlama kapasitesini ve viskoziteyi artırmaktır (Tamime ve Robinson 1999). Böylece serum ayrılmasını azaltmakta ve laktik asit jeline stabilize kazveırmaktadırlar (Atamer vd. 1995, Özer 2006).

Ayran üretiminde fermantasyon klasik yoğurt starter bakterileri aracılığı ile gerçekleştirilmektedir. Bununla birlikte; polisakkarit üretme yeteneğinde olan starter bakteri suşları da kullanılmakta ve ayranın viskozitesinde bir miktar artışa neden olmaktadır (Özer 2006). Ekzopolisakkarit üreten kültürler ile yapılan yoğurtlarda eksopolisakkarit üretmeyen kültür kullanılanlardan daha az seum ayrılması ve daha yüksek viskozite görüldüğü bildirilmektedir (Hassan vd. 2003, Folkenberg vd. 2006). Ancak; ayran üretiminde polisakkarit üreten starter bakteri suşlarının kullanımı serum ayrılmasının önlenmesinde kesin bir iyileştirme sağlamamaktadır (Özer 2006).

Gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerinin iyileştirilmesi ve geliştirilmesinde etkili olan “enzimatik çapraz bağlanma” son yıllarda popülerite kazanmış alternatif bir metottur ( Ya-Tanimoto ve Kinsella 1988, Sakamoto vd. 1994, Faergemve vd. 1999a, Imm ve Lee 2000). Yüksek spesifikasyona sahip enzimatik tepkimelerin gerçekleştiği enzimatik modifikasyon oldukça kullanışlı bir yöntem olarak önerilmektedir (Özer 2006). Enzimatik modifikasyon amacıyla kullanılan Transglutaminaz (protein-transglutaminase  $\gamma$ -glutamyl transferase) enzimi doğada yaygın olarak bulunan ve proteinlerde çapraz bağlanmaya neden olduğu bilinen bir transferazdır (Motoki ve Segura 1998). Transglutaminazın birçok gıda proteini ile çapraz bağlanma oluşturduğu ve özellikle süt proteinleri arasında yer alan kazeinlerin transglutaminaz için çok iyi substrat oldukları bilinmektedir (Dickinson ve Yamamoto 1996, Faergemve vd. 1999a, Lauber vd. 2000, Lorenzen 2000, Kuraishi vd. 2001).

Süt proteinlerinin enzimatik modifikasyonun özellikle fermente süt ürünlerinde stabil bir protein yapısının oluşmasını sağladığı ve ürünün teknofonksiyonel niteliklerini olumlu yönde etkilediği belirlenmiştir (Faergemve vd. 1999b). Gıda endüstrisinde bu amaç için en uygun enzim olduğu bildirilen transglutaminazın (TGase) katalize ettiği glutamin ile lizin arasındaki bağlantı sonucunda protein molekülleri arasında yeni bağlar oluşmakta ve bu bağlar aracılığı ile ürünün viskoelastik özellikleri iyileşmektedir (Özer 2006).

Ayran ülkemizde süt ürünleri arasında tüketim payı yüksek olan önemli bir içeceğimizdir. Ülkemizde üretilen sütün % 23'ünün yoğurt ve ayrana işlendiği, yoğurt

ve ayran için ayrılan sütün de kesin bir bilgi olmamakla beraber % 20-30 gibi bir bölümünün ayrana işlendiği tahmin edilmektedir. Son yıllarda ambalajlı ayran pazarında hızla artan büyüme tüketimin daha da artacağını göstermektedir (Özünü vd. 2007).

Literatürlerde transglutaminaz enzimi ile ilgili yoğurtlarda yapılmış birçok çalışma bulunmakla birlikte ayrvea yapılmış hiçbir çalışmaya rastlanmamıştır. Ayran üretiminde söz konusu enzimin denenmesi bu açıdan değerlendirildiğinde yapılmış olan çalışmanın önemini ve orjinallliğini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada; transglutaminaz enzimi ile sütün proteinlerinin enzimatik modifikasyonunun ayran üretiminde uygulanabilirliği ve enzim ilavesinin ürünün kalite kriterleri üzerine etkileri incelenmiştir. Ayrıca; çalışmada ayran üretiminde kalitenin geliştirilmesi amacıyla kullanılan ekzopolisakkarit üreten starter kültür ve stabilizatör kullanımı transglutaminaz enzimi ilavesi ile karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve bu enzimin sütün endüstrisinde ayran üretiminde alternatif bir metot olarak kullanımı araştırılmıştır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

Proteinlerin, gıdaların teknofonksiyonel nitelikleri açısından önemli bileşenler oldukları bilinmektedir (Sakamoto vd. 1994). Gıda proteinleri ürünlerin yapısını ve işleme özelliklerini etkilediği için işlevsel içeriklerdir ve birçok gıda proteini gıdaların tekstür, stabilite, viskozite, jelleşme, emülsifiye etme ve su bağlama gibi niteliklerini etkileyen ve geliştiren fonksiyonel bileşenler olarak kullanılmaktadırlar (Feargemve vd. 1998). Proteinlerin fonksiyonel özellikleri çoğunlukla arzu edilen seviyede değildir (Yıldırım vd. 1996). Proteinlerin fonksiyonel nitelikleri onların yapısı ile yakından ilişkilidir (Feargemve vd. 1998). Protein yapısı kimyasal, fiziksel ve enzimatik metotlar kullanılarak modifiye edilebilmektedirler (Yıldırım vd. 1996, Feargemve vd. 1998, Gerrard 2002, Gauche vd. 2009). Protein yapısının enzimatik modifikasyonu gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerinin geliştirilmesi amacıyla endüstriyel alvea yaygın olarak kullanılan metottur (Imm ve Lee 2000, Gerrard 2002). Kimyasal modifikasyon yerine enzimatik modifikasyon kullanılması enzimatik reaksiyonların daha spesifik olmaları, yalnızca katalitik etki yapacak miktarı gerektirmeleri ve toksik yan ürünlerin meydana gelme olasılığının daha az olması nedeniyle avantajlıdır (Feargemve vd. 1998, Gerrard 2002, Gauche vd. 2009).

Bu amaçla enzimler gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerinin geliştirilmesinde endüstriyel alvea yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Tekstürel modifikasyonu tetikleme açısından en ilgi çeken enzimler kovalent çapraz bağlanma gerçekleştirebilenlerdir. Gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerinin geliştirilmesinde proteinler arası çapraz bağlanmalar önemli rol oynamaktadır (Gerrard 2002). Proteinlerle kullanılan çapraz bağlanma terimi genellikle aynı ya da farklı proteinlerin kovalent bağlanmalarını ifade etmektedir (Feeney ve Whitaker 1988). Proteinlerde çapraz bağlanmaya neden olduğu bilinen birçok enzim bulunmaktadır. Bunlar; transglutaminase, lipoxygenase, polphenoloxidase, peroksidase, lysyl oxidase, protein disulfide reductase, protein disulfide isomerase ve sulfhydryl oxidase'dır (Feeney ve Whitaker 1988). Bu enzimler arasında yer alan Transglutaminaz (TGase) özellikle son yıllarda dikkatleri üzerine çekmektedir (Gerrard 2002, Heidebach vd. 2009). Proteinler arası çapraz bağlanmayı katalize eden ticari anlamda uygun tek enzimin transglutaminaz olduğu bildirilmektedir.

Transglutaminaz enzimi, Enzim Komisyonu Terminoloji Sisteminde [R-glutaminly-peptide:amine  $\gamma$ -glutamy transferase, (EC 2.3.2.13)] sistematik adıyla gösterilmekte ve sınıflandırılmaktadır (Zhu vd. 1995, Yıldırım vd. 1996).

Enzimatik modifikasyon amacıyla kullanılan ve doğada yaygın olarak bulunan TGase enzimi, lizin ve glutamin içeren proteinlerin bu amino asit kalıntılarının çapraz bağlanmasıyla proteinler arasında inter ya da intra moleküler bağların oluşmasını sağlayan bir transferazdır (Motoki ve Segura 1998, Bönisch vd. 2007). Transglutaminaz enzimi proteinler arasında kovalent çapraz bağların oluşumunu katalize eder, böylece; gıda proseslerinde önemli bir işlemi sağlar. Bu reaksiyonlar proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin değişmesine ve son üründe daha iyi reolojik, duysal özelliklerinin oluşmasına olanak sağlar (Gauche vd. 2008). Buğday gluteni, yumurta proteinleri, süt kazeinleri, fibrinler, miyosinler, albüminler gibi pek çok gıda proteini, TGase tarafından çapraz bağlanabilen spesifik proteinlerdir (Kurt ve Rogers 1984, Motoki ve Seguro 1998).

TGase enzimi doğada yaygın olarak memelilerde, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır (Motoki ve Seguro 1998, Lorenzen ve Schlimme 1998, Jong ve Koppelman 2002). En iyi bilinen transglutaminaz enzimlerinden biri, insan kanında bulunan Faktör XIII'tür. Çeşitli kaynaklarda bulunabilen transglutaminazın farklı fizyolojik ve biyolojik işlevlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bitkilerde bulunan transglutaminazın hücre duvarının şekillenmesini sağladığı, bakteriyel kaynaklardan elde edilen transglutaminazın ise proteinlerin çapraz bağlanmasında etkili olduğu belirlenmiştir (Jong ve Koppelman 2002).

Genel olarak, endüstriyel amaçlı kullanılacak transglutaminaz enzimi üç şekilde elde edilebilmektedir. Birincisi; inek, domuz ve balık gibi gıda olarak tüketilebilen hayvanların doku ve vücut sıvılarından enzimin ekstrakte edilmesi ve saflaştırılmasıdır. Avrupa'da, Faktör XIII (Fibrinolitikase), olarak bilinen transglutaminazın bu çeşidi, domuz ve sığır kanından ticari olarak ekstrakte edilmektedir. Bununla birlikte; bu yolla elde edilen enzimin aktivasyonu için bir proteaz olan trombinin gerekli olması ve

kırmızı renk oluşumunun sıklıkla ürün görünümünde bozukluğa neden olmasından dolayı gıda üretiminde nadiren kullanılmaktadır. İkincisi; *E. coli*, *Bacillus*, *Aspergillus* ve maya gibi konakçı mikroorganizmaları kullanarak genetik işlemler vasıtasıyla enzimin elde edilmesidir. Pek çok araştırmacı bu yolla enzimin düşük maliyetle ve büyük miktarlarda elde edilmesi için çalışmalar yapmaktadırlar. Ancak; bu yolla üretilen enzim gıda tüzükleri ve tüketici onayı gibi faktörlere bağlı olarak ticarileştirilememektedir. Üçüncüsü ise; transglutaminaz üreten mikroorganizmalardan geleneksel fermantasyon teknolojisi ile enzimin ticari olarak üretimidir (Motoki ve Seguro 1998).

Serum proteini, kazein, soya proteini, balık proteini ve bu proteinlerin fraksiyonlarının substrat olarak kullanıldığı model sistemler ile sürdürülen çalışmalarda transglutaminaz ile enzimatik çapraz bağlanma reaksiyonlarının gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerine etkileri araştırılmış ve bu özelliklerde gelişme elde edilmiştir (Çizelge 2.1). İlk teknolojik uygulamalar bu enzimatik metodun, özellikle fermente süt ürünlerinin stabilizasyonunda ve et ürünlerinin üretiminde kullanımın uygun olduğunu göstermiştir (Lorenzen ve Schlimme 1998).

Transglutaminaz enziminin günümüzde deniz ürünleri, et ürünleri, fırıncılık ürünleri, süt ürünleri gibi pek çok alvea kullanılabileceği ve gıda proteinlerinin transglutaminaz enzimi vasıtasıyla modifikasyonları sonucunda su bağlama ve jelleşme nitelikleri, ısı stabilitesi, reolojik ve emülsifiye etme özelliklerinin geliştirilebileceği bildirilmektedir. (Lorenzen ve Schlimme 1998, Motoki ve Segura 1998, Kuraishi vd. 2001, O'Sullivan vd. 2001). Ticari olarak yararlanılan transglutaminaz enzimi başlıca yoğurt gibi protein jeli temelli süt ürünlerinin tektürel ve duyuşsal özelliklerini geliştirmek amacıyla kullanılmaktadır (Heidebach vd. 2009).

Çizelge 2.1 Proteinlerin fonksiyonel nitelikleri üzerine enzimatik çapraz bağlanmanın etkisi (Lorenzen ve Schlimme 1998)

Fonksiyonel Nitelik	Enzimatik Çapraz Bağlanma Etkisi
Eriyebilirlik	- pH 4-6 aralığında $\alpha_{S1}$ -kazeinlerin eriyebilirliğinin geliştirilmesi -Yüksek sıcaklıklarda jelatinin eriyebilirliğinin azalması
Hidratasyon yeteneği	- Proteinlerin su bağlama yeteneğinin geliştirilmesi
Jelleşme kapasitesi	- TGase aktivitesinin sonucu olarak proteinlerin jelleşmesi
Reolojik nitelikler	- Protein çözeltilerinin viskozitelerinde artış
Emülsifikasyon stabilitesi	- Yağ/su emülsiyonlarında kremalaşmada azalma
Isı stabilitesi	- Protein çözeltilerinin ısı stabilitelelerinde önemli orvea gelişme

TGase enzimi ilk olarak yaklaşık 40 yıl önce Heinrick Waelsch tarafından proteinler içinde aminlerin birleşmesini sağlayan bir karaciğer enzimi olarak tespit edilmiştir. 1980'li yıllar öncesinde, süt kazeinleri ve soya fasulyesi albüminlerinde fonksiyonel niteliklerinin modifikasyonunu olanaklı kılan TGase enzimi ile modifikasyon çalışmalarında domuz ciğeri ya da sığır plazmasından türetilmiş transglutaminazın kullanıldığı belirlenmiştir (Motoki ve Seguro 1998, Kuraishi vd. 2001).

1980'li yıllarda, TGase enzimi ile gıda proteinlerinin çapraz bağlanmasının gerçekleştiği ilk denemelerde, kazein ve soya proteini gibi çeşitli endüstriyel gıda proteinlerinin hayvansal kaynaklı enzim için iyi substrat oldukları belirlenmiştir. Bu yolla proteinlerin çapraz bağlanmasının proteinlerin jelleşme, eriyebilirlik, emülsifiye etme gibi fonksiyonel niteliklerini geliştirdiği bulunmuştur. Bununla birlikte; enzimin ekstraksiyon ve saflaştırma maliyetinin yüksek oluşu gıda endüstrisinde kullanımını sınırlamıştır. Ayrıca; hayvansal kaynaklı TGase'in bir kofaktör olarak kalsiyum iyonlarına ihtiyaç göstermesi bazı gıdalarda kullanımını sınırlayan bir başka engel olmuştur. Enzimin gıda uygulamalarında kullanımında ilk ticari başarı et ya da balık parçalarının birleştirilmesinde fibrinojen ve plazma transglutaminazının birlikte kullanımıyla sağlanmıştır. Enzimle ilgili gıda uygulamalarında elde edilen bir diğer gelişme *Streptoverticillium* türü bir mikroorganizmadan transglutaminaz enziminin izolasyonu olmuştur (Jong ve Koppelman 2002).

Mikrobiyal kaynaklı TGase'ın 1989 yılında *Streptovercillium* türü bir mikroorganizmadan izole edilmiştir. Enzim Ajinomoto Co., Inc. tarafından bir gıda preparasyonu olarak ticarileştirilmiştir. Bu sayede enzimin *Streptovercillium* türü mikroorganizmalardan düşük maliyetle elde edilmesi ve ticari düzeyde seri üretimi olanaklı hale gelmiştir. (Motoki ve Seguro 1998, Dickinson ve Yamamoto 1996, Jong ve Koppelman 2002, Gerrard 2002).

Enzimin ticarileşmesi son yıllarda artmış ve molekül ağırlığı, yapısı ve enzimatik özellikleri belirlenmiştir. Kütle spektrometresi ile protein diziliminin primer yapısı belirlenen enzimin 331 amino asitten oluştuğu ve molekül ağırlığının yaklaşık 38000 dalton olduğu tespit edilmiştir. Enzimin basit protein yapısında olduğu ve tek bir polipeptit zincirinden oluştuğu düşünülmektedir. Enzimin izoelektrik noktası yaklaşık olarak 8.9 pH'dır (Motoki ve Seguro 1998).

TGase'ın optimum aktivite gösterdiği pH aralığı 5-8 olmakla birlikte 4-9 pH aralığında bile enzimatik aktivitesini sürdürebilmektedir. Enzim geniş bir sıcaklık aralığında aktivite göstermekle birlikte; enzim aktivitesi için optimum sıcaklık 50 °C'dir ve enzim 70 °C sıcaklıkta aktivitesini kaybetmektedir. Enzimin 10 °C ve donma noktasında da bir miktar aktiviteye sahip olduğu bildirilmektedir (Motoki ve Seguro 1998, Kuraishi vd. 2001).

Bakır ( $Cu^{+2}$ ), çinko ( $Zn^{+2}$ ) ve kurşun ( $Pb^{+2}$ ) gibi ağır metallerin, enzimin aktif bölgesini oluşturduğu düşünülen sistein kalıntılarındaki tiol gruplarına bağlanarak enzimi inaktif hale getirdikleri bildirilmektedir. Bununla birlikte;  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$  ve  $Ba^{+2}$  iyonlarının enzim aktivitesini etkilemediği belirlenmiştir (Motoki ve Seguro 1998).

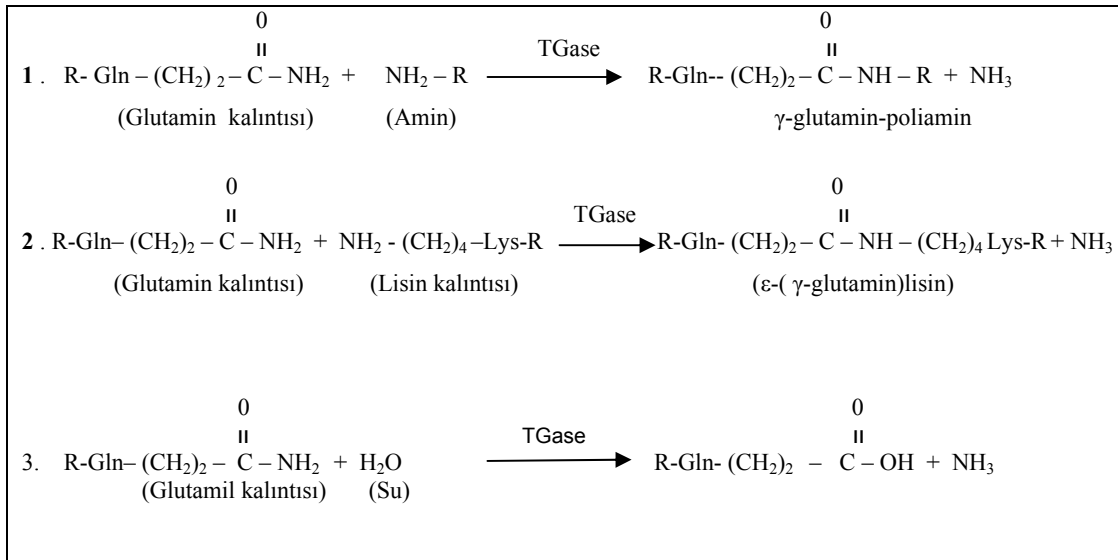
*Streptovercillium mobaraense*' den elde edilen mikrobiyal kaynaklı TGase (MTGase) enziminin kalsiyum iyonlarından bağımsız oluşu başlıca karakteristiğidir ve endüstriyel uygulamalarda gıda alanında kullanım için tercih edilmektedir. Bu gıda proteinlerinin modifikasyonunda çok yararlı bir özelliktir. Çünkü; kazeinler, soya fasulyesi globülinleri ve miyosinler gibi çoğu gıda proteini kalsiyum iyonlarına karşı hassastır ve

kalsiyum iyonlarının varlığında kolaylıkla presipite olurlar ve MTGase enzimine karşı hassasiyetleri azalır (Motoki ve Seguro 1998). Bununla birlikte; hayvansal kaynaklı transglutaminaz aktivitesini göstermesi için kalsiyuma gereksinim duymaktadır. MTGase enziminin besi ortamında saflaştırılması onun ticari olarak daha kolay elde edilmesini olanaklı hale getirmiştir (Dickinson ve Yamamoto 1996, Motoki ve Seguro 1998).

TGase enzimi proteinlerin modifikasyonunda 3 reaksiyonu katalize edebilmektedir:

- 1- Aminlerin birleşmesi
- 2- Proteinler arası çapraz bağlanma
- 3- Deamidasyon (Gauche vd. 2009)

Yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşumuyla sonuçlanan proteinlerin çapraz bağlanması, bu enzim için doğada en etkili reaksiyondur. TGase enziminin katalize ettiği reaksiyonlar Şekil 2.1’de sistematik olarak gösterilmektedir (O’Sullivan vd. 2001, Sharma vd. 2001, Jong ve Koppelman 2002). Bu reaksiyonların sonucu olarak da; gıda ürünlerinin reolojik ve duysal özelliklerinin gelişmesini olanaklı kılan proteinlerin fonksiyonel niteliklerinde değişimler sağlanır (Gauche vd. 2009).



Şekil 2.1 Transglutaminaz enzimi ile proteinlerin modifikasyonu  
1-Aminlerin birleşmesi 2-Çapraz bağlanma 3-Deamidasyon

İlk aşamada glutamin içeren ve açıl verici olan substrat enzime bağlanmaktadır. Enzimin sistein içeren aktif bölgesi glutaminin  $\gamma$ -karboksiamid grubuna etki ederek açıl-enzim ara yapısının oluşmasına ve bir amonyak molekülünün serbest kalmasına yol açmaktadır. Bu arada açıl-enzim yapısı herhangi bir nükleofilik primer amin ile reaksiyona girerek açıl grubunu primer amine transfer eder. Sonuçta ya bir isopeptit bağı ( $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin) ya da  $\gamma$ -glutamin-poliamin bağı oluşur (Yıldırım vd. 1996).

TGase vasıtasıyla gıda proteinlerinin çapraz bağlanması eriyebilirlik, hidrasyon yeteneği, reolojik ve emülsifiye etme nitelikleri gibi teknofonksiyonel özellikleri modifiye etmektedir. Enzim, inter ya da intramoleküler çapraz bağlanmaya yol açan, glutamin rezidülerinin  $\gamma$ -karboksiamid grubu (açıl verici) ve lisinlerin  $\epsilon$ -amino grupları (açıl alıcı) arasındaki açıl-transfer reaksiyonunu katalize eder (Dickinson ve Yamamoto 1996, Faergemve vd. 1998, Jong ve Koppelman 2002, Gauche vd. 2009). Proteinlerin çoğunluğu hem glutamin verici hem de lisin alıcı olduğundan TGase enzimi intermoleküler ve/veya intramoleküler çapraz bağlanma reaksiyonunu katalize edebilmektedir. Ancak; sadece proteinler arası (intermoleküler) çapraz bağlanma molekül ağırlığında bir artış oluşturabilmektedir (Yıldırım vd. 1996). Ortamda bir aminin bulunmaması durumunda su reaksiyona girmekte ve glutaminlerin deamidasyonu sonucu glutamik asit kalıntısı oluşmaktadır (Kuraishi vd. 2001).

Amonyak transglutaminaz reaksiyonunu izleyebilmek için bir araç olarak kullanılabilir, bununla birlikte; çapraz bağlanma  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamin)lisin izopeptitlerinin belirlenmesi ve ölçülmesi ile de kanıtlanabilir (Lorenzen vd. 2002).

Yapılan çalışmalarda enzimatik reaksiyonun başlangıcında (ilk 30 dakika) proteinlerin hızlı çapraz bağlanma reaksiyonu baskın halde gerçekleşirken, 30 dakika sonra deamidasyon ve/veya birleşme reaksiyonlarının baskın duruma geçtiği görülmüştür (Sharma vd. 2001, Lorenzen vd. 2002).

Enzimin katalize ettiği bu üç reaksiyon da gıda proteinlerinin fonksiyonel niteliklerini modifiye etmek için kullanılabilir (Jong ve Koppelman 2002). Bununla birlikte; gıda endüstrisinde önemli olan başlıca reaksiyon  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisinin meydana geldiği proteinler arası çapraz bağlanmadır (Kuraishi vd. 2001, Schey 2003).  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin isopeptid bağlarının şekillenmesi, pek çok gıda proteininin fiziksel ve tekstürel özelliklerinin gelişmesine yol açan gıda proteinleri arasında inter ya da intramoleküler kovalent çapraz bağların oluşumuyla sonuçlanır (Bae vd. 2009).

Et, balık ve kabuklu deniz ürünleri gibi çiğ gıda materyalinde ve ızgara domuz eti, sığır ve tavuk etinden hazırlanan işlenmiş çoğu gıda belirli miktarda  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin bağları içerir, ancak; süt ürünlerinde bu bağ mevcut değildir.  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin transglutaminaz reaksiyonu vasıtasıyla oluşmakta, çeşitli çiğ gıda materyallerinde ve işlenmiş gıdalarda bulunabilmektedir. Bununla birlikte; tüm  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin bağları transglutaminaz enzimi ilavesi vasıtasıyla oluşmaz, doğal olarak oluşan çapraz bağlanmalar da mevcuttur. Doğal olarak oluşan çapraz bağlanmalar balık yumurtası ürünlerinde bulunmaktadır. Organizmada üretilen transglutaminaz reaksiyonu beraberinde ısı işleminin,  $\epsilon$ -lisin ve glutaminin  $\gamma$ -kaboksil grubu arasında kimyasal dehidrasyon vasıtasıyla  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisinin oluşmasını teşvik ettiği rapor edilmektedir (Kuraishi vd. 2001).

Proteinlerin TGase ile reaksiyona girmesinin jelatin, kazeinat, serum proteini, soya proteini, yumurta proteini ve gluten gibi çok sayıda gıda proteini ile çapraz bağlanmış jel oluşumuna yol açtığı görülmüştür. Ancak; çapraz bağlanma oranı her bir proteinin moleküler yapısıyla ilişkilidir ve proteinlerin hepsi enzim için ideal substrat değildirler (Schorsch vd. 2000).

TGase enzimi tarafından katalize edilen çapraz bağlanmanın oranı substrat olarak rol oynayan proteinin yapısına bağlıdır (Gerrard 2002). Süt proteinleri üzerine TGase enziminin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, esnek ve açık zincir yapılarından dolayı kazeinlerin enzim için çok iyi substrat olduğu, bununla birlikte; çapraz bağlanmanın gerçekleştiği etkili alanları sınırlayan, disülfit bağlarıyla stabilize halde bulunan

globüler yapıdaki serum proteinlerinin zayıf substratlar oldukları belirlenmiştir (Faergemve vd. 1998, Faergemve vd. 1999a, Imm ve Lee 2000, O'Sullivan vd. 2001, Kuraishi vd. 2001, Bönisch vd. 2007, Partanen vd. 2008). Ancak; serum proteinlerinin ısı ile denatürasyonu sonucu çapraz bağlanma yeteneklerinin arttığı bildirilmektedir (Lorenzen 2000, O'Sullivan vd. 2001, Gerrard 2002). Enzimin süt proteinleri üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda serum proteinlerinin artan denatürasyon derecesi ve çapraz bağlanma yetenekleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Lorenzen ve Neve 2003).

Kazein fraksiyonlarının TGase enzimi ile kolayca reaksiyona girdiği ve hiçbir fraksiyonun ön işlem gerektirmediği saptanmıştır (Sharma vd. 2001). Kazein fraksiyonları arasında ise k ve  $\beta$ - kazeinlerin her ikisinin de çapraz bağlanmaya karşı duyarlılığının  $\alpha$ <sub>S</sub>-kazeinden daha fazla olduğu bildirilmektedir (Sharma vd. 2001, Partanen vd. 2008).  $\beta$  ve k-kazeinin çapraz bağlanmaya karşı gösterdiği duyarlılık, k-kazeinin kazein misellerinin yüzeyinde yer almaları,  $\beta$ -kazeinin ise daha yüksek orvea prolin içermesi ve enzim tepkimesinin daha kolay gerçekleşebileceği esnek ve açık yapıya sahip olması ile açıklanabilmektedir. Süte uygulanan ısı işlemlerin serum proteinlerinin denatürasyonuna ve kazein miselleri ile etkileşime girmelerine neden olduğu bilinmektedir. Isıl işlem ile ortaya çıkan bu değişikliklerin proteinlerin TGase ile reaksiyonlarına karşı duyarlılıklarının artmasına yol açtığı düşünülmektedir. Ancak; ısı işlem ile yalnızca  $\beta$ -laktoglobulinin TGase enzimine karşı duyarlılığının arttığı,  $\alpha$ -laktalbuminin çapraz bağlanma seviyesinin aynı orvea kaldığı belirlenmiştir (Sharma vd. 2001).

Çapraz bağlanma tüm proteinlerin monomerik formlarının azalmasına ve büyük molekül ağırlıklı polimerlerin artmasına yol açmaktadır.  $\alpha$ -laktalbuminin ön ısıtmalı ya da ısıtmasız çapraz bağlanma yapma yeteneğine sahipken,  $\beta$ -laktoglobulinin yalnızca ısı işlem sonrasında TGase reaksiyonuna açık hale geldiği ifade edilmektedir (Lorenzen vd. 2002).  $\alpha$ -laktalbumin nötral pH'da bir mol başına bir  $\text{Ca}^{+2}$  bağlamaktadır. Yapısında bağlı  $\text{Ca}^{+2}$ ' un uzaklaşması ile çapraz bağlanma reaksiyonuna daha açık hale geldiği ileri

sürülmektedir. Sharma vd. (2002) yaptıkları çalışmada yapıdan  $Ca^{+2}$ 'un uzaklaşması ve hidrofobik bağların kırılması ile çapraz bağlanmanın arttığını göstermiştir.

$\beta$ -laktoglobulinin bazı fiziksel özellikleri üzerine TGase ile çapraz bağlanmanın etkisi araştırılmıştır. Kobay ciğerlerinden elde edilmiş TGase  $\beta$ -laktoglobulini çapraz bağlamak için kullanılmıştır.  $\beta$ -laktoglobulin polimerlerinin viskozitesinin çapraz bağlı proteinlerin derişiminin artmasıyla arttığı ve çapraz bağlı  $\beta$ -laktoglobulinin pH 7.0'da ısı işleme karşı belirlin bir kararlılık gösterdiği bulunmuştur. Doğal  $\beta$ -laktoglobulinin tersine polimerize  $\beta$ -laktoglobulinin 95 °C'de ve 30 dakika ısı işleme ile daha sıkı ve pürüzsüz bir jel oluşturduğu ortaya konmuştur. Bununla birlikte doğal formdaki  $\beta$ -laktoglobulinin hızla denatüre olduğu görülmüştür. Bu çalışma TGase'in yumuşak yapıda jel oluşturmak için gıda formülasyonlarında kullanılabilecek bir yöntem olabileceğini düşündürmektedir (Ya-Tanimoto ve Kinsella 1988).

Kazein molekülleri globüler yapıdaki serum proteinleri ile karşılaştırıldığında, açık yapılarından dolayı MTGase ile çapraz bağlanma reaksiyonlarında yüksek reaksiyon hızına sahiptirler. Kazein molekülleri 2-4 saatlik inkübasyonun ardından neredeyse tamamıyla yüksek molekülle agregatları oluşturmak üzere çapraz bağlanırlar (Lorenzen ve Schlimme 1998).

Sütün TGase ile muamelesinin ısı stabilitesini etkilediği düşünülmektedir. Fakat; bu inkübasyondan önce süte ısı işleme uygulanmasına ve bu ısı işleme sıcaklığına bağlıdır. Çiğ sütte kazeinler arasında ortaya çıkan çapraz bağlanma misellerden k-kazeinin ayrılmasına engel olmaktadır. TGase ile inkübasyondan önce ısı işleme görmüş sütlerde serum proteinlerinin denatürasyonu kazeinler ve denatüre serum proteinleri arasında enzim aracılığıyla çapraz bağ oluşumuna olanak sağlar ve bu durum pH>6.5'de ısı stabilitesinin gelişmesini olanaklı kılar. Sterilizasyon sıcaklığında sütün koagülasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanan ısı stabilitesi, özellikle UHT ve konsantre süt ürünlerinde ticari öneme sahiptir. Bu bağlamda TGase'in gıda katkı maddesi olarak kullanılabilecek ticari uygulamalar için uygun bir enzim olduğu bildirilmektedir (O'Sullivan vd. 2002 ).

Serum proteini izolatları ve UF-yağsız süt proteinlerinin ısı stabilitesinde enzim ile elde edilen gelişmenin önemli olduğu bulunmuştur. Uzun dönemli çalışmalar enzimle işlem görmüş rekonstitüe yağsız sütün (pH 6.8-7.1, % 9 toplam kuru madde) ısı stabilitesinin kontrol örneğine göre dikkate değer bir şekilde arttığını göstermiştir. Yağsız sütün ısı stabilitesi üzerine TGase enziminin etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Lorenzen vd. 2002). Bununla birlikte; TGase ile sütün ısı stabilitesinde sağlanan artışın kazeinlerin çapraz bağlanması vasıtasıyla misellerden k-kazeinin ayrılmasının engellenmesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Hinz vd. 2007).

TGase ile işlem görmüş kazein miselleri genellikle asidifikasyon ve mayalama ile elde edilen jellerden daha güçlüdür ve daha çabuk oluşmaktadır. Bu şekilde oluşan jellerde uzun depolama süresinde bile sinerez gözlenmez (Lorenzen vd. 2002).

Enzimle teşvik edilen çapraz bağlanmanın su absorpsiyonuna bağlı olarak süt tozunda kekleşmeyi önleyebileceği bildirilmektedir (Lorenzen vd. 2002).

Lorenzen vd. (2002) çalışmalarında TGase ile işlem görmüş serum proteini, UF-yağsız süt proteini, sodyum kazeinat gibi süt proteinlerinin ve yağsız süt tozunun teknolojik niteliklerini incelemiştir. TGase ilaveli örneklerin protein içeriği enzim ilavesinden dolayı diğer enzim içermeyen örneklerden daha düşük tutulmuştur. Enzimatik modifikasyon toz ürünlerin yığın hacminde bir miktar artışla sonuçlanmıştır. Çapraz bağlanma derecesi sırasıyla sodyum kazeinat > UF-yağsız süt proteini > yağsız süt tozu > serum proteini izolatu şeklinde belirlenmiştir. TGase ile çapraz bağlanma sonucunda sodyum kazeinatın su bağlama kapasitesinde ortalamanın üstünde bir artış olurken, serum proteini ve yağsız süt proteinlerinde pek az bir artış meydana geldiği belirlenmiştir (Lorenzen vd. 2002).

Gıdaların tekstür ve konsistensini geliştirmek için potansiyel olarak kullanılmasının yanında, enzimatik çapraz bağlanma protein temelli filmler ve kaplama maddelerinin

hazırlanmasında da kullanılmaktadır. Enzimle süt proteinlerinin çapraz bağlanma reaksiyonu kullanılarak gıda niteliğini geliştirmek için yenilebilir kaplama ya da biyolojik olarak parçalanabilen paketleme materyallerinde kullanılan ince filmler elde edilebilir (Lorenzen vd. 2002). Bu filmlerin önemli özelliği; üretiminde yenilebilir lipitlerden, proteinlerden, karbonhidratlardan veya bunların karışımlarından yararlanılmasıdır. Bu tür filmlerin oluşmasında hidrojen bağları, iyonik bağlar ve hidrofobik interaksiyonlar etkili faktörlerdir. Proteinlerin yapısına söz konusu bağlardan daha kuvvetli olan kovalent bağ yerleştirdiğinden TGase ile üretilen filmlerin daha yüksek mekanik özelliklere sahip olacağı saptanmıştır (Yıldırım vd. 1996). TGase ile  $\alpha_{S1}$ -kazeinden jelleşme ile elde edilen filmlerin su, çeşitli deterjanlar ve organik çözücülere, ısı işleme karşı kararlı olduğu bulunmuştur (Motoki vd.1986).

