

GIDA ENDÜSTRİSİNDE TRANSGLUTAMİNAZ UYGULAMALARI: 1. ENZİMİN GENEL ÖZELLİKLERİ

APPLICATIONS OF TRANSGLUTAMINASE IN FOOD INDUSTRY: 1: GENERAL PROPERTIES OF THE ENZYME

Zerrin YÜKSEL, Yaşar Kemal ERDEM*

Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş Tarihi: 21.07.2007

ÖZET: Transglutaminaz enzimi (Tgaz); amin birleşmesi, çapraz bağ oluşumu ve deamidasyon tepkimeleri ile proteinleri modifiye edebilen bir enzimdir (EC 2.3.2.13, protein-glutamin γ -glutamil-transferaz). Tgaz kullanımıyla gıda işleme teknolojisinde, düşük viskoziteli protein çözelti ve/veya dispersiyonlarında jel yapı oluşturma, mekanik dayanımı artırma, düşük yağ – protein içeriğinde mekanik yapı oluşturma, var olan yapıya eksikliği duyulan amino asit katılımını sağlama, tekstürel deformasyonu ve gıda katkı maddeleri kullanımını azaltma veya tamamen ortadan kaldırma olasıdır.

Anahtar Kelimeler: Transglutaminaz, gıda, protein, çapraz bağlanma, tekstür, fonksiyonellik, katkı maddeleri

ABSTRACT: Transglutaminase (Tgase) is an enzyme which catalyzes the reactions i.e. amin corporation, crosslinking and deamidation (EC 2.3.2.13, protein-glutamine γ -glutamil-transferaz). The gel formation in dilute protein dispersions or solutions, improvement of the mechanical strength, physical texture formation in dilute oil-protein dispersions, the corporation of aminoacids which were lack in the structure to the proteins, prevent the textural deformations, reducing the usage of the food additives will be possible with usage of tgase.

Key Words: Transglutaminase, food, protein, crosslinking, texture, functionality, additives

TEMEL BİLGİLER

Gıdalar, nitelikleri tüketici istemine göre belirlenen karmaşık yapı ve tekstüre sahip, çok bileşenli ürünlerdir. Çağdaş gıda uygulamalarının asal konusu, katkı maddeleri kullanımının en aza indirildiği, kabul edilebilir niteliklere sahip yeni mühendislik ürünleri yaratmaktır (1, 2). Proteinler, gıda teknolojisi açısından, “yarı-sert” tekstürel oluşumlara yarayan ana yapıtaşlarından biridir. Birçok gıda proteini, gıda ürünlerinin yapısını, kararlılığını veya işleme özelliklerini etkilediği ya da düzelttiği için işlevsel içeriklerdir. Proteinlerin işlevsel özellikleri, molekül yapılarıyla yakından ilgilidir. Protein yapısı, kimyasal, fiziksel ya da enzimatik olarak birçok yolla değiştirilebilir. Kimyasal değişim (modifikasyon) yerine enzimatik modifikasyon kullanılması avantajı enzimatik reaksiyonların daha spesifik olmaları ve böylece olası toksik yan etkilerin engellenmiş olmasıdır (3). Protein moleküllerinin çapraz bağlanma ve agregasyon ile üç boyutlu ağ-yapılar içerisine organize olmaları, gıdalarda arzulanan mekanik özelliklerde yeni yapılar geliştirmede en önemli süreçlerdir (4, 5). Protein jellerine dayalı yaygın, geleneksel gıda tekstürü düşünüldüğünde ilk akla gelenler peynir, yoğurt, sosis gibi gıda maddeleridir. Protein jeli oluşturulmasında yararlanılan asal işleme teknikleri enzim etkinliği, asitlendirme ve ısı uygulamalarıdır (6,7). Bunlara eklenen bir diğer teknik de son zamanlarda yaygınlaşan yüksek basınç uygulamalarıdır (8).

