

GELENEKSEL YÖNTEMLE AYRAN ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ AYRANIN ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Tuba Şanlı^{**1}, Emel Sezgin¹, Ebru Şenel¹, Mehlika Benli²

¹Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Süt teknolojisi Bölümü, Ankara

²Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / *Received*: 13.05.2011

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 21.06.2011

Kabul tarihi / *Accepted*: 23.06.2011

Özet

Bu çalışmada; transglutaminaz enzimi ile süt proteinlerinin enzimatik modifikasyonunun Ayrân üretiminde uygulanabilirliği ve enzim ilavesinin ürünün kalite kriterleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla, enzimin süte üretimin iki farklı aşamasında katımı (pastörizasyondan sonra inkübasyondan önce ve starter kültür ile aynı anda) ve enzimle 2 farklı muamele süresi (50 °C'de 1 saat ve 10 dakika) denenmiştir. Ayrân örnekleri + 4 °C'de 20 gün süreyle depolanmışlar ve depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde analiz edilmişlerdir. Sonuç olarak; enzimle muamele edilmiş süttten geleneksel yöntemle üretilen Ayrân örneklerinde viskozitede önemli oranda artış ve serum ayrılmasında azalma belirlenmiştir. Transglutaminazın Ayrân örneklerinin kimyasal özellikleri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Elektron mikroskop çalışmaları, süttün transglutaminaz enzimiyle muamele edilmesinin Ayrânda daha sıkı mikrostrüktürel yapının oluşmasıyla sonuçlandığını göstermiştir. Araştırmada kullanılan enzim miktarı 1 Unit TGase/g süt proteindir. Kullanılan enzim konsantrasyonunun, Ayrân örneklerinin aroma bileşenlerinde önemli bir değişiklik meydana getirmediği saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Ayrân, cross-link, enzimatik modifikasyon, transglutaminaz

EFFECTS OF USING TRANSGLUTAMINASE ON PROPERTIES OF AYRAN IN TRADITIONAL PRODUCTION OF AYRAN

Abstract

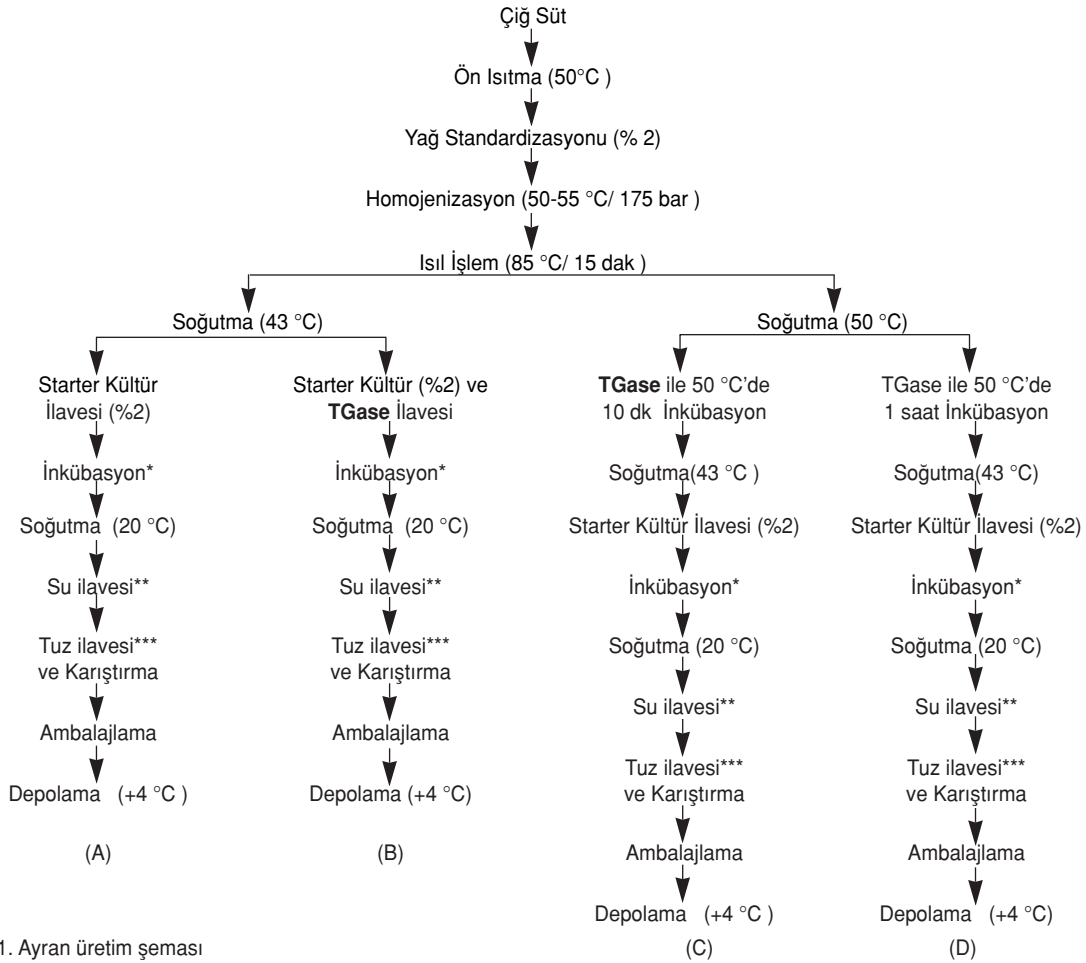
In this study, the applicability of enzymatic modification of milk proteins by transglutaminase enzyme in production of Ayrân and the effects of enzyme addition on the quality criteria of product, were investigated. For this purpose, the enzyme addition to Ayrân milk at two different steps of the production (just after the pasteurization and simultaneous addition with starter culture) and in two different incubation time with enzyme (at 50 °C 1 hour and 10 minutes), were tried. Ayrân samples were kept at 4 °C for 20 days and analyzed on the 1st, 10th, and the 20th days of the storage. As a result, significant increase in viscosity and decrease in syneresis were determined. in Ayrân samples produced from enzyme-treated milk, It was detected that transglutaminase did not cause significant changes on chemical properties of Ayrân. Electron microscopic studies showed that enzyme- treated milk lead to obtain firmer microstructure in Ayrân. Amount of enzyme used in this study was 1 Unit TGase/g milk protein. It was also determined that usage of this amount of enzyme concentration made no significant change in the flavour component of Ayrân.

