

## SÜTÜN RENNET İLE PIHTILAŞMA SÜRESİ ÜZERİNDE SÜTÜN KURUMADDE DERİŞİMİNİN ETKİSİ

### THE EFFECT OF MILK CONCENTRATION ON THE RENNET COAGULATION TIME

Y.Kemal ERDEM

Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü ANKARA

**ÖZET:** Sütün yağsız kurumadde derişimine bağı olarak, rennet ile pıhtılaşma ve rennetleme süresi ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Pıhtılaşma ve rennetleme süreleri derişimin bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. Ayrıca viskozite ile yukarıda anılan süreler arasındaki ve bu iki sürenin birbirleri ile olan ilişkileri yine derişime bağı olarak denenmiştir. % 2-14 yağsız kurumadde içeriğindeki rekonstitüe örneklerde diğer koşullar değişmeksizin ve kontrol altında tutularak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Sonuçta sütün yağsız kurumadde (SYKm) derişiminin artması ile sürelerin de artma eğilimi gösterdiği ve ilişkinin doğrusal olduğu ( $r=0.95-1.00$ ) ortaya konulmuştur.

**SUMMARY:** Measurements have been made of the coagulation times and aggregation times of reconstituted skim milk samples with different solids nonfat concentration, when treated with commercial rennet. With samples, milk showed a large increase in clotting time with concentration of solids nonfat in 2-14 % range. The results are discussed in terms of a mechanism which reduces to a form similar to that proposed by DALGLEISH (1981).

### GİRİŐ VE KAYNAK TARAMASI

Sütün rennet ile kuagülasyonuna ilişkin olarak çok uzun zamandan beri bilim adamları emek harcamaktadırlar. Bu süreçte ortaya konulan bulgular çerçevesinde sütün rennetle kuagülasyon süresi iki aşamada incelenmektedir; kappa-kazeinin kimozin (E.C. 3.4.23.4) ile yüksek özgülük gösteren proteolizi,

$$E+S \xrightarrow[k_1]{k_2} ES \xrightarrow{k_3} E+P_1+CMP \quad (1)$$

ve bunu izleyen, oluşan para-kappa-kazein misellerinin ( $P_1$ ) flokülasyonu.

$$iP_1 \xrightarrow{k_s} P_i \quad (i=2,3,4,\dots) \quad (2)$$

Kimozin, kappa-kazeinin Phe-Met (105-106) bağıny ayırmaktadır. Bu tepkimenin yinelenme hızı  $100 \text{ s}^{-1}$  kadardır ve bu enzimatik tepkimeyi flokülasyon tepkimesinin izlemesi için kappa-kazeinin enaz % 75-95'inin hidrolize olması (bölünmesi) gerekmektedir (WALSTRA ve JENNES, 1984, HOOYDONK ve WALSTRA, 1987B, PAYENS, 1979, HOOYDONK ve BERG, 1982, VISSER ve Ark., 1986). Bu iki tepkimenin birbirini izleme derecesi-düzeyi; pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, kalsiyum derişimi, kurumadde (protein) derişimi ve süte rennetleme öncesi uygulanan ısıl işlemlere bağıdır (ERDEM, 1991).

(1) denkleğinin oluşum hızından da anlaşılabilceği gibi enzimatik tepkimenin hızı Michealis-Menten kinetikleriyle açıklanabilir. Ayrıca miselin dağılılabirliği enzim molekülününki ile karşılaştırıldığında ihmal edilebilir olduğu için de, bu aşama birinci dereceden kinetiklerle tanımlanabilecektir (PAYENS, 1979, DALGLEISH, 1982, HOOYDONK ve WALSTRA, 1987A, WALSTRA ve VLIET, 1986).

Anılan enzimatik tepkime süte, kappa-kazeinin kimozine karşı maksimum duyarlılık sergilediği pH 6.0 dolayında ortaya çıkmaktadır. Peptidlerin genel hidrolizi için ise optimum pH 4.0 dolayındadır.

