

Mikrobiyal Transglutaminaz Enzimi ve Süt Ürünlerinde Kullanımı

Leyla EREN KARAHAN

Batman Üniversitesi Meslek Yüksekokulu Gıda İşleme Bölümü, 72100, Batman, Türkiye
leyla.karahan@batman.edu.tr

Özet

Bu çalışmada transglutaminaz enziminin (TG) özellikleri ve süt ürünlerinde uygulama olanakları üzerinde durulmuştur. TG, birincil aminler ile glutamin residüleri arasında kovalent bağ oluşumunu katalize eden bir transferazdır. R-glutaminyl-peptide:amine γ -glutamyl-transferase (E.C 2.3.2.13) olarak adlandırılan transglutaminaz enzimi hayvansal dokularda ve vücut sıvılarında bulunan doğal bir enzimdir. Bunun yanında *Streptoverticillium mobarense* ve *Streptoverticillium ladakanum* tarafından hücre dışı, *Bacillus subtilis* ve *Physarum polycephalum* tarafından ise hücre içi olmak üzere birçok mikroorganizmanın da TG enzimi ürettiği belirlenmiştir.

TG, gıdaların besin değeri ve reolojik özelliklerini geliştirmek için kullanılmaktadır. Çapraz bağlanma tepkimeleri proteinlerin emülsiyonlaştırma, köpük oluşturma ve jelleşme gibi bazı fonksiyonel özelliklerinde modifikasyonlara yol açmaktadır. Peynir, yoğurt, dondurma gibi süt ürünlerinin üretiminde kullanılabilir. Peynirin su tutma kapasitesini arttırarak verim artışı sağlamaktadır; yoğurdun, pıhtı sıklığını geliştirerek sinerezisi azaltmaktadır. Dondurmada proteinlerin emülsiyon kapasitesini geliştirerek daha düzgün kristal yapıda bir ürün elde edilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Transglutaminaz, Süt ürünleri, Enzim

Abstract

In this study, some properties and application possibilities of transglutaminase enzyme (TG) in dairy products are described. TG is a transferase that catalyzes an covalent bond formation between glutamine residues and primary amines. R-glutaminyl-peptide:amine γ -glutamyl-transferase (EC 2.3.2.13) called transglutaminase enzyme is a natural enzyme that distributed in animal tissues and body fluids. In addition, transglutaminase enzyme is formed extracellular by *Streptoverticillium mobarense* and

Streptoverticillium ladakanum, intracellular by *Bacillus subtilis* and *Physarum polycephalum* and many microorganisms was determined.

TG, is used to improve nutritional value and the rheological properties of foods. Cross-linking of milk proteins lead to modifications in functional properties such as emulsifying, gelation and foaming. TG can be used in production of milk products such as cheese, yogurt and ice cream. TG Increases the water holding capacity of cheese and increases the yield, enhances gel strength and reduces syneresis of yogurt. improves the emulsion capacity of proteins in ice-cream and is obtained more uniform crystalline product.

Key Words: Transglutaminase, Dairy products, Enzyme

1. Transglutaminaz

TG, birincil aminler ile glutamin residüleri arasında kovalent bağ oluşumunu katalize eden bir transferazdır [1], [2]. R-glutaminyl-peptide:amine γ -glutamyl-transferase (E.C 2.3.2.13) olarak adlandırılan transglutaminaz enzimi hayvansal dokularda ve vücut sıvılarında bulunan doğal bir enzimdir [2], [3]. Bunun yanında *Streptoverticillium mobarense* ve *Streptoverticillium ladakanum* tarafından hücre dışı, *Bacillus subtilis* ve *Physarum polycephalum* tarafından ise hücre içi olmak üzere birçok mikroorganizmanın da TG enzimi ürettiği belirlenmiştir [4].

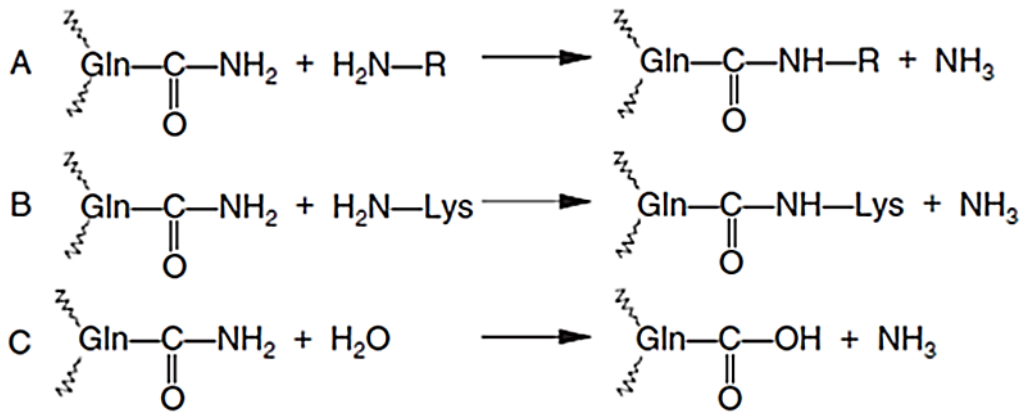
TG (γ -glutamyltransferaz, EC 2.3.2.13); bir peptid bağındaki glutamil kalıntısının γ -karboksiamid grubu (açıl verici) ile bir primer amin (açıl alıcı) arasındaki açıl-transfer tepkimesini katalizler. Bir peptid bağındaki lisin kalıntısının ϵ -amino grubu substrat işlevini üstlenirse de bu iki peptid zinciri ϵ -(γ -glutamyl)lisin [ϵ -(γ -Gln)Lys] bağı ile çapraz bağlanırlar [5]. Amin substratları olmadığında ise, su moleküllerinin açıl alıcı grup olduğu glutamin deamidasyonu reaksiyonunu katalizler. TG, amin birleşmesi, çapraz bağ oluşumu ve deaminasyon yolları ile proteinleri modifiye etmektedir [6].

