

**UHT SÜT ÜRETİMİNDE FARKLI BASINÇLARDA
UYGULANAN ASEPTİK HOMOJENİZASYONUN VE
DEPOLAMA SICAKLIĞININ JELLEŞME SORUNU
ÜZERİNE ETKİSİ VE BU ETKİNİN YAPAY SİNİR AĞLARI
İLE İNCELENMESİ**

**A STUDY THROUGH ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS
ON THE EFFECT OF ASEPTIC HOMOGENIZATION
APPLIED IN DIFFERENT PRESSURES AND OF
STORAGE TEMPERATURE ON GELATION PROBLEM IN
UHT MILK**

SANEM YALÇINTAŞ GÜLBAŞ

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

GIDA Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

2007

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :
Prof. Dr. Emel SEZGİN

Üye (Danışman) :
Prof. Dr. İlbilge SALDAMLI

Üye :
Prof. Dr. Ferhunde US

Üye :
Prof. Dr. Ayhan TEMİZ

Üye :
Doç. Dr. İsmail Hakkı BOYACI

ONAY

Bu tez/...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Erdem YAZGAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

UHT SÜT ÜRETİMİNDE FARKLI BASINÇLARDA UYGULANAN ASEPTİK HOMOJENİZASYONUN VE DEPOLAMA SICAKLIĞININ JELLEŞME SORUNU ÜZERİNE ETKİSİ VE BU ETKİNİN YAPAY SİNİR AĞLARI İLE İNCELENMESİ

Sanem YALÇINTAŞ GÜLBAŞ

ÖZ

UHT sütün raf ömrü sürecinde protein destabilizasyonuna bağlı olarak gelişebilen jelleşme kusuru, ürünün raf ömrünün ve piyasa potansiyelinin sınırlandırılmasına yol açan, süt endüstrisinin önemli sorunlarından biridir. Bu çalışmada, UHT süt üretiminde vazgeçilmez basamaklardan biri olan aseptik homojenizasyonun, jelleşme sorunu üzerine etkisi, bir başka önemli parametre olan depolama sıcaklığının etkisi ile birlikte araştırılmıştır. Bu amaçla üç farklı homojenizasyon basıncı (150, 175, 200 bar) kullanılarak üretilen UHT sütler, üç farklı depolama sıcaklığında (10, 20, 40°C) depolanmış ve raf ömrü olan 120 gün boyunca her onbeş günde bir yapılan kapsamlı analizlerle sütün jelleşme durumları incelenerek, duyu, fiziksel ve kimyasal özellikleri ortaya konmuştur. Bu kapsamda temel bileşen analizlerinin (kuru madde, yağ, protein) yanısıra, jelleşmeyi etkileyen faktörlerden biri olarak görülen proteoliz, hem Üre-PAGE, hem RP-HPLC hem de pH 4.6'da çözünür azot değerlerindeki değişim ile izlenmiş ve farklı yönlerden incelenerek, olası etmenleri ortaya koyulmaya çalışılmıştır. Çalışma sonucunda, depolama sıcaklığının jelleşmeye etki eden en önemli faktörlerden biri olduğu bulunmuştur. Jelleşme sırası, depolama sıcaklığına göre 10°C > 40°C > 20°C olarak belirlenmiştir. Jelleşme üzerine denatüre olan serum proteini miktarının da önemli etkide bulunduğu saptanmış, özellikle yüksek depolama sıcaklığında hızlanan Maillard reaksiyon ürünlerinin ise jelleşmeyi geciktirici etkide bulunduğu tezi, bulgularla desteklenmiştir. Jelleşmenin sadece proteolize bağlı bir kavram olmadığı, UHT süt üretiminde kullanılan normlar, çiğ süt kalitesi, çevresel koşullar ve süt bileşenlerinde olan etkileşimlerin de jelleşme üzerine etkili olduğu, bulgularla desteklenerek savunulmuştur.

Çalışmanın ikinci kısmında; Yapay Sinir Ağları Yöntemi'nin farklı basınç, depolama sıcaklığı ve raf ömrü değerlerinde deneysel olarak elde edilen bağıl viskozite değerlerini tahmin etmedeki başarısı incelenmiştir. Bu kapsamda tasarımı ve yazılımı gerçekleştirilen YSA modelinin, tahmin ettiği bağıl viskozite değerleri ile deneysel olarak bulunan değerler arasında yüksek bir korelasyon ($R^2=0.9837$) bulunduğu ve yöntemin proses koşullarını tahmin etmede başarılı olduğu saptanmıştır. Bütün veri setinde bulunan verilerin yaklaşık % 25'i ağa daha önce hiç tanıtılmadığı halde, Yapay Sinir Ağı, % 0.4'lük ortalama hata payı ile verileri doğru tahmin etmekte ve ara noktalarda alınması gereken ölçüm maliyetinden tasarruf edilmesini sağlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: UHT süt, jelleşme, proteoliz, yapay sinir ağları, YSA

Danışman: Prof. Dr. İlbilge SALDAMLI, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojisi Anabilim Dalı, Emekli Öğretim Üyesi

A STUDY THROUGH ARTIFICIAL NEURAL NETWORKS ON THE EFFECT OF ASEPTIC HOMOGENIZATION APPLIED IN DIFFERENT PRESSURES AND OF STORAGE TEMPERATURE ON GELATION PROBLEM IN UHT MILK

Sanem YALÇINTAŞ GÜLBAŞ

ABSTRACT

The gelation defect which may be developed depending on protein destabilization in the course of shelf life of UHT milk is one of the most important problems in dairy industry, leading to the limitation of the shelf life and market potential of the product. In this study, both the effects of storage temperature and aseptic homogenization, a basic step of the UHT milk production were examined. For this purpose, the UHT milk produced by using three different homogenization pressures (150, 175, and 200 bar) were stored under three different storage temperatures (10, 20, and 40°C). The organoleptic, physical and chemical properties of milk were determined by observing the gelation status of the samples through comprehensive analysis made in each fifteenth day of shelf life period (120 days). In line with basic component analysis (dry matter, fat, protein), proteolysis that seems to be one of the factors affecting gelation was examined through the variation in the values both in urea-PAGE, RP-HPLC and pH 4.6 soluble nitrogen. As a result, it was found that the storage temperature was one of the significant factors affecting gelation. The gelation order was determined as 10°C>40°C>20°C, according to the storage temperature. The amount of denaturated serum protein had also a significant effect on gelation. The theory that the products of Maillard reaction accelerated particularly under high storage temperature have a delaying effect on gelation was also supported by our findings. It was also demonstrated that, the gelation is not dependent only upon the proteolysis, but also the UHT milk processing conditions, raw milk quality, environmental conditions and the interactions between the milk components.

In the second part of the study, the Artificial Neural Network Methodology was examined by means of its performance on estimating the relative viscosity values found on different storage days with different homogenization pressures and storage temperatures. In this context, the designed and coded ANN model was found to be successful with a high correlation ($R^2=0.9837$) between the estimated and experimentally found relative viscosity values. Although, 25 % of the data in the entire data set were not introduced to the network, the ANN still estimated the right results with a mean error of 0.4% which saves us from the cost of the measurements have to be taken in the midpoints.

Keywords: UHT milk, gelation, proteolysis, artificial neural networks, ANN

Advisor: Prof. Dr. İlbilge SALDAMLI, Retired University Member, Food Technology Division, Food Engineering Department of Hacettepe University, Ankara, Turkey

TEŞEKKÜR

Lisans, Yüksek Lisans ve Doktora çalışmalarım boyunca bilgisi ve deneyimi ile bana ışık tutan, destek ve ilgisini hiç esirgemeyen, bilimsel kişiliğinin yanısıra sosyal kişiliğini de örnek aldığım “çok sevgili ve değerli Hocam Prof. Dr. İlbilge SALDAMLı'ya”, bana mesleğimle ve çalışmalarımın gurur duymamı sağlayacak platformu hazırladığı için sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Yenilikçi ve ilerici anlayışlarıyla çalışmada kullanılan örneklerin endüstriyel boyutta üretilmesini olanaklı hale getiren, üniversite-sanayi işbirliğine ve bilime verdikleri önemi her fırsatta gözler önüne seren Pınar Süt Mamülleri San. A.Ş. – Eskişehir Fabrikası Ailesi'ne katkıları için teşekkür ederim.

Doktora Tezi Araştırma Projesi kapsamında 0601602007 nolu “UHT süt üretiminde farklı sıcaklık ve basınçlarda uygulanan aseptik homojenizasyonun protein destabilizasyonuna etkisinin yapay sinir ağları ile modellenmesi” isimli proje kapsamında sağlanan maddi katkılarından dolayı Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne teşekkür ederim.

Tez İzleme Komitesi üyesi, sevgili hocalarım Prof. Dr. Ferhunde US ve Doç. Dr. İsmail Hakkı BOYACI'ya bana öğrettikleri herşey ve doktora çalışmam süresince tezimi daha verimli hale getirmek için sundukları değerli öneri ve bilgiler için teşekkür ederim.

Yapay Sinir Ağları konusunda verdiği destek ile bilgi birikiminden yararlanmama izin veren Sayın Yard. Doç. Dr. Oğuz Üstün'e teşekkür ederim.

Sayın Prof. Dr. Ali GÜNER ile sevgili arkadaşlarım Yard. Doç. Dr. Hatice KAPLAN CAN ve Araş. Gör. Serap KAVLAK'a laboratuvar olanaklarını kullanmama izin verdikleri ve yardımları için teşekkür ederim.

Sevgili grup arkadaşlarım Yard. Doç. Dr. Ali TOPÇU ve Araş. Gör. Eren NUMANOĞLU'na verdikleri bütün destek ve yardımları ile hep yanımda olacaklarını hissettirdikleri için teşekkür ederim.

Deneylerim sırasında hiç çekinmeden başlarını ağrıtmama izin veren ve hep desteklerini gördüğüm arkadaşlarım Uzm. Yelda ZENCİR ve Uzm. Selin HEYBELİ'ye teşekkür ederim.

Değerli dostlarım Araş. Gör. Bengi AKBULUT PINAR, Araş. Gör. Ayşe ÖZBEY, Araş. Gör. Aytunga ARIK, Araş. Gör. Burçin ÖZVURAL ve Dr. Birce TABAN'a geçirdiğimiz ve geçireceğimiz nice güzel anlar ile hayatıma neşe kattıkları için teşekkür ederim.

Sevgilerini her an içimde hissettiğim, hayatımın her döneminde ve yaptığım her şeyde hep arkamda olduklarını bildiğim canım annem Sabahat YALÇINTAŞ, canım babam Muzaffer YALÇINTAŞ ve canım meleğim Ceren YALÇINTAŞ ile sevgili anneanneciğim ve teyzelerime teşekkür ederim.

Karşılaştığım bütün zorlukları aşarken benimle birlikte hiç yorulmadan koşan, sonsuz sevgi ve desteğiyle hayattaki en şanslı insan olduğumu hissettiren, sevgili eşim Kemal Ersun GÜLBAŞ'a varolduğu için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	4
2.1. UHT Süt	4
2.2. UHT Süt ve Jelleşme	7
2.2.1. Isıl işlemden kullanılan yöntem ve normların jelleşme üzerine etkisi	9
2.2.2. Çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi ve proteolizin jelleşme üzerine etkileri	14
2.2.3. Depolama sıcaklığının jelleşme üzerine etkisi.....	18
2.2.4. Diğer faktörlerin jelleşme üzerine etkileri	19
2.3. Jelleşmenin Kontrol Altına Alınması.....	21
2.3.1. Çiğ süt kalitesi.....	21
2.3.2. Düşük sıcaklıkta ön ısıl işlem uygulanması.....	22
2.3.3. UHT sütün depolama sıcaklığının ayarlanması.....	22
2.3.4. Katkı maddelerinin kullanımı	22
2.3.5. Homojenizasyon normlarının ayarlanması	23
2.4. Yapay Sinir Ağları	25
2.4.1. Yapay sinir modeli.....	27
2.4.2. Yapay sinir ağı mimarileri.....	30

2.4.3.	Yapay sinir ağlarında öğrenme	31
2.4.4.	Gıda mühendisliğinde yapay sinir ağları	32
3.	MATERYAL VE METOT	35
3.1.	Materyal	35
3.1.1.	Çiğ süt.....	35
3.2.	Metot	35
3.2.1.	UHT süt üretimi	35
3.2.2.	UHT sütlere uygulanan analizler	35
3.2.2.1.	Titrasyon asitliği tayini.....	36
3.2.2.2.	pH tayini.....	36
3.2.2.3.	Kurumadde tayini	36
3.2.2.4.	Yağ tayini	36
3.2.2.5.	Homojenizasyonun kontrolü.....	36
3.2.2.6.	Toplam protein tayini.....	37
3.2.2.7.	pH 4.6'da çözünür azot tayini.....	37
3.2.2.8.	Yoğunluk tayini	37
3.2.2.9.	Viskozite ölçümü	37
3.2.2.10.	Renk ölçümü.....	38
3.2.2.11.	Proteolizin ve denature olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin seviyesinin HPLC yöntemi ile belirlenmesi	38
3.2.2.12.	UHT süt örneklerinin dondurularak kurutulması.....	39
3.2.2.13.	Kazein fraksiyonlarındaki proteolizin Üre-PAGE yöntemi ile belirlenmesi	39
3.2.2.14.	Duyusal değerlendirme	40
3.2.3.	Araştırma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi.....	40
3.2.4.	Araştırma sonuçlarının Yapay Sinir Ağı yaklaşımı ile incelenmesi.....	40

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA	43
4.1. Üretilen UHT Süt Örneklerinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Duyusal Özellikleri	43
4.1.1. Titrasyon asitliği	44
4.1.2. pH	47
4.1.3. Kurumadde	51
4.1.4. Yağ sonuçları ve homojenizasyonun kontrolü.....	56
4.1.5. Protein	61
4.1.6. pH 4.6'da çözüdür azot	64
4.1.7. Viskozite.....	68
4.1.8. Renk	73
4.1.9. Denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin	83
4.1.10. Kazeinin proteoliz seviyesinin elektroforetik incelenmesi.....	91
4.1.11. Proteoliz seviyesinin RP-HPLC ile incelenmesi	97
4.1.12. Duyusal değerlendirme	100
4.1.12.1. Görünüş.....	100
4.1.12.2. Kıvam.....	103
4.1.12.3. Renk	103
4.1.12.4. Koku.....	105
4.1.12.5. Tat.....	106
4.1.12.6. Acılık.....	108
4.1.12.7. Jelleşme.....	108
4.2. Yapay Sinir Ağı Uygulaması	110
5. TARTIŞMA VE YORUM	121
KAYNAKLAR DİZİNİ	130
EKLER	139

Ek 1. Çalışmada kullanılan UHT süt örneklerinin üretim ve analiz planı.....	139
Ek 2. UHT sütlerin duyusal değerlendirmesinde kullanılan puan cetveli (Anonymous, 2001).....	140
Ek 3. Raf ömrü süresince α_{s1} - ve β -kazeinde oluşan proteolizin Üre-PAGE yöntemiyle incelenmesi.....	141
Ek 4. Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinde görülen proteolizin RP-HPLC yöntemiyle incelenmesi.....	146
ÖZGEÇMİŞ	155

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 UHT süt akım şeması	4
Şekil 2.2 Kazein jellerinde görülen 4 farklı aşamadaki düzenlenmeler (van Vliet et al, 2003)	8
Şekil 2.3 β -laktoglobulin'in yapısı (Cockburn, 2001).....	13
Şekil 2.4 Denatürasyon sonucunda β -laktoglobulinin κ -kazeinle kompleks oluşturması	13
Şekil 2.5 Bir yapay sinirin yapısı ve bileşenleri	28
Şekil 2.6 Bazı aktivasyon fonksiyonu tipleri (a) İşaret(sign) fonksiyonu (b) Doğrusal fonksiyon (c) Tek yönlü sigmoid fonksiyon (d) Çift yönlü sigmoid fonksiyon.....	29
Şekil 4.1 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim	46
Şekil 4.2 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin pH değerlerindeki değişim.....	50
Şekil 4.3 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin kurumadde içeriklerindeki değişim	54
Şekil 4.4 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin kutularında saptanan sediment miktarları.....	55
Şekil 4.5 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin yağ içeriklerindeki değişim	60
Şekil 4.6 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin toplam protein değerlerindeki değişim	63
Şekil 4.7 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin pH 4.6'da çözünür azot değerlerindeki değişim	67
Şekil 4.8 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerindeki değişim	72
Şekil 4.9 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin L* değerlerindeki değişim	80
Şekil 4.10 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin a* değerlerindeki değişim	81
Şekil 4.11 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin b* değerlerindeki değişim	82
Şekil 4.12 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin denatüre olmamış α -laktalbumin değerlerindeki değişim	88

Şekil 4.13 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin denatüre olmamış β -laktoglobulin değerlerindeki değişim	90
Şekil 4.14 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin proteolize uğramamış β -kazein miktarlarındaki değişim.....	92
Şekil 4.15 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin proteolize uğramamış α_{s1} -kazein miktarlarındaki değişim.....	93
Şekil 4.16 Tirozin ve triptofana ait HPLC kromatogramları	99
Şekil 4.17 Çalışmada kullanılan ağ mimarisi	112
Şekil 4.18 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 10 gizli katman sınırı kullanılan ağın eğitim sonuçları	113
Şekil 4.19 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 15 gizli katman sınırı kullanılan ağın eğitim sonuçları	113
Şekil 4.20 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 15 gizli katman sınırı kullanılan ağın test sonuçları	115
Şekil 4.21 Farklı depolama sıcaklıkları ile raf ömrü noktalarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim.....	118
Şekil 4.22 Farklı depolama sıcaklıkları ile homojenizasyon basınçlarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim	119
Şekil 4.23 Farklı raf ömrü noktaları ile homojenizasyon basınçlarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim	119

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Kimyasal değişim ve bakterisit etkinin sıcaklık ile ilişkisi (Datta et al., 2002)	5
Çizelge 2.2 Ön ısıtma ve sterilizasyon koşullarının UHT sütün jelleşme süresi üzerine etkisi (Datta and Deeth, 2001)	10
Çizelge 2.3 Ticari UHT sütlerde HPLC ile ölçülen denatüre olmamış β -laktoglobulin ve α -laktalbumin miktarları (mg/L) (Datta et al., 2002)	11
Çizelge 2.4 Proteolitik enzimlerin jelleşme üzerine etkileri (Datta and Deeth, 2001) .	15
Çizelge 2.5 UHT sütün jelleşmesinde süte ilave edilmiş bakteriyal proteinazların etkisi (Datta and Deeth, 2001)	16
Çizelge 2.6 Depolama sıcaklığının jelleşme üzerine etkileri (Datta and Deeth, 2001)	18
Çizelge 3.1 HPLC analizinde uygulanan gradient program	39
Çizelge 4.1 UHT süt üretiminde kullanılan çiğ sütün kalite özellikleri	43
Çizelge 4.2 UHT sütlere ait titrasyon asitliği sonuçları (% laktik asit cinsinden)	45
Çizelge 4.3 UHT sütlerin raf ömrü boyunca pH değerleri	49
Çizelge 4.4 UHT sütlerin raf ömrü süresince kurumadde içerikleri	53
Çizelge 4.5 Homojenizasyonun yağ globülleri üzerine etkileri	56
Çizelge 4.6 UHT sütlerin ortalama yağ içerikleri (%)	58
Çizelge 4.7 UHT sütlerin homojenizasyon kontrolü sonuçları (%)	59
Çizelge 4.8 UHT sütlere ait toplam protein (%) sonuçları	62
Çizelge 4.9 UHT sütlere ait pH 4.6'da çözümlü azot sonuçları (%)	66
Çizelge 4.10 UHT süt örneklerine ait bağıl viskozite sonuçları	71
Çizelge 4.11 UHT sütlere ait L^* değerleri	77
Çizelge 4.12 UHT sütlere ait a^* değerleri	78
Çizelge 4.13 UHT sütlere ait b^* değerleri	79
Çizelge 4.14 Farklı araştırmalarda bulunan denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarları (Datta et al., 2002)	84

Çizelge 4.15 UHT sütlere ait denatüre olmamış α -laktalbumin değerleri (ppm)	87
Çizelge 4.16 UHT sütlere ait denatüre olmamış β -laktoglobulin değerleri (ppm).....	89
Çizelge 4.17 Kuyucuklara enjekte edilen örnek bilgileri (K=Kuyucuk)	91
Çizelge 4.18 UHT sütlere ait proteolize uğramamış β -kazein miktarları (%).....	92
Çizelge 4.19 UHT sütlere ait proteolize uğramamış α_{s1} -kazein miktarları (%).....	93
Çizelge 4.20 UHT sütlere ait ortalama görünüş puanları	102
Çizelge 4.21 UHT sütlere ait ortalama kıvam puanları	102
Çizelge 4.22 UHT sütlere ait ortalama renk puanları	104
Çizelge 4.23 UHT sütlere ait ortalama koku puanları	104
Çizelge 4.24 UHT sütlere ait ortalama tat puanları.....	107
Çizelge 4.25 UHT sütlere ait acılık puanları	107
Çizelge 4.26 Çalışmada kullanılan YSA modelinin yapısal özellikleri.....	114
Çizelge 4.27 Farklı homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı ve raf ömrü kombinasyonları için, deneysel olarak elde edilen viskozite değerleri ile yapay sinir ağı tarafından tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması	115

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ANN	: Artificial Neural Networks
AOAC	: Association of Official Analytical Chemists
β κ -kompleksi	: β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksi
HMF	: Hidroksimetilfurfural
ı.ı.	: ısıı işlem
RP-HPLC	: Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography
-SH	: Sülfhidril
TS	: Türk Standardı
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
UHT	: Ultra High Temperature
USDA	: United States Department of Agriculture (Amerika Birleşik Devletleri Tarım Birimi)
Üre-PAGE	: Urea Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
YSA	: Yapay Sinir Ağları

1. GİRİŞ

Süt, kendine özgü bir bileşim içeriğine sahip olan, yapısında protein, yağ, karbonhidrat ve mineral maddeleri içeren, yaşamın başlangıcından sonuna kadar her evrede temel gıda maddeleri arasında yer alan, vücut fonksiyonlarına destek verici ve organizmayı koruyucu birçok minör bileşen içeren doğal bir gıdadır. Amerika Birleşik Devletleri Tarım Birimi (USDA) ile Ulusal Süt ve Süt Ürünleri Konseyi, süt ve ürünlerini beş ana gıda grubundan biri olarak tanımlamaktadır (Miller et al., 2000).

İçerdiği besin öğeleri nedeniyle mikrobiyal gelişime uygun bir ortam olması, çiğ sütün raf ömrünün kısa olmasına yol açmaktadır. Çiğ sütün raf ömrünü uzatmak için, geçmişten günümüze ısı işlem uygulamaları, basınç uygulamaları, kurutma ve fermentasyon teknikleri gibi birbirinden farklı yöntemler ve bu yöntemlerin kombinasyonları denenmiştir. “UHT (Ultra High Temperature) teknolojisi” bu yöntemlerden biri olup, çiğ sütün en az 135°C’de 1 saniye süre veya en uygun zaman-sıcaklık kombinasyonunda yüksek sıcaklıkta kısa süre tutulması ve aseptik koşullarda ambalajlanması ile oda sıcaklığında depolandığında bile bozulmaya neden olabilecek tüm mikroorganizmaları ve sporlarını yok eden bir sterilizasyon işlemi olarak tanımlanmaktadır (Anonymous, 2001). UHT işlemi sonunda süt, ambalajı açılmadığı sürece, oda sıcaklığında en az dört ay mikrobiyal bozulma olmadan depolanabilme özelliği kazanmaktadır.

UHT sütün, mikrobiyal açıdan stabil olmasına ve sağlık açısından çok güvenli bir gıda olmasına rağmen, depolama sırasında ürünün raf ömrünü sınırlayabilecek başka fiziksel ve kimyasal değişimler de oluşabilmektedir. Bu değişimlerden biri olan “jelleşme”, tat-koku ve yapıda yaratabileceği olumsuzluklar nedeniyle raf ömrünü sınırlayan başlıca faktör olarak, UHT süt endüstrisinin karşı karşıya olduğu en önemli sorunlardan biridir (Datta and Deeth, 2003).

Jelleşme olayında genellikle iki farklı mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlardan ilki, kazeinin proteolitik olarak parçalanması ve misellerin agregasyona karşı duyarlı hale gelmesi ve daha ileri proteoliz aşamalarında da jel oluşmasıdır (Datta and Deeth, 2003). Daha yaygın olan ikinci mekanizma ise, kimyasal

reaksiyonların önemli olduğu ve moleküller arası çapraz bağların oluşması ile meydana gelen bir süreçtir. UHT uygulaması sırasında sütte bulunan serum proteinlerinden β -laktoglobülinin denature olması ve özellikle κ -kazeinle kompleks oluşturma eğilimi ve oluşan bu kompleksin misel yapıdan ayrılarak, diğer protein kompleksleri ile bağ yaparak birleşmesi, UHT sütün raf ömrü sırasında sedimentasyon ve jelleşme gibi kusurların oluşmasına yol açarak, ürünün raf ömrünü ve piyasa potansiyelini sınırlandırmaktadır (Datta and Deeth, 2001).

Bugüne kadar jelleşmenin nedenlerinin saptanması ve önlenmesi üzerine yapılan çalışmalarda, UHT işleminde kullanılan parametrelerden sıcaklık x süre kombinasyonu, UHT uygulamalarının direkt/indirekt sistemlerle yapılması, proteolitik enzimlerin varlığı ve sütün mikrobiyolojik kalitesinin jelleşme üzerine etkisi ile bu olaylarda mevsimlerin, mastitis hastalığının, ürün depolama sıcaklığının ve işlenecek sütün yağ oranının etkisi gibi faktörler araştırılmıştır (Datta and Deeth, 2001). Jelleşme sorununun oluşmasında, temel nedenlerden biri olarak görülen denature haldeki proteinler üzerinde direkt etkiye sahip homojenizasyon basamağında kullanılan basınç normlarının etkisi ve bununla birlikte depolama sıcaklığının etkisi ise henüz araştırılmamış, ancak araştırılması gereken önemli bir husustur.

UHT süt üretiminde homojenizasyon basamağı, kaliteli ve raf ömrü süresince kararlı bir ürün eldesi için vazgeçilmez işlem basamaklarından biridir. Homojenizasyon, sütün belirli sıcaklıkta (65-80°C), yüksek basınç altında (150-200 bar) homojenizatör kafasındaki dar bir aralıktan geçirilmesiyle gerçekleştirilen mekanik bir boyut küçültme işlemidir. Böylece, süt bileşenlerinden öncelikle yağ globüllerinin çapları küçültülüp tekdüze hale getirilerek, raf ömrü süresince negatif sedimentasyona bağlı olarak yüzeyde oluşan yağ birikimi engellenmektedir (Saldamlı ve Saldamlı, 2004). Homojenizasyonun yağ globüllerinin yanısıra, başlıca süt proteini olan kazein ile serum proteinleri üzerine de etkilerinin olduğu bilinmektedir (Walstra and Jenness, 1984).

Bu çalışmada, UHT süt üretim basamaklarından biri olan aseptik homojenizasyonda uygulanan farklı basınç normlarının ve son ürünün depolanmasında kullanılan farklı

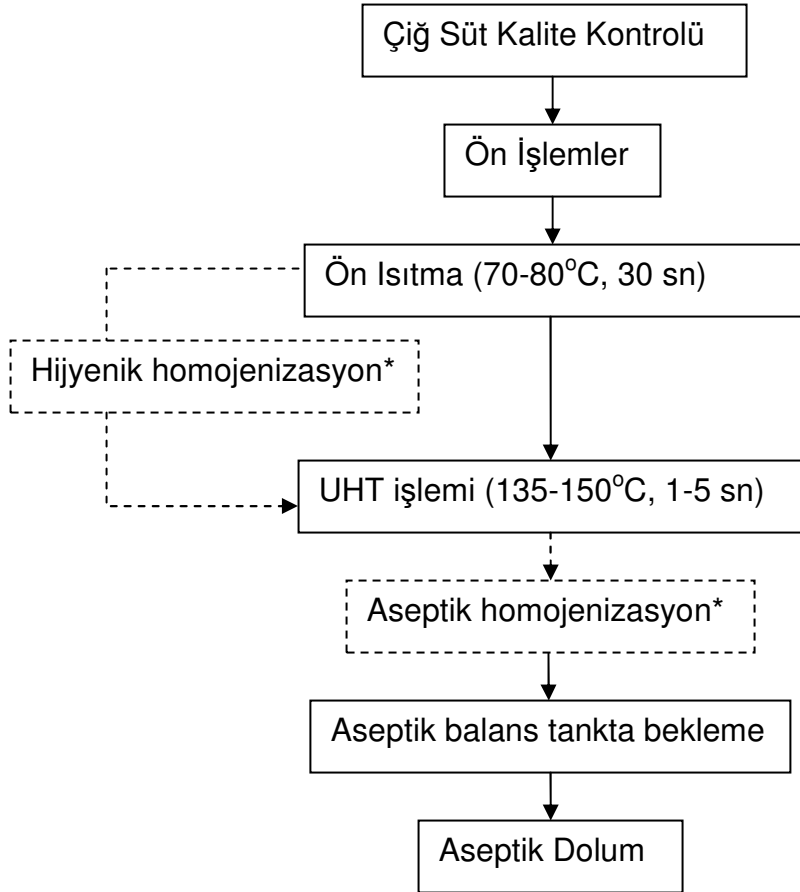
depolama sıcaklıklarının, UHT sütte raf ömrü süresince oluşabilecek jelleşme kusuruna etkisi incelenmiştir. Bu amaçla aynı sağımdan elde edilmiş çiğ süte, UHT prosesinde yer alan aseptik homojenizasyon işlemi üç farklı basınç normu (150, 175, 200 bar) ile uygulanmış ve üretilen UHT sütler üç farklı depolama sıcaklığında (10, 20 ve 40°C) depolanarak, raf ömürleri boyunca (4 ay) incelemeye alınmıştır. Bu amaçla, depolamanın 0., 15., 30., 45., 60., 75., 90., 105. ve 120. günlerinde alınan örneklerle rutin analizlerin yanısıra, jelleşmeyi ortaya koymaya yardımcı analizler de uygulanarak örneklerin raf ömrü süresince kimyasal, fiziksel ve duyuşsal özelliklerindeki değişiklikler ortaya konmuştur.

Elde edilen deneysel sonuçların istatistiksel açıdan anlamlılığı da, verilere varyans analizleri uygulanarak belirlenmiştir. Daha sonra, bu verilerin, sıcaklık, basınç ve raf ömrü parametrelerinin ara değerlerinde de uygun sonuçları üretebilen bir matematiksel fonksiyonla ifade edilmesi düşünölmüştür. Bu amaçla, çalışmanın ikinci kısmında, doğrusal olmayan ve çok değişkenli sistemleri değerlendirmedeki üstün yeteneği sayesinde gıda mühendisliği kapsamında da kullanıma çok uygun bir yöntem olan ve giderek yaygınlaşan “Yapay Sinir Ağları (YSA)” yöntemi kullanılmıştır. Geri-yayılmalı, ileri beslemeli 3 katmanlı bir YSA modeli ile homojenizasyon basıncının ve depolama sıcaklığının UHT sütte jelleşme üzerine etkisinin davranış profilini tahmin etmedeki başarısı ortaya konulmuştur.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. UHT Süt

Çiğ sütün kimyasal, fiziksel ve duyuşsal özelliklerinde en az değişikliğe yol açarak, bozulma yapabilen tüm mikroorganizmaların ve bunların sporlarının UHT işlemleri ile yok edilerek, tekniğine uygun ambalaj materyali kullanılarak aseptik koşullarda dolun yapılması ile elde edilen sütler "UHT süt" olarak adlandırılmaktadır (Anonymous, 2001). Şekil 2.1'de tipik bir UHT süt üretim akım şeması görülmektedir.



Şekil 2.1 UHT süt akım şeması

*Hojenizasyon işlemi üretim tercihinine bağlı olarak UHT işlemlerinden önce veya sonra uygulanabilmektedir.

UHT işlemleri için süt endüstrisinde kullanılan iki farklı yöntem bulunmaktadır:

- Plakalı veya borulu ısı değiştiricilerde “indirekt” sistemle ısıtma ve soğutma
- Süt içerisine buhar enjeksiyonu veya sütün buhar içine infüzyonu ile “direkt” sistemle ısıtma ve vakum altında yoğuşma ile soğutma.

Direkt sistemlerin her iki tipinde de sütün sıcaklığı, büyük çoğunluğu buhardan süte buharlaşma gizli ısısının aktarılmasıyla olmak üzere, çok hızlı bir şekilde yükseltilmektedir. Buharla sütün karşılaşması sonucunda buhar yoğuşmakta ve süt içine su halinde karışmaktadır. Sütün içine karışan suyun buharlaştırılarak geri alınması, sütün vakum hücrelerinde çok hızlı bir biçimde soğutulması ile sağlanmaktadır (Datta et al., 2002).

İndirekt ısı işlem uygulamalarında ise, plakalı veya borulu ısı değiştiriciler kullanılmaktadır. Bu sistemlerde ısıtıcı ortam ile süt birbirleriyle temasta bulunmamakta; ısı aktarımı, sütün diğer taraftan geçen buhar veya sıcak su ile ısıtılan metal yüzey ile teması sonucunda gerçekleşmektedir (Datta et al., 2002).

UHT sistemlerinde kullanılan sıcaklık x süre normları ise; *Bacillus stearothermophilus* gibi ısıya dirençli bakteri endosporlarını inaktif hale getirecek şekilde belirlenmektedir. Çizelge 2.1’de sıcaklık ile kimyasal değişim ve bakterisit etkinin ilişkisi verilmektedir. Genel olarak süt ve süt ürünlerinin sterilizasyonunda 137-145°C 2-8 saniye normları kullanılmaktadır. Çizelge 2.1’deki verilerden de görüleceği üzere daha düşük sıcaklıklar kullanıldığında aynı bakterisit etkinin yakalanması için çok daha uzun süre geçmesi gerekmektedir.

Çizelge 2.1 Kimyasal değişim ve bakterisit etkinin sıcaklık ile ilişkisi (Datta et al., 2002)

Sıcaklık (°C)	Aynı bakterisit etki için geçmesi gereken süre ^a	Aynı bakterisit etkide oluşan kimyasal değişim ^a
115	1	100
125	0.1	30
135	0.01	9
145	0.001	2.7

^aSporların yok edilmesi için Q₁₀ değeri 10, kimyasal değişim için 3 seçilmiştir.

Direkt sistemler ile üretilen sütlerin fiziksel, kimyasal ve duyusal özelliklerinde, indirekt sistemler ile üretilenlere kıyasla daha az değişim meydana geldiği bildirilmektedir (Datta and Deeth, 2001; Datta et al., 2002). Sütte bir takım bileşiklerin farklı miktarlarda değişim göstermeleri ile direkt ve indirekt sistemler arasındaki fark da kolayca ortaya konulmaktadır. Örneğin indirekt sistemlerde, kazeindeki serbest amino grupları ile katalizlenen laktoz izomerizasyonu sonucunda laktuloz oluşumu daha fazla olmaktadırken direkt sistemlerde çok daha az laktuloz oluştuğu bildirilmektedir. Yine aynı şekilde indirekt sistemlerde Maillard reaksiyonu sonucu oluşan hidroksimetilfurfural (HMF) miktarı direkt sistemlerde olduğundan daha fazla olmaktadır. İndirekt sistemlerde β -laktoglobulin denatürasyonunun da direkt sistemlerden daha fazla olduğu bildirilmektedir (Datta et al., 2002).

UHT süt üretiminde homojenizasyon, sütteki yağ emülsiyonunu negatif sedimentasyona karşı koruyarak, kaliteli ve raf ömrü süresince kararlı bir ürün eldesi için vazgeçilmez bir işlem haline gelmiş ve süt endüstrisinde standart bir üretim basamağı olmuştur. Homojenizasyon, sütün belirli sıcaklıkta (65-80°C), yüksek basınçta (150-200 bar), "homojenizatör" adı verilen bir mekanik sistemde artan bir basınç işlemine tabi tutulmasıyla gerçekleştirilen bir işlemdir (Saldamlı ve Saldamlı, 2004). Homojenizasyonun, sütün yapısına birçok olumlu etkisi vardır (Anonymous, 1995):

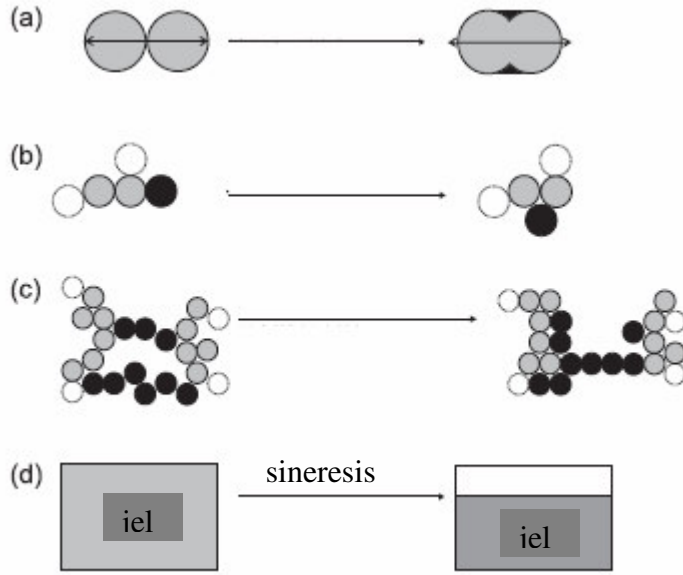
- Yağ globüllerinin çapının küçültülmesiyle yüzeyde yağ tabakası birikiminin engellenmesi,
- Sütün daha beyaz bir renk kazanması,
- Sütün yağ oksidasyonuna karşı duyarlılığın azalması,
- Üründe daha yoğun tat-koku, daha iyi tadım sonrası etkisinin oluşması.

Homojenizasyon sırasında yağ globüllerinin boyutlarının küçülmesinde başlıca, oluşan türbülansın, kesme geriliminin ve kavitasyonun etkisi bulunmaktadır (Thiebaud et al., 2003).

2.2. UHT Süt ve Jelleşme

UHT sütün depolanması sırasında, üründe raf ömrünü sınırlayabilecek birçok önemli değişim oluşabilmektedir. Fiziksel açıdan oluşan en önemli değişimlerden biri, jel oluşumundan hemen önce viskozitenin 10 MPa.san (20°C)'nin üstüne çıkması ve akıcılığın kaybolmasıdır. Bu olay tersinmez olup, "jelleşme" olarak bilinmektedir (Datta and Deeth, 2001).

Sütteki başlıca protein olan kazein, misel olarak 20-300 nm arasında değişen boyutlarda bulunmaktadır ve her misel alt-misel gruplarından oluşmaktadır. Bu alt miseller başlıca α_{s1} , α_{s2} , β - ve κ -kazeini kapsamakta ve miselin yüzeyi C-terminali kısmında oldukça hidrofilik bir yapıya sahip olan κ -kazein ile kaplı bulunmaktadır. κ -kazeinin bu yapısı kazein miseline sterik etki ile kolloidal stabilite kazandırmaktadır (van Vliet et al, 2004). Miselin yapısında değişikliğe yol açan kimyasal ve fiziksel birtakım etkiler sonucunda kazein, kolloidal stabilitesini kaybetmekte ve jel oluşturmaktadır. Bu etkiler arasında enzimlerin, ortamda oluşan asitlerin, ısı işlem ve basınç normlarının, sütün tuz dengesinin, kazeinle kompleks oluşturabilecek yapıdaki bileşiklerin tek başlarına ve birleşik etkileri sayılabilir. Bunun sonucunda kazein miseli, jel oluşturmaya kadar giden düzenlenmelere maruz kalabilmektedir (van Vliet et al., 2004). Şekil 2.2'de jel oluşumunun çeşitli evrelerindeki yapısal değişimler görülmektedir.



Şekil 2.2 Kazein jellerinde görülen 4 farklı aşamadaki düzenlenmeler (van Vliet et al, 2003)

- Parçacık birleşmesine kadar giden moleküler aşama
- Parçacıklar arası düzenlenme aşaması
- Miseller arası düzenlenme aşaması
- Sineresis ile de gözlenebilen makroskopik aşama

Literatürde UHT sütün jelleşmesinden sorumlu etkenler ve jelleşmenin mekanizması hakkında birçok görüş bulunmaktadır. Datta ve Deeth'e (2001) göre viskozitede oluşan değişim dört aşamada gerçekleşmektedir. Başlangıç aşaması çok kısa bir süre içinde gerçekleşir ve ürünün yapısında bir incelme görülür. İkinci aşama genellikle daha uzun bir zamanı kapsar ve ürünün viskozitesinde büyük bir değişim görülmez. Üçüncü aşamada viskozitede ani bir artış görülür ve jel oluşumu meydana gelir. Dördüncü aşamada ise jel matrisinin bozulmasıyla, serum ve protein pıhtılarına ayrışmasıyla viskozite düşer.

Bir araştırmada, jelleşmenin iki basamaklı bir mekanizma ile gerçekleştiği bildirilmektedir (Kocak and Zadow, 1985a). İlk aşamada proteinler bir miktar proteolitik aktiviteye maruz kalmakta, ikinci aşamada ise stabilizasyonu bozulan miseller depolama ile teşvik edilen fiziko-kimyasal değişimlere uğramakta ve agregasyona eğilim duymaktadırlar.

Jelleşme, UHT sütlerde farklı depolama evrelerinde görülebilmektedir. Bu değişimin sebebi olarak literatürde ısıtma işlemde kullanılan yöntemler ve uygulanan normlar, proteoliz, çiğ sütün özellikleri ve mikrobiyolojik kalitesi, depolama sıcaklığı, katkı maddeleri ve yağ miktarının etkilerinden şüphelenilmiş ve bu etkenler üzerinde bir takım araştırmalar yapılmıştır (Datta and Deeth, 2001).

2.2.1. Isıtma işlemde kullanılan yöntem ve normların jelleşme üzerine etkisi

UHT işleminin endüstriyel uygulamalarında, çiğ süt öncelikle 80-95°C'lerde 30-60 saniye süresince bir ön ısıtma işlemine tabi tutulmaktadır. Ön ısıtma işlemi uygulaması oldukça önemlidir çünkü, bu sıcaklık derecelerinde serum proteinlerinden özellikle β -laktoglobülinin denatürasyonu gerçekleştirilmekte ve UHT uygulaması sırasında yüksek sıcaklık uygulamasının yapıldığı bölümün yüzeylerinde birikimi engellenmektedir. Çizelge 2.2'de ön ısıtma işleminin jelleşme üzerine etkileri görülmektedir. Ön ısıtmada kullanılan sıcaklık ve süre normları yükseldikçe, jelleşmenin görülmesi için geçmesi gereken süre de artmaktadır. Bunun olası nedenlerinden biri, yüksek normlarda uygulanan ön ısıtma işlemi sonucunda denatüre olan serum proteinlerinin kazein miseli yüzeyine adsorblanması ile, yüzeyde bulunan ve kompleksler oluşturarak miseli büyütüp, pıhtılaşmaya yol açan reaktif grupların kapanması olarak gösterilmektedir (Datta and Deeth, 2001).

İndirekt ve direkt UHT işlemleri ile üretilen sütün, jelleşmeye karşı gösterdiği duyarlılık da farklı olmaktadır. Eşdeğer miktarda bakterisid etki yaratan direkt ve indirekt yöntemler karşılaştırıldığında, direkt yöntemle işlenen sütün indirekt yöntemle işlenenlere oranla depolama sırasında daha kısa sürede jelleşmeye eğilimli olduğu görülmüştür (Manji et al., 1986; Manji ve Kakuda, 1988). McKellar ve arkadaşları (1984), yaptıkları bir çalışmada direkt sistemle üretilmiş UHT sütte 20°C'de depolama sonucunda raf ömrünün 6. ve 10. haftaları arasında jelleşmeye rastlarken, aynı koşullarda depolanan ancak indirekt yöntemle üretilmiş UHT sütte 30 hafta süresince jelleşme ve viskozitede herhangi bir artış tespit etmemişlerdir. Çizelge 2.2'de direkt ve indirekt sistemle üretilen sütün jelleşme süresi ile ilgili toplu veriler görülmektedir.

Çizelge 2.2 Ön ısıtma ve sterilizasyon koşullarının UHT sütün jelleşme süresi üzerine etkisi (Datta and Deeth, 2001)

Ön ısıtma normları	Sterilizasyon normları ve yöntem		Depolama sıcaklığı, °C	Jelleşme için geçen zaman, gün
	Sıcaklık, °C	Süre, san.		
Ön ısıtma yok	140	3	30	96-99
72°C / 30 san	140	3	30	110-113
80°C / 30 dak	140	3	30	117-120
30°C / 4 saat	140	3	30	96-99
30°C / 4 saat	135	3	30	96-99
30°C / 4 saat	140	2	30	96-99
30°C / 4 saat	140	3	30	96-99
30°C / 4 saat	140	5	30	117-120
30°C / 4 saat	145	3	30	110-113
70°C / 10 san	142 (direkt)	5	25	84-98
75°C / 10 san	145 (indirekt)	3	25	182 güne kadar jelleşme yok
Ön ısıtma yok	Direkt		20	42-70
Ön ısıtma yok	142 (direkt)	6		150
Ön ısıtma yok	152 (direkt)	6		214
60°C / 10 dak	130 (direkt)	2	21	150
60°C / 10 dak	140 (direkt)	2	21	180
60°C / 10 dak	150 (direkt)	2	21	Jelleşme yok

İki sistem arasındaki en büyük farklılık, indirekt sistemde ürüne daha çok ısı yüklenmesi ve daha şiddetli etkide bulunan ısıtmadır. Isıtmanın daha şiddetli olması en çok serum proteinlerinin, özellikle de β -laktoglobulin ve α -laktalbumin denatürasyon miktarlarının her iki sistemde de farklı olmasına yol açmaktadır. Datta ve arkadaşları (2002), direkt ve indirekt sistemle işlenen sütlerin denatüre olmamış β -laktoglobulin ve α -laktalbumin miktarlarını farklı araştırmalardan Çizelge 2.3'de verilen şekilde derlemişlerdir.

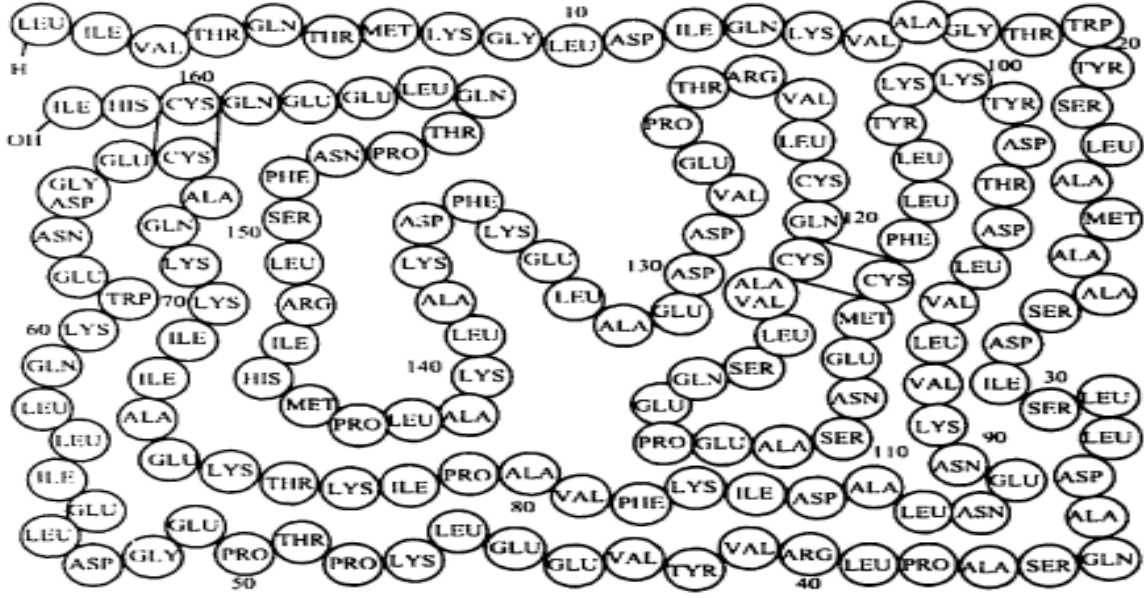
Çizelge 2.3 Ticari UHT sütlerde HPLC ile ölçülen denatüre olmamış β -laktoglobulin ve α -laktalbumin miktarları (mg/L) (Datta et al., 2002)

β -laktoglobulin miktarı		α -laktalbumin miktarı	
Direkt UHT sistemi ile ısı işlem	İndirekt UHT sistemi ile ısı işlem	Direkt UHT sistemi ile ısı işlem	İndirekt UHT sistemi ile ısı işlem
63-1210	22-525	220-1036	14-590
155-1123	21-137	159-996	94-662
355-423	306-338	499-569	462-502

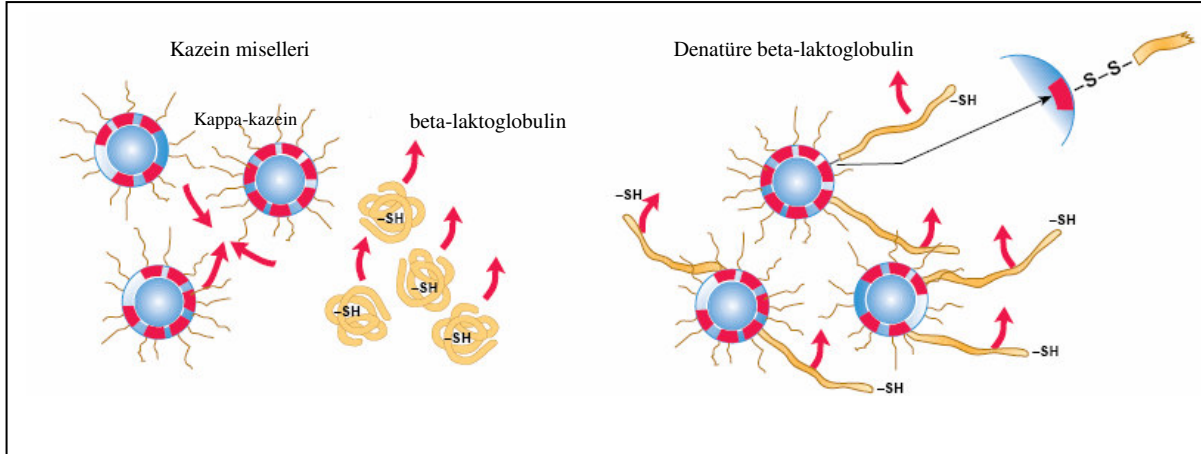
Isıl işlemde kullanılan parametrelerden sıcaklık ve süre normlarının da jelleşme üzerinde etkili olduğu saptanmıştır. Yapılan bir araştırmada, sterilizasyon sıcaklığının 142°C 'den 152°C 'ye; sterilizasyon süresinin de 6 saniyeden 12 saniyeye çıkarılması ile, sütün jelleşme olmadan daha uzun süre depolanabildiği görülmüştür (Datta and Deeth, 2001). Alınan bu sonuç sıcaklık ve sürenin yükseltildiği başka çalışmalar ile de desteklenmiştir. Çizelge 2.2'de bu çalışmaların sonucunda bulunan veriler toplu olarak görülmektedir. Daha şiddetli ısı işlem gören sütlerin jelleşmeye karşı daha fazla direnç göstermelerinin nedeni olarak, bu sütlerin serum proteinlerinde daha yüksek seviyede denatürasyon meydana gelmesi ve misel içi çapraz bağ oluşumunun artması gösterilmektedir. Bulunan sonuçlar, denatürasyon ile birlikte serum proteinleri ve kazeinler arasında oluşan komplekslerin, jelleşmenin oluşmaya başlamasında önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Bu olay ilk olarak, serum proteinlerinden özellikle β -laktoglobulinin denatürasyonla birlikte κ -kazeinle kompleks oluşturma eğilimi ile ilişkilidir. Daha şiddetli uygulanan ısı işlem sonucunda, kazein miseli içinde kimyasal çapraz bağ oluşumunun arttığı ve böylece denatüre β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin misel daha sıkı tutunarak daha zor ve uzun sürede ayrıldığı bildirilmektedir (Datta et al., 2002). Bu sonuç, direkt buhar enjeksiyonu ile üretilen UHT sütün, indirekt yöntemle üretilmiş UHT süte göre; kazein miseline tutunmuş daha az miktarda denature serum proteini içerdiği ve daha kısa süre içinde jelleştiği hipoteziyle de uyum içinde bulunmaktadır (Corredig and Dalgleish, 1996).

