

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ
TESPİTİ İÇİN HIZLI ANALİZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mysa YAAQOB

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

OCAK 2025

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ
TESPİTİ İÇİN HIZLI ANALİZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mysa YAAQOB

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa ÖZTÜRK

OCAK 2025

Mysa YAAQOB tarafından hazırlanan “Yoğurt Üretiminde Transglutaminaz Kullanımının Tespiti İçin Hızlı Analiz Yöntemi Geliştirilmesi.” adlı tez çalışması 07.01.2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Jüri Başkanı : **Prof. Dr. Oktay YEMİŞ**
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Doç. Dr. Mustafa ÖZTÜRK** (Danışman)
Sakarya Üniversitesi

Jüri Üyesi : **Dr.Öğr.Üyesi Çağım AKBULUT ÇAKIR**
Harran Üniversitesi



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğine ve Yükseköğretim Kurumları Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesine uygun olarak hazırlamış olduğum “YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ TESPİTİ İÇİN HIZLI ANALİZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ ” başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın tüm aşamalarında yukarıda belirtilen yönetmelik ve yönergeye uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, bu tezi başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve 20.04.2016 tarihli Resmi Gazete’de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince Sakarya Üniversitesi’nin abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Enstitü tarafından belirlenmiş ölçütlere uygun rapor alındığını, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun ortaya çıkması halinde doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi beyan ederim.

(07/01/2025).

Mysa YAAQOB





Tezimi, beni her zaman cesaretlendiren sevgili aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, her zaman sınırsız sabrı ve hoşgörüsüyle beni yönlendiren ve tez çalışmamın her aşamasında yardım ve bilgilerini esirgemeyen değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Mustafa ÖZTÜRK'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, çalışmamın yürütülmesinde ve analizlerimin planlanmasında bilgi ve deneyimiyle rehberlik eden, desteğini ve yardımını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili hocam Arş. Gör. Dr. Hatice SIÇRAMAZ'a sonsuz teşekkür ederim.

Hayatım boyunca manevi destekleriyle yanımda olan aileme, sevdiklerime ve arkadaşlarıma verdikleri sürekli destek ve cesaretlendirmeler için teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yürütülmesi ve analiz aşamalarında verdikleri kıymetli destekler ve yardımları için Doç. Dr. Ahmed MENEVŞEOĞLU, Doç. Dr. Hüseyin AYVAZ ve Muhammed Ali DOĞAN'a içtenlikle teşekkür ederim.

Prof. Dr. Abdul Özdemir'e değerli teknik desteklerinden dolayı teşekkür ederim. Çalışmamızda kullandığımız starter kültürleri sağlayan Chr-Hansen firmasına minnettarlığımı ifade ederim.

Mysa YAAQOB



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	v
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	xi
KISALTMALAR	xiii
SİMGELER	xv
TABLO LİSTESİ	xvii
ŞEKİL LİSTESİ	xix
ÖZET	xxi
SUMMARY	xxiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	5
2.1. Yoğurt	5
2.1.1. Yoğurdun tarihi	6
2.1.2. Yoğurdun kimyasal bileşimi	6
2.1.3. Yoğurt üretimi	7
2.1.3.1. Endüstriyel yoğurt üretimi	7
2.1.4. Yoğurt kalitesini etkileyen faktörler	11
2.2. Transglutaminaz	12
2.2.1. Mikrobiyal transglutaminaz (mTGaz) enzimi	13
2.2.1.1. Mikrobiyal TGaz enziminin kimyasal yapısı ve özellikleri	14
2.2.1.2. mTGaz enziminin süt endüstrisinde kullanımı	15
2.2.1.3. Mikrobiyal TGaz aktivitesini etkileyen faktörler	17
2.2.2. Transglutaminazın sağlık üzerine olumsuz etkileri	18
2.3. Yakın ve orta İnfrared Spektroskopisi	18
3. MATERYAL VE METOD	21
3.1. Materyal	21
3.2. Metot	21
3.2.1. Enzimin eklenmesi	21
3.2.2. Yoğurt üretimi	21
3.2.3. İnfrared spektroskopisinin ölçümleri	23
3.2.3.1. FT-NIR spektrumlarının toplanması	23
3.2.3.2. FT-MIR spektrumlarının toplanması	24
3.2.4. Veri analizi	25
3.2.4.1. SIMCA (Sınıf Analojisinin Yumuşak Bağımsız Modellenmesi)	25
3.2.4.2. PLS-DA (kısmi en küçük kareler ayırıcı analizi)	25
3.2.4.3. Makine öğrenmesi analizi ve koşullu entropi	26
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	29
4.1. Spektral Bilgiler	29
4.2. Enzim Varlığına Göre Sınıflandırma	30
4.3. Enzim Aktivitesine Göre Sınıflandırma	34
4.4. Enzim Konsantrasyonuna Göre Sınıflandırma	37

5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	41
KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ.....	49



KISALTMALAR

ABC	: Amerika Birleşik Devletleri
CE	: Koşullu Entropi
FN	: Yanlış Negatif
FP	: Yanlış Pozitif
FTIR	: Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi
FDA	: Amerika Gıda ve İlaç Dairesi
GRAS	: Genel Olarak Güvenilir Kabul Edilen
ICD	: Sınıflar Arası Mesafe
KKN	: k-En Yakın Komşu algoritması
LR	: Lojistik Regresyon
LD	: Doğrusal Ayırıcı
MIR	: Orta Kızılötesi Spektroskopisi
M.Ö	: Milattan Önce
mTG	: Mikrobiyal Transglutaminaz
NIR	: Yakın Kızılötesi Spektroskopisi
PH	: Negatif Hidrojen iyonu konsantrasyonunun logaritması
PCA	: Temel Bileşen Analizi
PLS-DA	: Kısmi En Küçük Kareler Ayrım Analizi
QD	: Kuvadratik Ayrım
SIMCA	: Sınıf Analizinin Yumuşak Bağımsız Modellemesi
SVM	: Destek Vektör Makinesi
TG	: Transglutaminaz
TSE	: Türk Standartları Enstitüsü
UHT	: Ultra Yüksek Isı
WPC	: Peynir altı suyu konsantresi
WWP	: Peynir altı suyu proteini tozu



SİMGELER

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
Ba^{2+}	: Baryum
$^{\circ}\text{C}$	: Santigrat derece
C	: Karbon
Ca^{2+}	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
cm^{1-}	: 1/Santimetre
Co^{2+}	: Kobalt
Cu^{2+}	: Bakır
Cys	: Sistein
Dk	: Dakika
g	: Gram
K^{+}	: Potasyum
Kg	: Kilogram
KDa	: Kilo dalton
Li^{2+}	: Lityum
m^2	: Metrekare [alan birimi]
mL	: Mililitre
Pb^{+}	: Kurşun
ϵ	: Şekil Değiştirme Tensörü
U	: Ünite
Zn^{+}	: Çinko



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. İnek sütünün tipik bileşimi (Walstra ve ark., 2005).....	8
Tablo 2.2. mTGaz enziminin gıda endüstrisinde kullanımı (Kieliszek ve Misiewicz, 2014).	16
Tablo 5.1. FT-NIR ve FT-MIR spektral verilerinden elde edilen sınıflandırma modellerinin istatistiksel verilerinin özeti.	42





ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Set tipi kaymaksız yoğurt üretim şeması (Lee ve Lucey, 2010).	10
Şekil 2.2. Transglutaminaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar (a) Açıl transferreaksiyonu (b) Protein veya peptitlerde bulunan glutamin ve lisin kalıntıları arasında çapraz bağlanma reaksiyo (c) Deamidasyon (Kieliszek ve Misiewicz, 2014).	13
Şekil 2.3. Mikrobiyal TGaz enziminin üç boyutlu protein yapısı.	15
Şekil 3.1. mTGaz ile üretilen yoğurt örnekleri.	22
Şekil 3.2. Deneysel yoğurtların üretim akış şeması.	23
Şekil 4.1. Yoğurt örneklerinin (a) FT-NIR (10000 – 4000 cm ⁻¹) ve (b) FT-MIR (4000 – 650 cm ⁻¹), spektrumun ortalamasının ölçümleri ve önemli titreşim bantları.	30
Şekil 4.2. Kontrol ve aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran NIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.	32
Şekil 4.3. Kontrol ve aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.	34
Şekil 4.4. Aktif ve inaktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran NIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.	35
Şekil 4.5. Aktif ve inaktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.	37
Şekil 4.6. 1U ve 2U aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.	39



YOĞURT ÜRETİMİNDE TRANSGLUTAMİNAZ KULLANIMININ TESPİTİ İÇİN HIZLI ANALİZ YÖNTEMİ GELİŞTİRİLMESİ

ÖZET

Yoğurt, sütte bulunan laktozu laktik aside dönüştüren bakteriler kullanarak sütün fermantasyonu ile oluşan pıhtıdır. Laktik asit fermantasyonu sonucunda süt proteinleri koagüle olur ve yoğurda kendine özgü dokusunu ve asidik özelliğini kazandırır. Dünya genelinde yaygın olarak tüketilen yoğurt, insan sağlığının korunması ve sindirim sistemi sorunlarını giderme gibi çeşitli iyileştirici etkiler ile ilişkilendirilmiştir.

Yoğurt üretiminde, sıcaklık ve diğer fiziksel faktörlerin etkisiyle protein ağındaki suyun ayrılması önemli bir sorun oluşturmaktadır. Bu sorunu çözmek için yoğurda mTGaz enzimi eklenebilmektedir. mTGaz, hidrofilik protein bağlarının etkileşimini teşvik ederek jelin su tutma kapasitesini artırır ve bu da yoğurt jelinin dayanıklılığını ve viskozitesini iyileştirmektedir.

Transglutaminaz enzimi transferaz ailesinin bir üyesidir. Transglutaminaz, bir peptid bağlı glutamin kalıntısının γ -karboksiamid grubu ile lizin amino grubu dahil çeşitli primer aminler arasındaki bir açıl transfer reaksiyonunu katalize eder. Bu da proteinler, peptidler ve primer aminler arasında kovalent çapraz bağ oluşturur.

Mikrobiyal transglutaminaz, ABD, Kanada, Japonya, Brezilya ve Çin gibi birçok ülkede gıda üretiminde yasal olarak kullanılmaktadır. Genellikle güvenli kabul edilen (GRAS) transglutaminaz enzimi, Avrupa Birliği'nde gıda işleme yardımcı maddesi olarak onaylanmıştır ve süt ürünleri üretiminde içerik listesinde belirtilmeden kullanılabilir. Başlangıçta hayvan dokularından elde edilen transglutaminaz, günümüzde genellikle mikrobiyal kaynaklardan elde edilmektedir.

Son yıllarda yoğurt üretiminde mikrobiyal transglutaminaz enziminin kullanımı, ürünün kıvamı, yapısal dayanıklılığı, su tutma kapasitesi ve genel kalite özelliklerini geliştirmesinden dolayı artış göstermektedir.

Mikrobiyal transglutaminaz, yoğurda iki yöntemle eklenir: Birinci yöntemde, enzim sütün içine eklenir ve ardından sütün sıcaklığı, enzimin etkinliğinin duracağı noktaya yükseltilerek inaktive edilir. Daha sonra starter kültürü eklenir. İkinci yöntemde ise mTGaz aktivitesi durdurulmadan, aynı anda starter kültürle birlikte sütün içine eklenir.

Şu ana kadar süt ürünlerinde kullanılan transglutaminaz (mTGaz) enziminin varlığını veya miktarını güvenilir bir şekilde tespit edebilecek herhangi bir spesifik yöntem mevcut değildir. Bu çalışmanın amacı yoğurttaki transglutaminazın kullanımını, durumunu (aktif veya inaktif) ve konsantrasyon seviyelerini tespit edebilecek hızlı, uygun ve güvenilir bir modelin IR spektroskopisi kullanılarak geliştirilmesidir. Bu çalışma yoğurtta mikrobiyal transglutaminaz kullanımının tespitine yönelik literatürdeki ilk çalışma olacaktır. Bu çalışmada, yoğurt örnekleri orta ve yakın kızılötesi spektroskopisi ile analiz edilmiştir.

Deneyisel yoğurtlarda iki farklı mikrobiyal transglutaminaz enziminin konsantrasyon seviyeleri test edilmiştir. Bu konsantrasyon seviyeleri, 1 ünite ve 2 ünite olmak üzere belirlenmiş ve her iki konsantrasyon seviyelerinin, yoğurtlar üzerinde oluşturduğu farklı etkiler analiz edilmiştir. Yoğurtta bulunan mikrobiyal transglutaminaz enziminin durumunu aktif veya inaktif olarak tespit edebilmek amacıyla üretilen örneklerinin yarısında enzim ısı işlem ile inaktive edilmiştir.

Hem yakın kızılötesi (NIR) spektroskopisi hem de orta kızılötesi (MIR) spektroskopisi için, sınıf analojisinin yumuşak bağımsız modellemesi (SIMCA) ve kısmi en küçük kareler diskriminant analizi (PLS-DA) yaklaşımları, aktif mikrobiyal transglutaminaz enzimi içeren yoğurt örneklerinden kontrol örneğini ve enzimin aktif ve inaktiflik durumunu sınıflandırabilmiştir. Ancak SIMCA ve PLS-DA yaklaşımları hem NIR, hem de MIR spektroskopisi için enzim konsantrasyonunu ayırt edememiştir. Makine öğrenimi analizleri, yoğurt örneklerindeki mikrobiyal transglutaminaz enziminin varlığı, aktif veya inaktif durumunu ve konsantrasyon seviyelerini başarılı bir şekilde tespit etmiştir.

Sonuç olarak, yoğurtta mikrobiyal transglutaminaz enziminin kullanımı ve aktif veya inaktif durumu, kullanılan tüm kemometrik yaklaşımlarla birlikte NIR spektroskopisi ve MIR spektroskopisi MIR kullanılarak başarılı bir şekilde tespit edilmiştir. Makine öğrenimi analizleri ise, sınıf analojisi SIMCA ve PLS-DA modelleriyle karşılaştırıldığında yoğurtlarda tespit edilen enzim konsantrasyon seviyelerinin ayırt edilmesi konusunda üstün bir performans göstermiştir. Makine öğrenimi modelinin üstün performansı, verilerdeki karmaşık ve doğrusal olmayan ilişkileri ele alma yeteneğine dayandırılabilir. Bu durum, modeli farklı konsantrasyon seviyelerine daha uyumlu hale getirerek, özellikle enzim seviyelerinin kontrolü ve tutarlı ürün kalitesinin sağlanması açısından yoğurt üretim süreçlerinin iyileştirilmesi için önemli bir fırsat sunmaktadır.

DEVELOPMENT OF A RAPID ANALYSIS METHOD FOR THE DETECTION OF TRANSGLUTAMINASE USED IN YOGHURT PRODUCTION

SUMMARY

Yoğurt is a fermented dairy product formed by the action of bacteria that convert the lactose in milk into lactic acid. This fermentation process causes the milk proteins to coagulate, giving yogurt its distinctive texture and acidic properties. Yogurt is considered one of the most popular dairy products worldwide and has become an important part of the diet for individuals adopting a healthier lifestyle. It has been associated with various healing effects, such as supporting human health, strengthening immunity, promoting bone health, and alleviating digestive system issues.

One of the most critical challenges in yogurt production is the separation of water entrapped within the protein network, which occurs as a result of temperature fluctuations or other physical factors. To address the problem of water separation trapped within the protein network, mTGase can be added to yogurt. This enzyme increases the water retention capacity of the gel by promoting the interaction of hydrophilic protein bonds.

Transglutaminase enzyme is a member of the transferase family and is found in animals, plants, and microorganisms. Transglutaminase catalyzes an acyl transfer reaction between the γ -carboxyamide group of a peptide-linked glutamine residue (acyl donors) and various primary amines, including the amino group of lysine (acyl acceptors). This forms covalent cross-links between proteins, peptides, and primary amines.

Microbial transglutaminase is widely approved for use in food production in various countries, such as the United States, Canada, Japan, Brazil, and China. It is classified as Generally Recognized as Safe (GRAS) and is authorized as a food processing aid in the European Union. When used as a processing aid, transglutaminase can be applied in dairy production without the need to be declared as an ingredient on the product label. Commercial production of transglutaminase enzyme was initially carried out by extraction from animal tissues, but today it is usually obtained from microbial sources.

In recent years, the use of microbial transglutaminase enzyme in yogurt production has seen a notable increase, primarily due to their proven ability to enhance multiple aspects of the production process and the quality of the final product. Microbial transglutaminase enzyme is particularly effective in improving the consistency of the yogurt and strengthening the gel structure, which are critical factors in determining the overall texture. Additionally, they play a significant role in increasing the water-holding capacity of the product, thereby minimizing syneresis, which is the separation of liquid whey. Collectively, these improvements contribute to elevating the overall quality and consumer acceptance of the final yogurt product.

In yogurt production, microbial transglutaminase (mTGase) can be added through two main methods, each differing in the timing and handling of the enzyme and starter culture. In the first method, the enzyme is added to the milk, and the milk is subsequently heated to a specific temperature that ensures the enzyme becomes inactive, effectively stopping its activity before the fermentation process begins. Once the enzyme is inactivated, the starter culture is introduced to initiate fermentation. In the second method, the enzyme is not inactivated before the addition of the starter culture, allowing it to remain active throughout the fermentation process. During incubation, the starter culture lowers the pH level, and the enzyme continues its activity, contributing to the coagulation and texture development of the yogurt.

To date, a specific and reliable method for detecting the presence or measuring the amount of transglutaminase enzyme in dairy products has not yet been established. This study aims to develop a model that is both rapid and practical, while also ensuring a high degree of reliability in identifying the utilization of transglutaminase enzyme in yogurt. The objective of this study is to develop a model that is not only rapid and practical but also highly reliable in detecting the use of transglutaminase enzyme in yogurt. This model aims to determine its utilization, assess its status (whether it is active or inactive), and measure its concentration levels. By utilizing infrared spectroscopy, this research will fill a significant gap in the field and, furthermore, will be the first study to reveal the application of microbial transglutaminase in yogurt within the existing literature.

In this study, yogurt samples were analyzed using mid- and near-infrared spectroscopy, which provides a faster and more reliable way to analyze food samples compared to traditional methods. Infrared spectroscopy is a well-known analytical technique that efficiently and accurately identifies the chemical composition and molecular structure of a sample. This makes it especially useful in food analysis, as it offers a non-destructive and quick alternative to conventional testing methods, improving both the speed and accuracy of the analysis.