Rennetleme ve pıhtılaşma süreleri (sırasıyla, sıkı bir jel ve görünür agregatların oluşumu için gereken süre) rennet ile pıhtılaşmanın bu iki aşamasının bir sonucudur. Enzimatik tepkime bu sürece büyük ölçüde hakimdir çünkü kappa-kazeinin bölünme hızı ile karşılaştırıldığında flokülasyon süresi ihmal edilebilir düzeydedir, ancak bu olgu düşük sıcaklıklarda (örn.,  $+4^\circ\text{C}$ ) farklı bir görünyeye sahiptir (WALSTRA ve JENNES, 1984).

Sütün derişimi ile rennetleme süresi arası etkileşim incelendiğinde birbiriyle uyumlu birçok bulguya rastlamak olasıdır. Örneğin sütün derişimi, yağsız orjinal sütün normal derişiminin üzerine çıkarıldığında rennetleme süresinin derişim artışıyla birlikte hafif bir artma eğilimi gösterdiği kaydedilmiştir. Bu artış görece düşük derişimlerde daha belirgindir (DALGLEISH, 1981).

Sütün yağsız kurmadde içeriğinin (SYKm) düşürülmesi öncesinde (bir başka deyişle görece düşük derişimlerde, y.n.) pH'nın 6.7'ye ayarlanması rennetleme süresi /derişim profilinde küçük ancak çok önemli olmayan bir farklılığa yol açtığı bildirilmiştir. Düşük süt derişimlerinde rennetleme süresinin uzunluğu üzerinde bir etki göstermemiştir ancak pH ayarlamadan kullanılan örneklerde rennetleme süresi artmıştır. Sonuçta çalışmalarda süt substratının derişimindeki değişimin rennetleme süresine de yansıdığı bulunmuştur (DALGLEISH, 1981).

Rennetleme süresinde, pıhtılaşma süresi, proteoliz için gereken sürenin ve misellerin agregasyon hızının bir fonksiyonudur.

$$t_c = t_{prot.} + t_{agg.} \quad (3)$$

Burada  $t_c$ ; pıhtılaşma için gereken süre,  $t_{prot.}$ ; kritik proteoliz için gereken süre,  $t_{agg.}$ ; belirgin düzeyde agregasyon için gereken süredir (DALGLEISH, 1981).

Smoluchowski'ye (1917) göre agregasyona uğrayan bir karışımda moleküler ağırlık artışı zamanla değişmemektedir. Bu süreçte de  $t_{prot.}$  Michealis-Menten kinetikleri ile bulunur (DALGLEISH, 1981).

Rennetleme süresinde orjinal pıhtı, sabit rennet derişiminde, sütün derişiminin arttırılmasıyla görece aşamalı olarak az kazein içerme eğilimi gösterir. Bir başka deyişle derişimin artması ile pıhtıda kalan kazeinin, orjinal kazeine oranı düşer.

Sütün, nem içeriğinin SYKm'ye oranını verecek şekilde ön-işlenmesinin de zamanlama ve ekonomik anlamda verimliliği geliştirdiği bildirilmektedir (GILLES ve LAWRENCE, 1985).

Enzimatik tepkimenin hız sabiti de konsantrasyonun artması ile biraz indirgenir. Bunun olası nedeni enzim moleküllerinin etkin difüzyon hızında ortaya çıkacak azalmadır.

Jelleşmenin akışı-ilerlemesi (onset-of)- konsantrasyon derecesinden pek fazla etkilenmez ancak rennetleme süresi, protein derişimi ile sıkılaşıma hızındaki önemli artışa bağlı olarak üst düzeyde indirgenir. Bu nedenle peynir yapımında eğer ön- konsantre süt kullanılıyorsa kesim süresinin dikkatli saptanması gerektiği ortaya konulmuştur (HOOYDONK ve BERG, 1982).

Peynir yapımı için en ideal durum, rennetleme özellikleri sabit süt sağlanması ve kullanılmasıdır. Böylece işleme sırasında herhangi bir düzeltme gerekmeyecektir. Ancak bu nitelikte hammaddenin sürekliliği uygulamada olası değildir. Sütün rennetleme süresinin regülasyonunun rennet, kalsiyum ve kurumadde (özellikle protein) derişimi gibi değişkenlerle oynanarak başarılabileceği ortaya konulmuştur. Ancak bu araştırmada rennetleme süresinden çok sineresis süreci için daha önemli olduğu kabul edilen sıkılaşıma hızındaki değişim, standardizasyon modelinde ele alınmıştır (HOOYDONK ve BERG, 1982).