Keywords: Ayrân, cross-link, enzymatic modification, transglutaminase.

* Bu çalışma Tuba Şanlı'nın doktora tezinden alınmıştır / *This paper is a part of Ph D thesis of Tuba Şanlı*

** Yazışmalardan sorumlu yazar/ *Corresponding author* ;

✉ tcetin@agri.ankara.edu.tr ☎ (+90) 312 596 1527 ☎ (+90) 312 318 2219



Şekil 1. Ayran üretim şeması

*43 °C'de 4.6 pH'ya kadar

** Yağsız kuru madde en az % 6 olacak şekilde

***En çok % 1

Araştırmada TGase enzimi katkılı örneklerde kullanılan enzim miktarı 1 Unit TGase/g süt proteindir. Bu miktar üretici firma tarafından tavsiye edilen düzeyler arasından yapılan ön denemelerle belirlenmiştir. TGase Activa MP ticari preparasyon 100 Unit/g aktiviteye sahiptir. Üretimde kullanılan enzim miktarı sütün protein içeriği esas alınarak hesaplanmıştır. Üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilen denemede kullanılan hammadde çiğ sütün protein içeriği sırasıyla % 3.6, % 3.54 ve % 3.6 olarak tespit edilmiştir. Enzim aktivitesi esas alındığında her 1 g süt proteinine karşılık 0.01 g enzim preparasyonu kullanılmıştır.

Kimyasal ve fiziksel analizler

Titre edilebilir asitlik tayini TS 1018 çiğ süt standardında (22) bildirildiği şekilde yapılmıştır. Protein içeriği mikro-kjeldahl düzeneğinden yararlanılarak saptanmıştır (23). Laktik asit tayini Steinsholt ve Calbert (24), tirozin değeri ise Hull

vd. (25) tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. pH değerinin belirlenmesinde birleşik elektrotlu dijital pH-metre (Orion 420) kullanılmıştır. Viskozite değeri Haake-Viskosimeters 181/VTR 24 marka vizkozimetre ile ve serum ayrılması volumetrik olarak ölçüm yoluyla tespit edilmiştir. Serum ayrılmasının belirlenmesi için Atamer ve Sezgin (26) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Örnekler 100 mL'lik mezürlere konularak +4 °C'de 20 gün süreyle depolanmışlar ve depolamanın 1, 10 ve 20. günlerinde ayrılan serum miktarı mL olarak belirlenmiştir. Sonuçlar yüzde olarak verilmiştir.

Duyusal analiz

Duyusal değerlendirmede Bodyfelt (27) tarafından verilen değerlendirme kartı modifiye edilerek kullanılmıştır. Ayran örnekleri 10 panelist tarafından tat-aroma, kıvam ve genel özellikler açısından 10 puan üzerinden değerlendirilmiştir.