Protein jel ağının yapısında yer alan kuvvetler, protein molekülünü birarada tutanlar ile aynıdır (4, 5, 9). Bu etkileşim kuvvetleri artan biçimde şöyle sıralanabilir; hidrofobik kuvvetler (5-10 kJ/mol), hidrojen bağları (10-

*E-posta: erdem@hacettepe.edu.tr

40 kJ/mol), elektrostatik kuvvetler (25-80 kJ/mol) ve kovalent etkileşimler (200-400 kJ/mol). Molekül içi hidrofobik etkileşimler; jelleşme sırasında makromoleküler yapının açılması (unfolding) veya yeniden düzenlenmesinin bir sonucu olarak, daha önce iç kısımlarda gizlenmiş olan aminoasit yan zincirlerinin açığa çıkması ile artar. Jel oluşumunda hidrojen bağlarının varlığı ise, jelatinin 35°C' in üzerinde tamamen erimesi örneğinde olduğu gibi, sıcaklık artışı ile proteinin yapısal dayanıklılığının azalması ile ortaya konulabilir. Elektrostatik kuvvetler de izoelektrik noktaya uzak pH' larda ve düşük iyonik direnç söz konusu ise iyi bir su tutma sığası sergileyen ince ağ yapıların varlığı ile anlaşılabilirler.

Jelleşme sürecinde oluşan en yaygın kovalent bağlanma ise sülfidril-disülfid değişimiyle ortaya çıkan S-S çapraz bağlarıdır. Globüler proteinlerde SH-SS değişim tepkimesinin engellenmesi (inhibisyonu) durumunda dahi jelleşme gözlenmesine (10) karşın, SH-SS bağlarının olmaması, görece zayıf bir jel ağı entegrasyonuna yol açar ve bu da yüksek çözünürlük demektir (11). Gıda jellerinin viskoelastik ve bozunabilen (fracture) özellikleri ve tüketici beğenisi açısından buna bağlı olarak gelişen tekstürü; zayıf ve kuvvetli (geri-dönüşebilen) fiziksel çapraz bağlar (hidrofobik, hidrojen ve elektrostatik bağlar) ile dayanıklı kovalent bağlar arasındaki dengeye bağlıdır.

Gıda uranında kullanılan enzimlerin çoğu, hayvansal sindirim sisteminin doğası göz önüne alınarak tasarlanmıştır. Ancak çoğu gıda enziminin etkinliği, sütün rennetlenmesinde olduğu gibi, tek başına tipik jelleşmeye neden olmaz. Daha çok makromoleküler yapının modifikasyonu ya da yıkımında rol oynarlar. Doğada yaygın bulunan proteazların dışında yalnızca birkaç enzim protein modifikasyonu için uygun bir etkinliğe sahiptirler (12). Tekstürel modifikasyonu tetikleme açısından en ilgi çeken enzimler olasılıkla kovalent çapraz bağlanma gerçekleştirebilenlerdir. Bu enzimler canlı dokuların protein yapısının biyolojik anlamda mekanik dayanımında önemli bir role sahiptirler. Bunlardan biri, henüz gıda uranında yer almamakla birlikte, lisiloksidazdır. Bu enzim memeli canlıların kas liflerindeki kollajen moleküllerinin üçlü helikslerindeki fibriller arası enine kovalent çapraz bağların oluşumundan sorumludur (13). Proteinler arası kovalent çapraz bağlanmayı katalizleyen, tecimsel anlamda uygun tek enzim Transglutaminazdır (EC 2.3.2.13). Gıda uranında bu enzimin kullanımıyla düşük viskoziteli protein çözeltileri ya da dispersiyonlarından jel-benzeri yeni ağ yapıların oluşumunda yararlanılmaktadır. Aynı yeterlik protein ile kaplanmış gaz kabarcıkları veya protein kaplı emülsiyon damlacıkları içeren sistemlerde de gözlenmektedir.