UHT işlemleri sırasında ve onu izleyen depolama sırasında kazein miselinde oluşabilecek önemli herhangi bir değişim, kazein misellerinin arasında etkileşimlere neden olarak, agregatlar oluşturmalarına yol açmaktadır. Bu oluşumlar sonucunda UHT sütün viskozitesinde belirgin ölçüde bir artış meydana gelmektedir. Bu tip değişimler ağır ağır oluşmakta, depolamanın ilk evrelerinde UHT sütün akıcılığını etkilememektedirler. Ancak yüzeyde belli dereceden fazla değişim olduktan sonra, agregasyon hızlı bir şekilde oluşmakta ve yarı katı bir jel ağı oluşmaktadır (Datta and Deeth, 2001).

Başlıca serum proteinlerinden biri olan β -laktoglobulin molekülü, 66-160 ile 106-119 gruplarında olmak üzere iki zincir arası disülfid bağı ve bir sülfidril grubu içermektedir (Şekil 2.3). Serbest tiyol grubu ve disülfid bağları ısı işlemleri sırasında önemli faaliyetlerde bulunmaktadır. Cys (sistein) 121 kalıntısındaki serbest tiyol grubu, β -laktoglobulinin ısı işlemleri birlikte diğer β -laktoglobulinler veya serum albumin gibi sistein içeren proteinler ile veya α -laktalbumin, α_2 -kazein ve özellikle κ -kazein gibi disülfid köprüsü içeren proteinler ile etkileşime girmesinde önemli rol oynamaktadır (Cockburn, 2001; Vasbinder et al., 2003). Bu olay sırasında, tiyol grubu ile disülfid köprüleri üzerinden polimerleşmeye kadar giden ileri değişim tepkimeleri oluşmakta ve bu tepkimelerin β -laktoglobulinin denatüre olması ile başladığı belirtilmektedir (Vasbinder et al., 2003). pH 7'de β -laktoglobulin kararlı bir dimer yapısında olduğu için, tiyol grubu iki monomer arasında korunaklı bir şekilde bulunmaktadır. 65 °C'nin üzerinde uygulanan ısı işlemlerinde molekül yapısında denaturasyona bağlı olarak birtakım düzenlenmeler oluşmakta ve reaktif -SH grubu açığa çıkmaktadır (Şekil 2.4). Bu grubun β -laktoglobulinin κ -kazeinle kompleks oluşturmasından sorumlu olduğu bildirilmektedir (Dalglish et al., 1997).



Şekil 2.3 β -laktoglobulin'in yapısı (Cockburn, 2001)



Şekil 2.4 Denatürasyon sonucunda β -laktoglobulinin κ -kazeinle kompleks oluşturması

Denature serum proteinleri ve kazein miseli arasında oluşan bu kompleks, disülfid bağlarının yanında iyonik ve hidrofobik etkileşimleri de içermekte ve kazeinin misel özelliklerini değiştirmektedir. Miselde meydana gelen bu değişim, ısı işlemin şiddetiyle birlikte artış göstermektedir. Bu şekilde değişime uğramış kazein misellerinin, jelleşmeye daha dirençli olduğu kadar, ısı koagülasyonu ve rennetle koagülasyona da daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (Garcia-Risco et al., 2002). Ayrıca, kazein miselinin çevresindeki serum proteini katmanı ile kazeinin izoelektrik

noktasının 4.6'dan, β -laktoglobulinin izoelektrik noktası olan 5.2'ye kadar yükselebildiği saptanmıştır (Vasbinder et al., 2003).

Ancak, ısıl işlem sonucunda oluşan β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin, raf ömrünün ileri aşamalarında, daha çok enzimatik aktiviteyle miselden ayrılması ile, serum fazında bu kompleksin konsantrasyonunun arttığı ve bu artışın kritik bir değere ulaşması sonucunda sütün jelleştiği bildirilmektedir (Garcia-Risco et al., 1999).

2.2.2. Çiğ sütün mikrobiyolojik kalitesi ve proteolizin jelleşme üzerine etkileri

Jelleşme üzerine yaygın olarak kabul gören bir başka teori ise, raf ömrü süresince oluşan jelleşmenin, sütte doğal olarak bulunan proteinazların (plazmin) veya UHT işlemine dayanıklı olan bakteriyel proteinazların proteolitik aktiviteleri sonucunda başlamakta olduğudur (Koning et al., 1985; Kelly and Foley, 1997; Valero et al., 2001; Datta and Deeth, 2003). Yüksek kalitedeki çiğ süttten üretilen UHT sütün jelleşmesine sütte doğal olarak bulunan süt proteinazlarının; düşük mikrobiyolojik kaliteye sahip çiğ süttten üretilen UHT sütün jelleşmesine ise hem doğal süt proteinazlarının hem de ısıya dirençli bakteriyel proteinazların neden olduğu bildirilmektedir (Datta and Deeth, 2001).

Proteolitik enzimlerin sütün jelleşmesine etkisi iki şekilde olmaktadır. Bunlardan ilki kazein miselinden β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin ayrılmasını hızlandırmaları, ikincisi ise kazeini proteolitik hidrolize uğratmalarıdır.

Grufferty ve Fox (1988), süt proteinazları tarafından gerçekleştirilen kazein proteolizinin, UHT sütün raf ömrü sırasındaki jelleşmesinden sorumlu olduğunu bildirmiştir. Proteolitik enzimler ile jelleşme arasındaki ilişkinin varlığı, Çizelge 2.4'de verilen, farklı araştırmalardan elde edilmiş verilerden de anlaşılabilir.

Çizelge 2.4 Proteolitik enzimlerin jelleşme üzerine etkileri (Datta and Deeth, 2001)

Kullanılan enzim/kaynak	Deneme	Sonuç
Plazmin/plazminojen	Direkt, indirekt ısı işlem (i.i.)	İndirekt i.i. plazmini inaktif hale getirdi; indirekt i.i.de 182. güne kadar jelleşme görülmedi
Plazmin		60 günde kazein degradasyonuna ve jelleşmeye neden oldu
Bakteriyal proteinazlar	pH opt. 6.5; sıcaklık opt. 45°C	Acı tat ve jelleşmeye neden oldu
Psikrotrof proteinazları		Jelleşmeden sorumludurlar
Bakteriyal, <i>P. fluorescens</i>		Jelleşmeden sorumludur; jelleşme süresi mikroorganizma sayısına bağlıdır
Bakteriyal proteinazlar, plazmin		İkisi de jelleşmeden sorumludur
Plazmin	Yüksek kalitede süt <2700 cfu mL ⁻¹	90 günde jelleşme görüldü
Bakteriyal proteinazlar	Düşük kalitede süt, 2 x 10 ⁶ cfu mL ⁻¹	21 günde jelleşme görüldü
Proteinazlar (tanımlanmamış)	Direkt ve indirekt i.i.	Direkt i.i. görmüş sütte daha fazla proteoliz ve jelleşme
Proteinazlar (tanımlanmamış)	4, 20, 30 ve 37°C'de depolama	37 °C'daha çok proteoliz ama daha az jelleşme; jelleşme proteolize bağlı değil
Çiğ süttten izole edilmiş plazmin	Konsantre edilmemiş süt	Proteoliz ve jelleşme süresi arasında ilişki yok, ancak jelleşme için bir miktar proteoliz gerekli
Proteinaz inhibitörleri	Direkt i.i.	Engellenmiş plazmin aktivitesi, geciktirilmiş jelleşme, 20°C'de 9 ay süresince depolamada jelleşme veya proteoliz yok

Çizelge 2.4'de de görüldüğü gibi; çiğ süte bulaşmış olan psikrotrofik bakterilerin ürettikleri, sıcaklığa dirençli proteinazlar da UHT sütte jelleşmeye neden olabilmektedirler. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, çiğ süttten izole edilen bir *Pseudomonas fluorescens* suşundan elde edilen proteinazların UHT sütte jelleşmeye neden olup olmadıkları incelenmiştir (Datta and Deeth, 2001). Sonuçta jel

oluşumunun, ısıtma işlemi uygulamasından önce sütte gelişmiş olan mikroorganizma miktarına bağlı olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç, Griffiths ve arkadaşlarının (1988) yaptığı bir çalışma ile de uyum içinde bulunmaktadır. Bu çalışmada UHT işleminden önce 6°C'de bekletilmiş çiğ süttten üretilen UHT sütün raf ömrünün, 2°C'de bekletilmiş çiğ süttten üretilen UHT sütün raf ömründen daha kısa olduğu tespit edilmiştir. Sütte mikroorganizmalar tarafından üretilen proteinazların, tıpkı rennet gibi bir aktivite göstererek k-kazeinin para-k-kazeine parçalanmasına neden oldukları bildirilmektedir.

Birçok araştırmacı UHT sütün depolama sırasında jelleştiği süre ile, sütte bulunan bakteriyel proteinaz miktarı arasında bir ilişki kurarak, uzun bir raf ömrü için çiğ sütte olabilecek maksimum proteinaz miktarı hakkında öneride bulunmuşlardır. UHT sütün jelleşmesine, farklı *Pseudomonas* suşlarından elde edilen bakteriyel proteinazların etkisini konu alan çalışma sonuçları Çizelge 2.5'de özetlenmektedir.

Çizelge 2.5 UHT sütün jelleşmesinde süte ilave edilmiş bakteriyel proteinazların etkisi (Datta and Deeth, 2001)

Proteinaz	Proteinaz miktarı (ng mL ⁻¹)	Proteinaz aktivitesi (U mL ⁻¹ x 10 ⁻³)	Jelleşme süresi (hafta)
<i>P. fluorescens</i> OM41	3	60	13.5-17.5
	15	300	7.5-12.5
	30	600	4.5-7.5
<i>P. fluorescens</i> OM227	0.3	29.7	20.5-21.5
	3	297	4.5-7.5
	15	1485	0.5-3.5
<i>P. fluorescens</i> B 52	30	2970	0.5-3.5
		131	0.5
		13	4-6
<i>P. fluorescens</i> B 12		138	0.5
		14	4-6
	1-2		>12
<i>P. fluorescens</i>	5		4
	0.5-1.0		12

Literatürde yer alan bilgilere göre bakteriyal proteinazlar ve plazminin kazein alt gruplarına karşı gösterdikleri hassasiyet sırasıyla, $\kappa > \beta > \alpha_{s1}$ ve $\beta > \alpha_{s2} > \alpha_{s1} > \kappa$ şeklindedir. Plazmin, tercihen kazein miselinin hidrofobik iç kısmına gömülü halde bulunan β -kazeini hidrolize ederken, bakteriyal proteinazlar ise tercihen kazein miselinin yüzeyinde bulunan κ -kazeini hidrolize etmektedir. Bu nedenle plazmine bağlı hidroliz, kazein miselinde daha çok hasara yol açmaktadır. Bu olay, plazmin hidrolizi sonucunda daha yüksek oranda parçalanmış ve dağılmış halde gözlenen; bakteriyal proteinazların hidrolizi sonucunda ise hemen hemen küresel ve daha sağlam gözlenen kazein miseli yapısının nedenini açıklamaktadır (Lopez-Fandino et al., 1993b; Datta and Deeth, 2001).

Plazmin ve bakteriyal proteinazların kazein üzerindeki farklı etkileri, RP-HPLC tekniği ile depolama sırasında UHT sütte oluşan peptidlerin belirlenmesi ile gözlenebilmektedir (Deeth and Datta, 2000).

Direkt sistemle gerçekleştirilen UHT işleminin sonucunda üründe jelleşme görülme sıklığının daha fazla olmasının nedenini; Manji ve arkadaşları (1986) daha yüksek oranda aktif halde kalan plazmin/plazminojen miktarına bağlamışlardır. Bu çalışmanın detaylarına bakıldığında, direkt sistemle üretilmiş UHT sütte sırasıyla % 19 ve % 37 orijinal plazmin ve plazminojen aktiviteleri tespit edilip, indirekt sistemle üretilmiş UHT sütte hiç plazmin aktivitesi saptanmayıp, sadece % 19 plazminojen aktivitesine rastlanmıştır. İndirekt yöntemle üretilmiş UHT sütler farklı sıcaklık derecelerinde (4, 22-25, 37°C) depolanmış ve raf ömrünün 182. gününe kadar herhangi bir jelleşme belirtisi görülmemiştir. Bulunan sonuçları destekleyici şekilde, indirekt sistemle üretilen UHT sütlerde, direkt sistemle üretilenlere göre daha az miktarda protein parçalanması tespit edilmiştir.

Ancak farklı sıcaklıklarda depolanan UHT sütlerin jelleşme zamanlarındaki farklılık, proteoliz seviyesi ile açıklanamamakta; 40°C'de, 30°C veya 20°C'ye (Renner, 1988) göre daha fazla proteoliz olmaktadır, 40°C'de (Kocak and Zadow, 1985) depolanan sütlerde jelleşme gecikmektedir. Bunun yanı sıra, 20-25°C'lerde depolanan UHT sütün, düşük (~4°C) veya yüksek (~35-40°C) sıcaklıklarda depolanan UHT sütlere

oranla daha hızlı bir biçimde jelleştiği bildirilmektedir (Datta and Deeth, 2001). Manji ve Kakuda (1988), konsantre edilmemiş sütte jelleşmenin gerçekleşmesi için bir miktar proteolizin gerekli olduğuna, ancak proteoliz dışında başka etkenlerin de jelleşmeye neden olabileceğine karar vermişlerdir.

2.2.3. Depolama sıcaklığının jelleşme üzerine etkisi

Depolama sıcaklığı UHT sütte jelleşmenin gözlenmesi için geçmesi gereken zamanı önemli ölçüde etkilemektedir. UHT sütün 20-30°C arasında depolandığında raf ömrünün 3-6 ay arasında olduğu, buzdolabı koşullarında depolamanın ise üründe oluşabilecek değişimleri sınırladığı belirtilmektedir (Celestino et al., 1997). Çizelge 2.6'da depolama sıcaklığının jelleşme üzerindeki etkisi görülmektedir.

Çizelge 2.6 Depolama sıcaklığının jelleşme üzerine etkileri (Datta and Deeth, 2001)

Ön İşlem	UHT üretim koşulları	Depolama Sıcaklığı	Jelleşme zamanı, gün
Yok	138°C/2-5 s (İndirekt)	4-30	390, sıcaklıktan bağımsız
Yok	138°C/2-5 s (İndirekt)	37	730
Yok	139°C/1.5 s (İndirekt)	4	570
Yok	138°C/1.5 s (İndirekt)	30-35	840 gün süresince jelleşme yok
Yok	138°C/2-5 s (Direkt)	25	300
Yok	138°C/2-5 s (Direkt)	35	300 gün süresince jelleşme yok
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	2	>208
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	15	130-133
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	20	130-133
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	25	96-99
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	30	96-99
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	35	110-113
Yok	140°C/ 3 s (Direkt)	40	>208
70°C/10 s	142°C/5 s (Direkt)	22-25	84-98
75°C/10 s	145 °C/3 s (Direkt)	4,22,25,37	182 gün süresince jelleşme yok
Yok	140°C/4 s (Direkt)	2	>250
Yok	140°C/4 s (Direkt)	10	225
Yok	140°C/4 s (Direkt)	15	175
Yok	140°C/4 s (Direkt)	20	150
Yok	140°C/4 s (Direkt)	25	120
Yok	140°C/4 s (Direkt)	30	100
Yok	140°C/4 s (Direkt)	40	250 gün süresince jelleşme yok
Yok	140°C/4 s (Direkt)	50	250 gün süresince jelleşme yok

Bir araştırma sonucunda, jelleşmenin oda sıcaklıklarında (~20-25°C); düşük (~4°C) ve yüksek (~35-40°C) sıcaklıklara oranla daha kolay oluştuğu bildirilmektedir (Kocak and Zadow, 1985). Koçak ve Zadow (1985), farklı sıcaklıklarda jelleşmenin şu sırayla oluştuğunu tespit etmişlerdir; 30>25>20>15>10>2>40,50°C. Yüksek sıcaklıklarda jelleşmenin düşük oranda görülmesinin nedeni hakkında kesin bir görüş bulunmamaktadır. Yapılan başka bir çalışmada ise, depolama sıcaklığının artırılmasıyla proteolitik aktivitede belirgin bir artış görülmüş ve 4, 20, 30 ve 40°C'lerde proteolizin sırasıyla % 1, % 3.2, % 5.3 ve % 6.9 olduğu saptanmıştır (Renner, 1988). Bu saptama proteolizin jelleşme için bir sürücü güç olduğu bilgisiyle ters düşüyor gibi görünmektedir. Ancak, yüksek sıcaklıklarda depolamada daha az jelleşme görünmesinin asıl sebebinin, proteinlerin yüksek oranda proteolize uğrayarak, stabil bir jel matriksi oluşturamayacak kadar parçalanmış olmaları ihtimali olduğu bildirilmektedir (Manji et al., 1986).

2.2.4. Diğer faktörlerin jelleşme üzerine etkileri

Aşağıda sıralanan ve sütün kalitesini etkileyen faktörler, UHT sütün jelleşme davranışı üzerinde de etki sahibidir.

- İneğin yaşı

İneğin yaşı ile birlikte sütte bulunan plazmin aktivitesi de artış göstermektedir. Sonuç olarak yaşlı ineklerden elde edilen süt, genç ineklerden elde edilenlere göre daha kısa sürede jelleşmektedir (Datta and Deeth, 2001).

- Laktasyonun evresi

Laktasyonun ilk evresinde alınan sütlerin UHT prosesinden sonra jelleşmeye laktasyonun son evresinde alınan sütlere göre daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (Auldism et al., 1996). Auldism ve arkadaşları, çalışmalarının sonucunda laktasyon başı sütlerinin 5-6 ay içinde jelleştiklerini, laktasyon sonu sütlerinin ise 9 ay süresince jelleşmediklerini saptamışlardır. Ancak yapılan bu çalışmada, kazein dışı azot miktarındaki artış ile saptanabilen plazmine bağlı proteolizin laktasyon sonu sütlerinde daha yüksek oranda meydana geldiği belirlenmiştir. Araştırmacılar laktasyon sonu

sütlerinden üretilmiş UHT sütlerde, laktasyon başı sütlerine oranla daha fazla miktarda kazeinle kompleks yapmış denatüre serum proteinine rastlamışlardır.

- Mastitis

UHT işlemi uygulanan mastitisli sütün jelleşmeye normal sütten daha duyarlı olduğu bildirilmektedir. Bunun nedeninin plazmin miktarındaki artış ile proteolitik aktivitenin de yükselmesi olabileceği ifade edilmektedir (Bastian and Brown, 1996). Auldist ve arkadaşları, 20°C'de depolanan yüksek somatik hücre içeriğine sahip UHT sütlerin, düşük somatik hücre içeren UHT sütlere göre daha fazla proteolize uğradıklarını; ancak proteoliz miktarıyla sütlerin jelleşmeye eğilimleri arasında bir ilişki bulunmadığını tespit etmişlerdir (Auldist et al., 1996). Jelleşme üzerinde laktasyon evresinin, somatik hücre içeriğinden daha önemli bir etken olduğu, bununla birlikte yüksek somatik hücre içeriğine sahip sütlerin laktasyonun hangi evresinde olursa olsun daha kısa bir sürede jelleştiği gözlenmiştir.

Kelly ve Foley (1997), indirekt sistemle üretilen yüksek ve düşük somatik hücre içeriğine sahip iki farklı UHT süt örneğinin çok az oranda kalıntı plazmin aktivitesine sahip oldukları ve jelleşmeye karşı çok düşük oranda eğilimli olduklarını saptamışlardır. Ancak plazminojen ilavesiyle, hem yüksek hem de düşük somatik hücre içeriğine sahip sütler jelleşmekle birlikte, jelleşmenin yüksek somatik hücre içeriğine sahip sütlerde daha belirgin olduğu görülmüştür.

- Mevsim

Sütün bileşiminde mevsime bağlı olarak ortaya çıkan değişimler de UHT sütün jelleşme davranışını etkilemektedir. Yaz aylarında alınan sütlerden, kış aylarında alınanlara göre daha stabil bir UHT ürünü elde edilebileceği bildirilmektedir (Datta and Deeth, 2001).

- Katkı maddeleri

Sodyum fosfat ve sodyum sitrat ilavesinin UHT sütte jelleşmeyi hızlandırırken, sodyum hekzametafosfat gibi polifosfatlar jelleşmeyi geciktirdiği bildirilmektedir (Kocak and Zadow, 1985b).

- Yağ miktarı:

Yağsız UHT süt, tam yağlı UHT süte göre jelleşmeye daha duyarlıdır. Bunun nedeninin yağsız sütte, plazmin ve bakteriyal proteinazların aktivitelerinin artmasına bağlı olabileceği bildirilmektedir (Lopez-Fandino et al., 1993b). Bu aktivite artışının yağlı sütte bulunan yağın, enzimlerin kazein substratlarına ulaşmasını engelleyici etkisinin, yağsız sütte olmaması nedeniyle olabileceği ifade edilmektedir. Bununla birlikte, yağsız sütte denatüre serum proteinleri kazein miseli yüzeyine daha az oranda adsorblanmakta ve bu da yağsız sütün jelleşmeye karşı daha az dirençli olmasının sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (Garcia-Risco et al., 1999).

2.3. Jelleşmenin Kontrol Altına Alınması

UHT sütlerde görülen jelleşmenin kontrol altına alınması, önlenmesi veya geciktirilmesine yönelik birçok yöntem denenmiştir. Bu yöntemler hem bakteriyel, hem de plazmine bağlı proteolitik aktivitenin düşürülmesi, kazein miselinden $\beta\kappa$ -kompleksinin ayrılmasının geciktirilmesi ve/veya proteinler arası çapraz bağlanma ile oluşan ağ yapının oluşumunun önlenmesini temel almaktadır. Pratikte görülen engelleyici uygulamalar ise; yüksek kalitede çiğ süt kullanımı, işleme koşullarının ayarlanması, depolama koşullarında değişikliklerinin yapılması ve/veya katkı maddelerinin kullanılması gibi önlemleri içermektedir.

2.3.1. Çiğ süt kalitesi

Yüksek kaliteye sahip çiğ sütün kullanılması uzun bir raf ömrüne sahip UHT süt üretimi için en önemli etkenlerden biridir. Çiğ sütün düşük sıcaklıkta ($\leq 4^{\circ}\text{C}$), kısa süre (≤ 48 saat) depolanarak işlenmesi psikrotrofik bakterilerin gelişimini en aza indirmekte ve sonuç olarak ısıl işlemde önce üretilen ekstraselüler bakteriyal proteinazların miktarının da düşük olmasına yol açmaktadır. Bunun yanı sıra, düşük

somatik hücre sayısına sahip çiğ sütün kullanılması, plazmin ve plazmin aktivatörlerinin de düşük miktarda bulunmasını garanti altına almaktadır (Kelly and Foley, 1997; Auld et al., 1996).

2.3.2. Düşük sıcaklıkta ön ısıl işlem uygulanması

Jelleşmenin önlenmesi veya geciktirilmesinde ısıl işlem uygulaması oldukça pratik bir yöntemdir, ancak jelleşmeyi önleyebilecek ısıl işlem normlarının istenmeyen bir özellik olan “pişmiş tat” kusuruna yol açabileceği bilinmektedir. Bu nedenle tat ve kokuya olumsuz bir etki yapmadan jelleşmenin olabildiğince geç oluşumunu sağlayacak normların bulunması önemli bir etkidir. Literatürde bu konu üzerine yapılmış birçok araştırma bulunmaktadır. UHT süt üretiminde ön ısıl işlem uygulamasının, sütteki serum proteinlerini denatüre ederek kazein miseli üzerine adsorblanmalarını sağladığını ve bunun da kazeini proteolitik etkiden önemli ölçüde koruduğu düşünülmektedir (Datta and Deeth, 2001).

2.3.3. UHT sütün depolama sıcaklığının ayarlanması

Depolama sıcaklığının jelleşme üzerine etkisi farklı araştırmacılar tarafından farklı şekilde gözlenmiştir. Datta ve Deeth'e göre (2001), UHT sütün jelleşme oluşumu için optimum sayılan 25-30°C'lerin üzerinde veya altındaki sıcaklıklarda depolanması, jelleşmeyi geciktirmektedir. Ancak Alkanhal ve arkadaşları (1994), 6°C'de depolanan UHT süt örneklerinin viskozite değerlerinde 25°C'de depolanan UHT süt örneklerine göre artış görmüş, Celestino ve arkadaşları da (1997), yaptıkları çalışmada bu bulguyu destekleyici bir sonuç bulmuşlardır.

Literatürdeki bilgilerin ortak olduğu en önemli bulgu, 35°C'nin üzerindeki sıcaklık derecelerinde depolamanın, UHT sütün duyusal ve fiziko-kimyasal özelliklerinde istenmeyen değişimlere neden olduğudur.

2.3.4. Katkı maddelerinin kullanımı

UHT işleminden önce süte % 0.05-0.1 (m/m) oranlarında sodyum hekzametafosfat ilavesinin jelleşmeyi geciktirdiği bildirilmektedir. Kocak ve Zadow'un yaptığı bir

araştırmada (1985b) bazı polifosfatların jelleşmeyi, protein koagülasyonunu içeren ikinci aşamayı engelleyerek önledikleri bulunmuştur.

2.3.5. Homojenizasyon normlarının ayarlanması

Literatürde detaylı bir çalışma bulunmamasına rağmen, hem yağ globüllerinin hem de proteinlerin boyutlarına doğrudan etkide bulunması nedeniyle homojenizasyonda kullanılan basınç parametresinin değiştirilmesinin jelleşme üzerinde etkili olacağı düşünülmektedir.

Homojenizasyonun yağ globüllerinin yanısıra, başlıca süt proteini olan kazein ile serum proteinleri üzerine de çeşitli etkilerinin olduğu bilinmektedir (Walstra and Jenness, 1984). Homojenizasyon sırasında yağ globüllerinin çeperindeki membran parçalanmakta, çapları küçülen yağ globüllerinin yüzey alanı artmakta ve doğal yağ globülü membranı, artan bu yüzey alanını tekrar tamamıyla kaplayamamaktadır. Bu nedenle yeni oluşan yağ globüllerinin yüzeyi daha çok kazein miselleri olmak üzere, serum proteinleri gibi proteinler ile çevrelenmektedir. Bu olay proteinlerin, hem hidrofilik hem de hidrofobik kısımlar içermeleri nedeniyle yüzey aktif maddeler olmaları ve su-yağ ara yüzeylerine adsorblanabilmeleri ile açıklanmaktadır (Walstra and Jenness, 1984). Başlıca kazeinlerden oluşan bu yapay membran tabakası sayesinde, homojenize edilmiş yağ globülleri birleşmeye (coalescence) karşı korunmaktadır (McCrae, 1999).

Homojenizasyonun proteinler üzerine etkileri daha farklı şekillerde de olabilmektedir. Örneğin, homojenizasyonun ısı ile birleştiğinde daha ileri bir serum proteini denaturasyonuna yol açtığı bildirilmektedir (Garcia-Risco et al., 2002). Yüksek homojenizasyon basınçlarında büyük kazein misellerinin de daha küçük boyutlara indirildiği, izleyen zamanda ise tekrar orijinal boyutlarına dönme eğiliminde oldukları bildirilmektedir (Walstra and Jenness, 1984).

Literatürde Yüksek Basınç uygulamalarının süt üzerindeki farklı etkilerini konu alan araştırmalar da bulunmaktadır. Bu kapsamda, lucci ve arkadaşları (2007) 100 MPa basıncın, sütün doğal olarak içerdiği antimikrobiyal etkiye sahip enzimlerden laktoferrin ve lizozimin etkilerini arttırdığını bildirmektedirler. Bunun nedeninin (i)

basıncın mikroorganizmaların hücre duvarları veya dış membranlarının bütünlüğüne zarar vermesi, (ii) zarar gören duvar veya membranlardan enzimlerin daha kolay bir biçimde geçebilmesi, (iii) enzimlerin aktif bölgelerinde basıncın etkisiyle aktivitelerini artırıcı yeniden düzenlenmelerin olduğu düşünülmektedir.

Literatürde Ultra Yüksek Basınç Uygulamaları'nın da (410-1860 bar) süt proteinleri üzerindeki etkileri üzerine çalışmalar bulunmasına rağmen (Paquin, 1999; Scollard et al., 2000; Sandra and Dalgleish, 2005), UHT süt üretiminde kullanılan normlar olan 150-200 bar arasındaki homojenizasyon basınçlarının etkisi üzerine yeterli kaynak bulunmamaktadır.

Bu nedenlerden dolayı, bu çalışmada UHT süt üretim parametrelerinden henüz jelleşmeye yönelik olarak detaylı olarak çalışılmamış homojenizasyon basıncının etkisinin, jelleşme üzerinde etkisi olduğu bilinen parametrelerden biri olan depolama sıcaklığı ile beraber incelenmesi planlanmıştır. Bu amaçla 150, 175 ve 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen UHT sütlerin, raf ömürleri olan 120 gün süresince 10, 20 ve 40°C'lerde depolanarak, jelleşme ve kalite özelliklerini ortaya koyan analizlerle incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

UHT süt üretimi gibi büyük ölçekli üretimlerde, hem işlenmesi gereken madde miktarının fazlalığı, hem makina tasarımındaki sınırlamalar, hem de makina işletim giderlerinin yüksek olması yüzünden proses parametrelerinin değiştirilmesindeki zorluk nedeniyle, son ürünlerdeki etkilerin belirlenmesi yönündeki araştırmalar oldukça kısıtlı kalarak, daha önceki denemeler ve literatürde bu konuda yer alan bilgiler ile sınırlanmaktadır. Araştırma-geliştirme amacıyla kurulan pilot ölçekli sistemler ise, her sistem ve firma için ulaşılabilir olmamakta ve bu sistemler her ne kadar gerçek sistemlerin küçültülmüş modelleri de olsa, aralarında sonucu etkileyecek farklılıklar da bulunabilmektedir.

Bu gibi zorluklar nedeniyle, verilerin onları etkileyen parametreler ile olan ilişkilerinin öncelikle matematiksel tekniklerle incelenmesi ve davranışlarının tahmin edilmesi ve belirlenen bir modelle açıklanması, yaygın olarak kullanılan bir yöntem olarak süregelmiştir. Bu şekilde, belirli normlar üzerinde çalışılıp verilerin davranış şekli

belirlendikten sonra, daha önceki verilerden öğrenilen bilgiler ve sistemin genel eğilimi kullanılarak, çalışılmamış normlarda sistemin davranışı tahmin edilebilmektedir.

Yapay Sinir Ağları, lojistik, karmaşıklık ve finansal açıdan deneysel çalışmaların yapılmasının uygulanabilir olmadığı durumlarda, geleneksel modelleme tekniklerine kıyasla oldukça başarılı sonuçlar vermesi nedeniyle tercih edilen, tahmine dayalı bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Jimenez-Marquez et al., 2005). Oldukça yeni bir teknik olmasına karşın; öğrenme, kendini uyarlayabilme ve tahmin edebilme yeteneği nedeniyle bilimin farklı alanlarında yaygın olarak kullanılmaya başlayan umut verici bir yöntemdir. Bu nedenle bu çalışmanın ikinci bölümünde, seçilen deneysel veriler kullanılarak en uygun yapay sinir ağı mimarisi saptanmış ve test verilerini tahmin etmedeki başarısı gerçek verilerle karşılaştırılarak ortaya koyulmuştur.

2.4. Yapay Sinir Ağları

Dünyamızda olaylar o kadar büyük bir çeşitliliğe sahip olarak gelişmektedir ki, neredeyse bir olayın her yönüyle aynısını bulmak imkansızdır. Buna rağmen, yine de olaylarda benzer yönler bulunmaktadır. Çoğu olayda bir süreklilik, benzerlik ve tahmin edilebilirlik vardır ve bu, olayları geçmiş deneyimlerden çoğu zaman doğru tahmin edebilmemizi sağlamaktadır.

Doğrusal regresyon, çoklu doğrusal regresyon, kısmi en küçük kareler regresyonu gibi klasik yöntemler, gerçek hayattaki birçok problemin gidişinin tahmini için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu metotlarda doğrusallık, normal dağılım gibi birtakım hipotezlerin sağlanması, veya sağlandığının kabul edilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra sadece sayısal değere sahip olan değişkenler bu modellere dahil edilebilmekte, sayısal değere sahip olmayan değişkenlerin etkisi hesaba alınmamaktadır (Sharma et al., 2007).

Yapay Sinir Ağları (YSA) Yöntemi, biyolojik sinir ağlarından esinlenerek geliştirilen matematiksel, algoritmik yazılım modellerini kapsar. YSA'nın temel yapıtaşları nöronlar yani sinirlerdir. Bu yapay sinirlerin, biyolojik sinirlerde bulunan dendritler ve aksonlar gibi veri giriş ve çıkış bağlantıları bulunmaktadır. Hem biyolojik hem yapay sinirlerin veri çıkışının kuvvetini belirleyen ağırlıkları bulunmaktadır. Sinir, kendisine

gelen verileri, verinin ağırlığını hesaba katarak birleştirir ve bir çıktı sinyali üretir. Sinirler arasındaki bağlantıların kuvveti yani ağırlıklar güncellenebilir, böylece hem gerçek hem yapay sinirlerde öğrenme gerçekleşir (Sharma et al., 2007). Buna göre, bir yapay sinir ağının tanımı şu şekilde yapılabilir (Haykin, 1999):

“Bir Yapay Sinir Ağı, basit işlem birimlerinden (sinirlerden) oluşan ve deneyimlerden kazanılan bilgiyi saklama ve daha sonra kullanıma sunma doğasına sahip paralel dağılımlı, yekpare bir işlemcidir. Bir YSA iki yönüyle insan beynine benzer:

- 1. Bilgi, bir eğitim/öğrenim işlemiyle çevreden alınır.*
- 2. Sinaptik ağırlık olarak bilinen sinirler arası bağlanma kuvvetleri ile, elde edilen bilginin saklanması sağlanır.”*

YSA'nın eğitilmesi, “öğrenme algoritması” adı verilen, istenen tasarım amacına ulaşmak için belirli bir düzen içinde ağırlıkları güncelleyen bir fonksiyon tarafından sağlanır.

YSA, işleme gücünü ilk olarak paralel dağılımlı yekpare yapısından, ikinci olarak da eğitilebilmesinden ve bunun sonucunda “genelleme” yapabilmemesinden almaktadır. Genelleme, bir yapay sinir ağının eğitiminde (öğreniminde) kullanılmayan yeni bir veri girişi sonucunda mantıklı sonuçlar çıkarabilme yeteneği olarak tanımlanabilir. Bu iki bilgi işleme yeteneği yapay sinir ağlarının, büyük çaplı karmaşık problemleri çözmelerini olası hale getirmektedir. Yapay Sinir Ağlarının öne çıkan bazı özellikleri aşağıda sıralanmıştır (Haykin, 1999):

- 1. Doğrusal olmama:** Bir yapay sinir, doğrusal ya da doğrusal olmayan yapıda olabilir. Buna karşılık çok sayıda sinir hücresinden oluşan bir yapay sinir ağı, doğası gereği doğrusal olmayan bir yapıda olacaktır. Doğrusal olmama özelliği, doğrusal bir yapıda olmayan fiziksel sistemlerin incelendiği durumlarda oldukça önemli bir özellik haline gelmektedir.
- 2. Girdi-çıkı eşleştirmesi:** Yapay sinir ağı, “danışmanlı öğrenme (supervised learning)” adı verilen eğitim stratejisi ile kendisine girdi olarak verilen sinyale göre bir

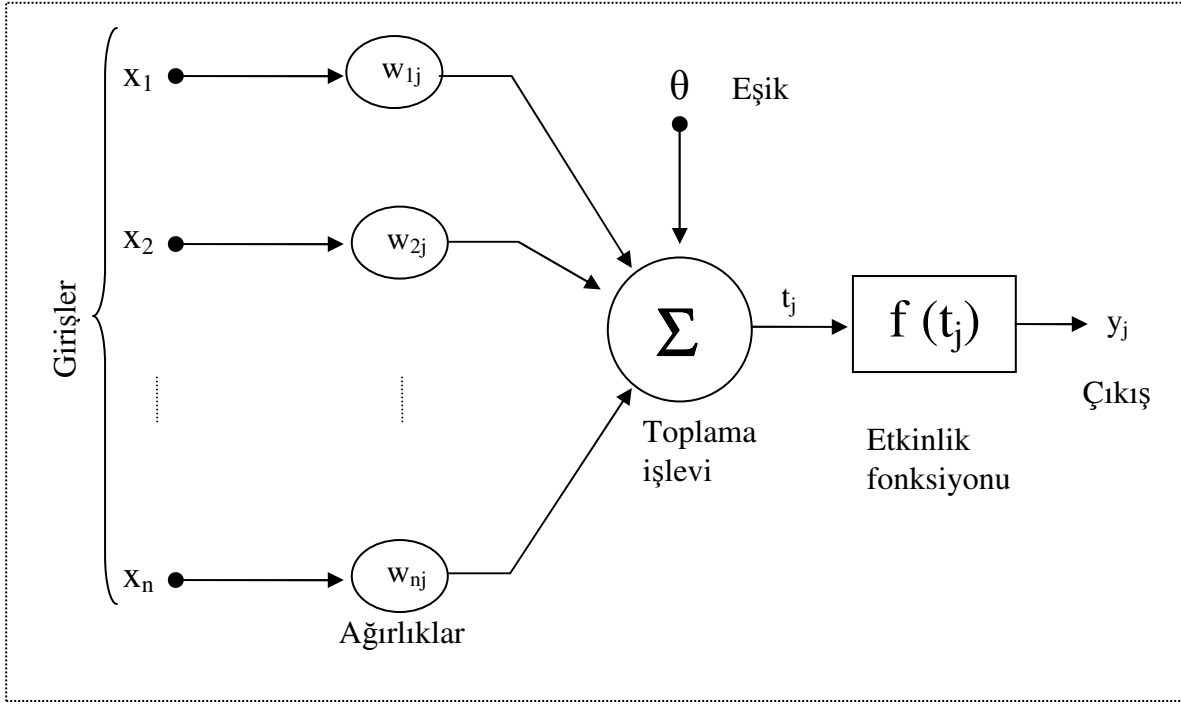
çıkıtı sinyali üretir ve bu çıkıtı sinyalinin beklenen sinyale yakın hale getirilmesi yani eğitim, sinaptik ağırlıklar düzenlenerek gerçekleşir. Bunun için, veriler içinden rastgele olarak bir eğitim veri seti seçilir ve bütün girdi ve çıkıtı değerleri ağa verilerek, ağın eğitimi sinaptik ağırlıklardaki değişim durağanlaşana kadar devam eder. Eğitim sırasında ağa verilen veriler sıralamaları değiştirilerek tekrar tekrar verilebilir. Böylece ağ, kendisine verilen örneklerden bir girdi-çıkıtı eşleştirmesi yaparak eğitilir.

3. Uyarlanabilirlik: Yapay sinir ağları çevreye göre kendi sinaptik ağırlıklarını uyarlama yeteneğindedirler. Böylece ağ, değişen koşullara kendini kolaylıkla uyarlayabilmektedir.

4. Hız: Yapay sinir ağları, yekpare paralel yapıları sayesinde çok büyük kapsamlı, karmaşık problemlerin işlenmesinde çok kısa sürede sonuç üretebilirler.

2.4.1. Yapay sinir modeli

Yapay sinirler, sinir ağının çalışabilmesi için temel olan bilgi işleme birimleridir. Sinir ağlarının temel yapıtaşları olup, tek başlarına ele alındıklarında çok basit işleve sahip işlemciler olarak görülebilirler. Bir sinir yapısı içerisinde üç ana bölüm bulunur. Bunlar sırasıyla girişler, toplama işlevi ve etkinlik fonksiyonudur. Şekil 2.5’de tipik bir yapay sinir modeli gösterilmektedir. Şekilden de görülebileceği gibi, sinir girişleri bağlı buldukları ağırlıklar ile çarpılır, çarpım sonuçları ve eşik değeri toplanır. Elde edilen toplam, sinirin etkinlik fonksiyonundan geçirilerek sinir çıkıtısı elde edilir.



Şekil 2.5 Bir yapay sinirin yapısı ve bileşenleri

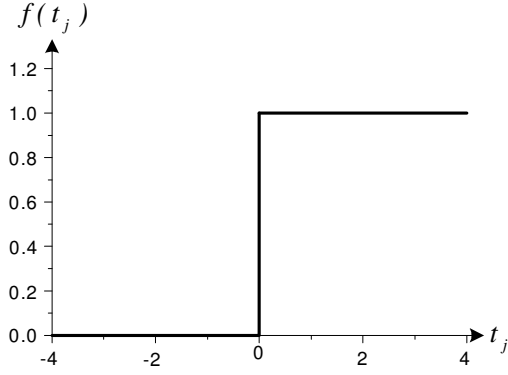
Tüm yapay sinir ağları Şekil 2.5'te verilen bu temel yapıdan türetilmiştir. Bu yapıdaki farklılıklar yapay sinir ağlarının farklı sınıflandırılmalarını sağlar. Aşağıda bir sinirin temel bileşenleri hakkında bilgi verilmektedir (Üstün, 2004).

Girişler: Girişler (x_1, x_2, \dots, x_n) çevreden aldıkları bilgiyi sinire iletirler.

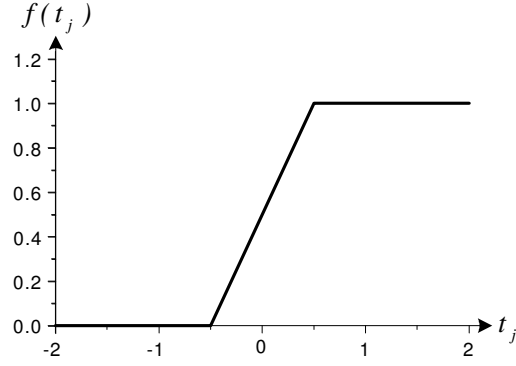
Ağırlıklar: Ağırlıklar ($w_{1j}, w_{2j}, \dots, w_{nj}$), yapay sinir tarafından alınan girişlerin sinir üzerindeki etkisini belirleyen uygun katsayılardır. Her bir giriş kendine ait bir ağırlığa sahiptir. Bir ağırlığın değerinin büyük olması, o girişin yapay sinire güçlü bağlanması ya da önemli olması, küçük olması zayıf bağlanması ya da etkisinin önemli olmaması anlamına gelmektedir. Bir yapay sinirin öğrenme yeteneği, seçilen öğrenme algoritması içerisinde ağırlıkların uygun bir şekilde ayarlanmasına bağlıdır.

Toplama işlevi: Toplama işlevi (Σ), sinirde her bir ağırlığın ait olduğu girişlerle çarpımının toplamlarını etkinlik fonksiyonuna gönderir. Bazı durumlarda toplama işlevi bu kadar basit bir işlem yerine, en az (min), en çok (max), çoğunluk veya birkaç normalleştirme algoritması gibi çok daha karmaşık olabilir.

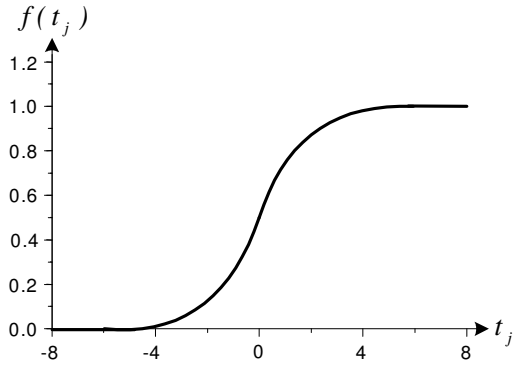
Etkinlik fonksiyonu: Toplama işlevinin sonucu, etkinlik fonksiyonundan ($f(.)$) geçirilip çıkışa iletilir. Yapay sinir ağlarında kullanılan bazı etkinlik fonksiyonu tipleri Şekil 2.6'da verilmektedir. Problemin tipi ve karmaşıklığına göre daha ileri etkinlik fonksiyonları da kullanılabilir. Etkinlik fonksiyonunun görevi, çıkış sinyalinde matematiksel bir işlem gerçekleştirerek çıkış sinyalini şekillendirmektir.



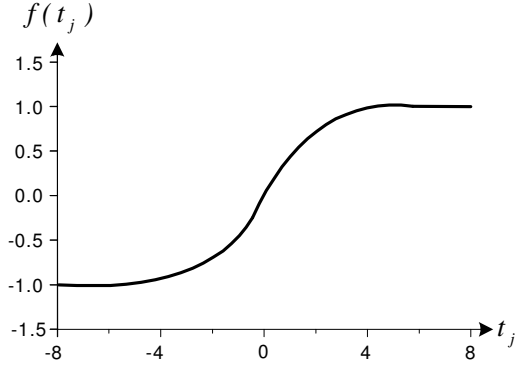
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 2.6 Bazı aktivasyon fonksiyonu tipleri (a) İşaret(sign) fonksiyonu (b) Doğrusal fonksiyon (c) Tek yönlü sigmoid fonksiyon (d) Çift yönlü sigmoid fonksiyon

Şekil 2.6. (a)'da verilen işaret (sign) fonksiyonu, Eşitlik 2.1'de olduğu gibi ifade edilir.

$$f(t_j) = \begin{cases} t_j \geq 0 & \text{ise } 1 \\ t_j < 0 & \text{ise } 0 \end{cases} \quad [2.1]$$

Şekil 2.6. (b)'de verilen kesikli doğrusal fonksiyon, Eşitlik 2.2'de olduğu gibi ifade edilir. Bu fonksiyon doğrusal sigmoid fonksiyon gibi değerlendirilebilir.

$$f(t_j) = \begin{cases} t_j \geq 0,5 & \text{ise } 1 \\ -0,5 \leq t_j \leq 0,5 & \text{ise } t_j \\ t_j \leq -0,5 & \text{ise } 0 \end{cases} \quad [2.2]$$

Şekil 2.6. (c)'de verilen tek yönlü sigmoid fonksiyon, Eşitlik 2.3'de olduğu gibi ifade edilir. Doğrusal olmayan bu fonksiyon yapay sinir ağlarının oluşturulmasında en yaygın olarak kullanılan fonksiyondur. Matematiksel olarak sürekli, türevi alınabilir ve zorunlu olarak artan bir fonksiyon olup, doğrusal ve doğrusal olmayan davranış arasında denge kurabilme özelliği taşır.

$$f(t_j) = \frac{1}{1 + e^{-t_j}} \quad [2.3]$$

Şekil 2.6. (d)'de verilen çift yönlü sigmoid fonksiyon, Eşitlik 2.4'de olduğu gibi ifade edilir.

$$f(t_j) = \frac{1 - e^{-t_j}}{1 + e^{-t_j}} \quad [2.4]$$

Çıkış: Çıkış $y_j=f(\cdot)$, etkinlik fonksiyonu sonucunun dış dünyaya veya diğer sinirlere gönderildiği yerdir. Bir sinirin bir tek çıkışı vardır. Sinirin bu çıkışı, kendinden sonra gelen herhangi bir sayıdaki diğer sinirlere giriş olabilir.

2.4.2. Yapay sinir ağı mimarileri

Yapay sinir ağlarında farklı mimarilerin oluşturulması esas olarak, ağın eğitiminde kullanılan “öğrenme algoritması” ile ilgilidir. Genel olarak tek katmanlı ileri beslemeli (single-layer feedforward), çok katmanlı ileri beslemeli (multilayer feedforward) ve geri

beslemeli (feedback veya recurrent) olmak üzere üç temel ağ mimarisinden söz edilebilir (Haykin, 1999).

- Tek katmanlı ileri beslemeli ağlar: Bu tip ağlarda giriş katmanındaki sinirler veriyi alır ve çıktı katmanındaki işlemci sinirlere gönderir. Veri aktarımı sadece giriş katmanından çıkış katmanına doğru olur, veri ters yönde aktarılamaz. Bu tip ağlarda, giriş katmanında herhangi bir bilgi işlenmesi yapılmadığı için, sadece çıktı katmanındaki sinirler sayılır ve ağ mimarisi bu nedenle tek katmanlı olarak isimlendirilir.
- Çok katmanlı ileri beslemeli ağlar: Bu tip ağlarda bilgi işleme, çıktı katmanındaki sinirlerin yanısıra gizli katmanda bulunan sinirlerde de yapılır. Gizli katmanda bulunan sinirlerin işlevi, giriş katmanından gelen sinyalleri daha çeşitli kombinasyonlarla değerlendirip, işleyerek çıkış katmanına göndermektir. Giriş katmanına gelen bilgi, ağ içinde ileriye doğru yayılır. Her katmandaki sinirler, sadece önceki katmandaki sinirlerden veri alabilirler. Bir sinir, kendinden sonraki herhangi bir sinire bağlanabilirken kendisine asla bağlanmaz.
- Geri beslemeli veya tekrarlanan ağlar: Bu tip ağlarda en azından bir sinirin geriye yayıldığı bir dönüş bağlantısı vardır. Tekrarlanan ağlar, tamamen veya parçalı olarak geri besleme yollarına sahiptirler. Bu tür ağların tasarımları ve davranışları oldukça karmaşıktır. Sinir ağlarında istenen sonucun elde edilmesi için ağın uyarlanabilir olması gerekir. Bunu sağlamak için uygun değerli ağırlıklar ve doğru bağlantılar seçilmelidir.

2.4.3. Yapay sinir ağlarında öğrenme

Ağların eğitimi için kullanılan öğrenme kuralları genellikle danışmanlı öğrenme (supervised learning), danışmansız öğrenme (unsupervised learning) ve pekiştirerek öğrenme (reinforcement learning) olmak üzere üç öğrenme yöntemi başlığı altında toplanabilir (Üstün, 2004).

Danışmanlı öğrenme kuralları, istenen ağ çıkışının elde edilebilmesi için, çıkış hatasının düşürülmesinde ağırlıkların uyarlanabilir hale getirilmesini gerektirir. Danışmanlı öğrenmede her giriş değeri için istenen çıkış değeri sisteme tanıtılır ve yapay sinir ağı, ağırlıkları her bir seferde değiştirip giriş-çıkış eşlemesini gerçekleştirene kadar aşama aşama eğitilir. Danışmanlı öğrenmeye, çok katmanlı perseptron (multilayer perseptron), geriye yayılım (backpropagation), delta kuralı, Widrow-Hoff veya en küçük karelerin ortalaması (least mean square) ve uyarlanabilir doğrusal eleman anlamına gelen “ADALINE” örnek olarak verilebilir (Haykin, 1999).

Danışmansız öğrenmede bir danışman veya öğretmen, sinir ağına girişin hangi veri parçası sınıfına ait olduğunu veya ağın nerede iyi sonuç vereceğini söylemez. Ağ veriyi üyeleri birbirinin benzeri olan öbeklere yol gösterilmeksizin ayırır. Danışmansız öğrenme, danışmanlı öğrenmeye göre çok daha hızlıdır. Ayrıca matematik algoritmaları da daha basittir. Danışmansız öğrenmeye, yarışmacı öğrenme (competitive learning), Kohonen’in Özörgütlemeli harita ağları (self-organizing map), Hebbian öğrenme, Grossberg öğrenme gibi öğrenme kuralları örnek olarak verilebilir (Haykin, 1999; Üstün, 2004).

Yaparak öğrenme veya pekiştirerek öğrenme yönteminde ise ağa doğrudan gerçek ağ çıkışı verilmez; ağ, çıkışının iyi veya kötü olarak değerlendirmesini yapar. Performans bilgisi genellikle ikili sayıdır ve denetim hareketleri sırasının başarısını gösterir. Öğrenme kuralı Hebbian öğrenme kuralı denilen basit bir modele dayanır. Hebbian öğrenme kuralı temel olarak “Eğer iki düğüm aynı zamanda etkin ise aralarındaki bağ gücü artar” kuramına dayanmaktadır. Öğrenmenin amacı, her bir düğümün girişlerindeki değişken bağlantı ağırlıklarını derlemektir. İstenen bazı sonuçları elde etmek için, giriş bağlantılarının ağırlıklarını değiştirme işlemi uyma işlevi olarak adlandırıldığı gibi öğrenme kipi olarak da adlandırılabilir (Üstün, 2004).

2.4.4. Gıda mühendisliğinde yapay sinir ağları

Yapay sinir ağları, özellikle doğrusal olmayan ve çok değişkenli sistemleri modellemedeki üstün yeteneği sayesinde gıda mühendisliği kapsamında da kullanıma çok uygun bir yöntemdir. Yeni bir yöntem olmasına karşın, özellikle biyolojik

olay veya reaksiyon mekanizması hakkında yeterli bilginin elde edilemediği durumlarda yüksek bir verimle kullanılmaktadır.

