

**SÜTÜN RENNİTLENME KARAKTERİSTİKLERİ
ÜZERİNE ISI UYGULAMASI SONRASI
ULTRAFİLTASYON İLE KONSANTRE ETMENİN
ETKİSİ**

131037

**THE EFFECT OF CONCENTRATION BY
ULTRAFILTRATION AFTER HEAT TREATMENT ON
RENNETING CHARACTERISTICS OF MILK**

BENGİ AKBULUT

Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

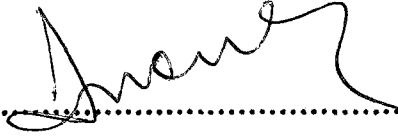
131037

2003

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

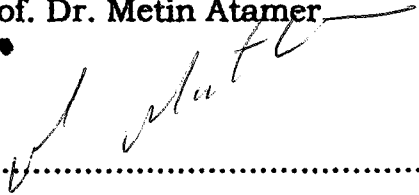
Bu çalışma jürimiz tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI'nda YÜKSEK MÜHENDİSLİK TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan

:


Prof. Dr. Metin Atamer

Üye

:


Prof. Dr. Mehmet Mutlu

Üye (Danışman)

:



Doç. Dr. Yaşar Kemal Erdem

ONAY

Bu tez /...../..... tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

...../...../20.....

ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU
BAŞKANLIĞI


Prof. Dr. Seyfi KULAKSIZ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

SÜTÜN RENNENLENME KARAKTERİSTİKLERİ ÜZERİNE ISI UYGULAMASI SONRASI ULTRAFİLTRASYON İLE KONSANTRE ETMENİN ETKİSİ

Bengi Akbulut

ÖZ

Sütün ısı işleme sonucu serum proteinleri denature olarak kazein miselleriyle kompleks etkileşimlere girmektedir. Proteinler arasındaki bu etkileşimlerin peynir üretimi sırasında olumlu ve olumsuz etkilerinden söz edilmektedir. Denature serum proteinlerinin pıhtı yapısında yer alması verim artışı sağlarken, diğer yandan serum proteinlerinin kazein miselleriyle etkileşimi rennet koagülasyon özelliklerini baskılamakta ve koagülasyon süresinin uzamasına neden olmaktadır.

Sütün ultrafiltrasyon (UF) ile konsantrasyonu, ısı işlem görmüş sütün rennetlenme karakteristiklerinin geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Isıl işlem ve UF ile konsantrasyon sürecinde proteinler arasında gerçekleşen etkileşimlerin hidrofobik bağlanmaları içerdği düşünülmektedir.

Bu çalışmada ısı işlem ve UF'nin süt protein yüzeyinde neden olduğu değişimlerin anlaşılması amacıyla, floresans probu bağlama yöntemi kullanılmıştır. Yağsız süt örnekleri farklı sıcaklıklarda ısı işlem uygulamasının ardından UF ile 2 kat ve 3 kat konsantre edilmiştir. Yağsız çiğ süt, ısı işlem uygulanmış sütler, konsantre edilmemiş süt ve bunların retentatlarında rennetlenme sürecinde yüzey hidrofobik kısımların değişimi izlenmiştir. Ayrıca aynı örneklerin pıhtılaşma süreleri, rennetlenme süreleri ve başlangıç sinerezis hızları belirlenmiştir.

Isıl işlem ve UF uygulaması ile yüzey hidrofobik kısımların sayısının azaldığı, fakat ısı işlem uygulanmış sütün UF ile konsantrasyonu sonucu koagülasyon süresinin kısalacağı belirlenmiştir.

Sonuç olarak, UF ile konsantrasyon ve ısl ışlem, sütün rennetlenme karakteristiklerini birbirinin tersi biçimde etkilemektedir. Bu iki uygulamanın üretimde birlikte kullanılmasının avantajlı olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: Süt proteinleri, ısl ışlem, ultrafiltrasyon, yüzey hidrofobisitesi, rennetlenme

Danışman: Doç. Dr. Yaşar Kemal Erdem, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü



THE EFFECT OF CONCENTRATION BY ULTRAFILTRATION AFTER HEAT TREATMENT ON RENNETING CHARACTERISTICS OF MILK

Bengi Akbulut

ABSTRACT

Heat treatment of milk causes denaturation of whey proteins and complex interactions among denatured whey proteins and casein micelles. This interactions of proteins have both positive and negative implications in cheese manufacture. On the one hand, denatured whey proteins could be incorporated into cheese curd, resulting in a higher yield from a given quantity of milk while on the other, the interactions of whey protein-casein micelles interfere with the rennet coagulation process, resulting in long coagulation times.

The ultrafiltration (UF) concentration of milk is used for improving renneting characteristics of heated milk. During heat treatment and UF concentration, the interaction between proteins are formed by hydrophobic bindings.

In this study, the fluorescent probe binding method was used to explain the changes on the surface of milk protein caused by heat treatments and UF. Skim milk samples were heat treated at different temperatures and then concentrated 2-fold and 3-fold by UF. The changes on hydrophobicity of the surface sites of milk proteins during renneting, in raw milk, heated milk, unconcentrated milk and the retentates were examined. Also the clotting time, renneting time and initial syneresis time of these samples were measured.

It was found that the number of surface hydrophobic sites decreased with heat treatment and UF, but the coagulation time decreased with UF in heat treated milks.

As a result, UF concentration and heat treatment have opposite effects on renneting properties of the milk, it may be an advantage that combining of these two processes.

Keywords: Milk proteins, heat treatment, ultrafiltration, surface hydrophobicity, renneting

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Yaşar Kemal Erdem, Hacettepe University, Department of Food Engineering



YAZAR KEMAL ERDEM
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
GIDA MÜHÜRLEME VE PAZARLAMA BÖLÜMÜ

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesi, araştırmanın planlanması, yürütülmesi aşamalarında büyük destek ve yardımlarını gördüğüm, bilimsel çalışma anlayışını örnek aldığım, değerli danışmanım Doç. Dr. Yaşar Kemal Erdem'e tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında bütün olanaklarını açan, spektrofotometrik ölçümleri gerçekleştirmemi sağlayan sayın Yrd. Doç. Dr. Levent Tezcan'a ve Hacettepe Üniversitesi, Hidrojeoloji Anabilim Dalı elemanlarına,

Ultrasantrifüj çalışmalarımın yürütülmesi sırasında tüm laboratuvar olanaklarını açarak yardımlarını esirgemeyen Doç.Dr. M. Ali Onur'a ve Hacettepe Üniversitesi, Biyoloji Bölümü elemanlarına,

Gerek materyal gerekse Congrilait 2002 katılımlarında destek sağlayan AK GIDA A.Ş. Gn. Md. Sayın Zeki Sözen'e,

Bu tezin yürütülmesinde her türlü çalışma olanağını sağlayan Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü'ne ve personeline,

Deneyimlerimden yararlandığım arkadaşım Arş. Gör. Zerrin Yüksel'e,

Her zaman yanımda olan sevgili dostlarım Arş. Gör. Ayşe Özbey ve Arş. Gör. Serpil Öztürk'e,

Hayatımın her döneminde gösterdikleri sevgi ve destek ile yanımda olan sevgili aileme,

içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
EKLER DİZİNİ.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
3. MATERYAL VE METOT.....	14
3.1. Materyal.....	14
3.2. Metot.....	14
3.2.1. Süt örneklerinin hazırlanması.....	14
3.2.2. Yağ miktarı tayini.....	14
3.2.3. Kuru madde miktarı tayini.....	14
3.2.4. Titrasyon asitliğinin belirlenmesi.....	14
3.2.5. pH değerinin belirlenmesi.....	15
3.2.6. Laktoz içeriğinin belirlenmesi.....	15
3.2.7. Kalsiyum iyon aktivitesinin belirlenmesi.....	16
3.2.8. Protein yüzey hidrofobisitesi (PSH) indeksinin belirlenmesi.....	16
3.2.9. Koagulasyon denemesi.....	17
3.2.10. ANS partitasyonunun belirlenmesi.....	18
3.2.11. Protein içeriğinin ve partitasyonunun belirlenmesi.....	18
3.2.12. Pıhtılaşma süresinin belirlenmesi.....	18
3.2.13. İstatistiksel analizler.....	19

YAZARIN İZİNİ ALMADIKÇA
BASKI VE YAYINLARI
YASAKTIR

İÇİNDEKİLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
4. SONUÇLAR.....	20
4.1. Ultrafiltrasyon öncesi ısıtıl işlemin protein yüzey hidrofobisitesinde ortaya çıkardığı değişimler.....	22
4.2. Ultrafiltrasyon öncesi ısıtıl işlemin rennetlenme karakteristikleri üzerine etkisi.....	33
5. TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	49
6. KAYNAKLAR.....	55
EKLER.....	60
ÖZGEÇMİŞ.....	66



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1. Isıl işlem görmemiş konsantre edilmemiş yağsız süt (UH-UC), 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri.....	24
Şekil 4.2. 70°C/5 dk ısıl işlem görmüş konsantre edilmemiş yağsız süt, 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri.....	25
Şekil 4.3. 80°C/5 dk ısıl işlem görmüş konsantre edilmemiş yağsız süt, 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri.....	27
Şekil 4.4. Isıl işlem görmemiş konsantre edilmemiş yağsız süt (UH-UC), 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş yağsız süt örneklerinin ANS titrasyon eğrileri.....	28
Şekil 4.5. Örneklerin yüzey hidrofobik kısımlarının sayısının (F_{max}) değişimi.....	29
Şekil 4.6. Isıl işlem görmemiş, 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş 2X retentatların ANS titrasyon eğrileri.....	30
Şekil 4.7. Isıl işlem görmemiş, 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş 3X retentatların ANS titrasyon eğrileri.....	30
Şekil 4.8. Örneklerin hidrofobik bağlanma afinitesinin ($1/K_d$) değişimi.....	31
Şekil 4.9. Örneklerin hidrofobik bağlanma sıklığının (F_{max}/K_d) değişimi.....	31
Şekil 4.10. Örneklerin birim protein başına düşen yüzey hidrofobik kısımlarının sayısının (F_{max}/P) değişimi.....	32
Şekil 4.11. Örneklerin protein yüzey hidrofobisite indeksi (PSH) değişimi.....	33

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

Sayfa

Şekil 4.12. Isıl işlem görmemiş sütün ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu).....	36
Şekil 4.13. Isıl işlem görmemiş sütün ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu).....	37
Şekil 4.14. 70°C/5 dk ısıl işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)...	38
Şekil 4.15. 70°C/5 dk ısıl işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu).....	39
Şekil 4.16. 80°C/5 dk ısıl işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)...	39
Şekil 4.17. 80°C/5 dk ısıl işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu).....	40
Şekil 4.18. UF ile konsantre edilmemiş örneklerde rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu).....	41
Şekil 4.19. UF ile konsantre edilmemiş örneklerde rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değişimi (Protein partitasyonu).....	42
Şekil 4.20. 2X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu).....	42

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.21. 2X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değişimi (Protein partitasyonu).....	43
Şekil 4.22. 3X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu).....	44
Şekil 4.23. 3X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değişimi (Protein partitasyonu).....	44
Şekil 4.24. Örneklerin pıhtılaşma sürelerinin değişimi.....	46
Şekil 4.25. Örneklerin rennetlenme sürelerinin değişimi.....	47
Şekil 4.26. Örneklerin başlangıç sinerezis hızları.....	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Örneklerin hidrofobisite parametreleri, protein derişimleri ve kalsiyum iyon aktiviteleri.....	23
Çizelge 4.2. Presipitatlarda ANS partitasyonu sonucu süre ve ANS derişimleri değeri.....	34
Çizelge 4.3. Presipitatlarda protein partitasyonu sonucu süre ve protein derişimleri değeri	35
Çizelge 4.4. Örneklerin pH değeri ve rennetlenme özellikleri.....	45
Çizelge 4.5. Presipitatlarda ANS/P partitasyonu sonucu süre ve ANS/P derişimleri değeri.....	53



EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Ek 1. ANS titrasyonu verileri.....	61
Ek 2. Hidrofobisite parametrelerinin tanımları.....	62
Ek 3. ANS partitasyonu verileri.....	63
Ek 4. Protein partitasyonu verileri.....	64
Ek 5. ANS/P partitasyonu verileri.....	65



1. GİRİŞ

Peynir üretiminde membran filtrasyon yöntemlerinin kullanımının yaygınlaştığı gözlenmektedir. Ülkemizde de süt sanayi kuruluşlarının bu konudaki altyapı çalışmalarını tamamlayarak bir membran filtrasyon yöntemi olan ultrafiltrasyona (UF) ilişkin teknoloji transferlerini gerçekleştirdiği bilinmektedir.

Süt yaklaşık %87 oranında su içeren seyreltik bir ortamdır. Evaporasyon, kurutma işlemleri ve peynir üretiminde serum fazın yapıdan ayrılması gibi işlemlerle yapıdan uzaklaştırılan su, bu aşamalara kadar depolama ve taşımada fazla enerji ve insan gücü tüketimine neden olmaktadır. Süt endüstrisinde membran filtrasyon tekniklerinin kullanımı bu nedenle önem kazanmıştır.

Sütün işlenmesinde kullanımı giderek yaygınlaşan UF, yumuşak peynirlerin üretiminde rahatlıkla kullanılırken, sert peynirlerin üretiminde bazı sorunlarla karşılaşmaktadır.

Peynir üretimi öncesinde zorunlu olarak uygulanan ısı işlem sütün rennetlenme karakteristiklerini etkilemektedir. Isıl işlem uygulaması ile protein moleküllerinin açılımı ve belirli bir sıcaklık derecesinin üzerinde yeniden düzenlenmesi söz konusudur. Isıl işlem sonucu süt proteinleri oldukça sıkı bir yapıya organize olmaktadır. Bu kompakt yapı nedeniyle, rennetlenme sırasında enzimin proteine etkimesi zorlaşmaktadır.

Uygulanan ısıl işlemin ardından sütün protein konsantrasyonunun UF ile artırılması ile proteinler yeniden yapılanmakta ve her iki uygulama sonucunda da ortaya çıkan protein-protein etkileşimleri hidrofobik bağlanmaları içermektedir.

Protein biyokimyası açısından konuya bakıldığında hidrofobisitenin, özellikle yüzey hidrofobisitesinin gıdaların protein bileşeninin fonksiyonları üzerinde önemli bir rol oynadığı genel kabul görmektedir.

Bunun için proteinin fonksiyonelliğini belirlerken hidrofobisitesini kavramak 6nem taşımaktadır.

Yukarıdaki nedenler g6z 6n6nde bulundurularak planlanan bu 7alışmada, ısıl işlem ve ultrafiltrasyonla konsantrasyon işleminin ayrı ayrı ve birlikte uygulanmasının s6t proteinlerinin y6zey hidrofobisitesi 6zerine etkileri ve y6zey hidrofobisitesinde ortaya 7ıkan değişimlerin, s6t6n rennetlenme karakteristiklerine nasıl modifiye ettiği belirlenmeye 7alışılmıştır.



2. LİTERATÜR ÖZETİ

Sütün işlenmesi sırasında hijyenik ve teknolojik nedenlerle zorunlu olarak uygulanması gereken ısı işlem, süt bileşenleri üzerinde geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz bir çok değişime neden olmaktadır. Özellikle yüksek pastörizasyon normlarında denaturasyon sonucu çözünürlüğü azalan serum proteinleri, moleküller arası disülfid bağlarının oluşumuyla ve hidrofobik etkileşimlerle kazein misellerine assosiyasyon olmaktadır (Haque and Kinsella, 1988, Corredig and Dalgleish, 1996, O'Connell and Fox, 2001). Ayrıca çözünür haldeki kalsiyum ve fosfat koloidal hale geçerek kazein misellerinin yapı ve özelliklerini etkilemektedir (Walstra and Jenness, 1984).

Serum proteinlerinin denaturasyonu, protein moleküllerinin açılımı (unfolding) ve bunu izleyen agregasyon ile iki aşamalı bir süreç olarak tanımlanmaktadır. β -laktoglobulin denaturasyon sonucu ortamda i) monomerik β -laktoglobulin, ii) birbirleri ile etkileşime girmiş β -laktoglobulin agregatları, iii) β -laktoglobulin/ α -laktalbumin agregatları şeklinde bulunabilmektedir (Oldfield et al., 1998). Bu agregatların kazein miselleriyle assosiyasyon düzeyi, uygulanan ısı işlemin normuna bağlıdır (Singh and Waungana, 2001). β -laktoglobulinin kazein miselleri ile assosiyasyonu α -laktalbumin varlığından etkilenmezken, α -laktalbumin ve kazeinin etkileşimi için ortamda β -laktoglobulin bulunması gerektiği bildirilmektedir (Corredig and Dalgleish, 1999).

Düşük pastörizasyon normunun üzerindeki ısı uygulamalar sütün rennetlenme karakteristiklerini de etkilemektedir. Peynir üretiminde birincil aşama olan sütün koagülasyonu; κ -kazeinin enzim etkisi ile para- κ -kazein ve glikomakropeptid hidrolize olduğu "enzimatik faz" ve yeterli düzeye ulaşan hidrolizasyondan sonra para- κ -kazein moleküllerinin flokülasyonunu içeren "agregasyon fazı" olmak üzere iki aşamalıdır (Dalgleish, 1980). Isı etkisiyle denature olan serum proteinleri (özellikle β -laktoglobulin) kazein misellerinin genellikle yüzeyinde bulunan κ -kazeinle etkileşime girerek kimozen enziminin Phe 105-Met 106 bağı kırmasını

(enzimatik faz) zorlaştırdığı, ayrıca misel yüzeyinde yarattığı sterik engelleme nedeniyle rennetlenmiş misellerin yakınlaşmasını ve birbirleriyle temas ederek agregat oluşturmasını (agregasyon fazı) önlediği düşünülmektedir (van Hooydonk et al., 1987). Daha önce anılan birbirleri ile etkileşime girmiş β -laktoglobulin agregatları da serum fazında dağılarak rennetlenmiş misellerin bir araya gelmelerine engel olmakta, bu nedenle pıhtılaşma süresi uzamakta ve ağ yapısı zayıf bir jel formunda oluşmaktadır (Imafidon and Farkye, 1993; Leaver et al., 1995; Waungana et al., 1996).

Sharma et al.(1990), 85°C/15 dk ısı işlem uygulanmış sütün rennetlenme sonucu κ -kazein ve glikomakropeptid oluşum hızının çiğ süte göre azaldığını belirtmektedir.

Denaturasyonun ileri düzeylerinde κ -kazein hidrolizinin ardından, denature β -laktoglobulin ile çok fazla etkileşime girmemiş miseller arasında az sayıda ve zayıf bağlanmalarla agregasyon gerçekleşmektedir (Singh and Waungana, 2001). Sıcaklığın artırılması ile rennetle pıhtılaşma süresinin uzadığı, oluşan pıhtının gevşek bir yapı gösterdiği ve sinerezis başlangıç hızının düştüğü (Dalgleish, 1990; Sharma et al., 1990; Guinee et al., 1996; Singh and Waungana,2001), 85°C'nin üzerindeki sıcaklık uygulamalarında ise pıhtı oluşumu gözlenmediği belirtilmektedir (Walstra and Jenness, 1984; Sharma et al., 1990; Waungana et al., 1998). Pıhtılaşma süresindeki artış β -laktoglobulinin denaturasyon düzeyine ve kazein miselleriyle assosiasyon düzeyine bağlıdır (Singh and Waungana, 2001). UHT işlemi ile serum proteinleri yaklaşık %70 düzeyinde denature oldukları için de UHT sütün rennetle koagülasyonu mümkün olmamaktadır (Schreiber, 2001).

Diğer yandan kazein miselleri için bilinen anlamda bir ısı denaturasyondan söz edilemez. Ancak çok yüksek normlardaki ısı uygulamaları ile hidrolitik değişimler göstermektedirler (Fox, 1981). Şiddetli ısı uygulamaları ile κ -kazeinin kimyasal olarak değişim

sergilemesi nedeniyle rennetlenebilme özelliğini kaybettiği düşünülmektedir (Leaver et al., 1995).

Süt bileşenlerinden serum proteinlerinin yanı sıra kalsiyum da ısıtılma oldukça duyarlıdır ve sıcaklık artışı ile çözünürlüğü azalmaktadır. Çözünür kalsiyum konsantrasyonunun azalması ile rennetle koagülasyon özellikleri baskılanmaktadır (Walstra and Jenness, 1984). Rennet koagülasyonunda jel ağının oluşumunu tetikleyen çözünür kalsiyumun kalsiyum fosfat formunda presipite olmasının koagülasyonun agregasyon fazını geciktirdiği öne sürülmektedir (Schreiber, 2001).

Serum proteinlerinin ısıtılma işlemi ile denature olarak pıhtı yapısına katılması ile peynir üretiminde verim artışı istenen bir durumdur (Dannenbergh and Kessler, 1988; Marshall, 1986). Bu nedenle ısıtılma işlemi uygulanmış sütte koagülasyon özelliklerini geliştirecek yöntemler üzerinde hala çalışılmaktadır.

Sütün ultrafiltrasyon (UF) ile konsantrasyonu bileşimindeki su fazının hacminin azalmasına neden olarak miseller arasındaki mesafenin azalmasını, böylece etkin çarpışma ve temas sayısının artmasını sağlamaktadır. Ayrıca UF uygulaması ile kalsiyum konsantrasyonunun artması agregasyon fazındaki etkileşimleri artıracığından koagülasyonun, işlem görmemiş süte oranla daha hızlı gerçekleşebildiği bildirilmektedir (Mehaia and Cheryan, 1983). Dolayısıyla UF ile konsantre edilen sütün pıhtılaşma süresi kısalmaktadır (Mehaia and Cheryan, 1983; Lucisano et al., 1985; Garnot, 1988).

Garnot (1988), enzimatik hız ve agregasyon hızlarının her ikisinin de artması sonucu pıhtılaşma süresinin kısaldığını savunurken, Casiraghi et al.(1989), UF retentatının rennetlenmesi sonucu enzimatik fazın yavaşladığı, fakat agregasyon fazı hızlandığı için toplam koagülasyon süresinin kısaldığını belirtmektedir.

Isıtılma işlemi sonrası UF ile konsantre edilen süt, rennetlenme özelliklerini geri kazanmaktadır. Isıtılma işleminin koagüle edilebilirlik üzerine olumsuz etkisi,

konsantrasyon faktörünün artmasıyla birlikte azalmaktadır (Green,1990; Sharma et al., 1990; Waungana et al., 1996; Guinee et al., 1996). Yüksek sıcaklık derecelerinde ısıtma işlemi uygulanması ile rennetlenme özelliğini tamamen kaybetmiş sütte protein konsantrasyonu UF ile 2-3 katına çıkarıldığında pıhtılaşma gözlemlendiği belirtilmektedir (Waungana et al., 1998).