In the experimental yogurt, two different concentration levels of the microbial transglutaminase enzymes were tested in order to evaluate their effects. These concentration levels were determined to be unit 1 and unit 2 to ensure clarity during analysis. This allowed for a clearer understanding of how each concentration level influenced the yogurt properties. In half of the samples produced, the activity of microbial transglutaminase enzyme was inactivated. This was done to evaluate the status of the enzyme, specifically to determine whether it was in an active or inactive state.

For near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy, both the class-independent analogy modeling approach (SIMCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were able to classify the control sample from active mTGase - containing yogurt samples. Both the class-independent analogy modeling approach (SIMCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were successful in classifying the samples based on their microbial transglutaminase enzyme status, effectively differentiate between the active and inactive states of the mTGase. However, the class-independent analogy modeling approach (SIMCA) and partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) were unable to differentiate between enzyme concentration levels using mid-infrared (MIR) and near-infrared spectroscopy (NIR) techniques.

On the other hand, machine learning analysis technique successfully identified not only the utilization of the microbial transglutaminase enzyme but also its active or inactive state, as well as the concentration level in the yogurt samples. These advanced analytical techniques provided a more accurate and reliable means of assessing the enzyme's characteristics in the yogurt.

In conclusion, the utilization, as well as the active or inactive state of mTGase enzyme in yogurt, was successfully detected through the application of near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) spectroscopy techniques. These methods, along with the various chemometric approaches applied in this study, provided an effective means of analyzing the enzyme's status in the yogurt samples. The use of NIR and MIR spectroscopy enabled a precise identification of the enzyme's activity, allowing for a clear differentiation between its active and inactive state. Furthermore, the integration of chemometric techniques contributed significantly to the analysis, enhancing the reliability and accuracy of the results obtained. The machine learning analysis showed better performance in differentiate enzyme concentration levels in yogurt compared to SIMCA and PLS-DA models. The machine learning model achieved high accuracy in identifying the different enzyme concentration levels, allowing for better and more precise classification. The improved performance of the machine learning model can be attributed to its ability to handle complex, non-linear relationships in the data. This makes it more adaptable to different concentration levels. This advancement provides a valuable opportunity to improve yogurt production, especially in terms of controlling enzyme levels and ensuring consistent product quality.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fermente süt ürünleri, binlerce yıldır insanlar tarafından tüketilen en eski gıda ürünlerindendir. Ayrıca fermentasyon muhafaza amaçlı kullanılan en önemli yöntemler arasında yer alır. Çok sayıda çalışma, fermente gıdaların özellikle de fermente süt ürünlerinin insan sağlığı üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir (Savaiano ve Hutkins, 2021). Fermente süt ürünleri genellikle ısıtıl işlem sonrası starter kültür eklenerek üretilir ve ardından belirli bir sıcaklıkta inkübe edilerek pH seviyesi düşürülür.

Yoğurt, dünya genelinde en yaygın süt ürünlerinden biri olarak kabul edilir ve daha sağlıklı bir yaşam tarzını benimseyen bireylerin diyetinin önemli bir parçası olmuştur. Yoğurt insan sağlığının korunması, bağışıklığın güçlendirilmesi, kemik sağlığının desteklenmesi ve sindirim sistemi sorunlarını giderme gibi çeşitli iyileştirici etkiler ile ilişkilendirilmiştir (Donovan ve Shamir, 2014). Yoğurt, süt proteini için daha yüksek bir biyolojik değer ve vücudun ihtiyaç duyduğu birçok temel amino asidi sağlar (Yadav ve ark., 2015). Ebeveynler ayrıca yoğurdu, çocukları için yüksek kalorili atıştırmalıklara bir alternatif olarak görmektedir (Colson and Gretibus, 2017; Marette and Picard-Deland, 2014; Spence ve ark., 2011)

Yoğurt, sütte bulunan laktozu laktik aside dönüştüren bakteriler kullanarak sütün fermentasyonu ile oluşan pıhtıdır. Laktik asit fermentasyonu sonucunda süt proteinleri koagüle olur ve yoğurda kendine özgü dokusunu ve asidik zelliiini kazandırır (Donovan ve Shamir, 2014).

Yoğurt retiminde karşılaşılan en önemli sorunlardan biri, sıcaklık veya diğer fiziksel faktörlerdeki değişiklikler nedeniyle protein ağında hapsolan suyun yapıdan ayrılmasıdır.

Transglutaminaz enzimi transferaz ailesinin bir üyesidir ve hayvanlarda, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır (Akbari et al., 2021). Transglutaminaz (TGase; protein-glutamine γ -glutamyltransferase, EC 2.3.2.13), bir peptid bağlı glutamin kalıntısının (açıl donörleri) γ -karboksiamid grubu ile lizin amino grubu dahil çeşitli primer aminler (açıl alıcıları) arasındaki bir açıl transfer reaksiyonunu katalize eder.

Bu da proteinler, peptitler ve primer aminler arasında kovalent çapraz bağ oluşturur (Motoki ve Seguro, 1998).

Mikrobiyal transglutaminaz, ABD, Kanada, Japonya, Brezilya ve Çin dahil olmak üzere birçok ülkede gıda üretiminde yasal olarak kullanılabilmektedir (Ajinomoto, 2024). Transglutaminaz enzimi genellikle güvenli olarak kabul edilir (GRAS) ve Avrupa Birliği'nde bir gıda işleme yardımcı maddesi olarak kullanımı onaylanmıştır. (Ajinomoto, 2024). İşlemeye yardımcı (processing aid) olarak kullanıldığında, TGaz süt ürünlerinin üretiminde içerik listesinde yer almadan kullanılabilmektedir. Diğer işlem yardımcılarında benzer şekilde, mTGaz'nin maksimum kullanım seviyesi için bir sınır belirlenmemiştir (Kaufmann ve ark., 2012). Fransa ve Danimarka gibi bazı Avrupa ülkelerinin gıda endüstrisinde kullanılan enzimlere ilişkin düzenlemeleri vardır (Ajinomoto, 2024). Fransa'da mTGaz enzimi üretimde kullanılabilesine rağmen, enzimin son üründe inaktif olması gerekmektedir (Legifrance, 2024).

Transglutaminaz enziminin ticari üretiminde başlangıçta hayvan dokularından ekstraksiyon gerçekleştirilse de günümüzde genellikle mikrobiyal kaynaklardan elde edilmektedir (Romeih ve Walker, 2017).

Protein ağında hapsolan suyun ayrılma sorununu çözmek için yoğurda mTGaz eklenebilmektedir . Bu enzim, hidrofilik protein bağlarının etkileşimini teşvik ederek jelin su tutma kapasitesini artırır. mTGaz eklenmesi, yoğurt jelinin dayanıklılığı ve viskozitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir (Gharibzahedi and Chronakis, 2018; Loveday ve ark., 2013; Ozer ve ark., 2013; ve ark., 2020). Ayrıca stabilizatörlerin gereksinimini en aza indirerek veya tamamen ortadan kaldırarak üretim maliyetlerini azaltmaya katkı sağlar.

Yoğurt üretiminde mTGaz iki yöntemle eklenebilmektedir; birinci yöntemde enzim süte eklenir ve daha sonra sütün sıcaklığı enzimin inaktif hale geleceği noktaya kadar yükseltilerek aktivitesi durdurulur ve daha sonra starter kültür eklenir. İkinci yöntemde enzimin aktivitesi durdurulmadan starter kültür eklenir ve pH seviyesinin düşürülmesi ve yoğurt pıhtılaşmasının sağlanması için inkübasyon yapılır (Romeih ve Walker, 2017).

Et ve balık ürünlerinde mTGaz kullanımının bildirilmesi gerektiğinden, önceki çalışmalar bu ürünlerde mTGase'nin tespitine odaklanmıştır. Kaufmann ve ark. (2012), ticari mTGaz'de bakteriyel DNA'nın bir kısmının kalmış olabileceğini

varsayarak, et ürünlerinde mTGaz'nin tespiti için Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi temelli bir yaklaşım kullanmıştır. Reform edilmiş et ürünlerinde mTGaz için kromatografik tespit yöntemleri daha önce rapor edilmiştir (Jira ve ark., 2017a; Jira ve ark., 2017b; Kaufmann ve ark., 2012). Bu yöntemler, enzimin hidrolize fraksiyonlarının tespitine dayanmaktadır. Anlaşılır bir şekilde ifade etmek gerekirse, yoğurtta mTGaz 'nin tespiti için henüz yerleşik bir yöntem bulunmamaktadır, çünkü enzimin kullanımının beyan edilmesi gerekmemektedir.

Mikrobiyal transglutaminaz çok sayıda teknolojik avantaj sunmasına rağmen, son zamanlarda özellikle alerjisi veya hassasiyeti olan kişiler için mTGaz kullanımına ilişkin endişeler ortaya çıkmıştır. mTGaz kullanımının olası olumsuz etkileri Lerner ve Benzvi (2021) tarafından incelenmiştir. Gıdalardaki mTGaz'ın Çölyak hastalığı, Herpetiform dermatit, nörodejeneratif hastalıklar, Parkinson hastalığı, Alzheimer hastalığı, Huntington hastalığı, gluten ataksisi, alerjik hastalıklar, Campylobacter jejuni ile ilişkili hastalıklar ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Lerner and Benzvi, 2021).

Mikrobiyal transglutaminazın olumsuz sağlık etkilerine ilişkin son çalışmalara dayanarak, etikette bir sınırlama veya bildirimin belirli bireyler (örneğin, çocuklar ve alerjisi olan kişiler) için kısa süre içinde zorunlu hale getirilebileceği belirtilebilir. IR spektroskopisi geçmişte süt ürünlerinin çeşitli özelliklerinin belirlenmesinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır (Ayvaz ve ark., 2022). Şu anda süt ürünlerinde mTGaz kullanımını tespit edecek bir yöntem bulunmamaktadır. Bu çalışmada, yoğurtta mTGaz'ın varlığını, aktif/inaktif durumunu ve konsantrasyonunu tespit edebilecek hızlı, uygun ve güvenilir bir modelin IR spektroskopisi kullanılarak geliştirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada, yoğurt numuneleri orta ve yakın kızılötesi spektroskopisi ile analiz edilmiştir. Bu yöntem geleneksel yöntemlere kıyasla gıda numunelerini analiz etmek için daha hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (Valand ve ark., 2020). İnfrared Spektroskopisi, bir örneğin kimyasal bileşimini ve yapısını hızlı ve güvenilir bir şekilde belirlemek için yaygın olarak kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu çalışma yoğurtta mTGaz kullanımının tespitine yönelik literatürdeki ilk çalışma olacaktır.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Yoğurt

Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'ne göre yoğurt, sütün *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* starter kültürleri kullanılarak fermente edilmesiyle elde edilen koagüle bir süt ürünüdür. Tebliğe göre tüm yoğurt sınıflarında protein oranı en az 3% olmalıdır. Süt yağı oranları ise, tam yağlı yoğurtta en az %3,80, yarım yağlı yoğurtta en az %1,50, yağsız yoğurtta en fazla %0,50 olması gerekmektedir. Titre edilebilir asitlik oranı (% laktik asit cinsinden) tüm yoğurt sınıfları için en az %0,60, ve en fazla %1,50 gerektiği belirlenmektedir. TS 1330 standardına göre, yoğurt; pastörize edilmiş sütün, belirli bakteri kültürlerinin eklenmesi ve uygun işlemlerden geçirilmesiyle elde edilen bir ürün olarak tanımlanmaktadır. Yoğurt, genellikle sütün fermente edilmesiyle elde edilen, yoğun kıvamlı ve fermente bir süt ürünüdür (TSE, 2021; TGK, 2022). Yoğurt yapımında *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakteriler kullanılır (Nagaoka, 2019). *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* arasında simbiyotik bir ilişki bulunmaktadır. *S. thermophilus*, fermentasyonun başlangıcında hızla çoğalır ve pirüvik asit, formik asit ve karbon dioksit üretir, bu da asitliği artırır ve *L. bulgaricus*'un gelişmesini teşvik eder. *L. bulgaricus* proteolitik etkiye sahip olduğundan sütteki proteinleri hidrolize eder, onları peptitlere ve amino asitlere dönüştürür. Dönüştüren peptitler ve amino asitler, *S. Thermophilus* gelişmesini sağlar (Şenol ve Elvan, 2014). Fermentasyon sürecinde starter kültür, sütte bulunan laktozu laktik aside dönüştürerek pH'yı azaltır. Bu asit üretimi, süt proteinlerin koagüle olmasına neden olur ve yoğurt jelinin oluşmasını sağlar (Lee ve Lucey, 2010). Süt bileşenleri, fermentasyon sürecinde karbonil bileşiklerine, uçucu olmayan ve uçucu asitlere dönüşür. Bunlar arasında asetaldehit, aseton, asetoin, diasetil ve asetat gibi maddeler bulunur. Bu bileşikler, yoğurdun karakteristik lezzetini oluşturur.

2.1.1. Yoğurdun tarihi

Fermantasyon, insanlar tarafından sütü koruma yöntemi olarak kullanılmıştır. Fermente süt ürünlerinin Fenikeliler gelmeden önce Orta Doğu'da ortaya çıktığı belirtilmektedir. Mısır'da ayran ve laban khad gibi geleneksel fermente sütün tüketiminin tarihi M.Ö. 7000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Veda (dadhi) modern yoğurda benzeyen ve Hindistan'a özgü üründür ve tarihi M.Ö. 5000 yıllarına kadar uzanmaktadır. Yoğurdun önemli besin özellikleri bulunmaktadır ve Güney Asya beslenmesinin önemli bir parçası olarak kabul edilir. Çoğu Hindistanlı aile tarafından günlük olarak üretilip tüketilmektedir. Yoğurt teriminin ilk olarak 8. yüzyılda Türkler tarafından kullanıldığına inanılmaktadır. Güney Asya ve Güneybatı Asya (Hindistan, Pakistan, Nepal, İran, Irak, Balkanlar, Türkiye ve Suriye dahil) fermente süt ürünleri, özellikle yoğurt üretimi konusunda en büyük üretici ve tüketicilerden biri olarak kabul edilir. Yoğurdun dünyanın diğer bölgelerine yayılması, Moğolların, Tatarların ve diğer Asyalı hükümdarların Rusya ve Avrupa'yı istila etmelerinin sonucunda olmuştur. Yoğurt, Avrupa, Avustralya ve diğer birçok dünya bölgesinde popüler bir ürün haline gelmiş ve beslenme alışkanlıklarının önemli bir parçası haline gelmiştir. Ticari üretimi geniş bir şekilde dünya çapında yayılmış olmasına rağmen, birçok bölgede hala geleneksel üretim yöntemleri tercih edilmektedir (Shah, 2017).

2.1.2. Yoğurdun kimyasal bileşimi

Yoğurdun kimyasal bileşimi, kullanılan süte ve yapılan işlemlere bağlı olarak farklılık gösterebilir (Kızılaslan ve Solak, 2016). Sütten üretilen yoğurt, süt ile benzer bir kimyasal bileşime sahiptir; ancak, yoğurt üretim sürecinde, kullanılan sütün bileşimine göre çeşitli farklılıklar ortaya çıkmaktadır. Yoğurt üretiminde görülen farklılıklar, sütün işlenmesi sırasında yapılan işlemler, eklenen maddelerin türü ve miktarı, ve bakteriyel fermantasyon sürecinde meydana gelen değişiklikler gibi faktörlere bağlıdır. Kuru madde artışı için kullanılan yöntemlere bağlı olarak süt bileşenlerindeki artış oranları değişebilir. Laktik asit bakterilerinin fermantasyon süreci sonucunda, orijinal sütün içerdiği laktoz laktik aside, proteinler peptitlere ve amino asitlere, yağlar da yağ asitlerine dönüşür (Çakıroğlu, 2003). Yoğurdun genel kompozisyonu %80-86 su, %2-8 yağ, %4-8 protein, %14-20 kuru madde, %2-5 laktoz, %0.8-1.2 mineral ve %0,9 asit içermektedir (Kızılaslan ve Solak, 2016).

2.1.3. Yoğurt üretimi

Yoğurt üretimi, çeşitli hayvanların sütlerinin kullanılmasıyla gerçekleştirilebilir. İnek, keçi, koyun, manda gibi farklı hayvan türlerinin sütleriyle yoğurt üretilebilir . Farklı hayvan sütlerinden üretilen yoğurtlar, çeşitli besleyici özelliklere sahiptir. Yoğurt, set, stirred ve içilebilir olarak farklı şekillerde üretilebilir (Kose ve ark., 2018). Set tipi yoğurt (pıhtısı kırılmamış) üretiminde, süte starter kültürü ekledikten sonra yoğurt sütü ambalaj kaplarına doldurulmakta ve fermantasyon işlemi bu kaplarda gerçekleşmektedir (Nagaoka, 2019). Stirred yoğurt (pıhtısı kırılmış yoğurt), fermantasyon işlemi bir tank içerisinde gerçekleştirilir ve inkübasyonun sonunda pıhtının parçalanması amacıyla karıştırılır. Bu işlem sonucunda pürüzsüz ve dökülebilir bir ürün elde edilir; ürün, dolum noktasına pompa ile iletilmektedir (Walstra ve ark., 2005). İçilebilir yoğurt üretimi, stirred yoğurda benzer şekilde yapılmaktadır, fakat toplam kuru madde oranı daha düşüktür (Bulut ve Nihat, 2012).

Yoğurt üretiminde geleneksel ve endüstriyel yöntemler kullanılmaktadır. Geleneksel yöntemler genellikle doğal fermantasyona dayanırken, endüstriyel üretimde daha hassas kontrollerle büyük miktarlarda üretim yapılır. Geleneksel yöntemde, süt, bez filtre kullanılarak süzülür ve orta ateşte ısıtılarak kaynatılır ve ılık hale gelinceye kadar karıştırılır. Isıtılan süte önceden hazırlanmış bir bardak yoğurt ilave edilir ve oda sıcaklığında bir gece boyunca inkübe edilir. Sonrasında yoğurt, fermantasyonun durdurulması için 4 dereceye kadar soğutulur ve muhafaza edilir (Kose ve ark., 2018).

2.1.3.1. Endüstriyel yoğurt üretimi

Endüstriyel yoğurt üretiminde standartlaştırılmış prosesler kullanılır.