Aroma maddeleri

Karbonil bileşiklerinin (asetaldehit, aseton, bütanon-2, diasetil) tespiti Ulbert (28) tarafından bildirilen headspace metodu ile Agilent marka "GC System 6890 Series" gaz kromatografi cihazında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla homojen hale getirilmiş örneklerden headspace viallerine 5 gram tartılmış ve crimper ile ağzı kapatılmıştır. Örnekler analiz edileceği zamana kadar -18 °C'de depolanmışlardır. Enjeksiyondan önce oda sıcaklığına getirilen vialler aroma maddelerinin uçucu hale gelmesi için 70 °C sıcaklıktaki etüvde 30 dakika süre bekletilmiştir. Ardından etüvden çıkarılan viallerin tepe boşluğundan 1000 µL gas-tight şırınga ile gaz kromatografisi cihazına enjekte edilmiştir. Çalışmada HP-Innovax Polyethylene Glycol cappillary (30 m x 320 µm x 0.25 µm) kolon kullanılmıştır. Analiz sırasında enjeksiyon bloğu sıcaklığı 80 °C ve dedektör sıcaklığı (FID) 260 °C'dir. Analiz sırasında uygulanan fırın sıcaklık programı şöyledir; başlangıç sıcaklığı olan 50 °C sıcaklıkta 0.5 dakika bekleme, dakika da 4 °C artarak 60 °C'ye ulaşıldığında 0.5 dakika bekleme, dakika da 4 °C artarak 70 °C'ye ulaşıldığında 0.5 dakika bekleme ve dakikada 20 °C'lik artışla 180 °C'ye geldiğinde 0.2 dakika bekleme. Kolon akış hızı dakikada 7 µL olarak uygulanmıştır. Taşıyıcı gaz (make up) olarak azot gazı (30 mL/dakika) kullanılmıştır. Her bir aroma maddesinin 25, 50, 75 ve 100 mg/kg olacak şekilde standart çözeltileri hazırlanmış ve daha sonra bu çözeltilerden headspace viallere 5 gram tartılmış ve yukarıda belirtildiği şekilde gaz kromatografisi cihazına enjeksiyon yapılmıştır. Elde edilen standart eğrilerinin eğimi, örneklerin aroma maddelerinin miktarlarının hesaplanmasında katsayı olarak kullanılmıştır.

Mikrostrüktürel değerlendirme

Ayran örneklerinin mikrostrüktürel yapılarını belirlemek üzere analize hazırlanmalarında Hayat (29) tarafından bildirilen yöntemden yararlanılmıştır. Ayran örnekleri 0.45 por çapına sahip hazır kapsüller içine konmuş ve bu kapsüllerin ağzı kapatılarak preparasyon şişelerine alınmıştır. Kapsüller 0.1 M sodyum fosfat tamponu ile hazırlanmış (pH 7.2) %3'lük glutaraldehit çözeltisi içinde 1 gece bekletilerek ön fiksasyonu yapılmış ve dört defa tampon çözeltisi ile yıkanmıştır. Daha sonra %1'lik osmium tetroksit içinde 1 saat ikincil fiksasyona tabi tutulmuş ve yine tampon çözeltisi ile 4 defa yıkanmıştır. Fiksasyon işlemlerinden sonra örnekler dehidrasyona alınmıştır. Dehidrasyonda %30 - 40 - 50 - 60 - 70 - 80 - 90 - 100'lük alkol serileri kullanılmıştır. %100'lük alkolde 3 kez geçirildikten sonra, kapsüller açılarak etüv içinde

30 °C'de kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan örnekler, karbon kaplı bant yardımı ile staplar üzerine yapıştırılmış ardından Polaron SC 502 Sputter Coater aleti ile saf altınla kaplandıktan sonra Jeol JSM 6060 LV (Japonya) marka taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) ile incelenerek görüntüleme yapılmıştır.

İstatistiksel analiz

Bu araştırma üç tekerrürlü olarak yapılmış ve tüm analizler her tekerrür için iki paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizlerinde Minitab 13.1 (Minitab INC., PA, USA) programı kullanılmıştır. Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesinde Düzgüneş vd. (30) tarafından bildirilen "Varyans Analizi Yöntemi" kullanılmıştır. İstatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenen farklılıklar ($P<0.05$) Tukey testi ile saptanmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Transglutaminazın Ayran örneklerinin pH, titrasyon asitliği ve laktik asit değerleri arasında önemli bir farklılık yaratmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 1). Benzer şekilde, Lorenzen ve Schlimme (31) yoğurt örneklerinde TGase enzimi ilavesinin titrasyon asitliği değerinde 14 günlük depolama sürecinde enzim ilave edilmeyen örneklere göre farklılık yaratmadığını bildirmektedirler. Yüksel (32) çalışmasında yoğurt örneklerinde enzim ilavesinin titrasyon asitliği değerini önemli düzeyde etkilemediğini tespit etmiştir.

