

**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DONDURMA ÜRETİMİNDE STABİLİZÖR OLARAK MİKROBİYAL  
TRANSGLUTAMİNAZDAN YARARLANMA OLANAKLARI**

**Büşra GÖNCÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2012**



**T.C.**  
**HARRAN ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DONDURMA ÜRETİMİNDE STABİLİZÖR OLARAK MİKROBİYAL  
TRANSGLUTAMİNAZDAN YARARLANMA OLANAKLARI**

**Büşra GÖNCÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA**

**2012**

Doç Dr. Serdar AKIN danışmanlığında Büşra GÖNCÜ'nün hazırladığı ‘‘Dondurma Üretiminde Stabilizör Olarak Mikrobiyal Transglutaminazdan Yararlanma Olanakları’’ konulu bu çalışma 14/12/2012 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’ nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Serdar AKIN

Üye: Prof. Dr. Mehmet GÜVEN

Üye: Doç. Dr. Hüseyin TÜRKOĞLU

**Bu Tezin Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yapıldığını ve Enstitümüz Kurallarına Göre Düzenlendiğini Onaylarım.**

**Prof. Dr. Mehmet CİCİ**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma HÜBAK Tarafından Desteklenmiştir.**  
**Proje No: 11100**

**Not:** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların Kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

# İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖZ .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR .....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	v
1. GİRİŞ .....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1. Dondurma Üretiminde Stabilizör Kullanımı .....	4
2.2. Transglutaminaz Enzimi Hakkında Genel Bilgiler .....	6
2.3. Transglutaminazın Süt Ürünlerinde Kullanım Olanakları .....	12
2.4. Transglutaminazın Dondurma Üretiminde Kullanımı .....	19
3. MATERYAL ve YÖNTEM .....	20
3.1. Materyal .....	20
3.1.1. Süttozu ve krema .....	20
3.1.2. Şeker ve vanilya .....	20
3.1.3. Stabilizörler .....	20
3.1.4. Lesitin .....	21
3.1.5. Mikobiyal transglutaminaz .....	21
3.1.6. Dondurma makinası .....	21
3.2. Yöntem .....	21
3.2.1. Dondurma üretimi .....	21
3.2.2. Dondurmada yapılan analizler .....	24
3.2.2.1. pH tayini .....	24
3.2.2.2. Titrasyon asitliği tayini .....	24
3.2.2.3. Kurumadde tayini .....	24
3.2.2.4. Yağ tayini .....	24
3.2.2.5. Protein tayini .....	24
3.2.2.6. Viskozite tayini .....	25
3.2.2.7. Hacim artışı tayini .....	25
3.2.2.8. Erime (ilk damla süresi) testi .....	25
3.2.2.9. Erime (tamamen erime süresi) testi .....	25
3.2.2.10. Mikrostrüktürel özellikler .....	26
3.2.3. Duyusal analizler .....	26
3.2.4. İstatiksel analizler .....	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA .....	30
4.1. Dondurmaların Kimyasal Özellikleri .....	30
4.1.1. Dondurmaların pH değerleri .....	30
4.1.2. Dondurmaların titrasyon asitliği değerleri .....	32
4.1.3. Dondurmaların kurumadde değerleri .....	33
4.1.4. Dondurmaların yağ değerleri .....	34
4.1.5. Dondurmaların protein değerleri .....	35
4.2. Dondurmaların Fiziksel Özellikleri .....	36
4.2.1. Dondurmaların viskozite değerleri .....	36
4.2.2. Dondurmaların hacim artışı değerleri .....	38
4.2.3. Dondurmaların ilk damlama süresi değerleri .....	40
4.2.4. Dondurmaların tamamen erime süresi değerleri .....	42
4.3. Dondurmaların Duyusal Özellikleri .....	44
4.3.1. Dondurmaların soğukluk şiddeti puanları .....	45
4.3.2. Dondurmaların sıklık puanları .....	46
4.3.3. Dondurmaların viskozite puanları .....	48
4.3.4. Dondurmaların pürüzsüzlük puanları .....	49
4.3.5. Dondurmaların renk ve görünüş puanları .....	50
4.3.6. Dondurmaların ağız dolgunluğu puanları .....	52
4.3.7. Dondurmaların tat ve koku puanları .....	54
4.3.8. Dondurmaların genel kabul edilebilirlik puanları .....	55

4.4. Dondurmaların Mikrostrüktürel Özellikleri .....	56
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....	60
KAYNAKLAR .....	65
ÖZGEÇMİŞ .....	70
ÖZET .....	71
SUMMARY .....	74

**ÖZ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**DONDURMA ÜRETİMİNDE STABİLİZÖR OLARAK MİKROBİYAL  
TRANSGLUTAMİNAZDAN YARARLANMA OLANAKLARI**

**Büşra GÖNCÜ**

**Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman: Doç. Dr. Serdar AKIN**

**Yıl: 2012 Sayfa: 76**

Bu çalışmada, mikrobiyal transglutaminaz enziminin (MTG) dondurma üretiminde stabilizör olarak tek başına veya diğer stabilizörle birlikte kullanılabilirliği ve buna ilaveten MTG enziminin dondurmaya üretimin hangi aşamasında ilave edilmesi gerektiği araştırılmıştır. Bu amaçla 5 farklı miks (A ve C: 1.0 unit /g protein; B ve D:0.35 unit /g protein+%0.35 stabilizör; E:%0.7 stabilizör) hazırlanarak dondurma üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen dondurmaların fiziksel (viskozite, hacim artışı, ilk damlama süresi, tamamen erime süresi), kimyasal (pH, titrasyon asitliği, kurumadde, yağ, protein), duyuşal (soğukluk şiddeti, sıklık, viskozite, pürüzsüzlük, renk ve görünüş, ağız dolgunluğu, tat ve koku, genel kabuledilebilirlik) ve mikrostrüktürel özellikleri incelenmiştir.

Sonuç olarak, dondurmaların pH, titrasyon asitliği, yağ ve protein değerleri üzerine MTG ilavesinin ve katım aşamasının etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunurken, viskozite, hacim artışı, ilk damlama süresi, tamamen erime süresi, kurumadde, soğukluk şiddeti, sıklık, viskozite, pürüzsüzlük, renk ve görünüş, ağız dolgunluğu, tat ve koku, genel kabul edilebilirlik değerleri üzerine etkisi önemli ( $p<0.01$ ) bulunmuştur. Ayrıca mikrobiyal transglutaminaz enziminin diğer stabilizörler birlikte dondurma üretiminde stabilizör olarak kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Mikrobiyal transglutaminaz, dondurma, stabilizör, ısıl işlem, kalite

## **ABSTRACT**

**MSc Thesis**

### **THE POSSIBILITIES OF USING MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE (MTG) ENZYME AS A STABILIZER IN ICE CREAM PRODUCTION**

**Büşra GÖNCÜ**

**Harran University  
Graduate School of Naturel and Applied Sciences  
Department of Food Engineering**

**Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Serdar AKIN**

**Year: 2012, Page: 76**

In this study, the possibilities of using microbial transglutaminase (MTG) enzyme as a stabilizer alone or/and together with the other stabilizers in ice cream production were researched. In addition, it was researched that microbial transglutaminase should have added which production step of ice cream. For this purpose five different ice cream mixes (A and C contain 1 unit/g protein MTG, B and D contain 0.5 unit/g protein MTG+0.35% stabilizer, E contains 0.7% stabilizer) were prepared and ice creams were manufactured from these mixes. The physical (viscosity, overrun, first dripping and melting times), chemical (pH, titratable acidity, dry matter, fat, protein), sensorial (coldness, firmness, sensorial viscosity, smoothness, colour and apperance, mouth coating, taste and odour, general acceptability) and microstructural properties of ice creams were investigated.

According to the results, while the effects of addition amount and production step of MTG on the pH, titratable acidity, fat and protein values were being insignificant ( $p>0.05$ ), the addition amount and production step of MTG have had significant effect on the viscosity, overrun, first dripping and melting times, dry matter, coldness, firmness, sensorial viscosity, smoothness, colour and apperance, mouth coating, taste and odour and general acceptability values f ice creams ( $p<0.01$ ). Consequently, it can be said that MTG could be used together with other stabilizers in the production of ice cream.

**Key words:** Microbial transglutaminase, ice cream, stabilizer, heat treatment, quality



## TEŞEKKÜR

Bu tezin konusunun seçiminden araştırmanın yürütülmesine kadar her türlü konuda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım danışmanım sayın Doç. Dr. Serdar AKIN ve Doç. Dr. B. Mutlu AKIN'a, çalışmanın duyusal analizinde düşünce ve önerilerinden faydalandığım bölüm hocalarıma, maddi desteklerinden dolayı TÜBİTAK-BİDEB'e ve tüm hayatım boyunca maddi ve manevi, destek ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen AİLEM'e teşekkür ederim.

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 3.1. Dondurmaların bileşimi .....	21
Çizelge 3.2. Dondurma örneklerinde bulunan stabilizör oranları.....	22
Çizelge 4.1. Dondurma örneklerinin kimyasal analiz sonuçları.....	30
Çizelge 4.2. Dondurma örneklerinin fiziksel analiz sonuçları .....	36
Çizelge 4.3. Dondurma örneklerinin duyusal analiz sonuçları.....	45

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Mikrobiyal transglutaminazın primer yapısı .....	8
Şekil 2.2. Mikrobiyal transglutaminazın genel yapısı .....	8
Şekil 2.3. TG tarafından katalizlenen tepkimeler .....	9
Şekil 3.1. Dondurma üretim akış şeması .....	23
Şekil 3.2. Dondurmaların duyuşal değerlendirilmesinde kullanılan duyuşal analiz formu (1) .....	27
Şekil 3.3. Dondurmaların duyuşal değerlendirilmesinde kullanılan duyuşal analiz formu (2) .....	28
Şekil 4.1. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların pH değerleri .....	31
Şekil 4.2. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların titrasyon asitliği değerleri.....	32
Şekil 4.3. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların kurumadde değerleri .....	33
Şekil 4.4. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların yağ değerleri .....	34
Şekil 4.5. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların protein değerleri .....	35
Şekil 4.6. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların viskozite değerleri .....	37
Şekil 4.7. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların hacim artışı değerleri.....	39
Şekil 4.8. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların ilk damlama süresi değerleri .....	41
Şekil 4.9. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların tamamen erime süresi değerleri .....	43
Şekil 4.10. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların soğukluk şiddeti puanları .....	46
Şekil 4.11. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların sıklık puanları .....	47
Şekil 4.12. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların viskozite puanları .....	48
Şekil 4.13. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların pürüzsüzlük puanları .....	49
Şekil 4.14. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların renk ve görünüş puanları .....	51
Şekil 4.15. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların ağız dolgunluğu puanları.....	52
Şekil 4.16. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların tat ve koku puanları.....	53
Şekil 4.17. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların genel kabul edilebilirlik puanları .....	54
Şekil 4.18. Isıl işlem sonrası örneğin (A) mikrostrüktürü .....	57
Şekil 4.19. Isıl işlem sonrası örneğin (B) mikrostrüktürü .....	57
Şekil 4.20. Isıl işlem öncesi örneğin (C) mikrostrüktürü .....	58
Şekil 4.21. Isıl işlem öncesi örneğin (D) mikrostrüktürü .....	58
Şekil 4.22. Kontrol örneğinin (E) mikrostrüktürü .....	59

## 1. GİRİŞ

Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği'nin 2005 yılında yürürlüğe giren Dondurma Tebliği'nde dondurma; "Dondurma karışımının (içerisinde tat ve çeşidine göre, süt ve/veya süt ürünlerini, içme suyu, şeker ve izin verilen katkı maddelerini bulunduran, istenildiğinde salep, yumurta ve/veya yumurta ürünleri, aroma maddeleri ve çeşni maddeleri gibi bileşenleri içeren, henüz dondurulmamış haldeki karışım ürününü) pastörizasyon sonrası, tekniğine uygun olarak işlenmesi ve dondurulması ile elde edilen, yumuşak halde ya da sertleştirildikten sonra tüketime sunulan ürün" şeklinde tanımlanmaktadır (Anonim, 2005).

Bugün bir kısmı ülkemizde de üretilen, bileşimine katılan maddelerin cinsi, miktarı ve dondurulma şeklindeki farklılıklarla yüzlerce tip ve çeşit dondurma bilinmektedir. Böylece ortaya çıkan 240 çeşit dondurma, kalite açısından çok üstün niteliklerde ve bilinçli herkesin yaz kış tüketebileceği sevilen, önemli bir gıda maddesi olabilmıştır (Arbuckle, 1986; Tekinşen, 1993).

Dondurma içerdiği süt proteinlerinin mükemmel bir değere sahip olması nedeniyle yani bütün esansiyel aminoasitleri yeterli ve dengeli bir şekilde içermesinden dolayı iyi bir besin kaynağıdır (Demirci ve Şimşek, 1997). Yağ ve protein yanı sıra kalsiyum, fosfor vb. mineraller ile birçok vitamince de zengindir (Coşkun, 2005). 100 g dondurma; 135 mg kalsiyum, 115 g fosfor, 100 mg sodyum, 160 mg potasyum, 0.1 mg demir, 433 IU A vitamini, 0.21 mg E vitamini, 0.25 mg B<sub>2</sub> vitamini ve 0.13 mg niasin içermektedir (Kırdar, 2003).

Dondurma üretim teknolojisi, özellikle son elli yılda, oldukça hızlı gelişmiştir. Süt ürünleri içinde, dondurma üretim ve tüketiminin büyük ölçüde artmasına neden olan bu durum, özellikle gelişmiş ülkelerde halkın sütten ve bazı süt ürünlerinden elverişli bir şekilde yararlanmasına olanak sağlamıştır (Tekinşen, 1993).

Dondurma ülkemizde de her yaştaki insanın özellikle de çocukların, bilhassa yaz mevsiminde severek tükettiği bir gıdadır. Yakın bir geçmişe kadar tüketici, sıradan ve sınırlı dondurma çeşitleri arasında tercih yapmak zorunda iken, endüstriyel dondurmanın gelişmesiyle birlikte farklı tatlarda, farklı çeşitte ve yapıda ürünler raflarda yerini almıştır. Özellikle son yıllarda ülkemizde dondurma sektörü pazara yabancı sermayeli kuruluşların da girmesiyle hareketlenmeye başlamıştır. Bu hareketlenme sonucunda iç pazarda dondurma tüketimi son yıllarda belirgin şekilde artmaya başlamıştır.

Dünyada yıllık kişi başı dondurma tüketimi ortalama 2.5 L dir. Günümüzde ülkelere göre dondurma tüketimi incelendiğinde; Yeni Zelanda yıllık kişi başı 28.0 L dondurma tüketimi ile dünyada ilk sırada yer alırken, bunu 25.0 L ile ABD izlemektedir. Avrupa Birliği ortalaması ise 8.0 L civarındadır. Ülkemizde ise dondurma tüketimi 2004 yılında kişi başına 0.8 L iken bu değer 2009 yılında 2.8 L olmuştur (Akalin ve Karagözlü, 2008).

Dondurma, oldukça kompleks bir fiziksel yapıya sahip olan süt ürünü olduğundan taze iken ve düşük sıcaklıkta (-18°C civarında) saklanması sırasında stabil olmalı ve fiziksel yapısını korumalıdır. Bu nedenle üstün fiziksel kaliteli dondurma üretimi için, karışımın dengede olması ve etkin bir şekilde işlenmesine ek olarak, uygun oranda stabilizör ve emülgatör içermesi gerekir. Bu maddeler, çok az miktarlarda karışıma katılmakla beraber dondurmanın fiziksel kalitesinin ve yapısının sağlanmasında ve muhafazasında etkin rol oynamaktadırlar (Antepüzümü, 2005).

Transglutaminaz enzimi (TG); çapraz bağ oluşumu, amin birleşmesi ve deamidasyon tepkimeleri ile proteinleri modifiye edebilen bir enzimdir (EC 2.3.2.13, protein-glutamin  $\gamma$ -glutamil-transferaz) ve günümüzde yaygın bir şekilde süt, et, deniz, hububat ürünleri gibi gıda ürünlerinde kullanılmaktadır. TG kullanımıyla gıda işleme teknolojisinde, düşük viskoziteli protein çözelti ve/veya dispersiyonlarından jel yapı oluşturma, mekanik dayanımı artırma, düşük yağ-protein içeriğinde mekanik yapı oluşturma, var olan yapıya eksikliği duyulan aminoasit katılımını sağlama,

tekstürel deformasyonu ve gıda katkı maddeleri kullanımını azaltma veya tamamen ortadan kaldırma olasıdır. Mikrobiyal transglutaminaz (MTG), diğer TG'ler gibi, çoğu gıda proteininde G-L (glutamin-lisin) bağlarının oluşumunu katalizler; ortaya çıkan çapraz bağlanma proteinin fonksiyonel özelliklerini değiştirmektedir. MTG teknolojisinin gelecekte gıda protein modifikasyonu için kaçınılmaz bir yöntem olacağı düşünülmektedir (Motoki ve Seguro, 1998).

Gıda proteini substratları, MTG ile inkübe edildiğinde jelleşmektedir. Bu jel oluşumu sonucunda;

- Isı yoluyla jelleşmeyen proteinler jelleşebilmekte,
- Yüksek sıcaklıkta eriyen jeller, mikrobiyal transglutaminaz jelleşmesinden sonra erimemekte,
- Yağ emülsiyonundaki proteinler şeker ve/veya sodyum klorid varlığında jelleşebilmekte,
- Jel sertliği ısıtma sonucu artmakta ve oluşan jeller deterjan veya denatüranlarla çözündürülememektedir (Yüksel ve Erdem, 2008).

Stabilizörler, dondurmanın fiziksel yapısını kontrol eden, çoğunlukla pahalı ve oranı azaltılamayan ingredientlerdir. Bu çalışmada dondurma üretiminde stabilizör miktarını azaltılabilmek için mikrobiyal transglutaminaz (MTG) enziminden yararlanılması amaçlanmıştır. Çalışmada aynı zamanda MTG enziminin üretimin hangi aşamasında mikse ilave edilmesinin uygun olacağı da araştırılmıştır. Bu amaçla yalnızca stabilizör ilavesi ile (kontrol 1), yalnızca MTG ilavesi (kontrol 2) ile ve azaltılmış oranda (kontrollere göre yarı yarıya azaltılmış oranda) stabilizör ve MTG ilavesi ile dondurmalar üretilmiştir. MTG enzimi mikslere ısıl işlem öncesinde ve ısıl işlem sonrasında olmak üzere farklı aşamalarda ilave edilmiştir. Üretilen dondurmaların kimyasal, fiziksel, mikrostrüktürel ve duyuşsal özellikleri belirlenmiştir.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2. 1. Dondurma Üretiminde Stabilizör Kullanımı

Gıda ve Tarım Teşkilatı (FAO) ve Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) tarafından dondurmanın; kuru maddesinin %31-43, süt yağı miktarının %8-15, süt yağsız kurumaddesinin %9-11, şeker miktarının %15-17 ve harç maddelerinin (stabilizatör/emülgatör) de %0.2-1 oranında olması gerektiği bildirilmiştir (Özcan ve Kurdal, 1997).

Dondurma yağ, protein, laktoz, mineral maddeler gibi maddeleri ortamda emülsiyon, koloidal ve gerçek çözelti hallerinde bulunduran, donmuş ve bu nedenle oldukça karmaşık fiziksel yapıya sahip bir üründür. Böyle karmaşık bir sistemin stabilitesini sağlamak için ise stabilizör ve emülgatör özelliğe sahip bazı özel katkılara ihtiyaç duyulmakta ve bu katkı maddeleri dondurmacılıkta zorunlu olarak kullanılmaktadır (Güven ve ark., 2010).

Stabilizörler, suda dağıldığı zaman çok sayıdaki su molekülünün öncelikle hidrojen bağlarıyla bağlanması yoluyla yavaş yavaş hidratlaşan polimer maddelerdir. Stabilizör madde başlangıçta kendine gerekli olan suyu tutar, daha sonra molekül içi ve moleküller arası boşluklarda üç boyutlu bir ağ oluşturarak geri kalan suyun değişkenliğini stabil hale getirip, gıda maddesinin tüm bünyesinde ağ gibi bir yapı oluşturmakta, karışım viskozitesini arttırmakta, havanın karışıma nüfuz etmesini kolaylaştırmakta, büyük buz kristali oluşumunu ve gelişimini engellemekte, erimeyi geciktirmekte, pıhtılaşmayı engellemekte, yapı ve tekstürü geliştirmektedir (Cottrell ve ark, 1980).

Dondurmada; buz kristalleri, yağ globülleri, hava kabarcıkları ile donmamış kısımdaki süt proteinleri, şeker ve diğer maddelerin birlikte mükemmel bir şekilde karıştırılmış olması gerekmektedir. Ayrıca buz kristalleri ile yağ globüllerinin de mümkün olduğu kadar ufak olması arzu edilir. Daha açık bir deyişle dondurma, taze

iken ve düşük sıcaklıkta (-15°C civarında) saklanması sırasında stabil olmalı ve fiziksel yapısını korumalıdır. Bu nedenle üstün fiziksel kaliteli dondurma üretimi için karışımın dengede olması ve etkin bir şekilde işlenmesine ek olarak stabilizör ve emülgatör maddeler içermesi gerekmektedir. Bu maddeler, çok az miktarlarda karışıma katılmakla birlikte, dondurmanın istenen fiziksel kalitesinin ve yapısının sağlanmasında ve muhafazasında etkin rol oynarlar (Şimşek ve ark., 2006).

Dondurma üretiminde stabilizör kullanımının temel amacı; pürüzsüz bir yüzey ve tekstür elde etmek ve depolama süresince buz ve laktoz kristallerinin oluşmasını geciktirmek veya azaltmaktır. Stabilizörler, özellikle sıcak şoku olarak bilinen ısı değişim periyotları süresince ürünün üniform bir yapıda kalmasını sağlamak ve erimeye karşı dayanıklılık kazandırmaktadır. Stabilizörlerin donma stabilitesini artırmadaki mekanizması onların buz ve donmamış serum faz üzerine etkileriyle ilgili olduğu bildirilmektedir (Muhr ve Blanshard, 1983).

Dondurmada en çok kullanılan stabilizörler jelatin, deniz yosunlarından elde edilen aljinik asit, alginatlar, agar agar, karragenan ve furcellaran, bitkilerden ekstrakte edilen locust bean gum, guar gum ve pektin, bakterilerden elde edilen xanthan gum, selüloz ve türevleridir (Şimşek ve ark., 2006).

Şimşek ve ark. (2006), endüstriyel dondurma üretiminde farklı stabilizör kullanımının dondurma kalitesine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, çok düşük konsantrasyonlarda (<%1) dahi olsa, stabilizör kullanımının dondurmaların özellikle erime süreleri ve viskozite gibi kalite kriterlerini önemli düzeyde arttırdığını belirtmişlerdir.



## 2. 2. Transglutaminaz Enzimi Hakkında Genel Bilgiler

Transglutaminaz enzimi, peptid bağındaki glutamin kalıntılarının (açıl verici)  $\gamma$ -karboksiamit grubu ile lizin kalıntılarının  $\epsilon$ -amino grubunu da (açıl alıcı) içeren çok çeşitli primer amin grupları arasındaki “açıl transfer” tepkimesini katalizleyen ve doğada yaygın olarak bulunan bir enzimdir. Proteinler arası kovalent çapraz bağlanmayı katalizleyen, ticari anlamda uygun tek enzim transglutaminazdır.