Sütün seçimi

Yoğurdun endüstriyel üretiminde farklı memelilerin sütleri kullanılabilir, ancak genellikle inek sütü tercih edilmektedir. Farklı hayvanlardan gelen sütlerin bileşim değerleri farklılık gösterir (Sfakianakis ve Tzia, 2014). Genel olarak, tüm süt türleri su, protein, laktoz, yağ, mineraller, vitaminler, enzimler ve diğer iz elementleri içerir.

Tablo 2.1. İnek sütünün tipik bileşimi (Walstra ve ark., 2005).

Bileşen	Sütteki ortalama içeriği (% w/w)
Su	87,1
Yağsız Kuru madde	8,9
Yağ	4,0
Protein	3,3
Kazein	2,6
Laktoz	4,6
Mineral maddeler	0,7
Organik asitler	0,17

Sütün temizlemesi

Süte sağım sırasında, hayvanın çevresinden veya sütün işletmeye nakli sırasında çeşitli yabancı maddeler karışabilir. Bu maddeler, hem organik hem de inorganik olabilir. Sütün temizlenmesi, sütün kalitesini ve güvenliğini artırmak için önemlidir. Bu amaçla kullanılan başlıca yöntemler süzme ve klarifikasyondur.

1. Süzme işlemi, sütte bulunan büyük partiküllerin ve yabancı maddelerin uzaklaştırılması amacıyla gerçekleştirilen ilk adımdır. Bu işlem, genellikle geniş süzgeçler veya elekler kullanılarak yapılır.
2. Klarifikasyon : Bu işlem, sütün bileşenlerini yoğunluk farklarına göre ayırarak katı maddelerin sıvıdan ayrılmasını sağlar.

Bu işlemler, sütte bulunan yabancı maddelerin etkin bir şekilde uzaklaştırılmasına ve sütün daha güvenli hale gelmesine katkıda bulunur (Walstra ve ark., 2005).

Sütün standardizasyonu

Yoğurt üretiminde kullanılan çiğ sütlerin bileşimleri farklılık göstermektedir. Farklı yağ ve yağsız kuru madde içeriklerine sahip sütler, farklı tat ve kıvamlarda yoğurtların üretilmesine neden olabilir.

Standardizasyon: Standardizasyon, üreticilerin kaliteyi koruyarak sürekli olarak aynı kalitede ürün sunmalarını sağlar. Bu süreç, tüketicilerin tercih ettikleri yağ içeriği veya besin profiline sahip yoğurtları bulabilmelerini mümkün kılar. Ürün tutarlılığını sağlamanın yanı sıra, pazarlama ve tüketici beklentilerini karşılamak için de önemlidir. Belirli bir yağ seviyesine ulaşmak amacıyla, yağsız süt veya süt yağı eklenir ya da süttten yağ, santrifüj yöntemiyle ayrılır (Sfakianakis ve Tzia, 2014).

Yağsız kuru madde içeriği, genellikle yoğurdun besin değerini ve kıvamını etkiler. Bu madde içeriğinin standartlaştırılması, süt tozu, peynir altı suyu tozu, peynir altı suyu konsantresi, peynir altı suyu proteini tozu (WPP), peynir altı suyu protein

konsantresi (WPC) veya kazeinat eklenmesiyle gerçekleştirilir. Ayrıca, kaynatma, evaporasyon ve membran filtrasyon gibi diğer yöntemler de süt standardizasyonunda kullanılabilir (Yildiz, 2016).

Homojenizasyon

Süt yağı, yağsız süte kıyasla daha düşük bir yoğunluğa sahiptir. Bu yoğunluk farkı nedeniyle, zamanla yağ globülleri süt yüzeyinde birikerek kapların yüzeyinde bir kaymak tabakası oluşturur. Sütün sıcaklığı arttıkça, bu yağ globüllerinin süt yüzeyine doğru hareketi hızlanır. Kaymaksız yoğurt üretiminde süt homojenizasyonu, sütün yağ parçacıklarının boyutlarının küçültülmesini ve dağılmasını sağlar. Yoğurt üretiminde, elde edilmek istenen ürün özelliklerine göre, süt belirli bir sıcaklıkta (55-60°C) ve yüksek basınç altında (100-200 kg/cm²) homojenize edilir (Kose ve ark., 2018). Homojenizasyon, yoğurdun kıvamını, dokusunu ve kalitesini iyileştirir. Bu işlem, sütteki yağın daha iyi dağılmasını sağlayarak yoğurdun daha pürüzsüz bir dokuya sahip olmasına yardımcı olur ve ürünün raf ömrünü uzatır. Ayrıca, katkı maddeleri ve diğer bileşenlerin yoğurda eklenmesi durumunda, bu bileşenlerin homojen bir şekilde dağılması ve birbirleriyle uyumlu bir yapı oluşturması gereklidir. Homojenizasyon, bu bileşenlerin eşit dağılımını ve yoğurt içerisinde stabil bir yapı oluşturmasını sağlar. Homojenizasyon yoğurt üretiminde zorunlu bir basamak olmayıp geleneksel kaymaklı yoğurt üretiminde kullanılmaz.

Isıl işlem

Yoğurt üretiminde uygulanan ısıl işlemler, patojen mikroorganizmaların sayısını azaltmak ve tüketici sağlığını korumak için önemlidir (Sfakianakis ve Tzia, 2014). Bu işlem, istenmeyen mikroorganizmaların yok edilmesinin yanı sıra, yoğurt üretiminde kullanılan yararlı bakterilerin gelişimini teşvik ederek, uygun bir ortam oluşturur (Yildiz, 2016).

Yoğurdun karakteristik yapısını ve özelliklerini oluşturmak için, yoğurt sütüne belirli bir sıcaklıkta ve sürede ısıl işlem uygulanması önemlidir. Bu işlem, genellikle 85-90°C'de 20-30 dakika veya 90-95°C'de 5-10 dakika olarak gerçekleştirilir. Isıl işlem, sütün serum proteinlerinin denatürasyonun sağlayarak, yoğurdun kıvamını, dokusunu ve lezzetini oluşturan temel unsurları ortaya çıkarır (Yildiz, 2016). Yoğurt üretiminde genellikle plakalı ısı değiştiriciler kullanılır. Bu sistemler, sütün istenen

sıcaklıkta tutulmasını sağlayarak, yoğurdun istenen kalite standartlarına ulaşmasına yardımcı olur.

Soğutma ve inokülasyon

Isıl işlem uygulandıktan sonra, yoğurt üretiminde kullanılacak kültürlerin gelişebilmesi için süt uygun sıcaklığa soğutulur. Bu amaçla kullanılan süt, genellikle 42-45°C'ye soğutulur ve starter kültür ile inoküle edilir (Köse ve ark., 2018). Yoğurt üretiminde laktik asit bakterilerinin kullanımı, son ürünün tadı, yapısı, görünümü ve genel özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* ve *S. thermophilus*, yoğurt ve yoğurt benzeri ürünlerin üretiminde sıkça kullanılan bakteri türleridir. Ticari yoğurt üretiminde, her iki organizmanın birden fazla suşu kullanılır. Bu bakteriler arasında bir simbiyotik ilişki bulunduğundan, genellikle 1:1 oranında inoküle edilirler (Das ve ark., 2019). İnoküle edilen yoğurt, pH değeri 4,6'ya ulaşana kadar inkübe edilir. İnkübasyon süresinin ardından yoğurt numuneleri 4°C'de soğutulularak saklanır.



Şekil 2.1. Set tipi kaymaksız yoğurt üretim şeması (Lee ve Lucey, 2010).

2.1.4. Yoğurt kalitesini etkileyen faktörler

Yoğurt üretimi için kullanılacak sütün kalitesi, kaliteli yoğurt üretiminde en önemli unsurlar arasında yer almaktadır. Sütün kalitesi, yoğurdun tadı, yapısı, rengi, aroması ve kıvamı gibi özelliklerini etkilemektedir (Mavuş ve ark., 2020).

Yoğurt üretiminde kullanılan hammadde ve katkı maddeleri, son ürünün kalitesini belirleyen diğer önemli faktörlerdir. Bu nedenle, her zaman yüksek kaliteli malzemelerin kullanılması büyük özen gerektirir.

Yoğurdun aroması, çeşitli bileşenlerin etkileşimiyle ortaya çıkar ve ürünün kalitesinin bir ölçüsü olarak kabul edilir. Starter kültür organizmalarının belirli enzim aktiviteleri, asetaldehit ve diğer aroma bileşenlerinin oluşumunda etkilidir. Bu spesifik enzim aktiviteleri, karbonil bileşenlerinin oluşumunu etkileyen önemli faktörlerden biridir (Şenol ve Elvan, 2014).

Yoğurdun tekstürü, kalite açısından çok önemli bir faktördür. Yoğurdun dokusunu etkileyen faktörler arasında kullanılan malzemeler, kullanılıyorsa stabilizatör türü ve kullanım seviyeleri, yağ içeriği ve homojenizasyon işlemi ve koşulları, süte uygulanan ısı işlem koşulları, starter kültürün türü ve asit gelişim hızı, inkübasyon sıcaklığı, pH değeri, soğutma koşulları ve depolama koşulları yer almaktadır. Bu faktörler, yoğurdun istenen kalite standardına ulaşmasında kritik bir rol oynamaktadır (Ozcan, 2013).

Isıl işlem ve inkübasyon, yoğurdun kalitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Yüksek sıcaklıklarda uzun süreli inkübasyon, bakterilerin daha fazla çoğalmasına ve üründe asitlik gelişmesine neden olabilir (Mavuş ve ark., 2020). Bu pişmiş tat, yoğun laktik asit aroması, yüksek asetaldehit aroması, renk değişimleri ve serum ayrılmasına sebep olabilir (Bulut ve Nihat, 2012). Aynı zamanda, inkübasyon sıcaklığının altında inkübe edilmesi de olumsuz sonuçlara yol açabilir. Inkübasyon süresinin ve sıcaklığın yetersiz olması, aroma yetersizliğine ve zayıf yapılı veya sulu bir yoğurt üretilmesine neden olur.

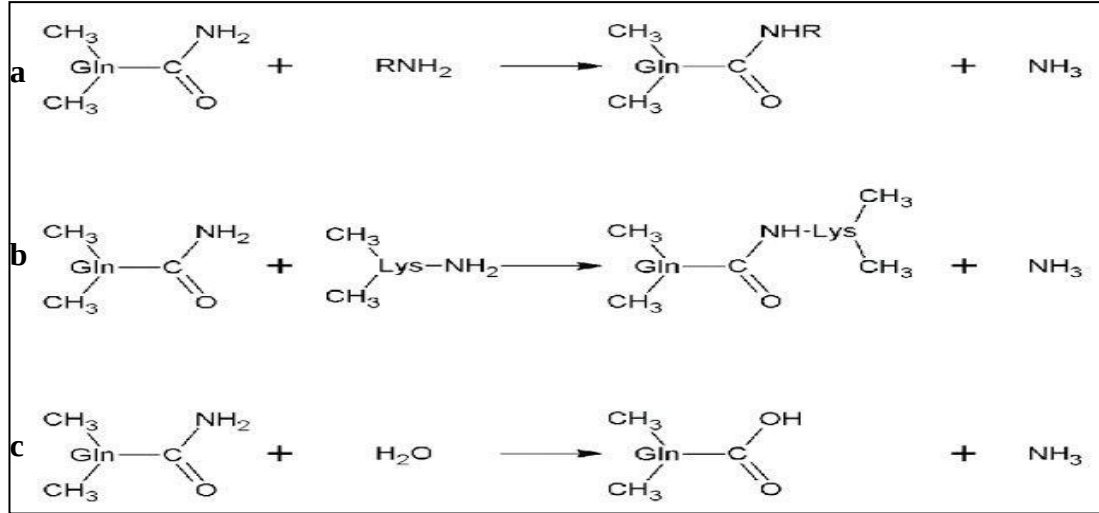
Yoğurt üretimi sırasında hijyenik koşullar çok önemlidir. Temiz ekipmanlar, steril kaplar ve doğru saklama yöntemleri yoğurdun kalitesini etkiler. Koliform bakteriler gibi istenmeyen mikroorganizmaların varlığı, yoğurdun içinde gaz oluşumuna neden olabilir. Bu durum, istenmeyen kabarcıkların oluşmasına yol açabilir.

Yoğurdun tadı ve aroması, depolama süresi boyunca değişebilir. Soğutma ve depolama sürecinin başlangıcında, özel aroma bileşenleri oluşurken yoğurdun yapısı sertleşir ve bu, ürünün tadını, kıvamını ve viskozitesini iyileştirebilir. Ancak, depolama süresi ilerledikçe, sonradan oluşan asitlik artışı tadı ve aromayı maskeleymektedir (Mavuş ve ark., 2020).

Sonuç olarak, kaliteli süt seçimi ve süt analizleri, yoğurt üretim sürecinin temelini oluşturur. Sütün hazırlanması, standardize edilmesi ve homojenize edilmesi, yoğurdun istenilen kıvama ve parlak görünüme sahip olmasını sağlar. En önemli noktalardan biri, kültür miktarı ve inkübasyon şartlarıdır. Hijyenik inkübasyon ortamı, hassas sıcaklık kontrolü ve homojen hava akışı, yoğurt kalitesini artırır. İnkübasyon sonrası hızlı soğutma, kalite kayıplarını azaltarak üretim verimliliğini artırır. Depolama sürecinde uygun bağıl nem seviyesi, yoğurdun yüzeylerinin kurumamasını sağlamak için önemlidir. (Mavuş ve ark., 2020).

2.2. Transglutaminaz

Transglutaminaz (protein-glutamin gamma-glutamyltransferase, EC 2.3.2.13), açıl transfer, çapraz bağlama ve deaminasyon reaksiyonlarını katalizleyen bir transferaz grubu enzimidir (Şekil 2.1). Transglutaminaz (TGaz), protein moleküllerindeki birinci dereceden ϵ -amin grupları (alıcı) ile glutamin (verici) kalıntılarının γ -amino karbonil grupları arasında isopeptid bağlarının oluşumunu katalizleyerek açıl transfer reaksiyonlarını gerçekleştirir. (Kieliszek ve Misiewicz, 2014). Eğer bir protein molekülünde lisin amino asidi açıl olarak bulunuyorsa, polipeptid zincirindeki lisin kalıntıları arasında açıl transferi gerçekleşebilir. Bu durum, moleküller arası veya molekül içi çapraz bağlanma reaksiyonlarının (ϵ -Glu)Lys şeklinde başlamasına yol açar (Kashiwagi ve ark., 2002). Serbest amino gruplarının bulunmazsa, su molekülleri açıl alıcısı olarak davranarak deaminasyon reaksiyonlarını gerçekleştirir (Motoki ve Seguro, 1998). Transglutaminaz (TGaz), proteinlerde önemli değişimlere yol açarak gıdaların dokusunu ve stabilitesini iyileştiren bir enzimdir. Bu reaksiyonlar sonucunda pH, renk, tat-koku ve besinsel kalitede herhangi bir olumsuz etki olmaksızın, gıdaların doku ve stabilitesinde, örneğin termal stabilite, viskozite, sinerizis, emülsifikasyon, jelleşme, su tutma kapasitesi gibi özelliklerde önemli değişimler gerçekleşir (Kuraishi ve ark., 2001; Kieliszek ve Misiewicz, 2014).



Şekil 2.2. Transglutaminaz enziminin katalizlediği reaksiyonlar (a) Açıl transfer reaksiyonu (b) Protein veya peptitlerde bulunan glutamin ve lizin kalıntıları arasında çapraz bağlanma reaksiyonu (c) Deaminasyon (Kieliszek ve Misiewicz, 2014).

TGaz genellikle memeli dokularında, mikrobiyal hücrelerde, omurgasızlarda ve bitkisel dokularda (soya, yer elması gibi) bulunur. Bu enzim, organizmadaki çeşitli fizyolojik fonksiyonlarda rol oynar; kan pıhtılaşması, bağışıklık sistemi ve fotosentez gibi önemli süreçlerde etkilidir (Kashiwagi ve ark., 2002; Cui ve ark., 2007). Hayvansal ve bitkisel transglutaminazlar, mikrobiyal transglutaminaz (mTGaz) ile tam olarak benzer olmasa da, katalitik aktiviteleri ve biyokimyasal özellikleri açısından birbirlerine çok benzerler (Luciano ve Arntfield, 2012). Transglutaminaz'ın gıda endüstrisindeki kullanımı, başlangıçta hayvan dokularından izole edilmesiyle başlamıştır. Ancak, kıt kaynaklar, karmaşık ayırma ve saflaştırma prosedürleri, enzimin aktif hale gelebilmesi için trombine ve kalsiyum (Ca^{2+}) iyonuna ihtiyaç duyması gibi faktörler, hem maliyet hem de teknik zorluklar yaratmıştır. Bu nedenle, hayvan dokularından izole edilen TGaz'ın sanayideki uygulaması sınırlanmış ve daha verimli alternatiflerin araştırılmasına yol açmıştır (Yüksel ve Erdem, 2007).