UF retentatından elde edilen pıhtıda yüksek oranda serbest kazein miseli bulunmakta ve bu da viskoziteyi artırmaktadır. Pıhtının konsistansı, uygulanan ısıtma işlemi ve protein konsantrasyonuna bağlıdır. Farklı ısıtma işlemi uygulanan sütlerden elde edilen pıhtılar arasındaki konsistans farkı protein konsantrasyonunun artırılması ile azaltılabilmektedir (Casiraghi et al., 1989).

Protein konsantrasyonunun artması ile pıhtı sıkılaşma hızı artmakta ve pıhtı kesim süresi kısalmaktadır. Ayrıca, UF retentatından elde edilen pıhtıda sinerezis yavaşlamaktadır (Casiraghi et al., 1989)

Konsantre edilmemiş sülle karşılaştırıldığında UF retentatı kullanılarak aynı sürede pıhtılaşma elde etmek için gereken enzim miktarında da azalma olmaktadır (Lucisano et al., 1985).

Membran ayırma süreçleri; yapıdaki suyun uzaklaştırılmasının yanında sütün bileşenlerinin modifikasyonu amacıyla da yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Sütün endüstrisinde kullanılan membran ayırma yöntemleri ultrafiltrasyon (UF), nanofiltrasyon, mikrofiltrasyon ve ters osmozdur.

UF, molekül ağırlığı 1000–200000 Da arasında olan makro molekülleri çözücünden ve içerisinde çözünmüş moleküllerden ayıran, su ve küçük moleküller boyuttaki öğelerin geçişine izin verecek kadar geniş, ancak proteinler gibi yüksek moleküller boyuttaki bileşenleri tutacak kadar uygun porlara sahip membranlar kullanılarak, basınç altında yürütülen bir membran filtrasyon yöntemidir. Sütün UF'siyle su, laktoz, çözünen mineraller, protein olmayan azotlu bileşikler ve suda çözünen vitaminler membranı geçerek permeatı (ultrafiltrat) oluştururken, proteinler, sütün yağ

ve kolloidal tuzlar membran tarafından tutularak retentatı oluşturmaktadır (Fox, 1999).

UF membranının alıkoyma özelliklerini; molekül boyutu ve şekli, membran materyali, işlem parametreleri (uygulanan basınç, membran yüzeyindeki türbülans akış, sıcaklık, katı madde konsantrasyonu), membran konfigürasyonu, yığılma-tıkanma (fouling) ve adsorpsiyon etkisi, pH ve iyonik direnç (strength) gibi etkenler belirlemektedir (Cheryan, 1998).

Son yıllarda UF'nin süt endüstrisinde konsantrasyon ve fraksiyonlama amacıyla kullanımının yaygınlaştığı görülmektedir. UF retentatının starter kültür üretiminde kullanımı (Mistry and Kosikowski, 1985), peynir suyunun UF ile konsantre edilerek taze peynir üretiminde zenginleştirici olarak kullanılması (Tratnik et al., 1996), UF retentatının süt tozu üretiminde kullanılması (Caron et al., 2001) endüstriyel uygulamalarda en yaygın karşılaşılan örneklerdir.

Süt endüstrisinde UF'nin temel kullanım yeri peynir üretimidir. Membran teknolojistleri peynir üretimini, protein ve yağın pıhtıda konsantre edildiği, laktoz, çözünen proteinler, mineral ve diğer minör bileşenlerin peynir suyu ile kaybedildiği bir fraksiyonlama işlemi olarak tanımlamaktadır (Cheryan, 1998).

Peynir üretiminde UF kullanımının üstünlükleri aşağıdaki şekilde özetlenebilir:

- Yapıda daha fazla serum proteini ve bağlı su kalmasıyla ilişkili olarak peynir veriminde %10-30 artış olmaktadır.
- Konsantre edilmemiş sütle karşılaştırıldığında aynı sürede koagülasyon olması için gerekli enzim (rennet) miktarı azalmaktadır.
- İşlenecek sütün hacmi azalmakta, buna bağlı olarak peynir teknelerinin sayısı azalmakta ve işletme alanı daha etkin kullanılabilir hale gelmektedir.

- Su ve diğ er  oz n r bileşenler UF sırasında yapıdan uzaklaştırıldığı için üretimde çok az peynir suyu açığa çıkmaktadır. UF permeatı peynir suyuna göre daha tatlı ve daha berraktır, protein içermemektedir, fermente edilebilir karbonhidrat (laktoz) ve protein olmayan azotlu bileşikler içermektedir. Bu nedenle peynir suyundan daha kolay işlenebilmektedir.
- UF ile protein içeriği standardize edilebildiği ve ürün mevsim değişikliklerinden daha az etkilendiği için standard ürün kalitesine ulaşmak daha yüksek olasılıkla gerçekleşmektedir.

Ancak membran ayırma yöntemlerinin kullanımında bazı teknik zorluklarla da karşılaşılmaktadır:

- Sütün protein içeriği %12-14' n üzerine çıkarıldığında, viskozitede belirgin bir artış olmakta, bu da starter kültür ve rennetin süte homojen karıştırılmasını zorlaştırarak peynirde tekstürel sorunlara neden olmaktadır. UF öncesinde süte NaCl, sitrat veya asit eklenerek bu sorunların kısmen önüne geçilebilmektedir.
- Retentatın sisteme geri beslenmesi yağın kısmi homojenizasyonuna neden olabilmekte ve bu da sert peynirlerde tekstürel sorunlara yol açmaktadır. Ayrıca, retentatın ısıyla ve havayla teması sonucu serum proteinleri etkilenebilmekte bu da peynirin nem içeriğini ve tekstürünü etkilemektedir.
- Yarı-sert ve sert peynirler düşük nem içeriğine dolayısıyla yüksek kuru maddeye sahiptirler. UF ile tam konsantrasyon koşulunda gereken kuru madde/yağ oranına arzulanan biçimde ulaşlamayabilmektedir.
- Retentatın tamponlama kapasitesi yüksek olduğu için laktik asit üretimi sonucu pH'nın istenen düzeye indirilmesi sorun olabilmektedir (Cheryan, 1998).

Süt normal pH değerinde (pH 6,7) ultrafiltre edildiği zaman kazein misellerine bağlı bulunan mineral tuzlar (Ca, Mg, P) proteinlerle aynı ortamda konsantre olmaktadır. Bunun sonucunda laktik asit bakterilerinin asitle pıhtılaşma kinetikleri, optimum pH değeri, pıhtının reolojik özellikleri, olgunlaştırma enzimlerinin aktivitesi, bozucu floranın gelişim ve üreme hızı ve olgunlaşma sırasında peynirin su tutma kapasitesi gibi peynir üretiminin temel parametrelerini modifiye eden tamponlama kapasitesi artmaktadır. UF retentatının mineral tuz içeriği ayarlanarak tamponlama kapasitesini düşürülebilmektedir. Bu amaçla UF sırasında veya öncesinde laktik starterler veya asitlendirici ajanlar (glukono- δ -lakton veya organik asit) kullanılarak sütün pH'sı düşürülebilmektedir. Asitliğin artmasıyla ortamda koloidal halde bulunan kalsiyum ve magnezyum fosfat çözünebilir hale geçip permeata uzaklaşmaktadır. Mineral tuz içeriğinin ayarlanmasının bir diğer yolu ise UF sırasında veya sonrasında retentata NaCl ilavesidir. NaCl ilavesi ile iyonik direncin artması sonucu kazein fosforil gruplarının iyonizasyonunun azalmasıyla koloidal kalsiyum fosfat çözünerek permeata geçmektedir (Fox, 1999).

Peynir üretiminde UF ile konsantre edilmiş süt kullanımı ile teorik olarak verim artışı sağlanabilmektedir. Bu konuda üç farklı yaklaşım söz konusudur.

1) Peynir sütünün protein standardizasyonu amacıyla UF kullanımı: Süt, hacim konsantrasyon oranı iki katına (2X) kadar konsantre edilerek standardizasyon gerçekleştirilmekte ve geleneksel yöntemlerle peynire işlenmektedir. İşletmelerde toplanan sütün protein içeriği laktasyon periyodu, iklim ve beslenme gibi nedenlerle değişiklik göstermektedir. Düşük protein içerikli pıhtı gevşek bir yapıdadır ve bu pıhtıdan peynir suyunun ayrılması sırasında kazeinin kaybı söz konusu olmaktadır. UF ile protein içeriğinin bir miktar artırılması ile bu sorun çözümlenebilmektedir. Düşük konsantre retentat (low concentrated retentate) üretimi veya protein standardizasyon prosesi uygulamalarında

peynir üretimi için var olan işleme donanımları kullanılabilmekte ve işletme UF uygulamasına kolaylıkla uyarlanabilmektedir.

2) Orta düzeyde konsantre retentat üretimi için UF kullanımı: Bir çok peynir çeşidinin üretiminde kullanılan konsantrasyon aralığındaki retentatlardan (2X-4X) peynir üretiminde kullanılmak üzere pıhtı işleme ve kesme özelliğine sahip özel ekipmanlar kullanılmaktadır. Orta derecede konsantre edilmiş UF retentatının peynir üretiminde kullanılmasıyla elde edilen kazanç, bu yöntemin geleneksel peynir üretim yöntemi yerine kullanılması için yeterlidir. Bunun yanı sıra, UF retentattan elde edilen ürünün organoleptik kalitesi de tüketici tarafından kabul edilebilir düzeydedir.

3) Sıvı-peynir üretimi veya tam konsantrasyon ile UF kullanımı: Bu yöntemle UF ile 4-8 kat konsantre edilerek elde edilen retentatlardan sinerezis süreci uygulanmadan peynir elde edilebilmektedir. Konsantrasyon faktörü çok yüksek olan retentattan elde edilen peynir kırıntılı (crumbly) bir yapı sergilemektedir (Fox,1999).

UF retentat ile üretilen Cheddar peyniri, genellikle sert, ufalanmış, unsu, yapışkan bir yapı göstermektedir. Bu sorunların UF işleminin sütün tamponlama kapasitesi üzerine etkisi, süt bileşenlerinin serum fazında dağılımı, enzimlerin aktivitesi ve oluşan jelin yapısından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca UF retentatının serum fazında kalıntı laktoz miktarının yüksek olması da peynir kalitesinde düşüşe neden olabilmektedir. Çünkü laktozun laktik aside dönüşmesi istenilen pH, aroma ve tadın gelişmesi için önemlidir (Sharma et al., 1989).

UF retentatından Cheddar peyniri üretimi konusunda bir başka çalışma Kosikowski et al.(1985) tarafından yapılmıştır. Pastörize süt, 54°C'de 2,8 kg/cm² basınçta UF ile 1,9 ve 4,5 kat konsantre edilmiş, starter ve rennet ilavesi 32°C'de, pişirme ve karıştırma 38°C'de gerçekleştirilmiştir. Kontrol peynirde verim 10,1 kg peynir/100 kg kontrol süt iken 1,9X UF peynirde verim 19,4 kg peynir/100 kg retentat olarak bulunmuştur. 2-4 ay olgunlaştırma sonucunda UF peynirlerde tat- koku ve tekstür

özelliklerinin kontrol peynire göre daha iyi olduğunu tespit etmişlerdir. UF retentat peynirinin diğerine göre daha kolay şekil aldığını, ayrıca optimum kalite özelliklerinin 1,7X retentatla yapılan üretimde elde edildiğini tespit etmişlerdir.

Fernandez and Kosikowski (1986), yaptıkları çalışmada UF retentatı kullanarak doğrudan asitlendirme ile ürettikleri Mozzarella peynirinin fiziksel özelliklerini incelemişlerdir. Retentatta pıhtı oluşumunun kontrole göre daha hızlı olduğunu saptamışlardır. 2X retentattan elde edilen pıhtının kesim anına gelmesi 30 dk. sürerken kontrol sütte elde edilen pıhtı için bu süre 60 dk.'ya çıkmaktadır. 1,4X ve 1,7X retentatlar için pıhtı kesim süresi bu iki süre arasındadır. Retentatla üretilen direkt asitlendirilmiş Mozzarella peyniri kontrole göre daha serttir fakat sünme özellikleri arasında farklılık gözlenmemiştir. Kontrol peynirin nem içeriği, retentat peynire göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun kontrol peynirde serumla daha fazla yağ kaybı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Retentat konsantrasyonunun artmasıyla Mozzarella peynirinde verim artışı konsantrasyon faktörüne göre beklenenden daha yüksek bulunmuştur. Kontrol süt ile 10,1 kg peynir/100 kg süt üretilirken 2X retentat kullanımı ile bu değer 22,6 kg/100 kg süte çıkmaktadır. Protein, yağ ve toplam kuru madde bazında üretilen peynir miktarı da retentatla üretilen peynirde daha fazla bulunmuştur. Bu çalışmada 2X retentattan Mozzarella üretiminin yapılabileceği belirtilmektedir.

Fernandez and Kosikowski (1986) bir başka çalışmalarında düşük nem içerikli Mozzarella peyniri üretiminde UF retentatı kullanmışlardır. Üretimde 1,5X, 1,75X ve 2X retentatlar kullanılmış ve daha önceki çalışmadan farklı olarak süt ve retentatlar direkt asitlendirme yerine *L.bulgaricus* ve *S.thermophilus* ile inoküle edilmiştir. Kontrolde pıhtı oluşumu ve sıkılaşıma (curd firming) 32°C'de 60 dk. sürerken, aynı rennet konsantrasyonunda 2X retentatta bu süre 30 dk.'ya düşmektedir. Düşük nem içerikli Mozzarella peynirinde sertlik, konsantrasyon faktörü ile birlikte artarken eriyebilme ve yağ sızma değerleri arasında fark

gözenmediği belirtilmektedir. Üretilen %50 nem içerikli Mozzarella peynirinde verim 11,8 kg peynir/100 kg kontrol süt değerinden 23,7 kg/100 kg 2X retentat değerine çıkmıştır. Elde edilen verim, konsantrasyon faktörüne göre tahmin edilenden daha yüksektir. Fiziksel özellikler, eriyebilirlik, sünme özellikleri kontrol peynirle karşılaştırıldığında retentat peynirlerde daha olumlu sonuçlar alındığı belirtilmektedir. Optimum sonuçları 1,75X retentatla üretilen peynirde elde etmişlerdir.

Bush et al. (1983) yaptıkları çalışmada UF ile 2 kat konsantre ettikleri sütleri Colby ve Brick peynirleri üretiminde kullanmışlardır. Colby ve Brick peynirlerinin üretimlerindeki fark eklenen starter kültür ve rennet miktarlarıdır. UF retentatı ile yapılan üretimle starter kullanımında %15, rennet kullanımında %45 oranında azalma sağlandığı belirtilmektedir.

Qvist et al. (1987), UF ile 5 kat konsantre ettikleri sütlerle farklı starter kültürler kullanarak Havarti peyniri üretmişlerdir. Süte UF öncesi ön asitlendirme yapılmadığında retentatta tutulan kalsiyum miktarı %77-84 oranında iken pH 6,3'e asitlendirilmiş sütte bu oran %62-72'ye düşmektedir. Asitlendirme yapıldığında daha az mineral yapıda kaldığı için tamponlama kapasitesi azalmaktadır. UF peynirlerde flavor gelişiminin protein degradasyonunun gecikmesiyle ilgili olarak yavaş ilerlemesine rağmen, 5X retentattan üretilen havarti peynirlerinin renk, tekstür, yapı ve flavor bakımından geleneksel Havarti peyniri ile aynı özellikleri gösterdiği belirtilmektedir.

Versteeg and Hickey (1993) çalışmalarında 2X'e kadar konsantre ettikleri pastörize sütten Cottage peyniri üretmişlerdir. Asitlendirilmiş peynir pıhtısının 10 mm küpler halinde kesilmesi, pişirilmesi, yıkanması ve krema ekleme ile üretilen Cottage peyniri diğer peynirlerin aksine dayanıksız ve çabuk bozulabilen bir peynir türüdür ve koruyucu madde eklemekten yaklaşık raf ömrü 14-21 gündür. İşletme kapasitesinin 100 kg süt için 1,25X retentat kullanımı ile 16,5 kg'den 26,6 kg peynire, 1,5X retentat kullanımı ile 33,4 kg peynire yükseldiği belirtilmektedir. 1,25X

retentatla üretilen Cottage peynirinin pıhtı yapısı ve tekstür özelliklerinin 1,5X retentat ve kontrol süte göre daha olumlu olduğu gözlenmiştir. Protein konsantrasyonunun artırılmasıyla pişirme süresi ve nem içeriği azalırken, pıhtı kesim pH'sına (pH 4,7) ulaşma süresi artmaktadır. UF retentatı kullanımının bir diğer avantajı elde edilen pıhtının işleme kolaylığıdır.

Spangler et al. (1990), yağı %3,1'e standardize edilmiş, pH'sı %10'luk laktik asitle 6,4'e ayarlanmış pastörize sütü 3,6-5 kat konsantre etmiş ve Gouda peyniri üretiminde kullanmışlardır. Çalışmada üretilecek peynirin Gouda olarak seçilmesinin nedeni bu peynirde 5X konsantrasyon uygulaması ile az miktarda serum sineresisi sonucu istenilen nem seviyesine ulaşmanın kolay olmasıdır. Elde edilen sonuçlara göre UF Gouda peyniri, geleneksel yöntemle üretilen peynire göre yüksek nem içeriği, düşük "Instron" sertliği ve düşük proteoliz özellikleri göstermektedir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Denemelerde kullanılan çiğ inek sütü Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Entegre Pilot İşletmeleri'nden sağlanmıştır.

Süt, 5000 rpm, 7°C'de 10 dakika santrifüjlenerek (Heraeus Labofuge AG, Germany) yağı ayrıldıktan sonra 1:10000 oranında sodyum azid (NaN₃) eklenerek prezerve edilmiş ve denemelerde kullanılmak üzere 10°C'nin altında saklanmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Süt rneklerinin Hazırlanması

Yağsız çiğ süt ve sıcak su banyosunda 70°C/ 5 dk, 80°C/ 5 dk ısıl işlem uygulanmış süt rnekleri Amicon "stirred cell" Model 8200 (Amicon GmbH, Germany) ultrafiltrasyon dzenesinde YM 10 (mwco 10 kDa) membran kullanılarak 3±0.5 kg/cm² basınçta (azot gazı ile) permeat/süt hacmine göre iki kat (2X) ve üç kat (3X) konsantre edilmiş ve işlem görmemiş süt rneği ile (UC) birlikte denemeye alınmıştır.

3.2.2. Yağ Miktarı Tayini

Çiğ süt örneğinin yağ içeriği Gerber yöntemine göre saptanmıştır (Anonymous, 1990).

3.2.3. Kuru Madde Miktarı Tayini

TS 1018 Çiğ Süt Standardı'na göre saptanmıştır (Anonymous, 1994).

3.2.4. Titrasyon Asitliğinin Belirlenmesi

TS 1018 Çiğ Süt Standardı'na göre SH birimiyle saptanmıştır (Anonymous, 1994).

3.2.5. pH Değerinin Belirlenmesi

Bir Fisher, Accumet pH metre (Model 610A) ve Cetrek kombine elektrot kullunularak saptanmıştır.

3.2.6. Laktoz İçeriğinin Belirlenmesi

Örneklerin laktoz içeriği, Uluslararası Standart FIL:IDF 28:1974'e göre (Anonymous, 1974) saptanmıştır. Bu yöntem ile saptanan sütün laktoz içeriği, yüzde ağırlık olarak bulunan laktoz monohidrat ($C_{12}H_{22}.H_2O$) cinsinden belirlenmektedir.

Yöntem, süt proteinleri uzaklaştırıldıktan sonra, laktoz ile Kloramin-T ve potasyum iyodür arasındaki tepkimede indirgenen halojen niceliğinin titrasyonla saptanarak, laktozun dolaylı olarak hesaplanması temeline dayanmaktadır. Metot, genel ilkelerinden sapılmaksızın ancak örnek niceliği ve kimyasalların hacimleri azaltılarak uygulanmış ve çalışma iki paralel halinde yürütölmüştür.

Yöntem gereği denemede, tungustik asit belirteci (7 g $Na_2WO_4.2H_2O$, 870 mL su 0.1 mL ortofosforik asit), 0.040N Kloramin-T özeltisi ($C_7H_7CINNaO_2S.3H_2O$), 0.1N sodyumtiyosülfat özeltisi ($Na_2S_2O_3.5H_2O$), %10'luk potasyum iyodür özeltisi (KI), %1'lik nişasta özeltisi, 2N hidroklorik asit özeltisi (HCl) kullanılmıştır.

Deneme için hazırlanan süt örneklerinden 10 mL alınarak 100 mL'lik balon jøjeye aktarılarak tartılmış ve üzerine 25 mL damıtık su, ardından 40mL tungustik asit belirteci eklenerek karıştırılıp balon hacmine tamamlanmıştır. Balon içeriği filtre kağıdından (Whatman No:1) süzülmüş, süzüntüden bir erlene 10 mL aktarılıp, üzerine 5 mL KI özeltisi ve tam 20 mL Kloramin-T özeltisi eklenip hava almayacak bir şekilde kapatılan erlen, karanlıkta oda sıcaklığında 90 dk bekletilmıştir. Ardından bu içeriğe 5 mL HCl eklenerek nişasta belirteci eşliğinde 0.1N $Na_2S_2O_3$ ile titre edilmiştir. Ayrıca tanık deneme yapılmıştır.

Sonuç aşağıdaki eşitlik yardımıyla bulunmuştur;

$$\% \text{laktoz} = \frac{(T.H.-\ddot{O}.H.) \cdot 0.996 \cdot 0.18 \cdot 100}{m}$$

Bu eşitlikte;

T.H. : Tanık titrasyonda harcanan tiyosülfatın niceliği (mL).

Ö.H. : Örnek titrasyonunda harcanan tiyosülfatın niceliği (mL).

m: Başlangıçta alınan örnek niceliği (g).

0.996: Çözelti hacminden kaynaklanan çarpan.

3.2.7. Kalsiyum İyon Aktivitesinin Belirlenmesi

Örneklerin kalsiyum iyon aktivitesi Orion Ionalyzer (Model 407A, USA) ve Sartek Model 3041 kalsiyum elektrodu (U.K.) kullanılarak saptanmıştır. Ölçümlerden önce tüm örnekler % 2 oranında İyonik Direnç Standardizasyonu Tamponu eklenmiştir.

3.2.8. Protein Yüzey Hidrofobisitesi (PSH) İndeksinin Belirlenmesi

Protein yüzey hidrofobisitesi Bonomi et al. (1988) ile Pagliarini et al. (1990)'a göre, gereken modifikasyonlar gerçekleştirilerek saptanmıştır. Metot genel hatları ile aşağıda özetlenmiştir:

Spektrofluorimetre (Perkin Elmer LS-50,USA) bir deterjan çözeltisi (% 5, Triton-X 100, Fluka cat.no. 93426) kullanılarak ayarlanmıştır. $\lambda_{ex}=390$ nm, $\lambda_{em}=480$ nm, bandwidth=5 nm'dir.

Tek başına fluoresans göstermezken, bir proteinle hidrofobik yüzey kısımlara bağlanarak oluşturduğu kompleksin fluoresans gösterdiği ANS (8-anilidonaphthalene-1-sulfonic acid ammonium salt, Merck cat. no. 10762) bu çalışmanın fluoresans probudur. Yukarıda anılan örneklerde öncelikle ANS titrasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla örneklerden 10'ar

mL alınmış, 1 mM, 5 mM ve 10 mM ANS çözeltilerinin her birinden sırasıyla 10 µL, 25 µL ve 50 µL alınarak örneklere eklenmiş ve floresans intensiteleri ölçülmüştür. Örneğe ANS eklenmeden floresansı ölçülüp kör olarak kullanılmıştır. Elde edilen verilerin kinetik analizinde; Lineweaver-Burk, Hanes-Wolf, Eadie-Hofstee ve Direct Linear eşitlikleri ayrı ayrı kullanılarak F_{max} ve K_d değerleri hesaplanmıştır. F_{max} ; doymuş ANS derişimindeki maksimum floresanstır, fonksiyonel olarak hidrofobik kısımların sayısını vermektedir (titrasyon eğrisinin asimptotik değeri). K_d ; ANS titrasyonu eğrisinde Michaelis- Menten kinetiğine göre $F_{max}/2$ koşulundaki ANS derişimidir ve floresant karakterdeki ANS-protein kompleksinin dissosiyasyon sabitidir. Sonuçta hidrofobisiteyi saptamanın iki yolu vardır; (i) F_{max} 'i saptamak, (ii) proteinin proba karşı gösterdiği afiniteyi ($f(1/ K_d)$) saptamak. Ayrıca konuya ilişkin değerlendirilmesi gereken diğer parametreler de şunlardır; F_{max}/K_d , prob-protein bağlanmasının ortalama sıklığı (tightness), $1/ K_d$; hidrofobik kısımların ANS'e karşı gösterdiği afinitenin fonksiyonu ve protein yüzey hidrofobisite indeksi PSH; $(F_{max}/K_d.P)$, birim protein başına hidrofobisite olarak tanımlanabilir. Bu parametreler hidrofobisite çalışması sırasında saptanan verilerden hesaplanmıştır.

3.2.9. Koagulasyon Denemesi

Peri et al. (1990) ile Iametti et al. (1991;1993) yöntemleri modifiye edilerek aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:

22 mL süt örneği bir buz banyosuna yerleştirilmiştir. İçerisine 90 µL 50 mM ANS çözeltisi ve damıtık su ile 1/250 oranında seyreltilmiş rennet (Maxiren 600, DSM Food, The Netherlands) çözeltisinden 275 µL eklenmiştir. Rennet eklenip karıştırılan örnek bekletilmeden 10 adet tüpe 2'şer mL paylaştırılmış ve tüpler 37°C'deki su banyosuna yerleştirilmiştir (yerleştirildiği anda kronometre çalıştırılmıştır). Tüpler ön denemelerde Berridge (1952) yöntemi ile saptanan pıhtılaşma anını da içerisine alacak şekilde belirli aralıklar ile (0, 10, 20, 30, 35, 40, 45, 50, 60 ve 70. dakikalarda) sıcak su banyosundan alınmış ve buz banyosuna

yerleştirilerek tepkime durdurulmuştur. Set tamamlandığında tüpler 10000 rpm ve 4°C'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı ayrılıp her bir tüpteki presipitatın üzerine ayrılan süpernatantla aynı hacimde 8 M üre çözeltisi eklenmiştir. Setler 4°C'de bir gece periyodu dengelenmiş ve ardından ANS ve protein partitasyonu (dağılımı) saptanmıştır.

3.2.10. ANS Partitasyonunun Belirlenmesi

Bir gece 4°C'de bekletilen tüp içeriklerinin her birinden 100 µL alınarak hacmi %5'lik Triton-X-100 çözeltisi ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Floresans ölçülerek "kör örnek" olarak değerlendirilmiş, ardından içerisine 10 µL, 1mM ANS çözeltisi eklenip yeniden floresansı ölçülüp aradaki fark değerlendirilerek presipitata bağlanabilen ANS derişimi saptanmıştır. Spektrofluorimetre (Perkin Elmer LS-50,USA) bir deterjan çözeltisi (% 5, Triton-X 100, Fluka cat.no. 93426) kullanılarak ayarlanmıştır. $\lambda_{ex}=390$ nm, $\lambda_{em}=480$ nm, bandwidth=5 nm'dir.

3.2.11. Protein İçeriğinin ve Partitasyonunun Belirlenmesi

Protein derişimi, spektrofotometrik bir yöntem olan Bradford (1976) metodunun "makro" düzeyi kullanılarak belirlenmiştir. Hazırlanan Bradford reaktantı varlığında örneklerin 595 nm'deki absorbansı, kazein çözeltisi kullanılarak oluşturulan standart eğri ile karşılaştırılarak protein derişimleri saptanmıştır.

Protein partitasyonu, ANS partitasyonu çalışması için elde edilen presipitatın uygun seyreltmeler yapılarak Bradford yöntemi ile protein içeriğinin saptanmasına dayanmaktadır.

3.2.12. Pıhtılaşma Süresinin Belirlenmesi

Pıhtılaşma süresi Berridge (1952) yöntemine göre saptanmıştır. Bu amaçla rennet katım anından başlamak üzere ilk görünür pıhtı agregatlarının saptandığı ana kadar geçen süre pıhtılaşma süresi olarak tanımlanmıştır. Rennetlenme sürecinin enzimatik aşaması tamamlandıktan sonra ortaya çıkan agregatlar belirleyici olmuştur.

Behere 60 mL süt rneği alınarak 32°C'de su banyosuna yerleştirilmiş, damıtık su ile 1/250 oranında seyreltilmiş rennet çözeltisinden 750 µL eklenmiş ardından pıhtılaşma süresini belirlemek amacıyla bir örneğin 10 mL'si cam tüpe ayrılarak geriye kalan örnekte rennetlenme süresi tespit edilmiştir. Rennetin ilave edildiği andan başlayarak pıhtı kesim anına kadar geçen süre (enzimatik faz+agregasyon fazı) rennetlenme süresi olarak alınmıştır. Daha sonra pıhtı kesilerek filtre kağıdı yerleştirilmiş hunilerden szlmş ve sinerezis başlangıç hızına ilişkin veriler saptanmıştır.

3.2.13. İstatistiksel Analizler

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde STATISTICA® yazılımı kullanılarak F-testleri gerçekleştirilmiş ve standard sapmaları hesaplanmıştır.

4.SONUÇLAR

Membran filtrasyon uygulamaları; sektöre görece geç uyarlanmasına karşın günümüz süt endüstrisinde çok yaygınlaşmıştır. Membran ayırma süreçlerinin bu endüstriye girişi ilk olarak peynir sektöründe gerçekleşmiştir ve bugün de en geniş bu sektörde yararlanılmaktadır. Anılan süreçlerden ultrafiltrasyonun (UF) peynir üretiminde kullanımını en uygun biçimde yumuşak peynirlere gerçekleştirilmektedir, yarı-sert ve sert peynirlerde hala bir takım sorunlar yaşanmaktadır (Renner and Abd El-Salam, 1991; Grandison and Glover, 1994; Eck and Gillis, 2000).

Peynir üretiminin asal sürecini oluşturan sütün rennet ile pıhtılaştırılması, protein biyokimyası açısından temelde protein-protein ve protein-lipid bağlanmalarının ve özellikle de hidrofobik bağların nitelediği bir süreçtir. Ultrafiltrasyonun bu süreçte yer alması süt protein sisteminin-rennetlenmede de önem taşıyan- hidrofobisitesinin değişimini de beraberinde getirmektedir (Erdem, 1998). Ultrafiltrasyonun yanı sıra ön işlemlerden pastörizasyon başta olmak üzere peynir sütünün ısı geçmişi de protein yapısı üzerinde keskin etkilere sahiptir. Bugün UF öncesi ısı uygulaması tüm uygulamalar için zorunlu bir işlem basamağı olarak kabul görmektedir.

Süte ısı uygulaması ile protein sisteminin yüzey hidrofobisitesinde ortaya çıkan değişimler bir başka çalışmada ortaya konulmuştur (Yüksel, 2001). Bu çalışmada 70°C'nin altında ve 80°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ısı uygulanmasının yüzey hidrofobisitesinde çok keskin değişime neden olduğu ve bu bakış açısıyla 70-80°C'de 5 dakika ısı uygulamalarının bu çalışmanın içinde yer aldığını belirtmek gerekir.

Bu tez kapsamı; UF öncesinde ısı uygulanması ile protein yüzey hidrofobisitesinde ortaya çıkan değişimin açıklanması ve bunun ışığı altında rennetlenme özeliğinin açıklanabilmesi olmak üzere iki ayrı başlık altında ele alınacaktır. Bu amaçla tezin Materyal ve Metot Bölümü'nde de belirtildiği gibi, hiç ısı işlem görmemiş, 70°C ve 80°C'de 5 dakika ısı işlem görmüş süt örnekleri hacim konsantrasyon oranı iki kat (2X) ve üç kat

(3X) olacak şekilde ultrafiltre edilerek, konsantre edilmemiş örneklerle birlikte standard koşullarda rennetlenmiştir. Bu bağlamda toplam 9 deneme örneği değerlendirilmiştir;

1. UH-UC; ısıtıl işlem görmemiş ve UF uygulanmamış yağsız süt
2. UH-2X; ısıtıl işlem görmemiş yağsız sütün iki kat UF uygulanmış retentatı
3. UH-3X; ısıtıl işlem görmemiş yağsız sütün üç kat UF uygulanmış retentatı
4. 70-UC; 70°C'de 5 dakika ısıtıl işlem görmüş (70°C/5 dk) ve UF uygulanmamış yağsız süt
5. 70-2X; 70°C/5 dk ısıtıl işlem görmüş yağsız sütün iki kat UF uygulanmış retentatı
6. 70-3X; 70°C/5 dk ısıtıl işlem görmüş yağsız sütün üç kat UF uygulanmış retentatı
7. 80-UC; 70°C/5 dk ısıtıl işlem görmüş ve UF uygulanmamış yağsız süt
8. 80-2X; 80°C/5 dk ısıtıl işlem görmüş yağsız sütün iki kat UF uygulanmış retentatı
9. 80-3X; 80°C/5 dk ısıtıl işlem görmüş yağsız sütün üç kat UF uygulanmış retentatı

Örneklerin hazırlanmasında kullanılan çiğ süt; %3.3 yağ, %12.2 kuru madde, %4.1 laktoz içermektedir ve titrasyon asitliği 7.36 SH olarak belirlenmiştir.

4.1. Ultrafiltrasyon öncesi ısıt işlemin protein yüzey hidrofobisitesinde ortaya çıkardığı değişimler

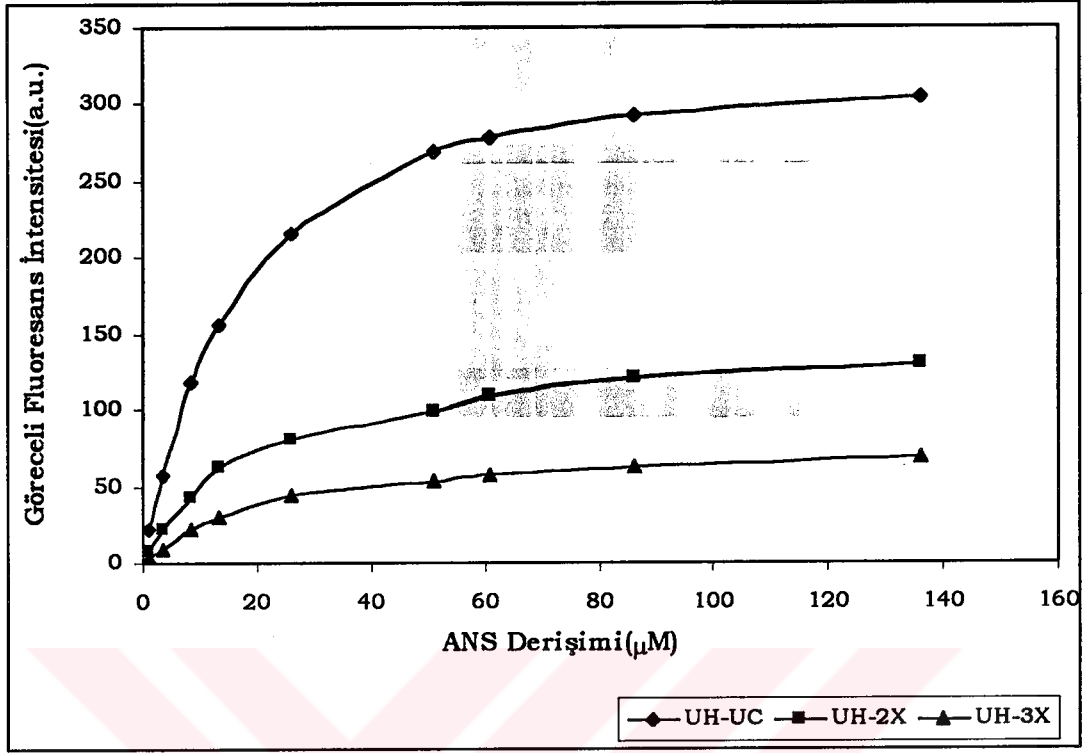
Tüm örneklerin spektrofotometrik titrasyon verileri EK.1'de sunulmuştur. Doygunluk sınırına kadar artan ANS (fluoresans probu) derişimine karşı spektrofotometreden okunan bu göreceli fluoresans intensitesi (a.u.) verileri grafiğe geçirilerek (Şekil 4.1-4.6) değerlendirilmiştir. Kinetik değerlendirme için Michaelis-Menten, Linewiever-Burke, Hanes-Wolfe ve Eadie-Hoffstee yaklaşımlarından yararlanılarak hesaplanan F_{max} ve K_d bulgularının ortalaması alınmış ve kaydedilmiştir. Anılan bulgular ile bunlardan türetilen hidrofobisite parametreleri Çizelge 4.1'de özetlenmiştir. Bu parametrelerin ayrıntılı tanımları EK.2'de verilmiştir.

Şekil 4.1'de hiç ısıt işlem görmemiş yağsız süt örneğinin kendisi, 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri verilmiştir. Ultrafiltrasyon sonucu yağsız sütün protein yüzey hidrofobisitesinde ortaya çıkan keskin değişim açıkça görülmektedir. Ultrafiltrasyona bağlı olarak kazein misellerinin yüzeyinde, ANS'in bağlanabileceği, hidrofobik kısımların sayısı (F_{max}) belirgin olarak azalmaktadır ($p < 0.01$).

Isıt işlem görmemiş sütün protein yüzey hidrofobik kısımlarının sayısı (F_{max} , a.u.) 335.6 iken, bu örneğin UF ile iki kat konsantre edilmesi sonucu elde edilen retentatta (UH-2X) bu değer 139'a, üç kat konsantre edildiğinde ise (UH-3X) 77.5'e düşmektedir. Ultrafiltrasyon sonucu aynı örneklerde hidrofobik kısımların ANS'e karşı gösterdiği afinite ($1/K_d$) de önemli düzeyde azalmaktadır ($p < 0.05$). UH-UC'nin $1/K_d$ değeri 0.0655 iken UH-2X'de bu değer 0.057'ye, UH-3X'de ise 0.046'ya düşmektedir. Anılan hidrofobik bağlanmanın ortalama sıklığı (F_{max}/K_d) ise sırasıyla 21.98, 7.91, 3.53 olarak hesaplanmıştır, değişim önemli bulunmuştur ($p < 0.01$). Birim protein başına düşen hidrofobik kısımların sayısı da (F_{max}/P) belirgin olarak azalmıştır ($p < 0.01$); UH-UC için bu değer 10.96 hesaplanırken, UH-2X için 1.84, UH-3X için ise 0.698 olmuştur.

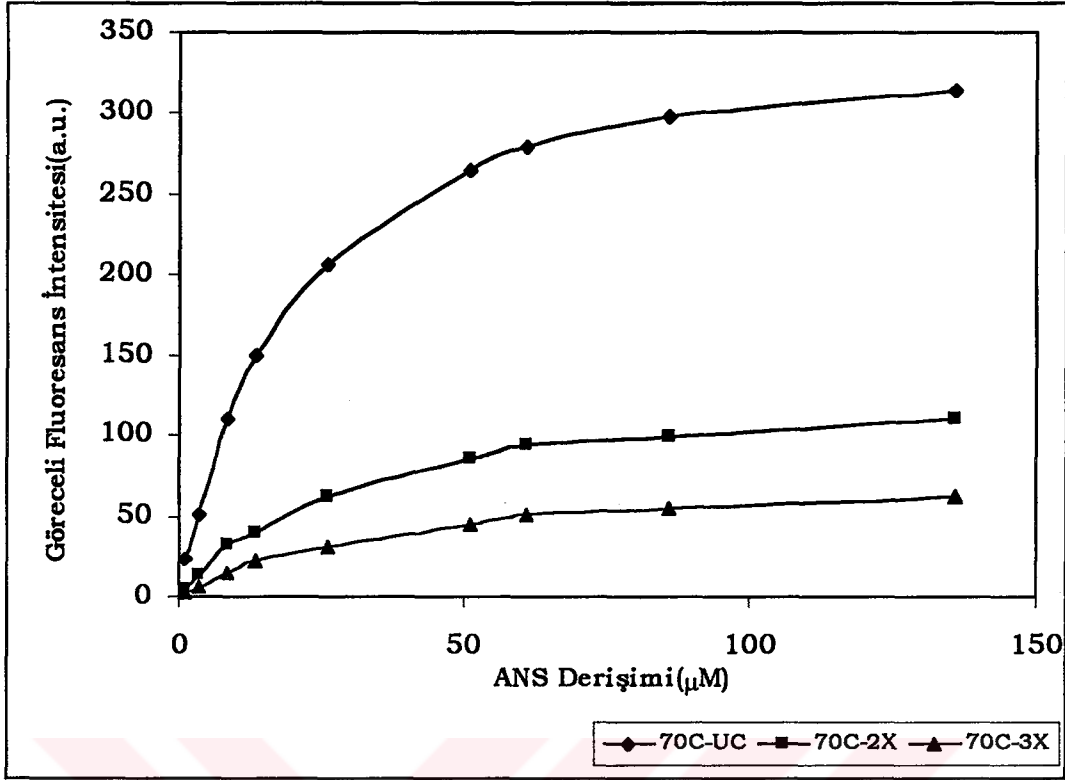
Çizelge 4.1. Örneklerin hidrofobisite parametreleri, protein derişimleri ve kalsiyum iyon aktiviteleeri

	UH-UC	UH-2X	UH-3X	70-UC	70-2X	70-3X	80-UC	80-2X	80-3X
F_{max}	335.6	139	77.5	331.8	129	80.8	281.3	117.9	82.4
F_{max}/[P]	10.96	1.84	0.698	9.41	1.72	0.75	6.93	1.493	0.70
1/K_d	0.0655	0.057	0.046	0.0626	0.036	0.025	0.0433	0.030	0.031
F_{max}/K_d	21.98	7.910	3.530	20.77	4.680	2.010	12.18	3.520	2.540
PSH	0.718	0.105	0.032	0.590	0.063	0.019	0.300	0.045	0.022
[P] (g/L)	30.621	75.5	111.1	35.245	74.84	108.512	40.583	79.02	117.512
Ca⁺⁺ (mol/L)	112	116	168	64	168	248	44	228	294



Şekil 4.1. Isıl işlem görmemiş konsantre edilmemiş yağsız süt (UH-UC), 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri

Isıl işlem görmemiş yağsız süt ve retentatlarının protein yüzey hidrofobisite indeksi (PSH), bir başka deyişle birim protein başına düşen hidrofobik kısımların sayısı ve bunun afinitesi UH-UC'de 0.718, UH-2X için 0.105, UH-3X için ise 0.032 olarak hesaplanmıştır (Bkz çizelge 4.1. ve Şekil 4.7.-4.11.).



Şekil 4.2. 70°C/5 dk ısıtılmış ve konsantre edilmemiş yağsız süt, 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri

Aynı değişim eğilimi, ısıtılmış örneklerde de izlenmiştir.

70°C/5 dk ısıtılmış ve yağsız süt (70-UC) ile bunun ultrafiltrasyonu sonucu elde edilen retentatlarının (70-2X ve 70-3X) ANS titrasyon eğrileri Şekil 4.2'de özetlenmiştir. Hidrofobisite parametreleri de çizelge 4.1'den izlenebilir. 70°C/5 dk ısıtılmış ve yağsız sütte protein yüzeyindeki hidrofobik kısımların sayısı (F_{max}) 331.8 iken bunun 2X retentatında 129, 3X retentatında ise 80.8 olarak bulunmuştur. Bu kısımların afinitesi ($1/K_d$), ortalama sıklığı (F_{max}/K_d), birim protein başına düşen hidrofobik kısımların sayısı (F_{max}/P) ve indeksi (PSH) de belirgin olarak azalmıştır ($p < 0.01$).

Bu örneklerde $1/K_d$ sırasıyla 0.0626, 0.036, 0.025, F_{max}/K_d ; 20.77, 4.68, 2.01, F_{max}/P ; 9.41, 1.72, 0.75 ve PSH 0.590, 0.063 ve 0.019 olarak bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.1. ve Şekil 4.7.-4.11.).

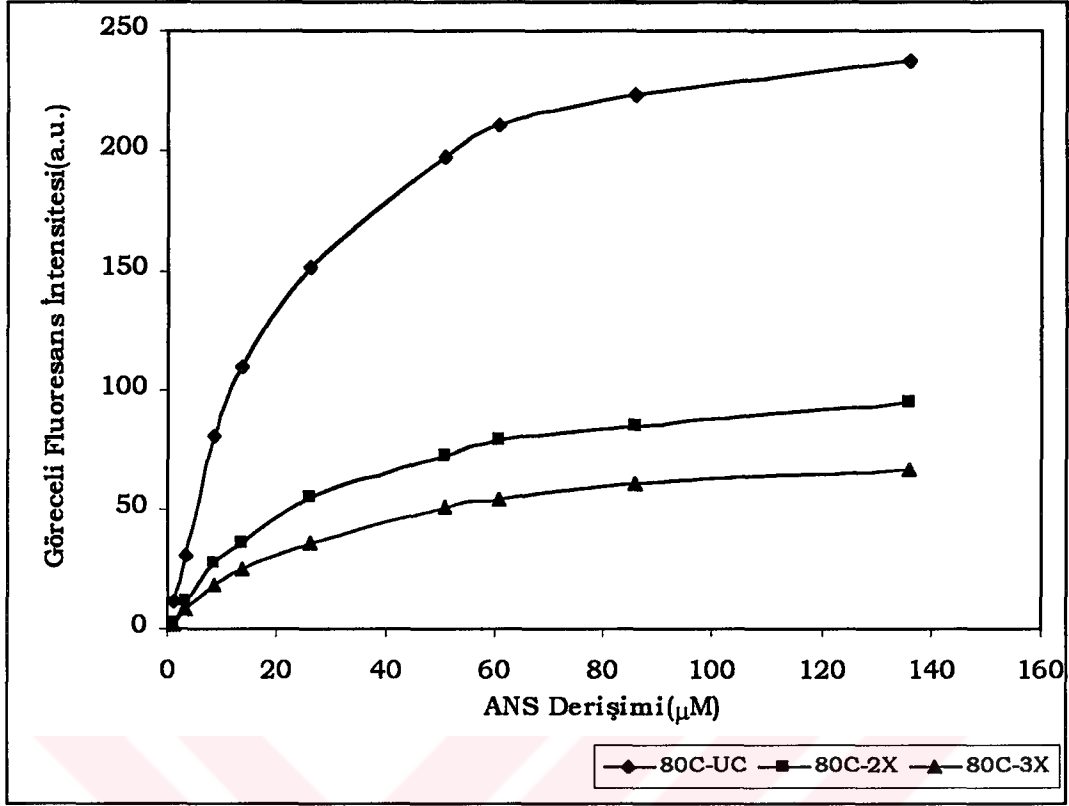
80°C/5 dk ısıtılmış ve yağsız süt (80-UC) ile retentatlarında (80-2X, 80-3X) ultrafiltrasyon sonucu protein yüzey hidrofobisitesinde ortaya

çıkan değişime ilişkin parametreler de Şekil 4.3'de özetlenen ANS titrasyon eğrisinden hesaplanmıştır. Diğer örneklerde olduğu gibi 80°C/5 dk ısı işlem gören örneklerde ultrafiltrasyon ile konsantre etmenin kazein misel yapısında belirgin değişimlere yol açtığı açıkça görülmektedir.

Isı uygulamasında sıcaklık 80°C'a çıktığında konsantre edilmemiş örnekte (80-UC) F_{max} 281.3 iken 80-2X'de 117.9, 80-3X'de ise 82.4 olarak hesaplanmıştır. $1/K_d$ sırasıyla 0.0433, 0.030, 0.031, F_{max}/K_d ; 12.18, 3.52, 2.54, F_{max}/P ; 6.93, 1.493, 0.70, PSH ise sırasıyla 0.300, 0.045, 0.022 olarak bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.1. ve Şekil 4.7.-4.11.).

Tüm koşullar için bu verilerden yola çıkılarak protein yüzey hidrofobik kısımların sayısının (F_{max}) UF ile protein derişimi (P) artarken azaldığı, ancak floresant karakterdeki ANS-protein kompleksinin dissosiyasyon sabitinin (K_d) arttığı, bir başka deyişle protein yüzeyindeki hidrofobik kısımların ANS'e karşı gösterdiği afinitenin ($1/K_d$) azaldığı öne sürülebilir.

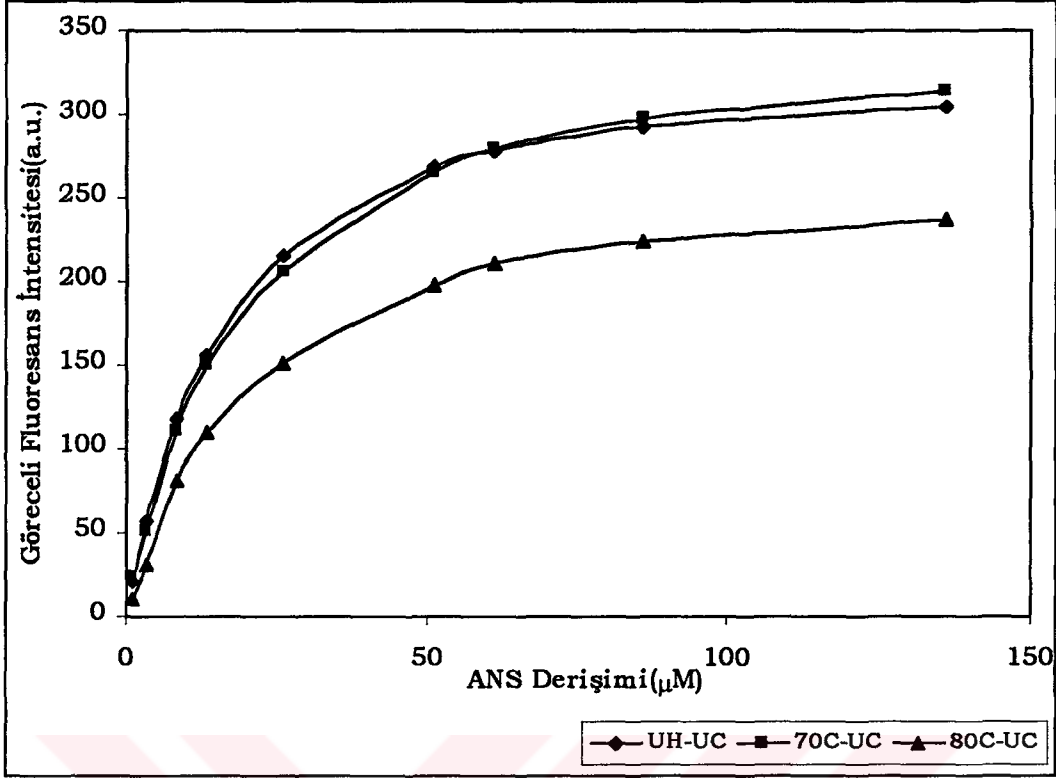
Anılan bu üç parametrenin ayrı ayrı değerlendirilmesi yerine birim protein başına karşılık gelen hidrofobik kısımların sayısı ve afinitenin birlikte değerlendirildiği hidrofobisite kavramını tanımlayan "Protein Yüzey Hidrofobisite İndeksi" (PSH) kavramının değerlendirilmeye alınması daha özet ve anlamlı olacaktır. Tüm örneklerin PSH değerleri Şekil 4.11'deki histogramda verilmiştir. Buradan da yukarıda anılan önermelerin önemli düzeyde doğrulandığı görülmektedir ($p<0.01$). Protein yüzey hidrofobisitesi UF ile azalmaktadır.



Şekil 4.3. 80°C/5 dk ısıtılmış konsantre edilmemiş yağsız süt, 2X ve 3X retentatlarının ANS titrasyon eğrileri

Yukarıdaki verileri bir başka bakış açısı ile de değerlendirme gereksinimi ortadadır; aynı protein derişimine sahip örneklerde ısıtılmanın protein yüzey hidrofobisitesi üzerine etkisi de planlama gereği irdelenmiştir.

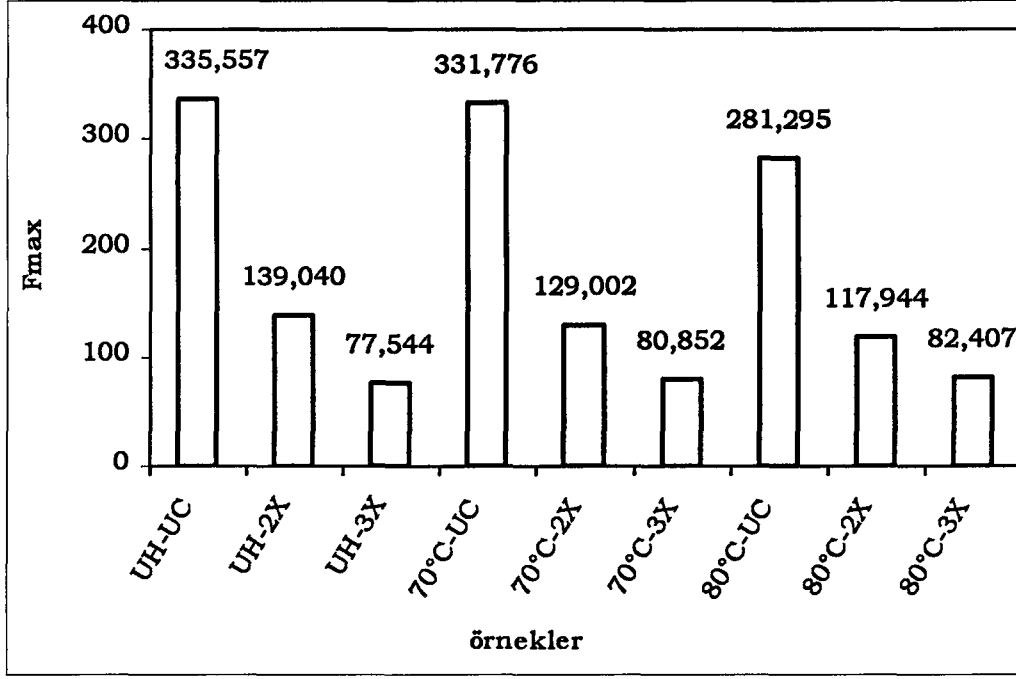
UF ile konsantre edilmemiş (UC) yağsız süt örneklerinin ısıtılma görmemiş (UH), 70°C/5 dk ısıtılmış (70) ve 80°C/5 dk ısıtılmış (80) örneklerin ANS titrasyon eğrileri Şekil 4.4'de özetlenmiştir.



Şekil 4.4. Isıl işlem görmemiş konsantre edilmemiş yağsız süt (UH-UC), 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş yağsız süt örneklerinin ANS titrasyon eğrileri

Burada ısıl işlem görmemiş (UH-UC) ile 70°C/5 dk ısıl işlem görmüş (70-UC) yağsız sütün hidrofobisitesi birbirine yakın eğilim sergilerken 80°C/5 dk ısıl işlem görmüş yağsız sütün (80-UC) hidrofobisitesi bunlardan farklı bir değişim göstermiştir.

UH-UC örneği ile 70-UC örneğinin F_{max} değeri arasındaki değişim önemsiz bulunurken ($p>0.05$) 80-UC örneğinin F_{max} değeri belirgin bir farklılık sergilemiştir ($p<0.01$). En yüksek F_{max} değeri UH-UC örneğine aitken (335.6) bunu sırasıyla 70-UC (331.8) ve 80-UC (281.3) izlemiştir (Bkz. Şekil 4.5.).



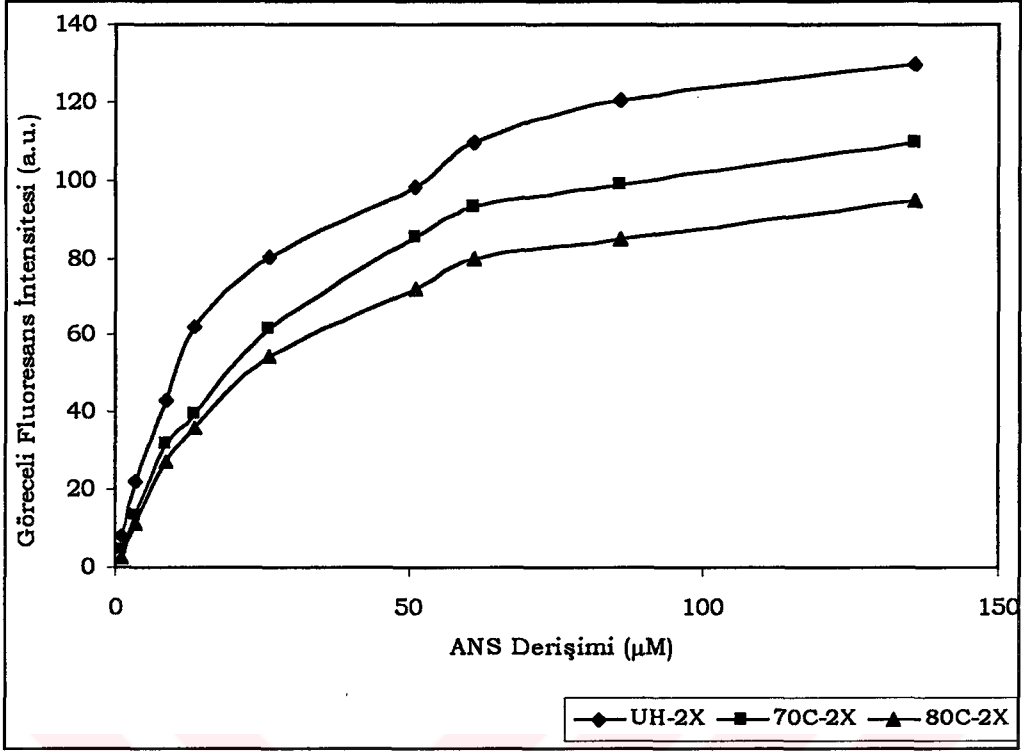
Şekil 4.5. Örneklerin yüzey hidrofobik kısımlarının sayısının (F_{max}) değişimi

F_{max} verileri retentatlar için de incelendiğinde hemen hemen benzer eğilime ulaşılmıştır. İki kat konsantre edilmiş örneklerde UH-2X 139'a kadar bir F_{max} 'e sahipken onu sırasıyla 70-2X (129) ve 80-2X (117.9) izlemiştir ve aralarındaki farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

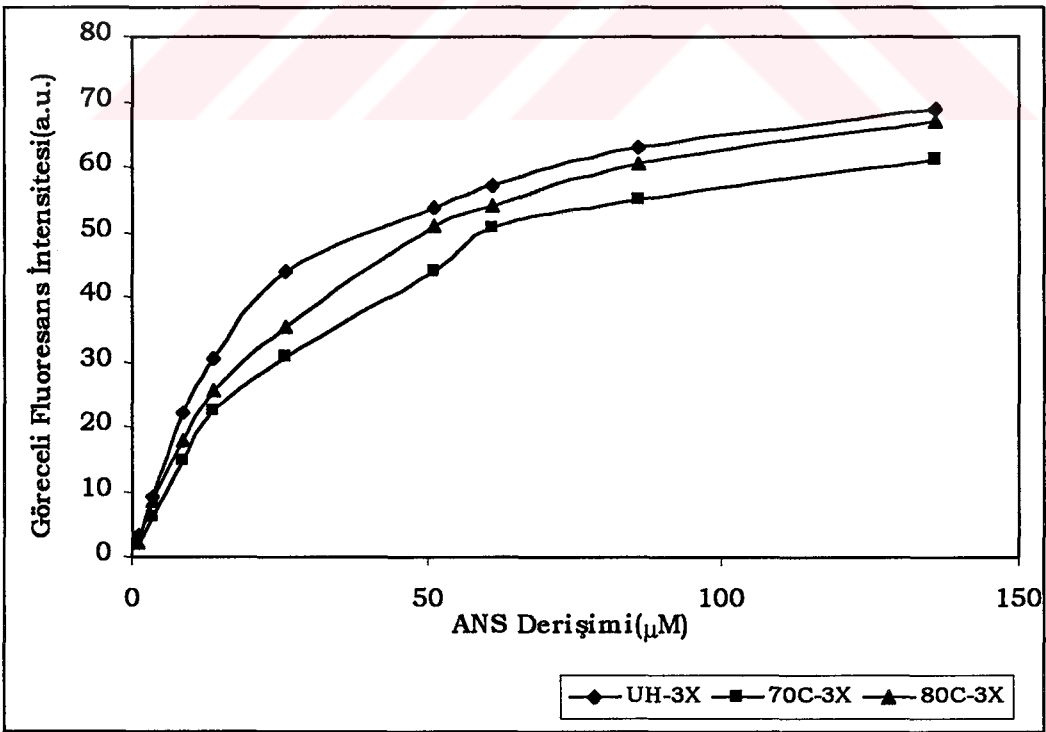
Ancak üç kat konsantre edilmiş UF retentatlarında hiç ısıl işlem görmemiş örneğin 3X retentatı (UH-3X) 77.5 değerinde bir F_{max} 'e sahipken 70-3X örneğinde bu değer 80.8'e, 80-3X'de ise 82.4'e yükselmiştir. Farklılık önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuçta UF ile konsantre edilmemiş örnekler ile bunların 2X retentatlarında ısıl işlem ile hidrofobik kısımların sayısı azalırken, 3X retentatlarında ısıl işlem normunun artması, süt proteinlerinin yüzeyindeki hidrofobik kısımların sayısında da göreceli bir artışa neden olmuştur.

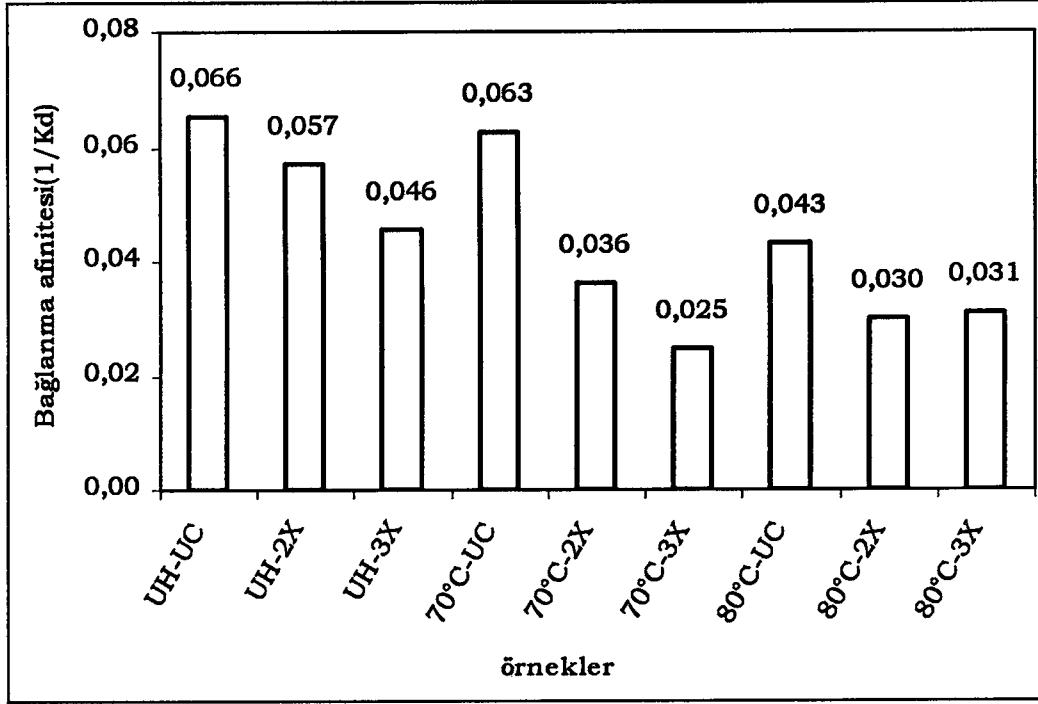
İki kat konsantre edilmiş retentatların (2X) ANS titrasyon eğrileri arasında ısıl işlem ile belirgin farklılık saptanırken (Bkz. Şekil 4.6) bu farklılığın 3X retentatların ANS eğrilerinde görece kapandığı izlenimi uyanmıştır (Bkz. Şekil 4.7.).



Şekil 4.6. Isıl işlem görmemiş, 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş 2X retentatların ANS titrasyon eğrileri

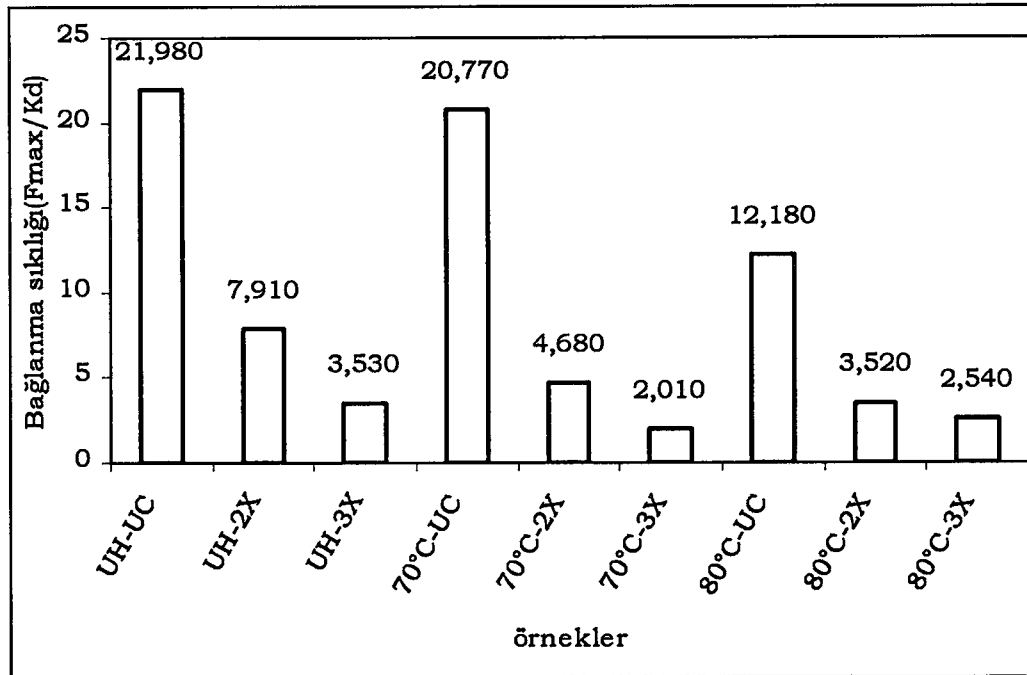


Şekil 4.7. Isıl işlem görmemiş, 70°C/5 dk ve 80°/5 dk ısıl işlem görmüş 3X retentatların ANS titrasyon eğrileri



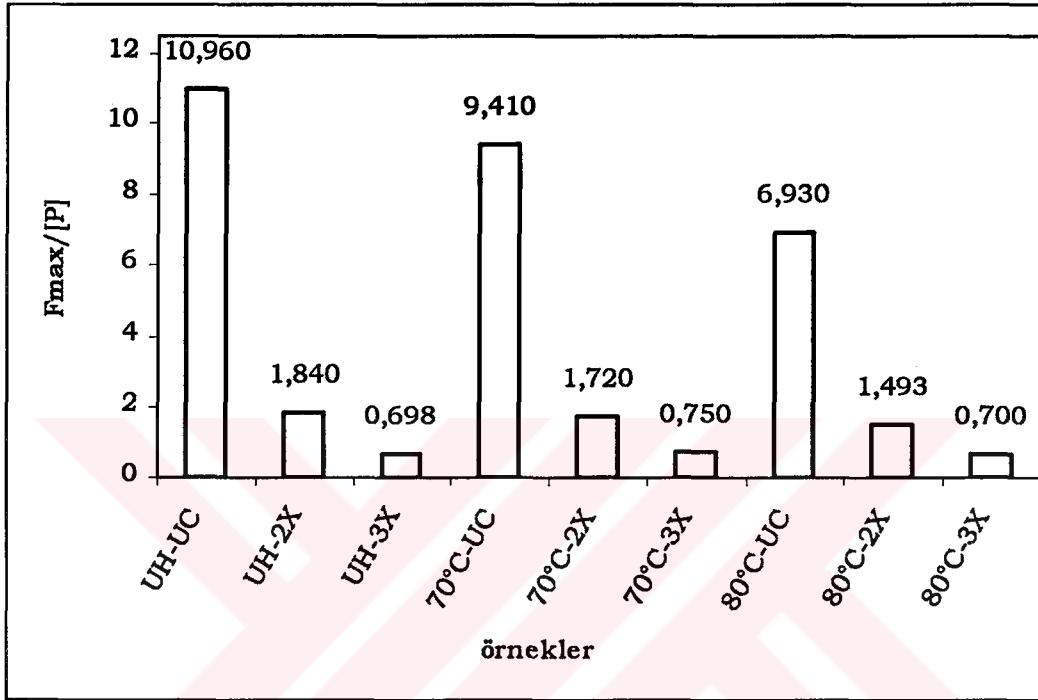
Şekil 4.8. Örneklerin hidrofobik bağlanma afinitesinin ($1/K_d$) değişimi

Şekil 4.8.'de tüm örneklerin proteinlerine ANS bağlanma afinitesi sergilenmiştir. Aynı derişimdeki örnekler incelendiğinde hem UF'ye hem de ısıl işlem normuna bağlı olarak afinitenin belirgin olarak azaldığı gözlenmektedir. Aynı eğilim hidrofobik bağlanmanın sıklığında (F_{max}/K_d) da gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.9.)