1.1. Transglutaminaz Reaksiyonları

TG, amin birleşmesi, çapraz bağ oluşumu ve deamidasyon yolları ile proteinleri modifiye etmektedir (Şekil 1) [6].

TG, proteinlerin modifikasyonunda genel olarak 3 önemli reaksiyonu katalizler [7], [8], [9], [10]:

- 1) Peptid veya proteine bağlı glutamin'in yapısındaki γ -karboksiamid ile primer amin arasında açıl transfer reaksiyonunu katalizler (Şekil 1 A).
- 2) Glutamin ve lizin amino asitleri arasında ϵ -(γ -Glu)Lisin çapraz bağının oluşumunu katalizler (Şekil 1 B).
- 3) Ortamda uygun bir primer amin bulunmaması veya lizinin ϵ -amin grubunun belirli ajanlarla bağlanması durumunda suyun kullanılmasını katalizler (Şekil 1 C).



Şekil 1. TG tarafından katalizlenen tepkimeler: (A), Açıl transfer tepkimesi; (B), Çapraz bağlanma tepkimesi; (C), Deamidasyon [11]; [12].

TG'lar tarafından oluşturulan proteinlerin hücre içi ve hücreler arası çapraz bağlantılarını SDS-PAGE ile tespit etmek mümkündür. Çapraz bağlanmanın miktarıyla ilgili bilgi elde etmenin bir yolu da oluşan amonyağın tespit edilmesidir. TG reaksiyonunda oluşan amonyakı tespit eden bu yöntem SDS-PAGE analizlerinin doğru sonuç vermediği noktada çapraz bağlanmanın hızı hakkında bilgi verir. Amonyak ölçümünün dezavantajı, analizin çapraz bağlanma, açıl transfer ve deamidasyonu ayırt edebilme özelliğinin olmamasıdır [13].

1.2. Substrat Özgüllüğü

Transglutaminaz, substratlara özgüdür. *Streptoverticillium*'dan elde edilen TG'lar memeli kanından elde edilen plazma ve eritrosit TG'lardan daha yüksek sayıda substrat proteinleri ile reaksiyona girmektedir. TG ile çapraz bağlanma oranı her substrat

proteinin makromoleküler yapısına; reaktif glutamin kalıntısına yani polipeptid zincirinin esnek bölgesinde olması ya da ters dönüşlü bölgede olmasına bağlıdır [14]. Tablo 1’de gıda proteinleriyle ilgili olan TG’ların substrat spesifikliğı gösterilmiştir.

Tablo 1. Transglutaminazla farklı substratların çapraz bağlanması [15].

Substrat	Bacterial TG	Plasma TG	Erythrocyte TG
Casein	+	+	-
β -Lactoglobulin	-	-	-
α -Lactalbumin	+	-	-
Bovine serum albumin	-	-	-
Hemoglobin	+	+	-
Myosin	+	+	-
Glycinin	+	-	-

+, çapraz bağlanma; -, çapraz bağlanma yok.

Plazma TG ve kan TG ile mikrobiyal TG (MTG) arasında önemli farklardan bir tanesi kan plazma TG’lar kanda pro-enzim şeklinde meydana gelmesidir. Kanın pıhtılaşmasındaki fizyolojik fonksiyonu, aktif enzimi oluşturmak için parçalanmaya ihtiyaç duyar. Bu amaç için aktif proteaz olan trombine ihtiyaç duyulmaktadır. Eritrosit TG’ın aktivitesi için sistenin ortamda bulunması gerekmektedir. MTG’ın tipik memeli TG’lardan farklıdır. Deneysel olarak kobay karaciğerinden elde edilen TG’lar enzimatik aktivitesi açısından Ca^{+2} iyonuna gerek duymaktadır. Bu mikrobik enzimin karakteristik özelliğı Ca^{+2} ’den bağımsız bir katalizör olmasıdır [16].

Substrat özgülüğü açısından baklagil proteinleri, buğday gluteni, yumurta proteinleri, aktinler, miyosinler, fibrinler, kazeinler, α -laktalbümin, β -laktoglobulin ve diğer albüminler gibi çoğu gıda proteinleri mikrobiyal transglutaminaz tarafından çok başarılı bir şekilde çapraz bağlanabilmektedir [17].

Çoğu araştırmacı ısıyla koagülasyona karşı duyarlı olmaması nedeniyle kazeini farklı TG’ler için çok iyi bir substrat olarak görmektedir [18]. Sodyum kazeinat, α_{s1} -, α_{s2} -, β - ve κ -kazeinleri içeren bir karışımdır. β -kazeinin yüzey kayma viskozitesindeki artış, sodyum kazeinattaki kadar hızlı olduğu halde, α_{s1} -kazeinde daha yavaştır. Bu fark, β -kazeindeki adsorblanma hızının daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, β -kazeinin α_{s1} -kazeine göre bazı TG’ler için daha iyi bir substrat olduğu gözlenmiştir [19].

Kuraishi *ve ark* [8], Huppertz and De kruif [20] and Hinz *ve ark.* [21], MTG uygulanmış sütlerde α_s -caseinin, β -casein'den çapraz bağlanmaya karşı duyarlılığının daha az olduğunu belirtmişlerdir.

β ve κ kazeinin çapraz bağlanma oranı α_{s1} kazeine göre daha belirgindir [2], [22], ve bu durum muhtemelen kazein miseli içindeki yerleşim sıralamasından kaynaklanmaktadır [22].