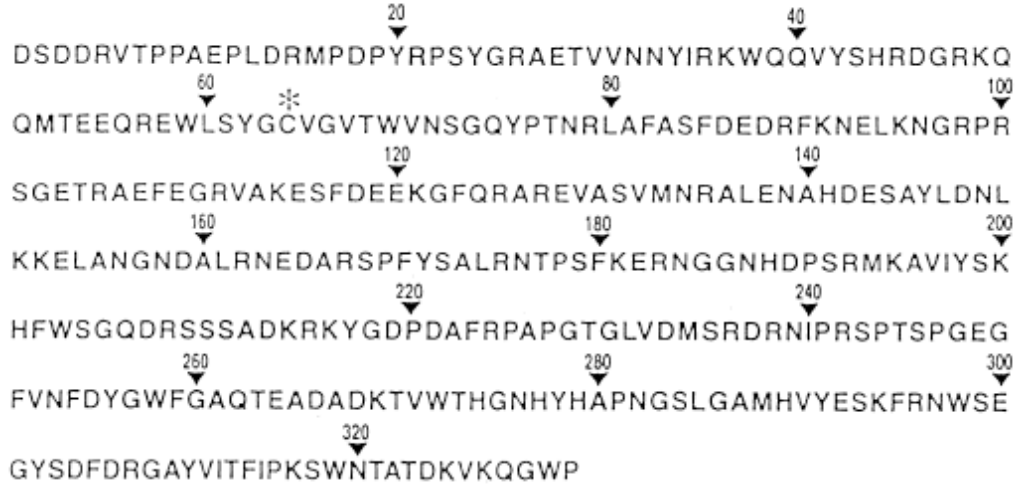
Transglutaminaz enzimi (TG) aktivitesi ilk kez, kobayların (guinea pig) karaciğerindeki transamidasyondan sorumlu enzimlerin, çeşitli yaşayan organizmalarda biyolojik fonksiyonların tamamlanmasında yer aldığı gözlemlenmesi ile ortaya konulmuştur. Bu enzimlerin tümü  $\gamma$ -glutamilttransferaz sınıfındadır, hayvansal dokularda ve vücut sıvılarında oldukça geniş bir varlık göstermektedir. Kanın pıhtılaşması, yaraların iyileşmesi, epidermal keratinizasyon ve eritrosit membranının sertleşmesi gibi birçok biyolojik olayda yer almaktadır.

TG uygulamaları, enzimin memelilerin doku ve vücut sıvısından izole edilmesi ile başlamıştır (Ikura ve ark., 1985; Jiangang ve Lee, 1992). 1980’li yılların sonuna kadar, ticari olarak kullanılabilen tek TG, kobay karaciğerinden elde edilen GTG olmuştur. Gıdalarda tekstürü iyileştirmek için kullanılmasına karşın; kaynak yetersizliği ve kapsamlı saflaştırma prosedürü enzimin fiyatını arttırmıştır, bu sebeple endüstriyel uygulamalarda kullanımı çok tercih edilmemiştir (Zhu ve ark., 1995; Motoki ve Kumazawa, 2000). Ayrıca GTG; kazein, soya fasulyesi globülini veya miyozin içeren gıdalarda, proteinlerin presipitasyonu için  $\text{Ca}^{+2}$ ’nin aktivasyonuna ihtiyaç duymaktadır. Kandan izole edilen ve Faktör XIII olarak adlandırılan TG, kırmızı pigmentler içerdiğinden ve aktivasyonu için trombine ihtiyaç duyduğundan gıda endüstrisinde kullanımı pek tercih edilmemiştir (Motoki ve Kumazawa, 2000; Yokoyama ve ark., 2004). *Escherichia coli* gibi mikroorganizmaların genetik manipülasyonu sonucu TG üretmek için pek çok çalışma yapılmasına rağmen (Ikura ve ark., 1985), hiçbiri ticari olarak kullanılamamıştır (Motoki ve Kumazawa 2000; Yokoyama ve ark., 2004). 1989

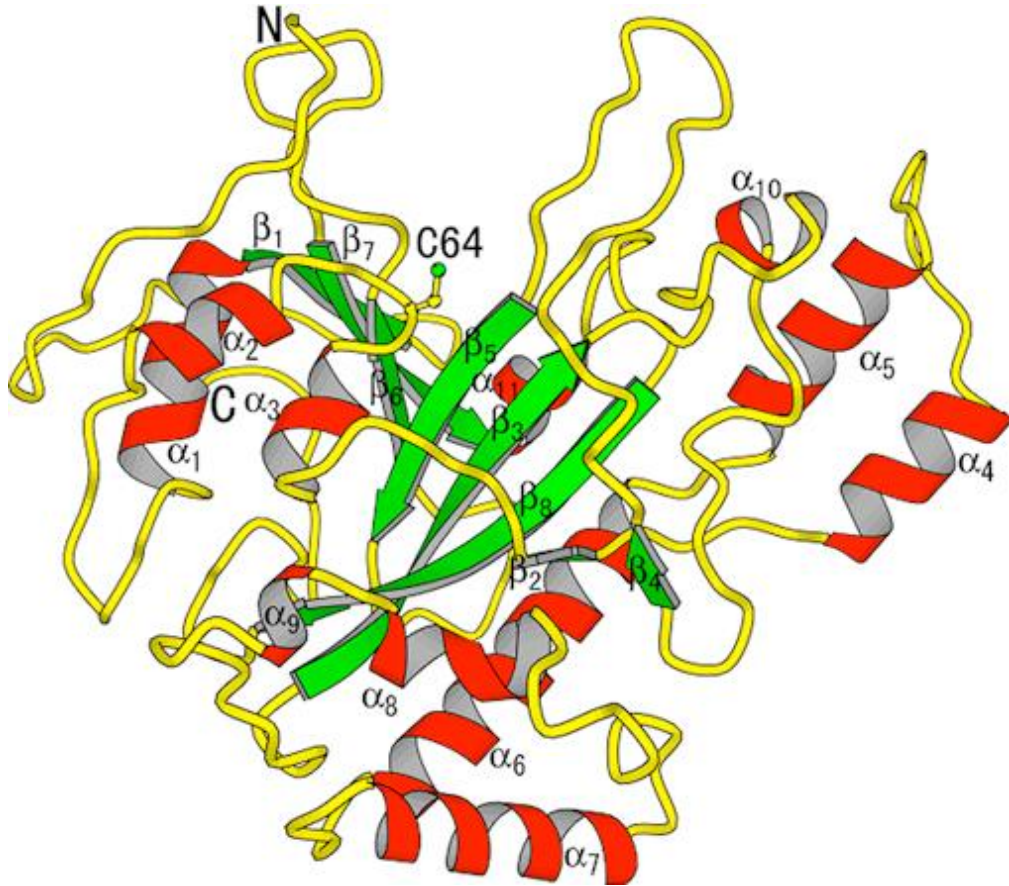
yılında, topraktan yaklaşık 5000 suşun incelenmesi sonucu Ando ve ark. (1989), *Streptovercillium S-8112 (Streptovercillium mobaraense)*' den TG (MTG) izole etmeyi başarmıştır. Bakteri, enzimi doğrudan kültür besiyerine salgıladığı için hücre parçalama gereksinimine gerek yoktur ve enzimin saflaştırılması da kolay olmaktadır (Motoki ve Kumazawa, 2000; Yokoyama ve ark., 2004). Ayrıca; MTG  $Ca^{+2}$  gibi bir aktivatöre ihtiyaç duymamakta, GTG ve Faktör XIII' e göre belirgin bir substrat seçiciliği göstermemektedir (De Jong ve Koppelman, 2002; Shimba ve ark., 2002). Bütün bu avantajların yanı sıra üretiminin de ucuz olması, MTG'nin gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamasını sağlamıştır.

MTG'nin izoelektrik noktası yaklaşık pH 8.9 dolayındadır. Optimum pH aralığı ise 6.0 ile 7.0 arasındadır; pH 4.0 ve pH 9.0'da da aktivite göstermektedir. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda oluşan dipeptid bağının stabil olmasından dolayı, ısıtma işlemi uygulanan birçok gıdada kullanımı mümkün görülmektedir. Maksimum aktivitesine yaklaşık olarak 50-60°C'de ulaşmakla birlikte, tam aktivitesini 50°C'de 10 dakika göstermektedir. Ancak, 70°C'de birkaç dakika içerisinde aktivitesini yitirebilmektedir. 10°C'de de aktivite göstermekle birlikte, donma noktasının biraz üzerinde kısmi aktivite gösterebilmektedir (Kurt ve Zorba, 2004).

Edman yöntemi ve kütle spektrofotometrisi yöntemleri ile MTG'nin protein diziliminin primer yapısı belirlenmiş ve yaklaşık 331 aminoasitten oluştuğu saptanmıştır (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). Aminoasit kompozisyonundan belirlenen molekül ağırlığı 37842 Da olarak hesaplanmış ve bu değer diğer yöntemde 38000 Da olarak bulunan değere çok yakın çıkmıştır (Motoki ve Seguro, 1998).



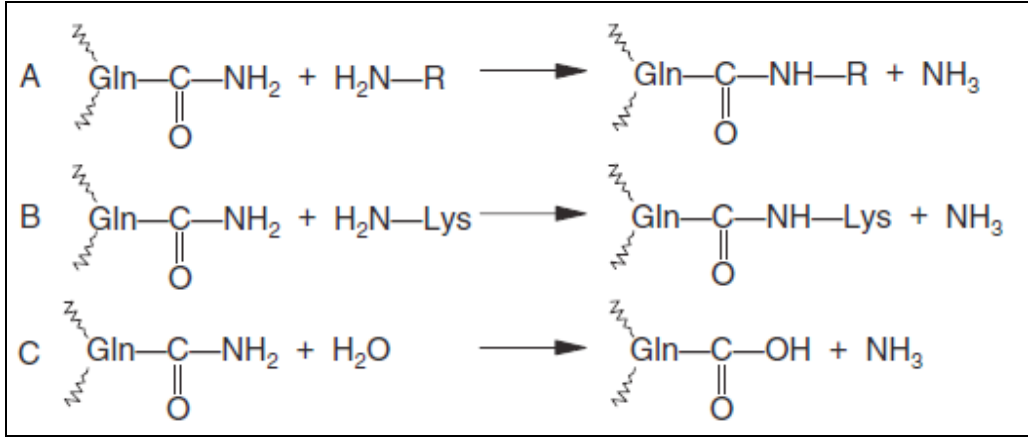
Şekil 2.1. Mikrobiyal transglutaminazın primer yapısı (\*:olası aktif sistein) (Motoki ve Seguro, 1998)



Şekil 2.2. Mikrobiyal transglutaminazın genel yapısı (Yokoyama ve ark., 2004)

Transglutaminaz enzimi; bir peptid bağındaki glutamin kalıntısının  $\gamma$ -karboksiamid grubu (açıl verici) ile bir primer amin (açıl alıcı) arasındaki açıl-

transfer tepkimesini katalizlemektedir. Bir peptid bağındaki lisin kalıntısının  $\epsilon$ -amino grubu substrat işlevini üstlenirse de bu iki peptid zinciri  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamil)lisin [ $\epsilon$ -( $\gamma$ -Gln)Lys] bağı ile molekül içi ve/veya moleküller arası çapraz bağlanmaktadır (Yüksel, 2007). Amin substratları olmadığında ise, su moleküllerinin açıl alıcı grup olduğu glutamin deamidasyonu tepkimesini katalizlemektedir. TG, amin birleşmesi, çapraz bağ oluşumu ve deamidasyon yolları ile proteinleri modifiye etmektedir (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. TG tarafından katalizlenen tepkimeler: (A), Açıl transfer tepkimesi; (B), Çapraz bağlanma tepkimesi; (C), Deamidasyon (Motoki ve Seguro, 1998)

Açıl transfer tepkimesi, aminoasit veya peptitlerin, protein yapısı içine girerek lisin-peptit ve lisin-metiyoninin enzimatik çapraz bağlanması sonucu kazein ve soya proteini yapısındaki metiyonin ve lisin miktarını arttırabilmektedir (Yokoyama ve ark., 2004). Protein yapısına katılan aminoasitler, önceden buldukları proteinin yapısında oldukları gibi davranmaya devam ettiğinden TG'nin gıdaların besinsel değerlerine olumlu etkide bulunduğu söylenebilmektedir (Motoki ve Kumazawa, 2000). Ayrıca; çapraz bağlanma tepkimeleri proteinlerin çözünürlük, emülsiyonlaştırma kapasitesi, köpük oluşturma ve jelleşme gibi bazı fonksiyonel özelliklerinde modifikasyonlara yol açabilmektedir (Faergemand ve ark., 1998). Deamidasyon tepkimesi işlevselliği arttırmaktadır; fakat uygulamalarda proteinlerin geniş bir glutamin ve kısa bir lisin kalıntısına sahip olması gerekmektedir (Ohtsuka ve ark., 2001).

Proteinlerin çapraz bağlanması, proteince zengin gıdaların yapısının iyileştirilmesi amacıyla işlevselliğinin artırılmasına olanak sağlamaktadır (Motoki ve Seguro, 1998).

Süt proteinleri TG tepkimeleri için genelde uygun bir substrat olarak değerlendirilmektedir. Kazeinler;  $\alpha_{S1}$ -kazein,  $\alpha_{S2}$ -kazein,  $\beta$ -kazein ve  $\kappa$ -kazeinden meydana gelen misel olarak adlandırılan stabil kalsiyum-fosfat protein kompleksleri olarak bulunurlar. Bu protein yapısı sayesinde enzimin yapıya ulaşması kolaydır ve bu da kazeinleri, çapraz bağlanma için elverişli bir substrat yapmaktadır. Sharma ve ark. (2001), MTG ile çapraz bağlanma söz konusu olduğunda, ısıtılmış sütte bulunan  $\kappa$ -kazeinin en yüksek afinitiyi gösterdiğini, ön ısıtılmış sütte ise  $\kappa$ -kazeinin yanı sıra  $\beta$ -kazeinin de bağlanmaya katıldığını saptamıştır.

Tolkach ve Kulozik (2005), kazeinomakropeptit (CMP) olarak bilinen  $\kappa$ -kazeinin hidrofilik kısmının, MTG'ye karşı reaktif olduğunu ortaya koymuştur.  $\alpha_{S2}$ -kazein ve  $\kappa$ -kazeinin her ikisi de iki sistein kalıntısı içermektedir ve reaktif SH gruplarına sahiptir. Bu da kazein fraksiyonlarının TG ile çapraz bağlanmaya karşı duyarlılığını etkileyebilecek disülfid bağlarının oluşmasını sağlamaktadır (Rasmussen ve ark., 1999).

Kazeinlerin aksine, disülfid bağları ile sabitlenen globüler yapıları nedeniyle sütteki serum proteinleri çapraz bağlanma tepkimelerine daha az eğilimlidir. Buna rağmen; ısıtılmış sütte denatürasyon sonucu serum proteinlerinin çapraz bağlanmayı artırılabilirliği üzerinde de durulmuştur (Sharma ve ark., 2001). MTG gıda teknolojisinde kullanıldığı için, isopeptid bağın sindirilebilirliği ve isopeptid yapısında yer alan lizin biyolojik yararlanımı ile ilgili sorularla karşılaşılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, böbreğin yanı sıra kanda ve bağırsak çeperinde bulunan  $\gamma$ -glutamil transpeptidaz enzimi (E.C. 2.3.2.2) MTG'nin oluşturduğu dipeptidi, lizin ve glutamata dönüştürmektedir (Seguro ve ark., 1995). Ortaya çıkan lizin, vücut tarafından kullanılabilir. Üstelik bağlanmanın  $\epsilon$ -amino gurubunda

gerçekleştiği düşünülürse, lisinden yararlanmada da bir sorun olmayacağı öne sürülebilir.

Canlı vücudunda yapılan deneylerde, çapraz bağlı kazein içeren gıdalarla beslenmiş bir farenin gelişimi, doğal yapısında kazein içeren gıdalarla beslenmiş farenin gelişimi kadar normal olarak gözlenmiştir. Hayvanın idrar ve dışkısında yapılan HPLC analizleri, alınan dipeptitlerin yaklaşık %99'unun vücutta absorbe edildiğini göstermiştir (Güder, 2010).

### 2. 3. Transglutaminazın Süt Ürünlerinde Kullanım Olanakları

Süte TG ilave edilmesinin sütün ısıl kararlılığını etkilediği düşünülmektedir. Bu bağlamda, sürecin TG ile inkübasyondan önce süte ön ısıl işlem uygulanmasına ve bu ısıl işlemin sıcaklığına bağlı olduğu sanılmaktadır. Çiğ sütte kazeinler arasında ortaya çıkan çapraz bağlanmanın, minimum kararlılık bölgesindeki pH değerlerinde, miselden  $\kappa$ -kazeinin dissosiyasyonunun engellendiği ileri sürülmektedir. Sütün TG ile inkübasyondan önce ön ısıl işleme tabi tutulması ise, serum proteinlerinin denatürasyonu sonucu, denatüre serum proteinleri ile kazeinler arasında çapraz bağların oluşumuna izin vermektedir (O'Sullivan ve ark., 2001, 2002). Sütün ısıl kararlılığı, sterilizasyon sıcaklığında koagülasyona karşı gösterdiği direnç olarak tanımlanmaktadır (Singh ve Fox, 1987). Özellikle UHT süt ve konsantre süt gibi ürünlerde ticari öneme sahip olan sütün ısıl kararlılığı, çeşitli faktörlere (pH, tuzlar ve süt proteinleri) ve proses parametrelerine (ön ısıl işlem, konsantrasyon, homojenizasyon) bağlıdır. Bu süreçte proses boyunca kısmi veya tam koagülasyon ve depolama boyunca jelasyon ortaya çıkabilir (Singh ve Fox, 1987; Fox ve McSweeney, 1998). Çeşitli kimyasallar (deterjanlar, aldehytler, ketonlar, polifenolik bileşikler gibi) sütün ısıl kararlılığını değiştirmektedir. Ancak gıdalarda bu katkı maddelerinin kullanımına yasal olarak izin verilmemektedir (Singh ve Fox, 1987). UHT sütler ve UHT ürünlerde, sterilizasyon boyunca koagülasyon ve depolama boyunca sedimentasyon ortaya çıkabileceğinden, bu ürünlerin kararlılığı üzerine herhangi bir pozitif etki ekonomik açıdan önemlidir. Bu bağlamda TG, gıda katkı maddesi olarak ticari uygulamalara sahip olabilecek bir enzimdir (Lorenzen, 2000b).

UHT gibi şiddetli ısıl işlemlere tabi tutulmuş gıda ürünlerinin formülasyonunda Na-kazeinatın kullanımı için koagülasyon, jelasyon ve / veya sedimentasyona karşı direnç göstermesi gerekliliği bulunmaktadır. Na-kazeinatın TG ile modifikasyonu sonucu ısıl kararlılığının gelişmesi, birçok ticari uygulamalarda yer alması açısından önemlidir (Flanagan ve ark., 2003).

Benzer şekilde, serum protein izolatu ve UF-yağsız süt proteinlerinin ısıl kararlılığının TG kullanımı ile belirgin bir şekilde arttığı ortaya konulmuştur. Bu, ısıl kararlılığı arttırılmış serum proteinlerinin gıdalarda kullanım alanlarının artmasını beraberinde getireceğinden üstünde durulması gereken bir konudur. Ayrıca Na-kazeinatın TG ilavesi ile su bağlama kapasitesinin artması gıda teknolojisi açısından önemlidir. Çapraz bağlı Na-kazeinatın su bağlama özelliklerindeki gelişimin, modifiye kazein ile hazırlanan emülsiyonların kararlılığındaki artışı da beraberinde getirdiği bildirilmektedir (Lorenzen, 2000b).

Emülsiyonların kararlı hale getirilmesi, birçok süt ürünlerini de içine alan gıdaların üretiminde en önemli tekniklerden biridir (Nio ve ark., 1986). Proteinlerin yağ-su emülsiyonlarındaki kararlılıkları, adsorbe protein filminin mekanik/viskoelastik ve sterik özellikleri ile yakından ilişkilidir. Genel olarak, emülsiyonlardaki faz ayrılması, film tabakaları arasındaki etkileşimler yoluyla emülsiyon damlalarının flokulasyonu/agregasyonu sonucu ortaya çıkmaktadır. Flokulasyon/agregasyon hızı ve derecesi, partiküller arasındaki itme ve çekme kuvvetlerinin büyüklüğüne bağlıdır. Bu nedenle, bir protein emülsiyonunun kararlılığı, partiküller arasındaki itme kuvvetlerinin artması veya film içindeki protein molekülleri arasındaki bağlanma (cohesiveness) etkileşimlerin artması yoluyla geliştirilebilir. Emülsiyon partiküllerinin flokulasyon/agregasyonu, yağ damlacıkları ile adsorbe protein tabakası arasındaki van der Waals ve hidrofobik etkileşimleri içine alan çekme kuvvetleri ile elektrostatik ve sterik itmeden kaynaklanan itme kuvvetlerini içermektedir. Adsorbe protein tabakaları arasındaki sterik itme, emülsiyon partiküllerini flokulasyona karşı koruyan en önemli kuvvettir. Bu sterik itmenin büyüklüğü, protein zincir kalınlığı ve polimer zincir sayısı ile orantılı olarak değişmektedir. Bu bağlamda, TG ile katalizlenmiş protein polimerleri, emülsiyon kararlılığını geliştirmektedir. TG tepkimesi sonucu, lineer polimerlerden çok dallanmış polimerler ortaya çıkmakta ve dallanmanın artmasıyla sterik itme artacağından emülsiyon kararlılığı da gelişmektedir. TG ile çapraz bağlanma tepkimesi sonucu oluşan dallanmış  $\beta$ -kazein polimerlerinin stabil emülsiyon oluşturduğu ortaya konulmuştur (Liu ve Damodaran, 1999).



Benzer şekilde, yağ-su arayüzeyinde yüzey kayma viskozitesi ve “interfacial dilatational modülü” ölçülerek yapılan çalışmalarda, süt proteinlerini içeren emülsiyon ve köpüklerin kararlılığının enzimatik çapraz bağlanma ile kontrol edilebileceği gösterilmiştir (Faergemand ve ark., 1997; Faergemand ve ark., 1999).

Süt kullanılarak geleneksel olarak üretilen jeller, yoğurt ve peynirdir. Yoğurdun tekstürü, bileşenlerin miktarı ve fonksiyonelliğine bağlı olarak değişmektedir. Örneğin protein miktarının artmasıyla yoğurt jel dayanımının arttığı bilinmektedir. Emülsiyon formdaki yağın ortamda bulunması da, asit süt jeli dayanımının artmasına neden olmaktadır. Yoğurt jelini modifiye etmenin bir diğer yolu da, özellikle düşük yağlı yoğurtlara uygulanan, gumların kullanımınıdır. Yoğurt üretiminde kuru maddenin artırılması ve gumların kullanılması maliyetin artmasına yol açabilmektedir. Bu nedenle, düşük yağlı yoğurdu da içine alan jellerde yoğurt tekstürünü modifiye etmek için alternatif yöntemleri araştırmak gerekmektedir. Gıda protein fonksiyonelliğini geliştirmek için yüksek özgüllüğe sahip enzimatik tepkimelerin gerçekleştiği enzimatik modifikasyon yöntemi oldukça kullanışlı bir yöntem olarak önerilmektedir. Sözü edilen bu enzimatik tepkimelerde toksik yan ürünlerin oluşum riski de oldukça düşüktür. Enzimatik çapraz bağlanma tepkimeleri ise son on yıldır ilginin arttığı bir yöntemdir (Faergemand ve ark., 1999).

