

## SURFEKTANLARIN BUĞDAY PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN JEL FİLTASYON TEKNİĞİ İLE İNCELENMESİ

### AN INVESTIGATION ON THE EFFECTS OF SURFACTANTS ON WHEAT PROTEINS BY GEL FILTRATION TECHNIQUE

Süeda ÇELİK, Hamit KÖKSEL, Dilek SİVRİ

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe - Ankara

**ÖZET:** Bu çalışmada, Bezostaya çeşidi buğday unu, bu una surfektanların (DATEM veya SSL) % 0.5 oranında ilave edilip optimum sürede yoğrulması ile hazırlanan hamurlar ve kontrol hamuru kullanılmıştır. Katkı maddelerinin un proteinleri üzerine etkisi jel filtrasyon tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Örneklerden AU (0.1 M asetik asit, 3M üre) çözücüsü ile ekstrakte edilen protein preparatlarının Sephacryl S-300 dolgulu kolondan kromatografisi sonucunda üç pik elde edilmiştir. SSL veya DATEM ile hazırlanmış hamurlar ile kontrol hamurunun jel filtrasyon profillerinin genel olarak benzer olduğu bulunmuştur. Bununla beraber, unun kontrol hamuruna göre farklı jel filtrasyon profiline sahip olduğu gözlemlenmiştir.

**ABSTRACT:** In this study, Bezostaya wheat flour and optimum mixed doughs prepared from this flour with surfactants (DATEM or SSL) at % 0.5 level as well as control dough were used. Effect of additives on flour proteins were studied by gel filtration technique. Three peaks were obtained when proteins from the samples were extracted with AU (0.1 M acetic acid, 3 M urea) solvent and separated using gel filtration chromatography on Sephacryl S-300. Gel filtration profiles of control dough and doughs prepared with SSL or DATEM were generally similar. However, a different gel filtration profile was observed in the flour sample as compared to the control dough.

#### GİRİŞ

Ekmek üretiminde kullanılan hammaddeler içerisinde en önemlisi buğday unudur. Buğday unu genel olarak %70 nişasta, %12 protein, %2 lipid ve %2 pentozan içermektedir (POMERANZ and CHUNG, 1978). Buğday ununun su ile karıştırılıp yoğrulması ve hamurun gelişimi un proteinleri ile yakından ilgilidir. Buğday unu depo proteinlerinin ana bileşenleri olan gliadin ve glutenin proteinleri su ilavesi ile yoğrulduğunda viskoelastik ve kolloidal bir kompleks olan gluteni meydana getirirler. Bu olayda önce protein moleküllerinin yapıları açılarak yeniden düzenlenmekte; proteinler disülfid çapraz bağları, hidrojen bağları, iyonik bağlar ve hidrofobik interaksiyonlar ile gluten kompleksi olarak adlandırılan ve hamurun her tarafına yayılan protein ağını oluşturmaktadır (KENT, 1983; BUSHUK, 1994). Un ıslatıldığında ve hamur yoğrulduğunda protein agregatlarının boyutları küçülmekte, protein ekstraksiyonu artmakta ve lipidler un bileşenlerine bağlanmaktadır (CHUNG and TSEN, 1975). Yoğurma işlemine devam edildiğinde protein çözünürlüğü artmakta ve hamur yapısı bozulmaktadır (BUSHUK, 1994).

Ekmek yapımında çeşitli katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu katkı maddeleri hamurun reolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedirler. Katkı maddelerinden gıda endüstrisinde özellikle de büyük ölçekli ekmek üretim tesislerinde yararlanılmakta olup un kalitesindeki değişimleri dengelemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Ekmek katkı maddelerinden surfektanlar, polar ve polar olmayan gruplar içerirler ve su ile yağ arasındaki ara yüzeylerde absorbe edilerek, bu iki sıvının emülsiyon oluşturmasını desteklerler. Surfektanların ekmek yapımındaki fonksiyonları kompleksdir. Yoğurma sırasında gluten proteinleri ile interaksiyona girip hamur yapısını kuvvetlendirerek elle ve makine ile işlenmesini kolaylaştırırlar. Böylece hamurun gaz tutma kapasitesini, ekmek hacmini ve ekmek içi yumuşaklığını artırır ve bayatlamayı geciktirirler (BIRNBAUM, 1977; ÜNAL, 1980). Türk Gıda Kodeksi' nde ekmek üretiminde DATEM (mono ve digliseridlerin diasetiltartarik asit esterleri) in tekniğine uygun miktarda (GMP: good manufacturing practice); SSL (sodyum stearoil laktilat) in ise en fazla 5 g/kg düzeyinde kullanımına izin verilmektedir (ANONYMOUS, 1997).