Yoğurt bakterilerinin proteolitik aktivitesi sonucunda birçok aminoasit ve peptitlerin ortaya çıktığı bilinmektedir (33). Proteoliz sonucunda ortaya çıkan aminoasit birikimi tirozin eşdeğeri olarak tanımlanmaktadır (34). Ayran örneklerinin tirozin değerleri en düşük D örneğinde 0.309 mg/5 g ve en yüksek kontrol örneğinde 0.378 mg/5 g olarak tespit edilmiştir. Depolama süresince de kontrol örneğinde belirlenen değer enzim katkılı diğer örneklerden yüksek olduğu dikkati çekmektedir. Bu durum, TGase katkılı örneklerde proteinlerin enzimin katalize ettiği çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak proteolize karşı dayanıklı hale geldiklerini düşündürmektedir. Benzer şekilde; Yüksel (32) çalışmasında transglutaminaz katkılı, enzimin aktif olduğu yoğurt örneklerinin enzim katkısız kontrol örneğinden daha düşük düzeyde peptit ve tirozin içerdiğini belirlemiştir. Lorenzen vd. (35) tarafından yapılan çalışmada modifiye kazeinin proteoliz olabilirliğinde azalma olduğu bulunmuştur.

Ayran örneklerinin viskozite değerleri Çizelge 1'de verilmiştir. TGase ilaveli örneklerin (B, C ve D)

Çizelge 1. Ayran örneklerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri (n=3)

Örnek	Depolama süresi (Gün)	A	B	C	D
pH	1	3.96±0.055	3.98±0.037	3.97±0.062	4.00±0.010
	10	3.89±0.097	3.88±0.045	3.94±0.115	3.86±0.045
	20	3.71±0.020	3.84±0.115	3.76±0.092	3.81±0.050
Titrasyon asitliği (SH)	1	32.12±0.340 ^a	30.39±0.318 ^b	30.86±0.641 ^b	29.39±0.573 ^c
	10	34.99±1.910	32.97±2.350	33.79±1.437	32.52±2.120
	20	35.31±2.280	34.19±1.561	35.43±1.302	33.49±2.220
Laktik Asit (%)	1	0.279±0.078	0.299±0.070	0.312±0.059	0.314±0.059
	10	0.426±0.60	0.416±0.054	0.416±0.006	0.441±0.053
	20	0.439±0.016	0.439±0.014	0.438±0.008	0.448±0.001
Tirozin değeri (mg/5 g)	1	0.349±0.028	0.345±0.016	0.360±0.020	0.315±0.024
	10	0.375±0.047	0.327±0.036	0.330±0.020	0.312±0.026
	20	0.378±0.083	0.315±0.005	0.347±0.023	0.309±0.035
Viskozite (cp)	1	15±0.000 ^b	18±0.000 ^b	19.1±1.730 ^b	25±4.580 ^a
	10	15±0.000 ^d	23.5±0.866 ^b	20.5±0.866 ^c	34±1.730 ^a
	20	16±1.730 ^a	23.5±3.120 ^b	23±2.290 ^b	34±2.290 ^a
Serum ayrılması (%)	1	1.5±0.500 ^a	0±0.000 ^b	0±0.000 ^b	0±0.000 ^b
	10	17.25±1.750 ^a	4.75±0.50 ^b	1.75±0.250 ^c	0±0.000 ^d
	20	34.25±0.250 ^a	11.75±1.250 ^c	15.25±0.75 ^b	1.5±0.500 ^d

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasında farkın $P<0.05$ seviyesinde önemli olduğunu gösterir. A: Kontrol (TGase ilavesiz), B: TGase ve starter kültür aynı anda katılmıştır, C: Pastörizasyondan sonra TGase ile 10 dakika inkübasyon uygulanmıştır, D: Pastörizasyondan sonra TGase ile 1 saat inkübasyon uygulanmıştır.

viskozite değerleri kontrol örneğinden (A) önemli oranda yüksek bulunmuştur ($P<0.05$). Enzim ilaveli örnekler arasında ise enzimle 1 saat inkübasyona bırakılan süten üretilen Ayran örneğinin en yüksek viskozite değerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar Kırmacı vd. (36) ve Özer vd. (37) tarafından da bildirilmektedir.

Ayran örneklerinin serum ayrılması değerleri arasındaki farklılık önemli bulunmuştur ($P<0.05$). Depolamanın 1. gününde A örneğinde serum ayrılması gözlenirken, enzim ilaveli B, C ve D örneklerinde serum ayrılması belirlenmemiştir. Depolamanın 10. gününde pastörizasyon işleminin ardından enzim ile 1 saat inkübasyona bırakılan süten üretilen D örneğinde yine serum ayrılması gözlenmemiş, enzim katkılı diğer örneklerde belirlenen değerlerin de kontrol örneğinden önemli düzeyde düşük olduğu bulunmuştur. Süt proteinlerinden kazeinlerin sahip olduğu primer yapılarından dolayı transglutaminaz enzimi için çok uygun substrat oldukları bildirilmektedir (13, 16, 19). Buna karşın, süt proteinlerinin önemli bir kısmını oluşturan serum proteinlerinin ikincil ve üçüncül yapılarından dolayı enzim reaksiyonuna karşı dayanıklı oldukları, ancak; ısı ile denatürasyonları sonucu enzimin serum proteinleri üzerindeki etkinliğinin arttığı bilinmektedir (18, 38). Pastörizasyon işlemi ardından enzimle muamelenin serum ayrılmasında meydana getirdiği dikkate değer azalma bu şekilde açıklanabilmektedir. Benzer şekilde, Kırmacı vd. (36), Lorenzen vd.

(35), Farnsworth ve Guo (39), Özer vd. (37) ve Gauche vd. (40) yaptıkları çalışmalarda TGase enzimi ilavesinin yoğurtlarda serum ayrılmasında azalmaya neden olduğunu belirlemişlerdir. Serum ayrılmasındaki azalmanın nedeninin enzimin katalize ettiği süt proteinlerinin çapraz bağlanmasının bir sonucu olarak jel geçirgenliğindeki azalma olduğu düşünülmektedir. Aynı şekilde; literatürlerde protein zincirlerindeki çapraz bağlanmanın yoğurt jelinin üç boyutlu ağ yapısını stabilize ettiği ve jeldeki gözenekliliğin azalmasının bir sonucu olarak da serum ayrılmasında azalma sağladığı bildirilmektedir (35, 40). Ayrıca; TGase enzimin süt proteinlerinin su bağlama kapasitesini arttırdığı bilinmektedir (15).

Depolama sürecinde Ayran örneklerinin duyuşal değerlendirme sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Tat-aroma açısından değerlendirildiğinde; enzim ilavesinin örnekler arasında önemli bir farklılık yaratmadığı, ve kontrol örneğine göre enzim ilaveli örneklerin daha yüksek puan aldıkları tespit edilmiştir. Genel olarak örneklerlere ait kıvam puanları değerlendirildiğinde viskozite değerleri ile benzer olduğu ve elde edilen sonuçların paralellik gösterdiği bulunmuştur. Viskozite değerleriyle benzer olarak pastörizasyon işleminin ardından enzim ile 1 saat inkübasyona bırakılan D örneğinin en yüksek kıvam puanına sahip olduğu ve bu durumun depolama sürecinde de değişmediği belirlenmiştir.

Ayran örneklerinin elektron mikroskop görüntüleri Şekil 2'de verilmiştir. Genel olarak bakıldığında

Çizelge 2. Ayran örneklerinin duyuusal değerlendirme puanları (n=3)

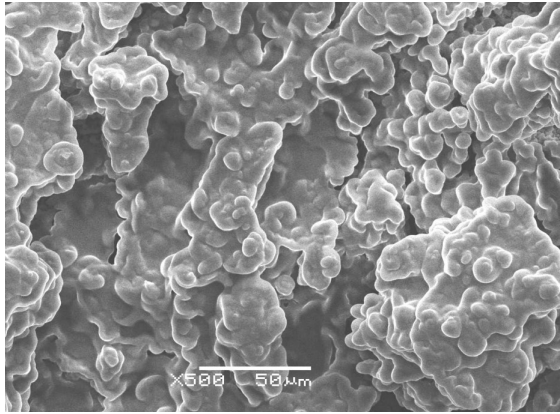
Örnek	Depolama süresi (Gün)	A	B	C	D
Tat-Aroma	1	7.16±0.208	8.03±0.850	7.9±0.513	8.2±0.964
	10	6.8±0.781	7.8±0.907	7.9±0.451	7.9±0.351
	20	6.3±0.503	6.6±1.206	7.3±0.551	7.7±0.321
Kıvam	1	6.4±0.577	7.6±0.586	7.8±0.379	8.4±0.586
	10	6.1±0.416c	7.7±0.608b	7.6±0.200b	8.2±0.289a
	20	6.2±0.321d	7.3±0.493c	7.8±0.057b	8.6±0.057a
Genel	1	6.9±0.152c	7.6±0.462b	7.7±0.755b	9.3±0.200a
	10	6.4±0.436c	8.1±0.569a	7.5±0.057b	8.2±0.208a
	20	6.2±0.152	7.1±0.750	7.1±0.493	7.9±0.416

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasında farkın $P < 0.05$ seviyesinde önemli olduğunu gösterir. A: Kontrol (TGase ilavesiz), B: TGase ve starter kültür aynı anda katılmıştır, C: Pastörizasyondan sonra TGase ile 10 dakika inkübasyon uygulamıştır, D: Pastörizasyondan sonra TGase ile 1 saat inkübasyon uygulanmıştır.

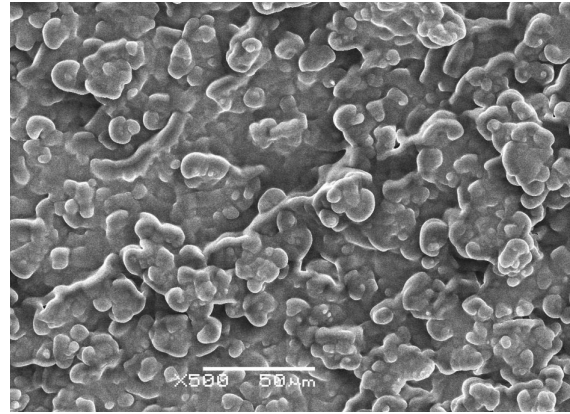
TGase katkılı Ayran örneklerinde kontrol örneğinden farklı olarak daha güçlü jel yapısı içerisinde proteinlerin daha düzenli dağıldığı ve protein ağ yapısında gözenekliliğin azaldığı görülmektedir. Benzer şekilde; Lorenzen vd. (35) set tipi yoğurtlarda yaptıkları çalışmalarında, süte enzim ilavesinin protein ağ yapısında gözenek boyutunu azalttığını ve yoğurt jelinde proteinlerin daha homojen dağıldığını elektron mikroskopunda

görülmüşlerdir. Bir başka çalışmada Farnsworth ve Guo (39); enzim ilaveli keçi sütünden yapılan yoğurt örneklerinde kontrol örneğine göre daha sıkı bir yapı görüntülemişlerdir.

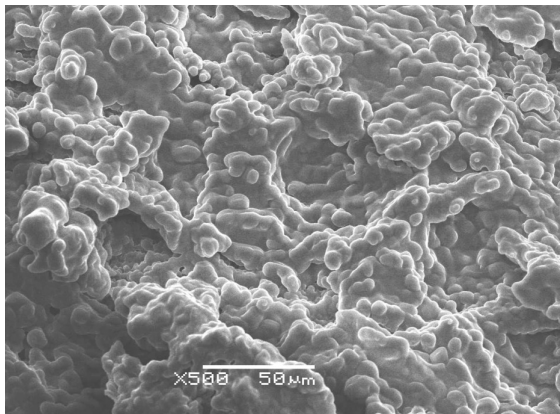
Örneklerin aroma bileşenlerindeki farklılıklar Çizelge 3'de görülmektedir. Ayran örneklerinin asetaldehit içeriğindeki farklılıklar depolamanın 1. ve 10. günlerinde istatistiksel açıdan önemsiz ($P > 0.05$), 20. gününde ise önemli ($P < 0.05$)



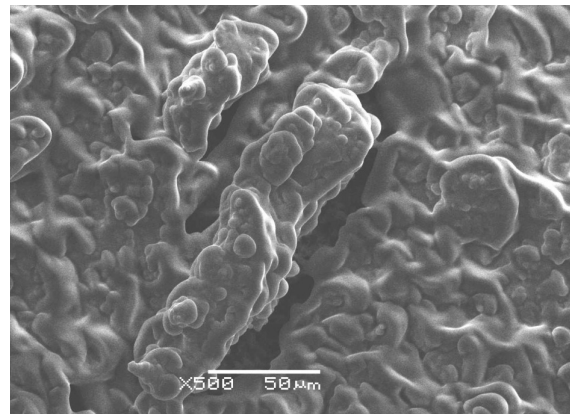
A



B



C



D

Şekil 2. Ayran örneklerinin SEM görüntüleri

A: Kontrol (TGase ilavesiz), B: TGase ve starter kültür aynı anda katılmıştır, C: Pastörizasyondan sonra TGase ile 10 dakika inkübasyon uygulamıştır, D: Pastörizasyondan sonra TGase ile 1 saat inkübasyon uygulanmıştır.

bulunmuştur. Depolamanın 20. gününde istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenen farklılık enzim ilavesi, enzim katım aşaması ve enzimle inkübasyon süreleri ile ilişkilendirilmemektedir. Çünkü; depolamanın 1. ve 10. günlerinde en düşük asetaldehit içeriği enzim içermeyen kontrol örneğinde saptanmıştır. Bu nedenle 20. günde enzim ilaveli örneklerden farklı olarak 1 nolu kontrol örneğinde yüksek olarak belirlenen asetaldehit içeriği önemsiz bulunmuştur. Depolamada tüm örneklerin asetaldehit içeriğinde azalma olduğu tespit edilmiştir. Asetaldehit, kolaylıkla asetata okside olabileme özelliğine sahip olduğundan depolama sırasında oksidasyona dayalı bir miktar asetaldehit kaybı görülebilmektedir (2). Enzimin Ayran örneklerinin diasetil ve aseton içeriklerine önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Örneklerde bütanon-2 tespit edilmemiştir.