Transglutaminaz enzimi (γ -glutamiltansferaz, EC 2.3.2.13); bir peptid bağındaki glutaminil kalıntısının ϵ -karboksiamid grubu (açıl verici) ile bir primer amin (açıl alıcı) arasındaki açıl-transfer tepkimesini katalizler. Bir peptid bağındaki lizin kalıntısının ϵ -amino grubu substrat işlevini üstlenirse de bu iki peptid zinciri ϵ -(γ -glutamil)lizin [ϵ -(γ -Gln)Lys] bağı ile çapraz bağlanırlar (14). Amin substratları olmadığında ise, su moleküllerinin açıl alıcı grup olduğu glutamin deamidasyonu reaksiyonunu katalizler. Transglutaminaz (Tgaz), amin birleşmesi, çapraz bağ oluşumu ve deamidasyon yolları ile proteinleri modifiye eder. Tgaz, hayvansal dokularda ve vücut sıvılarında oldukça geniş bir alana yayılmaktadır. Kanın pıhtılaşması, yaraların iyileşmesi, epidermal keratinizasyon ve eritrosit membranının sertleşmesi gibi birçok biyolojik olayda yer almaktadır. Tgaz'lar, hücre sel büyüme, farklılaşma ve bölünmenin düzenlenmesinden de sorumludur. Tgaz'lar ayrıca bitkiler, mikroorganizmalar ve balık dokularında da bulunmuştur (15).

Tgaz ile çapraz bağlanmanın hızı, protein substratının makromoleküler yapısına bağlıdır. Genelde reaktif Gln kalıntıları polipeptid zincirinin ters dönüşlerinde (16) ya da esnek kısımlarında (17) bulunurlar. Bu nedenle görece esnek bir yapıya sahip olan kazeinler Tgaz için en uygun substrattır (18). Diğer yandan ovalbumin, β -laktoglobulin (β -Lg) gibi globüler proteinler, doğal yapıları ile Tgaz için bir substrat niteliği taşımazlar. Globüler proteinleri Tgaz tarafından gerçekleştirilen çapraz bağlanmaya karşı duyarlı duruma getirmek için birkaç yöntemle başvurulabilir; örneğin molekül içi S-S bağlarının kayması (19), doğal globül durumuna dönüştürülmesi (20) ya da yağ-su arayüzeyine adsorpsiyonu (21). Tgaz tepkimesini etkileyen diğer etmenler ise sıcaklık, pH, ve kalsiyum iyon derişimidir. Memeli doku ve organlarında farklı biyolojik işlevlere sahip,

kalsiyum-bağımlı birkaç tipi bulunmaktadır (14). Örneğin insan plazma Tgaz'ının etkin bir formu olan Factor XIIIa'nın önemli işlevlerinden biri yaralanma (veya kesik) durumunda kanın pıhtılaştırılarak kanamanın durdurulmasıdır (22). Bu süreçte anılan enzim, fibrin moleküllerinin çapraz bağlanmasını sağlar, böylece kan pıhtısının mekanik dayanımı artırılmış olur ve bu pıhtı partikülleri yaralanmanın gerçekleştiği yerde tutunarak proteolize karşı da direnci artırır. Gıda uygulamasında ise bu tür endojen Tgaz'ın balık etinin oda sıcaklığında sol-jel geçişinde görev aldığı ve ϵ -(γ -Gln)Lys'in, Tgaz'a bağlı olarak, benzersiz bir balık eti tekstürü yarattığı öne sürülmektedir.

Tgaz uygulaması ilke olarak işlevsel özellikleri geliştirilmiş yeni farklı bileşenli biyopolimerlerin sentezi anlamına gelir. Bu durumda enzimatik çapraz bağlanmanın, biyopolimer(ler)in koloidal sisteme katılımı öncesinde oluşması söz konusu olacaktır. Örneğin, düzensiz yapıya sahip bir proteinin (kazein) köpük oluşturma özelliği ile bir globüler proteinin köpük-karalılığını artırıcı karakteristiğini birleştiren işlevsel bir katkı maddesi üretimi üzerinde durulsun. Öncelikle çapraz bağlanmanın benzer tipte protein yapıları arasında olduğu, benzeş olmayanlarda ortaya çıkmadığı bilinmelidir. Dolayısıyla, çapraz bağın oluşumunda bu substrat karışımındaki bileşenlerin enzimin aktif kısmına karşı termodinamik anlamda yarışması söz konusudur.