Çoğu araştırmacı ısıyla koagülasyona karşı duyarlı olmaması nedeniyle kazeini farklı TG'ler için çok iyi bir substrat olarak görmektedir (Motoki ve Seguro, 1998). Ayrıca doğal  $\kappa$ - ve  $\beta$ - kazeinlerin her ikisinin de çapraz bağlanmaya karşı duyarlılığının  $\alpha$ -kazeinden daha fazla olduğu bildirilmektedir.  $\kappa$ - ve  $\beta$ -kazeinin çapraz bağlanmaya karşı gösterdiği duyarlılık,  $\kappa$ -kazeinin kazein misellerinin yüzeyinde yer alması ve  $\beta$ -kazeinin ise daha yüksek oranda prolin içermesi ve enzim tepkimesinin daha kolay gerçekleşebileceği esnek ve açık yapıya sahip olması ile açıklanabilmektedir. Yağsız süte ön ısı işlem uygulanmasıyla,  $\kappa$ - ve  $\beta$ -kazeinler üzerine TG'nin çapraz bağlama etkisinin belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur. Süte uygulanan ısı işlemlerin serum proteinlerinin denatürasyonuna ve kazein miselleri ile etkileşime girmelerine neden olduğu bilinmektedir. Isıl işlem ile ortaya çıkan bu değişikliklerin, proteinlerin TG tepkimelerine karşı duyarlılıklarının

artmasına yol açtığı düşünülmektedir. Ancak ön ısıl işlem uygulanması ile yalnızca  $\beta$ -laktoglobulinin TG'ye karşı duyarlılığı artarken  $\alpha$ -laktalbumin çapraz bağlanma seviyesinin aynı oranda kaldığı bulunmuştur (Sharma ve ark., 2001).

$\alpha$ -laktalbumin, nötral pH'da bir mol başına bir  $\text{Ca}^{+2}$  bağlamaktadır. Yapısında bağlı  $\text{Ca}^{+2}$ 'nin uzaklaşması ile çapraz bağlanma tepkimelerine daha açık hale geldiği ileri sürülmektedir. Sharma ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada  $\alpha$ -laktalbumin'in çapraz bağlanmasının, yapıdan  $\text{Ca}^{+2}$ 'nin uzaklaştırılması ve hidrofobik bağların kırılması ile arttığını göstermiştir. Endüstriyel  $\alpha$ -laktalbumin konsantratlarında, TG ile çapraz bağlanma tepkimelerinin gerçekleştirilmesinin, süt ürünlerinin fonksiyonel olarak modifikasyonunu beraberinde getireceği düşünülmektedir.

$\beta$ -laktoglobulinin bazı fiziksel özellikleri üzerine TG ile çapraz bağlanmanın etkisi araştırılmıştır. TG, kobay karaciğerinden elde edilmiş ve G-L bağı oluşumu yoluyla  $\beta$ -laktoglobulini çapraz bağlamak için kullanılmıştır.  $\beta$ -laktoglobulin polimerlerinin viskozitesinin, çapraz bağlı proteinlerin derişiminin artmasıyla arttığı ve çapraz bağlı  $\beta$ -laktoglobulinin pH 7.0'de belirgin bir ısıl kararlılık gösterdiği bulunmuştur. Doğal  $\beta$ -laktoglobulinin tersine, polimerize  $\beta$ -laktoglobulinin 95°C ve 30 dk ısıl işlem ile daha sıkı ve pürüzsüz bir jel oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmada TG kullanımının, gıda ürün formülasyonlarında yumuşak yapıda jel oluşturmak için enzimatik bir yöntem olabileceği düşünülmektedir (Tanimoto ve Kinsella, 1988).

TG'nin Na-kazeinat ve yağsız süt gibi ürünlerden birçok farklı fiziksel özelliğe sahip jeller hazırlamak için eşsiz bir ajan olduğu ileri sürülmektedir. Jellerin kırılma gücü (fracture force) ve sıklığının (hardness) enzim derişiminin artmasıyla belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur. Bu yolla elde edilen jellerin, çeşitli gıdalarda istenilen tekstür gelişimi için kullanılabileceği düşünülmektedir (Nonaka ve ark., 1992).

Asit veya rennet ile elde edilen geleneksel kazein jellerinde zayıf fiziksel etkileşimler ile bir arada tutulan çapraz bağlar bulunurken, TG kullanılarak oluşan jeller kovalent olarak çapraz bağlanmaktadır (Schorsch ve ark., 2000). TG

tepkimesiyle kazeinden ısıya dirençli sıkı bir jel oluştuğu bulunmuştur. MTG kullanımının bir örneği yoğurt üretiminde görülmektedir.

Bazı uygulamalarda süt proteinlerinin viskoelastik yapısını ve jelleşmesini modifiye etmek amacıyla MTG kullanılmaktadır. Enzim kullanımı ile ısı işlemin birlikte kombinasyonu sonucu;  $\beta$ -laktoglobulin veya emülsiyonlarının üzerinde elastik yapı ve daha güçlü jel yapısı oluştuğu, ancak bunun yanı sıra TG uygulanmış  $\beta$ -laktoglobulinin reaktivitesinin sodyum kazeinattan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Ayrıca Faegermand ve ark. (1998), serum proteinlerinin bir indirgeyici (reducing) ajana gerek gösterdiğini (ditiotritol gibi) veya çapraz bağlama reaksiyonlarının ancak uygun pH aralığında gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir.

MTG'nin yağsız süttozu jellerinin reolojik özellikleri üzerine etkileri araştırıldığı bir çalışmada TG ile işlemde geçirilmiş yağsız süttozu (TG-SMP), işlemde geçirilmemiş (C-SMP) göre kararlı bir protein yapısına sahip olduğu bulunmuştur (Yüksel ve Erdem, 2008).

Yoğurt laktik starter kullanılarak üretilen bir süt jelidir. 2001 yılında, büyük ölçüde Avrupa'da olmak üzere, 9 milyon tondan fazla yoğurt üretilmiştir. Tüketici beğenisi ve kalite kriterlerini oluşturan asal parametreler, aroma maddeleri ve asitliğin yanı sıra yoğurdun tekstürel özellikleri ve düşük serum ayrılması olarak sıralanabilir. Ürünün tekstürel özellikleri ve su tutma kapasitesi, jelde yeni kovalent bağların oluşumu ile değiştirilebilir. Bilindiği gibi yoğurdun jel ağ yapısı zayıf kovalent olmayan bağlar ile kararlı haldedir. Bu nedenle günümüzde TG'nin süt ürünlerinde kullanımında en avantajlı alanın yoğurt üretimi olduğu düşünülmektedir (Kuraishi ve ark., 2001).

Yoğurdun tekstürel ve fiziksel özellikleri üzerine yağsız süt tozu, serum protein konsantratları gibi katkı maddelerinin kullanımının pozitif etkisi olduğu bilinmektedir. Buna karşın, yoğurtta sıcaklık değişimleri ve fiziksel etkilerle ortaya çıkan serum ayrılması veya sinerezis olarak adlandırılan problemler ortaya çıkabilmektedir. TG enzimi yoğurt jelinin su tutma kapasitesini geliştiren çapraz

bağlanma tepkimesini katalizlediğinden, üretim sürecinde enzim kullanımı ile bu gibi problemlerin üstesinden gelinebilir (Motoki ve Seguro, 1998; Kuraishi ve ark., 2001). Üretimde kullanılan TG'nin temel etkileri sinerezisin azalması ile sonuçlanan su tutma kapasitesinin gelişmesi ile viskozite ve jel sıklığındaki artış olarak özetlenebilir.

TG enziminin katalize ettiği çapraz bağlanmanın yoğurdun jel sıklığını arttırdığı ve geçirgenliğini azalttığı, özellikle de yağsız ya da az yağlı yoğurtlarda kullanımının pıhtı stabilitesini geliştirdiği, serum ayrılmasını geciktirdiği ve depolama asitliğini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Faegermand ve ark., 1999).

Birçok araştırmacı ısıl işleme jel oluşturmeyen süt kazeininin farklı TG'ler için iyi bir substrat olduğunu göstermiştir. TG reaksiyonu ile kazeinden ısıya dirençli sert jel oluştuğu gözlenmiştir. Buna bir örnek, yoğurt üretiminde MTG kullanımınıdır. Yoğurt, laktik starterlerin asidik fermantasyonu ile oluşan bir süt jelidir. Yoğurt sıcaklık değişimi veya fiziksel etkiler sonucu serumun ayrılması ile zarar görebilir. Bu problem MTG ilavesi ile çözülebilir; zira MTG jelin su tutma kapasitesini geliştirir (Yüksel, 2007).

Yağsız süte pH 6.7'de TG eklendiğinde, kazein miselleri arasındaki sterik ve elektrostatik engellemelerden dolayı inter-moleküler çapraz bağ oluşumu engellenmekte ve jel oluşmamaktadır. TG'nin istenilen etkiyi gösterebilmesi için, örneğin sütün asitliğinin arttırılması gibi işlemler ile protein partikülleri arasındaki sterik ve elektrostatik stabilizasyonun ortadan kaldırılması gerekmektedir (Schorsch ve ark., 2000).

TG katımının inkübasyondan önce gerçekleştirilmesi ve starter kültür inokülasyonu sırasında enzim aktivitesinin durdurulması ile starter kültür dengesinde (*S. thermophilus*: *L. Delbrueckii*subsp. *bulgaricus*, 1:1) bir miktar kayıp oluştuğu, buna karşılık TG ile starter kültürlerin birlikte kullanılması durumunda kültür dengesinde değişim meydana gelmediği saptanmıştır (Neve ve ark., 2001).

Kuraishi ve ark. (2001), kullanılan TG miktarının yoğurt jel yapısı üzerine etkisi araştırmıştır. Set tipi yoğurtlarda, jel sıklığının 5 unit/ protein miktarlarına kadar kullanılan TG ile arttığı, ancak daha fazla miktarda kullanılan enzimin aynı etkiyi göstermediği bulunmuştur. Yüksek miktarlarda TG kullanımı ile yoğurdun maksimum jel sıklığı ve kırılma gücüne ulaştığı sonra bu niceliklerin kademeli olarak azaldığı bildirilmektedir. Bu sonuç, fazla miktarda oluşan G-L bağlarının yoğurt jeli oluşumundaki ağ yapısını inhibe edebildiğini göstermektedir.

Stirred tipi yoğurtlarda TG ilavesi ile viskozitenin arttığı gösterilmiştir. Yağsız kuru madde miktarının azaltılmasıyla ki bu maliyetin azalması anlamına gelir, TG kullanımı ile viskoziteyi arttırmak mümkündür. Ayrıca bu tip yoğurtlarda enzimin kullanılmasıyla serum ayrılmasının önüne geçildiği bildirilmektedir (Kuraishi ve ark., 2001).

Kırmacı (2005), TG enziminin yağsız yoğurtlarda, yağın uzaklaştırılması ile meydana gelen tekstürel zayıflığın giderilmesinde başarıyla uygulanabileceğini ortaya koymuştur. Çalışmada ayrıca TG enziminin yoğurt bakterileri üzerine kısmi inhibisyon etkisi olduğu ve buna bağlı olarak da inkübasyon süresinin ve depolama süresinin uzadığı belirlenmiştir. TG uygulanan yoğurtların duyu niteliklerinin, kontrol örneğinden daha zayıf olduğu görülmüştür. Ayrıca TG kullanımı durumunda ısı işlem sıcaklığının 75-80°C'ye çekilebileceği ve kurumadde arttırımının elemine edilebileceği belirlenmiştir.

Yoğurt üretiminde TG ilave edilmiş süt kullanıldığında, fermantasyon süresinin daha uzun ancak depolama süresince ortaya çıkan asitlik gelişimin daha hızlı olduğu gözlenmiştir (Lorenzen, 2000a, Ozer ve ark., 2007).

#### 2.4. Transglutaminazın Dondurma Üretiminde Kullanımı

Dondurulmuş sütlü tatlılarda kalite gelişimi üzerine çeşitli çalışmalar yer almaktadır. TG eklenmiş dondurmanın daha pürüzsüz ve kaşığa alınmasının daha kolay olduğu bulunmuştur. Düşük kalorili şeker içermeyen dondurmalarda ortaya çıkan buzlu tekstür kaliteyi olumsuz yönde etkilediğinden bu ürünlerde TG kullanımı önemlidir (Kuraishi ve ark., 2001).

Süt proteinlerindeki enzimatik çapraz bağlarının farklı yağ/enzim/stabilizör bileşimindeki dondurmaların özellikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmada; MTG uygulanmış dondurmaların kontrol örneğine göre duyu ve fiziksel açıdan daha üstün niteliklere sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca enzimin dondurmada, yağ ve stabilizör yerine ikame edilebileceği tespit edilmiştir (Metwally, 2007).

Dondurmada mikrobiyal transglutaminaz enzim oranının belirlenmesine yönelik yapılan bir çalışmada; 56.8°C'de (90 dk) 4 unit/gram protein kullanılarak protein çapraz bağlanması için maksimum reaksiyon elde edilmiştir (Rossa ve ark., 2011).

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik ve fonksiyonel özellikleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmada; enzimin dondurmanın stabilitesini artmasına yardımcı olan protein bağlarının daha sıkı olmasına katkıda bulunduğunu belirtmişlerdir.

**3. MATERYAL ve YÖNTEM****3. 1. Materyal****3.1.1. Süttozu ve krema**

Dondurma üretiminde kullanılan sütlerin kurumadde standardizasyonu Pınar Süt ve Mamülleri A.Ş. (Kemalpaşa Asfaltı, Pınarbaşı, İzmir) firmasınca üretilen yağsız süttozu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kullanılan süttozunun üretici firma tarafından bildirilen kimyasal kompozisyonu %97.5 kurumadde, %52.0 laktoz, %36.0 protein, %1.0 yağ, %1.3 kalsiyum şeklindedir.

Krema ise Tat Konserve Sanayi A.Ş. Sek İşletmesi (Tatkavaklı Kasabası Mustafa Kemalpaşa-Bursa) firmasınca üretilen tam yağlı krema kullanılmıştır. Kullanılan kremanın üretici firma tarafından bildirilen kimyasal bileşimi %35 süt yağı, %3 karbonhidrat, %2 protein şeklindedir.

**3.1.2. Şeker ve vanilya**

Dondurma yapımında kullanılan şeker (Doğuş Toz Şeker, Konya Şeker San. ve Tic. A.Ş.-Konya) ve vanilya (Kenton, Hayat Gıda Sanayi A.Ş.-Ankara) piyasadan temin edilmiştir.

**3.1.3. Stabilizörler**

Dondurma üretiminde stabilizör olarak kullanılan Karragenan, Guar Gam, Aljinat ve Ksantan Gamı Sosa Ingredients, S.L. Ctra de Granera (İspanya)'dan temin edilmiştir.

### 3.1.4. Lesitin

Dondurma üretiminde emülgatör olarak kullanılan lesitin Sosa Ingredients, S.L. Ctra de Granera (İspanya)'dan temin edilmiştir.

### 3.1.5. Mikrobiyal transglutaminaz

Transglutaminaz enzimi olarak Ajinomoto Co.,Inc. (Japan) firmasından temin edilmiş olup, Streptovercillium spp.'den izole edilmiş Mikrobiyal TG (Activa WM) enzimi kullanılmıştır.

### 3.1.6. Dondurma makinası

Dondurma üretiminde Uğur marka Batch tipi dondurma makinası kullanılmıştır.

## 3. 2. Yöntem

### 3. 2. 1. Dondurma üretimi

Dondurma üretimi Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği Dondurma Tebliği'nde belirtilen değerlere uygun şekilde formüle edilerek üretilmiştir. Buna göre üretilen olan dondurmaların bileşimleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Dondurma örneklerinin içermiş oldukları stabilizör oranları ise Çizelge 3.2.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Dondurmaların bileşimi

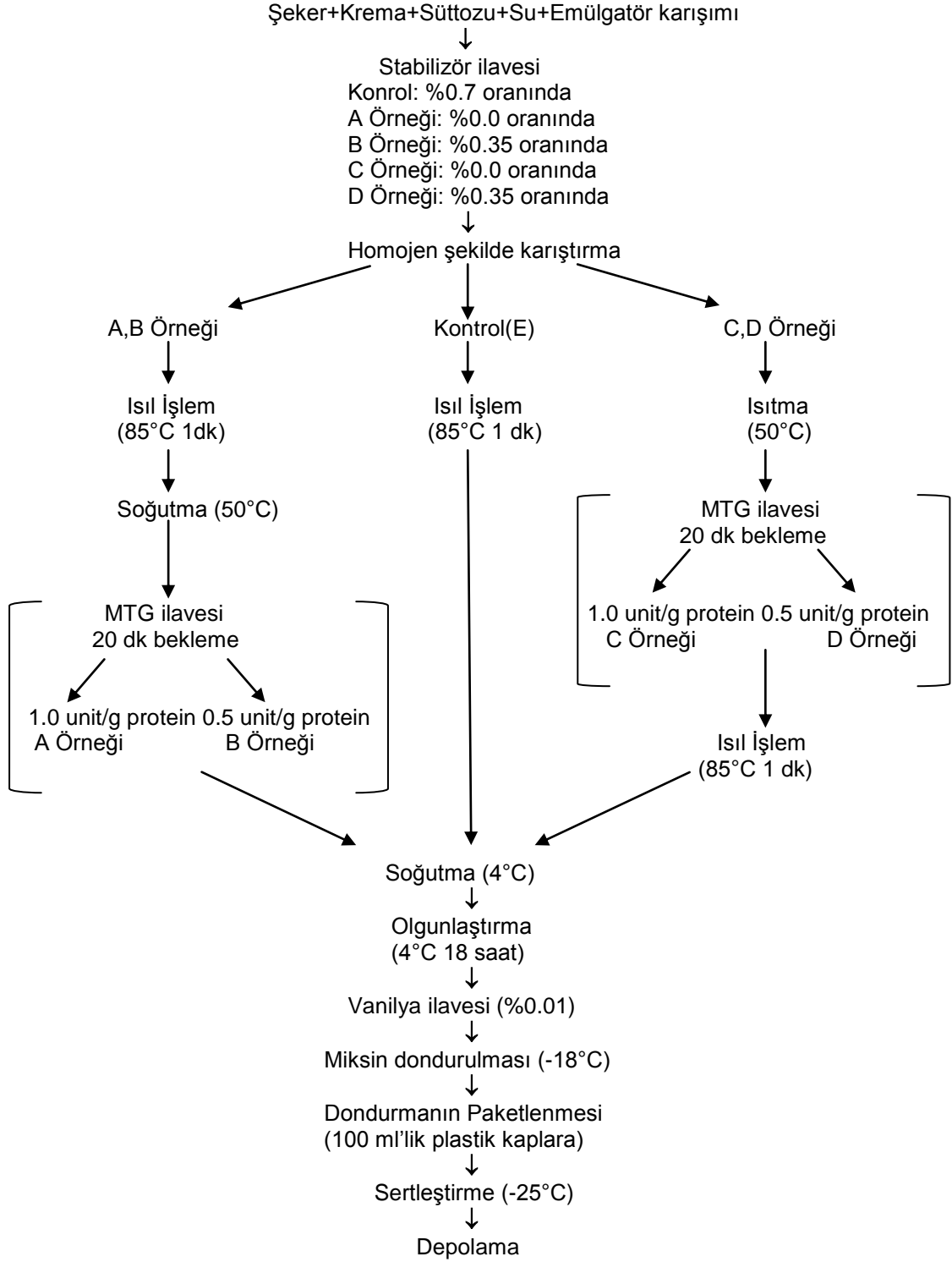
	<b>Toplam Kuru Madde (Ağırlıkça %)</b>	<b>Süt Yağı (Ağırlıkça %)</b>	<b>Yağsız Kuru Madde (Ağırlıkça %)</b>	<b>Yağsız Süt Kuru Madde (Ağırlıkça %)</b>
Yarım Yağlı Dondurma	32	4	28	10



Çizelge 3.2. Dondurma örneklerinde bulunan stabilizör oranları

Stabilizör	Kontrol	A Örneği	B Örneği	C Örneği	D Örneği
Lesitin (%)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Guar Gam (%)	0.2	-	0.1	-	0.1
Karragenan (%)	0.2	-	0.1	-	0.1
Ksantan Gamı (%)	0.2	-	0.1	-	0.1
Na-Aljinat (%)	0.1	-	0.05	-	0.05
Mikrobiyal Transglutaminaz(%)	-	0.7	0.35	0.7	0.35

Dondurma üretim akış şeması Şekil 3.1.'de verilmiştir. Şekilden de izlenebileceği gibi mikse girecek olan maddeler (şeker, krema, süttozu, stabilizör, emülgatör, su) dikkatli bir şekilde hesaplanıp tartıldıktan sonra karıştırılarak miks haline getirilmiştir. Hazırlanan miks 5 gruba ayrılmıştır. A ve B örneklerinde; hazırlanan miks 85°C'de 1 dakika pastörize edilmiştir. Daha sonra örnekler 50°C'ye soğutulup, sırasıyla 1 unit/g protein ve 0.5 unit/g protein MTG+%0.35 stabilizör ilavesi yapılmış ve enzim aktivitesi için bu sıcaklıkta 20 dakika beklenmiş ve sonrasında 4°C'ye soğutularak 18 saat olgunlaştırılmıştır. C ve D örneklerinde; hazırlanan miks 50°C'ye ısıtıldıktan sonra sırasıyla 1 unit/g protein ve 0.5 unit/g protein MTG+%0.35 stabilizör ilave edilerek enzim aktivitesi için 20 dakika beklenmiştir. Sonrasında 85°C'de 1 dakika pastörize edilmiştir ve devamında 4°C'ye soğutularak bu sıcaklıkta 18 saat süreyle olgunlaştırılmıştır. Kontrol (E) örneğinde ise miks enzim ilave edilmeden 85°C'de 1 dakika pastörize edilmiştir. Daha sonra elde edilen bu mikserler 4°C'ye soğutulup, 18 saat olgunlaştırılmıştır. Tüm örneklerde olgunlaştırma sonrasında -18°C'de batch tipi dondurma makinasında 15 dakikada dondurulmuş ve 100 ml'lik plastik kaplara doldurularak -25°C'de sertleştirilerek muhafaza edilmişlerdir.



Şekil 3.1. Dondurma üretim akış şeması

### 3.2.2. Dondurmada yapılan analizler

#### 3.2.2.1. pH tayini

Oda sıcaklığında eritilen dondurmaların pH değeri Thermo Scientific firmasına ait Orion4 Star marka pHmetre kullanılarak belirlenmiştir (Oysun, 1996).

#### 3.2.2.2. Titrasyon asitliği tayini

Asitlik tayini alkali titrasyon yöntemi ile saptanmış ve sonuçlar % laktik asit cinsinden ifade edilmiştir (IDF, 1982).

#### 3.2.2.3. Kurumadde tayini

Dondurma örneklerinin kurumadde değerleri gravimetrik yöntem kullanılarak hesaplanmıştır (Anonim, 1992).

#### 3.2.2.4. Yağ tayini

Yağ oranı 0,8 taksimatlı süt bütirometresi ile Gerber yöntemine göre % olarak belirlenmiştir (Anonim,1994).

#### 3.2.2.5. Protein tayini

Dondurma örneklerinin protein tayini Dumas metodu uygulanarak % olarak belirlenmiştir. 0.20–0.25 gram dondurma, hassas tartıda tartıldıktan sonra alüminyum kapsül (Leco Tin Foil Capsule) içerisine konulup, damlacık şeklinde kapatılarak kapsüllerin FP-528 Protein/Nitrojen Analizörü ile analizi yapılmıştır (AOAC, 2003; IDF, 2000).

### 3.2.2.6. Viskozite tayini

Viskozite ölçümleri, bir Brookfield viskozimetresi ile (Brookfield Model RVDV-II+, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middlesborough, UK) ölçülmüştür. Viskozimetre, 5 rpm (5 numaralı spindel)'de çalıştırılmış ve her ölçüm en az beş paralel olarak 30 s dönmeden sonra yapıp, sonuçlar cP (centipoise) olarak kaydedilmiştir (Dervisoglu ve ark., 2005).

### 3.2.2.7. Hacim artışı tayini

Hacim artışı tayini, 100 ml'lik plastik kaplardaki dondurmalar kullanılarak yapılmış ve aşağıda belirtilen formüle göre hesaplanmıştır (Jimenez-Florez ve ark., 1993).

$$\text{Hacim artışı (\%)} = [(\text{dondurma hacmi-miks hacmi}) / \text{miks hacmi}] \times 100$$

### 3.2.2.8. Erime (ilk damla süresi) testi

Erime testi, Abd El-Rahman ve ark. (1997); Prindivelle ve ark. 1999'dan modifiye edilmiştir. Erime testinde tel kalınlığı 0.9 mm ve her 2.54 cm'sinde 10 delik bulunan tel ızgaralar ve 250 ml'lik beherler kullanılmıştır. Erime testi öncesi tel ızgara ve beherlerin daraları alınarak kaydedilmiştir. Daha sonra -25°C'de depolanan dondurmalarından yaklaşık 20 gram tartılarak ızgaralar üzerine yerleştirilmiştir. 20°C'de bekletilen dondurmaların ilk damlama zamanı saniye olarak kaydedilmiştir.