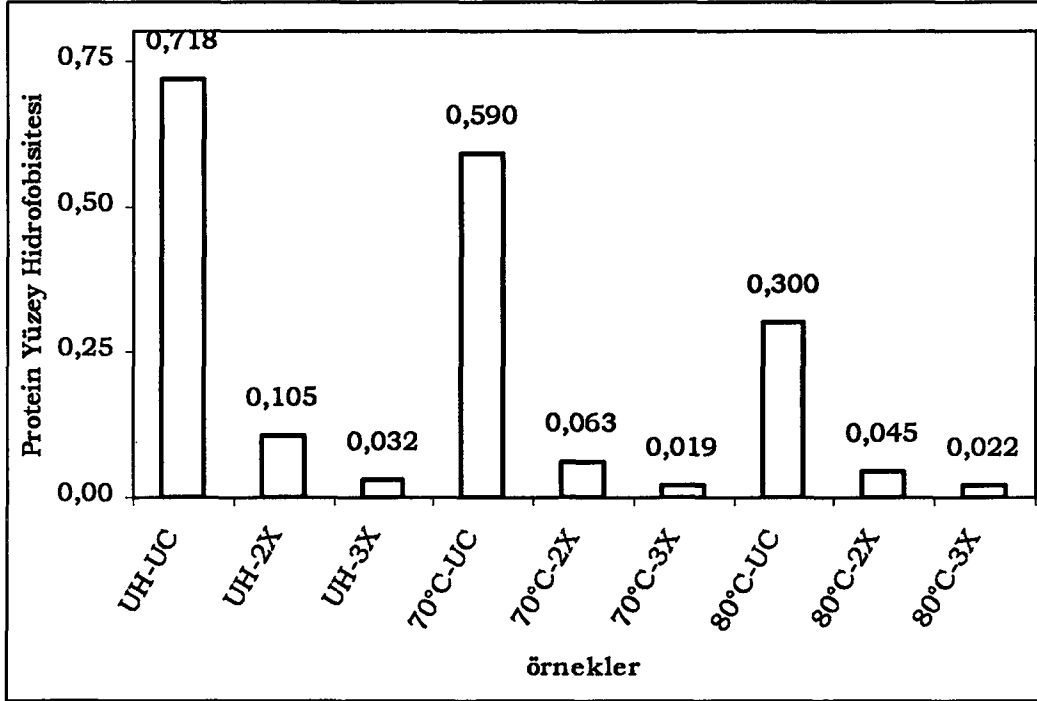
Şekil 4.9. Örneklerin hidrofobik bağlanma sıklığının (F_{max}/K_d) değişimi

Konsantre edilmemiş örneklerde ısıtılmamış örnek ile (UH-UC), 70°C/5 dk ısıtılan örnek (70-UC) arasındaki bu farklılık görece azken 80-UC'de çok keskin bir düşüş gözlenmiştir. Protein derişimi arttıkça ısıtılma bağılı olarak aynı azalma eğilimindeki farkın önemli olduğu saptanmıştır ($p<0.01$).



Şekil 4.10. Örneklerin birim protein başına düşen yüzey hidrofobik kısımlarının sayısının (F_{max}/P) değişimi

Birim protein başına düşen hidrofobik kısımların sayısı (F_{max}/P), aynı protein derişimine sahip örneklerde; ısıtılmamış örneklerde -yukarıdaki parametrelere göre - çok daha belirgin bir azalma sergilerken, 2X retentatlarda görece daha düşük bir azalma oranı göstermiştir. 3X retentatlarda ise UH-3X ile 80-3X örneklerinin F_{max}/P değerlerindeki değişim önemsiz bulunurken, 70-3X örneğinin değerinde artış kaydedilmiştir ($p<0.05$).



Şekil 4.11. Örneklerin protein yüzey hidrofobisite indeksi (PSH) değişimi PSH indeksi incelendiğinde ise (Bkz. Şekil 4.11), konsantre edilmemiş örneklerde ısı uygulama normunun artışı çok belirgin azalış sağlarken ($p < 0.01$), derişimin artması ile sıcaklığın PSH üzerindeki etkisinin önemi görece düşmüştür ($p < 0.05$). Ancak PSH indeksi gerek UF gerekse sıcaklık etkisi ile azalmıştır.

4.2. Ultrafiltrasyon öncesi ısıl işlemin rennetlenme karakteristikleri üzerine etkisi

Tüm yağsız süt örnekleri (UC) ve retentatları (2X, 3X) enzim ve ANS eklendikten sonra tüplere bölünerek su banyosundan rennetlenme süresince belirli zaman aralıkları ile alınmış ve sonrasında santrifüjlenerek elde edilen presipitatlar üre ile denature edilerek Bölüm 3.2.10 ve 3.2.11'de açıklandığı biçimde ANS ve protein partitasyonları saptanmış, birim protein başına düşen ANS nicelikleri de hesaplanmıştır. Anılan veriler Ek 3-5'de verilmiştir. Bu veriler kullanılarak çizilen grafiklerden (Şekil 4.12-4.23) hesaplanan süreler ve derişimler (Çizelge 4.2-4.5) özetlenerek değerlendirilmeye alınmıştır.

Gerek ANS gerekse protein partitasyonunun rennetlenme sürecinde zamana karşı değişim eğrilerinde her bir örnek için rennetlenme süreci doğrusal olarak saptanmış ve bunun %50 ve %80'ine ulaşıldığı anlar ($t_{0.5}$, $t_{0.8}$ dk) ile bu anlardaki ANS ve protein derişimleri ($ANS_{0.5}$, $ANS_{0.8}$, $P_{0.5}$, $P_{0.8}$) çizelgede yer almıştır.

Çizelge 4.2. Presipitatlarda ANS partitasyonu sonucu süre ve ANS derişimleri değerleri

Örnekler	$t_{0.5}$	$t_{0.8}$	$[ANS]_{0.5}$	$[ANS]_{0.8}$
UH-UC	23.33±0.26	26.33±0.21	0.180±0.011	0.190±0.013
UH-2X	27.50±0.25	33.33±0.41	0.183±0.011	0.193±0.013
UH-3X	17.00±0.13	22.33±0.45	0.175±0.012	0.187±0.011
70-UC	18.33±0.11	25.73±0.19	0.133±0.009	0.140±0.009
70-2X	51.83±0.25	56.33±0.43	0.148±0.011	0.158±0.007
70-3X	31.00±0.21	40.50±0.35	0.104±0.007	0.117±0.007
80-UC	15.00±0.13	18.17±0.14	0.149±0.011	0.155±0.009
80-2X	25.17±0.14	29.67±0.14	0.123±0.009	0.131±0.009
80-3X	42.00±0.41	43.00±0.57	0.122±0.007	0.130±0.009

Çizelge 4.3. Presipitatlarda protein partitasyonu sonucu süre ve protein derişimleri değerleri

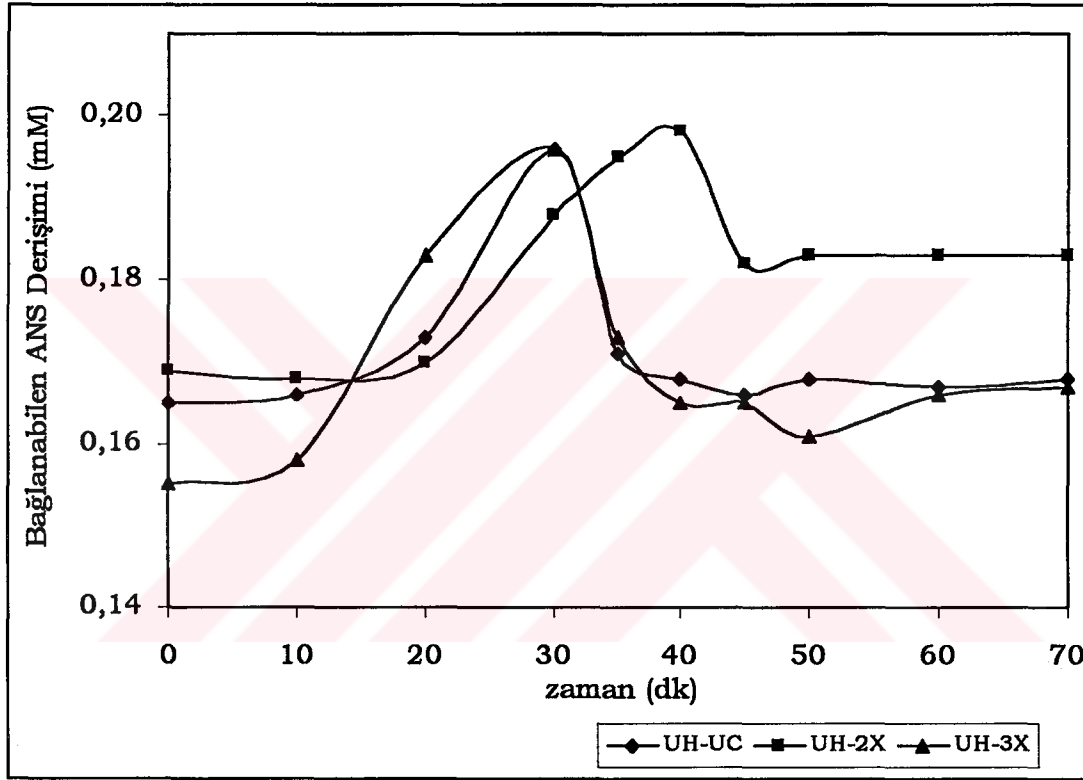
Örnekler	$t_{0.5}$	$t_{0.8}$	$[P]_{0.5}$	$[P]_{0.8}$
UH-UC	31.00±0.13	33.30±0.23	38.20±0.16	40.00±0.13
UH-2X	30.30±0.21	33.67±0.21	73.43±0.28	75.70±0.21
UH-3X	9.67±0.11	14.67±0.14	90.30±0.91	91.30±0.57
70-UC	29.30±0.41	32.30±0.18	32.62±0.21	34.76±0.26
70-2X	10.67±0.07	15.67±0.07	58.75±0.27	60.00±0.46
70-3X	15.33±0.13	17.83±0.11	62.40±0.25	64.40±0.51
80-UC	13.67±0.07	17.67±0.18	34.80±0.19	36.96±0.13
80-2X	32.67±0.11	34.00±0.15	41.71±0.35	42.64±0.21
80-3X	32.33±0.11	33.33±0.25	51.40±0.41	57.20±0.22

Sürecin %80'ine ulaşılmasının önemi, normal sütün rennetlenmesinde κ -kazein hidrolizinin %80'e ulaştıktan sonra flokulasyon-koagülasyon geçişinin başladığının genel kabul görmesidir (Fox, 1999; Walstra and Jenness, 1984; Eck and Gillis, 2000). %50 ise agregasyon aşamasına (küçük flokların oluşumu) karşılık gelmektedir.

Hem UF ile hem de ısı uygulaması ile sütün protein sisteminde ortaya çıkan değişim Bölüm 4.1'de ortaya konulmaya çalışılmıştır. Literatürde sadece jelleşme sürecini ele alan çok sayıda çalışmaya rastlanmamış

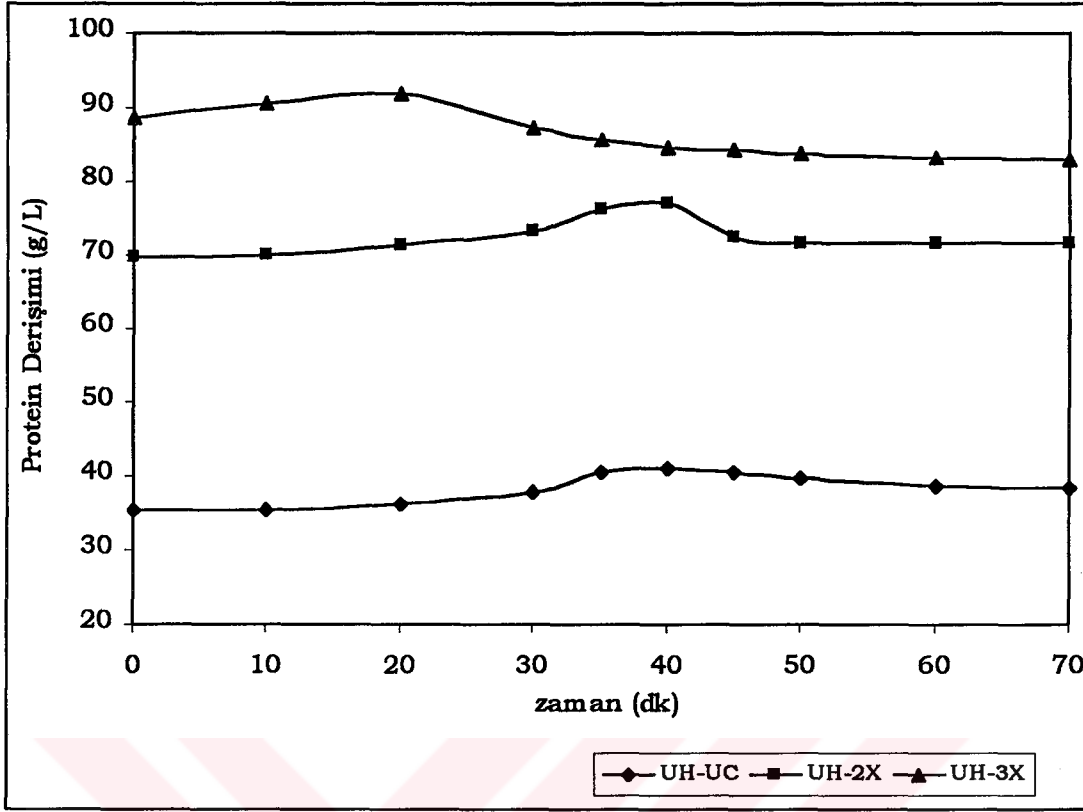
ancak peynirde yapılan çalışmalarda UF ile peynir üretimi sürecinin kısaldığı (Mehaia and Cheryan, 1983; Lucisano et al., 1985; Garnot, 1988), bundan bağımsız olarak da ısı işlem normunun artması ile anılan sürecin uzadığı (Van Hooydonk et al., 1987; Leaver et al., 1995) ve hatta UHT normunda ısı işlem görmüş sütlerde hiç rennet ile pıhtılaşmanın söz konusu olamadığı gözlenmiştir (Waungana et al., 1998; Schreiber, 2001).

Gözlemler bu bağlamda değerlendirilmeye çalışılmıştır.



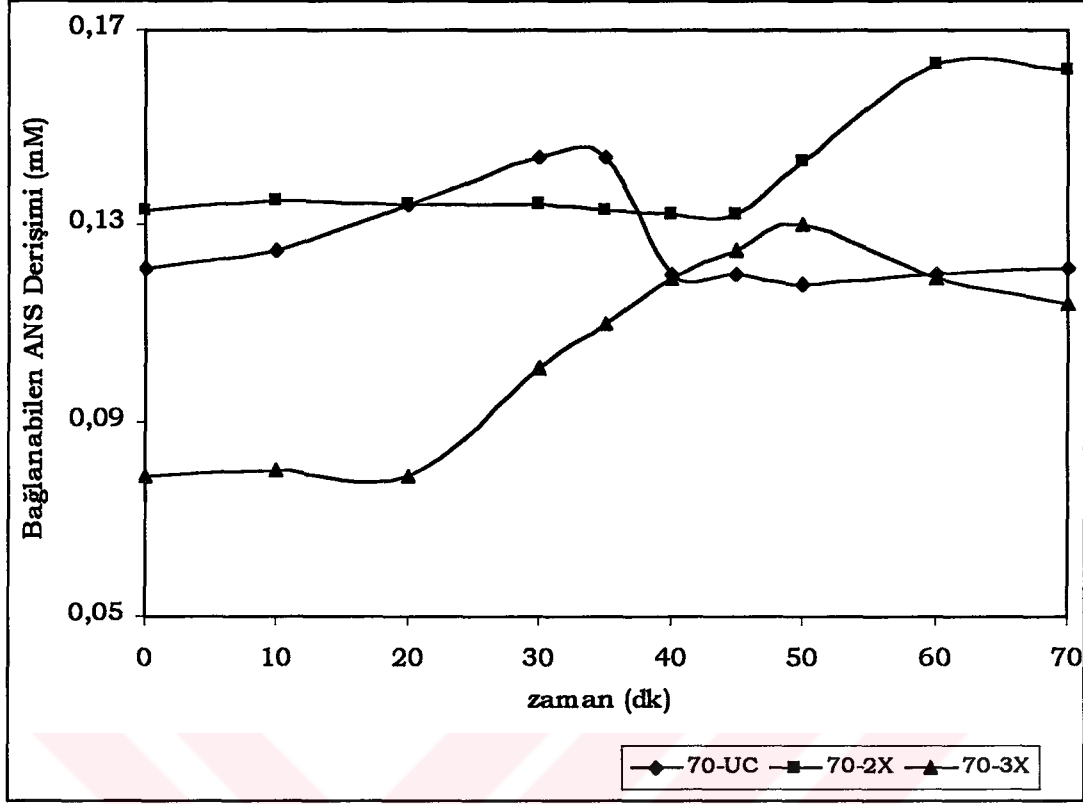
Şekil 4.12. Isıl işlem görmemiş sütün ultrafiltrasyonuyla rennetlenme sürecinde presipitatin ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)

Şekil 4.12'de ısı işlem görmemiş yağsız süt ve retentatlarında rennetlenme sürecinde presipitatta ortaya çıkan ANS partitasyonu özetlenmiştir. UH-UC ile UH-3X'in eğrilerinin pik noktaları hem süre hem de ANS derişimi açısından benzer eğilim gösterse de UH-2X bunlardan belirgin olarak ayrılmıştır.



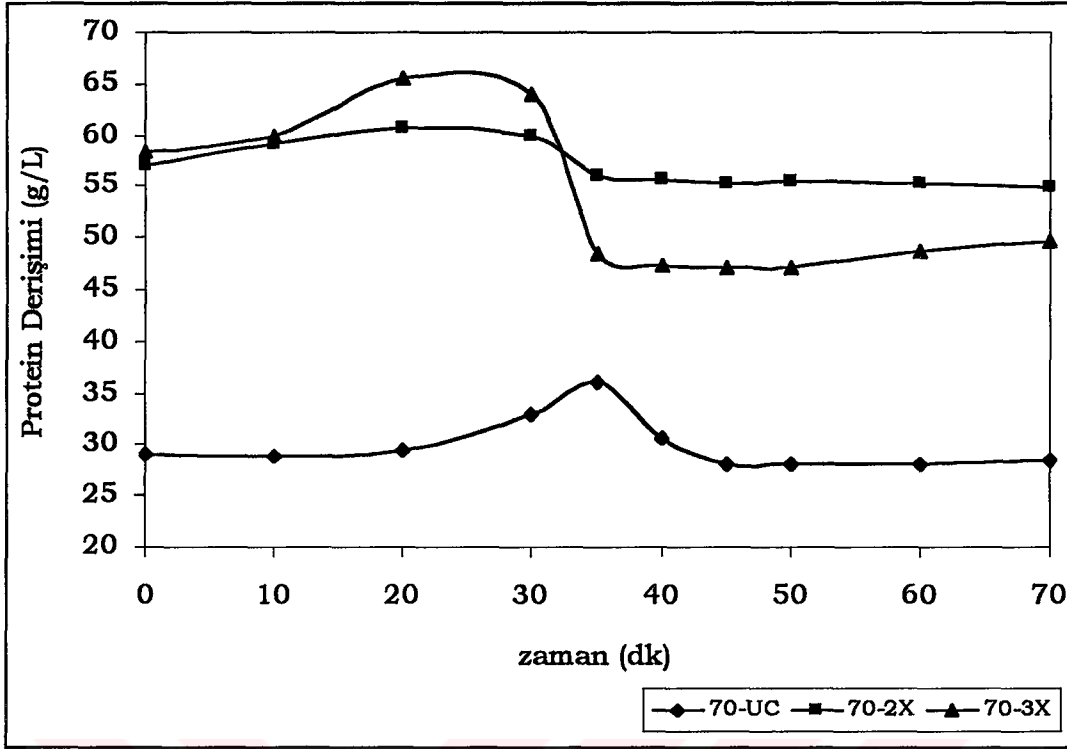
Şekil 4.13. Isıl işlem görmemiş sütün ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değışimi (protein partitasyonu)

Aynı örneklerin protein partitasyonunda is UH-UC, retentatları ile belirgin değışimler sergilemiştir. Bu örneklerde ANS partitasyonunda sürecin %80'e ulaştığı süre ($t_{0.8}$) sırasıyla 26.33, 33.33 ve 22.33 dk olarak hesaplanmış ve bu anlardaki ANS derişimi ise sırasıyla 0.190, 0.193 ve 0.187 mM olarak saptanmıştır. Protein partitasyonunda aynı örnekler için $t_{0.8}$ sırasıyla 33.33, 33.67 ve 14.67 dk olurken bu anlardaki protein derişimleri ise 40.00, 75.70 ve 91.30 g/L olarak saptanmıştır.