Çözünür protein-polisakkarit biyopolimerleri çok iyi emülsiyecilerdir (23). Ancak bunların kovalent çapraz bağlanma ile oluşturulan ikizleri (hibritleri), yalnız mikrobiyal Transglutaminaz (MTgaz) çapraz bağlanmasının sonucunda hazırlanamazlar. Çünkü gıda polisakkaritleri amin ya da glutamil kalıntısı içermezler. Oysa Ovomisin gibi üst düzeyde glikosillenmiş bir glikoprotein ile polisakkarit kısmı yer değiştirebilirse çapraz bağlanma olası olur. Enzim ile çapraz bağlanmış ovomisin- α_{s1} -kazein konjugatının, saf α_{s1} kazeinden çok daha iyi emülsiyecilerdir. Çünkü çapraz bağlanmış olan, işlenmemiş olandan daha yüksek molekül ağırlığına sahiptir ve çok daha amfifiliktir.

Genel olarak Tgaz'ın endüstriyel eldesi üzerine 3 temel yaklaşım vardır. İlk yaklaşım, enzimi domuz, sığır, balık gibi hayvanların vücut sıvılarından ekstrakte edilip saflaştırmaktır. Avrupa'da Tgaz'ın bir tipi olan Faktör XIII, kesim sırasında domuz ve sığırın kanından ticari olarak ekstrakte edilmektedir (24). Ancak kandan elde edilen bu enzim aktif hale gelebilmesi için trombine ihtiyaç duymakta ve ayrıca kırmızı pigmentleşme ürünün görüntüsü açısından olumsuzluklar yaratacağı için gıda endüstrisinde çok fazla kullanılmamaktadır. 2. yol ise enzimin *E.coli*, *Bacillus*, ve *Aspergillus* ve bazı mayaların genetik manipülasyonu ile elde edilmesidir (25). Birçok araştırmacı bu konu üzerinde çalışmaktadır. Ancak henüz hiç kimse bu yolla Tgaz'ı gıda standartlarına uygun bir biçimde elde edememiştir. 3. yol ise Tgaz üreten mikroorganizmalardır (15). Bunlar arasında en uygun olan mikroorganizma da taksonomik olarak *Streptovercillium mobaraense*'nin bir varyantı olarak sınıflandırılmıştır. MTgaz, kültür besiyerine salgılandığında, hücresel parçalanma kaçınılmaz değildir. Bu yolla saflaştırma daha kolaydır. Enzimin ticarileştirilmesi son zamanlarda artmış ve molekül ağırlığı, sekonder yapısı, enzimatik özellikleri gibi fizikokimyasal özellikleri belirlenmiştir. Deneysel olarak, karaciğer örneklerinden elde edilen enzimle karşılaştırma yapmak açısından, bütün bu özellikler indirgen ajanlar varlığında ölçülmüştür. Bunun yanında ditiotreitol, 2-merkaptotanol ve glutation gibi indirgen ajanlar ağır metallere karşı duyarlılık ve ısı kararlılık gibi bazı özellikleri değiştirebilmektedir. Bu nedenle, bazı özellikler indirgen ajanların olmadığı ortamda belirlenmektedir. MTgaz'ın izoelektrik noktası yaklaşık pH 8.9 dolayındadır. Molekül ağırlığı ise hem SDS-PAGE hem de jel kromatografi yönteminde ~40000 Da olarak ölçülmüştür. Sonraları yapılan daha duyarlı ölçümlerde ise molekül ağırlığı ~38000 Da olarak bulunmuştur. Edman yöntemi ve kütle spektrofotometrisi yöntemleri ile MTgaz'ın protein diziliminin primer yapısı belirlenmiş ve yaklaşık 331 aminoasitten oluştuğu saptanmıştır. Aminoasit kompozisyonundan belirlenen molekül ağırlığı 37842 Da olarak hesaplanmış ve bu değer diğer yöntemde 38000 Da olarak bulunan değere çok yakın çıkmıştır.

MTgaz'ın 2 adet glikolizasyon bölgesi (-Thr-XXX-Asn) bulunduğu halde basit (glikoprotein veya lipoprotein yapıda değildir) ve monomerik bir protein olduğu düşünülmektedir. MTgaz'ın optimum pH sı 5 - 8 arasındadır.

Bununla beraber pH 4 ve pH 9' da da enzimatik aktiviteye sahiptir. Yani MTgaz geniş bir pH aralığında kararlıdır. Enzimatik aktivite açısından maximum sıcaklık 50°C dir ve aktivitesini 50°C' de 10 dakika boyunca sürdürebilir. Diğer taraftan sıcaklığın 70°C'ye yükselmesi ile aktivitesini birkaç dakika içinde kaybedebilmektedir. MTgaz, 10°C ve donma noktasında da bir miktar aktiviteye sahiptir (15).

Substrat özgüllüğü açısından baklagil proteinleri, buğday gluteni, yumurta proteinleri, aktinler, miyosinler, fibrinler, kazeinler, α -Laktoalbumin, β -laktoglobulin ve diğer albuminler gibi çoğu gıda proteinleri MTGaz tarafından çok başarılı biçimde çapraz bağlanabilmektedir (26).

MTgaz, tipik memeli Tgaz'ından farklıdır. Deneysel olarak kobay karaciğerinden elde edilen Tgazlar enzimatik aktivitesi açısından Ca^{+2} iyonuna gerek duymaktadır Bu mikrobik enzimin karakteristik özelliği Ca^{+2} den bağımsız katalizör olmasıdır . Bu özellik, gıda proteinlerine uyarlanması açısından çok önemlidir. Çünkü çoğu gıda proteini, kazeinlerde olduğu gibi, görece düşük kalsiyum iyon derişiminde presipite olma eğilimi göstermektedir (27).

Diğer indirgeyici ajanların MTgaz üzerine etkisi de diğer bir araştırma konusudur. Cu, Zn, Pb ve Li, MTgaz'ı önemli ölçüde inhibe etmektedir. Çünkü bu Cu, Zn, Pb gibi ağır metaller sistein uçlarındaki tiol gruplarını bağlarlar. Sisteinler ise, MTgaz'ın aktif bölgelerinin bir parçasıdır.

Tgaz'ın aktif merkezi, SH – grubu katalitik reaksiyonda yer alan bir sistin kalıntısıdır. Proteinlerin Tgaz ile reaksiyona sokulmasının jelatin, kazeinat, serum proteini, soya proteini, yumurta sarısı, yumurta beyazı ve gluten gibi geniş bir alanda gıda proteini tipleri için kovalent olarak çapraz bağlanmış jel / kolloitlerin üretilmesine yaradığı çoktan görülmüştür. Ancak çapraz bağlanma oranı her bir protein makromoleküler yapıyla yakından alakalı olduğu için, bu proteinlerin hepsi ideal substratlar değildir. Ayrıca anlaşılmıştır ki çapraz bağlama benzer türde (geçimli) protein yapıları arasında gerçekleşip benzer olmayan (geçimsiz) protein yapıları arasında gerçekleşmemektedir (3) .

