

MEMBRAN TEKNİKLERİ (UF ve RO) İLE KURUMADDE ARTIRIMININ SÜTÜN SÜLFİDRİL (-SH) ve DİSÜLFİD (S-S) GRUPLARI ÜZERİNE ETKİLERİ

EFFECT OF ELEVATION OF TOTAL SOLIDS BY MEMBRANE TECHNIQUES (UF AND RO) THE THIOL (-SH) AND DISULPHIDE (S-S) GROUPS IN MILK

H.Barbaros ÖZER

Harran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü, 63040, Şanlıurfa

ÖZET: Bu çalışmada membran teknikleri (ultrafiltrasyon ve reverse osmosis) ile kurumadde artırımının, inek sütlerinde toplam ve reaktif sülfidril (-SH), 1/2 sistin ve toplam disülfid (S-S) grupları konsantrasyonları üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, kontrol örneğinin (%12 KM) daha düşük konsantrasyonda toplam sülfidril grubuna sahip olmasına rağmen oransal olarak daha fazla reaktif olmuş sülfidril grubu içerdiği görülmüştür. Bu örneği sırasıyla ultrafiltre edilen süt (%16 KM) ve reverse osmosis süt (%16 KM) örnekleri izlemiştir. Sonuç olarak, aşırı protein agregasyonunun ve laktoz konsantrasyonundaki artışın sülfidril grupları reaktivasyonunu bir dereceye kadar engellediği düşünülmektedir.

ABSTRACT: In this study, the effects of total solids elevation by membrane techniques (ultrafiltration and reverse osmosis) on the total sulphhydryl, reactive sulphhydryl, 1/2 cystin and total disulphide groups were investigated. According to results obtained, although the control sample had lower concentration of total sulphhydryl groups than the others, it included relatively higher reactive sulphhydryl groups. This sample was followed by ultrafiltered-and revers osmosis applied samples, respectively. To conclude, it is assumed that excess protein aggregation and high lactose concentration prevent the heat-induced reactivation of sulphhydryl groups in milk.

GİRİŞ

Sütün toplam ve reaktif sülfidril grupları (-SH), süt e ürünlerinin fiziko-kimyasal özelliklerinin belirlenmesinde rol oynayan önemli fonksiyonel gruplardır. Serum proteinleri (özellikle β -laktoglobulin) ve κ -kazein arasındaki ısı ile teşvik edilmiş interaksyonlar bu iki fonksiyonel grup üzerinden gerçekleşmektedir (HASHIMOTO ve SATO, 1988; HILL, 1989). Sülfidril ve disülfid grupları arasındaki interaksyonlar, süt ürünlerinde farklı sonuçlar doğurmaktadır. Örneğin, uygulanan sıcaklık-süre normuna bağlı olarak, klasik yöntemle strelize edilmiş sütlerde bir tat/aroma kusuru olarak tanımlanan "pişmiş tat" oluşumu (GAFFAR, 1987), yine UHT sütlerde depolama sırasında gözlenen ve mikrobiyel kökenli olmayan jelleşme (age-gelation) (BURTON, 1988) ve peynirlerde pıhtılaşma süresinin uzaması ile verim azalması gibi olumsuz sonuçlar ile karşılaşmaktadır (FOX, 1987). Bunun aksine, jel oluşumunun tamamen serum proteinleri ile kazeinler arasındaki interaksyonlara bağlı olduğu yoğurt jeli gibi asit-kazein jellerinde ise sülfidril ve disülfid grupları arasındaki ısı ile indüklenmiş ara değişim reaksiyonları üç boyutlu network oluşumu için zorunludur (TAMIME ve ROBINSON, 1985).

Sülfidril ve disülfid grupları arasındaki interaksyonların düzeyi bir çok faktörden etkilenmektedir. Bu faktörler arasında ısı yoğunluğu birincil öneme sahiptir. β -laktoglobulin'in sistein/sistin rezidülerinde yer alan sülfidril gruplarının reaktivasyonu, sıcaklık artışı ile artış göstermektedir (HILL, 1989). Bu reaktivasyonda süt içerisinde ısı dağılımını etkileyen yağsız kurumadde ya da yağ içeriğindeki artış gibi faktörler reaktivasyon düzeyini de etkilemektedir. Aynı şekilde protein içeriğinde meydana gelen değişimler de sülfidril gruplarının ısı ile reaktivasyonunu ve dolayısıyla disülfid grupları ile interaksyonların düzeyini etkilemektedir. Kurumadde içeriğinde meydana gelen artışa paralel olarak protein içeriğinin artması doğal olarak sülfidril gruplarının konsantrasyonunda da artışı beraberinde getirmektedir. Ancak, protein konsantrasyonundaki artış ile birlikte kazeinlerin misel düzeyinde heterojenitesi de artmakta ve ısı ile birlikte reaksiyona açık hale gelme eğilimindeki