Son yıllarda gıda mühendisliği alanında yapılan çalışmalardan hamurun reolojik özelliklerinin tahmini (Ruan et al., 1995), meyve ve sebzelerin ısı iletkenliklerinin tahmini (Hussain ve Rahman, 1999), tahıl tanelerinin kurutulmasında son ürünün nem içeriğinin tahmini (Liu et al., 2007), peynir üretiminde asidifikasyon basamağının optimizasyonu (Horiuchi et al., 2004) gibi birçok farklı konudaki çalışmada da kullanılmış; uygulanabilme kolaylığı ve tahmin etmedeki başarısı nedeniyle yaygın olarak kullanılmaya umut vadeden bir yöntem olarak literatürdeki yerini almıştır.

Yapay Sinir Ağları'nın süt ve süt ürünlerindeki uygulamalarına kapsamlı bir şekilde bakıldığında bu alandaki uygulamaların geniş bir çeşitliliğe sahip olduğu görülmektedir. Bu kapsamda Grzesiak ve arkadaşlarının (2006) yaptığı bir çalışmada, ineklerin laktasyon dönemi süresince verecekleri süt miktarının tahmini yine yapay sinir ağları kullanılarak yapılmış ve gerçek değerler ile YSA ile bulunan değerler arasındaki korelasyon katsayılarının 0.9'un üzerinde olduğu bulunmuştur. Literatürde süt veriminin tahmini üzerine yapılan, farklı hayvan türlerini ve çevresel koşulların süt verimine etkisini konu alan bunun gibi birçok farklı çalışma bulunmaktadır (Torres et al., 2005; Kominakis et al., 2002; Sanzogni and Kerr, 2001).

Sütün elektrik iletkenliği üzerine süt bileşenlerinin (protein, laktoz ve yağ) ve sıcaklığın etkisini inceleyen bir çalışmada, geliştirilen yapay sinir ağı, deneysel veriler kullanılarak eğitilmiş ve gerçek sonuca en yakın tahmini yapan mimari saptanmıştır (Therdthai and Zhou, 2001). Yazarlar, geliştirilen YSA modeli ile, diğer regresyon modelleri kullanıldığında, doğrusal olmayan fonksiyonların deneme yanılma ile seçilmesi sırasındaki zorluklardan da kurtulduklarını bildirmişlerdir.

Peynirler üzerine yapılan bir başka çalışmada, randıman ve dolayısıyla karlılık açısından önemli bir etken olan son ürünün nem içeriği, yapay sinir ağlarıyla tahmin edilmeye çalışılmıştır (Jimenez-Marquez et al., 2005). Bu çalışmada sütün özellikleri (sütün alındığı gün, kazein/protein oranı, yağ, protein, laktoz, toplam kuru madde içeriği ve asitliği), üretim parametreleri (renetleme sıcaklığı, pişirme sıcaklığı,

inokülasyon ve renetleme arasında geçen süre, toplam kesme süresi, vb), kullanılan starterler (starter cinsi, türü, kültürün yapısı, vb) gibi parametreler değişkenler olarak yapay sinir ağının girdi katmanını oluşturmakta kullanılmıştır. Çalışma sonucunda geliştirilen yapay sinir ağı modeliyle, peynir üretiminde operatörün üretim sırasındaki değişkenleri optimize ederek peynirin nem içeriğini hedef değere mümkün olduğunca yaklaştırabileceği öne sürülmüştür. Yazarlar, peynir üretimi gibi kompleks ve birbirinden farklı yapıda değişkenlerin etki ettiği proseslerin seyrini tahmin etmede YSA uygulamalarının verimliliği yüksek bir araç olarak kullanılabileceğine değinmişlerdir.

Sütte ultrafiltrasyon işleminin verimliliğinin dinamik tahminine yönelik bir çalışmada ise, prosesin işlem koşullarına doğrusal olmayan ve karmaşıklığı yüksek bir bağımlılığı olması nedeniyle yine YSA yaklaşımının kullanılması tercih edilmiştir (Razavi et al., 2003). Farklı ultrafiltrasyon basınç ve sıcaklıklarının, permeat akısı ve toplam hidrolik dirence olan etkisi tek gizli katmana sahip yapay sinir ağı kullanılmış ve verilerin % 92'si ağın eğitimi için, geri kalanı ise ağın ürettiği sonuçların doğrulaması için ayrılmıştır. Modelleme sonuçlarının, deneysel veriler ile YSA tarafından üretilen sonuçlar arasında ortalama hatanın neredeyse % 1 olduğu mükemmel bir uyum gösterdiği bildirilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çiğ süt

Bu çalışmada Pınar Süt Mamülleri Sanayii A.Ş.'nin mikrobiyolojik açıdan yüksek kalite olarak nitelendirdiği bir yöreden sağlanan çiğ inek sütü, firmanın Eskişehir Süt Fabrikası'nda bulunan UHT süt üretim sisteminde günlük üretim yöntemleri kullanılarak üretilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. UHT süt üretimi

Fabrikaya ulaşan çiğ sütler, gerekli ön işlemlerden geçirildikten sonra borulu ısı değiştirici ile 85°C'de 15 s süreyle ön ısıtmaya tabi tutulmuş ve UHT işlemine alınmıştır. UHT işlemi, direkt sistem (enjeksiyon) kullanılarak, 147°C x 3 s normlarında gerçekleştirilmiştir. UHT işleminden sonra süt, vakum altında yaklaşık 80°C'ye soğutularak aseptik homojenizasyona gönderilmiştir. Bu aşamada homojenizasyon basıncı kademeli olarak 150 bar, 175 bar ve 200 bara getirilmiş ve adı geçen basınç değerlerinde basınç sabit tutularak, her basınç değerinde 170 L UHT sütün kullanılması sağlanmıştır. UHT sütler, aseptik koşullar altında borulu ısı değiştirici ile 25°C'ye soğutulmuş ve karton kutulara aseptik dolumu gerçekleştirilmiştir.

3.2.2. UHT sütlere uygulanan analizler

Üretilen UHT sütler Ek 1'de verilen üretim planına uygun sayıda üretilerek, öncelikle yeterli sayıda örnek 1. gün analizleri için, kalan kutular ise 10 °C, 20 °C ve 40 °C'de depolanmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Depolamada kullanılan üç farklı sıcaklık derecesi standart sapmaları ile birlikte 10±2°C, 20±2°C, 40±3°C'dir. 20°C'de depolama için laboratuvar ortamı, 10 ve 40°C'ler için ise ayarlanabilir klima odaları kullanılmıştır. UHT sütlere, raf ömürleri olan 4 ay süresince, depolamanın 1., 15., 30., 45., 60., 75., 90., 105. ve 120. günlerinde analiz planı gereği 2 paralel ve 2 tekrara izin verecek sayıda örnek alınarak gerekli analizler gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1. Titrasyon asitliği tayini

Titrasyon asitliği, TS 1192'ye göre, % laktik asit cinsinden saptanmıştır (Anonymous, 2001). Her lmnden önce, titrasyonda kullanılan 0.1 N NaOH'in ayarı sertifikalı 0.1 N HCl (Merck) ile yapılmıştır.

3.2.2.2. pH tayini

UHT sütlerin pH lmleri, Hanna marka HI 221 Calibration Check Microprocessor model dijital pH-metre ve kombine cam elektrot kullanılarak doğrudan gerçekleştirilmiştir. pH-metrenin, her ölüm öncesinde pH 4, 7 ve 10 tamponları kullanılarak kalibrasyonu gerçekleştirilmiş, ayrıca örnek setinin ortasında ve sonunda pH 7 tamponu okutularak aletin olası sapması kontrol edilmiştir.

3.2.2.3. Kurumadde tayini

Kurumadde tayini, TS 1192'ye göre gravimetrik olarak yapılmıştır (Anonymous, 2001).

3.2.2.4. Yağ tayini

Yağ tayini Gerber yöntemine göre btiroetre kullanılarak yapılmıştır (Anonymous, 1990a).

3.2.2.5. Homojenizasyonun kontrolü

Homojenizasyonun kontrolü TS 1019'a göre yapılmıştır (Anonymous, 2002). Buna göre, 4°C'de 48 saat bekletilen süt örneklerinin, süre sonunda yüzeyinden ve dip kısmından örnek alınmış ve bu örneklerle ayrı ayrı yağ testi uygulanmıştır. Bulunan sonuçlar aşağıda verilen formüle göre hesaplanarak homojenizasyon kontrolü yapılmıştır.

$$\text{Homojenizasyon Kontrolü} = \frac{Yağ_{st} - Yağ_{alt}}{Yağ_{süt}} \times 100$$

3.2.2.6. Toplam protein tayini

Toplam protein miktarı, AOAC (Association of Official Analytical Chemists)'e göre Büchi marka yakma ve distilasyon cihazı kullanılarak, Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Protein çevirme faktörü olarak, süt ve süt ürünleri için kabul edilen 6.38 değeri kullanılmıştır (Anonymous, 1990b).

3.2.2.7. pH 4.6'da çözümlü azot tayini

Örneklere pH 4.6'da çözümlü azot tayini için, 30 mL süte 1.5 mL %21'lik (v/v) asetik asit çözeltisi eklenerek vorteksle karıştırılmış, 10 dk beklendikten sonra 1.5 mL 2N sodyum asetat ilave edilmiştir. Karışım vorteksle karıştırıldıktan sonra 5000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiş ve Whatman No:42 filtre kağıdından süzümüştür (Kelly and Foley, 1997). Elde edilen süzüntüden 5 mL alınarak Kjeldahl Yöntemi ile azotlu madde miktarı belirlenmiştir (Anonymous, 1990b).

3.2.2.8. Yoğunluk tayini

Örneklere yoğunlukları 20°C'ye ayarlı laktodansimetre ile ölçümüştür. Ölçümlerde süt sıcaklığı $20 \pm 2^\circ\text{C}$ 'ye getirilmiş, 20°C'den sapan her derece için 0.2 faktörü kullanılarak, 20°C'ye göre gerekli düzeltme yapılmış ve sonuçlar hesaplanmıştır. Yoğunluk değerleri, protein ve titrasyon asitliği sonuçlarının hesaplanmasında kullanılmıştır.

3.2.2.9. Viskozite ölçümü

Viskozite ölçümleri, Ubbelohde kılcal viskozimetre kullanılarak, 20°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Süt kılcal viskozimetrenin haznesine doldurulduktan sonra viskozimetre su banyosu içine girecek şekilde yerleştirilmiş ve süt sıcaklığı 20°C olana kadar bekletilmiştir. Viskozite ölçümleri en az üç ölçüm olmak üzere, ölçümler arasında fark ± 0.1 saniye olana kadar tekrarlanmıştır. Örneklere ölçülen akış süreleri (s), saf suyun 20°C'deki akış süresine oranlanarak bağıl viskozite değerleri bulunmuştur.

3.2.2.10. Renk ölçümü

Örneklerin renk ölçümleri Minolta marka CM-3600d model kolorimetreye gerçekleştirilmiştir. Ölçülen parametreler arasında parlaklık (L^*) değeri, a^* ve b^* değerleri bulunmaktadır.

3.2.2.11. Proteolizin ve denature olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin seviyesinin HPLC yöntemi ile belirlenmesi

Depolama süresince proteolizin izlenmesi amacıyla, pH 4.6'da çözünür azot tayininde uygulanan yonteme göre örnek hazırlanmış, ancak santrifüj işlemi 10000 rpm'de 15 dk süreyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen berrak üst kısım, eşit hacimde % 0.2 (v/v) trifloroasetik asit (TFA) ile seyreltilmiş ve tekrar 10000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir. Berrak üst kısım 0.45 μ m filtreden geçirilerek HPLC'ye enjekte edilmiştir (Kelly and Foley, 1997; Anonymous, 1999).

HPLC analizlerinde kullanılan Thermo Finnigan marka HPLC sistemi; SpectraSystem AS3000 model bir otomatik örnekleyici, SpectraSystem P1000 model bir gradient pompa ve SpectraSystem UV6000L model bir PDA (Photo Diode Array) dedektör içermektedir. Ayrımlar, Phenomenex Jupiter C18, 250 x 4.60 mm, 5 μ , 300 A^o RP-HPLC kolonu kullanılarak gerçekleştirilmiş, örnekler kolona 100 μ l hacminde enjekte edilmiştir. Mobil faz A, % 0.1 (v/v) TFA içeren deiyonize su; Mobil faz B ise % 0.1 (v/v) TFA içeren asetonitrildir. Elüsyon, Çizelge 3.1'de verilen programa göre gradyen olarak gerçekleştirilmiş ve akış hızı 1 mL/dk olarak belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı 35°C'ye, otomatik örnekleyicinin sıcaklığı ise 7°C'ye ayarlanmış olup, ölçümler 214 ve 280 nm olmak üzere iki farklı dalgaboyunda gerçekleştirilmiştir (Anonymous, 1999; Numanoğlu, 2006). Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde ChromQuest 4.0 yazılımı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1 HPLC analizinde uygulanan gradient program

Süre (dk)	Mobil faz A	Mobil faz B	Akış hızı (mL/dk)
5.0	100	0	1
50.0	50	50	1
55.0	50	50	1
60.0	40	60	1
65.0	40	60	1
70.0	0	100	1
72.0	0	100	1
72.1	100	0	1
80.0	100	0	1

3.2.2.12. UHT süt örneklerinin dondurularak kurutulması

Raf ömrü süresince analiz için alınan örneklerden 100 mL'lik porsiyonlar Hetosicc marka CD 52 model liyofilizatörde kurutulmuş, kuruyan örnekler homojen hale getirilerek, kapaklı plastik kaplarda ambalajlanmış ve plastik torbalarda gruplandırılıp paketlenerek -18°C'de depolanmıştır.

3.2.2.13. Kazein fraksiyonlarındaki proteolizin Üre-PAGE yöntemi ile belirlenmesi

Kurutulmuş UHT süt örneklerinden 10 mg alınarak 1 mL örnek tamponunda çözülmüş ve hazırlanan jellere 10 µL örnek yüklenmiştir (Topçu, 2004; Anonymous, 2006). Çalışmada α-kazein (Sigma C-6780) ve β-kazein (Sigma C-6905) standart olarak kullanılmıştır. Elektroforez sistemi olarak SciePlus V20-CDC (Warwickshire, U.K.) dikey tip ve su soğutmalı elektroforez ünitesi ve Apelex PS1006P güç kaynağı (Cedex, France) kullanılmıştır.

Elde edilen jeller, boya çözeltisi içinde 24 saat bekletilmiş ve protein bantlarının boyanması sağlanmıştır. Daha sonra jeller, 1 gece saf suda bekletilerek protein bantları dışında kalan boya giderilmiştir. Jeller, tarayıcı ile elektronik ortama geçirilmiş ve MCID Analysis 7.0 (Imaging Research Corp., UK) programı ile dansimetrik olarak renk yoğunluğuna göre değerlendirilmiştir.

3.2.2.14. Duyusal değerlendirme

UHT sütlerin duyusal değerlendirmesi 5 uzman panelist tarafından gerçekleştirilmiş ve değerlendirmede görünüş, kıvam, renk, koku, tat ve acılık kriterleri dikkate alınmıştır. TS 1192 UHT Süt Standardı esas alınarak hazırlanan duyusal değerlendirme puan cetveli Ek 2'de verilmiştir (Anonymous, 1999).

3.2.3. Araştırma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi

Çalışma kapsamında analizler iki tekrarlı ve iki paralelli bir düzende yürütülmüş ve elde edilen verilerin değerlendirilmesinde SPSS 11.5 istatistik paket programı kullanılmıştır. Homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı, raf ömrü ve bu faktörlerin etkileşimlerinin, örneklerin kimyasal bileşimi ile proteoliz ve jelleşme göstergeleri üzerine etkisi istatistiksel olarak incelenmiştir.

İstatistiksel analizlerde ilk önce Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak verilerin normal dağılım gösterip göstermediği belirlenmiş, gereken durumda dönüşüm uygulanarak normal dağılım göstermesi sağlanmıştır. Normallik sağlandıktan sonra Levene testi ile varyansların homojenliği tespit edilmiştir. Homojen dağılan varyanslar arasındaki farklılığın önem kontrolü ANOVA testi ile saptanmış, çoklu karşılaştırmalar LSD testi ile gerçekleştirilmiştir. Homojen dağılmayan varyansların analizinde parametrik olmayan testlerden biri olan Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır (Topçu, 2004; Numanoğlu, 2006).

3.2.4. Araştırma sonuçlarının Yapay Sinir Ağı yaklaşımı ile incelenmesi

Yapay sinir ağı modelinin geliştirilebilmesi için öncelikle ele alınacak problemin ve niteliğinin net bir şekilde tanımlanması gerekmektedir. Ardından, probleme uygun yapay sinir ağı mimarisinin tasarlanması gereklidir. Son olarak da tasarlanan model için uygun programın yazılarak, ağın giriş verilerine karşılık doğruluğu yüksek sonuçlar üretilip üretilmediği test edilmelidir.

Problem tanımlanmasında, yapay sinir ağından tam olarak ne beklendiğinin açık ve net bir biçimde belirlenmelidir. Sunulan çalışmada, 150, 175 ve 200 bar basınçlarında üretilen UHT süt örneklerinin her biri, 10, 20 ve 40°C'de depolanmış ve raf ömrü

süresince hem basıncın hem de depolama sıcaklığının, ilerleyen raf ömrü süresince üründe yarattığı değişimler incelenmiştir. Çalışmada üç basınç seviyesi, üç depolama sıcaklığı seviyesi ve 9 raf ömrü noktasında ölçümler yapılarak toplamda 81 farklı kombinasyonda veri alınmıştır. Çalışmanın sonunda geliştirilecek yapay sinir ağının bazı ölçüm noktalarında deneysel çalışma yapmaya gerek duymadan doğru verileri tahmin etmesi ve bu amaç için kullanılabilirliği araştırılmıştır.

Bunun için, tanımlanan probleme yönelik hata payı düşük sonuçlar üretebilecek bir yapay sinir ağı mimarisinin tasarımı yapılmıştır. Literatürde yapılan çalışmalar incelenerek hangi tür problemler için hangi tip model ya da modellerin başarılı sonuçlar ürettiği araştırılmıştır.

Çalışmamızda, yapılan literatür araştırmaları sonucunda, çok katmanlı ileri beslemeli (multilayer feed-forward) yapay sinir ağı mimarisinin, geri yayılım algoritması (back propagation algorithm) kullanılarak tasarlanması kararına varılmıştır. Bu modelin, tanıma, sınıflandırma ve genelleştirme özelliklerini çok iyi bir biçimde yerine getirerek girdi ve çıktılar arasındaki ilişkiyi kavrayabilen bir model olduğu bildirilmektedir (Efe ve Kaynak, 2000). Bu modelin amacı ve çalışma prensibi, girdiler ile çıktılar arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için, gerçekte olması gereken çıktı değeri ile model tarafından hesaplanan çıktı değeri arasındaki hatayı, sınırlar arası bağlantı ağırlıklarıyla geriye doğru en aza indirmek şeklindedir.

Bu aşamada kullanılacak gizli katman sayısı ve gizli katman veya katmanlardaki sinir sayısına karar vermek gerekmektedir. Bir başka önemli nokta, gizli katman sinirlerinin kullanacağı etkinlik fonksiyonunun türüdür. Çalışmamızda bir tür normal dağılım fonksiyonu olan Gaussian tipi etkinlik fonksiyonu denenmiş ve verilere uygunluğu test edilmiştir.

Kullanılacak modelin tasarımı yapıldıktan sonra yazılımın geliştirilmesi aşamasına geçilmiş ve bu amaçla C++ programlama dili (Borland, ABD) kullanılarak yazılım geliştirilmiştir.

Sunulan çalışmada, yukarıda değinildiği gibi öncelikle problem tanımlanması yapılmıştır. İkinci olarak, UHT sütün kalite özelliklerini etkileyecek bağımsız değişkenler tanımlanmıştır. Bu çalışmadaki bağımsız değişkenler “basınç, depolama sıcaklığı ve zaman(raf ömrü)”dır. Bu parametrelerin ürünün kalite özelliklerine olan etkileri yapılan deneysel çalışmalar sonucunda ortaya konulmuştur. Hedefimiz, geliştirilecek olan yapay sinir ağı uygulaması ile bu parametrelerin farklı kombinasyonlarının etkilerinin daha az noktada deneysel çalışma yaparak, doğru şekilde tahmin edilebilmesini sağlamaktır. Geliştirilen yapay sinir ağının tahmin yeteneğinin, probleme ve çözüme uygunluğunu gösterebilmek için, jelleşmenin gidişatı hakkında en kolay bilgi veren kriter olan “viskozite” sonuçları örnek olarak kullanılmıştır. Jelleşme düzeyi hakkında tek bir parametre kullanılarak fikir sahibi olunmasına olanak sağladığından, sadece viskozite değerleri üzerinden bir tasarım yapılmasına karar verilmiştir. Çıkış parametresi olarak seçilen viskozite değerleri, basınç, depolama sıcaklığı ve gün olmak üzere üç adet girdi parametresinin bir fonksiyonu olarak düşünülmüştür. Yapay sinir ağından beklentimiz, üç farklı girdi parametresi ile çıkış parametresi arasındaki ilişkiyi öğrenmesi ve öğrendiği ilişkiye dayanarak tahmin yapabilmesi; daha önce hiç görmediği test değerleri verildiğinde ise, bu değerler için tahmin ettiği sonuçların gerçek (deneysel olarak bulunmuş) sonuçlara en yakın olmasıdır.

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Çalışmada hammadde olarak kullanılan çiğ sütün fabrikaya ulaştığında süt kabul birimi tarafından tespit edilen bazı özellikleri Çizelge 4.1’de verilmektedir. Çalışmanın gerçeği en iyi şekilde yansıtması için, kullanılan UHT sütün firmanın rutin UHT süt üretiminde kullandığı ve yüksek kalite olarak belirlediği bölgeden alınmasına dikkat edilmiştir.

Çizelge 4.1 UHT süt üretiminde kullanılan çiğ sütün kalite özellikleri

pH	6.70
Alkol Testi	Negatif
Donma Noktası	-507 m°C
Somatik hücre sayısı (adet/mL)	567000
Betalactam	-
Sulfametazin	-
Sulfadimetoksin	-
Toplam canlı sayısı (kob/mL)	2000
Aflatoksin	-

4.1. Üretilen UHT Süt Örneklerinin Kimyasal, Fizikokimyasal ve Duyusal Özellikleri

Araştırma kapsamında UHT süt örnekleri üç farklı (150, 175 ve 200 bar) homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilmiş ve sterilizasyon kontrolünün sağlandığı gün Pınar Eskişehir Süt Fabrikası’ndan, örneklerin depolandığı ve periyodik analizlerinin yapıldığı Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’ne ulaştırılmıştır. Burada örnekler üç farklı depolama sıcaklığında raf ömürleri süresince depolanmış ve geldikleri gün 1. gün kabul edilmek üzere her 15 günde bir örneklerin teknolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan bazı kimyasal, fizikokimyasal ve duyusal analizlere ilişkin sonuçlar aşağıda verilmektedir.

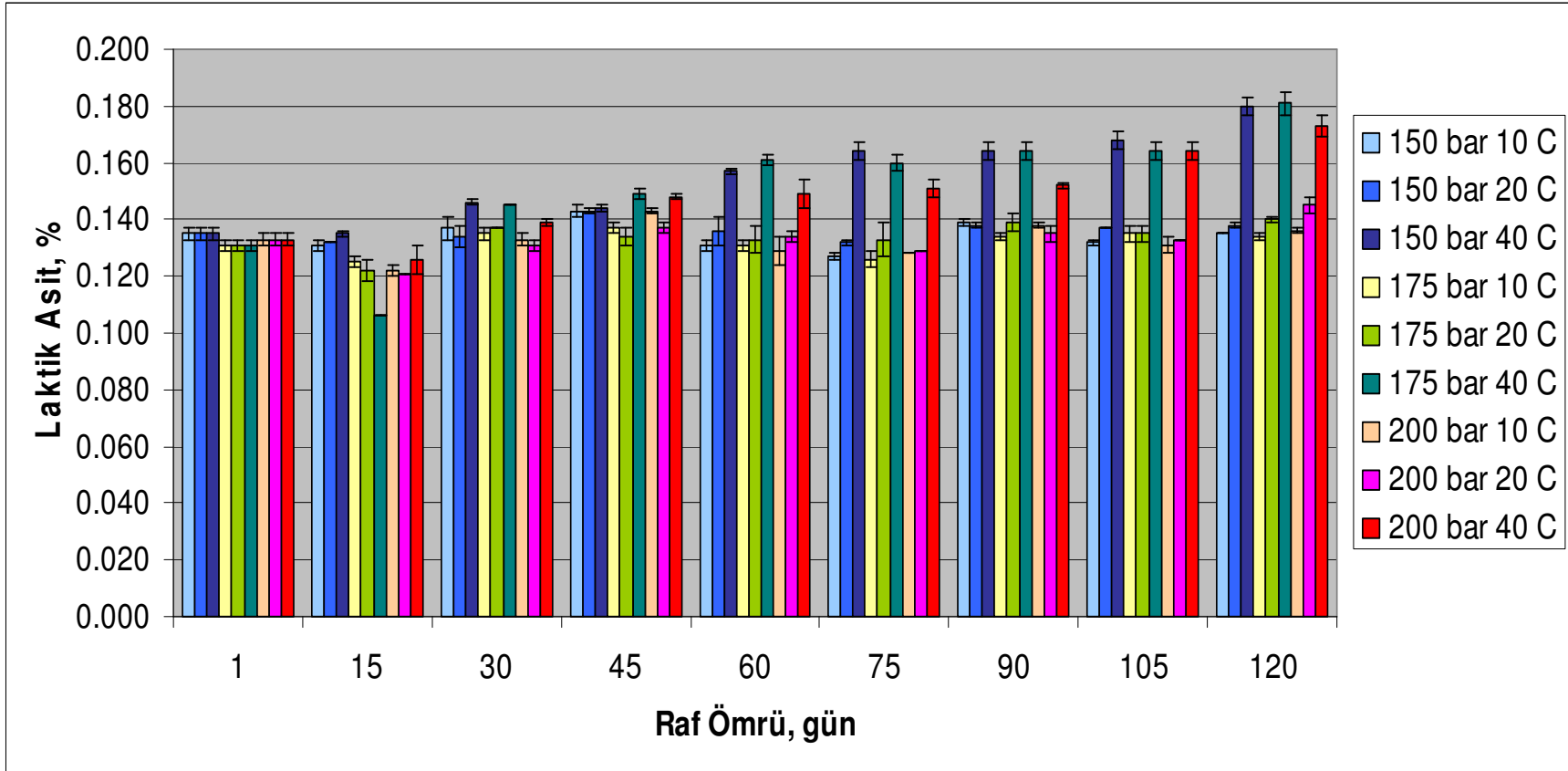
4.1.1. Titrasyon asitliği

Örneklerin titrasyon asitliği değerleri Çizelge 4.2'de "% Laktik asit" cinsinden verilmektedir. Sonuçlar raf ömrü süresince % 0.106 - 0.181 arasında değişim göstermektedir. Şekil 4.1'de açıkça görüldüğü gibi, bütün basınç gruplarında 40 °C'de depolama sırasında asitlikte meydana gelen artış, 10°C ve 20°C'lere oranla çok daha fazla olmuştur. İstatistiksel analiz sonuçları da, depolama sıcaklığının titrasyon asitliği üzerine etkisinin önemli ($p < 0.5$) olduğunu göstermektedir. 10°C'de depolanan ve 150 bar basınç kullanılarak üretilen örneklerde raf ömrünün başı ile sonundaki titrasyon asitliği değeri aynı kalırken, 175 ve 200 bar basınçta üretilip 10°C'de depolanan örneklerde de değişim % 2.5'tan az olmuştur.

10 ve 20°C'de depolanan örneklerin titrasyon asitliği değerlerinin, raf ömrü süresince TS 1192 UHT Süt Standardı'nda (Anonymous, 2001) belirtilen sınır değere uygun olduğu gözlenmiş; 40°C'de depolanan bütün örneklerin ise, raf ömürlerinin ilerleyen aşamalarında standartta belirtilen sınır değer olan % 0.158'in üstüne çıkarak bu parametre açısından uygunsuz hale geldikleri gözlenmiştir. 150 ve 175 bar basınçta üretilip, 40°C'de depolanan örneklerin titrasyon asitliği değerlerinin % 0.158'in üzerine, 200 bar basınçta üretilip 40°C'de depolanan örneklere göre daha erken çıktığı da saptanmıştır. 40°C'de depolanan örneklerin titrasyon asitliği değerlerinde görülen yükselmenin başlıca nedenlerinden biri, artan sıcaklık değerleriyle beraber Maillard tepkimesinin hızının artmasıdır. Maillard tepkimesinin ileri aşamalarında oluşan bazı organik asitlerin titrasyon asitliğinde artışa neden olacağı bilinmektedir (Walstra and Jenness, 1984). Bu konu, titrasyon asitliği ile uyum içinde bulunması gereken 4.1.2. pH bölümünde (Bölüm 4.1.2) daha kapsamlı biçimde tartışılmaktadır.

Çizelge 4.2 UHT sütlerle ait titrasyon asitliği sonuçları (% laktik asit cinsinden)

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	0.135±0.002	0.135±0.002	0.135±0.002	0.131±0.002	0.131±0.002	0.131±0.002	0.133±0.002	0.133±0.002	0.133±0.002
15	0.131±0.002	0.132±0.000	0.135±0.001	0.125±0.002	0.122±0.004	0.106±0.000	0.122±0.002	0.121±0.000	0.126±0.005
30	0.137±0.004	0.134±0.004	0.146±0.001	0.135±0.002	0.137±0.000	0.145±0.000	0.133±0.002	0.131±0.002	0.139±0.001
45	0.143±0.002	0.143±0.001	0.144±0.001	0.137±0.002	0.134±0.003	0.149±0.002	0.143±0.001	0.137±0.002	0.148±0.001
60	0.131±0.002	0.136±0.005	0.157±0.001	0.131±0.002	0.133±0.005	0.161±0.002	0.129±0.005	0.134±0.002	0.149±0.005
75	0.127±0.001	0.132±0.001	0.164±0.003	0.126±0.003	0.133±0.006	0.160±0.003	0.128±0.000	0.129±0.000	0.151±0.003
90	0.139±0.001	0.138±0.001	0.164±0.003	0.134±0.001	0.139±0.003	0.164±0.003	0.138±0.001	0.135±0.003	0.152±0.001
105	0.132±0.001	0.137±0.000	0.168±0.003	0.135±0.003	0.135±0.003	0.164±0.003	0.131±0.003	0.133±0.000	0.164±0.003
120	0.135±0.000	0.138±0.001	0.180±0.003	0.134±0.001	0.140±0.001	0.181±0.004	0.136±0.001	0.145±0.003	0.173±0.004



Şekil 4.1 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin titrasyon asitliği değerlerindeki değişim

4.1.2. pH

UHT süt örneklerinin 120 gün boyunca ölçülen pH değerleri izelge 4.3'de verilmektedir. Genel olarak sonuçlara bakıldığında pH değişiminin 6.81 ile 6.37 arasında olduğu ve özellikle 40°C'de depolanan örneklerde pH'nın raf ömrü süresince azalma eğiliminde olduğu görülmektedir. 40°C'de depolanan örneklerde görülen bu düşmeler, Gaucher ve arkadaşlarının (2008) UHT sütlerde yaptıkları bir araştırmanın sonucu ile de uyum içinde bulunmaktadır. Araştırmacılar 6 aylık bir depolama süresi sonucunda, 40°C'de depolanan örneklerin pH değerlerinin 6.21'e kadar düştüğünü saptamışlardır.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel değerlendirilmesi sonucunda, homojenizasyon basıncını 150 ile 200 bar arasında, depolama sıcaklığını ise 10 ile 40°C arasında değiştirmenin, pH üzerinde önemli farklılığa yol açtığı ($p<0.05$) saptanmıştır. Raf ömrünün pH üzerine etkisi incelendiğinde, ilk gün ile diğer bütün günler arasındaki farkın önemli olduğu ($p<0.05$); 90,105 ve 120. günlerde alınan sonuçlar arasında ise istatistiksel açıdan önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir. Raf mr süresince elde edilen pH verileri, titrasyon asitliği sonuçları ile de uyumlu bulunmuştur.

şekil 4.2 incelendiğinde, raf ömrü süresince en az pH değişiminin 10°C'de depolanan örneklerde, pH'da en fazla düşüşün ise 40°C'de depolanan örneklerde olduğu gözlenmektedir. Bulunan bu sonuç, UHT sütlerin raf ömürleri boyunca kalite kriterlerinin incelenmesini konu alan farklı çalışmaların bulgularını da destekler yöndedir. Celestino ve arkadaşları (1997), rekonstitüe sütten üretilen UHT sütlerde ilerleyen raf ömrü ile pH değerinde azalma olduğunu ve bu azalmanın $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanan örneklerde, $3 \pm 1^\circ\text{C}$ 'de depolanan örneklerle oranla daha fazla olduğunu saptamışlardır. Kocak ve Zadow'un (1985a) yaptığı bir çalışmada ise, üretilen UHT sütler 2, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ve 50°C'lerde depolanmış ve 20°C'nin altında depolanan örneklerin pH değerlerinde önemli bir farklılaşmanın olmadığı bulunmuştur. 20 °C'nin üzerinde depolanan örneklerin pH değerlerinde ise raf ömrü süresince genel bir düşüşün olduğu ve pH düşüşünün en fazladan aza doğru $50^\circ\text{C} > 40^\circ\text{C} > 30^\circ\text{C} > 25^\circ\text{C} > 20^\circ\text{C}$ şeklinde olduğu saptanmıştır. UHT süt örneklerinde raf ömrü boyunca gelişen pH düşüşü ve yüksek sıcaklıklarda depolanan UHT süt örneklerinin pH

değerlerindeki düşüşün daha fazla olduğu farklı araştırmacılar tarafından da desteklenmektedir (Kocak and Zadow, 1985b; Kelly and Foley, 1997; Numanoğlu, 2006).

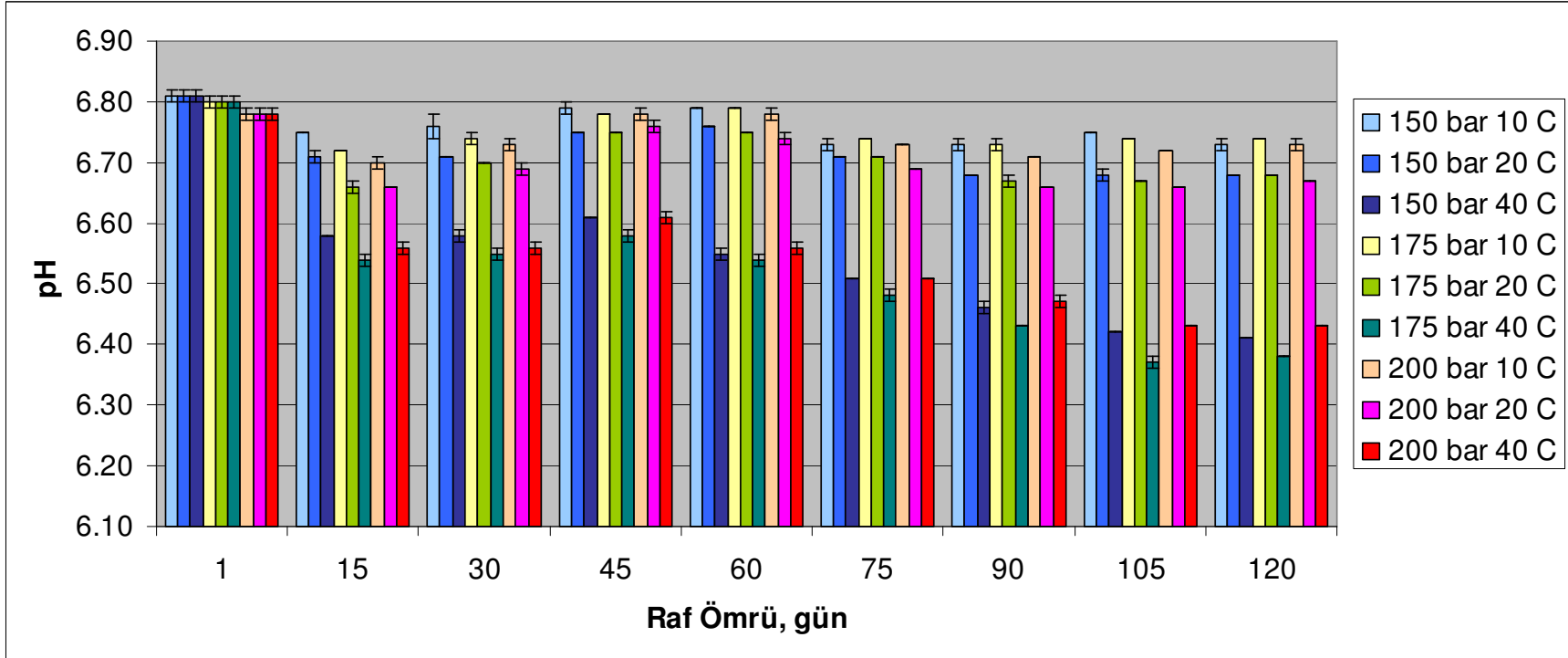
UHT sütlerde raf ömrü süresince pH değerinde oluşan bu düşüş, genel olarak dört farklı mekanizma ile açıklanmaktadır: (1) kalsiyum fosfatın koloidal ve çözünür fazdan ayrılarak çökmesi, (2) kazeinin hidrolitik defosforilasyonu, (3) laktozun kimyasal veya mikrobiyolojik olarak indirgenmesi, (4) proteoliz. Bu mekanizmalardan pH değeri üzerine en çok etkide bulunanlar laktozun indirgenmesi ve proteolizdir. Proteoliz dışındaki pH düşüşünün, genel olarak Maillard tepkimesi kapsamında geliştiği ve laktozun aldehid grubunun, proteinlerde bulunan lizinin serbest ϵ -NH₂ grubu ile tepkimeye girmesi sonucu, proteinde oluşan pozitif yük kaybının pH'da düşüşe neden olduğu bildirilmektedir (Celestino et al, 1997). Maillard tepkimesinin ileri aşamalarında pirazin, melanoidin, laktuloz gibi esmer renkli ürünlerin yanında bazı organik asitlerin de oluşmasının pH'da düşüşe neden olabileceği bildirilmektedir (Walstra and Jenness, 1984; Gaucher et al., 2008). Bunun yanısıra, gerçekleşen proteolizin ve laktozun indirgenmesinin formik asit gibi asitlerin oluşmasına yol açarak pH'yı düşüreceği bildirilmektedir (Gaucher et al., 2008).

Buna göre, 40°C'de depolanan UHT süt örneklerinin pH değerlerinde gözlenen düşüşün daha fazla olmasının, bu sıcaklık değerlerinde Maillard tepkimesinin hızının daha da artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Maillard tepkimesinin bu sıcaklıkta daha yüksek oranda gerçekleştiğini, bölüm 4.1.8'de verilen renk ölçüm sonuçları da desteklemektedir.

Sütün başlangıç pH değerinin ve içerdiği protein miktarının yüksek olmasının da, esmerleşmeye daha çok yol açacağı ileri sürülmektedir. Daha yüksek pH değeri olan sütlerin daha yüksek oranda protonlanmamış amino grubu içerdiği ve sadece protonlanmamış aminlerin şekerlerle tepkimeye girebildiği bildirilmiştir (Celestino et al., 1997).

Çizelge 4.3 UHT sütlerin raf ömrü boyunca pH değerleri

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	6.81±0.01	6.81±0.01	6.81±0.01	6.80±0.01	6.80±0.01	6.80±0.01	6.78±0.01	6.78±0.01	6.78±0.01
15	6.75±0.00	6.71±0.01	6.58±0.00	6.72±0.00	6.66±0.01	6.54±0.01	6.70±0.01	6.66±0.00	6.56±0.01
30	6.76±0.02	6.71±0.00	6.58±0.01	6.74±0.01	6.70±0.00	6.55±0.01	6.73±0.01	6.69±0.01	6.56±0.01
45	6.79±0.01	6.75±0.00	6.61±0.00	6.78±0.00	6.75±0.00	6.58±0.01	6.78±0.01	6.76±0.01	6.61±0.01
60	6.79±0.00	6.76±0.00	6.55±0.01	6.79±0.00	6.75±0.00	6.54±0.01	6.78±0.01	6.74±0.01	6.56±0.01
75	6.73±0.01	6.71±0.00	6.51±0.00	6.74±0.00	6.71±0.00	6.48±0.01	6.73±0.00	6.69±0.00	6.51±0.00
90	6.73±0.01	6.68±0.00	6.46±0.01	6.73±0.01	6.67±0.01	6.43±0.00	6.71±0.00	6.66±0.00	6.47±0.01
105	6.75±0.00	6.68±0.01	6.42±0.00	6.74±0.01	6.67±0.00	6.37±0.01	6.72±0.00	6.66±0.00	6.43±0.00
120	6.73±0.01	6.68±0.00	6.41±0.00	6.74±0.01	6.68±0.00	6.38±0.00	6.73±0.01	6.67±0.00	6.43±0.00



Şekil 4.2 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin pH değerlerindeki değişim

4.1.3. Kurumadde

Örneklerin kurumadde içerikleri Çizelge 4.4'de verilmektedir. Çizelgeden görüleceği gibi değerler 11.40 ile 11.95 arasında değişmektedir. Bütün süt örneklerinde raf ömrü süresince kurumadde değerlerinde dalgalanmalar görülmüş, bu dalgalanmaların raf ömrünün 75. gününden itibaren daha büyük salınım yaparak 120. günde en yüksek sapmaya ulaştığı görülmüştür. Bu salınım ve sapsmalar Şekil 4.3'de daha açık bir biçimde gözlenmektedir. Özellikle 40°C'de depolanan örneklerde kurumaddedeki düşüşün raf ömrü süresince diğer sıcaklıklardan daha fazla olduğu, raf ömrü sonunda ise 200 barda homojenize edilen örneklerin kurumadde değerlerinde diğer örneklere göre daha az düşüş yaşandığı saptanmıştır.

Uygulanan istatistiksel analizler sonucunda, 175 bar ve 200 bar basınç uygulamanın kurumadde üzerinde yarattığı değişimin önemli olmadığı; ancak 150 bar basınç uygulamanın diğer basınçların kurumadde üzerine etkisinden daha önemli ($p<0.05$) bir etki yarattığı saptanmıştır. Üç farklı depolama sıcaklığının da kurumadde üzerinde önemli etkiye sahip olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Raf ömrünün etkisi incelendiğinde bir tek raf ömrünün son günü olan 120. gün alınan kurumadde sonuçları ile diğer günler arasındaki farkın önemli derecede olduğu ($p<0.05$), diğer günler arasındaki farklılığın ise önemsiz olduğu bulunmuştur.

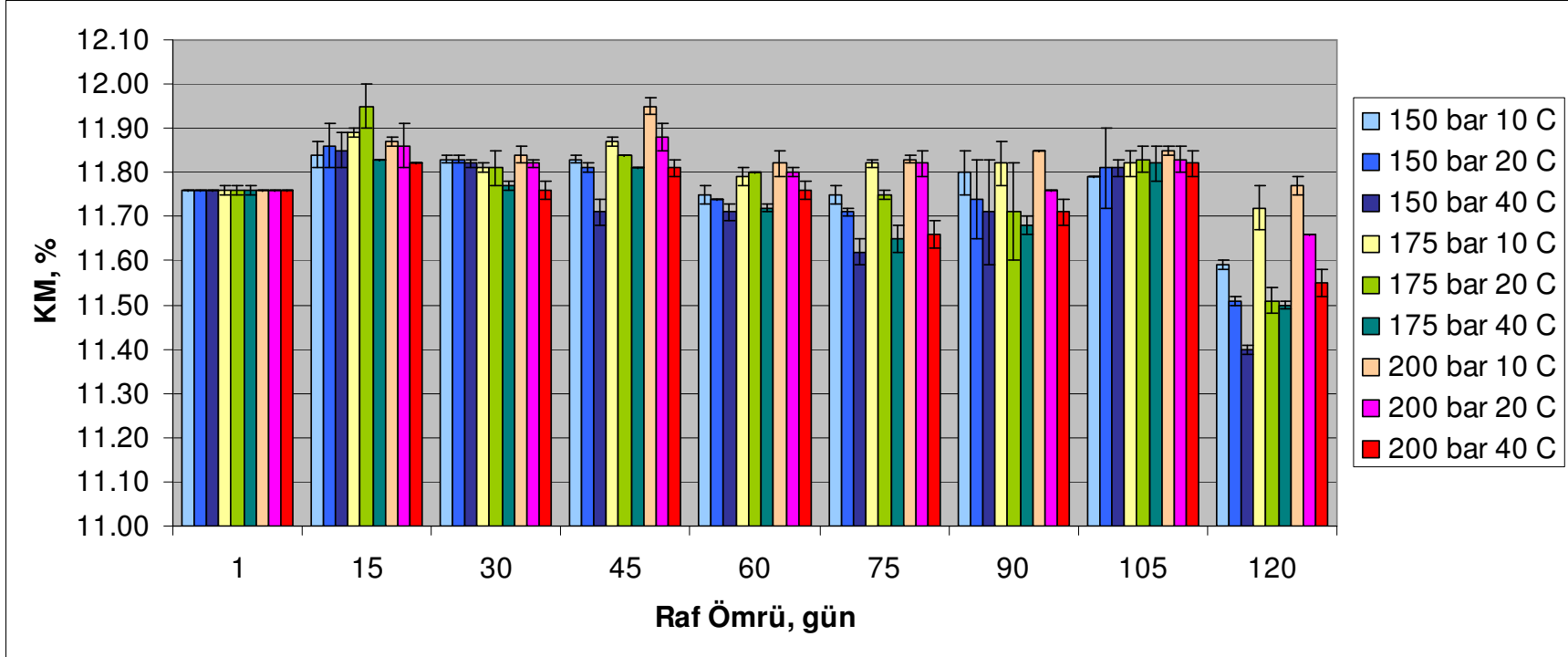
Kurumadde değerlerinde özellikle raf ömrünün sonuna doğru daha açıkça gözlenebilen değişimler, örneklerin raf ömrü boyunca gözle görülebilen veya görülemeyen flokülasyon ve sedimentasyona uğramalarıyla ilgilidir. Bunu destekleyen bir biçimde, raf ömrünün sonlarına doğru açılan UHT süt kutularının kenar ve dip kısımlarında yer yer sedimentasyona bağlı birikimlerin olduğu tespit edilmiştir. Sediment oluşum miktarını belirleyebilmek adına, açılan kutulardan diğer analizler için örnek alındıktan sonra kutunun içeriği boşaltılmış ve kutunun kapak kısmı tamamen çıkartılmıştır. Kutular bu şekilde üst kısımları açık olarak oda sıcaklığında bekletilmiş ve kutu kenarları ve dibinde var olan tabakanın 24 saat boyunca kurumasi sağlanmıştır. Kuruyan tabaka kalıp halinde kutudan ayrılacak hale geldiğinde ise bu tabakanın ağırlığı ölçülmüştür. 1 L süt için bulunan bu değer daha genel bir değerlendirmeye olanak sağlaması için yüzdeye dönüştürülmüştür. Bütün örneklere

aynı işlem uygulandığı için, alınan bu ölçümler ile örnekler arasında sediment oluşumu açısından kıyaslama yapmaya yardımcı olacak düzeyde bilgi alınmış ve bu sayede kurumaddedeki değişimin de doğrulanması sağlanmıştır.

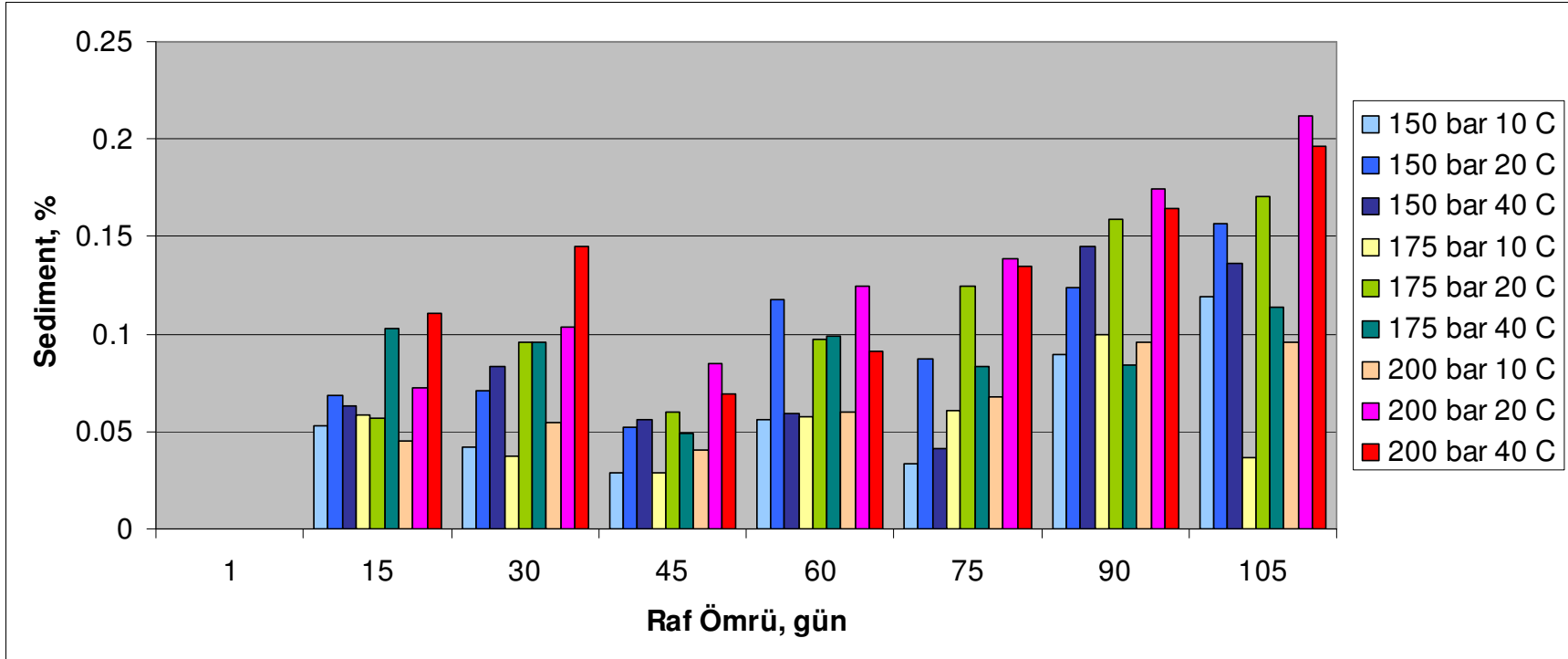
Şekil 4.4'de kutularda biriken sediment yüzdeleri verilmektedir. Şekilden de görüleceği gibi ufak değişimlerle salınım yaparak artan sediment miktarı, raf ömrünün son günü olan 120. gün biraz daha net bir artış yapmıştır. Bu sonuç, kurumadde değerindeki düşüşü de açıklar niteliktedir. Bunun yanısıra, raf ömrünün ilerlemesiyle, 20 ve 40°C'de depolanan örneklerde daha yüksek oranda sedimentin oluştuğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 UHT sütlerin raf ömrü süresince kurumadde içerikleri

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	11.76±0.00	11.76±0.00	11.76±0.00	11.76±0.01	11.76±0.01	11.76±0.01	11.76±0.00	11.76±0.00	11.76±0.00
15	11.84±0.03	11.86±0.05	11.85±0.04	11.89±0.01	11.95±0.05	11.83±0.00	11.87±0.01	11.86±0.05	11.82±0.00
30	11.83±0.01	11.83±0.01	11.82±0.01	11.81±0.01	11.81±0.04	11.77±0.01	11.84±0.02	11.82±0.01	11.76±0.02
45	11.83±0.01	11.81±0.01	11.71±0.03	11.87±0.01	11.84±0.00	11.81±0.00	11.95±0.02	11.88±0.03	11.81±0.02
60	11.75±0.02	11.74±0.00	11.71±0.02	11.79±0.02	11.80±0.00	11.72±0.01	11.82±0.03	11.80±0.01	11.76±0.02
75	11.75±0.02	11.71±0.01	11.62±0.03	11.82±0.01	11.75±0.01	11.65±0.03	11.83±0.01	11.82±0.03	11.66±0.03
90	11.80±0.05	11.74±0.09	11.71±0.12	11.82±0.05	11.71±0.11	11.68±0.02	11.85±0.00	11.76±0.00	11.71±0.03
105	11.79±0.00	11.81±0.09	11.81±0.02	11.82±0.03	11.83±0.03	11.82±0.04	11.85±0.01	11.83±0.03	11.82±0.03
120	11.59±0.01	11.51±0.01	11.40±0.01	11.72±0.05	11.51±0.03	11.50±0.01	11.77±0.02	11.66±0.00	11.55±0.03



Şekil 4.3 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin kurumadde içeriklerindeki değişim



Şekil 4.4 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin kutularında saptanan sediment miktarları

4.1.4. Yağ sonuçları ve homojenizasyonun kontrolü

Örneklerin yağ içerikleri Çizelge 4.6'da verilmektedir. Örnekler, yağ içerikleri açısından, raf ömürleri boyunca TS 1192 (2001) Uzun Ömürlü Süt Standardı'nda yer alan "yağlı tip" UHT süte uymaktadır. Yağ içeriğinde birbirinden bağımsız değişimlerin görülmesi, bu örneklerin üretiminde uygulanan farklı homojenizasyon basınçları ve raf ömrü boyunca süt bileşenlerindeki dinamik dengelenmelerden kaynaklanan etmenlere bağlanabilir. Bunun yanı sıra, örneklerin raf ömrü içinde gözle fark edilebilen veya edilemeyen flokülasyon ve sedimentasyona uğramaları da, yağ içeriğinde Şekil 4.5'te gözlenen dalgalanmaları etkileyen unsurlardandır.