MTgaz, deneysel olarak kobay karaciğerinden elde edilen Tgaz enziminde olduğu gibi, konsantre protein çözeltilerinde jelleştirme özelliğine sahiptir (25, 28, 29, 30). Jelleşmiş soya globulinleri 100°C' de 15 dakika ısıtılıp işlem sonucu görece daha sert bir yapı kazanır. Süt kazeinleri Tgaz ile ısıtılıp işlem görmeden de jelleşebilmektedir. Jelleşen jelatin ısıtıldığında 100°C' ye varmadan erimektedir. MTgaz'ın özelliklerinden biri de 2 veya daha fazla proteinin kovalent olarak konjuge olması, yoluyla yeni özellikteki proteinler oluşturmasıdır. Süt kazeini veya soya globulininin yumurta ovomusini ile (bir tür glukoprotein) konjugasyonu sonucu emülsiyon aktivitesinin, bu proteinlerin tek tek aktivitelere göre gelişmesini sağlaması örnek verilebilir. Tgaz ile kazein-jelatin konjugasyonu sonucunda oluşan yeni protein kompleksinin çözünürlüğü de asidik pH' larda artmaktadır. MTgaz, aminoasitlerin veya peptidlerin protein oluşturmak üzere kovalent bağlarla birleşmesini de sağlar. Bu özellik, gıda proteinlerinin besinsel değerlerini geliştirir. Çünkü kovalent olarak bağlanmış amino asit veya peptidler, bir protein zincirindeki doğal aminoasitler gibi davranmaktadır. Örnek olarak metiyonin ve lizin sınırlayıcı faktör olduğu kazein ve soya proteinlerinde bu sınırlama, MTgaz reaksiyonu ile geliştirilebilir. Lysin haricindeki diğer bütün aminoasitlerde α -karboksil grubundaki negatif yükü elimine edebilmek için bu gruplarda ya esterleşme ya da dekarboksilasyon meydana gelmektedir. Diğer taraftan lizin ϵ -amino grubu primer amin olduğu için aminoasit Tgaz için iyi bir substrattır. Bu reaksiyonlarda protein açıl verici ve lizin içeren aminoasit açıl alıcı olarak davranır. Lysin veya glutamin içeren peptidler modifikasyona uğramadan substrat görevi görürler. Lysin içeren peptidler açıl alıcı, proteinler açıl verici grup olarak, glutamin içeren peptidlerde ise peptid açıl verici, proteinler açıl alıcı grup olarak davranır. Örneğin lisilmetiyonin peptidi kazein ile birleşerek metiyonin eksikliğini tamamlar, lisil arjinin peptidi de kazein ile birleşerek arjinin eksikliğini tamamlar. Glutamin içeren peptidlerde ise hidrofobik kısımlar proteinin amino grubuna yerleşmelidir. Bunun nedeni glutaminin substrat özgüllüğünün diğer primer aminlere göre daha yüksek olmasıdır (15).

Sodyum kazeinat, α_{s1} -, α_{s2} -, β - ve κ -kazeinleri içeren bir karışımdır. Bütün kazeinatların çapraz bağlanmasından doğan yüzey reolojisindeki değişim, ilginçtir ki, kazeinatların ayrı ayrı oluşturduğu değişimlere

çok yakındır. β -kazeinin yüzey kayma viskozitesindeki artış, sodyum kazeinattaki kadar hızlı olduğu halde, α_{S1} -kazeinde daha yavaştır. Bu fark, β -kazeindeki adsorblanma hızının daha yüksek olmasından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, β -kazeinin a_{S1} ' e göre bazı Tgazlar için daha iyi bir substrat olduğu gözlenmiştir (21).

Yüzey kayma viskozitesi ölçümleri, arayüzeydeki yapısal değişimlere daha duyarlıdır. Yüzey alanında yeni oluşum ve emülsiyon kararlılığını etkileyebilecek lokal değişimler oluşabileceği için, emülsiyon özellikleri açısından uygunluk, genleşme ile ilgili ölçümlere göre daha azdır. Çapraz bağlı kazeinat filmleri, işlem görmemiş filmlere göre sıklılığını daha yavaş kaybetmektedir (21). Bunun nedeni kovalent olarak çapraz bağlı filmlerin daha elastik bir karakter kazanmasıdır. Ancak çapraz bağlanmış ve bağlanmamış filmler arasındaki genleşme özellikleri farkı, yüzey kayma viskoziteleri farkı kadar fazla değildir.

Çapraz bağlanmanın emülsiyon özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Sadece düşük protein konsantrasyonunda (%0,2) homojenizasyondan önce çapraz bağlanma damlacık çapını etkilemektedir. Agregasyon durumunda çapraz bağlanmış protein yeni damlacığın yüzeyini tamamen kaplayamaz. Yüksek protein içeriklerinde damlacık yüzeyini kaplamaya yetecek düzeyde emülsifiye edici ajan bulunmaktadır, böylece emülsiyon kapasitesinde bir indirgenme oluşmaz. Ayrıca yüksek protein içeriklerinde, çapraz bağlanmamış proteinin, çapraz bağlanmış proteine göre adsorbsiyon için daha fazla seçildiği düşünülmektedir. Belirli sıcaklıkta 2 hafta depolama süresince işlem görmüş veya görmemiş (çapraz bağ oluşmamış) kazeinatlardaki damlacık çaplarında önemli bir fark gözlenmemiştir.