sülfidril gruplarının sayısında azalma görülebilmektedir. Bu durum, ısının yoğun yapıdaki proteinlerin iç kısmına penetrasyonunun yavaş olmasından kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, β -laktoglobulin A,B ve C varyantlarının sülfidril konsantrasyonları farklı olduğundan farklı düzeylerde interaksiyonlar vermektedir. Örneğin, β -laktoglobulin A,B ve C varyantları sırasıyla %37, %55 ve %72 düzeyinde disülfidlerle ara değişim reaksiyonu vermektedir (SAWYER, 1969; ÖZER ve ATAMER, 1994). Sütün pH değeri, kalsiyum ve laktoz konsantrasyonları ise dolaylı olarak bu iki grup arasındaki interaksiyonları etkilemektedir. pH'nın düşmesi ile birlikte serum proteini denatürasyonunun ve dolayısıyla sülfidril/disülfid interaksiyonlarının hızı yavaşlamaktadır (HILLIER ve LYSTER, 1979). Ancak, kazeinler ile serum proteinleri arasındaki interaksiyonlarda artış görülmektedir. Bu durum bu iki protein fraksiyonu arasındaki interaksiyonlarda elektrostatik interaksiyonlarında rol oynadığı kanıtlanmaktadır (ÖZER, 1997). Benzer şekilde kalsiyum içeriğindeki artış da serum proteinlerinde denatürasyon ve interaksiyon düzeylerinde azalmaya neden olmaktadır (DUMAY ve CHEFTEL, 1989). Laktoz ise sülfidril gruplarının aktif bölgeleri ile glikolitik bağlantı yaparak disülfid gruplarının bu bölgelere bağlantılarını engellemektedir (GARRET ve ark., 1988).

Gerek ısı uygulaması, gerekse lakto, kalsiyum konsantrasyonu ve pH gibi diğer çevresel faktörlerin sülfidril/disülfid grupları arasındaki interaksiyonlar üzerindeki etkileri üzerine bir çok çalışma bulunmaktadır. Ancak, farklı yöntemler ile kurumadde artırımının bu reaksiyon tipi üzerindeki etkileri henüz araştırılmamıştır. Bu durum özellikle kurumaddesi artırılmış yoğurtlarda jel özelliklerinin belirlenmesinde önemli rol olmaktadır. Planlanan bu çalışmada, kurumaddesi ayarlanmamış inek sütü (~%12 KM) ile ultrafiltrasyon ve reverse osmosis teknikleri ile kurumaddeleri artırılmış (~%16 KM) inek sütlerinde kurumadde artırımının, a) toplam sülfidril, b) reaktif sülfidril, c) 1/2 sistin ve d) toplam S-S içeriklerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM

Araştırmada taze ve inek sütü kullanılmıştır. Süzme yolu ile kaba pisliklerinden arındırılan sütler üç bölüme ayrılmıştır. Birinci kısım süt kontrol örneği olarak seçilmiştir (~%12 KM, w/v). İkinci kısım süt, bir pilot-tip ultrafiltrasyon aleti (Paterson Candy International) ile %16 (w/v) kurumadde düzeyine kadar koyulaştırılmıştır. Kullanılan ultrafiltrasyon aletinin separasyon sınırı 25,000 Dalton; yüzey alanı 0,8 m²; tipi ES 625'dir ve polieter sülfon membran içermektedir. Üçüncü kısım süt ise reverse osmosis tekniği ile ~%16 (w/v) düzeyine kadar konsantre edilmiştir. Kullanılan reverse osmosis aletinin (Paterson Candy International) yüzey alanı 1,2 m²; tipi ZF 99'dur ve polieter sülfon membran içermektedir. Her iki membran tekniğinde de koyulaştırma sıcaklığı; 50°C olarak belirlenmiştir ve sıcaklık değişimleri membran cidarlarından buzlu su sirkülasyonu ile kontrol altında tutulmuştur. Konsantre edilen sütler 100 ml'lik koyu renkli cam şişelerde saklanmış ve 1 saat içerisinde sülfidril ve disülfid gruplarının belirlenmesi için analize alınmıştır. Ayrıca, mikroskopik analizlerde kullanılmak üzere her bir grup süttten yoğurt üretilmiştir. 85°C'de 20 dakika ısıtma işlemi tabii tutulan sütler ardından 43°C'ye soğutulmuş ve %2 (v/v) starter kültür ile inoküle edilmişlerdir. Yoğurt üretiminde starter olarak *Streptococcus thermophilus* ile *Lactobacillus delbrueckii* sub-sp *bulgaricus* karışım kültüründen (1:1) yararlanılmıştır (kültür kodu CH-1). 43°C'de pH 4.5'e kadar inkübe edilen sütler 12 saat boyunca (+) 4°C'de depolandıktan sonra konfokal lazer mikroskobu ile mikro yapının belirlenmesi amacıyla analiz edilmiştir.