Örneklerin homojenizasyon kontrolü TS 1019'a (2002) göre yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.7'de verilmiştir. UHT süt için iyi bir homojenizasyon tekniği uygulandığında, kontrol deneyi sonuçlarının pozitif olması, yani üst yüzey ile alt tabakanın yağ değerleri arasında bir fark olmaması gerekmektedir (Anonymous, 2001). Çizelge incelendiğinde, raf ömrü süresince en yüksek homojenizasyon veriminin 200 barda homojenize edilen örneklerden alındığı görülmektedir. Bir başka açıdan bakıldığında, örneklerin 10°C'de depolanmasının da raf ömrü süresince yağın kararlılığını olumlu yönde etkilediği söylenebilir. 40°C'de depolanmış örneklerin emülsiyon stabilitelerinde, 150 barda homojenize edilenlerde daha erken olmak üzere raf ömrünün sonuna doğru azalma olduğu da göze çarpmaktadır.

Walstra ve Jenness (1984) homojenizasyonun yağ globülleri üzerine olan etkilerini Çizelge 4.5'de verdiği şekilde özetlemektedirler.

Çizelge 4.5 Homojenizasyonun yağ globülleri üzerine etkileri

Homojenizasyon basıncı (bar)	0	50	100	200	400
Sıcaklık artışı, K	0	1.2	2.5	5	10
En küçük parçacık çapı (μm)	0	0.31	0.24	0.18	0.14
Yağ globüllerinin sayısı (μm^{-3})	0.015	2.8	6.9	16	40
Ortalama çap (μm)	3.3	0.71	0.47	0.31	0.21
En büyük çap (μm)	10	3.2	2.4	1.6	1.1

Sütteki yağ globüllerinin çapları ve yoğunlukları ile doğru orantılı olan doğal sedimentasyon hızları, Stokes Kanunu çerçevesinde aşağıdaki formülle açıklanabilir (Saldamlı ve Saldamlı, 2004).

$$v = \frac{D^2(\rho - \rho_p)}{18\mu} g$$

Burada, v : Doğal sedimentasyon hızı, m/sn

D : Parçacığın çapı, m

ρ : Sıvının yoğunluğu, kg/m³

ρ_p : Parçacığın yoğunluğu, kg/m³

μ : Sıvının dinamik viskozitesi, kg/m.sn

g : Yerçekimi ivmesi, m/sn² olarak tanımlanmaktadır.

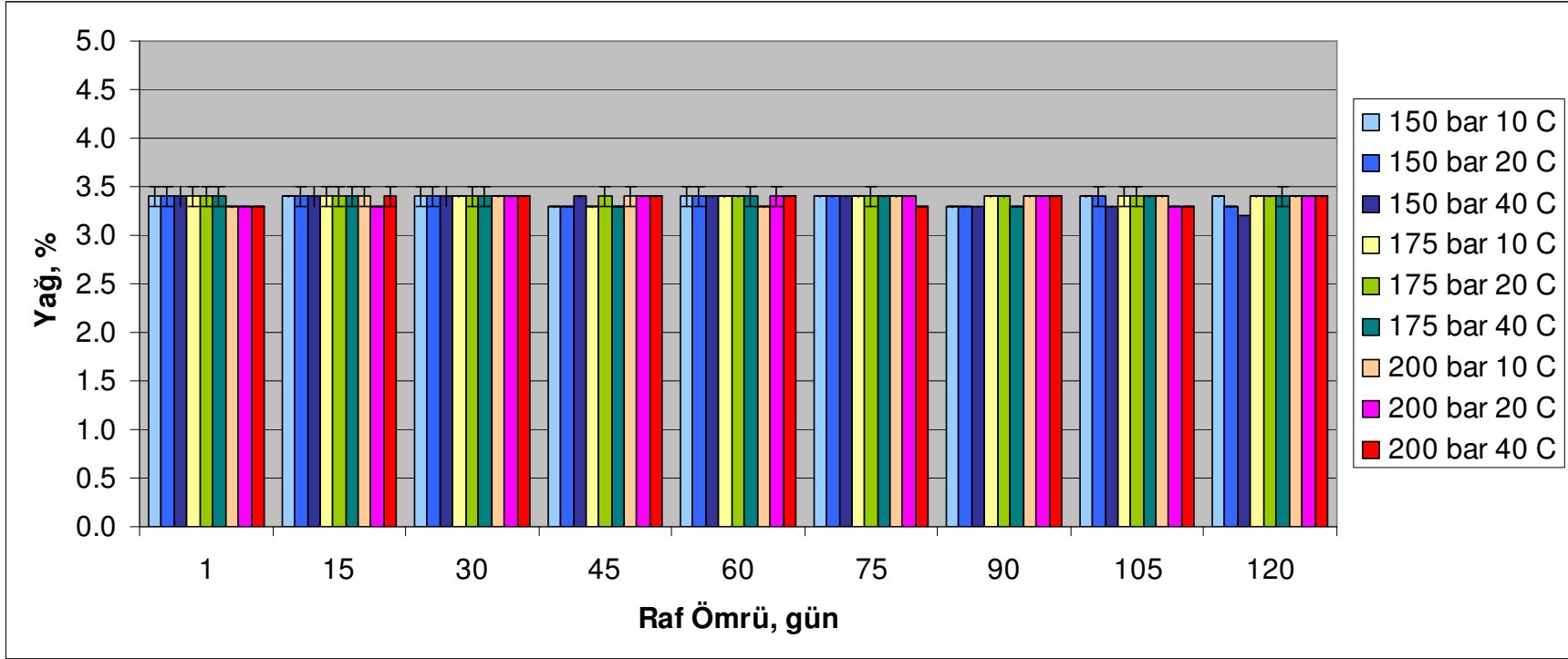
Çizelge 4.5'te görüldüğü üzere, homojenizasyon basıncı arttıkça yağ globüllerinin yeni çapları azalmaktadır. Bu olay, Stokes Kanunu çerçevesinde değerlendirildiğinde, yağ globüllerinin çapı azaltıldıkça negatif sedimentasyon hızlarının da azaltılacağı anlamına gelmektedir. Literatürdeki bu bilgi, Çizelge 4.7'deki verilerle karşılaştırıldığında, en küçük yağ globülü çapı oluşturması beklenen 200 bar basıncında her üç depolama sıcaklığında da homojenizasyon kontrolü deneyinin % 0 olarak sonuç vermesi ile doğrulanmaktadır.

Çizelge 4.6 UHT sütlerin ortalama yağ içerikleri (%)

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.3±0.0	3.3±0.0	3.3±0.0
15	3.4±0.0	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.3±0.0	3.4±0.1
30	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0
45	3.3±0.0	3.3±0.0	3.4±0.0	3.3±0.0	3.4±0.1	3.3±0.0	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0
60	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.1	3.3±0.0	3.4±0.1	3.4±0.0
75	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.3±0.0
90	3.3±0.0	3.3±0.0	3.3±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.3±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0
105	3.4±0.0	3.4±0.1	3.3±0.0	3.4±0.1	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0	3.3±0.0	3.3±0.0
120	3.4±0.0	3.3±0.0	3.2±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.1	3.4±0.0	3.4±0.0	3.4±0.0

Çizelge 4.7 UHT sütlerin homojenizasyon kontrolü sonuçları (%)

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
75	0	0	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0	0	0
105	0	0	4.5	0	0	0	0	0	0
120	0	4.5	6.1	0	0	2.9	0	0	0



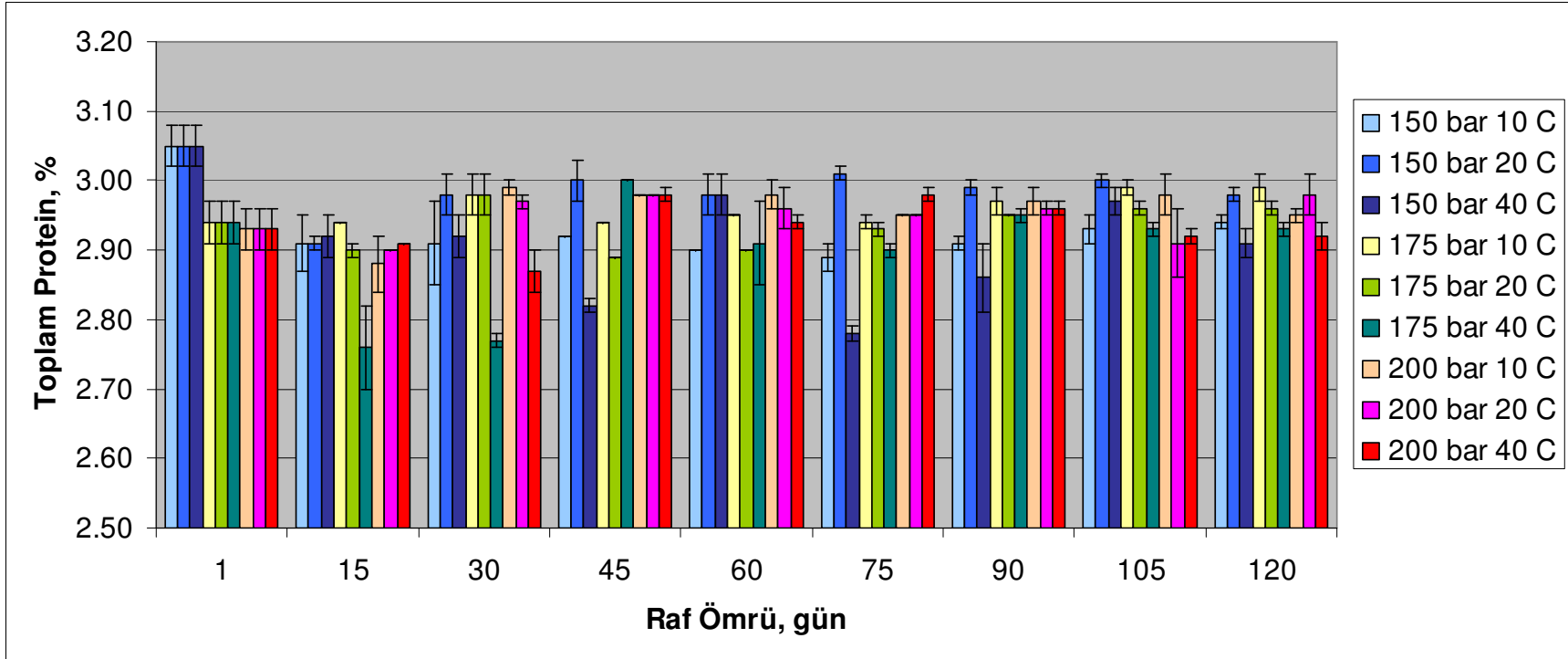
Şekil 4.5 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin yağ içeriklerindeki değişim

4.1.5. Protein

Örneklerin toplam protein içerikleri Çizelge 4.8'de verilmektedir. Çizelgeden görüleceği gibi değerler, raf ömrü süresince 2.76 ile 3.05 arasında değişmektedir. Bu değişimin kutu içi farklılıklar ve raf ömrü süresince sediment oluşumu, esmerleşme reaksiyonları gibi çeşitli teknolojik problemlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Şekil 4.6 incelendiğinde, bütün UHT süt gruplarının protein değerlerinin, raf ömrünün sonuna doğru ortak bir seviyede dengelenme yaşadıkları görülmektedir. Raf ömrü süresince en çok dalgalanma yaparak, raf ömrü sonunda dengelenen iki grubun 150 ve 175 bar homojenizasyon basıncında üretilip, 40°C'de depolanan örnekler olduğu gözlenmektedir. Bu dalgalanmaların başlıca nedenlerinin flokülasyon, sedimentasyon, esmerleşme, besin değeri kaybı ve kompleks oluşturma gibi kazein, serum proteinleri ve çözünür faz öğeleri arasında oluşan dengelenme reaksiyonları olduğu düşünülmektedir. UHT sütün oda sıcaklığının üzerindeki sıcaklık derecelerinde depolanması sırasında raf ömrünün ilerlemesi ile gelişen Maillard reaksiyonunun, proteinlerdeki lizin kalıntılarının % 10-30 oranında kullanılması ile sonuçlanabilecek değişimler yarattığı bildirilmektedir (Renner, 1988).

Çizelge 4.8 UHT sütlerine ait toplam protein (%) sonuçları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.05±0.03	3.05±0.03	3.05±0.03	2.94±0.03	2.94±0.03	2.94±0.03	2.93±0.03	2.93±0.03	2.93±0.03
15	2.91±0.04	2.91±0.01	2.92±0.03	2.94±0.00	2.90±0.01	2.76±0.06	2.88±0.04	2.90±0.00	2.91±0.00
30	2.91±0.06	2.98±0.03	2.92±0.03	2.98±0.03	2.98±0.03	2.77±0.01	2.99±0.01	2.97±0.01	2.87±0.03
45	2.92±0.00	3.00±0.03	2.82±0.01	2.94±0.00	2.89±0.00	3.00±0.00	2.98±0.00	2.98±0.00	2.98±0.01
60	2.90±0.00	2.98±0.03	2.98±0.03	2.95±0.00	2.90±0.00	2.91±0.06	2.98±0.02	2.96±0.03	2.94±0.01
75	2.89±0.02	3.01±0.01	2.78±0.01	2.94±0.01	2.93±0.01	2.90±0.01	2.95±0.00	2.95±0.00	2.98±0.01
90	2.91±0.01	2.99±0.01	2.86±0.05	2.97±0.02	2.95±0.00	2.95±0.01	2.97±0.02	2.96±0.01	2.96±0.01
105	2.93±0.02	3.00±0.01	2.97±0.02	2.99±0.01	2.96±0.01	2.93±0.01	2.98±0.03	2.91±0.05	2.92±0.01
120	2.94±0.01	2.98±0.01	2.91±0.02	2.99±0.02	2.96±0.01	2.93±0.01	2.95±0.01	2.98±0.03	2.92±0.02



Şekil 4.6 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin toplam protein değerlerindeki değişim

4.1.6. pH 4.6'da çözümlür azot

Toplam enzim aktivitesinin (bakteriyel proteazlar ve plazmin) bir göstergesi olan pH 4.6'da çözümlür % azot değeri, pH 4.6'da çözümlür azotun, toplam azot değeriyle bölünmesiyle bulunmuştur. Çizelge 4.9'da verilen değerlere bakıldığında, 40°C'de depolanan örneklerde pH 4.6'da çözümlür azot değerlerinde raf ömrünün ilerlemesiyle birlikte genel bir artışın olduğu gözlenmektedir. Homojenizasyon basıncının 150 ile 200 bar arasında, depolama sıcaklığının ise 10 ile 40°C arasında değıştiği örneklerde, bu işlemlerin çözümlür % azot değerleri üzerine önemli derecede etkili olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Raf ömrünün 105. ve 120. günlerinde alınan sonuçlar arasında önemli bir fark bulunmazken, bu sonuçlar ile diğer günlerde alınan sonuçlar arasında önemli derecede ($p < 0.05$) fark bulunmaktadır.

Şekil 4.7 incelendiğinde, 40°C'de depolanan bütün örnek gruplarının pH 4.6'da çözümlür azot değerlerinin raf ömrü süresince en yüksek artışı gösterdiği gözlenmektedir. Buna göre, 150 ve 175 bar homojenizasyon basıncında üretilen ve 40°C'de depolanan UHT süt gruplarının çözümlür azot değerleri, raf ömrü boyunca yükselerek raf ömrünün sonunda sırasıyla % 29.5 ve % 30.21 artış göstermiştir. 200 barda üretilen örneklerde ise raf ömrünün 90. gününe kadar genel bir artış eğilimi gözlenmiş ve 90. günde pH 4.6'da çözümlür azot değeri % 35.6 artışla en üst noktaya ulaşmıştır. Ancak 90. ve 120. günler arasında bu değeri düşmeye başlamış ve raf ömrünün sonunda net olarak % 17'lik artış görülmüştür.

Depolanması tavsiye edilen sıcaklık olan 20°C'de depolanan UHT süt örneklerinin ise, pH 4.6'da çözümlür azot değerlerinde hafif bir artışın olduğu gözlenmektedir. Buna göre 150 ve 175 bar kullanılarak üretilen örneklerin çözümlür azot değerleri sırasıyla % 2.4 ve % 1.3 oranında artmıştır. Süt endüstrisinin genellikle tercih ettiği homojenizasyon normu olan 200 barda üretilen sütler ise, yine 40°C'de depolandıklarında gösterdikleri davranış gibi 90. günde % 10'luk artış göstererek bir pik noktası yapmış 120. günde ise raf ömrü başlangıcındaki değeri çok yakın olan 10.61 değerine düşmüştür.

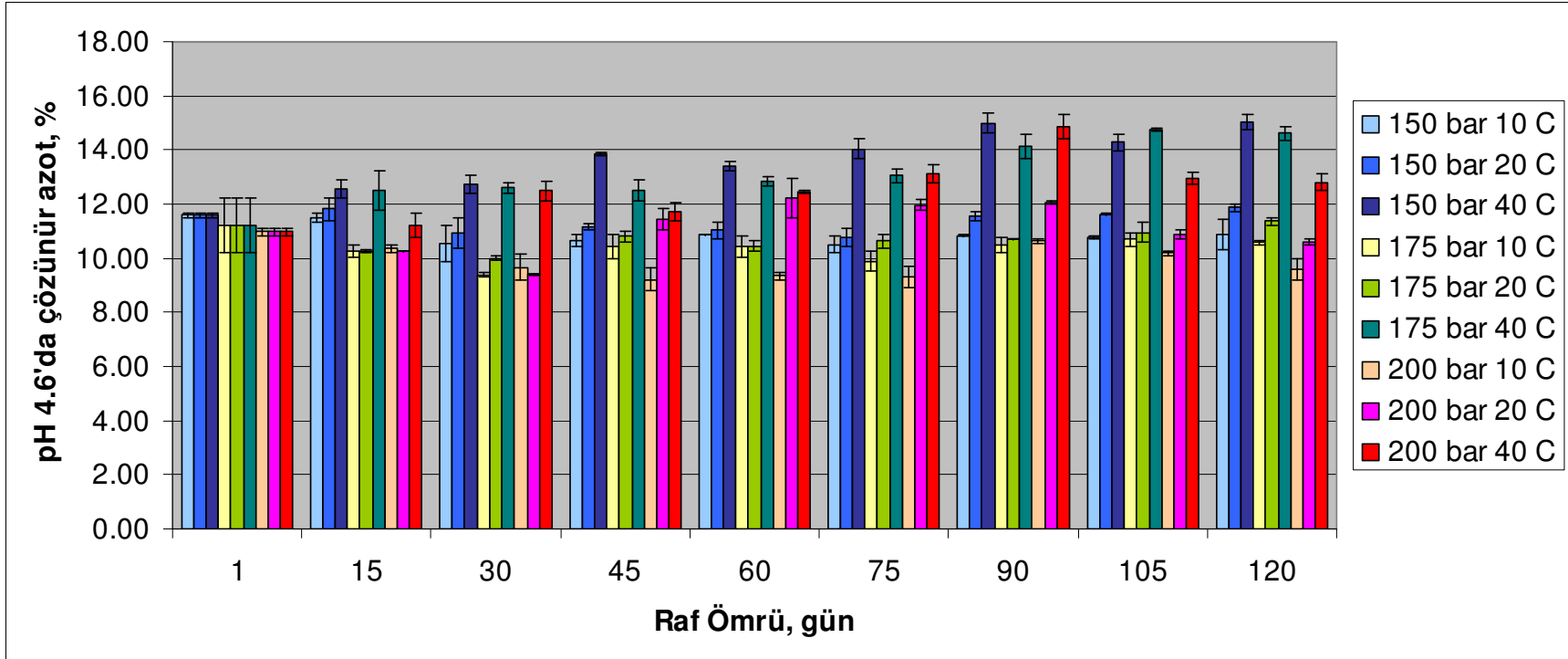
10°C'de depolanan, 150, 175 ve 200 bar kullanılarak homojenize edilen örneklerin pH 4.6'da çözümler azot değerlerinin ise, raf ömrü süresince sırasıyla % 6.2, % 5.7 ve % 12.6 oranında düştüğü belirlenmiştir. Bunun nedeninin denatüre olan serum proteinlerinden α -laktalbumin ve özellikle β -laktoglobulinin, κ -kazeinle kompleks oluşturarak çözümler fazdan misel fazına geçmesinin olduğu düşünülmektedir.

pH 4.6'da çözümler azot seviyesindeki artış, birçok araştırmacı tarafından raf ömrü süresince gelişen proteolizi izlemek için kullanılan bir kriter olmuştur. Birçok araştırmacı proteolizi, UHT işlemine dirençli bakteriyel proteinazlara ve UHT işleminden sonra plazmin aktivatörleri sayesinde aktif hale gelen plazmine bağlamaktadırlar (Kocak and Zadow, 1985; Valero et al., 2001; Datta and Deeth, 2003). 40°C'de depolanan örneklerde daha yüksek oranda görülen proteoliz, UHT işlemine dayanıklı proteinazlar ile UHT işlemi sonrasında rejenere olarak aktivitelerini tekrar kazanan proteinazların optimum aktivite sıcaklıklarının, nötr pH'ya yakın pH değerlerinde 37-45°C arasında olması ile açıklanmaktadır (Kocak and Zadow, 1985; Celestino et al., 1997).

UHT sütün raf ömrü süresince proteolitik aktiviteye maruz kalmasının, zamanla incelmeye (saydamlaşma), zamanla koyulaşma (jelleşme ve koagülasyon), acı tat oluşumu ve kazein olmayan azot miktarında artış gibi çeşitli sonuçlar doğurabileceği de bildirilmektedir (Renner, 1988).

Çizelge 4.9 UHT sütlerle ait pH 4.6'da çözümlenir azot sonuçları (%)

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	11.59±0.10	11.59±0.10	11.59±0.10	11.22±1.02	11.22±1.02	11.22±1.02	10.97±0.13	10.97±0.13	10.97±0.13
15	11.50±0.15	11.81±0.40	12.57±0.33	10.28±0.22	10.28±0.05	12.50±0.74	10.35±0.14	10.25±0.00	11.21±0.45
30	10.54±0.68	10.94±0.54	12.73±0.34	9.38±0.08	10.00±0.09	12.59±0.18	9.66±0.48	9.40±0.04	12.48±0.34
45	10.67±0.23	11.17±0.10	13.84±0.05	10.44±0.45	10.80±0.20	12.48±0.39	9.22±0.40	11.44±0.39	11.73±0.35
60	10.88±0.00	11.03±0.32	13.40±0.15	10.43±0.40	10.45±0.20	12.84±0.15	9.34±0.13	12.22±0.74	12.46±0.05
75	10.51±0.29	10.78±0.35	14.04±0.36	9.88±0.36	10.64±0.24	13.06±0.25	9.29±0.40	11.96±0.20	13.12±0.34
90	10.85±0.04	11.54±0.17	14.99±0.38	10.50±0.28	10.70±0.00	14.11±0.45	10.64±0.08	12.07±0.05	14.88±0.45
105	10.78±0.06	11.62±0.03	14.29±0.31	10.69±0.24	10.95±0.35	14.75±0.06	10.19±0.08	10.88±0.17	12.96±0.23
120	10.87±0.56	11.87±0.15	15.01±0.29	10.58±0.08	11.37±0.15	14.61±0.26	9.59±0.38	10.61±0.12	12.80±0.30



Şekil 4.7 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin pH 4.6'da çözünür azot değerlerindeki değişim

4.1.7. Viskozite

Sütün reolojik özelliklerinden biri olan viskozite, UHT sütte jelleşmenin en önemli göstergelerinden biri olarak kullanılmaktadır. Süt, normalde “Newtonian” davranış sergilemekteyken, jelleşme başlangıcındaki viskozite artışı ve oluşan agregatlar ile Newtonian özelliğini kaybetmektedir.

Sütte viskoziteye etki eden bileşenler, sütte bulunan sudan daha büyük molekül yapısına sahip olmaları ve bu sayede bir hidrodinamik hacim oluşturmaları nedeniyle yağ globülleri, kazein miselleri, serum proteinleri ve laktozdur (Walstra and Jenness, 1984). Bu bileşenlerden küresel yapıda olmayanların kapladığı hacim, molekül içi boşluklara suyun girmesi ve bazı moleküllerin çevresinde saçak yapı oluşturan birimlerin olması nedeniyle geometrik hacimden daha büyük olmaktadır. Sütün fiziksel ve kimyasal özelliklerinin değişmesi, viskoziteye etki eden bu dört ana bileşende değişime neden olacağı için viskoziteyi de dolaylı yoldan etkilemektedir. Kazein misellerinin kalsiyum fosfat içeriği, viskozite üzerinde etkili olan bir parametredir. Sütün pH değerinin yükselmesi kazein misellerinin şişmesi nedeniyle viskoziteyi artırmakta, pH'nın hafifçe düşmesi viskozitenin hafifçe azalmasına neden olmaktadır. Çok ciddi bir pH düşüşü, kazeinlerin agregasyonu nedeniyle viskozitede artışa neden olmaktadır. Sütün sıcaklığının düşmesi ise, viskoziteyi arttırmaktadır. Bunun nedeni kazein miselinden özellikle β -kazeinin ayrışmaya başlaması ve miselden ayrılarak çözünür faza geçen misel moleküllerinin yüksek bir hidrodinamik hacim kaplamasıdır. Sütün serum proteinlerinde denatürasyona neden olacak sıcaklık derecelerine ısıtılması ise, viskoziteyi yaklaşık % 10 kadar arttırmaktadır. Homojenizasyon ise, oluşan yeni küçük yağ globüllerinin çevresinin proteinlerle kaplanması sayesinde, yağ globüllerinin hidrodinamik hacmini arttırmakta; ancak bir kısmı yağ globüllerinin çevresini kapladığı için kazein ve serum proteinlerinin hidrodinamik hacmi azalmakta ve sonuçta homojenizasyon viskozitede çok büyük bir değişime neden olmamaktadır (Walstra and Jenness, 1984).

Bu bilgiler ışığında, viskozite sonuçlarına bakıldığında, farklı homojenizasyon basınçları uygulanmasının literatürdeki bilgileri destekler şekilde viskozitede önemli bir değişime neden olmadığı ilk gün viskozite değerlerinden görülmektedir. Şekil 4.8

incelendiğinde göze çarpan ilk şey, örneklerin viskozite değerlerinin depolama sıcaklığına göre gruplaşmasıdır. Viskozite değerlerinin depolama sıcaklığı arttıkça düştüğü görülmektedir.

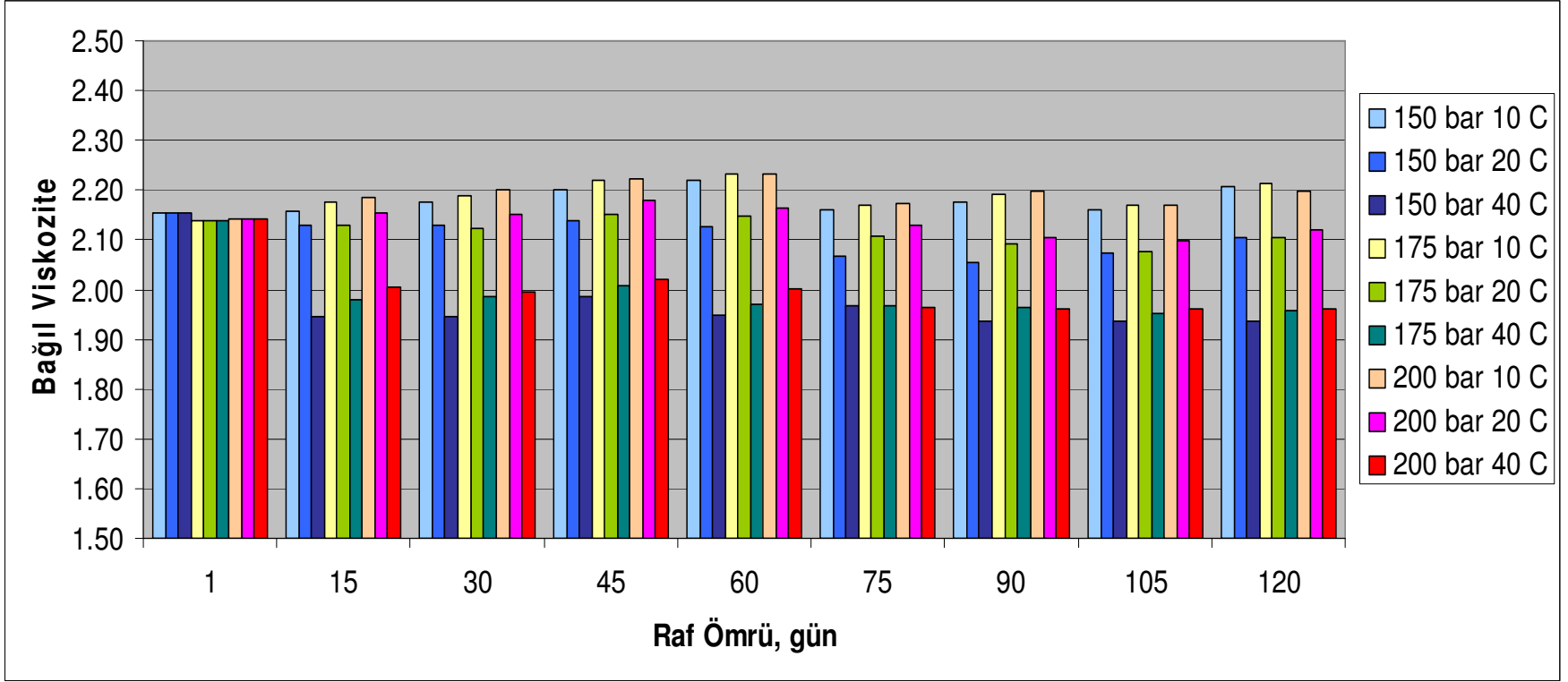
McKellar ve arkadaşları (1984), direkt ve indirekt yöntemlerle üretilmiş sütlerin acılık, viskozite ve proteoliz değerlerinde farklılık görmüşlerdir. Direkt sistemle üretilen sütlerin viskozite değerlerinde artış görülürken, bu sütlerin jelleşme olmadan en fazla 10 ile 22 hafta arasında dayanabildikleri; indirekt sistemle üretilen sütlerin ise üreticinin verdiği raf ömrü olan 12 haftayı herhangi bir jelleşme problemi olmadan aştıkları, 30 hafta süresince bir jelleşme gerçekleşmediğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar, bu farklılığın temel nedeninin, direkt yöntemle üretilen sütlerde gördükleri yüksek proteoliz olduğunu ileri sürmüşlerdir. Direkt yöntemde indirekt yönteme göre daha yüksek proteoliz olmasının nedenini ise, yaygın olarak kabul edilen görüş olan indirekt sistemde proteinazların daha verimli şekilde inaktif hale geçmesi, yeni bir görüş olarak da indirekt yöntemde daha yüksek miktarda denatüre olan β -laktoglobulin bulunması sonucu proteinaz aktivitesinin engellenmesi olarak açıklamışlardır.

Farklı sıcaklıklarda depolanan UHT süt örneklerinin jelleşmeye karşı gösterdikleri eğilimi konu alan bir çalışmada, artan depolama sıcaklığıyla proteoliz miktarında artış olduğu, ancak en yüksek proteoliz miktarına sahip olan 40 ve 50°C'de depolanan UHT süt örneklerinde jelleşme gözlenmediği, aksine raf ömrü süresince daha düşük oranda proteolize uğrayan 10, 15 ve 20°C'de depolanan örneklerin daha kısa zamanda jelleştiği bildirilmektedir (Kocak and Zadow, 1985). Bu bulgu, çalışmamızda 10°C'de depolanan örneklerin 20 ve 40°C'de depolanan örneklerden daha az oranda proteolize uğramaları, ancak daha kısa zamanda jelleşmeleriyle de uyum içindedir. Bu olgu, 40°C'de depolanan örneklerin raf ömrü süresince süreklilikle birlikte ilerleyen aşırı proteolitik aktivite sonucu, ileri düzeyde agregasyona uğramış ancak koagülasyonla sonuçlanmamış protein agregatlarının da parçalanması ile koagülasyonun ve koyulaşmanın, yani jelleşmenin engellenmesi ile açıklanabilmektedir (Kocak and Zadow, 1985). Bunun sonucunda, çalışmamızda olduğu gibi, ürünün viskozitesinde de artış yerine düşüş yaşanmaktadır.

UHT sütler üzerine depolama sıcaklığının etkisini konu alan başka bir çalışmada, 4°C'de depolanan UHT süt rnekleinin kazein misel çaplarında önemli bir değişim olmazken, 20°C ve 40°C'de depolanan rneklelerdeki kazein misel boyutlarının azalma eğiliminde olduğu saptanmıştır (Gaucher et al., 2008). Kazein misel boyutlarındaki bu azalmayı araştırmacılar iki faktöre bağlamışlardır: pH azalması ve ilerleyen proteoliz. Şekil 4.8 incelendiğinde özellikle 20°C ve 40°C'de depolanan rneklelerin viskozitelerinde raf ömrü boyunca belirgin bir düşüş olduğu gözlenmektedir. Bölüm 4.1.2'de verilen pH sonuçlarına ve Bölüm 4.1.10'da verilen proteoliz sonuçlarına bakıldığında, özellikle 40°C'de depolanan rneklelerin pH değerlerinde ciddi bir azalma ve kazein misellerinde ileri bir proteoliz olduğu görülmektedir. Sonuçların birbiriyle uyum içinde olduğu ve bu iki faktörün sütteki başlıca protein olan kazein miselinin boyutlarında küçülmeye neden olarak, rneklelerin viskozitelerinde azalmaya yol açtığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.10 UHT süt örneklerine ait bağıl viskozite sonuçları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	2.15±0.00	2.15±0.00	2.15±0.00	2.14±0.00	2.14±0.00	2.14±0.00	2.14±0.00	2.14±0.00	2.14±0.00
15	2.16±0.00	2.13±0.00	1.95±0.00	2.18±0.00	2.13±0.00	1.98±0.00	2.18±0.00	2.15±0.00	2.01±0.00
30	2.18±0.00	2.13±0.00	1.94±0.00	2.19±0.00	2.12±0.00	1.99±0.00	2.20±0.00	2.15±0.00	2.00±0.00
45	2.20±0.00	2.14±0.00	1.99±0.00	2.22±0.00	2.15±0.00	2.01±0.00	2.22±0.00	2.18±0.00	2.02±0.00
60	2.22±0.00	2.13±0.00	1.95±0.00	2.23±0.00	2.15±0.00	1.97±0.00	2.23±0.00	2.16±0.00	2.00±0.00
75	2.16±0.00	2.07±0.00	1.97±0.00	2.17±0.00	2.11±0.00	1.97±0.00	2.17±0.00	2.13±0.00	1.96±0.00
90	2.18±0.00	2.05±0.00	1.94±0.00	2.19±0.00	2.09±0.00	1.96±0.00	2.20±0.00	2.11±0.00	1.96±0.00
105	2.16±0.00	2.07±0.00	1.94±0.00	2.17±0.00	2.08±0.00	1.95±0.00	2.17±0.00	2.10±0.00	1.96±0.00
120	2.21±0.00	2.10±0.00	1.94±0.00	2.21±0.00	2.11±0.00	1.96±0.00	2.20±0.00	2.12±0.00	1.96±0.00



Şekil 4.8 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerindeki değişim

4.1.8. Renk

Örneklerin raf ömürleri süresince renk ölçümleri CIELab renk parametrelerine göre yapılmıştır. Buna göre, L* parametresi siyahtan (0) beyaza (100), a* parametresi yeşilden (-) kırmızıya (+), b* parametresi ise maviden (-) sarıya (+) olan değişimi ifade etmektedir. UHT süt örneklerinin L*, a* ve b* parametrelerinin raf ömürleri süresince aldıkları değerler sırasıyla Çizelge 4.11, 4.12 ve 4.13'de verilmekte olup, bu değerlerdeki değişimler sırasıyla Şekil 4.9, 4.10 ve 4.11'de çubuk grafikleri ile gösterilmektedir.

Şekil 4.9 incelendiğinde, her basınç değeri için 10 ve 20°C'de depolanan örneklerin L* değerlerinde raf ömrü süresince çok hafif bir azalma olduğu görülmektedir. L değerindeki azalma, örneğin ışığı yansıtma yeteneğindeki azalmayı ifade etmekte ve örnek parlaklığını kaybedip, renk açısından koyulaşma (matlaşma) eğilimine girmektedir. Buna göre 10 ve 20°C'de depolanan örnekler için raf ömrü süresince parlaklık sırasının, azalan sıralamayla 150 bar > 175 bar > 200 bar olduğu ve 10°C'de depolanan örneklerin diğer sıcaklıklarda depolananlara göre raf ömürleri süresince en yüksek L* değerlerini elde ettiği söylenebilir. L* değerindeki en büyük azalma 40°C'de depolanan örneklerde gözlenmiştir.

Auldin ve arkadaşları (1996), L değerindeki azalmayı jelleşme ve sedimentasyona karşı artan eğilimle ilişkilendirmişlerdir. Enright ve arkadaşları (1999) yine aynı şekilde, L* değerindeki azalmayı parçacık çaplarındaki artışa bağlamış ve kazein miseli ne kadar az oranda agregasyona uğrarsa, L değerinde o kadar az değişim olacağını bildirmişlerdir. Bunu destekler şekilde Crudden ve arkadaşları da (2005), plazminin kazein miselini hidroliz etmesi sonucu misel bütünlüğü ve yapısında değişimin olacağı ve bunun sütün L* değerinde azalmaya yol açacağını bildirmektedirler. Bu olay, plazminin hidrolitik aktivitesi ile birlikte kazein miselinin çevresindeki negatif yükü azaltması, bunun sonucunda miseller arası itme etkisinin azalması ve kazein agregatlarının oluşması ile ışık kırma özelliklerinde de değişimin olması şeklinde açıklanmaktadır (Crudden et al., 2005).

Buna göre, Çizelge 4.11'deki verilerden, en az kazein miseli agregasyonuna neden olan homojenizasyon basıncının 150 bar olduğu ve 40°C'de depolanan örneklerin L* değerlerinde gözlenen yüksek orandaki düşüşün, agregasyona uğramış haldeki kazein misellerinden kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Raf ömrünün sonuna doğru L* değerinde en büyük azalmanın görülmesi ve sediment miktarlarında en yüksek artışın olması, Auld ve arkadaşlarının (1996) bulgularıyla da örtüşmektedir.

Bununla birlikte, örneklerin L* değerlerinin bütün basınç ve depolama sıcaklıklarında ilk onbeş günlük süreçte yükseldiği gözlenmektedir. Buna sebep olarak, üretilen UHT süt örneklerinin hem ısıl işlemin hem de homojenizasyonda uygulanan basıncın etkisiyle uğradıkları değişimi, çeşitli dinamiklerle bir süre içinde dengeye getirmeleri olduğu düşünülmektedir. Bunu destekler şekilde Morales ve van Boekel (1998), ısıl işlem görmüş sütlerde birçok araştırmacının L* değerlerinde raf ömrünün başlangıcında bir artış gördüğünü ve bunun, denatüre olan β -laktoglobülinlerin kazein miseliyle birleşmesi nedeniyle olduğunu bildirmektedir.

Şekil 4.10'da örneklerin yeşillik-kırmızılık değerlerini gösteren a* renk parametresindeki değişim görülmektedir. Buna göre örneklerin hepsi raf ömürlerinin başlangıcında negatif ekseninde yer almakta, yani daha yüksek yeşil renk oranına sahip bulunmaktadır. Her basınç değeri için a* değerlerindeki en az değişim 10°C'de depolanan örneklerde gözlenmiş, 150 bar basınçta homojenize edilip 10 ve 20°C'de depolanan örneklerde ise a değeri başlangıçta olduğu gibi negatif ekseninde kalmıştır. a* değerindeki en büyük farklılık 40°C'de depolanan örneklerde görülmüş ve bu örneklerin kırmızılık değerleri ilerleyen raf ömrü ile birlikte artış göstermiştir.

Sütlerin kırmızılık değerlerindeki artış, genel olarak iki nedene bağlanabilmektedir (Walstra and Jenness, 1984; Morales and van Boekel, 1998). Bunlardan ilki laktoz karamelizasyona bağlı olup, 120°C'nin üstündeki sıcaklıklarda pH 3'ün altı veya 9'ün üstünde en şiddetli etkiye neden olmaktadır. Daha yaygın olan ikinci mekanizma ise, enzimatik olmayan bir esmerleşme tepkimesi olan Maillard reaksiyonu ile kahverengi bileşiklerin oluşmasıdır. Maillard esmerleşmesindeki temel reaksiyon, süt şekeri laktozun karbonil grubunun, süt proteinlerinde bulunan lizin kalıntısının amino grubuyla tepkimeye girmesi sonucunda 5-hidroksimetilfurfural (HMF) gibi bileşiklerin

oluşması ve ilerleyen degradasyon ile birlikte başka organik bileşikler ve kahverengi pigmentlerin açığa çıkması ile açıklanmaktadır (Celestino et al., 1997). Bu olay, sütün duysal ve besleyici özelliklerinde bir takım olumsuz etkiler yarattığı için, önemli bir kalite kriteri olarak kabul edilmektedir. Isıl işlemin şiddeti ve sütün depolama sıcaklığının yükseltilmesinin, hem bireysel hem de birlikte Maillard reaksiyonunu hızlandırdığı bildirilmektedir (Walstra and Jenness, 1984; Browning et al, 2001; Numanoğlu, 2006).

Kwok ve arkadaşları (1999), denatüre olan serum proteini miktarının da esmerleşme reaksiyonuna etkide bulunduğunu bildirmektedir. Buna göre, ısıl işlemlerle denatüre olan serum proteinlerinde protein sarmalı denatürasyon sonucu bir zincir gibi açılmakta ve Maillard reaksiyonuna girecek daha çok amino yan grubu ortaya çıkmaktadır. Bu bulgu, çalışmamızda Bölüm 4.1.9'da verilen denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarlarıyla uyum içinde bulunmaktadır. Sonuçlara bakıldığında en yüksek denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarının 150 bar homojenizasyon basıncında üretilen örneklerde olduğu gözlenmiş ve a^* değerlerinde en az değişimin de bu grupta olduğu bulunmuştur.

Şekil 4.11'de UHT süt örneklerinin mavilik-sarılık değerlerini gösteren b^* renk parametrelerindeki değişim görülmektedir. 10 ve 20°C'de depolanan örneklerin b^* değerlerinde ilk 30 gün hafif bir artış olduğu ve 30. günden sonra b^* değerlerinin hemen hemen kararlı bir noktada sabitlendiği saptanmıştır. 40°C'de depolanan örneklerde ise bu artışın raf ömrünün sonunda kadar devam ettiği ve 120.günde b^* renk değerinin 6.8'den 15'e kadar yükseldiği gözlenmiştir. b^* renk değerinde oluşan bu değişimler, UHT sütün 4, 20 ve 40°C'de depolanması sırasındaki değişimleri konu alan bir çalışma ile uyum içinde bulunmaktadır. Bu çalışmada araştırmacılar, UHT sütün üretildiği gün ölçülen b^* değerinin 7.3 olduğu, 4 ve 20°C'de depolanan örneklerde raf ömrünün ilk 21 gününde hafif bir artış olduğu ve 180 gün depolama sonucunda 40°C'de depolanan örneklerin b^* değerlerinin 14.6'ya ulaştığını bildirmişlerdir (Gaucher et al., 2008).

Çalışma kapsamında elde edilen b^* değerlerinden, 40°C'de depolanan örneklerin raf ömrü süresince sarılaşma eğiliminde oldukları diğer örneklerin ise, bu parametre açısından hemen hemen stabil kaldıkları anlaşılmaktadır. 40°C'de depolanan örneklerde görölen bu artışın yine, esmer renkli bileşiklerin oluşumu ile sonuçlanan Maillard reaksiyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.11 UHT sütlere ait L* değerleri

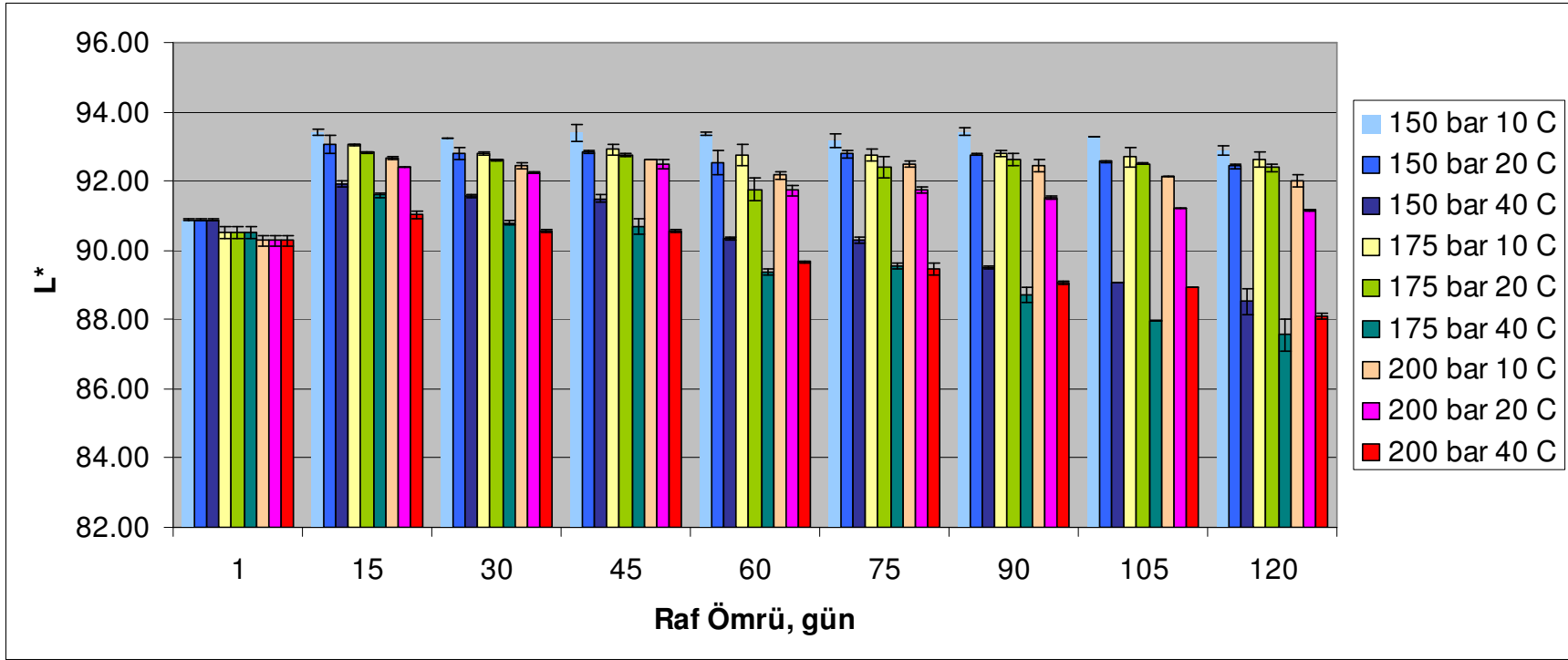
Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	90.88±0.01	90.88±0.01	90.88±0.01	90.51±0.17	90.51±0.17	90.51±0.17	90.28±0.16	90.28±0.16	90.28±0.16
15	93.42±0.08	93.06±0.28	91.93±0.08	93.04±0.03	92.82±0.04	91.60±0.08	92.67±0.06	92.39±0.00	91.03±0.12
30	93.22±0.00	92.79±0.16	91.57±0.03	92.79±0.05	92.61±0.03	90.80±0.08	92.44±0.09	92.25±0.01	90.56±0.04
45	93.39±0.23	92.84±0.05	91.49±0.11	92.92±0.16	92.77±0.05	90.69±0.20	92.62±0.01	92.48±0.14	90.57±0.04
60	93.37±0.04	92.52±0.35	90.34±0.06	92.76±0.32	91.76±0.34	89.38±0.10	92.17±0.10	91.73±0.16	89.67±0.03
75	93.17±0.21	92.78±0.10	90.29±0.08	92.75±0.18	92.41±0.31	89.55±0.10	92.49±0.07	91.74±0.07	89.47±0.19
90	93.42±0.11	92.76±0.02	89.51±0.04	92.82±0.09	92.62±0.17	88.71±0.23	92.45±0.17	91.52±0.06	89.05±0.04
105	93.28±0.00	92.56±0.02	89.06±0.01	92.70±0.28	92.51±0.01	87.96±0.01	92.13±0.00	91.23±0.00	88.94±0.01
120	92.90±0.13	92.43±0.08	88.53±0.37	92.62±0.20	92.38±0.13	87.57±0.46	92.00±0.18	91.16±0.01	88.10±0.08

Çizelge 4.12 UHT sütlerine ait a* değerleri

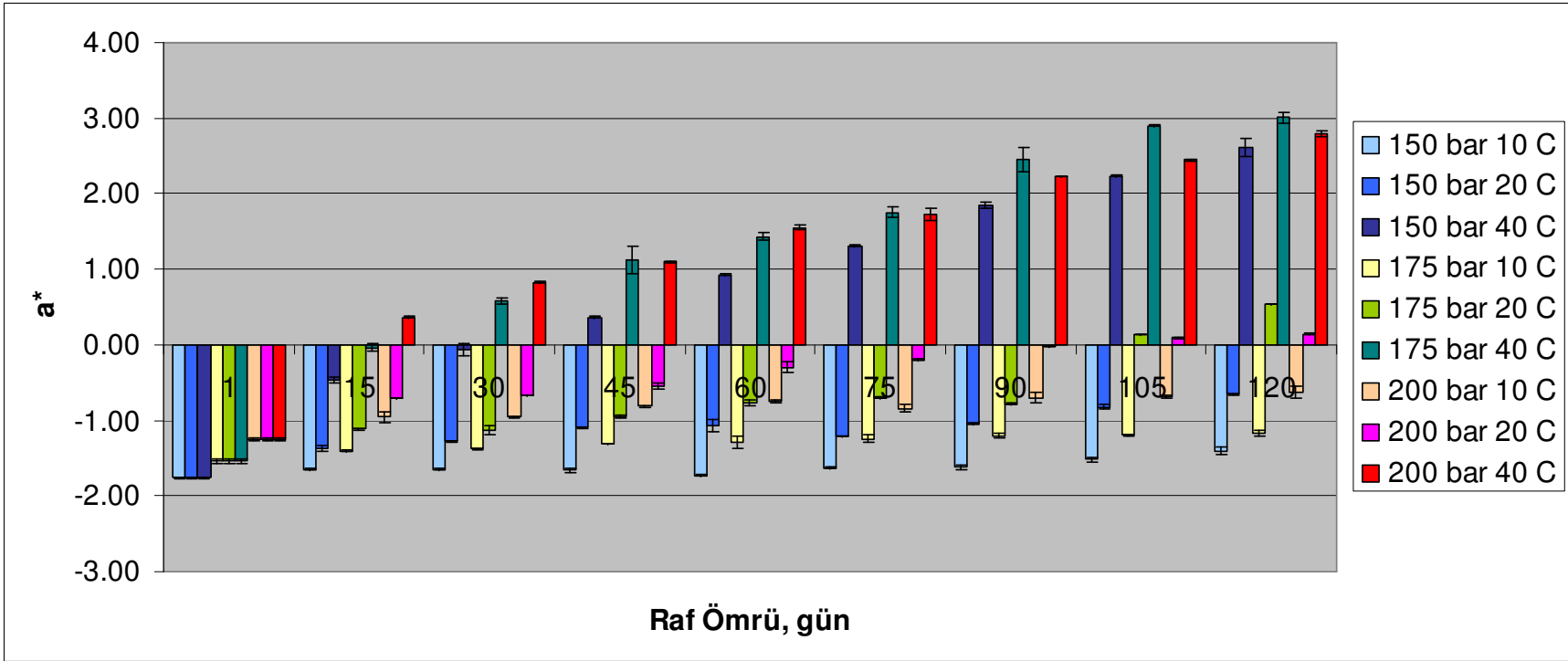
Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	-1.76±0.01	-1.76±0.01	-1.76±0.01	-1.54±0.03	-1.54±0.03	-1.54±0.03	-1.25±0.02	-1.25±0.02	-1.25±0.02
15	-1.65±0.01	-1.38±0.04	-0.47±0.04	-1.41±0.01	-1.12±0.01	0.02±0.05	-0.95±0.07	-0.71±0.00	0.37±0.01
30	-1.65±0.01	-1.28±0.01	-0.06±0.08	-1.38±0.01	-1.12±0.06	0.58±0.04	-0.96±0.01	-0.67±0.00	0.83±0.01
45	-1.66±0.03	-1.10±0.01	0.37±0.01	-1.31±0.00	-0.96±0.02	1.13±0.18	-0.81±0.01	-0.55±0.04	1.10±0.01
60	-1.73±0.01	-1.07±0.08	0.93±0.01	-1.29±0.08	-0.77±0.04	1.44±0.05	-0.75±0.02	-0.30±0.07	1.55±0.03
75	-1.63±0.01	-1.20±0.00	1.31±0.01	-1.24±0.06	-0.71±0.01	1.75±0.07	-0.85±0.05	-0.20±0.01	1.73±0.08
90	-1.62±0.03	-1.04±0.01	1.85±0.04	-1.20±0.03	-0.78±0.01	2.45±0.16	-0.70±0.07	-0.03±0.00	2.22±0.00
105	-1.52±0.03	-0.82±0.03	2.23±0.01	-1.19±0.01	0.14±0.00	2.90±0.01	-0.69±0.02	0.09±0.01	2.45±0.01
120	-1.41±0.05	-0.66±0.01	2.62±0.12	-1.17±0.04	-0.55±0.00	3.01±0.07	-0.62±0.08	0.14±0.01	2.80±0.04

Çizelge 4.13 UHT sütlerine ait b* değerleri

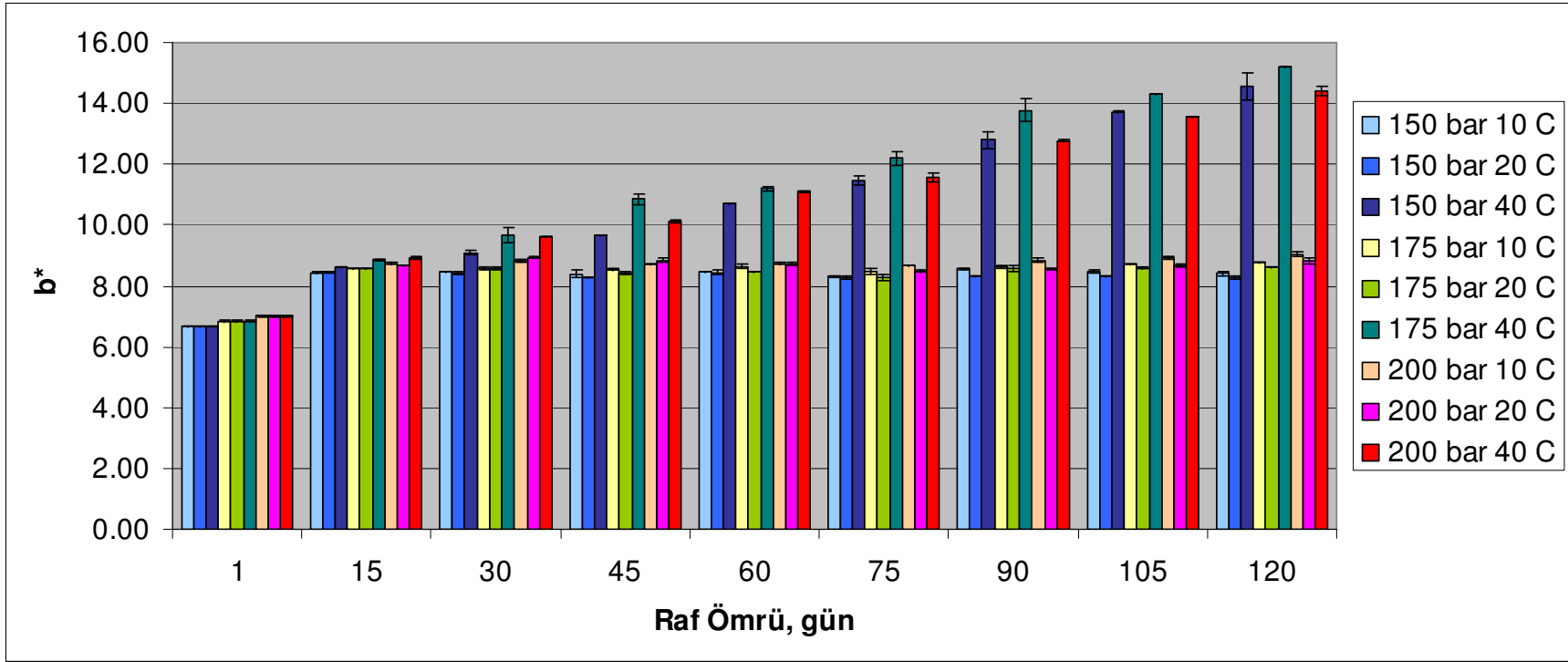
Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	6.69±0.01	6.69±0.01	6.69±0.01	6.85±0.01	6.85±0.01	6.85±0.01	7.01±0.03	7.01±0.03	7.01±0.03
15	8.44±0.02	8.45±0.04	8.63±0.01	8.55±0.00	8.59±0.01	8.86±0.03	8.74±0.01	8.68±0.01	8.92±0.04
30	8.46±0.01	8.42±0.06	9.10±0.06	8.57±0.03	8.56±0.05	9.68±0.25	8.83±0.04	8.94±0.04	9.63±0.01
45	8.39±0.11	8.28±0.02	9.66±0.01	8.54±0.01	8.41±0.04	10.85±0.18	8.71±0.01	8.84±0.08	10.12±0.04
60	8.47±0.01	8.44±0.06	10.72±0.01	8.63±0.08	8.48±0.02	11.20±0.06	8.74±0.03	8.72±0.06	11.10±0.04
75	8.32±0.02	8.28±0.04	11.46±0.16	8.47±0.11	8.29±0.11	12.20±0.23	8.68±0.00	8.49±0.01	11.56±0.17
90	8.55±0.03	8.33±0.01	12.80±0.26	8.64±0.05	8.58±0.10	13.78±0.38	8.84±0.06	8.56±0.04	12.77±0.03
105	8.47±0.03	8.30±0.00	13.72±0.03	8.73±0.01	8.59±0.01	14.32±0.01	8.92±0.03	8.67±0.04	13.56±0.01
120	8.41±0.06	8.27±0.05	14.55±0.46	8.80±0.06	8.63±0.00	15.19±0.01	9.05±0.08	8.81±0.10	14.39±0.14



Şekil 4.9 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin L* değerlerindeki değişim



Şekil 4.10 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin a^* değerlerindeki değişim



Şekil 4.11 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin b* değerlerindeki değişim

4.1.9. Denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin

Raf ömrü süresince başlıca serum proteinleri olan α -laktalbumin ve β -laktoglobulindeki denatürasyon miktarları RP-HPLC yöntemiyle incelenmiş ve sonuçlar sırasıyla Çizelge 4.15 ve Çizelge 4.16'da verilmiştir.