Süt proteinlerinin çapraz bağlanma yeteneklerinin yüksek basınç işlemiyle arttırılabildiği de rapor edilmektedir (Lorenzen vd. 2002). TGase ve yüksek basınç uygulamasının bir arada kullanılmasının atmosferik basınç altında enzimden etkilenmeyen globüler proteinlerin modifikasyonunu beraberinde getireceği düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada 0.1 ve 200 MPa basınç altında TGase varlığında inkübasyon sonucu  $\beta$ -laktoglobulinde oligomerizasyon ortaya çıkmazken 400 MPa basınç uygulamasından sonra oligomerizasyonun gerçekleştiği görülmüştür. Basınç uygulaması ile yapının açılmasının; lizin ve glutamin kalıntılarında TGase enziminin daha kolay ulaşmasına ve  $\beta$ -laktoglobulin molekülleri arasında etkileşimin artmasına neden olduğu düşünülmektedir. Gıdalarda yüksek basınç uygulaması ve TGase enzimin bir arada kullanımının yeni fonksiyonel özelliklere sahip ürün geliştirmek için önemli olduğu düşünülmektedir (Lauber vd. 2001a, Lauber vd. 2001b).

Süt ürünleri ve süt proteinlerinin enzimatik modifikasyonu ile elde edilebilecek gelişmeler Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

Süt ürünlerinde transglutaminazın başlıca kullanım alanı yoğurt üretimidir (Jong ve Koppelman 2002).Transglutaminaz kullanımı için en avantajlı ürün olarak görülen yoğurt üretiminde enzimin başlıca etkilerinin pıhtı sıklığı ve viskozitede artış, su

bağlama kapasitesindeki artışın sonucu olarak da serum ayrılmasında azalma olduğu bildirilmektedir (Kuraishi vd. 2001). Transglutaminaz enzimi kullanımının yoğurtlarda pıhtı stabilitesini geliştirerek jel gücünü arttırdığı, serum ayrılmasını azalttığı, viskozitede artış sağladığı birçok araştırmacı tarafından belirlenmiştir (Lorenzen ve Schlimme 1998, Motoki ve Segura 1998, Faergemve vd. 1999a, Farnsworth ve Guo 2003). Ayrıca; enzimatik modifikasyon süt teknolojisi alanında yoğurt üretiminde klasik kuru madde arttırımı ve stabilizatör kullanımına alternatif bir metot olarak gösterilmektedir (Lorenzen ve Schlimme 1998, Faergemve vd. 1999a, Kuraishi vd. 2001, Lorenzen ve Neve 2003 ).

Çizelge 2.2 Süt proteini ve süt ürünlerinde TGase'ın potansiyel kullanımı (Lorenzen ve Schlimme 1998)

Ürün	Enzimatik modifikasyondan beklenen sonuç
Yoğurt, Taze peynir	Jel gücünde artış /Serum ayrılmasında azalma
Taze ve olgunlaşmış peynir	Ürün randımanında artış /Serum ayrılmasında azalma
Dondurma	Su bağlamada artış/ Jelleşme niteliklerinde iyileşme
Kazeinatlar	Jelleşme ve emülsifikasyon niteliklerinde gelişme Viskozitede artış
Dövülmüş krema	Fiziksel niteliklerin geliştirilmesi
Serum proteinleri	Paketleme filmlerinin oluşması ve niteliklerinin gelişmesi
Kurutulmuş süt ürünleri	Stabilitede artış

Asit ile elde edilen geleneksel kazein jellerinde zayıf fiziksel etkileşimler ile bir arada tutulan çapraz bağlar bulunurken, TGase kullanılarak oluşan jeller kovalent olarak çapraz bağlanmaktadır (Schorsch vd. 2000). Yoğurt laktik starter kültür kullanılarak üretilen bir süt jelidir. Ürünün tekstürel özellikleri ve düşük su tutma kapasitesi jelde yeni kovalent bağların oluşumu ile değiştirilebilir (Kuraishi vd. 2001).

$\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin bağları ile oluşan jeller su bağlama kapasitesinde gelişme sağladığı için transglutaminaz enzimi ile işlem görmüş süttten yapılan yoğurtlarda su bağlama kapasitesi artmakta ve serum ayrılması önlenmektedir. Yoğurtlarda artan enzim miktarına bağlı olarak viskozitede de artış meydana geldiği ve serum ayrılmasının

önlendiği bildirilmektedir. Bununla birlikte; aşırı miktarda enzim kullanımının aynı etkiyi göstermediği, aşırı  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lisin oluşumuna bağlı olarak yoğurt jelinde uygun ağ yapısının oluşumunun engellendiği ve sonuç olarak da maksimum sıklıktan sonra yoğurdun kırılmaya karşı gösterdiği direncin azaldığı tespit edilmiştir (Kuraishi vd. 2001).

Yoğurt üretiminde transglutaminazdan yararlanıldığında, süt enzim ile işlem gördükten sonra enzimin inaktivasyonu için ısıl işlem uygulanır ve ardından starter kültür ilavesi ile fermantasyon prosesi başlatılır. Transglutaminaz starter kültür ile aynı vea da ilave edilebilir. Bu durumda enzim aktivitesi fermantasyon sürecinde de devam etmektedir (Jong ve Koppelman 2002).

Fermantasyon öncesinde enzimle muamele edilen süttten elde edilen set tipi yoğurtta jel gücünde 2 kat artış tespit edilirken; enzim ve starter kültürün aynı vea katıldığı örneklerde jel gücünde 5 katı artış olduğu belirlenmiştir. Enzim ilaveli ürünün jel gücünde meydana gelen artışın protein ağ yapısında gözenek büyüklüğünde azalma ve protein zincirinde daha düzenli bir dağılma sonucu olduğu bildirilmektedir. Daha güçlü bir protein ağ yapısının sonucu olarak da serum ayrılmasında azalma meydana gelmektedir (Lorenzen ve Neve 2003).

Bazı araştırmacılar yoğurt üretiminde süttün TGase enzimi ile fermantasyon öncesince işlem görmesinin daha uzun inkübasyon süresine ve daha düşük depolama sonrası asitliğe neden olduğunu belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, bakteriler için gerekli düşük molekül ağırlıklı peptitlerin çapraz bağlanması ile aminoasitlerin molekül boyutlarının büyümesi sonucunda kullanılabilirliğinin azaldığını ve böylece bakteriyel gelişimin yavaşladığını ileri sürmektedirler. Bununla birlikte; starter kültürün ve enzimin aynı vea ilavesinin inkübasyon süresinde uzamaya neden olmadığı bulunmuştur. Fakat; depolama sonrası asitlik gelişiminde yine azalma tespit edilmiştir. Araştırmacılar TGase ilave edilmiş, yağ ve protein içeriği düşük yoğurt örneklerinin yapısının tam yağlı ve kurumadde içeriği arttırılmış yoğurtlarla benzerlik gösterdiğini ortaya koymuştur (Feargemve vd. 1999a, Lorenzen vd. 2002, Lorenzen ve Neve 2003).

Lorenzen vd. (2002) süt proteinlerinin enzimatik çapraz bağlanmasının set tipi yoğurt üretiminde fonksiyonel nitelikler üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sütün fermantasyon öncesinde TGase ile inkübe edilmesinin ardından (40 °C/ 2 saat, enzim/substrat oranı 1/2000) retilen yoğurtlarda, depolama sırasında asitlik gelişiminin (post asidifikasyon) daha yavaş gerçekleştiği belirlenmiştir. Enzim katkılı örneklere ait elektron mikroskop çalışmaları ise sütün enzim ile muamelesinin protein ağ yapısında gözenek boyutunun küçülmesine ve proteinlerin yoğurt jeli içinde daha düzenli dağılmasına neden olduğunu göstermiştir. Bunun sonucu olarak da yoğurtların jel gücünde artış ve serum ayrılmasında azalma tespit edilmiştir. Bununla birlikte; duyuusal değerlendirme sonuçları incelendiğinde enzim katkılı örneklere spesifik yoğurt aromasının daha az hissedildiği ortaya konmuştur.

Farnsworth ve Guo (2003) alışmalarında keçi sütünden elde edilen yoğurtlarda yapı ve konsistens zerine MTGase enziminin etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar 2 farklı enzim konsantrasyonu (2 ve 4 units/g protein) kullandıkları çalışmalarında enzim katkılı örneklere kimyasal özelliklerinde (toplam kuru madde, pH, protein) kontrol örneğine göre önemli bir farklılık olmadığını, bununla birlikte; enzim katkılı yoğurt örneklere serum ayrılmasında azalma ve viskozitede önemli orvea artış meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Çalışmada enzim katkılı örneklere kontrol örneğinden daha sıkı bir yapıya sahip oldukları elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. Araştırmacılar MTGase kullanımıyla oluşan enzimatik çapraz bağlanmanın keçi sütünden elde edilen yoğurtlarda konsistens geliştiren etkili bir metot olduğunu bildirmişlerdir.

Faergemve vd. (1999a) alışmalarında set tipi yoğurt üretiminde transglutaminaz enzimi kullanımının ürünün tekstürel ve duyuusal özelliklerine etkilerini incelemişlerdir. Araştırmacılar transglutaminaz enziminin katalize ettiği çapraz bağlanmanın, set tipi yoğurtlarda tekstürel nitelikleri değiştirmek için etkili bir metot olduğunu belirlemişlerdir. Enzim ilavesinin yoğurt örneklere jel gücünü arttırdığı ve serum ayrılmasında önemli orvea azalma sağladığını belirleyen araştırmacılar; enzim ilave edilen düşük yağ ya da protein içeren örneklere duyuusal açıdan tam yağlı ve yüksek orvea protein içeren örneklere benzediğini tespit etmişlerdir. Aynı araştırmacılar

transglutaminaz kullanımının düşük yağlı yoğurtlarda kuru madde arttırımı ve stabilizatör kullanımına alternatif bir metot olabileceğini bildirmektedirler.

Imm ve Lee (2000) çalışmalarında transglutaminaz ile muamele edilmiş (10 Unit/g süt proteini, 40 °C/3 h) süttten elde edilen yağsız süttözunun jelleşme ve su bağlama niteliklerini incelemişlerdir. Enzimatik modifikasyon ile su bağlama kapasitelerinde ve jelleşme niteliklerinde artış sağlanan süttözundan elde edilen jellerin reolojik niteliklerinin kontrol örneklerine göre çok daha iyi olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar transglutaminaz ile muamele edilmiş süttten üretilen yağsız süttözlarının düşük yağlı yoğurt üretiminde serum ayrılmasında azalma sağlamak amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Kırmacı vd. (2004) çalışmalarında 75-90 °C arasında değişen sıcaklıklarda 20 dakika süreyle ısıtılmış ve transglutaminaz enzimi ile muamele edilmiş süttten üretilen yağsız yoğurtların bazı fiziksel ve kimyasal niteliklerini incelemişlerdir. Çalışmada transglutaminaz enzimi ilavesinin asitlik artışında hafif bir yavaşlamaya neden olduğu belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar TGase ilave edilmiş yoğurt örneklerinde viskozite artışının kontrol örneklerine göre çok daha yüksek olduğunu ve serum ayrılmasında azalma meydana geldiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar yağsız yoğurt üretiminde transglutaminaz enzimi kullanımının jel stabilitesini geliştirdiğini ve üretimde klasik ısı normlarından (85-90 °C/ 5-20 dakika) daha düşük sıcaklık derecelerinin kullanılabilceğini bildirmişlerdir.

Lorenzen ve Schlimme (1998) araştırmalarında 37 °C'de 2 saat enzimle inkübasyonda 1/200 enzim/substrat oranını kullanmışlardır. TGase enziminin yağsız yoğurt örneklerinde standart yoğurt örneğine göre daha yüksek jel gücü ve daha az serum ayrılmasına neden olduğunu belirleyen araştırmacılar, enzim ilavesinin depolama sürecinde asitlik profilinde (pH ve titrasyon sitliği, °SH) enzim katkılı ve katkısız örnekler arasında önemli bir fark yaratmadığını tespit etmişlerdir.

Öner vd. (2004) TGase enziminin set tipi yoğurdun fizikokimyasal niteliklerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında, enzimle muamele edilen süttten elde ettikleri yoğurt örneklerinde jel gücünde artış ve serum ayrılmasında azalma olduğunu belirlemişlerdir. Bununla birlikte, araştırmacılar transglutaminaz enzimi ilavesinin yoğurtta temel aroma maddesi asetaldehittin miktarında azalmaya neden olduğunu bildirmektedirler.

Özer vd. (2007) MTGase enzimi ile işlem görmüş süttten üretilen yağsız yoğurtların fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini incelemişlerdir. Araştırmacılar enzimin yoğurt starter bakterilerinin gelişimini yavaşlattığını ve artan enzim miktarına bağılı olarak asit gelişim oranında azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Yoğurt örneklerinin 21 günlük depolama sürecinde fiziksel niteliklerinde gelişme olduğu, bununla birlikte; artan MTGase enzimi miktarına bağılı olarak örneklerin asetaldehit içeriğinde azalma gerçekleştiğı belirlenmiştir.

Yüksel (2007) çalışmasında, transglutaminaz enzimi kullanılarak üretilen yoğurtların tekstürel özelliklerinin geliştiğı ve su tutma kapasitelerinin arttığını ortaya koymuştur. Üretilen set tipi yoğurtlarda enzimin aktif olması durumunda ortaya çıkan değışiklerin daha belirgin olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca; proteolitik aktivite ürünlerinin enzim ilaveli örneklerde daha az olduğu ve asitlik gelişiminin daha yavaş gerçekleştiğini belirlemiştir.

Literatürlerde peynirde TGase enzimi kullanımıyla ilgili çalışmalar sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada 37 °C, 75 °C ve 90 °C’de ön ısıl işlem uygulanan süttlerin TGase enzimi (enzim/substrat:1/200) ile inkübasyonunun ardından mayalanma nitelikleri incelenmiştir. 37 °C’lik bir ısıl işlemin düşük düzeyde çapraz bağlanma ve pıhtılaşıma zamanında çok hafif bir artışa yol açtığını belirlenmiştir. 75 °C’de ısıl işlem uygulanmış sütte çapraz bağlanma düzeyinde ve pıhtılaşıma süresinde önemli düzeyde artış görülmüştür. 90 °C’de ısıl işlem görmüş sütte oluşan çapraz bağlanma sonucunda ise pıhtılaşıma niteliğinin tamamen kaybolduğı belirlenmiştir. Bu globüler proteinler ve kazein miselleri arasında meydana gelen çapraz bağlanma düzeyindeki artışla

açıklanmaktadır (Lorenzen ve Schlimme 1998). TGase kullanımı ile çapraz bağlı serum proteinlerinin kazein misellerinin yüzeyinde toplanması sonucu sütün pıhtılaştırma yeteneğinin kaybolduğu düşünülmektedir (Lorenzen 2000).

Peynir üretiminde 3 farklı enzim katım aşaması önerilmektedir (Kuraishi vd. 2001) :

1 - Süte TGase ilavesi, pastörizasyon ve enzim inaktivasyonu, maya ilavesi

2 - Süte maya ilavesi ve ardından enzimin eklenmesi

3 –Maya ile aynı ve a süte enzimin ilavesi

Bir başka çalışmada üretimde enzim kullanımının verimliliğini artırdığı ileri sürülmektedir. TGase ilavesi ile su bağlama kapasitesinde elde edilen artışın, olgunlaşmamış taze peynirler avantaj sağladı düşünülmektedir. TGase enzimi ilavesiyle proses peynir üretiminde ısı stabilitesinde gelişme sağlanacağı bildirilmektedir (Kuraishi vd. 2001).

Dondurulmuş sütlü tatlılarda enzim kullanımının kalitenin gelişimi üzerine etkisinin araştırıldığı çeşitli denemeler yapılmıştır. Enzim katkılı dondurmada, özellikle buzlu yapı kusurunun görülebildiği düşük kalorili dondurmalarda, daha pürüzsüz bir yapı elde edildiği ve dondurmanın kaşıkla alınabilmesinin daha kolay olduğu bildirilmektedir. Bu durumun, daha sıkı ve stabil bir yapı içinde buz kristallerinin oluşumunun engellenmesiyle açıklanmaktadır. TGase enzimin serum ayrılmasını önleme, su bağlama kapasitesi ve viskozitede artış, buz kristallerinin oluşumunun önlenmesi gibi etkilerine bağlı olarak satabilizatör kullanımının yerine geçebileceği bildirilmektedir (Kuraishi vd. 2001).

Süt proteinlerinin enzimatik çapraz bağlanması izopeptit bağların oluşmasına yol açmasından dolayı yalnızca teknolojik açıdan değil aynı zamanda beslenme açısından da merak uyandırmaktadır. MTGase proteinler arasında aminoasitler ve peptitlerin kovalent bağlarla birleştirme yeteneğindedir. Bu reaksiyonun gıda proteinlerinin besleyici değerini geliştirdiği bildirilmektedir (Motoki ve Seguro 1998).

TGase esansiyel amino asitlerce fakir olan proteinlerin yapısına bu amino asitleri çapraz bağlanma ile yerleştirebilmektedir. Metionin ve lizin gibi esansiyel amino asitler başarılı bir şekilde  $\beta$ -kazein zincirine isopeptit bağıyla bağlanmışlardır. Bu işlemle proteinlerin biyolojik değerinde artış sağlanabilmektedir. Oluşan  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamin)lizin özellikle gastrointestinal enzimler tarafından sindirilmeye karşı dirençlidir (Yıldırım vd. 1996).

TGase ile gıda proteinlerinin modifikasyonu gıda proteinlerindeki lizin çeşitli kimyasal reaksiyonlardan korunmasına, lipitlerin ve/veya yağda eriyen maddelerin enkapsülasyonuna ve ısı ve suya dayanıklı filmlerin oluşmasına yardım eder, elastikiyeti ve su bağlama kapasitesini geliştirir, fonksiyonel nitelikleri modifiye eder ve esansiyel amino asitleri içeren proteinlerin çapraz bağlanma vasıtasıyla daha yüksek besleyici değere sahip gıda proteinleri oluşturur (Özrenk 2006). TGase enziminin bilimsel uzmanlar komitesi tarafından kullanımının güvenli olduğu bildirilmektedir (Kuraishi vd. 2001).

### **3 . MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

Araştırmada hammadde olarak; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Eğitim-Araştırma ve Uygulama İşletmesi'ne gelen inek sütleri kullanılmış ve deneme örneklerinin üretimi burada gerçekleştirilmiştir. Araştırmada gerçekleştirilen üretimlerde starter kültür olarak Danisco firmasına ait “Bulk Set 502” kodlu yoğurt kültürü kullanılmıştır. Çalışmaya konu olan transglutaminaz enzimi (ACTIVA™ MP) üretici firması Ajinomoto (Ajinomoto Europe Sales, Hamburg,Germany)'dan temin edilmiştir. Araştırmanın ikinci aşamasında 3 nolu örneğin elde edilmesinde Danisco firmasına ait “Bulk Set 621 ” kodlu eksopolisakkarit üreten starter kültür ve 4 nolu örnek bileşiminde ise stabilizatör olarak karboksimetil selüloz (CMC, % 0,05) kullanılmıştır.

#### **3.2 Yöntem**

##### **3.2.1 Üretim Yöntemi**

Araştırma 2 aşamadan oluşmuştur. Birinci aşamada Şekil 3.1 ve Şekil 3.2'de gösterildiği gibi geleneksel yöntem ve sütü sulandırarak olmak üzere 2 farklı yöntemle ayran üretimi gerçekleştirilmiş ve her 2 yöntemde de TGase enziminin süte farklı aşamalarda (starter kültür ile birlikte ve pastörizasyondan sonra) katımı ve sütte 2 farklı inkübasyon süresi (50 °C'de 1 saat ve 50 °C'de 10 dakika) denenmiştir. Bu aşamada her 2 yöntemde de biri kontrol olmak üzere 4'er ayran örneği elde edilmiştir. Şekil 3.1 ve 3.2'de örneklerin üretiminde izlenen ayran üretim yönteminin farklı olması dışında örneklere TGase enziminin katım aşaması ve enzimle muamele sürelerinin aynı olduğu görülmektedir.

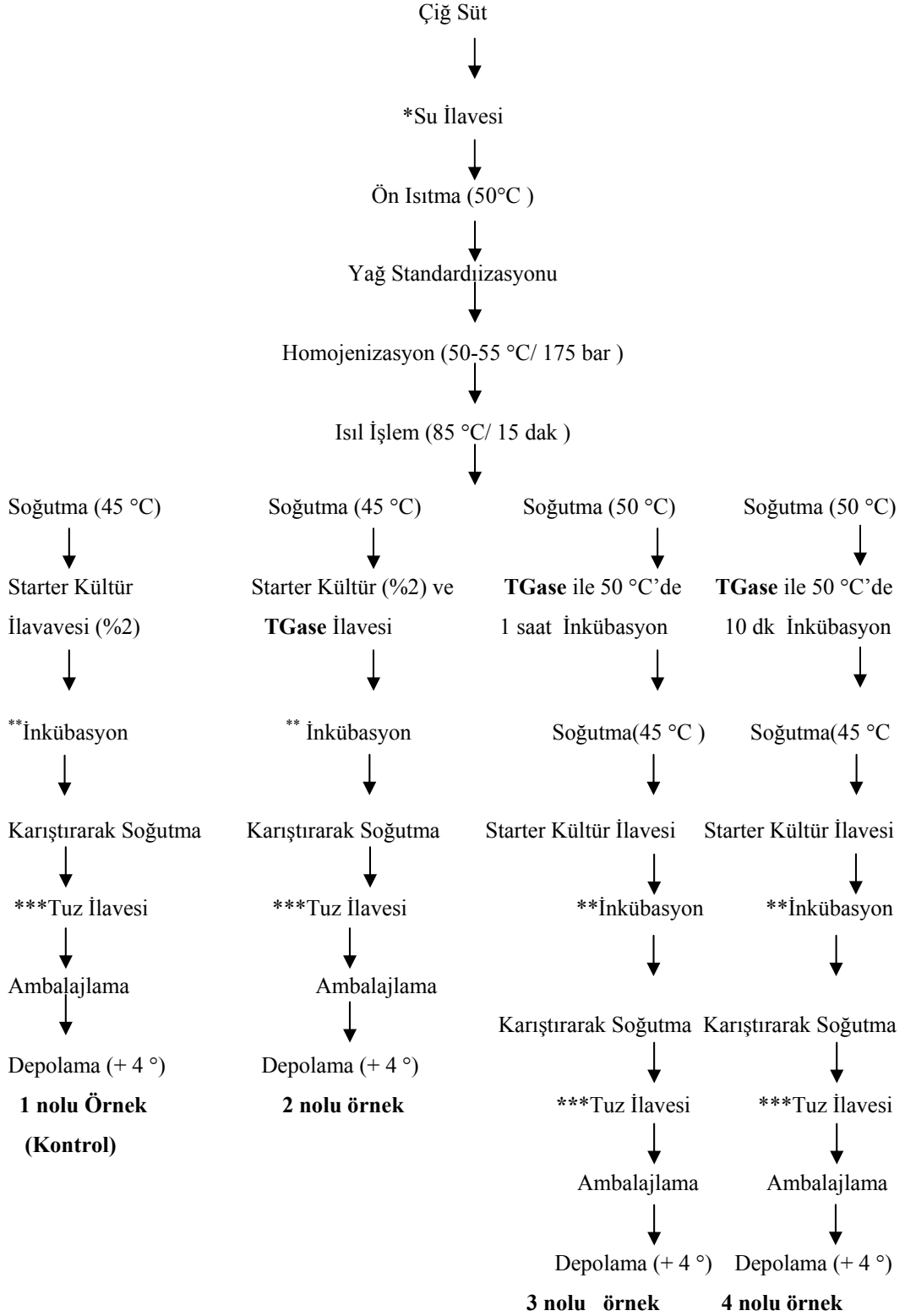
- 1 nolu örnek : Kontrol (TGase katkısız)
- 2 nolu örnek : TGase ilavesi ve starter kültür katımı aynı ve yapılmıştır.
- 3 nolu örnek : Pastörizasyon işleminin ardından süte 50 °C'de TGase ile 1 saat inkübasyon işlemi uygulanmıştır.
- 4 nolu örnek : Pastörizasyon işleminin ardından süte 50 °C de TGase ile 10 dakika inkübasyon işlemi uygulanmıştır.



\* 43-45 °C'de 4.6 pH'ya kadar

\*\* Su ilavesi yağsız kurumadde en az % 6 ve tuz en çok % 1 olacak şekilde yapılmıştır.

Şekil 3.1 Geleneksel yöntemle ayran üretim şeması



\* Yağsız kurumadde en az % 6 olacak şekilde yapılmıştır.

\*\* 43-45 °C'de 4.6 pH'ya kadar

\*\*\* En çok % 1

Şekil 3.2 Sütü sulandırarak ayran üretim şeması

Araştırmanın ikinci aşamasında; ayran üretiminde TGase enzimi kullanımı, ekzopolisakkarit üreten starter kültür kullanımı ve stabilizatör kullanımı karşılaştırılmıştır. Bu denemede 1'i kontrol olmak üzere toplam 4 farklı yoğurt örneği elde edilmiştir (Şekil 3.3).

1 nolu örnek : Kontrol örneği (Katkısız)

2 nolu örnek : Pastörizasyon işleminin ardından 50 °C'de TGase ile 1 saat inkübasyon işlemi uygulanan sütten elde edilmiştir.

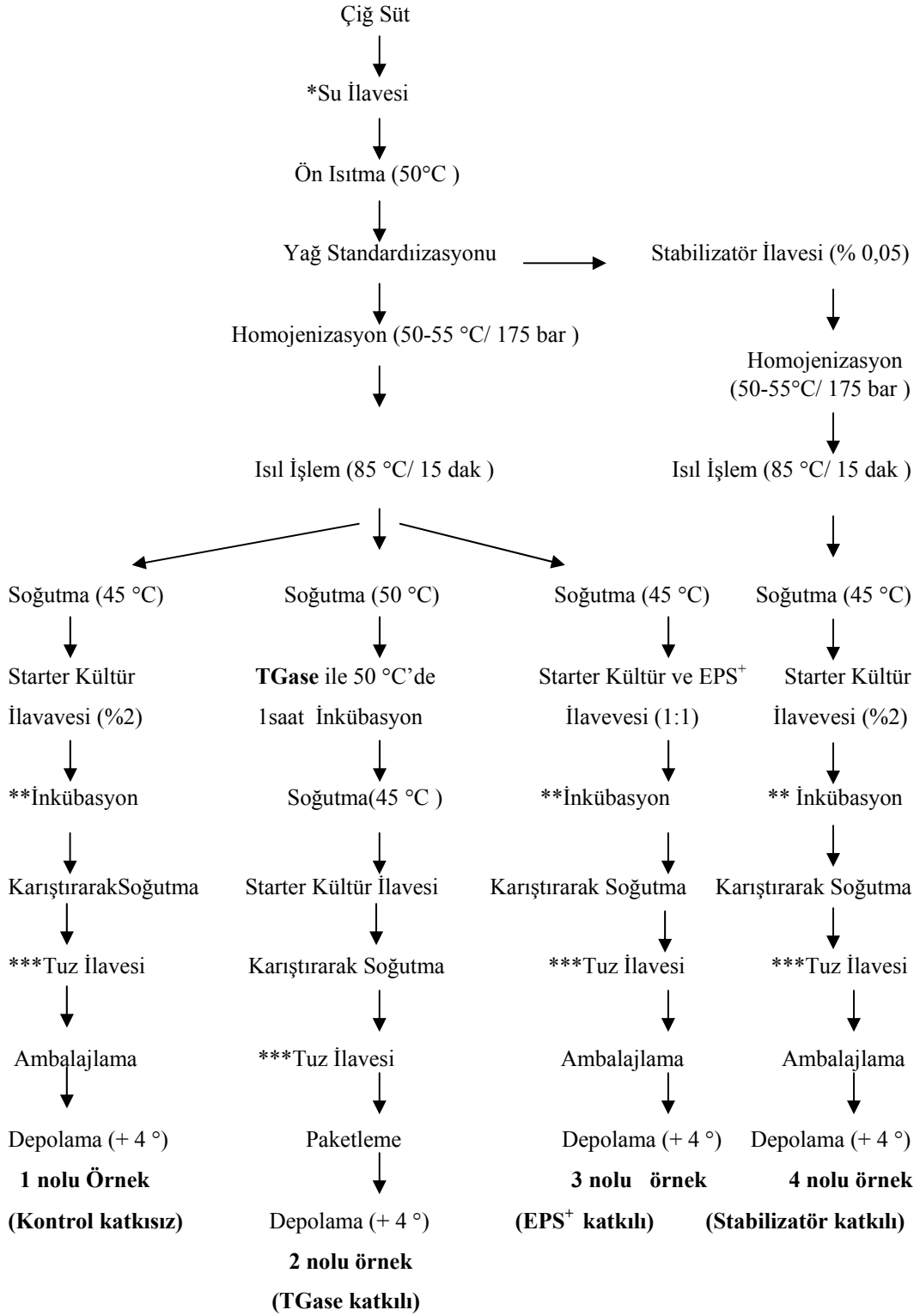
3 nolu örnek : İnokülasyon aşamasında starter kültür ile birlikte 1:1 oranında ekzopolisakkarit (EPS) üreten kültür kullanılarak elde edilmiştir.

4 nolu örnek : Homojenizasyon işlemi öncesinde % 0,05 stabilizatör ilave edilerek elde edilmiştir.

Araştırmanın birinci aşamasında elde edilen sonuçlara göre; sütü sulandırarak gerçekleştirilen ayran üretiminde transglutaminaz enzimi katkılı 2, 3 ve 4 nolu örnekler arasında 3 nolu örnekte gerçekleştirilen muamelenin genelde en iyi niteliklere sahip ürün elde edilmesini sağladığı görülmüş; ikinci aşamanın üretim yöntemi ve TGase enzimi ilaveli örneği bu şekilde belirlenmiştir.

Denemeler 3 tekerürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen deneme örnekleri + 4 °C'de 20 gün süreyle depolanmışlar ve depolanmanın 1, 10 ve 20. günlerinde kimyasal, reolojik ve duyuşal açıdan incelemeleri yapılmıştır. Ayrıca; deneme örneklerinin mikrostrüktürel yapıları incelenmiş ve elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. Denemede elde edilen ayran örneklerinin yağ, kurumadde ve tuz içerikleri TS 3810 Ayran Standardı (Anonim 2003) ve Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği (Anonim 2009) esas alınarak belirlenmiştir.

Araştırmada TGase enzimi katkılı örneklerde kullanılan enzim miktarı 1 Unit TGase/g süt proteindir. Bu oran; süt proteinin her 1 gramına karşılık enzimin 1 unite katılacağını ifade etmektedir. Bu miktar üretici firma tarafından tavsiye edilen düzeyler arasından ön denemelerde kullanarak uygun bulduğumuz orveir. TGase Activa MP ticari preparasyon 100 Unit/g preparasyon aktiviteye sahiptir.



\* Yağsız kurumadde en az % 6 olacak şekilde yapılmıştır.

\*\* 43-45 °C'de 4.6 pH'ya kadar

\*\*\* En çok % 1

Şekil 3.3 İkinci aşama ayran üretim şeması

## 3.2.2 Uygulanan analizler

### 3.2.2.1 Hammadde süt analizleri

Titrasyon asitliği ( $^{\circ}\text{SH}$ ), yağ iğeriği (%) ve kurumadde iğeriği (%) TS 1018 (Anonim 2002) ęię süt standardında bildirildiği Şekilde belirlenmiştir. pH değeri ‘‘Orion 420’’ marka dijital pH metre ile belirlenmiştir. Toplam protein iğeriği (%) mikro-kjeldahl düzeneğinden yararlanılarak Anonymous 1993’de bildirildiği gibi saptanmıştır.

### 3.2.2.2 Ayran analizleri

Kuru madde ve titre edilebilir asitlik tayini TS 1018 (Anonim 2002), yağ tayini TS 8189 (Anonim 1990), tuz tayini TS 3043 (Anonim1978)’de bildirildiği Şekilde belirlenmiştir. Laktik asit tayini Steinsholt ve Calbert (1996) tarafından bildirilen yöntemle, tirozin değeri ise Hull vd. (1947) tarafından bildirilen ve Tunail (1978) tarafından modifiye edilen yönteme göre spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. pH değeri birleŐik elektrotlu dijital pH-metre (Orion 420) ile belirlenirken, toplam protein iğeriği mikro-kjeldahl düzeneğinden yararlanılarak Anonymous 1993’de önerilen yönteme göre tespit edilmiştir. Viskozite değeri Haake-Vizkosimeters 181/VTR 24 marka vizkozimetre ile ve serum ayrılması volumetrik olarak lęm yoluyla tespit edilmiştir. Serum ayrılmasının belirlenmesi için Atamer ve Sezgin (1986) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Örnekler 100 ml’lik mezürlere konularak +4  $^{\circ}\text{C}$ ’de 20 gün süreyle depolanmışlar ve depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde ayrılan serum miktarı ml olarak belirlenmiştir. Sonuçlar yüzde olarak verilmiştir.

Duyusal değerlendirmede Bodyfelt (1988) tarafından verilen değerlendirme kartı modifiye edilerek kullanılmıştır. Ayran rnekleri 10 panelist tarafından tat-aroma, kıvam ve genel özellikler açısından Ek 14’te verilen ęizelgeye uygun olarak 10 puan üzerinden deęerlendirilmiŐtir.

Karbonil bileşiklerinin (asetaldehit, aseton, bütanon, diasetil) tespiti Ulbert (1991) tarafından bildirilen headspace metodu ile Agilent marka “GC System 6890 Series” gaz kromatografisi cihazında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla homojen hale getirilmiş örneklerden hava geçirmez headspace viallerine 5 gram tartılmış ve crimper ile ağzı kapatılmıştır. Örnekler analiz edileceği zamana kadar – 18 °C’de depolanmışlardır. Enjeksiyondan önce oda sıcaklığına getirilen vialler aroma maddelerinin uçucu hale gelmesi için 70 °C sıcaklıktaki etüvde 30 dakika süre bekletilmiştir. Ardından etüvden çıkarılan viallerin tepe boşluğundan 1000 µl gas-tight şırınga ile gaz kromatografisi cihazına enjekte edilmiştir. Analizde kullanılan gaz kromatografisi koşulları aşağıda verilmiştir.

Enjeksiyon bloğu	80 °C
Enjeksiyon hacmi	1000 µl
Kolon	HP-Innovax Polyethylene Glycol cappillary 30 m x 320 µm x 0.25 µm
Akış	0.7 ml/dakika
Sıcaklık programı	50 °C 0.5 dakika 4 °C 60 °C 0.5 dakika 4 °C 70 °C 0.5dakika 20 °C 180 °C 0.2 dakika
Dedektör	FID, sıcaklık 260 °C
H <sub>2</sub> Akış	40 ml/dakika
Hava Akış	400 ml/dakika
Make up (Azot)	30 ml/dakika

Karbonil bileşiklerinin standart eğrileri ayrı ayrı çizilmiştir. Her bileşiğin 25, 50, 75 ve 100 ppm olacak şekilde standart çözeltileri hazırlanmış ve daha sonra headspace viallere 5 gram bu çözeltilerden tartılmıştır. Ardından yukarıda belirtildiği şekilde gaz kromatografisi cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Elde edilen standart eğrisinin eğimi, örneklerin aroma maddelerinin miktarlarının hesaplanmasında katsayı olarak kullanılmıştır. Standart çözeltilere ait kromatogram Ek 1’de verilmiştir.