### 3.2.2.9. Erime (tamamen erime süresi) testi

Erime testi, Abd El-Rahman ve ark. (1997); Prindivelle ve ark. 1999'dan modifiye edilmiştir. Dondurmaların ilk damlama süreleri tespit edildikten sonra 20°C'de tamamen erimeye bırakılmıştır. Dondurmalar tamamen eridikten sonra geçen süre (sn) kaydedilmiştir.

### 3.2.2.10. Mikrostrüktürel özellikler

Dondurma örneklerinin mikrostrüktürlerini belirlemek üzere analize hazırlanmasında Hayat (1981) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Dondurma örnekleri 0.45 por çapına sahip hazır kapsüller içine konulmuş ve bu kapsüllerin ağzı kapatılarak preparasyon şişelerine alınmıştır. Kapsüller 0.1M sodyum fosfat tamponu ile hazırlanan (pH: 7.2) %3'lük glutaraldehit çözeltisi içinde 1 gece bekletilerek ön fiksasyonu yapılan ve dört defa tampon çözeltisi ile yıkanmıştır (Kalab ve ark., 1995). Daha sonra %1'lik osmiumtetraoksit içinde 1 saat post fiksasyona tabi tutulacak ve yine tampon çözeltisi ile 4 defa yıkanmıştır. Fiksasyon işlemlerinden sonra örnekler dehidrasyona alınmıştır. Dehidrasyonda %30 – 40 – 50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100'lük alkol serileri kullanılmıştır. %100'lük alkolden 3 kez geçirildikten sonra, kapsüller açılarak etüv içinde 30°C de kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan örnekler, karbon kaplı bant yardımı ile staplar üzerine yapıştırılacak ardından Polaron SC 502 sputter coater aleti ile saf altınla kaplandıktan sonra taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenerek görüntüleme yapılmıştır.

### 3.2.3. Duyusal analizler

Dondurmaların duyusal analizleri yedi kişilik bir panelist grup tarafından değerlendirilmiştir. Panelistler duyusal değerlendirme sırasında Aime ve ark. 2001'de yaptıkları çalışmada yer alan özellikleri dikkate almışlardır. Örnekler beğenilme derecelerine göre panelistlerce sıralamaya tabi tutulmuştur. Duyusal analizlerde kullanılan olan değerlendirme formu Şekil 3.2 ve Şekil 3.3.'te verilmiştir.

<b>Panelistin Adı Soyadı:</b>	<b>.../.../2012</b>						
<b>DUYUSAL ANALİZ FORMU</b>							
<b>1. Soğukluk şiddeti</b>							
_____							
Düşük Soğukluk	Yüksek Soğukluk						
<b>2.Sıklık</b>							
_____							
Yumuşak	Sert						
<b>3.Viskozite</b>							
_____							
Düşük Viskozite	Yüksek Viskozite						
<b>4.Pürüzsüzlük</b>							
_____							
Pürüzlü	Pürüzsüz						
<b>5.Renk ve Görünüş</b>							
_____							
Çok kötü	Çok İyi						
<b>6.Ağız Dolgunluğu</b>							
_____							
Düşük Ağız Dolgunluğu	Yüksek Ağız Dolgunluğu						
<b>7.Tat-Koku</b>							
_____							
Çok kötü	Çok İyi						
Örneklerin ağızda ve genizde bıraktığı tat ve kokuyla ilgili değerlendirmenizi söz konusu örnekte olup olmadığını aşağıdaki tabloda tik atarak değerlendiriniz.							
<b>Nitelik</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>
Kusursuz							
Asidik tat							
Burukluk							
Tuzlu tat							
Pişmiş tat							
<b>8.Genel Kabuledilebilirlik</b>							
_____							
Düşük	Yüksek						

Şekil 3.2. Dondurmaların duyuşal değerdendirilmesinde kullanılan duyuşal analiz formu (1)

**DONDURMA DUYUSAL ANALİZ FORMU**

Örnek kabının ortasından bir çay kaşığı örnek alınız. Eğer zorunluluk var ise kenarlardan da alınabilir. Formdaki yatay çizgiler üzerinde dikey çizgileri işaretleyerek her bir örneğin özelliğini belirtiniz ve kodunu yazınız. Her bir özelliği değerlendirmeden önce ağızınızı su ile çalkalayınız. Her özelliği kontrol örneğine göre mukayese ederek değerlendiriniz.

**1. Soğukluk şiddeti**

Örneği ağızınıza alınız, dil ile ağızınızda döndürünüz. Örnek ağızda erirken yarattığı soğuk etki soğukluk olarak tanımlanır. Örneği ağızda çevirirken oldukça keskin bir soğukluk hissediliyorsa aşırı soğuk olarak, düşük derecede soğukluk hissi veriyorsa hafif soğukluk olarak ifade edilir.

**2.Sıkılık**

Örneği ağızınıza alınız ve damağınızda bastırın. Dondurmanın düzleşmesi için gerekli olan kuvvet sıklığı gösterir. Dondurmanın düzleşmesi için daha az kuvvet uygulanıyorsa yumuşak, daha çok kuvvet uygulanarak düzleşiyorsa sıkı (sert) olarak ifade edilir.

**3.Vizkozite**

Ağıza ½ çay kaşığı örnek alınır. Dille damak arasında nazikçe döndürülerek hareket ettirilir. Örneğin erimesi sırasında yani tam erimeden önce ağız içinde hareketin rahatlığı değerlendirilir. Yüksek viskozite harekete karşı direnç, ağızda erimemesi ve yapışmasıdır. Düşük viskozite ise örneğin çok hızlı bir şekilde erimesi, harekete karşı çok az direnç göstermesi ve yapışmaması olarak tanımlanır.

**4.Pürüzsüzlük**

Örnek dille üst damağa yayılır ve pürüzsüzlüğün derecesi değerlendirilir. Pürüzlü olan dondurma kaba ve kumlu bir his bırakırken, oldukça pürüzsüz bir dondurma yumuşak ve homojen bir şekilde ağızda yayılarak kumlu ve kaba bir his oluşturmaz.

**5.Renk ve Görünüş**

Örneğin görünüşüyle ve rengiyle ilgili değerlendirme yaparken açık renkten koyu renge doğru ve mattan parlağa doğru puan azalarak çok kötüye doğru değerlendirilir.

**6.Ağız Dolgunluğu**

Bir parça kraker yiyiniz daha sonra ağız, su ile çalkalayarak herhangi bir parça kalmayacak şekilde temizleyin. Örneği ağızınıza alınız, dil ile damak arasında dairesel bir şekilde hareket ettirerek yiyiniz. Yuttuktan sonra ağızda kalan film tabakanın yoğunluğu ağız dolgunluğu olarak ifade edilir.

Şekil 3.3. Dondurmaların duyuusal değerlendirilmesinde kullanılan duyuusal analiz formu (2)

**3.2.4. İstatistiksel analizler**

İstatistik analizler “Tesadüf Parsellerinde Faktöriyel Deneme Planı”na göre (3x2x3) (Enzim Oranı x Katım aşaması x Tekerrür) yapılmış ve SPSS 9.0 paket programı kullanılmıştır. Fiziksel ve kimyasal özellikler açısından, örnekler arasında farklılık olup olmadığını saptamak için varyans analizi yapılmış ve varyans analizinde önemli olanlar LSD testine tabi tutulmuştur (Bek ve Efe., 1995).



#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Bu bölümde üretilen dondurmaların kimyasal, fiziksel, duyu ve mikrostrüktürel özellikleri ayrı ayrı incelenerek mikrobiyal transglutaminaz katım aşamasının ve katılma oranının dondurmaların özellikleri üzerine etkileri tartışılmış, bulunan sonuçlar istatistiksel yönden değerlendirilmiş ve bu konuda yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırılarak bulgular yorumlanmıştır.

##### 4.1. Dondurmaların Kimyasal Özellikleri

Dondurmaların kimyasal özelliklerine ait ortalama değerler, standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.1.'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Dondurma örneklerinin kimyasal analiz sonuçları

	Örnek*	pH	Titrasyon Asitliği (% Laktik Asit)	Kurumadde (%)	Yağ (%)	Protein (%)
Isıl İşlem Sonrası	A	6.57±0.000 <sup>a1</sup>	0.21±0.001 <sup>a1</sup>	32.52±0.148 <sup>c1</sup>	4.00±0.000 <sup>a1</sup>	4.08±0.170 <sup>a1</sup>
	B	6.60±0.000 <sup>a1</sup>	0.20±0.003 <sup>a1</sup>	32.86±0.113 <sup>b1</sup>	4.05±0.000 <sup>a1</sup>	4.04±0.035 <sup>a1</sup>
Isıl İşlem Öncesi	C	6.57±0.007 <sup>a1</sup>	0.21±0.006 <sup>a1</sup>	32.58±0.071 <sup>c1</sup>	4.03±0.035 <sup>a1</sup>	4.06±0.106 <sup>a1</sup>
	D	6.60±0.007 <sup>a1</sup>	0.20±0.004 <sup>a1</sup>	32.88±0.057 <sup>b1</sup>	4.05±0.071 <sup>a1</sup>	3.99±0.325 <sup>a1</sup>
Kontrol	E	6.62±0.007 <sup>a1</sup>	0.19±0.004 <sup>a1</sup>	33.21±0.099 <sup>a1</sup>	4.08±0.035 <sup>a1</sup>	3.91±0.035 <sup>a1</sup>

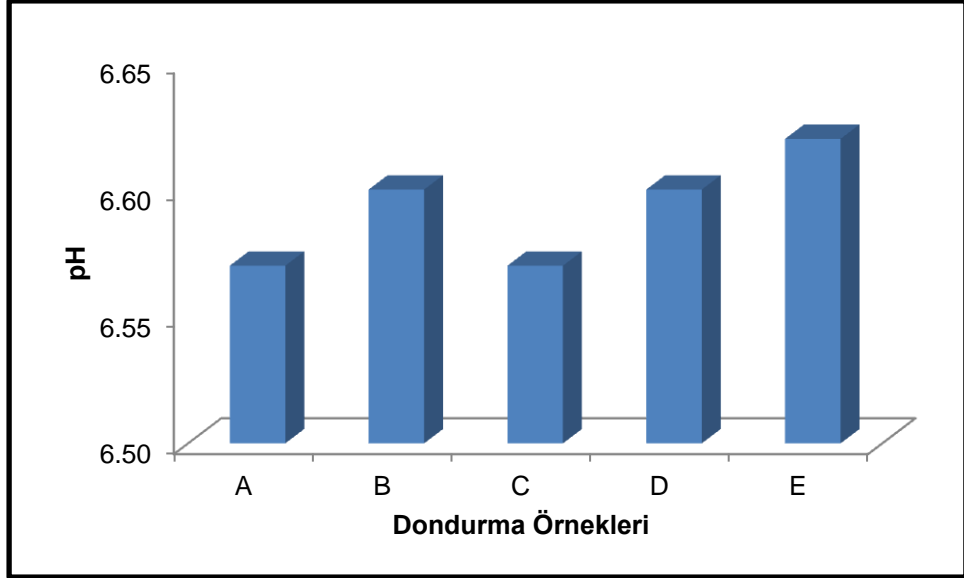
\*A:1 unit/gr protein, B:0.5 unit/gr protein, C:1 unit/gr protein, D:0.5 unit/gr protein, E:kontrol

\*\*MTG enzimi oranına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*\*\*Isıl işlemin enzim ilavesinden önce/sonra uygulanmasına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı rakamlarla gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

##### 4.1.1. Dondurmaların pH değerleri

Dondurmaların pH değerleri Şekil 4.1 ve Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Şekil 4.1.'den de görüleceği gibi dondurmaların pH değerleri 6.57 ile 6.62 arasında değişmiştir. En yüksek pH değeri E örneğinde saptanmıştır.



Şekil 4.1. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların pH değerleri

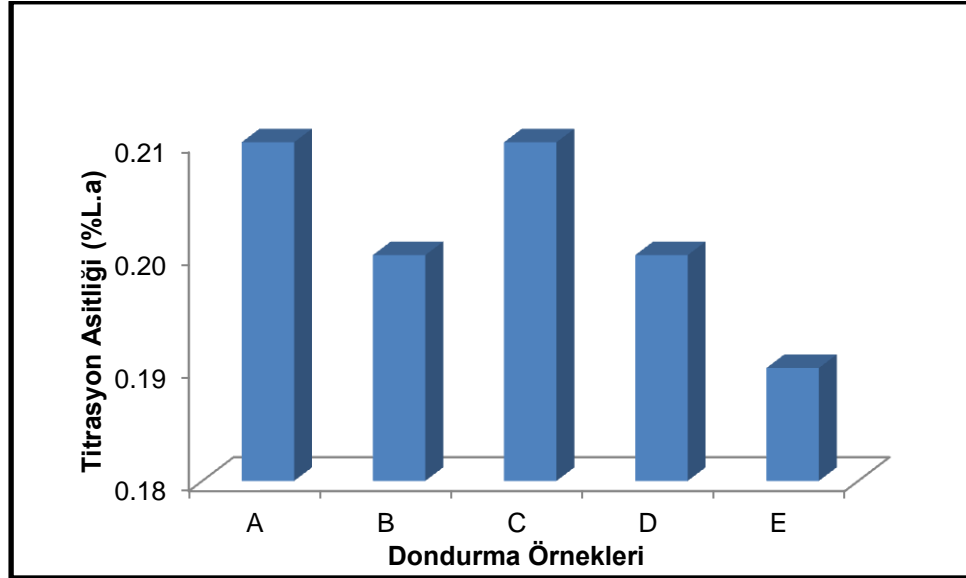
Dondurmaların pH değerleri üzerine mikrobiyal transglutaminaz enzimi oranının ve enzimin katım aşamasındaki etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur.

Şimşek ve ark. (2006), farklı stabilizatör kullanımının dondurma kalitesine etkisi üzerindeki çalışmalarında, pH değerlerini 6.40 ile 6.57 arasında bulmuşlar ve bu değişimin de istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, pH değerlerini %4 yağ içeren dondurmalarda 6.94 ve %4 yağ içeren ve MTG ilaveli dondurmalarda ise 6.96 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar pH değerlerindeki bu farklılığın istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) olduğunu da belirtmişlerdir.

#### 4.1.2. Dondurmaların titrasyon asitliği değerleri

Dondurmaların titrasyon asitliği (% laktik asit) ile ilgili değerler Şekil 4.2.'de verilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların titrasyon asitliği değerleri

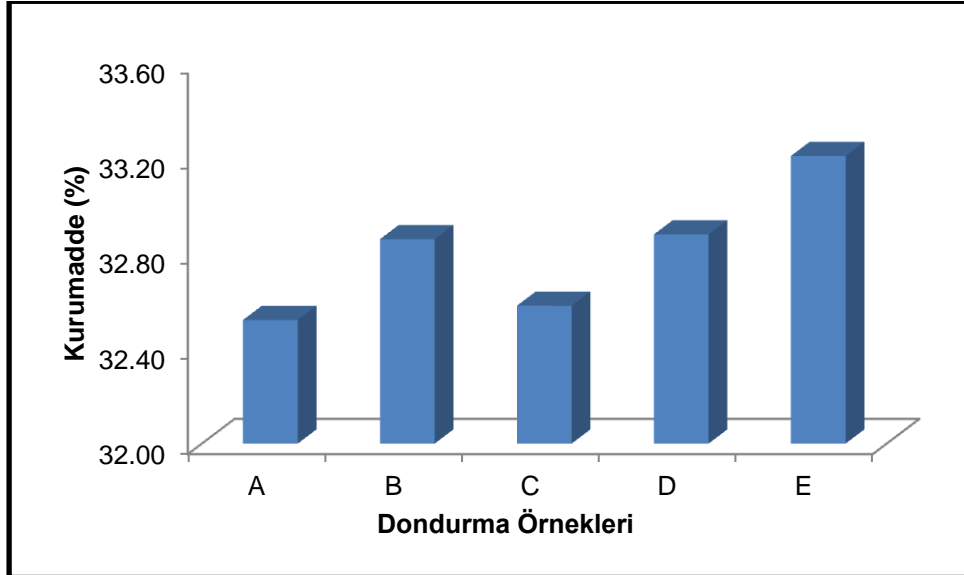
Şekil 4.2.'den de izleneceği gibi dondurmaların titrasyon asitliği değerleri %0.19 ile %0.21 değerleri arasında değişmiş ve en yüksek değerler 1 unit/g protein mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilave edilen örneklerde belirlenmiştir.

Bununla beraber Çizelge 4.1.'den de görüleceği gibi dondurmaların titrasyon değerleri üzerine enzim ilavesinin ve oranının etkisi ile enzim katım aşamasının etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) olmuştur. Bunun sebebinin ilave edilen MTG ve stabilizörlerin gerek kullanım oranlarının çok düşük olması, gerekse asitliği etkileyecek bir yapıda olmamaları nedeniyle örneklerin titrasyon asitliği değerleri üzerinde etkili olmadığını söylemek mümkündür.

#### 4.1.3. Dondurmaların kurumadde değerleri

Dondurmaların Şekil 4.3.'de görüldüğü gibi kurumadde değerleri %32.52 ile %33.21 arasında değişmiş olup, en yüksek kurumadde değerine %33.21 ile kontrol örneğinde belirlenmiştir.

Çalışmada üretilen tüm dondurmaların kurumadde değerleri “Türk Gıda Kodeksi Dondurma Tebliği”nde dondurma için belirtilen toplam kurumadde değerleriyle uyum içinde (en az %31) olmuştur.



Şekil 4.3. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların kurumadde değerleri

Yapılan istatistiksel analizler sonucunda kurumadde değerleri üzerine enzim ilavesinin ve oranının etkisi önemli ( $p < 0.01$ ) bulunmuştur. Bunun sebebinin dondurmalara farklı oranlarda stabilizör ilave edilmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Nitekim Çizelge 4.1.'de de görüldüğü gibi aynı oranda stabilizör katılan örneklerde istatistiksel olarak farklılık yoktur. MTG enziminin katım aşamasının etkisi ise önemsiz ( $p > 0.05$ ) bulunmuştur (Çizelge 4.1).

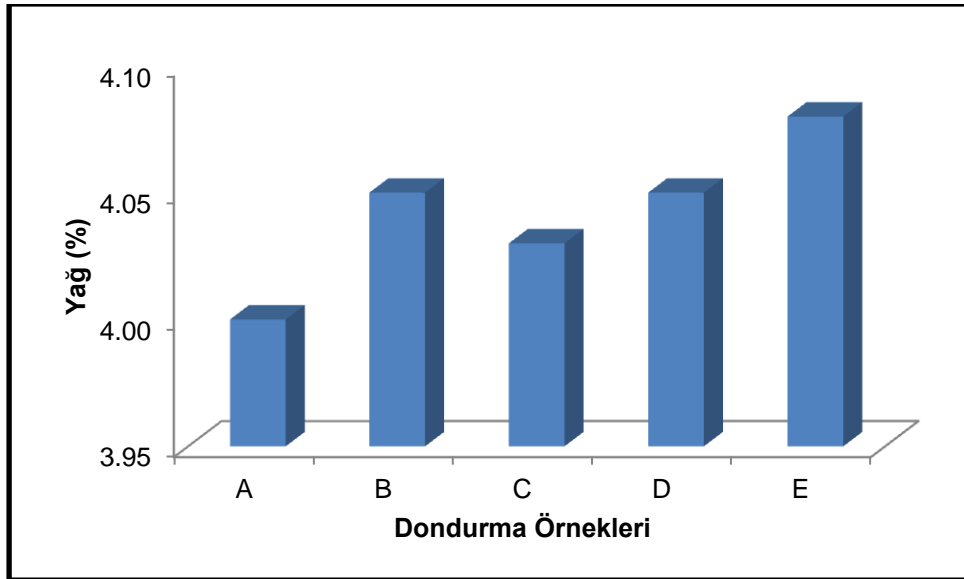
Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini

araştırdıkları çalışmalarında, kurumadde değerlerini %4 yağ içeren dondurmalarda %33.18, %4 yağ içeren ve MTG ilaveli dondurmalarda ise %33.32 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar kurumadde değerlerindeki bu farklılığın istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) olduğunu da belirtmişlerdir.

Çalışmamızda elde edilen kurumadde değerlerinin araştırmacıların bulmuş oldukları değerlerle uyum içinde olduğu söylenebilir.

#### 4.1.4. Dondurmaların yağ değerleri

Dondurmaların yağ değerleri Şekil 4.4.'te verilmiş olup, bu değerler %4.0 ile %4.08 arasında değişmiş ve en yüksek yağ değerleri % 4.08 ile kontrol (E) örneğinde tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların yağ değerleri

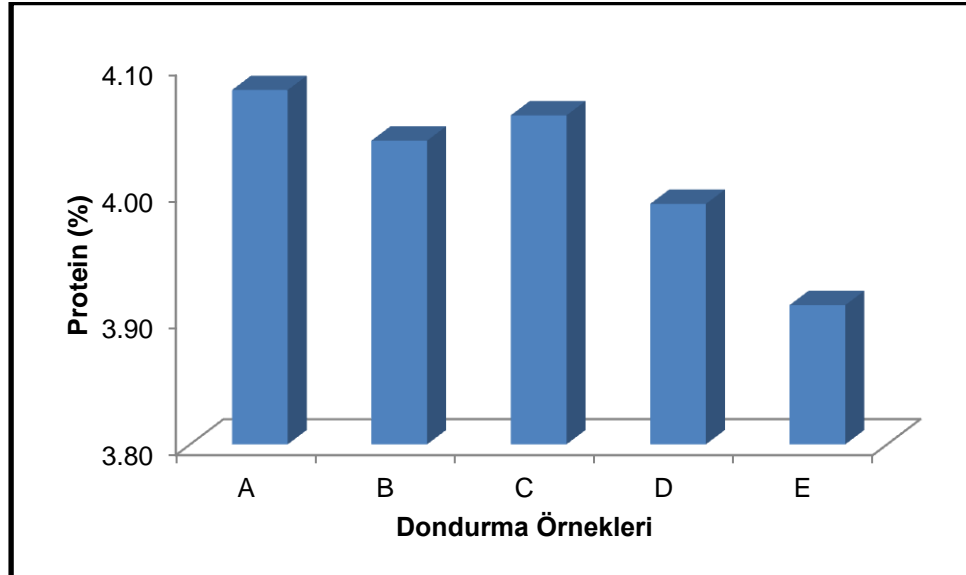
“Türk Gıda Kodeksi-Dondurma Tebliği”nde yarım yağlı dondurma için en az %3 süt yağı içermesi gerektiği belirtilmiştir. Çalışmada üretilen dondurmaların tümü gerek yağ ve gerekse kurumadde bakımından “Dondurma Tebliği”ne göre yarım yağlı dondurma grubuna girmiş ve Tebliğ’de verilen değerlerle uyum içinde olmuştur.

Çizelge 4.1.'de görüldüğü gibi dondurmaların yağ değerleri üzerine mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin, enzim oranının ve enzim katım aşamasının üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) olmuştur.

#### 4.1.5. Dondurmaların protein değerleri

Çalışmada üretilen dondurmaların protein değerleri standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.1 ve Şekil 4.5.'te verilmiştir. Buna göre dondurmaların protein değerleri %3.91 ile %4.08 arasında değişmiş ve en yüksek protein değerine A örneği sahip olmuştur.