ÜNAL (1980) değişik katkı maddelerinin ekmeğe nitelikleri üzerine etkilerini incelediği çalışmada DATEM in tava ekmeklerinde olumlu, serbest tipte ekmeklerde ise olumsuz etkisi bulunduğunu belirtmektedir. Buğday ununun beslenme değerini arttırmak amacıyla una katılan yağlı ve yağsız soya unu, buğday rüşeymi gibi maddelerin reolojik ve ekmeğe özellikler üzerine olumsuz etkileri askorbik asit,  $KBrO_3$  ve SSL gibi katkı maddeleri kullanılarak önemli ölçüde düzeltilebilmektedir (ERCAN, 1987; KAHVECİ ve ÖZKAYA, 1990; SİVRİ ve ark., 1992). SSL ve DATEM in bu çalışmada kullanılan buğday ununun reolojik özellikleri ve ekmeğe özellikleri üzerine etkileri daha önce incelenmiştir (ÇELİK ve ark., 2000; 2001).

Gliadin ve glutenin proteinleri ile ekmeğe kalitesi arasındaki ilişkilerinin saptanması için jel filtrasyon tekniği kullanılarak yapılmış olan bazı araştırmalar mevcuttur (ORTH et al., 1973; KHAN and BUSHUK, 1979; BEKES et al., 1983). Bununla beraber, gluten proteinlerinin surfektan katkı maddeleri kullanılarak hazırlanan hamurlarda, katkı maddelerinden nasıl etkilendiğinin araştırıldığı jel filtrasyon çalışmaları sınırlı sayıdadır.

Bu araştırmada, Bezostaya buğday ununa surfektan (DATEM ve SSL) katkı maddelerinin ilavesi ile hazırlanan optimum yoğrulmuş hamurlarda jel filtrasyon tekniği kullanılarak gluten proteinleri incelenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Bu çalışmada, Bezostaya (sert kırmızı kışlık) çeşidi buğday örneği Carter Dokaj aletinden geçirilerek yabancı maddelerden temizlenmiş ve Bühler pnömatik laboratuvar değirmeninde una işlenmiştir.

Araştırmada kullanılan surfektanlar (DATEM ve SSL) Bezostaya ununa % 0.5 oranında (un esasına göre) ilave edilmiştir. Bu katkı maddelerinin reolojik özellikler üzerine etkileri farinograf ve ekstensograf kullanılarak belirlenmiştir (ÇELİK ve ark. 2000). Hamur örnekleri farinografda optimum sürede yoğrulmuş ve derin dondurucuda saklanmışlardır.

### Yöntem

#### Jel Filtrasyon Kromatografisi

Jel filtrasyon kromatografisi 50.0 cm x 1.5 cm kolonda oda sıcaklığında Sephacryl S-300 (Sigma) kullanılarak yapılmıştır. Kolonda akış aşağı yönde uygulanmıştır ve tampon çözelti olarak AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) kullanılmıştır. Liyofilize edilmiş örnekler (300 mg) bir gece boyunca 4 °C' de 2.5 ml AU ile ekstrakte edilmiş ve bu süre sonunda 15 dakika santrifüj (11.600 x g) edilerek çözünen kısım kolona uygulanmıştır. Fraksiyon toplayıcısı (ISCO Retriever 500) ile 1.5 ml fraksiyonlar toplanmış ve protein içerikleri spektrofotometre (Shimadzu UV-2101PC) ile 280 nm de belirlenmiştir. Kolonun boş hacmi ( $V_0$ ) blue dekstranın, toplam hacmi ise triptofanın kolondan geçirilmesi ile saptanmıştır. Kolonun kalibrasyon işlemi aşağıda belirtilen moleküler ağırlık standartları ile WHITAKER (1963)'ın metoduna göre yapılmıştır. Kalibrasyonda kullanılan protein markörleri (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri): blue dekstran (2000 kDa),  $\beta$ -amilaz (200 kDa), alkol dehidrogenaz (150 kDa), bovin serum albumin (66 kDa), karbonik anhidraz (29 kDa), triptofan (204 Da) dır.