Tgaz ile sodyum kazeinatın (veya ayrı ayrı a_{S1} ve b-kazeinin) çapraz bağlanmasının yüzey kayma viskozitesinde büyük bir artışa sebep olduğu ortadadır. Ayrıca çapraz bağlanmayı takiben genleşme elastikiyetinde 2-3 katlık bir artışın oluştuğunu gözlenmektedir. Bu sonuçlar Tgaz ile arayüzey çapraz bağlanmasının kazeinat emülsiyonlarının stabilitesini modifiye ettiğini ortaya koymaktadır (31).

Gıda proteinlerinin MTgaz katalizli modifikasyonunda oluşan çapraz bağlı proteinlerin besinsel değerleri üzerinde yoğunlaşılmalıdır. MTgaz katalizli ve doğal proteinlerde G-L bağları dışında diğer bütün özellikler aynıdır. Ham ve işlem görmüş gıdalardaki doğal yoldan oluşan G-L bağlarının varlığı ve dağılımı belirlenmiştir. Süt ürünleri dışında ; proses görmüş, özellikle pişirilmiş gıdalardaki G-L bağı değerleri çiğ gıdalardakine göre daha yüksek çıkmıştır. Canlı organizmada doku ve organlarda Tgaz bulunduğu için pişirme sırasında G-L bağları oluşur. Gıda maddelerinde pişirme sırasında sıcaklık yükselmesi çok yavaş olduğu için Tgaz enzimatik aktivitesini bir süre devam ettirebilir. Bu sebepten Tgaz'ın katalitik aktivitesine bağlı olarak çiğ gıda maddelerindeki G-L kısımları pişirilmiş ve diğer prosesleri görmüş gıda maddelerine göre daha azdır. Süt kendi yapısında, dokularda olduğu gibi, Tgaz içermediği için G-L bağı da içermemektedir.

KAYNAKLAR

1. Blanshard JMV, Mitchell JR. 1998. Food Structure- Its Creation and Evaluation, Buitenworths.
2. Aguilera JM. 1992. Generation of Engineered Structures in Gels, in Physical Chemistry of Foods (Schartzberg, H.G. and Hartel, R.W. eds), pp.387-421, Marcel Dekker
3. Schorsch C, Carrie H, Norton IT. 2000. Crosslinking Casein micelles by a Microbial Transglutaminase: Influence of Crosslinks in Acid-induced Gelation. International Dairy Journal, 10:529-539.
4. Phillips LG, Whitehead DM, Kinsella J. 1994. Structure-Function Properties of Food Proteins, Academic Press.
5. Matsumura Y, Moti T. 1996. Gelation, in Methods of Testing Protein Functionality (Hall, G.M., ed.), pp. 76-109, Blackie.
6. Clark AH, Ross-Murphy SB. 1987. Structural and Mechanical Properties of Biopolymer Gels. Adv. Polym. Sci., 83: 57-192.
7. Doi E. 1993. Gels and Gelling of Globular Proteins. Trends Food Sci., Technol. 4: 1-5.
8. Messens W, Wan Camp J, Huyghebaert A. 1979. The Use of High Pressure to Modify the Functionality of Food Proteins. Trends Foods Sci. Technol., 8: 107-112.
9. Dickinson E, McClements DJ. 1995. Advances in Food Colloids, pp 27-80, Blackie.