Uygulanan istatistiksel analizler sonucunda, enzim ilavesinin, enzim katım aşamasının ve enzim oranlarının dondurmaların protein değerleri üzerine etkisi önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur. İlave edilen MTG ve stabilizörlerin kullanım oranlarının çok düşük olması nedeniyle örneklerin protein değerleri üzerinde etkili olmadığını söylemek mümkündür.



Şekil 4.5. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların protein değerleri

## 4.2. Dondurmaların Fiziksel Özellikleri

Dondurmaların fiziksel özelliklerine ait ortalama değerler standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.2.'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Dondurma örneklerinin fiziksel analiz sonuçları

	Örnek*	Viskozite(cP)	Hacim Artışı(%)	İlk Damlama Süresi (sn)	Tamamen Erime Süresi (sn)
Isıl İşlem Sonrası	A	890±4.243 <sup>d4</sup>	23.12±0.332 <sup>d4</sup>	765.50±14.849 <sup>c4</sup>	2297±32.527 <sup>c4</sup>
	B	4060±28.284 <sup>b2</sup>	32.88±0.269 <sup>a1</sup>	1229.50±54.447 <sup>a1</sup>	3413.50±61.518 <sup>a1</sup>
Isıl İşlem Öncesi	C	573.50±37.477 <sup>e5</sup>	21.95±0.332 <sup>e5</sup>	715.50±30.406 <sup>c5</sup>	2126±53.740 <sup>d5</sup>
	D	2823±24.042 <sup>c3</sup>	26.83±0.573 <sup>c3</sup>	1059±12.728 <sup>b3</sup>	3072±33.941 <sup>b3</sup>
Kontrol	E	5840±123.037 <sup>a1</sup>	30.83±0.544 <sup>b2</sup>	1107.50±45.962 <sup>b2</sup>	3166.50±54.447 <sup>b2</sup>

\*A:1 unit/gr protein, B:0.5 unit/gr protein, C:1 unit/gr protein, D:0.5 unit/gr protein, E:kontrol

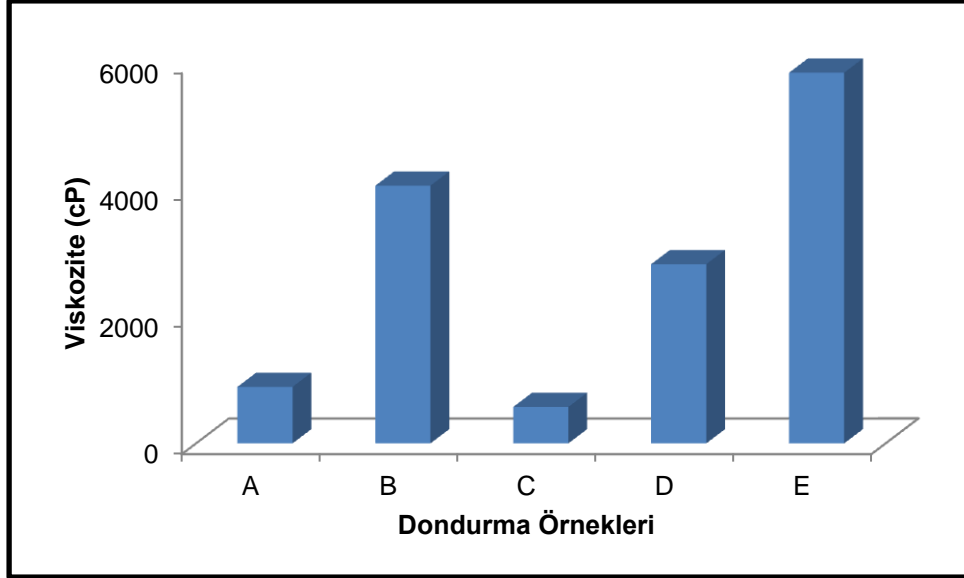
\*\*MTG enzimi oranına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*\*\*Isıl işlemin enzim ilavesinden önce/sonra uygulanmasına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı rakamlarla gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

### 4.2.1. Dondurmaların viskozite değerleri

Viskozite veya akmaya karşı gösterilen direnç, dondurma miksinin en önemli özelliklerinden biridir. Dövülebilme niteliği ile dondurmaya verilen havanın tutulması açısından, miksin belli bir düzeyde viskozite değerine sahip olması gerekmektedir (Güven ve ark., 2010).

Araştırmada üretilen dondurmaların viskozite değerleri Şekil 4.6.'dan da görüleceği gibi 573.5 ve 5840 cP arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz oranının ve katım aşamasının viskozite değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). En düşük viskozite değerlerine stabilizör yerine MTG kullanılan dondurmalar sahip olmuştur.



Şekil 4.6. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların viskozite değerleri

Stabilizörler, başlangıçta kendine gerekli olan suyu tutar, daha sonra molekül içi ve molleküller arası boşluklarda üç boyutlu bir ağ oluşturarak geri kalan suyun değişkenliğini stabil hale getirip, gıda maddesinin tüm bünyesinde ağ gibi bir yapı oluşturur, karışım viskozitesini artırır, havanın karışıma nüfuz etmesini kolaylaştırır, büyük buz kristali oluşumunu ve gelişimini engeller, erimeyi geciktirir, pıhtılaşmayı engeller, yapı ve tekstürü geliştirir (Cottrell ve ark., 1980). Bu nedenle stabilizör olarak yalnızca MTG içeren örneklerinin viskozitesi diğer örneklerden düşük olmuştur. En yüksek viskozite değerlerine ise E örneği sahip olmuştur. Bu durum stabilizörlerin ortamdaki suyu bağlamalarından kaynaklanabilir. Metwally (2007), enzim uygulanan dondurmalarda viskozitenin kontrol örneklerine göre daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada ise MTG+stabilizör içeren örnekler kontrolden daha düşük viskoziteye sahip olmuştur. Bu durumun denemedeki dondurmaların farklı bileşimlerde olmasından veya enzimle inkübasyon süresinin farklı olmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

MTG katım aşamasının da dondurmaların viskozite değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Isıl işlem sonrası enzim ilave edilen dondurmaların viskozite değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Çiğ sütte kazeinler arasında ortaya çıkan çapraz bağlanmanın, minimum kararlılık bölgesindeki pH değerlerinde, miselden  $\kappa$ -kazeinin dissosiyasyonunun engellendiği



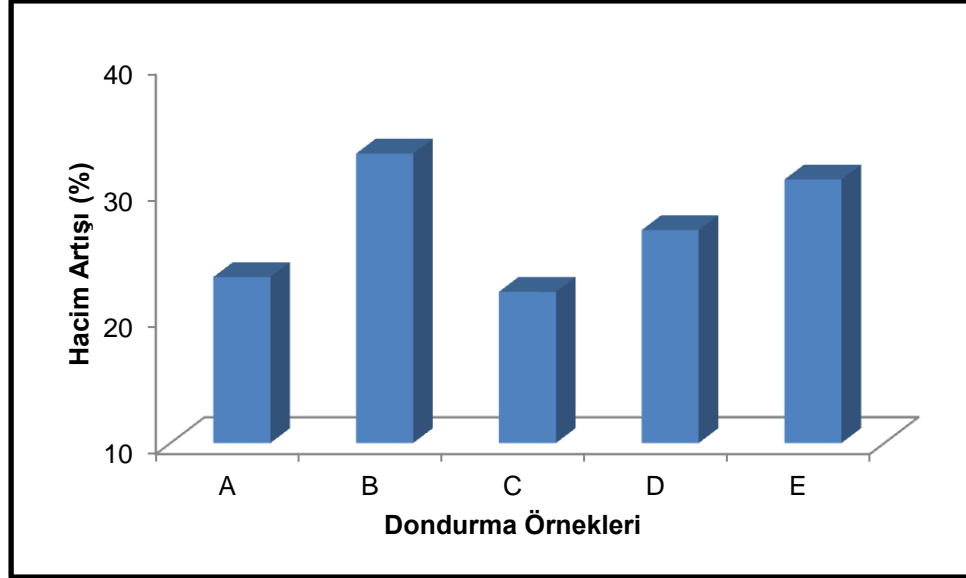
ileri sürülmektedir. Sütün MTG ile inkübasyondan önce ön ısıtma işlemine tabi tutulması ise, serum proteinlerinin denatürasyonu sonucu, denature serum proteinleri ile kazeinler arasında çapraz bağların oluşumuna izin vermektedir. (O'Sullivan ve ark., 2001, 2002).

Şimşek ve ark. (2006), farklı stabilizatör kullanımının dondurma kalitesine etkisi üzerindeki çalışmalarında, viskozite değerlerini 97 cP ile 800 cP arasında bulmuşlar ve bu değişimde istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, viskozite değerlerini %4 yağ içeren dondurmalarda 122.0 cP ve %4 yağ içeren ve MTG ilaveli dondurmalarda ise 187.2 cP olarak belirlemişlerdir. Bunun dışında araştırmacılar MTG ilaveli ve %4 yağlı dondurma örneklerinin, %6 ve %8 yağlı ve MTG ilaveli dondurma örneklerinden daha yüksek viskoziteye sahip olduklarını belirterek, yağı azaltılmış dondurmalarda viskoziteyi artırmak için MTG ilavesinin etkin bir yöntem olacağını da ifade etmişlerdir. Araştırmacılar viskozite değerlerindeki bu farklılığın istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu da bildirmişlerdir.

#### 4.2.2. Dondurmaların hacim artışı değerleri

Hacim artışı oranı, dondurma içinde hapsedilen hava hakkında bilgi vermektedir. Hacim artışı yalnız dondurma kıvamını etkilemekle kalmayıp, dondurmanın yenilebilme niteliğini, randıman ve besin değerini de yakından ilgilendirmektedir.



Şekil 4.7. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların hacim artışı değerleri

Dondurmalarda saptanan hacim artış oranları Şekil 4.7.'de görüldüğü gibi %21.95 ile %32.88 arasında değişmiştir. Mikrobiyal transglutaminaz enzim oranının ve katım aşamasının, dondurmaların hacim artışı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). En düşük hacim artışına stabilizör yerine MTG ilave edilen örnekler sahip olurken, en yüksek hacim artışı değerine MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar sahip olmuştur. MTG enziminin süt serum proteinleri ve yağ globüllerindeki proteinler ile oluşturduğu çapraz bağlar daha yüksek kohezyon etkisi yaratarak dondurma içerisinde daha fazla havanın tutulmasını sağlamaktadır (Metwally, 2007). Stabilizörlerin havanın karışıma nüfuz etmesini kolaylaştırdığı (Cottrell ve ark., 1980), bu nedenle stabilizör yerine yalnızca MTG enzimi içeren dondurmalarda hacim artışının diğer örneklere göre daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Isıl işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarda serum proteinleri denatüre olmadığı için MTG ile çapraz bağlanmaların yetersiz olmasına bağlı olarak (Sharma ve ark., 2001), hacim artışı değerlerinin de ısıl işlem sonrasında enzimle muamele edilen dondurmalarından düşük olduğu tahmin edilmektedir.

Akın (1990), Batch tipi dondurucularda yapılan yumuşak ve yarı yumuşak dondurmaların hacim artışı değerlerinin %35-40'ın üzerine çıkartmanın zor olacağını bildirmiştir.

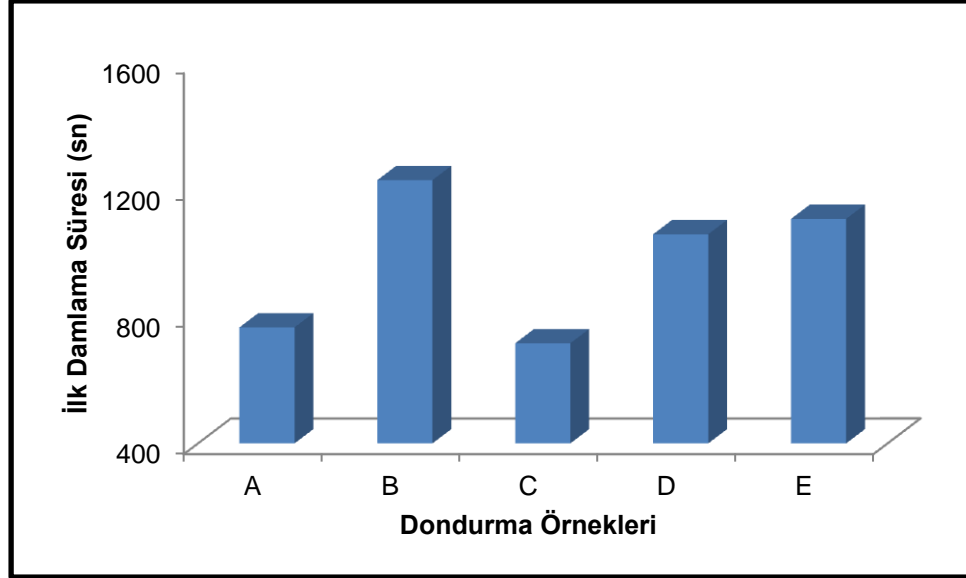
Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyuşal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, hacim artışı değerlerini %17.91 ile %47.11 arasında bulmuşlar ve bu değişimde istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, hacim artışı değerlerini %4 yağ içeren dondurmalarda %67.19 ve %4 yağ içeren ve MTG ilaveli dondurmalarda ise %107.15 olarak belirlemişler ve hacim artışı değerlerindeki bu farklılığın istatistiksel olarak da önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

#### **4.2.3. Dondurmaların ilk damlama süresi değerleri**

İlk damlama süresi, dondurmaların yapısı hakkında bilgi veren bir ölçüttür ve tüketimi sırasındaki dayanıklılığın göstergesidir (Bolliger ve ark., 2000).

Dondurmada hızlı erimenin; toplam kurumadde miktarının az olması, stabilizörün yetersiz olması ve dondurma işleminin yeterli yapılmaması sonucu ortaya çıkmaktadır (Tekinşen, 1993).



Şekil 4.8. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların ilk damlama süresi değerleri

Üretilen dondurmaların ilk damlama süreleri Şekil 4.8.'de görüleceği üzere 715.50 sn ile 1129.5 sn arasında değişmiştir. İstatistiksel olarak mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların ilk damlama süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). İlk damlama süresi en uzun olan dondurmaların MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar olduğu görülmüştür. Bu sonuç, stabilizörlerin ortamdaki suyu bağlamalarına ilaveten, süt proteinlerinin MTG ile muamelesi sonucunda polimerleşmesine bağlanmaktadır (Rossa ve ark., 2011). İlk damlama süresi en kısa olan örnekler ise stabilizör yerine MTG ilave edilen örnekler olmuştur. Stabilizör olarak tek başına MTG kullanılması dondurmalarda istenen stabil yapıyı oluşturmamış, ortamda su bağlayıcı bir ajan da bulunmadığından bu örnekler çok kısa sürede erimeye başlamıştır.

MTG katım aşamasının da dondurmaların ilk damlama süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Isıl işlem sonrası enzimle muamele edilen dondurmalarda serum proteinlerinin denatürasyonuna ve kazein miselleri ile etkileşime girmelerine bağlı olarak (Sharma ve ark., 2001), dondurmalarda daha stabil bir yapı oluşmuş ve bunun sonucunda ilk damlama sürelerinin diğer dondurmalarından daha uzun olarak saptanmıştır.

Güven ve ark. (2002), farklı stabilizör kombinasyonları kullanarak ürettikleri Kahramanmaraş tipi dondurmaların ilk damlama süreleri arasında fark olduğunu ve bu farkın da istatistiksel olarak önemli olduğunu belirtmişlerdir.

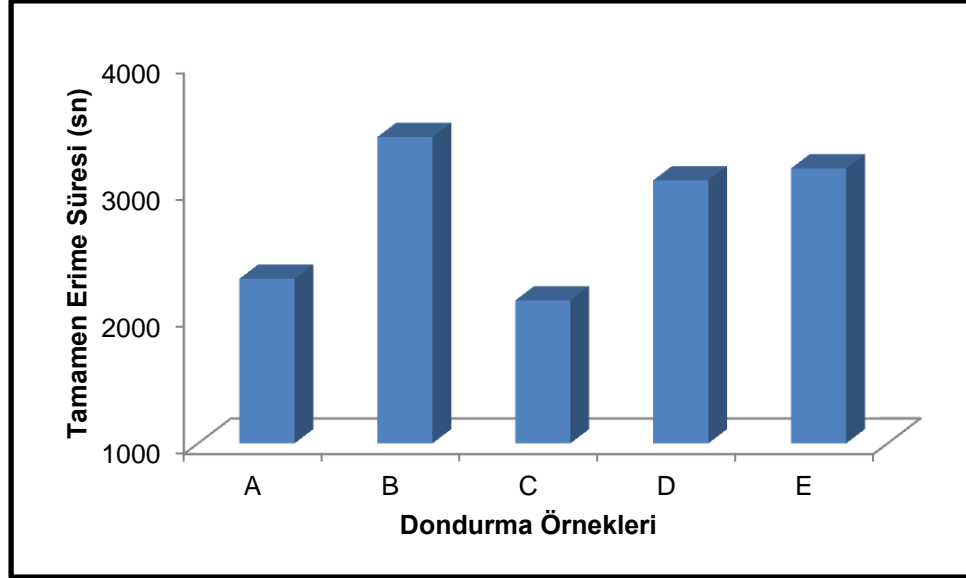
Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyuşsal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, stabilizörlerin ilk damlama sürelerini istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) düzeyde değiştirdiğini belirtmişlerdir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, kontrol örneği ile karşılaştırıldığında mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların erimeye karşı dirençlerini arttırdığını belirtmişlerdir.

#### **4.2.4. Dondurmaların tamamen erime süresi değerleri**

Sıcaklık dalgalanmalarından en fazla etkilenen özellik olarak bilinen tamamen erime süresi değerleri, aynı zamanda üretilen dondurmaların nakliyesi ve depolama süresince dondurmanın dayanıklılığının bir ölçüsü olarak değerlendirilmektedir.

Araştırmada üretilen dondurmaların tamamen erime süreleri Şekil 4.9.'dan da görüleceği gibi 2126.0 ile 3413.5 sn arasında değişmiştir.



Şekil 4.9. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların tamamen erime süresi değerleri

İstatistiksel olarak mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların tamamen erime süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). E örneği ile karşılaştırıldığında erimeye karşı en dirençli dondurmaların MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar olduğu görülmüştür. Bu sonuç, süt proteinlerinin MTG ile muamelesi sonucunda polimerleşmesine (Rossa ve ark., 2011) bağlanabilir. Stabilizör olarak yalnızca MTG içeren dondurmalarda proteinlerin enzimle polimerleşmesi dondurmaların stabilitesinde yeterli olmamış ve bu örnekler en hızlı eriyen dondurmalar olmuştur.

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi katım aşamasının dondurmaların tamamen erime süreleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Isıl işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarda serum proteinleri denatüre olmadığı için MTG ile çapraz bağlanmaların yetersiz olmasına bağlı olarak (Sharma ve ark., 2001), erimenin diğer dondurmalarından daha hızlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Şimşek ve ark. (2006), farklı stabilizatör kullanımının dondurma kalitesine etkisi üzerindeki çalışmalarında, dondurmaların tamamen erime sürelerindeki değişimin istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyuşal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, tamamen erime sürelerindeki farklılığın istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca erimeye karşı dayanıklılığın zamana bağılı olarak azaldığını da bildirmişlerdir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmelerde mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmelerin reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, mikrobiyal transglutaminaz ilaveli dondurma örneklerinin ilave edilmeyenlerden daha dayanıklı olduklarını belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar dondurmelerin yağ içerikleri arttıkça erimeye karşı dirençlerinin de arttığını ifade etmişlerdir.

### **4. 3. Dondurmaların Duyusal Özellikleri**

Dondurmaların duyuşal özellikleri; soğukluk şiddeti, sıklık, viskozite, pürüzsüzlük, renk ve görünüş, ağız dolgunluğu, tat ve koku ve genel kabuledilebilirlik olmak üzere sekiz farklı parametreye göre panelistler tarafından değerlendirilmiş ve elde edilen duyuşal puanlar standart hatalarıyla birlikte Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Dondurma örneklerinin duyusal analiz sonuçları

Özellikler	A	B	C	D	E
Soğukluk Şiddeti	6.94±0.177 <sup>b2</sup>	5.19±0.219 <sup>d4</sup>	7.60±0.170 <sup>a1</sup>	6.16±0.191 <sup>c3</sup>	5.07±0.226 <sup>d4</sup>
Sıklık	4.63±0.276 <sup>c3</sup>	8.07±0.156 <sup>a1</sup>	3.89±0.255 <sup>d4</sup>	6.94±0.240 <sup>b2</sup>	8.14±0.198 <sup>a1</sup>
Viskozite	4.88±0.233 <sup>c3</sup>	8.45±0.085 <sup>a1</sup>	4.55±0.191 <sup>c3</sup>	7.19±0.290 <sup>b2</sup>	8.57±0.134 <sup>a1</sup>
Pürüzsüzlük	4.20±0.247 <sup>c3</sup>	8.44±0.134 <sup>a1</sup>	3.84±0.184 <sup>c4</sup>	7.51±0.170 <sup>b2</sup>	8.24±0.276 <sup>a1</sup>
Renk ve Görünüş	7.15±0.113 <sup>c1</sup>	9.13±0.099 <sup>a1</sup>	7.08±0.191 <sup>c1</sup>	8.63±0.269 <sup>b1</sup>	9.09±0.205 <sup>a1</sup>
Ağız Dolgunluğu	4.00±0.163 <sup>c3</sup>	8.24±0.014 <sup>a1</sup>	3.82±0.148 <sup>c3</sup>	6.83±0.219 <sup>b2</sup>	8.29±0.177 <sup>a1</sup>
Tat ve Koku	5.87±0.219 <sup>c3</sup>	8.70±0.297 <sup>a1</sup>	4.82±0.226 <sup>d4</sup>	7.55±0.191 <sup>b2</sup>	8.69±0.205 <sup>a1</sup>
Genel Kabul Edilebilirlik	5.12±0.247 <sup>c3</sup>	8.26±0.099 <sup>a1</sup>	4.55±0.106 <sup>d4</sup>	7.20±0.191 <sup>b2</sup>	8.23±0.170 <sup>a1</sup>

\*A:1 unit/gr protein, B:0.5unit/gr protein, C:1 unit/gr protein, D:0.5unit/gr protein, E:kontrol

\*\*MTG enzimi oranına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

\*\*\*Isıl işleme enzim ilavesinden önce/sonra uygulanmasına göre sütunlar yukarıdan aşağıya doğru incelendiğinde aynı rakamlarla gösterilen değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır.

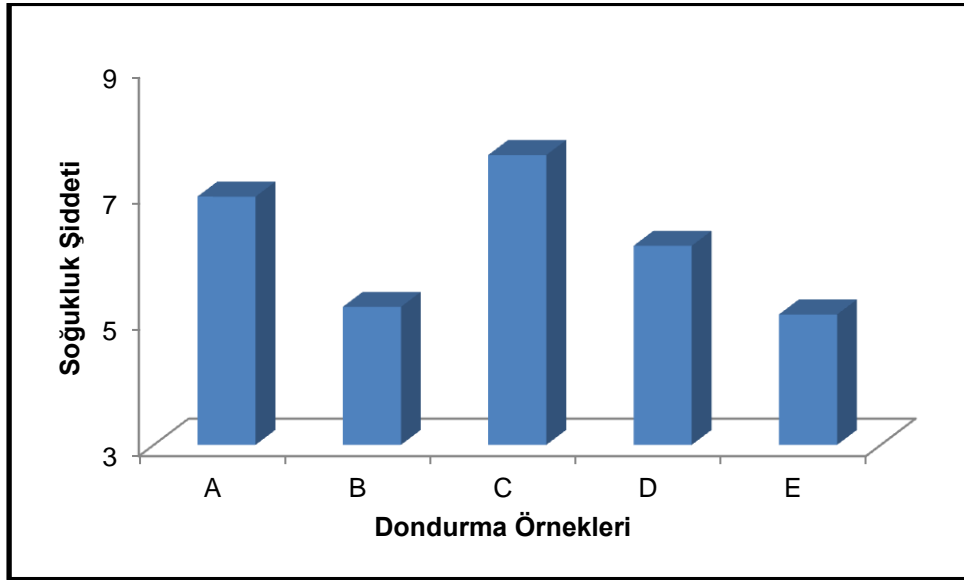
#### 4.3.1. Dondurmaların soğukluk şiddeti puanları

Dondurma örneklerinin ağızda erirken ortaya çıkardığı soğuk etki soğukluk şiddeti olarak tanımlanmaktadır. Dondurma ağızda çevrilirken oldukça keskin bir soğukluk hissediliyorsa aşırı soğuk olarak, düşük derecede soğukluk hissi veriyorsa hafif soğukluk olarak ifade edilmektedir.

