



Effect of Transglutaminase Enzyme on Some Properties of Yogurt Produced from Camel Milk

Selda Bulca^{1,a,*}, Fahriye Ümüt^{1,b}, Atakan Koç^{2,c}

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering, Aydın Adnan Menderes University, 09010 Aydın, Turkey

²Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Aydın Adnan Menderes University, 09010 Aydın, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Research Article</i></p> <p>Received : 25/11/2019 Accepted : 17/09/2020</p> <p>Keywords: Camel Milk Transglutaminase Yogurt SDS-PAGE Microbiological analyses</p>	<p>In this study, microbial transglutaminase (MTGase) enzyme was used to produce yogurt from camel milk. It was reported that camel milk is rich in antimicrobial substances such as lysozyme, lactoperoxidase, lactoferrin and immunoglobulins, which prevent the production of yogurt from camel milk. With the advances in enzymology, it has been suggested that using enzymatic modifications to improve the functional properties and nutritional value of proteins may be effective in the production of yogurt from camel milk. For this purpose, the protein content of camel milk was increased by 6.2% with the addition of sodium caseinate, whey protein concentrate and micellar casein powder. MTGase enzyme was used at concentrations of 3 U and 6 U and the enzyme and the starter culture were added into the camel milk at the same time after that it was left for fermentation. Viscosity, pH and titratable acidity (as lactic acid, %) analyses were performed every hour during fermentation. The increase in viscosity formed as a result of cross-linking with the addition of MTGase enzyme, and the cross-linking formed were determined by decreasing the monomer band intensity of protein fractions with SDS-PAGE. It was found that the higher the MTGase concentration the higher the crosslinking reactions between the amino acids and the higher the relative viscosity. In addition, the number of yogurt bacteria was determined on both M17 agar and MRS agar to investigate whether yogurt bacteria grow in camel milk and whether their growth is affected by the MTGase enzyme. As a result of the analysis, it was determined that the addition of MTGase enzyme has no suppressive effect on the growth of bacteria.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(9): 1811-1821, 2020

Transglutaminaz Enziminin Deve Sütünden Üretilen Yoğurdun Bazı Özellikleri Üzerine Etkisi

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Araştırma Makalesi</i></p> <p>Geliş : 25/11/2019 Kabul : 17/09/2020</p> <p>Anahtar Kelimeler: Deve sütü Transglutaminaz Yoğurt SDS-PAGE Mikrobiyolojik Analizler</p>	<p>Bu çalışmada, deve sütünden yoğurt üretiminde mikrobiyel transglutaminaz (MTGaz) enzimi kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda deve sütünün lizozim, laktoperoksidaz, laktoferrin ve immunoglobulinler gibi antimikrobiyal maddelerce zengin olmasının bu süttün yoğurt üretimini engellediği ve yoğurt pıhtısının oluşmadığı rapor edilmiştir. Enzimolojideki gelişmelerle birlikte proteinlerin fonksiyonel özelliklerini ve besin değerlerini geliştirmek için enzimatik modifikasyonların kullanılması ile deve sütünden yoğurt üretiminde MTGaz enzimi kullanımının etkili olabileceği ileri sürülmüştür. Bu amaçla çalışmada deve sütünün protein oranı %6,2 oranında sodyum kazeinat, serum proteini konsantratu ve misellar kazein tozu ilavesiyle artırılmıştır. MTGaz enzimi 3 U ve 6 U konsantrasyonlarında kullanılmış ve enzim deve sütüne starter kültürüyle aynı zamanda ilave edilerek fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon süresince her saatte viskozite, pH ve titrasyon asitliği (% laktik asit olarak) analizleri yapılmıştır. Viskozite artışı MTGaz enzimi ilavesiyle meydana gelen çapraz bağlanma sonucunda gerçekleşmiş olup oluşan çapraz bağlar SDS-PAGE ile protein fraksiyonlarının monomer band yoğunluğunun azalması üzerinden tespit edilmiştir. MTGaz enzim konsantrasyonu ne kadar yüksek olursa amino asitler arasındaki çapraz bağların da o kadar fazla ve relatif viskozitenin de o kadar yüksek olduğu saptanmıştır. Bunlara ilave olarak deve sütüne ilave edilen yoğurt bakterilerinin çoğalıp çoğalmadığı ve MTGaz enziminin etkilenip etkilenmediğini araştırmak için yoğurt bakterilerinin sayısı hem M17 agarda hem de MRS agarda belirlenmiştir. Denemeler sonucunda MTGaz enzim ilavesinin bakteri sayısı üzerine baskılayıcı etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.</p>

^a sbulca@adu.edu.tr

^b <https://orcid.org/0000-0001-7405-2872>

^c fahriye.umut@gmail.com

^d <https://orcid.org/0000-0001-8795-180X>

^e akoc@adu.edu.tr

^f <https://orcid.org/0000-0001-5324-4154>



Giriş

Günümüzde deve sütüyle ilgili yapılmış bilimsel çalışmaların çoğu deve yetiştiriciliğinin yapıldığı Afrika ve Asya gibi kurak ve yarı kurak ülkelerde görülmektedir (Gupta ve ark., 2015). Develer insanlığa yük taşımacılığı, et, süt, yün ve derisi ile önemli ekonomik faydalar yanında, deve yarışları ve deve güreşleri ile de sosyal amaçlı faydalar sağlamaktadır. Günlük süt verimleri yaş ve ırka bağlı olarak 3 ile 20 litre arasında değişiklik göstermektedir. Besinsel önemi yanında, deve sütünün insan sağlığı için terapötik etkileri de söz konusudur. Enfeksiyonlarda tüberküloz, kanser ve gastroenterit gibi hastalıklarda deve sütünden yararlandığı çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir. Deve sütünün düzenli olarak alımı kan şekeri seviyesini kontrol etmeye, diyabeti ve koroner kalp hastalığını azaltmaya yardımcı olur. İçerdiği Immunoglobulinler ile bağışıklık sisteminin etkinliğini artırır, yüksek laktoferrin ve lizozim düzeyleri ile de antibakteriyel, antiviral ve antitümör özelliği gösterir. Düşük β -kazein oranı ve β -laktoglobulin içermemesi ile deve sütü hipoallerjeniktir, ciddi gıda alerjilerini tedavide kullanılır. Ayrıca, antikanserijen, antidiyabetik, antioksidan etkilere de sahiptir. Deve sütünün laktoferrin, lizozim, Ig ve C vitamini içeriği biyolojik ve terapötik etkileri yönünden merkezi bir öneme sahiptir (El-Agamy, 2008).

Bilimsel çalışmalarda deve sütünün inek sütüyle karşılaştırıldığında lizozim, laktoperoksidaz, laktoferrin ve immunoglobulinler açısından zengin olması nedeniyle sütün bozulmasının gecikmesi bu sütün çiğ olarak tüketiminin artmasını sağlamıştır. Ancak, bu antimikrobiyel etkiye sahip bileşiklerden özellikle laktoferrinin deve sütünden yoğurt üretiminde starter bakterilerinin gelişimini azalttığı ve bu nedenle yoğurt pıhtısının oluşmadığı rapor edilmiştir (Jans ve ark., 2012; Bornaz ve ark., 2009). El-Agamy (2000) tarafından yapılan bir çalışmada deve sütünde antimikrobiyel özelliğe sahip bu maddelerin 100°C'de 30 dakika uygulanan ısı ile tamamen aktivitesini kaybetmesine rağmen deve sütünden üretilen yoğurdun sertliği ve tekstürel özelliği üzerine herhangi bir etkide bulunmadığı belirtilmiştir (Hashim ve ark., 2009).

Transglutaminaz (TG), birincil aminler ile glutamin kalıntıları arasında kovalent bağ oluşumunu katalizleyen bir transferazdır (Liu ve Damodaran, 1999). TG (γ -glutamilttransferaz, EC 2.3.2.13); bir peptid bağındaki glutamin kalıntısının γ -karboksiamid grubu (açıl verici) ile bir primer amin (açıl alıcı) arasındaki açıl-transfer tepkimesini katalizler. Bir peptid bağındaki lizin kalıntısının ϵ -amino grubu substrat işlevini üstlenirse de bu iki peptid zinciri ϵ -(γ -glutamil)lizin [ϵ -(γ -Gln)Lys] bağı ile çapraz bağlanır (Folk ve Finlayson, 1977). 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 (Yüksel ve Erdem, 2007).

Mikrobiyel transglutaminaz (MTGaz), gıdaların besin değeri ve reolojik özelliklerini geliştirmek için kullanılmaktadır. Çapraz bağlanma tepkimeleri proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde modifikasyonlara yol açmaktadır. Peynir, yoğurt gibi süt ürünlerinin

üretiminde kullanılmasıyla bu ürünlerde su tutma kapasitesini artırmakta, sinerezi azaltmakta ve bu şekilde ürünün pıhtı sıklığını olumlu yönde etkilemektedir.