2.2.1. Mikrobiyal transglutaminaz (mTGaz) enzimi

Yüksek üretim maliyetleri, hayvan ve bitki kökenli transglutaminazı inceleyen bilim insanlarını yeni enzim kaynakları aramaya yönlendirmiştir. Mikroorganizmalar tarafından üretilen transglutaminazlar, genellikle maliyet açısından daha ekonomiktir. Ayrıca, mikroorganizmalardan elde edilen transglutaminazlar, özellikle endüstriyel uygulamalarda daha geniş bir kullanım alanına sahip olup, çeşitli koşullarda daha iyi stabilite göstermişlerdir (Kieliszek ve Misiewicz, 2014). Ando ve

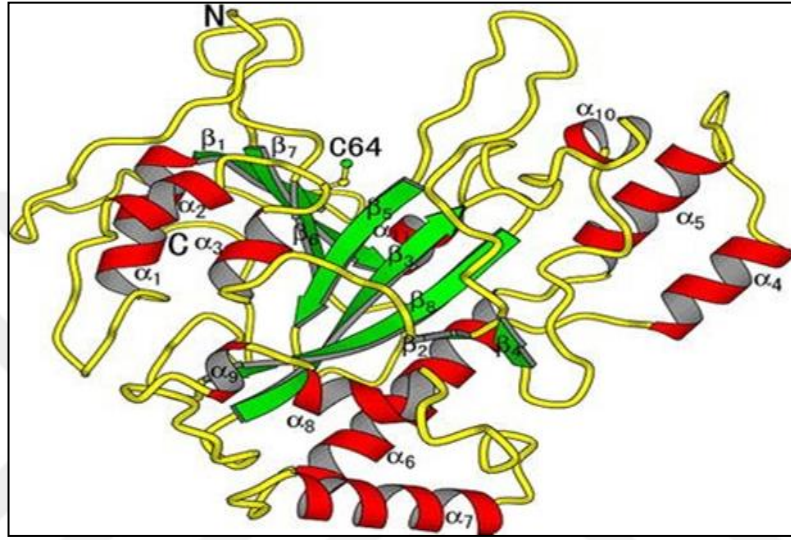
ark. (1989), topraktan elde ettikleri *Streptoverticillium* S-8112 suşundan mTGaz enzimini başarıyla izole etmişlerdir. Japon şirketi Ajinomoto Co., Inc., bu enzimi endüstriyel ölçekte üreten ilk şirket olmuş ve maliyetini azaltarak ticari uygulamalarını geliştirmiştir (de Góes-Favoni ve Bueno, 2014). Üretilen enzimin fonksiyonları arasında yoğurt ve dondurmaların dokusal özelliklerini iyileştirmek, düşük yağlı ve tam yağlı yoğurtlarda pıhtı kırılma mukavemetini artırmak ve stabilizatör kullanımını azaltmak bulunmaktadır. Mikrobiyal transglutaminaz enzimi, 1998 yılından beri ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından insan tüketimi için güvenli olarak kabul edilmiştir. Bu onay, enzimin gıda endüstrisi için son derece çekici bir bileşen haline gelmesine katkıda bulunmuştur (Aalami ve Leelavathi, 2008).

Transglutaminazların çoğu, enzimatik aktivitelerini göstermek için kalsiyum iyonlarına (Ca^{2+}) ihtiyaç duyar. Ancak, *Streptoverticillium mobarense*'den elde edilen mTGaz Ca^{2+} iyonlarına ihtiyaç duymaz. Mikrobiyal transglutaminazın Ca^{2+} bağımsız olması, gıda proteinlerinin modifikasyonu açısından önemli bir avantaj sağlar. Bu durum, özellikle kazein gibi Ca^{2+} duyarlı gıda proteinlerinin fonksiyonlarının uyarlanmasına imkan sağlar (Zhang ve ark., 2009). Sonuç olarak, mTGaz'ın bu özelliği ve düşük üretim maliyeti, ticari önemini büyük ölçüde artırmıştır.

2.2.1.1. Mikrobiyal TGaz enziminin kimyasal yapısı ve özellikleri

Mikrobiyal transglutaminazın izoelektrik noktası pH 8.9 civarındadır. Molekül ağırlığı, farklı ölçüm yöntemleri kullanıldığında yaklaşık olarak 40 kDa olarak tespit edilmiştir. Daha hassas ölçümler sonucunda molekül ağırlığının yaklaşık olarak 38 kDa olduğu belirlenmiştir. Ayrıca MTGaz'ın protein diziliminin primer yapısı, Edman yöntemi ve kütle spektrometrisi kullanılarak belirlenmiş ve yaklaşık olarak 331 amino asitten ve tek bir polipeptid (monomerik) zincirden oluştuğu saptanmıştır. Amino asit kompozisyonundan hesaplanan moleküler ağırlığı 37.842 kDa olarak bulunmuş ve bu değer diğer ölçüm yöntemleriyle bulunan 38 kDa değerine oldukça yakın çıkmıştır (Motoki ve Seguro, 1998; Yüksel ve Erdem, 2007). Mikrobiyal transglutaminaz, ticari amaçlar için değerli kabul edilen biyokimyasal özellikler gösterir; bu özellikler arasında daha yüksek katalitik aktivite, daha geniş substrat çeşitliliği, daha küçük boyut ve daha düşük deamidasyon aktivitesi bulunmaktadır (Kashiwagi ve ark., 2002).

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi, tiyol grubu ailesinin bir üyesi olarak kabul edilir. Enzim, katalitik aktiviteden sorumlu olan serbest (-SH) grubuna sahip tek bir sistein (Cys-⁶⁴) kalıntısı içermektedir. Mikrobiyal transglutaminaz disk benzeri bir yapıya sahiptir ve aktif bölge ise bu diskin kenarında derin bir yarığın altında bulunmaktadır (de Góes ve Bueno, 2014). mTG, 11 adet α -heliks ve 8 adet β -sheet içeren α + β katlama sınıfına aittir. Bu katlanma yapısı, proteinin üç boyutlu yapısını belirleyen önemli bir özelliktir (Yokoyama ve Kikuchi, 2004).



Şekil 2.3. Mikrobiyal TGaz enziminin üç boyutlu protein yapısı.

2.2.1.2. mTGaz enziminin süt endüstrisinde kullanımı

Proteinler, gıda ürünlerinin önemli bir bileşenini oluşturur ve gıdanın dokusunda önemli bir rol oynar. TGaz'ın (transglutaminaz) gıda proteinlerine çapraz bağlanarak fonksiyonel özelliklerini (jelleşme, su tutma kapasitesi, emülsiyon oluşturma kapasitesi, viskozite ve elastikiyet gibi) geliştirmek ve değiştirmek amacıyla kullanılması 1980'lerin başında başlamıştır (Luciano ve Arntfield, 2012). Kazein, süt ürünlerinde mTGaz için mükemmel bir substrat olmasının nedeni, açık bir zincir yapısına sahip olmasıdır. Bu durum, düşük üçüncül yapı derecesi, esneklik ve α_{s1} ve β -kazeinlerde herhangi bir disülfid bağının bulunmamasıdır. Bu özellikler, mTGaz'a maruz kalan reaktif grupların varlığına izin verir (Romeih ve Walker, 2017). Disülfid bağlarıyla stabilize edilen serum proteinleri ise çapraz bağlanma reaksiyonlarına daha az eğilimlidir. Bu durumda, enzimatik çapraz bağlanmanın gerçekleşebilmesi için modifikasyon gereklidir. Modifikasyon, ısı denatürasyonu, dithiothreitol gibi indirgen ajanların kullanılması, pH değerinin artırılması veya yüksek hidrostatik

basınç uygulanması ile gerçekleştirilebilir (Motoki ve Seguro, 1998; Jaros ve ark., 2006).

Süt endüstrisinde transglutaminaz, birçok ürünün üretiminde, özellikle yoğurtlarda sineresisin önlenmesi veya dokusunun geliştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır (Lorenzen ve ark., 2002). Transglutaminaz ile modifiye edilmiş kazein, süt ürünlerinin yapısını ve kıvamını iyileştirir. Bu yöntem genellikle yoğurt üretiminde kullanılır ve sonuç olarak daha homojen, pürüzsüz ve düşük sineresis gösteren bir ürün elde edilir. Bu tür yoğurtlar, krema, dondurulmuş tatlılar, dondurma, süt içecekleri ve soslar gibi çeşitli ürünlerin üretiminde temel bir bileşen olarak kullanılabilir (Kieliszek ve Misiewicz, 2014).

Tablo 2.2. mTGaz enziminin gıda endüstrisinde kullanımı (Kieliszek ve Misiewicz, 2014).

Kaynak	Ürün	Etki
Et	Yeniden yapılandırılmış et	Yeniden yapılandırılmış etin dokusu ve görünüşü artırılmış sertlik.
Balık	Balık ezmesi, yeniden yapılandırılmış	Arttırılmış sertlik.
Süt	Krema, tatlılar, süt içecekler, soslar	Geliştirilmiş kalite ve doku.
Kazein	çapraz bağlı protein	Alerjinite azaltma.
Buğday	Fırınlanmış yiyecekler	Geliştirilmiş doku ve yüksek hacim.
Jelatin	Tatlı yiyecekler	İyi dokuya ve esnekliğe sahip düşük kalorili gıdalar.

Yoğurt, laktik starter ile asidik fermentasyon sonucu oluşan bir süt jelidir. Ancak, sıcaklık değişimleri veya fiziksel etkilerle serum ayrılma sorunu yaşayabilir. mTGaz, jelin su tutma kapasitesini artırabildiği için bu problemi azaltabilir veya çözebilir (Motoki ve Seguro, 1998; Karahan, 2015). Bu azalmanın sebebi, enzim tarafından katalize edilen süt proteinlerinin çapraz bağ oluşturarak jelin geçirgenliğinde meydana gelen azalmadır (Karahan, 2015).

Mikrobiyal transglutaminaz kullanımı, sadece yoğurdun besin değerini ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda formülasyondaki yağ, stabilizatör ve hatta yağsız süt tozu gibi içerikleri azaltarak üretim maliyetini düşürebilir (Akbari ve ark., 2021).

Mikrobiyal transglutaminaz, yoğurda iki yöntemle eklenir: Birinci yöntemde, enzim sütün içine eklenir ve ardından sütün sıcaklığı, enzimin etkinliğinin duracağı noktaya yükseltilerek inaktive edilir. Daha sonra starter kültürü eklenir. İkinci yöntemde ise mTGaz aktivitesi durdurulmadan, aynı anda starter kültürüyle birlikte sütün içine

eklenir (Romeih ve Walker, 2017). Bu durumda enzim depolama süresince aktif kalır ve raf ömrü boyunca olumsuz dokusal değişikliklere neden olabilir (Akbari ve ark., 2021).

2.2.1.3. Mikrobiyal TGaz aktivitesini etkileyen faktörler

Mikrobiyal transglutaminazın oluşum hızı, aktivitesi ve verimliliği çevresel faktörlere ve ortam bileşimine bağlı olarak değişebilir. pH seviyesi, sıcaklık ve çözülmüş oksijen miktarı gibi parametreler, mTGaz üretimi üzerinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu faktörler, enzim aktivitesini ve verimliliğini etkileyebilir.

Gıda endüstrisinde mTGaz enzimi üretiminde *Streptomyces* türleri büyük öneme sahiptir. Özellikle *Streptomyces mobaraensis* suşları, ticari mTGaz üretiminde büyük bir rol oynamaktadır ve bu alanda yaygın olarak kullanılan bir mikroorganizma suşu olarak bilinir (Ando ve ark., 1989). Ayrıca, mTGaz enzimi üreten diğer mikroorganizma türleri de araştırılmış ve üretici kültürler arasına dahil edilmiştir. Söz konusu türler arasında *S. cinnamoneum*, *S. ladakanum*, *S. lividans*, *S. platensis*, *S. sioyaensis*, *S. hygrosopicus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida* ve *Zygomonas mobilis* gibi mikroorganizmalar bulunmaktadır. *Streptomycetaceae*, *Micrococaceae*, *Bacillaceae* ve *Pseudomonadaceae* gibi bakteri aileleri, yüksek miktarda mTGaz üreten önemli aileler arasında yer alır (Zhu ve ark., 1995; Cui ve ark., 2007; Kieliszek ve Misiewicz, 2014).

Her bir enzimin farklı optimum aktivite şartları görülebilir. Örneğin, *Streptoverticillium ladakanum* suşundan ve *Streptomyces sp.*'den izole edilen TGaz örneklerinde farklılık gösterebilir. *Streptoverticillium ladakanum* suşundan izole edilen TGaz'ın katalitik aktivitesinin optimum sıcaklığı 40°C'dir. *Streptomyces sp.*'den izole edilen TGaz ise genellikle diğerlerinden farklı olarak 45°C gibi biraz daha yüksek sıcaklıkta daha etkin çalışır ve sıfıra yakın sıcaklıklarda da aktivitesini sürdürür (Kieliszek ve Błażej, 2017).

Mikrobiyal transglutaminazın optimum aktivasyon pH aralığı 5 ile 8 arasındadır, ancak pH 4 ile pH 9 arasında değişen düzeylerde enzimatik aktivite gösterir. Enzimatik aktivite için en uygun sıcaklık 50°C'dir ve bu sıcaklıkta 10 dakika bekletildiğinde enzim aktivitesi belirgin bir şekilde artış göstermektedir. Bununla birlikte, sıcaklığın 70°C'ye yükselmesi, enzim aktivitesinin birkaç dakika içinde

kaybolmasına neden olabilir. Mikrobiyal transglutaminaz, 10°C'de ve donma noktasında da belirli bir aktiviteye sahiptir (Motoki ve Seguro, 1998).

Mikrobiyal transglutaminaz enzimi, etanolün varlığında ısıya karşı hassasken, maltodekstrin, sakkaroz, mannoz gibi karbonhidratların bulunması termal stabilitesini önemli ölçüde artırır (Cui ve ark., 2008). Kazein proteinleri, mTGaz enzimini hücre dışı proteolitik enzimlerin etkilerine karşı korur (Lorenzen ve ark., 2002).

Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} ve Li^{1+} gibi metaller, mTGaz enzimini önemli ölçüde inhibe etmektedir. Bu durum, ağır metallerin sistein uçlarındaki tiyol gruplarına bağlanmasıyla gerçekleşir (Yüksel ve Erdem, 2007). Mikrobiyal transglutaminaz enzimi, Co^{2+} , Ba^{2+} ve K^{2+} iyonlarının varlığında ise aktivitesini artırabilir. Ayrıca, birçok gıda proteini (globülinler, gluten, albümin, aktin, miyosin, fibrin, kazein, α -laktoalbumin ve β -laktoglobulin gibi çeşitli proteinler), bu enzimin substratı olarak çapraz bağlanma modifikasyon reaksiyonlarında aktif bir rol oynamaktadır.

2.2.2. Transglutaminazın sağlık üzerine olumsuz etkileri

Transglutaminazın gıda ürünlerine eklenmesi, ürünlerin dokusunu, lezzetini ve reolojik özelliklerini iyileştirirken, bazı durumlarda tüketicilerin de sağlığı üzerinde olumlu etkisi vardır. Ancak bu enzimin gıdalara eklenmesinin özellikle çölyak hastalığı, sindirim sistemi bozuklukları ve nörolojik hastalıkları olan kişiler üzerinde zararlı etkileri olduğuna dair birçok çalışma bulunmaktadır (Amirdivani ve ark., 2018; Lerner ve Benzvi, 2021). Bu çalışmalar, mikrobiyal enzim transglutaminazın gıda üretiminde kullanılmasının, gluten duyarlılığı olan kişilerde bağışıklık sistemi tepkilerini tetikleyebileceğini ve yeni gluten peptitleri oluşmasına neden olabilmektedir. Bu araştırmalar çölyak hastalarının mTGaz'a karşı antikorlar oluşturduğunu ortaya çıkmıştır (Lerner ve Matthias, 2015). Bu nedenle, bu enzimin işlenmiş gıdalara eklenmesi konusunda tüketicilerin bilgilendirilmesi ve seçimin onlara bırakılması önerilmektedir.

2.3. Yakın ve orta İnfrared Spektroskopisi

IR spektroskopisi genellikle üç farklı alt bölgeye ayrılır: Yakın IR (14000 – 4000 cm^{-1}), Orta IR (4000 – 400 cm^{-1}) ve Uzak IR (400 – 30 cm^{-1}). NIRS, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir spektroskopik yöntemidir. NIRS,

elektromanyetik spektrumun yakın kızılötesi (NIR) bölgesini (800-2500 nm dalga boyu aralığı, 12500-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığı) kullanarak örneğe ışık gönderir ve bu ışığın örnekle etkileşiminden yansıyan veya geçen ışığın yoğunluğunu ölçmektedir. Yakın kızılötesi spektroskopisi (NIRS), süt ve süt ürünlerinin nicel ve nitel analizinde uzun bir geçmişe sahiptir. Bu yöntem, süt bileşenlerinin (ör; yağ, laktoz, protein) belirlenmesinde ve aynı zamanda peynir üretimi sürecinin kontrolünde veya yoğurdun fermentasyonunun izlenmesinde kullanılmıştır. NIRS, non-invaziv bir yöntem olduğu için süt ürünlerinin analizinde önemli bir yöntem olmuştur (Muncan ve ark., 2020).

Orta kızılötesi (MIR) spektroskopisi, süt bileşenlerinin organik fonksiyonel gruplarını, yağ, protein ve laktoz gibi temel bileşenleri niteliksel ve niceliksel olarak tanımlamak ve analiz etmek için etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Orta kızılötesi spektroskopisi, yakın kızılötesine kıyasla analiz için daha az miktarda süt örneği kullanmaktadır. Ancak en önemli dezavantajlardan, yüksek maliyeti ve yüksek nem içeriği süt gibi ürünlerin analizine MIR kullanınca örneklerin hazırlanması gerekmektedir. Yakın kızılötesi (NIR) spektroskopisi ise, süt ürünleri analizinde günlük kullanım için daha ekonomik ve uygundur. NIR spektroskopisi, yüksek nemli ürünler için daha uygun ve CO_2 'den etkilenmez, böylece cihazların temizlenmesine ihtiyaç kalmadan kullanılabilir (Pereira ve ark., 2020).



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

Bu çalışmada, farklı marka ve partilerden ticari yarım yağlı (1.5% yağ (w/w))UHT süt numuneleri (n = 20) kullanılmıştır. Sakarya'daki yerel marketlerden temin edilen UHT süt numunelerinin sağım dönemleri Ocak-Nisan 2023 ayları arasındadır. Bu UHT süt numuneleri, yoğurt üretimi için düşük ekzopolisakkarit üreten liyofilize DVS karışık laktik kültür olan *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (CHR-Hansen, YoFlex® CH-1) ile işlenmiştir. Deneysel yoğurtlarda ise 1U ve 2U/gram protein mikrobiyal transglutaminaz (Activa® YG, Ajinomoto, Fransa) kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Enzimin eklenmesi

mTG 1 ve 2 U/g protein oranlarıyla kullanılmıştır. Sütün 100 ml'sinde 3,4 g protein bulunmaktadır. Kullandığımız mTGaz enzimi aktivitesi 100 U'dur. 1 U/g protein için 1 litre sütte 0,34 gr mTGaz enzimi, 2 U/g protein için ise 0,68 gr mTGaz enzimi kullanılmıştır.