Yüksek Basınç Uygulamaları'nın süt bileşenlerine olan etkilerini literatürdeki farklı kaynaklardan alınan bilgiler ile kıyaslayan bir çalışmada, 100 MPa'a kadar olan basınçların β -laktoglobulin denatürasyonuna neden olmadığı, daha yüksek statik basınçların ise yüksek oranda denatürasyona neden olduğu bildirilmektedir (Huppertz et al., 2002). Çalışmamız kapsamında Yüksek Basınç Uygulaması yapılmamış olup, sütün yüksek basınçta homojenizasyonu gerçekleştirilmiştir. İki sistemde de yüksek basınç kullanılmasına rağmen, Yüksek Basınç Uygulamalarında örnek, kapalı bir basınç uygulama kabı içine alınarak, statik bir basınç altında belirli bir süre boyunca tutulmakta; homojenizasyonda ise örnek sürekli sistemde, yüksek basınçla birlikte mekanik bir parçalanma etkisine de maruz kalmaktadır. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda, çalışmamızda kullanılan homojenizasyon basınçlarının denatüre olmamış β -laktoglobulin miktarında farklılığa yol açtığı saptanmıştır ($p<0.05$). Bu sonuç, homojenizasyon sırasında uygulanan basınçla birlikte, basıncın uygulama şeklinin de önemli olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Homojenizatörde oluşan mekanik parçalama etkisi, serum proteinlerinin denatürasyon oranını da değiştirmektedir. Farklı homojenizasyon basınçlarının denatüre olmamış α -laktalbumin üzerine etkisinin de, istatistiksel olarak önemli olduğu ($p<0.05$) belirlenmiştir. Şekil 4.12'den de görüldüğü üzere en yüksek oranda denatüre olmamış α -laktalbumin miktarı 150 bar basınçla homojenize edilmiş örneklerde görülmekte, 200 barda homojenize edilen örneklerin denatüre olmamış α -laktalbumin miktarlarının ise diğer basınçlardan daha düşük olduğu gözlenmektedir.

Depolama sıcaklığının da istatistiksel açıdan önemli ($p<0.05$) bir farklılığa yol açtığı saptanmıştır. 20 ve 40°C'lerde depolanan örneklerin denatüre olmamış β -laktoglobulin seviyelerinde raf ömrü süresince başlangıca göre hafif bir artışın olduğu görülmüştür. Şekil 4.13 incelendiğinde, 10°C'de depolanan örneklerin denatüre olmamış β -laktoglobulin miktarlarının 20 ve 40°C'de depolanan örneklerinkine oranla

daha düşük olduğu gözlenmektedir. En düşük denatürasyon miktarının 20°C'de depolanan örneklerde olduğu grafikten anlaşılmaktadır. İstatistiksel analiz sonucunda 1., 15. ve 30. günler ile diğer günler arasında α -laktalbumin sonuçları açısından bulunan farklılığın önemli ($p < 0.05$) seviyede olduğu, yani raf ömrünün α -laktalbumin üzerine etkisinin önemli olduğu bulunmuştur.

Sütte bulunan α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarının çeşitli kaynaklarda ortalama olarak sırasıyla 1200 ve 3200 ppm olarak verildiği bildirilmektedir (Walstra and Jenness, 1984). Bu değerler referans olarak alınıp, aynı ısıl işlem normlarında farklı homojenizasyon basıncı kullanıldığında, α -laktalbumin denatürasyon oranının 150 bar, 175 bar ve 200 bar için sırasıyla % 65, % 71 ve % 81 olduğu; β -laktoglobulin denatürasyon oranının ise sırasıyla % 94, % 95 ve % 97 olduğu saptanmıştır. UHT işlemi sonrasında α -laktalbuminde β -laktoglobuline oranla daha az denatürasyon oluşması, literatürde bulunan farklı araştırmaların bulguları tarafından da desteklenmektedir (Claeys et al., 2002; Garcia-Risco et al., 2002; Vasbinder et al., 2003). α -laktalbuminin, β -laktoglobuline kıyasla ısıl işlem ve basınçla denatürasyona daha stabil olmasının nedeni, yapısında molekül içi disülfid bağlarını daha çok içermesi ve çok reaktif olan serbest sülfhidril grubu içermemesi olarak açıklanmaktadır (Huppertz et al., 2002). Bununla birlikte, homojenizasyon basıncının artması ile denatürasyon miktarının arttığı da görülmektedir. Çizelge 4.14'de, farklı araştırmacıların direkt sistem UHT işlemi sonucunda bulduğu denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarları verilmektedir. Verilen araştırma sonuçlarında α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarları arasındaki farklılıkların, sütlerin üretiminde kullanılan farklı homojenizasyon normlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.14 Farklı araştırmalarda bulunan denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarları (Datta et al., 2002)

Araştırma No	α -laktalbumin (ppm)	β -laktoglobulin (ppm)
1	220-1036	63-1210
2	159-996	155-1123
3	499-569	355-423

Raf ömrü süresince, denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarlarındaki değişim incelendiğinde (Şekil 4.12 ve Şekil 4.13), homojenizasyon basıncının artmasıyla her iki serum proteininin denatürasyon miktarlarının da arttığı görülmektedir. Raf ömrünün ilerlemesi ile, tersinir olarak denatüre olan bir miktar β -laktoglobülinin doğal haline döndüğü ve serum fazına geçtiği, serum fazına geçen en çok β -laktoglobülinin 20°C'de depolanan örneklerde görüldüğü saptanmıştır. Aynı değişimden α -laktalbumin için de bahsetmek mümkündür. Depolama sıcaklığının rejenere olarak tekrar doğal haline dönen serum proteini miktarına etkisi incelendiğinde, 10°C'de depolamanın en az rejenerasyona, 20°C'de depolamanın ise en çok rejenerasyona yol açtığı bulunmuştur. Basıncın etkisi incelendiğinde ise, 200 bar homojenizasyon basıncı uygulanan örneklerde depolama sıcaklığından bağımsız olarak en az oranda rejenerasyon görüldüğü saptanmıştır. Bu sonuçtan, yüksek basıncın serum proteinlerinde daha etkili ve kalıcı bir denatürasyona neden olduğu söylenebilir.

Birçok araştırmacı, ısı işlem sonunda denatüre olan β -laktoglobulinin κ -kazeinle oluşturduğu kompleksin proteolizi engelleyici etkisinden bahsetmektedir (Celestino et al., 1997; Garcio-Risco et al., 2002). Buna göre, kazein miselinin yüzeyinde ne kadar fazla β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksi oluşursa, proteinazların kazeine ulaşması o derece zor olmakta ve proteoliz miktarı azalmaktadır. Bu bilgiler göz önüne alınarak, çalışmada elde edilen denatüre olmamış α -laktalbumin ve β -laktoglobulin miktarları ile Bölüm 4.1.6'da verilen ve proteolizin bir göstergesi olan pH 4.6'da çözümler azot sonuçlarının bir arada yorumlanmasının, olaya daha geniş bir bakış açısı kazandıracağı düşünülmektedir.

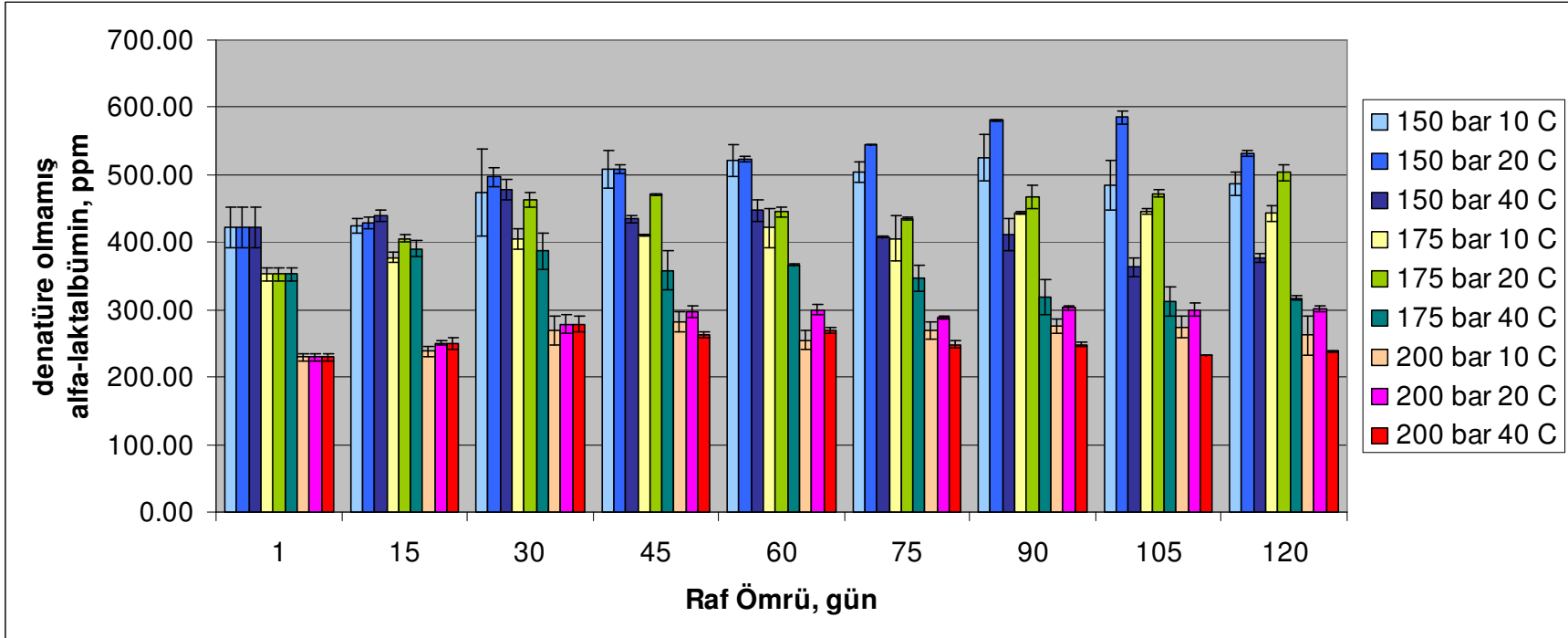
pH 4.6'da çözümler azot sonuçlarına göre, raf ömrü süresince en yüksek oranda proteoliz, 150 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örneklerde görülmektedir (Şekil 4.7). Denatüre olmamış β -laktoglobulin miktarlarına bakıldığında ise, ilk 75 gün süresince en az denatürasyonun 150 barda homojenize edilip 40°C'de depolanan örneklerde olduğu görülmektedir (Şekil 4.13). Literatürdeki bilgiler göz önüne alındığında, 150 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örneklerde, β -

laktoglobulinin en az oranda denatüre olması sonucu, en az oranda β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin oluştuğu ve proteolize karşı koruyucu etkinin düşük oranda oluşması sonucu, en çok proteolizin bu örnek grubunda saptandığı görülmektedir. Bu bulgu, literatürdeki bilgiler ile uyum içinde bulunmaktadır.

UHT işlemini takiben uygulanan homojenizasyon işleminin, kazeinin misel yapısında birtakım konformasyonel değişimlere ve degradasyona yol açtığı belirtilmektedir. Bunlar arasında serum fazındaki κ -kazein miktarının artması ve ısı işlem sırasında β -laktoglobulinin denatürasyonu ile oluşan β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin kazein miseline tutunmasını sağlayan bağların zayıflaması sayılmaktadır (Garcio-Risco et al., 2002). Bu sayede kazein miselinin en dışında yer alan κ -kazein alt miselleri, β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksi şeklinde miselden ayrılarak serum fazına geçmektedirler.

Çizelge 4.15 UHT sütlere ait denatüre olmamış α -laktalbumin değerleri (ppm)

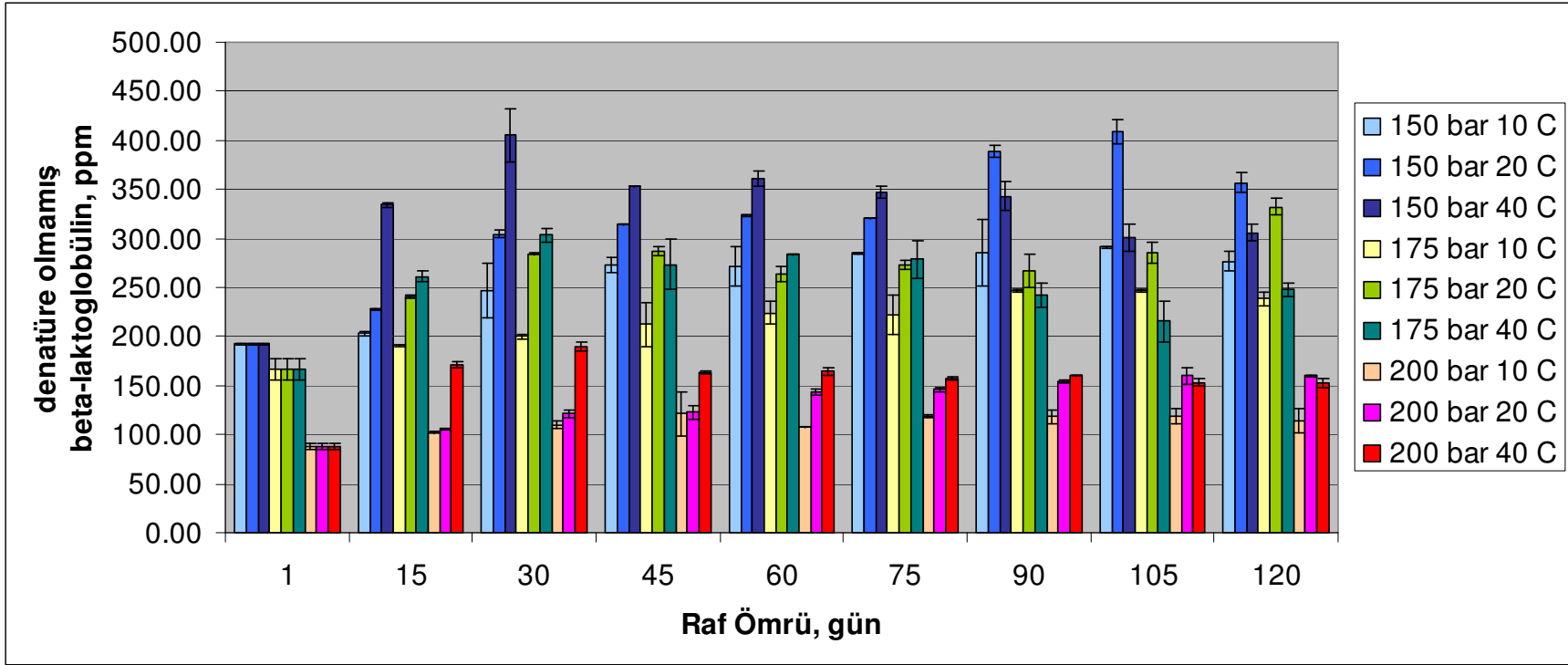
Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	421.57±30.07	421.57±30.07	421.57±30.07	352.18±9.69	352.18±9.69	352.18±9.69	229.79±5.82	229.79±5.82	229.79±5.82
15	424.47±10.46	427.94±8.81	438.97±8.18	377.30±7.58	405.93±5.99	389.99±11.76	238.48±8.03	250.58±3.74	250.36±8.07
30	473.93±64.86	496.76±13.26	478.00±14.62	404.03±14.96	462.78±11.28	387.10±26.90	270.05±21.33	278.64±13.73	278.80±11.97
45	507.73±28.10	508.46±5.69	434.32±5.04	410.85±1.49	470.62±1.30	358.05±29.45	281.70±15.37	297.00±9.32	262.61±4.24
60	521.69±23.72	523.23±4.06	447.10±16.82	421.76±29.44	444.78±7.46	366.73±0.84	255.07±13.84	299.84±7.68	268.73±4.82
75	503.56±15.64	545.59±0.13	408.08±0.54	405.81±33.98	435.05±1.66	347.70±19.37	269.37±13.42	289.31±2.24	248.11±5.30
90	525.10±34.39	580.61±1.30	411.23±23.04	443.11±1.91	467.77±17.22	318.09±26.00	275.16±10.55	302.62±2.27	248.71±2.89
105	484.51±37.25	584.90±10.52	363.71±14.25	445.80±5.29	472.63±5.38	311.33±21.53	274.40±15.82	299.75±9.69	233.41±0.26
120	487.02±17.80	531.45±3.94	377.24±7.08	442.80±11.67	503.13±11.73	317.34±2.66	262.23±28.68	301.95±4.85	238.82±0.90



Şekil 4.12 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin denatüre olmamış α -laktalbumin değerlerindeki değişim

Çizelge 4.16 UHT sütlere ait denatüre olmamış β -laktoglobulin değerleri (ppm)

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	192.25±0.76	192.25±0.76	192.25±0.76	166.85±10.98	166.85±10.98	166.85±10.98	87.60±2.80	87.60±2.80	87.60±2.80
15	203.35±2.41	227.66±1.08	334.31±2.65	190.85±0.80	240.49±1.75	261.52±5.00	102.09±0.78	105.87±0.94	171.28±2.45
30	246.82±27.78	304.76±3.31	405.54±27.21	199.95±2.93	284.42±0.62	303.30±7.30	109.67±3.85	121.50±3.89	189.71±4.93
45	273.16±7.50	314.66±0.02	353.08±0.24	212.40±21.96	287.53±4.51	273.81±24.99	121.81±22.40	122.75±7.25	163.10±1.28
60	271.57±19.98	323.82±0.85	360.76±7.36	224.25±12.01	263.68±7.42	284.10±0.17	107.63±0.33	142.96±3.26	164.39±3.97
75	284.92±1.09	320.78±0.54	347.22±6.66	222.27±20.60	273.44±4.25	278.67±19.70	119.29±1.28	145.86±2.30	157.18±1.57
90	286.00±34.20	389.18±6.54	343.25±14.43	246.29±1.66	266.33±16.98	242.34±13.01	118.62±6.84	154.73±1.82	160.51±0.75
105	290.91±0.58	409.15±12.61	300.81±14.19	247.47±1.70	285.30±10.98	215.55±20.59	118.81±8.47	159.88±8.51	153.37±3.69
120	276.86±10.32	356.76±10.12	306.04±8.96	238.56±7.13	332.41±8.65	247.77±7.45	114.57±12.66	159.95±0.24	152.12±4.52



Şekil 4.13 Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinin denatüre olmamış β -laktoglobulin değerlerindeki değişim

4.1.10. Kazeinin proteoliz seviyesinin elektroforetik incelenmesi

Raf ömrü süresince başlıca kazein alt grupları olan α_{s1} -kazein ve β -kazeindeki proteoliz Üre - Poli Akrlamid Jel Elektroforez (Üre-PAGE) yöntemiyle incelenmiş ve elde edilen elektroforegramlar Ek 3'te (Ek 3.1-3.9) verilmiştir. Elektroforegramlarda 18 kuyucuk bulunmaktadır. İlk iki ve son iki kuyucuk, standart olarak kullanılan Na-kazeinatın enjekte edildiği yerlerdir. Örnekler soldan üçüncü kuyucuktan başlayarak enjekte edilmiştir. Bütün raf ömrü boyunca değişimin tek jelde bir bütün olarak gözlenebilmesi için Çizelge 4.17'de görülen şekilde enjeksiyon yapılmıştır.

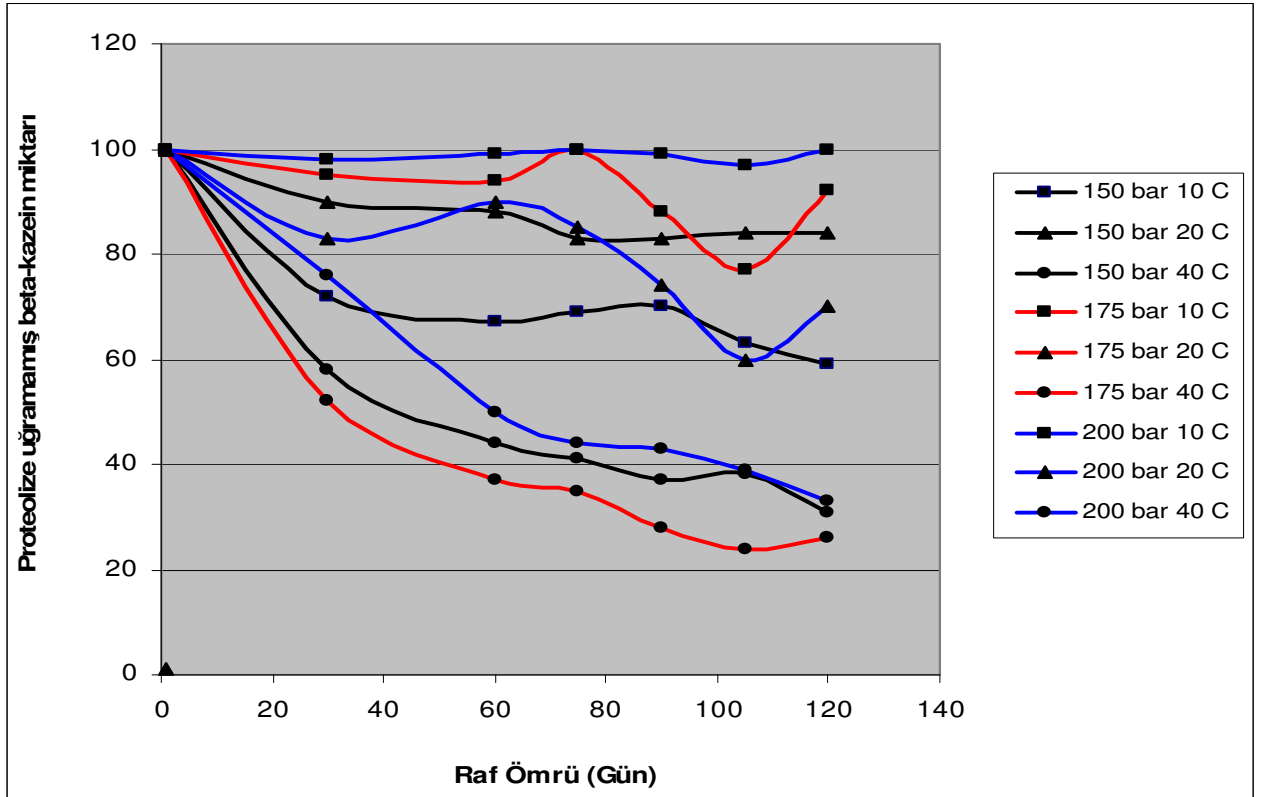
Çizelge 4.17 Kuyucuklara enjekte edilen örnek bilgileri (K=Kuyucuk)

K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K	K
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Standart	Standart	1. gün	1. gün	30. gün	30. gün	60. gün	60. gün	75. gün	75. gün	90. gün	90. gün	105. gün	105. gün	120. gün	120. gün	Standart	Standart

Elektroforegramlar, MCID Analysis 7.0 (Imaging Research Corp., UK) programı kullanılarak sayısal olarak işlenmiş ve renk yoğunluğuna göre dansimetrik değerlendirilmesi yapılmıştır. Buna göre, her bir örnekteki protein bantları seçilerek renk yoğunlukları sayısal değerlere dönüştürülmüştür. Elde edilen veriler, raf ömrü başlangıcındaki bant koyuluklarına göre normalize edilerek hesaplanmıştır. Böylece α_{s1} -kazein ve β -kazeinde raf ömrü boyunca gelişen proteoliz, başlangıç değerine göre yüzdesel oranla normalize edilerek ortaya konmuştur. Proteoliz sonuçları, β -kazein için Çizelge 4.18 ve Şekil 4.14'de; α_{s1} -kazein için Çizelge 4.19 ve Şekil 4.15'de verilmektedir.

Çizelge 4.18 UHT sütlere ait proteolize uğramamış β -kazein miktarları (%)

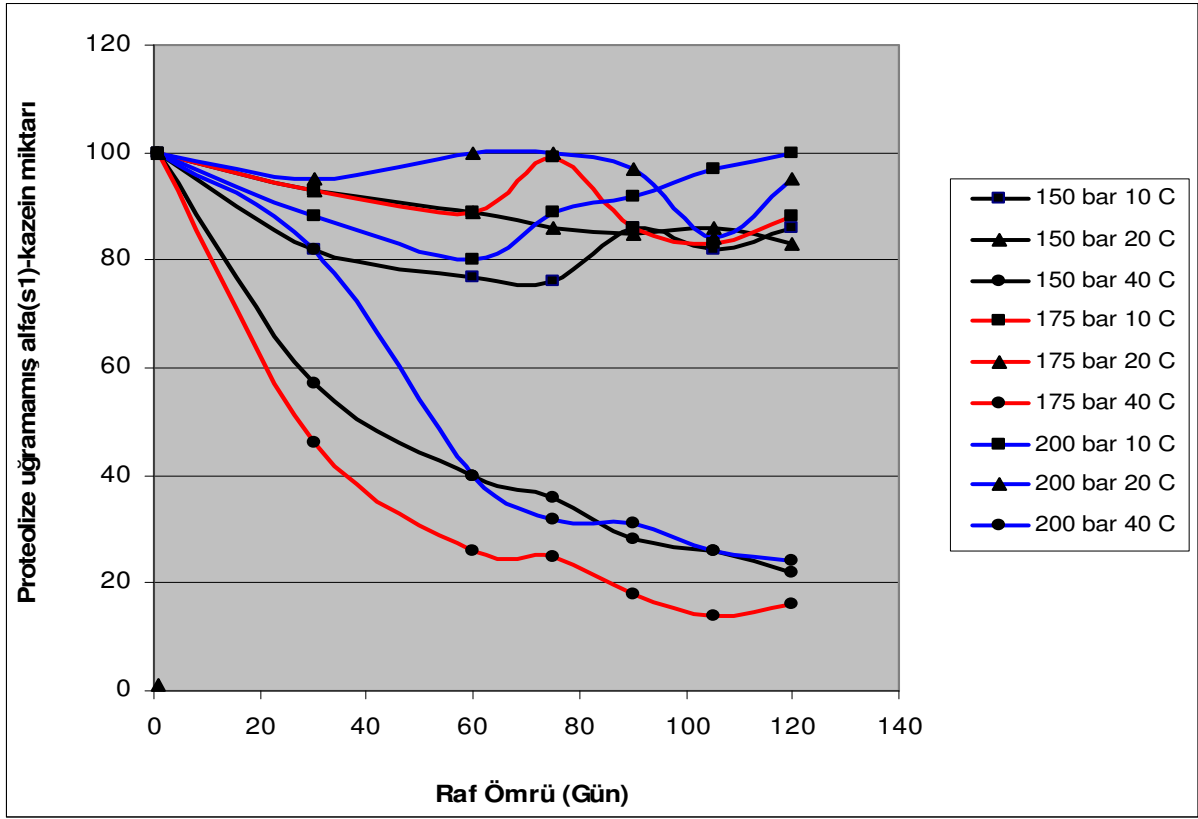
Ölüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	72	90	58	97	95	52	98	83	76
60	67	88	44	77	94	37	99	90	50
75	69	83	41	86	100	35	100	85	44
90	70	83	37	89	88	28	99	74	43
105	63	84	38	86	77	24	97	60	39
120	59	84	31	74	92	26	100	70	33



şekil 4.14 Raf mr süresince UHT st örneklerinin proteolize uğramamış β -kazein miktarlarındaki değişim

Çizelge 4.19 UHT sütlere ait proteolize uğramamış α_{s1} -kazein miktarları (%)

lm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	82	93	57	100	93	46	88	95	82
60	77	89	40	90	89	26	80	100	40
75	76	86	36	91	99	25	89	100	32
90	86	85	28	98	86	18	92	97	31
105	82	86	26	95	83	14	97	84	26
120	86	83	22	91	88	16	100	95	24



şekil 4.15 Raf mr süresince UHT süt örneklerinin proteolize uğramamış α_{s1} -kazein miktarlarındaki değişim

Literatürde UHT sütlerin raf ömrü boyunca uğradığı proteoliz seviyesini konu alan çoğu araştırmada, sütte doğal olarak bulunan proteinazlardan olan plazmin ve bakteriyal proteinazların kazein miseli üzerine etkileri detaylı biçimde incelenmiştir. Bu çalışmaların sonuçlarına göre, farklı kaynaklara sahip proteinazlar, kazeinin farklı alt-gruplarına hassasiyet ve seçicilik göstermektedir. Buna rnek olarak, plazminin

kazein miseli alt gruplarına hassasiyeti, azalan sıraya göre β -kazein > α_{s1} -kazein > κ -kazein şeklinde olurken; *S. marcescens*'ten elde edilen proteinazın hassasiyetinin β -kazein > κ -kazein > α_{s1} -kazein şeklinde olduğu verilebilir (Grieve and Kitchen, 1985). Bakteriyal proteinazların seçiciliğinin genellikle κ -kazein > β -kazein > α_{s1} -kazein sırasında olduğu bildirilmektedir (Lopez Fandino et al., 1993b). Plazmin ise κ -kazein'i hidroliz edemezken, en çok β -kazein'i hedef almakta ve proteoliz sonucunda β -kazeinden γ -kazein fraksiyonları ve proteoz peptonlar gibi yüklü peptidler oluşmaktadır (Enright et al., 1999; Crudden et al., 2005; Silanikove et al., 2006).

Çizelge 4.18 ve Şekil 4.14'ten görüldüğü üzere, β -kazeinde raf ömrü süresince en ileri proteoliz, 40°C'de depolanan örneklerde görülmektedir. 200 barda üretilip 10°C'de depolanan örneklerde, β -kazein hemen hemen hiç proteolitik aktiviteye uğramazken, 150 barda üretilip 10°C'de depolanan örneklerde, raf ömrünün sonunda yaklaşık % 40 oranında proteolize uğraması dikkat çekicidir. Özellikle β -kazein'e seçicilik gösteren plazminin barostabil (basınca dayanıklı) bir enzim olduğu, ancak 500 MPa'nın üzerinde uygulanan statik basınçlarda aktivasyonunu kaybettiği bildirilmektedir (Scollard et al., 2000). Bu bilgi dahilinde, 200 bar (20 MPa) homojenizasyon basıncının plazmini inhibe edici bir etkide bulunmadığı söylenebilir. 10°C'de depolanan örneklerde homojenizasyon basıncının artmasıyla daha az oranda proteoliz görülmesinin sebebinin β -laktoglobulin denatürasyonu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Bölüm 4.1.9'da verilen bilgiler ve Çizelge 4.16 incelendiğinde, 150 barda homojenize edilen örneklerde β -laktoglobulinin daha az denatüre olduğu, artan basınçla birlikte denatürasyon miktarının da arttığı görülmektedir. Denatüre olan β -laktoglobulinlerden serbest hale geçen sülfhidril grupları, molekülün polimerizasyona uğramasını teşvik etmekte ve β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan bu kompleksin, proteinazların misele ulaşmalarını engelleyici etki yaptığı birçok araştırmacı tarafından da bildirilmiştir (Celestino et al., 1997; Garcio-Risco et al., 2002). Bu nedenle 150 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilmiş örneklerde β -kazein daha çok proteolize uğramış ve bu kapsamda değerlendirildiğinde; elektroforez, pH 4.6'da çözünür azot ve denatüre olmamış β -laktoglobulin sonuçlarının birbirleriyle uyum içinde olduğu saptanmıştır.

Celestino ve arkadaşları (1997), düşük depolama sıcaklıklarında β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin daha yüksek oranda oluştuğunu da bildirmişlerdir. Şekil 4. 14 incelendiğinde, kullanılan her homojenizasyon basıncında, 10°C'de depolanan örneklerde en az oranda proteoliz gerçekleştiği, 40°C'de depolanan örneklerde ise en yüksek oranda proteolizin olduğu gözlenmektedir. Bu bulgu, Celestino ve arkadaşlarının (1997) sonuçlarını da desteklemektedir.

UHT süt üzerine yapılan araştırmaların çoğunda, araştırmacılar raf ömrü süresince α_{s1} -kazeinden çok, β -kazeinin proteolitik degradasyona uğradığını tespit etmiş; bunun nedenini de sütte doğal olarak bulunan plazmine ve bakteriyal proteinazlara bağlamışlardır (Lopez Fandino et al., 1993b; Kelly and Foley, 1997; Enright et al., 1999; Datta and Deeth, 2003; Topçu et al., 2006). Kelly ve Foley (1997), Üre-PAGE yöntemiyle UHT sütteki proteoliz gelişimini incelemişler ve 60. günden itibaren hem β -kazein, hem de α_{s1} -kazeinde hidrolizasyonun başladığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar, çalışılan UHT süt örneklerinin bazılarında plazmin öncüsü olan plazminojen ilave etmiş ve β -kazein'in α_{s1} -kazeine oranla daha hızlı ve yüksek oranda parçalandığını saptamışlardır. Bunun nedeni olarak, kazein misel yapısının α_{s1} -kazeini plazmin etkisinden belli bir ölçüye kadar koruduğu ileri sürülmüştür.

Ancak Çizelge 4.19 ve Şekil 4.15 incelendiğinde, 40°C'de depolanan örneklerde α_{s1} -kazeinde ileri bir proteoliz göze çarpmaktadır. Elektroforegramlarda da bu sıcaklıkta depolanan örneklerin α_{s1} -kazein bantlarının koyuluğunda ciddi bir azalma gözlenmektedir. Plazminin, β -kazeinden sonra daha düşük oranda α_{s1} -kazein üzerinde proteolitik aktivite gösterdiği ve hidroliz ürünü olarak λ -kazeinleri oluşturduğu bildirilmektedir (Silanikove et al., 2006). Raf ömrü boyunca özellikle 40°C'de depolanan örneklerde, α_{s1} -kazeinde β -kazeine oranla daha yüksek oranda proteoliz görülmesi, ortamda plazmin ve bakteriyal proteinazlar dışında proteolizden sorumlu başka enzimlerin varlığını ortaya koymaktadır. Gaucher ve arkadaşları (2008), yarım yağlı UHT sütlerin 4°C, 20°C ve 40°C'de depolanması sırasında oluşan proteoliz profilini LC-MSMS ile incelemiş ve α_{s1} -kazeinin proteolizinden sorumlu olan enzimin somatik hücre kaynaklı "katepsin-D" olduğunu saptamışlardır.

Katepsin-D kazeinde bulunan dört alt grubu da hidroliz etme özelliğine sahip bir aspartik proteinazdır (Kelly et al., 2006). Süt somatik hücrelerinde, lökositlerin ve makrofajların hücre içi sıvılarında bulunan başlıca proteinazlardan biridir. Hücrenin dışına sızma veya salgılanma ile, veya hücrelerin çeşitli faktörler sonucu parçalanmaları ile süte geçtiği ön görülmektedir (Kelly and Fox, 2006). Proteolitik etki yönünden kimozone benzer şekilde pıhtılaştırıcı aktivite gösterdiği ve bu amaçla peynir teknolojisinde kimozone alternatif olarak kullanılabilmesi yönünde araştırmalar bulunmaktadır (Hurley et al., 2000). Bütün kazein alt gruplarını hidroliz edebilmesine rağmen, α_{s1} -kazeine seçicilik gösterdiği bildirilmektedir (Gaucher et al., 2008). Düşük miktarlarının bile, α_{s1} -kazeinde teşhis edilebilir miktarda proteolize neden olduğu saptanmıştır (Larsen et al., 2004).

Katepsin-D'nin özellikleri ve aktivitesi hakkında kapsamlı araştırmaya halen ihtiyaç duyulmakla birlikte, pastörizasyon normlarına (72.5°C 15 sn.) dayanıklı olduğu bildirilmektedir (Hurley et al., 2000). UHT sütler üzerine depolama sıcaklığının etkisini konu alan bir araştırmada, yazarlar katepsin-D aktivitesinden şüphe etmekte ve UHT sütlerde de aktif halde bulunabileceğini öne sürmektedirler (Gaucher et al., 2008).

Çizelge 4.19 ve Şekil 4.15 incelendiğinde α_{s1} -kazeinde özellikle 40°C'de depolanan örneklerde görülen proteolizin, plazminden daha çok katepsin-D'den kaynaklandığı düşünülmektedir. Enzimin optimum aktivite sıcaklığının 37°C olması (Hurley et al., 2000), en ileri proteolizin 40°C'de görülmesini açıklar niteliktedir. Yapılan çalışmalarda, katepsin-D miktarının sütün somatik hücre sayısı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Hurley et al., 2000). Çalışmanın başında, UHT sütlerin üretilmesinde kullanılan çiğ sütün genel kalite özellikleri belirlenmiş ve somatik hücre sayısının 567000 adet/mL olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.1). Sütte somatik hücre sayısının artmasının, süt kaynaklı proteinazların miktarının artışına neden olduğu bilinmektedir (Considine et al., 2004).

4.1.11. Proteoliz seviyesinin RP-HPLC ile incelenmesi

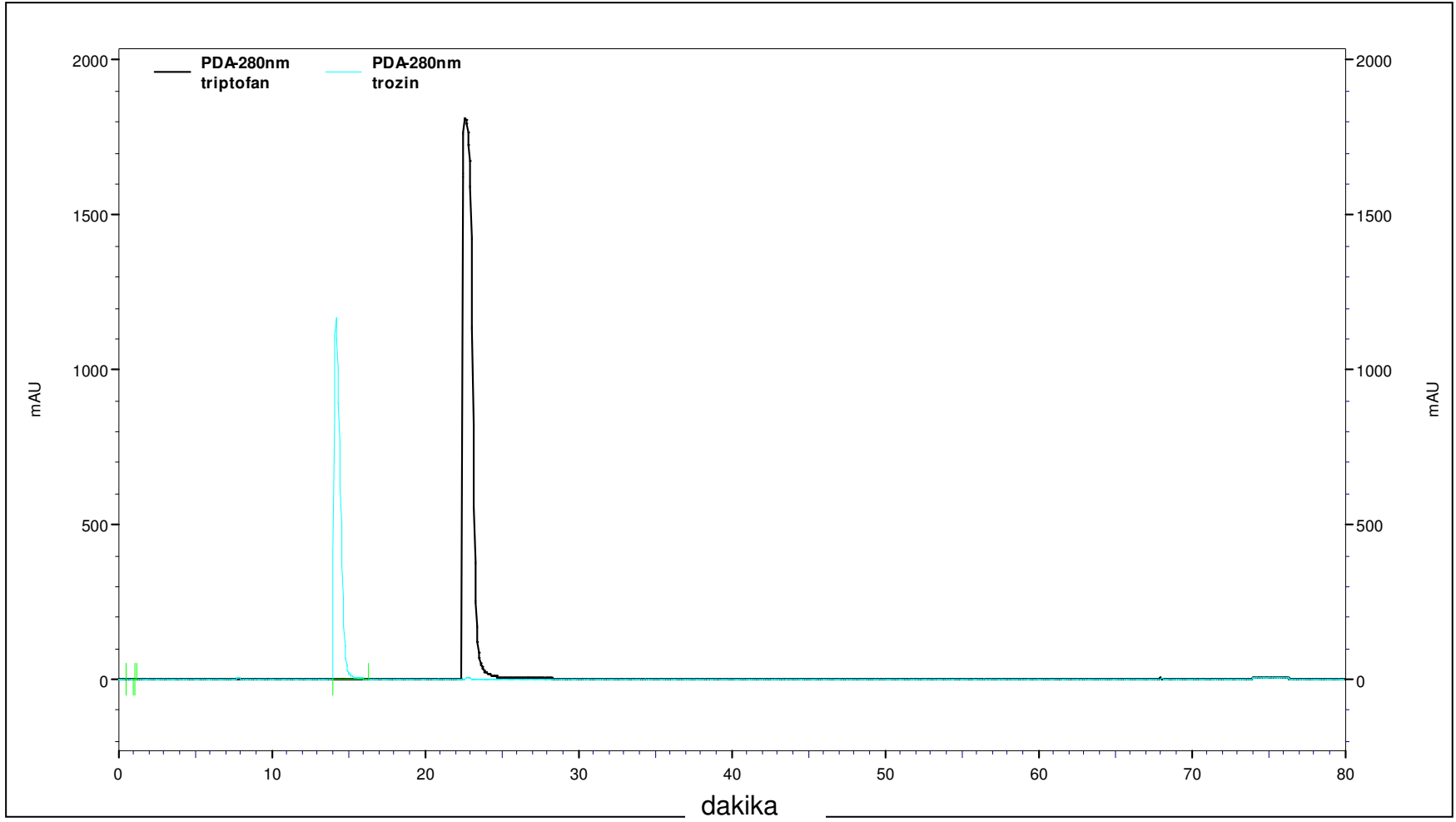
Sütün içerdiği doğal proteinazlar ve bakteriyal proteinazların süt proteinlerine etkisi farklı bölgelerden olmakta ve sonuçta proteoliz ürünleri de değişmektedir. Bakteriyal proteinazlar daha çok hidrofilik yapıda ve küçük molekül yapısına sahip proteoliz ürünleri oluşturmakta, plazmin ve diğer süt proteinazları ise daha hidrofobik yapıda peptidler açığa çıkarmaktadırlar. Lopez-Fandino ve arkadaşları (1993a), plazmin aktivitesi sonucu oluşan peptidlerin, daha hidrofobik karakterde olduklarından RP-HPLC yöntemi ile analizde kolondan daha geç çıktıklarını ve serum proteinlerinden önce pik verdiklerini; psikrotrof bakteri enzimlerinin oluşturduğu peptidlerin ise, daha hidrofilik olmaları sonucu kromatogramın başlarında pik verdiklerini bildirmiştir. Bu nedenle araştırmacılar 16.-22. ve 22.-31. dakikalar arasında pik veren parçalanma ürünlerini, sırasıyla bakteriyal proteinazlar ve plazmin ile ilişkilendirmişlerdir.

Triptofan en hidrofobik amino asitlerden biridir. RP-HPLC kromatogramlarında triptofan pikinden sonrası hidrofobik bölge, öncesi ise hidrofilik bölge olarak nitelendirilmektedir (Gomez et al., 1997; Topçu, 2004, Numanoğlu, 2006). Numanoğlu (2006), serbest amino asitler ile hidrofilik peptidlerin geldikleri noktayı ayırmak için tirozin amino asitini kullanmış, tirozin pikinden öncesini serbest amino asitlerin, tirozin ve triptofan pikleri arasını ise hidrofilik peptidlerin bölgesi olarak tanımlamıştır. Çalışmamızda da tirozin ve triptofan belirleyici pikler olarak seçilmiş; tirozin ve triptofan pikleri arasında kalan bölge hidrofilik yani bakteriyal proteinazların aktivitesi sonucu oluşan peptidlerin; triptofan pikinden serum proteinlerine kadar olan bölge de süt proteinazlarının aktivitesi sonucu oluşan peptidlerin göstergesi olarak kullanılmıştır. Şekil 4.16'da tirozin ve triptofanın RP-HPLC yöntemiyle elde edilen kromatogramları verilmektedir.

UHT süt örneklerinin, her 15 günde bir RP-HPLC yöntemiyle proteoliz süreci incelenmiştir. Elde edilen kromatogramlar Ek 4'te (Ek 4.1-4.9) verilmektedir. Uygulanan basınç ve depolama sıcaklığı kombinasyonunda raf ömrü boyunca gelişen proteolizin net bir şekilde izlenebilmesi için 30., 60., 90. ve 120. gün analizleri tek kromatogramda verilmiştir.

Kromatogramlar incelendiğinde, farklı basınçlar arasında pek fark bulunmazken, genelde farklı sıcaklıklarda depolanan örneklerde gruplaşmalar göze çarpmaktadır.

10°C'de depolanan örneklerin raf ömrü süresince hidrofilik ve hidrofobik bölgede gelen piklerin sayı ve alanlarında bir değişim gözlenmemektedir. 20°C'de depolanan örneklerin hidrofobik bölgelerinde yer alan piklerin sayı ve alanlarında çok hafif bir artış olmuştur. 40°C'de depolanan örneklerde ise, hem hidrofilik hem hidrofobik bölgede, raf ömrünün sonuna doğru pik sayısı ve alanlarında belirgin bir artış olmuştur. Bu sonuç, hem bakteriyal proteinazların hem de süt kaynaklı proteinazların 40°C'de daha ileri bir aktivite göstererek proteolize devam etmeleri ve hidroliz sonucu proteinlerin peptidlere indirgendiğini göstermektedir.



Şekil 4.16 Tirozin ve triptofana ait HPLC kromatogramları

4.1.12. Duyusal değerlendirme

Çiğ süt, sağlık açısından güvenilir ve uzun bir raf ömrüne sahip olabilmesi için, ısı işlem uygulanması gerekli olan bir üründür. Ancak ısı işlem uygulamaları ürüne istenen bu özellikleri kazandırmalarının yanısıra, ürünün organoleptik özelliklerinde pişmiş tat-koku, esmer renk oluşumu gibi istenmeyen değişimlere de neden olabilmektedirler. UHT işleminde yüksek sıcaklıklara çıkılmasına rağmen, uygulanan süre oldukça kısa olduğu için ürünün organoleptik ve nutrisyonel özelliklerindeki değişim en aza indirgenmektedir.