Kimyasal Analizler

Sütte kurumadde tayini BS 1741'e göre yapılmıştır (BSI, 1963). Protein (azot x 6.38) tayininde standad mikro-Kjeldahl metodu kullanılmıştır (BSI, 1988a). Yağ Gerber metoduna göre (BSI, 1989), kül ise BS 1741'e göre (BSI, 1988b) belirlenmiştir. Laktoz içeriği fark yolu ile hesaplanmıştır.

Reaktif sülfidril gruplarının saptanması: 10 saniye süre ile azot gazı verilmiş 5 ml süt örneği, 8 ml fosfat tampon çözeltisi ile (%2 Na₂HPO₄·2H₂O, pH 9,2-9,3) seyreltilerek pH'sı 8,0'a ayarlanmıştır. Daha sonra bu karışım, üzerine 0.1 ml 5-5'-Dithiobis (2-nitrobenzoik asit) (DTNB ya da Ellman's çözeltisi) eklenerek renk

gelişimi için 5 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. DTNB çözeltisi; pH 7,0'de 21,9 g/litre konsantrasyonda $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ ve 6,07 g/litre konsantrasyonda $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ içeren 0,1 M fosfat tamponunun 10 ml'si içerisinde 20 mg DTNB çözündürülmesi ile hazırlanmıştır. 5 dakikalık bekleme süresinin sonunda 6,9 ml doymuş amonyum sülfat eklenen çözelti 15,000 rpm devirde ve 4°C'de 30 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda sıvı kısım Whatman GF/F filtre kağıdı aracılığı ile süzümüştür. Sonuçlar, sülfidril grupları ile spesifik bir reaksiyon veren tiyofenol gruplarının absorpsansı 412 nm dalga boyunda ölçülerek hesaplanmıştır.

Toplam sülfidril gruplarının saptanması: 10 saniye boyunca azot gazı injekte edilen 1 ml süt örneği gömülü tüm sülfidril gruplarını aktive etmek amacıyla 9 ml 8 M üre ile karıştırılmıştır. Ardından, karışımın pH'sını 8,0'a ayarlamak için %2'lik fosfat tamponundan 4,9 ml ilave edilmiştir. Son olarak da 0,1 ml DTNB çözeltisinden katılan örnek renk gelişimi için oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. 15,000 rpm devirde ve 4°C'de 30 dakikalık santrifüj sonunda elde edilen berrak kısım Whatman GF/F filtre kağıdından süzümüştür ve süzüntünün absorpsansı 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur.

1/2 Sistin gruplarının saptanması: Analiz prosedürü yukarıda belirtilen yöntemler ile benzerlik göstermektedir. Yalnızca, analiz öncesi sülfidril gruplarının indirgenmesi amacıyla sodyum borohidrat (NaBH_4) kullanılmıştır. 1 ml süt örneği üzerine 8 M'lik üre çözeltisinden 9 ml katıldıktan sonra 1 ml buz içerisinde soğutulmuş NaBH_4 (20 mg/ml) çözeltisi ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 30 dakikalık beklemenin ardından örnekler 15,000 rpm devirde 30 dakika santrifüj edilmiştir (4°C). Taze hazırlanmış 3 N HCl ve aseton karışımından (1:1, v/v) 1 ml ilave edilerek NaBH_4 'ün fazlası dekompoze edilmiştir. Zehirli gaz olan BH_3 'ün açığa çıkışını ve köpük oluşumunu engellemek için dekompozisyon işlemi çok yavaş gerçekleştirilmiştir. Dekompozisyonun ardından örnekler oda sıcaklığında 5 dakika süreyle azot gazı ile muamele edilmişlerdir. Daha sonra; 0,375 N NaOH'tan 2,9 ml ilave edilerek pH 8'e ayarlanmıştır. Son olarak, çözeltiye 0,1 ml DTNB katılarak oda sıcaklığında 5 dakika renk gelişimi için bekletilmiş ve Whatman GF/F filtre kağıdından süzülen örneklerin absorpsansı 412 nm dalga boyunda ölçümüştür. Toplam sülfidril, reaktif sülfidril ve 1/2 sistin grupları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Hesaplama kullanılan molar absorpsiyon katsayısı 13,600 litre $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ dir.