1.3. Transglutaminaz İnhibitörleri

Cu^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} ve Li^{+2} , MTG'yi önemli ölçüde inhibe etmektedir [23]. Çünkü ağır metaller tek (single) sistein rezidüsünün tiol grubunu bağlamaktadır. Sistein rezidüsünün MTG'in aktif kısmını oluşturmaktadır [18], [24]. MTG'nin aktif merkezi, SH- grubu katalitik reaksiyonda yer alan bir sistin kalıntısıdır [25].

Cystamine, N-ethylmaleimide, Iodoacetate, monoiodoacetate ve parachloromercuribenzoic asit benzeri inhibitörlerin TG aktivitesini inhibe ettiği çok iyi bilinmektedir. Bunlar tiol grup üzerindeki reaksiyonla TG'in aktif tarafını bloklar [26], [27], [28], [29].

TG'ların doğal inhibitörleri nadir bulunmaktadır. Belirli peptidlerin plazma TG aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir [30], [26]. Ancak funguslar tarafından üretilen antimikrobiyel cerulen'in plazma TG'in doğal peptid olmayan inhibitörü olduğu belirtilmiştir [31]. Funguslardan izole edilen alutacenoic asitlerin de plazma TG için güçlü bir inhibitör olduğu gösterilmiştir [32].

Sütte sıcaklığa hassas, molekül ağırlığı 200-250 Da olan inhibitör bulunmaktadır [9]. Bönisch *ve ark.* [33] süt serumunda inhibitör bulmuşlardır.

1.4. Mikrobiyal Transglutaminazın Özellikleri

MTG'nin optimum aktivasyon pH'sı 5-8 arasındadır. Bununla beraber pH 4 ile pH 9 aralığında değişen düzeylerde enzimatik aktiviteye sahiptir. Enzimatik aktivite için optimum sıcaklık 50°C'dir ve 50°C'de 10 dakika bekletildiğinde enzim aktivitesi hissedilir şekilde yükselmektedir. Diğer taraftan sıcaklığın 70°C'ye yükselmesi ile aktivitesini birkaç dakika içerisinde kaybedebilmektedir. MTG, 10°C'de ve donma noktasında da bir miktar aktiviteye sahiptir [18].

Bakla globülinleri, buğday gluteni, yumurta sarısı ve yumurta beyazı proteinleri, miyosin, fibrinler, süt kazeinleri, α -laktalbumin, β -laktoglobulin gibi bir çok gıda proteini MTG tarafından çapraz olarak bağlanabilmektedir.

TG'ların enzimatik aktivitesini gösterebilmesi için Ca^{+2} iyonlarına ihtiyaç duymaktadırlar. *Streptoverticillium mobarense*'den elde edilen MTG Ca^{+2} 'ye ihtiyaç duymaz. Bu bakımdan diğer TG'lardan farklıdır. Cu^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} ve Li^{+2} gibi ağır metaller sisteinin thiol grubunu bağladıkları için mikrobiyal transglutaminazı inhibe eder [18].

2. Süt Ürünlerinde MTG Uygulamaları

Geleneksel olarak süt jelleri asitlendirme veya rennet ile oluşur. Süt asitlendiği zaman kazein misellerinde kompleks fiziko-kimyasal miseller oluşur. Bu oluşum pH ve sıcaklığa bağlıdır [34], [35], [36], [37]. Asitlendirme sürecinde ilk adım κ -kazein nötralizasyonu sonucu oluşan çökeltme olayıdır. Bu kalsiyum fosfat ile ilişkilidir. Diğer taraftan sütün rennet ile pıhtılaşması iki kademedir oluşmaktadır. Birinci basamak κ -kazeinin para- κ -kazein ve peptidlere enzimatik olarak parçalanmasıdır. Bu durumda kalsiyum karşısında α_{s1} ve β -kazeinlerin stabilitesi bozulur. İkinci basamakta ise stabilize olmayan miseller çöker.

Süt protein jelleri (asit ve rennet jelleri), temel olarak kovalent olmayan zayıf interaksiyonlar tarafından stabilize edilmektedir. TG enziminin protein molekülleri arasında meydana getirdiği kovalent bağlar daha kuvvetli bir kazein agregasyonuna neden olmaktadır. Ancak, TG pH 6.7'deki yağsız süte tek başına ilave edildiğinde herhangi bir jel oluşumu gözlenmemektedir. Bunun nedeni, protein partikülleri arasındaki elektrostatik ve sterik itmeden dolayı çapraz bağlar oluşturamamalarıdır. Buradaki elektrostatik ve sterik itmeye misel yüzeyinde yer alan κ -kazein molekülleri neden olmaktadır. TG sadece süt protein partiküllerinin elektrostatik ve sterik stabilizasyonlarının bozulması sonucu etkili olabilmektedir [37].

Kazein, transglutaminaz reaksiyonları için iyi bir substrat olarak görülmektedir. Kazeinlerin aksine, sütteki serum proteinleri disülfid bağları ile sabitlenen globüler yapıları nedeniyle çapraz bağlanma tepkimelerine daha az eğilimlidir [2], [38]. Serum proteinleri, dithiothreitol gibi indirgen ajanların varlığında transglutaminazla çapraz bağlanmaya daha uygun hale gelmektedir [8].

Birçok araştırmacı ısıtmayla bile jel oluşturma kapasitesi olmayan süt kazeininin çeşitli TG'lar için iyi bir substrat olduğunu göstermişlerdir [39]. Yoğurt, laktik starterler aracılığıyla asidik fermantasyonla elde edilen bir süt jelidir. Fakat sıcaklık değişimi ya da fiziksel etmenlerle serum ayrılması problem olabilmektedir. TG eklenerek serum ayrılması problemi çözülebilir. Çünkü TG, jelin su tutma kapasitesini geliştirmektedir [40]. TG reaksiyonu ile az yağlı ya da yağsız kurumadde içeriği azaltılmış dondurma ve peynir gibi süt ürünlerini üretmek mümkündür [41]. TG peynir ürünlerinin tekstürünü de kontrol etmektedir [42].