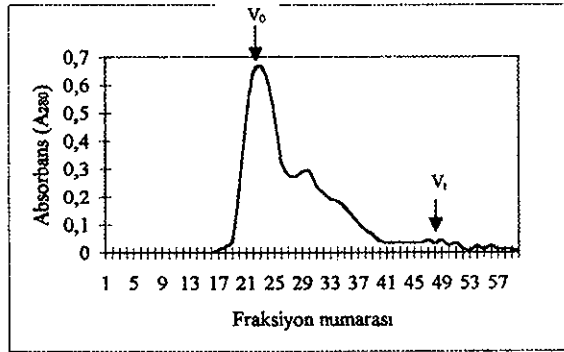
## SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Jel filtrasyon kromatografisi çalışmalarında Bezostaya unu ve bu un ile hazırlanan kontrol hamuru; %0.5 SSL veya DATEM katkılı optimum yoğrulmuş hamurlar kullanılmıştır. Sephacryl S-300 dolgu kolondan AU çözeltisi ile geçirilen örneklerden elde edilen piklerin moleküler ağırlıkları kalibrasyon eğrisinden hesaplanmıştır (DEMİRALP, 1997).  $V_0$  boş hacmi,  $V_t$  ise kolonun toplam hacmini göstermektedir.

Bezostaya ununa ve optimum yoğrulmuş kontrol hamuruna ait protein dağılım profilleri Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir. Bezostaya ununun kolondan geçirilmesi ile üç pik elde edilmiştir. Kolondan boş hacimde çıkan I. pikin moleküler ağırlığının yaklaşık olarak 2000 kDa, II. pikin moleküler ağırlığının 150 kDa, bu iki pikten daha küçük olan III. pikin moleküler ağırlığının ise 40 kDa olduğu saptanmıştır. Glutenin yapısını araştırmak amacıyla

la yapılan bir çalışmada indirgenmiş alkilenmiş glutenin proteinlerinin jel filtrasyonu sonucunda üç pik elde edilmiştir. Bu üç pikin oluşturduğu fraksiyonlar SDS-PAGE jel elektroforezi ile incelendiğinde kolondan boş hacimde çıkan I. piki oluşturan proteinlerin moleküler ağırlığının 68 kDa ve daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Bu subunitler glutenin kompleksine hidrojen bağları, iyonik ve hidrofobik interaksyonlar gibi ikincil bağlarla bağlanarak büyük agregatlar oluşturmakta; bu nedenle kolondan boş hacimde çıkmaktadırlar. Bu agregatların oluşumunda protein-protein ve protein-(karbonhidrat, lipid)-protein interaksyonları rol oynamaktadır (BUSHUK et al., 1980).

Optimum yoğrulmuş kontrol hamurunun jel filtrasyon profili incelendiğinde (Şekil 2) ise üç pik elde

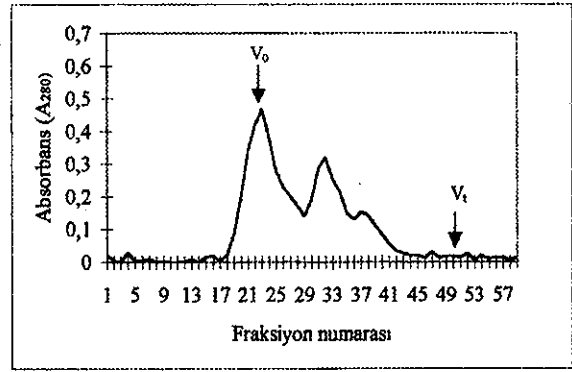


Şekil 2. Optimum yoğrulmuş hamurun AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgulı kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profili

Bezostoya ununa % 0.5 SSL katkılı optimum yoğrulmuş hamurun jel filtrasyonu sonucunda üç pik elde edilmiştir (Şekil 3). Elde edilen protein dağılım profili ve pikleri oluşturan proteinlerin moleküler ağırlıkları optimum yoğrulmuş kontrol hamuruna benzemektedir. Bununla beraber, kontrol hamurundan farklı olarak piklerin alanlarının daha küçük olduğu gözlenmektedir.