$$C = A_{412} - D/e$$

- C : Gerekli konsantrasyon (mol/litre)
 A_{412} : 412 nm'deki absorpsans
 e : Molar absorpsiyon katsayısı 13,600 litre. $\text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ (Ellman, 1959)
 D : Dilüsyon faktörü (toplam hacim/örnek miktarı)

Toplam disülfid grupları, 1/2 sistin ve toplam sülfidril grupları arasındaki fark olarak ifade edilmiştir.

Konfokal Lazer Mikroskopu (Confocal Laser Microscopy): Araştırmada Zeiss LSM II Confocal Laser Scanning Microscopy (CLSM) kullanılmıştır. Hava soğutmalı bir iyon lazer bağlantısı (helyum/neon lazer ışınları) buluan alette 633 nm'de protein dağılımı incelenmiştir (N.A. = 1.41). Boya maddesi olarak %0.3 oranında Fast Green (BDH/Merck, Poole, UK) kullanılmıştır. Yoğurt örneği bir örnek kabının içerisine yerleştirilmiş (3 mm kalınlığında cam plaka, 25x35 mm) ve boya maddesi örneğin üzerine çözelti halinde ilave edilmiştir. Boyanın tamamıyla absorpsiyonu için örnek kabı oda sıcaklığında 24 saat tutulmuştur.

İstatistiksel Değerlendirmeler: Elde edilen sonuçlar ANOVA testine tabi tutulmuştur (STEEL ve TORRIES, 1980).

SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Deneme örneklerinin kimyasal kompozisyonu Çizelge 1'de gösterilmektedir. Buna göre, kontrol örneğinin (%12 KM, w/v) kimyasal kompozisyonu inek sütü ortalama kimyasal bileşimi ile yakınlık göstermektedir. Membran tekniği ile kurumaddesi artırılan sütlerde ise bileşim farklılıklar göstermiştir.

Ultrafiltrasyon ile koyulaştırılan sütlerde yağ (%5.89) ve protein (%6.11) içerikleri koyulaştırma faktöründen daha fazla oranda artarken, laktoz konsantrasyonunda azalma meydana gelmiştir. Bunun nedeni kullanılan ultrafiltrasyon membranının laktoz gibi molekül ağırlığı 25,000 Dalton'dan düşük süt bileşenlerini ayırma yeteneğinde olmasıdır. Reverse osmosis ile koyulaştırılan örnekte ise tüm süt bileşenleri koyulaştırma faktörü ile doğru orantılı olarak artış göstermiştir. Reverse osmosis tekniğinde yalnızca su ile birlikte çok küçük moleküllü unsurlar ayrıldığından tüm süt bileşenlerinde koyulaştırma faktörü ile orantılı artış meydana gelmiştir.

Değişik yöntemler ile kurumadesi artırılan sütlerin toplam sülfidril, reaktif sülfidril, 1/2 sistin ve toplam disülfid konsantrasyonları Çizelge 2'de sunulmuştur. Doğal olarak toplam sülfidril gruplarının konsantrasyonunda, protein konsantrasyonundaki artışa paralel artış gözlenmiştir. Reaktif sülfidril gruplarında da benzer eğilim saptanmıştır. Ultrafiltrasyon ile konsantre edilen örnekte reaktif sülfidril grupları konsantrasyonu çok daha yüksek iken ($1,85 \times 10^{-5}$ mmol/L) bunu reverse osmosis ($0,88 \times 10^{-5}$ mmol/L) ve kontrol ($0,55 \times 10^{-5}$ mmol/L) örnekleri izlemiştir.

Çizelge 2. Test Örneklerinin Toplam SH, Reaktif SH, 1/2 Sistin ve Toplam S-S Konsantrasyonları ($\times 10^{-5}$ mmol/L) (n = 3).

Örnek	Σ -SH	Reaktif-SH	1/2 Sistin	Σ S-S
Kontrol	1,33±0,10	0,55±0,02	0,23±0,07	1,10±0,02
UF	6,86±0,17	1,85±0,23	2,20±0,16	4,66±0,04
RO	4,68±0,17	0,88±0,03	1,72±0,09	2,96±0,06

Ancak reaktif sülfidril gruplarının toplam sülfidril grupları içerisindeki oranının protein konsantrasyonundan bağımsız olduğu bulunmuştur. Buna göre, kontrol örneğinde toplam sülfidril gruplarının %41'i ısı işlem sonunda reaktif hale gelirken bu oran en yüksek protein içeriğine sahip ultrafiltre süt örneğinde yaklaşık %27 ve reverse osmosis uygulanmış süt örneğinde de yaklaşık %18 olarak saptanmıştır. Bilindiği gibi, kazeinler misel yapıları nedeniyle heterojen bir yapıya sahiptirler (WONG, 1988). Bu yapının iç kısımlarında α -ve β -kazeinler yer alırken κ -kazein yoğun olarak miselin dış kısmında lokalize olmuştur (JENSEN, 1995). Protein konsantrasyonunda meydana gelen artış, daha fazla sayıda kazein molekülünün misel üzerinde fiziksel olarak yığılmasına yol açtığından bu heterojen yapıyı desteklemektedir. Bu nedenle düşük protein konsantrasyonundaki kontrol örneğinde toplam sülfidril gruplarının yaklaşık yarısı reaktif olurken, bu oran diğer örneklerde çok daha düşük bulunmuştur. Miselin iç kısımlarda yer alan kazein moleküllerinin sahip olduğu sistin ve sistein residülerinin sülfidril gruplarının reaksiyona açık hale gelmesi ısı yoğunluğuna bağlıdır. Kurumadde konsantrasyonunda meydana gelen artış ile birlikte ısı iletkenliğinde bir miktar düşme beklenmektedir. Her ne kadar böylesi önemli bir farklılık yaklaşık %4'lük bir kurumadde farkına tek başına dayandırılmazsa da bu faktörün de sülfidril reaktivasyonunu engelleyebileceği düşünülmektedir.

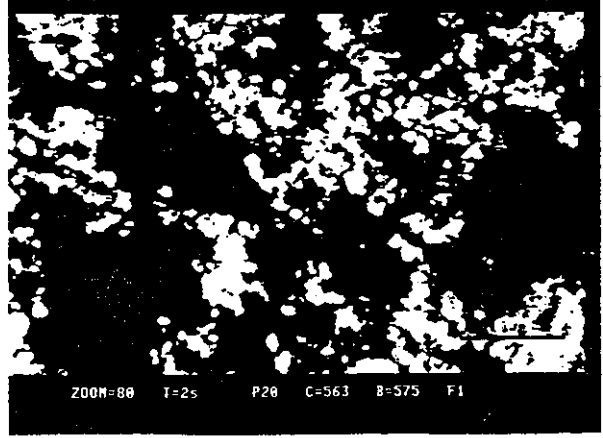
Toplam disülfid grupları konsantrasyonu da protein içeriğindeki artışa paralel olarak artış göstermiştir. Buna karşın, kontrol örneğinde 1 mol disülfid grubu (S-S) ile 0,50 mol sülfidril grubu (-SH) reaksiyona girerken bu oran ultrafiltre sütte, 0,40 mol-SH/1 mol S-S ve reverse osmosis sütte ise 0,40 mol-SH/1 mol S-S ve reverse osmosis sütte ise 0,30 mol -SH/1 mol S-S, olarak bulunmuştur. Reverse osmosis uygulanmış sütte gerek reaktivasyona uğrayan sülfidril grupları gerekse reaktif olmuş sülfidril grupları ile reaksiyona girebilen disülfid gruplarının konsantrasyonlarının düşük olmasının temel nedeni, bu sütte laktoz içeriğinin yüksek olmasıdır. Genel olarak, şekerler protein konformasyonu ve ısı denatürasyonu/kuagülasyonu üzerinde etkili

Çizelge 1. Test Örneklerinin Kimyasal Kompozisyonu (g/100 ml süt) (n = 3).

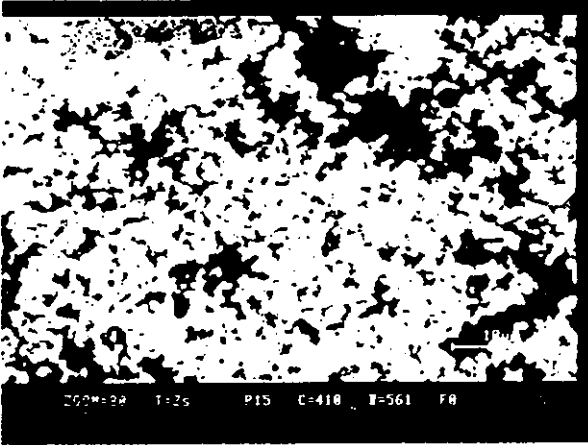
Örnek	Toplam Kurumadde	Yağ	Protein	LaktozŞ	Kül
Kontrol	12,03±0,11	3,38±0,19	3,28±0,06	4,63±0,04	0,74±0,01
UF	16,30±0,16	5,89±0,15	6,11±0,17	3,74±0,09	0,56±0,06
RO	16,10±0,07	4,35±0,09	4,75±0,20	6,25±0,18	0,75±0,06

Ş Laktoz içeriği diğer kurumadde bileşenlerinin toplam kurumadedden farkı yolu ile

olmaktadırlar. Örneğin; şeker ve şeker derivatları ovalbuminde sülfidril gruplarının ısı etkisi ile reaktivasyonunu engellemektedir (BALL ve ark., 1943). Benzer şekilde, glikoz ve sakkaroz gibi hidroksil grubu içeren şekerler proteinlerin üre ile denatürasyonu üzerinde inhibisyon etkisi yaratmaktadır (SIMPSON ve KAUZMANN, 1953). Buna karşın, etanol gibi alkoller denatürasyona hız kazandırmaktadır. Sütte, α -laktalbumin, laktoz sintaz enziminin aktif bölgesine bağlanmakta ve glukozu karşı yüksek bir affinite göstermektedir (LAMBRIGHT ve ark., 1985). Sütte laktoz konsantrasyonundaki artış ile birlikte denatürasyon ve sülfidril gruplarının reaktivasyon kinetiği değişmektedir (CLEMENT-METRAL ve YON, 1968; GARRET ve ark., 1988; PARRIS ve ark., 1993). Buna bağlı olarak, laktozun glikozil rezidüleri ile β -laktoglobulin arasında glukonik ve melibiyonik asitler aracılığı ile kovalent bağlantı oluşmaktadır. Bunun sonucunda da protein çözünürlüğü ve ısı stabilitesinde artış meydana gelmektedir (KITABATAKE ve ark., 1985). Laktoz gibi sakkarou da α -laktalbumin ile β -laktoglobulin arasındaki sülfidril-disülfid ara değişim reaksiyonlarını engellediği bilinmektedir



Şekil 1. Kontrol yoğurduna ait CLSM fotoğrafı. (Ölçek 10 μ m).

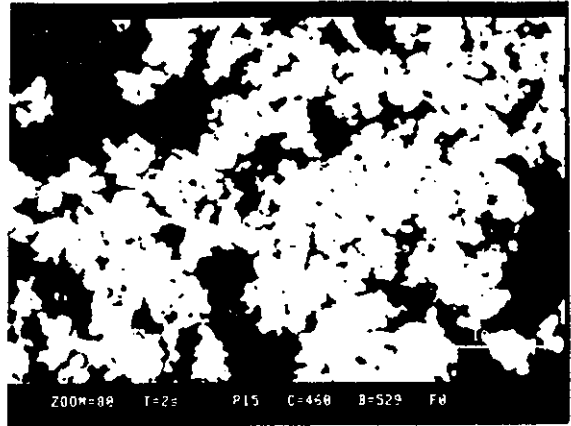


Şekil 2. UF-yoğurduna ait CLSM fotoğrafı. (Ölçek 10 μ m).

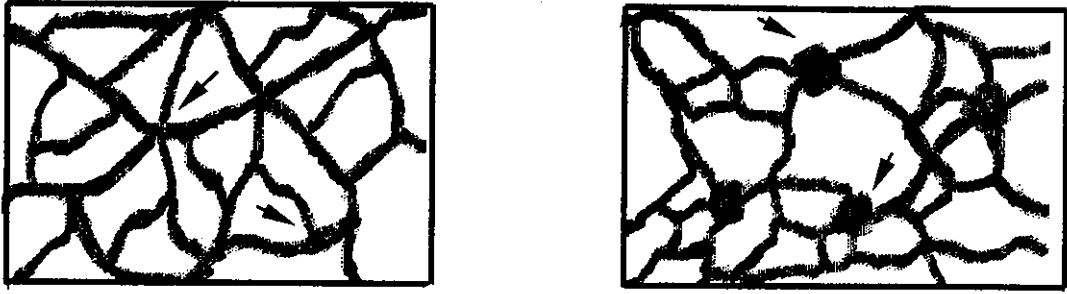
(0,30 mmol -SH/1 mol S-S) düşük bulunmuştur.

Deneme yoğur örneklerine ait CLSM fotoğrafları Şekil 1-3'de sunulmaktadır. Fotoğraflardan da görülebileceği gibi kurumadde artışı ile birlikte yoğurt örneklerinin mikro yapılarında yoğunluk artmıştır. Aynı kurumadde konsantrasyonuna sahip örneklerden ultrafiltre yoğurdun daha yüksek protein konsantrasyonu nedeniyle daha az boşluğa sahip olduğu görülmüştür. Yoğurt jeli; partikül yapısında, heterojen bir asit-kazein jelidir (ROEFS, 1986). Protein konsantrasyonu arttıkça heterojenite de artmaktadır (Şekil 4). Bu durumda,

(HILLIER ve LYSTER, 1979). Bu çalışmada reverse osmosis ile koyulaştırılan örnekte laktoz konsantrasyonu diğer örneklerden yüksek bulunmuştur. Bu kadar yüksek laktoz içeriğinin serum proteini denatürasyonu ve ardından gelen ve sülfidril/disülfid grupları ara değişim reaksiyonlarını içeren mekanizmanın kinetiğini değiştirdiği sanılmaktadır. Bunun sonucunda da reverse osmosis uygulanmış süt örneğinde hem reaktif olmuş sülfidrillerin toplam sülfidril grupları içerisindeki oranı (%18) hem de reaktif sülfidril ile reaksiyona girebilen disülfid gruplarının oranı



Şekil 3. Reverse osmosis yoğurda ait CLSM fotoğrafı. (Ölçek 10 μ m)/



Şekil 4. Yoğurt jelinin şematik gösterimi. (a) Homojen dağılımı, (b) Heterojen dağılım. Oklar protein birleşim noktalarını göstermektedir.

proteinler arasındaki interaksiyon noktalarındaki bağımsız protein sayısı da artış göstermektedir. Bir anlamda, yoğurt jelinde protein birleşim noktaları protein konsantrasyonundaki artış ile birlikte büyümekte ve interaksiyona girememiş protein molekülü sayısında nisbi artış meydana gelmektedir. Bunun doğal sonucunda da ısı etkisi ile reaktif olabilen sülfidril grupları konsantrasyonu düşmektedir. Daha önce açıklandığı gibi aynı durum misel yapısı için de sözkonusudur ve kurumadde/protein konsantrasyonu yüksek sütlerde kazein miseli boyutu fiziksel yığılım nedeniyle artmakta ve reaksiyona açık sülfidril grubu sayısı düşmektedir.

Sonuç olarak, ısı ile indüklenmiş asit-kazein jellerinde, jelin fiziksel özellikleri sülfidril ve disülfid grupları arasındaki interaksiyonları düzeyi ile yakından ilişkili olduğundan, bu interaksiyonları engelleyebilecek unsurların elimine edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, ultrafiltrasyon tekniği ile süt kurumaddesini artırma daha uygun bir yöntem olarak göze çarpmaktadır. Bu teknik ile üretilen yoğurtlarda ısı işlem normu değiştirilerek (daha uzun süre ya da daha yüksek sıcaklık) fiziksel kalitenin artırılabilceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- BALL, C.D., D.T. HARDT ve W.J. DUDDLES. 1943. The Influence of Sugar on the Formation of Sulphydryl Groups in Heat Denaturation and Heat Coagulation of Egg Albumin. *J. Biological Chem.* 151 163.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. 1963. Methods for the Chemical Analysis of Liquid Milk and Cream. BS 1741. London UK?
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. 1988a. Chemical Analyses of Liquid Milk and Cream. BS 1741: Section 5.1. London UK.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. 1988b. Chemical Analyses of Liquid Milk and Cream. BS 1741: Part 9. London UK.
- BRITISH STANDARDS INSTITUTION. 1989. Determination of Fat Content of Milk and Milk Products (Gerber method). BS 696: Part 2. London UK.
- BURTON, h. 1988. Ultra-High-Temperature Processing of Milk and Milk Products. Elsevier Applied Science, Londra 354 sayfa.
- CLEMENT-METRAL, L. ve J. YON. 1953. The Inhibition of Tryptic Proteolysis of α -lactoglobulin A by Sucrose and Some Other Sugars. Evidence as a Conformational Change of β -lactoglobulin A by Linkage With Sucrose. *Biochim. I Biophys. Acta.* 160 340-359.
- DUMAY, E. ve J.C. CHEFTEL. 1989. Heat Treatment of β -lactoglobulin A Concentrate at Slightly Alkaline pHs. Effect on the Solubility and Chromatographic Behaviour of β -lactoglobulin and α -lactalbumin. *Sci. Aliments* 9 561-582.
- FOX, P.F. 1987. Cheese: Chemistry, physics and Microbiology, Volume 1. Elsevier Applied Science, London, 400 sayfa.
- GAFFAR, A.M.M. 1987. Investigation into the Cooked Flavour in Heat-Treated Milk. Doktora Tezi, Reading University UK-199 sayfa.
- GARRET, J.M., R.A. STAIRS ve R.G. ANNETT. 1988. Thermal Denaturation and Coagulation of Whey Proteins: Effects of Sugar. *J. Dairy Sci.* 71 (10) 10-16.
- HASHIMOTO, K., ve T. SATO. 1988. Gel-Forming Characteristics of Milk Proteins. 2. Effects of Sulphydryl Groups and Disulphide Bonds. *J. Dairy Science* 71 1447-1454.
- HILL, A.R. The β -lactoglobulin/ κ -casein Complex. Review. *Canadian Ins. Food Sci. Technol. J.* 22 (2) 120x-123.
- HILLIER, R.M. ve R.L.J. LYSTER. 1979. Whey Protein Denaturation in Heated Milk and Cheese Whey. *J. Dairy Res.* 46 95.
- JENSEN, R.G. 1995. *Handbook of Milk Composition*. Academic Press Ltd. London, 919 sayfa.

- KITABATAKE, N., J.L. CUG ve J.C. CHEFTEL. 1985. Covalent Binding of Glycosyl Residues to β -lactoglobulin: Effects on Solubility and Heat Stability. *J. Agric Food Chem.* 33 125.
- LAMBRIGHT, D.G., T.K. LEE ve SS. WONG. 1985. Association-Dissociation Modulation of Enkzyme Activity: Case of Lactose Synthase: *Biochem.* 24 910.
- ÖZER, B.H. ve M. ATAMER, 1994. Yoğurt Jelinin Oluşumunda Serum Proteinlerinin Rolü. *Gıda* 19 (3) 155-159.
- ÖZER, B.H. 1997. *Rheological Properties of Labneh (Concentrated Yoghurt)*. Doktora tezi, Reading University, UK, 276 sayfa.
- PARRIS, N., S.G. ANEMA, H. SINGH ve L.K. CREAMER. 1993. Aggregation of Whey Proteins in Heated Sweet Whey. *J. Agric. Food Chem.* 41 460-464.
- ROEFS, S.P.F.M. 1986. Structure of Acid Casein Gels. Doktora tezi, Agricultural University, Wageningen, the Netherlands, 185 sayfa.
- SAWYER, H.W. 1969. Complex Between β -lactoglobulin and k-caseins. A Review. *J. Dairy Sci.* 52 (2) 1347-1353.
- SIMPSON, R.B. ve W. KAUMANN. 1953. Kinetics of Protein Denaturation. Behaviour of Optical Rotation of Ovalbumin in Urea Solutions. *J. American Chem. Soc.* 75 5139.
- STEEL, R.G.D. ve J.H. TORRIES. 1980. Principles and Procedures of Statistics. Mc Graw-Hill Book Co. Inc., New York, 490 sayfa.
- TAMIME, A.Y. ve R.K. ROBINSON. 1985. *Yoghurt: Science and Technology*. Pergamon Press Ltd. 431 sayfa.