UHT sütlerde, 120 gün boyunca deneyimli 5 panelist tarafından, her 15 günde bir düzenli olarak yapılan duyusal muayenelerin sonucunda görünüş, renk, koku, tat, acılık ve jelleşme parametreleri bakımından incelenen sütlere ait puanların ortalamaları standart sapma değerleri ile birlikte ilgili çizelgelerde verilmektedir.

4.1.12.1. Görünüş

Yapılan duyusal muayene sonucunda, 40°C'de depolanan örneklerin görünüş puanlarının özellikle raf ömrünün 60. günüyle birlikte ciddi bir düşüş yaşadığı ve bu düşüşün örneklerin özellikle renklerdeki esmerleşmeden kaynaklandığı saptanmıştır. Alınan sonuçları, örneklerin renk ölçüm sonuçları da (Bölüm 4.1.8) net bir şekilde desteklemektedir. Diğer sıcaklıklarda depolanan örneklerin raf ömrü süresince görünüş değerlerinde çok hafif dalgalanmaların olduğu, ancak son tüketim tarihi olan 120. günde bile görünüş açısından hala kabul edilebilir durumda oldukları, 40°C'de depolanan örneklerin ise raf ömrünün 60. gününden itibaren görünüş açısından kabul edilebilirliklerinin düştüğü ve raf ömrünün sonunda, 175 ve 200 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örneklerin en düşük görünüş puanlarını aldığı saptanmıştır. Görünüş puanları ile ilgili sonuçlar Çizelge 4.20'de verilmektedir. 150 barda homojenize edilen örneklerin, raf ömrünün sonunda diğer basınçlarda işlem görenlerden daha yüksek görünüş puanları almasının nedeni esmerleşme reaksiyonunun bu örneklerde daha az olmasıdır. Bunun nedeninin ise, Bölüm 4.1.8'de değinildiği gibi, bu örneklerde özellikle serum proteinlerinde daha az denatürasyon oluşması ve laktozla reaksiyona girerek esmerleşme ürünlerini oluşturacak daha az miktarda amino yan grubunun açığa çıkması olduğu düşünülmektedir.

Görünüş değerlerini etkileyen bir başka parametre ise, UHT süt kutularının iç çeperlerinde görülen sedimentasyona bağlı problem varlığıdır. Sedimentasyon sorununa, direkt sistemle üretilen sütlerde, indirekt sistemle üretilen sütlere göre daha çok rastlanmaktadır. Bunun nedeninin, indirekt sistemle üretilen sütlerde, sıcaklığın etkisiyle denatüre olan serum proteinlerinin teknoloji gereği üründen ayrılıp, son üründe daha az sediment oluşturmalarının olduğu bildirilmektedir (Datta et al., 2002).

Çizelge 4.20 UHT sütlere ait ortalama görünüş puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
15	4.0±0.0	3.8±0.3	3.5±0.5	3.8±0.3	3.8±0.3	3.5±0.5	3.8±0.3	3.8±0.3	3.2±0.3
30	4.0±0.0	3.7±0.3	3.3±0.6	3.7±0.3	3.7±0.3	3.3±0.6	4.0±0.0	3.7±0.3	3.3±0.6
45	4.0±0.0	4.0±0.0	3.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	2.7±0.6	3.8±0.3	3.5±0.0	2.7±0.6
60	3.7±0.3	3.3±0.6	2.0±0.9	3.3±0.3	3.3±0.3	2.0±0.9	3.3±0.3	3.0±0.0	1.7±0.6
75	3.3±0.6	2.5±0.0	1.3±0.3	3.3±0.6	2.5±0.0	1.3±0.3	3.3±0.6	2.5±0.0	1.3±0.3
90	3.7±0.6	3.3±1.2	2.0±0.9	3.3±0.6	3.3±0.6	2.0±0.0	3.3±0.6	3.3±0.6	2.0±0.0
105	3.7±0.6	3.7±0.3	2.0±0.0	4.0±0.0	3.5±0.5	2.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6	1.8±0.3
120	3.7±0.3	3.3±0.6	1.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	1.2±0.3	3.7±0.3	3.0±0.9	1.2±0.3

Çizelge 4.21 UHT sütlere ait ortalama kıvam puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.5±0.5	3.5±0.5	3.5±0.5	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3
15	3.8±0.3	3.8±0.3	3.5±0.5	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	4.0±0.0
30	3.5±0.0	3.0±0.9	3.0±0.9	3.5±0.0	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.0±0.9
45	3.7±0.3	3.3±0.3	3.7±0.3	3.5±0.0	3.7±0.3	4.0±0.0	3.3±0.3	3.7±0.3	3.3±0.3
60	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
75	3.7±0.3	3.5±0.0	3.2±0.3	3.5±0.0	3.5±0.0	3.2±0.3	3.5±0.0	3.5±0.0	3.2±0.3
90	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6	3.7±0.6	3.5±0.5	2.8±1.3	3.7±0.6	3.5±0.5	2.8±1.3
105	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±0.6	3.3±0.6	4.0±0.0	3.3±0.6	4.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6
120	3.7±0.3	3.3±0.6	2.3±1.4	3.3±0.6	3.3±0.6	3.0±0.9	3.7±0.3	3.3±0.6	2.7±1.2

4.1.12.2. Kıvam

Duyusal muayene sonucunda, üretilen bütün sütlerin raf ömürleri süresince normal süt akışkanlıklarını korudukları belirlenmiştir. Bu parametreye ilişkin sonuçlar Çizelge 4.21'de verilmektedir. 40°C'de depolanan örneklerin kıvamlarında raf ömrünün ilerlemesiyle azalma olduğu panelistler tarafından belirlenmiş, ancak bu azalmanın kabul edilebilir ölçekte olduğu da belirtilmiştir. Duyusal değerlendirme ile saptanan bu azalma, örneklerin viskozite ölçüm sonuçlarıyla (Bölüm 4.1.7) da birbirini desteklemektedir.

4.1.12.3. Renk

UHT sütlere panelistler tarafından verilen renk puanı ortalamaları Çizelge 4.22'de verilmektedir. Direkt sistemle üretilen sütlerin renginin, indirekt sistemle üretilen UHT sütlere, şişe içinde sterilizasyon yapılarak üretilen sütlere veya pastörize sütlere oranla daha parlak ve beyaza yakın olduğu bilinmektedir. Bunun bir nedeninin, direkt UHT işleminde buharın sütün içine enjekte edilmesiyle, sütün seyrelmesi ve ısı işleme dayanıksız olan süt bileşenlerinin konsantrasyonlarının azalması olduğu bildirilmektedir (Claeys et al., 2002).

Raf ömrü sonunda, 10°C'de depolanan süt örneklerinin porselen beyazı renklerini korudukları, 20°C'de depolanan süt örneklerinin renklerinin porselen beyazından krem beyaza doğru değiştiği saptanmış ve renk açısından bu örneklerin hala kabul edilebilir durumda oldukları panelistlerce bildirilmiştir. 40°C'de depolanan süt örneklerinde ise, pembeden esmere doğru değişen bir renk algılanması sonucunda, renk açısından raf ömürlerinin 60. gününden itibaren kabul edilemez durumda oldukları belirlenmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarını, kolorimetreden alınan sonuçlar (Bölüm 4.1.8) da desteklemektedir. Sütün esmerleşmesinde başlıca etkenin, Maillard reaksiyonu sonucunda oluşan hidroksimetilfurfural (HMF) gibi ürünler olduğu bilinmektedir. Akalın ve Gönç (1997), 30°C'de depolanan UHT sütlerin HMF miktarlarında depolama süresince artış gözlemiştir; oda sıcaklığında depolanan sütlerde HMF miktarının sabit kaldığını bildirmiştir. Alınan sonuçlar, bu çalışmanın sonuçlarıyla da uyum içindedir.

Çizelge 4.22 UHT sütlere ait ortalama renk puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	3.2±0.3	3.2±0.3	3.2±0.3
15	4.0±0.0	3.3±0.6	2.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	2.7±0.6	3.5±0.5	3.5±0.5	2.5±0.5
30	3.7±0.3	3.7±0.3	2.7±0.6	3.7±0.3	3.7±0.3	2.3±0.3	4.0±0.0	3.7±0.3	2.7±0.6
45	3.7±0.3	3.3±0.6	2.8±0.3	3.3±0.6	3.7±0.3	2.3±0.3	3.8±0.3	2.7±0.6	2.3±1.2
60	3.7±0.3	3.0±0.0	2.0±0.9	3.3±0.3	3.3±0.3	1.0±0.0	3.7±0.6	3.0±0.0	1.0±0.0
75	3.0±0.0	1.8±0.3	1.5±0.0	3.0±0.0	1.8±0.3	1.5±0.0	3.0±0.0	1.8±0.3	1.5±0.0
90	3.7±0.6	2.3±1.2	1.7±0.8	3.7±0.6	3.0±0.0	1.0±0.0	3.3±0.6	3.0±0.0	1.8±0.8
105	3.7±0.6	4.0±0.0	1.2±0.3	4.0±0.0	3.3±0.6	1.0±0.0	4.0±0.0	3.0±0.0	1.3±0.3
120	3.7±0.3	3.0±0.0	1.0±0.0	3.7±0.3	3.0±0.0	1.0±0.0	3.7±0.3	2.7±0.3	1.0±0.0

Çizelge 4.23 UHT sütlere ait ortalama koku puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.3±1.2	3.3±1.2	3.3±1.2	3.2±1.0	3.2±1.0	3.2±1.0	3.2±1.0	3.2±1.0	3.2±1.0
15	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	4.0±0.0	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3	3.7±0.6
30	3.7±0.3	3.0±0.9	3.7±0.3	3.0±0.9	3.3±0.6	3.3±0.6	3.7±0.3	3.7±0.3	4.0±0.0
45	4.0±0.0	4.0±0.0	3.0±0.9	3.5±0.9	4.0±0.0	3.3±0.6	3.5±0.0	3.7±0.3	4.0±0.0
60	3.7±0.3	3.7±0.3	2.0±0.0	3.3±0.3	3.0±0.0	1.7±0.3	4.0±0.0	3.0±0.0	2.0±0.0
75	3.5±0.0	3.5±0.0	2.5±0.9	3.5±0.0	3.5±0.0	1.8±0.3	2.8±1.2	1.8±0.3	1.2±0.3
90	4.0±0.0	3.3±1.2	2.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6	1.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	2.0±0.0
105	4.0±0.0	3.2±0.3	2.0±0.0	3.3±0.6	3.3±0.6	2.0±0.0	4.0±0.0	3.0±0.0	2.0±0.0
120	3.0±0.9	3.0±0.0	1.3±0.6	3.0±0.9	3.0±0.9	1.3±0.6	3.0±0.9	2.3±0.3	1.3±0.6

Yapılan bir başka araştırmada, farklı yörelerden sağlanan çiğ sütler, UHT süt üretiminde kullanılmış ve üretilen UHT sütler 20 ve 40°C olmak üzere iki farklı depolama sıcaklığında raf ömürleri boyunca depolanmıştır. Araştırma sonuçlarında 40°C'de depolanan örneklerde 20°C'de depolanan örneklerle oranla daha kısa zamanda, daha ileri bir esmerleşmenin gözlendiği bildirilmiştir (Numanoğlu, 2006).

4.1.12.4. Koku

UHT sütlere panelistler tarafından verilen koku puanı ortalamaları izelge 4.23'de verilmektedir. 60. günden itibaren 40°C'de depolanan örneklerin kokularında pişmiş süt kokusuyla kendini gösteren bir değişim saptanmıştır. 75. gün analizlerinde panelistler tarafından, 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 40°C'de depolanan örneklerin en kusurlu kokuya sahip olduğu bildirilmiştir. 75. günden itibaren 40°C'de depolanan bütün örneklerin kokularında pişmiş süt kokusundan, raf ömrünün ilerleyen günlerinde yabancı koku oluşumuna kadar giden bir farklılaşmanın olduğu saptanmıştır. Kokuda oluşan bu değişimin, ilerleyen proteoliz ve Maillard reaksiyonu sonucu oluşan bir takım ana metabolitler ve bunların parçalanma ürünlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Valero ve arkadaşları (2001), UHT sütün tat-koku özellikleri ve depolama sırasında oluşan değişimler üzerine yaptıkları bir araştırmada, sütün doğal yapısında bulunan ve UHT işlemi sırasında oluşan birtakım bileşenlerin yanısıra, raf ömrünün 60. gününden itibaren yeni bileşenlerin oluştuğunu ve bunların furan türevleri (zellikle hidrokarbonlar), furfural, benzaldehid, stiren, alkoller (zellikle pentanol ve hekzanol), btanal, hekzanal, iz miktarda serbest asit (asetik ve bütirik) gibi uçucu özellik taşıyan maddeler olduğunu saptamışlardır. Hekzanal miktarındaki artışın, doymamış yağ asitlerinin oksidasyonu sonucu olduğu; furfuralların Maillard reaksiyonu sonucu oluştuğu, metilbutanalların enzimlerin izolösin ve lsini parçalamasıyla meydana geldiği, benzaldehidin fenilalaninden oluştuğu, alkollerin ise aldehidlerin indirgenmesi sonucu oluştuğu ne sürülmüştür (Valero et al., 2001).

4.1.12.5. Tat

UHT süt örneklerinin tat muayenesi sonuçları izelge 4.24'de verilmektedir. Raf ömrünün 45.gününe kadar, bütün örneklerin tat puanları normal süt tadına denk gelen 3-4 puan arasında kalmış ancak, 60. günden itibaren 40°C'de depolanan örneklerde yabancı tat gelişimi belirgin düzeye gelmiştir. Panelistler, oluşan bu tatları 75. güne kadar "karamel tadı", "şeker katılmış kadar tatlı" şeklinde; 75. günden sonraki muayenelerde ise "kusurlu tat", "tuzlu ve metalik tat" olarak tanımlamışlardır. 75. güne kadar panelistler tarafından saptanan "şekerli tat", Celestino ve arkadaşları (1997) tarafından da 3°C ve 25°C'de depolanan UHT süt örneklerinde, raf ömürlerinin birinci ve ikinci ayları arasında tespit edilmiştir. şekerli tadın, pişmiş tadın dağılmasıyla belirlediği bildirilmektedir.

Raf ömrünün ileri günlerinde yabancı tat oluşumu daha da ilerlemiş ve sütlerde reolojik olarak herhangi bir değişim bulunmamasına rağmen, tat açısından normal süt kriterlerinde tktilemez duruma gelmişlerdir. Bunun nedeninin, 40°C'de depolama sırasında ilerleyen proteoliz ve Maillard reaksiyonları sonucunda oluşan ara ürünler ve bunların parçalanma ürünleri olduğu düşünülmektedir. Proteolitik aktivite sonucu gelişen acılık, lipolitik aktivite sonucu açığa çıkan serbest yağ asitleri ve Maillard reaksiyonu rnleri UHT sütün duyusal açıdan kabul edilebilirliğini düşüren, dolayısıyla raf ömrünü sınırlayan parametrelerdendir. Renner (1988), 7°C'de depolanan UHT süt örneklerinde tat-koku özelliklerinin, 16 hafta süresince kabul edilir durumda olduğu ve örneklerin duyusal muayeneden yüksek puanlar aldıklarını bildirmiştir. Araştırmacı, oda sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda depolanan UHT süt örneklerinde, özellikle alifatik aldehidlerin oluşması sonucu toplam kabul edilebilirlikte bir düşmenin olduğunu da saptamıştır. Alınan bu sonuçlar, çalışmamızın sonuçlarıyla da uyum içinde bulunmuştur.

Çizelge 4.24 UHT sütlere ait ortalama tat puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.3	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	3.3±0.3	3.3±0.3	3.3±0.3
15	4.0±0.0	4.0±0.0	2.7±0.6	3.5±0.9	3.7±0.3	3.0±0.9	3.7±0.3	3.7±0.6	2.5±0.5
30	4.0±0.0	3.3±0.3	3.3±0.3	3.5±0.0	3.7±0.3	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.3
45	3.3±0.3	3.3±0.3	3.0±0.9	3.7±0.3	3.7±0.3	3.2±0.3	3.3±0.3	3.3±0.3	3.7±0.3
60	3.7±0.3	3.7±0.3	1.3±0.6	3.7±0.3	3.0±0.9	1.0±0.0	3.5±0.0	2.5±0.9	1.7±0.6
75	3.5±0.0	3.0±0.9	1.3±0.6	3.0±0.9	2.7±0.6	1.0±0.0	2.3±1.2	1.7±0.6	1.0±0.0
90	3.7±0.6	2.8±1.6	1.0±0.0	4.0±0.0	3.8±0.3	1.0±0.0	3.3±0.6	3.0±0.0	1.0±0.0
105	3.3±0.6	4.0±0.0	1.0±0.0	3.2±1.0	2.7±1.2	1.2±0.3	2.3±0.6	2.3±0.6	1.2±0.3
120	2.7±1.2	2.2±1.2	1.0±0.0	2.7±0.3	2.3±0.6	1.3±0.6	3.2±0.3	2.8±0.3	1.3±0.6

Çizelge 4.25 UHT sütlere ait acılık puanları

Ölçüm günü	150 bar			175 bar			200 bar		
	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C	10°C	20°C	40°C
1	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0
15	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.8±0.3	4.0±0.0	3.8±0.3	3.8±0.3	3.8±0.3
30	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.8±0.3	3.3±0.6	3.7±0.3	3.3±0.6	3.7±0.3
45	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.3
60	4.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6	4.0±0.0	4.0±0.0	3.8±0.3	4.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6
75	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.7±0.6	3.7±0.6	3.7±0.6	4.0±0.0
90	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6	3.3±0.6
105	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±0.6	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±0.6	4.0±0.0	4.0±0.0	3.3±0.6
120	4.0±0.0	4.0±0.0	3.0±0.0	4.0±0.0	4.0±0.0	2.3±0.6	3.7±0.6	4.0±0.0	2.7±1.2

4.1.12.6. Acılık

Raf ömrü boyunca UHT sütlerde acılık algılanıp algılanmadığı da düzenli olarak takip edilmiş ve sütlerin bu kritere göre aldıkları puanlar Çizelge 4.25'de verilmiştir. Değerlendirmede en yüksek puan 4 olup, acılığın bulunmadığı anlamına gelmektedir (Ek 2). Panelistler 150 ve 175 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilip, 10 ve 20°C'de depolanan UHT sütlerde raf ömrü süresince acılık algılamamış, bunların dışında kalan sütlerde ise özellikle 175 ve 200 barda homojenizasyon işlemi yapıp 40°C'de depolanan örneklerde raf ömrünün sonlarına doğru belirginleşen bir acılaşıma saptamışlardır. Özellikle raf ömrünün ilerlemesiyle algılanan bu acılığın, proteolitik enzimlerin kazeini çeşitli şekillerde hidroliz etmesi sonucu oluşan hidrofobik peptidlerden kaynaklandığı şeklinde yorumlanmıştır. 40°C'de depolanan örneklerin diğer örneklere oranla daha çok proteolize uğradığı bulgusu, pH 4.6'da çözünür azot, RP-HPLC ve elektroforez sonuçlarıyla da doğrulanmaktadır.

Direkt sistemle üretilen UHT sütlerde, proteolizin acılıkla doğrudan ilişkisi olduğu bildirilmektedir (McKellar et al., 1984; Sørhaug and Stepaniak, 1997; Datta et al., 2002).

4.1.12.7. Jelleşme

Raf ömrü süresince örneklerin jelleşme durumları hem duyu muayene ile hem de viskozite değerlerindeki değişimin kontrolü ile gözlem altında tutulmuştur. Üretilen bütün UHT süt örneklerinde, üreticinin verdiği raf ömrü olan 120 gün boyunca herhangi bir jelleşmeye rastlanmamıştır. Ancak, raf ömrünün aşılmış olduğu 140. günde yeni kutular açılarak jelleşme kontrolü yapıldığında, 10°C'de depolanan bütün örneklerin jelleştiği görülmüştür. 150 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilip 10°C'de saklanan örneklerde jelleşmenin serum ayırımına kadar gittiği, 175 ve 200 barda üretilip 10°C'de depolanan örneklerde ise yer yer pıhtılaşmanın görüldüğü ancak serum ayırımının olmadığı tespit edilmiştir. 40°C'de depolanan bütün örneklerin viskozitelerinde ani bir düşüşün olduğu görülmüştür. 20°C'de depolanan örneklerin viskozite değerleri ise, hafif bir azalmayla hemen hemen aynı kalmıştır. 160. günde yeni kutular açılarak jelleşme kontrolü yapıldığında, 40°C'de depolanan bütün örneklerde ciddi bir koagülasyon ve faz ayrımı görülmüş, 20°C'de depolanan

örneklerde ise serum ayrımı olmamasına rağmen yer yer pıhtı oluşumu ile kendini belli eden jelleşme saptanmıştır.

Jelleşmenin görülmesinde, daha çok depolama sıcaklığı etkili olmuş ve UHT süt örneklerinde jelleşme sırası $10^{\circ}\text{C} > 40^{\circ}\text{C} > 20^{\circ}\text{C}$ olarak saptanmıştır. Bu sıcaklıklarda depolanan örneklerde oluşan jellerin yapılarında da farklılıklar görülmüş; 40°C 'de depolanan örneklerde direkt bir koagülasyon ve üstte serum ayrımı saptanırken, 10 ve 20°C 'lerde depolanan örneklerde süt bütünlüğünü korumuş, ancak sürekli faz içinde yer yer pıhtıların bulunduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçtan, depolama sıcaklığının UHT sütle farklı mekanizmalarla ve hızlarda jel oluşumuna neden olduğu öne sürülebilmektedir. Bu konuda yapılan değerlendirmelere Bölüm 5. Tartışma ve Yorum'da yer verilmiştir.

4.2. Yapay Sinir Ağı Uygulaması

Yapay Sinir Ağı yöntemi, veri setleri ile eğitilebilmesi ve eğitim setinde olmayan diğer verileri tahmin etmedeki başarısı nedeniyle, uygulamada gerçekleştirilmesi zor olan ve çoklu noktalarda veri toplanması mümkün olmayan süreçlerde, çalışılmamış parametrelerin yol açacağı değişimleri tahmin etmede yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu çalışmada; homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı ve raf ömrü değişkenlerinin direkt etkilediği ve jelleşmeyi doğrudan ortaya koyabilen parametrelerden biri olan viskozite verileri, yapay sinir ağı yönteminin uygulanmasında kullanılmak için seçilmiştir.

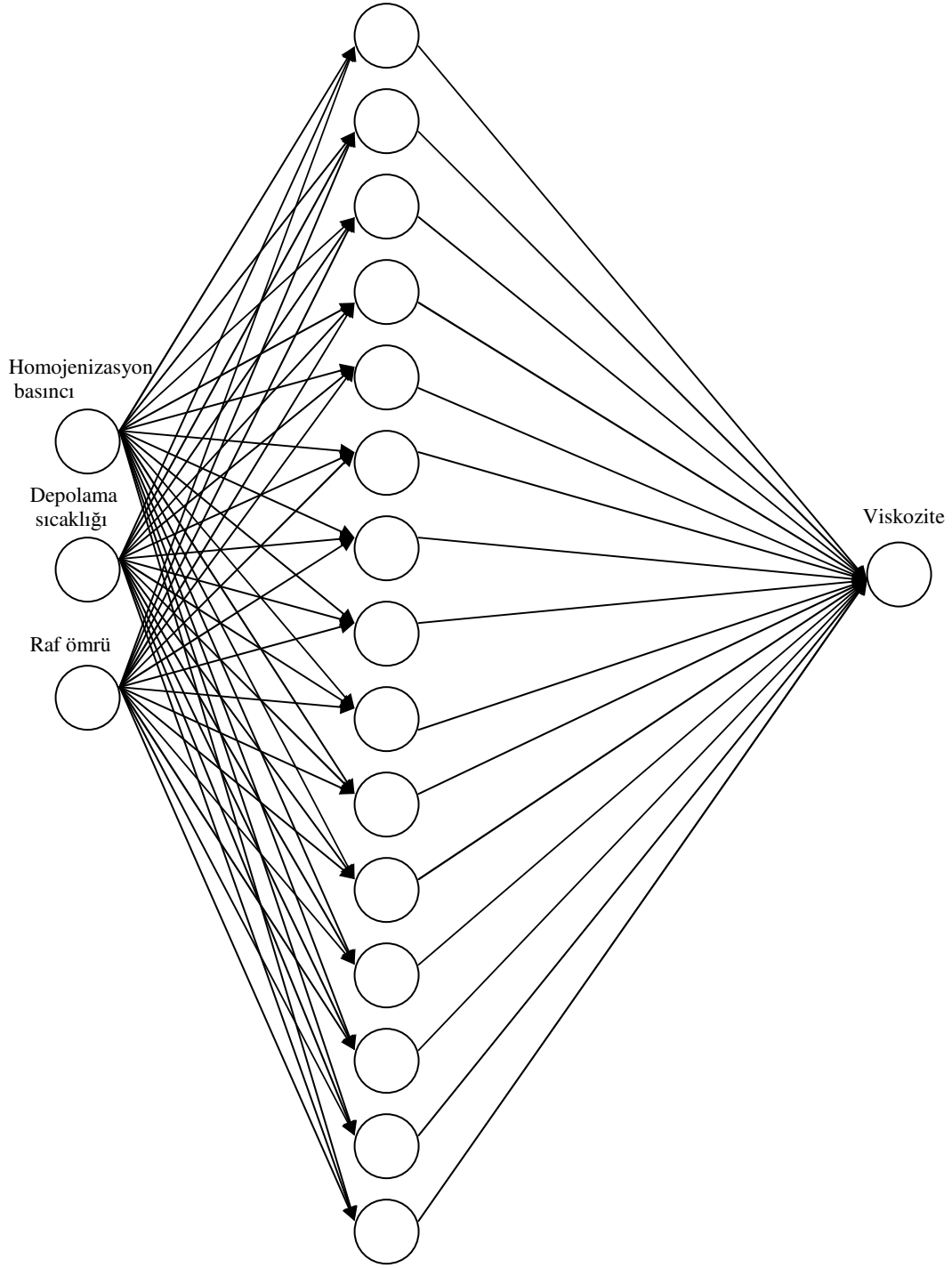
Yazılımı geliştirilen çok katmanlı ileri beslemeli geri yayınlı yapay sinir ağı modelinde, giriş katmanı için üç sinir, çıkış katmanı için ise bir sinir kullanılmıştır. Bu seçim tamamen problemin yapısıyla ilişkili olup, giriş katmanındaki üç sinir, homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı ve zaman (raf ömrü) değerlerini, çıkış katmanındaki bir sinir ise viskozite değerlerini temsil etmektedir. En iyi sonucu verecek gizli katman sayısı ve gizli katmanlardaki sinir sayısı ise deneme-yanılma yoluyla belirlenmiştir. Uygulama sırasında sinir sayısının fazlalığı hem hafıza, hem işlemci yükünü arttıracığından mümkün olduğu kadar az düğüm kullanmak amaçlanmıştır. Gereğinden az sayıda gizli katman siniri kullanmak ise ağın dönüşümünü gerçekleştirmesini engellemektedir. Aynı şekilde, sinir sayısının çok fazla olduğu durumlarda ağ gerekli dönüşümü ve ilişkilendirmeyi yapmayı başaramamaktadır. Bunun en önemli nedeni, kullanılan veri sayısının ağın tüm ara bağlantı ağırlıklarını tam olarak bulmasına yetmemesi ve bu olayın ağı kırılğan bir yapıya dönüştürmesidir. Yani, gizli katman sayısının ve gizli katmandaki sinir sayısının gereğinden fazla tutulması, sistemin esnekliğini dolayısı ile genelleme yeteneğini kaybetmesine yol açmaktadır. Bu durum, sistemin verileri ezberlemesine de yol açmakta ve test verileriyle karşılaştığında hatalı sonuçlar üretmesine neden olmaktadır.

Verilere ağa verilmeden önce normalizasyon uygulanması, önemli bir noktayı oluşturmaktadır. Gizli katman sinirlerinde kullanılan Gaussian fonksiyonu 0 ile 1 aralığında sonuç üretmektedir. Ağın hassas sonuçlar üretebilmesi için, girdi değerleri

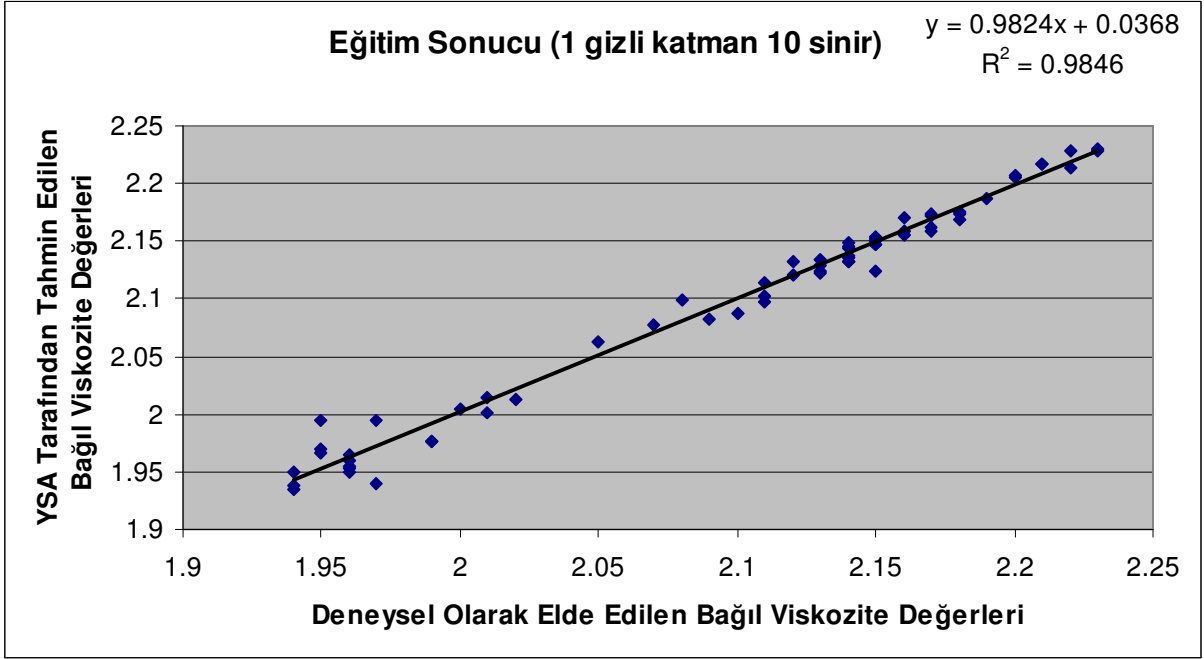
normalize edilerek veriler arasındaki fark azaltılır. Bunun için eldeki verilerin en yüksek değerli olanına 1 değeri atanarak, diğer verilerin buna göre normalizasyonu sağlanmıştır. Ağın gerek eğitim, gerekse test işlemleri normalize edilmiş değerler ile yapıldıktan sonra, üretilen çıktılar denormalizasyon işlemiyle yine gerçek değerlerine dönüştürülmüşlerdir.

Çalışma kapsamında, tek gizli katman ve farklı gizli katman sinir sayılarından oluşan üç katmanlı ağ mimarileri denenmiştir. Örnek ağ mimari tasarımı Şekil 4.17'de verilmektedir.

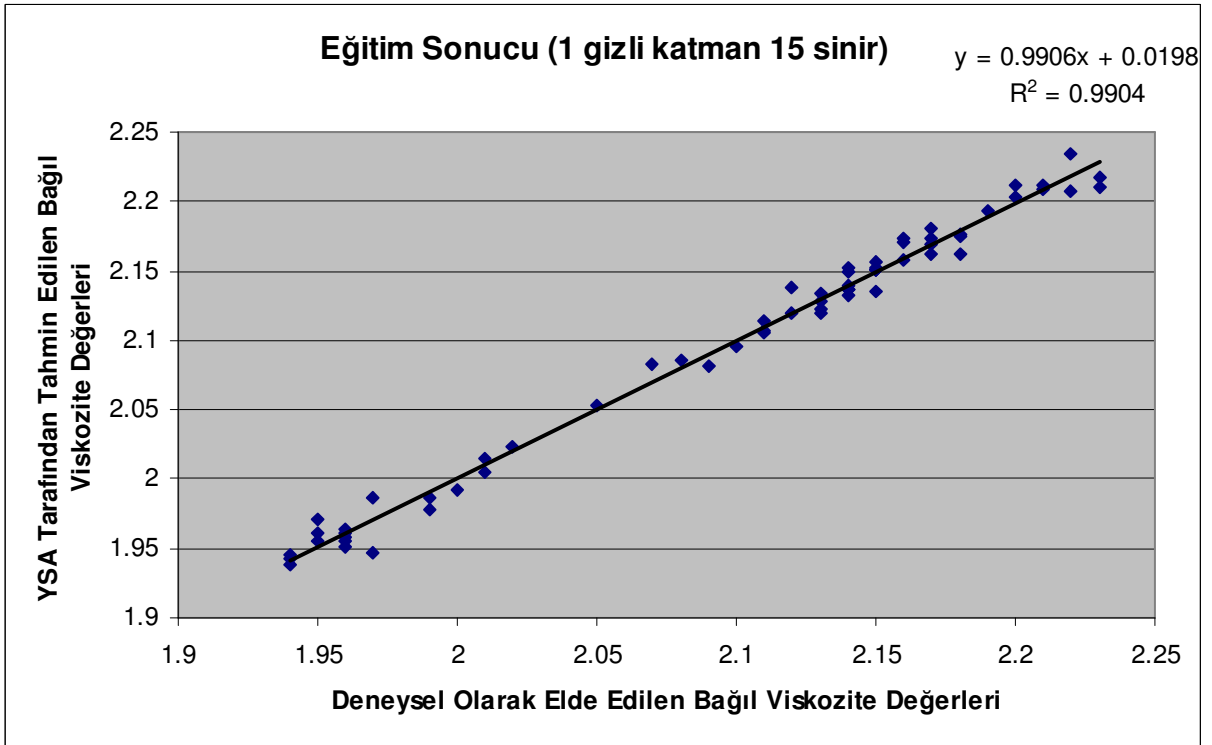
Elde edilen toplam 81 adet viskozite verisinin rastgele 65 adedi Yapay Sinir Ağının eğitiminde kullanılmıştır. Veriler ağa verilerek, ağın bağlantı ağırlıklarını verilere göre güncellemesi, yani eğitimi sağlanmıştır. Bundan sonraki aşamada ağın öğrendiği verilere karşı çıktı üretmesi istenmiş ve ağın ürettiği çıktılar gerçek değerleri ile karşılaştırılmıştır. 10 ve 15 gizli katman siniri kullanılarak tasarlanan ağların eğitim sonuçları, sırasıyla Şekil 4.18 ve 4.19'da görülmektedir. Ağ sonuçları Microsoft Office Excel programında grafik haline getirilmiş ve korelasyon katsayıları hesaplatılmıştır.



Şekil 4.17 Çalışmada kullanılan ağ mimarisi



Şekil 4.18 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 10 gizli katman siniri kullanılan ağı eğitim sonuçları



Şekil 4.19 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 15 gizli katman siniri kullanılan ağı eğitim sonuçları

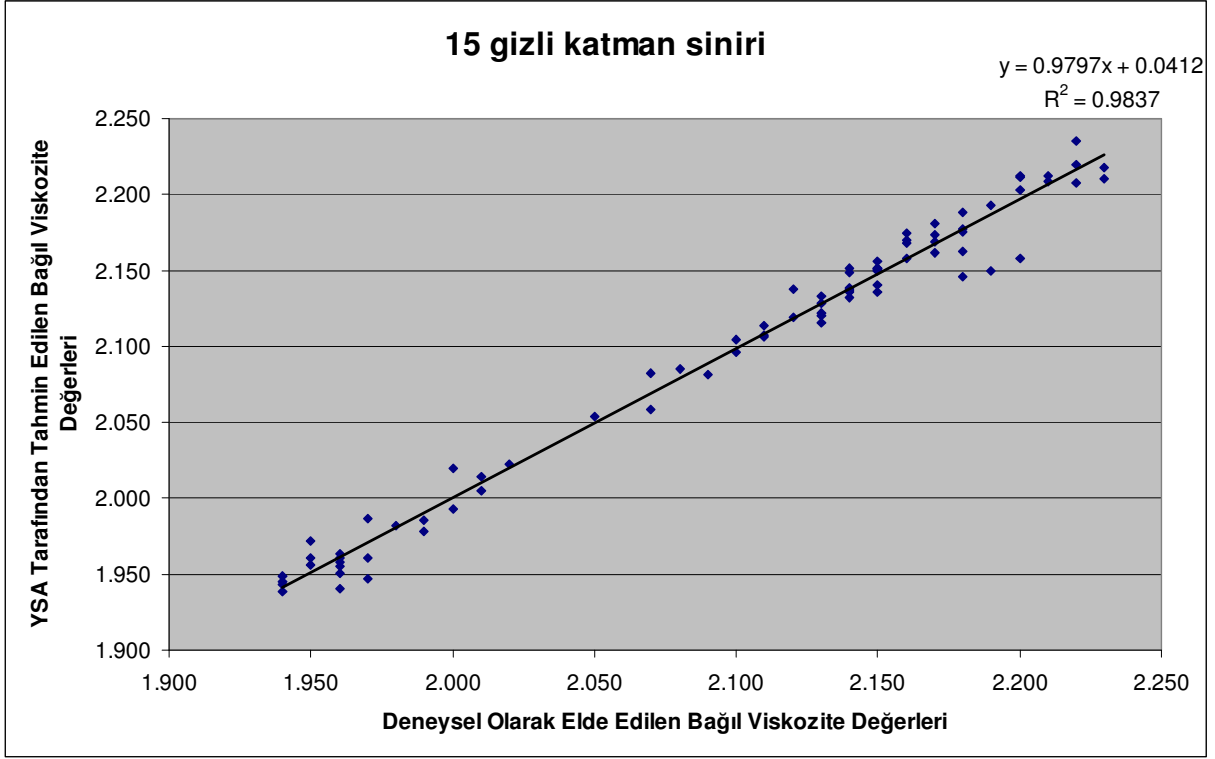
Tek gizli katmanda farklı sinir sayıları içeren ağların ürettiği çıktılarla gerçek değerler arasındaki korelasyon R^2 değerleri, 10 ve 15 sinir içeren ağlar için sırasıyla 0.9846, 0.9904 olarak bulunmuştur. Bu değerler 1 değerine oldukça yakın oldukları için ağların deneysel verileri iyi öğrendiği söylenebilir.

Çalışmanın bundan sonraki aşamasında, öğrenme işlemini başarı ile gerçekleştiren yapay sinir ağlarının test edilmesine geçilerek, daha önce karşılaşmadığı durumlar için doğru tahminler yapıp yapmadığı kontrol edilmiştir. Bunun için, 81 adet viskozite verisinin test için ayrılmış olan rastgele 16 adedi her bir ağa verilmiş ve bu veri topluluğu için sonuç üretmeleri istenmiştir. Yazılımı geliştirilen YSA programının çalıştırılmasıyla gerçek değerlere en yakın sonuç üreten ağın $R^2=0.9837$ değeriyle tek gizli katmanda 15 sinir içeren ağ mimarisi olduğu bulunmuştur. Bu kapsamda, çalışmada kullanılan ağın yapısına ait parametreler aşağıdaki şekilde belirlenmiştir:

Çizelge 4.26 Çalışmada kullanılan YSA modelinin yapısal özellikleri

Ağ yapısı	Çok katmanlı ileri beslemeli
Katman sayısı	3 katmanlı (1 adet gizli katman)
Giriş katmanı sinir sayısı	3
Gizli katman sinir sayısı	15
Çıkış katmanı sinir sayısı	1
Giriş katmanı sinirlerinde kullanılan etkinlik fonksiyonu	Fonksiyon kullanılmamıştır
Gizli katman sinirlerinde kullanılan etkinlik fonksiyonu	Gaussian fonksiyonu $y = e^{-\frac{(x-c)^2}{g}}$
Çıkış katmanı sinirlerinde kullanılan etkinlik fonksiyonu	Lineer
Bağlantı şekli	Tam bağlantı
Öğrenme şekli	Denetimli (Supervised)
Öğrenme katsayısı	0.1

Şekil 4.20 ve Çizelge 4.26'da bu ağa ait sonuçlar verilmektedir.



Şekil 4.20 Gaussian Fonksiyonu ile çalışan tek gizli katman ve 15 gizli katman siniri kullanılan ağıın test sonuçları

Çizelge 4.27 Farklı homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı ve raf ömrü kombinasyonları için, deneysel olarak elde edilen viskozite değerleri ile yapay sinir ağı tarafından tahmin edilen değerlerin karşılaştırılması

Raf Ömrü	Homojenizasyon Basıncı	Depolama Sıcaklığı	Gerçek Değer	Elde Edilen Değer	Mutlak Hata (%)
1	175	10	2.140	2.132	0.367
1	175	20	2.140	2.139	0.052
1	175	40	2.140	2.137	0.124
1	200	10	2.140	2.152	0.549
1	200	20	2.140	2.149	0.409
1	200	40	2.140	2.137	0.140
1	150	10	2.150	2.150	0.003
1	150	20	2.150	2.150	0.001
1	150	40	2.150	2.152	0.081

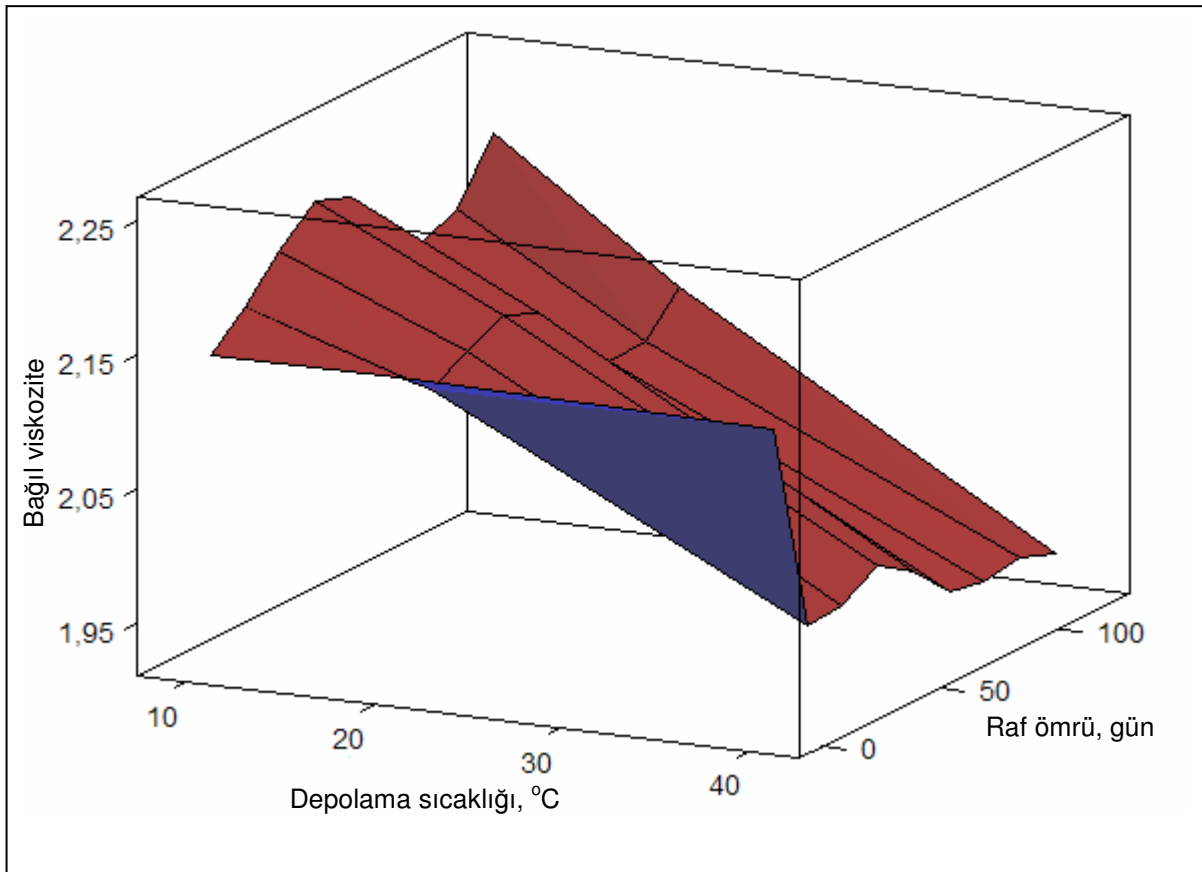
15	150	40	1.950	1.956	0.304
15	175	40	1.980	1.982	0.109
15	200	40	2.010	2.014	0.206
15	150	20	2.130	2.116	0.680
15	175	20	2.130	2.122	0.379
15	200	20	2.150	2.136	0.658
15	150	10	2.160	2.170	0.474
15	175	10	2.180	2.163	0.793
15	200	10	2.180	2.175	0.230
30	150	40	1.940	1.949	0.439
30	175	40	1.990	1.986	0.207
30	200	40	2.000	2.020	0.982
30	175	20	2.120	2.137	0.823
30	150	20	2.130	2.129	0.058
30	200	20	2.150	2.156	0.287
30	150	10	2.180	2.188	0.369
30	175	10	2.190	2.193	0.150
30	200	10	2.200	2.212	0.555
45	150	40	1.990	1.978	0.587
45	175	40	2.010	2.005	0.265
45	200	40	2.020	2.023	0.136
45	150	20	2.140	2.136	0.182
45	175	20	2.150	2.151	0.057
45	200	20	2.180	2.177	0.139
45	150	10	2.200	2.211	0.503
45	175	10	2.220	2.220	0.018
45	200	10	2.220	2.235	0.667
60	150	40	1.950	1.972	1.103
60	175	40	1.970	1.987	0.849
60	200	40	2.000	1.993	0.369
60	150	20	2.130	2.120	0.471
60	175	20	2.150	2.141	0.436
60	200	20	2.160	2.168	0.364
60	150	10	2.220	2.208	0.539
60	175	10	2.230	2.210	0.888

60	200	10	2.230	2.218	0.535
75	200	40	1.960	1.964	0.203
75	150	40	1.970	1.947	1.168
75	175	40	1.970	1.961	0.475
75	150	20	2.070	2.083	0.614
75	175	20	2.110	2.107	0.128
75	200	20	2.130	2.133	0.162
75	150	10	2.160	2.174	0.656
75	175	10	2.170	2.174	0.183
75	200	10	2.170	2.181	0.489
90	150	40	1.940	1.938	0.085
90	175	40	1.960	1.955	0.265
90	200	40	1.960	1.958	0.082
90	150	20	2.050	2.054	0.178
90	175	20	2.090	2.082	0.397
90	200	20	2.110	2.106	0.180
90	150	10	2.180	2.146	1.552
90	175	10	2.190	2.149	1.859
90	200	10	2.200	2.158	1.893
105	150	40	1.940	1.945	0.270
105	175	40	1.950	1.961	0.551
105	200	40	1.960	1.960	0.021
105	150	20	2.070	2.058	0.562
105	175	20	2.080	2.086	0.265
105	200	20	2.100	2.104	0.196
105	150	10	2.160	2.158	0.113
105	175	10	2.170	2.162	0.376
105	200	10	2.170	2.169	0.055
120	150	40	1.940	1.943	0.163
120	175	40	1.960	1.951	0.462
120	200	40	1.960	1.941	0.973
120	150	20	2.100	2.096	0.199
120	175	20	2.110	2.114	0.181
120	200	20	2.120	2.120	0.017
120	200	10	2.200	2.203	0.154

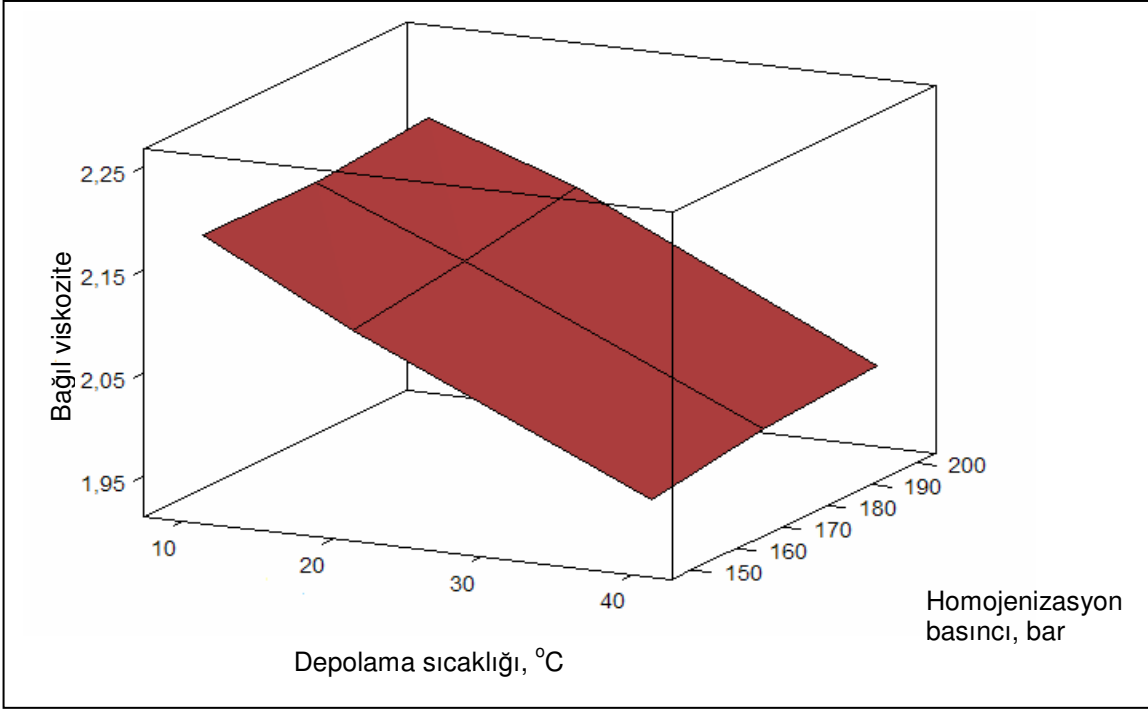
120	150	10	2.210	2.212	0.104
120	175	10	2.210	2.208	0.071

Ağın ürettiği çıktı değerleri ile deneysel olarak elde edilmiş gerçek sonuçlar karşılaştırıldığında, minimum mutlak hata değerinin % 0.001, maksimum mutlak hata değerinin ise % 1.893 olduğu saptanmıştır. Çizelge 4.26'da ayrıntılı olarak verilen sonuçlar incelendiğinde, tasarımı ve yazılımı gerçekleştirilen yapay sinir ağı modelinin oldukça başarılı test sonuçları verdiği görülmektedir. Geliştirilen ağ, bütün veri setinde bulunan verilerin yaklaşık % 25'ini, daha önce hiç görmediği halde % 0.4'lük ortalama hata payı ile doğru tahmin etmekte ve ara noktalarda alınması gereken ölçüm maliyetinden tasarruf edilmesini sağlamaktadır.

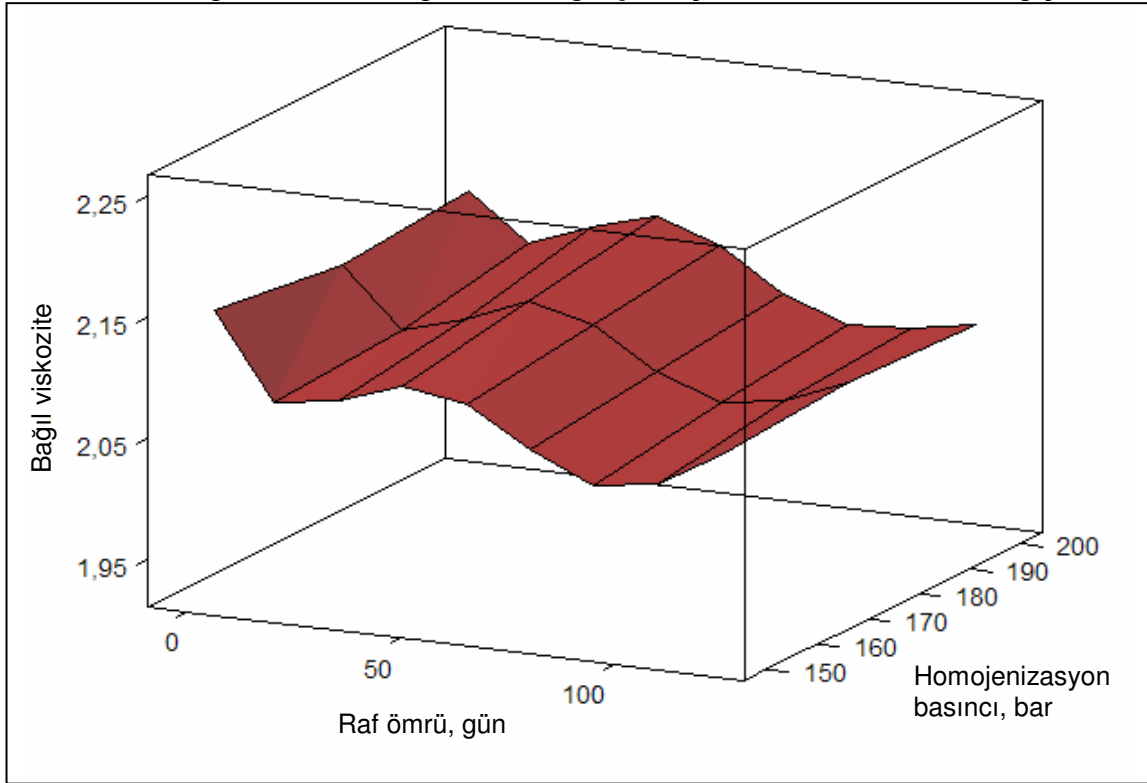
Bu ağın basınç, depolama sıcaklığı ve raf ömrünün değişik noktalarında tahmin ettiği viskozite değerleri Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23'de verilen üç boyutlu yüzey grafiklerinde görülmektedir.