Bezostoya ununa % 0.5 DATEM katkılı optimum yoğrulmuş hamurun jel filtrasyonu sonucu Şekil 4' de görülmektedir. Elde edilen protein dağılım profili ve pikleri oluşturan proteinlerin moleküler ağırlıkları optimum yoğrulmuş kontrol hamuru ve SSL katkılı hamuruna benzemektedir. Bununla beraber, SSL katkılı hamurlardan farklı olarak özellikle I. pikin alanının daha büyük olduğu gözlenmektedir.

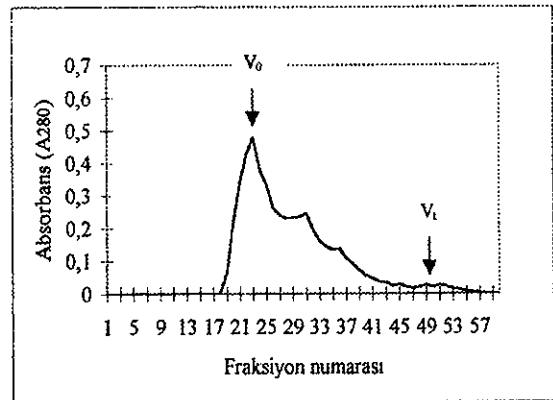
Sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde hamurun surfaktanla ve surfaktansız olarak yoğrulması ile jel filtrasyon profilinin genel yapısının etkilenmediği görülmektedir. Bununla beraber, bu sonuçlar birbirleri ile



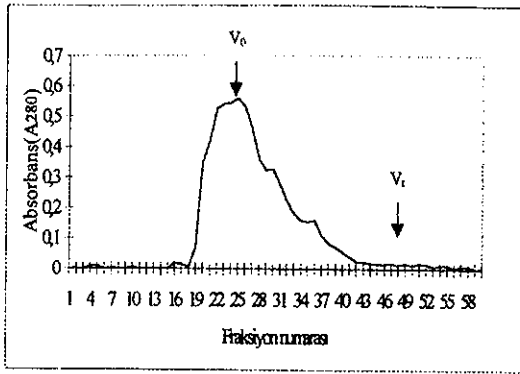
Şekil 1. Bezostoya ununun AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgulı kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profili

edildiği görülmektedir. Bu piklerden ilki kolondan boş hacimde çıkmıştır, II. piki oluşturan proteinlerin yaklaşık olarak moleküler ağırlığı 230 kDa, bu iki pikten daha küçük olan III. pikin moleküler ağırlığı ise 80 kDa'dur.

Un ve kontrol hamurunun jel filtrasyonu sonuçları karşılaştırıldığında; kontrol hamurundaki birinci pikin, undakine oranla daha büyük bir alana sahip olduğu; unda moleküler ağırlıkları 150 ve 40 kDa olan II. ve III. piklerin kontrol hamurunda moleküler ağırlıkça daha büyük olan bölgeye kayarak 230 ve 80 kDa'da pik verdiği görülmektedir. Bu durum yoğurma sırasında gluten ağının oluşmasıyla protein-protein, protein-(karbonhidrat, lipid)-protein interaksyonunun artması ve büyük protein agregatlarının oluşmasından kaynaklanabilir.



Şekil 3. SSL katkılı (%0.5) optimum yoğrulmuş hamurun AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgulı kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profili



Şekil 4. DATEM katkılı (%0.5) optimum yoğrulmuş hamurun AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgu kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profili

karşılaştırıldığında piklerin yükseklikleri ve alanlarının kısmen etkilendiği gözlenmiştir. SSL ve DATEM katkılı hamurların jel filtrasyon profilinde I. pikin yüksekliği kontrol hamurundakine kıyasla azalmıştır. Bu bulgular CHUNG ve TSEN (1975) tarafından elde edilen bulgularla uyum içindedir.