10. Koseki T, Kitabatake N, Doi E. 1989. Irreversible Thermal Denaturation and Formation of Linear Aggregates of Ovalbumin. *Food Hydrocolloids*, 3: 123-134.
11. Clark AH, Lee-Tuffnell DD. 1986. Gelation of Globular Proteins, in *Functional Properties of Food Macromolecules* (Mitchell, J.R. and Ledward, D.A. eds), pp. 203-272, Elsevier.
12. Hamada JS. 1992. Modification of food Proteins by Enzymatic Methods, in *Biochemistry of Food Proteins* (Hudson, B.J.W., ed.), pp.249-270, Elsevier.
13. Robinson DS. 1987. *Food: Biochemistry and Nutritional Value*, pp.196-205, Longman.
14. Folk JE, Finlayson JS. 1977. The e-(g-glutamyl)lysine Crosslink and the Catalytic role of Transglutaminase. *Adv. Protein Chem.*, 31: 1-133.
15. Motoki M, Seguro K. 1998. Transglutaminase and Its Use For Food Processing. *Trends in Food Sci. and Technol.*, 9: 204-210.
16. Berbers GAM, Bentlage HGM, Brans AMM, Bloemendal H, Jong WW. 1983. b-crystallin: Endogenous substrate of Lens Transglutaminase. *Eur. J. Biochem.*, 135: 315-320.
17. Wold F. 1985. Reactions of the Amid-side Chains of Glutamine and Asparagine In Vivo. *Trends Biochem. Sci.*, 10: 4-6.
18. Nio N, Motoki M, Takinami K. 1986. Gelation Mechanism of Protein Solutions by Transglutaminase. *J. Agric, Biol. Chem.*, 48: 851-855.
19. Aboumahmoud R, Savello P. 1990. Crosslinking of whey Proteins by Transglutaminase. *J. Dairy Sci.*, 73: 256-263.
20. Matsumura Y, Chanyonvorakul Y, Kumozawa Y, Ohtsuka T, Mori T. 1996. Enhance Susceptibility to Transglutaminase Reaction of α -lactalbumin in the Molten Globule State. *Biochem. Biophys. Acta*, 1292: 69-76.
21. Faergemand B, Murray BS, Dickinson E. 1997. Crosslinking of Milk Proteins With Transglutaminase At the Oil-Water Interface. *J. Agric, Biol. Chem.*, 45: 2514-2519.
22. Hornyak TJ, Bishop PD, Shafer JA. 1989. α -Thrombincatalyzed activation of Human Platelet Factor XIIIa : Relationship Between Poteolysis and Favior XIIIa Activity. *Biochem.*, 28: 7329-7332.
23. Dickinson E. 1993. Towards Natural Emulsifiers. *Trends Food Sci. Technol.*, 4: 330-334.
24. Wilson SA. 1992. Modified Milk Proteins via Enzymatic Crosslinking, Hamilton, Sep. 11, in *Proc. of Meal Industry Research Institutes of New Zealand*, Mirinz, 247-277.
25. Seguro K, Kumazawa Y, Ohtsuka T, Toiguchi S, Motoki M. 1995. Microbial Transglutaminase and e-(g-Glutamyl)Lysine Crosslink Effects on Elastic Properties of Kamaboko Gel. *J. Food Sci.*, 60: 305-311.
26. Kurth L, Rogers PJ. 1984. Transglutaminase Catalyzed Crosslinking of Myosin to Soya Protein, Casein and Gluten. *J. Food Sci.*, 49: 573 – 589.
27. Enzyme Nomenclature. 1992. Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, p.201, Academic Press, inc.
28. Nonaka M, Matsuura Y, Nakano K, Motoki M. 1997. Improvement of the pH-Solubility Profile of Sodium Caseinat by Using Ca^{2+} -Independent Microbial Transglutaminase with Gelatin. *Food Hydrocolloids*, 11: 347-349.
29. Nielsen PM. 1995. Reactions and Potential Industrial Applications of Transglutaminase. *Review of Literature and Patents. Food Biotechnology*, 9: 119-156.
30. Zhu Y, Rinzema A, Tramper J, Bol J. 1995. Microbial Transglutaminase-A Review of Its Production and Application in Food Processing. *Appl. Microbiol Biotechnol.*, 44: 277-282.
31. Dickinson E, Yamato Y. 1996. Rheology of Milk Protein Gels and Protein – stabilized Emulsion Gels Crosslinked with Transglutaminase. *J. Agric. Food Chem.*, 44: 1371 – 1377.