Şekil 4.21 Farklı depolama sıcaklıkları ile raf ömrü noktalarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim



Şekil 4.22 Farklı depolama sıcaklıkları ile homojenizasyon basınçlarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim



Şekil 4.23 Farklı raf ömrü noktaları ile homojenizasyon basınçlarında UHT süt örneklerinin bağıl viskozite değerlerinde gerçekleşmesi tahmin edilen değişim

Şekil 4.21, 4.22 ve 4.23'de verilen grafiklere göre, raf ömründen bağımsız olarak depolama sıcaklığı arttıkça, bağıl viskozite değerlerinde düşme gözlenmektedir. Düşük homojenizasyon basınçlarında, yükselen depolama sıcaklığıyla birlikte, bağıl viskozite değerleri azalmaktadır. Depolama sıcaklığından bağımsız olarak, düşük homojenizasyon basınçlarında, bağıl viskozite değerleri yüksek basınçlara oranla daha düşük değerlerde seyretmektedir.

5. TARTIŞMA VE YORUM

Araştırmada uygulanan bazı kimyasal ve ileri analiz teknikleri ile duyuşsal muayeneler sonucunda, UHT süt örneklerinde bileşim değişiklikleri, farklı jel yapıları ve görüntülerinin belirlenmesi, bu örneklerde jel oluşumunun farklı mekanizmalarla ve hızlarda ortaya çıktığının bir göstergesidir. Araştırma kapsamında ulaşılan farklı sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, analiz sonuçlarına ilişkin olası mekanizmalar hakkında yapılan öngörüler aşıağıda özetlenmiştir:

1. Homojenizasyon basıncından bağımsız olarak, öncelikle 10°C'de depolanan UHT süt örneklerinin jelleştiği belirlenmiş, 20°C ve 40°C'de depolanan örneklerin ise daha geç jelleştiği görülmüştür. Bu durumun, aşıağıda sıralanan birkaç nedenden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

a. Farklı yazarlar tarafından, Maillard reaksiyonunun jelleşmeyi önleyici etkisinden bahsedilmektedir (Kocak and Zadow, 1985; Gaucher et al., 2008). UHT sütün raf ömrü boyunca gelişen bir takım reaksiyonların kazein miselinin stabilitesini bozduğu, ancak Maillard reaksiyonunun da içinde bulunduğu bazı reaksiyonların stabiliteyi teşvik ettiği öne sürülmektedir. Bu kapsamda Maillard reaksiyonuna ait ürünlerin, kazein stabilitesini güçlendirici etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Gaucher et al., 2008). Maillard reaksiyonu, sıcaklık artışıyla hızlanan bir tepkimeler bütününü kapsamaktadır. 10°C'de depolanan örneklerde Maillard reaksiyonunun gelişimini gösteren esmer renkli bileşiklerin hemen hemen hiç oluşmadığı, renk değerlerine ait sonuçların tartışıldığı bölümde (Bölüm 4.1.8) ortaya konmuştur. Bu sonuç, literatür bilgilerinde yer alan, Maillard reaksiyonu rünlerinin UHT sütlerde jelleşmeyi engelleyen faktörlerden biri olduğu teorisine destek verir niteliktedir.

b. Bunun yanısıra, Maillard reaksiyonu kapsamında laktozun kazeinde bulunan amino asit yan zincirleriyle tepkimeye girmesinin sterik engellemeye neden olarak, kazein misellerinin birbirleriyle etkileşime girmelerini engellediği bildirilmektedir (Gaucher et al., 2008). Oluşan protein-laktoz komplekslerinin, kazein ve serum proteinlerinin tersinmez

agregasyonunu sterik etkiyle engellediği başka araştırmacılar tarafından da bildirilmektedir (Claeys et al., 2002). Böylece, misellerin agregatlar oluşturarak jelleşmeye neden olması engellenmektedir.

2. 10°C'de depolanan örneklerden, 150 bar homojenizasyon basıncında üretilenlerde, jelleşmenin serum ayırımına kadar ilerlediği, 175 ve 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen örneklerde ise serum ayırımının olmadığı ancak yer yer pıhtılaşmanın olduğu gözlenmiştir. Denatüre olan β -laktoglobulinlerin κ -kazein ile oluşturduğu kompleksin sterik etki sonucunda, ortamda bulunan proteolitik aktiviteye sahip enzimlerin kazein miseline ulaşmalarını engellediği ortaya konmuş olup (Garcio-Risco et al., 2002), bu görüşün ışığı altında, kazeinin daha az proteolize uğrama olasılığı ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle çalışmamızda, 150 bar homojenizasyon basıncında üretilen örneklerde serum ayırımına kadar ilerlemiş bir jelleşme görölmesinin, düşük basınçta β -laktoglobulinin daha az denatüre olması ve kazeini ortamdaki proteinaz aktivitesine karşı koruyucu β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksini daha az oluşturması ile ilgili olduğu düşünölmektedir. Böylece anılan bu örneklerde, daha ileri proteolitik aktivite sonucunda serum ayrılmasına kadar ilerleyen bir jelleşme gözlenmiştir. 150 bar basınçta üretilen örneklerde, kazein miselinde daha yüksek oranda proteolizin olduğu şekil 4.14 ve şekil 4.15'teki verilerle de desteklenmektedir.

3. Çalışmada ulaşılan bir başka önemli bulgu da, denatüre olan β -laktoglobulinlerin κ -kazein ile oluşturduğu kompleksin hidrolizi ile bağlantılıdır. Oluşan β -laktoglobulin- κ -kazein komplekslerinin, fiziksel veya enzimatik etkiler ile miselden ayrılması sonucunda, serum fazında birikmeleri ve kritik bir konsantrasyona ulaştıklarında da jelleşmeye neden oldukları bildirilmektedir (Garcia-Risco et al., 1999; Datta and Deeth, 2003). Düşük depolama sıcaklıklarında, sütte β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin daha yüksek oranda oluştuğu saptanmıştır (Celestino et al., 1997). Bu belli bir yere kadar örneği proteolizden korumakta ve jelleşmeyi geciktirmektedir, ancak düşük sıcaklıkta bile devam eden proteolitik aktivite sonucunda serum fazına daha

çok β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin geçmesine yol açmaktadır. Bu bilgiler ışığında, 10°C'de depolanan örneklerde depolama süresince daha yüksek oranda β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin olduğu öngörülmektedir. Bunun sonucunda, raf ömrü boyunca görülen proteolitik etki ile birlikte, serum fazına daha çok β -laktoglobulin- κ -kazein kompleksinin geçtiği ve 10°C'de depolanan örneklerin daha kısa zaman içinde jelleşmesine etkide bulunduğu düşünülmektedir.

4. 160. gün açılan kutularda, 40°C'de depolanan bütün örneklerde ciddi bir koagülasyon ve faz ayrımı görülmüş, 20°C'de depolanan örneklerde ise serum ayrımı olmamasına rağmen yer yer pıhtı oluşumuyla kendini belli eden jelleşmeye rastlanmıştır. 40°C'de depolanan örneklerde daha ileri bir jelleşmenin görülme nedeninin, bu örneklerin daha yüksek oranda proteolize uğramalarıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. 40°C, sütte bulunan doğal proteinazların optimum aktivasyon sıcaklığı olan 37°C'ye oldukça yakın bir değer olup, bu sıcaklıkta örneklerde daha yüksek oranda proteolitik aktivite görülmesi beklenen bir durumdur. Yüksek proteolitik aktivite sonucunda proteinlerin aralarına serum fazını alarak oluşturduğu jel matriksi, daha ileri proteolize uğrayarak parçalanmakta ve serum fazı dışarıya çıkarak proteinler koagülasyona uğramaktadır. Böylece jelleşme, faz ayrımına kadar ilerleyebilmektedir.

Çalışma kapsamında, UHT sütün raf ömrü süresince kalite özelliklerinde saptanan diğer bulgular, aşağıda olası nedenleriyle birlikte maddeler halinde tartışılmıştır:

- i) UHT sütlerin raf ömrü boyunca proteolizi, birçok araştırmacı tarafından incelenmiş ve etkili olan enzimlerin başlıca iki kaynaktan geldiği belirlenmiş olup, bunlar süt proteinazları ve psikrotrofik bakteri proteinazlarıdır. Çalışmamızda kullanılan çiğ süt örneklerinin fabrikaya ulaştıktan sonra en kısa süre içinde işlenmelerine dikkat edilmiş ve üretim öncesi soğukta bekleme sırasında psikrotrofik bakterilerin gelişmesi ve ısıl işleme dirençli enzimlerini üretmeleri büyük ölçüde engellenmiştir. Bölüm 4.1.11'de verilen RP-HPLC

kromatogramlarından, hidrofilik bölgedeki pik sayı ve alanlarında gözle görülebilir bir artışın olmadığı belirlenmiştir. Bu durum, araştırmada kullanılan UHT süt örneklerinde bakteriyal proteinaz varlığının önemsenmeyecek düzeyde olduğunun bir göstergesidir. Ancak, Bölüm 4.1.10'da verilen Üre-PAGE elektroforegramlarında, α_{s1} -kazein ve β -kazein bantlarında raf ömrü süresince belirgin bir proteoliz varlığı ortaya konmuştur. Bu durum, örneklerde süt kaynaklı proteinazların bulunduğunu işaret etmektedir. Bu konuya yönelik literatürde yer alan araştırmalarda, β -kazeinde yoğun bir hidroliz görülmekte ve bunun başlıca süt kaynaklı proteinaz olan "plazmin" aktivitesi sonucu olduğu bildirilmektedir. Ancak Larsen ve arkadaşları (2004), sütte bulunan somatik hücrelerin birtakım fiziksel etkilerle parçalanması ile, β -kazeinde olduğu kadar α_{s1} -kazeinde de yüksek oranda proteoliz tespit etmiş ve bunun tek bir proteinazdan kaynaklanmadığını öne sürmüştür. Çalışmamızda α_{s1} -kazeinde belirgin oranda görülen hidrolizin, lökositlerde bulunan süt kaynaklı bir enzim olan ve özellikle α_{s1} -kazeine duyarlılık gösteren "katepsin-D"den kaynaklandığı düşünülmektedir. Böylece, uygulanan homojenizasyon işlemi ile sütte bulunan somatik hücrelerin parçalandığı ve katepsin-D ile plazminin sütün serum fazına geçerek proteolitik aktivitelerini, kazeinin farklı alt-grupları üzerinde raf ömrü süresince devam ettirdikleri anlaşılmaktadır.

- ii) Hurley ve arkadaşları (2000), katepsin-D enziminin α_{s1} -kazeini hidrofobik peptidler oluşturacak şekilde parçaladığını bildirilmektedir. Çalışmamızda, α_{s1} -kazeinde en ileri proteoliz 40°C'de depolanan örneklerde görülmüştür. Bölüm 4.1.11'de verilen RP-HPLC kromatogramlarında da 40°C'de depolanan örneklerin hidrofobik bölgelerinde raf ömrü ile birlikte gözle görülür biçimde artan pik sayısı ve alanı bu öngörüü desteklemektedir.
- iii) Plazminin substrat olarak öncelikle tercih ettiği β -kazeinin ortalama hidrofobisite değeri yüksek olduğundan, bu proteinin hidrolizi sonucunda hidrofobik, yani acı tada sahip peptidler oluşmaktadır (Lemieux and Simard, 1991; Numanoğlu, 2006). Yapılan duyuşal muayeneler sonucunda panelistler, genel olarak 40°C'de depolanan örneklerde, raf ömrünün sonuna

doğru belirgin miktarda acılık tespit etmiştir. Bu saptama, 40°C'de depolanan örneklerin elektroforegramlarında β -kazeinin daha çok proteolize uğradığı ve kromatogramlarında hidrofobik bölgedeki peptid sayısında görülen artışla da desteklenmektedir.

- iv) Homojenizasyon basıncı, yağ globülleri üzerine olduğu kadar serum proteinleri üzerine de etkilidir. Yükselen basınçla birlikte artan kesme gerilimi ile, daha yüksek oranda α -laktalbumin ve β -laktoglobulin denatüre olmaktadır. Bu denatürasyonun bütün depolama sıcaklıklarında raf ömrü süresince bir yere kadar tersinir olduğu Çizelge 4.15 ve 4.16'dan anlaşılmaktadır.
- v) Örneklerin 40°C'de depolanması viskozite değerlerinde düşmeye yol açmaktadır. Bu, iki nedene bağlanmaktadır: a) pH düşüşü sonucu kazein miselinin boyutlarında daralma olması, b) proteoliz sonucu kazein miselinin parçalanarak boyutlarının küçülmesi.
- vi) Maillard reaksiyonunun ilerlemesinde, depolama sıcaklığının yanısıra denatüre olan serum proteini miktarının da etkili olduğu düşünülmektedir. Denatürasyon sırasında protein sarmalının açılmasıyla Maillard reaksiyonuna girecek daha çok reaktif yan grup ortaya çıkmaktadır. Yüksek depolama sıcaklığı ile yüksek oranda serum proteini denatürasyonu birlikte, Maillard reaksiyon hızının artışına yol açmaktadır.
- vii) Basınç etkisiyle oluşan denatürasyona α -laktalbuminin, β -laktoglobulinden daha dirençli olduğu bilinmektedir. Bu durumun çalışmamızda kullanılan homojenizasyon basıncı değerleri için de geçerli olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin α -laktalbuminin, yapısında molekül içi disülfid bağlarını daha çok içermesinin olduğu düşünülmektedir.

Alınan sonuçlar ışığında, jelleşmenin sadece proteolitik aktiviteyle ilgili bir kavram olmadığı, proteolitik aktivitenin yanısıra süt bileşenlerinde ortaya çıkan başka etkileşimlerin de, jelleşme üzerinde etkili olduğu söylenebilir. Literatürde jelleşme

konusunda kabul gören görüşlerin başında, jelleşmenin iki aşamalı bir mekanizma ile oluştuğu gelmektedir. İlk aşamada, süt proteinleri bir miktar proteolize uğramakta; ikinci aşamada ise stabilize halde olan miseller, depolama ile birlikte gelişen fiziko-kimyasal değişimlerle jel oluşturmaya teşvik edilmektedir (Kocak and Zadow, 1985). 200 barda üretilip 10°C'de depolanan sütlerde α_{s1} -kazein ve β -kazeinde belirgin bir proteoliz olmamasına rağmen jelleşmeleri, jelleşmenin sadece proteolitik aktiviteyle ilişkili olmadığını göstermektedir. Bu kapsamda, proteolizin de jelleşme üzerine etkide bulunabildiği, ancak kullanılan homojenizasyon basıncı, depolama sıcaklığı gibi etkenlerin de doğrudan veya dolaylı olarak sütün jelleşmesine veya jelleşmeye karşı direnç kazanmasına neden olduğu söylenebilir.

Genel olarak bakıldığında, homojenizasyon basıncının yükseltilmesi, hem yağ globüllerinin, hem de kazein miselinin stabilitesini artırıcı yönde etki yapmaktadır. Yüksek homojenizasyon basıncı, serum proteinlerinde daha yüksek oranda denatürasyona neden olarak, denatüre serum proteinlerinin kazein miseliyle kompleks oluşturmasını teşvik etmektedir.

Depolama sıcaklığı, dolaylı olarak UHT sütün jelleşmesi üzerine etki yapan önemli diğer bir faktördür. Jelleşmeye karşı ürünün en stabil olduğu sıcaklığın 20°C olduğu, araştırma sonuçlarından anlaşılmaktadır. Depolama sıcaklığı, UHT sütün jelleşmesinde etkin bir role sahiptir. Bu parametrenin, ürünün raf ömrünü kısaltmanın yanısıra, jelleşme dışında başka değişimlere de yol açarak ürünün duyuusal yönden tüketilebilirliğini olumsuz yönde etkilediği duyuusal muayene sonuçlarıyla ortaya konmuştur. 40°C'de depolanan UHT süt örneklerinin, özellikle renk, tat ve koku değerlerinde raf ömrünün 60. gününden itibaren ciddi duyuusal bozuklukların saptanması, ürünün raf ömrü içinde tüketilebilirliğini azaltan önemli bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle, özellikle sıcak iklim bölgelerinde ve ortam sıcaklığının 40°C'ye ve hatta üzerine yükselebildiği yörelerde, UHT sütlerin kontrolsüz koşullarda depolanmaması, ürünün raf ömrü boyunca kalitesini korumaya yardımcı olacak bir çözüm olarak görülmektedir. Aynı şekilde, bazı tüketici ve satıcıların yeterli bilgiye sahip olmamaları nedeniyle, UHT sütü buzdolabı koşullarında depolamaları da, ürünün kalite özelliklerine olumsuz yönde yansıyan bir parametredir. Bunun

önüne, eğitim ve reklam kampanyalarının düzenlenmesi ve ürün etiketinde tüketiciyi yönlendirici saklama koşulları bilgisinin yer alması ile geçileceği düşünülmektedir.

Yapılan çalışmalarda UHT sütün kalite özellikleri açısından, somatik hücre sayısının da çok önemli bir kriter olduğu bildirilmektedir. Considine ve arkadaşları (2004), yüksek somatik hücre sayısına sahip sütlerde yaptıkları bir çalışmada, süt proteinazlarının yüksek miktarda olduğunu ve α_{s1} -kazeinde önemli ölçüde proteolize yol açtıklarını saptamışlardır. Türk Gıda Kodeksi Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği'nde, ısıtılma tabi tutulacak çiğ sütlerin somatik hücre sayısının 500000 adet/mL'nin altında olması gerektiği bildirilmektedir (Anonymous, 2000). Avrupa Birliği Komisyonu Direktifi'nde ise bu değer, 01.01.1998 tarihinde alınan karar ile birlikte 400000 adet/mL'nin altına çekilmiştir (Anonymous, 2003).

Ticari işlem gören UHT sütler için, üretici firmanın belirlediği raf ömrü süresi 4 aydır. Örneklerimizde anılan raf ömrüne eşdeğer 120 gün süresince herhangi bir jelleşme saptanmamıştır. Ancak, 140. günden itibaren jelleşme bazı örneklerde başlamış, 160. günde ise bütün örneklerde jelleşme görülmüştür. Bu açıdan, üretici firmanın ürünün raf ömrünü belirlerken farklı depolama koşullarının etkisini hesaba kattığı ve başarılı bir raf ömrü çalışması yaptığı söylenebilir. Piyasada üretilen UHT sütlerin raf ömrü belirleme çalışmaları, çiğ süt kalitesine göre yapılmaktadır.

Ülkemizde üretilen UHT sütlerin raf ömürlerinin genellikle 4-6 ay arasında olduğu; bu sürenin Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 8 aya kadar çıkabildiği bilinmektedir. Raf ömrünün üründe herhangi bir kalite bozukluğu olmadan uzayabilmesi, uygulanan teknoloji farklılıklarından değil, hammadde kalitesinden kaynaklanmaktadır. Çiğ sütün içerdiği toplam bakteri sayısı, somatik hücre sayısı gibi birinci derecede önemli kalite kriterlerinin üst sınırlarının, yasalarla mümkün olduğu kadar aşağı çekilmesi her zaman gerçekçi bir çözüm oluşturmayabilmektedir. Bunun yanında, süt üreticisinin kaliteli ürün eldesi hakkında eğitilmesi ve bilinçlendirilmesi, gerekli finansal desteğin ve alt yapının sağlanması, yasalara uygun üretim yapılmasına yönelik olarak gerekli caydırıcı veya teşvik edici önlem ve kararların

alınması da kaliteli ve uzun raf ömrüne sahip ürün eldesi için vazgeçilmez görülmektedir.

Gıda endüstrisi gibi büyük ölçekli üretimin olduğu alanlarda, üründe oluşan sorunların kaynağının tanımlanması, çözüm stratejilerinin belirlenmesi ve uygulamaya alınması, oldukça sıkıntılı ve maliyetli bir süreci oluşturmaktadır. Üründe oluşan sorunlar her zaman hammadde kalitesinden veya depolama koşullarından kaynaklanmamakta, gıda üretim hattında yer alan basamakların yarattığı olumsuzluklar da üründe istenmeyen değişimlere neden olabilmektedir. Üretim zincirinden kaynaklanan sorunlar, tanımlanması ve çözümü en zor olan bölümü oluşturmaktadırlar. Çünkü üretim akım şemalarında yer alan ve genellikle ayarlanabilir sıcaklık, basınç, hız gibi değişken parametrelerde çalışan her alet ve ekipmanın getireceği hata kaynaklarını tanımlayabilmek için, olabildiğince değişik kombinasyonları denemek gerekmektedir. Bunun büyük ölçekte üretim yapan sistemlerde denenmesi, hem hammadde, hem de proseste kullanılan elektrik, su gibi yan girdiler nedeniyle yüksek maliyet gerektirmekte ve uygulanabilir olamamaktadır. Bunun üstesinden gelmek için, büyük kapasiteli sistemlerin küçültülmüş örnekleri olan pilot sistemler geliştirilmekte, ancak yine de gerçek sistemi bütünüyle temsil edememektedirler. Bu nedenle bu sistemlerde alınan sonuçlar, her zaman gerçeği yansıtamamaktadır. Anılan sistemlerde yer alan önemli sayıdaki değişkenlerin birlikte yarattığı etkileri, olabildiğince az noktada veri alarak doğru bir şekilde tahmin edebilmek, en tercih edilen yöntemdir. Bu amaçla, çalışmanın ikinci kısmında Yapay Sinir Ağları Yöntemi kullanılmış ve yöntemin UHT sütlerde raf ömrü boyunca oluşan değişimleri tahmin etmedeki başarısı, viskozite verileri üzerinde denenmiştir.

Çalışmamızda UHT sütlere yönelik olarak, raf ömrü süresince toplam 81 noktada veri alınmış, bunun 65 adedi ağa verilerek ağ eğitilmiştir. Veri grubunun 16 adedini ise ağ hiç görmemiş ve eğitimden sonra bu veriler için de ağın sonuç üretmesi istenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, ağın ürettiği çıktı değerleri ile deneysel olarak elde edilmiş gerçek sonuçlar arasında maksimum sapmanın % 1.893 olduğu hesaplanmıştır. Oldukça düşük olan bu mutlak hata değeri, ağın çalışılmamış ara verileri tahmin gücünün oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Endüstriyel alanda

uygulanabilirliği düşünöldüğünde, Yapay Sinir Ağlarının proses şartlarındaki veri denemelerini ve böylece maliyeti yaklaşık % 25 oranında azaltacağı söylenebilir.

Gıda üretiminde, özellikle proses optimizasyonu çalışmalarında, gerekli veri tabanını oluşturmak için yapılması zorunlu olan, çok sayıdaki deneysel çalışmaların getireceği mali külfet oldukça büyüktür. YSA yönteminin kullanılması yoluyla, üretimde deneme sayısının düşürölmesi ve çalışılmamış geniş bir veri kümesi için doğru tahmin yapılma olanağı yaratılabilmektedir. Çalışmamızda viskozite verilerinden yola çıkılarak gerçekleştirilen, çalışılmamış ara noktalardaki veri tahminlerinin gerçek değerleri yansıttığı, sayısal olarak ortaya konmuştur. Bu bağlamda, özellikle optimizasyon çalışmalarında araştırmaya ayrılacak olan zamandan tasarruf ve maddi kaynakların en alt düzeyde kullanılabilmesi için, gıda endüstrisinde YSA yönteminin yaygınlaşması beklenmektedir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Akalın, A.S. and Gönç, S., 1997, Lactulose and 5-HMF contents in market milks, *Milchwissenschaft*, 52 (7), 377-380.

AlKanhal, H.A., Abu-Lehia, I.H., Al-Saleh, A.A., 1994, Changes in the quality of fresh and recombined ultra high temperature treated milk during storage, 4, (3), 221-236.

Anonymous, 1990a, T.S.E., Süt-Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) (TS 8189), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous, 1990b, AOAC, Official Methods of Analysis, Nitrogen (Total) in Milk, Kjeldahl Method, IDF-ISOAC Method, 15th Edition, 920.105., 807 p.

Anonymous, 1995, Dairy Processing Handbook, Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lund, Sweden, 123p.

Anonymous, 1999, IDF, Milk and Heat-Treated Milk Determination of Acid Soluble β -lactoglobulin Content Reversed-Phase HPLC Method 178A:1999, International Dairy Federation, Brussels, Belgium.

Anonymous, 2000, Çiğ Süt ve Isıl İşlem Görmüş İçme Sütleri Tebliği, 2000/6, 14.02.2000-23964, Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, Değişiklik No:22.08.2006-26267.

Anonymous, 2001, T.S.E., Uzun Ömürlü Süt (TS 1192), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous, 2002, T.S.E., Pastörize Süt (TS 1019), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.

Anonymous, 2003, Council Directive 92/46/EEC of 16 June 1992, Laying down the health rules for the production and placing on the market of raw milk, heat-treated milk and milk-based products, Amendment, Official Journal L 236, 33p., 23.9.2003.

Anonymous, 2006, *The Cookbook of Laboratory Methods for the Analysis of Cheese*, First Edition, University of Cork, Ireland, 14-16 p.

Auldist, M. J., Coats, S. J., Sutherland, B. J., Hardham, J. F., McDowell, G. H., Rogers, G. L., 1996, "Effect of somatic cell count and stage of lactation on the quality and storage life of ultra high temperature milk", *Journal of Dairy Research*, 63 (3), 377-386

Bastian, E.D. and Brown, R.J., 1996, Plasmin in milk and dairy products: an update, *International Dairy Journal*, 6 (5), 435-457.

Celestino, E.L., Iyer, M., Roginski, H., 1997, Reconstituted UHT-treated milk: effects of raw milk, powder quality and storage conditions of UHT milk on its physico-chemical attributes and flavour, *International Dairy Journal*, 7, 129-140.

Claeys, W.L., Van Loey, A.M., Hendrickx, M.E, 2002, Intrinsic time temperature integrator for heat treatment of milk, *Trends in Food Science & Technology*, 13, 293-311.

Cockburn, M.J., The aggregation of beta-lactoglobulin and alpha-lactalbumin: studies of compositional and temperature effects during the early stages of heating, Master of Science Thesis, University of Guelph, Canada, 9p.

Considine, T., Healy, A., Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H, 2004, Hydrolysis of bovine caseins by cathepsin B, a cysteine proteinase indigenous to milk, *International Dairy Journal*, 14, 117-124.

Corredig, M., Dalgleish, D. G., 1996, "Effect of different heat treatments on the storage binding interactions between whey proteins and milk fat globules in whole milk", *Journal of Dairy Research*, 63 (3), 441-449.

Crudden, A., Afoufa-Bastien, D., Fox, P., Brisson, G., Kelly, A., 2005, Effect of hydrolysis of casein by plasmin on the heat stability of milk, *International Dairy Journal*, 15, 1017-1025.

Dalgleish, D.G., Senaratne, V., Francois, S., 1997, Interactions between α -lactalbumin and β -lactoglobulin in the early stages of heat denaturation, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 3459-3464.

Datta, N. and Deeth, H.C., 2001, Age gelation of UHT milk- a review, *Institution of Chemical Engineers Trans IChemE*, 79, Part C, 197-210.

Datta, N. and Deeth, H.C., 2003, Diagnosing the cause of proteolysis in UHT milk, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.*, 36, 173-182.

Datta, N., Elliot, A.J., Perkins, M.L., Deeth, H.C., 2002, Ultra-high-temperature (UHT) treatment of milk: comparison of direct and indirect modes of heating, *Australian Journal of Dairy Technology*, 57, 3, 211-227.

Deeth, H.C. and Datta, N., 2000, Age gelation of UHT milk, *Quality Quarterly*, 9 (4), 6-8.

Enright, E., Bland, A.P., Needs, E.C., Kelly, A.L., 1999, Proteolysis and physicochemical changes in milk on storage as affected by UHT treatment, plasmin activity and KIO_3 addition, *International Dairy Journal*, 9, 581-591.

Garcio-Risco, M.R., Ramos, M., Lopez-Fandino, R., 1999, Proteolysis, protein distribution and stability of UHT milk during storage at room temperature, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1171-1178.

Garcia-Risco, M.R., Ramos, M., Lopez-Fandino, R., 2002, Modifications in milk proteins induced by heat treatment and homogenization and their influence on susceptibility to proteolysis, *International Dairy Journal*, 12, 679-688.

Gaucher, I., Molle, D., Gagnaire, V., Gaucheron, F., 2008, Effects of storage temperature on physico-chemical characteristics of semi-skimmed UHT milk, *Food Hydrocolloids*, 22, 130-143.

Gomez, M. J., Garde, S., Gaya, P., Medina, M., Nunez, M., 1997, Relationship between level of hydrofobic peptides and bitterness in cheese made from pasteurized and raw milk, *Journal of Dairy Research*, 64, 289-297.

Grieve, P.A. and Kitchen, B.j., 1985, Proteolysis in milk: the significance of proteinases originating from milk leucocytes and a comparison of the action of leucocyte, bacterial and natural milk proteinases on casein, *Journal of Dairy Research*, 52 (1), 101-112.

Griffiths, M. W., Phillips, J. D., West, I. G., Muir, D. D., 1988, The effect of extended low-temperature storage of raw milk on the quality of pasteurized and UHT milk, *Food Microbiology*, 5 (2), 75-87.

Grufferty, M.B. and Fox, P.F., (1988), Milk alkaline proteinase, *Journal of Dairy Research*, 55, 609-630.

Grzesiak, W., Blaszczyk, P., Lacroix, R., 2006, Methods of predicting milk yield in dairy cows-Predictive capabilities of Wood's lactation curve and artificial neural networks (ANN's), *Computers and Electronics in Agriculture*, 54, 69-83.

Haykin, S., 1999, *Neural Networks A Comprehensive Foundation*, 2nd Edition, Prentice Hall, 2p.

Horiuchi, J., Shimada, T., Funahashi, H., Tada, K., Kobayashi, M., Kanno, T., 2004, Artificial Neural Network Model with a culture database for prediction of acidification step in cheese production, *Journal of Food Engineering*, 63, 459-465.

Huppertz, T., Kelly, A.L., Fox, P.F., 2002, Effects of high pressure on constituents and properties of milk, *International Dairy Journal*, 12, 561-572.

Hurley, M.J., Larsen, L.B., Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H., 2000, The milk acid proteinase cathepsin-D: a review, *International Dairy Journal*, 10, 673-681.

Hussain, M.A. and Rahman, M.S., 1999, Thermal conductivity prediction of fruits and vegetables using neural networks, *International Journal of Food Properties*, 2, 121-138.

Jimenez-Marquez, S.A., Thibault, J., Lacroix, C., 2005, Prediction of moisture in cheese of commercial production using neural networks, *International Dairy Journal*, 15, 1156-1174.

Kelly, A.L. and Foley, J., 1997, Proteolysis and storage stability of UHT milk as influenced by milk plasmin activity, plasmin/ β -lactoglobulin complexation, plasminogen activation and somatic cell count, *International Dairy Journal*, 7, 411-420.

Kelly, A.L. and Fox, P.F., 2006, Indigenous enzymes in milk: A synopsis of future research requirements, *International Dairy Journal*, 16, 707-715.

Kelly, A., O'Flaherty, F., Fox, P.F., 2006, Indigenous proteolytic enzymes in milk: A brief overview of the present state of knowledge, *International Dairy Journal*, 16, 563-572.

Kocak, H.R. and Zadow, J.G., 1985a, Age gelation of UHT whole milk as influenced by storage temperature, *The Australian Journal of Dairy Technology*, (40), 1, 14-21.

Kocak, H.R. and Zadow, J.G. 1985b, Controlling age gelation of UHT milk with additives, *The Australian Journal of Dairy Technology*, June 1985, 58-64.

Kominakis, A.P., Abas, Z., Maltaris, I., Rogdakis, E., 2002, A preliminary study of the application of artificial neural networks to prediction of milk yield in dairy sheep, *Computer and Electronics in Agriculture*, 35, 35-48.

Koning, P.J., Kaper, J., Rollema, H.S., Driessen, F.M., 1985, Age-thinning and gelation in unconcentrated and concentrated UHT-sterilized skim milk. Effect of native milk proteinase, *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 39, 71-87.

Larsen, L.B., Rasmussen, M.D., Bjerring, M., Nielsen, J.H., 2004, Proteases and protein degradation in milk from cows infected with *Streptococcus uberis*, International Dairy Journal, 14, 899-907.

Lemieux, L. and Simard, R.E., 1991, Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture, Lait, 71, 599-636.

Liu, X., Chen, X., Wu, W., Peng, G., 2007, A neural network for predicting moisture content of grain drying process using genetic algorithm, Food Control, 18, 928-933.

Lopez-Fandino, R., Olano, A., San Jose, C., Ramos, M., 1993a, Application of reversed-phase HPLC to study the proteolysis in UHT milk, Journal of Dairy Research, 60, 111-116.

Lopez-Fandino, R., Olano, A., Corzo, N., Ramos, M., 1993b, Proteolysis during storage of UHT milk: differences between whole and skim milk, Journal of Dairy Research, 60, 339-347.

lucci, L., Patrignani, F., Vallicelli, M., Guerzoni, M.E., Lanciotti, R., 2007, Effects of high pressure homogenization on the activity of lysozyme and lactoferrin against *Listeria monocytogenes*, Food Control, 18, 558-565.

Manji, B., Kakuda, Y., Arnott, D.R., 1986, Effect of storage temperature on age gelation of ultra-high temperature milk processed by direct and indirect heating systems, Journal of Dairy Science, 69, (12), 2994-3001.

Manji, B. And Kakuda, Y., 1988, The role of protein denaturation, extent of proteolysis, and storage temperature on the mechanism of age gelation in a model system, Journal of Dairy Science, 71, (6), 1455-1463.

McCrae, C.H., 1999, Heat stability of milk emulsions: phospholipid-protein interactions, International Dairy Journal, 9, 227-231.

McKellar, R.C., Froehlich, D.A., Butler, G., Cholette, H., Campbell, C., 1984, The effect of uncooled storage on proteolysis bitterness and apparent viscosity in ultra-high-temperature milk, *Can. Inst. Food Sci. Technol. J.*, 17 (1), 14-17.

Miller, G.D., Jarvis, J.K., McBean, L.D., 2000, *Handbook of Dairy Foods and Nutrition*, CRC Press, 2p.

Morales, F.J. and van Boekel, J.S., 1998, A study on advanced Maillard reaction in heated casein/sugar solutions: Colour formation, *International Dairy Journal*, 8, 907-915.

Numanoğlu, E., 2006, UHT içme sütlerinde gelişen acılaşıma ve jelleşme kusurlarının nedenleri ve çözüm yolları, 2006YL3786, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 42-43 s.

O. Üstün (Yrd. Doç. Dr.), 2007, Sözlü görüşme, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Elektrik Elektronik Mühendisliği Bölümü, Gököy/BOLU, oguzustun@ibu.edu.tr.

Paquin, P., 1999, Technological properties of high pressure homogenizers: the effect of fat globules, milk proteins, and polysaccharides, *International Dairy Journal*, 9, 329-335.

Razavi, S.M.A., Mousavi, S.M., Mortazavi, S.A., 2003, Dynamic prediction of milk ultrafiltration performance: A neural network approach, *Chemical Engineering Science*, 58, 4185-4195.

Renner, E., 1988, Storage stability and some nutritional aspects of milk powders and ultra high temperature products at high ambient temperatures, *Journal of Dairy Research*, 55, 125-142.

Ruan, R., Almaer, S., Zhang, J., 1995, Prediction of dough rheological properties using neural networks, *Cereal Chemistry*, 72, 308-311.

Saldamlı, İ. ve Saldamlı, E. 2004, Gıda Endüstrisi Makinaları, Savaş Yayınevi, Ankara, 191-198s.

Sandra, S. and Dalgleish, D.G., 2005, Effects of ultra-high-pressure homogenization and heating on structural properties of casein micelles in reconstituted skim milk powder, *International Dairy Journal*, 15, 1095-1104.

Sanzogni, L. and Kerr, D., 2001, Milk production estimates using feed forward artificial neural networks, *Computes and Electronics in Agriculture*, 32, 21-30.

Scollard, P.G., Beresford, T.P., Needs, E.C., Murphy, P.M., Kelly, A.L., 2000, Plasmin activity, β -lactoglobulin denaturation and proteolysis in high pressure treated milk, *International Dairy Journal*, 10, 835-841.

Sharma, A.K., Sharma, R.K., Kasana, H.S., 2007, Prediction of first lactation 305-day milk yield in Karan Fries dairy cattle using ANN modeling, *Applied Soft Computing*, 7, 1112-1120.

Silanikove, N., Merin, U., Leitner, G., 2006, Physiological role of indigenous milk enzymes: An overview of an evolving picture, *International Dairy Journal*, 16, 533-545.

Sørhaug, T. and Stepaniak, L., 1997, Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects, *Trends in Food Science & Technology*, 46 (2), 38-42.

Therdthai, N. and Zhou, W., 2001, Artificial Neural Network Modelling of the electrical conductivity property of recombined milk, *Journal of Food Engineering*, 50, 107-111.

Thiebaud, M., Dumay, E., Picart, L., Guiraud, J.P., Cheftel, J.C., 2003, High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation, *International Dairy Journal*, 13, 427-439.

Topçu, A., 2004, Kaşar ve beyaz peynirlerde acılaşmaya yol açan peptidlerin saptanması ve acılaşmada depolama koşulları ile starter kültürlerinin etkisinin

incelenmesi, 2004D2719, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 46 s.

Topçu, A., Numanoğlu, E., Saldamlı, İ., 2006, Proteolysis and storage stability of UHT milk produced in Turkey, *International Dairy Journal*, 16, 633-638.

Torres, M., Hervas, C., Amador, F., 2005, Approximating the sheep milk production curve through the use of artificial neural networks and genetic algorithms, *Computers and Operations Research*, 32, 2653-2670.

Üstün, O., Sürekli Mıknatıslı Bir Senkron Motor Hızının Bulanık Sinirsel ve Kayma Kipli Denetleyicilerle Dönüşümlü Denetimi, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Haziran 2004.

Valero, E., Villamiel, M., Miralles, B., Sanz, J., Martinez-Castro, I., 2001, Changes in flavour and volatile compounds during storage of whole and skimmed UHT milk, *Food Chemistry*, 73, 51-58.

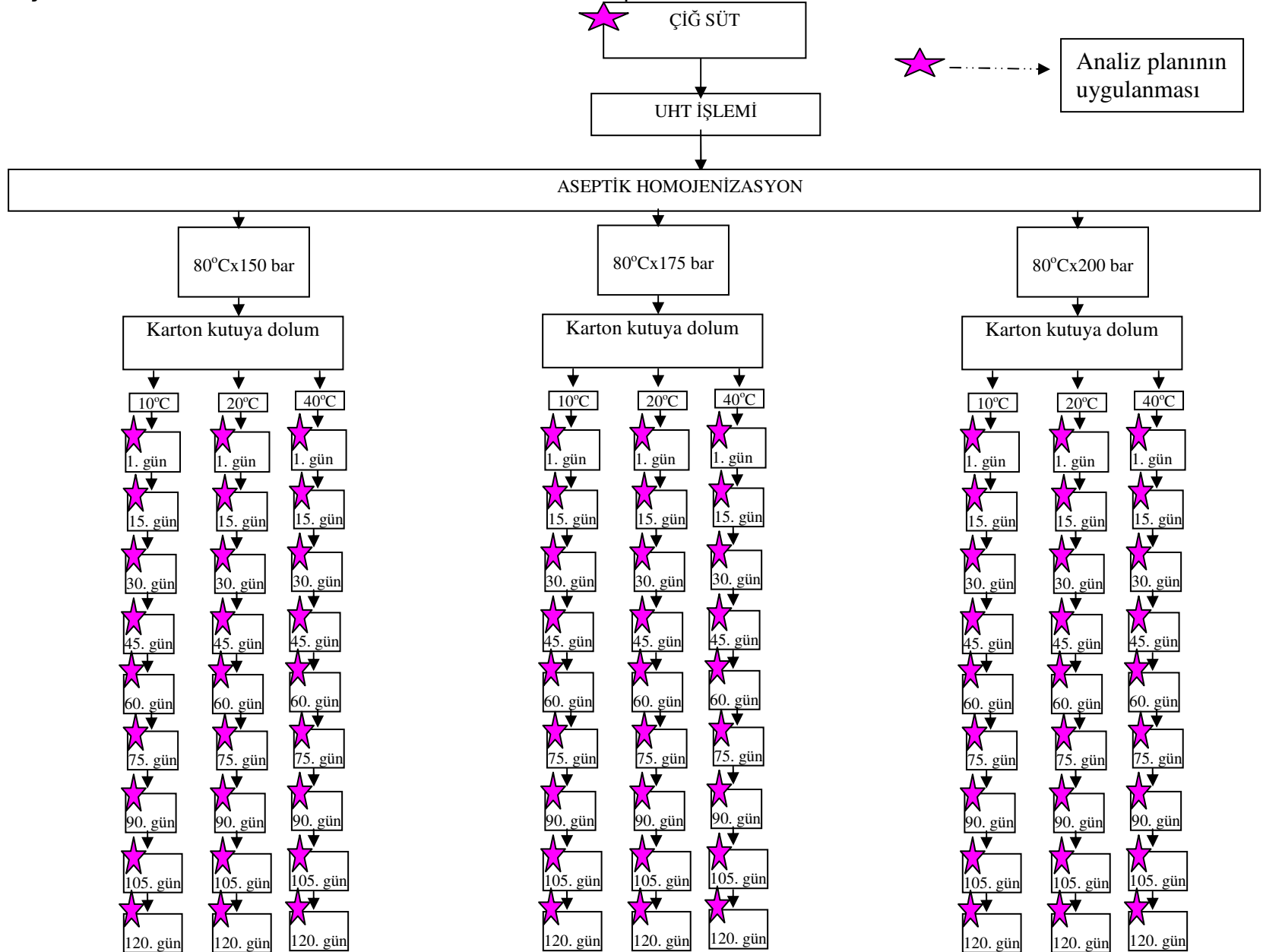
Vasbinder, A.J., Alting, A.C., de Kruif, K.G., 2003, Quantification of heat-induced casein-whey protein interactions in milk and its relation to gelation kinetics, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 115-123.

van Vliet, T., Lakemond, C.M.M., Visschers, R.W., 2004, Rheology and structure of milk protein gels, *Current Opinion in Colloid and Interface Science*, 9, 298-304.

Walstra, P. and Jenness, R., 1984, *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley & Sons, Inc., 132p., 211-215p, 266-273p, 290-292p.

EKLER

Ek 1. Çalışmada kullanılan UHT süt örneklerinin üretim ve analiz planı



Ek 2. UHT sütlerin duyusal değerlendirmesinde kullanılan puan cetveli (Anonymous, 2001)

ÖZELLİKLER	PUAN
GÖRÜNÜŞ	
• Kendine has beyaz süt renginde, temiz, parlak, homojen, jelleşme, esmerleşme, çökelti, gaz kabarcığı bulunmayan	4
• Normal, beyaz süt renginde, temiz, esmerleşme, çökelti, gaz kabarcığı bulunmayan, kap kenarlarında tortu oluşumu bulunan	3
• Az miktarda jel oluşumu, normal olmayan renk, az miktarda çökelti oluşumu	2
• Pembe, esmer renk, jelleşme, çökelti oluşumu	1
KIVAM	
• Normal süt akışkanlığında	4-3
• Normalden koyu veya fazla akışkan	2-1
RENK	
• Porselen beyazı	4
• Krem beyaz	3
• Pembemsi	2
• Esmer	1
KOKU	
• Kendine has süt kokusunda	4-3
• Hafif yanık, pişmiş koku	2
• Yabancı koku	1
TAT	
• Normal süt tadında	4-3
• Pişmiş tat	2
• Yabancı tat	1
ACILIK	
• Acı tat yok	4
• Hafif acılık	3
• Belirgin acılık	2
• Yoğun acılık	1
JELLEŞME	
• Jelleşme yok	4
• Hafif derecede jelleşme var, serum ayrımı yok	3-2
• İleri derecede jelleşme var, serum fazı ayrılmış	1

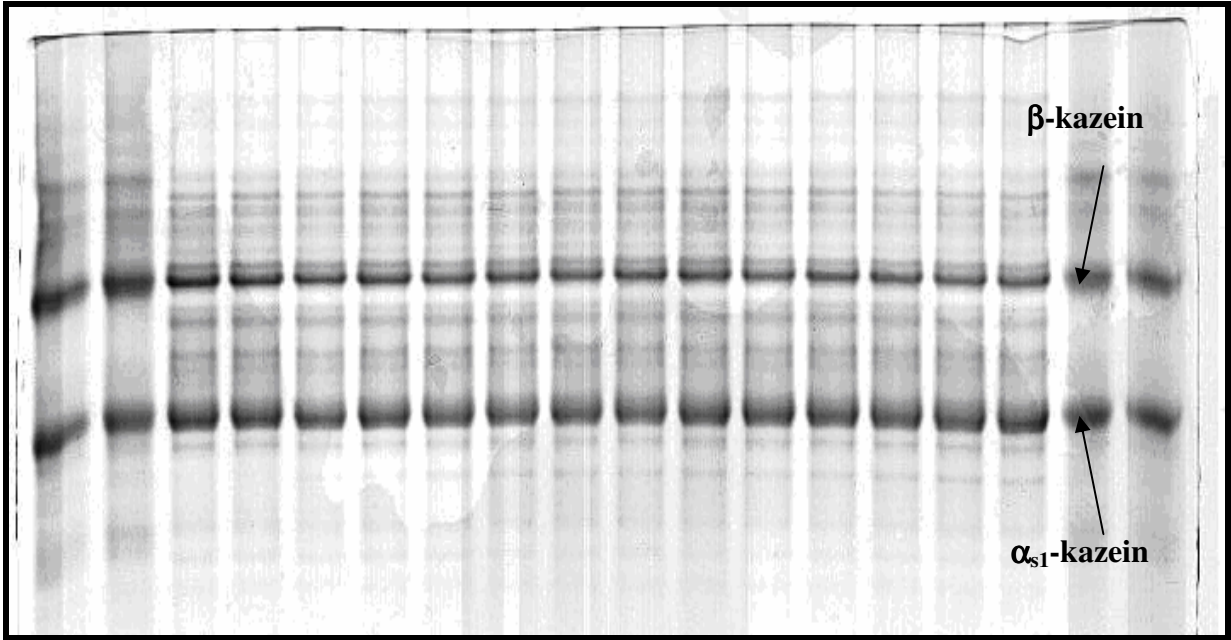
DEĞERLENDİRMENİZ

Özellikler	No 1	No 2	No 3	No 4	No 5	No 6	No 7	No 8	No 9
Görünüş									
Kıvam									
Renk									
Koku									
Tat									
Acılık									
Jelleşme									

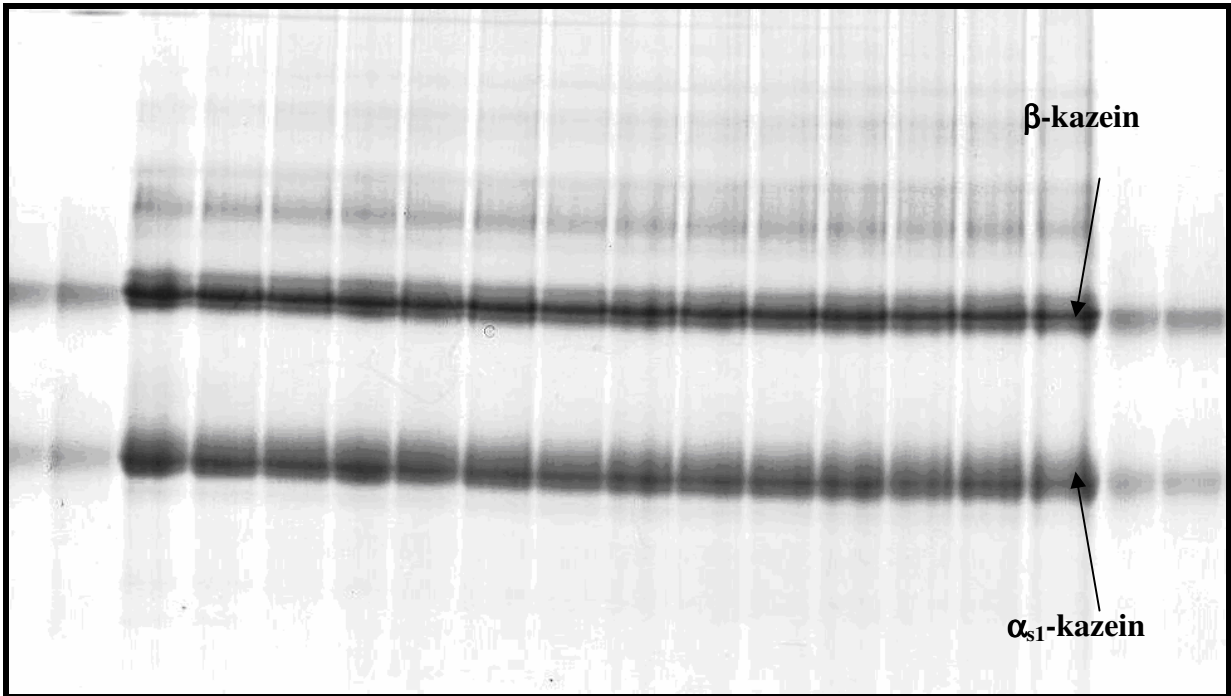
EKLEMEK İSTEDİKLERİNİZ:

Ek 3. Raf ömrü süresince α_{s1} - ve β -kazeinde oluşan proteolizin Üre-PAGE yöntemiyle incelenmesi

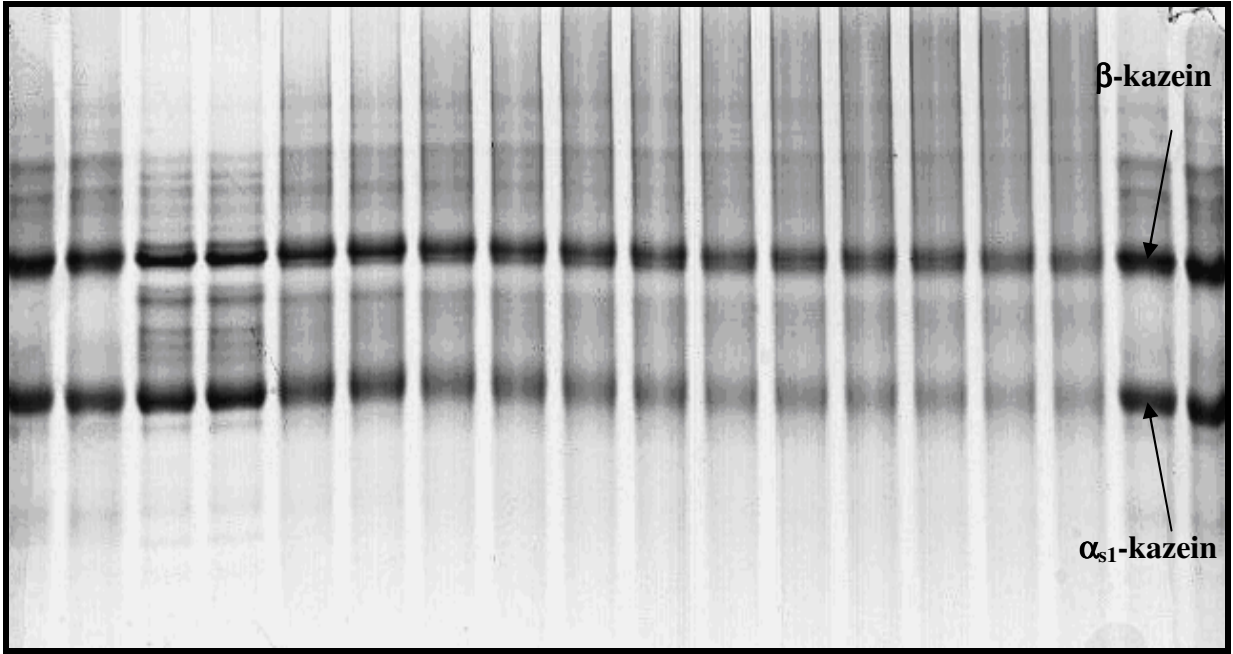
Ek 3.1. 150 barda homojenize edilerek 10°C'de depolanan örnekler