Bu çalışmada, surfaktan katkı maddelerinin gluten proteinleri üzerindeki etkileri jel filtrasyon çalışmaları ile belirlenmiştir. Surfektanların gluten proteinleri ile interaksiyonunun daha iyi anlaşılabilmesi için moleküler düzeyde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Böylece katkı maddelerinin ilavesi ile proteinlerin fonksiyonel özelliklerindeki değişimler ve bu değişimlerin ekmek kalitesi üzerindeki etkilerini daha iyi anlayabilmek mümkün olacaktır.

## TEŞEKKÜR

Bu çalışma TÜBİTAK (TOGTAG-1281) ve Hacettepe Üniversitesi Araştırma Fonu (Proje-95.01.010.019) tarafından desteklenmiştir.

## KAYNAKLAR

- ANONYMOUS. 1997. T.C. Resmi Gazete, 16, Kasım, 1997, Pazar. Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliği, s. 224, Başbakanlık Basımevi.
- BEKES, F., ZAWISTOWSKA, U., BUSHUK, W. 1983. Lipid-Mediated Aggregation of Gliadin. Cereal Chem. 60: 379-380.
- BIRNBAUM, H. 1977. Interactions of surfactants in breadmaking. Baker's Digest 51(3): 16-24.
- BUSHUK, W., 1994. Interaction in wheat doughs, in Quality Cereals in A Changing World, 14th ICC Congress, The Hague, Netherland.
- BUSHUK, W., KHAN, K., MCMASTER, G., 1980. Functional glutenin: a complex of covalently and non-covalently linked components. Ann. Technol. Agric. 29: 279-294.
- CHUNG, O. K., TSEN, C. C., 1975. Distribution of lipids in acid-soluble protein components as affected by dough-mixing and surfactants. Cereal Chem. 52: 823-832.
- ÇELİK, S., SİVRİ, D., KÖKSEL, H. 2000. Effects of various baking additives on the rheological properties of wheat flours. Gıda 25: 55-60.
- ÇELİK, S., SİVRİ, D., KÖKSEL, H. 2001. Bazı katkı maddelerinin ekmek özellikleri üzerine etkisi Gıda 26:3-8.
- DEMİRALP; H. 1997. Bazı ekmek katkı maddelerinin gluten fraksiyonlarındaki protein-lipid kompleksi üzerine etkisi. Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği A. B. D. Yüksek Mühendislik Tezi. 69s.
- ERCAN, R. 1987. Bazı oksidan maddeler ve emülgatör ile birlikte katılan soya ununun hamurun reolojik özellikleri üzerine etkisi. Gıda 12: 103-109.
- KAHVECİ, B., ÖZKAYA, H. 1990. Soya ve buğday rüşeymi katkılı unların kalitesini düzeltme imkanları üzerinde araştırmalar. Gıda 15: 367-377.
- KENT, N., L., 1983. Bread baking technology in Technology of Cereals, Chapter 10, Pergamon press, Oxford, UK.
- KHAN, K., BUSHUK, W., Studies of glutenin, XII, 1979. Gel filtration, isoelectric focusing and amino acid composition studies. Cereal Chem. 56: 505-512.
- ORTH, R.A., DRONZEK, B.L., BUSHUK, W. 1973. Scanning Electron Microscopy of Bread Wheat Proteins Fractionated by Gel Filtration. Cereal Chem. 50: 696-701.
- POMERANZ, Y., CHUNG, O. K. 1978. Interaction of lipid with proteins and carbohydrates in breadmaking, J. of Amer. Oil Chem. Soc. 55: 285-289.
- SİVRİ, D., KÖKSEL, H., ÖZKAYA, H. 1992. Buğday rüşeymi katkılı unların ekmeklik kalitesini düzeltme imkanları. I. Buğday Rüşeymi Katkılı Unların Reolojik Özellikleri Üzerine Isıl İşlemlerin ve Potasyum Bromat Katkısının Etkileri. Gıda 17: 7-20.
- ÜNAL, S. 1980. C vitamini, buğday maltunu, şeker, bitkisel yağ, lesitin ve diasetiltartarikasitimonogliserid esterinin ekmek niteliklerine etkisi. Gıda Fakültesi Dergisi 1: 57-92.
- WHITAKER, J., R., 1963. Determination of molecular weights of proteins by gel filtration on sephadex. Analytical Chem. 12: 1950-1953.