

# OKSİDANLARIN VE LİPİD EKSTRAKSİYONUNUN BUĞDAY PROTEİNLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN JEL FİLTASYON TEKNIĞI İLE İNCELENMESİ

## AN INVESTIGATION ON THE EFFECTS OF OXIDANTS AND LIPID EXTRACTION ON WHEAT PROTEINS BY GEL FILTRATION TECHNIQUE

Hande DEMİRALP KARACAN<sup>1</sup>, Süeda ÇELİK<sup>2</sup>, Hamit KÖKSEL<sup>2</sup>

<sup>1</sup>TÜBİTAK -Marmara Araştırma Merkezi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Araştırma Enstitüsü, Gebze - Kocaeli

<sup>2</sup>Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Beytepe - Ankara

**ÖZET:** Bu çalışmada, Bezostaya çeşidi buğday unu, oksidan (askorbik asit veya potasyum bromat) katkı maddelerinin 50 ppm dozu ile optimum yoğrulmuş hamurlar kullanılmıştır. Serbest ve bağlı lipidler petrol eteri ve suyla doyurulmuş n-bütanol ile ekstrakte edilerek uzaklaştırılmıştır. Lipid ekstraksiyonunun ve katkı maddelerinin un proteinleri üzerine etkisi jel filtrasyon tekniği kullanılarak araştırılmıştır. Yağ alınmamış ve alınmış örneklerden AU (0.1 M asetik asit, 3M üre) çözücüsü ile ekstrakte edilen protein preparatlarının Sephacryl S-300 dolgululu kolondan jel filtrasyon kromatografisi sonucunda üç pik elde edilmiştir. Oksidan maddeler proteinlerin kolonda alıkonma süresini değiştirmemiş, fakat proteinlerin relatif miktarlarının değişmesine sebep olmuştur. Bütün örneklerde lipid ekstraksiyonu, proteinlerin ekstrakte edilebilirliklerini ve agregatların moleküler ağırlığını azaltmıştır.

**ABSTRACT:** In this study, Bezostaya wheat flour and optimum mixed doughs prepared from this flour with oxidizing agents (ascorbic acid and potassium bromate at 50 ppm level) were used. Free and bound lipids were extracted with petroleum ether and water saturated n-butanol, respectively. Effect of lipid extraction and additives on flour proteins were studied by gel filtration technique. Three peaks were obtained when proteins from defatted and undefatted samples were extracted with AU (0.1 M acetic acid, 3 M urea) solvent and separated using gel filtration chromatography on Sephacryl S-300. Oxidizing agents did not cause a change in the retention times of the proteins in the column, but caused some changes in their relative quantities. Lipid extraction caused decreases in the protein extractability and the molecular size of aggregates in all samples.

### GİRİŞ

Gluten proteinlerinin moleküler yapısı ve ekmek üretimindeki rolleri ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Gluten proteinleri hamur yapısında üç boyutlu bir ağ oluşturur. Bu yapıda gluten proteinleri birbirleri ile ve diğer un bileşenleri ile interaksiyon halindedir. Gluten yapısının oluşmasında rol oynayan ve protein olmayan bileşenlerin başında lipidler ve karbonhidratlar gelmektedir (LASZTITY et al., 1987; SCHOFIELD, 1994).

Toplam buğday lipidleri buğday ağırlığının % 3-4'ü kadardır ve bunun beşte biri nişasta granülleri içerisinde bulunmaktadır. Nişasta granülleri içerisinde bulunan lipidlerin, nişastanın teknolojik özellikleri üzerine ekmeğin pişirilmesi sırasında etkisi olmakla birlikte, konumundan dolayı hamurun yoğrulması ve gluten oluşumu sırasında diğer bileşenlerle etkileşime girememektedir. Buna karşılık nişasta granülü dışındaki lipidler diğer bileşenlerle interaksiyona girmektedir ve bu nedenle teknolojik olarak önemlidir (CARR et al., 1992). Buğday unu % 0.8 oranında serbest lipid içermektedir. Serbest lipidler petrol eteri (PE) gibi polar olmayan çözücüler ile ekstrakte edilmektedir. Buna ek olarak buğday unu petrol eteri ile ekstrakte edilemeyen ancak suyla doyurulmuş n-bütanol (water saturated n-butanol; WSB) gibi polar çözücüler ile ekstrakte edilen, % 0.6 oranında bağlı lipidleri içermektedir. Bağlı lipidler polar lipidlerdir ve WSB ile proteinlerden ayrıldıktan sonra petrol eterinde çözünebilirler (HOSENEY et al., 1970). Hamurun yoğrulması sırasında serbest lipidlerin üçte ikisi bağlı hale geçer ve kolayca ekstrakte edilebilen lipid miktarı hamur gelişimi ilerledikçe azalır. Bu durum lipid-protein interaksiyonu ile ilgili olup, bu konudaki araştırmalar gluten yapısı ve fonksiyonel özelliklerinin daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunacaktır.