Ayran örneklerinin mikrostrüktürel yapıları belirlenmek üzere analize hazırlanmalarında Hayat (1981) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Ayran örnekleri 0,45 por çapına sahip hazır kapsüller içine konmuş ve bu kapsüllerin ağzı kapatılarak preparasyon şişelerine alınmıştır. Kapsüller 0,1 M sodyum fosfat tamponu ile hazırlanmış (pH:7,2) %3'lük glutaraldehit çözeltisi içinde 1 gece bekletilerek ön fiksasyonu yapılmış ve dört defa tampon çözeltisi ile yıkanmıştır. Daha sonra %1'lik osmium tetroksit içinde 1 saat post fiksasyona tabi tutulmuş ve yine tampon çözeltisi ile 4 defa yıkanmıştır. Fiksasyon işlemlerinden sonra örnekler dehidrasyona alınmıştır. Dehidrasyonda %30 – 40 – 50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100'lük alkol serileri kullanılmıştır. %100'lük alkolden 3 kez geçirildikten sonra, kapsüller açılarak etüv içinde 30 °C'de kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan örnekler, karbon kaplı bant yardımı ile staplar üzerine yapıştırılmış ardından Polaron SC 502 sputter coater aleti ile saf altınla kaplandıktan sonra Jeol JSM 6060 LV (Japonya) marka taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenerek görüntüleme yapılmıştır.

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Düzgüneş vd. (1987) tarafından bildirilen “Varyans Analizi Yöntemi” kullanılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri Minitab 13.1 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Üç tekerrürlü olarak yürütülen çalışmada örnekler arasındaki farklılıklar tek yönlü varyans analizi (ANNOVA) ile belirlenmiştir. İstatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenen farklılıklar ( $P<0.05$ ) ise Tukey testi ile saptanmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Birinci Aşama Araştırma Bulguları

#### 4.1.1 Geleneksel yöntemle ayran üretimi araştırma bulguları

##### 4.1.1.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar

Geleneksel yöntemle ayran üretiminde kullanılan çiğ süte ait bazı kimyasal özellikler Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri (n=3)

<b>pH değeri</b>	6,7±0,034
<b>Titrasyon asitliği, °SH</b>	8,3±0,635
<b>Toplam kurumadde, %</b>	12,36±0,046
<b>Toplam protein, %</b>	3,58±0,034
<b>Yağ, %</b>	3,6±0,000

Çiğ sütün analiz edilen kimyasal niteliklerine göre ayran üretiminde kullanımı için uygun olduğu belirlenmiştir.

##### 4.1.1.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerine ait sonuçlar

###### Genel özellikler

Geleneksel yöntemle üretilmiş ayran örneklerine ait bazı kimyasal özellikler Çizelge 4.2’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir. TS 3810 Ayran Standardı’na (Anonim 2003) göre tam yağlı ayran örneklerinin yağ oranı en az % 1,5 olacak şekilde hammadde çiğ süt standardize edilmiştir. Yine; örneklerin kurumadde ve tuz içerikleri de standarda uygunluk göstermektedir.

Çizelge 4.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler (n=3)

Örnek	Toplam Kurumadde (%)	Toplam protein (%)	Yağ (%)	Tuz (%)
1	8,29±0,344	2,29±0,162	1,9±0,346	0,62±0,055
2	8,23±0,306	2,38±0,017	1,9±0,346	0,95±0,020
3	8,14±0,255	2,35±0,047	1,9±0,346	0,87±0,106
4	8,15±0,267	2,36±0,028	1,9±0,346	0,87±0,136

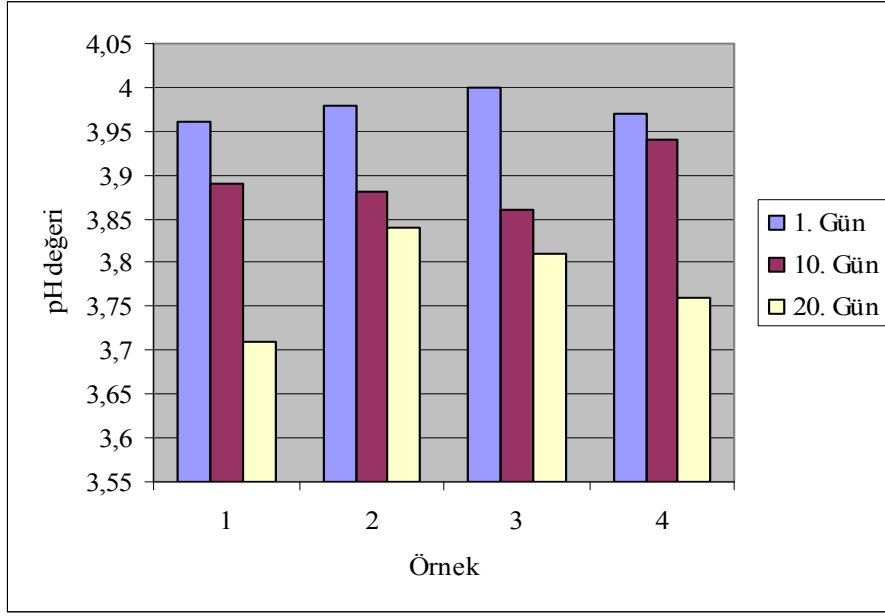
### pH değeri

Ayran örneklerinin pH değerlerine ait veriler Çizelge 4.3’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.3 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin pH değerleri (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	3,96±0,055	3,89±0,097	3,71±0,020
2	3,98±0,037	3,88±0,0451	3,84±0,115
3	4,00±0,010	3,86±0,045	3,81±0,050
4	3,97±0,062	3,94±0,115	3,76±0,092

Ayran örneklerinin pH değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). TGase enzimi ilaveli 2, 3 ve 4 nolu örneklerde tespit edilen pH değerleri arasında 1 nolu kontrol örneğine göre önemli bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Aynı şekilde enzim ilavesinin katım aşaması ve enzimle inkübasyon süresinin de pH değerini önemli orvea etkilemediği belirlenmiştir. Ayrıca, tüm örneklerde depolama sürecinde pH değerlerinde azalma yani; asitlikte artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.1). Bu artış yoğurt starter kültüründe yer alan mikroorganizma faaliyetinin doğal bir sonucudur.



Şekil 4.1 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim

### Titrasyon asitliği

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait veriler Çizelge 4.4'te standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.4 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların titrasyon asitliği ( $^{\circ}\text{SH}$ )değerleri (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	32,12 $\pm$ 0,340 <sup>a*</sup>	34,99 $\pm$ 1,910	35,31 $\pm$ 2,280
2	30,39 $\pm$ 0,318 <sup>b*</sup>	32,97 $\pm$ 2,350	34,19 $\pm$ 1,561
3	29,39 $\pm$ 0,573 <sup>c*</sup>	32,52 $\pm$ 2,120	33,49 $\pm$ 2,220
4	30,86 $\pm$ 0,641 <sup>b*</sup>	33,79 $\pm$ 1,437	35,43 $\pm$ 1,302

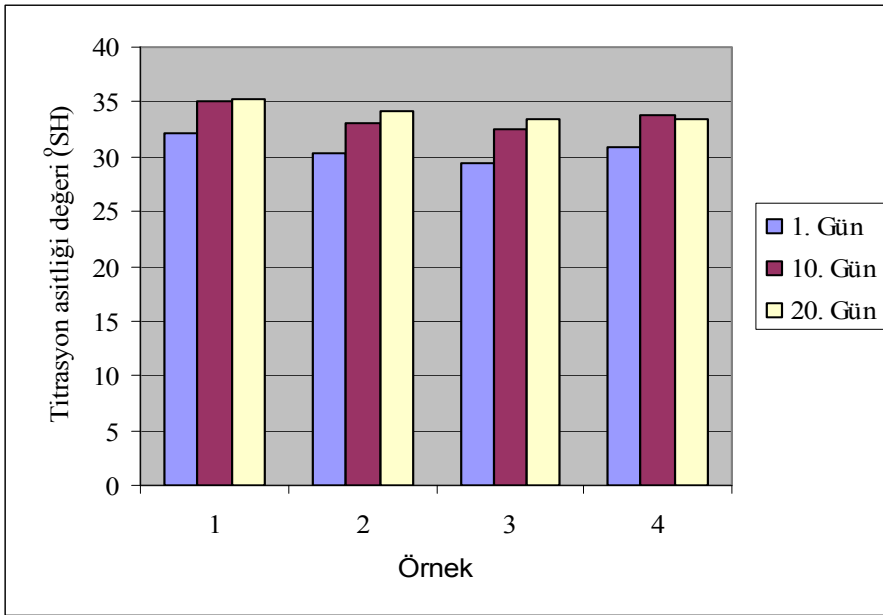
\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir. a b c aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ), depolamanın 10 ve 20. günlerinde önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Ancak; 1. gününde örnekler arasında istatistiksel açıdan

önemli olduğu belirlenen farkın enzim ilavesi ile ilişkilendirilmemektedir. Çizelge 4.4'te de görüldüğü gibi değerler birbirine yakındır. TGase enzimi ilavesinin ayran örneklerinde titrasyon asitliği yönünden kontrol örneğine göre önemli bir farklılık yaratmadığı belirlenmiştir. Aynı şekilde; enzim ilavesinin katım aşaması ve enzimle inkübasyon süresinin pH değerinde de tespit edildiği gibi önemli bir etki yaratmadığı bulunmuştur.

Benzer şekilde, Lorenzen ve Schlimme (1998) yoğurt örneklerinde transglutaminaz enzimi ilavesinin titrasyon asitliği değerinde 14 günlük depolama sürecinde enzim ilave edilmeyen örneklere göre farklılık yaratmadığını bildirmektedirler. Yüksel (2007) çalışmasında yağlı yoğurt örneklerinde enzim ilavesinin titrasyon asitliği değerini önemli düzeyde etkilemediğini tespit etmiştir.

Ayran örneklerinde depolama sürecinde titrasyon asitliği değerlerinde artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim

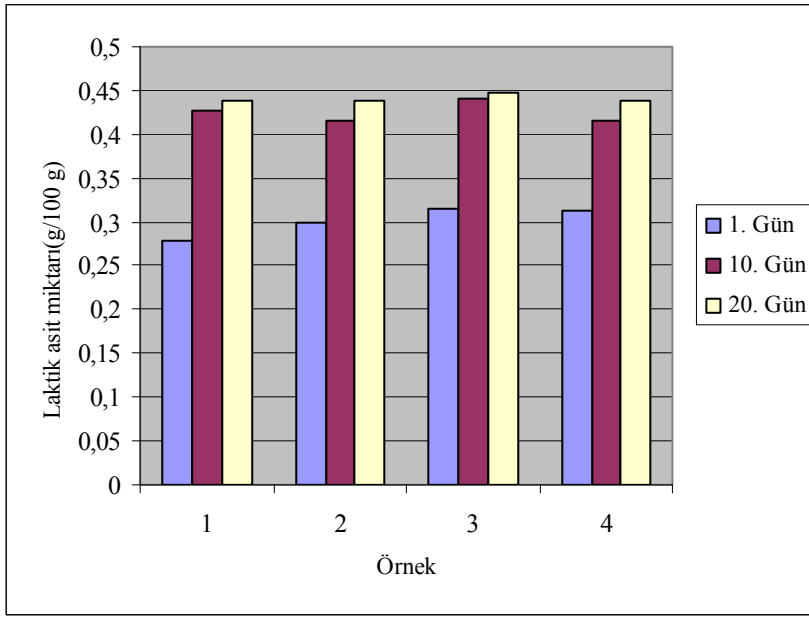
## Laktik asit içeriği

Laktik asit bakterileri tarafından laktozun fermentasyonu sonucu oluşan laktik asit yoğurtların tipik tat gelişiminde etkilidir (Tamime ve Robinson 1985). Ayran örneklerinin laktik asit değerlerine ait veriler izelge 4.5’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.5 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların laktik asit değerleri (g/100g)  
(n=3)

rnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	0,279±0,078	0,426±0,060	0,439±0,016
2	0,299±0,070	0,416±0,054	0,439±0,014
3	0,314±0,059	0,441±0,053	0,448±0,001
4	0,312±0,059	0,416±0,006	0,438±0,008

Ayran rneklerinin laktik asit içerikleri ile ilgili tespit edilen değerler arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Ayran rnekleri arasında saf laktik asit değerleri bakımından pH ve titrasyon asitliği değerleri ile benzer olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca; örneklerin tümünde depolama sürecinde laktik asit içeriklerinde artış olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.3).



Şekil 4.3 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerlerindeki değişim

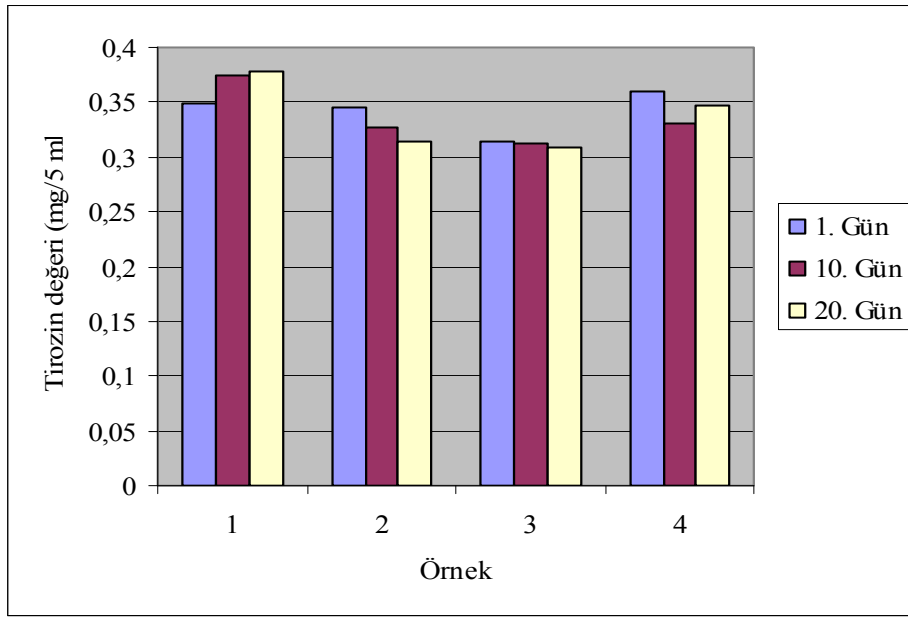
### Tirozin değeri

Yoğurt bakterilerinin proteolitik aktivitesi sonucunda birçok amino asit ve peptitlerin ortaya çıktığı bilinmektedir (Tamime ve Robinson 1999). Proteoliz sonucunda ortaya çıkan amino asit birikimi tirozin eşdeğeri olarak tanımlanmaktadır (Atamer vd. 1993). Yoğurt örneklerinin tirozin değerlerine ait veriler Çizelge 4.6'da standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.6 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların tirozin değerleri (mg/5 ml) (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	0,349±0,028	0,375±0,047	0,378±0,083
2	0,345±0,016	0,327±0,036	0,315±0,005
3	0,315±0,024	0,312±0,026	0,309±0,035
4	0,360±0,02	0,330±0,020	0,347±0,023

Ayran örneklerinin tirozin değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Bununla birlikte; depolamanın 10 ve 20. günlerinde 1 nolu kontrol örneğinde belirlenen değer enzim katkılı diğer örneklerden yüksek olduğu dikkati çekmektedir. TGase enzimi katkılı örneklerde enzimin süt proteinleri ile çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak proteoliz düzeyinde azalmaya neden olduğu ve bunun sonucunda da enzim katkılı örneklerde tirozin değerinin daha düşük düzeyde belirlendiği düşünülmektedir.



Şekil 4.4 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim

### Viskozite değeri

Ayran örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 4.7'de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.7 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların viskozite değerleri (cp) (n=3)

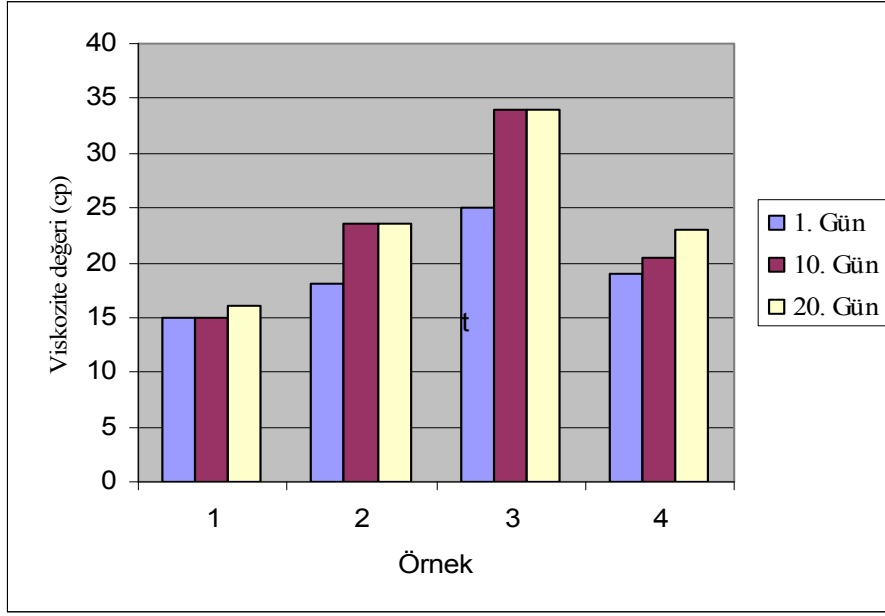
	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	15±0,000 <sup>a*</sup>	15±0,000 <sup>a*</sup>	16±1,730 <sup>a*</sup>
2	18±0,000 <sup>a*</sup>	23,5±0,866 <sup>b*</sup>	23,5±3,120 <sup>b*</sup>
3	25±4,580 <sup>b*</sup>	34±1,730 <sup>c*</sup>	34±2,290 <sup>c*</sup>
4	19±1,730 <sup>a*</sup>	20,5±0,866 <sup>d*</sup>	23±2,290 <sup>b*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b c aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir

Ayran örneklerinin viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05). Çizelge 4.7'deki veriler incelendiğinde pastörizasyonun ardından enzim ilave edilen 2, 3 ve 4 nolu örneklerde viskozite değerlerinin kontrol örneğinden önemli düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir. Şekil 4.5'de de görüldüğü gibi depolama sürecinde enzim ilaveli örneklerin viskozite değerlerinde önemli düzeyde artış tespit edilmiştir. Enzim ilaveli örnekler arasında ise enzimle 1 saat inkübasyona bırakılan süttten üretilen ayran örneğinin en yüksek viskoziteye sahip olduğu bulunmuştur.

Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, ayran üretiminde ısıl işlemin ardından transglutaminaz enzimi ilavesi ve enzimle süttün daha uzun inkübasyonunun ürünün viskozitesini önemli orvea arttırdığı tespit edilmiştir.

Benzer şekilde; Kırmacı vd. (2004) ve Özer vd. (2007) yaptıkları çalışmalarda ısıl işleminin ardından transglutaminaz ile muamele edilen süttten elde ettikleri yoğurt örneklerinde viskozitenin kontrol örneğine göre (enzim katkısız) istatistiksel açıdan önemli sayılacak orvea yüksek olduğunu belirlemişlerdir.



Şekil 4.5 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim

### Serum ayrılması

Çizelge 4.8’de ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri standart hataları ile birlikte verilmiştir

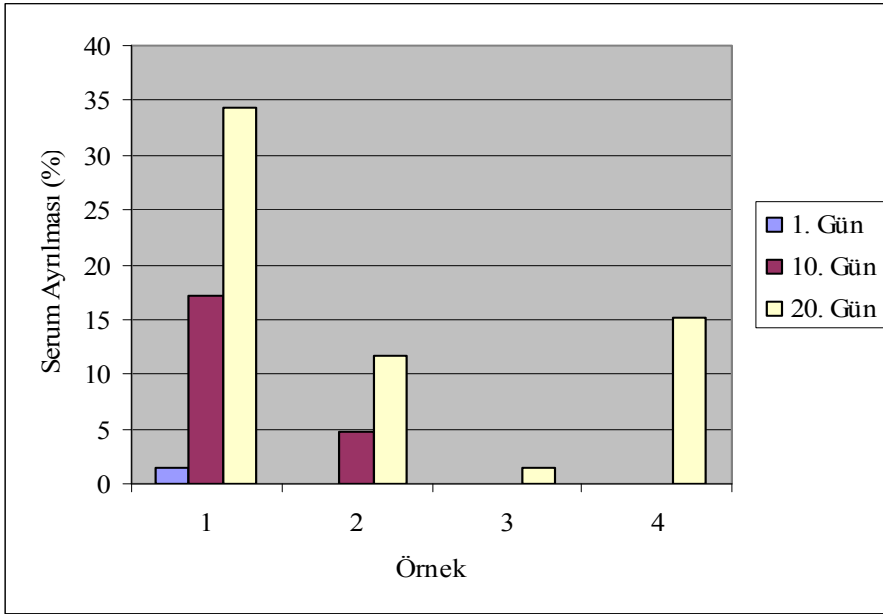
Çizelge 4.8 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların serum ayrılması değerleri (%) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
<b>1</b>	1,5±0,500 <sup>a*</sup>	17,25±1,750 <sup>a*</sup>	34,25±0,250 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	0±0,000 <sup>b*</sup>	4,75±0,250 <sup>b*</sup>	11,75±1,250 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	0±0,000 <sup>b*</sup>	0±0,000 <sup>c*</sup>	1,5±0,500 <sup>c*</sup>
<b>4</b>	0±0,000 <sup>b*</sup>	1,75±0,250 <sup>d*</sup>	15,25±0,75 <sup>d*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir. a b c aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir

Ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05). Çizelge 4.8’de de görüldüğü gibi depolamanın 1. gününde kontrol örneğinde serum ayrılması gözlenirken, enzim ilaveli 2, 3 ve 4 nolu

örneklerde serum ayrılması belirlenmemiştir. Depolamanın 10. gününde ise pastörizasyon işleminin ardından enzim ile inkübasyona bırakılan süttten üretilen 3 ve 4 nolu ayran örneklerinde yine serum ayrılması görülmemiş ve starter kültürle enzim ilavesinin aynı ve katıldığı ayran örneğinde belirlenen değerin de kontrol örneğinden önemli orvea düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca; 20. günde en az serum ayrılması pastörizasyon işleminin ardından enzim ile 1 saat inkübasyona bırakılan süttten üretilen 3 nolu ayran örneğinde tespit edilmiştir (Şekil 4.6).



Şekil 4.6 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim

Süt proteinlerinden kazeinlerin sahip olduğu primer yapılarından dolayı transglutaminaz enzimi için çok uygun substrat oldukları bildirilmektedir (Faergemve vd. 1999a, Dickinson ve Yamamoto 1996, Imm ve Lee 2000, Lauber vd. 2000, Lorenzen 2000, Kuraishi vd. 2001). Buna karşın; süt proteinlerinin önemli bir kısmını oluşturan serum proteinlerinin ikincil ve üçüncül yapılarından dolayı enzim reaksiyonuna karşı dayanıklı oldukları, ancak; ısı ile denatürasyonları sonucu enzimin serum proteinleri üzerindeki etkinliğinin arttığı bilinmektedir (Lorenzen 2000, O'Sullivan vd. 2001). Pastörizasyon işlemi ardından enzimle muamelenin serum ayrılmasında meydana getirdiği dikkate değer azalma bu şekilde açıklanabilmektedir.

Benzer şekilde, Kırmacı vd. (2004), Lorenzen vd. (2002), Farnsworth ve Guo (2003), Özer vd. (2007) ve Gauche vd. (2009) yaptıkları çalışmalarda TGase enzimi ilavesinin yoğurtlarda serum ayrılmasında azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Serum ayrılmasındaki azalmanın nedeninin enzimin katalize ettiği süt proteinlerinin çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak jel geçirgenliğindeki azalma olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde; literatürlerde protein zincirlerindeki çapraz bağlanmanın yoğurt jelinin üç boyutlu ağ yapısını stabilize ettiği ve jeldeki gözenekliliğin azalmasının bir sonucu olarak da serum ayrılmasında azalma sağladığı bildirilmektedir (Lorenzen vd. 2002, Gauche vd. 2009 ).

Ürün mikrostrüktürünün daha sıkı ve stabil olmasına neden olan jel geçirgenliğindeki azalma sonucunda da daha fazla serbest suyun jelde tutulacağı bildirilmektedir (Özer vd. 2007). Ayrıca; TGase enzimin süt proteinlerinin su bağlama kapasitesini arttırdığı bilinmektedir (Motoki ve Seguro 1998).

### **Duyusal değerlendirme**

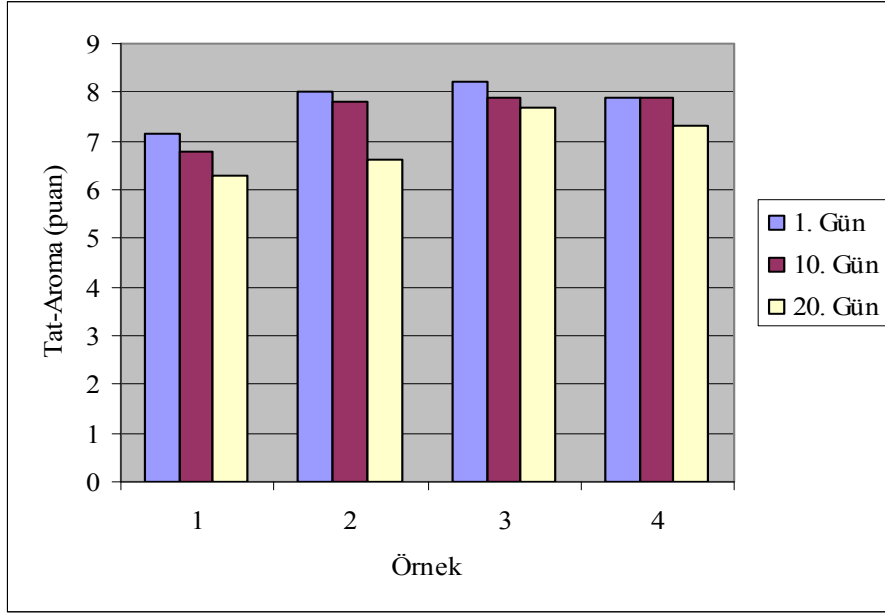
Çizelge 4.9'da ayran örneklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.9 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların duyuşal değerlendirme sonuçları (n=3)

Örnek	Depolama Süresi	Tat-Aroma	Kıvam	Genel
1	1. gün	7,16	6,4	6,9
	10. gün	6,8	6,1	6,4
	20. gün	6,3	6,2	6,2
2	1. gün	8,03	7,6	7,6
	10. gün	7,8	7,7	8,0
	20. gün	6,6	7,3	7,1
3	1. gün	8,2	8,4	9,3
	10. gün	7,9	8,2	8,2
	20. gün	7,7	8,6	7,9
4	1. gün	7,9	7,8	7,7
	10. gün	7,9	7,6	7,7
	20. gün	7,3	7,8	7,1

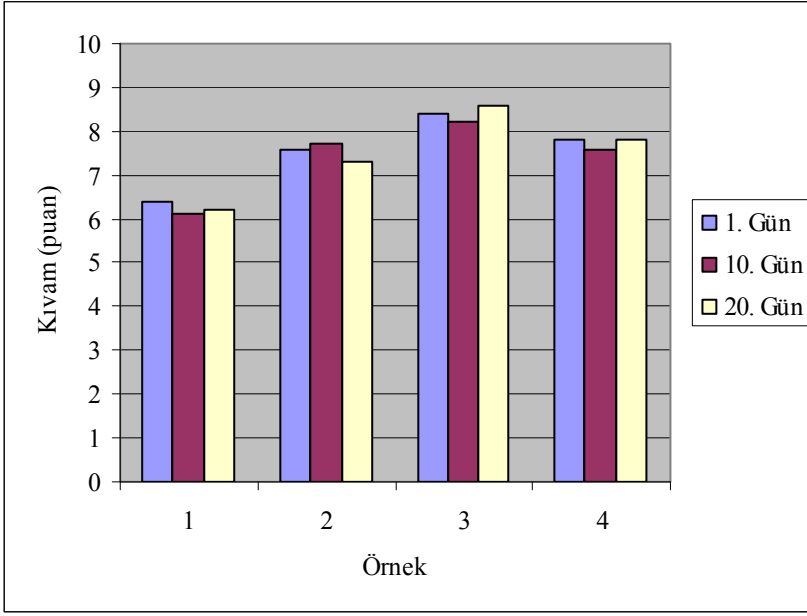
Çizelge 4.9'daki değerlere göre duyuşal açıdan enzim ilaveli örnekler arasında önemli bir farklılık olmadığı, bununla birlikte; 3 nolu örneğin tat-aroma, kıvam ve genel açıdan en fazla puanı aldığı belirlenmiştir.

Tat-aroma açısından değerlendirildiğinde; enzim ilavesinin örnekler arasında önemli bir farklılık yaratmadığı ve hatta kontrol örneğine göre enzim ilaveli örneklerin daha yüksek puan aldığı görülmektedir (Şekil 4.7).



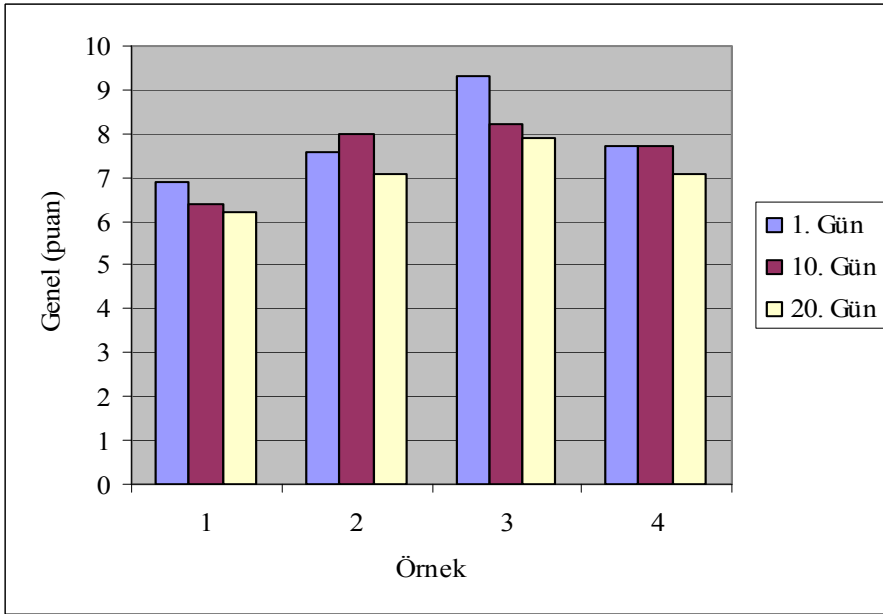
Şekil 4.7 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim

Genel olarak örneklerlere ait kıvam puanları değerlendirildiğinde viskozite değerleri ile benzer olduğu ve elde edilen sonuçların paralellik gösterdiği bulunmuştur. Viskozite değerleriyle benzer olarak pastörizasyon işleminin ardından enzim ile 1 saat inkübasyona bırakılan 3 nolu örneğin en yüksek kıvam puanına sahip olduğu ve bu durumun depolama sürecinde de değişmediği belirlenmiştir (Şekil 4.8).



Şekil 4.8 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim

Genel değerlendirmeye bakıldığında; en beğenilen örneğin enzim ilaveli 3 nolu örnek olduğu Şekil 4.9’da da görülmektedir.

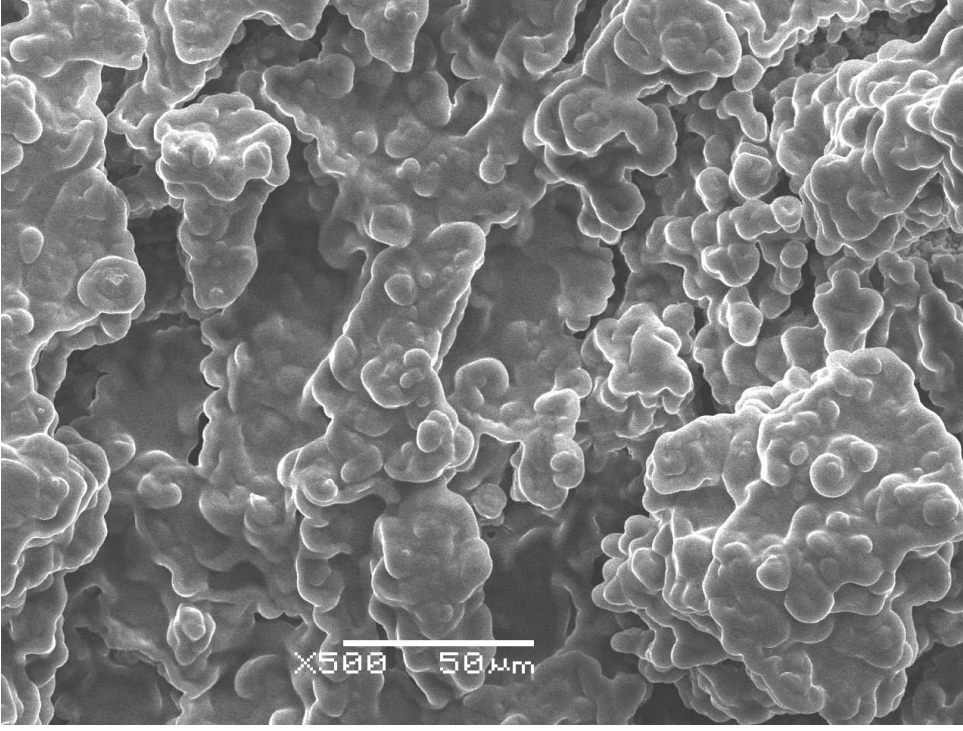


Şekil 4.9 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin genel puanlarındaki değişim

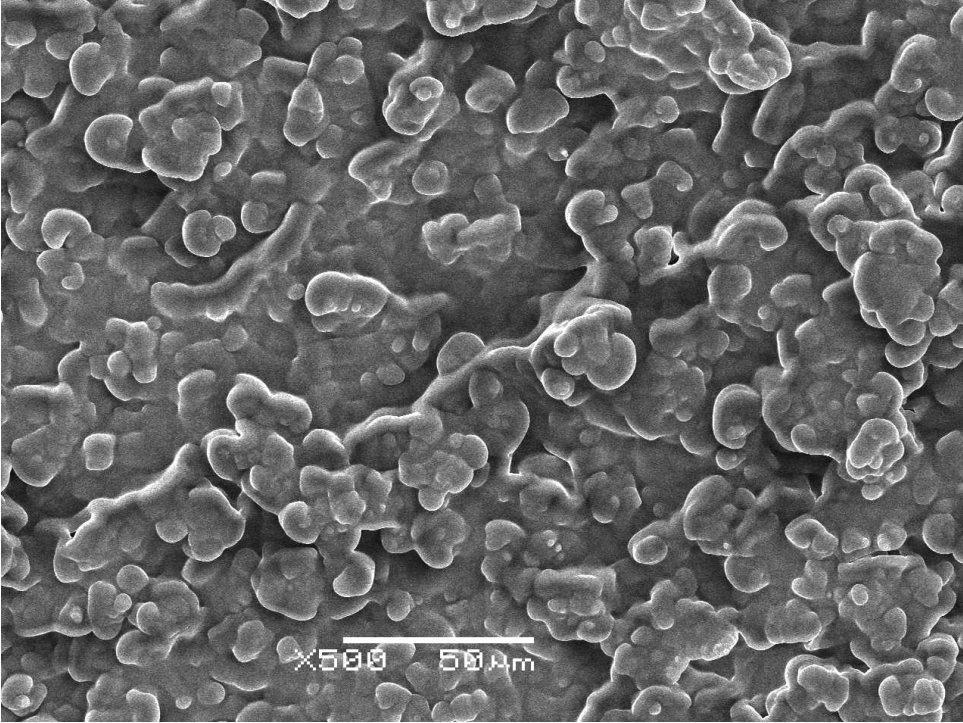
## **Mikrostrüktürel değerlendirme**

Geleneksel yöntemle elde edilen ayran örneklerinin elektron mikroskop görüntüleri Şekil 4.10-4.13'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında TGase katkılı ayran örneklerinde kontrol örneğinden farklı olarak daha yüksek jel gücüyle sonuçlanan yapı içerisinde proteinlerin daha düzenli dağıldığı ve protein networkünde porozitenin azaldığı görülmektedir. Bu durumun TGase enziminin katalize ettiği süt proteinlerinin çapraz bağlanmanın sonucunda elde edildiği düşünülmektedir. Enzim katkılı 2, 3 ve 4 nolu örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında ise; enzimle 1 saat inkübasyona bırakılan 3 nolu örnekte daha sıkı bir mikrostrüktürel yapı gözlenmiştir.

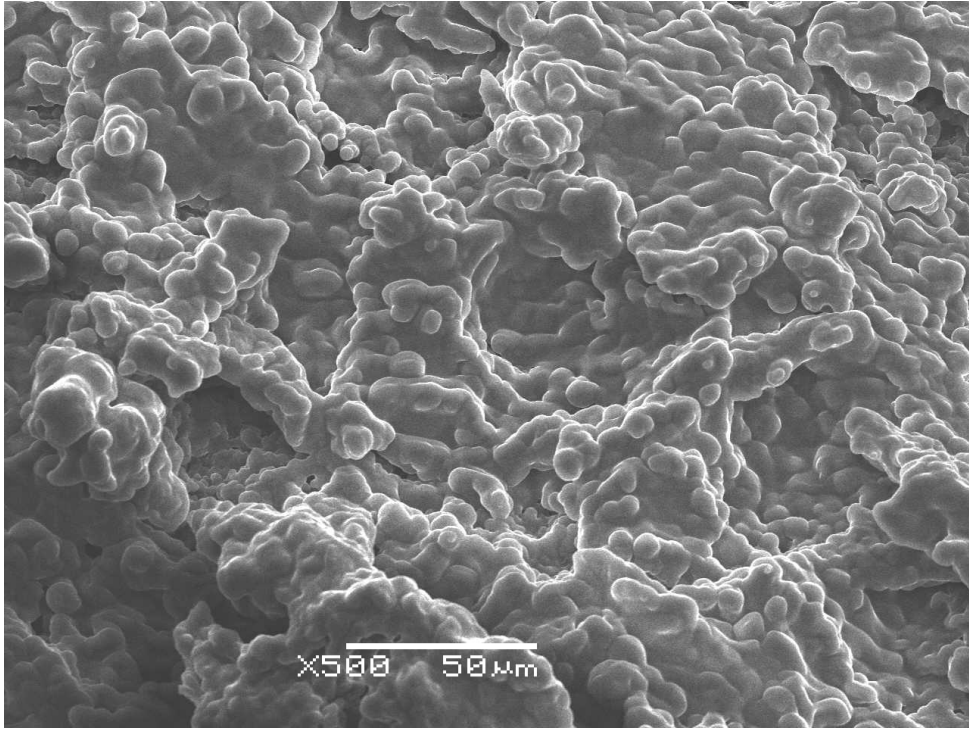
Benzer şekilde; Lorenzen vd. (2002) set tipi yoğurtlarda yaptıkları çalışmalarında, süte enzim ilavesinin protein networkünün gözenek boyutunu azattığını ve yoğurt jelinde proteinlerin daha homojen dağıldığını elektron mikroskopunda görüntülemişlerdir. Özellikle enzim aktif olduğunda yoğurtlarda enzim ilavesinin artan jel gücüyle sonuçlanması belirlenmiştir. Bir başka çalışmada Farnsworth ve Guo (2003); enzim ilaveli keçi sütünden yapılan yoğurt örneklerinde kontrol örneğine göre daha sıkı bir yapı görüntülemişlerdir.



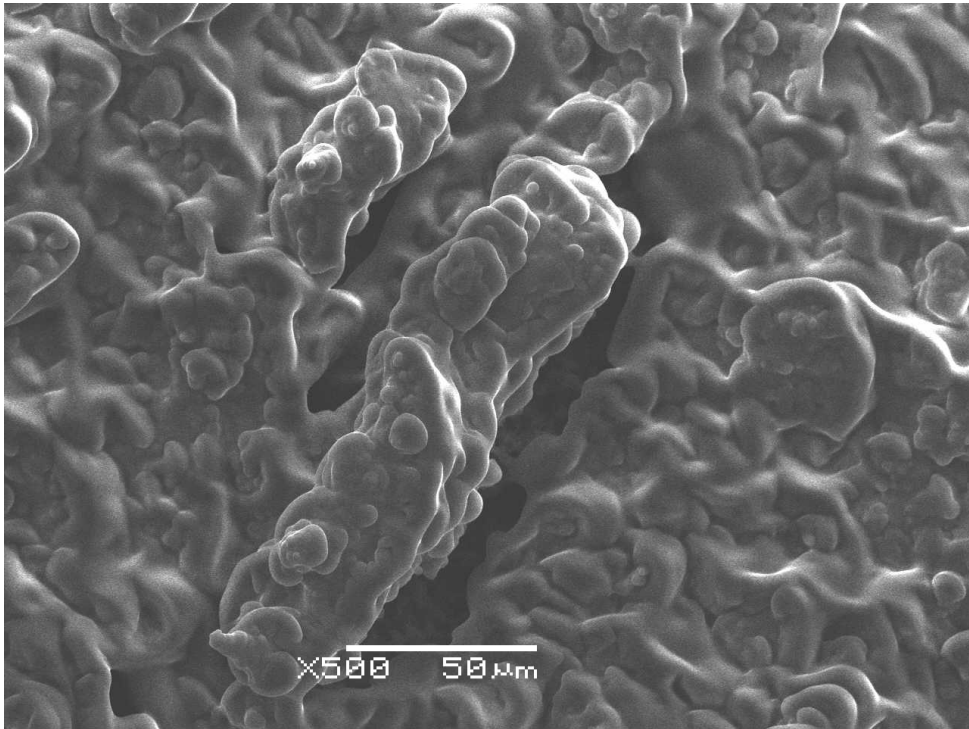
Şekil 4.10 1 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.11 2 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.12 3 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.13 4 nolu örneğe ait SEM görüntüsü

## Karbonil bileşenleri

Ayran örneklerinin temel aroma bileşenlerine ait değerler standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.10'da verilmiştir. Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinde bütanon tespit edilememiştir. Bazı örneklerin karbonil bileşenlerine ait kromatogramlar eklerde yer almaktadır.

Çizelge 4.10 Geleneksel yöntemle üretilen ayranların karbonil bileşenleri (ppm) (n=3)

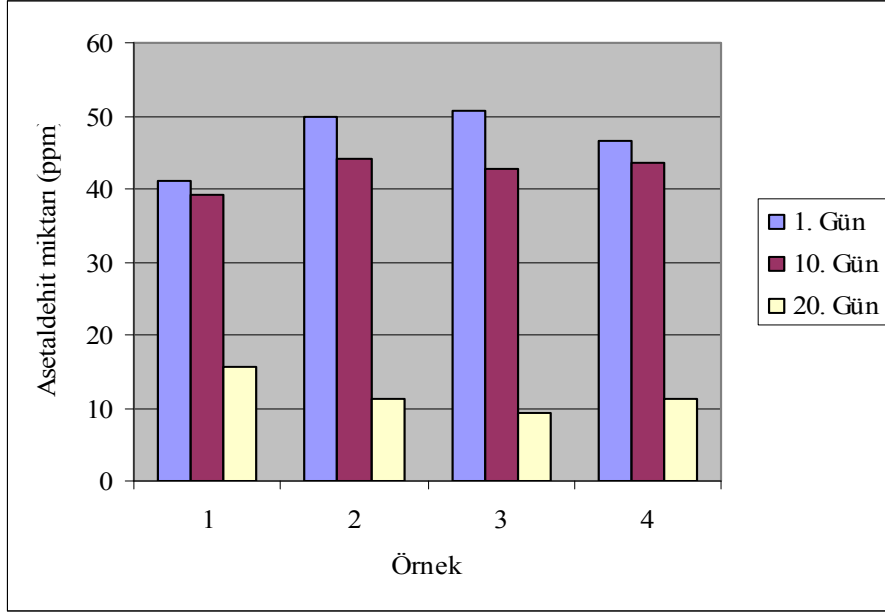
Asetaldehit	Depolama Süresi		
	1. Gün	10. Gün	20. Gün
<b>1</b>	41,20±2,750	39,14±0,830	15,51±1,105 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	49,94±7,050	44,23±5,590	11,16±1,585 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	50,75±7,630	42,73±0,954	9,44±0,095 <sup>b*</sup>
<b>4</b>	46,46±10,98	43,67±3,840	11,27±1,170 <sup>b*</sup>
<b>Aseton</b>			
<b>1</b>	3,98±0,010 <sup>a*</sup>	4,13±0,122	4,31±0,072
<b>2</b>	4,13±0,111 <sup>b*</sup>	5,01±0,815	4,99±0,734
<b>3</b>	4,35±0,141 <sup>c*</sup>	4,51±0,903	5,02±0,525
<b>4</b>	5,01±0,070 <sup>d*</sup>	4,79±0,065	5,24±0,160
<b>Diasetil</b>			
<b>1</b>	18,85±0,911	16,87±0,849	17,74±1,275 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	18,64±0,544	17,09±0,910	16,05±0,035 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	19,93±0,539	17,82±1,026	15,98±0,430 <sup>b*</sup>
<b>4</b>	18,197±0,911	18,547±1,348	17,263±0,085 <sup>a*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.

a b c d aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir

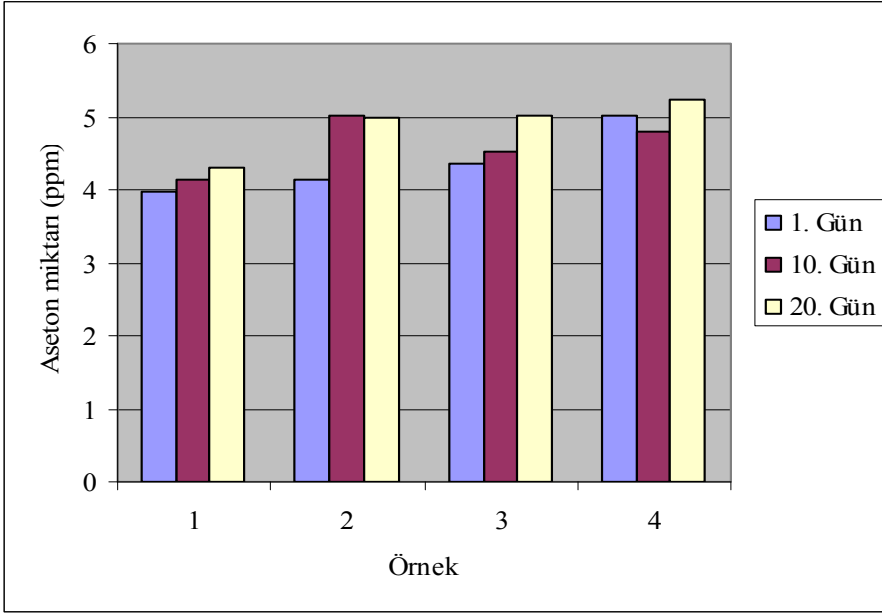
Ayran örneklerinin asetaldehit içeriğindeki farklılıklar depolamanın 1. ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemsiz (P>0.05), 20. gününde ise önemli (P<0.05) bulunmuştur. Depolamanın 20. gününde istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenen fark enzim ilavesi, enzim katım aşaması ve enzimle inkübasyon süreleri ile ilişkilendirilmemektedir. Çünkü; depolamanın 1. ve 10. günlerinde en düşük asetaldehit içeriği enzim içermeyen kontrol örneğinde saptanmıştır. Bu nedenle 20. günde enzim

ilaveli örneklerden farklı olarak 1 nolu kontrol örneğinde yüksek olarak belirlenen asetaldehit içeriği önemsiz bulunmuştur. Depolamada tüm örneklerin asetaldehit içeriğinde azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.14). Asetaldehit; kolaylıkla asetata okside olabilme özelliğine sahip olduğundan depolama sırasında oksidasyona dayalı bir miktar asetaldehit kaybı görülebilmektedir (Özer 2006).



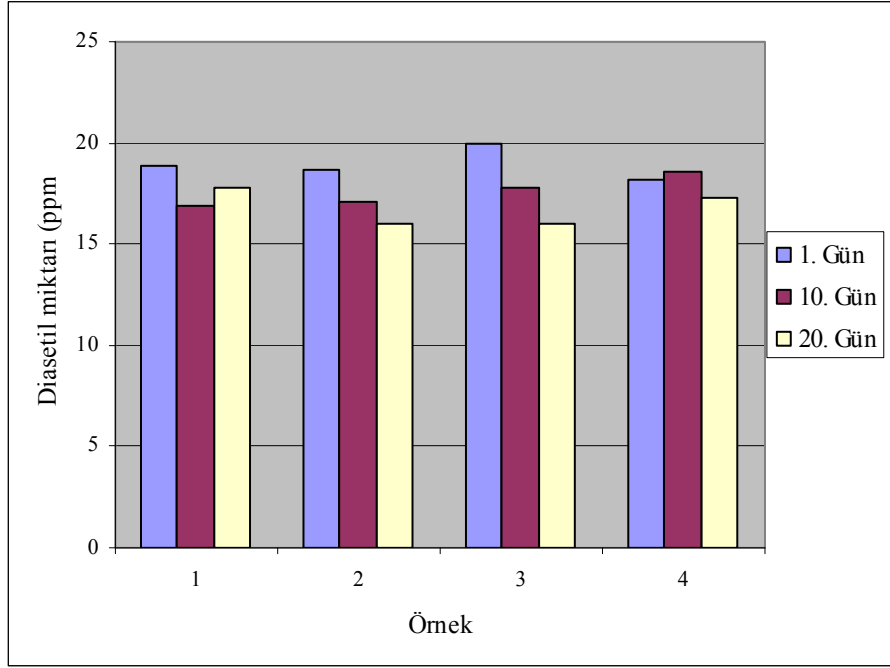
Şekil 4.14 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin asetaldehit miktarlarındaki değişim

Ayran örneklerinin aseton miktarları arasındaki farklılık depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ), depolamanın 10 ve 20. günlerinde ise önemsiz bulunmuştur ( $P > 0.05$ ). Depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemli olduğu saptanan örneklere ait aseton içeriklerindeki farklılığın enzim ilavesi ile ilgili olmadığı düşünülmektedir. Enzim ilavesinin, enzimle farklı inkübasyon sürelerinin ve farklı katım aşamalarının örneklerin aseton miktarları arasında önemli bir farklılık yaratmadığı belirlenmiştir. Benzer şekilde Özer vd. (2007) transglutaminaz enzimi varlığının yoğurtların aseton miktarları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmektedirler. Ayran örneklerinin aseton içeriklerinde depolama sürecinde artış saptanmıştır (Şekil 4.15).



Şekil 4.15 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin aseton miktarlarındaki değişim

Ayran örneklerinin diasetil miktarları arasındaki farklılık depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemsiz ( $P>0.05$ ), 20. gününde ise önemli ( $P<0.05$ ) bulunmuştur. Enzim ilaveli örneklerde kontrol örneğine göre diasetil miktarı bakımından belirgin bir farklılık belirlenmemiştir. Örneklerin diasetil içerikleri arasındaki farklılığın enzim ilavesiyle ilişkili olmadığı ve transglutaminaz enziminin diasetil oluşumunu etkilemediği düşünülmektedir. Depolama sürecinde örneklerin diasetil içeriklerinde önemli bir değişim görülmemiştir (Şekil 4.16). Bunun durum; ayran üretiminde starter olarak kullanılan yoğurt bakterilerinin diasetil redüktaz enzimi aktivitesinin çok sınırlı olmasıyla açıklanabilmektedir (Özer 2006).



Şekil 4.16 Geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinin diasetil miktarlarındaki değişim

#### 4.1.2 Sütü sulandırarak ayran üretimi araştırma bulguları

##### 4.1.2.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar

Sütü sulandırarak ayran üretiminde kullanılan çiğ süte ait bazı kimyasal özellikler Çizelge 4.11’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri (n=3)

<b>pH değeri</b>	6,6±0,013
<b>Titration asitliği, °SH</b>	7,7±0,066
<b>Toplam kurumadde, %</b>	12,09±0,197
<b>Toplam protein, %</b>	3,45±0,076
<b>Yağ, %</b>	3,6±0,066

Çiğ sütün analiz edilen kimyasal niteliklerine göre ayran üretiminde kullanımı için uygun olduğu belirlenmiştir.

#### 4.1.2.2 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerine ait sonuçlar

##### Genel özellikler

Sütü sulandırarak üretilmiş ayran örneklerine ait bazı kimyasal özellikler Çizelge 4.12’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir. Örneklerin analiz edilen kimyasal nitelikleri TS 3810 Ayran Standardı’na (Anonim 2003) uygun bulunmuştur.

Çizelge 4.12 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler (n=3)

Örnek	Toplam Kurumadde (%)	Toplam protein (%)	Yağ (%)	Tuz (%)
1	9,81±0,494	3,15±0,107	1,73±0,115	0,77±0,040
2	9,99±0,203	3,06±0,083	1,73±0,115	0,74±0,052
3	9,94±0,217	3,09±0,066	1,73±0,115	0,77±0,045
4	9,98±0,271	3,38±0,478	1,73±0,115	0,79±0,0451

##### pH değeri

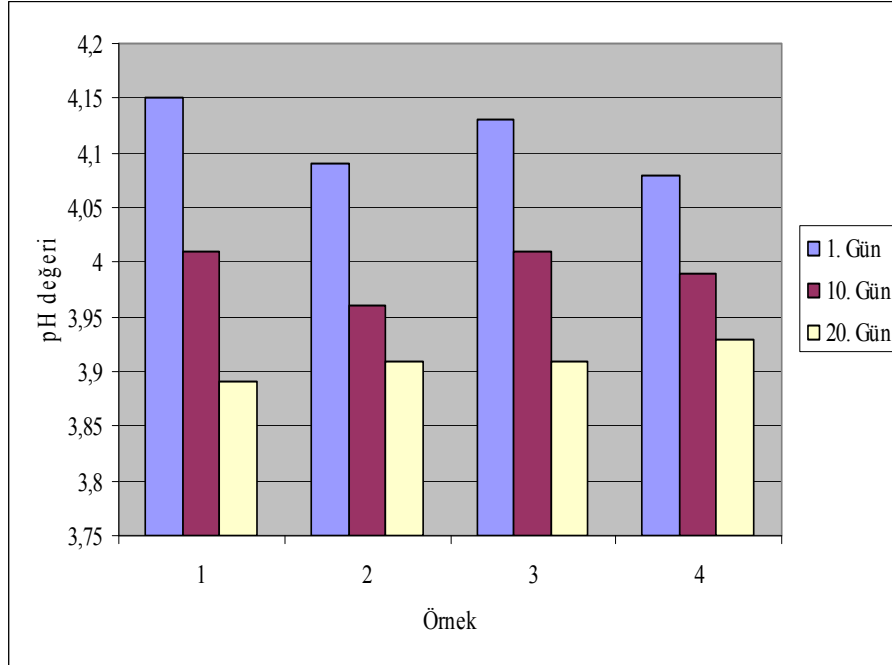
Ayran örneklerinin pH değerlerine ait veriler Çizelge 4.13’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.13 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin pH değerleri (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	4,15±0,040	4,01±0,036	3,89±0,131
2	4,09±0,092	3,96±0,090	3,91±0,083
3	4,13±0,111	4,01±0,045	3,91±0,073
4	4,08±0,020	3,99±0,058	3,93±0,058

Ayran örneklerinin pH değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Örneklerin pH değerlerinde depolama sürecinde starter kültürde

yer alan mikroorganizma faaliyetinin doğal bir sonucu olarak azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim

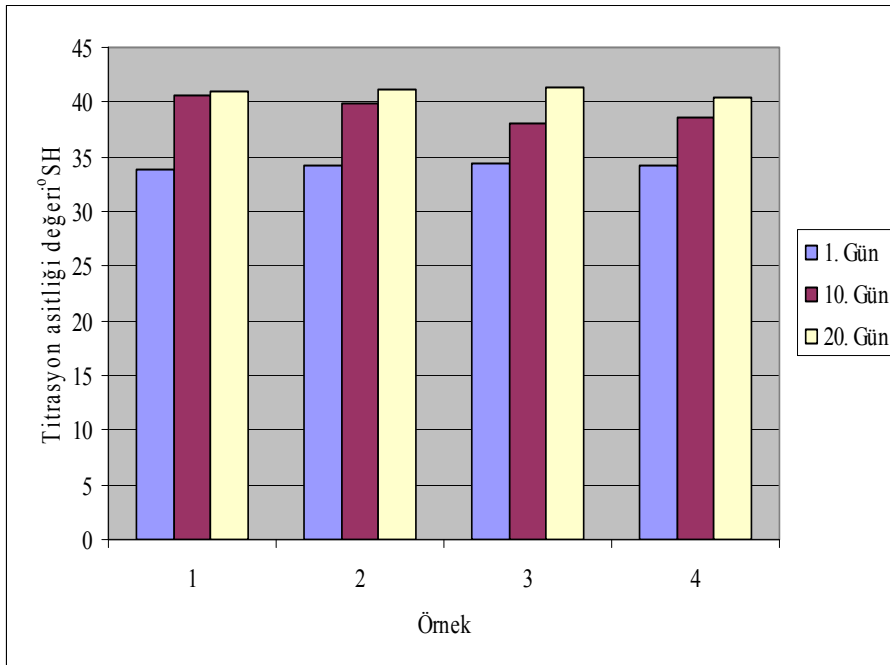
### **Titrasyon asitliği**

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait veriler Çizelge 4.14’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.14 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerleri (°SH) (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	33,79±1,430	40,67±0,133 <sup>a*</sup>	40,90±0,085
2	34,19±1,672	39,93±1,149 <sup>a*</sup>	41,12±2,330
3	34,40±0,044	38,13±1,030 <sup>b*</sup>	41,42±2,190
4	34,15±1,024	38,61±0,982 <sup>b*</sup>	40,38±0,600

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerleri arasındaki farklılık depolamanın 10. gününde istatistiksel açıdan önemli ( $P<0.05$ ), depolamanın 1 ve 20. günlerinde önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Ancak; 10. gününde örnekler arasında istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenen fark enzim ilavesi ve muamelesi ile ilişkilendirilmemiştir. Çünkü; 1 nolu kontrol örneği ve 2 nolu enzim içeren örneğin titrasyon asitliği değerleri benzerlik göstermektedir (Çizelge 4.14). Örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde depolama sürecinde artış saptanmıştır (Şekil 4.18). Bu artış pH değerleriyle de paralellik göstermektedir.



Şekil 4.18 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim

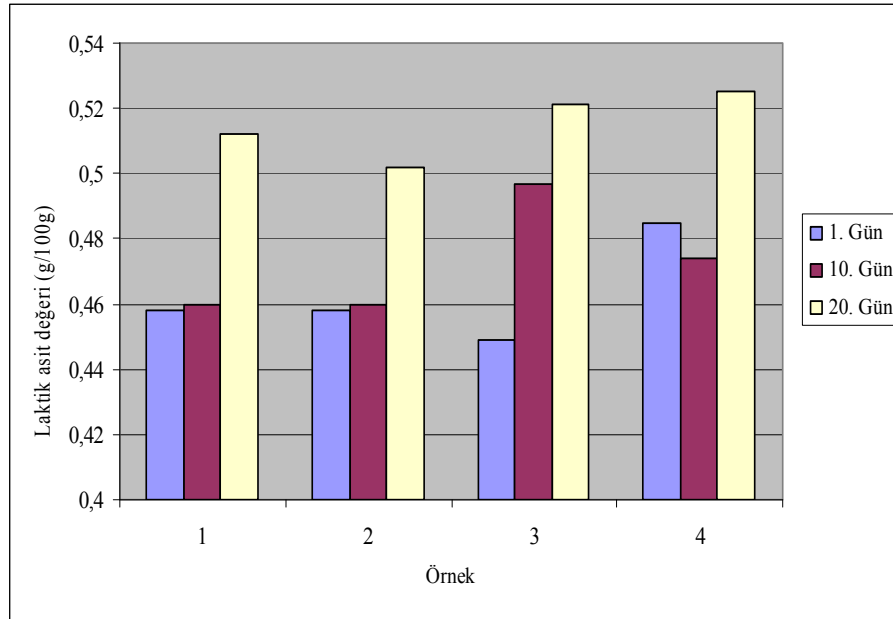
## Laktik asit içeriği

Ayran örneklerinin laktik asit değerlerine ait veriler Çizelge 4.15'te standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.15 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerleri (g/100g) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	0,458±0,0196	0,460±0,008	0,512±0,046
2	0,458±0,011	0,460±0,020	0,502±0,022
3	0,449±0,014	0,497±0,028	0,521±0,039
4	0,485±0,005	0,474±0,017	0,525±0,034

Ayran örneklerinin laktik asit içerikleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Ayran örnekleri arasında laktik asit değerleri bakımından pH ve titrasyon asitliği değerleri ile benzer olarak önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca; örneklerin tümünde depolama sürecinde laktik asit içeriklerinde artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.19).



Şekil 4.19 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin laktik asit değerlerindeki değişim

## Tirozin değeri

Ayran rneklerinin tirozin değerlerine ait veriler izelge 4.16'da standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.16 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tirozin değerleri (mg/5 ml)  
(n=3)

rnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	0,419±0,0241	0,392±0,024	0,517±0,019 <sup>a*</sup>
2	0,386±0,018	0,411±0,029	0,454±0,008 <sup>b*</sup>
3	0,371±0,027	0,407±0,006	0,408±0,012 <sup>c*</sup>
4	0,370±0,028	0,465±0,007	0,465±0,020 <sup>b*</sup>

\* Aynı stnda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak  $P<0.05$  düzeyinde önemlidir.

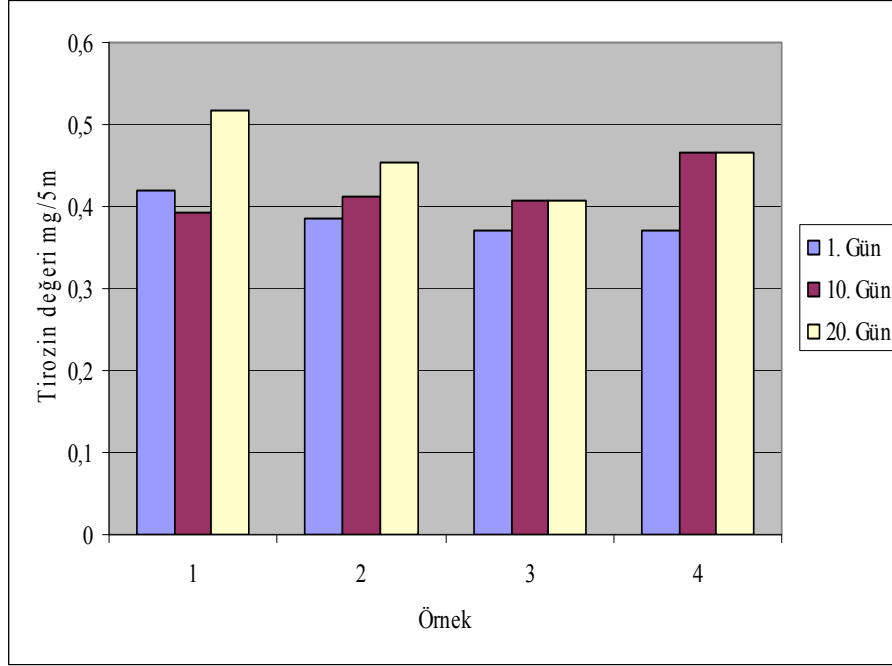
a b c aynı stndaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran rneklerinin tirozin değerleri arasındaki farklılık depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan nemsiz ( $P>0.05$ ), depolamanın 20. gününde ise önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Depolamanın 20. gününde 1 nolu kontrol örneğinin tirozin değerinin transglutaminaz enzimi katkılı diğer örneklerden önemli orvea yüksek olduğu belirlenmiştir (şekil 4.20). Bu sonuç; geleneksel yöntemle üretilen ayran örneklerinde belirlenen sonuçlarla da benzer bulunmuştur ve TGase enzimi vasıtasıyla süt proteinlerinin çapraz bağlanması bir sonucu olarak proteoliz düzeyinde azalmaya neden olduğu görüşünü desteklemektedir. Enzim katkılı örnekler arasında ise 3 nolu örneğin tirozin değerinin en düşük olduğu bulunmuştur. Bu durum, pastörizasyondan sonra süt proteinlerinin TGase enzimi ile çapraz bağlanma yeteneğinin artması ve bu örnekte enzimle muamele süresinin daha uzun olması ile açıklanabilmektedir.

Benzer şekilde; Yüksel (2007) alışmasında transglutaminaz enzimi katkılı, enzimin aktif olduğu yoğurt örneklerinin enzim katkısız kontrol örneğinden daha düşük düzeyde peptit ve tirozin içerdiğini belirlemiştir.

Lorenzen vd. (2002) canlı ortamda fizyolojik enzimlerle proteoliz ve protein polimerlerinin sindirilebilirliği üzerine yaptıkları çalışmalarında süt proteinlerinin

enzimatik çapraz bağlanması üzerine etkilerini incelemişlerdir. Laboratuvar koşullarında yapılan çalışmalarda modifiye kazeinin proteoliz olabirliğinde azalma olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.20 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim

### Viskozite değeri

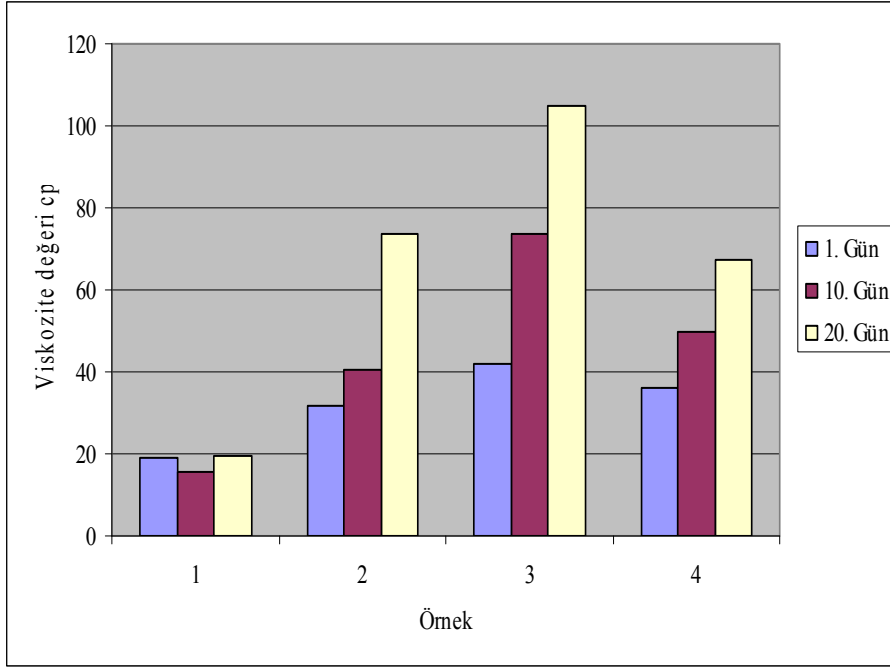
Ayran örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 4.17’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.17 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin viskozite değerleri (cp)  
(n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	19±1,730 <sup>a*</sup>	15,8±0,750 <sup>a*</sup>	19,5±1,500 <sup>a*</sup>
2	31,7±1,528 <sup>b*</sup>	40,5±1,500 <sup>b*</sup>	73,5±1,500 <sup>b*</sup>
3	42±3,000 <sup>c*</sup>	73,5±1,500 <sup>c*</sup>	105±3,000 <sup>c*</sup>
4	36±0,000 <sup>d*</sup>	50±2,500 <sup>d*</sup>	67,5±1,500 <sup>d*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b c d aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran örneklerinin viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (P<0.05). Çalışma sonucunda elde edilen verilere göre, sütü sulandırarak ayran üretiminde TGase enzimi ilavesinin ürünün viskozitesini olumlu yönde etkilediği, ayrıca; enzimle sütün inkübasyon süresinin artması durumunda viskozitede görülen bu artışın önemli orvea olduğu tespit edilmiştir. Bu durum Çizelge 4.17’de açıkça görülmektedir. Enzim ilaveli tüm örneklerde kontrol örneğinden daha yüksek viskozite değerleri saptanmıştır ve enzim ilaveli örnekler arasında da enzimle 1 saat inkübasyona bırakılan 3 nolu ayran örneğinde tespit edilen viskozite değeri en yüksek olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.21).



Şekil 4.21 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim

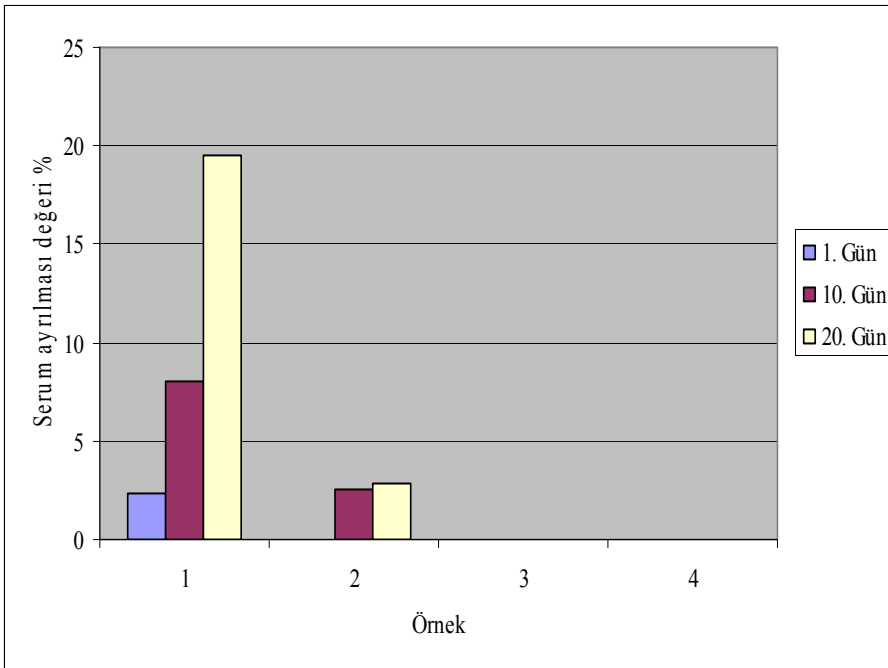
### Serum ayrılması

Çizelge 4.18’de ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri standart hataları ile birlikte verilmiştir. Ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Çizelge 4.18’de de görüldüğü gibi depolamanın 1. gününde kontrol örneğinde serum ayrılması gözlenirken enzim ilaveli diğer örneklerde serum ayrılması belirlenmemiştir. Depolamanın 10 ve 20. günlerinde de pastörizasyon işleminin ardından enzim ile inkübasyona bırakılan sütün üretilen 3 ve 4 nolu ayran örneklerinde yine serum ayrılması görülmemiş ve starter kültürle enzim ilavesinin aynı veya katıldığı ayran örneğinde belirlenen değerlerin de kontrol örneğinden önemli oranda düşük olduğu bulunmuştur (Şekil 4.22). Çalışma sonuçlarına göre; sütü sulandırarak yapılan ayran üretiminde pastörizasyon işlemi ardından sütün enzimle inkübasyonunun serum ayrılmasını önlediği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.18 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri (%) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	2,3±0,577 <sup>a*</sup>	8±1,000 <sup>a*</sup>	19,5±0,500 <sup>a*</sup>
2	0±0,000 <sup>b*</sup>	2,5±0,500 <sup>b*</sup>	2,75±0,250 <sup>b*</sup>
3	0±0,000 <sup>b*</sup>	0±0,000 <sup>c*</sup>	0±0,000 <sup>c*</sup>
4	0±0,000 <sup>b*</sup>	0±0,000 <sup>c*</sup>	0±0,000 <sup>c*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b c aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.