Tablo 2. TGase enziminin farklı süt ürünlerindeki işlevleri [43]

Ürün	Enzimatik Modifikasyonun Yarattığı Etki
Kazeinatlar	Jelleşme ve emülsifikasyon niteliğinde gelişme
Serum proteinleri	Paketleme filmlerinin oluşması ve niteliklerinin gelişmesi
Yoğurt	Pıhtı sıklığında artış/ Serum ayrılmasında azalma
Taze-Olgun peynir	Ürün randımanında artış/ Serum ayrılmasında azalma
Dondurma	Su bağlama niteliğinde artış/ Jelleşme niteliğinde iyileşme
Krem şantiy	Fiziksel niteliklerin geliştirilmesi
Kurutulmuş süt ürünleri	Stabilitede artış

Motoki ve Seguro [18] ile Yüksel ve Erdem [44] tarafından MTG enzimi ile az yağlı ve kurumadde içeriği azaltılmış peynir ve dondurma gibi süt ürünlerinin üretilebileceği ifade edilmiştir.

2.1.MTG'in Yoğurt ve Ayran Üretiminde Kullanımı

TG enziminin katalize ettiği çapraz bağlanmanın yoğurdun jel sıklığını artırdığı ve geçirgenliğini azalttığı, özellikle de yağsız ya da az yağlı yoğurtlarda kullanımının pıhtı stabilitesini geliştirdiği, serum ayrılmasını geciktirdiği ve depolama asitliğini önemli ölçüde azalttığı için raf ömrünü uzattığı belirlenmiştir [45]. Imm ve ark. [46], TG ile işlem görmüş sütlerden üretilen yağsız set yoğurtlarda su tutma kapasitesi ve jelleşme özelliklerinde önemli artışlar meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Kırmacı ve ark. [47], Lorenzen ve ark. [48], Farnsworth ve ark. [30] ve Özer ve ark. [49] de yaptıkları çalışmalarda TG enziminin 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. Ürün mikrostrüktürünün daha sıkı ve stabil olmasına neden olan jel geçirgenliğindeki azalma sonucunda da daha fazla serbest suyun jelde tutulacağı bildirilmektedir [49].

Şanlı ve ark. [50]'ın yaptığı bir çalışmada, TG katkılı ayran örneklerinde daha güçlü jel yapısının oluştuğunu ve bu yapı içerisinde proteinlerin daha düzenli dağıldığını ve protein ağ yapısında gözenekliliğin azaldığını belirlemişlerdir. Ayran üretiminde TG uygulaması ile viskozitede önemli oranda artış ve serum ayrılmasında azalma sağlanmıştır.

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 [51], [52].

Kuraishi ve ark. [8] yaptığı çalışmada MTG uygulanmış sığır sütünden yapılan stirred tip yoğurtların vizkozitesi artarken su tutma kapasitesinin de geliştiğini belirtmişlerdir.

TGase enzimi ile modifiye edilen süt proteinlerinin çözünebilme, su tutma, jelleşme, emülsifiye etme gibi fonksiyonel özelliklerinin artış gösterdiği ve süt ürünleri içerisinde TG enzimi kullanımına en uygun ürünün yoğurt olduğu ifade edilmektedir [48], [53].

Düşük yağ içerikli yoğurtlarla yapılan çalışmalarda Faergemand ve ark. [45] tarafından, TG'ın katalizlediği çapraz bağlanma sonucu, serum ayrılması açısından son ürünün kararlılığının geliştiği ve pıhtı sıkılığının arttığı ortaya konulmuştur.

2.2. MTG'in Peynir Üretiminde Kullanımı

Han and Spradlin [54] , MTG'in serum proteinlerinin kazeinatlara bağlanma etkisini arttırdığını ve cottage peynirinin bütün duyuşsal özelliklerini koruyarak verimi geliştirdiğini bulmuşlardır.

Mahmood and Sebo, [55]'nin yaptıkları çalışmada 60 unit/l süt enzim konsantrasyonunda maksimum peynir sertliğine ulaşmışlardır. Yumuşak peynir üretiminde MTG uygulaması peynir protein içeriğinde belirgin bir artışa sebep olurken, peyniraltı suyunun protein içeriğinde belirgin bir şekilde azalma meydana gelmiştir. Ürünün verimiyle ilgili olarak, peynir veriminin (17.38%) kontrol örneğine (16.01%)

göre belirgin bir şekilde arttığı görülmüştür. Enzim uygulanmış peynirde belirgin olmayan bir şekilde toplam kurumadde ve yağ miktarında artış olmuştur. Bu durumun su içeriğinin azalması ve protein içeriğinin artmasından kaynaklı olabileceği bildirilmiştir. Enzim uygulanmış peynirde pH'daki artışla beraber titrasyon asitliğinde küçük bir düşme meydana gelmiştir.

Cozzolino *ve ark.* [56] yaptığı bir çalışmada, peynir üretiminde TG'in rennetten önce ve rennetle beraber pastörize süte katılmasıyla, peyniraltı suyu proteinlerinin %90'ının süt jeline birleştiği görülmüştür.

TG, pıhtılaştırıcı enzimle aynı anda katıldığında moleküller arası çapraz bağlanmayı yapmak için κ -kazeine yönelmektedir [57].

Di Pierro *ve ark.* [58]'in yaptığı çalışmada TG'in uygulandığı peynir örneklerinde kontrol örneğine göre peynir veriminin arttığı görülmüştür. Bununla birlikte TG uygulanmış örneklerde su içeriğinin arttığı ve pıhtı kesiminden hemen sonra TG'in ilave edildiği örneklerde (C₂) protein içeriğinin önemli ölçüde arttığı görülmüştür. TG uygulanmış örneklerde olgunlaşmanın 7. gününden 35. gününe kadar olan periyodunda kontrol örneğine göre proteolizin önemli ölçüde düşük olduğu görülmüştür. Dahası, olgunlaşmanın 14. gününden itibaren, TG'in rennetle aynı anda katıldığı örnekte (C₃) suda çözünen azot değerlerinin TG'in pıhtı kesiminden hemen sonra katıldığı örnekte (C₂) önemli ölçüde düşük olduğu bulunmuştur. Bu farkın olgunlaşmanın 35. gününde daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. HPLC ile yapılan peptid profili analizinde 7 ile 35. günler arasında hidrofobik peptidlerin azaldığı hidrofilik peptidlerin arttığı görülmüştür. Çapraz bağlanmış peynir örneklerinde hidrofilik peptidlerin artışı yavaştır bu da WSN tayini ile ikinci proteolizin yavaş olduğunu göstermektedir. Creamer *ve Olson* [59], olgunlaşma sürecinde peynir deformabilitesinde azalma eğiliminin olduğunu göstermişlerdir. Kontrol örneği diğer iki TG uygulanmış örneklere göre daha deforme olabilen yapıda olmasına karşın, olgunlaşmanın 7 ve 21 günlerinde TG uygulanmış iki peynir örneği arasında önemli ölçüde farklılık bulunmamıştır. Aksine olgunlaşmanın 35. gününde TG'in pıhtı kesiminden hemen sonra katıldığı C₂ örneğinin sertlik değeri kontrol örneği ile karşılaştırıldığında büyük ölçüde düşük çıkmıştır ve deformabilitesi iki kat daha yüksek bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre TG'in pıhtı

kesiminden hemen sonra katılması (C2) çoğunlukla peynir verimini önemli derece artırması mümkündür.

2.3. MTG'in Dondurma Üretiminde Kullanımı

Dondurulmuş sütlü tatlılarda TG enzimi kullanımının kalite gelişimi üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada [8], enzim katkılı dondurmada özellikle de buzlu yapı kusurunun görülebileceği düşük kalorili dondurmalarda; daha pürüzsüz bir yapı elde edildiği ve dondurmanın kaşıkla daha kolay alınabileceği bildirilmiştir. Bu durum, daha sıkı ve stabil bir yapı içerisinde buz kristallerinin oluşumunun engellenmesiyle açıklanmaktadır. Ayrıca; TG'in serum ayrılmasını önleme, su bağlama kapasitesi ve viskozitede artışa neden olma, buz kristallerinin oluşumunu önleme gibi etkilerine bağlı olarak stabilizatör kullanımına alternatif olabileceği bildirilmektedir.

Metwally [60] tarafından, farklı oranlarda yağ ve stabilizatör içeren dondurmaların fiziksel ve duyuşal özellikleri üzerine TG enzimi kullanımının etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; enzim kullanımıyla stabilizatör miktarının azaltılabileceği ve az yağlı dondurma üretiminin mümkün olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca; TG'in son ürünün fiziksel ve duyuşal nitelikleri üzerinde olumlu etkiler yarattığı ifade edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, TG enzimi ile muamele edilmiş yoğurtların kullanımı ile yoğurt dondurması örneklerinin tekstürel özelliklerinin iyileştirilebileceği belirlenmiştir TG enzimi ile muamele edilmiş yoğurtların kullanımının yoğurt dondurması örneklerinin duyuşal özelliklerinde herhangi bir olumsuzluk yaratmadığı buna ilaveten yapı ve kıvam bakımından enzim muameleli yoğurtların kullanıldığı yoğurt dondurması örneklerinin panelistler tarafından daha çok beğenildiği belirlenmiştir [61].

Yüksek yağ içeriği dondurmanın erimeye karşı direncini arttırmaktadır [62], [63], [64]. Faergemand, Murray, Dickinson, ve Qvist [45]'e göre, TG, kazeinler arası kovalent bağ ve molekül içi bağlar oluşturarak üründe köpük ve emülsiyon stabilizasyonunu sağlamaktadır. Dondurma örneklerinde hacim ve hava kabarcığı stabilizasyonundan kazein polimerleri sorumludur. örneklerin yağ konsantrasyonunun azaltılmasıyla havanın birleşmesi için uygun bir zemin hazırlanmaktadır. Yağ içeriği ile overrun arasındaki ilişkiyi Adapa ve ark. [65] ve Alamprese ve ark. [66] belirtmişlerdir. Stanley ve ark. [67]'e göre, Yüksek viskozite, köpük oluşumundan çok köpük stabilitesini

desteklemektedir. Düşük yağ içerikli (4, 6 ve 8 g/100 g yağ) dondurma örneklerine TG'nin uygulanmasıyla, overrunda artış, yağ globüllerinin kısmi birleşimi, erimeye karşı direnç ve sertlik artışı olduğu bildirilmiştir [64].

2.4. MTG'in diğer Süt Ürünleri Üretiminde Kullanımı

Wróblewska ve ark. [68] yaptığı bir çalışmada, transglutaminaz uygulanmış süttten yapılan kefir örneklerinde kazein fraksiyonlarının immünreaktivitesinin bastırıldığı görülmüştür. β -lg'in ümmünreaktivitesi hiç tespit edilemezken, minör allerjen olan α -la'in immünreaktivitesi belirgin bir şekilde artmıştır. İki hafta depolanan kefir örneklerinde tat ve kokuyu geliştiren yüksek miktarda moleküler aroma maddeleri karakterize olmuştur. Kefir örneklerinin duyusal kalitesi artmıştır. Allerjik insanlar için daha az immünreaktiviteye sahip bir ürün elde edilmiştir.