Uygulamada sabit dozda rennet kullanarak değişik  $CaCl_2$  katımıyla rennetleme süresinin standardizasyonuna gidilmektedir ve başarılı olunabilmektedir. Ancak elde edilen jelleşme hızı arzu edilen değerde değilse rennetleme sıcaklığı bir diğer değerde sabit tutularak su veya süttözü katımı ile yağsız kurumadde içeriğinin değiştirilmesi gerekmektedir.

Süt örneklerinin sınıflandırılmasında, örneğin, bileşimle rennetlenebilirlik arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalara gerek duyulmaktadır. İtalya'nın Parmigiano-Reggiano peynir bölgesinde süt örnekleri bileşimlerine ve km içeriklerine göre 9 farklı sınıfa ayrıldığı bir sınıflandırma yöntemi geliştirilmiş ve buna göre ödeme yapılmaktadır. Ancak yalnızca bir özellikten yola çıkılarak sütün standardizasyonu olası değildir.

Uzayan rennetleme süresi ile süt kurmadde bileşenlerinin geri kazanımında bir artış olduğu saptanmıştır. Genelde optimum rennetleme süresinde % 10 luk bir sapmanın tolere edilebileceği görüşü yaygındır. Ancak sapmaların optimum rennetleme süresinin altında olmasının, üzerinde olması durumuna göre sütün performansı (verimlilik ve nitelik) açısından daha önemli sonuçlara yol açacağı bilinmektedir (HOOYDONK ve Ark., 1984).

Sütün toplam koloidal fazının UF ile konsantre edilmesi birkaç tür peynirin üretiminde artık tecimsel olarak kullanılmaktadır ve konsantrasyona ilişkin sorunlar çözümlendiğinde daha yaygın bir kullanım kazanacaktır.

Rennet pıhtısının sineresisi de düşük pH'da, başarılı bir şekilde gerçekleşmektedir, bunun için peynirin bileşimi, sabit pH'da sütün bileşimi ve derişiminden oldukça etkilenmektedir.

Sütün UF ile konsantrasyonu sabit rennet derişiminde rennetleme süresinde hafif bir artışa yol açmaktadır, ancak jelin sıkılaşıma hızında belirgin bir artış sağlamaktadır. Sütün ultrafiltrat ya da sentetik süt serumu ile seyreltilmesi rennetleme süresinde belirgin bir artışı beraberinde getirmektedir.

Pıhtılaşıma süresi ile rennetleme süresi arasında ters bir ilişki vardır. Pıhtılaşıma süresi, doğrudan kazein derişiminden etkilenir, 5,9-6,0 pH'da maksimum olmak üzere pH'nın düşmesiyle belirgin olarak artar (FOX, 1987).

Sütün derişimi UF ile arttırıldığında pıhtı sıkılaşıma süresinin (renn. süresi-pıht. süresi) beş kat azaldığında da bildirilmektedir (HYLDIG ve Ark., 1989).

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

**Rekonstitüe Süt.** Denemelerde düşük sıcaklıkta üretilmiş yağsız süttozu (PINAR Süt Mam. A.Ş., İzmir) kullanılmıştır. Öngörülen niceliklerde tartılan süttozları  $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 100 ml, 10 mM  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi ile, VIRTIS Model 23 (The Virtis Co., New York) homojenizatör kullanılarak yağsız kurumadde içerikleri % 2, 4, 6, 8, 10, 12 ve 14 olacak şekilde rekonstitüe edilmiş, su banyosunda dengelenmiştir.

**Rennet (Peynir Mayası).** Denemelerde 1:10000 pıhtılaştırma kuvvetinde sıvı rennet (PEYMA, İstanbul) kullanılmıştır. Sıvı rennet % 1 oranında (V/V) seyreltilerek bundan % 1 (V/V) katım ile işlemler yürütülmüştür.

**Kalsiyumklorür çözeltisi ( $\text{CaCl}_2$ ).** Yağsız süt tozunun rekonstitüe edilmesinde, 1 M  $\text{CaCl}_2$  ayarlı çözeltisinden seyreltilerek (V/V) elde edilen 10 mM  $\text{CaCl}_2$  çözeltisi kullanılmıştır.

### Yöntem

**pH ölçümü.** Örneklerin pH değerleri FISHER Accument Model 610A pH-metre (FISHER Co, USA) ve RUSSEL kombine elektrot (Russel pH Ltd., Scotland) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

**Yağsız kurumadde içeriğinin saptanması.** Tüm örneklerin SYKm içerikleri ve süt tozunun nem içeriği sırayla FIL-IDF 21 (ANON., 1962) ve FIL -IDF 26 (ANON., 1964)'e göre saptanmıştır.

**Pıhtılaşıma ve Rennetleme içeriğinin saptanması.** Tüm örneklerin pıhtılaşıma süresi (rennet eklendiği andan belirgin görünür agregatlar oluştuğu ana kadar geçen süre) BERRIDGE (1952)'ye göre, rennetleme süresi (rennet eklendiği andan maksimum pıhtı sıklığı ya da sert bir jel oluşturduğu ana kadar geçen süre) ise pıhtı sıklığı duyumsanarak saptanmıştır.

**Göreceli Viskozitenin Saptanması.** Tüm örneklerin rennetleme sonu viskoziteleri HAAKE VT 181 viskometre ve FL-100 sensor başlığı (HAAKE, Germany) kullanılarak ölçülmüştür.

**Rennetleme.** Homejenizatörde 100 ml  $\text{CaCl}_2$  (10 mM) çözeltisi ile rekonstitüe edilerek hazırlanan örneklerin, pH değerleri  $+4^\circ\text{C}$ 'de, 4 mol/l HCl ve NaOH çözeltileriyle 6,5-6,6 pH'ya ayarlandıktan sonra  $32 \pm 0,5^\circ\text{C}$  sıcaklıkta 30 dakika dengelenerek, su banyosunda % 1 oranında rennet katılarak karıştırılmış ve rennetlemeye bırakılmıştır. Bu süreçte pıhtılaşıma ve rennetleme süresi izlenmiştir.

## ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

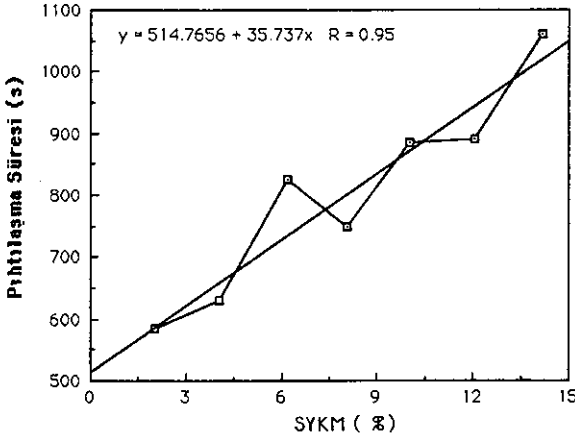
% 2-14 SYKm içeriğine sahip rekonstitüe süt substratının rennet ile pıhtılaşıma sürecinde izlenen pıhtılaşıma süresi (P.S.), rennetleme süresi (R.S.), sıkılaşıma süresi(S.S.) ve viskozitesine ( $\mu$ ) ilişkin değerler Çizelge 1'de özetlenmiştir.

Çizelgeden görülen en belirgin-yaklaşık- etkileşim ölçülen her üç sürenin de substratın derişiminin artmasıyla orantılı olarak artmıştır. Enzim derişiminin sabit tutulduğu deney koşullarında artan substrat derişimi karşısında sabit derişimde rennetin substratla kompleks oluşturma ve proteoliz süreleri (PS)

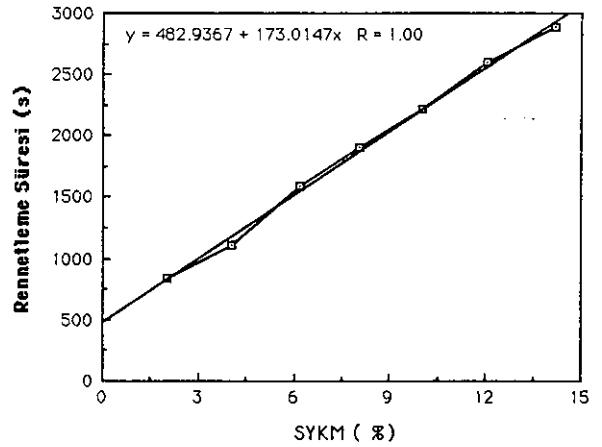
incelendiğinde, birinci dereceden kinetikler izleyen, rennetlemenin enzimatik aşamasını yansıtan bu verilerin değişiminin açıklanmasında bir sorun yoktur. Artan SYKm içeriğinin bir fonksiyonu olarak PS'nin değişim boyutu Şekil 1'den görülmektedir.

**Çizelge 1. SYKm içeriğinin bir fonksiyonu olarak araştırma parametrelerinin değişimi**

SYKm(%)	PS(sn)	RS(sn)	SS (sn)	$\mu(x100cp)$	PS/RS
2.01	581	845	264	2	0.69
4.04	630	1111	481	3	0.57
6.20	825	1590	765	3	0.52
8.07	750	1905	1155	3	0.39
10.02	885	2225	1340	4	0.39
12.03	890	2600	1710	6	0.34
14.20	1060	2892	1832	6	0.36



**Şekil 1. Sütün rennet ile pıhtılaştırılmasında süt yağsız kuru madde içeriğinin (SYKm) pıhtılaşma süresine etkisi**



**Şekil 2. Sütün rennet ile pıhtılaştırılmasında, süt yağsız kurumadde (SYKM) içeriğinin rennetleme süresine etkisi**

İlişki  $y = 514,7656 + 35,73x$  ( $r = 0,95$ ) denkliği ile tanımlanmıştır. Aradaki ilişkinin doğrusal çıkması sürpriz değildir.

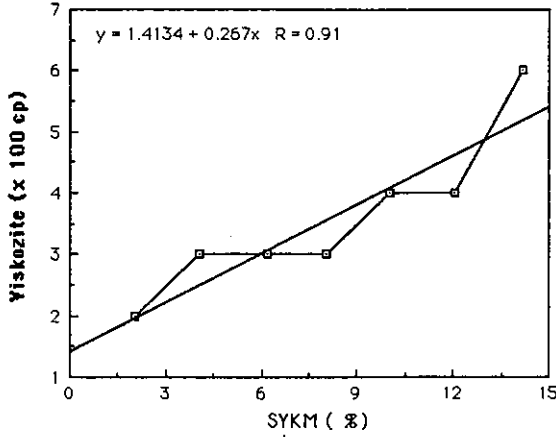
SYKm içeriğinin rennetleme süresine etkisinin boyutu da benzer biçimde Şekil 2'de görülmektedir.

Bu ilişki de  $y = 482,9367 + 173,0147x$  ( $r = 1,00$ ) denkliğiyle tanımlanmıştır. Değerler incelendiğinde SYKm artışı ile rennetleme süresi arasında hemen tam bir doğrusallık saptanmıştır.

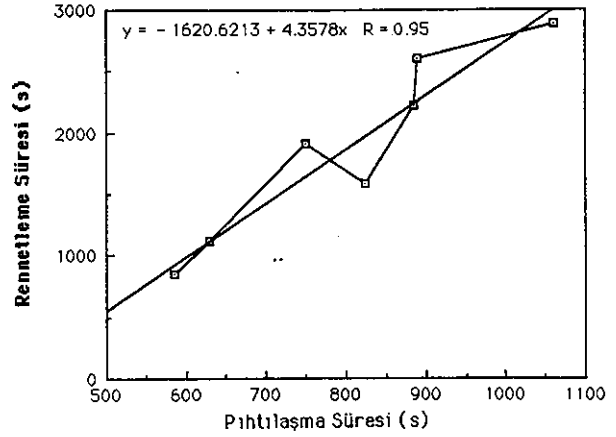
Sıkılaştırma süresindeki artışın açıklanmasında enzimin "rasgele atak modeli" gözönüne alınacak olursa, enzim kapa-kazeinin en az % 87'sini hidrolize etmeden flokulasyon başlamayacağı için ve SYKm artışı ile birlikte substratta kapa-kazein artışı söz konusu olacaktır. Bu da sıkılaştırma süresi (SS) ile birlikte RS'nin artışı açıklayacaktır.

Pıhtı sıkılaştırma hızı ile rennetleme hızı -bu denemede anılan parametrelerin göstergesi sırasıyla SS ve RS'dir- arasındaki değişim boyutunun farklılığı, substrat derişiminin artmasının süreçte hakim olan lag faz (bkz. ERDEM, 1991) ile ilişkilidir.

Artan SYKm içeriğinin bir fonksiyonu olarak PS ile RS arasındaki ilişkinin boyutu özetle Çizelge 1'de verilmiştir. Buna göre normal SYKm oranlarında ilişkinin boyutu 0.37 dolayındadır. Yani PS, RS'nin 1/3 ünü oluşturmaktadır (bkz. Şekil 4). Ancak düşük derişimlerde bu katsayı, derişimin azalması ile büyümektedir. Yani substrat derişimi azaldıkça PS kısalmakta, lag fazın uzunluğu azalmakta ve RS düşmektedir. Bu etkileşimlerin reolojik içeriğinin bir sonucu olarak RS anında elde edilen pıhtının viskozitesindeki değişim bir fikir verecektir.



Şekil 3. Sütün rennet ile pıhtılaştırılmasında, süt yağsız kurumadde içeriğinin RS anındaki pıhtı göreceli viskozitesi üzerine etkisi.



Şekil 4. Sütün rennet ile pıhtılaştırılmasında, süt yağsız kurumadde içeriğindeki değişime bağlı olarak PS ile RS arasındaki etikleşimin boyutu.

## KAYNAKLAR

- ANONYMOUS. 1962. FIL-IDF International Standard for Determination of the total solids content of milk. International Dairy Federation, Brussels, 2 sayfa.
- ANONYMOUS. 1964. FIL-IDF International Standard for Determination of the total solids content of dried milk. International Dairy Federation, Brussels, 2 sayfa.
- BERRIDGE, N.J. 1952. Some observation on determination of activity of rennet. *Analyst*. 77 (911): 57-62.
- DALGLEISH, D.G. 1981. Effect of milk concentration on the nature of curd formed during renneting-a theoretical discussion. *J. Dairy Res.* 48: 65-69.
- DALGLEISH, D.G. 1982. I. Proteins "in, *Developments in Dairy Chemistry Vol. 1, Ed. P.F. FOX*" Appl. Sci. Publ, London, 157-187.
- ERDEM, Y.K. 1991. Sütün rennetle pıhtılaşma süreci. *Gıda*, 16,4,259-263.
- FOX, P.F. 1987. Cheese manufacture: chemical, biochemical and physical aspects. *Dairy Ind. Int.* 52: 11-13.
- GIILES, J., R.C. LAWRENCE. 1985. The yield of cheese. *New Zeal. J. Dairy Sci. Technol.* 20:205-214.
- HOOYDONK, A.C.M. van, G. van den BERG. 1982. Control and determination of the curd-setting during cheesemaking. IDF-document, basılmamış.
- HOOYDONK, A.C.M. van, C. OLIEMAN, H.G. HAGEDOORN. 1984. Kinetics of the chymosin-catalysed proteolysis of kappa-casein in milk. *Neth. Milk Dairy J.* 38: 207-222.
- HOOYDONK, A.C.M. van, P.WALSTRA. 1987a. Interpretation of kinetics of the renneting reaction in milk. *Neth. Milk Dairy J.* 41: 19-47
- HOOYDONK, A.C.M. van, P.WALSTRA. 1987b. A consistent model of the clotting of milk by rennet. *Neth. Milk Dairy J.* 41:293-295.
- PAYENS, T.A.J. 1979. Casein micelles: the colloid-chemical approach. *J. Dairy Res.* 46:291-306.
- WALSTRA, P., R. JENNES. 1984. *Dairy Chemistry and Physics*. Wiley Publ., New York, 467 sayfa.
- WALSTRA, P., T. van VLIET. 1986. The physical chemistry of curd making. *Neth. Milk Dairy J.* 40:241-259.