Şekil 4.22 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim

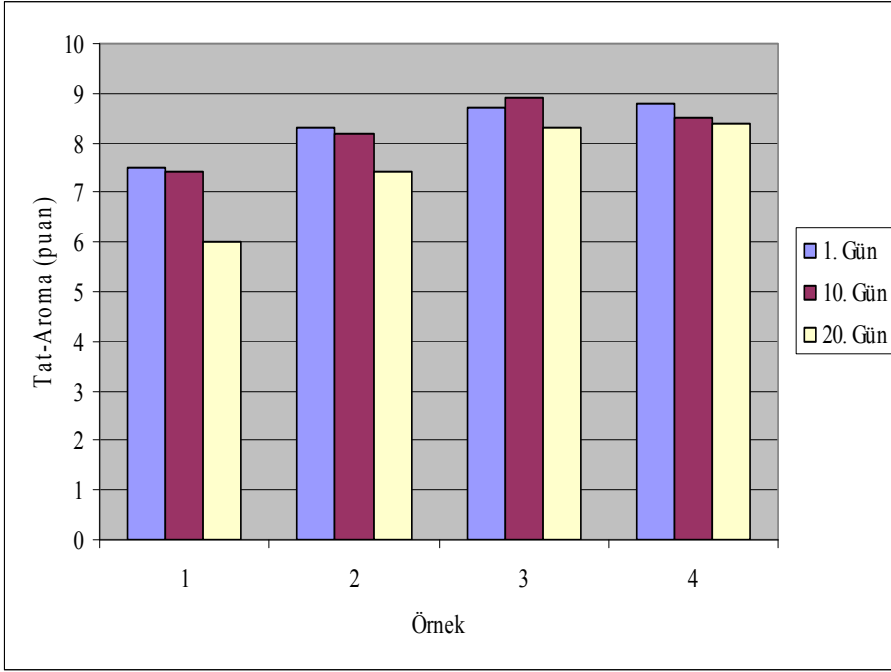
### Duyusal değerlendirme

Çizelge 4.19’da ayran örneklerine ait duyusal değerlendirme sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.19 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin duyusal değerlendirme sonuçları (n=3)

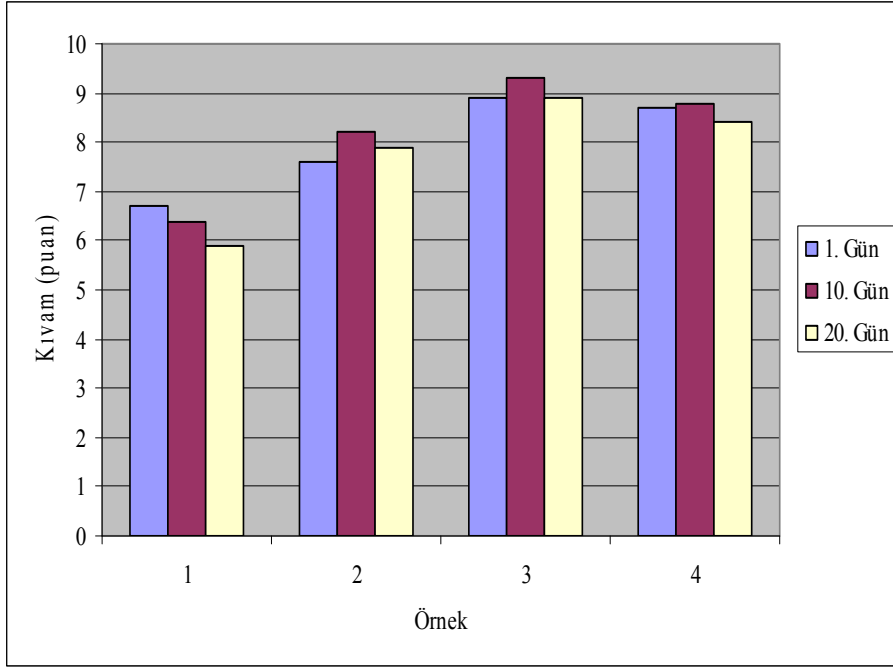
Örnek	Depolama Süresi	Tat - Aroma	Kıvam	Genel
1	1. gün	7,5	6,7	7,1
	10. gün	7,4	6,4	6,8
	20. gün	6,0	5,9	6,0
2	1. gün	8,3	7,6	7,9
	10. gün	8,2	8,2	8,0
	20. gün	7,4	7,9	7,7
3	1. gün	8,7	8,9	9,0
	10. gün	8,9	9,3	9,0
	20. gün	8,3	8,9	8,7
4	1. gün	8,8	8,7	8,5
	10. gün	8,5	8,8	8,3
	20. gün	8,4	8,4	8,2

Örneklere ait tat-aroma puanlarına bakıldığında (Çizelge 4.19); enzim ilaveli örneklerin kontrol örneğinden daha yüksek puan aldıkları görülmektedir. Depolama sürecinde örneklerin tat-aroma puanlarındaki değişim Şekil 4.23’de görülmektedir.



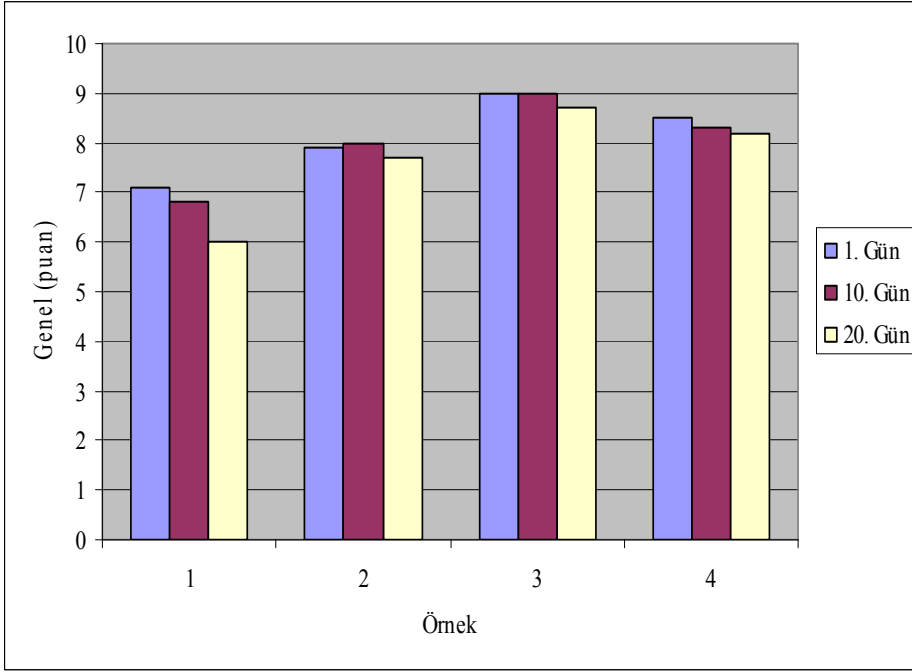
Şekil 4.23 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim

Kıvam açısından değerlendirildiğinde; enzim ilaveli örneklerin kontrol örneğine göre daha yüksek puan aldıkları ve enzim ilaveli örnekler arasında da 3 nolu örneğin panelistler tarafından en yüksek puanla değerlendirildikleri görülmektedir (Çizelge 4.19). Sonuçlar örneklere ait viskozite değerleri ile de paralellik göstermektedir.



Şekil 4.24 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim

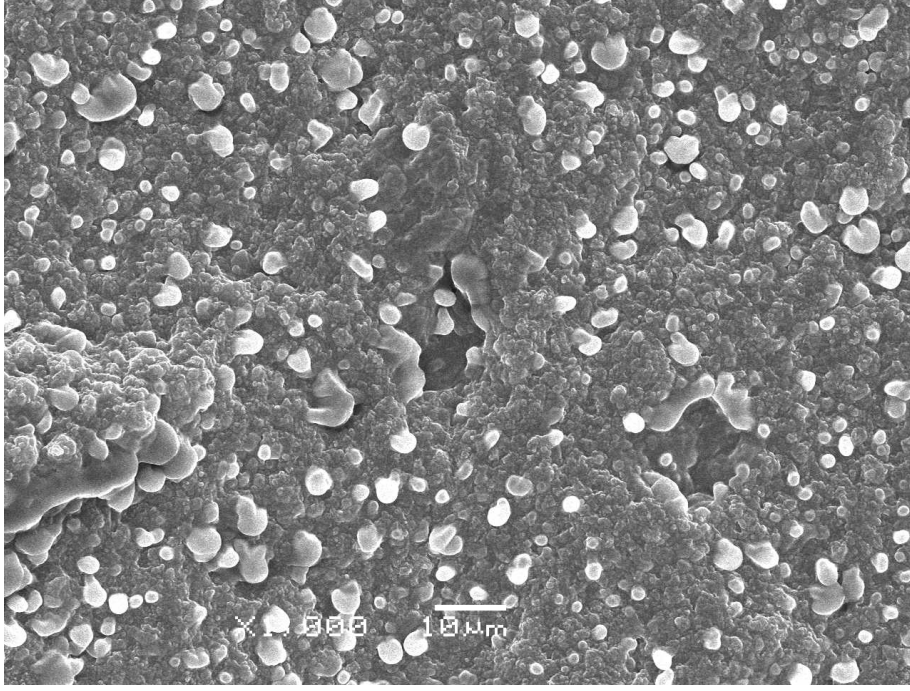
Genel değerlendirmede yine enzim ilaveli örneklerin kontrol örneğinden daha yüksek puan aldıkları ve enzim ilaveli örnekler arasında da 3 nolu örneğin panelistler tarafından en beğenilen örnek olarak belirlendiği saptanmıştır. Depolama sürecinde de değerlendirme değişmemiştir (Şekil 4.25).



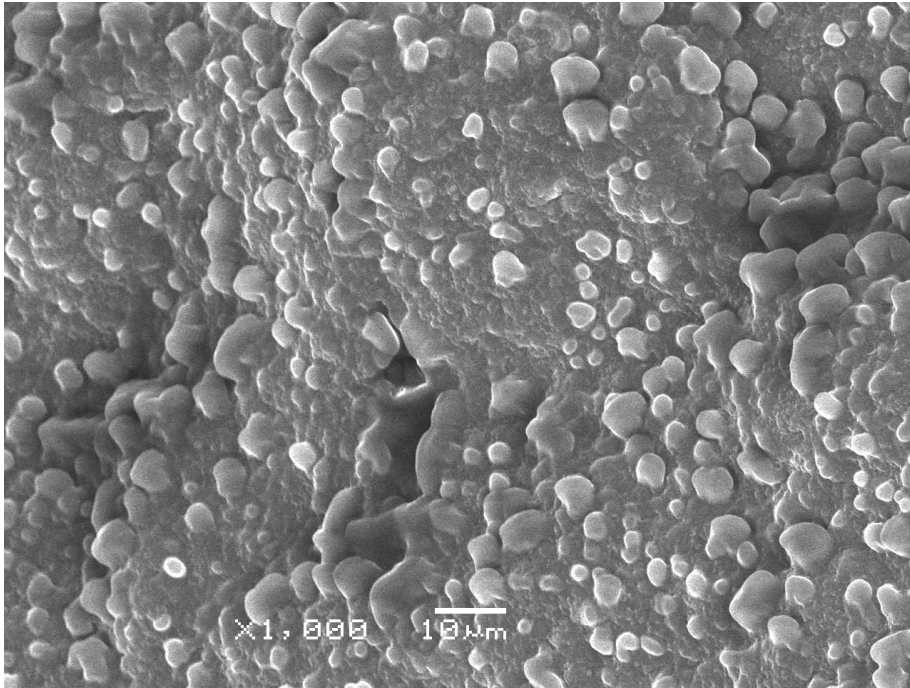
Şekil 4.25 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin genel duyuşsal puanlarındaki değişim

### Mikrostrüktürel değerlendirme

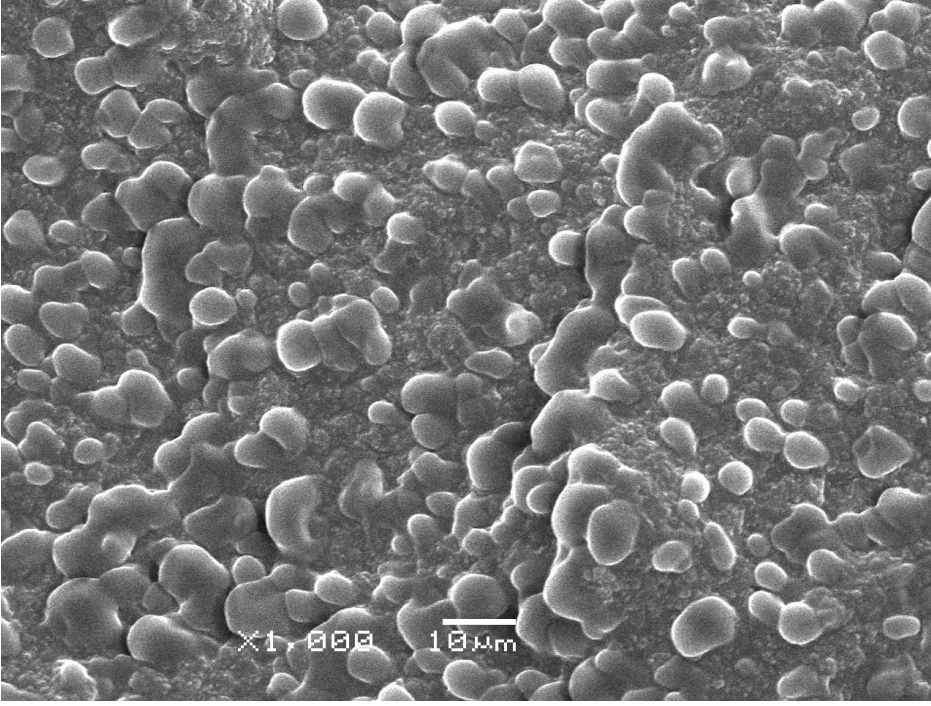
Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin elektron mikroskop görüntüleri Şekil 4.26-4.29’da verilmiştir. Enzim ilaveli örnekler kendi aralarında değerlendirildiğinde (Şekil 4.27-4.29) enzimle farklı muamelelerin önemli bir farklılık yaratmadığı, bununla birlikte kontrol örneğiyle (Şekil 4.26) karşılaştırıldığında enzim ilavesinin örneklerde daha sıkı bir mikrostrüktürel yapıya yol açtığı belirlenmiştir.



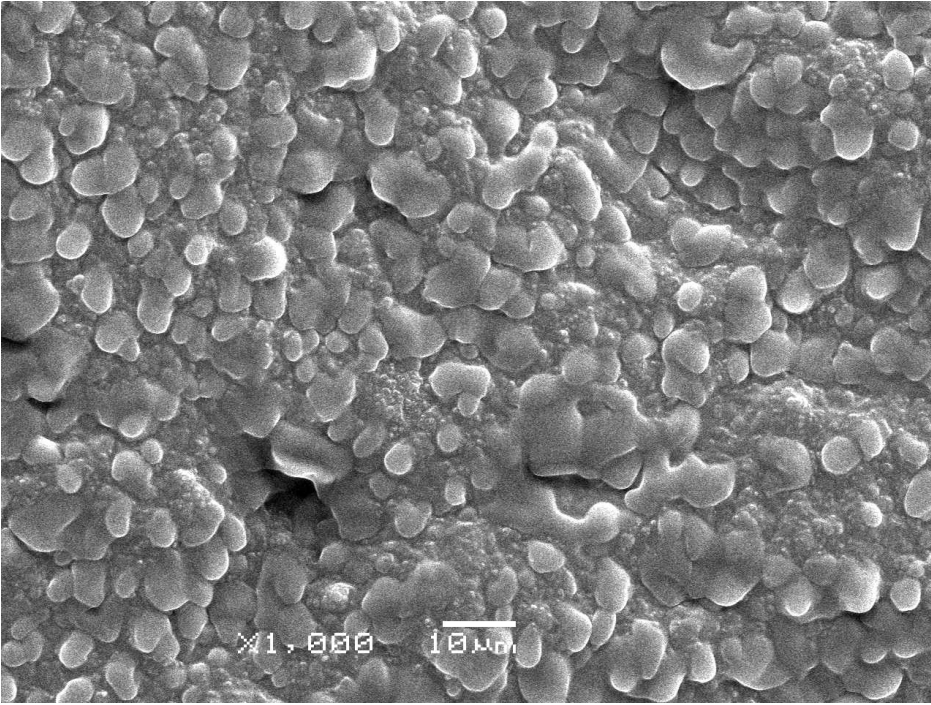
Şekil 4.26 1 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.27 2 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.28 3 nolu örneğe ait SEM görüntüsü



Şekil 4.29 4 nolu örneğe ait SEM görüntüsü

## Karbonil bileşenleri

Ayran örneklerinin temel aroma bileşenlerine ait değerler standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.20’de verilmiştir. Bazı örneklerin karbonil bileşenlerine ait kromatogramlar eklerde yer almaktadır.

Çizelge 4.20 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin karbonil bileşenleri (ppm)  
(n=3)

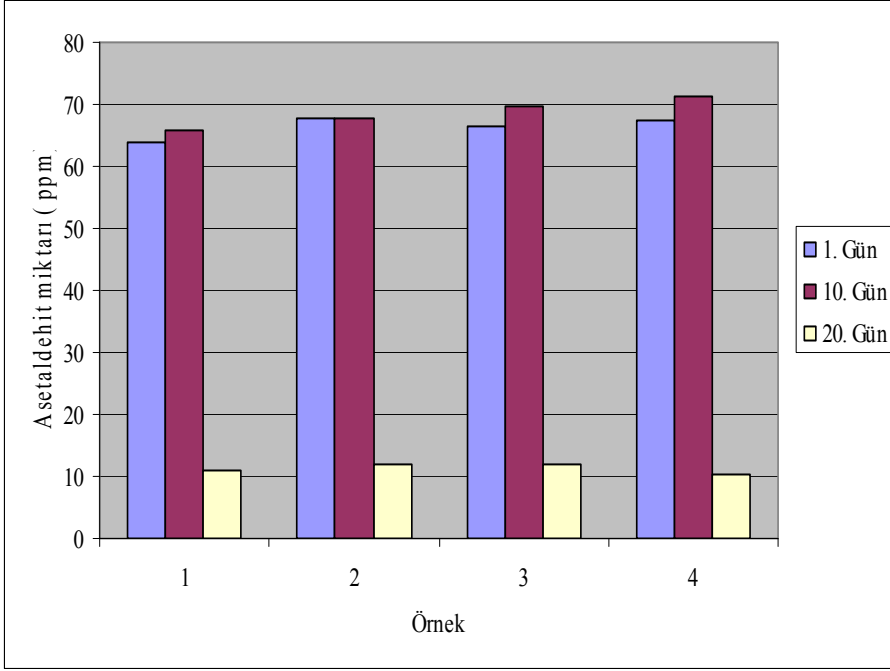
Asetaldehit	Depolama Süresi		
	1. Gün	10. Gün	20. Gün
<b>1</b>	63,84±3,420	65,78±1,336	10,96±1,790
<b>2</b>	67,62±4,400	67,73±2,680	12,03±1,435
<b>3</b>	66,40±0,532	69,68±3,160	11,99±2,480
<b>4</b>	67,30±7,390	71,38±3,500	10,40±0,055
<b>Aseton</b>			
<b>1</b>	7,40±±1,180	7,40±1,310	11,23±0,212
<b>2</b>	5,91±0,229	8,26±0,386	11,20±0,696
<b>3</b>	7,03±0,649	7,61±1,348	10,77±0,660
<b>4</b>	6,61±0,930	7,87±0,750	10,74±0,725
<b>Diasetil</b>			
<b>1</b>	28,40±5,070	30,10±1,449	17,26±0,240 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	29,64±3,650	32,68±4,320	15,99±0,000 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	29,10±0,760	34,57±2,340	18,17±0,015 <sup>a*</sup>
<b>4</b>	30,84±1,612	32,43±0,940	18,42±1,440 <sup>a*</sup>
<b>Bütanon-2</b>			
<b>1</b>	2,85±0,205 <sup>a*</sup>	2,97±0,120	3,20±0,437 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	0±0,000 <sup>b*</sup>	2,81±0,160	5,08±0,155 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	3,20±0,295 <sup>a*</sup>	3,03±0,020	3,45±0,880 <sup>a*</sup>
<b>4</b>	2,90±0,120 <sup>a*</sup>	2,9±0,035	3,48±0,225 <sup>a*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.

a b c aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

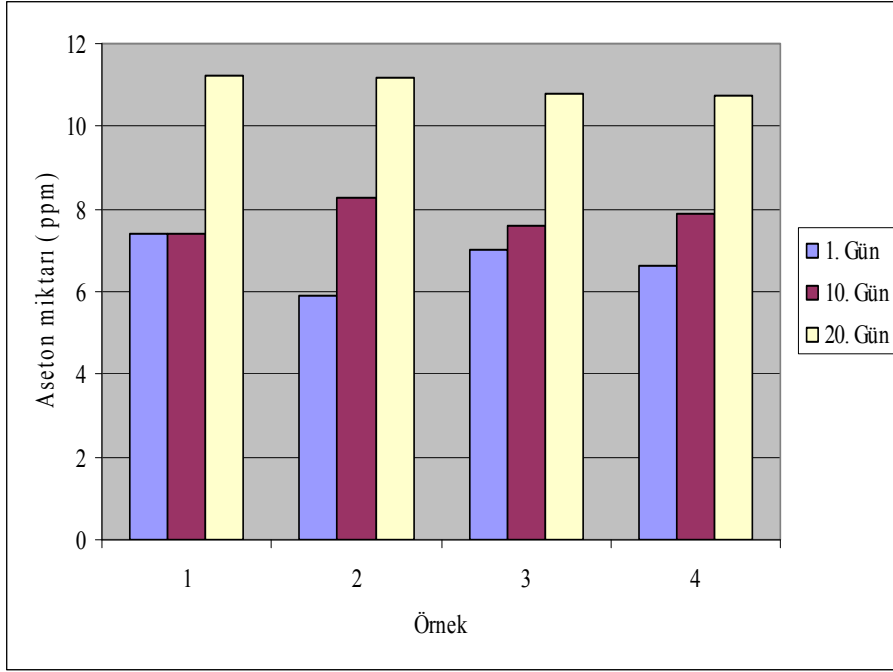
Ayran örneklerinin asetaldehit içeriğindeki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur (P>0.05). Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinde TGase enzimi

kullanımının örneklerin asetaldehit içeriğini etkilemediği belirlenmiştir. Örneklerin asetaldehit içeriğinde depolama sürecinde 10. günden sonra oksidasyona dayalı azalma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.30).



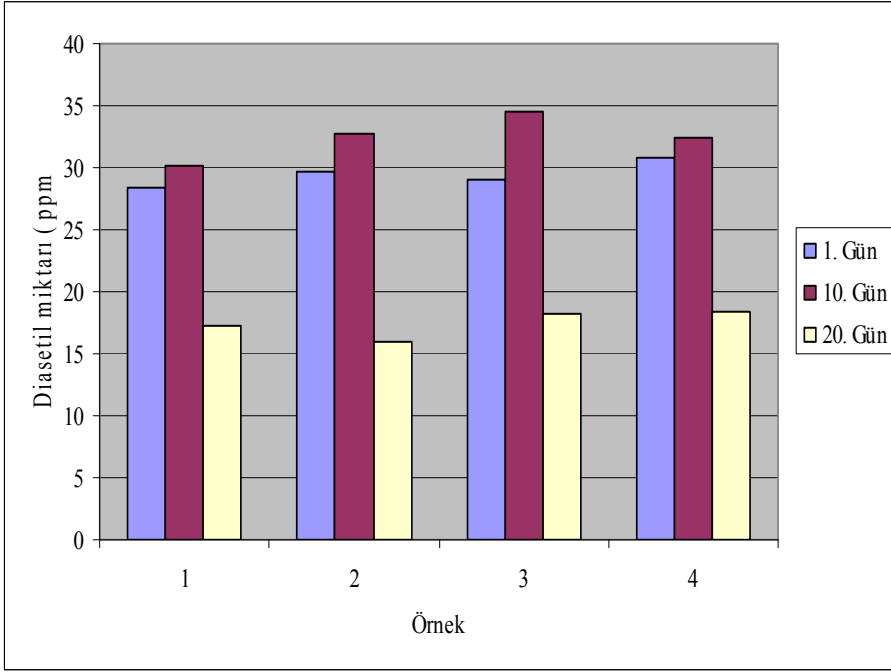
Şekil 4.30 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin asetaldehit miktarlarındaki değişim

Ayran örneklerinin aseton içeriğindeki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Depolama sürecinde örneklerin aseton içeriklerinde artma olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.31).



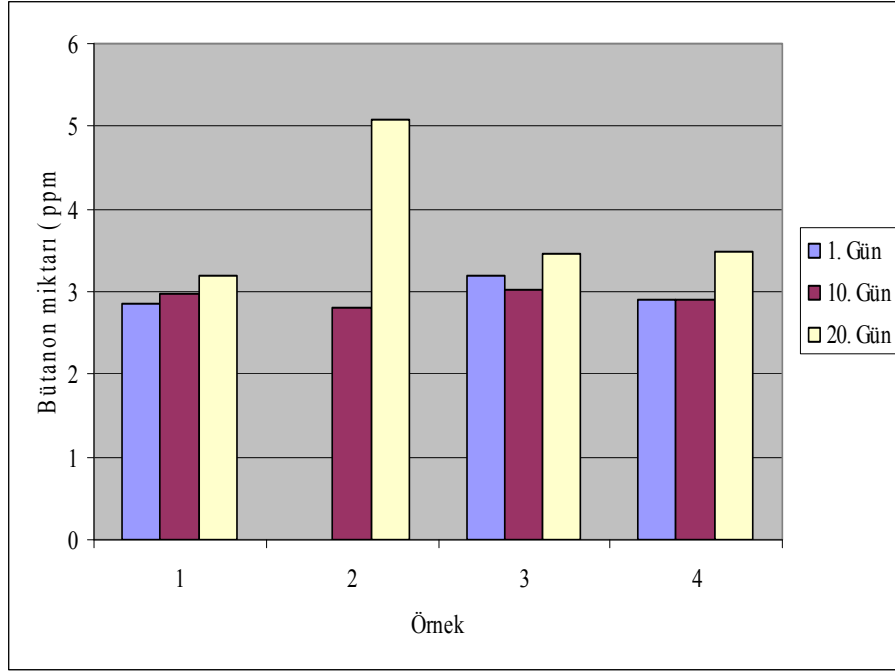
Şekil 4.31 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin aseton miktarlarındaki değişim

Ayran örneklerinin diasetil içeriğindeki farklılık depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemsiz ( $P > 0.05$ ), depolamanın 20. gününde ise istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ) bulunmuştur. Bununla birlikte; 20. günde 2 nolu örnekte belirlenen farklılık TGase enzimi ilavesi ile ilişkilendirilmemiştir. Bunun nedeni; enzim ilaveli diğer 3 ve 4 nolu örneklerde belirlenen diasetil düzeyinin 1 nolu kontrol örneğiyle benzer bulunmasıdır. Depolama sürecinde 1. gününde belirlenen diasetil içeriğinin 10. günde arttığı, bununla birlikte; 20. günde azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.32).



Şekil 4.32 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin diasetil miktarlarındaki değişim

Ayran örneklerinin bütanon-2 içeriklerindeki farklılığın depolamanın 1 ve 20. günlerinde istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0.05$ ), 10. günde ise önemsiz ( $P > 0.05$ ) olduğu bulunmuştur. Depolamanın 1. gününde önemli olduğu belirlenen farklılık 2 nolu örnekte bütanon-2 tespit edilememesiyle açıklanmaktadır. Depolamanın 20. gününde 2 nolu örnekte diğer örneklerden farklı olarak bütanon-2 içeriği en yüksek olarak belirlenmiştir (Şekil 4.33).



Şekil 4.33 Sütü sulandırarak üretilen ayran örneklerinin bütanon-2 miktarlarındaki değişim

## 4.2 İkinci Aşama Araştırma Bulguları

### 4.2.1 Hammadde çiğ süte ait sonuçlar

İkinci aşama ayran örneklerinin üretiminde kullanılan hammadde süte ait bazı kimyasal nitelikler Çizelge 4.21’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.21 Hammadde çiğ sütün kimyasal nitelikleri (n=3)

<b>pH değeri</b>	6,58±0,011
<b>Titrasyon asitliği, °SH</b>	8,26±0,000
<b>Toplam kurumadde, %</b>	11,87±0,370
<b>Toplam protein, %</b>	3,51±0,066
<b>Yağ, %</b>	3,6±0,000

Çiğ sütün analiz edilen kimyasal niteliklerine göre ayran üretiminde kullanımı için uygun olduğu belirlenmiştir.

## 4.2.2 TGase, EPS<sup>+</sup> ve stabilizatör içeren ayran örneklerine ait sonuçlar

### 4.2.3 Genel özellikler

İkinci aşama ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler Çizelge 4.22’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.22 İkinci aşama ayran örneklerine ait bazı kimyasal nitelikler (n=3)

Örnek	Toplam Kurumadde (%)	Toplam protein (%)	Yağ (%)	Tuz (%)
1	9,98±0,356	3,21±0,192	1,73±0,577	0,91±0,010
2	9,90±0,251	3,21±0,061	1,73±0,577	0,91±0,020
3	9,85±0,447	3,12±0,137	1,73±0,577	0,84±0,034
4	9,87±0,020	3,09±0,149	1,73±0,577	0,89±0,005

1 nolu örnek : Kontrol örneği (Katkısız)

2 nolu örnek : Pastörizasyon işleminin ardından 50 °C de TGase ile 1 saat inkübasyon işlemi uygulanan süttten elde edilmiştir.

3 nolu örnek : İnokülasyon aşamasında starter kültür ile birlikte 1:1 oranında ekzopolisakkarit (EPS) üreten kültür kullanılarak elde edilmiştir.

4 nolu örnek : Homojenizasyon işlemi öncesinde % 0,05 stabilizatör ilave edilerek elde edilmiştir.

Örneklerin analiz edilen kimyasal nitelikleri TS 3810 Ayran Standardı’na (Anonim 2003) uygun bulunmuştur.

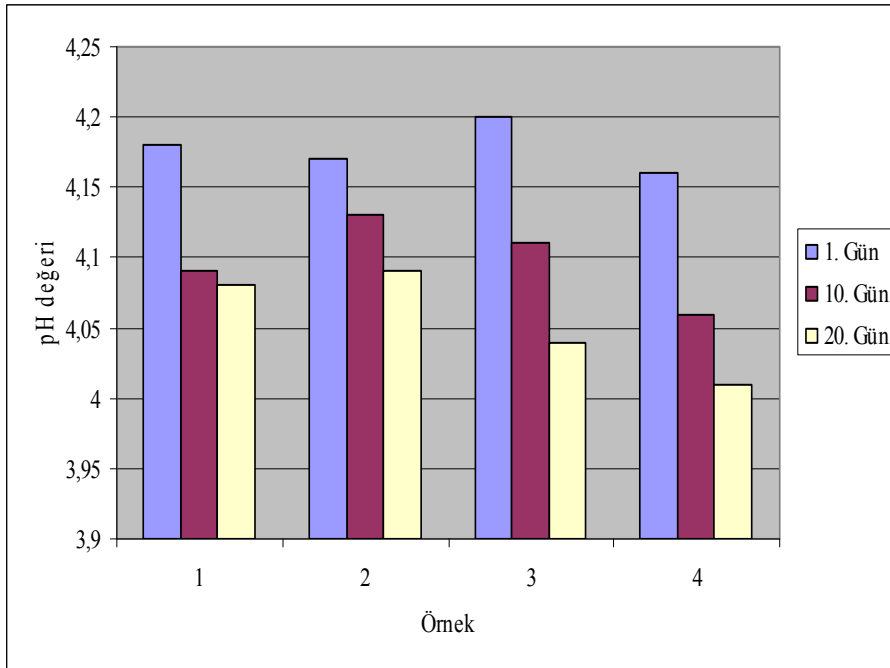
### pH değeri

Ayran örneklerinin pH değerlerine ait veriler Çizelge 4.23’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.23 İkinci aşama ayran örneklerinin pH değerleri (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	4,18±0,052	4,09±0,035	4,08±0,035
2	4,17±0,109	4,13±0,092	4,09±0,066
3	4,20±0,050	4,11±0,080	4,04±0,032
4	4,16±0,086	4,06±0,043	4,01±0,011

Ayran örneklerinin pH değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemsiz bulunmuştur ( $P>0.05$ ). Depolama sürecinde starter kültür faaliyetinin doğal bir sonucu olarak örneklerin pH değerlerinde azalma yani asitlikte artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.34).