SONUÇ

Sonuçlar geleneksel yöntemle Ayran üretiminde TGase enzimi ilavesinin ürünün niteliklerini geliştirmek için etkili bir yöntem olduğunu desteklemektedir. Ayran üretiminde TGase uygulaması ile viskozitede önemli oranda artış ve serum ayrılmasında azalma sağlanmıştır. Ayrıca; enzim ilavesinin ürünün duyu özelliklerini olumsuz yönde etkilemediği ve enzim ilaveli örneklerin panelistler tarafından daha fazla beğenildiği belirtilmiştir. Araştırmada elde edilen sonuçlara göre, Ayran üretiminde pastörizasyondan sonra enzimle 1 saat inkübasyon uygulanan süttün en iyi niteliklere sahip ürün elde edilmiştir. Bununla birlikte, endüstriyel uygulamalarda iş sürekliliğinin sağlanması için zamanın önemli bir kriter olduğu düşünülürse, yine üründe önemli gelişmeler sağladığı belirlenen pastörizasyon işleminden sonra süttün enzimle 10 dakika inkübasyonu da önerilebilir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma 2006-07-093 nolu proje ile Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Çizelge 3. Ayran örneklerinin aroma bileşenleri (n=3)

Örnek	Depolama süresi (Gün)	A	B	C	D
Asetaldehit (mg/kg)	1	41.20±2.750	49.94±7.050	46.46±10.98	50.75±7.630
	10	39.14±0.830	44.23±5.590	43.67±3.840	42.73±0.954
	20	15.51±1.105 ^a	11.16±1.585 ^b	11.27±1.170 ^b	9.44±0.095 ^b
Aseton (mg/kg)	1	3.98±0.010 ^c	4.13±0.111 ^b	5.01±0.070 ^a	4.35±0.141 ^d
	10	4.13±0.122	5.01±0.815	4.79±0.065	4.51±0.903
	20	4.31±0.072	4.99±0.734	5.24±0.160	5.02±0.525
Diasetil (mg/kg)	1	18.85±0.911	18.64±0.544	18.19±0.911	19.93±0.539
	10	16.87±0.849	17.09±0.910	18.54±1.348	17.82±1.026
	20	17.74±1.275 ^a	16.05±0.035 ^b	17.26±0.085 ^a	15.98±0.430 ^b

Aynı satırdaki farklı harfler ortalamalar arasında farkın $P < 0.05$ seviyesinde önemli olduğunu gösterir. A: Kontrol (TGase ilavesiz), B: TGase ve starter kültür aynı anda katılmıştır, C: Pastörizasyondan sonra TGase ile 10 dakika inkübasyon uygulamasıdır, D: Pastörizasyondan sonra TGase ile 1 saat inkübasyon uygulanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Anon. 2001. Türk Gıda Kodeksi. Fermente Sütler Tebliği (2001/21). Tarım ve Köyişleri Bakanlığı. 03.09.2001 tarih ve 24512 sayılı Resmi Gazete, Ankara.
2. Özer, B. 2006. *Yoğurt Bilimi ve Teknolojisi*. Sidas Medya LTD. STİ. , İzmir, 488 sy.
3. Özünlü Tamaçay, B., Koçak, C., Aydemir, S. 2007. *Ayran Stabilitelerini Etkileyen Faktörler*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no:35, Ankara, 43 sy.
4. Renner, E. 1991. *Dictionary of milk ve dairying*. Printing Pustet Resenburg, Germany, 384 p.
5. Pereira, R.B., Singh, H., Munro, P.A. and Luckman, M.S. 2003. Sensory ve instrumental textural characteristics of acid milk gels. *Int Dairy J*, 13, 655-667.
6. Tamime, A.Y., Robinson, R.K. 1985. *Yoghurt: Science ve Technology*. Background to Manufacturing Practice, Oxford, 431 p.
7. Faergamand, M., Otte, J., Qvist, K. B. 1998. Emulsifying properties of milk proteins cross-linked with microbial transglutaminase. *Int Dairy J*, 8, 715-723.
8. Yıldırım, M., Hettiarachchy, N. S., Kalapathy, U. 1996. Properties of biopolymers from cross-linking whey protein isolate and soybean 11S globulin. *J Food Sci*, 61, 1129-1132.
9. Imm, J.Y., Lee, C.M. 2000. Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. *Food Chem Toxicol*, 65 (2), 200-205.
10. Gerrard, J. A. 2002. Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications. *Trends in Food Sci Technol*, 13, 389-397.
11. Doi, E. 1993. Gels and gelling of globular proteins. *Trends Food Sci Technol*, 4, 1-5.
12. Ya-Tanimoto, S., Kinsella, E.J. 1988. Enzymatic modification of proteins: Effects of transglutaminase cross-linking on some physical properties of β -lactoglobulin. *J Agric Food Chem*, 36, 281-285.