Farnsworth ve ark. (2006) MTGaz enziminin keçi sütü tozunun rekonstitüye edilmesi ile üretilen yoğurtta fonksiyonel özellikler ile probiyotik kültürlerin canlılığı üzerine araştırma yapmışlardır. Araştırma sonucunda, MTGaz enziminin probiyotik bakteriler üzerinde olumlu etkiye sahip olduğu görülmüştür. MTGaz ilaveli yoğurdun mikroyapısının kontrol örneğinden daha yoğun olduğu gözlenmiş ve fonksiyonel özelliklerinde artış sağlanmıştır.

Özer ve ark. (2007), 0 ila 0,5 g/L arasında değişen konsantrasyonlarda MTGaz ilave edilen yağsız yoğurtların fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerini araştırmışlardır. MTGaz'ın 0,3 g/L oranında ilavesinin yağsız set tipi yoğurdun fiziksel ve duyuşsal özelliklerini geliştirdiğini belirtmişlerdir.

Gauche ve ark. (2009), ürettikleri yoğurt örneklerine, süt proteini polimerizasyonunun etkisini araştırmak için MTGaz ilave etmişlerdir. Bütün örneklerde 0,5 U/g protein oranında MTGaz ilavesinin reolojik özellikler, sinerez indeksi ve doku profili açısından olumlu etkiler gösterdiği saptanmıştır.

Şanlı ve ark. (2011)'inin yaptığı bir çalışmada, MTGaz ilaveli ayran örneklerinde jel yapısının daha güçlü olduğu, proteinlerin daha düzenli dağıldığı ve protein ağ yapısında gözeneklerin azaldığı belirlenmiştir. Ayran üretiminde MTGaz kullanımı, viskozite artışı ve serum ayrılmasında azalma sağlamıştır.

Gharibzahedia ve Chronakis (2018), probiyotik olan ve probiyotik olmayan yoğurtların geliştirilmesinde MTGaz enzimini kullanmışlardır. MTGaz ilaveli yoğurtlarda, sineresiz azalmış, su tutma kapasitesi artmıştır. Viskozite, yapı homojenliği ve tekstürel özellikler depolama süresi boyunca fizikokimyasal bir stabilite göstermiştir.

Bu zamana kadar literatürde deve sütünden yoğurt üretiminde MTGaz enzimi kullanıma dair sadece 2 çalışma bulunmaktadır. Bunlardan ilki Chen ve ark. (2019) tarafından yapılmış olup, deve sütünün zayıf jel oluşturma özelliği, trisodyum sitrat ve MTGaz ilavesiyle iyileştirilmesi hedeflenmiştir. Araştırma bulguları dissosiyasyon olmuş kazein misellerinin ortalama çapının düşmesinin MTGaz enzimiyle çapraz bağlanma derecesini artırdığını göstermiştir.

Bir diğer çalışmada ise Abou-Soliman ve ark. (2017) MTGaz enzimi kullanarak deve sütünden yoğurt üretiminde kurumaddeyi artırmak için yağsız inek sütü tozu, serum protein konsantratu ve β -laktoglobulin kullanmışlardır. Sonuç olarak, sözü edilen tozların %0,4 konsantrasyonda MTGaz enzimi ile birlikte kullanımının fermantasyon süresini önemli ölçüde kısalttığı, viskoziteyi arttırdığı gözlenmiştir.

Bu çalışmanın amacı yukarıda da belirtildiği gibi deve sütünden yoğurt üretiminde karşılaşılan sulu, gevşek, kırılabilir yapının MTGaz enzimi ile iyileştirilmesidir. Bu sebeple sütün kurumaddeyesinin artırılmasında %6,2 oranında 3 farklı protein kaynağı (sodyum kazeinat, serum protein konsantratu ve misellar kazein) ve 2 farklı konsantrasyonda (3U ve 6U) MTGaz enzim kullanılarak yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Sodyum kazeinat ve serum protein konsantratu: Ege Laborsis-İzmir'den temin edilmiştir.

Misellar Kazein: Münih Teknik Üniversitesi-Gıda İşleme ve Biyoproses Teknik Enstitüsü, Fresing, Almanyadan temin edilmiştir. Bu ürün Kulozik ve Kersten (2002)'e göre yukarıda adı geçen üniversite tarafından inek sütünden membran separasyon tekniğiyle üretilmiştir.

Deve sütü: Çalışmada kullanılan deve sütü Kaya Kardeşler Deve Çiftliğinden (İncirliova, Aydın) tedarik edilmiştir.

Deve sütünün yağının ayrılması: Çalışmada kullanılan deve sütünün yağı Elektrikli Süt Krema Makinesi (Arsan, Sivas) ile uzaklaştırılmıştır.

Mikrobiyel transglutaminaz enzimi: Çalışmada kullanılan enzim Activa MP, (Ajinomoto, Hamburg) Fransa'dan tedarik edilmiştir. Bu çalışmada kullanılan enzim konsantrasyonları (3 ve 6 U) Bönisch ve ark. (2007a), Lauber ve ark. (2003) ve Farnsworth ve ark. (2006)'ya göre belirlenmiştir.

Starter kültür: Yoğurt kültürü (YC 350) Chr-Hansen, İzmir'den temin edilmiştir.

Yöntem

Deve sütü, sodyum kazeinat, serum protein konsantratu ve misellar kazeinin kimyasal analizleri: Deve sütünün ve kurumaddeyi artırmak için kullanılan sodyum kazeinat, serum protein konsantratu ve misellar kazeinin kurumadde, yağ, kül ve protein oranları AOAC (1990)'a göre analiz edilmiştir. Kullanılan sodyum kazeinat, serum protein konsantratu ve misellar kazein konsantrasyonları Bönisch ve ark. (2007b)'ye göre seçilmiştir.

Sütte Titrasyon Asitliği Tayini (SH-Soxhelet-Henkel): Soxhelet Henkel derecesi olarak asitlik, fenolftalein indikatörü ilave edilmiş 100 mL sütün asitliğini nötralize etmek için 0,25 N NaOH çözeltisinden harcanan miktar olarak tanımlanmaktadır.

Laktik Asir: Laktik Asit (%) konsantrasyonu aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$LA (\%) = SH \times 0,0225$$

pH: pH metre olarak Milwaukee MW102 PH (Temp Meter) kullanılmıştır.

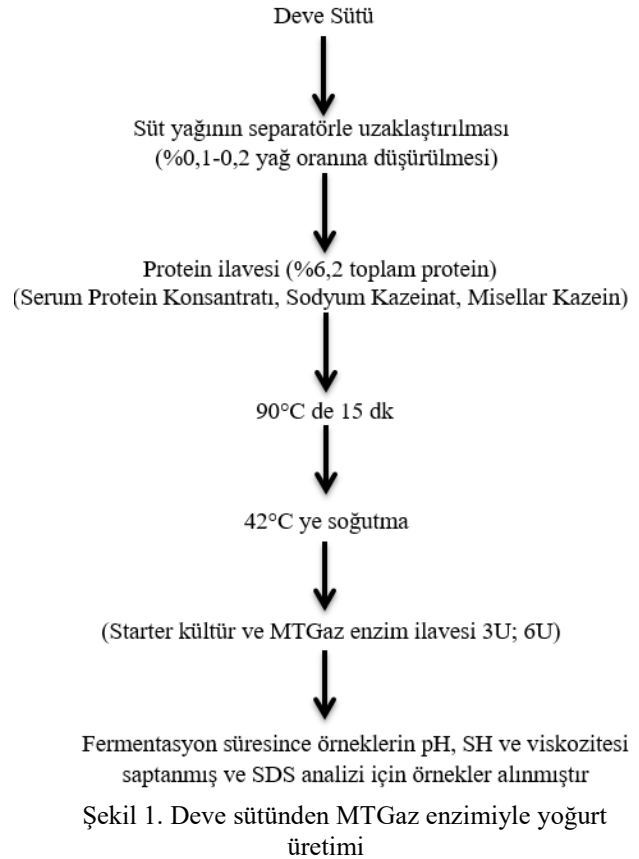
Yoğurtta Titrasyon Asitliği Tayini: 10 gram örnek üzerine daha önceden kaynatılmış soğutulmuş 10 mL su karıştırılıp üzerine 0,5 mL fenolftalein ilavesi sonrası 0,25 N NaOH ile pembe renk kalıcı oluncaya kadar titre edilmiştir.

Viskozite: Fermentasyon süresince viskozite Fungilab Expert V301002 cihazıyla tespit edilmiştir. Spindel hızı 1 rpm ve TR11 tip spindil kullanılmış olup sıcaklık 25°C, örnek miktarı ise 20 mL'dir. Viskozite verileri relatif viskozite olarak hesaplanmış ve bu değer, her bir saatte ölçülen viskozitenin 0. saatteki viskoziteye bölünmesiyle ifade edilmiştir.