4. Sonuç ve Öneriler

TG enzimi ile modifiye edilen süt proteinlerinin çözünebilirlik, su tutma, jelleşme, emülsifiye etme gibi fonksiyonel özelliklerinin artış göstermesi, yoğurtta serum ayrılması açısından son ürünün kararlılığını geliştirdiği ve pıhtı sıklığını arttırdığı ortaya konulmuştur.

Yoğurtta serum ayrılmasının önlenmesi, jel stabilitesinin artırılması ve özellikle yağ içeriği azaltılmış yoğurtlardaki kusurların azaltılması amacıyla MTG'dan yararlanılmaktadır. Yapılan çalışmalarla, TG enziminin yağsız yoğurtlarda yağın uzaklaştırılması ile meydana gelen tekstürel zayıflığın giderilmesinde başarı ile uygulanabileceği ortaya konmuştur.

Peynir üretiminde randımanın artırılması yanında yağ azaltılmış peynirlerdeki kusurların azaltılması amacıyla MTG'dan yararlanılmaktadır.

TG enziminin yağ içeriği düşük olan dondurma üretiminde stabilizatör kullanımına alternatif olabileceği ve böylelikle maliyetin düşürülmesini sağlamada bir etken olabileceği düşünülmektedir.

Yağ içeriği azaltılmış süt ürünlerinde yağın azaltılması ile oluşabilecek fiziksel, tekstürel ve duyusal bazı olumsuzlukların giderilmesinde TG enzimi kullanımının mümkün olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1]. Liu, M. and Damodaran, S., 1999. Effect of transglutaminase-catalysed polymerization of β -casein on its emulsifying properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 1514-1519.
- [2]. Sharma, R., Lorenzen, P.C. and Qvist, K.B., 2001. Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -glutamyl)lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. *International Dairy Journal*, 11: 785-793.
- [3]. De Jong, G., A., H., and Koppelman, S., J., 2002. Transglutaminase catalyzed reactions: Impact on food applications. *Journal of Food Science*, 67(8): 2798-2806.
- [4]. Yıldırım, M., Yıldırım, Z. ve Avşar, Y.K., 2000. Süt endüstrisinde transglutaminase enziminden yararlanma olanakları, VI. Sütçülük Sempozyumu, 10-11 Mayıs, Tekirdağ, 472-479.
- [5]. Folk, J.E. and Finlayson, J.S., 1977. The ϵ -(γ -glutamyl) Lysine Crosslink and the Catalytic Role of Transglutaminase, *Advances Protein Chemistry*, 31, 1- 133.
- [6]. Yüksel, Z., Erdem, Y.K., 2007. Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları: 1- Enzimin Genel Özellikleri, *Gıda (The Journal of Food)*, 32 (6), 287-292.
- [7]. Kuraishi, C., Sakamoto, J., and Soeda, T., 1996. The Usefulness of Transglutaminase for Food Processing (G.R. Takeoka, R. Teramishi, P.J. Williams, and A. Kobayashi editörler). *Biotechnology for Improved Foods and Flavors*, ACS Symposium Series 637, USA.
- [8]. Kuraishi, C., Yamazaki, K., ve Susa, Y., 2001. Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry. *Food Reviews International*, 17, 2: 221-246.
- [9]. Gerrard, J.A., 2002. Protein-protein crosslinking in foods: methods, consequences, applications. *Trends in Food Science & Technology* 13: 391-399.
- [10]. Zhu Y, Rinzema, A., Tramper J. Ve Bol J., 1995. Microbial Transglutaminase- Review of Its Production and Application in Food Processing. *Appl Microbiol Biotechnol*, 44: 277-282.
- [11]. Jaros, D., Partschfeld, C., Henle, T. and Rohm, H., 2006. Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, and applications. *Journal of Texture Studies*, 37(2): 113-155.
- [12]. Kashiwagi, T., Yokoyama, K., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matui, H. And Suzuki, E., 2002. Crystal Structure of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium mobarense*. *J. Biol. Chem.*, 277 (46): 44252-44260.
- [13]. Öner, Z., 2004. Mikrobiyal Transglutaminazın Özellikleri ve Gıda Sanayiinde Kullanılma olanakları. *Gıda*, 29(4): 269-272.