1U ve 2U/g protein mTGaz miktarları için hazırlanan örneklerde, 1U için 15 mL'lik bir santrifüj tüpüne 0,005 gr mTG, 2U için ise aynı hacimdeki bir tüpe 0,01 gr mTGaz eklenmiştir. Ancak bu düşük miktarları doğrudan eklemek zor olduğundan, süt ile mTGaz solüsyonu hazırlanmıştır. Santrifüj tüplerine 1U için 13.5 mL süt, 2U için ise 13 mL süt eklenmiştir. 2.5 g mTG 250 mL'ye süt ile seyreltilmiştir. Hazırlanan çözeltilerden, 1U için 0,5 mL, 2U için ise 1 mL santrifüj tüplerine eklenmiştir. Sonrasında, enzim aktivitesinin optimize edilmesi, istenilen yapısal değişikliklerin tamamlanması için örnekler buzdolabında 24 saat bekletilmiştir.

3.2.2. Yoğurt üretimi

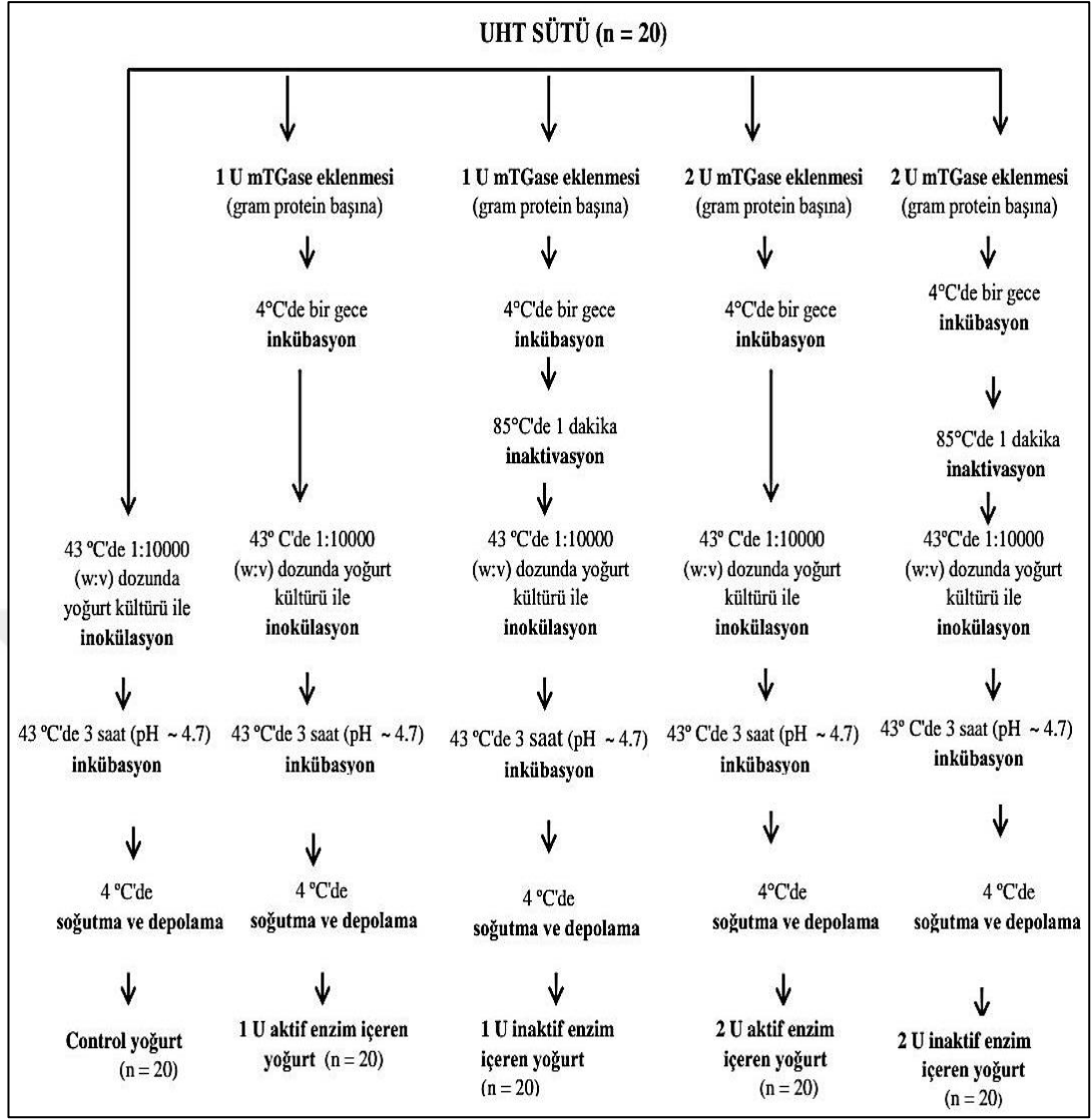
Deneysel yoğurtların üretim protokolü Şekil 3.2'de verilmiştir. Yoğurdun üretimi için *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*'un düşük ekzopolisakkarit üreten dondurularak kurutulmuş, doğrudan küvette

ayarlanmış karışık laktik kültürü (CHR-Hansen, YoFlex® CH-1) UHT sütte seyreltilmiş ve her tüpe 1:10000 (w:w, kültür: süt) oranında eklenmiştir. Kontrol ve aktif örneklerinin yoğurtlarını üretmek için, 14 mL süt içeren santrifüj tüplerini su banyosunda 43°C'ye ısıtılmıştır. Daha sonra su banyosundaki her tüpe 1'er mL kültür karışımı eklenerek 2,5 - 3 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Enzimin aktivitesini durdurmak ve inaktif mTGaz yoğurtlarının üretimi için, mTGaz eklenmiş sütü başlangıçta su banyosunda 85°C'de 1 dakika boyunca ısıtılmıştır. Daha sonra örnekler, su banyosunda sıcaklığın 43°C'ye düşürülmesiyle, önceki örneklerde olduğu gibi kültürü eklenip ve inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra örnekler soğutulmuştur ve 4°C'de depolanmıştır. Numuneler, IR spektroskopisi kullanılarak 1, 15. ve 30. günde aynı adımlar tekrarlanarak analiz edilmiştir.



Şekil 3.1. mTGaz ile üretilen yoğurt örnekleri.



Şekil 3.2. Deneysel yoğurtların üretim akış şeması.

3.2.3. İnfrared spektroskopisinin ölçümleri

Bu çalışmada, yoğurt numunelerinin yakın kızılötesi (NIR) ve orta kızılötesi (MIR) spektrumları toplanmıştır.

3.2.3.1. FT-NIR spektrumlarının toplanması

Yoğurt numunelerinin NIR spektrumlarını toplamak için FT-NIR dağınık yansıma ile donatılmış Nicolet iS50 Flex Gold Kızılötesi Spektrometresi (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, ABD) kullanılmıştır. Bu amaçla, Ge- kaplı KBr ışın bölücü ve İndiyum Galyum Arsenik (InGaAs) dedektöründen oluşan Nicolet iS50 cihazının NIR modülü kullanılmıştır. Ölçümler sırasında 4 cm^{-1} spektral çözünürlük kullanılmış ve sinyal-gürültü oranını arttırmak için $10000\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$ dalga sayısı aralığında ölçüm başına 64 spektrum toplanmıştır.

Numunelerin NIR spektrumları doğrudan transreflektans modunda toplanmıştır. Transreflektanslı NIR spektroskopisi, yansıma ve iletim ölçümlerini birleştirerek ışığın dağılmış kısmını güvenilir bir şekilde yakalar. Transmisyon modunda, geri saçılan ışık ölçülmezken, transreflektans modunda, geri saçılan radyasyon seramiğe ulaşmadan önce toplanır. Sıcaklık spektrumları etkilediğinden, spektrumları toplamadan önce numunelerin oda sıcaklığında (25 ± 2 °C) yaklaşık 30 dakika dengeye gelmesine kadar bırakılmıştır. Cam petri kabına az miktarda yoğurt konulmuş ve üstüne metal bir reflektör yerleştirilmiştir. Daha sonra tüm örneklerin spektrumları toplanmıştır. Her numunenin ölçümünden önce ortamın arka plan spektrumu toplanmış ve absorpsiyon spektrumu, numunenin spektrumunun arka plan spektrumuna oranı olarak elde edilmiştir. Her numune için NIR spektrumları iki kez toplanmış (her ölçümde numune değiştirilerek) ve her bir numunenin nihai spektrumu, bu iki ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir. Ölçümler arasında cam petri kabı önce saf su ile, sonra %70 etanol/saf su (v/v) ile temizlenmiştir. Tüm spektrumlar, Omnic 9 spektroskopik analiz yazılımı (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, ABD) kullanılarak kişisel bir bilgisayara SPC formatında kaydedilmiştir.

3.2.3.2. FT-MIR spektrumlarının toplanması

ATR ile donatılmış Spectrum Two model FT-IR spektrometresi (Perkin Elmer-Spectrum Two, ABD) kullanılmış ve ölçümler 4000 ve 400 cm^{-1} aralığında kaydedilmiştir. Ölçümler sırasında 4 cm^{-1} spektral çözünürlük kullanılmış ve sinyal-gürültü oranını arttırmak için 10000 - 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ölçüm başına 64 spektrum toplanmıştır. Numunelerin MIR spektrumları doğrudan transreflektans modunda toplanmıştır. Her numunenin ölçümünden önce ortamın arka plan spektrumu toplanmış ve absorpsiyon spektrumu, numunenin spektrumunun arka plan spektrumuna oranı olarak elde edilmiştir. Her numune için MIR spektrumları iki kez toplanmış (her ölçümde numune değiştirilerek) ve her bir numunenin nihai spektrumu, bu iki ölçümün ortalaması alınarak elde edilmiştir. Ölçümler arasında kristal önce saf su ile, sonra %70 etanol/saf su (v/v) ile temizlenmiştir.

3.2.4. Veri analizi

3.2.4.1. SIMCA (Sınıf Analojisinin Yumuşak Bağımsız Modellenmesi)

Bu çalışmada, yoğurt örneklerinin toplanan spektrumlarını analiz etmek için denetlenen kemometrik sınıflandırma tekniği (SIMCA) kullanılmıştır. SIMCA, Temel Bileşen Analizinin (PCA) kullanarak örnek kümelerin görselleştirilmesini kolaylaştırır ve spektral özelliklerine göre farklı sınıflandırmalara olanak tanımaktadır (Wold, 1976). SIMCA modelini oluşturmak için, faktör sayısı (x-ekseni) ile varyans azalması (y-ekseni) arasındaki ilişkinin değerlendirilmesiyle optimum temel bileşen (principal components (PC)) sayısı belirlenmiştir. Bu yöntem, en alakalı temel bileşenlerin seçilmesine yardımcı olur ve aşırı uyum riskini en aza indirirken önemli veri varyasyonunun yakalanmasını sağlar (Wold, 1976; Wold and Sjöström, 1977). İki sınıf arasındaki benzerlik veya farklılığı değerlendirmek için nicel bir ölçü olarak Sınıflar Arası Mesafe (Inter-Class Distance (ICD)) de analiz edilmiştir. Tipik olarak, 3'ten büyük bir ICD değeri, %95 güven aralığında sınıflar arasında önemli bir fark olduğunu göstermektedir (Massart et al., 1988).

Ayrıca, titreşim bantlarını vurgulayan ayırıcı güç grafiği, sınıfların ayrılmasına en çok katkıda bulunan spektral bölgeleri belirlemek için incelenmiştir. SIMCA modellerinin performans ve doğruluğunu değerlendirmek için duyarlılık ve özgüllük hesaplanmıştır. Duyarlılık, modelin hedef sınıfa ait örnekleri (gerçek pozitifler) doğru bir şekilde sınıflandırma yeteneğini ölçerken, özgüllük, modelin hedef sınıfa ait olmayan örnekleri (gerçek negatifler) doğru bir şekilde tanımlama yeteneğini ölçmektedir. Yanlış negatifler (false negatives (FN)), hedef sınıftaki örneklerin yanlışlıkla diğer sınıflara ait olarak sınıflandırılmasıdır. Yanlış pozitifler (false positives (FP)) ise diğer sınıflardaki örneklerin yanlışlıkla hedef sınıfa ait olarak sınıflandırılmasıdır. Doğrulama için, kalibrasyon modelinin içsel olarak doğrulanması için bir yoğurt örneğinin spektrumunun sırayla hariç tutulduğu bir tek bırakma yaklaşımı kullanılmıştır. Daha sonra hariç tutulan örnek, geliştirilen kalibrasyon modeli kullanılarak tahmin edilmiş ve bu işlem, tüm örnekler doğrulama için test edilene kadar tekrarlanmıştır.

3.2.4.2. PLS-DA (kısmi en küçük kareler ayırıcı analizi)

PLS-DA, Kısmi En Küçük Kareler (PLS) regresyonunun özelliklerini ayırıcı analizle birleştiren bir denetlenen sınıflandırma tekniğidir. Bu teknik özellikle öngörücüler oldukça eşdoğrusal olduğunda veya öngörücü sayısı gözlem sayısını aştığında,

karmaşık veri kümelerini sınıflandırmak için kemometrik ve diğer alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. PLS-DA, sınıflandırma için en alakalı varyansı yakalayan gizli değişkenleri bularak, önceden tahmin edilmiş sınıflar arasındaki ayrımı en üst düzeye çıkaran yeni bir uzaya veriyi yansıtmaktadır. Bu yöntem, özellikle gürültülü veya yüksek boyutlu verilerin işlenmesinde etkilidir ve bu da onu spektral analiz, biyobelirteç keşfi ve gruplar arasında ayırım yapmanın önemli olduğu diğer uygulamalar gibi görevler için güçlü bir teknik haline getirmektedir.

3.2.4.3. Makine öğrenmesi analizi ve koşullu entropi

Bu çalışmada, makine öğreniminde model eğitimi için minimum koşullu entropi arama algoritması kullanılarak referans değerle ilişkili dalga sayıları seçilmiştir. Bu seçim yönteminde, dalga sayılarının doğrusal ölçeklenmesine dayanan PCA'daki yeni boyut bileşenlerinden farklı olarak, referans değere ilişkin belirli bir dalga sayısı kümesi elde edilmiştir. Kümelenme, referans değeri üzerindeki belirsizliği koşullu entropi kullanarak azaltan dalga sayıları seçilerek oluşturulmuştur. Koşullu entropi aşağıdaki şekilde hesaplanmaktadır.

$$H(X|Y) = \sum_{x \in X, y \in Y} p(x, y) \log_2 \frac{p(x, y)}{p(y)}$$

Burada, X ve Y referans değeri ve dalga sayısı değişkenleridir, a ve y bir numunenin referans değerini ve belirtilen dalga sayısındaki absorbands değerini temsil etmektedir. $p(\cdot)$ aynı zamanda olasılık kütle fonksiyonudur (probability mass function (PMF)). Bu fonksiyon, ölçüm sonuçlarının histogramını bularak elde edilmiştir.

Dalga sayısı seçimi aşamasında, her dalga sayısı için tek bir koşul olarak koşullu entropi hesaplanmaktadır. En küçük koşullu entropiyi veren dalga sayısı koşul kümesine dahil edilir. Daha sonra, her dalga sayısı için ayrı ayrı ikinci bir koşul olarak koşullu entropi hesaplaması yapılır ve en küçük koşullu entropiyi veren ikinci dalga sayısı kümeye eklenmektedir. Bu süreç, bir veya daha fazla sıfır veya sıfıra yakın koşullu entropi gözlemlendiğinde tamamlanır. Son eklenen dalga sayısıyla küme, referans değerindeki belirsizliği ortadan kaldıran dalga sayılarını içermektedir. Daha sonra küme, model eğitiminde kullanılmaktadır.

Modelin oluşturulması için MATLAB R2022a mühendislik programındaki 'Classification Learner' ve 'Regression Learner' uygulamaları kullanılmıştır.

Uygulamalar; Karar Ağacı, Ayrımcı Analiz, Lojistik Regresyon, Naïve Bayes, Destek Vektör Makinesi, En Yakın Komşu ve Topluluk Yöntemi gibi birçok modeli eğitmek için çalıştırılmaktadır.

Model eğitiminde ilk olarak veri seçilir. Veriler eğitime üç şekilde dahil edilir: tüm spektrum bileşenleri, PCA bileşenleri ve koşullu küme. Modelin verileri ezberlemesini önlemek için 5 katlı doğrulama seçilir. Daha sonra uygulamalarda mevcut olan tüm modeller için eğitim gerçekleştirilmektedir. %90 doğruluk veya $R^2 = 0,9$ gibi model performans kriterlerine göre en iyi performansa sahip model, eğitime dahil edilmeyen örneklem verileriyle test edilmek üzere dışarı aktarılmaktadır.



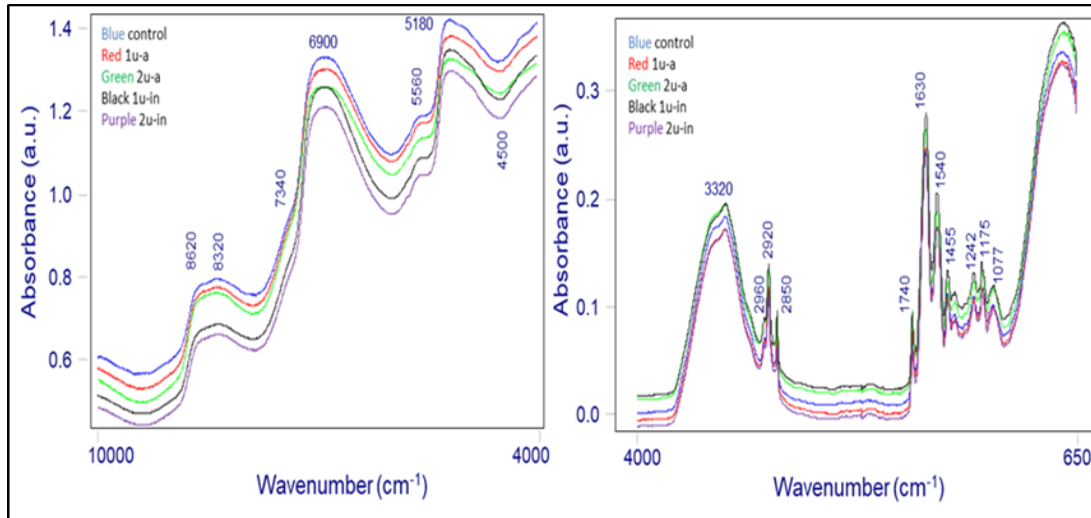


4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Spektral Bilgiler

Yoğurt örneklerinden toplanan NIR spektrumlarının ortalaması Şekil 4.1a'da gösterilmiştir ve önemli titreşim bantlarının tanımlanması Temizkan ve ark. (2020)'ye göre yapılmıştır. 8650 ila 8300 cm^{-1} dalga sayısı arasındaki pikler O–H gerilmesinin birinci overtonuna ve C–H gerilmesinin ikinci overtonuna atfedilmiştir. 7430 cm^{-1} 'deki pik, N–H'nin birinci overtonu ve kombinasyon bantlarıyla ilişkilidir. 6900 cm^{-1} ve 5180 cm^{-1} civarındaki pikler sırasıyla serbest O–H ve O–H kombinasyon bantlarının ilk overtonundan kaynaklanmaktadır. 5560 cm^{-1} 'deki absorpsiyonlar, lipidlerin ve karbonhidratların C-H gerilme titreşimlerinin ilk overtonuyla ilişkilendirilmiştir. 4500 cm^{-1} 'deki pikler, lipid ve proteinlerin CH₃ gruplarındaki C–H ve C–O gerilme titreşimlerinin kombinasyon bantlarından kaynaklanmaktadır.