SDS-PAGE: The SDS-PAGE analizi Laemli (1970)'e göre yürütülmüştür. İlk olarak proteinlerin yürütüleceği jeller hazırlanmıştır. Akrlamid/bis çözeltisinin hazırlanması için %29,2'lik akrilamid ile N'N'-bis-metilen-akrlamid karıştırılmış ve deiyonize su ile

tamamlanmıştır. SDS çözeltisi ise %10 (w/v) konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Elektroforez sistemine dökülecek elektrot tamponu için tris bazı, glisin ve SDS ile karıştırılmıştır. Daha sonra alt jel (yürütme jeli) %10'luk ve üst jel %4'lük olacak şekilde hazırlanmıştır. Jelleşme sağlandıktan sonra üst jelde yer alan tarak dikkatlice çıkarılarak örneklerin yükleneceği oyuklar elde edilmiştir. Elektroforez sistemine yüklenecek örnekler alınarak vortekslenmiş ve örnekler santrifüj işlemi uygulanmıştır. Denatürasyon işlemi yapılarak tekrar santrifüj işlemi uygulanmıştır. Jeldeki kuyucuklara örnekler yüklendikten sonra elektroforez sistemi çalıştırılarak proteinler elektrik alanında yürütülmüştür. Yürütülen jel, Coomassie Brilliant Blue içerisinde çalkalanmış ve ardından boya uzaklaştırma çözeltisi içerisinde de çalkalayıcıda bekletilmiştir. Son olarak, protein bantlarının elde edildiği jel fotoğraflanmıştır. Çalışmada SDS-PAGE protein standardı olarak, 8 kDa-240 kDa kütle aralığında blue eye prestained protein standardı (Sigma 94964-500 UL) kullanılmıştır.

Yoğurt üretimi: Deve sütünden yoğurt üretim şeması Şekil 1'de verilmiştir. Çalışmada 2 farklı enzim konsantrasyonu, 3 farklı substrat %6,2 konsantrasyonda kullanılmış olup toplamda kontrol grubuyla beraber 6 adet örnek ikiye tekerrürlü olarak birer litre hacminde üretilmiştir.



Şekil 1. Deve sütünden MTGaz enzimiyle yoğurt üretimi

Figure 1. Yogurt production from camel milk with MTGase enzyme

Şekil 1'de görüldüğü gibi deve sütünden set tipi yoğurt üretiminde sodyum kazeinat, serum protein konsantratu veya misellar kazein ile toplam protein oranı %6,2 düzeyine yükseltilecek ve 2 farklı konsantrasyonda (3U; 6U) enzim

eklenen sütler kullanılmıştır (misellar kazein %6,2 + 3U MTGase örneği jelleşme gerçekleşmediği için üretilmemiştir). Isıl işlem sonrası süt soğutulmuş starter kültür ve TGaz enzimi eş zamanlı olarak ilave edilmiştir.

Mikrobiyolojik Analizler: %3,7 protein içerikli 100 ml deve sütü, kurumaddesi serum protein konsantratu kullanılarak artırılmıştır. Mikrobiyal Transglutaminaz ilavesinin yoğurt bakterileri olan *S.thermophilus* ve *L.bulgaricus* üzerine etkisini araştırmak için enzim ilaveli ve ilavesiz 2 örnekte mikrobiyolojik analizler yapılmıştır. MTGaz ilavesi 3 Unit olarak kullanılmıştır. Yoğurt üretim şemasındaki gibi üretilen örnekler fermentasyon süresi boyunca her saat, steril edilen FTS (fizyolojik tuzlu su) içerisinde 1:9 oranında 6. dilüsyona kadar seyreltilerek çift plak dökme yöntemiyle ekim yapılmıştır. Öncelikle seyreltilen numuneden 1 ml alınarak petriye koyulmuş, 45°C’de bekletilen MRS ve M17 agar yaklaşık 15-20 ml olarak dökülmüştür. Besiyeri donduktan sonra 10-15 ml agar dökülerek çift tabaka ekim yöntemi uygulanmıştır. Bu tabaka da donduktan sonra petri ters çevrilerek 42°C’ de 48 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında sayımlar kaydedilmiştir (Ünlütürk ve Turantaş, 1996). Sonuçlar log kob/mL’nin zamana bağlı grafiği şeklinde gösterilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirmeler

Verilerin istatistik analizi SAS (1999)’da yapılmıştır. Alt gruplar Tukey (P<0,05)’e göre karşılaştırılmıştır. pH, LA, viskozite ve relatif viskozite verilerinin analizi için kullanılan istatistik model aşağıdaki gibidir.

$$Y_{ijk}=\mu+a_i+b_j+e_{ijk} \quad (1)$$

Burada; Y_{ijk} ; pH, LA, viskozite veya relatif viskozite için gözlem değerini, μ : özelliğin genel ortalamasını, a_i :kontrol grubu etkisini (i=1, 2, 3, 4, 5 ve 6), b_j : fermentasyon süresi etkisini (j=0, 1, 2, 3, 4, 5 ve 6 saat) ve e_{ijk} : hata terimini ifade etmektedir.

Bulgular ve Tartışma

Deve Sütü ve Kullanılan Proteinlerin Genel Kompozisyonu

Kullanılan deve sütü ve proteinlerin kimyasal analiz sonuçları Çizelge 1’de yer almaktadır.

Sodyum kazeinat, serum protein konsantratu ve misellar kazeine ait Çizelge 1’de verilen değerler TGK (2012) Koyulaştırılmış Süt ve Süt Tozu Tebliği’ndeki değerlerle uygunluk göstermektedir. Shamsia (2009) yaptığı bir çalışmada deve sütündeki yağ miktarını %4,0 ± 0,21, toplam kurumaddeyi %13,2 ± 0,45, proteini %3,46 ± 0,20, kül miktarını %0,87 ± 0,07, pH değerini 6,64 ± 0,05 bulmuştur. Yapılan başka bir çalışmada ise deve sütünün

yağ (%4,9), protein (%3,7), kül miktarı (%0,7) ve kurumadde miktarının %14,4 olduğu El-Agamy El-Sayed (2006) tarafından belirlenmiştir. Bu çalışmada ise deve sütündeki değerler Çizelge 1’deki gibi olup literatür verileriyle paralellik göstermektedir.

MTGaz ile Yoğurt Üretiminde pH, Laktik Asit ve Viskozite Değişimleri

MTGaz ilavesiyle yoğurt üretiminde yöntem kısmında verildiği gibi 2 farklı MTGaz enzim konsantrasyonu (3,0 U; 6,0 U), 3 farklı protein kaynağı (Serum protein konsantratu, Misellar Kazein ve Sodyum Kazeinat) kullanılmış olup toplamda sütün protein konsantrasyonu %6,2 olacak şekilde ayarlanmış ve fermentasyon süresince her bir saatte alınan tüm örneklerde pH, SH ve viskozite değerleri kaydedilmiştir. Toplamda kontrol örneğiyle beraber 6 adet yoğurt üretimi 1000 mL hacminde yapılmıştır. Fermentasyon boyunca pH 6,5’den 4,7’ye düşerken, laktik asitte (%) artış gözlenmiştir (Çizelge 2).

Çizelge 2’de de görüldüğü gibi en düşük laktik asit konsantrasyonu kontrol grubunda, yani protein oranı sodyum kazeinat ilavesiyle %6,2 olacak şekilde ayarlanmış ancak MTGaz ilave edilmemiş yoğurta görülmüş olup bu değer 6 saatlik inkübasyon sonrasında %0,69 civarında olduğu saptanmıştır. Bu örneği %0,76 laktik asit konsantrasyonu ile %6,2 oranında sodyum kazeinat ve 3U MTGaz içeren yoğurt örneği izlemektedir. Üçüncü sırada ise %0,83 laktik asit konsantrasyonu ile %6,2 oranında sodyum kazeinat ve 6U MTGaz içeren yoğurt takip etmektedir. Dördüncü sırayı ise %0,88 laktik asit konsantrasyonu ile serum protein konsantratu ve 3U MTGaz içeren yoğurt almaktadır. En yüksek laktik asit konsantrasyonu %1,03 ile 6U MTGaz enzim ve %6,2 serum protein konsantratu ilavesiyle üretilen yoğurta tespit edilmiştir. Bütün deneme örneklerinin laktik asit konsantrasyonları, Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliğinde (TGK, 2009) belirtilen en az %0,6 en fazla %1,5 laktik asit sınırları içerisinde kalmıştır.

Şekil 2’de sodyum kazeinat ile protein oranı %6,2 düzeyine çıkartılan ancak MTGaz ilave edilmeyen kontrol grubuna ait veriler gösterilmiştir. Bu kontrol grubunda pH, 7 saat içerisinde 5’e düşerken relatif viskozite 6 saat sonra sadece 1,2 katlık artış göstermiştir. Bu viskozite düzeyi, pıhtı oluşumunun gerçekleşmediğini yalnızca küçük ve kırılabilir yapıda partiküllerin oluştuğunu göstermiştir.