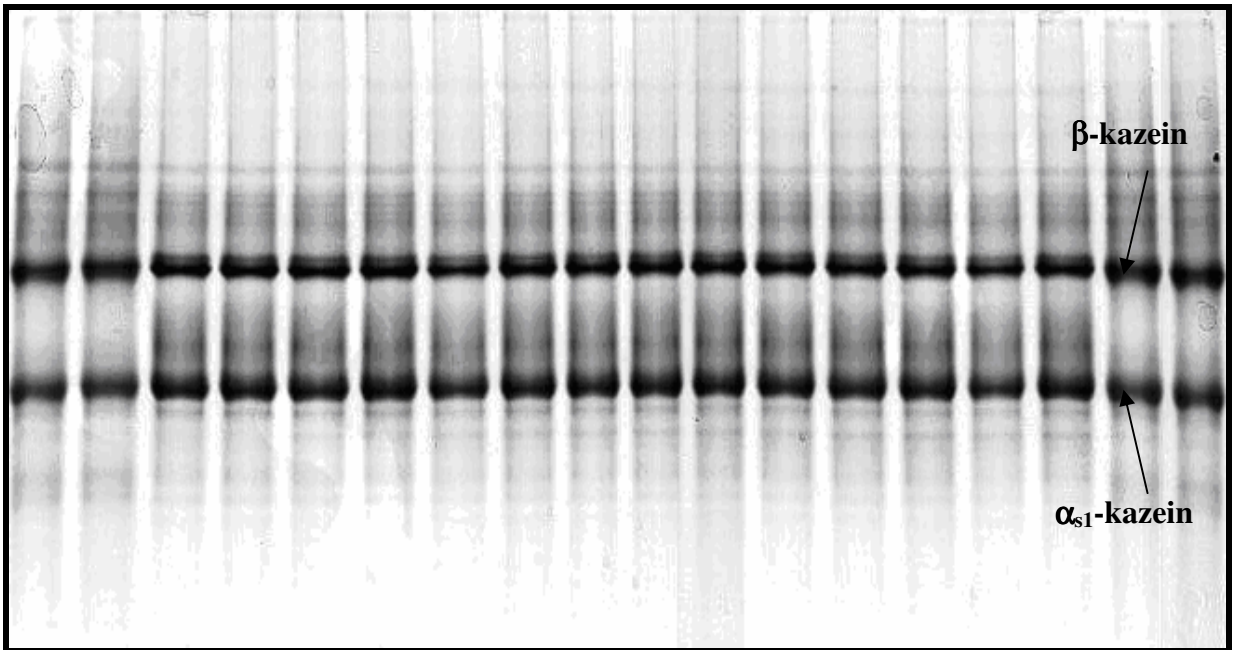
Ek 3.2. 150 barda homojenize edilerek 20°C'de depolanan örnekler



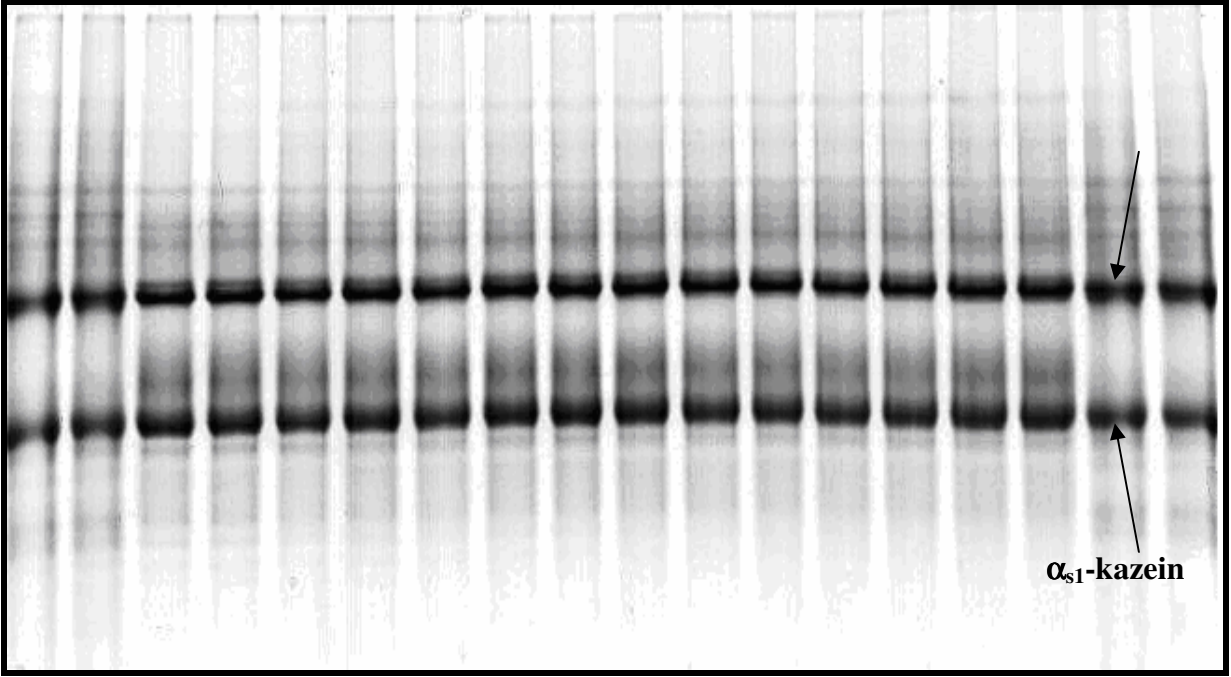
Ek 3.3. 150 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örnekler



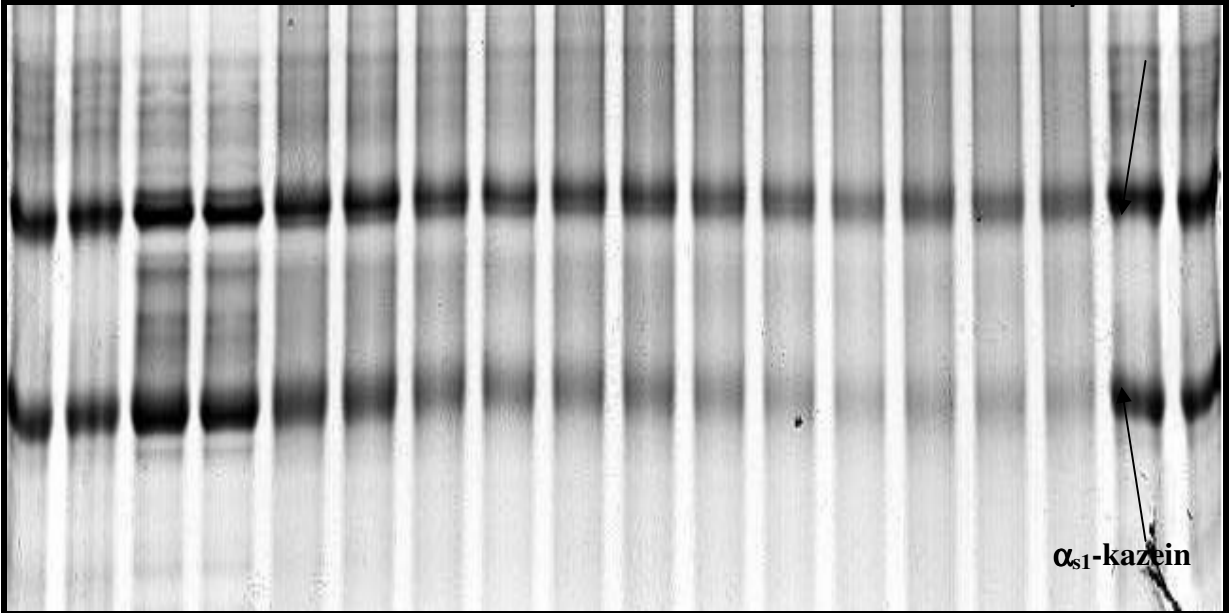
Ek 3.4. 175 barda homojenize edilerek 10°C'de depolanan örnekler



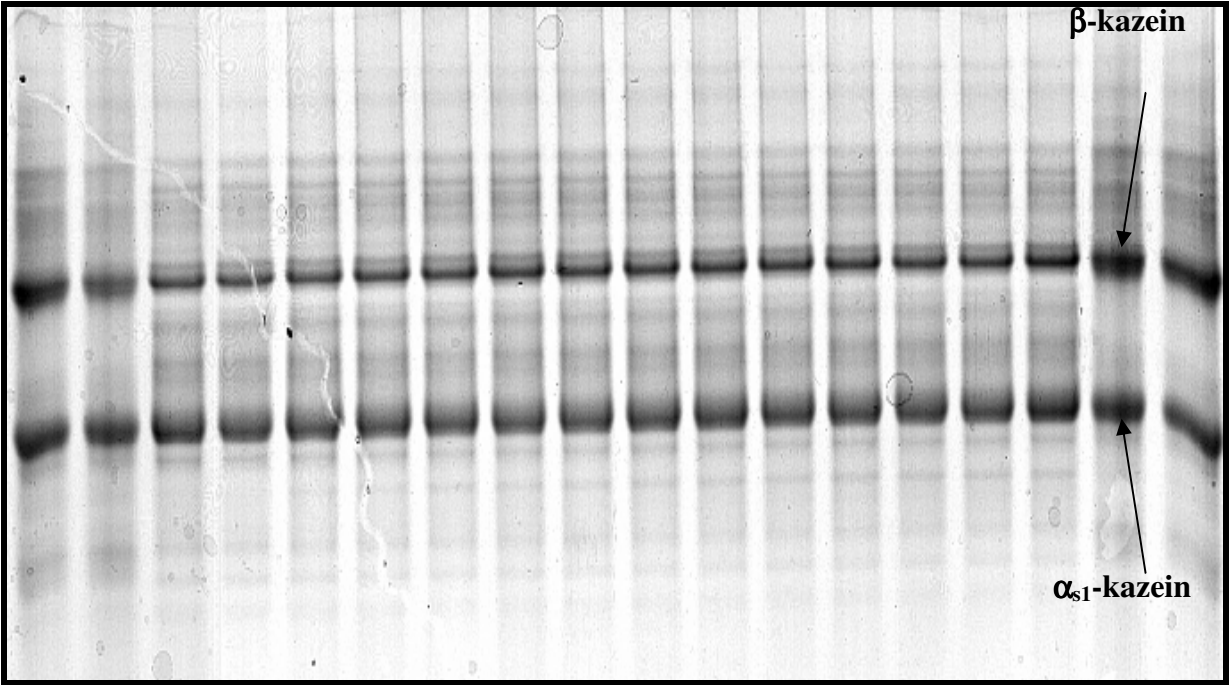
Ek 3.5. 175 barda homojenize edilerek 20°C'de depolanan örnekler



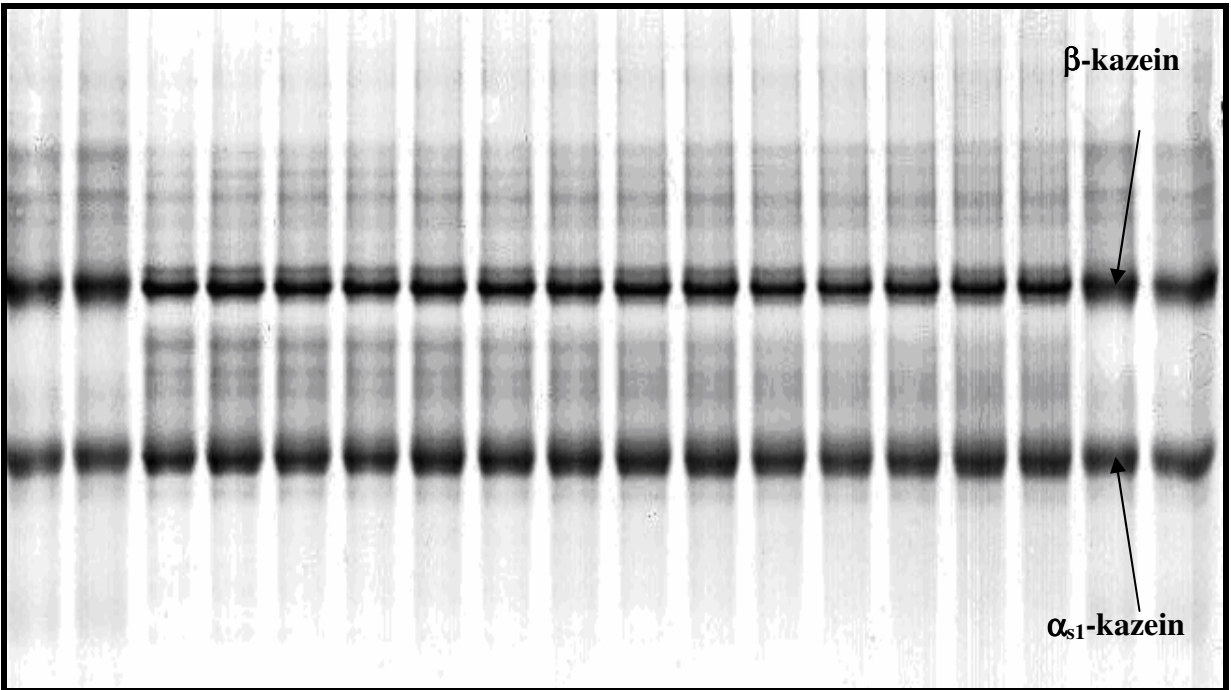
Ek 3.6. 175 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örnekler



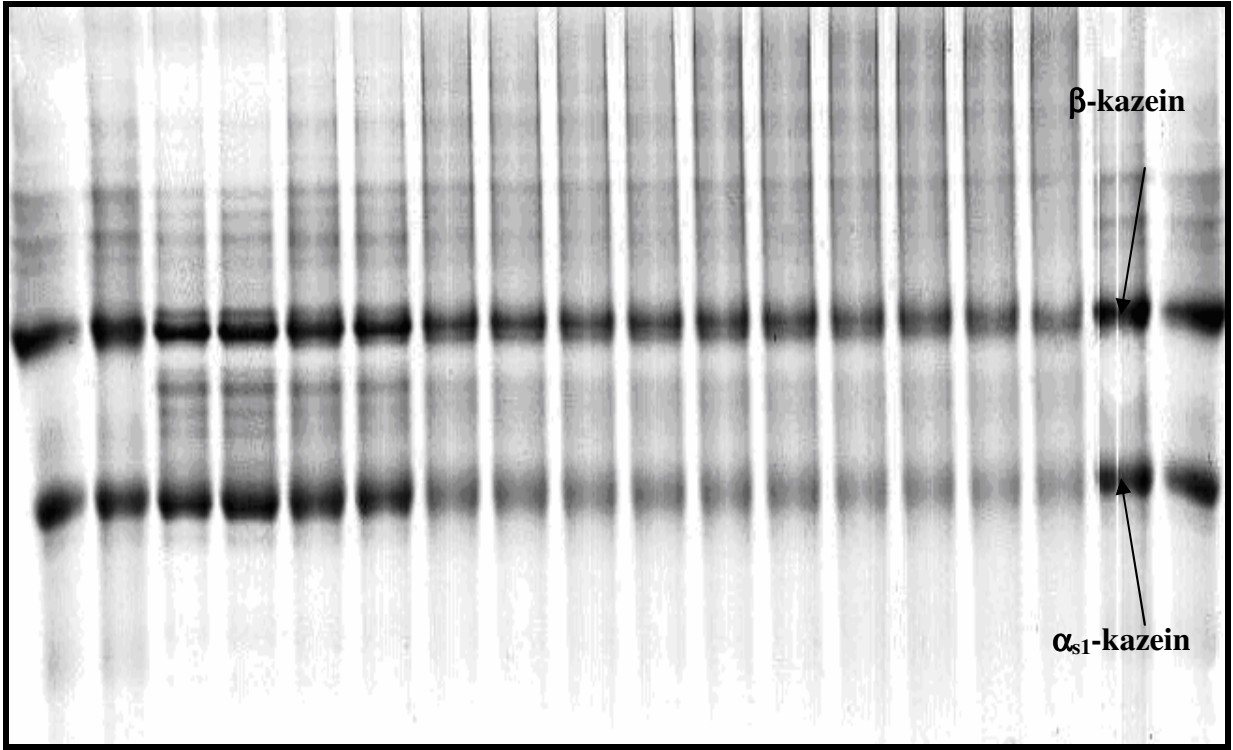
Ek 3.7. 200 barda homojenize edilerek 10°C'de depolanan örnekler



Ek 3.8. 200 barda homojenize edilerek 20°C'de depolanan örnekler

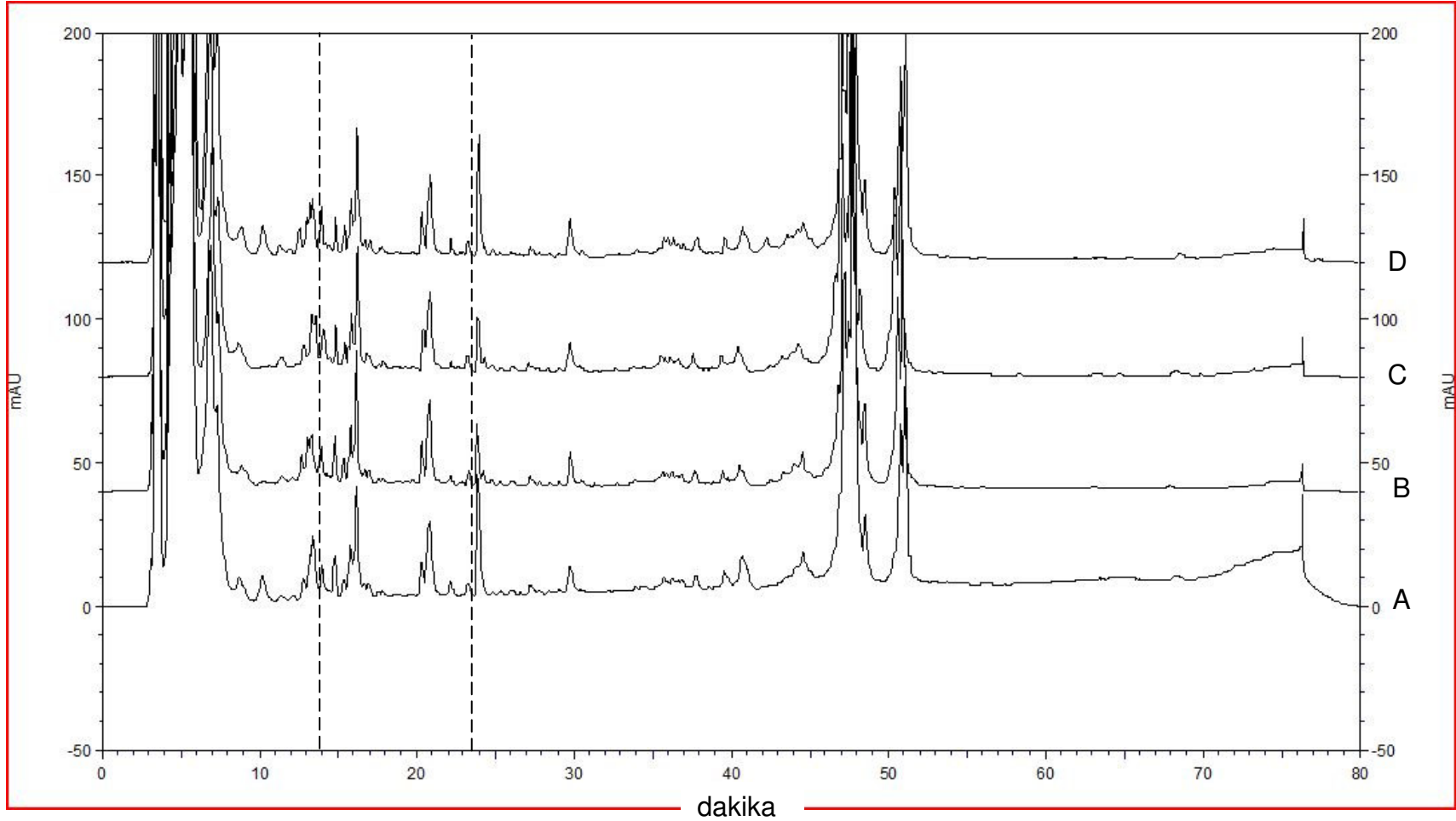


Ek 3.9. 200 barda homojenize edilerek 40°C'de depolanan örnekler

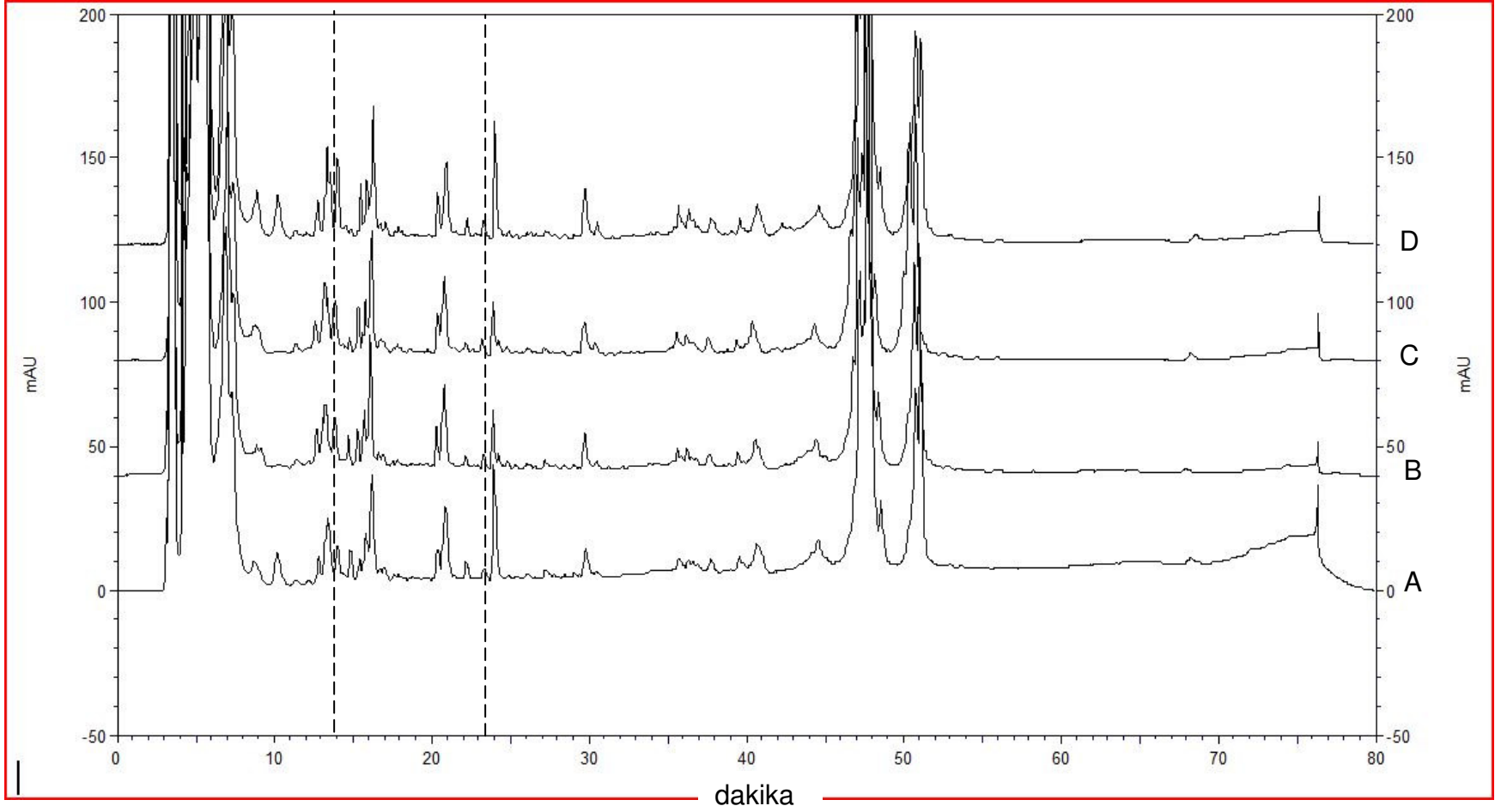


Ek 4. Raf ömrü süresince UHT süt örneklerinde görülen proteolizin RP-HPLC yöntemiyle incelenmesi

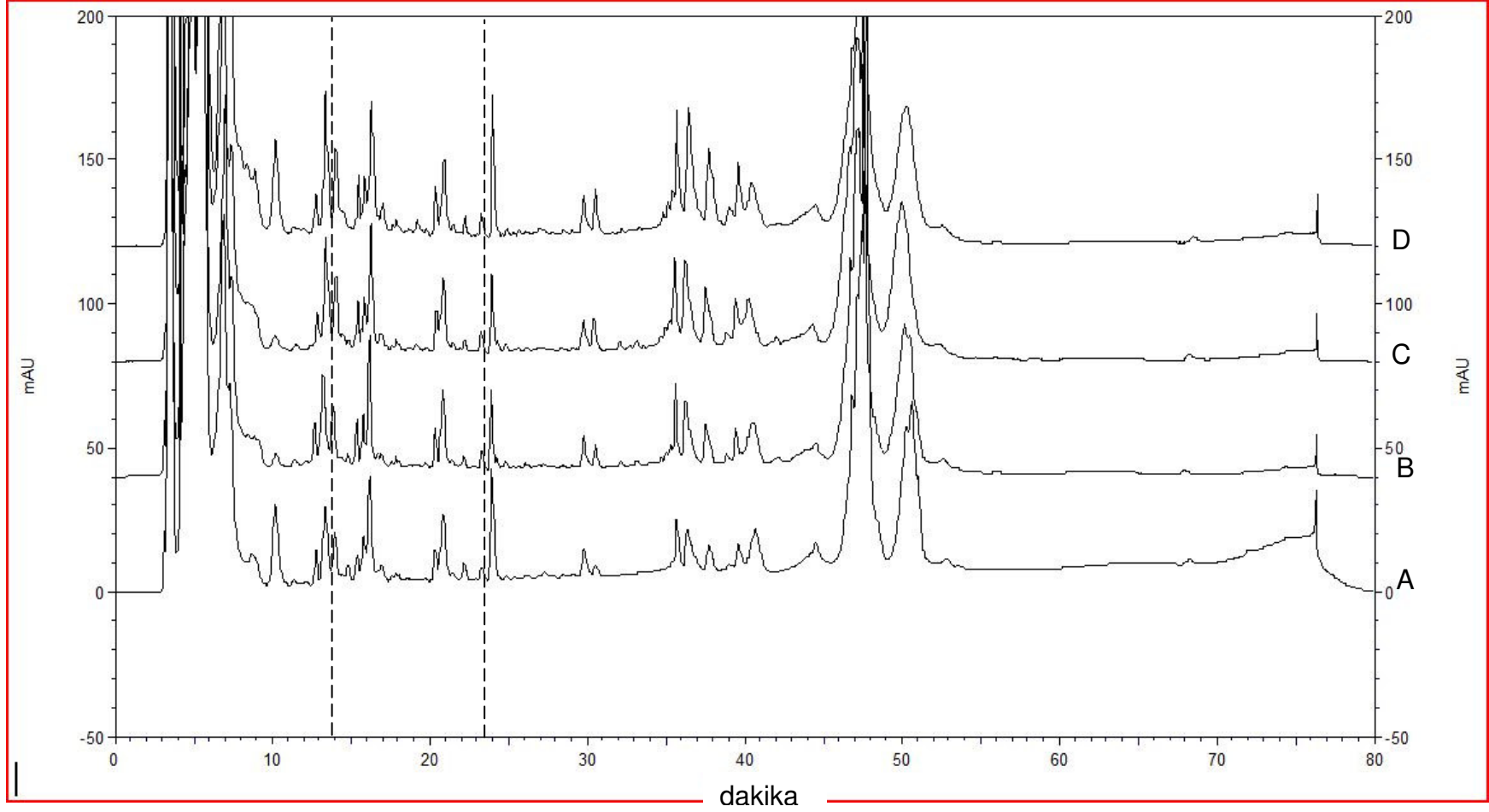
Ek 4.1. 150 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 10°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



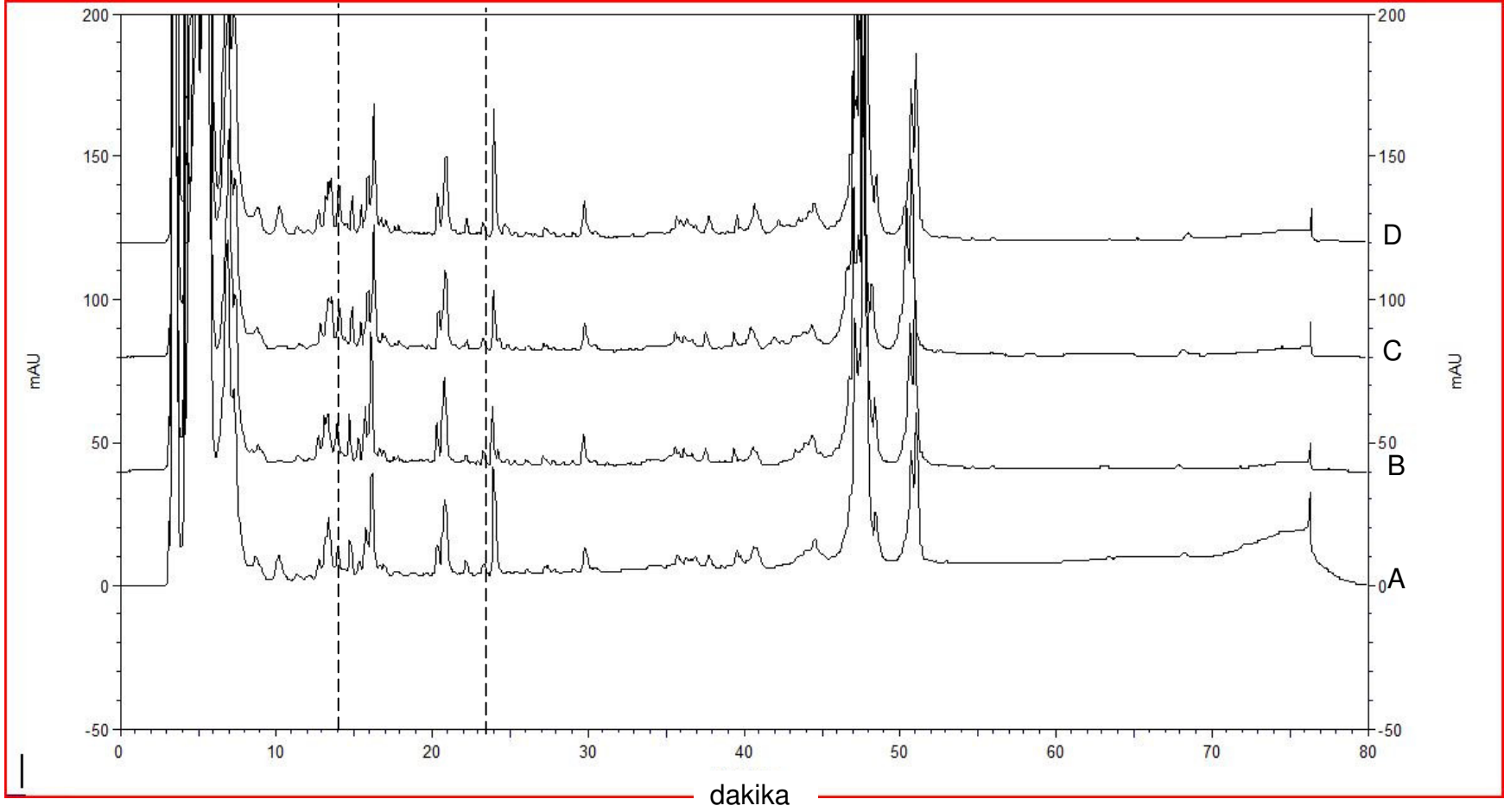
Ek 4.2. 150 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 20 °C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



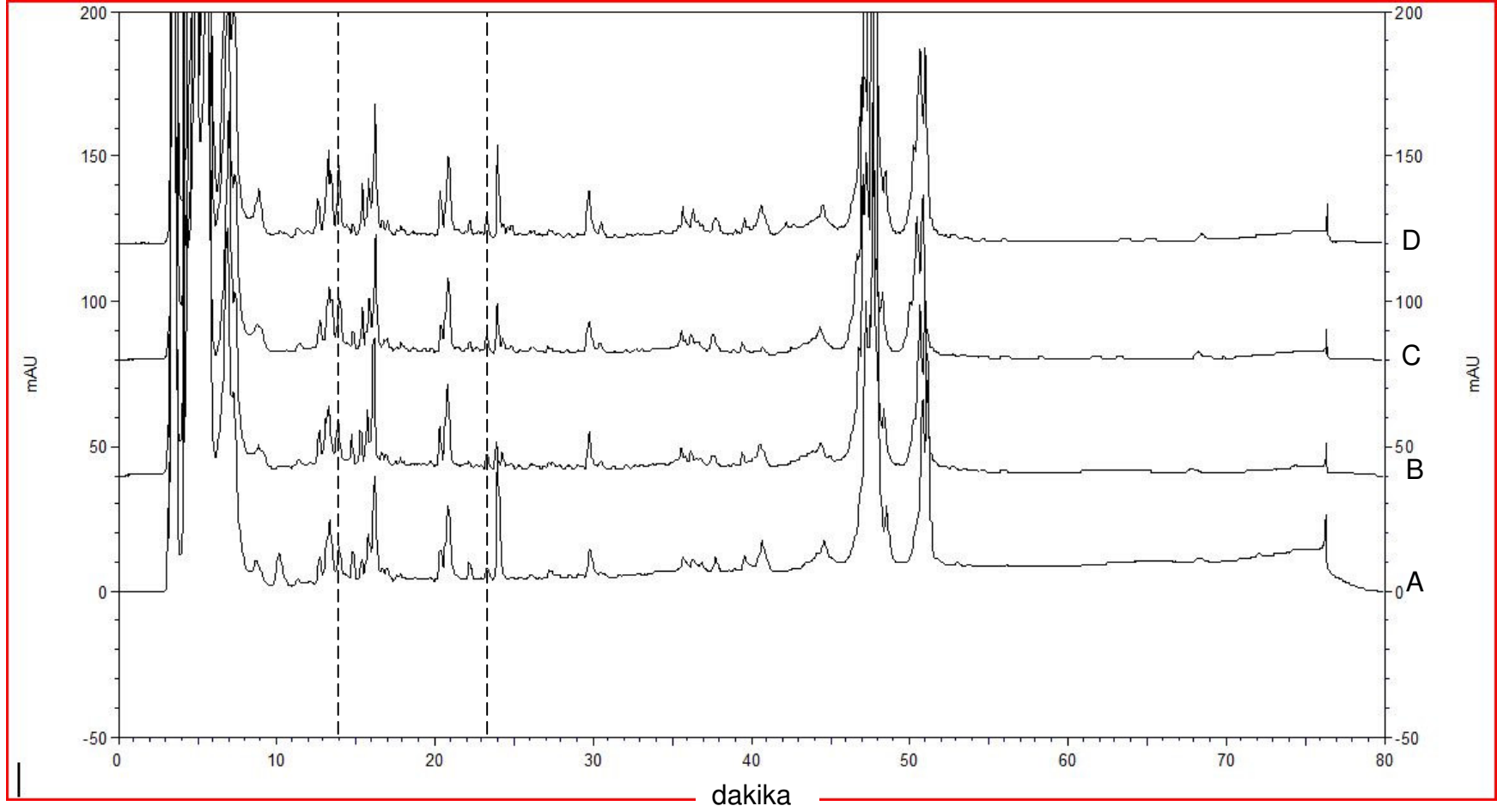
Ek 4.3. 150 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 40°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



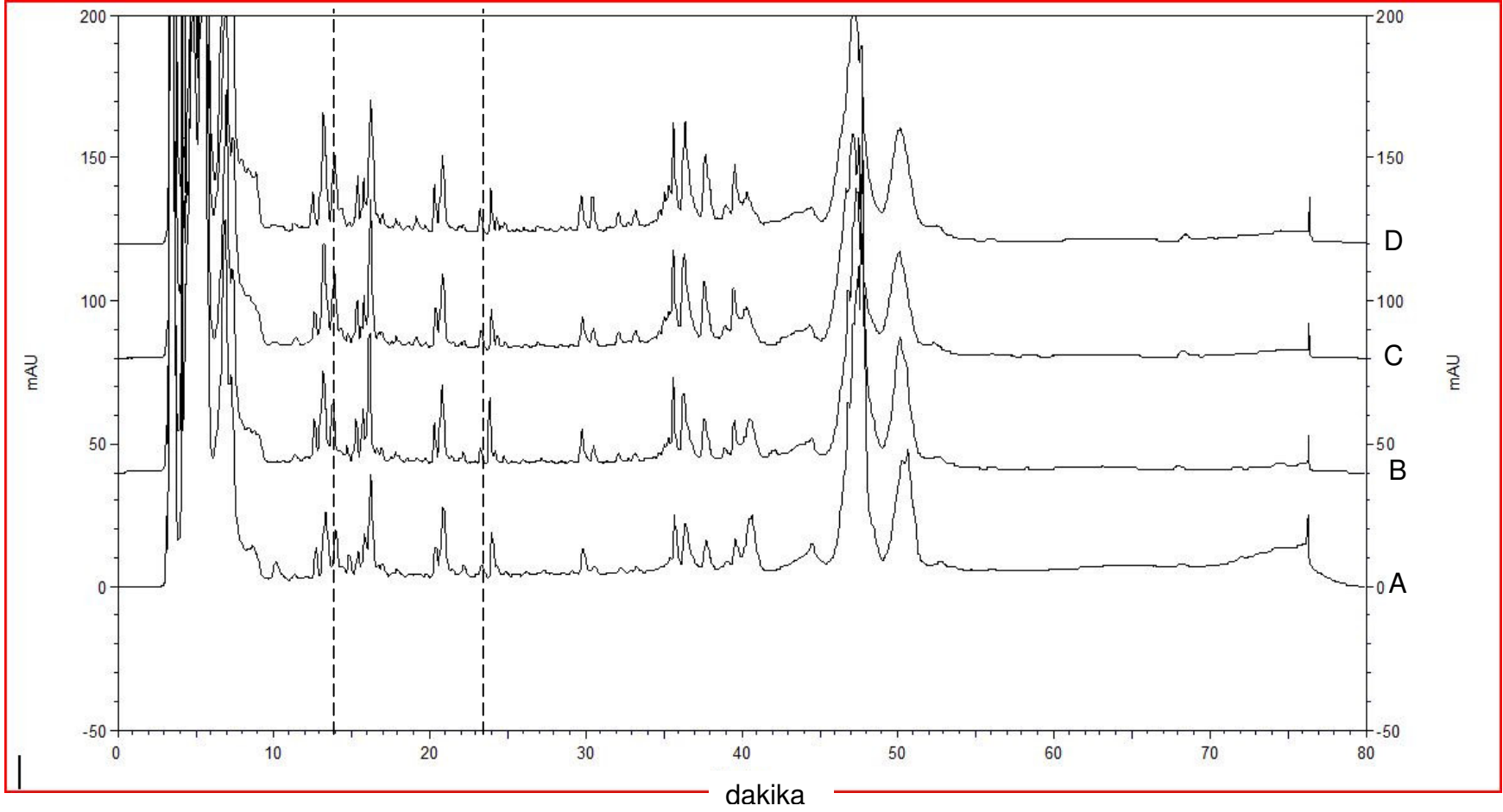
Ek 4.4. 175 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 10°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



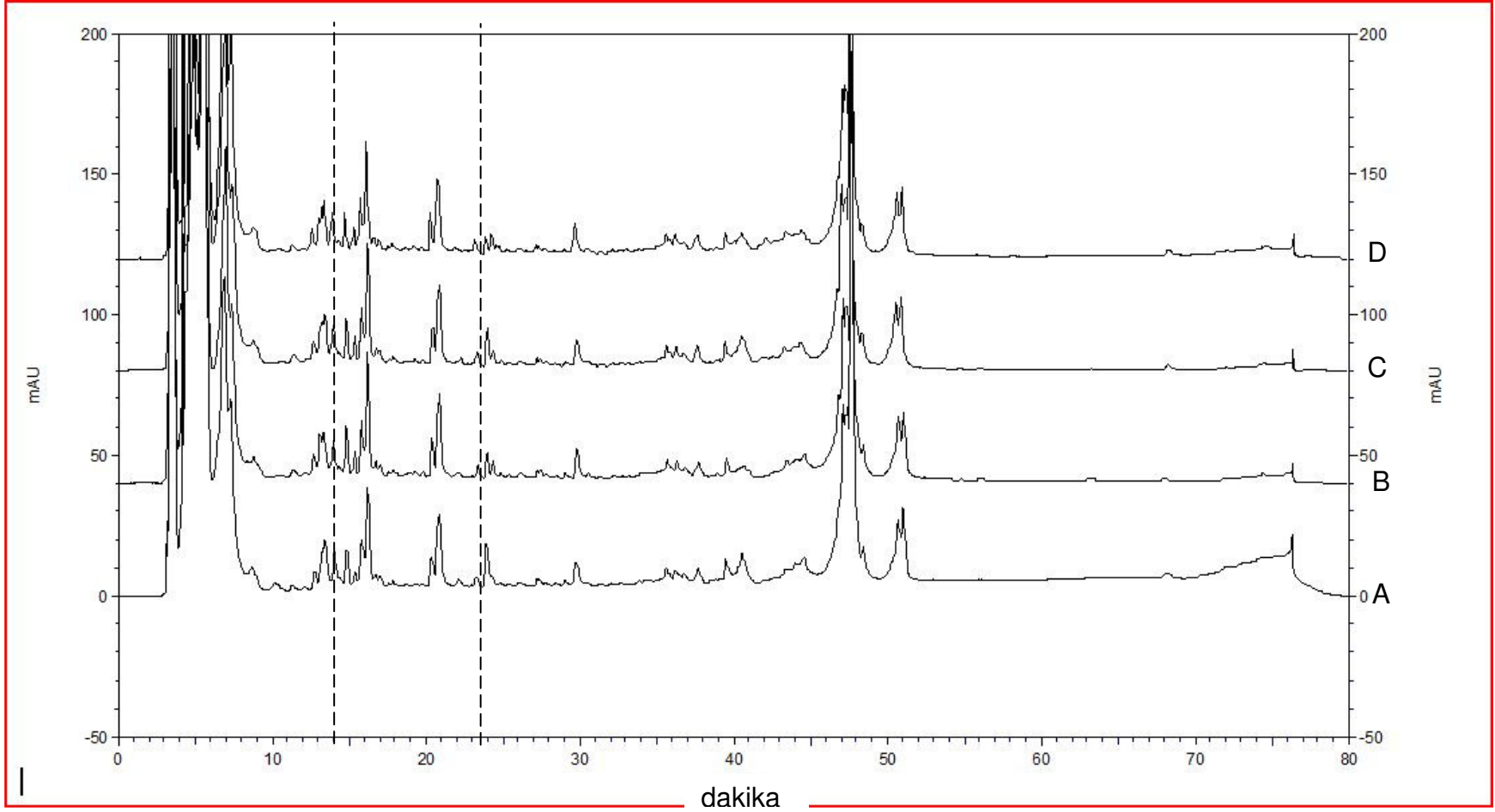
Ek 4.5. 175 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 20°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



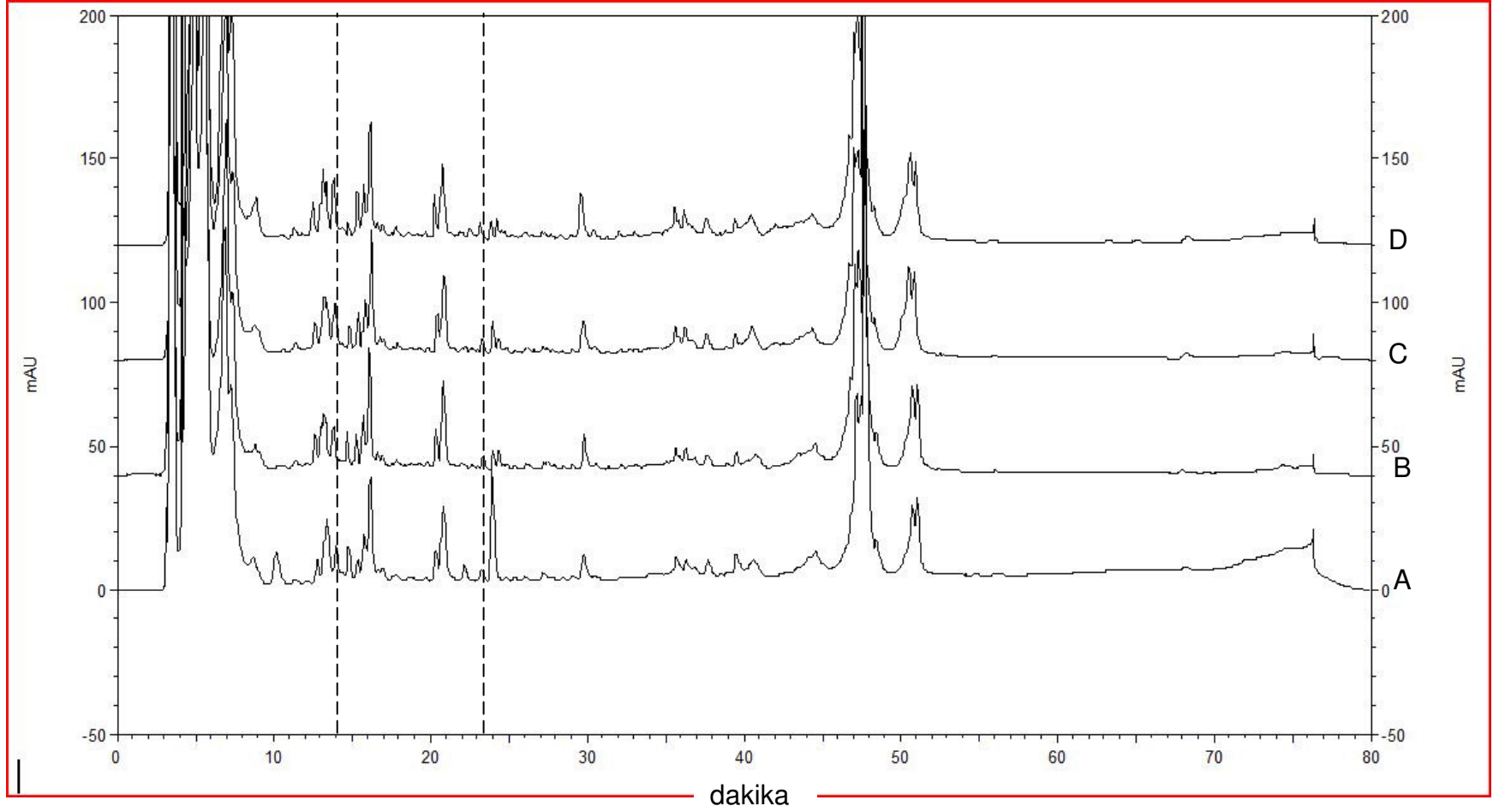
Ek 4.6. 175 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 40°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



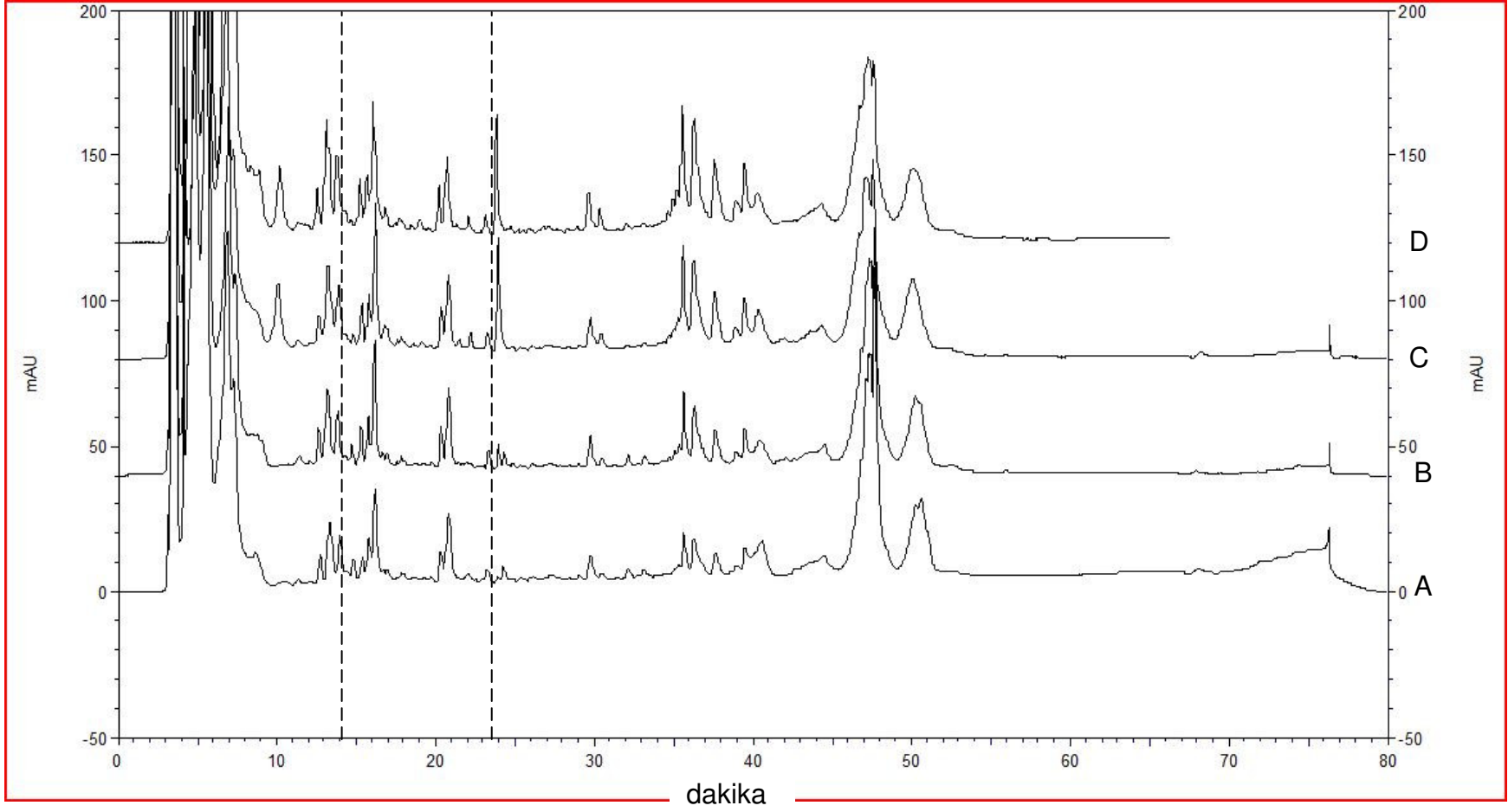
Ek 4.7. 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 10°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



Ek 4.8. 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 20°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



Ek 4.9. 200 bar homojenizasyon basıncı kullanılarak üretilen ve 40°C'de depolanan UHT sütlerin raf ömrü süresince RP-HPLC kromatogramları, A: 30. gün, B: 60. gün, C: 90. gün, D: 120. gün



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sanem YALÇINTAŞ GÜLBAŞ

Doğum Yeri : Burdur

Doğum Yılı : 1977

Medeni Hali : Evli

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : Atatürk Anadolu Lisesi Beşevler / ANKARA 1992-1995

Lisans : Hacettepe Üniv. Gıda Müh. Bölümü / ANKARA 1995-1999

Yüksek Lisans : 1. Hacettepe Üniv. Gıda Müh. Bölümü / ANKARA 1999-2002

2. ODTÜ Enformatik Enstitüsü (MIT) / ANKARA 2001-2004

Doktora : Hacettepe Üniv. Gıda Müh. Bölümü / ANKARA 2002-2007

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi:

1. Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniv. Gıda Müh. Bölümü 2000-2007

2. Sorumlu Yönetici, Düzen Norwest Özel Gıda Laboratuvarı 2007-