Yoğurt örneklerinden toplanan MIR spektrumlarının ortalaması Şekil 4.1b'de gösterilmiştir ve önemli titreşim bantlarının tanımlanması Fagan ve ark. (2007), Rodriguez-Saona ve ark. (2006) ve Rodriguez-Saona ve ark. (2017)'ye göre yapılmıştır. 3320 cm^{-1} 'deki pik, sudaki O–H gerilme titreşimlerine karşılık gelirken, 3000 ila 2800 cm^{-1} aralığı uzun zincirli yağ asitlerindeki C–H gerilme titreşimleriyle ilişkilidir. 1740 cm^{-1} piki, yağ asidi esterlerinin C=O gerilme titreşimleriyle bağlantılıdır ve 1630 cm^{-1} piki, CN, CNN ve NH gerilmesi de dahil olmak üzere proteinlerdeki C–O gerilmesiyle ilişkilidir. 1540 cm^{-1} 'deki bant proteinlerdeki Amid II bandından kaynaklanmaktadır. 1455 cm^{-1} 'deki absorpsiyon, yağlarda bulunan C–H eğilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. 1455 cm^{-1} ile 1250 cm^{-1} arasındaki düşük yoğunluklu absorpsiyonlar, O–C–H, C–C–H ve C–O–H'nin eğilme titreşimlerine atfedilmektedir. 1250 cm^{-1} ile 1050 cm^{-1} arasındaki minimum absorpsiyonlar C–O ve C–C gerilme titreşimleriyle ilişkilidir.



Şekil 4.1. Yoğurt örneklerinin (a) FT-NIR (10000 – 4000 cm^{-1}) ve (b) FT-MIR (4000 – 650 cm^{-1}), spektrumun ortalamasının ölçümleri ve önemli titreşim bantları.

4.2. Enzim Varlığına Göre Sınıflandırma

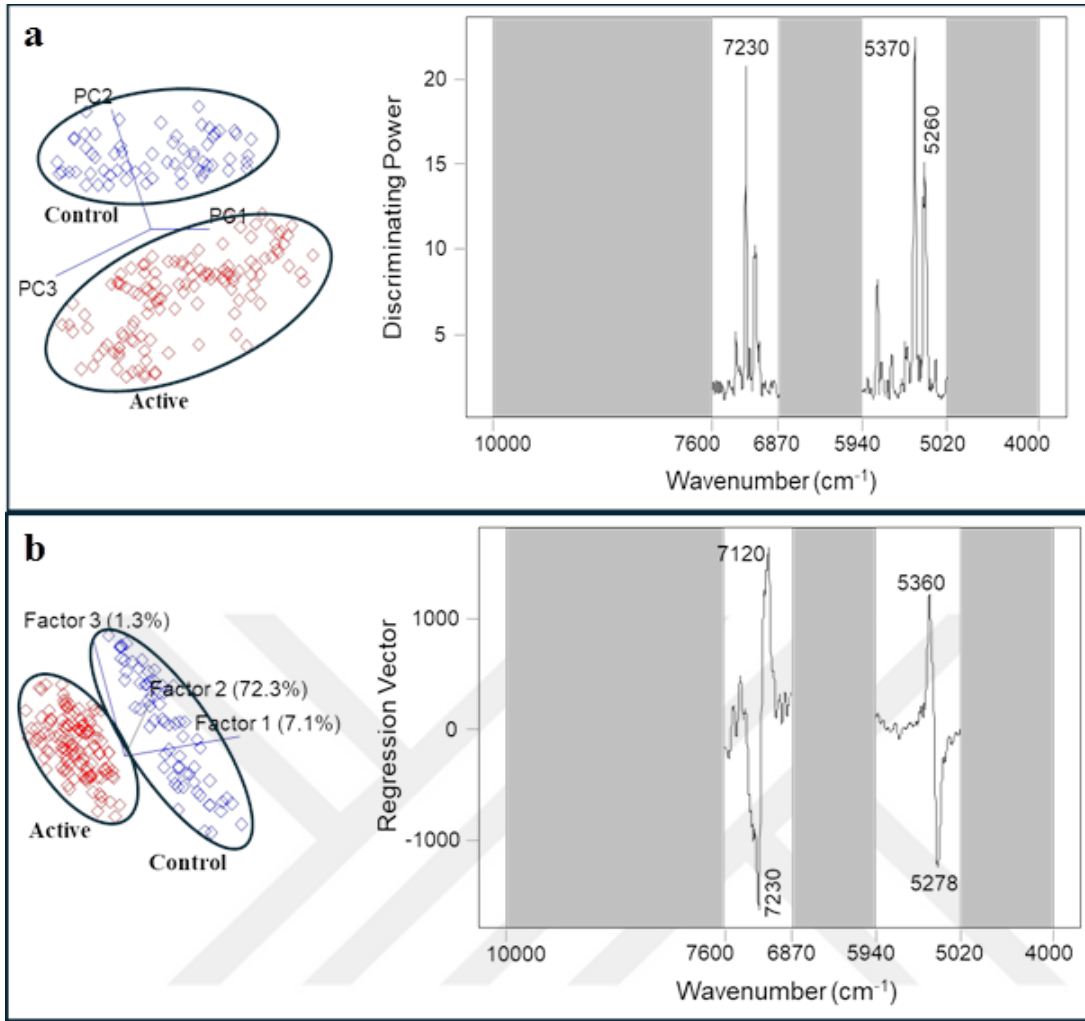
SIMCA, PLS-DA ve Makine öğrenmesi yaklaşımları hem NIR hem de MIR spektrumlarına uygulanmış ve sınıflandırma modelleri buna göre geliştirilmiştir.

NIR spektrumlarında, kontrol ve tüm enzim katkılı yoğurt numunelerini (aktif ve inaktif olmasına bakılmaksızın) ayırt eden SIMCA modeli sınıflar arasında güvenilir bir ayırım sağlayamamıştır.

Şekil 4.2a, NIR cihazından edinilen spektral veriler kullanılarak oluşturulan SIMCA modelini göstermektedir. Spektral sinyaller X değişkenleri olarak kullanılırken, Y değişkenleri kontrol ve aktif enzim içeren örnekler olmak üzere iki sınıfı temsil etmiştir. Ham veriler, ortalama merkezleme ve ikinci türevden oluşan bir dizi ön işleme adımına uygulanmıştır. Ayrıca 35 noktalı pencereye sahip ikinci dereceden polinom filtresi kullanılarak düzgün bir işlem uygulanmıştır. Şekil 4.2a'daki SIMCA 3 boyutlu skoru grafiğinde gösterildiği gibi, ortaya çıkan model iki sınıf (kontrol ve aktif enzimli örnekler) arasında başarılı bir şekilde ayırım yapmıştır. Sınıflar arasındaki ayrımı sağlayan belirli spektral aralıkları saptamak için de ayırım gücü geliştirilmiştir. 10000 ile 7600 cm^{-1} arasındaki belirli bölgeler, modelle ilgisi olmadığı veya sınırlı etkili olduğu için verilerden hariç tutulmuştur. 7230 cm^{-1} 'deki pik, N–H'nin ilk overtonu ve kombinasyon bantlarıyla ilişkili olabilmektedir. Bu beklenen bir durumdur çünkü mTGaz, glutaminin amino kalıntıları ile lizin kalıntılarının ϵ -amino grubu arasında enzimatik çapraz bağ oluşturarak bir N–H

çapraz bağı oluşturur ve bir mol amonyak açığa çıkarmaktadır. 5370 ve 5260 cm^{-1} 'deki pikler, C–H gerilmesinin ve O–H kombinasyon bantlarının ilk overtonuna atfedilmektedir. Bu durum yoğurt jel yapısındaki gözeneklerin daha küçük olması ve jelin daha kompakt mikro yapısının ağ içerisinde su tutulmasını artırmasıyla açıklanabilmektedir. Ercili-Cura ve ark. (2013), mTGaz işleminin homojen protein ağlarına ve daha küçük gözeneklere sahip yoğurt jelleri oluşturduğunu ve su tutulmasını iyileştirdiğini bildirmiştir. SIMCA modelinde sınıflandırma, duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve doğruluk olmak üzere beş değişken kullanılarak %98'i aşan olağanüstü bir performansa ulaşmıştır.

Şekil 4.2b, aynı iki sınıf (kontrol ve aktif enzim içeren örnekler) için NIR spektrumlarının PLS-DA modelini göstermektedir. SIMCA modelinde yapıldığı gibi, NIR cihazından elde edilen ham verilere de aynı ön işleme teknikleri uygulanmıştır. PLS-DA modeli, SIMCA modeliyle oldukça benzer sonuçlar vermiştir. PLS-DA modeli kontrol ile aktif ve inaktif enzim kombine örneklerini ayırt edememiştir ancak kontrol yoğurtlarını aktif enzim içeren yoğurt örneklerinden ayırmada başarılı olmuştur. PLS-DA regresyon vektörü, ayrıca SIMCA diskriminant gücü grafiğinde tanımlanan pikleri de gözlemlemektedir. İlk üç değişken varyansın yaklaşık %81'ini açıklamıştır. PLS-DA modelinde, dört değişken kullanılarak sınıflandırma mükemmel bir performans göstermiş, duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve doğruluk %99'u aşmıştır.



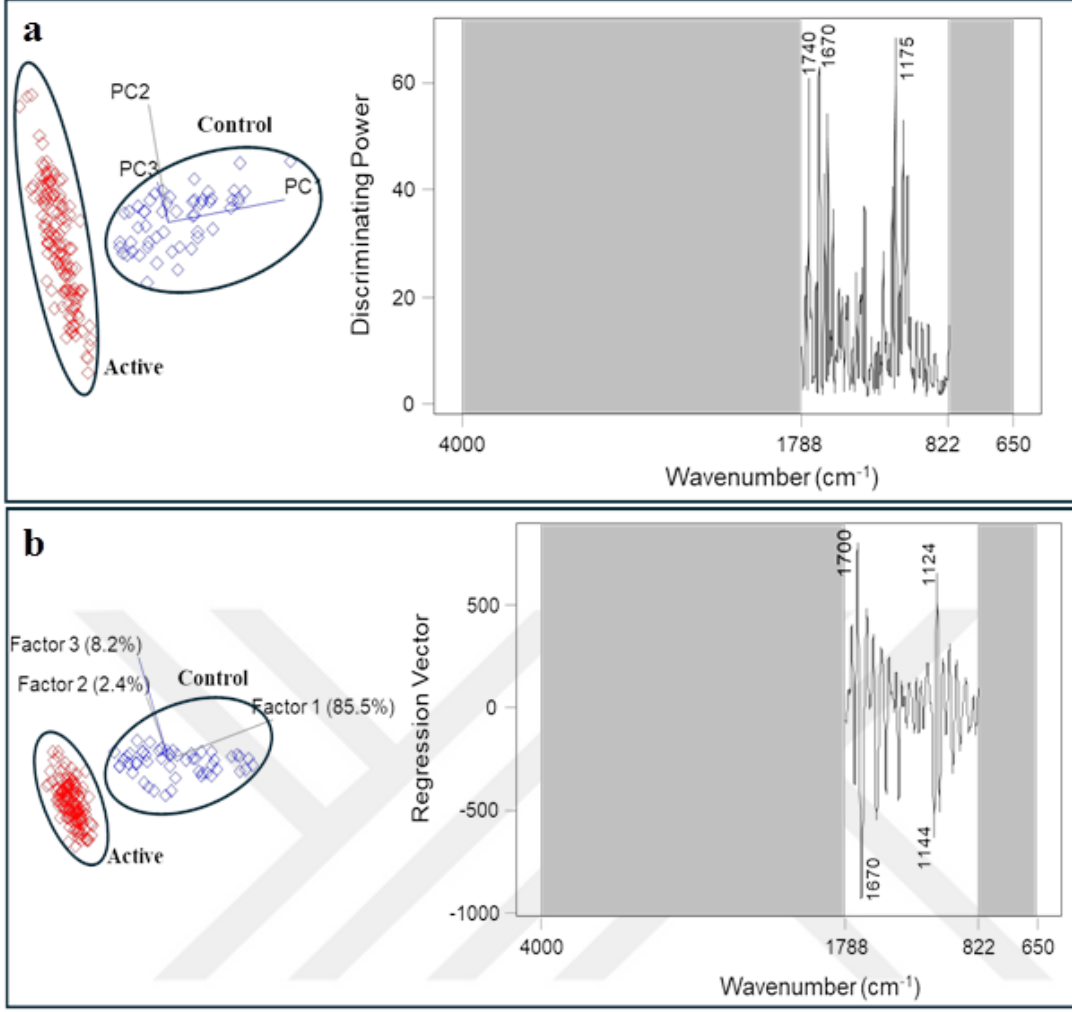
Şekil 4.2. Kontrol ve aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran NIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.

Koşullu entropi ve makine öğrenmesi kullanılarak, kontrol grubunun NIR spektrumları, enzimi içeren örneklerle (aktif ve inaktif birlikte) de karşılaştırılmıştır. Doğrusal Ayırıcı (Lineat Discriminant (LD)) algoritmaları kullanılarak, veriler normalleştirildiğinde %95,7 doğruluk elde edilmiştir. Bu durumda, özellikler Temel Bileşen Analizi (PCA) ve Koşullu Entropi (Conditional Entropy (CE)) ile seçilmiştir. Dört özellikli PCA, Lojistik Regresyon (LR) algoritmalarıyla %89,7 doğruluk sağlamıştır. Daha sonra özellikleri belirlemek için Koşullu Entropi fonksiyonları kullanılmıştır. Sınıflandırmada 7632, 7388, 7106 ve 6944 cm⁻¹ dalga sayıları sorumlu olup, Destek Vektör Makinesi (SVM) algoritmaları ile %92 doğruluk sağlanmıştır.

Diğer taraftan, ham MIR verileri, ortalama merkezleme ve ikinci türev den oluşan bir dizi ön işleme adımına uygulanmıştır. Ayrıca 35 noktalı pencereye sahip ikinci dereceden polinom filtresi kullanılarak düzgün bir işlem uygulanmıştır. Bu düzenek,

örneklerin sınıf üyeliğini (sınıf 1 veya 2) belirlemek için kullanılmıştır. MIR spektral verilerinden elde edilen modeller için, 4000 ile 1800 cm^{-1} arasındaki ve 822 ile 650 cm^{-1} arasındaki bölgeler hariç tutulmuştur çünkü bu bölgelerin modele çok az veya hiç katkısı olmamıştır Şekil 4.3a, SIMCA 3-D grafiğini ve kontrol grubu ile aktif enzim içeren örneklerinin sınıflandırılmasından sorumlu bölgeleri içeren ayırt edici gücünü göstermektedir. Kontrol örnekleri ve aktif enzim içeren örnekler (bir veya iki ünite enzim içermesine bakılmaksızın) MIR spektrumları kullanılarak sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Örnekler çok belirgin bir şekilde kümelenmiştir. Ayırım gücüne göre sınıflandırmadan 1740 cm^{-1} ile 1600 cm^{-1} civarı arasındaki bölge ve 1200 cm^{-1} ile 1100 cm^{-1} arasındaki bölge sorumludur. Daha önce açıklandığı gibi, bu bölgeler proteinlerdeki C–O gerilmesiyle ilişkilidir; buna CN, CNN ve NH gerilmesi ve sırasıyla C–O ve C–C gerilme titreşimleri dahildir. Aktif enzim örneklerinin üretim ve depolama sırasında kazeinler arasında çapraz bağlar oluşturması nedeniyle bu sonuçlar beklenmektedir. SIMCA, mükemmel bir sınıflandırmanın elde edildiğini gösteren 3.22 ICD sağlamıştır. Dokuz değişkenin kullanıldığı modelde de, %100 duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve doğruluk elde edilmiştir. Öte yandan inaktif enzim içeren yoğurt örnekleri, kontrol örneklerinden ayırmamıştır.

Şekil 4.3b, MIR spektrumlarına göre kontrol yoğurtları ile aktif enzim içeren yoğurtların PLS-DA modeli ve sınıflandırmasından sorumlu regresyon vektörünü göstermektedir. MIR spektrumlarının SIMCA modeliyle tutarlı olarak benzer sonuçlar gözlemlenmektedir. PLS-DA modelinde ilk üç değişken varyansın %96'sını açıklamıştır. Bu modelin sadece bu üç değişkenle kullanılması, kontrol grubu ile aktif enzim içeren grubu ayırt etmede %100 duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve doğrulukla sonuçlanmıştır. Kontrol grubunun ve enzimi içeren (aktif veya inaktif) örneklerin MIR spektrumları da koşullu entropi ve makine öğrenmesi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Doğrusal Ayrımcı (LD) algoritmaları kullanılarak, verilerde ön işleme olmadığında %97,2 doğruluk elde edilmiştir. Bu durumda, özellikler Temel Bileşen Analizi (PCA) ile seçilmiş ve dört özellikli PCA, KNN algoritmalarıyla %91,3 doğruluk sağlamıştır. Daha sonra özellikleri belirlemek için Koşullu Entropi fonksiyonları kullanılmıştır. Sınıflandırmada 3117, 1406, 1060 ve 1545 cm^{-1} dalga sayıları kullanılmış olup, KNN algoritmaları ile %92,3 doğruluk sağlanmıştır.