Şekil 3’de 6 saatlik fermentasyonun sonunda sodyum kazeinat ve 3U MTGaz enzim ilavesiyle üretilen yoğurta relatif viskozitenin 0. saate göre 9 kat arttığı, pH’nın ise 7 saat sonra 5’in altına düştüğü görülmektedir. Şekil 4’te görüldüğü gibi 5 saatlik bir fermentasyon sonunda pH’sı 4,75’e düşen sodyum kazeinat ve 6U MTGaz enzim ilavesiyle üretilen yoğurta relatif viskozitenin 90 kat artış gösterdiği saptanmıştır.

Çizelge 1. Kullanılan deve sütünün ve proteinlerin genel kompozisyonu (%)

Table 1. General composition of camel milk and proteins used

Üretimde kullanılan deve sütü ve proteinler	Protein (%)	Yağ (%)	Kurumadde (%)	Kül (%)
Deve sütü	3,75±0,18	4,3±0,29	12,00±2,00	0,86±0,05
Sodyum Kazeinat	86,50±0,01	<0,5	94,50±0,01	7,50±0,02
Serum Protein Konsantratu	80,00±0,05	<0,5	92,95±0,01	1,53±0,01
Misellar Kazein	54,00±0,04	<0,5	94,40±0,02	8,40±0,02

Çizelge 2. Kontrol grubu ve 5 farklı substrat-enzim kombinasyonlarında üretilen yoğurtlarda laktik asit (%) konsantrasyonları ve relatif viskozite değerleri
 Table 2. Lactic acid (%) concentrations and relative viscosity values in yoghurts produced in control group and 5 different substrate-enzyme combinations

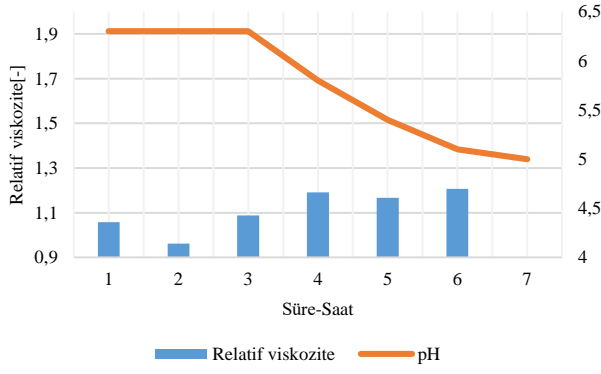
Örnek	Fermantasyon süresi [saat]	Laktik Asit [%]	Rel. Viskozite [-]
Sodyum Kazeinat (%6,2) ve 3U MTGaz	0	0,21	1,00
	1	0,33	1,03
	2	0,35	1,15
	3	0,42	1,11
	4	0,59	1,16
	5	0,74	1,17
	6	0,76	9,35
Sodyum Kazeinat (%6,2) ve 6U MTGaz	0	0,34	1,00
	1	0,37	1,05
	2	0,64	1,02
	3	0,82	3,91
	4	0,83	89,08
	5*	-	-
	6	-	-
Serum Proteini (%6,2) ve 3U MTGaz	0	0,24	1,00
	1	0,27	1,71
	2	0,32	1,36
	3	0,34	1,36
	4	0,62	3,60
	5	0,65	13,56
	6	0,88	55,78
Serum Proteini (%6,2) ve 6U MTGaz	0	0,23	1,00
	1	0,24	1,21
	2	0,29	1,31
	3	0,38	1,56
	4	0,50	2,31
	5	0,68	14,53
	6	1,03	67,67
Misellar** Kazein (%6,2) ve 6U MTGaz	0	0,28	1,00
	1	0,30	1,05
	2	0,50	1,12
	3	0,61	1,10
	4	0,87	1,19
	5	0,96	1,76
	6	1,12	11,49
Kontrol*** (MTGaz ilavesiz)	0	0,27	1,00
	1	0,29	1,04
	2	0,41	0,96
	3	0,50	1,08
	4	0,51	1,20
	5	0,55	1,18
	6	0,69	1,23

*Dördüncü saatin sonunda pH değeri 5'in altına düştüğü için 5 ve 6. saatlerde analiz yapılmamıştır, **Misellar Kazein (%6,2) ve 3U MTGaz örneği jel oluşturmadığı için deneme planından çıkartılmıştır, *** Kontrol grubunu, protein oranı sodyum kazeinat ilavesiyle %6,2 olacak şekilde ayarlanmış ancak MTGaz enzimi ilave edilmemiş yoğurt örneği oluşturmuştur.

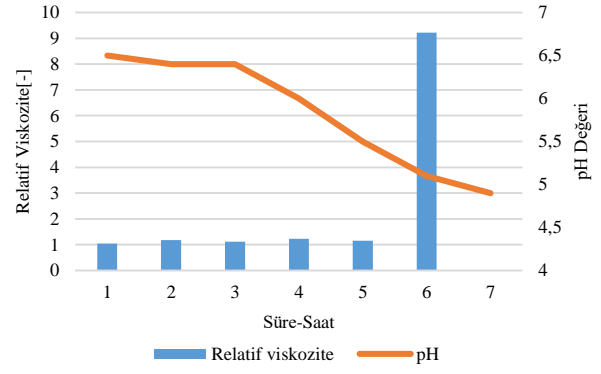
Şekil 3 ve 4'te üretilen her 2 yoğurtta da aynı protein (sodyum kazeinat) kullanılmasına rağmen MTGaz konsantrasyonunun 6U olduğu yoğurtta viskozitedeki artış MTGaz konsantrasyonu 3U olan örnekteki artışa göre yaklaşık 10 kat daha fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca her iki yoğurtta da pH, 7 saat sonunda 4,75'e ulaşmıştır. Yoğurtta kurumadde artışı sağlamak için Serum Protein konsantratu ilavesi (%6,2) yapılmış ve MTGaz konsantrasyonu olarak 3U seçilmiştir (Şekil 5). Bu enzim substrat konsantrasyonu ile üretilen deve sütü yoğurdunda

relatif viskozite 55 kat artarken, yine aynı konsantrasyonda substrat içeren 6U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurtta relatif viskozite 67 kat artış göstermiştir (Şekil 6). Her iki yoğurtta da pH düşüşü arasında farklılık görülmemiştir. Şekil 7'de görüldüğü gibi en son grup olan misellar kazein ilaveli yoğurtta proteinler arasında daha az bir çapraz bağlanmanın sonucu olarak relatif viskozitedeki artış 11 kat olarak saptanmış ve pH, 7 saat sonra 4,7'ye düşmüştür.

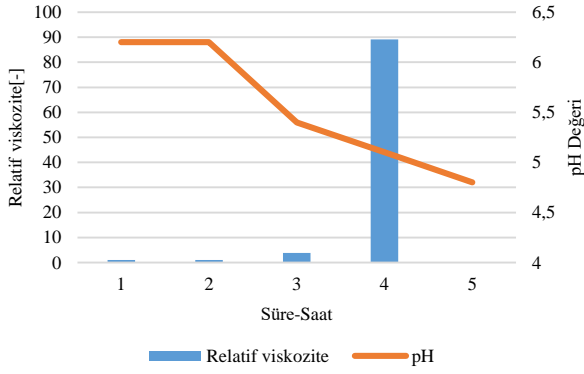
Bu çalışmada optimum niteliklerde üretilen 5 çeşit yoğurdun görüntüsü Şekil 8'de sunulmuştur.



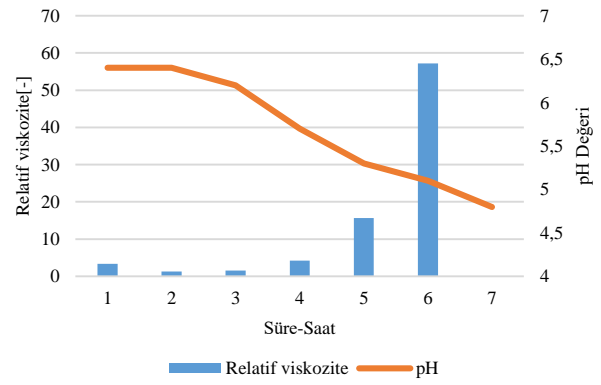
Şekil 2. Kontrol Grubunda (toplam protein oranı sodyum kazeinat ile %6,2'ye yükseltilen ancak MTGaz ilave edilmeyen) relatif viskozite ve pH Değişimi
 Figure 2. Change of relative viscosity and pH of control group (total protein content increased to 6.2% with sodium caseinate, but no MTGase)



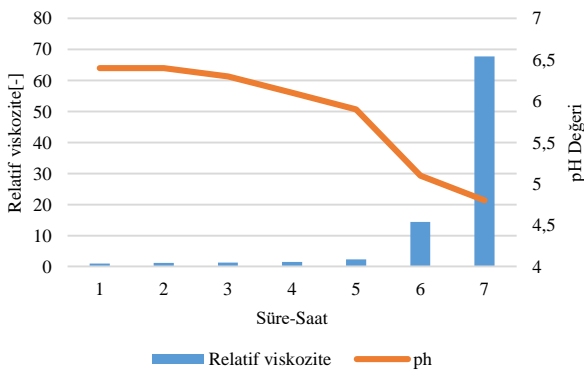
Şekil 3. Sodyum Kazeinat (%6,2) ve 3U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurttaki relatif viskozite ve pH değişimi
 Figure 3. Change of relative viscosity and pH of yogurt with sodium caseinate (6.2% sodium caseinate) and 3U MTGase enzyme addition



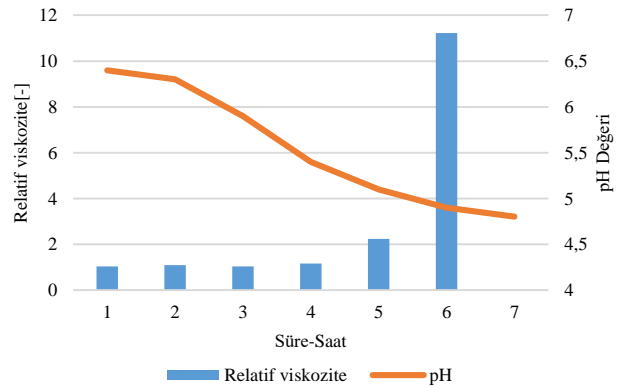
Şekil 4. Sodyum Kazeinat (%6,2) ve 6U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurttaki relatif viskozite ve pH değişimi
 Figure 4. Change of relative viscosity and pH of yogurt produced with Sodium Caseinate (%6.2) and 6U MTGase enzyme addition



Şekil 5. Serum Protein Konsantratu (%6,2) ve 3U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurttaki relatif viskozite ve pH değişimi
 Figure 5. Change of relative viscosity and pH of yogurt produced with Serum Protein Concentrate (6.2%) and 3U MTGase enzyme addition



Şekil 6. Serum Protein Konsantratu (%6,2) ve 6U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurttaki Relatif Viskozite ve pH Değişimi
 Figure 6. Change of relative viscosity and pH of yogurt produced with Serum Protein Concentrate (6.2%) and 6U MTGase enzyme addition



Şekil 7. Misellar kazein (%6,2) ve 6U MTGaz ilavesiyle üretilen yoğurttaki relatif viskozite ve pH değişimi
 Figure 7. Change of relative viscosity and pH of yogurt produced with micellar casein (6.2%) and 6U MTGase enzyme addition



Şekil 8. Yoğurt Örneklerinden Bir Görünüm

- 1: Misellar Kazein ve 6U MTGaz enzim ilaveli
- 2: Serum Protein Konsantrati ve 3U MTGaz enzim ilaveli
- 3: Sodyum Kazeinat ve 3U MTGaz enzim ilaveli
- 4: Sodyum Kazeinat ve 6U MTGaz enzim ilaveli
- 5: Serum Protein Konsantrati ve 6U MTGaz enzim ilaveli

Figure 8. A view of Yogurt Samples

Abou-Soliman ve ark. (2017) MTGaz enzimi kullanarak deve sütünden yoğurt üretimi üzerine çalışmışlardır. Bu çalışmada da deve sütünden yoğurt üretiminin gerçekleşmediği, sütün sulu, gevşek bir yapıda kaldığı gözlenmiştir. Deve sütü protein oranını yağsız inek sütü tozu, serum protein konsantrati ve β -laktoglobulin ilavesiyle artırılmıştır. MTGaz ilavesiz yoğurtlarda protein ilavesi yapılmamış, yağsız süttozu, serum protein konsantrati ve β -lg'le zenginleştirilmiş yoğurtlarda pH değerleri farklı zamanlarda $4,62 \pm 0,02$ değerine ulaşmıştır. Bu pH'ya ulaşmak için gereken en uzun süre herhangi bir protein ilavesi yapılmamış (240 dakika) yoğurtlarda görülürken, en kısa süre 215 dakikayla β -lg'le zenginleştirilmiş yoğurtta kaydedilmiştir. Fermentasyon süresinin bizim çalışmamızdaki süreye göre daha kısa olmasının kullanılan starter kültürü tipi ve konsantrasyonuyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Aynı araştırmacılar MTGaz enzimi ilavesinin yağsız süttozu ilave edilmiş yoğurtlarda fermentasyon zamanını kısalttığını saptamışlardır. Serum protein konsantrati ile zenginleştirilmiş yoğurtlarda MTGaz enzimi ilavesi fermentasyon süresini 234 dakikadan 210 dakikaya düşürmüştür. Bizim çalışmamızda ise gerek sodyumkazeinat gerekse serum protein konsantrati ilave edilerek üretilmiş yoğurtlarda MTGaz enzim konsantrasyonunun 3U'den 6U'e çıkarılmasıyla hem pH düşüşü hızlı olmuş hem de relatif viskozitede daha fazla bir artış kaydedilmiştir.

MTGaz ilaveli yoğurtlarda pH ve titrasyon asitliğindeki değişiklikler konusunda yapılmış çalışmalar incelendiğinde genellikle bu parametreler depolama sürecinde analiz edilmiştir (Özer ve ark., 2007; Öner ve ark., 2008; Gharibzahedia ve ark., 2018). MTGaz ilavesiyle üretilmiş yoğurtlarda fermentasyon sürecindeki asitlik gelişimi konusunda yapılmış bir çalışmada Bönisch ve ark. (2007c) MTGaz enzim konsantrasyonunu 0-3U/g protein yoğurt üretiminde kullanmışlar ve 180 dakika kadar bu enzimle kurumadesi %4,4'e çıkarılmış sütü ön inkübasyona tabi tuttuktan sonra enzimi ısıl işleme inaktive etmişler ve starter kültürüyle fermentasyon sürecini gözlemlemişlerdir. 350 dakikalık fermentasyon süresince pH'da 6,6'dan 4,6'ya bir düşüş görülmüş, MTGaz (1U/g protein) ilave edilen sütteki pH düşüşü ilave

edilmemiş olan örneğe göre daha hızlı olmuştur. Buna karşın Lorenzen ve ark. (2002) ise MTGaz enziminin fermentasyondan önce ilave edilmesinin (14U/g protein) fermentasyon süresini 20-40 dakika uzattığını tespit etmişlerdir. Bu durum ise Faergemand ve ark. (1999) tarafından çok yoğun bir çapraz bağlama derecesinin muhtemelen laktik asit bakterilerinin beslenmesi için düşük moleküler ağırlıklı peptitlerinin varlığını azalttığı ve büyümelerini yavaşlattığı görüşüyle açıklanmıştır.

Deve sütünden MTGaz enzimiyle yoğurt üretimi konusunda yapılan bir başka çalışmada ise Chen ve ark. (2019), deve sütünün zayıf jelleşme kabiliyetinin, trisodyum sitrat ve MTGaz'ın sinerjistik etkisi ile çözülebileceğini ortaya atmışlardır. Bu amaçla trisodyum sitrat konsantrasyonunu 0'dan 30 mmol/L'ye çıkarılmış ve MTGaz ilave edilmiş deve sütü asit jellerinin depolama modülünün $11,9 \pm 0,3$ 'den $72,5 \pm 2,4$ Pa'a yükseldiğini, jel sıklığının $0,7 \pm 0,2$ 'den $1,8 \pm 0,1$ N'a, su tutma kapasitesinin ise $41,0 \pm 1,8$ 'den $99,6 \pm 0,8$ 'e çıktığını tespit etmişlerdir. Optimum konsantrasyon olarak seçilen 30 mmol/L trisodyum sitrat ile en küçük gözenek boyutuna sahip daha yoğun bir jel ağ yapısı gözlenmiştir. Kazein parçacıklarının ortalama çapı $183,5 \pm 5,9$ nm'den $37,4 \pm 3,0$ nm'ye düşmüş ve asit jeli çapraz bağlanma derecesi, trisodyum sitrat varlığında, $19,3 \pm 1,2$ 'den $38,9 \pm 2,4$ 'e yükselmiştir. Bu çalışma, MTGaz enziminin dokusal özelliklere sahip bir deve sütü jeli oluşturabildiğini göstermiştir.

İstatistiki olarak yapılan çalışmalarda bu beş farklı substrat-enzim kombinasyonu ile üretilen yoğurtlardan elde edilen relatif viskozite, pH ve laktik asite ait değerlendirmeler Çizelge 3'te gösterilmiştir. Çizelgede de görüldüğü gibi pH, LA (%) ve viskozite üzerine örnek grubunun etkisi önemli ($P < 0,05$), relatif viskozite üzerine etkisi ise önemsizdir ($P > 0,05$). Benzer şekilde Çizelge 4'de ise fermentasyon süresinin pH, LA (%) ve viskozite üzerine etkisi gösterilmiştir. Fermentasyon süresinin pH, LA (%) ($P < 0,01$) ve viskozite üzerine etkisi önemli ($P < 0,05$) iken, relatif viskozite üzerine etkisi önemsizdir ($P > 0,05$). pH bakımından sodyum kazeinat (%6,2-6U) tüm diğer grupların hepsinden farklı ($P < 0,05$) bulunmuşken, misellar kazein (%6,2-6U) grubu sodyum kazeinat (%6,2-3U) ve serum protein (%6,2-6U) grubundan farklı ($P < 0,05$) diğer gruplarla benzer ($P > 0,05$), gruplar arasındaki diğer farklılıklar ise önemsiz ($P > 0,05$) bulunmuştur.