13. Faergemand, M., Sorensen, M., Jorgensen, U., Budolfson, G., Qvist, K. B. 1999. Transglutaminase: effect on instrumental ve sensory texture of set style yoghurt. *Milchwissenschaft*, 54 (10), 563-566.
14. Sakamoto, H., Kumazawa, Y., Motoki, M. 1994. Strenght of protein gels prepared with microbial transglutaminase as related to reaction conditions. *J Food Sci*, 5(4) 866-871.
15. Motoki, M., Seguro, K. 1998. Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in Food Sci Technol*, 9, 204-210.
16. Dickinson, E., Yamamoto, Y. 1996. Reology of milk protein gels ve protein-stabilized emulsion gels cross-linked with transglutaminase. *J Agric Food Chem*, 44, 1371-1377.
17. Lauber, S., Henle, T., Klostermeyer, H. 2000. Relationship between the crosslinking of caseins by transglutaminase and the jel strength of yoghurt. *Eur Food Res Technol*, 210, 305-309.
18. Lorenzen, P.C. 2000. Techno-functional propeties of transglutaminase-treated milk proteins. *Milchwissenschaft*, 55 (12), 667-670.
19. Kuraishi, C., Katsutoshi, Y., Susa, Y. 2001. Transglutaminase: Its utulization in the food industry. *Food Rev Int*, 17 (2), 221-246.
20. Faergemand, M., Murray, B.S., Dickinson, E., Qvist, K.B. 1999b. Cross-linking of absorbed casein films with transglutaminase. *Int Dairy J*, 9, 343-346.
21. Anon. 2003. TS 3810 " Ayran- Kısa Ömürlü", Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
22. Anon.2002 . TS 1018 " İnek Sütü-Çiğ", Türk Standartlar Enstitüsü, Ankara.
23. IDF. 1993. Milk determination of nitrogen content, IDF: 20B, International Dairy Federation: 41, Brussels, p. 12.
24. Steinholt, K., Calbert, H.E.A. 1996. Rapid colorimetric method for determination of lactic acid in milk ve milk products, *Milchwissenschaft*, 15, 7-10.
25. Hull, M. E. 1947. Studies on milk proteins. II. Colorimetric determination of the partial hydrolysis of the proteins in milk. *J Dairy Sci*, 30, 881-884.
26. Atamer, M., Sezgin, E. 1986. Yoğurtlarda kurumadde artırımının fiziksel özellikler üzerine etkisi, *GIDA*, 11, 327-331.
27. Bodyfelt, F.W. 1988. *The sensory evulation of dairy products*. An AVI Book Published by Van Nostrve Reinhold, New York, 598 p.
28. Ulbert, F. 1991. Headspace gas chromatographhic estimation of some yogurt volatiles, *J Assoc Off Anal Chem*, 74, 630-634.
29. Hayat, M.A. 1981. *Principles ve techniques of electron microscopy* - Vol. 1. Edward Arlond Lt., London, 522 p.
30. Düzgüneş, O., Kesici, T., Kavuncu, U., Gürbüz, F. 1987. Araştırma ve deneme metotları (*İstatistik metotları-ID*). Ankara Üni. Ziraat Fak. Yayınları, Yayın no:1021, Ankara, 382 sy.
31. Lorenzen, P.C., Schlimme, E. 1998. Properties ve potential fields of application of transglutaminase preparations in dairying. *Internanional Dairy Federation-332*, 47-53.
32. Yüksel, Z. 2007. Transglutaminazın süt proteinlerinin bazı işlevsel özelliklerinin değişimi üzerine etkisi ve yoğurt ve peynire uygulanabilirliği. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Gıda Müh. Anabilim Dalı, Ankara, Türkiye, 127 sy.
33. Tamime, A.Y., Robinson, R.K. 1999. *Yoghurt Science ve Technology*. Second Edition, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 619 p.
34. Atamer, M., Yıldırım, M., Dağlıoğlu, O. 1993. Set ve Süzme Yoğurtlarının depolama sürecindeki tat-aroma değişimi üzerine asitlik gelişimi, lipoliz, oksidasyon ve proteolizin etkisi, *Doğa-Tr J of Vet ve Anim Sci*, 17, 49-53.
35. Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner Schlimme, E. 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *Int J Dairy Technol*, 55 (3), 152-157.
36. Kırmacı, H. A., Özer, B., Türkoğlu, H. 2004. Effect of enzymatic cross-linking of proteins on textural properties of non-fat yoghurt. International Dairy Symposium, 24-28 May, Isparta, Türkiye, 386 p.
37. Özer, B., Kırmacı, H.A., Öztekin, Ş., Hayaloğlu, A. and Atamer, M. 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *Int Dairy J*, 17, 2, 199-207.
38. O'Sullivan, M.M., Lorenzen, P.C., O'Connell, J.E., Kelly, A.L., Schliimme, E., Fox, P.F. 2001. Short communication: Influence of transglutaminase on the heat stability of milk. *J Dairy Sci*, 84, 1331-1334.
39. Farnsworth, J.P., Li, J., Guo, M.R. 2003. Improved structure ve consistency of probiotic's milk yogurt. *The Australian J Dairy Technol*, 58 (2), 187.
40. Gauche, C., Tomazi, T., Barreto, P. L. M., Oglari, P. J., Bordignon-Luiz, M. T. 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey ve transglutaminase. *LWT- Food Sci Technol*, 42, 239-243.