Şekil 4.34 İkinci aşama ayran örneklerinin pH değerlerindeki değişim

### Titrasyon asitliği

Ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerine ait veriler Çizelge 4.24'te standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.24 İkinci aşama ayran örneklerinin titrasyon asitliği (°SH) değerleri (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	36,70±2,110	38,62±0,422 <sup>a*</sup>	40,74±1,121 <sup>a*</sup>
2	33,36±2,860	34,76±0,463 <sup>b*</sup>	37,46±0,707 <sup>b*</sup>
3	36,93±1,721	38,96±0,380 <sup>a*</sup>	40,50±0,816 <sup>a*</sup>
4	37,34±2,390	39,26±0,100 <sup>a*</sup>	41,54±0,348 <sup>a*</sup>

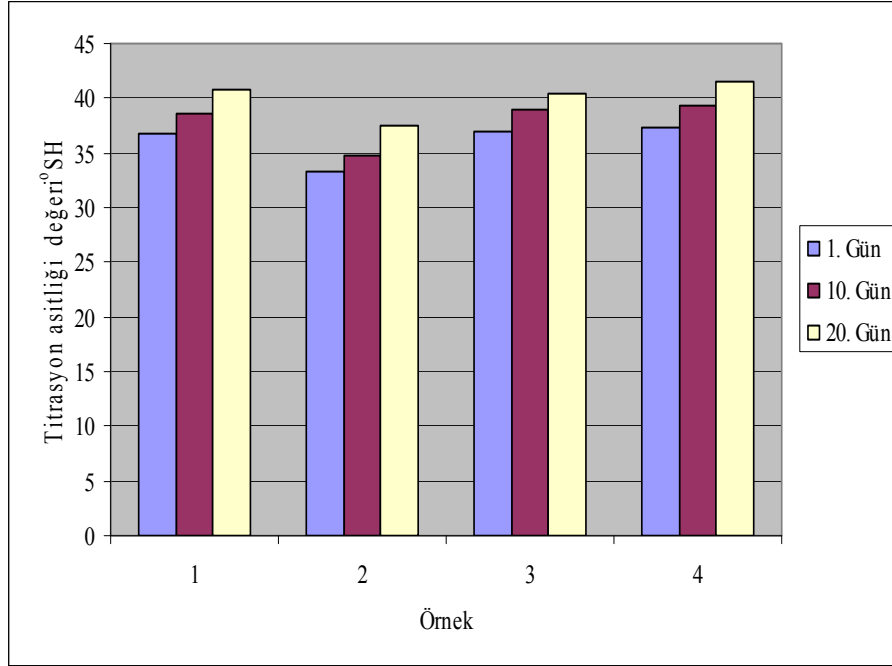
\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir.  
a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Örneklerin titrasyon asitliği değerlerindeki farklılık depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemsiz ( $P > 0.05$ ), depolamanın 10 ve 20. günlerinde önemli ( $P < 0.05$ ) bulunmuştur. Depolamanın 10 ve 20. günlerinde TGase enzimi katkılı 2 nolu örneğin titrasyon asitliği değerinin diğer örneklerden düşük olduğu belirlenmiştir.

Literatürlerde bu konuyla ilgili olarak bazı verilere rastlanmıştır. Bazı araştırmacılar yoğurt üretiminde sütün TGase enzimi ile fermantasyon öncesince işlem görmesinin daha uzun inkübasyon süresine ve depolama sonrası daha düşük asitliğe neden olduğunu belirlemişlerdir. Bu araştırmacılar, bakteriler için gerekli düşük molekül ağırlıklı peptitlerin çapraz bağlanması ile aminoasitlerin molekül boyutlarının büyümesi sonucunda kullanılabilirliğinin azaldığını ve böylece bakteriyel gelişimin yavaşladığını ileri sürmektedirler (Feargemve vd. 1999a, Lorenzen vd. 2002, Lorenzen ve Neve 2003).

Lorenzen vd. (2002) süt proteinlerinin enzimatik çapraz bağlanmasının set tipi yoğurt üretiminde fonksiyonel nitelikler üzerine etkilerini inceledikleri çalışmalarında depolama sırasında asitlik gelişiminin (post asidifikasyon) daha yavaş gerçekleştiği belirlenmiştir. Benzer şekilde; Kırmacı vd. (2004) çalışmalarında yağsız yoğurtların bazı fiziksel ve kimyasal niteliklerini incelemişler ve TGase ilavesinin asitlik gelişiminde hafif bir yavaşlamaya neden olduğunu bulmuşlardır.

Bununla birlikte; yaptığımız çalışmanın diğer denemelerinde asitlik artışı ile ilgili olarak örnekler arasında TGase enzimi ilavesiyle ilişkilendirilebilecek herhangi bir farklılık belirlenmemiştir. Depolama sırasında örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde artış olduğu bulunmuştur (Şekil 4.35).



Şekil 4.35 İkinci aşama ayran örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim

### Laktik asit içeriği

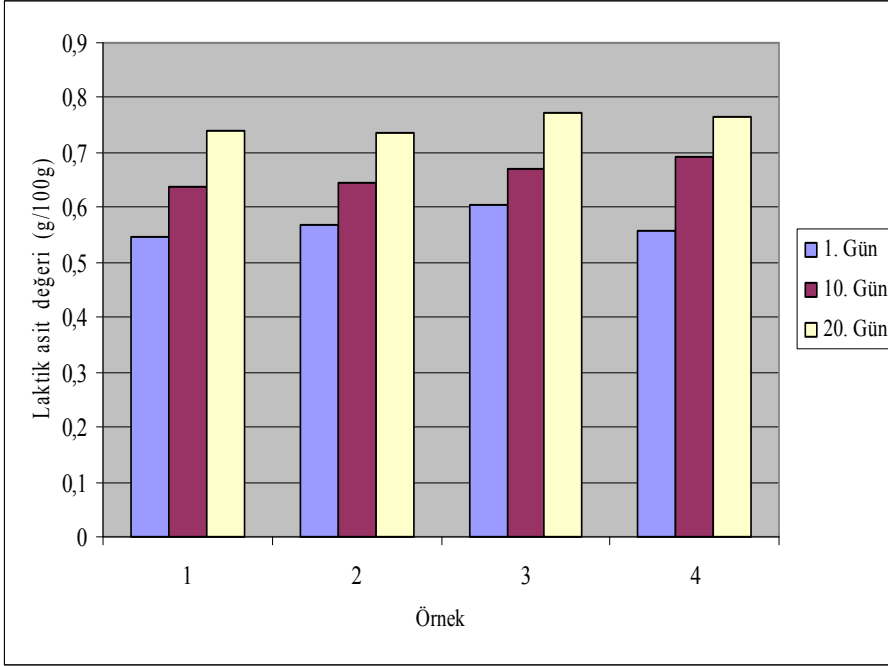
Ayran örneklerinin laktik asit değerlerine ait veriler Çizelge 4.25’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.25 İkinci aşama ayran örneklerinin laktik asit değerleri (g/100g) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
<b>1</b>	0,548±0,013 <sup>a*</sup>	0,639±0,026	0,738±0,062
<b>2</b>	0,567±0,026 <sup>a*</sup>	0,646±0,017	0,737±0,106
<b>3</b>	0,605±0,019 <sup>b*</sup>	0,669±0,029	0,772±0,050
<b>4</b>	0,556±0,015 <sup>a*</sup>	0,693±0,018	0,767±0,036

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran örneklerinin laktik asit değerleri arasındaki fark depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemli ( $P < 0,05$ ), 10 ve 20. günlerinde ise önemsiz ( $P > 0,05$ ) bulunmuştur. Bununla birlikte; örneklere ait veriler ve depolama sürecindeki değişim incelendiğinde (Şekil 4.36) sonuçların benzer olduğu görülmektedir. Örnekler arasında farklı muamelelerden kaynaklanan önemli bir farklılık belirlenmemiştir.



Şekil 4.36 İkinci aşama ayran örneklerinin laktik asitliği değerlerindeki değişim

### Tirozin değeri

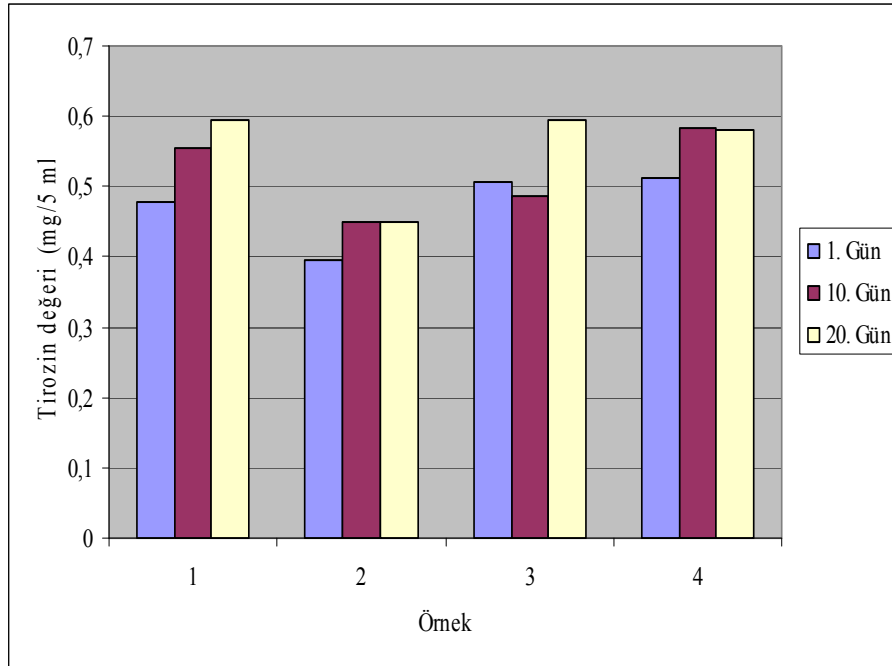
Ayran örneklerinin tirozin değerlerine ait veriler Çizelge 4.26'de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.26 İkinci aşama ayran örneklerinin tirozin değerleri (mg/5 ml) (n=3)

Örnek	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
1	0,479±0,072	0,556±0,061 <sup>a*</sup>	0,594±0,012 <sup>a*</sup>
2	0,396±0,079	0,449±0,032 <sup>b*</sup>	0,450±0,026 <sup>b*</sup>
3	0,507±0,036	0,486±0,018 <sup>b*</sup>	0,594±0,016 <sup>a*</sup>
4	0,512±0,035	0,583±0,006 <sup>a*</sup>	0,580±0,027 <sup>a*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak  $P < 0.05$  düzeyinde önemlidir. a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran örneklerinin tirozin değerleri arasındaki fark depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemsiz ( $P > 0.05$ ), 10 ve 20. günlerinde ise önemli ( $P < 0.05$ ) bulunmuştur. Çizelge 4.28'deki veriler incelendiğinde; 2 nolu TGase enzimi katkılı örnekte tirozin değerinin en az ve diğer örneklerden önemli orvea düşük olarak belirlenmesi, çalışmanın birinci aşmasında da belirtilen enzimin süt proteinleri ile çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak proteoliz düzeyinde azalmaya neden olduğu görüşünü güçlendirmektedir. Aynı şekilde; Şekil 4.37'de de görüldüğü gibi; depolama sürecinde tirozin değerinde tespit edilen artış 2 nolu örnekte diğer örneklerden daha az olarak bulunmuştur.



Şekil 4.37 İkinci aşama ayran örneklerinin tirozin değerlerindeki değişim

## Viskozite değeri

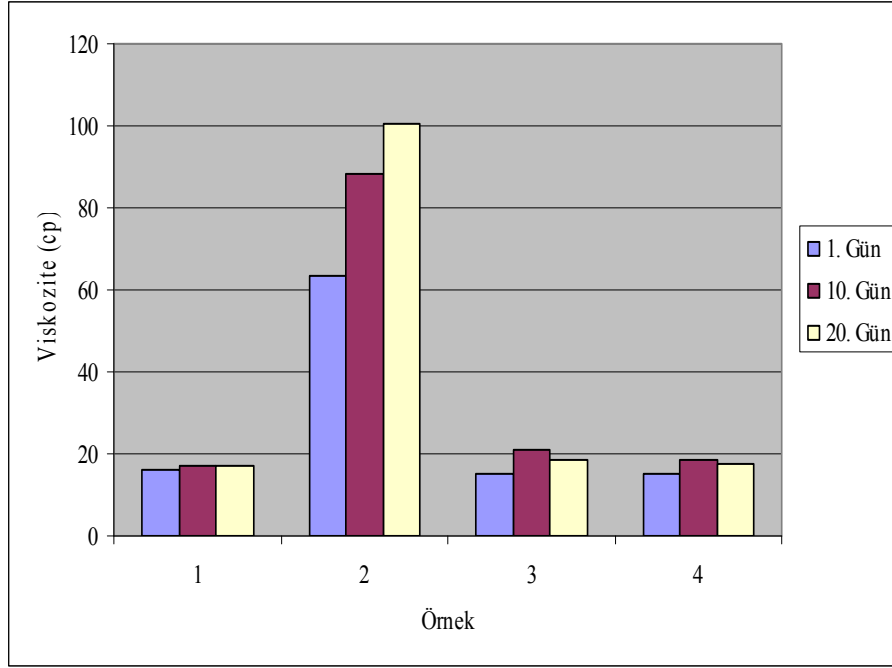
Ayran örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 4.27’de standart hatalarıyla birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.27 İkinci aşama ayran örneklerinin viskozite değerleri (cp) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
<b>1</b>	16,0±1,730 <sup>a*</sup>	17,0±1,730 <sup>a*</sup>	17,0±1,730 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	63,5±0,86 <sup>b*</sup>	88,5±1,500 <sup>b*</sup>	100,5±1,500 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	15,0±0,000 <sup>a*</sup>	21,0±3,000 <sup>a*</sup>	18,5±2,290 <sup>a*</sup>
<b>4</b>	15,0±0,000 <sup>a*</sup>	18,5±2,290 <sup>a*</sup>	17,5±0,577 <sup>a*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran örneklerinin viskozite değerleri arasındaki farklılık istatistiksel açıdan önemli (P<0,05) bulunmuştur. Elde edilen verilere göre; TGase enzimi katkılı 2 nolu örnekte viskozite değerinin diğer örneklerden önemli düzeyde yüksek olduğu ve enzim ilavesinin ayrvea viskoziteyi önemli orvea attırdığı tespit edilmiştir (Şekil 4.38). Yine araştırma sonuçlarına göre; stabilizatör katkılı 4 nolu örnekte belirlenen düzeyin kontrol örneğiyle benzer olduğu ve stabilizatör ilavesinin ayrvea viskozitede olumlu herhangi bir farklılık yaratmadığı bulunmuştur. EPS üreten starter kültür kullanılan 3 nolu örnekte ise depolamanın 10 ve 20. günlerinde belirlenen değer kontrol örneğinden yüksek olduğu bulunmuştur. Polisakkarit üreten starter bakteri suşlarının kullanımı ayrvea viskozitede bir miktar artışa neden olabilmektedir (Özer 2006). Ancak; araştırma sonucunda bu farkın önemli sayılabilecek düzeyde olmadığı belirlenmiştir. Genel olarak bakıldığında; ayran üretiminde EPS üreten kültür ve stabilizatör kullanımı viskozitede benzer sonuçların elde edilmesiyle sonuçlanmıştır. TGase enzimi katkılı örnekte en yüksek olarak belirlenen viskozite değeri depolama sürecinde de artış göstermiştir (Şekil 4.38).



Şekil 4.38 İkinci aşama ayran örneklerinin viskozite değerlerindeki değişim

### Serum ayrılması

Çizelge 4.28’da ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri standart hataları ile birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.28 İkinci aşama ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri (%) (n=3)

	Depolama Süresi		
	1. gün	10. gün	20. gün
<b>1</b>	0,33±0,577	9,00±1,000 <sup>a*</sup>	21,17±1,890 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	0,00±0,000	0,00±0,000 <sup>b*</sup>	0,00±0,000 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	0,33±0,577	8,67±0,577 <sup>a*</sup>	19,50±1,800 <sup>a*</sup>
<b>4</b>	0,66±1,155	10,00±1,730 <sup>a*</sup>	23,33±2,080 <sup>a*</sup>

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.  
a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

Ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri arasındaki farklılık depolamanın 1. gününde istatistiksel açıdan önemsiz (P>0,05), depolamanın 10 ve 20. günlerinde önemli (P<0,05) bulunmuştur. Elde edilen veriler göre; TGase enzimi ilavesinin ayran üretiminde serum ayrılmasını engellediği bulunmuştur. EPS üreten starter kültür ve

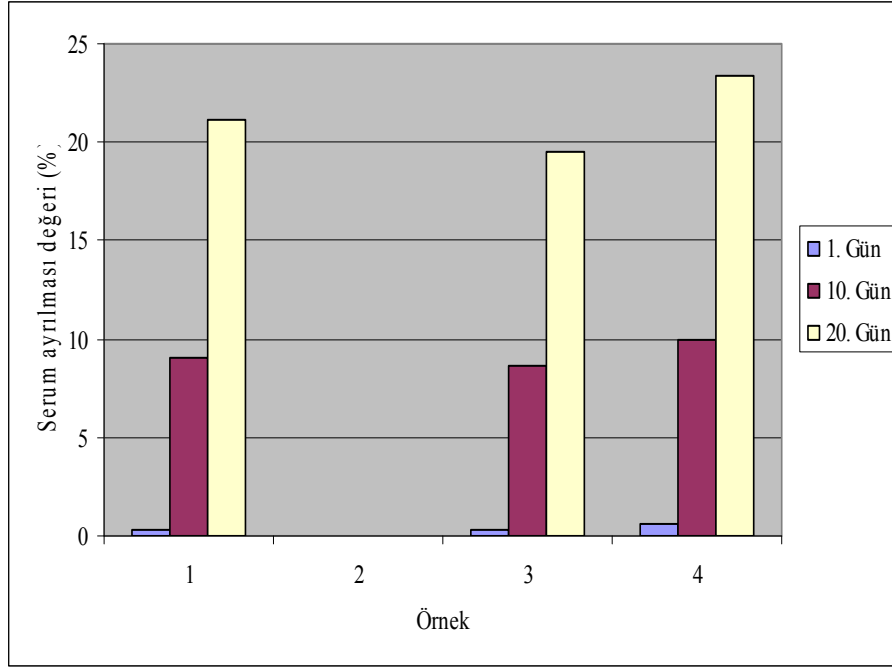
stabilizatör kullanımının ise ayran üretiminde serum ayrılmasını önemli orvea etkilemediği tespit edilmiştir. TGase enzimi katkılı örnek hariç diğer örneklerde depolama sürecinde serum ayrılmasında artış gözlenirken enzim ilavesinin depolamada da serum ayrılmasını engellediği tespit edilmiştir (Şekil 4.39).

EPS üreten starter kültür kullanılan 3 nolu örnekte belirlenen serum ayrılması miktarının depolamanın 1. gününde 1 nolu kontrol örneği ile aynı, depolamanın 10 ve 20. günlerinde ise önemsiz sayılabilecek düzeyde az olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.28) EPS üreten starter kültür kullanılan yoğurtlarla yapılan benzer bir çalışmada; Folkenberg vd. (2006) en belirgin serum ayrılmasının EPS üreten starter kültür içeren yoğurt örneklerinde gözlendiğini tespit etmişlerdir.

Literatürlerde ayran üretiminde polisakkarit materyal üreten starter bakteri suşları kullanımının serum ayrılmasında kesin bir iyileştirme sağlamadığı, bu durumun; seyreltme nedeniyle ayrvea protein miktarında meydana gelen göreceli azalma ve fermantasyon sonrası ayrana uygulanan mekanik karıştırma ile açıklanabildiği bildirilmektedir (Kılıç vd. 2004, Özer 2006).

Stabilizatör katkılı 4 nolu örnekte serum ayrılmasının kontrol örneğinden bile daha fazla olduğu gözlenmiştir. Bu durum; araştırmada kullanılan stabilizatör miktarının serum ayrılmasını azaltacak düzeyde olmamasıyla açıklanmaktadır. Araştırmada kullanılan stabilizatör miktarı belirlenirken üründe karakteristik olmayan tat-aroma oluşumunun engellenmesi esas alınmıştır.

Stabilizatörler serum ayrılmasını önlemek için ayrvea kullanılabilirler. Yeterli miktarda kullanıldıkları zaman serum ayrılmasının gözardı edilebilecek düzeye düşmesine neden olabilecekleri bildirilmektedir. Bununla birlikte; kullanılacak stabilizatör miktarı ürünün tat-aromasını etkileyebileceği düzey dikkate alınarak belirlenmelidir (Köksoy vd. 2004).



Şekil 4.39 İkinci aşama ayran örneklerinin serum ayrılması değerlerindeki değişim

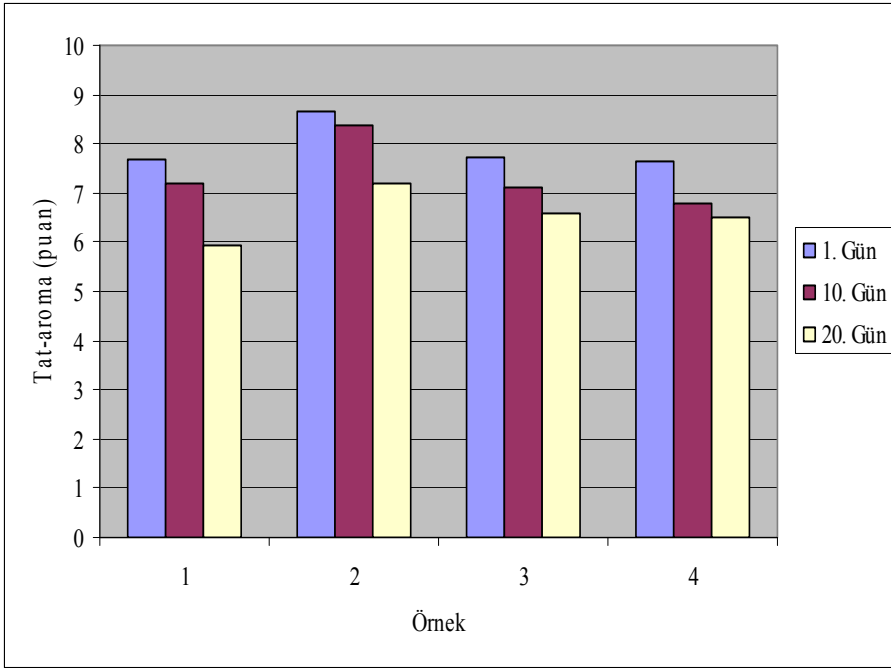
### Duyusal değerlendirme

Ayran örneklerine ait duyuşal değerlendirme sonuçları Çizelge 4.29’de verilmiştir.

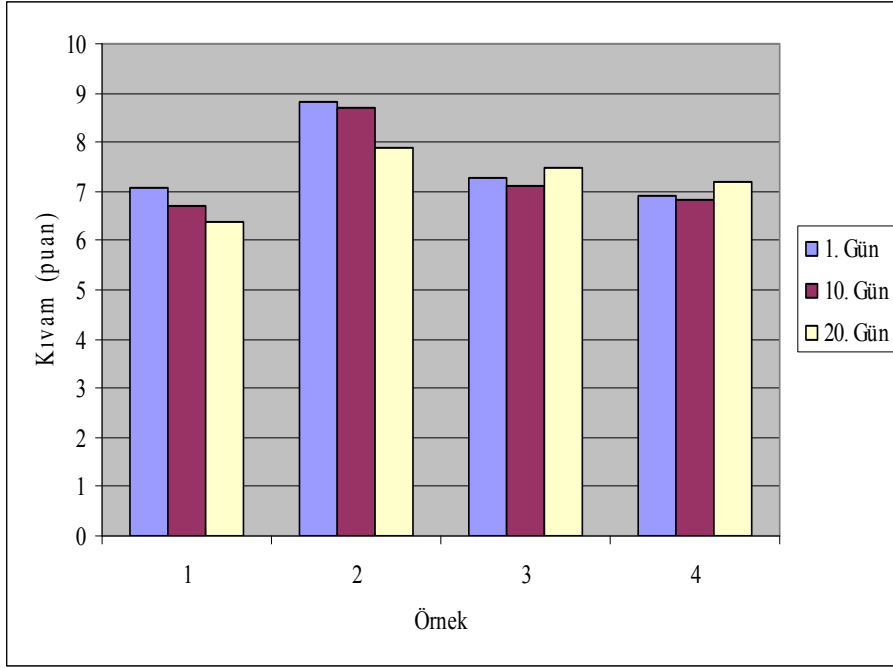
Çizelge 4.29 İkinci aşama ayran örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları (n=3)

Örnek	Depolama Süresi	Tat-Aroma	Kıvam	Genel
1	1. gün	7,67	7,07	7,47
	10. gün	7,2	6,37	6,9
	20. gün	5,93	7,47	6,37
2	1. gün	8,67	8,83	8,83
	10. gün	8,36	7,90	8,63
	20. gün	7,2	8,83	7,63
3	1. gün	7,73	7,10	7,73
	10. gün	7,13	7,47	7,17
	20. gün	6,6	7,73	7,07
4	1. gün	7,63	6,93	7,66
	10. gün	6,77	7,2	6,33
	20. gün	6,5	7,67	6,83

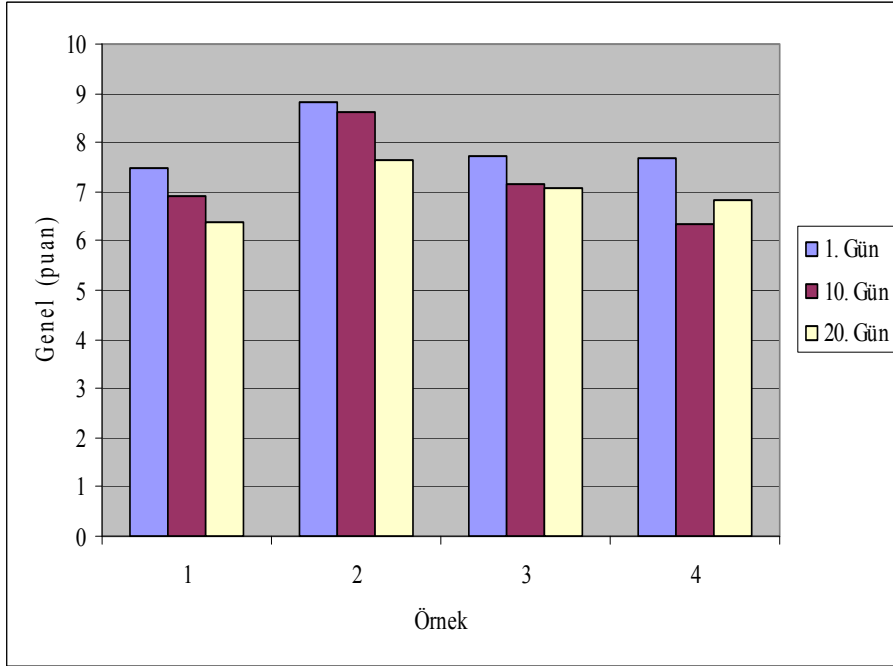
Tat-aroma, kıvam ve genel duyuşal değerlendirme sonuçlarına bakıldığında; TGase katkılı 2 nolu örneğin panelistler tarafından en yüksek puanı aldığı ve depolama sürecinde de durumun değişmediği (şekil 4.40-4.42) görülmüştür. EPS üreten kültür kullanılan 3 nolu örnek ve stabilizatör içeren 4 nolu örnekler ise kontrol örneğiyle benzer olarak değerlendirilmiştir. Kıvam puanlarına ait sonuçlar viskozite değerleri ile paralellik göstermektedir.



şekil 4.40 İkinci aşama ayran örneklerinin tat-aroma puanlarındaki değişim



Şekil 4.41 İkinci aşama ayran örneklerinin kıvam puanlarındaki değişim



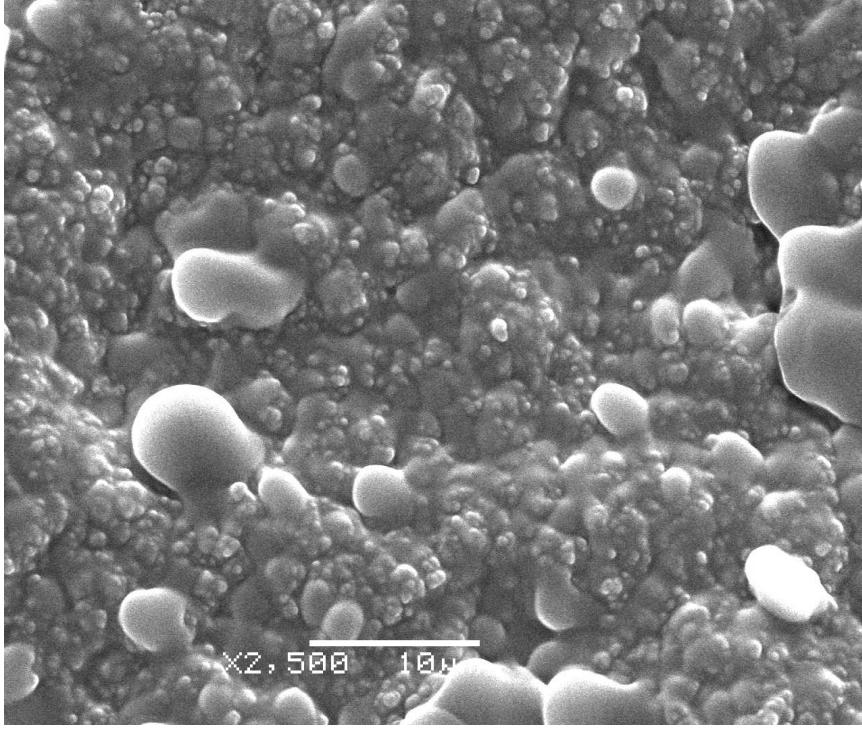
Şekil 4.42 İkinci aşama ayran örneklerinin genel duyuşsal puanlarındaki değişim

## **Mikrostrüktürel değerlendirme**

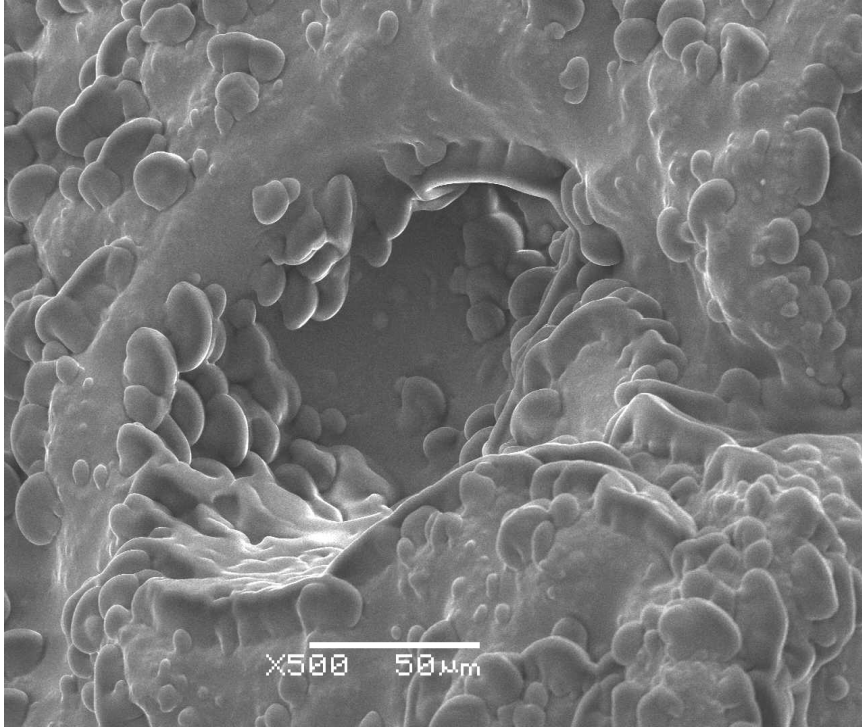
Ayran örneklerinin elektron mikroskobu görüntüleri Şekil 4.43-4.46'da verilmiştir. Stabilizatörlerin yoğurt ve benzeri fermente ürünlerde iki temel işlevi vardır. Bunlar; direkt olarak serbest suyu bağlama ve oluşturdukları matriks aracılığı ile suyun serbest dolaşımını sınırlamaktır. Stabilizatörlerin sahip olduğu bu özelliklerin mikrobiyel kökenli ekzopolisakkaritler içinde geçerli olduğu bildirilmektedir (Özer 2006). Bu durum; Şekil 4.45'de EPS üreten starter kültür ilaveli 3 nolu örnek ve Şekil 4.46'daki stabilizatör katkılı 4 nolu örneklere ait SEM görüntüleri arasındaki benzerliği açıklamaktadır. Ayrıca; bu örneklere ait viskozite ve serum ayrılması değerleri de bu görüntülerle paralel olarak benzer bulunmuştur.

TGase enzimi katkılı 2 nolu örneğe ait SEM görüntüsü incelendiğinde (Şekil 4.44); enzimin katalize ettiği protein-protein çapraz bağlanmasıyla oluşan protein kümelerinin düzgün şekilde bir araya gelmesi ve homojen bir jel yapısının şekillenmesi ile bu örnekte sıkı bir mikrostrüktürün elde edildiği görülmektedir. Benzer şekilde literatürlerde; TGase enzimi ile süt proteinlerinin modifikasyonunun proteinlerin fonksiyonel niteliklerinde önemli değişiklikler meydana getirerek jelleşmeyi geliştirdiği (Gauche vd. 2009), jelin mikroskobik incelenmesinde ise ağ yapısı içinde gözenek boyutunun azalması sonucu daha düzenli yapısal dağılımın meydana geldiği bildirilmektedir (Lorenzen vd. 2002)

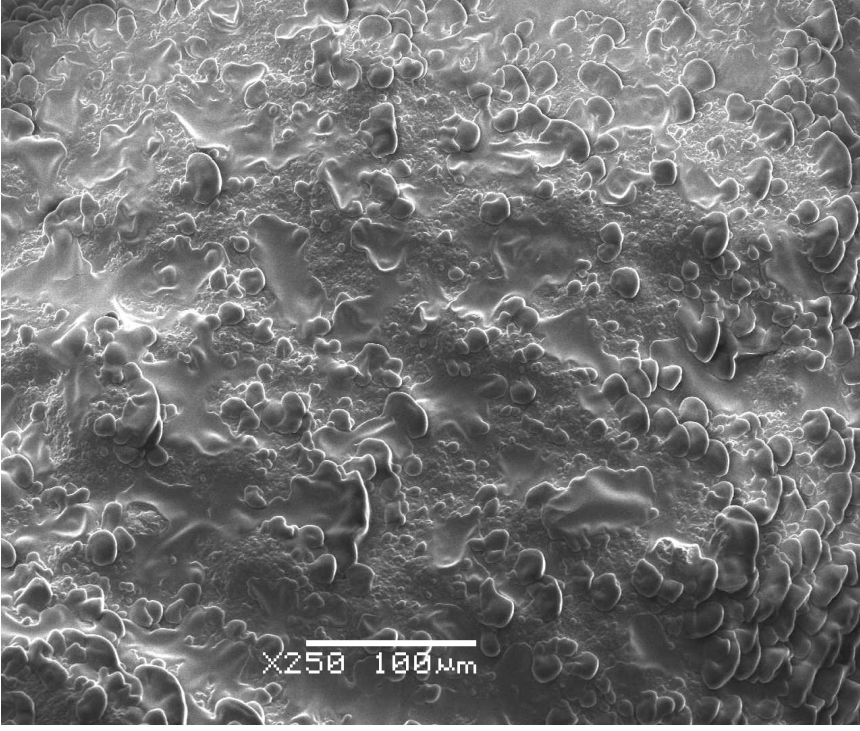
TGase, stabilizatör ve EPS üreten starter kültür katkılı her 3 örnekte de kontrol örneğinden daha iyi yapı elde edilmekle birlikte; en düzgün mikrostrüktürel yapının 2 nolu TGase enzimi katkılı örnekte elde edildiği gözlenmiştir.