LA(%) bakımından sodyum kazeinat (%6,2-3U) misellar kazein (%6,2-6U) ile benzerken ($P > 0,05$), bu iki grup diğer gruplardan farklı ($P < 0,05$), gruplar arasındaki diğer farklılıklar önemsizdir ($P > 0,05$). Viskozite bakımından sodyum kazeinat (%6,2-6U) serum protein (%6,2-6U)'dan farklı ($P < 0,05$) diğer gruplarla benzerken, gruplar arasındaki diğer farklılıklar önemsiz ($P > 0,05$) bulunmuştur.

Fermentasyon süresi için 0. ve 1. saatteki LA (%) ve pH değerleri benzer bulunmuşken, her iki özellik için diğer fermentasyon saatleri arasındaki farklılıklar önemli ($P < 0,05$) bulunmuştur.

Viskozite bakımından 4. saatte elde edilen değer 0., 1. ve 2. saatte elde edilen viskozite değerinden farklıken ($P < 0,05$), diğer saatlerdeki viskozite değerleri benzerdir ($P > 0,05$), viskozite değerleri bakımından fermentasyon süreleri arasındaki diğer farklılıklar önemsizdir ($P > 0,05$)

Çizelge 3. Beş adet yoğurt örneğinde örnek faktörü üzerine pH, laktik asit (LA) , viskozite ve relatif viskozitenin istatistiksel değerlendirilmesi

Table 3. Statistical evaluation of pH, lactic acid (LA), viscosity and relative viscosity on the sample factor in five yogurt samples

Faktör	n	pH	LA (%)	Viskozite (cP)	n	Relatif Viskozite (-)
Örnek		**	**	*		ÖD
1 (SK% 6,2-3U)	14	5,82±0,042 ^{Aa}	0,49±0,023 ^{Aa}	5669±18,582,5 ^{Aa}	7	2,28±6,43
2 (SK% 6,2-6U)	10	5,22±0,052 ^{Bb}	0,72±0,029 ^{Bb}	112,498±22,606,6 ^{Bb}	5	24,01±7,83
3 (SP% 6,2-3U)	14	5,69±0,042 ^{ACac}	0,47±0,023 ^{Aa}	9179±18,582,5 ^{Aa}	7	11,85±6,43
4 (SP% 6,2-6U)	14	5,86±0,042 ^{Aa}	0,48±0,023 ^{Aa}	13,013±18,582,5 ^{ABa}	7	12,77±6,43
5 (MK% 6,2-6U)	14	5,55±0,042 ^{Cc}	0,66±0,023 ^{Bb}	2769,9±18,582,5 ^{Aa}	7	2,68±6,43
6 Kontrol- (% 6,2-0U)	14	5,75±0,042 ^{ACa}	0,46±0,023 ^{Aa}	2671±18,582,5 ^{Aa}	7	1,10±6,43

Örnek grubunun pH, LA, Viskozite ve Relatif Viskozite özellikleri üzerine etkisi Varyans analizi sonucuna göre belirlenmiştir ve *, ** veya ÖD örnek grubunun etkisinin önemlilik derecesini varyans analizi sonucuna göre vermektedir. Grupların karşılaştırılması Tukey (P<0,05)'e göre yapılmıştır. Çizelgede Aa, Bb gibi harflendirmeler ikili olarak grupların hangilerinin birbirleriyle benzer hangilerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir. *: Önemli P<0,05, **: Önemli P<0,01, ÖD: Önemli değil, SK: Sodyum Kazeinat; SP: Serum Protein Konsantratu; MK: Misellar Kazein

1: Sodyum Kazeinat ve 3U MTGaz enzim ilaveli, 2: Sodyum Kazeinat ve 6U MTGaz enzim ilaveli, 3: Serum Protein Konsantratu ve 3U MTGaz enzim ilaveli, 4: Serum Protein Konsantratu ve 6U MTGaz enzim ilaveli, 5: Misellar Kazein ve 6U MTGaz enzim ilaveli, 6 Kontrol: Sodyum kazeinat ilavesiyle protein oranı %6,2 olacak şekilde ayarlanmış ancak MTGaz ilave edilmemiş

Çizelge 4. Yoğurt örneklerinde fermentasyon süresinin pH, laktik asit (%) ve relatif viskozite üzerine olan etkilerinin istatistiksel değerlendirmesi

Table 4. Statistical evaluation of the effects of fermentation time on pH, lactic acid (%) and relative viscosity in yogurt samples

Faktör	n	pH	LA (%)	Viskozite (cP)	n	Relatif Viskozite (-)
Ferm. Süresi (saat)		**	**	*		ÖD
0	12	6,37±0,046 ^{Aa}	0,264±0,025 ^{Aa}	2241±20,071,4 ^{Aa}	6	1,00±6,95
1	12	6,32±0,046 ^{Aa}	0,302±0,025 ^{Aa}	2473±20,071,4 ^{Aa}	6	1,24±6,95
2	12	6,08±0,046 ^{Bb}	0,417±0,025 ^{BCb}	2437±20,071,4 ^{Aa}	6	1,14±6,95
3	12	5,70±0,046 ^{Cc}	0,511±0,025 ^{Cb}	5218±20,071,4 ^{Aab}	6	1,69±6,95
4	12	5,34±0,046 ^{Dd}	0,654±0,025 ^{Dc}	85,343±20,071,4 ^{Ab}	6	16,54±6,95
5	10	4,99±0,051 ^{Ee}	0,750±0,028 ^{Dc}	24,514±22,350,5 ^{Aab}	5	9,89±7,73
6	10	4,74±0,051 ^{Ff}	0,929±0,028 ^{Ed}	47,874±22,350,5 ^{Aab}	5	32,29±7,73

Fermentasyon süresinin, pH, LA, Viskozite ve Relatif Viskozite özellikleri üzerine etkisi Varyans analizi sonucuna göre belirlenmiştir ve *, ** veya ÖD örnek grubunun etkisinin önemlilik derecesini varyans analizi sonucuna göre vermektedir. Grupların karşılaştırılması Tukey (P<0,05)'e göre yapılmıştır. Çizelgede Aa, Bb gibi harflendirmeler ikili olarak grupların hangilerinin birbirleriyle benzer hangilerinin birbirinden farklı olduğunu göstermektedir. *: Önemli P<0,05, **: Önemli P<0,01, ÖD: Önemli değil, SK: Sodyum Kazeinat; SP: Serum Protein Konsantratu; MK: Misellar Kazein

Çizelge 5. Deve sütü protein fraksiyonlarının moleküler ağırlıklarının literatür verileri ve çalışmamızda bulduğumuz verilerle karşılaştırılması

Table 5. The molecular weights of camel milk protein fractions compared with the literature data and the data found in our study

Protein Fraksiyonları	Literatürdeki Molekül Ağırlıkları (kDa)	Çalışmada Saptanan Molekül Ağırlıkları (kDa)	Kaynaklar
α_s -kazein	35	24-25	Mohammed (1993)
β - kazein	24,9	23	Kappeler ve ark. (1998)
	28,6		Mohammed (1993)
κ - kazein	22,2 – 22,9	22	Kappeler ve ark. (1998)
	22,4		Salmen ve ark. (2012)
α - laktoalbumin	14,4	14	Beg ve ark. (1985)
Laktoferrin	75,3	75	Kappeler ve ark. (1998)
Serum albumin	69,6	70	El-Agamy ve ark. (2000)

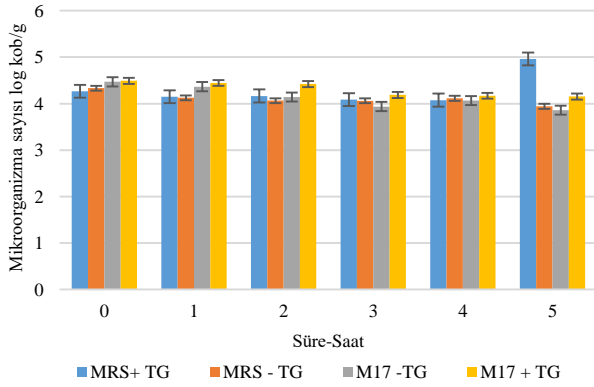
Mikrobiyolojik Analizler

Yapılan mikrobiyolojik analizlerin amacı ilave eidlen MTGaz enziminin yoğurt bakterilerinin çoğalması üzerine herhangi bir etkisinin olup olmadığını araştırmaktır. Bu nedenle 2 adet denemede MTGaz enzimi ilavesi/ilavesiz olarak gerçekleştirilmiş ve fermentasyon süresince *L. bulgaricus* ve *Str.thermophilus* bakterilerinin sayımı yapılmıştır. *Lactobacillus spp.* sayımı MRS Agar ile, *Streptococcus spp.* sayımı ise M17 agar ile yapılmıştır (Karagül-Yüceer ve ark., 2001). Şekil 9'da görüldüğü gibi MTGaz ilave edilmemiş örneklerle yaklaşık aynı

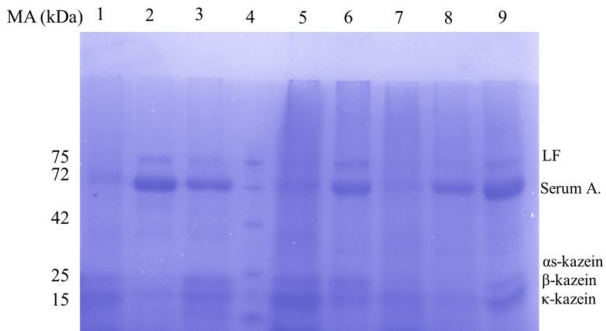
mikroorganizma sayısında olduğu belirlenmiştir. Bu ise MTGaz enziminin starter kültür üzerinde etkisinin bulunmadığını göstermektedir. Bulgulara göre *L. bulgaricus* ile *Str. thermophilus* bakterilerinin sayısı Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği (Tebliğ No: 2009/25)'nde öngörülen değerlerden (en az 10^7 kob/mL) düşük olduğu belirlenmiştir. Abu-Tarboush (1996) yaptığı bir çalışmada yoğurt bakterilerini tek tek ve ikisi birlikte deve sütü ve inek sütünden yoğurt üretiminde kullanmıştır. Deve sütünde bakteri sayımının inek sütünden daha düşük

olduğunu gözlemlemiştir. Literatür bilgisinde de yer aldığı gibi deve sütü antimikrobiyel özelliğe sahip olmakla beraber, yoğurt pıhtısının gözlenmediği bir süt çeşididir. Jans ve ark. (2012), ile Bornaz ve ark. (2009) içerdiği antimikrobiyel etkiye sahip bileşiklerden özellikle laktoferrinin deve sütünden yoğurt üretiminde starter bakterilerinin gelişimini azalttığı ve bu nedenle yoğurt pıhtısının oluşmadığını rapor etmişlerdir. Sonuç olarak bu analizde de yoğurt bakterilerinin sayısının düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca uygulanan istatistiksel analiz sonucunda önem arz eden bir farklılık gözlenmemiştir ($P>0,05$). Elde edilen mikroorganizma sayımları logaritmik olarak verilmiş olup standart sapmalar aşağıdaki Şekil 9 üzerinde yer almaktadır.

Bu çalışmanın aksine yapılan bazı çalışmalarda transglutaminaz enziminin genellikle canlı yoğurt bakterilerinin sayıları üzerine fermentasyon sürecinde değil depolama sürecinde araştırılmıştır. Bu nedenle ileriki çalışmalarda depolama süresinin mikrobiyal transglutaminaz enzimiyle üretilen yoğurtlarda canlı bakteri sayısı üzerine etkisinin araştırılması yapılabilir.



Şekil 9. MTGaz ilaveli ve MTGaz ilavesiz deve sütünde yoğurt bakterilerinin fermentasyon boyunca gelişimi
Figure 9. The growth of yogurt bacteria in camel milk with and without MTGase addition



Şekil 10. SDS-PAGE ile Protein Fraksiyonlarının Analizi
Figure 10. Analysis of Protein Fractions with SDS-PAGE
MA: Moleküler ağırlık (kDa); 1: Serum protein konantratu ilaveli; 2: Sodyum kazeinat ilaveli; 3: Misellar kazein ilaveli; 4: Marker (Sigma); 5: Serum Protein ve 3 U MTGaz ilaveli; 6: Misellar Kazein ve 6 U MTGaz ilaveli; 7: Serum proteini 6 U MTGaz ilaveli; 8: Sodyum kazeinat ve 6 U MTGaz ilaveli; 9: Sodyum kazeinat ve 3 U MTGaz ilaveli; LF: Laktoferrin; Serum A.: Serum albümin

SDS-PAGE (Sodyum Dodesil Sulfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi)

Bu çalışmada deve sütü proteinlerinin yaklaşık molekül ağırlıkları ve MTGaz enzimiyle oluşan protein polimerizasyonu, protein fraksiyonlarının monomer bantlarının yoğunluklarının azalması üzerinden analiz edilmiştir. Deve sütüyle ilgili literatür verileri incelendiğinde bazı çalışmalarda yer alan deve sütü proteinlerinin molekül ağırlıkları ve çalışmamızda saptadığımız proteinlerin moleküler ağırlıklarının karşılaştırılması Çizelge 5'te verilmiştir. Bilindiği gibi transglutaminaz enzimi vasıtasıyla oluşan oligomerler ve polimerler kovalent bağ yapısında olmaları nedeniyle parçalanamamaları ve ayrıca moleküler ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle jel üzerinde görülmemektedir. Bundan dolayı sadece jele yüklediğimiz monomerlerin bant yoğunluğunun artış ve azalışı üzerinden polimerizasyonreaksiyonlarının oluştuğu bilinmektedir. Monomer bant yoğunluğunun azalması polimerizasyonun fazla olduğunun bir göstergesi olmasından dolayı SDS-PAGE üzerinde değerlendirmeler yapılabilecektir. Bu nedenle SDS-PAGE intramoleküler veya intermoleküler çapraz bağların oluştuğunu analiz etmede kullanılan bir kalitatif analiz yöntemidir. Çalışmada jel üzerinde yürütülen proteinlerin moleküler ağırlıklarının saptanmasında herhangi bir yazılım programı kullanılmamış olup belirlenen moleküler ağırlıkları standart proteinlerin moleküler ağırlıkları ile karşılaştırma sonucunda elde edilmiştir.

Bu çalışmada MTGaz enzimi vasıtasıyla lisin ve glutamin amino asitleri arasında çapraz bağlanma sonucunda oluşan büyük moleküler ağırlığa sahip oligomer veya polimerler jel matrisine entegre olamadığı için jelin değerlendirilmesinde çapraz bağlanmaya katılmayan fraksiyonların monomer bantlarının yoğunluğu üzerinden yapılmıştır. Şekil 10'da görüldüğü gibi 5. kolonda serum proteini konantratu, 3U MTGaz enzimiyle çapraz bağlanma reaksiyonuna katılmış olup burada çapraz bağlanmaya katılmayan monomer bantların yoğunluklarının, 7. kolonda serum proteini konantratinın 6U MTGaz enzimiyle çapraz bağlanma sonucunda kalan monomer bant yoğunluğundan daha fazla olduğu görülmektedir. Benzer değerlendirme 9. kolonda bulunan sodyum kazeinat (3U) ve 8. kolonda bulunan sodyum kazeinat (6U)'da da görülmekte olup bu durum enzim konantrasyonunun 3U'den 6U'ye çıkarılmasının çapraz bağların oranının arttığını ve monomer bantların yoğunluğunun azaldığını göstermektedir.

Bu değerlendirmelerde de görüldüğü gibi deve sütüne ilave edilen proteinlerin hepsi de çapraz bağlanmaya katılmış olup enzim konantrasyonunun artışı ile çapraz bağlanma oranı artmış ve monomer bantların ise konantrasyonları azalmıştır.

Bu çalışmaya benzer şekilde Bönisch (2007a) yapmış olduğu çalışmada sodyum kazeinat ilavesiyle protein oranı artırılmış inek sütüne 3U oranında MTGaz enzimi ilave etmiş ve 360 dakikalık fermentasyon boyunca almış oldukları örnekleri SDS-PAGE için hazırlayarak proteinleri yürütmüşler ve hem inter- hem intramoleküler polimerizasyon oluşumunu monomer protein bantlarının yoğunluğunun azalması üzerinden tespit etmişlerdir.