- [14]. Gauche, C., Vieira, J., T.,C., Oglari, P., J., Bordignon-Luiz, M., T., 2008. Crosslinking of milk whey proteins by transglutaminase. *Process Biochemistry* 43, 788–794.
- [15]. De Jong, G., A., Wijngaards, H., G., Boumans, H., Koppelman, S., J. and Helsing, M., 2001. Purification and Substrat Specificity of Transglutaminases from Blood and *Streptovercillium mobarense*. *J. Agricultural Food Chem.*, 49: 3389-3393.
- [16]. Enzyme Nomenclature, 1992, Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, Academic Press inc., 201 p.
- [17]. Kurth, L. and Rogers, P., J., 1984. Transglutaminase catalyzed crosslinking of myosin to soya protein, casein ve gluten. *J. Food Sci.*, 49, 573-589.
- [18]. Motoki, M. and Seguro, K., 1998. Transglutaminase ve its use for food processing. *Trends in Food Science ve Techology*. 9, 204-210.
- [19]. Faergemand M., Otte J., Qvist, K., B., 1997. Enzymatic cross-linking of whey proteins by a Ca²⁺-independent microbial transglutaminase from *Streptomyces lydicus*. *Food Hydrocolloids*, 11:19–25.
- [20]. Huppertz, T., and de Kruif, C., G., 2007. Rennet-induced coagulation of enzymatically cross-linked casein micelles. *International Dairy Journal*, 17: 442-447.
- [21]. Hinz, K., Huppertz, T., Kulozik, U. and Kelly, A., L., 2007. Influence of enzymatic cross-linking on milk fat globules and emulsifying properties of milk proteins. *International Dairy Journal*, 17: 289-293.
- [22]. Smiddy, M., A., Martin, J., E., G., H., Kelly, A., L., de Kruif, C., G., and Huppertz, T., 2006. Stability of casein micelles crosslinked by transglutaminase. *Journal of Dairy Science*, 89, 1906–1914.
- [23]. Hornyak, T., J, Bishop, P., D., Shafer, J., A., 1989. Alpha-Thrombin-Catalyze Dactivation of Human Platelet Factor XIII, Relationship Between Proteolysis and Factor XIII Activation *Biochemistry*, 28; 7326-7332.
- [24]. Yüksel, Z., 2007. Transglutaminazın Süt Proteinlerinin Bazı İşlevsel Özelliklerinin Değişimi Üzerine Etkisi ve Yoğurt ve Peynire Uygulanabilirliği. “doktora tezi”, Hacettepe Üniversitesi Gıda Müh. Anabilim Dalı, Ankara.
- [25]. Kanaji, T., Ozaki, H., Takao, T., Kawajiri, H., Ide, H., Motoki, M., Shimonishi, Y., 1993. Primary structure of microbial transglutaminase from *Streptovercillium* sp. Strain s-8112. *The Journal of Biological Chemistry*, 268, pp. 11565–11572.
- [26]. De Jong, G., A., H., Wijngaards, G. and Koppelman, S., J., 2003. Transglutaminase inhibitor from milk. *Journal of Food Science*, 68(3): 820-825.

- [27]. Alamprese C., Foschino R., Rossi M., Pompei C., Savani L., 2002. Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal* 12, 201–208.
- [28]. Masao Motoki; Atsushi Okiyama; Masahiko Nonaka; Haruo Tnaka; Ryosuke Uchio; Akira Matsuura, Kasugai; Hiroyasu Ando, Konan; Koichi Umeda, Gifu, Oct. 20, 1992. Transglutaminase. United States Patent, 5.156.956.
- [29]. Kobayashi, K., Yuko, T., Yuzuru, E., Kiyoshi, M., Shunichi, S., Kenzo, Y., Kenichi, H., Shiguru, Y., 1996. Bacillus-derived transglutaminase JP patent 9131180.
- [30]. Finney S, Seale L, Sawyer RT, Wallis RB., 1997. Tridegin, a new peptidic inhibitor of factor XIIIa, from the blood-sucking leech *Haementeria ghilianii*. *Biochem J.*, 324:797-805.
- [31]. Tymiak AA, Tuttle JG, Kimball SD, Wang T, Lee VG., 1993. A simple and rapid screen for inhibitors of factor XIIIa. *J Antibiot (Tokyo)* 46:204-206.
- [32]. Kogen H., Kiho T., Tago K., Miyamoto S., Otsuka N., Suzuki-Konagai K., Ogita T., 2000. Alutacenoic acids A and B, rare naturally occurring cyclopropanone derivatives isolated from fungi: Potent non-peptide factor XIIIa inhibitors. *J Am Chem Soc* 122:1842-3.
- [33]. Bönisch, M.P., Lauber, S. and Kulozik, U., 2004. Effect of ultra-high temperature treatment on the enzymatic cross-linking of micellar casein and sodium caseinate by transglutaminase. *Journal of Food Science*, 69(8): E398-E404.
- [34]. Heertje, I., Visser, J., and Smits, P., 1985. Structure formation in acid gels. *Food Microstructure*, 4: 267-277.
- [35]. Roefs, S., F., Walstra P., Dalgleish, D., G., and Horne, D., S., 1985. Preliminary note on the change of casein micelles caused by acidification. *Neth milk and Dairy J.*, 39: 119-122.
- [36]. Fox, P., F., and Mulvihill, D., M., 1990. Casein, in "Food Gels" (P. Harris, ed.), Elsevier Applied Science Publishers, London, pp. 121-173.
- [37]. Schorch, C., Carrie, H. and Norton, I.T., 2000. Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation. *International Dairy Journal*, 10: 529-539.
- [38]. Nonaka, M., Tanaka, H., Okiyama, A., Motoki, M., Ando, H. and Umeda, K., 1989 Polymerization of several proteins by Ca²⁺ independent transglutaminase derived from microorganisms. *Agric Biol Chem* 53, 2619–2623.
- [39]. Motoki, M. and Kumazawa, Y., 2000. Recent research trends in transglutaminase technology for food processing. *Food Sci. Technol. Res.* 6, 151–160.