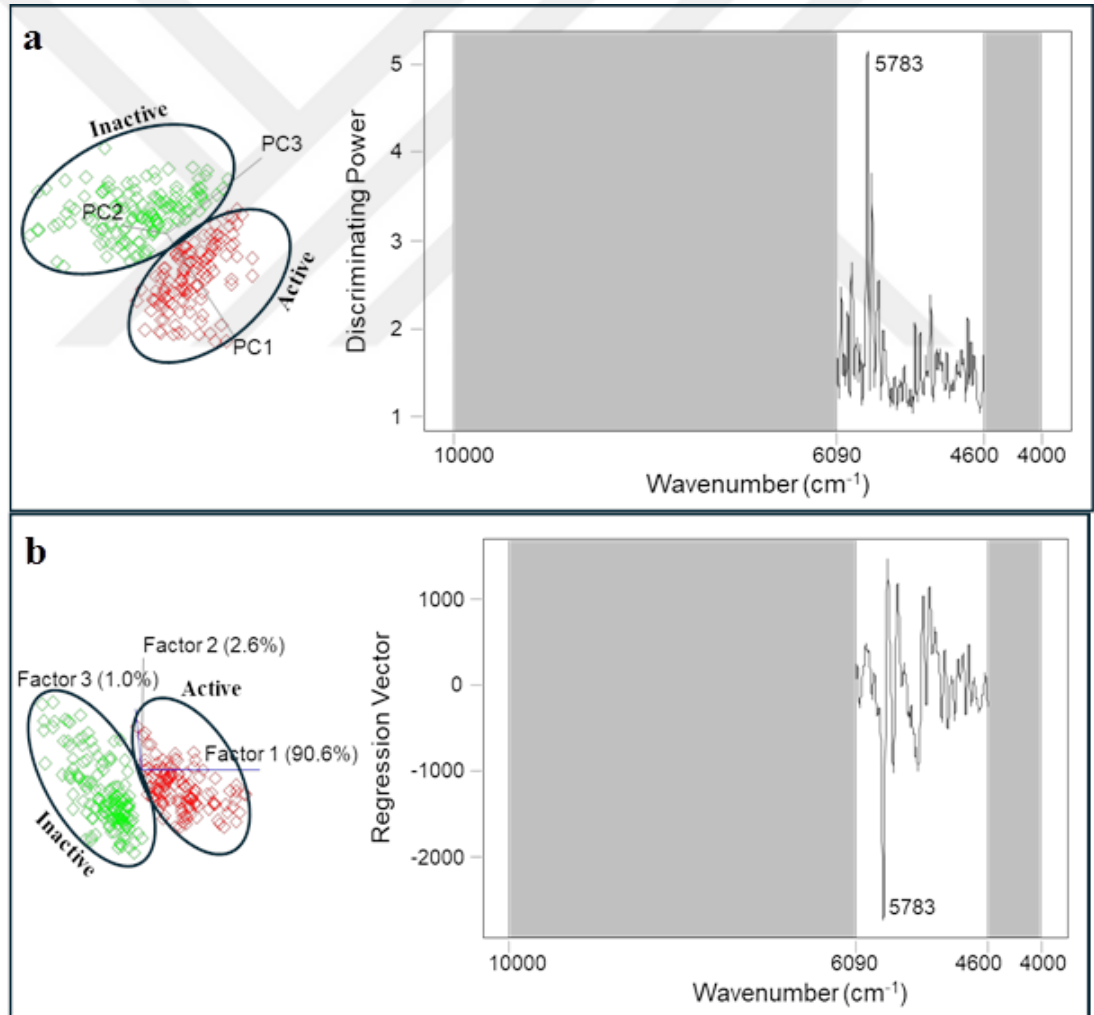


Şekil 4.3. Kontrol ve aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.

4.3. Enzim Aktivitesine Göre Sınıflandırma

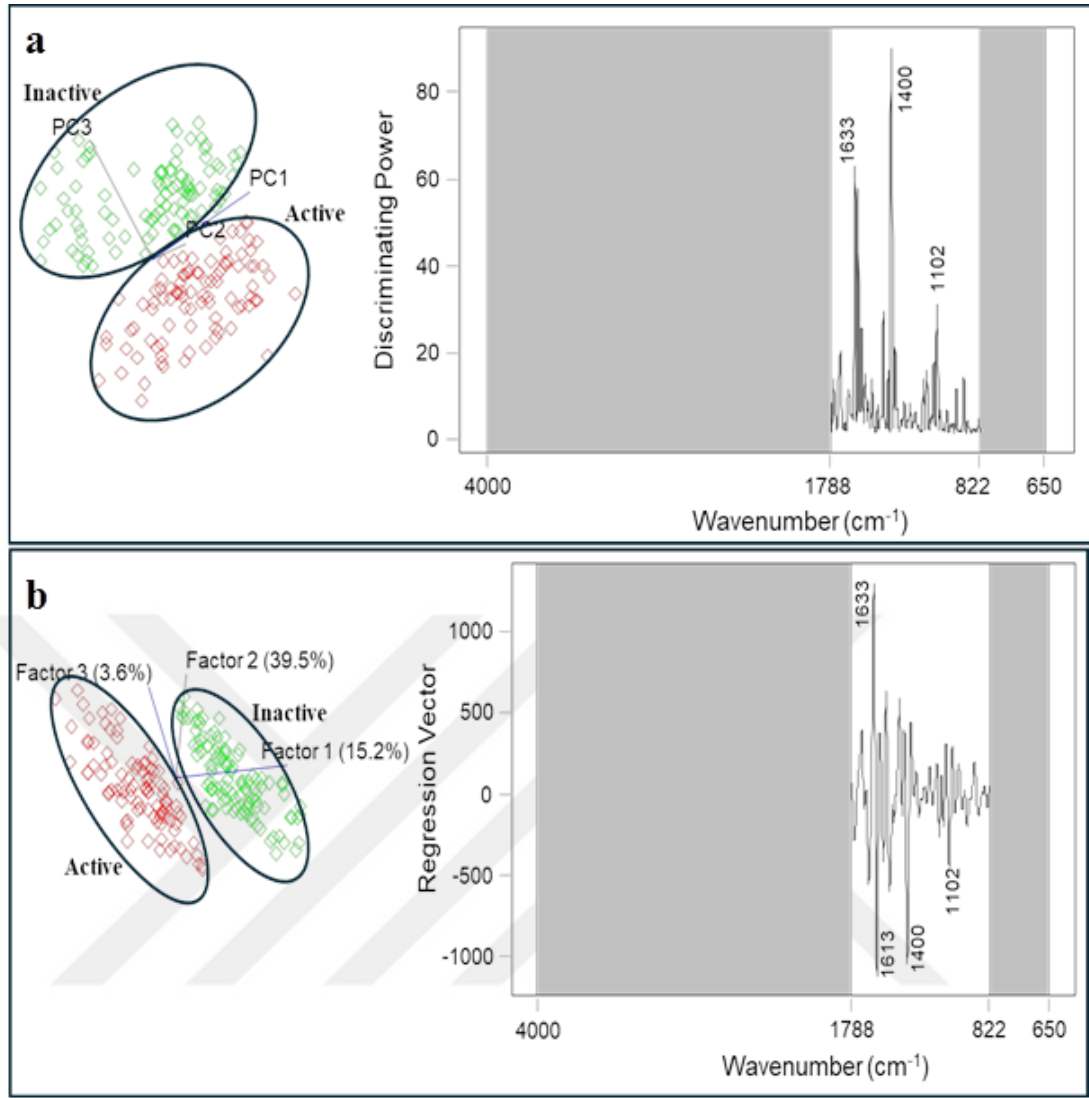
Bazı ülkelerde (örneğin Fransa) mevzuata uyum sağlamak için yoğurt üretiminden sonra mTGaz'ın inaktive edilmesinin zorunlu olması nedeniyle, aktif ve inaktif enzim içeren yoğurt örneklerinin NIR spektrumları sınıflandırılmıştır. Daha önce açıklandığı gibi ham verilere aynı ön işleme adımları uygulanmıştır. Şekil 4.4a, SIMCA modelini ve onun ayırt edici gücünü göstermektedir. Şekil 4.4b, PLS-DA modelini ve sınıflandırmadan sorumlu regresyon vektörünü göstermektedir. Bu durumda 10000 ile 6090 cm^{-1} arasındaki ve 4600 ile 4000 cm^{-1} arasındaki bölgeler modele pozitif katkı sağlamadığı için hariç tutulmuştur. SIMCA ve PLS-DA modelleri, sınıflandırmadan sorumlu kritik faktörün 5783 cm^{-1} dalga sayısı olduğunu tespit etmiştir. Belirtilen dalga sayısı, CH_2 ve CH gerilme titreşimlerinin ilk overtonuyla ilişkilendirilebilir. Bu ilginçtir çünkü CH_2 ve CH gerilme titreşimleri,

mTGaz'in doğrudan değıştirmediği yağdaki yapısal değışiklikleri göstermektedir. Deneysel yoğurt örnekleri doğrudan UHT süttten üretildiğinden (toplam kuru madde içeriği artırılmadan) ve üretimden sonra homojenize edilmediğinden, süt yağının zayıf jel ağında sınırlı hareketliliği vardır. mTGaz'nin aktif örneklerde sürekli etkisi, daha sağlam bir protein ağı oluşturarak hareketliliği sınırlayabilir ve böylece yağ kürecikleri arasındaki etkileşimi azaltabilmektedir. Bu durum, aktif ve inaktif örnekler arasındaki CH_2 ve CH gerilme titreşimlerindeki farklılıkların gözlemlenmesinden sorumlu olduğu düşünölmektedir. SIMCA modeli %94 duyarlılık, %96 özğüllük, %95 kesinlik ve %95 doğruluk sağlamıştır. PLS-DA modeli, %99'u aşan duyarlılık, özğüllük, kesinlik ve doğruluk sağlayarak SIMCA modelinden üstündür.



şekil 4.4. Aktif ve inaktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran NIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.

Aktif enzim içeren yoğurt örneklerinin NIR spektrumlarını, inaktif enzim içeren örneklerle karşılaştırmak için koşullu entropi ve makine öğrenmesi kullanılmıştır. Bu durumda SVM algoritması tüm özellikleri kullanarak %85 doğruluk sağlamış; ancak, dört özelliği olan PCA doğruluğu %74,6'ya düşürmüş ve dört özelliği olan CE doğruluğu %70,8'e düşürmüştür. Daha sonra sadece inaktif enzim içeren örnekler sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Depolanan gün sayısından bağımsız olarak, LD algoritması kullanıldığında en iyi doğruluk elde edilmiş ve tüm özelliklerle %85,8 doğruluk sağlanmıştır. Dört özellikli PCA'nın kullanılması doğruluğu önemli ölçüde %64,2'ye düşürürken, dört özellikli CE doğruluğu %68,3'e yükseltmektedir. Bu durumda iyi bir sınıflandırma elde edilememiştir. Ancak 30 gün boyunca saklanan ve inaktif enzimler içeren örneklerde iyi bir sınıflandırma gözlemlenmiştir. Bu durumda, LD kullanılarak tüm özelliklerle %87,5 doğruluk elde edilmiştir. Dört özellikli PCA ve Kuadratik Ayırt Edici (QD) birlikte kullanıldığında %75 doğruluk elde edilirken, dört özellikli CE ve QD birlikte kullanıldığında %80 doğruluk elde edilmiştir. Önem sırasına göre sınıflandırmadan sorumlu dalga sayıları sırasıyla 5014, 4339, 6412 ve 7208 cm^{-1} 'dir. Aktif ve inaktif enzim içeren örneklerin MIR spektrumları sınıflandırılmaya çalışılmıştır. Şekil 4.5a, SIMCA modelini ve onun ayırt edici gücünü göstermektedir ve Şekil 4.5b, PLS-DA modelini ve onun regresyon vektörünü göstermektedir. Bu durumda, SIMCA 2.02 ICD sağlamış, bu da iyi bir sınıflandırmanın gözlemlendiğini ve %100 duyarlılık, özgüllük, kesinlik ve doğruluk elde edildiğini göstermektedir. 1633 cm^{-1} ve 1100 cm^{-1} 'deki pikler, proteinlerin Amid I titreşimiyle birlikte var olan O-H bağıyla ilişkili olabilmektedir. Aktif numunelerde depolama sırasında uzun süreli enzim aktivitesi, aktif ve inaktif örnekler arasında gözlenen Amid I titreşimindeki farklılığa olabilmektedir. Aktif enzim içeren yoğurt örneklerinin MIR spektrumları, koşullu entropi ve makine öğrenmesi kullanılarak inaktif enzim içeren örneklerle karşılaştırıldığında, LD algoritması tüm özellikler kullanılarak %97,3 doğruluk sağlamıştır. Dört özellikli PCA, SVM algoritmasıyla doğruluğu %68,1'e düşürürken, dört özellikli CE, SVM algoritmasıyla doğruluğu %66,2'ye düşürmektedir. Sınıflandırmadan 3217, 1430, 1065 ve 1534 cm^{-1} dalga sayıları sorumludur. Hem PCA hem de CE algoritmaları iyi bir sınıflandırma sağlamamıştır.



Şekil 4.5. Aktif ve inaktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.

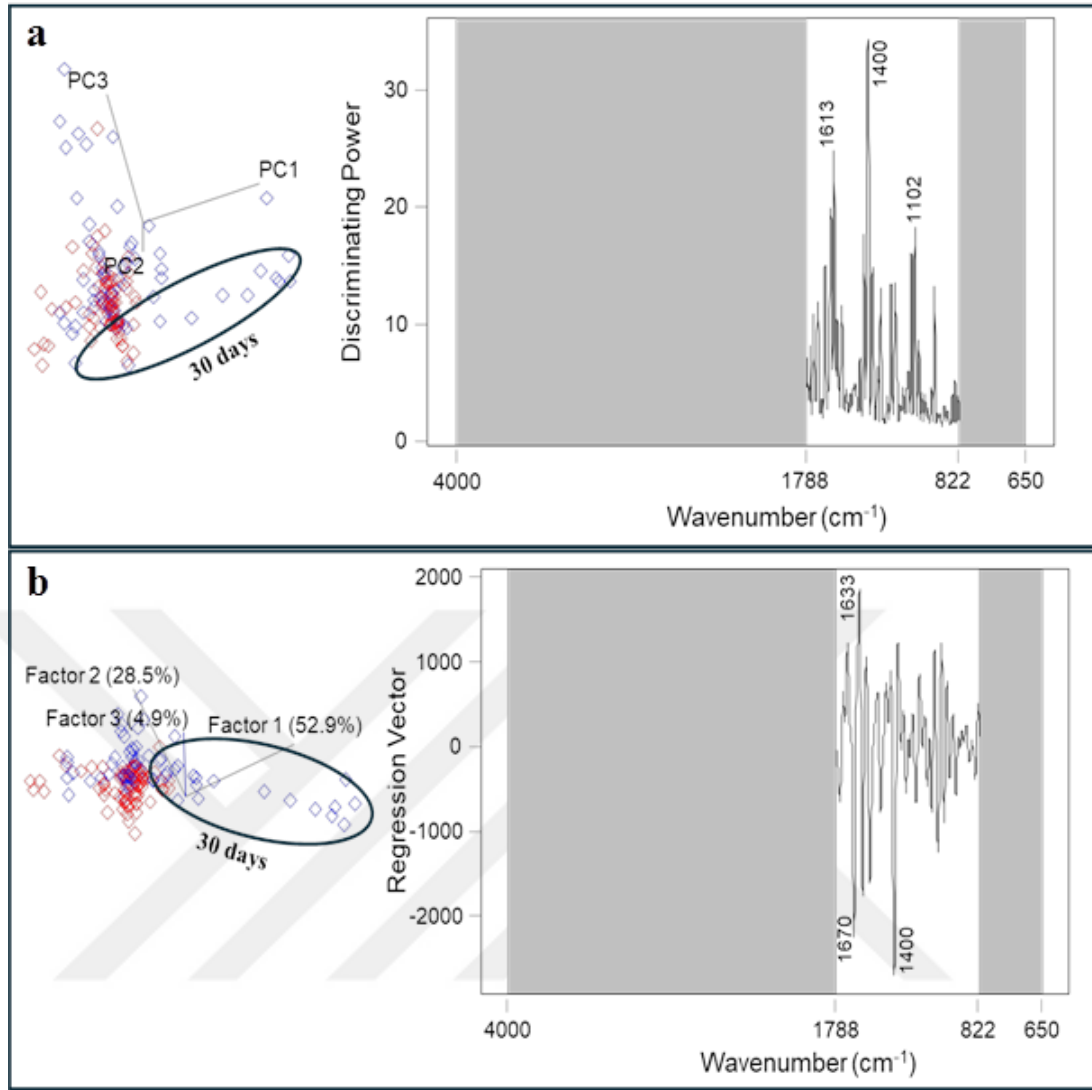
4.4. Enzim Konsantrasyonuna Göre Sınıflandırma

Ne SIMCA ne de PLS-DA modelleri NIR spektrumları kullanılarak 1 ve 2 enzim ünitesi arasında iyi bir ayırım sağlamamıştır.

Koşullu entropi ve makine öğrenimi ile 1 veya 2 U aktif enzim içeren yoğurt örneklerinin NIR spektrumlarına dayalı sınıflandırması umut verici sonuçlar vermiştir. Tüm özellikler kullanıldığında Doğrusal Ayırım (LD) algoritmaları %78,3 doğruluk sağlamıştır. KNN algoritmaları kullanılarak dört özellikli PCA %67,5 doğruluk göstermiş ve bu özellikler CE için kullanıldığında %70,8 doğruluk sağlamıştır. Önem sırasına göre sınıflandırmadan sorumlu dalga sayıları sırasıyla 4647, 8765, 5070 ve 5224 cm⁻¹'dir. İlginç bir şekilde, sınıflandırma için yalnızca 30

gün boyunca saklanan örnekler seçildiğinde doğruluk daha yüksekmiş. LD algoritmaları ile tüm özellikler %92,5 doğruluk, dört özellik ile PCA %75 doğruluk ve dört özellik ile CE %72,5 doğruluk sağlamıştır.