Şekil 4.10.'dan da görüldüğü gibi dondurmaların soğukluk puanları 5.07 ile 7.60 arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların soğukluk şiddeti puanları üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Dondurma ağızda erirken yapıda bulunan büyük buz kristalleri soğukluk hissi verirler (Bodyfelt ve ark., 1988). Stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilen dondurmalarda suyu bağlayıcı maddeler olmadığı için daha büyük buz kristalleri oluşturmuştur. Yapılan duyusal değerlendirmelerde bu örneklerin daha yüksek soğukluk şiddeti puanına sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.3).



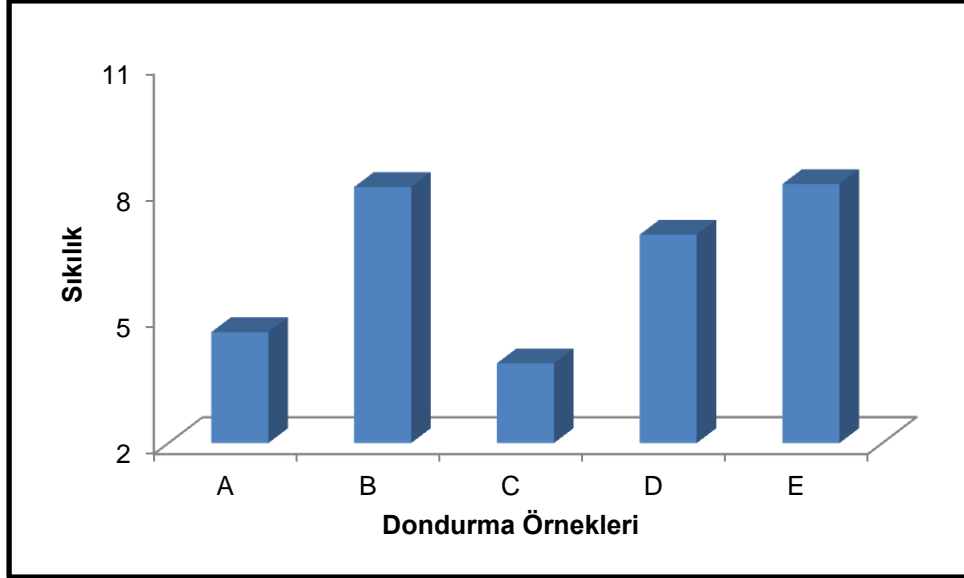
Mikrobiyal transglutaminaz enzimi katım aşamasının da dondurmaların soğukluk şiddeti puanları üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Isıl işlem sonrasında enzim katılan örneklerde soğukluk şiddeti puanları daha düşük olmuştur. Bu sonuç, ısıl işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmalarda serbest su miktarının daha az olmasına ve bu örneklerde yapının daha stabil olmasına bağlanmıştır.



Şekil 4.10. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların soğukluk şiddeti puanları

#### 4.3.2. Dondurmaların sıklık puanları

Dondurma örneklerinin dil üzerine alındıktan sonra, damakta bastırılması sonucu düzleştirmek için sarf edilen kuvvet sıklık olarak tanımlanmaktadır. Dondurmanın düzleşmesi için daha az kuvvet uygulanıyorsa yumuşak, daha çok kuvvet uygulanarak düzleşiyorsa sıkı (sert) olarak ifade edilmektedir.



Şekil 4.11. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların sıklık puanları

Şekil 4.11.'den izlenildiği gibi dondurmaların sıklık puanları 3.89 ile 8.14 arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların sıklık puanları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p<0.01$ ).

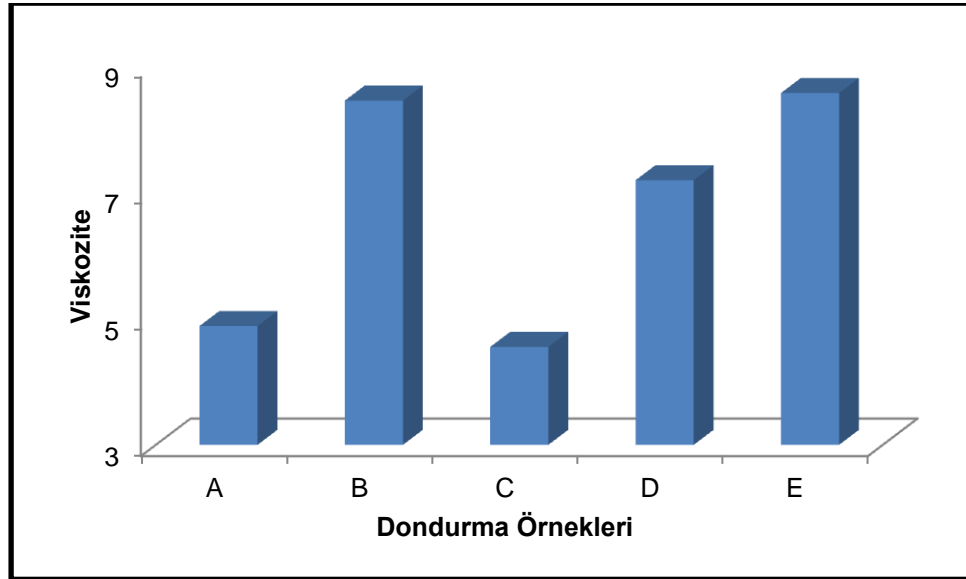
Stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilen dondurmalarda yapı daha zayıf olmuş ve bu nedenle sıklık puanları da daha düşük olarak belirlenmiştir. Hacim artışı ve viskozite sonuçları da bu bulguyu desteklemektedir. MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar ise kontrol örneğine çok yakın sıklık puanları almıştır. Metwally (2007), enzim ve stabilizör ilave edilen dondurmaların enzim ilave edilmeyen dondurmalarla göre daha yumuşak olduğunu bildirmektedir.

Isıl işlem sonrasında MTG ilave edilen dondurmaların sıklık puanları ısıl işlemde önce MTG ilave edilen dondurmalarla daha yüksek bulunmuştur. MTG enziminin süt serum proteinleri ve yağ globüllerindeki proteinler ile oluşturduğu çapraz bağlar daha yüksek kohezyon etkisi oluşturarak dondurmanın daha sıkı bir yapıya sahip olmasını sağlamaktadır (Sharma ve ark., 2001). Bunun da ısıl işlem sonrası enzim ilave edilen örneklerin sıklık puanlarının daha yüksek olmasına neden olduğu tahmin edilmektedir.

Rossa ve ark. (2012), farklı oranlarda yağ içeren dondurmalarda mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurmaların reolojik özellikleri üzerine etkisini araştırdıkları çalışmalarında, mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin dondurma örneklerinin sertlik değerlerini arttırdığını ve bunun da istatistiksel olarak önemli olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar dondurmaların yağ içerikleri arttıkça sertlik değerlerinin azaldığını da ifade etmişlerdir.

#### 4.3.3. Dondurmaların viskozite puanları

Dondurma örneklerinin ağızda dil ile damak arasındaki hareketi esnasında erimeye karşı gösterdiği direnç viskozite olarak tanımlanmaktadır. Yüksek viskozite harekete karşı direnç, ağızda erimemesi ve yapışmasıdır. Düşük viskozite ise örneğin çok hızlı bir şekilde erimesi, harekete karşı çok az direnç göstermesi ve yapışmaması olarak tanımlanmaktadır.



Şekil 4.12. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların viskozite puanları

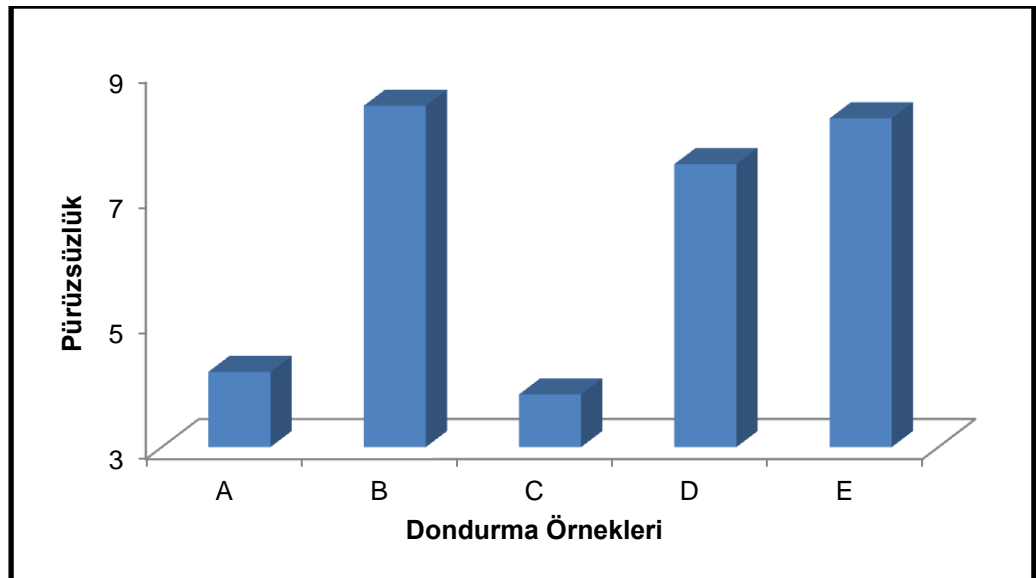
Şekil 4.12.'den izlenildiği gibi dondurmaların viskozite puanları 4.55 ile 8.57 arasında değişmiştir (Çizelge 4.3). İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların viskozite puanları üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p < 0.01$ ). Dondurmaların duyuşal

viskozitesi örneğin kişinin ağızındaki erime durumuyla ilgilidir (Aime ve ark, 2001). Duyusal değerlendirmede en yüksek viskozite puanlarını E örneği almış, bunu MTG+stabilizör ilavesi ile hazırlanan ve stabilizör yerine MTG ilave edilen dondurmalar izlemiştir. Isıl işlem sonrası enzim ilave edilen dondurmaların viskozite değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Duyusal değerlendirmede panel üyelerinin dondurma örneklerine vermiş oldukları viskozite puanları, dondurmaların viskozimetre ile yapılan ölçümlerde edilen (Çizelge 4.2) viskozimetre değerleri ile uyum içinde olmuştur. Buna göre panel üyeleri en yüksek viskozite puanlarını E ve B örneklerine vermişlerdir.

#### 4.3.4. Dondurmaların pürüzsüzlük puanları

Dondurma örneklerinin dille üst damağa yayılması suretiyle pürüzsüzlük derecesi değerlendirilir. Pürüzsüz olmayan dondurma kaba ve kumlu bir his bırakırken, oldukça pürüzsüz bir dondurma yumuşak ve homojen bir şekilde ağızda yayılarak kumlu ve kaba bir his oluşturmaz. Şekil 4.13.'te dondurmaların pürüzsüzlük parametresine ait puanlar verilmiştir.



Şekil 4.13. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların pürüzsüzlük puanları

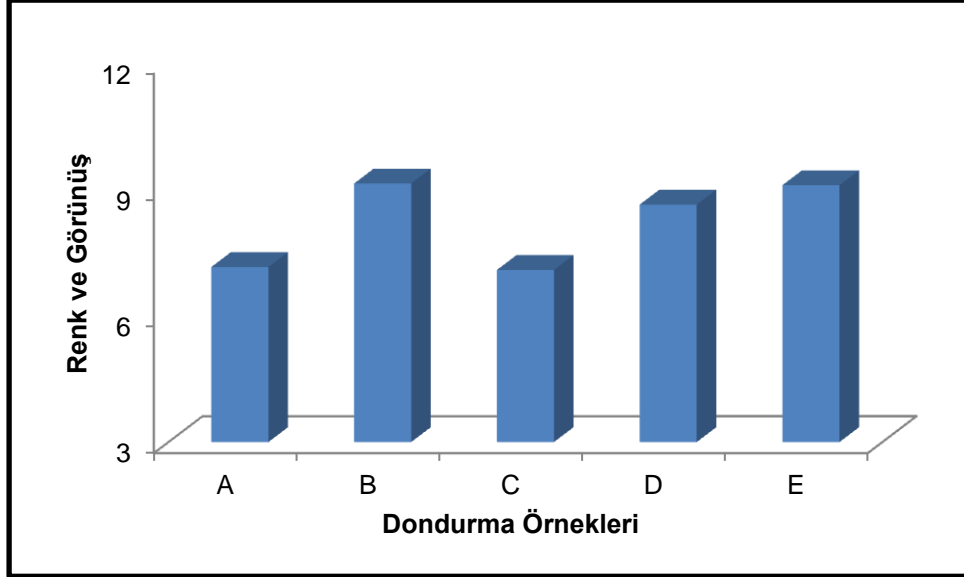
Çizelge 4.3 ve Şekil 4.13.'te görüldüğü gibi dondurmaların pürüzsüzlük puanları 3.84 ile 8.44 arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların pürüzsüzlük puanları üzerine etkisinin önemli olduğu belirlenmiştir ( $p<0.01$ ). Stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilen dondurmaların pürüzsüzlük puanları diğer örneklerden daha düşük olurken, MTG+stabilizör enzimi ilave edilen dondurmalar en yüksek pürüzsüzlük puanlarına sahip olmuştur. Bu durum stabilizörlerin ortamdaki ortamdaki suyu bağlamalarına ilaveten, MTG enziminin süt serum proteinleri ve yağ globüllerindeki proteinler ile oluşturduğu çapraz bağların daha yüksek kohezyon etkisi yaratarak dondurma içerisinde daha fazla havanın tutulmasına bağlanmaktadır (Metwally, 2007).

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi katım aşamasının dondurmaların pürüzsüzlük puanları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p<0.01$ ). Isıl işlem sonrası enzim ilave edilen dondurmaların pürüzsüzlük puanları diğer örneklerden daha yüksek olmuştur. MTG enzimi, ısıl işlem görmüş sütlerde serum proteinlerinin denatürasyonu sonucu, denatüre serum proteinleri ile kazeinler arasında çapraz bağların oluşumunu sağlamaktadır (O'Sullivan ve ark., 2001, 2002). Bunun sonucunda da dondurma matriksi içinde daha fazla havanın tutulabildiği ve dondurmaların daha pürüzsüz olduğu sonucuna varılmıştır.

Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyuşsal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, dondurmaların pürüzsüzlüklerinin istatistiksel olarak önemli ( $p<0.01$ ) değişime uğradığını belirtmişlerdir.

#### **4.3.5. Dondurmaların renk ve görünüş puanları**

Renk ve görünüş puanları, örneğin görünüşüyle ve rengiyle ilgili açık renkten koyu renge ve mattan parlağa doğru puan azalarak çok kötüye doğru değerlendirmeleri kapsamaktadır. Dondurmaların renk ve görünüş bakımından panel üyeleri tarafından aldıkları puanlar Çizelge 4.3 ve Şekil 4.14.'te verilmiştir.



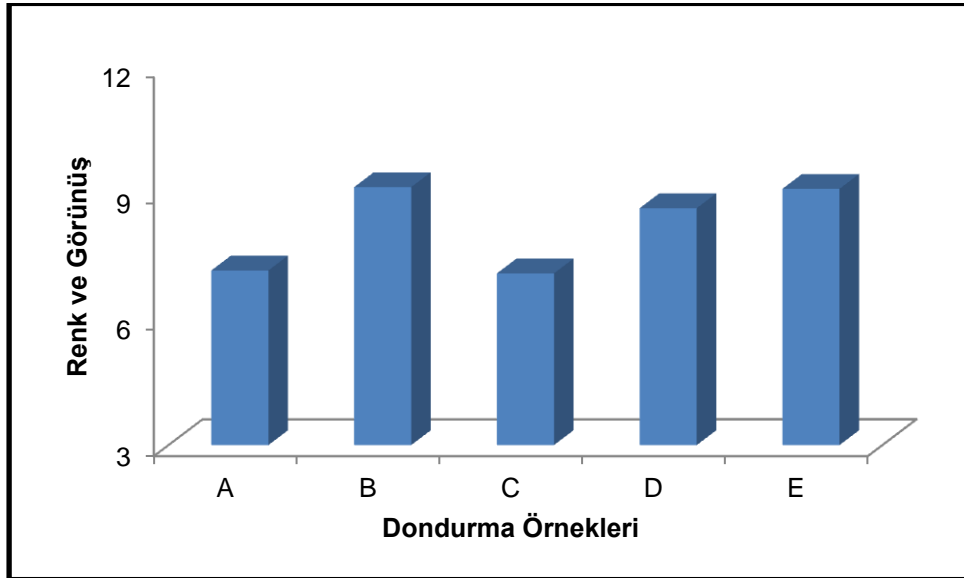
Şekil 4.14. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların renk ve görünüş puanları

Şekil 4.14.'ten izlenebileceği gibi dondurmaların renk ve görünüş puanları 7.08 ile 9.13 arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların renk ve görünüş puanları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p < 0.01$ ). En yüksek renk ve görünüş puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük renk ve görünüş puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Benzer şekilde ısıtma işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmaların renk ve görünüş puanlarının ısıtma işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarla göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu durum dondurmaların daha stabil ve pürüzsüz bir görünüme sahip olmasından kaynaklanmaktadır.

Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyu özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, dondurmaların renk puanlarını 6.94 ile 7.69 arasında bulmuşlar ve bu değişimde istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

#### 4.3.6. Dondurmaların ağız dolgunluğu puanları

Dondurma örneklerinin ağıza alınıp, dil ile damak arasında dairesel bir şekilde hareket ettirilip, yutulduktan sonra ağızda kalan film tabakanın yoğunluğu ağız dolgunluğu olarak ifade edilmektedir. Dondurmaların ağız dolgunluğu puanları Çizelge 4.3.'te verilmiştir.



Şekil 4.15. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların ağız dolgunluğu puanları

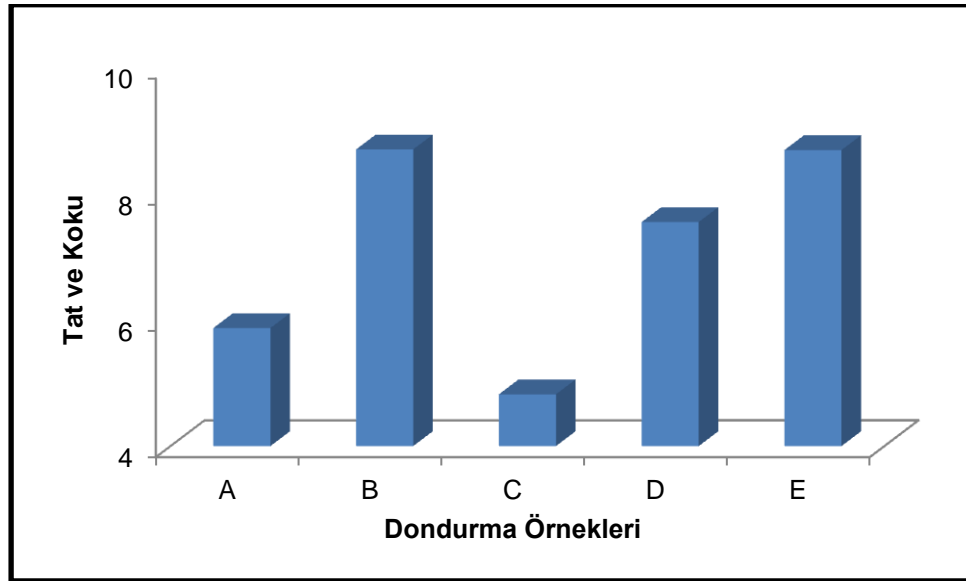
Şekil 4.15.'te görülebileceği gibi dondurmaların ağız dolgunluğu puanları 3.82 ile 8.29 arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların ağız dolgunluğu puanları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p<0.01$ ). Dondurmaların ağız dolgunluğu puanları viskozite ve pürüzsüzlük puanlarıyla benzerlik göstermiştir. En yüksek ağız dolgunluğu puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük ağız dolgunluğu puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Enzim ve stabilizör ilave edilen örneklerde stabilizörlerin ortamdaki ortamdaki suyu bağlamalarına ilaveten, MTG enziminin süt serum proteinleri ve yağ globüllerindeki proteinler ile oluşturduğu çapraz bağların daha yüksek kohezyon etkisi yaratarak dondurma içerisinde daha fazla havanın tutulması, yapının daha pürüzsüz olması ve

dondurmaların daha geç erimesi nedeniyle daha yüksek ağız dolgunluğu puanı aldıkları olduğu düşünülmektedir.

Benzer şekilde ısıtma işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmaların ağız dolgunluğu puanlarının ısıtma işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarla göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum da, ısıtma işlem sonrası MTG enzimi ilave edilen dondurmalarda viskozitenin daha yüksek olmasından ve daha fazla hava tutulmasıyla ilişkili olduğu kanısına varılmıştır.

#### 4.3.7. Dondurmaların tat ve koku puanları

Dondurmaların panel üyelerinden almış oldukları tat ve koku puanları Şekil 4.16.'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların tat ve koku puanları

Şekil 4.16.'dan izlenebileceği gibi dondurmaların tat ve koku puanları 4.82 ile 8.70 arasında değişmiştir. Yapılan istatistiksel değerlendirmeler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların tat ve koku puanları üzerine etkisi önemli ( $p < 0.01$ ) olmuştur (Çizelge 4.3). En yüksek tat ve koku puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük tat ve koku puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Enzim ve stabilizörün birlikte kullanılması

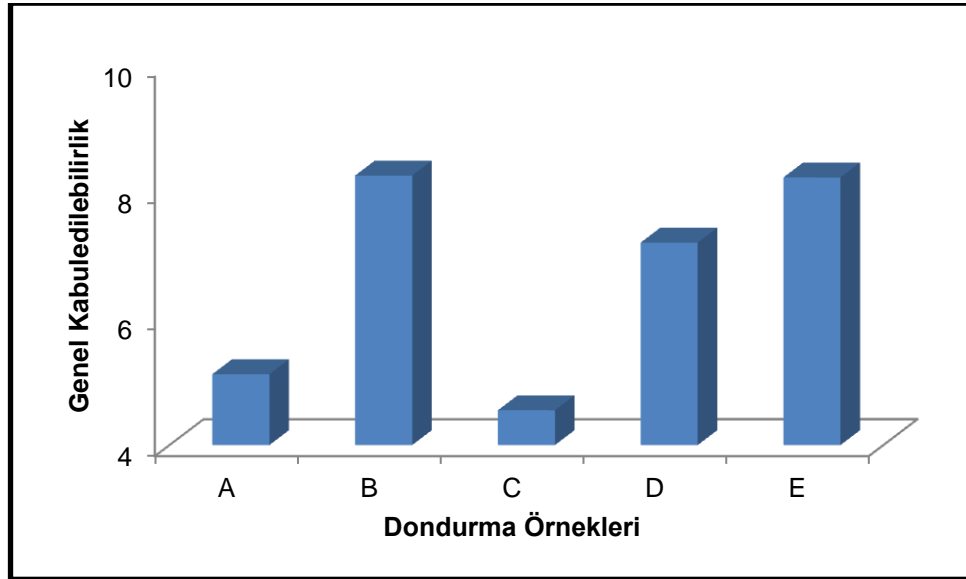


dondurmaların tat ve kokusunu olumlu yönde etkilemiştir. Metwally (2007), stabilizör ve transglutaminaz enzimi içeren dondurmaların kontrol örnekleriyle eşit tat ve koku puanlarına sahip olduğunu bildirmiştir. Diğer araştırmalarda MTG enziminin ürünün tat ve kokusunu etkilemeden fiziksel ve reolojik özelliklerini iyileştirdiği bildirilmektedir (Kırmacı, 2005).