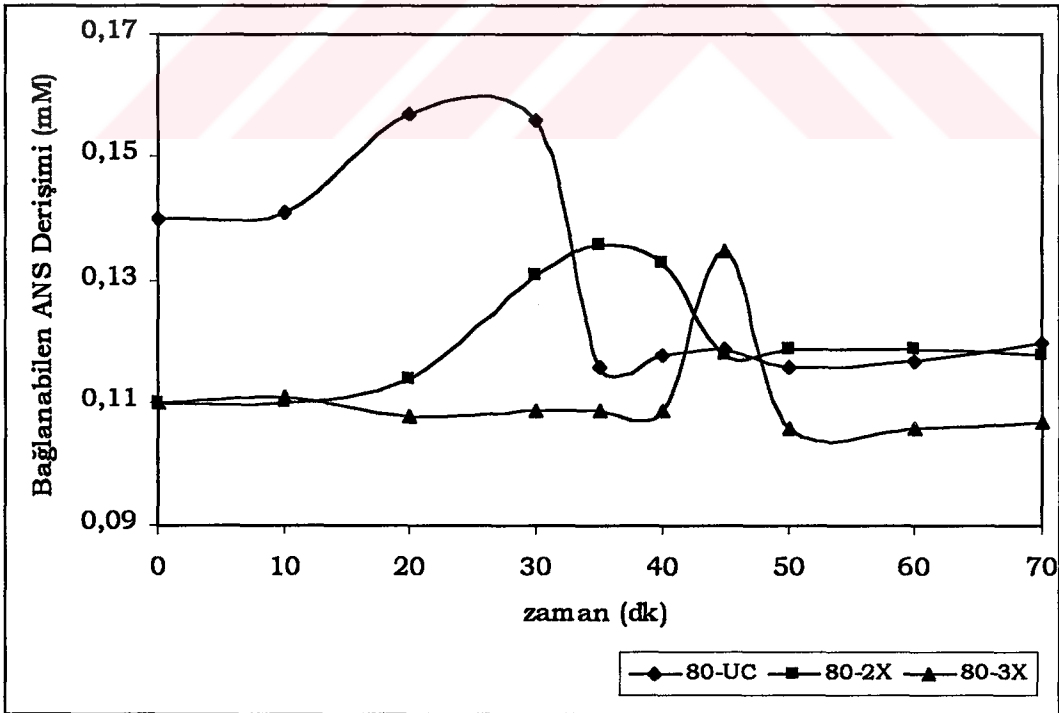


Şekil 4.14. 70°C/5 dk ısı işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatin ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)

70°C/5 dk ısı işlem görmüş yağsız süt (70-UC) ile bunun UF sonucu elde edilen retentatlarının (70-2X, 70-3X) ANS partitasyon eğrileri incelendiğinde örneklerin farklı eğilimler gösterdiği görülmektedir. Isıl işlem uygulanmamış UC ve 3X örneklerin $t_{0.8}$ süreleri ve bu anlardaki ANS derişimleri birbirine yakinken (bkz. Şekil 4.12), 70°C'de ısı uygulama sonucu 3X retentatta süre uzamakta, bağlanan ANS derişiminde de azalma olmaktadır. 70-UC, 70-2X ve 70-3X'in $t_{0.8}$ değerleri sırasıyla 25.73, 56.33 ve 40.50 dk, bu anlardaki ANS derişimleri de 0.140, 0.158 ve 0.117 mM olarak saptanmıştır. Şekil 4.15'te görülen protein partitasyonlarından hesaplanan süreler ise aynı sırayla 32.30, 15.67 ve 17.83 dk, protein derişimleri de 34.76, 60.00 ve 64.40 g/L olarak belirlenmiştir.

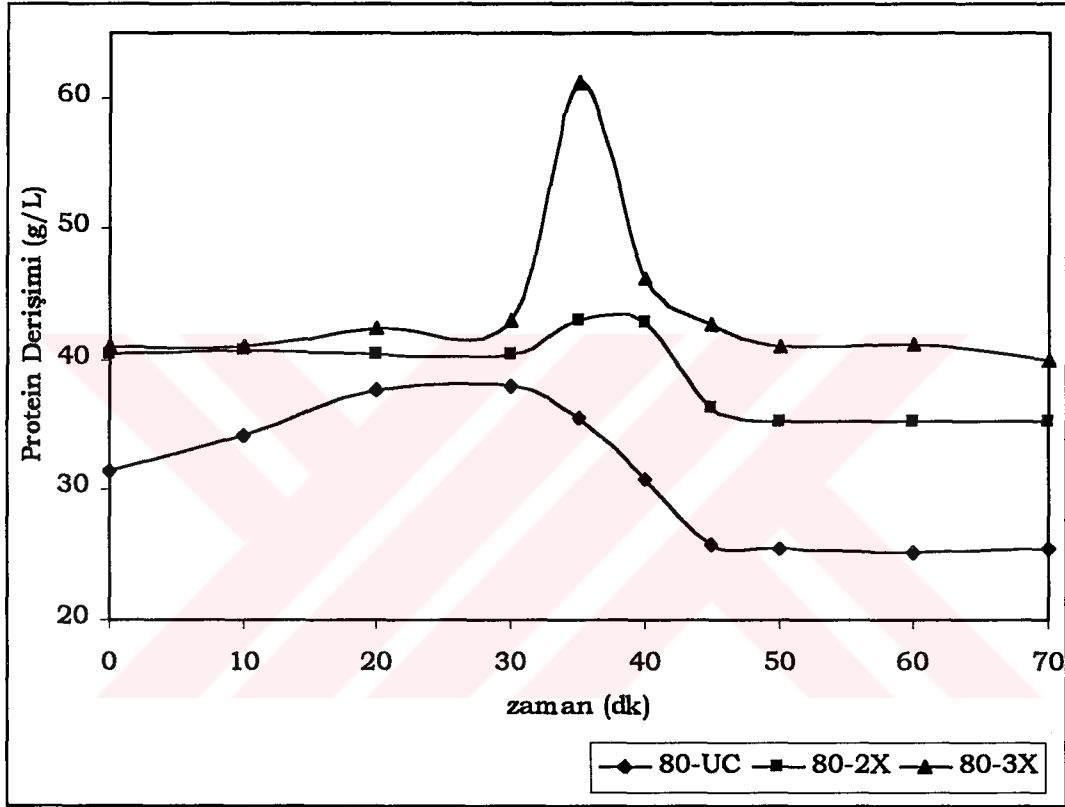


Şekil 4.15. 70°C/5 dk ısı işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değışimi (protein partitasyonu)



Şekil 4.16. 80°C/5 dk ısı işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın ANS bağlanabilir kısımlarının değışimi (ANS partitasyonu)

Isıl işlem sıcaklığı 80°C'ye çıkarıldığında örneklerin konsantrasyon faktörünün artmasıyla $t_{0.8}$ sürelerinin uzadığı, bağlanabilen ANS derişiminin ise azaldığı görülmektedir. 80-UC, 80-2X ve 80-3X'in $t_{0.8}$ değerleri 18.17, 29.67 ve 43.00 dk, bu sürelerdeki ANS derişimleri 0.155, 0.131, 0.130 mM olarak saptanmıştır.

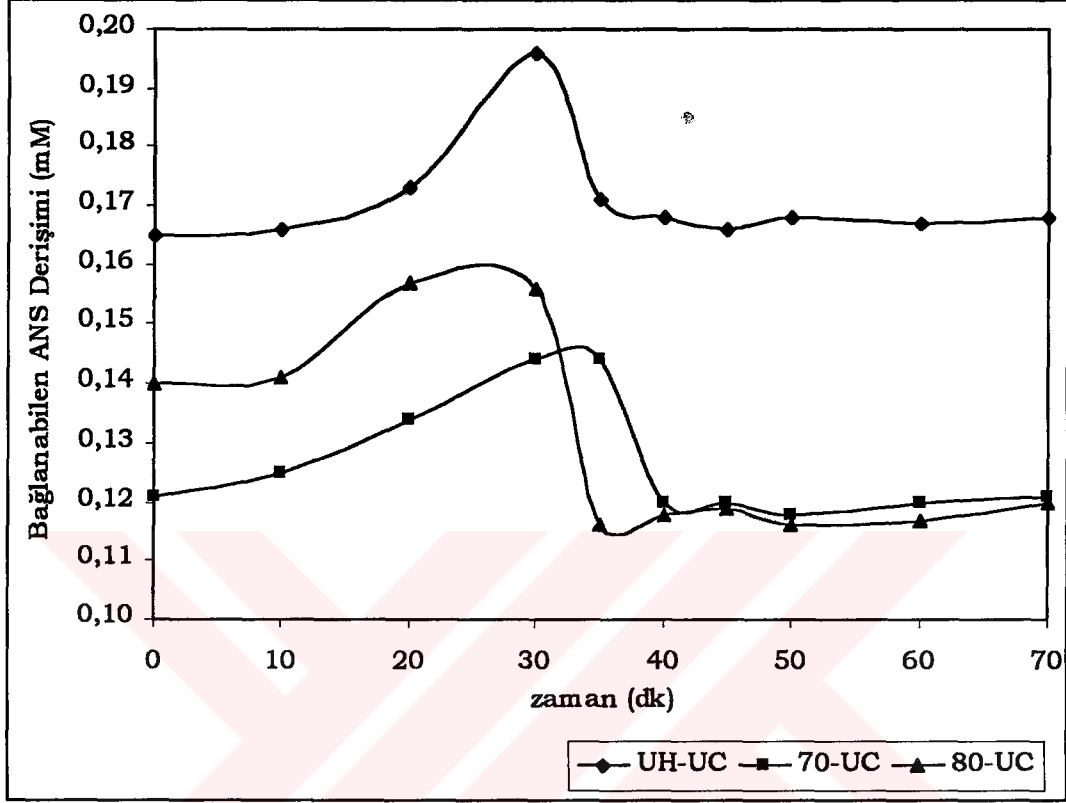


Şekil 4.17. 80°C/5 dk ısıl işlem görmüş örneklerin ultrafiltrasyonu ile rennetlenme sürecinde presipitatın protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu)

Örneklerin protein partitasyonu eğrilerinden ise $t_{0.8}$ değerleri 17.67, 34.00 ve 33.33 dk, protein derişimleri 36.96, 42,64 ve 57.20 g/L olarak hesaplanmıştır. Örneklerin protein partitasyon eğrileri Şekil 4.17'de görülmektedir.

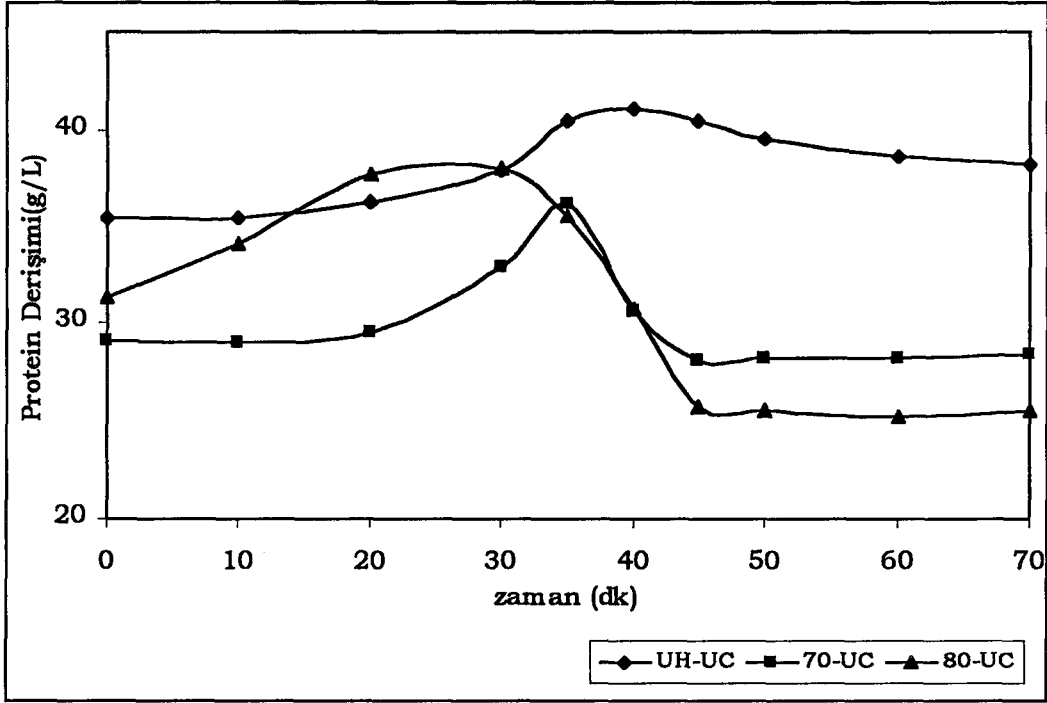
Isıl işlem uygulamasının rennetlenme karakteristikleri üzerine etkisinin daha anlaşılır olması için aynı protein derişimine sahip örneklerde farklı sıcaklık uygulamaları sonucu elde edilen ANS partitasyon ve protein partitasyon eğrilerinin bir arada incelenmesi gerekli görülmüştür.

Konsantre edilmemiş (UC) yağsız süt örneğinin ısı işlem görmemiş (UH), 70°C/5 dk ve 80°C/5 dk ısı işlem görmüş örneklerin ANS partitasyon eğrileri Şekil 4.18'de görülmektedir.

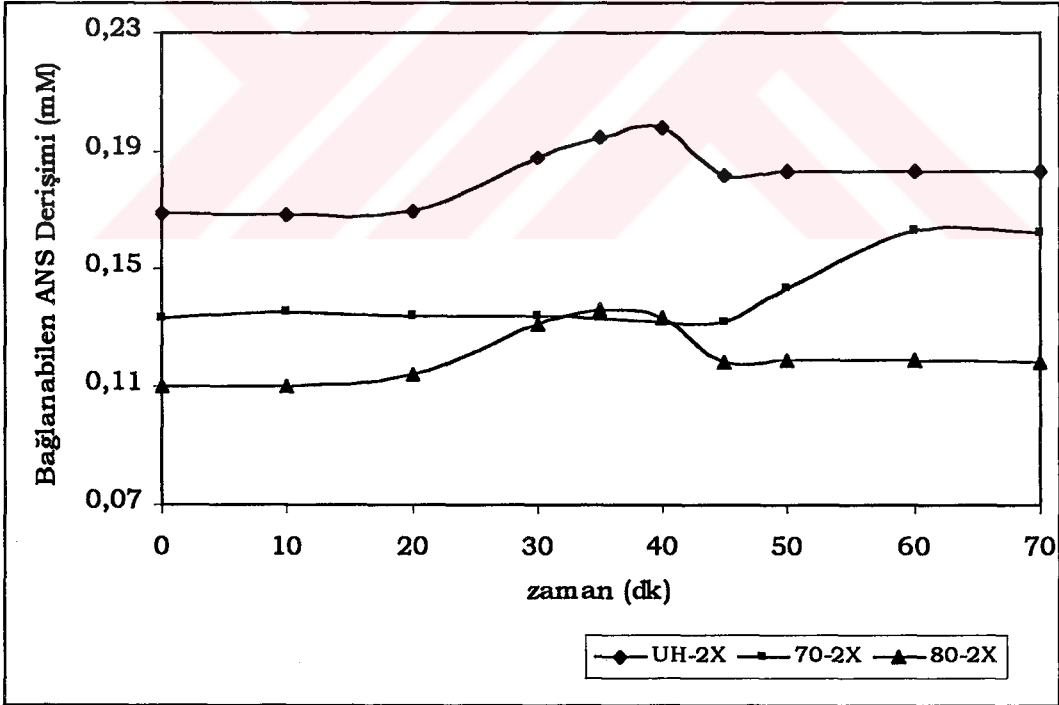


Şekil 4.18. UF ile konsantre edilmemiş örneklerde rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)

UH-UC ve 70-UC'nin reaksiyonun %80'ini tamamlaması birbirine yakın sürelerde gerçekleşirken ($t_{0.8}$ süreleri sırasıyla 26.33 ve 25.73), 80-UC'de bu sürenin kısaldığı ($t_{0.8}=18.17$) belirlenmiştir. Bağlanan ANS derişimleri artan sıcaklıklara göre sırasıyla 0.190, 0.140 ve 0.155 mM olarak hesaplanmıştır. $t_{0.8}$ değerleri protein partitasyonunda da benzer eğilimi göstermektedir. Bu anlardaki protein derişimleri birbirine yakın bulunmuştur (Bkz. Çizelge 4.3).



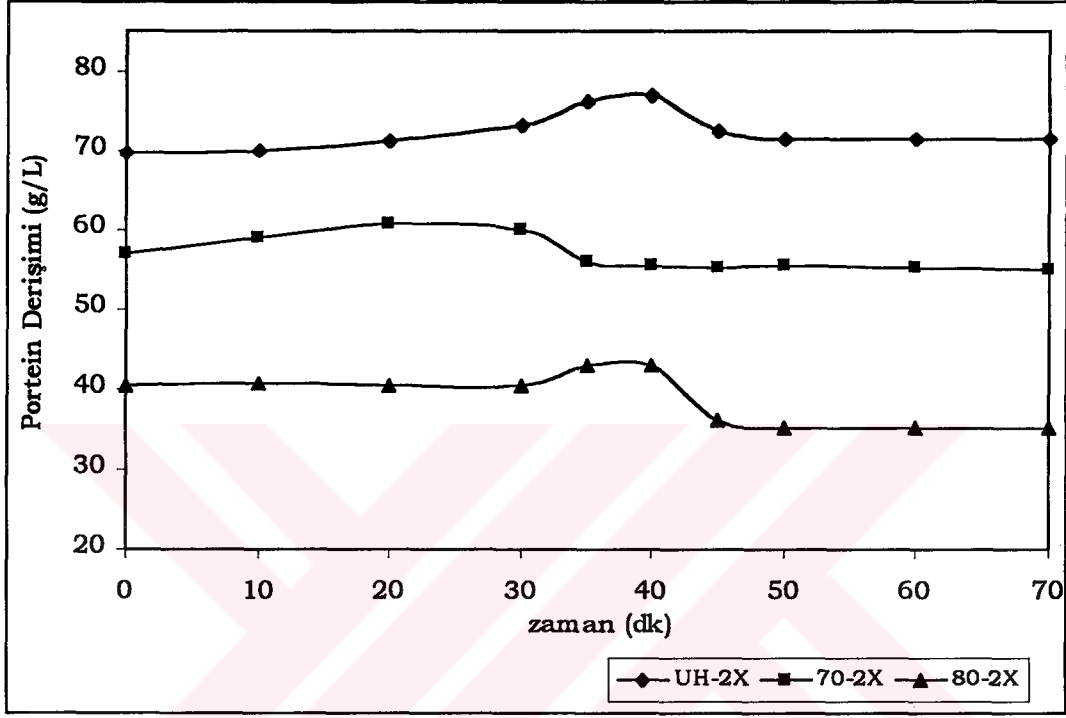
Şekil 4.19. UF ile konsantre edilmemiş örneklerde rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu)



Şekil 4.20. 2X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)

Farklı sıcaklıklarda ısıl işlem uygulanmış örneklerin 2X retentatlarında $t_{0.8}$ anındaki ANS derişimleri uygulanan sıcaklık derecesinin artırılmasıyla

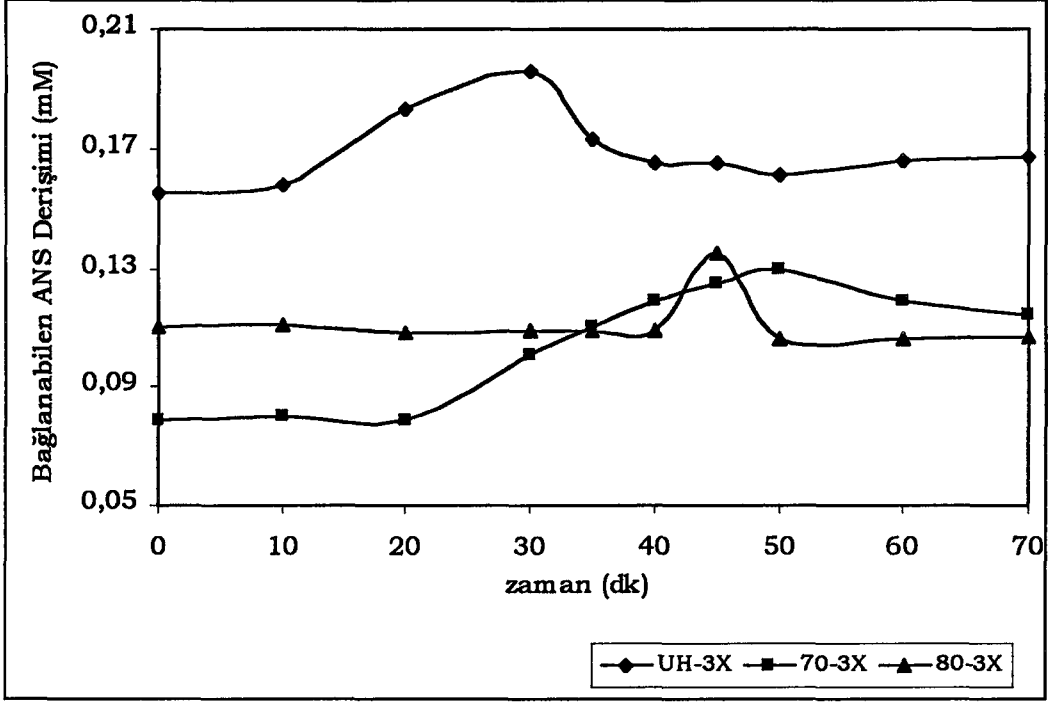
azalmış, benzer şekilde protein derişimleri de sıcaklık artışıyla azalmıştır. ANS partitasyonu ile hesaplanan $t_{0.8}$ değerleri incelendiğinde, 70-2X'te sürenin UH-2X ve 80-2X'e göre daha uzun sürede tamamlandığı, protein partitasyonunda ise 70-2X'e ait $t_{0.8}$ değerinin diğerlerinden oldukça düşük olduğu saptanmıştır.