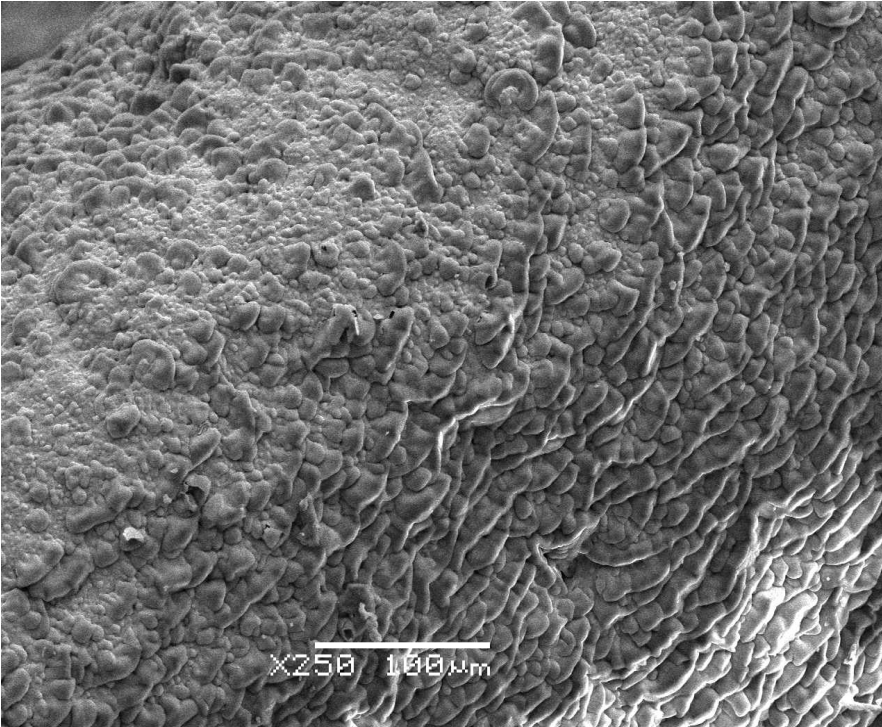
Şekil 4.43 1 nolu kontrol örneğinin SEM görüntüsü



Şekil 4.44 2 nolu TGase katkılı örneğinin SEM görüntüsü



Şekil 4.45 3 nolu EPS<sup>+</sup> içeren örneğin SEM görüntüsü



Şekil 4.46 4 nolu stabilizatör katkılı örneğin SEM görüntüsü

## Karbonil bileşenleri

Ayran örneklerinin temel aroma bileşenlerine ait değerler standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.30'de verilmiştir. Bazı örneklerin karbonil bileşenlerine ait kromatogramlar ise eklerde yer almaktadır.

Çizelge 4.30 İkinci aşama ayran örneklerinin karbonil bileşenleri (ppm) (n=3)

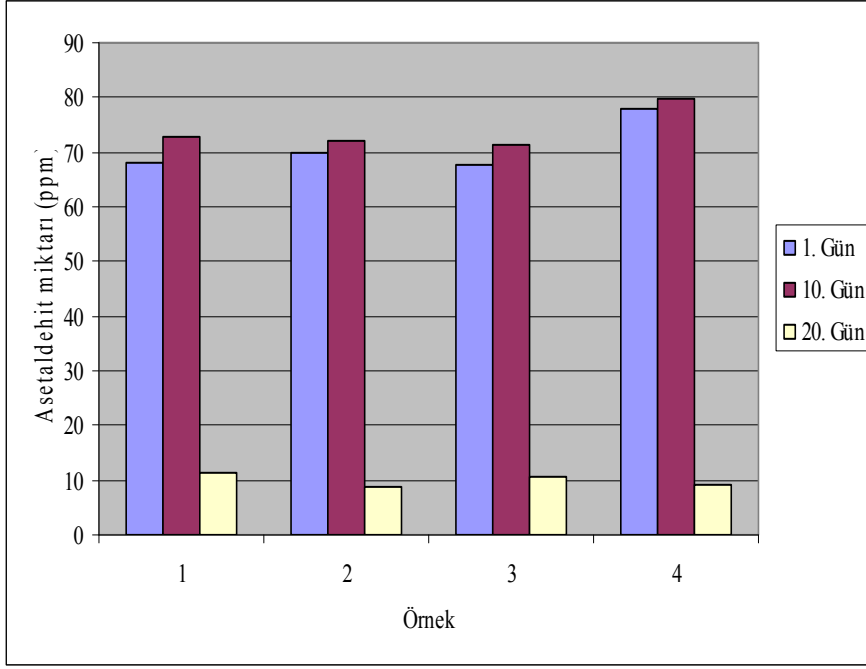
Asetaldehit	Depolama Süresi		
	1. Gün	10. Gün	20. Gün
<b>1</b>	68,22±0,110 <sup>a*</sup>	72,90±3,910 <sup>a*</sup>	11,20±2,260
<b>2</b>	69,78±3,540 <sup>a*</sup>	72,01±1,605 <sup>a*</sup>	8,85±1,073
<b>3</b>	67,54±3,130 <sup>a*</sup>	71,29±±0,316 <sup>a*</sup>	10,45±1,491
<b>4</b>	77,79±0,410 <sup>b*</sup>	79,65±0,290 <sup>b*</sup>	9,14±0,755
<b>Aseton</b>			
<b>1</b>	7,69±0,065	8,13±1,700	8,78±0,655
<b>2</b>	7,34±0,295	8,23±0,230	8,26±1,706
<b>3</b>	7,43±0,245	8,52±0,175	9,12±0,879
<b>4</b>	7,13±0,135	7,99±0,530	8,18±0,570
<b>Diasetil</b>			
<b>1</b>	20,98±4,520	24,11±5,260	17,81±1,050 <sup>a*</sup>
<b>2</b>	22,71±4,280	25,11±6,030	16,67±0,187 <sup>b*</sup>
<b>3</b>	21,91±4,970	28,61±0,520	18,13±0,535 <sup>a*</sup>
<b>4</b>	22,50±5,430	25,24±3,720	16,40±0,425 <sup>b*</sup>
<b>Bütanon-2</b>			
<b>1</b>	2,84±0,131	2,94±0,170	2,76±0,176
<b>2</b>	2,65±0,045	3,05±0,163	3,02±0,246
<b>3</b>	2,80±0,215	2,94±0,104	3,24±0,404
<b>4</b>	2,68±0,050	2,80±0,070	3,04±0,045

\* Aynı sütunda bulunan örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak P<0.05 düzeyinde önemlidir.

a b aynı sütundaki örnekler arası farklılığı göstermektedir.

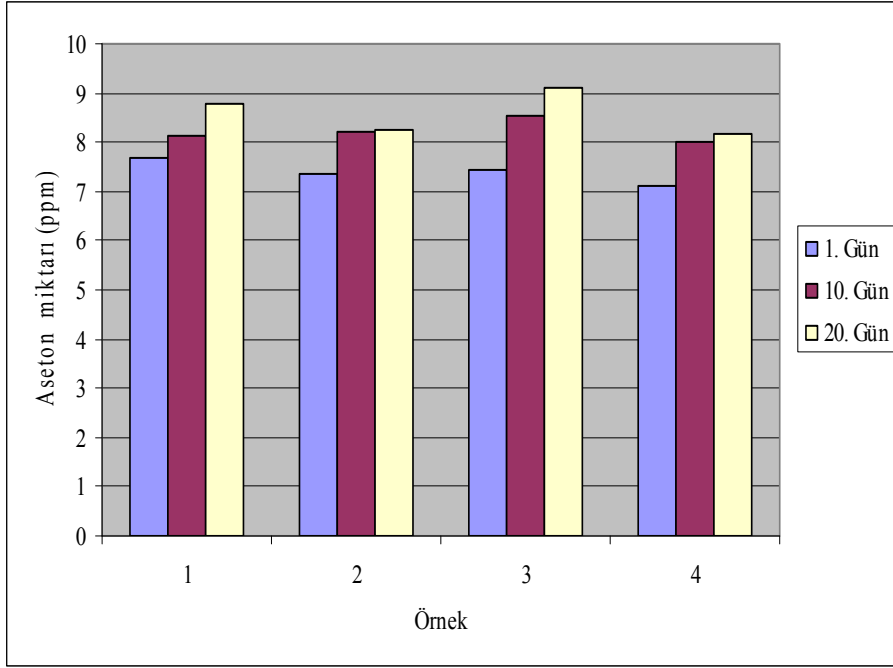
Ayran örneklerinin asetaldehit içerikleri arasındaki farklılık depolamanın 1 ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemli (P<0,05), 20. gününde ise önemsiz (P>0,05) bulunmuştur. Çizelge 4.31'deki veriler incelendiğinde; depolamanın 1 ve 10. günlerinde stabilizatör ilave edilen 4 nolu örnekte asetaldehit içeriği en yüksek olarak

belirlenmiştir. Bu durum Özer (2006) tarafında da bildirildiği gibi stabilizatör ilavesinin aroma maddeleri oluşumunu etkilemesiyle açıklanmaktadır. Diğer; TGase enzimi ve EPS üreten starter kültür katkı örneklerin asetaldehit içeriğinin ise kontrol örneğiyle benzer olduğu ve depolama sürecinde de tüm örneklerin asetaldehit içeriğindeki değişimin aynı olduğu bulunmuştur (Şekil 4.47).



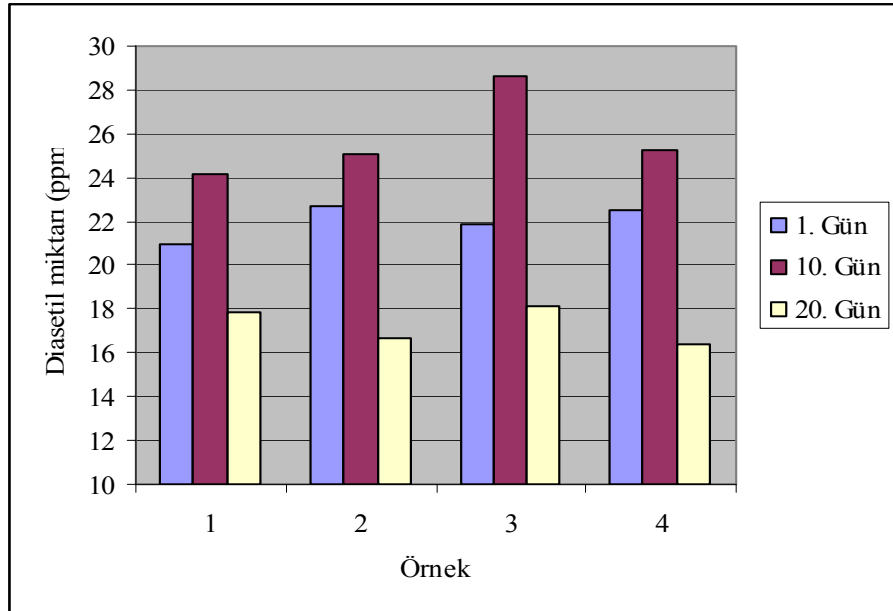
Şekil 4.47 İkinci aşama ayran örneklerinin asetaldehit içeriklerindeki değişim

Ayran örneklerinin aseton içerikleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz ( $P>0,05$ ) bulunmuştur.



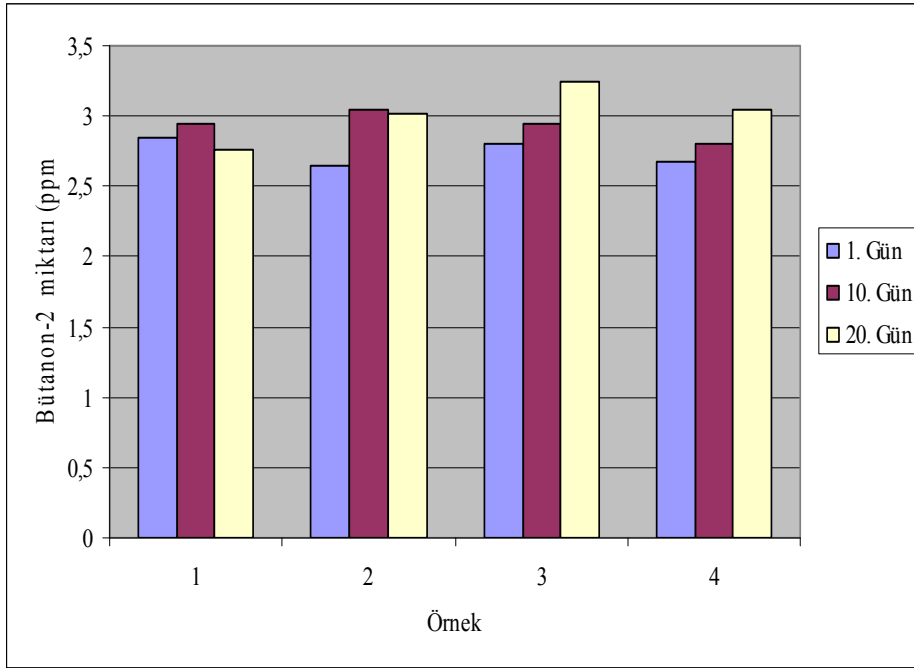
Şekil 4.48 İkinci aşama ayran örneklerinin aseton içeriklerindeki değişim

Ayran örneklerinin diasetil içerikleri arasındaki fark depolamanın 1ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemsiz ( $P>0,05$ ), 20. gününde ise önemli ( $P<0,05$ ) bulunmuştur.



Şekil 4.49 İkinci aşama ayran örneklerinin diasetil içeriklerindeki değişim

Ayran örneklerinin bütanon-2 içerikleri arasındaki fark istatistiksel açıdan önemsiz ( $P>0,05$ ) bulunmuştur.



Şekil 4.50 İkinci aşama ayran örneklerinin bütanon-2 içeriklerindeki değişim

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Çalışmamız sonucunda ayran üretiminde TGase enzimi ilavesinin enzimin katalize ettiği süt proteinlerinin çapraz bağlanması sonucunda ürünün teknofonksiyonel niteliklerini olumlu yönde geliştirdiği bulunmuştur.

Gerçekleştirilen bu çalışmanın birinci aşamasında; geleneksel yöntemle ve sütü sulandırarak ayran üretiminde TGase enzimi kullanımının ürünün kalite kriterleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu deneme sonucunda her iki yöntemle ayran üretiminde de TGase enzimi ilavesinin olumlu sonuç verdiği, bununla birlikte; sütü sulandırarak ayran üretiminde alınan sonuçların daha üstün olduğu belirlenmiştir. Sütü sulandırarak gerçekleştirilen ayran üretiminde elde edilen enzim ilaveli 2, 3 ve 4 nolu örnekler arasında da pastörizasyon sonrasında enzimle 1 saat inkübasyona bırakılan 3 nolu örnekte en yüksek viskozite değeri elde edilmiş ve serum ayrılması gözlenmemiştir.

Ayran örneklerine ait pH, titrasyon asitliği ve laktik asit düzeyleri incelendiğinde TGase enziminin anılan niteliklere önemli herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca; enzimin yoğurt starter bakterilerinin çalışmasını olumsuz yönde etkilemediği ve literatürlerde bildirilenlerin aksine çalışmada kullanılan enzim miktarında asitlik gelişiminde yavaşlamaya ve inkübasyon süresinde uzamaya neden olmadığı bulunmuştur.

Enzim katkılı ayran örnekleri duyuşal açıdan kontrol örneğiyle karşılaştırıldığında; tat- aroma, kıvam ve genel değerlendirme açısından panelistler tarafından daha fazla beğenildiği ortaya konmuştur.

Ayran örneklerine ait SEM görüntüleri incelendiğinde TGase enziminin ayran örneklerinin mikrostrüktürel yapısındaki etkisini açıkça ortaya koymuştur. Genel olarak bakıldığında TGase katkılı ayran örneklerinde kontrol örneğinden farklı olarak daha yüksek jel gücüyle sonuçlanan yapı içerisinde proteinlerin daha düzenli dağıldığı ve protein networkünde porozitenin azaldığı görülmüştür. Bu durum TGase enzimin

katalize ettiği protein-protein çapraz bağlanmasıyla oluşan protein kümelerini düzgün şekilde bir araya gelmesi ve homojen bir jel yapısının şekillenmesi ile açıklanmaktadır.

Ayran retiminde TGase enzimi, stabilizatör ve EPS üreten starter kültür kullanımının karşılaştırmalı olarak incelendiği çalışmanın ikinci aşamasında; EPS üreten starter kültür ve stabilizatör kullanımının ayranın tekstürel özelliklerinde olumlu yönde önemli herhangi bir değişiklik meydana getirmediği belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre TGase enziminin, ayran üretiminde stabilizatör ve EPS üreten starter kültür kullanımından çok daha üstün niteliklere sahip ürün üretimine olanak sağladığı tespit edilmiştir.

Araştırmanın tüm denemelerinde enzim ilaveli örneklerde tirozin değerinin diğer örneklere göre düşük olduğu bulunmuş ve enzimin süt proteinleri ile çapraz bağlanmasının proteoliz düzeyinde azalmayla sonuçları saptanmıştır.

Karbonil bileşenleri yönünden değerlendirildiğinde; enzim ilavesinin karbonil bileşenleri üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı saptanmıştır. Deneme örneklerinde enzim ilavesi ile ilişkilendirilebilecek herhangi bir fark tespit edilmemiştir.

Araştırmanın birinci aşamasında elde edilen sonuçlara göre; sütü sulandırarak ayran üretiminde transglutaminaz enzimi katkılı 3 nolu örnekte gerçekleştirilen pastörizasyondan sonra enzimle 1 saat inkübasyon en iyi niteliklere sahip ürün elde edilmesini sağlamıştır. Bununla birlikte, endüstriyel uygulamalarda iř sürekliliğinin sağlanması için zamanın önemli bir kriter olduğu düşünülürse, yine üründe önemli gelişmeler sağladığı belirlenen pastörizasyon işleminden sonra sütün enzimle 10 dakika inkübasyonu da endüstriyel uygulamalar için önerilebilir.

Araştırmamız sonucunda ayran üretiminde transglutaminaz enzimi kullanımı ile ilgili olarak önemli veriler elde edildiği, bu verilerin ayran üretiminde bulunan uygulayıcılara yol gösterici olacağı ve literatürde önemli bir kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- Anonim.1978. TS 3043 “Peynirde klorür miktarı tayini (Referans metot)” , Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonim.1990. TS 8189 “Süt-Yağ tayini-Gerber metodu”, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonymous.1993. Milk determination of nitrogen content, International Dairy Federation, IDF Standardı, Brussels.
- Anonim.2001. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği. Tebliğ no: 2001/21.
- Anonim.2002 . TS 1018 “ İnek Sütü-Çiğ”, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonim.2003. TS 3810 “ Ayrın- Kısa Ömürlü”, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Anonim.2009. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği, Tebliğ no:25, Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
- Atamer, M., Yıldırım ve M., Dağlıoğlu, O. 1993. Set ve SüzmeYoğurtlarının depolama sürecindeki tat-aroma değişimi üzerine asitlik gelişimi, lipoliz, oksidasyon ve proteolizin etkisi, Doğa-Tr. J. of Veterinary ve Animal Science, 17, 49-53.
- Atamer, M. ve Sezgin, E. 1986. Yoğurtlarda kurumaddearttırımının fiziksel özellikler üzerine etkisi, Gıda Dergisi, 11, 327-331.
- Atamer, M., Gürsel, A. ve Yıldırım, G. 1995. Yoğurt yapımında kullanılan stabilizatörler, III. Milli Süt ve Süt Ürünleri Sempozyum Kitabı, İstanbul-Türkiye, Ss: 429.
- Bae, H.J., Darby, D. O., Kimmel, R.M., Park, H.J. and Whiteside, W.S. 2009. Effects of transglutaminase-induced cross-linking on properties of fish gelatin-nanoclay composite film. Food Chemistry, 114, 180-189.
- Bodyfelt, F.W. 1988. The sensory evulation of dairy products. An AVI Book Published by Van Nostrve Reinhold, New York, 598 p.
- Bönisch, M.P., Huss, M., Weitzl, K. and Kulozik, U. 2007. Transglutaminase cross-linking of milk proteins ve impact on yoghurt gel properties. Int. Dairy Journal, 17,1360-1371.
- Bönisch, M.P., Heidebach, T.C. and Kulozik, U. 2008. Influence transglutaminase protein cross-linking on the rennet coagulation of casein. Food Hydrocollids, 22, 288-297.
- Dickinson, E. and Yamamoto, Y. 1996. Reology of milk protein gels ve protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. J. Agric. Food Chem., 44, 1371-1377.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, U. ve Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve deneme metotları (İstatistik metotları-II). Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları, Yayın no:1021, Ankara, 382 sy.
- Engez, S.T., Uğur, H. ve Karagülle, B. 2006. Ayrın üretiminde çeşitli kıvam vericilerin kullanım olanaklarının araştırılması. C. B. Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 2.2, 129-134.
- Faergamve, M., Sorensen, M., Jorgensen, U., Budolfsen, G. and Qvist, K. B. 1999a. Transglutaminase: effect on instrumental ve sensory texture of set style yoghurt. Milchwissenschaft, 54, 10, 563-566.
- Faergamve, M., Murray, B.S., Dickinson, E. and Qvist, K.B. 1999b. Cross-linking of absorbed casein films with transglutaminase. International Dairy Journal, 9, 343-346.

- Faergamve, M., Otte, J. and Qvist, K.B. 1998. Emulsifying properties of milk proteins cross-linked with microbial transglutaminase. *Int. Dairy Journal*, 8, 715-723.
- Farnsworth, J.P., Li, J. and Guo, M.R. 2003. Improved structure ve consistency of probiotic's milk yogurt. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 58, 2, 187.
- Feeney, R.E. and Whitaker, J. R. 1988. Importance of cross-linking reactions in proteins. *Advances in Cereal Science ve Technology*, IX, 21-43.
- Folkenberg, D.M., Dejmek, P., Skriver, A., Gouldager, H.S. and Ipsen, R. 2006. Sensory ve rheological screening of exopolysaccharide producing strains of bacterial yoghurt cultures. *International Dairy Journal*, 16, 111-118.
- Gauche, C., Vieira, J.T.C., Ogliari, P.J. and Bordignon-Luiz, M.T. 2008. Crosslinking of milk whey proteins by transglutaminase. *Process Biochemistry*, 43, 788-794.
- Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P. L. M., Ogliari, P. J. and Bordignon-Luiz, M. T. 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey ve transglutaminase. *LWT-Food Science ve Techology*, 42, 239-243.
- Gerrard, J.A. 2002. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. *Trends in Food Science ve Technology*, 13, 389-397.
- Hassan, A.N., Frank, J.F. and Elsoda, M. 2003. Observation of bacterial exopolysaccharide in dairy products using cryo-scanning electron microscopy. *International Dairy Journal*, 13, 755-762.
- Hayat, M.A. 1981. Principles ve techniques of electron microscopy - Vol. 1, Edward Arlond Lt., London, 522 p.
- Heidebach, T., Först, P. and Kulozik, U. 2009. Transglutaminase-induced caseinate gelation for the microencapsulation of probiotic cells. *International Dairy Journal*, 19, 77-84.
- Hinz, K., Huppertz, T., Kulozik, U. and Kelly, A.L. 2007. Influence of enzymatic cross-linking on milk fat globules ve emulsifying properties of milk proteins. *Int. Dairy Journal*, 17, 289-293.
- Hull, M. E. 1947. Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J. Dairy sci.* , 30, 881-884.
- Imm, J.Y. and Lee, C.M. 2000. Gelation ve water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. *Food Chemistry ve Toxicology*, 65, 2, 200-205.
- Jong, G.A.H. and Koppelman, S. J. 2002. Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications. *Journal of Food Science*, 67, 8, 2798-2806.
- Kılıç, M., Köksoy, A. and Özdemir, Ü. 2004. Factors affecting textural properties of ayran, *International Dairy Symposium Book, Isparta-Türkiye*, 386 p.
- Kırmacı, H. A., Özer, B. and Türkoğlu, H. 2004. Effect of enzymatic cross-linking of proteins on textural properties of non-fat yoghurt, *International Dairy Symposium Book, Isparta-Türkiye*, 386 p.
- Köksoy, A. ve Kılıç, M. 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, ayran. *Food Hydrocolloids*, 18, 593-600,
- Kuraishi, C., Katsutoshi, Y. and Susa, Y. 2001. Transglutaminase: Its utilization in the food industry. *Food Reviews International*, 17, 2, 221-246.
- Kurth, L. and Rogers, P.J. 1984. Transglutaminase catalyzed crosslinking of myosin to soya protein, casein ve gluten, *J. Food Sci.*, 49, 573-589.
- Lauber, S., Henle, T. and Klostermeyer, H. 2000. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase ve the jel strength of yoghurt. *Eur Food Res Technol*, 210, 305-309.

- Lauber, S., Noack, I., Klostermeyer, H. and Henle, T. 2001a. Oligomerization of  $\beta$ -lactoglobulin by microbial transglutaminase during high pressure treatment. *Eur. Food Res. Technol.*, 213, 246-247.
- Lauber, S., Noack, I., Klostermeyer, H. and Henle, T. 2001b. Stability of microbial transglutaminase to high pressure treatment. *Eur. Food Res. Technol.*, 213, 273-276.
- Lorenzen, P.C. 2000. Techno-functional properties of transglutaminase-treated milk proteins. *Milchwissenschaft*, 55, 12, 667-670.
- Lorenzen, P.C. and Schlimme, E. 1998. Properties and potential fields of application of transglutaminase preparations in dairying. *International Dairy Federation-332*, 47-53.
- Lorenzen, P.C., Neve, H. and Mautner Schlimme, E. 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55,3 152-157.
- Lorenzen, P.C. and Neve, H. 2003. Enzymatic crosslinking of protein in the manufacture of fermented milk. *International Dairy Federation - Fermented Milk*, 241-249.
- Motoki, M., Aso, H., Seguro, K. and Nio, N. 1986.  $\alpha_{S1}$ -kazein film prepared using transglutaminase. *Agric. Biol. Chem.*, 51, 993-996.
- Motoki, M. and Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 204-210.
- O'Sullivan, M.M., Lorenzen, P.C., O'Connell, J.E., Kelly, A.L., Schlimme, E. and Fox, P.F. 2001. Short communication: Influence of transglutaminase on the heat stability of milk. *J. Dairy Sci.*, 84, 1331-1334.
- O'Sullivan, M.M., Kelly, A.L. and Fox, P.F. 2002. Effect of transglutaminase on the heat stability of milk: a possible mechanism. *J. Dairy Sci.*, 85(1), 1-7.
- Öner, Z., Karahan, A.G., Aydemir, S. and Aloğlu, H. 2004. Effect of transglutaminase on physicochemical properties of set-style yoghurt, *International Dairy Symposium Book, Isparta-Turkey*, 386.
- Özer, B. 2006. *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*, Sidas Medya LTD. STİ., İzmir, 488 sy.
- Özer, B., Kırmacı, H.A., Öztekin, Ş., Hayaloğlu, A. and Atamer, M. 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*, 17, 2, 199-207.
- Özrenk, E. 2006. The use of transglutaminase in dairy products. *International Journal of Dairy Technology*, 59,1, 1-7.
- Özünlü Tamuçay, B., Koçak, C. ve Aydemir, S. 2007. Ayran stabilitesini etkileyen faktörler, *Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no:35*, Ankara, 43 sy.
- Partanen, R., Autio, K., Myllarinen, P., Lille, M. and Forsell, P. 2008. Effect of transglutaminase on structure and syneresis of neutral and acidic sodium caseinate gels. *International Dairy Journal*, 18; 414-421.
- Pereira, R.B., Singh, H., Munro, P.A. and Luckman, M.S. 2003. Sensory and instrumental textural characteristics of acid milk gels. *International Dairy Journal*, 13, 655-667.
- Renner, E. 1991. *Dictionary of milk and dairying*, Printing Pustet Resenburg, Germany, 384 p.
- Sakamoto, H., Kumazawa, Y. and Motoki, M. 1994. Strength of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. *Journal of Food Science*, 59, 4, 866-871.

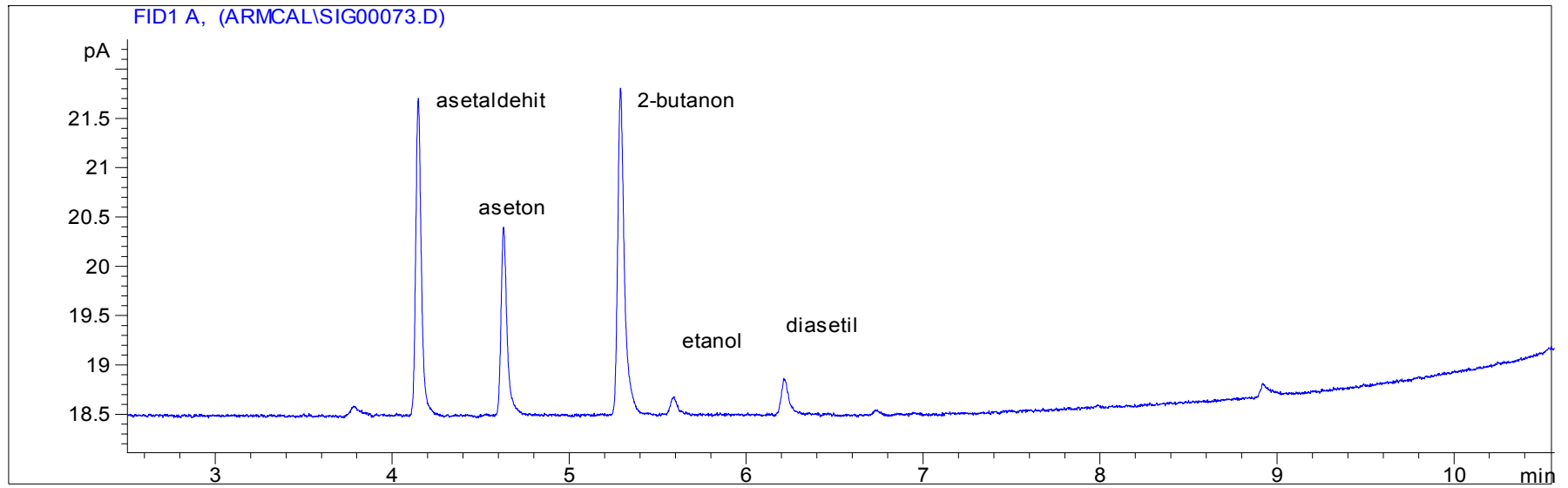
- Schey, A. 2003. Texture improvement of fermented dairy products by enzymatic crosslinking with transglutaminase. International Dairy Federation, Fermented Milk, 371-376.
- Shorsch, C., Carrie, H., Clark, A.H. and Norton, I.T. 2000. Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels. Int. Dairy Journal, 10, 519-528.
- Sharma, R., Lorenzen, P.C. and Qvist, K.B. 2001. Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl)lysine ve the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. Int. Dairy Journal, 11, 785-793.
- Sharma, R., Zakora, M. and Qvist, K.B. 2002. Susceptibility of an industrial  $\alpha$ -lactalbumin concentrate to crosslinking by microbial transglutaminase. Int. Dairy Journal, 12, 1005-1012.
- Steinsholt, K. and Calbert, H.E.A. 1996. Rapid colorimetric method for determination of lactic acid in milk ve milk products, Milchwissenschaft, 15,7-10.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1985. Yoghurt: Science ve Technology, Background to Manufacturing Practice, Oxford, 431 p.
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1999. Yoghurt Science ve Technology, Second Edition , Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 619 p.
- Tunail, N. 1978. Starter olarak kullanılan laktik asit bakterileri ile beyaz peynirlerden izole edilen bazı bakterilerin önemli fizyolojik özellikleri üzerine araştırmalar. Doçençlik Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara.
- Ulbert, F. 1991. Headspace gas chromatographic estimation of some yogurt volatiles. Journal. Assoc. Off. Anal. Chem., 74, 630-634.
- Ya-Tanimoto, S. and Kinsella, E.J. 1988. Enzymatic modification of proteins:Effects of transglutaminase cross-linking on some physical properties of  $\beta$ -lactoglobulin. J. Agric. Food Chem., 36, 281-285.
- Yıldırım, M., Hettiarachchy, N.S. and Kalapathy, U. 1996. Properties of biopolymers from cross-linking whey protein isolate ve soybean 11S globulin. Journal of Food Science, 61, 6, 1129-1132.
- Yüksel, Z. 2007. Transglutaminazın süt proteinlerinin bazı işlevsel özelliklerinin değişimi üzerine etkisi ve yoğurt ve peynire uygulanabilirliği. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Müh. Anabilim Dalı, Ankara.
- Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J. and Bol, J. 1995. Microbial transglutaminase- a review of its production ve application in food processing. Appl. Microbial Biotechnol, 44, 277-282.