- [40]. Ishii, C., Soeda, T. and Yamazaki, K., 1996. Method for the production of yoghurt. Europe Patent, EP 0610649 B2.
- [41]. Okada, Y., Murase, K, and Soeda, T., 1993. Method for manufacture of low calorie ice cream. Japan Kokai Tokkyo Koho, pp. 269-271, 05-91840 (in Japanese).
- [42]. Tsukasaki, F., Minagawa, E., Mikami, T., Nonaka, M. and Motoki, M., 1990. Manufacture of cheese food with transglutaminase. Japan Kokai Tokkyo Koho, JP 02131537 (in Japanese).
- [43]. Lorenzen, P.C. and Schlimme, E., 1998. Properties and potential fields of application of transglutaminase preparations in dairying. International Dairy Federation. 332, 47-53.
- [44]. Yüksel Z., Erdem Y.K., 2010. The Influence of Transglutaminase Treatment on Functional Properties of Set Yoghurt. International Journal of Dairy Technology, Vol 63, No 1, pp.86-97.
- [45]. Faergemand, M., Sorensen, M.V., Jorgensen, U., Budolfsen, G and Qvist, K.B., 1999. Transglutaminase: effet on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. Milchwissenschaft, 54 (10): 563-566.
- [46]. Imm, J.Y., Lian, P. and Lee, C.M., 2000. Gelation and water binding properties of transglutaminase-treated skim milk powder. Journal of Food Science, 65(2): 200-205.
- [47]. Kırmacı, H.A., Özer, B.H. and Türkoğlu, H., 2004. Effect of enzymatic cross-linking of proteins on textural properties of non-fat yoghurt. Proceedings of International Dairy Symposium, 24-28 May, Isparta, 37-40.
- [48]. Lorenzen, P. Chr., Neve, H., Mautner, A., & Schlimme, E., 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yogurt. International Journal of Dairy Technology, 55, 152–157.
- [49]. Özer, B. H, Kırmacı, H. A., Öztekin, Ş., Hayaloğlu, A. and Atamer, M., 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. International Dairy Journal, 17:2 199-207.
- [50]. Şanlı, T., Sezgin, E., Şenel, E., Benli, M., 2011. Geleneksel Yöntemle Ayran Üretiminde Transglutaminaz Kullanımının Ayranın Özellikleri Üzerine Etkileri. Gıda, 36 (4): 217-224.
- [51]. Lorenzen, P. Chr., 2000. Techno-functional properties of transglutaminase-treated milk proteins. Milchwissenschaft, 55, 667–670.
- [52]. 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.

- [53]. Yokoyama, K., Nio, N. and Kikuchi, Y., 2004. Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64, 447–454.
- [54]. Han, X. Q. and Spradlin, J.E., 2000. process for making cheese using transglutaminase and a non-rennet protease. Eur. Patent No. 1057411A2.
- [55]. Mahmood W. A., and Sebo N. H., 2009. Effect Of Microbial Transglutaminase Treatment On Soft Cheese Properties. *Mesopotamia J. of Agric.* Vol.(37) No.(4).
- [56]. Cozzolino, A., Di Pierro, P., Mariniello, L., Sorrentino, A., Masi, P., and Porta, R., 2003. Incorporation of whey proteins into cheese curd by using transglutaminase. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 38, 289–295 (Printed in Great Britain).
- [57]. Mounsey, J.S., O’Kennedy, B.T., Kelly, P.M., 2005. Influence of transglutaminase treatment on properties of micellar casein and products made therefrom. *Lait*. 85:1–14.
- [58]. Di Pierro P., Mariniello L., Sorrentino A., Giosafatto C. V. L., Chianese L., and Porta R., 2010. Transglutaminase-Induced Chemical and Rheological Properties of Cheese, *Food Biotechnology*, 24:2, 107-120.
- [59]. Creamer, L.K., Olson, N.F., 1982. Rheological evaluation of maturing cheddar cheese. *J. Food Sci.* 47:631–646.
- [60]. 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* 2007, 42, 939-947.
- [61]. Kırımhan, E., Ü., 2011. Mikrobiyel transglutaminaz enziminin yoğurt dondurması Üretiminde kullanımı, yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Ankara, S. 90.
- [62]. Koxhlot, M.M.R., Eisenmann, B. and Hinrichs, J., 2001. Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *Journal of Dairy Science*. 84:31-37.
- [63]. Karaca, O., B., Güven, M., Yaşar, K., Kaya, S. and Kahyaoğlu, T., 2009. The functional, rheological and sensory characteristics of ice creams with various fat replacers. *International Journal of Dairy Technology*. Vol 62
- [64]. Rossa, P., N., Burin V., M., Bordignon-Luiz, M. T., 2012. Effect of Microbial Transglutaminase on Functional and Rheological Properties of Ice Cream with Different Fat Contents. *Food Science and Technology* 48, 224-230.
- [65]. Adapa, S., Dingeldein, H., Schmidt, K. A., Herald, T. J., 2000. Rheological properties of ice cream mixes and frozen ice creams containing fat and fat replacers. *Journal of Dairy Science*, 83, 2224-2229.

- [66]. Ando H., Adachi M., Umeda K., Matsuura A, Nonaka M., Uchio R., Tanaka, H., Motoki, M., 1989. Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agric Biol Chem*; 53(10): 2613–2617.
- [67]. Stanley, D., W., Goff, H., D., Smith, A., K., 1996. Texture-structure relationships in foamed dairy emulsions. *Food Research International* 29, 1-13.
- [68]. Wróblewska, B., Kolakowski, P., Pawlikowska, K. and Troszynska, A., Kaliszewska, A., 2009. Influence of the addition of transglutaminase on the immunoreactivity of milk proteins and sensory quality of kefir. *Food Hydrocolloids* 23, 2434-2445.
- [69]. Sharma, R., Lorenzen, P., C. and Qvist, K., B., 2001. Influence of transglutaminase treatment of skim milk on the formation of ϵ -(γ -glutamyl)lysine and the susceptibility of individual proteins towards crosslinking. *International Dairy Journal*, 11: 785-793.
- [70]. Farnsworth, J. P., Li, J., Guo, M. R., 2003. Improved structure and consistency of probiotic's milk yogurt. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 58, 2, 187.
- [71]. Lorenzen, P. Chr., Schrader, K., Einhoff, K., and Rohenkohl, H., 2005. Impact of enzymatic cross-linking of milk protein on the properties of stirred yogurt and stirred cultured milk products. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 57, 97–115.
- [72]. 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.