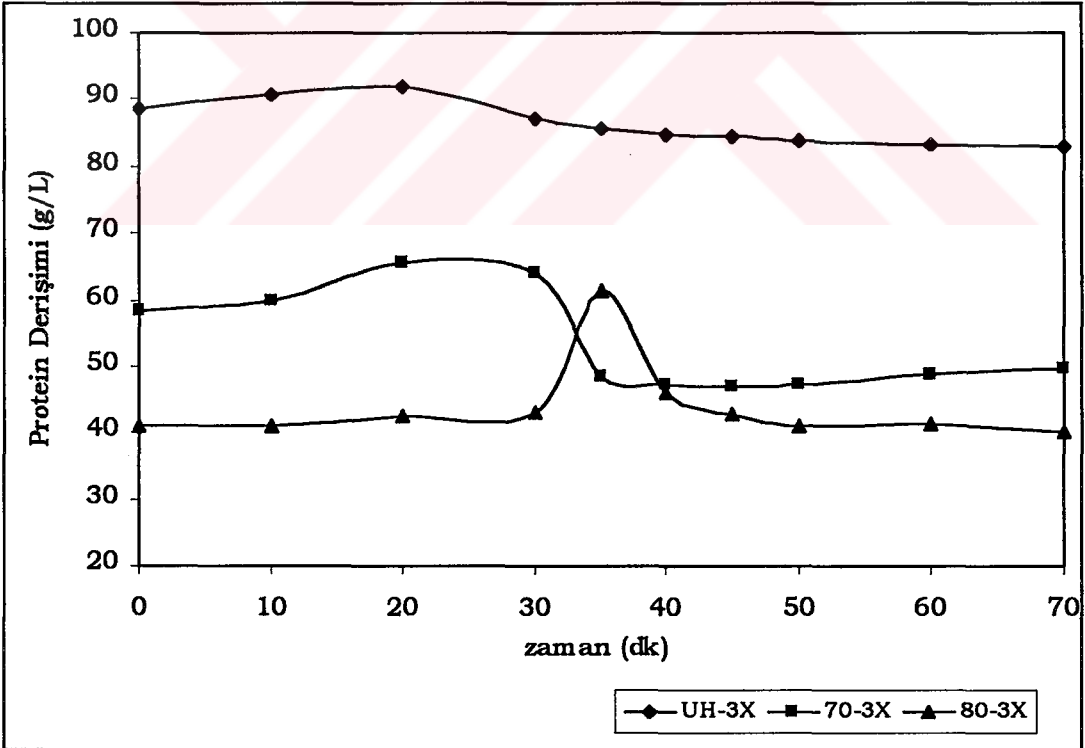
Şekil 4.21. 2X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değışimi (protein partitasyonu)

Uygulanan sıcaklık derecesinin artmasıyla, 3X retentatların $t_{0.8}$ değerlerinde artış olduğu gözlenmiştir. UH-3X, 70-3X ve 80-3X örneklerin ANS partitasyonunda $t_{0.8}$ değerleri sırasıyla 22.33, 40.50, 43.00 dk, protein partitasyonunda ise 14.67, 17.83, 33.33 dk olarak hesaplanmıştır.

Isıl işlem şiddetinin artmasıyla örneklerin $t_{0.8}$ anındaki protein derişimleri azalmaktadır. Isıl işlem görmemiş 3X retentat $t_{0.8}$ anında 91.30 g/L protein derişimine sahipken, bu değer 70-3X ve 80-3X için sırasıyla 64.40 ve 57.20 g/L'ye düşmüştür. ANS derişimleri de 80-3X'de hafif bir artış olmasına karşın genelde sıcaklık artışıyla düşüş eğilimindedir.



Şekil 4.22. 3X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların ANS bağlanabilir kısımlarının değişimi (ANS partitasyonu)



Şekil 4.23. 3X retentatların rennetlenme sürecinde presipitatların protein derişiminin değişimi (protein partitasyonu)

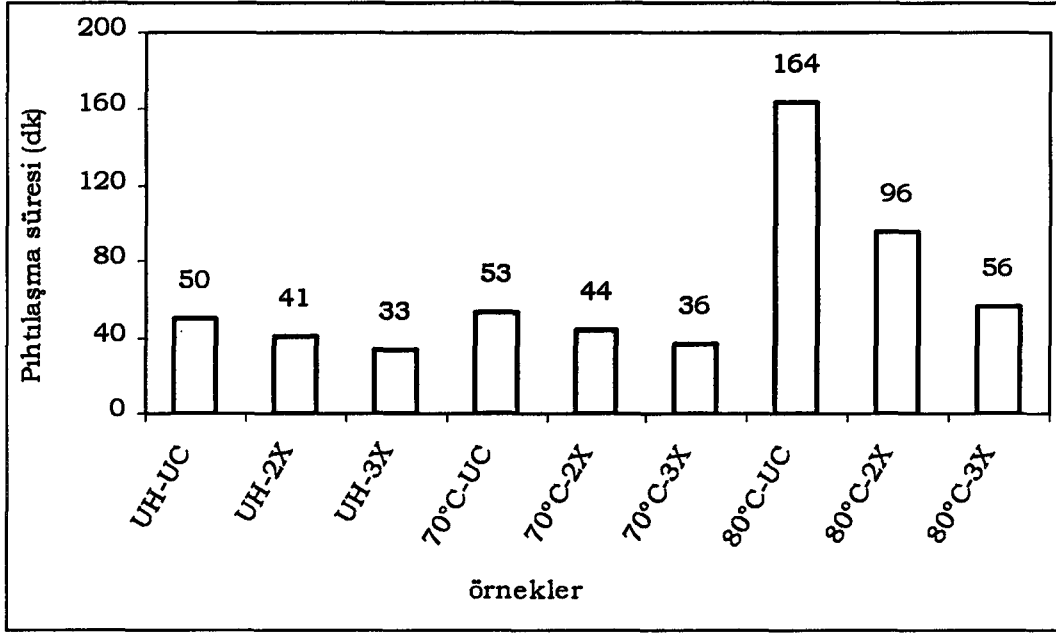
ANS ve protein partitasyonu belirlenen örneklerde ayrıca modifiye edilmiş Berridge metodu ile pıhtılaşma süreleri saptanmıştır. Çalışmada örneklere eklenen rennet miktarı ve koagülasyon sıcaklığı sabit tutulmuş ve ısı uygulama sonrası UF ile konsantre etmenin pıhtılaşma süresi, rennetlenme süresi ve başlangıç sinerezis hızına etkileri üzerinde durulmuştur.

Örneklere ait pıhtılaşma süreleri (P.S), rennetlenme süreleri (R.S) ve başlangıç sinerezis hızları Çizelge 4.4'de verilmiştir. Koagülasyon sürecinin enzimatik fazı tamamlandıktan sonra rennetlenmiş miseller bir araya gelerek agregat oluşturmaktadır. Görünür ilk agregatların oluştuğu an pıhtılaşma süresi olarak saptanmıştır. Agregasyonun devam etmesiyle rennetlenmiş miseller tamamen koagüle olmaktadır. Rennet ilavesinden pıhtı kesim anına kadar geçen bu süre de rennetlenme süresi olarak alınmıştır.

Çizelge 4.4. Örneklerin pH değerleri ve rennetlenme özellikleri

Örnekler	pH	P.S (dk)	R.S (dk)	S.H(mL/dk)
UH-UC	6.67	50	78	1.17
UH-2X	6.56	41	51	0.55
UH-3X	6.51	33	38	0.28
70°C-UC	6.65	53	91	0.45
70°C-2X	6.65	44	61	0.38
70°C-3X	6.62	36	43	0.34
80°C-UC	6.65	164	>164	<0.1
80°C-2X	6.66	96	117	<0.1
80°C-3X	6.65	56	75	<0.1

P.S: pıhtılaşma süresi, R.S: rennetlenme süresi, S.H: sinerezis başlangıç hızı

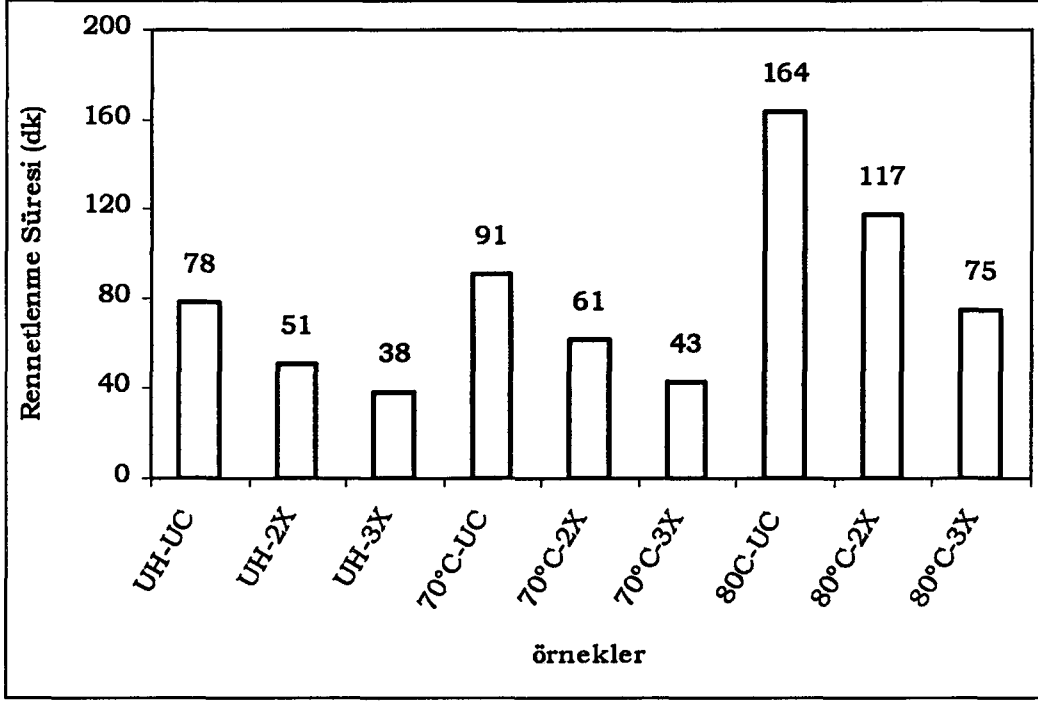


Şekil 4.24. Örneklerin pıhtılaşma sürelerinin değişimi

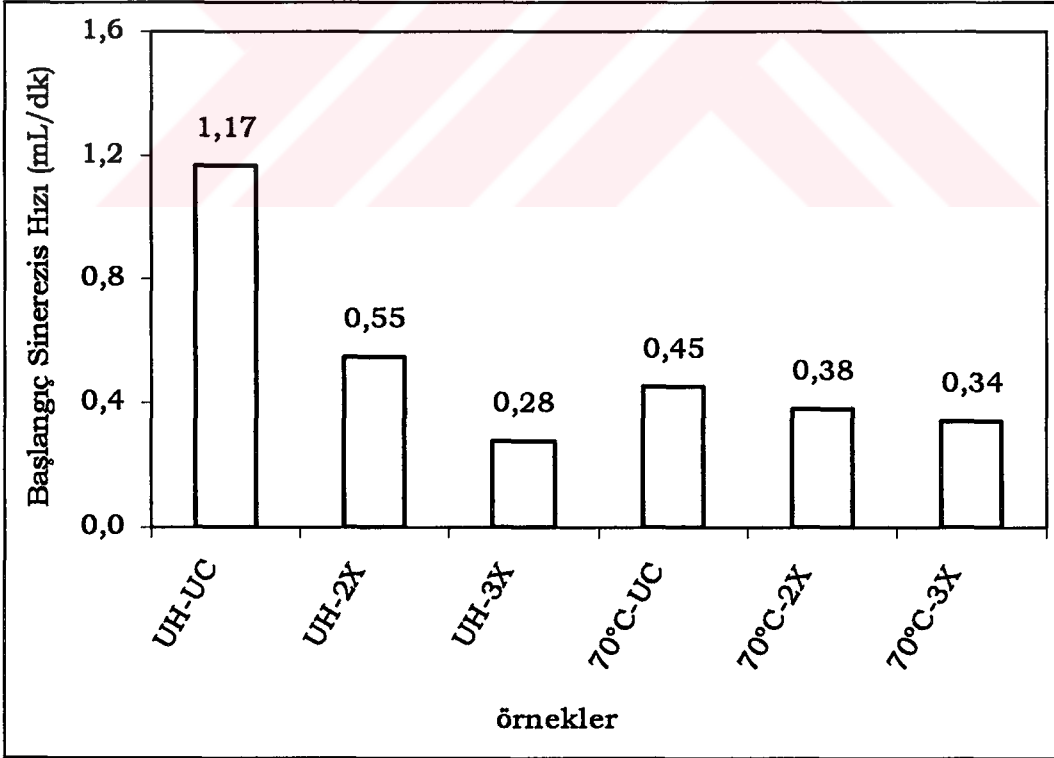
Isıl işlem görmemiş ve UF ile konsantre edilmemiş yağsız sütte (UH-UC) rennet ilavesinden 50 dk sonra ilk agregatlar görülürken, 2X ve 3X retentatlarda bu sürenin kısaldığı, sırasıyla 41 ve 33 dk'ya düştüğü saptanmıştır. 70°C'de ısıl işlem görmüş örneklerde de konsantrasyon faktörünün artmasıyla pıhtılaşma süresinin azaldığı görülmektedir.

80°C'de ısıl işlem uygulanmış, konsantre edilmemiş yağsız sütte, pıhtılaşma süresi diğer örneklere göre belirgin bir biçimde yüksek bulunmuştur. 80-2X ve 80-3X'te belirleyici agregatlar 80-UC'ye göre daha kısa sürede gözlenmiştir. 80-UC, 80-2X ve 80-3X için pıhtılaşma süreleri 164, 96 ve 56 dk olarak saptanmıştır.

Örneklerin rennetlenme süreleri irdelendiğinde, pıhtılaşma süreleri ile benzer şekilde, konsantrasyon faktöründeki artışla sürenin azaldığı görülmektedir. 80-UC örnekte görünür agregatların oluşumundan sonra belirgin bir jel oluşumu gözlenmemiştir. Örneğin 2X retentatında rennetlenme 117 dk'da tamamlanmış, 3X retentatında ise rennetlenme süresi 75 dk'ya kadar düşmüştür (Bkz. Şekil 4.25.).



Şekil 4.25. Örneklerin rennetlenme sürelerinin değişimi



Şekil 4.26. Örneklerin başlangıç sinerezis hızları

Isıl işlem görmemiş (UH) UC yağsız süt, 2X ve 3X retentatları ile 70°C'de ısıl işlem görmüş UC yağsız süt, 2X ve 3X retentatlarında UF ile konsantrasyon başlangıç sinerezis hızlarının düşmesine yol açmaktadır. 80-UC örnekte rennetlenme tamamlanmadığı için sinerezis hızı açısından değerlendirmeye alınmamıştır. 80-2X ve 80-3X retentatlarda ise pıhtı kesiminden sonra serum fazı ayrımı olmamış yani sinerezis gözlenmemiştir.

Aynı protein derişimine sahip örneklerde ısıl işlemin pıhtılaşma sürelerine etkisine bakıldığında, 70°C'de ısıl işlem uygulamasının sürelerde belirgin bir değişime neden olmadığı, asıl değişimin 80°C'de önem kazandığı görülmektedir. Rennetlenme sürelerinde, ısıl işlemin şiddetinin artırılması ile sürenin uzadığı saptanmıştır.



5.TARTIŞMA VE ÖNERİLER

Isıl işlem uygulaması ile β -laktoglobulinin denature olarak kazein misellerinin yüzeyine assosiye olduğu (Walstra and Jenness, 1984, Oldfield et al., 1998, Oldfield et al., 2000), ayrıca UF ile konsantrasyonun artırılması sonucu serum protein denaturasyonunun arttığı (Law and Leaver, 1999), buna bağlı olarak β -laktoglobulinin/k-kazein assosiyasyonun artacağı göz önünde tutulursa süt proteinlerinde en önemli modifikasyonun yüzeyde olacağı düşünülmektedir. Rennetlenme sürecinde ilk aşama, enzim etkisi ile misel yüzeyinde bulunan k-kazeinin hidrolizasyonu olduğu için, protein yüzeyinde ortaya çıkacak modifikasyonların rennetlenme karakteristiklerini de etkileyeceği düşünülmektedir. Bu nedenle, spektrofluorimetrik olarak saptanan verilerden hesaplanan fluoresans parametreleri değerlendirilerek, ısı ve UF uygulamasının öncelikle protein yüzey hidrofobisitesi üzerine etkileri belirlenmiştir.

Bir çok çalışmada proteinlerin yüzey hidrofobisitesinin belirlenmesinde kullanılan ANS (Haque and Kinsella, 1988; Iametti, 1991; Iametti et al., 1993; Bonomi et al., 1994; Dziuba and Muzinska, 1998; Erdem, 2000) bu çalışmada da fluoresans probu olarak kullanılmıştır.

Sütün UF ile konsantrasyonu sonucu yüzey hidrofobik kısımların sayısı (F_{max}) azalmış, proteinin marköre (ANS) karşı gösterdiği afinite ($1/K_d$) azalmış, protein ANS bağlanmasının ortalama sıklığı olarak tanımlanan F_{max}/K_d ve birim protein başına protein yüzey hidrofobisitesi indeksinde (PSH) azalma gözlenmiştir (Bkz. Şekil 4.7-4.11).

UF sürecinde ANS bağlanabilecek yüzey hidrofobik kısımların birbiriyle etkileşime girmesi, böylece ANS bağlanabilecek kısımların sayısının retentatlarda görece azalması nedeniyle UF ile protein derişimindeki artışa karşın F_{max} azalmıştır. Birbirleri ile hidrofobik bağlar oluşturan misellerin boyutlarının büyümesi ve UF sonucu protein derişimindeki artışa paralel olarak ortaya çıkan hacimsellikteki azalma nedeniyle miseller arasındaki

çarpışma-temas sayısında bir artış ortaya çıktığı sanılmaktadır (Mehaia and Cheryan, 1983).

Isıl işlem görmemiş ve UF ile konsantre edilmemiş yağsız sütün F_{max} değerinin, ısıl uygulama sonucu düşmesi, süt protein sistemindeki hidrofobik bölgelere ANS'in ulaşabilirliğinin azaldığını göstermektedir. Hidrofobik kısımların sayısındaki bu azalmanın özellikle 80°C'de önemli düzeyde olması nedeniyle yapısal düzenlemelerin bu sıcaklık derecesinde ortaya çıktığından söz edilebilir. Isı etkisiyle denature olan serum proteinlerinin kazein miselleriyle hidrofobik bağlanmalar aracılığı ile assosiyeye olduğu düşünülmektedir (Haque and Kinsella, 1988). Ayrıca 70°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda denature serum proteinlerinin kazein miselleriyle etkileşimi sonucu misellerin karşılıklı assosiyasyonundan söz edilebilir. Bu şekilde protein-protein etkileşimleri artmakta ve protein yapısındaki hidrofobik kısımlar bloke olmaktadır.

UF ile iki kat konsantre edilen örneklerin farklı sıcaklıklarda floresans parametreleri, UC örnekle benzer eğilim göstermekte, yani uygulanan sıcaklık derecesinin artmasıyla F_{max} , $1/K_d$, F_{max}/K_d , F_{max}/P ve PSH değerleri azalmaktadır (Bkz. Çizelge 4.1), fakat 3X retentatların farklı sıcaklık uygulamalarındaki floresans parametreleri incelendiğinde sıcaklığın artmasıyla hidrofobik kısımların sayısının da arttığı, hidrofobik kısımların ANS'e afinitesinin ise azaldığı görülmektedir.

Isıl işlem uygulaması ile örneklerin kalsiyum iyon aktiviteleri de düşmektedir. Pappas (1992) ısıl işlem sonucu protein moleküllerinin açılımı ile ortaya çıkan yapısal değişimler sonucu kalsiyum bağlanma etkinliği ve/veya sayısında artış ortaya çıktığını belirtmektedir. Isıl işlemin etkisi ile çözünür kalsiyumun koloidal faza geçtiği bilinmektedir (O'Connell and Fox, 2001).

Sütün rennet ile pıhtılaşma karakteristikleri incelenirken izlenen sürecin yarıldığında ve %80'i tamamlandığında santrifüjleme sonrası (10000 rpm) presipitatta (ppt) saptanan ANS niceliği, o anda kazein misellerinde hidrofobik bağlanmaya açık kısımların sayısı hakkında bilgi vermektedir.

Çünkü bu olgu spektrofotometrik olarak saptanmakta; ANS ve süt proteinleri kendi başlarına fluoresans göstermezken birlikte kompleks oluşturdıklarında fluoresans sergilemektedir. ANS'in proteine bağlanma biçimi de yalnızca hidrofobik bağlar ile olasıdır. Bu bağlamda anılan ANS derişimi (partitasyonu) ne kadar yüksekse, o anda hidrofobik bağlanmaya açık kısımların sayısı da o kadar yüksek demektir (Iametti et al, 1991; Erdem, 2000). Bu da k-kazein hidrolizinin o kadar ilerlemiş olduğu anlamına gelir. Ayrıca uygulanan işlemlere (UF, ısı uygulaması) bağlı olarak; daha önce doğal yapısında miselin iç kısımlarında lokalize olmuş olan hidrofobik kısımların açığa çıkması da buna katkıda bulunabilir (Tanford, 1973). ANS partitasyonunun görece azalması ise açılan yüzey hidrofobik kısımların, protein-protein bağlanmaları ile (gerek parakazein miselleri arasında, gerek işlemler ile değişen kazein miselleri arasında ve gerekse denature serum proteinleri ile miseller arasındaki) maskelenmesine bağlı olabilir.

Aynı koşullarda izlenen protein derişimi de flokulasyon düzeyi hakkında bilgi verecektir. Çünkü 10000 rpm'de doğal miseller ya da küçük agregatlar presipite olmazken, ancak floklar presipitatta yer almaktadır.

Çizelge 4.3'te tüm örneklerin presipitatında izlenen protein partitasyonu verilerine genel olarak bakıldığında şu sonuç ortaya çıkmaktadır;

Ultrafiltrasyon ile derişimin artırılması her ısı uygulaması için kendi içinde rennetlenme sürecinin %50'sinde ve %80'inde presipitata geçen protein düzeyinin belirgin olarak artmasına neden olmaktadır. Hiç ısı uygulanmamış örneklerde ve 70°C/5 dk ısı uygulanan örneklerde sürecin anılan yüzdelerine ulaşıldığında saptanan süreler de, derişimin artmasıyla azalmış ancak 80°C/5 dk ısı uygulanmış örneklerde derişimin UF ile artırılması rennetlenme süresinin gecikmesine neden olmuştur. Yani flokulasyon süresi görece uzamıştır.

Buna benzer biçimde Çizelge 4.2'de verilen ANS partitasyonu değerleri de protein derişimi arttıkça ANS derişiminin UH ve 70°C örneklerinde 2X'te arttığını 3X'te azaldığını, 80°C örneklerinde ise UF ile derişimin arttığı

ölçüde bağlanan ANS derişiminin azaldığını göstermektedir. Yani misellerde hidrofobik bağlanmanın gerçekleşebileceği kısımların sayısı belirgin bir değişim göstermektedir. Bu örneklerin süreci tanımlayan sürelerinin değişimi de aynı şekilde izlenmektedir.