Isıl işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmaların tat ve koku puanlarının ısı işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalara göre biraz daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.3.8. Dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları

Dondurmaların panel üyelerinden almış oldukları genel kabuledilebilirlik puanları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.17.'de verilmiştir.



Şekil 4.17. Farklı oranda MTG içeren dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları

Şekil 4.17.'de görülebileceği gibi dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları 4.55 ile 8.26 arasında değişmiştir. Yapılan istatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanları üzerine etkisi önemli olmuştur ( $p < 0.01$ ).

Dondurmaların tüm duyusal özelliklerinin değerlendirilmesine göre yapılan puanlamada en yüksek genel kabul edilebilirlik puanlarına kontrol ve MTG+stabilizör karışımı ilave edilerek üretilen dondurmaların sahip olduğu görülmüştür. En düşük puanları ise stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilerek üretilen dondurmalar almıştır. Dondurmaların duyusal değerlendirmesi, MTG enziminin tek başına stabilizör olarak kullanılmasının uygun olmadığını gösterirken, stabilizör ile karıştırılarak dondurma üretiminde kullanıldığında dondurmaların tüm duyusal niteliklerini geliştirdiğini göstermiştir. Hatta bazı özelliklerinin kontrol örneğinden bile daha iyi olduğu belirlenmiştir. Bu durumda MTG+stabilizör karışımı ile üretilen dondurmaların en yüksek genel kabuledilebilirlik puanlarını alması da beklenen bir sonuçtur.

Yapılan duyusal değerlendirmeler MTG enziminin ısı işleminden sonra ilave edilmesiyle dondurmaların daha yüksek bir genel kabuledilebilirliğe sahip olacağını göstermektedir. Örneklerin fiziksel analiz sonuçları da bu bulguları desteklemektedir.

Şimşek ve ark. (2006), farklı stabilizatör kullanımının dondurma kalitesine etkisi üzerindeki çalışmalarında, genel kabuledilebilirlik puanlarındaki değişimin istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.01$ ) olduğunu bildirmişlerdir.

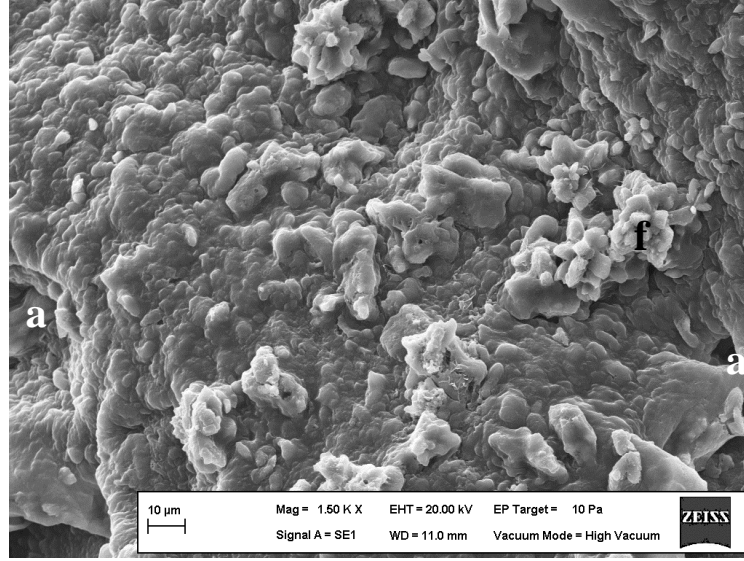
Atsan ve Çağlar (2008), farklı stabilizatör kullanımının dondurmanın bazı fiziksel ve duyusal özelliklerine etkisi üzerine yaptıkları çalışmalarında, dondurmaların genel kabuledilebilirlik puanlarındaki farklılığın istatistiksel olarak önemli ( $p < 0.01$ ) olduğunu belirtmişlerdir.

#### 4.4. Dondurmaların Mikrostrüktürel Özellikleri

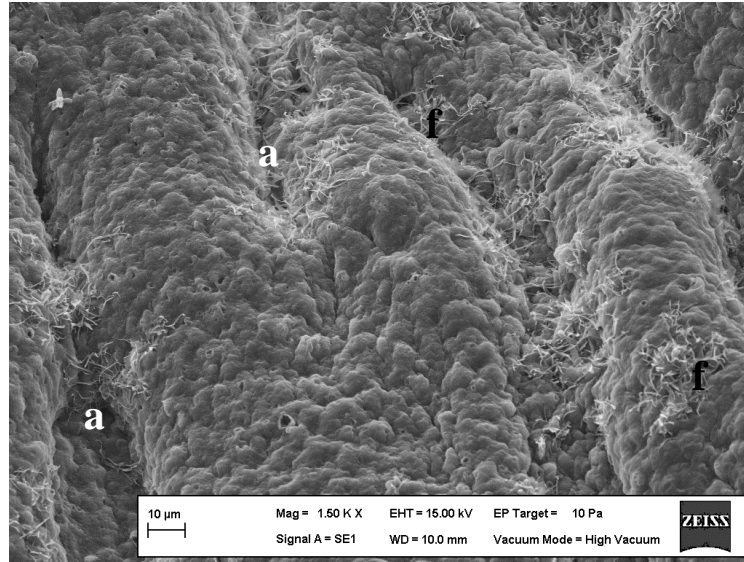
Dondurma örneklerinin mikrostrüktürleri Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22.'de verilmiştir.

Kontrol örneğinde hava kabarcıklarının daha fazla ve daha büyük olduğu, proteinler arası çapraz bağlanma olmadığı için yapının daha boşluklu olduğu görülmektedir (Şekil 4.22). Buna karşılık MTG enzimi katkılı örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde enzimin katalize ettiği protein-protein çapraz bağlanmasıyla oluşan protein kümelerinin bir araya geldiği ve böylece sıkı bir mikrostrüktür elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.18-21). MTG+stabilizör içeren örneklerde hava kabarcıklarının kontrol örneklerine göre daha az olduğu da görülmektedir (Şekil 4.19 ve 4.21). Yalnızca MTG içeren örneklerde ise daha sıkı bir yapının oluştuğu ve hava boşluklarının çok daha az olduğu görülmektedir (Şekil 4.18 ve 4.20). Dondurmaların hacim artışı değerleri de bu bulgularla paralellik göstermektedir. Stabilizör içeren dondurmalar yapıda daha fazla havanın tutulmasını sağlamış ve bu örneklerin hacim artışı da daha yüksek bulunmuştur. Yalnızca MTG içeren örneklerde örneklerde daha az hava tutulmasına bağlı olarak hacim artışı da düşük olmuştur.

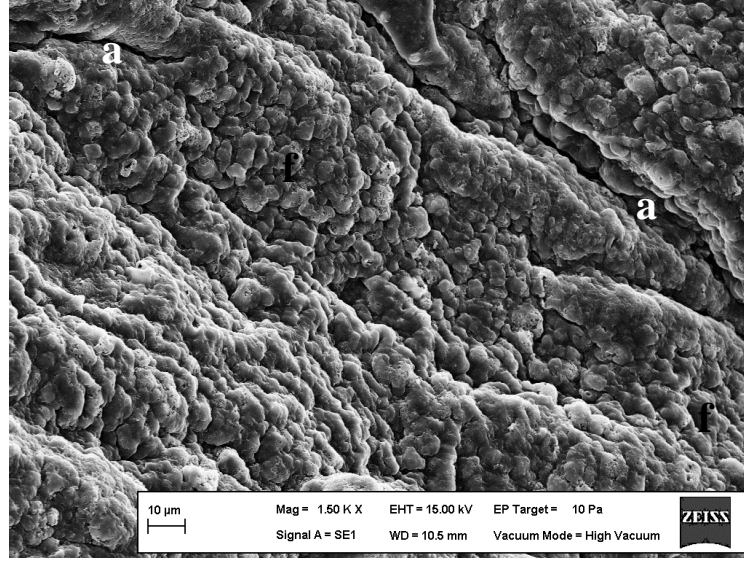
Isıl işlem sonrası enzim uygulanmış örneklerde proteinler arasındaki çapraz bağlanmanın daha iyi olması sonucu, bu örneklerdeki yapının ısıl işlem öncesi enzim uygulanan örneklerden daha sıkı olduğu görülmektedir (Şekil 4.18-21).



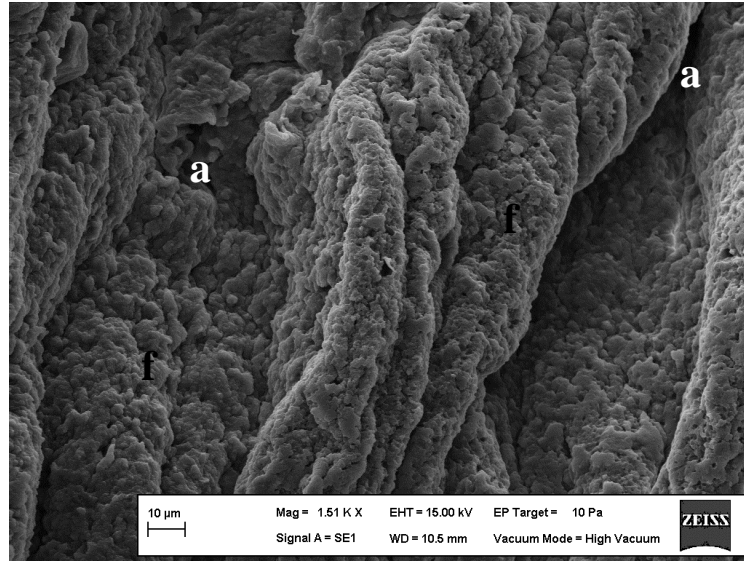
Şekil 4.18. Isıl işlem sonrası (1 unit/g protein MTG ilave edilmiş) örneğin (A) mikrostrüktürü  
(a: hava kabarcıkları, f: kümeleşmiş yağ partikülleri)



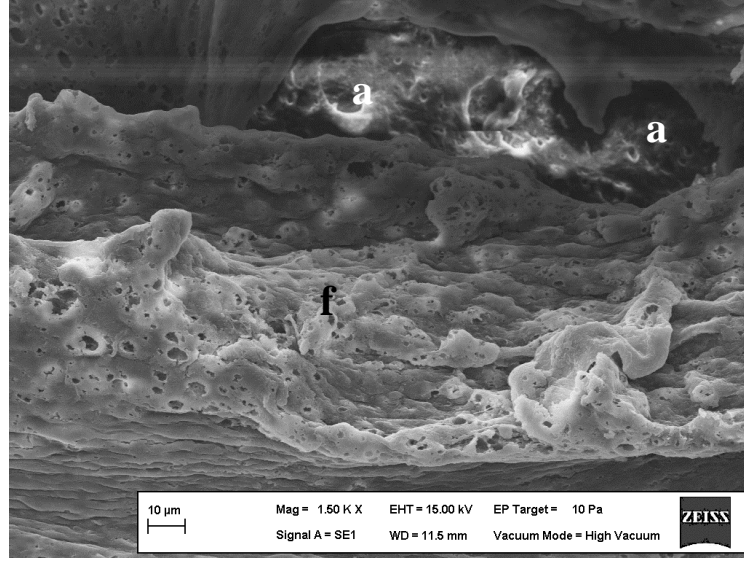
Şekil 4.19. Isıl işlem sonrası (0.5 unit/g protein MTG ve stabilizör ilave edilmiş) örneğin (B) mikrostrüktürü  
(a: hava kabarcıkları, f: kümeleşmiş yağ partikülleri)



Şekil 4.20. Isıl işlem öncesi (1 unit/g protein MTG ilave edilmiş) örneğin (C) mikrostrüktürü  
(a: hava kabarcıkları, f: kümeleşmiş yağ partikülleri)



Şekil 4.21. Isıl işlem öncesi (0.5 unit/g protein MTG ve stabilizör ilave edilmiş) örneğin (D) mikrostrüktürü  
(a: hava kabarcıkları, f: kümeleşmiş yağ partikülleri)



Şekil 4.22. Kontrol (MTG ilave edilmemiş) örneğinin (E) mikrostrüktürü  
(a: hava kabarcıkları, f. kümeleşmiş yağ partikülleri)

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada dondurma üretiminde stabilizör miktarını azaltabilmek için mikrobiyal transglutaminaz (MTG) enziminden yararlanılması amaçlanmıştır. Çalışmada aynı zamanda MTG enziminin üretimin hangi aşamasında mikse ilave edilmesinin uygun olacağı da araştırılmıştır. Bu amaçla MTG enzimi mikslere ısıtma işlem öncesinde ve ısıtma işlem sonrasında olmak üzere farklı aşamalarda ilave edilmiş ve yalnızca stabilizör ilavesi ile (kontrol 1), yalnızca MTG ilavesiyle (kontrol 2) ve azaltılmış oranda (kontrollere göre yarı yarıya azaltılmış oranda) MTG+stabilizör ilavesi ile dondurmalar üretilmiştir. Üretilen dondurmaların kimyasal, fiziksel, mikrostrüktürel ve duyu özellikleri belirlenmiştir.

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların pH, titrasyon asitliği, protein ve yağ değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur.

Dondurmaların kurumadde değerleri üzerine enzim ilavesinin ve oranının etkisi önemli ( $p<0.01$ ) bulunurken MTG enziminin katım aşamasının etkisi ise önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur. Kurumadde değerlerinde artan stabilizör oranına paralel olarak bir artış gözlenmiştir.

Araştırmada üretilen dondurmaların viskozite değerleri 573.5 ve 5840 cP arasında değişmiştir. İstatistiksel analizler sonucunda mikrobiyal transglutaminaz oranının ve katım aşamasının viskozite değerleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). En yüksek viskozite değerine ise kontrol örneği sahip olurken, bunu MTG+stabilizör ilave edilen örnekler izlemiştir.

Dondurmalarda saptanan hacim artış oranları %21.95 ile %32.88 arasında değişmiştir. Mikrobiyal transglutaminaz enzim oranının ve katım aşamasının, dondurmaların hacim artışı üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). En düşük hacim artışına stabilizör yerine MTG ilave edilen örnekler sahip

olurken, en yüksek hacim artışı değerine MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar sahip olmuştur. MTG enziminin stabilizörle birlikte kullanılması hacim artışı değerleri üzerinde olumlu bir etki oluşturmuştur.

Üretilen dondurmaların ilk damlama süreleri 715.50 sn ile 1129.5 sn arasında değişmiştir. İstatistiksel olarak mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların ilk damlama süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). İlk damlama süresi en uzun olan dondurmaların MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar olduğu görülmüştür. MTG enziminin katım aşamasının da dondurmaların ilk damlama süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Isıl işlem sonrası enzimle muamele edilen dondurmalarda serum proteinlerinin denatürasyonuna ve kazein miselleri ile etkileşime girmelerine bağlı olarak dondurmalarda daha stabil bir yapı oluşmuş ve bunun sonucunda ilk damlama sürelerinin diğer dondurmalarından daha uzun olduğu tespit edilmiştir.

Araştırmada üretilen dondurmaların tamamen erime süreleri 2126.0 sn ile 3413.5 sn arasında değişmiştir. İstatistiksel olarak mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların tamamen erime süreleri üzerine etkisi önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ). Kontrol ile karşılaştırıldığında erimeye karşı en dirençli dondurmaların MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar olduğu görülmüştür. Bu sonuç, süt proteinlerinin MTG ile muamelesi sonucunda polimerleşmesine bağlanabilir. Stabilizör olarak yalnızca MTG içeren dondurmalarda proteinlerin enzimle polimerleşmesi dondurmaların stabilitesinde yeterli olmamış ve bu örnekler en hızlı eriyen dondurmalar olmuştur. Mikrobiyal transglutaminaz enzimi katım aşamasının dondurmaların tamamen erime süreleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Bu çalışmada elde edilen dondurmaların tüm duyuşsal özellikleri üzerine (soğukluk şiddeti, sıklık, viskozite, pürüzsüzlük, renk ve görünüş, ağız dolgunluğu, tat ve koku, genel kabul edilebilirlik) mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin, enzim oranının ve katım aşamasının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).



Dondurmaların soğukluk şiddeti puanları 5.07 ile 7.60 arasında değişmiştir. Dondurmalar ağızda erirken yapıda bulunan büyük buz kristalleri soğukluk hissi verirler. Stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilen dondurmalarda suyu bağlayıcı maddeler olmadığı için daha büyük buz kristallerinin oluştuğu tahmin edilmektedir. Yapılan duyuşal değerlendirmelerde bu örneklerin daha yüksek soğukluk şiddeti puanına sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca ısıtım işlem sonrasında enzim katılan örneklerde soğukluk şiddeti puanları daha düşük olmuştur.

Dondurmaların sıklık puanları 3.89 ile 8.14 arasında değişmiştir. Duyusal değerlendirmede en yüksek sıklık puanlarını kontrol grubu almış, bunu çok yakın puanlarla ısıtım sonrası MTG+stabilizör ilavesi ile hazırlanan dondurmalar izlemiştir.

Dondurmaların viskozite puanları 4.55 ile 8.57 arasında değişmiştir. Dondurmaların duyuşal viskozitesi örneğin kişinin ağızındaki erime durumuyla ilgilidir. Duyusal değerlendirmede en yüksek viskozite puanlarını kontrol grubu almış, bunu MTG+stabilizör ilavesi ile hazırlanan dondurmalar izlemiştir. Ayrıca ısıtım sonrası enzim ilave edilen dondurmaların viskozite değerlerinin diğer örneklerden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Duyusal değerlendirmede panel üyelerinin dondurma örneklerine vermiş oldukları viskozite puanları, dondurmaların viskozimetre ile yapılan ölçümlerde edilen değerlerle uyum içinde olmuştur.

Dondurma örneklerinin pürüzsüzlük puanları 3.84 ile 8.44 arasında değişmiştir. Stabilizör olarak yalnızca MTG ilave edilen dondurmaların pürüzsüzlük puanları diğer örneklerden daha düşük olurken, ısıtım sonrası MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar en yüksek pürüzsüzlük puanlarına sahip olmuştur.

Dondurmaların renk ve görünüş puanları 7.08 ile 9.13 arasında değişmiştir. En yüksek renk ve görünüş puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük renk ve görünüş puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Benzer şekilde ısıtım işlem

sonrası MTG ilave edilen dondurmaların renk ve görünüş puanlarının ısıtma işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarla göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada üretilen dondurmaların ağız dolgunluğu puanları 3.82 ile 8.29 arasında değişmiştir. En yüksek ağız dolgunluğu puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük ağız dolgunluğu puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Ayrıca ısıtma işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmaların ağız dolgunluğu puanlarının ısıtma işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarla göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

Dondurmaların tat ve koku puanları 4.82 ile 8.70 arasında değişmiştir. En yüksek tat ve koku puanlarını MTG+stabilizör ilave edilerek üretilen dondurmalar alırken, en düşük tat ve koku puanlarını da stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır. Enzim ve stabilizörün birlikte kullanılması dondurmaların tat ve kokusunu olumlu yönde etkilemiştir. Benzer olarak ısıtma işlem sonrası MTG ilave edilen dondurmaların tat ve koku puanlarının ısıtma işlem öncesi enzimle muamele edilen dondurmalarla göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Dondurma örneklerinin genel kabul edilebilirlik puanları 4.55 ile 8.26 arasında değişmiştir. Dondurmaların tüm duyu özelliklerinin değerlendirilmesine göre yapılan puanlamada en yüksek genel kabul edilebilirlik puanlarına MTG+stabilizör karışımı ilave edilerek üretilen dondurmaların sahip olduğu görülmüştür. Yapılan duyu değerlendirmeler MTG enziminin ısıtma işleminden sonra ilave edilmesiyle dondurmaların daha yüksek bir genel kabul edilebilirliğe sahip olacağını göstermiştir. Örneklerin fiziksel analiz sonuçları da bu bulguları desteklemektedir.

Örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde kontrol 1 örneğinde hava kabarcıklarının daha fazla ve daha büyük olduğu, proteinler arası çapraz bağlanma olmadığı için yapının daha boşluklu olduğu görülmektedir. Buna karşılık MTG enzimi katkılı örneklerde enzimin katalize ettiği protein-protein çapraz bağlanmasıyla oluşan protein kümelerinin bir araya geldiği ve böylece sıkı bir

mikrostrüktür elde edildiği görülmektedir. Isıl işlem sonrası enzim uygulanmış örneklerde proteinler arasındaki çapraz bağlanmanın daha iyi olması sonucu, bu örneklerdeki yapının ısıl işlem öncesi enzim uygulanan örneklerden daha sıkı olduğu da belirlenmiştir.

Sonuç olarak, çalışmada elde edilen özellikle fiziksel ve duyuşal analiz sonuçları, mikrobiyal transglutaminaz enziminin tek başına dondurma üretiminde stabilizör olarak kullanılmasının uygun olmadığını gösterirken, mikrobiyal transglutaminaz enziminin diğer stabilizörlerle birlikte karışım halinde dondurma üretiminde rahatlıkla kullanılabileceğini ve dondurmaların duyuşal ve fiziksel özelliklerini önemli miktarda geliştirdiğini göstermiştir. Ayrıca dondurma üretiminde mikrobiyal transglutaminaz ilavesinin ısıl işlemden sonra yapılmasının dondurmaların fiziksel ve duyuşal özellikleri açısından daha uygun olacağını göstermiştir. Bununla birlikte mikrobiyal transglutaminaz enziminin dondurma üretiminde hangi oranlarda kullanılacağı yönündeki eksiklerin giderilmesi açısından bu yönde bazı çalışmaların yapılması da uygun olacaktır.

## KAYNAKLAR

- ABD EL-RAHMAN, A.M., MADKOR, S.A., IBRAHİM, F.S., and KILARA, A., 1997. Physical Characteristics of Frozen Desserts Made with Cream, Anhydrous Milk Fat, or Milk Fat Fractions. *Journal Dairy Science* 80:1926-1935.
- AİME, D.B., ARNTFIELD, S.D., MALCOMSON, L.J., and RAYLAND, D., 2001. Textural Analysis of Fat Reduced Vanilla Ice Cream Products. *Food Research International* 34:237-246.
- AKALIN, S., ve KARAGÖZLÜ, C., 2008. Dondurma Teknolojisi (Ders Notları). Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları 73 s. İzmir.
- AKIN, M.S., 1990. İnek, Keçi ve Koyun Sütlerinden Üretilen Dondurmaların Kimyasal, Fiziksel ve Duyusal Bazı Özelliklerinin Saptanması Üzerine Karşılaştırmalı Araştırma. Ç. Ü. Fen Bilimleri. Yüksek Lisans Tezi, Adana. 92 s.
- ANDO, H., ADACHI, M., UMEDA, K., MATSUURA, A., NONAKA, M., UCHIO, R., TANAKA, H., and MOTOKI, M., 1989. Purification and Characteristics of a Novel Transglutaminase Derived from Microorganisms. *Agricultural and Biological Chemistry* 53, 2613-2617.
- ANONİM, 1992. Dondurma-Süt Esaslı, TS 4265, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.
- ANONİM, 1994. TS-1018 Çiğ İnek Sütü Standardı. Türk Standartları Enstitüsü, Ankara, Türkiye, 13 s.
- ANONİM, 2005. [http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2005\\_45.html](http://www.kkgm.gov.tr/TGK/Tebliğ/2005_45.html) Türk Gıda Kodeksi, Dondurma Tebliği.
- ANTEPÜZÜMÜ, F., 2005. Bal Ve Glikoz Şurubu Kullanımının Kahramanmaraş Tipi Dondurmaların Kalitesi Üzerine Etkileri. Çukurova Üniv. Fen Bilimleri. Yüksek Lisans Tezi, Adana 50 s.
- AOAC, 2003. AOAC (Association of Official Analytical Chemists). Qualitative tests for protein: Dumas method (7.017). In: *Official Methods of Analysis*. Washington, DC, USA.
- ARBUCKLE, W.S., 1986. *Ice Cream*, Fourth Edition. Chapman & Hall, New York.
- ATSAN, E., ve ÇAĞLAR, A., 2008. Farklı Stabilizör Kullanımının Dondurmanın Bazı Fiziksel ve Duyusal Özellikleri Üzerine Etkisi. *Atatürk Üniv. Ziraat Fa. Der.* 39(2), 195-200.
- BEK, Y., ve EFE, E., 1995. Araştırma ve Deneme Metotları. Ç.Ü. Ziraat Fakültesi. Ders Notları No:71, Adana.
- BOLLİGER, S., WILDMOSER, H., GOFF, H.D., and THARP, B.W., 2000. Relationships Between Ice Cream Mix Viscosity and Ice Crystal Growth in Ice Cream, *Int. Dairy J.*, 10, 791-797.
- BODYFELT, M.S., TOBIAS, J., and TROUT, G.M., 1988. The Sensory Evaluation of Dairy Products. Van Nostrand Reinhold, 115 Avenue NY. 598p.
- COŞKUN, F., 2005. Tekirdağ İlinde Satılan Sade ve Çilekli Dondurmalarda Fekal Kontaminasyonun Belirlenmesi. *Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi*, (2) 2 135-142.
- COTTRELL, J.I.L., PASS, G., and PHILLIPS, G.O., 1980. The Effect of Stabilizers on the Viscosity of an Ice Cream Mix. *J. Food Sci. Agric.*, 31, 1066-1070.

- DE JONG, G.A.H., and KOPPELMAN, S.J., 2002. Transglutaminase Catalyzed Reactions: Impact on Applications. *Journal of Food Science*, 67(8):2798-2806.
- DEMİRÇİ, M., ve ŞİMŞEK, O., 1997. Süt İşleme Teknolojisi. HASAD Yayıncılık Ltd. Şti. Rebel Ofset, İstanbul, 246 s.
- DERVİSOĞLU, M., YAZICI, F., and AYDEMİR, O., 2005. The Effect of Soy Protein Concentrate Addition on the Physical, Chemical, and Sensory Properties of Strawberry Flavored Ice Cream. *European Food Research and Technology*, 221, 446-470.
- FAEGERMAND, M., MURRAY, B.S., and DICKINSON, E., 1997. Cross-Linking of Milk Proteins with Transglutaminase at the Oil-Water Interface, *J. Agric. Food Chem.*, 45, 2514-2519.
- FAERGERMAND, M., OTTE, J., and QVIST, K.B., 1998. Emulsifying Properties of Milk Proteins Cross-Linked with Microbial Transglutaminase. *International Dairy Journal* 8, 715–723.
- FAEGERMAND, M., MURRAY, B.S., DICKINSON, E., and QVIST, K.B., 1999. Transglutaminase: Effect on Instrumental and Sensory Texture of Set Style Yoghurt, *Milchwissenschaft*, 54, 563-566.
- FLANAGAN, J., GUNNIG, Y., and FITZGERALD, R.J., 2003. Effect of Cross-Linking with Transglutaminase on the Heat Stability and Some Functional Characteristics of Sodium Caseinate, *Food Research Int.*, 267-274.
- FOX, P.F., and MC SWEENEY, P.L.H., 1998. *Dairy Chemistry and Biochemistry*, Chapman and Hall, London, UK, 478 p.
- GÜDER, Z.D., 2010. Süt Proteinlerinin Transglutaminaz ile Çapraz Bağlanması Maillard Tepkimesi Üzerine Etkisi. *H. Ü. Fen Bilimleri. Yüksek Lisans Tezi*, Ankara. 75 s.
- GÜVEN, M., KARACA, O.B., ve KAÇAR, A., 2002. Keçiyoynuzu Sakızı ve Diğer Stabilizerlerle Kombine Kullanımının Kahramanmaraş Tipi Dondurmaların Fizikokimyasal ve Duyusal Nitelikleri Üzerine Etkileri. TÜBİTAK Proje No:TARP- 2532. Adana.
- GÜVEN, M., KARACA, O.B., and YAŞAR, K., 2010. Düşük Yağ Oranlı Kahramanmaraş Tipi Dondurma Üretiminde Farklı Emülgatörlerin Kullanımının Dondurmaların Özellikleri Üzerine Etkileri. *GIDA* 35 (2): 97-104.
- HAYAT, M.A., 1981. *Principle and Techniques of Electron Microscopy - Vol. 1*, Edward Arlond Lt., London, 522.
- IDF, 1982. Determination of the Total Solid Content (Cheese and Processed Cheese). IDF Standard 4A, Brussels: International Dairy Federation.
- IDF, 2000. Milk and Milk Products—Determination of Nitrogen Content: Routine Method by Combustion According to the Dumas Principle. Standard 185. Brussels: International Dairy Federation.
- IKURA, K., SAKURAI, H., OKUMURA, K., SASAKI, R., and CHIBA, H., 1985. One-Step Purification of Guinea Pig Liver Transglutaminase Using a Monoclonal Antibody Immunoabsorbent. *Agricultural and Biological Chemistry* 49, 3527–3531.
- JIANG, S.T., and LEE, J.J., 1992. Purification, Characterization and Utilization of Pig Plasma Factor XIIIa. *J Agri Food Chem* 40:1101-1107.

- JIMENEZ-FLOREZ, R., KLIPFEL N.J., and TOBIAS J., 1993. Ice Cream and Frozen Desserts. In: Hui H.Y. (ed), Dairy Science and Technology Handbook. 2. Product Manufacturing. New York: VCH Publishers.
- KALAB, M., ALLAN-WOJTAS, P., and MILLER, S.S., 1995. Trends in Food Science and Technology, 6, 177.
- KIRDAR, S., 2003. Burdur İlinde Satılan Dondurmaların Bazı Nitelikleri Üzerine Araştırmalar. Gıda 28 (2), 175-181.
- KIRMACI, H.A., 2005. Yağsız Yoğurtlarda Transglutaminaz Enzimi Kullanımının Yoğurdun Tekstürel Özellikleri Üzerine Etkileri. Harran Üniv. Fen Bilimleri. Yüksek Lisans Tezi, Şanlıurfa. 98 s.
- KURAIISHI, C., YAMAZAKI, K., and SUSA, Y., 2001. Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry, Food Reviews International, 17, 2, 221-246.
- KURT, Ş., ve ZORBA, Ö., 2004. Transglutaminaz ve Proteinlerin Modifikasyonunda Kullanımı. GIDA 29 (5) : 357-364.
- LIU, M., and DAMODARAN, S., 1999. Effect of Transglutaminase-Catalyzed Polymerization of  $\beta$ -casein on Its Emulsifying properties, J. Agric. Food Chem., 47, 1514-1519.
- LORENZEN, P.C., 2000a. Renneting Properties of Transglutaminase-Treated Milk, Milchwissenschaft, 55 (8), 433-437.
- LORENZEN, P.C., 2000b. Techno-Functional Properties of Transglutaminase-Treated Milk Proteins, Milchwissenschaft, 55, 12, 667-670.
- METWALLY, A.M.M.E., 2007. Effect of Enzymatic Cross-Linking of Milk Proteins on Properties of Ice Cream with Different Composition. International Journal of Food Science and Technology 42: 939-947.
- MOTOKI, M., and SEGURO, K., 1998. Transglutaminase and Its Use for Food Processing. Trends in Food Science & Technology, 9, 204-210.
- MOTOKI, M., and KUMAZAWA, Y., 2000. Recent Research Trends in Transglutaminase Technology for Food Processing. Food Sci. Technol. Res. 6, 151-160.
- MUHR, A., and BLANSHARD, J.M.V., 1983. The Effect of Polysaccharide Stabilizers on Ice Crystal Formation in Gums and Stabilizers for the Food Industry. H. D. Goff, Colloidal Aspects of Ice Cream-A Review. Int. Dairy Journal 7 (1997) 363-373.
- NEVE, H., LORENZEN, P.C., MAUTNER, A., SCHLIMME, E., and HELLER, K. J., 2001. Effect of Transglutaminase Treatment on the Production of Set Skim Milk Yoghurt: Microbial Aspects. Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte, 53 (4): 347-361.
- NIO, N., MOTOKI, M., and TAKINAMI, K., 1986. Gelation Mechanism of Protein Emulsion by Transglutaminase, Agric. Biol. Chem., 50, 1409-1412.
- NONAKA, M., SAKAMOTO, H., TOIGUCHI, S., KAWAJIRI, H., SOEDA, T., and MOTOKI, M., 1992. Sodium Caseinate and Skim Milk Gels Formed by Incubation with Microbial Transglutaminase, J. Food Sci., 57, 1214-1241.
- OHTSUKA, T., UMEZAWA, Y., NIO, N., and KUBOTA, K., 2001. Comparison of Deamidation Activity of Transglutaminases. Journal of Food Science 66, 25-29.
- O'SULLIVAN, M.M., LORENZEN, P.C., O'CONNELL, J.E., KELLY, A.L., SCHLIMME, E., and FOX, P.F., 2001. Short Communication: Influence of

- transglutaminase on the Heat Stability of Milk, *Journal of Dairy Science*, 84, 1331-1334.
- O'SULLIVAN, M.M., KELLY, A.L., and FOX, P.F., 2002. Effect of Transglutaminase on the Heat Stability of Milk: a Possible Mechanism, *Journal of Dairy Science*, 85, 1-7.
- OYSUN, G., 1996. Süt Ürünlerinde Analiz Yöntemleri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 504. Ofset Basımevi. Genişletilmiş II. Baskı, İzmir.
- OZER, B., KIRMACI, A., OZTEKİN, S., HAYALOĞLU, A., and ATAMER M., 2007. Incorporation of Microbial Transglutaminase into Non-Fat Yoghurt Production, *International Dairy Journal*, 17, 199-207.
- ÖZCAN, T., ve KURDAL, E., 1997. Bursa İli Merkezinde Satılan Meyveli Dondurmaların Kimyasal ve Mikrobiyolojik Nitelikleri Üzerine Araştırma. *Gıda* 22 (3), 217-225.
- PRINDIVILLE, E.A., MARSHALL, R.T. and HEYMANN, H., 1999. Effect of Milk Fat on the Sensory Properties of Chocolate Ice Cream. *Journal Dairy Science* 82:1425-1432.
- RASMUSSEN, L.K., JOHNSEN, L.B., TSIORA, A., SORENSEN, E.S., THOMSEN, J.K., and NIELSEN, N.C., 1999. Disulphide-Linked Caseins and Casein Micelles. *International Dairy Journal*, 9, 215–218.
- ROSSA, N.R., SÁ, E.M.F., BURIN, V.M., and BORDIGNON-LUIZ, M.T., 2011. Optimization of Microbial Transglutaminase Activity in Ice Cream Using Response Surface Methodology. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 29-34.
- ROSSA, N.R., BURIN, V.M., and BORDIGNON-LUIZ, M.T., 2012. Effect of Microbial Transglutaminase on Functional and Rheological Properties of Ice Cream with Different Fat Contents. *LWT – Food Science and Technology*, 48, 224-230.
- SCHORSCH, C., CARRIE, H., and NORTON, I.T., 2000. Cross-Linking Casein Micelles by a Microbial Transglutaminase: Influence of Crosslinks in Acid-Induced Gelation, *International Dairy Journal*, 10, 529-539.
- SEGURO, K., KUMAZAWA, Y., OHTSUKA, T., TOIGUCHI, S., and MOTOKI, M., 1995. Microbial Transglutaminase and  $\epsilon$ -( $\gamma$ -Glutamyl)Lysine Crosslink Effects on Elastic Properties of Kamaboko Gel, *J. Food Sci.*, 60, 305-311.
- SHARMA, R., LORENZEN, P.C., and QVIST, K.B., 2001. Influence of Transglutaminase Treatment of Skim Milk on the Formation of  $\epsilon$ -( $\gamma$ -glutamyl)lysine and the Susceptibility of Individual Proteins Towards Crosslinking, *International Dairy Journal*, 11, 785-793.
- SHARMA, R., ZAKORA, M., and QVIST, K.B., 2002. Susceptibility of an Industrial  $\alpha$ -Lactalbumin Concentrate to Crosslinking by Microbial Transglutaminase, *International Dairy Journal*, 12, 1005-1012.
- SHIMBA, N., YOKOYAMA, K., and SUZUKI, E., 2002. NMR-Based Screening Method for Transglutaminases: Rapid Analysis of Their Substrate Specificities and Reaction Rates. *Journal of Agricultural Food Chemistry* 50, 1330–1334.
- SINGH, H., and FOX, P.F., 1987. Heat Stability of Milk: Influence of Modifying Sulphydryl-Disulfide Interactions on the Heat Coagulation Time-pH Profile, *Journal of Dairy Research*, 54, 347-359.

- ŞİMŞEK, O., TUNCAY, İ., ve BİLGİN, B., 2006. Endüstriyel Dondurma Üretiminde Farklı Stabilizatör Kullanımının Dondurma Kalitesine Etkisi. Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi, 2006 3 (1).
- TANIMOTO, S., and KINSELLA, J., 1988. Enzymatic Modifications of Proteins: Effects of Transglutaminase Cross-Linking on Some Physical Properties of  $\beta$ -lactoglobulin, J. Agric. Food Chem., 36, 281-285.
- TEKİNŞEN, O.C., 1993. Dondurma Üretim Teknolojisi. Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya, Türkiye, 119 s.
- TOLKACH, A., and KULOZİK, U., 2005. Fractionation of Whey Proteins and Caseinomacropetide by means of Enzymatic Crosslinking and Membrane Separation Techniques, Journal of Food Engineering, 67, 13-20.
- YOKOYAMA, K., NIO, N., and KIKUCHI, Y., 2004. Properties and Applications of Microbial Transglutaminase. Applied Microbiology and Biotechnology 64, 447-454.
- YÜKSEL, Z., 2007. Transglutaminazın Süt Proteinlerinin Bazı İşlevsel Özelliklerinin Değişimi Üzerine Etkisi ve Yoğurt ve Peynir Uygunabilirliği. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Entitüsü, Ankara, 121s.
- YÜKSEL, Z., ve ERDEM, Y.K., 2008. Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları: 2.Enzimin Gıda Süreçlerinde Kullanım Olanakları. GIDA 33 (3):143-149.
- ZHU, Y., RINZEMA, A., TRAMPER, J., and BOL, J., 1995. Microbial Transglutaminase-A Review of Its Production and Application in Food Processing, Appl. Microbiol Biotechnol., 44, 277-282.



## **ÖZGEÇMİŞ**

1990 yılında Şanlıurfa'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Şanlıurfa'da tamamladı. 2006 yılında Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği bölümüne girdi. 2010 yılında bölüm ve fakülte birincisi olarak mezun oldu. Aynı yıl Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı.

## ÖZET

Bu çalışmada dondurma üretiminde stabilizör miktarını azaltabilmek için mikrobiyal transglutaminaz (MTG) enziminden yararlanılması amaçlanmıştır. Çalışmada aynı zamanda MTG enziminin üretimin hangi aşamasında mikse ilave edilmesinin uygun olacağı da araştırılmıştır. Bu amaçla MTG enzimi mikslere ısıtılma işlemi öncesinde ve ısıtılma işlemi sonrasında olmak üzere farklı aşamalarda ilave edilmiş ve yalnızca stabilizör ilavesi ile (kontrol 1), yalnızca MTG ilavesi (kontrol 2) ile ve azaltılmış oranda (kontrollere göre yarı yarıya azaltılmış oranda) MTG+stabilizör ilavesi ile dondurmalar üretilmiştir. Üretilen dondurmaların kimyasal, fiziksel, mikrostrüktürel ve duyuşsal özellikleri belirlenmiştir.

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin ve katım aşamasının dondurmaların pH, titrasyon asitliği, protein ve yağ değerleri üzerine etkisi istatistiksel olarak önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur.

Dondurmaların kurumadde değerleri üzerine enzim ilavesinin ve oranının etkisi önemli ( $p<0.01$ ) bulunurken MTG enziminin katım aşamasının etkisi ise önemsiz ( $p>0.05$ ) bulunmuştur. Kurumadde değerlerinde artan stabilizör oranına paralel olarak bir artış gözlenmiştir.

Bu çalışmada elde edilen dondurmaların tüm fiziksel özellikleri (viskozite, hacim artışı, ilk damlama süresi ve tamamen erime süresi) üzerine mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin, enzim oranının ve katım aşamasının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Araştırmada üretilen dondurmaların viskozite değerleri 573.5 ve 5840 cP arasında değişmiştir. En yüksek viskozite değerine ise kontrol örneği sahip olurken, bunu ısıtılma işlemi sonrası MTG+stabilizör ilave edilen örnekler izlemiştir. en düşük viskozite değerlerini stabilizör olarak yalnızca MTG enzimi ilave edilen dondurmalar almıştır.

Dondurmalarda saptanan hacim artış oranları %21.95 ile %32.88 arasında, ilk damlama süreleri 715.50 sn ile 1129.5 sn arasında, tamamen erime süreleri 2126.0 sn ile 3413.5 sn arasında değişmiştir. En yüksek hacim artışı, ilk damlama ve tamamen erime süresi değerlerini ısıtma işlem sonrası MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar alırken, en düşük değerleri ise ısıtma işlem öncesi MTG ilave edilen dondurma örnekleri almıştır.

Bu çalışmada elde edilen dondurmaların tüm duyusal özellikleri üzerine (soğukluk şiddeti, sıklık, viskozite, pürüzsüzlük, renk ve görünüş, ağız dolgunluğu, tat ve koku, genel kabul edilebilirlik) mikrobiyal transglutaminaz enzimi ilavesinin, enzim oranının ve katım aşamasının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.01$ ).

Dondurmaların soğukluk şiddeti puanları 5.07 ile 7.60 arasında değişmiştir. Dondurmalar ağızda erirken yapıda bulunan büyük buz kristalleri soğukluk hissi verirler. En yüksek soğukluk şiddeti puanlarını ısıtma işlem öncesi MTG ilave edilen dondurma örnekleri alırken, en düşük puanları ise kontrol örnekleri almıştır.

Dondurmaların sıklık puanları 3.89 ile 8.14 arasında, viskozite puanları 4.55 ile 8.57 arasında, ağız dolgunluğu puanları 3.82 ile 8.29 arasında değişmiştir. En yüksek sıklık, viskozite ve ağız dolgunluğu puanlarını kontrol örnekleri alırken bunu çok yakın puanlarla ısıtma işlem sonrası MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar izlemiştir. En düşük puanları ise ısıtma işlem öncesi MTG ilave edilen dondurma örnekleri almıştır.

Dondurmaların pürüzsüzlük puanları 3.84 ile 8.44 arasında, renk ve görünüş puanları 7.08 ile 9.13 arasında, viskozite puanları 4.55 ile 8.57 arasında, tat ve koku puanları 4.82 ile 8.70 arasında ve genel kabul edilebilirlik puanları 4.55 ile 8.26 arasında değişmiştir. En yüksek pürüzsüzlük, renk ve görünüş, tat ve koku ve genel kabul edilebilirlik puanlarını ısıtma işlem sonrası MTG+stabilizör ilave edilen dondurmalar alırken, en düşük puanları ise ısıtma işlem öncesi MTG ilave edilen dondurma örnekleri almıştır.

Örneklerin SEM görüntüleri incelendiğinde kontrol 1 örneğinde hava kabarcıklarının daha fazla ve daha büyük olduğu, proteinler arası çapraz bağlanma olmadığı için yapının daha boşluklu olduğu görülmektedir. Buna karşılık MTG enzimi katkılı örneklerde enzimin katalize ettiği protein-protein çapraz bağlanmasıyla oluşan protein kümelerinin bir araya geldiği ve böylece sıkı bir mikrostrüktür elde edildiği görülmektedir. Isıl işlem sonrası enzim uygulanmış örneklerde proteinler arasındaki çapraz bağlanmanın daha iyi olması sonucu, bu örneklerdeki yapının ısıl işlem öncesi enzim uygulanan örneklerden daha sıkı olduğu da belirlenmiştir.

## SUMMARY

In this study, it was aimed to use microbial trans glutaminase (MTG) enzyme to reduce stabilizer in ice cream production. In addition, which production step is suitable for addition of MTG enzyme to mix, was researched. For this purpose, MTG enzyme was added to mixes before and after heat treatment and different ice creams were produced which contain only stabilizer (control 1), only MTG enzyme (control 2) and reduced stabilizer+MTG enzyme (half of stabilizer and MTG enzyme compare to controls). The chemical, physical, microstructural and sensory properties of experimental ice creams were determined.

The effects of addition amount and production step of MTG enzyme were insignificant ( $p>0.05$ ) on the pH, titratable acidity, protein and fat values of ice creams.

While the effects of addition amount of MTG were being significant ( $p<0.01$ ), the effects of addition of production step of MTG enzyme had been insignificant ( $p>0.05$ ) on the dry matter of ice creams. The more increased stabilizers, the more increased dry matter of ice creams.

Addition of MTG enzyme, amount of MTG and production step of MTG affected significantly ( $p<0.01$ ) all physical properties (viscosity, overrun, first dripping and melting times) of experimental ice creams, in this study.

Viscosity values of experimental ice creams were between 573.5 and 5840 cP. The control 1 had the highest viscosity value, and it was followed by the sample contains reduced stabilizer+MTG enzyme which treated with MTG enzyme after heat treatment. The control 2 sample, which contains only MTG enzyme, had lowest viscosity value.

The overrun, first drippind and melting times values of ice creams were between 21.95-32.88%, 715.50-1129.5 s and 2126.0-3413.5 s, respectively. While

the samples contain reduced stabilizer+MTG enzyme which treated with MTG enzyme after heat treatment were having the highest overrun, and the longest first dripping and melting times, the samples contain MTG enzyme, which treated MTG before heat treatment had the lowest overrun and the shortest first dripping and melting times.

The effect of addition of MTG enzyme, amount of MTG and production step of MTG were significant ( $p < 0.01$ ) on the all sensory properties (coldness, firmness, sensorial viscosity, smoothness, colour and appearance, mouth coating, taste and odour, general acceptability) of ice creams.

The coldness scores of ice creams were between 5.07-7.60. While samples contain MTG enzyme, which treated MTG before heat treatment were having the highest coldness score, the control 1 samples, contain only stabilizer, had the lowest coldness score.

The firmness, sensorial viscosity and mouth coating scores of ice creams were between 3.89-8.14, 4.55-8.57 and 3.82-8.29, respectively. The control 1 samples, contain only stabilizer, had the highest firmness, sensorial viscosity and mouth coating scores and followed by the samples contain reduced stabilizer+MTG enzyme which treated with MTG enzyme after heat treatment, which scores were very close to control 1. The samples contain only MTG, which treated MTG before heat treatment, had the lowest firmness, sensorial viscosity and mouth coating scores.

The smoothness, colour and appearance, taste and odour and general acceptability scores of ice creams were between 3.84-8.44, 7.08-9.13, 4.82-8.70 and 4.55-8.26, respectively. While the samples contain reduced stabilizer+MTG enzyme which treated with MTG enzyme after heat treatment, were having the highest smoothness, colour and appearance, taste and odour and general acceptability scores, the samples contain only MTG, which treated MTG before heat treatment, had the lowest smoothness, colour and appearance, taste and odour and general acceptability scores.

It was shown that control 1 sample had larger air bubbles than the other ice creams and the structure of that sample had more gaps because of there weren't any cross-linking between proteins at the SEM pictures. On contrary, the samples contain MTG enzyme had firmer microstructure than control 1 sample because of enzymatic cross-linking between protein-protein. It was determined that because of better cross-linking between proteins, the microstructures of ice cream, which were treated MTG enzyme after heat treatment, were firmer than the ice creams treated MTG enzyme before heat treatment.