## EKLER

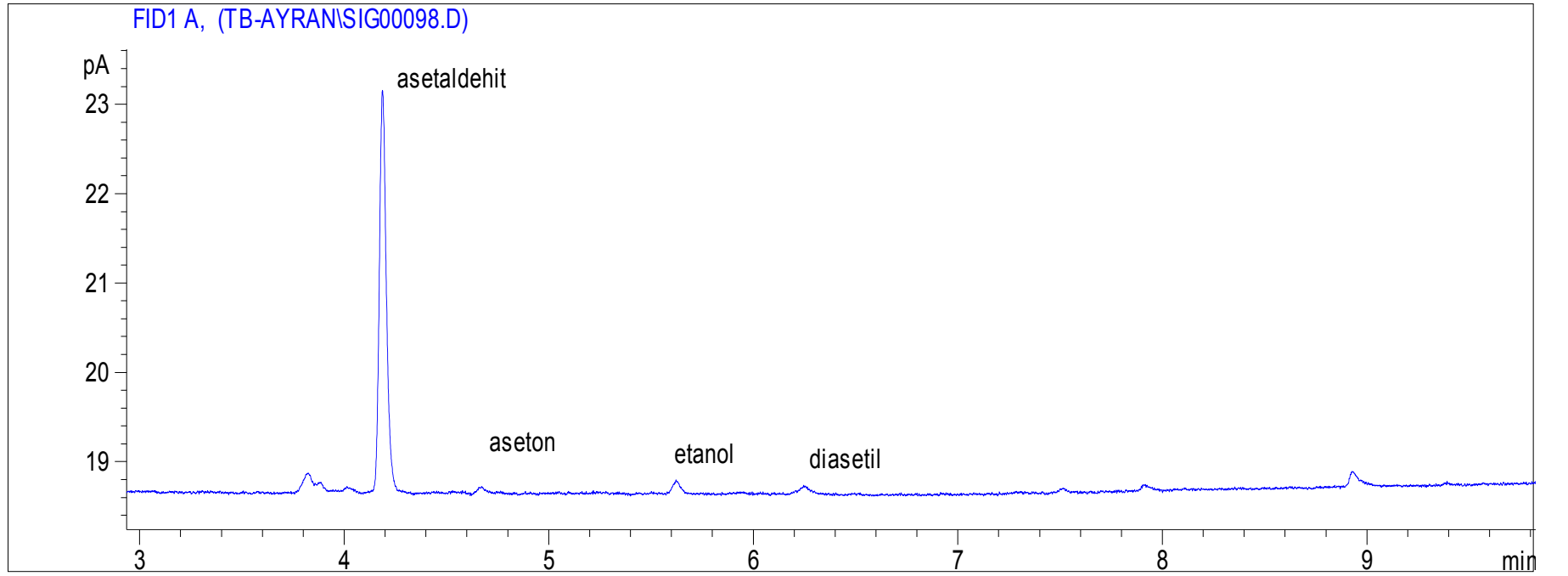
- EK 1 Adı:** Aroma bileşenlerine (asetaldehit, aseton, butanon-2, etanol, diasetil) ait standart kromatogram
- EK 2 Adı:** Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 3 Adı:** Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 2 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 4 Adı:** Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 3 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 5 Adı:** Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 4 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 6 Adı:** Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram
- EK 7 Adı:** Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 2 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram
- EK 8 Adı:** Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 3 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram
- EK 9 Adı:** Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 4 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram
- EK 10 Adı:** İkinci aşama 1 nolu kontrol örneğinin 2'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 11 Adı:** İkinci aşama 2 nolu TGase enzimi içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 12 Adı:** İkinci aşama 3 nolu EPS üreten starter kültür içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 13 Adı:** İkinci aşama 4 nolu stabilizatör içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram
- EK 14 Adı:** Duyusal değerlendirme tablosu

Ek 1 Aroma bileşenlerine (asetaldehit, aseton, butanon-2, etanol, diasetil) ait standart kromatogram

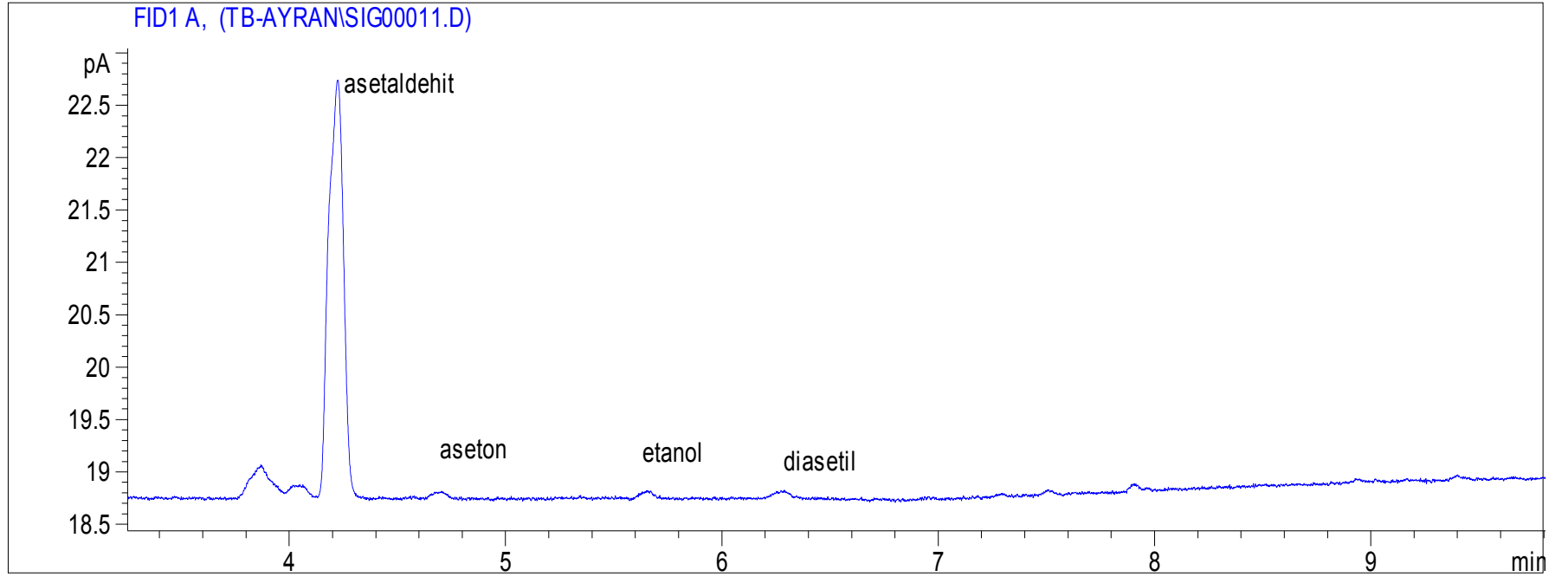
100



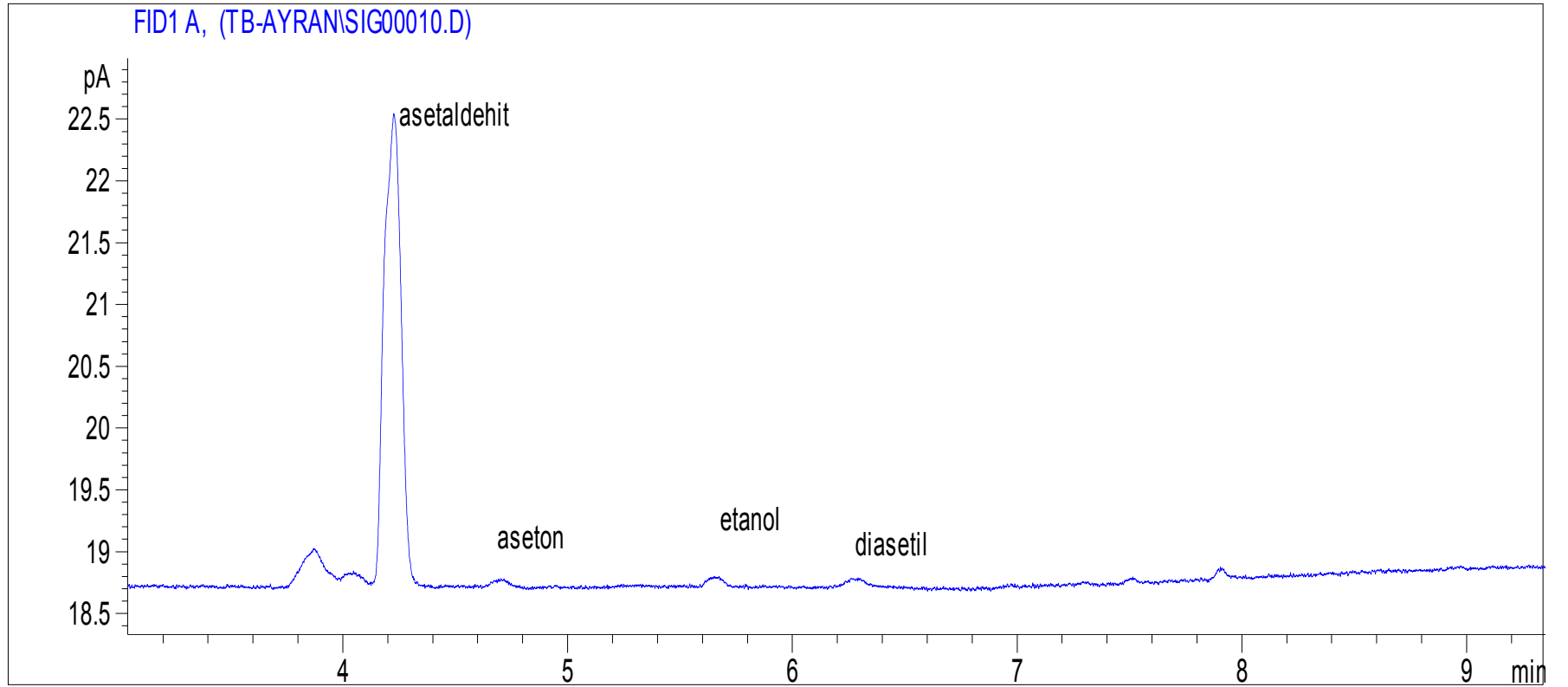
Ek 2 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



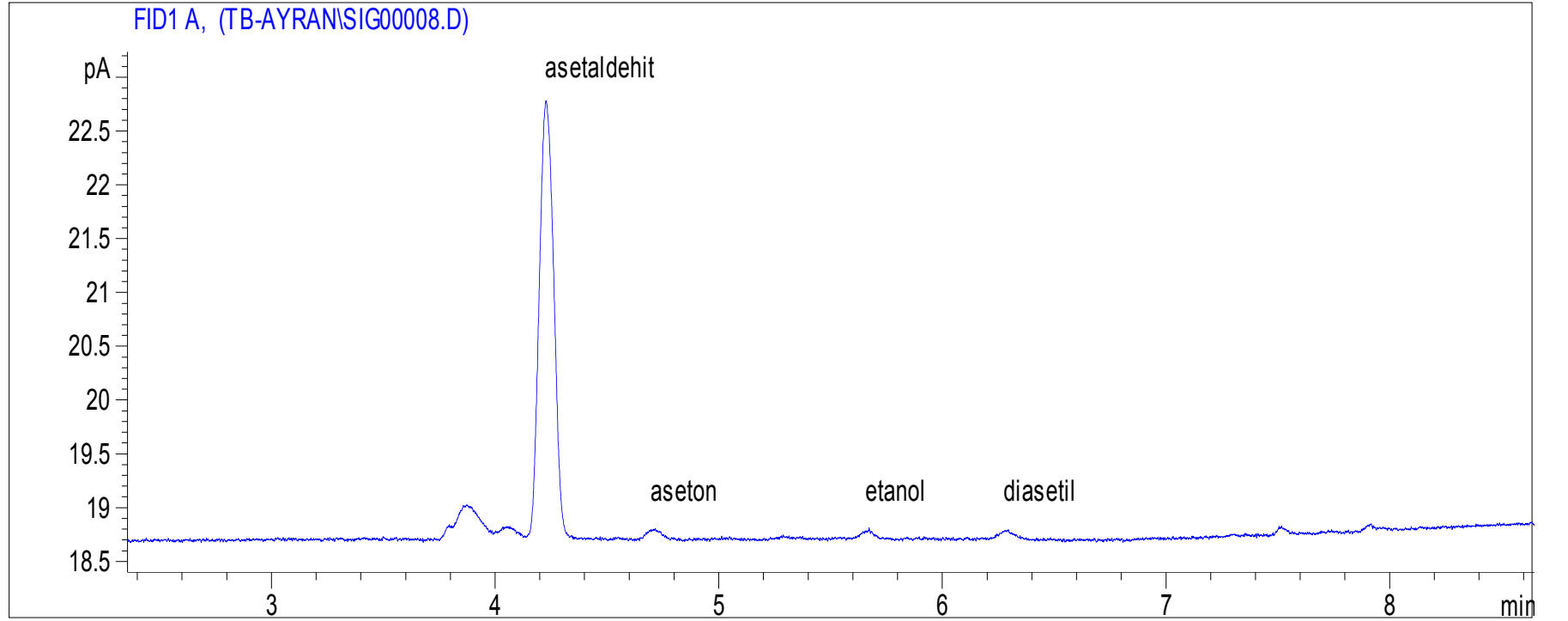
Ek 3 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 2 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



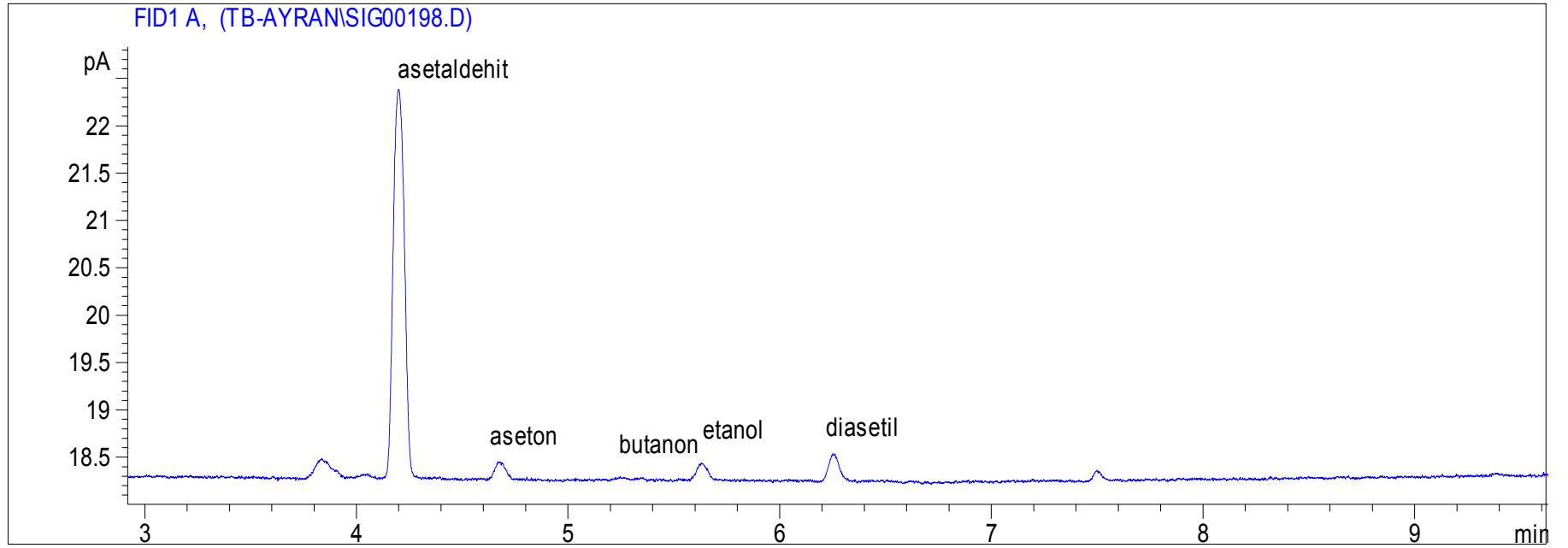
Ek 4 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 3 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogra



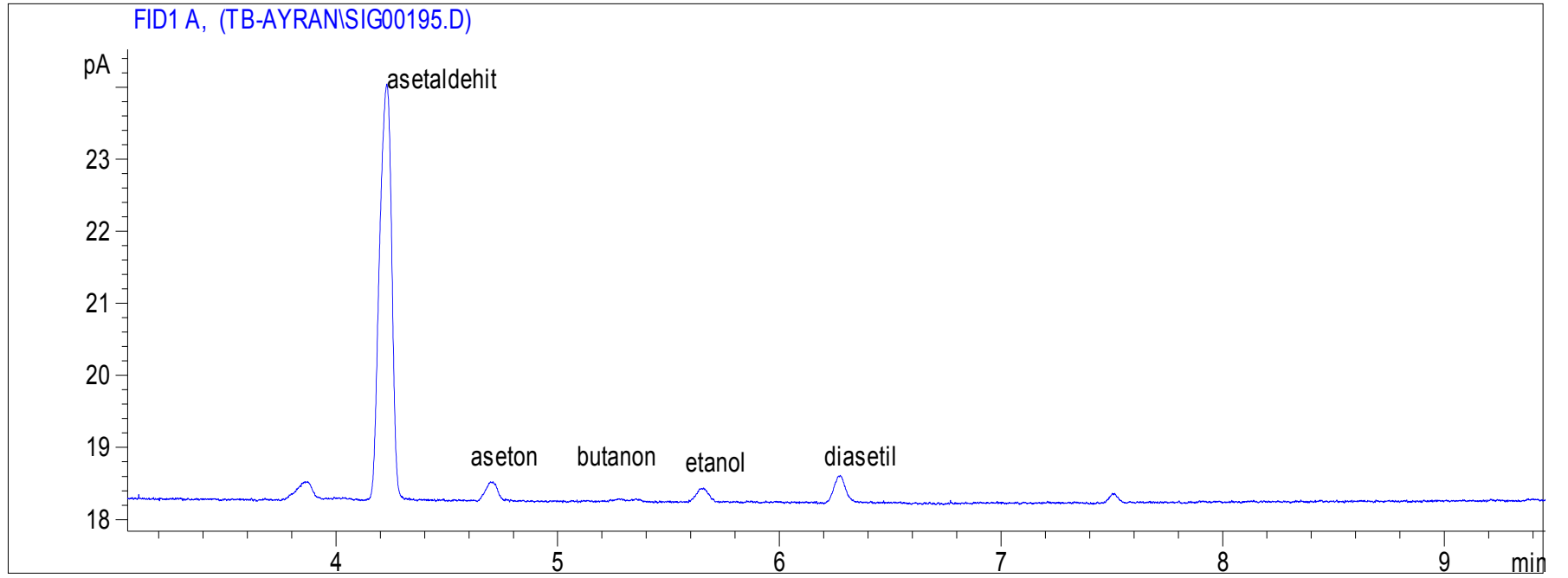
Ek 5 Birinci aşama geleneksel yöntemle üretilen 4 nolu ayran örneğinin 1'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



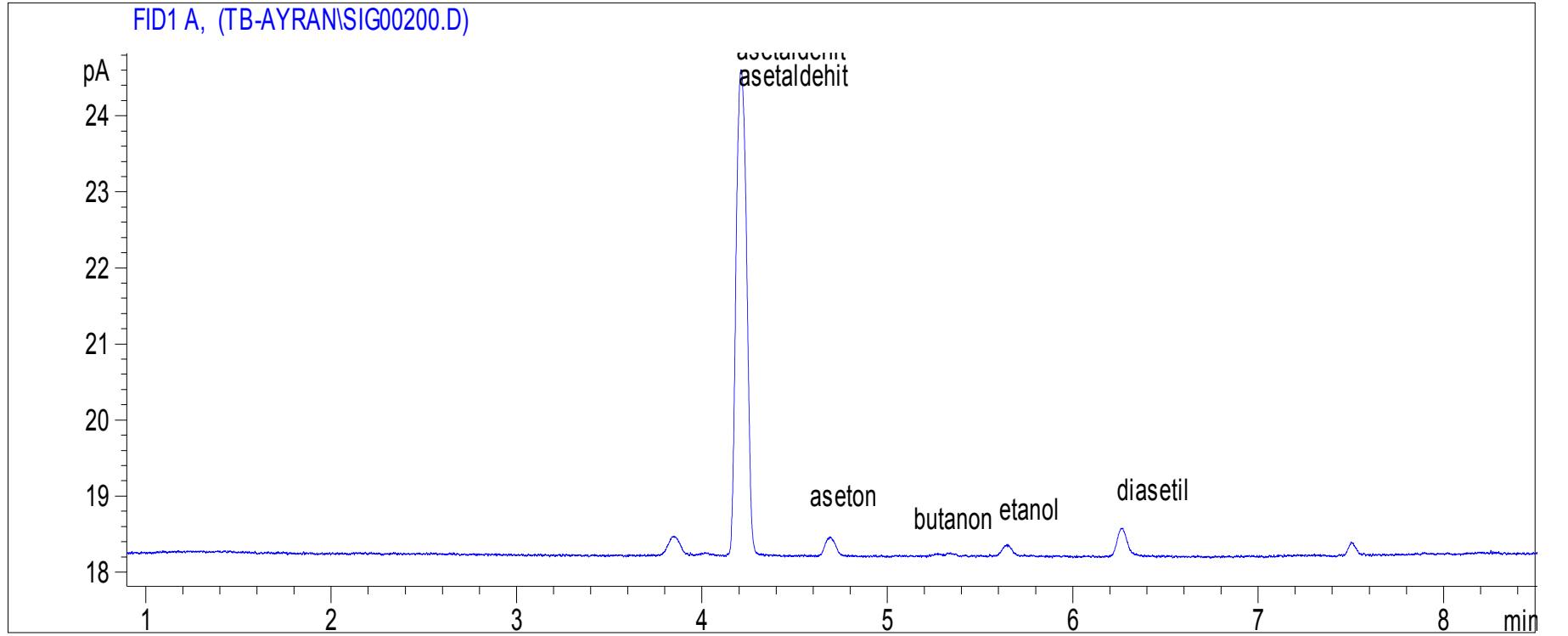
Ek 6 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 1 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram



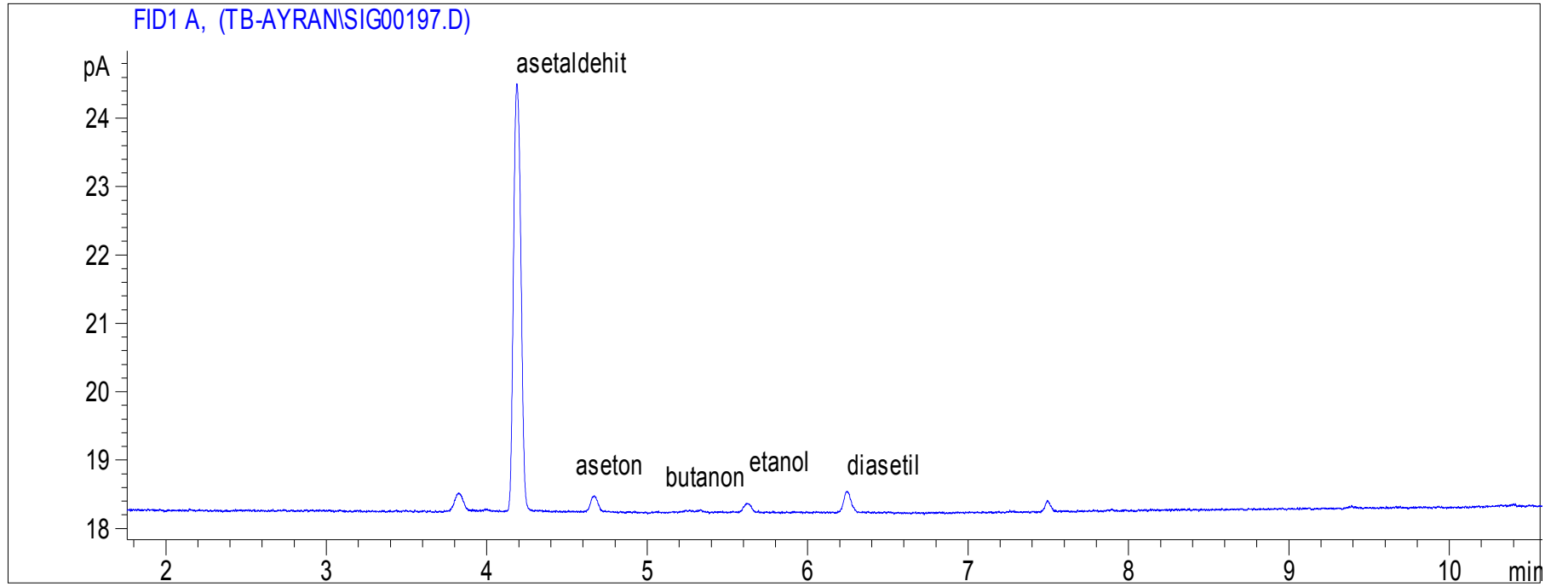
Ek 7 Birinci şama sütü sulandırarak üretilen 2 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram



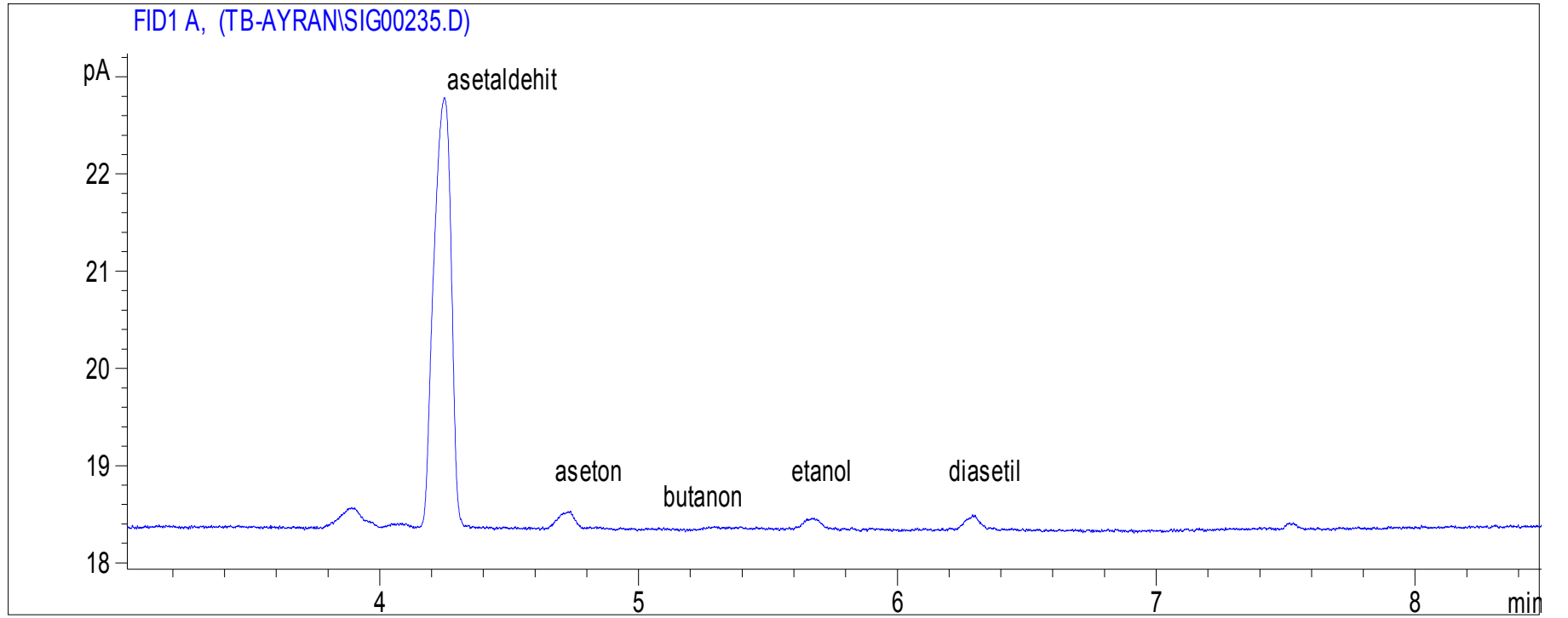
Ek 8 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 3 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram



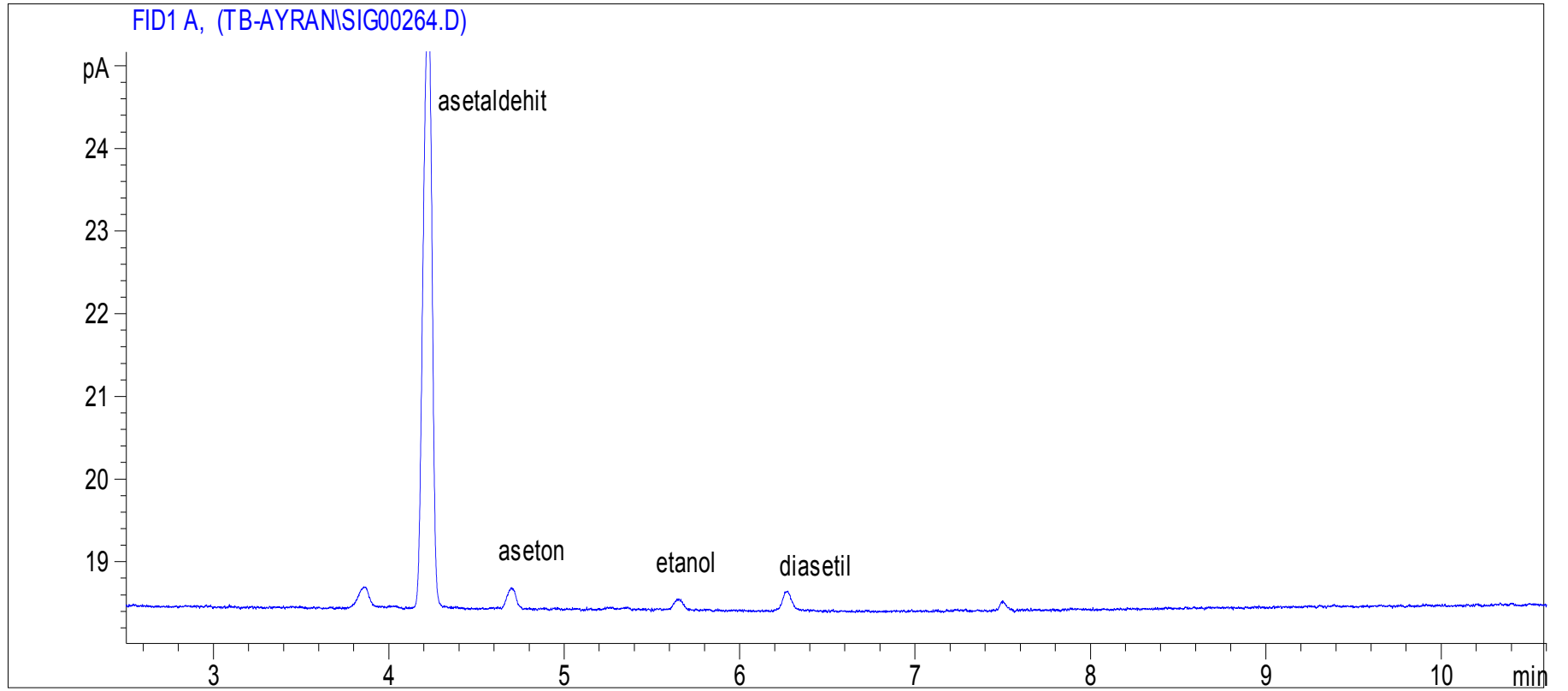
Ek 9 Birinci aşama sütü sulandırarak üretilen 4 nolu ayran örneğinin 3'üncü tekerrür 10'uncu gününe ait kromatogram



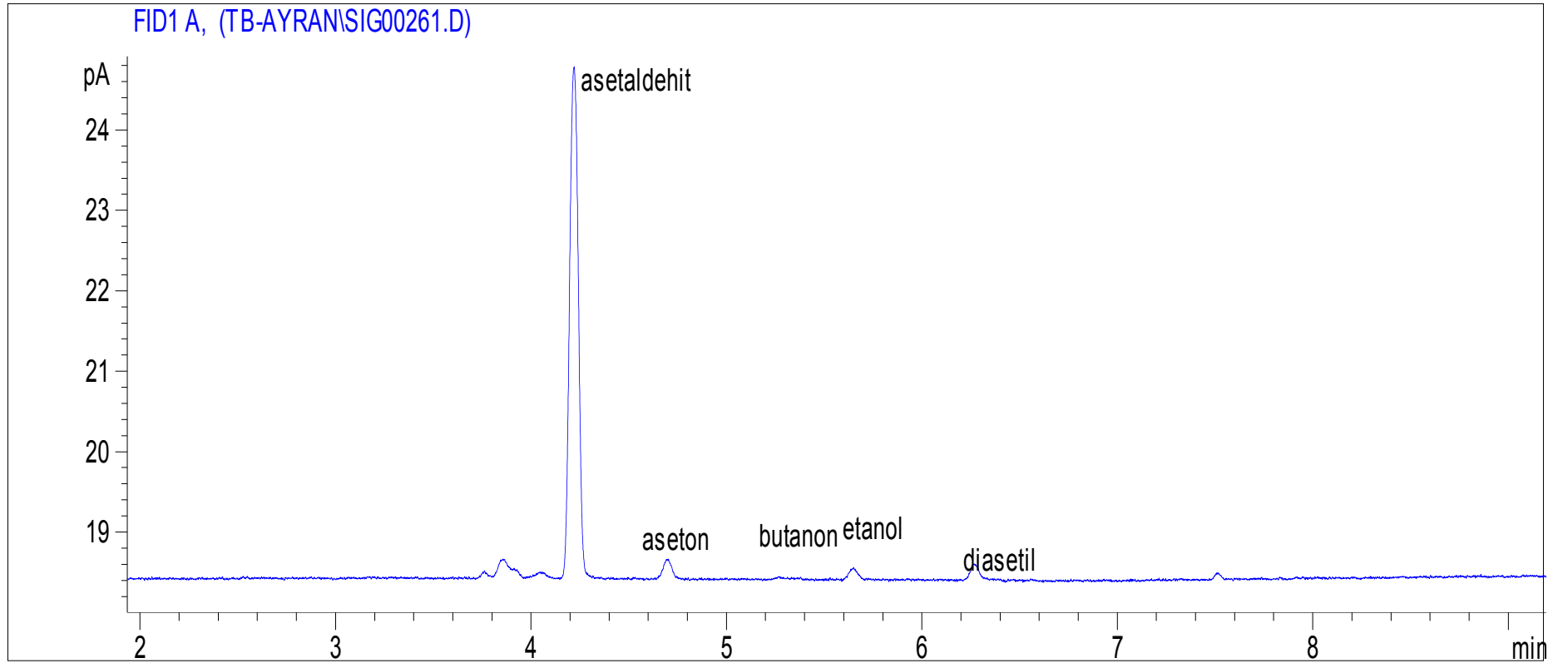
Ek 10 İkinci aşama 1 nolu kontrol örneğinin 2'inci tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



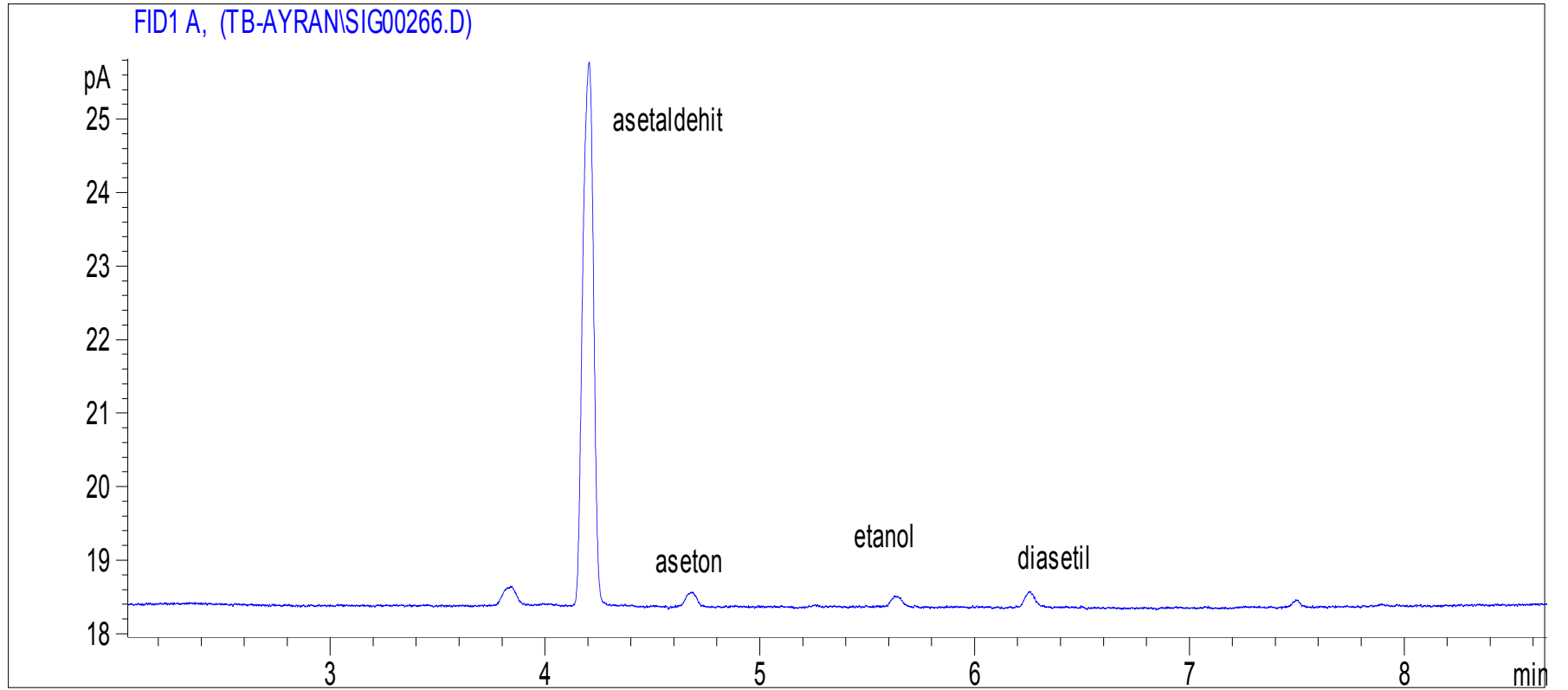
Ek 11 İkinci aşama 2 nolu TGase enzimi içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



Ek 12 İkinci aşama 3 nolu EPS üreten starter kültür içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



Ek 13 İkinci aşama 4 nolu stabilizatör içeren örneğin 3'üncü tekerrür 1'inci gününe ait kromatogram



## Ek 14 Duyusal değerlendirme tablosu

Değerlendirme 10 puan üzerinden yapılacaktır.

Ürün Kodu				
Tat-Aroma				
Kıvam				
Genel				

Ürün hakkında varsa düşünceleriniz.....  
.....

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Tuba ŞANLI

Doğum Yeri : Düzce

Doğum Tarihi : 22.08.1977

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

### **Eğitim Durumu** (Kurum ve Yıl)

Lise : Gelibolu Lisesi (1991-1994)

Lisans : Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi (1995-2000)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt  
Teknolojisi Anabilim Dalı (2000-2004)

### Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Bölümü Araştırma Görevlisi  
(2002- )