Aynı derişime sahip örnekler karşılaştırıldığında, konsantre edilmemiş örneklerde ısı uygulama sıcaklığı 70°C'ye çıkarıldığında sürecin %80'e ulaştığı andaki ANS partitasyonu hiç ısı işlem görmeyen örneğe göre önemli düzeyde düşerken 80°C örneğinde bu değer 70°C'ye göre artmıştır ($p<0.01$), yani 70°C/5 dk ısı uygulaması ile ortaya çıkan hidrofobik kısımların sayısındaki azalma 80°C'de daha düşük boyutta olmuştur. Protein partitasyonunda yine $t_{0.8}$ anı için konsantre edilmemiş örneklerdeki değişim de bu gözlemi destekler biçimdedir. UH-UC için $t_{0.8}$ anındaki protein derişimi 40 g/L iken 70-UC örneğinde ~35, 80-UC örneğinde ise ~37 g/L düzeyinde bulunmuştur. Yani aynı anda flokule olan parakazein miseli düzeyi göreceli olarak 70°C/5 dk ısı uygulaması ile belirgin olarak azalmaktadır. $t_{0.8}$ süreleri UH ile 70 örneğinde birbirine çok yakınken ($p>0.05$), 80°C örneğinde önemli düzeyde kısalmıştır ($p<0.01$).

UF ile iki kat konsantre edilen örnekler incelenecek olursa sıcaklık düzeyinin artması ile flokulasyon düzeyi önemli düzeyde artmıştır. $t_{0.8}$ süreleri ile konsantre edilmemiş örneğe göre 70-2X örneğinde belirgin olarak azalırken 80-2X örneğinde süre UH-2X ile aynı olmuştur. ANS partitasyonu düzeyi protein derişimi ile aynı eğilimi göstermiş ancak ANS partitasyonundaki $t_{0.8}$ süresi UH-2X'e göre 70-2X'te neredeyse iki katına çıkarken 80-2X'te UH-2X'in değerine yaklaşmıştır.

UF 3X retentatlarında ısı uygulamasında kullanılan sıcaklığın yükselmesi, rennetlenmenin %80'ine ulaşıldığında presipitattaki protein derişiminin önemli düzeyde azalmasını beraberinde getirmiştir ($p<0.01$). Sürecin %80'e ulaşması için gereken süre ise aşamalı olarak artmıştır. ANS partitasyonunda sıcaklık 70°C'ye çıktığında ANS derişimi görece azalırken, 80°C/5 dk ısı uygulanan 3X retentatında 70-3X'e göre artmış ancak yine de UH-3X'in altında bir düzeyde kalmıştır ($p<0.01$). ANS partitasyonunun

izlendiği rennetlenme sürecinin %80'ine ulaşılması için gereken süre de sıcaklık arttıķa 3X retentatlarında artış sergilemiştir.

Çizelge 4.5. Presipitatlarda ANS/P partitasyonu sonucu süre ve ANS/P derişimleri değerleri

Örnekler	$t_{0.5}$	$t_{0.8}$	$[ANS/P]_{0.5}$	$[ANS/P]_{0.8}$
UH-UC	23.33±0.41	26.00±0.10	4.930±0.085	5.100±0.076
UH-2X	25.33±0.16	28.33±0.23	2.453±0.065	2.504±0.63
UH-3X	19.67±0.33	24.83±0.24	1.986±0.051	2.143±0.61
70-UC	10.50±0.12	15.17±0.31	4.341±0.078	4.469±0.019
70-2X	50.17±0.11	55.83±0.31	2.590±0.056	2.826±0.078
70-3X	33.00±0.14	38.33±0.27	1.983±0.050	2.450±0.041
80-UC	40.5±0.24	42.83±0.48	3.950±0.071	4.367±0.031
80-2X	24.67±0.21	44.00±0.33	3.018±0.061	3.225±0.037
80-3X	40.67±0.34	42.67±0.23	2.463±0.057	2.888±0.027

Yukarıda Şekil 4.12-4.23 ve izelge 4.2-4.3'teki verilerden yola çıkılarak gerçekleştirilen tartışma izelge 4.5'te yer alan, rennetle pıhtılaşma sürecinde izlenen parametrelerden hesaplanarak bulunan birim protein başına ANS partitasyonu verileri ile daha keskin bir açıklık kazanmaktadır. $t_{0.8}$ ve $t_{0.5}$ sürelerinde UH ve 70 örneklerinde derişim UC'den 2X'e çıktığında artış, 2X'ten 3X'e yükseldiğinde ise göreceli bir

azalış gözlenmekte, $t_{0.8}$ açısından 80-UC örneğine göre 80-2X örneğinde süre bir miktar artarken 80-3X'te yeniden orijinal düzeyine dönmektedir. Aslıolan bu anlardaki ANS/P düzeylerinde UF ile derişim artıkça ortaya çıkan belirgin azalıştır. Konsantre edilmemiş örneklerde sıcaklık artıkça $t_{0.8}$ anında ANS/P oranı azalırken, 2X ve 3X retentatlarında ısı uygulama normunun artışı ile ANS/P oranının göreceli arttığı gözlenmektedir ($p<0.01$).

Rennetlenmenin çok uzun sürede tamamlandığı 80°C'de ısıl işlem görmüş örneğin UF ile konsantrasyonu sonucu rennetlenme süresinin kısaldığı saptanmıştır. Aynı rennet miktarı kullanılarak UF retentatlarında daha kısa sürede pıhtılaşma gözlendiğine göre, aynı sürede pıhtılaşma gerçekleşmesi için retentata eklenecek rennet miktarı azalmaktadır.

Retentattan elde edilen pıhtıda ayrılan peynir suyu miktarı azalmaktadır.

80°C'de ısıl işlem görmüş sütün UF retentatından elde edilen pıhtı, ısıl işlem görmemiş UF retentatından elde edilen pıhtıya göre daha gevşek bir yapı göstermektedir. Bu özellik UF retentatlarından sert peynir üretiminde karşılaşılan problemlerin üstesinden gelinmesini sağlayabilir.

Ayrıca ısıl işlem ve UF uygulaması ile serum proteinlerinin büyük bir kısmı yapıda tutulduğu için peynirin besin değerinin artacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Anonymous, 1974, Determination of the lactose content of milk: IDF-FIL International Standarts, 28: 1974.
- Anonymous, 1990, T.S.E., Süt-Yağ Tayini-Gerber Metodu (Rutin Metod) (TS-8189), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Anonymous, 1994, T.S.E., Çiğ Süt Standardı (TS-1018), Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- Berridge, N.J., 1952, Some observations on the determination of the activity of rennet, *The Analyst*, Vol.77, No.911, 57-62.
- Bonomi, F., Iametti, S., Pagliarini, E. and Solaroli, G., 1994, Thermal Sensitivity of mares' milk proteins, *Journal of Dairy Research*, 61, 419-422.
- Bonomi, F., Iametti, S., Pagliarini, E. and Peri, C., 1988, A spectrofluorimetric approach to the estimation of the surface hydrophobicity modifications in milk proteins upon thermal treatment, *Milchwissenschaft*, 43, 5, 281-285.
- Bradford, M.M., 1976, A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bush, C.S., Caroutte, C.A., Amundson, C.H. and Olson, N.F., 1983, Manufacture of Colby and Brick cheese from ultrafiltered milk, *Journal of Dairy Science*, 66, 415-421.
- Caron, A., Pouliot, Y. and St-Gelais, D., 2001, Whey syneresis differs from curd made with ultrafiltered or microfiltered milk retentate powders, *Milchwissenschaft*, 56, 7, 387-391.
- Casiraghi, E., Lucisano, M. and Piazza, L., 1989a, Rennet coagulation of milk retentates. 1. Effect of thermal and mechanical stresses associated with ultrafiltration, *Journal of Dairy Science*, 72, 2452-2456.
- Casiraghi, E., Lucisano, M. and Peri, C., 1989b, Rennet coagulation of milk retentates. 2. The combined effect of heat treatments and protein concentration, *Journal of Dairy Science*, 72, 2457-2463.
- Cheryan, M., 1998, *Ultrafiltration and Microfiltration Handbook*, Technomic Publishing Inc., Pennsylvania, USA, 527p.
- Corredig, M., Dalgleish, D.G., 1999, The mechanism of the heat-induced interaction of whey proteins with casein micelles in milk, *International Dairy Journal*, 9, 233-236.

- Dalgleish, D.G., 1990, The effect of denaturation of β -lactoglobulin on renneting- a quantitative study, *Milchwissenschaft*, 45, 8, 491-494.
- Dalgleish, D.G., 1980, Effect of milk concentration on the rennet coagulation time, *Journal of Dairy Research*, 47, 231-235.
- Dannenberg, F. and Kessler H.G., 1988, Reaction kinetics of the denaturation of whey proteins in milk, *Journal of Food Science*, Vol.53, No.1,258-263.
- Dziuba, J. and Muzinska, B., 1998, An effect of the low-temperature induced processes of dissociation-association on the molecular state of casein, *Milchwissenschaft*, 53, 10, 551-553.
- Eck, A. and Gillis, J.C., 2000, *Cheesemaking, From science to quality assurance*, Second Edition, Lavoisier Publishing Inc., France, 831p.
- Erdem, Y.K., 2000, Influence of ultrafiltration on modification of surface hydrophobic sites of the milk protein system in the course of renneting, *Journal of Food Engineering*, 44, 63-70.
- Erdem, Y.K., Yüksel, Z., Ateş, S., Gök, E., 1998, Modification of surface hydrophobicity of casein micelles of different milks, concentrated by ultrafiltration, and its effect on renneting, *Proc. of IDF 24th International Dairy Congress*, Aarhus, Denmark.
- Fernandez, A. and Kosikowski, F.V., 1986, Low moisture mozzarella cheese from whole milk retentates of ultrafiltration, *Journal of Dairy Science*, 69, 2011-2017.
- Fernandez, A. and Kosikowski, F.V., 1986, Physical properties of direct acidified mozzarella cheese from ultrafiltered whole milk retentates, *Journal of Dairy Science*, 69, 643-648.
- Fox, P.F., 1981, Heat-induced changes in milk preceding coagulation, *Journal of Dairy Science*, 64, 2127-2137.
- Fox, P.F., 1999, *Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology*, Volume 1, General Aspects, Second Edition, Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, Maryland, 601p.
- Garnot, P., 1988, Influence of milk concentration by UF on enzymatic coagulation, *Bulletin of the IDF*, 225, 11-15.
- Grandison, A.S. and Glover, F.A., 1994, Membrane processes of milk. In R.K. Robinson, *Modern Dairy Technology*, vol.1, UK, Chapman and Hall, p. 273-311.

- Green, M., L., 1990, The cheesemaking potential of milk concentrated up to four-fold by ultrafiltration and heated in the range 90-97°C, *Journal of Dairy Research*, 57, 549-557.
- Guinee, T.P., O'Callaghan, D.J., Pudja, P.D. and O'Brien, N., 1996, Rennet coagulation properties of retentates obtained by ultrafiltration of skim milks heated to different temperatures, *International Dairy Journal*, 6, 581-596.
- Haque, Z. and Kinsella, J.E., 1988, Interaction between heated k-casein and β -lactoglobulin: predominance of hydrophobic interactions in the initial stages of complex formation, *Journal of Dairy Research*, 55, 67-80.
- Iametti, S., Negri, E., Bonomi, F. and Giangiacomo, R., 1991, A spectrofluorimetric approach to the estimation of changes in protein surface hydrophobicity during cheese ripening, *Neth. Milk Dairy J.*, 45, 183-191.
- Iametti, S., Giangiacomo, R., Messina, G. and Bonomi, F., 1993, Influence of processing on the molecular modifications of milk proteins in the course of enzymic coagulation, *Journal of Dairy Research*, 60, 151-159.
- Imafidon, G., I. and Farkye, N., Y., 1993, Rennet coagulability of high-heat treated milk influenced by time of pH adjustment, *Journal of Food Science*, Vol. 58, No. 6, 1300-1302,
- Kosikowski, F.V., Masters, A.R. and Mistry, V.V., 1985, Cheddar cheese from retentate, supplemented whole milk, *Journal of Dairy Science*, 68, 548-554.
- Law, A.J.R. and Leaver, J., 1999, Factors effecting the heat denaturation of whey proteins in cows' milk, *International Dairy Journal*, 9, 407-408.
- Leaver, J., Law, A.J.R., Horne, D.S. and Banks, J.M., 1995, Influence of heating regime and pH on the primary phase of renneting of whole milk, *International Dairy Journal*, 5, 129-140.
- Lucisano, M., Peri, C. and Donati, E., 1985, Studies on coagulation of milk ultrafiltration retentates. 1.Coagulation kinetics, *Milchwissenschaft*, 40(10), 600-604.
- Marshall, R.J., 1986, Increasing cheese yields by high heat treatment of milk, *Journal of Dairy Research*, 53, 313-322.
- Mehaia, M.A., Cheryan, M., 1983, Coagulation studies of ultrafiltration-concentrated skimmilk, *Milchwissenschaft*, 38(12), 708-710.

- Mistry, V.V. and Kosikowski, F.V., 1985, Fermentation of ultrafiltered skim milk retentates with mesophilic lactic cheese starters, *Journal of Dairy Science*, 68, 1613-1617.
- O'Connell, J.E. and Fox, P.F., 2001, Effect of β -lactoglobulin and precipitation of calcium phosphate on the thermal coagulation of milk, *Journal of Dairy Research*, 68, 81-94.
- Oldfield, D.J., Singh, H., Taylor, M.W. and Pearce, K.N., 2000, Heat-induced interactions of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with the casein micelle in pH-adjusted skim milk, *International Dairy Journal*, 10, 509-518.
- Oldfield, D.J., Singh, H. and Taylor, M.W., 1998, Association of β -lactoglobulin and α -lactalbumin with the casein micelles in skim milk heated in an ultra-high temperature plant, *International Dairy Journal*, 8, 765-770.
- Pagliarini, E., Iametti, S., Peri, C. and Bonomi, F., 1990, An analytical approach to the evaluation of heat damage in commercial milks, *Journal of dairy science*, 73, 41-44.
- Pappas, C.P., 1992, Interactions between milk proteins: Influence of heat, calcium and lactose. 1. Interactions between (i) Whole casein and β -lactoglobulin and (ii) k-casein and β -lactoglobulin, *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 25, 102-112.
- Peri, C., Pagliarini, E., Iametti, S. and Bonomi, F., 1990, A study of surface hydrophobicity of milk proteins during enzymic coagulation and curd hardening, *Journal of Dairy Research*, 57, 101-108.
- Qvist, K.B., Thomsen, D. and Hoier, E., 1987, Effect of ultrafiltered milk and use of different starters on the manufacture, fermentation and ripening of havarti cheese, *Journal of Dairy Research*, 54, 437-446.
- Renner, E. and Abd-El Salam, M.H., 1991, Application of ultrafiltration in the dairy industry, Oxford: Elsevier.
- Schreiber, R., 2001, Heat-induced modifications in casein dispersions affecting their rennetability, *International Dairy Journal*, 11, 553-558.
- Sharma, S.K., Hill, A.R. and Goff, H.D., 1990, The effect of heat treatment of ultrafiltered milk on its coagulation properties, *Milchwissenschaft*, 45(7), 432-435.
- Sharma, S.K., Ferrier, L.K. and Hill, A.R., 1989, Effect of modified manufacturing parameters on the quality of cheddar cheese made from ultrafiltered (UF) milk, *Journal of Food Science*, Vol.54, No.3, 573-577.

- Singh, H. and Waungana, A., 2001, Influence of heat treatment of milk on cheesemaking properties, *International Dairy Journal*, 11, 543-551.
- Spangler, P.L., Jensen, L.A., Amundson, C.H., Olson, N.F. and Hill, C.G., 1990, Gouda cheese made from ultrafiltered milk: Effects of concentration factor, rennet concentration, and coagulation temperature, *Journal of Dairy Science*, 73, 1420-1428.
- Tanford, C., 1973, *The hydrophobic effect: formation of micelles and biological membranes*, John Wiley and Sons Inc., NY, 200p.
- Tratnik, L., Benkovic, G., Borovic, A. and Subaric, D., 1996, Production of fresh cheese enriched with ultrafiltered whey proteins, *Milchwissenschaft*, 51(11), 624-627.
- Van Hooydonk, A.C.M., de Koster, P.G. and Boerrigter, I.J., 1987, The renneting properties of heated milk, *Neth. Milk Dairy J.*, 41, 3-18.
- Versteeg, V. and Hickey, M.W., 1993, Cottage cheese with ultrafiltration retentates, *The Australian Journal of Dairy Technology*, Vol.48, pp.41.
- Walstra, P., Jenness, R., 1984, *Dairy Chemistry and Physics*, John Wiley and Sons Inc., NY, 407p.
- Waungana, A., Singh, H. and Bennett, R.J., 1998, Rennet coagulation properties of skim milk concentrated by ultrafiltration: effects of heat treatment and pH adjustment, *Food Research International*, Vol.31, No.9, pp.645-651.
- Waungana, A., Singh, H. and Bennett, R.J., 1996, Influence of denaturation and aggregation of β -lactoglobulin on rennet coagulation properties of skim milk and ultrafiltered milk, *Food Research International*, Vol.29, No.8, pp.715-721.
- Yüksel, Z., 2001, Isıl işlemlerin süt proteinlerinin yüzey hidrofobisitesi ve etkileşimleri üzerine etkileri, Yüksek Mühendislik Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 81s.

EKLER



EK 1. ANS titrasyonu verileri

[ANS] (μM)	UH-UC	UH-2X	UH-3X	70C-UC	70C-2X	70C-3X	80C-UC	80C-2X	80C-3X
1	21.842	8.148	3.482	23.329	4.683	1.930	11.296	2.415	2.033
3.5	56.698	22.272	9.256	50.890	13.572	6.060	30.451	11.294	8.602
8.5	117.857	43.198	22.098	110.390	31.767	14.713	80.957	27.504	17.934
13.5	156.208	62.340	30.425	149.738	39.451	22.472	110.012	35.903	25.388
26	215.373	80.248	43.941	206.384	62.006	30.923	151.456	54.734	35.499
51	269.389	98.282	53.961	265.247	85.508	44.122	197.209	72.172	50.958
61	278.376	109.408	57.103	280.106	93.400	50.733	210.557	79.583	54.166
86	292.703	120.580	62.991	298.045	98.896	54.985	223.228	84.924	60.629
136	304.179	129.951	68.846	314.119	109.570	61.347	237.288	94.727	66.997

EK 2.

F_{max} : Doymuş ANS derişimindeki maksimum fluoresanstır ve yüzey hidrofobik kısımların sayısı hakkında bilgi vermektedir.

K_d : ANS titrasyonu eğrisinde Michaelis-Menten kinetiklerine göre $F_{max}/2$ koşulundaki ANS derişimidir. Ve fluoresan karakterdeki ANS protein kompleksinin disosiyasyon sabitidir. Proteinin ANS'e karşı gösterdiği afinite $1/K_d$ 'nin bir fonksiyonudur.

F_{max}/K_d : ANS ile protein arasında oluşan komplekste ANS'in proteine bağlanmasının ortalama sıklığı olarak tanımlanmaktadır.

F_{max}/P : Birim protein başına düşen yüzey hidrofobik kısımların sayısıdır.

PSH ($F_{max}/K_d.P$): Yüzey hidrofobisite indeksidir. Birim protein başına düşen bağlanma sıklığı olarak da algılanabilir.

EK 3. ANS partitasyonu verileri

Zaman (dk)	UH-UC	UH-2X	UH-3X	70C-UC	70C-2X	70C-3X	80C-UC	80C-2X	80C-3X
0	0.165	0.169	0.155	0.121	0.133	0.079	0.140	0.110	0.110
10	0.166	0.168	0.158	0.125	0.135	0.080	0.141	0.110	0.111
20	0.173	0.170	0.183	0.134	0.134	0.079	0.157	0.114	0.108
30	0.196	0.188	0.196	0.144	0.134	0.101	0.156	0.131	0.109
35	0.171	0.195	0.173	0.144	0.133	0.110	0.116	0.136	0.109
40	0.168	0.198	0.165	0.120	0.132	0.119	0.118	0.133	0.109
45	0.166	0.182	0.165	0.120	0.132	0.125	0.119	0.118	0.135
50	0.168	0.183	0.161	0.118	0.143	0.130	0.116	0.119	0.106
60	0.167	0.183	0.166	0.120	0.163	0.119	0.117	0.119	0.106
70	0.168	0.183	0.167	0.121	0.162	0.114	0.120	0.118	0.107

EK 4. Protein partitasyonu verileri

Zaman (dk)	UH-UC	UH-2X	UH-3X	70C-UC	70C-2X	70C-3X	80C-UC	80C-2X	80C-3X
0	35.47	69.73	88.57	29.14	56.92	58.40	31.39	40.50	41.05
10	35.46	69.93	90.65	29.00	59.10	60.00	34.16	40.74	41.00
20	36.33	71.27	91.78	29.50	60.69	65.50	37.70	40.40	42.40
30	37.88	73.20	87.20	32.89	59.95	63.93	38.02	40.44	43.00
35	40.50	76.19	85.60	36.14	56.07	48.50	35.58	43.08	61.20
40	41.09	76.95	84.70	30.70	55.60	47.40	30.80	42.90	46.20
45	40.52	72.50	84.40	28.09	55.20	47.10	25.74	36.31	42.80
50	39.61	71.60	83.80	28.16	55.40	47.20	25.50	35.30	41.00
60	38.61	71.60	83.20	28.20	55.20	48.70	25.20	35.30	41.20
70	38.28	71.50	82.90	28.45	54.96	49.60	25.49	35.20	40.00

EK 5. ANS/P partitasyonu verileri

Zaman (dk)	UH-UC	UH-2X	UH-3X	70C-UC	70C-2X	70C-3X	80C-UC	80C-2X	80C-3X
0	4.649	2.419	1.752	4.135	2.330	1.353	4.460	2.706	2.677
10	4.681	2.403	1.743	4.324	2.227	1.333	4.128	2.700	2.698
20	4.762	2.380	1.994	4.549	2.206	1.206	4.164	2.819	2.554
30	5.174	2.568	2.248	4.378	2.241	1.583	4.103	3.240	2.526
35	4.222	2.558	2.021	3.985	2.372	2.276	3.260	3.157	1.778
40	4.089	2.578	1.948	3.909	2.381	2.500	3.832	3.101	2.359
45	4.097	2.510	1.959	4.272	2.391	2.650	4.603	3.250	3.154
50	4.249	2.552	1.924	4.204	2.581	1.754	4.549	3.363	2.585
60	4.325	2.560	1.995	4.262	2.953	2.444	4.631	3.357	2.563
70	4.383	2.559	2.008	4.257	2.948	2.290	4.723	3.361	2.675

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Bengi Akbulut
Doğum Yeri : Seydişehir
Doğum Tarihi : 05.07.1978
Adres : Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği
Bölümü 06532 Beytepe/Ankara

Tel : 0(312) 297 7100
Fax : 0(312) 299 2123
E-posta : bengi@hacettepe.edu.tr

Eğitim ve Akademik Durumu :

Lise : 1992-1994, Malatya Fen Lisesi

: 1994-1995, Seydişehir Lisesi

Lisans : 1995-2000, Hacettepe Üniversitesi Gıda

Mühendisliği Bölümü

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi :

2001- Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde Araştırma
Görevlisi olarak görev yapmaktadır.