Ayrıca 1 ve 2 ünite aktif enzim içeren yoğurt örneklerinin MIR spektrumlarında enzim konsantrasyonuna göre farklılık olup olmadığını sınıflandırmaya çalışılmıştır. Şekil 4.6a ve Şekil 4.6b sırasıyla SIMCA ve PLS-DA modellerini göstermektedir. İlginç bir şekilde, iyi bir sınıflandırma elde edilememesine rağmen, 30 gün boyunca saklanan örnekler diğer örneklerden farklı desenler sergilemiştir. Reolojik açıdan bakıldığında, yoğurt gibi zayıf kıvamındaki bir jel için 30 günlük depolama uzun bir süredir; ağda hapsolan bir miktar su sızabilir (yoğurdun suyunun ayrışması), bu da 30 günlük depolamada farklı örüntülerin gözlenmesini açıklayabilmektedir. Ayrıca, 1 veya 2 ünite aktif veya inaktif enzim içeren yoğurt örneklerinin MIR spektrumlarının sınıflandırılması koşullu entropi ve makine öğrenmesi ile denenmiştir. Tüm özellikler kullanıldığında Doğrusal Ayrımcı (LD) algoritmaları %86,2 doğruluk sağlamıştır. Dört özellik ile PCA, SVM algoritmaları kullanılarak %67,4 doğruluk göstermiş ve bu özellikler CE için kullanıldığında %66,0 doğruluk sağlamıştır. Önem sırasına göre, bu sınıflandırmadan sorumlu dalga sayıları sırasıyla 2974, 1546, 1400 ve 3228 cm^{-1} dir. Ayrıca aktif veya inaktif bir enzimin seçilmesine bakılmaksızın örnekleri depolama günlerine göre sınıflandırmaya çalışmıştık ve Bu durumda LD algoritması %99,4 doğruluk sağlamıştır. Dört özellikli PCA'nın SVM algoritmasıyla birleştirilmesi doğruluğu %72,2'ye düşürmüştür. Ancak, SVM ile birleştirilen CE doğruluğu %82,5'e çıkarmıştır.



Şekil 4.6. 1U ve 2U aktif enzim içeren yoğurtları karşılaştıran MIR spektrometresinden elde edilen spektral veriler (a) SIMCA modeli ve ayırma gücü, (b) PLS-DA modeli ve regresyon vektörü.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

FT-NIR ve FT-MIR spektral verilerinden elde edilen sınıflandırma modellerinin istatistiksel verilerinin özeti Tablo 5.1'de verilmiştir. Bu çalışma, NIR ve MIR spektroskopisinin kullanımının yoğurt örneklerinde mTGaz kullanımının, enzimin aktif/inaktif durumunun ve enzim konsantrasyonlarının (1U, 2U) sınıflandırılması için umut verici olduğunu etkili bir şekilde göstermiştir. Hem NIR hem de MIR teknikleri, aktif enzim içeren numuneleri kontrolden ayırt edebilmiştir ve MIR spektroskopisi aktif ve inaktif enzim durumları arasında ayırım yapmada biraz daha üstün bir performans göstermiştir. Hem SIMCA hem de PLS-DA, kemometrik modelleri karşılaştırırken yoğurt örneklerini enzim aktivitesine göre sınıflandırabilmiştir. Ancak, PLS-DA, özellikle kontrol ve enzimle muamele edilmiş örnekler arasında ve farklı enzim konsantrasyonları (1U ve 2U) arasında ayırım yaparken, sınıflandırma doğruluğu açısından SIMCA'dan daha iyi performans göstermiştir. PLS-DA'nın sınıflar arasındaki ayırımı optimize etme yeteneği, karmaşık veri setini ele almada onu daha etkili hale getirirken, SIMCA'nın sınıf farklılaştırması, özellikle enzim konsantrasyonu değiştiğinde daha sınırlıdır.

Doğrusal Ayırıcı (LD) ve Destek Vektör Makinesi (SVM) algoritmaları içeren makine öğrenimi modelleri, özellikle aktif ve inaktif enzim örnekleri arasında ayırım yaparken kuvvetli sınıflandırma performansı sağlamıştır. Makine öğrenmesi modelleri, yoğurttaki aktif enzimlerle sınırlı kalmadan, mTGaz enzim varlığını da ayırt edebilmiştir. Makine öğrenimi modelleri, özellikle 1U ve 2U aktif enzim örnekleri gibi daha karmaşık karşılaştırmalar için sınıflandırma doğruluğunu iyileştirme potansiyelini göstermiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma, ileri sınıflandırma teknikleri ile birlikte kullanılan NIR ve MIR spektroskopisinin yoğurttaki enzim varlığını etkili bir şekilde tespit edebildiğini ve enzim aktivitesini ve konsantrasyonlarını sınıflandırabildiğini göstermiştir. Bu yöntemlerin entegre edilmesi, gıda kalitesinin izlenmesini ve enzim aktivitesine ilişkin düzenlemelere uyumu destekleyerek, gıda endüstrisi için hızlı ve güvenilir bir araç sağlayabilmektedir.

Tablo 5.1. FT-NIR ve FT-MIR spektral verilerinden elde edilen sınıflandırma modellerinin istatistiksel verilerinin özeti.

Cihaz	Grup	Metot	Faktör	ICD	Yanlış sınıflandırma	Duyarlılık%	Özgüllük %	Doğruluk%	Kesinlik%
FT -NIR	C vs A	SIMCA	5	6.27	3/180	>98	>98	>98	>98
	A vs I		3	2.88	7/240	94	96	95	95
	IU vs 2U		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C vs A	PLS-DA	4	–	1/180	>99	>99	>99	>99
	A vs I		4	–	1/240	>99	>99	>99	>99
	IU vs 2U		N/A	–	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C vs A	CE	4	–	24/300	87	98	92	91
	A vs I		4	–	36/240	83	87	85	86
	IU vs 2U		4	–	10/120	83	73	78	76
FT -MIR	C vs A	SIMCA	9	3.22	1/180	100	>99	>99	>99
	A vs I		9	2.02	0/240	100	100	100	100
	IU vs 2U		N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C vs A	PLS-DA	7	–	4/180	100	>98	>99	>98
	A vs I		3	–	0/240	100	100	100	100
	IU vs 2U		N/A	–	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
	C vs A	CE	4	–	8/300	93	>98	97	93
	A vs I		4	–	4/240	97	>98	97	97
	IU vs 2U		4	–	33/240	86	85	86	86

C:Kontrol; A:Aktif; I:İnaktif; ICD:Sınıflar Arası Mesafe; CE:Koşullu Entropi; N/A:Uygulanamaz

KAYNAKLAR

- Aalami, M., & Leelavathi, K. (2008). Effect of microbial transglutaminase on spaghetti quality. *Journal of food science*, 73(5), C306-C312.
- Ajinamoto. (2024). Discover transglutaminase with ajinomoto. Retrived from <https://ajifoodsolutions.eu/solutions-and-ingredients/discover-transglutaminase-with-447-ajinomoto/>. Accessed October 3, 2024.
- Akbari, M., Razavi, S. H., & Kieliszek, M. (2021). Recent advances in microbial 443 transglutaminase biosynthesis and its application in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 458–469.
- Amirdivani, S., Khorshidian, N., Fidelis, M., Granato, D., Koushki, M. R., Mohammadi, M., & Mortazavian, A. M. (2018). Effects of transglutaminase on health properties of food products. *Current Opinion in Food Science*, 22, 74-80.
- Ando, H., Adachi, M., Umeda, K., Matsuura, A., Nonaka, M., Uchio, R., ... & Motoki, M. (1989). Purification and characteristics of a novel transglutaminase derived from microorganisms. *Agricultural and biological chemistry*, 53(10), 2613-2617.
- Ayvaz, H., Zreyas, A., Zreyas, V., & Rodriguez-Saona, L. (2022). Infrared Spectroscopy in Dairy Analysis. In P. L. H. McSweeney, & P. Namara (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences* (Third Edition) (pp. 405–420). Academic Press.
- Bulut-Solak, B., & Nihat, A. K. I. N. (2012). Yoğurt çeşitleri, yoğurtlarda görülen bazı kusurlar ve çözüm önerileri. *Akademik Gıda*, 10(2), 115-120.
- Colson, G., & Grebitus, C. (2017). Relationship between children's BMI and parents' preferences for kids' yogurts with and without front of package health signals
- Cui, L., Du, G., Zhang, D., Liu, H., & Chen, J. (2007). Purification and characterization of transglutaminase from a newly isolated *Streptomyces hygroscopicus*. *Food chemistry*, 105(2), 612-618.
- Cui, L., Zhang, D., Huang, L., Liu, H., Du, G., & Chen, J. (2006). Stabilization of a new microbial transglutaminase from *Streptomyces hygroscopicus* WSH03-13 by spray drying. *Process Biochemistry*, 41(6), 1427-1431.
- Çakıroğlu, F. P. (2003). Yoğurdun besleyici ve sağlığı koruyucu etkisi. *Gıda*, 28(1).
- Das, K., Choudhary, R., & Thompson-Witrick, K. A. (2019). Effects of new technology on the current manufacturing process of yogurt-to increase the overall marketability of yogurt. *Lwt*, 108, 69-80.
- De Góes-Favoni, S. P., & Bueno, F. R. (2014). Microbial transglutaminase: general characteristics and performance in food processing technology. *Food Biotechnology*, 28(1), 1-24.

- Donovan, S. M., & Shamir, R. (2014). Introduction to the yogurt in nutrition initiative and the First Global Summit on the health effects of yogurt. *The American journal of clinical nutrition*, 99(5), 1209S-1211S.
- Ercili-Cura, D., Lille, M., Legland, D., Gaucel, S., Poutanen, K., Partanen, R., & Lantto, R. (2013). Structural mechanisms leading to improved water retention in acid milk gels by use of transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, 30, 419–427.
- Fagan, C. C., Everard, C., O'Donnell, C. P., Downey, G., Sheehan, E. M., Delahunty, C. M., & O'Callaghan, D. J. (2007). Evaluating mid-infrared spectroscopy as a new technique for predicting sensory texture attributes of processed cheese. *Journal of dairy science*, 90(3), 1122-1132.
- Gharibzahedi, S. M. T., & Chronakis, I. S. (2018). Crosslinking of milk proteins by microbial transglutaminase: Utilization in functional yogurt products. *Food Chemistry*, 245, 620–467 632.
- Jaros, D., Partschefeld, C., Henle, T., & Rohm, H. (2006). Transglutaminase in dairy products: chemistry, physics, applications. *Journal of texture studies*, 37(2), 113-155.
- Jira, W., & Schwägele, F. (2017a). A sensitive HPLC-MS/MS method for the simultaneous detection of microbial transglutaminase, and bovine and porcine fibrinogen/thrombin in restructured meat. *Food Chemistry*, 237, 841-848.
- Jira, W., & Schwägele, F. (2017b). A sensitive high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the detection of microbial transglutaminase in different types of restructured meat. *Food Chemistry*, 221, 1970–1978.
- Karahan, L. E. (2015). Mikrobiyal Transglutaminaz Enzimi ve Süt Ürünlerinde Kullanımı. *Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, 5(2), 200-216.
- Kashiwagi, T., Yokoyama, K. I., Ishikawa, K., Ono, K., Ejima, D., Matsui, H., & Suzuki, E. I. (2002). Crystal Structure of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium Mobaraense*. *Journal of Biological Chemistry*, 277(46), 44252-44260.
- Kaufmann, A., Köppel, R., & Widmer, M. (2012). Determination of microbial transglutaminase in meat and meat products. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 29, 1364-1373.
- Kieliszek, M., & Błażej, S. (2017). Microbial transglutaminase and applications in food industry. In *Microbial enzyme technology in food applications* (pp. 180-198). CRC Press.
- Kieliszek, M., & Misiewicz, A. (2014). Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review. *Folia microbiologica*, 59, 241-250.
- Kızılaslan, N., & Solak, İ. (2016). Yoğurt ve insan sağlığı üzerine etkileri. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, (12), 52-59.
- Kose, Y. E., Altun, I., & Kose, S. (2018). Determination of texture profile analysis of yogurt produced by industrial and traditional method. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 4(8), 66-70.

- Lee, W. J., & Lucey, J. A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 23(9), 1127-1136.
- Legifrance. (2024). Arrêté du 19 octobre 2006 relatif à l'emploi d'auxiliaires technologiques dans la fabrication de certaines denrées alimentaires. Accessed October 3, 2024.
- Lerner, A., & Benzvi, C. (2021). Microbial transglutaminase is a very frequently used food additive and is a potential inducer of autoimmune/neurodegenerative diseases. *Toxics*, 9(10), 233.
- Lerner, A., & Matthias, T. (2015). Possible association between celiac disease and bacterial transglutaminase in food processing: a hypothesis. *Nutrition reviews*, 73(8), 544-552.
- Lorenzen, P. C., 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(3), 152-157.
- Loveday, S. M., Sarkar, A., & Singh, H. (2013). Innovative yoghurts: Novel processing technologies for improving acid milk gel texture. *Trends in Food Science & Technology*, 33(1), 5–20.
- Luciano, F. B., & Arntfield, S. (2012). Use of transglutaminases in foods and potential utilization of plants as a transglutaminase source—Review. *Biotemas*, 25(4), 1-11.
- Marette, A., & Picard-Deland, E. (2014). Yogurt consumption and impact on health: Focus on children and cardiometabolic risk. *The American Journal*
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Deming, S. M., Michotte, Y., & Kaufman, L. (1988). *Chemometrics: A textbook*. Elsevier.
- Mavuş, R., Dolgun, E. C., Akkoç, A. E., & Aktaş, M. (2020). Yoğurt Üretiminde Kalite Kayıpları ve Kalite Artışına Yönelik Düzeltici Önlemlerin Geliştirilmesi. *Gazi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 6(2), 120-128.
- Motoki, M., & Seguro, K. (1998). Transglutaminase and its use for food processing. *Trends in food science & technology*, 9(5), 204-210.
- Muncan, J., Tei, K., & Tsenkova, R. (2020). Real-time monitoring of yogurt fermentation process by aquaphotomics near-infrared spectroscopy. *Sensors*, 21(1), 177.
- Nagaoka, S. (2019). Yogurt production. *Lactic acid bacteria: Methods and protocols*, 45-54.
- Ozcan, T. (2013). Determination of yogurt quality by using rheological and textural parameters. *Nutrition and Food Science II*, 53, 118-122.
- Özer, B., Hayaloglu, A. A., Yaman, H., Gürsoy, A., & Şener, L. (2013). Simultaneous use of transglutaminase and rennet in white-brined cheese production. *International Dairy Journal*, 33(2), 129–134.
- Pereira, C., Luiz, L. C., Bell, M. J. V., & Anjos, V. (2020). Near and mid infrared spectroscopy to assess milk products quality: a review of recent applications. *Journal of Dairy Research & Technology*, 3(1), 1-10.

- Rodriguez-Saona, L., Ayvaz, H., & Wehling, R. L. (2017). Infrared and Raman spectroscopy. In S. S. Nielsen (Ed.), *Food Analysis* (pp.107–127). Springer.
- Rodriguez-Saona, L. E., Koca, N., Harper, W. J., & Alvarez, V. B. (2006). Rapid determination of Swiss cheese composition by Fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of dairy science*, 89(5), 1407-1412.
- Romeih, E., & Walker, G. (2017). Recent advances on microbial transglutaminase and dairy application. *Trends in food science & technology*, 62, 133-140.
- Savaiano, D. A., & Hutkins, R. W. (2021). Yogurt, cultured fermented milk, and health: A systematic review. *Nutrition reviews*, 79(5), 599-614.
- Shah, N. P. (Ed.). (2017). *Yogurt in health and disease prevention*. Academic Press.
- Sfakianakis, P., & Tzia, C. (2014). Conventional and innovative processing of milk for yogurt manufacture; development of texture and flavor: A review. *Foods*, 3(1), 176-193.
- Soukoulis, C., Panagiotidis, P., Koureli, R., & Tzia, C. (2007). Industrial yogurt manufacture: monitoring of fermentation process and improvement of final product quality. *Journal of dairy science*, 90(6), 2641-2654.
- Spence, L. A., Cifelli, C. J., & Miller, G. D. (2011). The role of dairy products in healthy weight and body composition in children and adolescents. *Current Nutrition & Food Science*,
- Şenol, K. Ö. S. E., & Elvan, O. C. A. K. (2014). Yoğurtta lezzet bileşenlerinin oluşumu ve bu oluşum üzerine etki eden faktörler. *Akademik Gıda*, 12(2),
- Temizkan, R., Can, A., Dogan, M. A., Mortas, M., & Ayvaz, H. (2020). Rapid detection of milk fat adulteration in yoghurts using near and mid-infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 110, 104795.
- Topcu, A., Bulat, T., & Özer, B. (2020). Process design for processed Kashar cheese (a pasta- filata cheese) by means of microbial transglutaminase: Effect on physical properties, yield and proteolysis. *LWT*, 125, 109226.
- Türk Gıda Kodeksi, Fermente Süt Ürünleri Tebliği, T.C. Resmi Gazete, 30 Kasım 20222, sayı 32029.
- Türk Standartları Enstitüsü. Yoğurt Standardı, TS 1330, Ankara 2021.
- Valand, R., Tanna, S., Lawson, G., & Bengtström, L. (2020). A review of Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy used in food adulteration and authenticity investigations. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 37(1), 19-38.
- Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy science and technology*. CRC press.
- Yadav, A., Jaiswal, P., Jaiswal, M., Kumar, N., Sharma, R., Raghuwanshi, S., & Bisen, P. S. (2015). Concise review: importance of probiotics yogurt for human health improvement. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 9(7), 25-30.
- Yildiz, F. (2016). *Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products*. CRC press.

- Yokoyama, K., Nio, N., & Kikuchi, Y. (2004). Properties and applications of microbial transglutaminase. *Applied microbiology and biotechnology*, 64(4), 447-454.
- Yüksel, Z., & Erdem, Y. K. (2007). Gıda endüstrisinde transglutaminaz uygulamaları: 1. Enzimin genel özellikleri. *Gıda*, 32(6), 287-292.
- Zhang, D., Zhu, Y., & Chen, J. (2009). Microbial transglutaminase production: understanding the mechanism. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 26(1), 205-222.
- Wold, S. (1976). Pattern recognition by means of disjoint principal components models. *Pattern Recognition*, 8(3), 127–139.
- Wold, S., & Sjostrom, M. (1977). Simca: A method for analyzing chemical data in terms of similarity and analogy. In B. R. Kowalski (Ed.), *Chemometrics: Theory and Application* (pp. 243–282). American Chemical Society.
- Zhu, Y., Rinzema, A., Tramper, J., & Bol, J. (1995). Microbial transglutaminase—a review of its production and application in food processing. *Applied microbiology and biotechnology*, 44, 277-282.



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Mysa YAAQOB

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2019, Hodeidah Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü
- **Yükseklisans** : Devam ediyor, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği