

KONSANTRE YOĞURT JELİNİN OLUŞUMUNDA ETKİLİ FAKTÖRLER II. HİDROFOBİK VE İYONİK İNTERAKSİYONLARIN ROLÜ*

FACTORS EFFECTING THE FORMATION OF CONCENTRATED YOGURT GEL II. THE ROLE OF HYDROPHOBIC AND IONIC INTERACTIONS

Barbaros H. ÖZER

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, ŞANLIURFA

ÖZET: Bu çalışmada, hidrofobik ve iyonik etkileşimlerin koyulaştırılmış yoğurt jellerinin fiziksel özellikleri üzerindeki rolü araştırılmıştır. Konsantre yoğurt üretiminde, ultrafiltrasyon (UF), reverse osmosis (RO) ve direk rekonstitüsyon (DR) teknikleri kullanılmıştır. Yoğurtların fiziksel özellikleri bir dinamik reometre aracılığı ile ölçülmüştür. Reometrenin çalışma parametreleri $1,5 \times 10^{-2}$ - $1,5 \times 10^{-1}$ mNm ve frekansı 0.25 Hz olarak kalibre edilmiştir. Farklı kurumadde artırım tekniklerinin süt proteinlerinde yarattığı değişimler ise doğal-poliakrilamid jel elektroforezi ile incelenmiştir.

Sonuçlara göre, hidrofobik etkileşimlerin en az kovalent bağlar kadar yoğurt jelinin oluşumunda etkin rol oynadığı saptanmıştır. 2°C'de glucono-delta-lactone ile asitlendirilen yoğurtlarda pıhtının son derece zayıf olduğu ve proteinler arası etkileşimlerin tamamlanmadığı gözlemlenmiştir. Buna karşın, CaCl_2 katımı UF-yoğurt dışında tüm örneklerde herhangi bir fiziksel değişime neden olmamıştır. Ancak, UF-yoğurtta CaCl_2 konsantrasyonuna bağlı olarak dereceli bir düşüş saptanmıştır.

ABSTRACT: In this study, the role of hydrophobic and ionic interactions on the physical properties of concentrated yoghurts was investigated. In the concentration of milks, ultrafiltration (UF), reverse osmosis (RO) and direct reconstitution (DR) techniques were employed. The physical properties of test yoghurts were analysed by means of a dynamic oscillatory rheometer. The parameters of rheometer were calibrated as 1.5×10^{-2} - 1.5×10^{-1} mNm amplitude range at 0.25 Hz. The changes in the proteins caused by total solids elevation techniques were monitored with a native-polyacrylamide gel electrophoresis.

According to the results obtained, the hydrophobic interactions are important in the formation of acid-casein gels as much as covalent bonds. It was noted that the stability of gels set by acidification chemically at 2°C was very poor and the interactions between caseins and whey proteins were incomplete. On the other hand, the addition of CaCl_2 did not lead to any changes in the physical properties of concentrated yoghurts with the exception of UF-yoghurt. In the UF-yoghurt, a gradual decrease in the gel firmness was observed with the increase in the concentration of CaCl_2 .

GİRİŞ

Isı ile indüklenmiş bir asit-kazein jeli olarak tanımlanan yoğurt jeli, değişik protein etkileşim kuvvetlerinin yer aldığı dinamik bir denge halindedir. Gerçekte, ısı uygulaması ile reaksiyona açık hale gelen tiol gruplarının disülfid grupları ile asitlik gelişimine bağlı olarak ara değişim reaksiyonu göstermesi, yoğurt jelinin ağ yapısının oluşumunu olanaklı kılmaktadır. Birincil öneme sahip bu tip kovalent etkileşimler, hidrofobik, elektrostatik, hidrojen, Van der Waals ve sterik etkileşimler ile iyonik bağlar gibi diğer bazı etkileşim kuvvetlerince desteklenmektedir. Elektrostatik, sterik ve Van der Waals etkileşimleri, protein molekülünün yüzey yüklerinin dağılımı ve moleküller arası uzaklık ile ilgili olup etkinlikleri asitlik gelişimine ve tuz konsantrasyonuna bağımlılık göstermektedir. Hidrojen bağları tek başına zayıf ancak toplu halde güçlü bir bağ özelliği göstermektedir ve kazein miselleri arasındaki etkileşimlerden çok misel içindeki kazein moleküllerinin etkileşimlerinde etkin rol oynamaktadırlar. Bu bağlamda, bu etkileşim tipinin dolaylı olarak yoğurt jeli oluşumunu desteklediği ileri sürülebilir.

Hidrofobik bağlar ile iyon-tuz köprüleri yoğurt jelinde kovalent olmayan bağların oluşumunu destekleyen en önemli etkileşim kuvvetleridir. Hidrofobik bağlar basit anlamda, bir sıvı içerisinde yer alan apolar gruplar arasındaki yakınlaşma eğiliminden kaynaklanmaktadır. Eğer apolar hidrokarbon molekülleri su içerisinde yer alırsa, su molekülleri hemen bu grupların yüzeyini bir kafes gibi sarar (BURLEY ve PETSKO, 1988; ISRAELACHVILI, 1992). Tümüyle hidrojen bağlarından oluşan bu kafes yapısı sürekli-dinamik (continuous-dynamic) bir ağ yapısı oluşturur. Aynı zamanda sistemin yapısal entropisinde düşme meydana gelir. Entropi-

* Bu çalışma Dr. Barbaros ÖZER'in doktora çalışmasının bir parçasıdır.

de meydana gelen bu düşüş sistemin entalpik doğası tarafından dengelenmeye çalışılır. Hidrokarbon molekülleri, entropi düşüşünü minimize etmek için yüzey alanlarını küçültme eğilimine girerler ve bu amaçla apolar gruplar arasında bir yakınlaşma meydana gelir. Hidrofobik grupların yarattığı entropi değişimleri ile indüklenmiş hidrokarbon interaksyonları "hidrofobik etki" olarak tanımlanmaktadır (ROEFS, 1986; KONNING ve VISSER, 1992).

Tuz köprüleri (özellikle Ca^{+2} köprüleri) rennet jellerinde ağ yapısının oluşumuna etki eden temel kuvvettir (FOX, 1992). Buna karşın, zaman zaman önerilmesine rağmen (RASIC ve KURMANN, 1978) yoğurt jelinin oluşumunu desteklemek amacıyla Ca^{+2} katımı pratik bir uygulama alanı bulamamıştır. Ortamın tuz konsantrasyonundaki değişim doğal olarak elektrostatik, Van der Waals ve sterik interaksyonların etkinliğinde de değişimlere yol açmaktadır.

Elektrostatik interaksyonların oluşumu tamamıyla moleküller arası uzaklık ve yüzey yüklerinin dağılımı ile ilgili olduğundan tuz köprüleri ile yakınlaşan moleküller, elektrostatik olarak da desteklenmektedir. Pozitif ve negatif yüklü gruplar arasındaki çekim ilişkisi DLVO teorisi ile (Deryagin, Landau, Verwey, Overbeek) açıklanmaktadır (HIEMENZ, 1986). Bu teoride, çekim kuvvetleri Van der Waals çekim kuvvetlerinden kaynaklanmaktadır ($V_a = -A_r/12 H$) (WALSTRA ve JENNES, 1984). Buna karşın, itme kuvvetleri ise yüklü grupların yüzey elektrik potansiyelleri ile yüzeydeki elektrik bulutunun kalınlığı ile ilgilidir. Yoğurt sütüne katılan Ca^{+2} iyonları, iyonik gücü değiştirdiğinden moleküller arası uzaklık kısalmakta ve elektrostatik interaksyonların etkinliği artmaktadır.

Yoğurt jelinin oluşumunda yer alan tüm interaksyon kuvvetleri kazeinin molekülleri arasındaki bağlantı sayılarını ve dolayısıyla jelin fiziksel özelliklerin etkilemektedir. Bu çalışmada, hidrofobik ve iyonik interaksyonların konsantre yoğurtların reolojik özellikleri üzerine etkileri araştırılacaktır.

MATERYAL VE METOT

Çalışmada, yoğurt üretiminde rekonstitüye yağlı süttozu (Adams Food Ingredients, Leek, Staff., İngiltere) kullanılmıştır. Rekonstitüsyon ile %16 (w/v) kurumaddeye ayarlanan sütler ardından:

- Ultrafiltrasyon (UF)
- Reverse osmosis (RO)
- Direk rekonstitüsyon (DR)

yöntemleri ile ~ %23 (w/v) kurumadde konsantrasyonuna dek koyulaştırmışlardır. %16 kurumadde dördüncü kısım süt kontrol örneği olarak konsantre edilmeksizin denemeye alınmıştır.

Yoğurt yapımında TAMIME ve ROBINSON (1985) tarafından önerilen metot uygulanmıştır. Buna göre;

a) Isı uygulaması: 85°C'de 20 dakika boyunca çift cidarlı buhar kazanlarında (Vat-teknigi),

b) Soğutma: Kazan cidarlarından buzlu-su sirkülasyonu ve sürekli karıştırma yolu ile,

c) İnokülasyon ve inkübasyon: 42°C'deki şütlere %2 (v/v) kültür katımı [*Streptococcus thermophilus*/*Lactobacillus delbrueckii* sub-sp *bulgaricus* karışım kültürü katımı ile (CH-1, Chr. Hansen, Reading, İngiltere)] ve pH 4.0'a kadar.

Ön denemeler sonunda, geleneksel yöntemle (torbada süzme) üretilen konsantre yoğurtlarda süzülme sonrası pH değeri 4.0-4.1 arasında bulunmuştur. Bu yüzden bu değer inkübasyon sonu için baz alınmıştır.

Araştırmada kullanılan kurumadde artırım yöntemlerinin ayrıntılı özellikleri aşağıda sunulmuştur:

A. Ultrafiltrasyon (UF): Paterson Candy marka pilot UF-aleti (Paterson Candy, Whitechurch, Hampshire, İngiltere, tipi ES 625) kullanılmıştır. Aletin seperasyon etkinlik sınırı 25.000 dalton molekül ağırlığıdır. Borulu (tubular) tip polietiler sülfon membran materyali kullanılmıştır. Membran yüzey alanı 0.8m²'dir. Giriş (inlet) ve çıkış (outlet) basınçları sırasıyla 0.3 ve 0.1 MPa'dır. Ultrafiltrasyon 50±1°C'de gerçekleştirilmiştir ve besleme tankının cidarlarından buzlu-su sirkülasyonu ile sıcaklık artışı kontrol altında tutulmuştur.

B. Reverse Osmosis (RO): Reverse osmosis ile konsantrasyonda Paterson Candy marka (tipi ZF 99) pilot RO aleti kullanılmıştır. Borulu (tubular) polietiler sülfon membran içinden 2.0 MPa transmembran basıncı ile geçirilen sütün membran ile temas yüzeyi 1.2m²'dir. Reverse osmosis boyunca sıcaklık 50±1°C'de tutulmuştur.

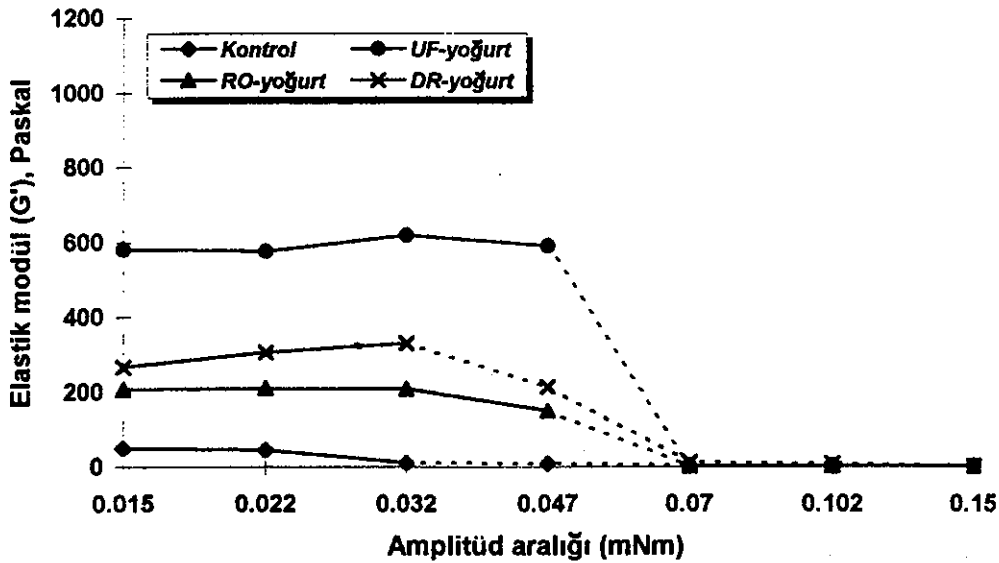
C. Direk Rekonstitusyon (DR): Yaklaşık %22-23 KM'yi sağlayacak oranda süttozunun su içinde çözündürülmesi (40°C'de) ile elde edilen süt yukarıda tarif edilen yöntemle göre yoğurda dönüştürülmüştür.

Örneklerin fiziksel niteliklerinin belirlenmesinde paralel plakalı, kuvvet-kontrollü (controlled-stress) dinamik reometre kullanılmıştır (Rheo Tech, Int., Leeds, İngiltere). Plaka çapı 10 mm, plakalar arası boşluk 1 mm (örnek kalınlığı) olarak kalibre edilmiştir. Ön denemeler ile belirlenen amplitüd aralığı ve frekans değeri sırasıyla, $1,5 \times 10^{-2}$ - $1,5 \times 10^{-1}$ mNm ve 0.25 Hz'dir. Ölçüm sıcaklığı 25°C'dir. Tüm işlemler bilgisayar destekli ortamda gerçekleştirilmiş ve sonuçlar elastik (G') ve viskoelastik ($\tan \delta$) modül olarak Paskal cinsinden ifade edilmiştir.

Elektroforetik çalışmalar, doğal-P.A.G.E elektroforezi aracılığı ile Laemmler yöntemine göre yapılmıştır (LAEMMLI, 1970). Toplam monomer konsantrasyonu %12.5 olarak belirlenmiştir. Örnek, protein standartları ve molekül ağırlığı standartları miktarları sırasıyla 25 μ l, 20 μ l, ve 10 μ l'dir. Jeller 200 volt sabit voltaj ve 60 mA sabit akım koşullarında yürütülmüştür. Toplam jel yürütme süresi 1 saat olarak belirlenmiştir.

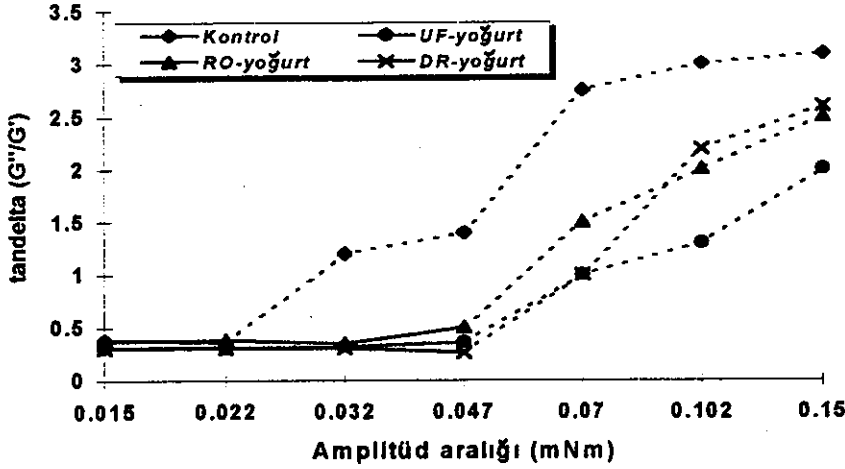
SONUÇ ve TARTIŞMA

Glucono-delta-lactone kullanılarak 2°C'de asitlendirme yolu ile elde edilen jellerin reolojik özellikleri Şekil 1 ve 2'de sunulmaktadır. Genel olarak, tüm örneklerde pıhtı sıklığı son derece zayıf bulunmuş ve uygulanan kuvvete bağlı olarak bir pıhtı deformasyonu gözlenmiştir (kesikli çizgi ile belirlenen bölge). Düşük amplitüd aralığında oluşan lineer viskoelastik bölge ve ardından oluşan deformasyon (yüksek amplitüd aralığı-yüksek kuvvet uygulaması) tüm örneklerde aynı tip interaksiyonların gerçekleştiğini göstermektedir. $\tan \delta$ değerleri interaksiyon tipi hakkında bilgi veren önemli bir parametredir ve dolayısıyla farklı interaksiyon tiplerinin varlığı durumunda, örneklerin $\tan \delta$ değerlerinde belirgin farklılıkların oluşması beklenmektedir. UF-yoğurt, yüksek protein içeriğine rağmen (~%9, w/v), daha düşük protein içerikli DR-yoğurt ve RO-yoğurt (~% 5.5-6.0, w/v) ile aynı noktada belirgin bir deformasyona uğramıştır. Bu olay hidrofobik interaksiyonların jel oluşumunda yer alan en önemli interaksiyonlardan birisi olduğunu göstermektedir.



Şekil 1. Kimyasal yolla asitlendirilmiş konsantre yoğurtların elastik modülleri (G'). Sonuçlar sekiz bağımsız gözlemin ortalamasıdır (n=8). Noktalı çizgiler deformasyon sonrası jel özelliklerini göstermektedir. Düz çizgiler ise lineer viskoelastik bölgeyi (deformasyon yok) temsil etmektedir. Standard hata çizgileri sembol boyutundan daha küçük olduğu için gözükmemektedir.

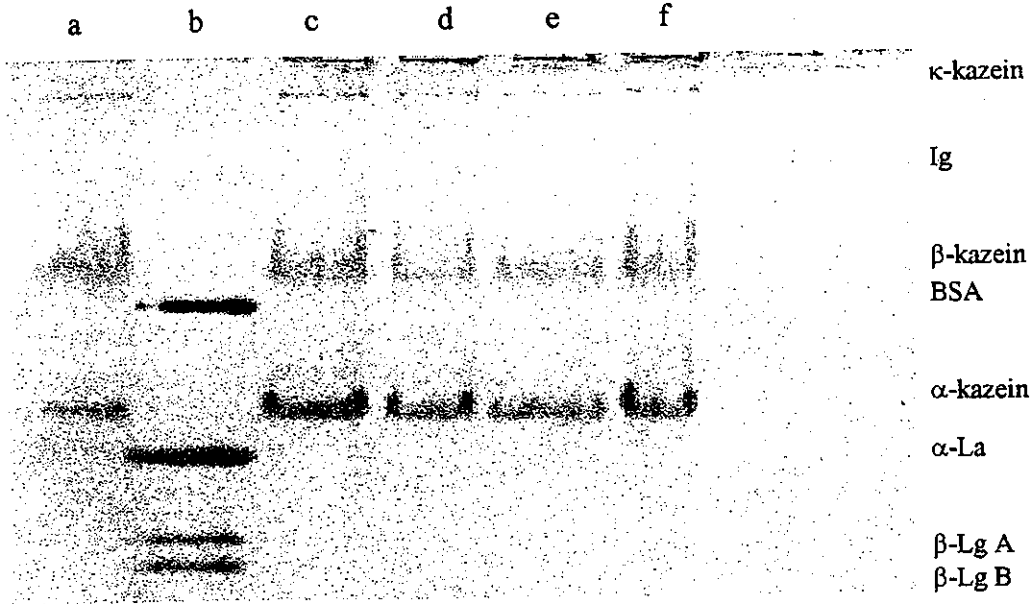
Zayıf jellerde pıhtı sıklığı ya da genel anlamda reolojiyi belirleyen en belirgin unsur protein bağlarının enerji absorpsiyonudur. Bu absorpsiyon ise interaksiyona giren protein partikülü ya da molekülü sayısı ve dağılımı ile ilintilidir. Helmholtz enerjisi ($dA=dU-TdS$) ile karakterize edilen enerji absorpsiyonu sıcaklığa bağımlıdır ve sıcaklık artışı ile azalış göstermektedir. Yoğurt jeli gibi zayıf asid jellerinde pıhtı oluşumu için bir minimum Helmholtz aktivasyon enerjisi zorunludur. Dolayısıyla düşük sıcaklıklarda Helmholtz enerji değerindeki yükseklik daha az sayıda protein interaksiyonunun varlığını kanıtlar. Yoğurt jelinin metastabil yapısı bu enerji değerinin minimumda dengede tutulması ile korunabilmektedir. Pıhtının kırılması ya da aşırı asidifikasyon gibi etmenler ile bozulan enerji dengesi nedeniyle tekrar eski koşullar sağlansa bile jelin ilk formuna dönmesi olanaksızdır. Jelleşme sıcaklığının düşürülmesi ile yalnızca β -kazein kazein miselinden ayrılmamaktadır.



Şekil 2. Kimyasal yolla asitlendirilmiş konsantrasyon yoğurtların $\tan \delta$ değerleri. Sonuçlar sekiz bağımsız gözlemin ortalamasıdır ($n=8$). Noktalı çizgiler deformasyon sonrası jel özelliklerini göstermektedir. Düz çizgiler ise lineer viskoelastik bölgeyi (deformasyon yok) temsil etmektedir. Standard hata çizgileri sembol boyutundan daha küçük olduğu için gözükmemektedir.

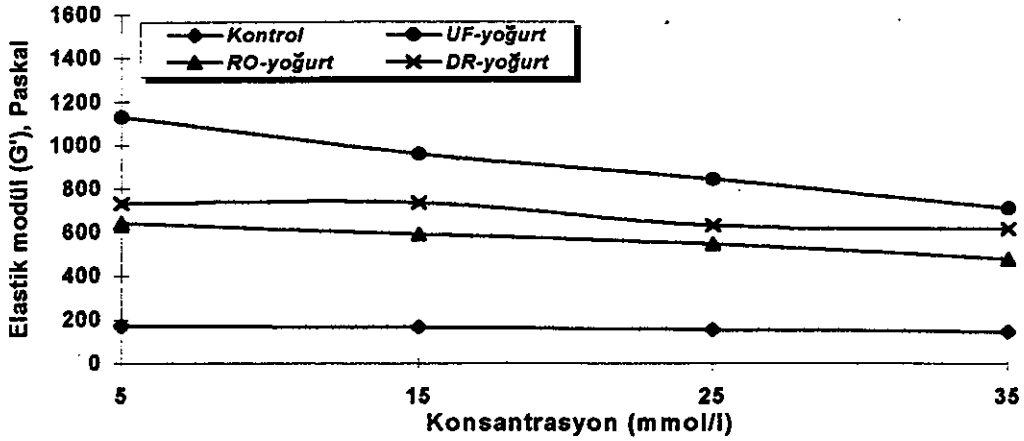
Aynı zamanda Helmholtz aktivasyon enerjisi artmaktadır. Ayrıca, ısı ile indüklenmiş κ -kazein/ β -laktoglobulin interaksiyonu da bir dereceye kadar engellenebilmektedir. Bu spesifik interaksiyon tiol/ disülfid aradeğişim reaksiyonundan sonra ikincil olarak hidrofobik interaksiyonlar tarafından desteklenmektedir (DOI ve ark., 1983; HAQUE ve KINSELLA, 1988). Burada β -laktoglobulin'in tirozin rezidüleri belirleyici rol oynamaktadır (DZIUBA, 1979). Pıhtının reolojik özelliklerinde, jelleşme sıcaklığına bağlı olarak gözlenen değişimin yanı sıra, protein konsantrasyonuna karşı bir bağımlılık da dikkat çekmektedir (Şekil 1 ve 2). Aynı kuvvet noktasında deforme olmalarına rağmen, deformasyon öncesi lineer viskoelastik bölgede UF-yoğurt en yüksek elastik modülü (G') verirken, DR- ve RO- yoğurtlar birbirlerine yakın ve UF-yoğurttan daha düşük elastik modüllere sahip olmuşlardır. Kontrol yoğurtu (%16 KM, %42 protein) ise, hem çok daha düşük elastik modül değerini vermiş hem de daha düşük amplitüdlere deforme olmuştur.

Doğal-poliakrilamid jel elektroforezi (Native-P.A.G.E) ile düşük sıcaklıkta asitlendirilen örneklerde κ -kazeinin değişmeden kaldığı ve κ -kazein/ β -laktoglobulin interaksiyonunu temsilen yeni bir bantın oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 3). β -laktoglobulin ve α -laktalbumin bantlarının kaybolmasına karşın yeni bir bant oluşmaması, düşük sıcaklıkta serum proteini ile κ -kazein arasındaki interaksiyonun varlığını, ancak hidrofobik interaksiyonlar ile desteklenmediği için bu elektroforez tekniği ile belirlenemeyecek kadar düşük düzeyde gerçekleştiğini göstermektedir.

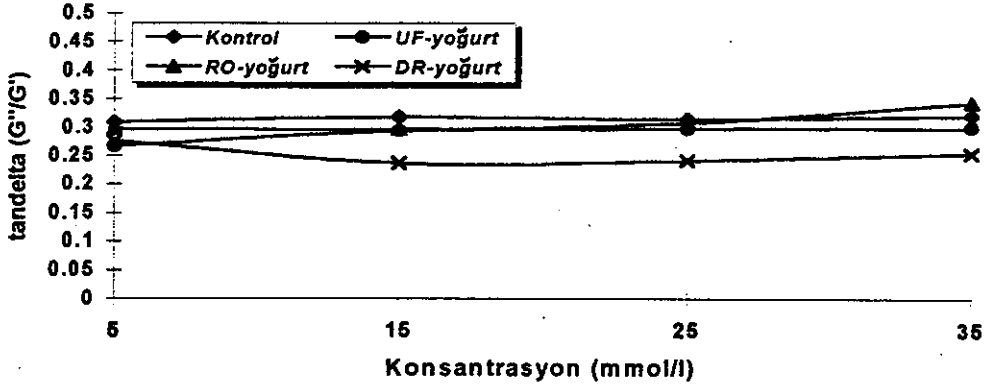


Şekil 3. Glucono- δ -lactone (3 g/100 ml süt) ile asitlendirilmiş test yoğurtlarının doğal-poliakrilamid jel elektrofores örnekleri. a) Kazein standartları, b) Serum proteinleri standartları, c) Kontrol (16%KM), d) UF-yoğurt (23%KM), e) RO-yoğurt (23% KM), g) DR-yoğurt (23%KM).

Yoğurt jelinin oluşumunda etkili bir diğer faktör de iyonik interaksiyonlardır. Bu interaksiyonların konsantrasyon yoğurt sistemlerindeki rolünü araştırmak için değişen oranlarda (0-35 mmol/l) kalsiyum klorit (CaCl_2) sültere ilave edilmiştir. CaCl_2 'nin yoğurdun reolojisi üzerine etkileri Şekil 4 ve 5'de gösterilmektedir. Buna göre, CaCl_2 katımı UF-yoğurt hariç diğer örneklerde reolojik değişime yol açmamıştır. Buna karşın UF-yoğurtta artan CaCl_2 konsantrasyonuna paralel, elastik modülde dereceli bir düşüş gözlenmiştir. Tahminen, UF-yoğurtta yüksek protein içeriğine bağlı olarak daha fazla sayıda protein/protein interaksiyonu meydana gelmiştir. Benzer sonuçlar ROEFS (1986) ile ROEFS ve van VLIET (1990) tarafından da elde edilmiştir. Bu araştırmacılar, NaCl ve CaCl_2 için bir eşik değerinin (10 mmol/kg) aşılması durumunda kazein moleküllerinin biraraya gelme eğiliminin şiddetle arttığını ve büyük koloidal partiküllerin oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Oluşan bu büyük partiküller asitlendirme ile kısmen stabilitelelerini yitirmekte ve geniş gözenek çaplı, kaba bir ağ yapısının oluşmasına neden olmaktadır. Ca^{+2} iyonları negatif yüklü proteinlere bağlanarak proteinlerarası itme eğilimini azaltıcı etki yapmaktadır. Sonuçta proteinler arasında pH'ya bağlı bir yaklaşma gözlenmektedir (LUPANO ve ark., 1992; LEAVER ve ark., 1995). Düşük pH değerlerinde ($\text{pH} < 4.0$), CaCl_2 konsantrasyonundaki artış ile pıhtı sıklığı azalmaktadır. Bunun temel nedeni proteinlerarası aşırı yaklaşma ve sonuçta, interaksiyonlardır. Yüksek ve düşük protein içerikli yoğurtlardaki CaCl_2 katımına bağlı olarak meydana gelen farklılığın nedeni muhtemelen yüksek protein içerikli sülterde daha fazla sayıda proteinin reaksiyona açık olmasıdır.



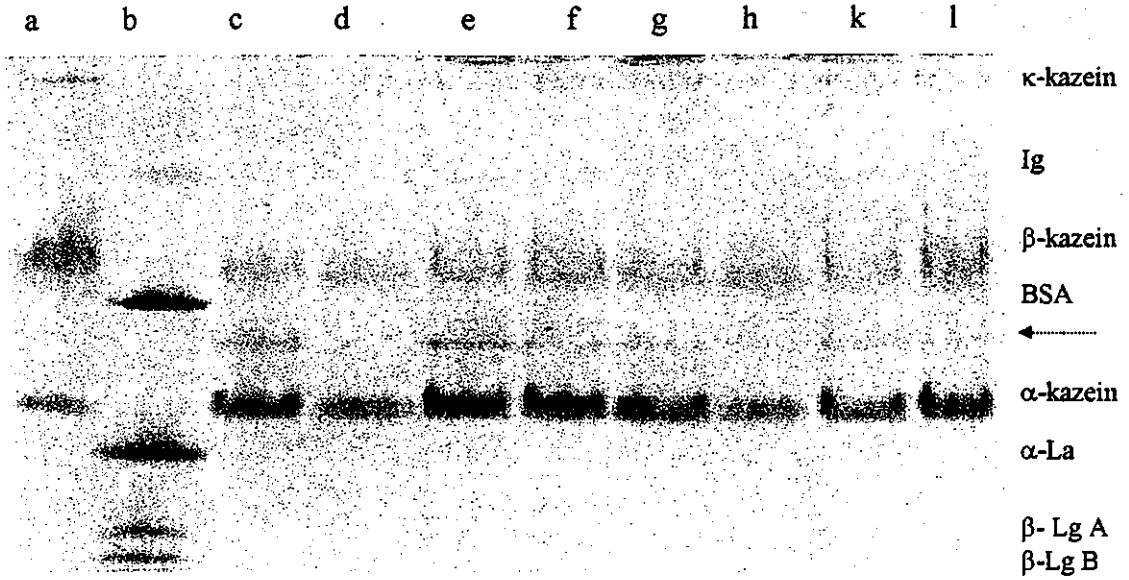
Şekil 4. CaCl₂ katkılı konsantre yoğurtların elastik modülleri (G'). Sonuçlar sekiz bağımsız gözlemin ortalamasıdır (n=8). Standard hata çizgileri sembol boyutundan daha küçük olduğu için gözükmemektedir.



Şekil 5. CaCl₂ katkılı konsantre yoğurtların tan δ değerleri. Sonuçlar sekiz bağımsız gözlemin ortalamasıdır (n=8). Standard hata çizgileri sembol boyutundan daha küçük olduğu için gözükmemektedir.

Elektroforez denemeleri sonunda CaCl₂ katkılı örneklerde β -laktoglobulin ve α -laktalbumin'in kaybolması ve κ -kazein/ β -laktoglobulin kompleksini temsilen yeni bir bandın oluşumu CaCl₂ konsantrasyonundan bağımsız olarak gerçekleşmiştir (Şekil 6). α -kazein ve β -kazein CaCl₂'den etkilenmemiştir. Şekil 6'da görülebileceği gibi UF-yoğurtta κ -kazein/ β -laktoglobulin bandı hem düşük (5 mmol/L) hem de yüksek (35 mmol/L) konsantrasyonda göreceli olarak daha az belirgindir. Bunun nedeni, aşırı derecede agregasyona uğrayan kazein partiküllerinin, moleküller içi (intra-molecular) ve moleküler arası (inter-molecular) interaksiyonlar ile oluşmuş daha büyük yapıların (conglomerates) oluşumunun teşvik etmesidir. Bu büyük agregatlar içinde tahminen daha çok sayıda κ -kazein gömülü olduğundan (diğer bir ifade ile reaksiyona kapalı olduğundan) bu proteinlerin serum proteinleri ile interaksiyonu UF-sütte daha az düzeyde gerçekleşmiş olabilir.

Sonuç olarak, UF-yoğudan jel sıklığında meydana gelen kısmi azalmaya rağmen bu örnek en elastik ve sıkı jel yapısına sahip örnek olarak bulunmuştur ve tüm örneklerde aynı tip protein interaksiyonu yer almıştır (tan δ değerlerindeki yakınlık).



Şekil 6. CaCl_2 katılmış test yoğurtlarının doğal-elektroforez (PAGE) örnekleri. a) Kazein standartları, b) Serum proteini standartları, c) Kontrol (16% KM), 5 mmol/l, d) UF-yoğurt (~ 23%KM), 5 mmol/l, e) RO-yoğurt (~ 23%KM), 5 mmol/l, f) DR-yoğurt (~ 23%KM), 5 mmol/l, g) Kontrol (16%KM), 35 mmol/l, h) UF-yoğurt (~ 23%KM), 35 mmol/l, k) RO-yoğurt (~ 23%KM), 35 mmol/l, l) DR-yoğurt (~ 23%KM), 35 mmol/l. (.....→) Tahmini κ -kazein/ β -laktoglobulin kompleksi.

KAYNAKLAR

- BURLEY, S.K. ve G.A. PETSKO. 1988. Weakly polar Interactions in Proteins. *Advances in Protein Chemistry*. 39, 125-189.
- DOI, H., S. IIDENO, S., F. IBUKI, F. ve M. KANAMORI. 1983. Participation of theHydrophobic Bond in Complex Formation Between κ -casein and β -lactoglobulin. *Agricultural and Biological Chemistry* 47(2) 407-409.
- DZIUBA, J. 1979. The Share of Functional Casein Groups in the Formation of a Complex With β -lactoglobulin. *Acta alimentaria Polonica* Vol. V(XXXIX) No.2 97-115.
- FOX, P.F. 1992. *Advanced Dairy Chemistry: I. Proteins*, Elsevier Science Publishers Ltd, Essex, England, pp.781.
- HAQUE, Z. ve J.E.KINSELLA. 1988. Interaction Between Heated κ -casein and β -lactoglobulin: Predominance of Hydrophobic Interactions in the Initial Stages of Complex Formation. *J. Dairy Res.* 55 67-80.
- HIEMENZ, P.C. 1986. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*. Marcel Decker Inc., New York and Basel, pp.516.
- ISRAELACHVILI, J.1992. *Intermolecular and Surface Forces*. Academic Press Limited, 2 nd ed., pp.450.
- KONNING, M.M.G. ve H. VISSER. 1992. Protein Interactions: An Overview. "In: *Protein Interactions*. Visser, H. (Ed), American Chemical Society, Cambridge, UK, p. 1-24.
- LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature* 227 680-685.
- LEAVER, J., D.S. HORNE., C.M. DAVIDSON ve D.V. BROOKSBANK. 1995. Influence of Charge on the Adsorption of Proteins to Surfaces. "In: *Food Macromolecules and Colloids*, Dickinson, E. and Lorient, D. (Eds), The Royal Society of Chemistry, p. 90-94."
- LUPANO, C.E., E.DUMAY ve J.C. CHEFTEL. 1992. Gelling Properties of Whey Protein Isolate: Influence of Calcium Removal by Dialysis or Diafiltration at Acid or Neutral pH. *International Journal of Food Science and Technology* 27, 615-628.
- RASIC, J. ve KURMANN, J. 1978. *Yoghurt: Specific Grounds, Technology, Manufacture and Preparations*. Technical Dairy Publishing House, Copenhagen, Denmark, pp. 466.
- ROEFS, S.P.F.M. 1986. *Structure of Acid Casein Gels*. Doktora Tezi. Agricultural University, Wageningen, the Netherlands.
- ROEFS, S.P.F.M. ve T. van VLIET, T. 1990. Structure of Acid Casein Gels. 2 Dynamic Measurements and Type of Interaction Forces. *Colloids and Surfaces* 50 161-175.
- TAMIME, A.Y. ve R.K. ROBINSON. 1985. *Yoghurt: Science and Technology*. Pergamon Press Ltd., Oxford, UK, pp. 400.
- WALSTRA, P. ve R.JENNES, R. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. John Wiley and Sons Inc, Canada, pp. 467.