Sonuçlar

Deve sütünün bileşiminin diğer süt türlerine göre bazı farklılıklar göstermesi ve yoğurda işlenebilirliğinin zor olmasından dolayı yoğurt üretimini mümkün kılmak amacıyla çalışmada MTGaz enzimi kullanılmıştır. Bu enzim vasıtasıyla yapıda oluşan kovalent çapraz bağlar sayesinde üründe viskozite artışı sağlanarak daha sıkı ve daha dayanıklı bir yapı meydana gelmektedir. Çalışmada deve sütü proteinlerine ilave olarak serum protein konsantratu, sodyum kazeinat ve miselller kazein tozu substrat olarak kullanılmış olup 3U ve 6U transglutaminaz enzim ilavesiyle deve sütünden yoğurt üretimi gerçekleştirilmiştir. En yüksek relatif viskoziteyi (90 katlık artış) %6,2 oranında sodyum kazeinatça zenginleştirilerek 6U MTG enzim ilave edilip kültürlenmiş deve sütünden üretilen yoğurt örneği göstermiştir. Yapılan mikrobiyolojik analizler sonucunda, MTG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde *L. bulgaricus* ve *Str. thermophilus* bakteri sayıları arasında önemli bir fark olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu da MTG enziminin yoğurt bakterilerinin gelişimini baskılamadığını göstermiştir. Kıvam ve yapı olarak standart yoğurt görünümünde olmasına rağmen MTG enzimi ilavesiyle üretilen deve yoğurdunun mekanik işlemlere karşı duyarlı olduğu ve oda koşullarında yarım saatlik bekletme sürecinde sineresizin yoğun ve hızlı bir şekilde gerçekleştiği gözlenmiştir.

Bu çalışmalardan çıkan sonuçlar doğrultusunda deve sütünden TG enzimi ilavesiyle yoğurt üretimi konusunda yapılacak çalışmalarda çapraz bağların oluşumu ve deve sütü proteinlerinin çapraz bağlanmaya katılıp katılmadığını ve çapraz bağlanmanın (polimerizasyon) derecesini tespit etmek amacıyla Jel Permeasyon Kromatografisi kullanılması önerilmektedir. Ayrıca yoğurtta görüntüleme analizleri ile deve sütü proteinlerinin HPLC ile analitik incelenmesine de ağırlık verilmelidir.

Teşekkür

Yazarlar Tübitak'a (Proje numarası: 119O649 finansiyel desteği) ve Kaya Deve Çiftliğine (İncirliova/Aydın) deve sütü tedariki için teşekkür ederler.

Kaynaklar

- Abou-Soliman, Nagwa HI, Sally S. Abou-Soliman Nagwa HI, Sakr SS, Awad S. 2017. Physico-chemical, microstructural and rheological properties of camel-milk yogurt as enhanced by microbial transglutaminase. *Food Science Technology*. 54(6): 1616–1627.
- Abu-Tarboush HM. 1996. Comparison of Associative Growth and Proteolytic Activity of Yogurt Starters in Whole Milk from Camels and Cows. *Journal of Dairy Science*, 79: 366-371
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA; AOAC International
- Beg OU, Bahr-Lindsrtöm, HV, Zaidi ZH, Jörnvall H. 1985. The primary structure of α -lactalbumin from camel milk. *European Journal of Biochemistry*, 147(2): 233-239
- Bornaz S, Sahli A, Attalah A, Attia H. 2009. Physico-chemical characteristics and renneting properties of camels' milk: A comparison with goats', ewes', and cows' milks. *Int. J. Dairy Technol.* 62: 505-513.

- Bönisch MP, Huss M, Lauber S, Kulozik U. 2007b. Yoghurt gel formation by means of enzymatic protein cross-linking during microbial fermentation. *Food Hydrocolloids* 21: 585–595
- Bönisch MP, Lauber S, Kulozik U. 2007a. Improvement of enzymatic cross-linking of casein micelles with transglutaminase by glutathione addition. *International Dairy Journal* 17: 3–11
- Bönisch MP, Huss M, Weigl K, Kulozik U. 2007c. Transglutaminase cross-linking of milk proteins and impact on yoghurt gel properties. *International Dairy Journal* 17: 1360–1371
- Chen C, Wanga P, Zhang N, Zhang W, Ren F. 2019. Improving the textural properties of camel milk acid gel by treatment with trisodium citrate and transglutaminase. *Food Science and Technology* 103: 53–59
- El-Agamy EI. 2008. Camel Milk; Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals, Edited by Young W. Park and George F.W. Haenlein, Blackwell Publishing
- El-Agamy EI. 2000. Effect of heat treatment on camel milk proteins with respect to antimicrobial factors: a comparison with cows' and buffalo milk proteins. *Food Chemistry*, 68: 227-232
- El-Agamy EI, Ruppanne R, Ismail A, Champagne CP, Assaf R. 1996. Purification and characterization of lactoferrin, lactoperoxidase, lysozyme and immunoglobulins from camel's milk. *International Dairy Journal*, 6: 129-145
- Faergemand M, Sørensen MV, Jørgensen U, Budolfsen G, Qvist KB. 1999. Transglutaminase: Effect on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. *Milchwissenschaft*, 54: 563–566
- Farnsworth JP, Li J, Hendricks GM, Guo MR. 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research* 65: 113–121
- Folk JE, Finlayson JS. 1977. The ϵ -(γ -glutamyl) Lysine Crosslink and the Catalytic Role of Transglutaminase, *Advances Protein Chemistry*, 31, 1- 133.
- Gauche C, Tomazi T, Barreto PLM, Ogliairi PJ, Bordignon-Luiz MT. 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and transglutaminase. *Food Science and Technology* 42: 239–243
- Gharibzahedia SMT, Chronakis LS. 2018. Crosslinking of milk proteins by microbial transglutaminase: Utilization in functional yogurt products. *Food Chemistry* 245: 620–632.
- Gupta BM, Mueen KK, Ritu A, Rishi T. 2015. World camel research: a scientometric assessment. *Scientometrics*, 102: 957–975.
- Hashim IB, Khalil AH, Habib H. 2009. Quality and acceptability of a settype yogurt made from camel milk. *Journal of Dairy Science*, 92: 857-862
- Jans C, Bugnard J, Njage PMK, Lacroix C, Meile L. 2012. Lactic acid bacteria diversity of African raw and fermented camel milk products reveals a highly competitive, potentially health-threatening predominant microflora. *LWT-Food Sci. Technol.* 47: 371-379.
- Kappeler SR. 1998. Compositional and structural analysis of camel milk proteins with emphasis on protective proteins. PhD thesis no. 12947, Swiss Federal Institute of Technology (ETH), Zurich, Switzerland
- Karagül-Yüceer Y, Wilson JC, White CH. 2001. Formulations and processing of yogurt affect the microbial quality of carbonated yoghurt. *Journal Dairy Science*, 84: 543-550
- Kulozik U, Kersten M. 2002. Membrane fractionation of dairy proteins by means of microfiltration. *Engineering in Life Sciences*, 2: 275–278
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685.

- Lauber S, Krause I, Klostermeyer H, Henle T. 2003. Microbial transglutaminase crosslinks β -casein and β -lactoglobulin to heterologous oligomers under high pressure. *Eur Food Res Technol*, 216: 15–17
- Liu M, Damodaran S. 1999. Effect of transglutaminase-catalysed polymerization of β -casein on its emulsifying properties. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47: 1514-1519.
- Lorenzen PC, Neve H, Mautner A, Schlimme E. 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 55: 152–157
- Mohammed AH. 1993. Conceptual classification of camels In: *The multipurpose camel: Interdisciplinary study on pastoral production in Somalia*. EPOS MO prints, Upsala, Sweden. pp 155–158
- Öner Z, Karahan AG, Aydemir S, Aloğlu AH. 2008. Effect of Transglutaminase on physicochemical properties of set-style yoghurt. *International Journal of Food Properties*, 11: 196–205
- Özer B, Kirmaci HA, Oztekin Ş, Hayaloglu A, Atamer M. 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. *International Dairy Journal*. 17(3): 199-207
- El-Agamy El-Sayed I. 2006. *Handbook of Milk of Non- Bovine Mammals*, Edited by Young W. Park and George F.W. Haenlein, Blackwell Publishing
- Salmen SH, Abu-Tarboush HM, Al-Saleh AA, Metwalli AA. 2012. Amino acids content and electrophoretic profile of camel milk casein from different camel breeds in Saudi Arabia, *Saudi Journal of Biological Science* 19: 177-183
- SAS. 1999. *Statistical analysis system for windows (Release 8.2)*. SAS Institute Inc., Raleigh, NC, USA.
- Shamsia SM. 2009. Nutritional and therapeutic properties of camel and human milks. *International Journal of Genetics and Molecular Biology* Vol. 1 (2): 052-058
- Şanlı T, Sezgin E, Şenel E, Benli M. 2011. Geleneksel Yöntemle Ayran Üretiminde Transglutaminaz Kullanımının Ayranın Özellikleri Üzerine Etkileri. *Gıda* 36 (4): 217-224
- TGK, 2009. *Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği*, Tebliğ No. 2009/25
- TGK, 2012. *Türk Gıda Kodeksi Koyulaştırılmış Süt ve Süttozlarının Kimyasal Analizi İçin Numune Alma Metotları Tebliği* Tebliğ No: 2012/3 T.C. Resmi Gazete 4.01.2012. Sayı: 28163
- Ünlütürk A, Turantaş F, 1996. *Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ege Meslek Yüksekokulu Yayınları. Yayın no: 19
- Yüksel Z, Erdem Y. 2009. Modification Of Bovine Milk Protein System By Transglutaminase. *Gıda*, 34 (6): 345-350