Protein kalitesindeki farklılıkları dengeleyerek standart kalitede ürün elde etmek veya kaliteyi arttırmak amacıyla ekmeğin üretiminde katkı maddeleri kullanılmaktadır. Bu katkı maddeleri hamurun reolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedirler. Katkı maddelerinden gıda endüstrisinde özellikle de büyük ölçekli ekmeğin üretim tesislerinde yararlanılmakta olup un kalitesindeki değişimleri dengelemek amacıyla kullanılmaktadırlar. Ekmeğin katkı maddelerinden oksidanlar una genellikle yoğurma aşamasında ilave edilmekte ve gluten proteinlerinin yapısındaki sülfidril gruplarını oksitleyerek molekül içi ve moleküller arasındaki disülfid bağlarına dönüştürmektedirler. Böylece gluten matriksi daha çabuk oluşmakta ve daha dirençli bir hamur elde edilmektedir. Askorbik asitin kendisi indirgen bir madde olmasına rağmen, hamurun yoğrulması sırasında enzimatik oksidasyona uğrayarak dehidroaskorbikasite dönüşmekte ve un proteinleriyle oksidan olarak reaksiyona girmektedir (TSEN, 1964). Potasyum bromat ( $KBrO_3$ ) nisbeten yavaş etki yapan bir oksidandır. Bromat sülfidril gruplarını okside ederek moleküller arası reaksiyonu katalizlemektedir. Moleküller arası sülfidril-disülfid değişim reaksiyonu yavaşlamakta, hamur yapısı sıkılaşmakta, değişim reaksiyonu ile sağlanan strese karşı dayanıklılık azalmakta ve disagregasyona karşı hassasiyeti artmaktadır. Bu değişiklikler gaz hücre yapısını geliştirmekte karbondioksit alıkonmasını ve ekmeğin hacmini arttırmaktadır (DUPUIS., 1997). Ülkemizde askorbik asit ekmeğin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi'nde ekmeğin üretiminde askorbik asitin tekniğine uygun miktarda (GMP: good manufacturing practice) kullanımına izin verilmektedir (ANONYMOUS, 1997). Ülkemizde ve birçok ülkede kullanımına izin verilmemekle birlikte  $KBrO_3$ , etkisinin askorbik asitle karşılaştırılabilirliği amacıyla bu çalışmada ele alınmıştır. Askorbik asit ve  $KBrO_3$  in bu çalışmada kullanılan buğday ununun reolojik özellikleri ve ekmeğin özellikleri üzerine etkileri daha önce incelenmiştir (ÇELİK ve ark., 2000; 2001).

Gladin ve glutenin proteinlerinin ekmeğin yapı kalitesi ile ilişkilerinin saptanması için, jel filtrasyon tekniği kullanılarak yapılan araştırmalar mevcuttur (ORTH et al., 1973; KHAN and BUSHUK, 1979; BEKES et al., 1983). Gluten proteinleri ve lipidler arasındaki interaksiyonlarla ilgili çeşitli araştırmalar yapılmıştır (CHUNG and POMERANZ, 1978; POMERANZ, 1980; POMERANZ and CHUNG, 1982; CHUNG, 1986; CARR et al., 1992). Bununla beraber, gluten proteinlerinin oksidan katkı maddeleri kullanılarak hazırlanan hamurlarda katkı maddelerinden ve lipid ekstraksiyonundan nasıl etkilendiğinin araştırıldığı jel filtrasyon çalışmalarına rastlanamamıştır. Bu çalışma ile ilk kez oksidan ( $KBrO_3$ , Askorbik asit) katkı maddeleri, optimum yoğurma süresi ve lipid ekstraksiyonu gibi parametrelerin gluten proteinlerine etkileri jel filtrasyon tekniği kullanılarak belirlenmiştir.

## MATERYAL VE YÖNTEM

### Materyal

Araştırmada kullanılan Bezostaya (sert kırmızı kışlık) çeşidi buğday örneği Carter Dokaj aletinden geçirilerek yabancı maddelerinden ayrılmıştır ve Bühler pnömatik laboratuvar değirmeninde una işlenmiştir.

Araştırmada kullanılan analitik saflıktaki oksidan (potasyum bromat veya askorbik asit) maddeler un örneklerine 50 ppm oranlarında ilave edilmiştir. Bu katkı maddelerinin reolojik özellikler üzerine etkileri farinograf ve ekstensograf kullanılarak belirlenmiştir (ÇELİK ve ark. 2000). Hamur örnekleri farinografda optimum sürede yoğrulmuş olarak hazırlanmıştır. Elde edilen hamurlar liyofilizatörde kurutulup havanda öğütülmüş ve derin dondurucuda saklanmıştır.

### Yöntem

#### Lipid ekstraksiyonu

Un, kontrol hamur ve katkı maddeleri ile hazırlanmış liyofilize hamurların (5g) önce serbest lipidleri CHUNG ve TSEN (1975-a)'in metoduna göre Soxhlet ekstraktöründe PE ile (k. n., 40-60°C) ekstrakte edilmiştir. Daha sonra bu örneklerde bağlı lipid ekstraksiyonu CHUNG ve TSEN (1975-a)'in önerdiği metoda göre WSB ile manyetik karıştırıcıda üç aşamada yapılmıştır. Bağlı lipid ekstraksiyonundan sonra örnekler liyofilize edilerek öğütülmüştür.

### Jel filtrasyon kromatografisi

Jel filtrasyon kromatografisi 50.0 cm C 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 C 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 absorbans okunarak 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)'in metoduna göre yapılmıştır. Kalibrasyonda kullanılan protein markörleri (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri): blue dekstran (2000 kDa), b-amilaz (200 kDa), alkol dehidrogenaz (150 kDa), bovin serum albumin (66 kDa), karbonik anhidraz (29 kDa), triptofan (204 Da) dir.

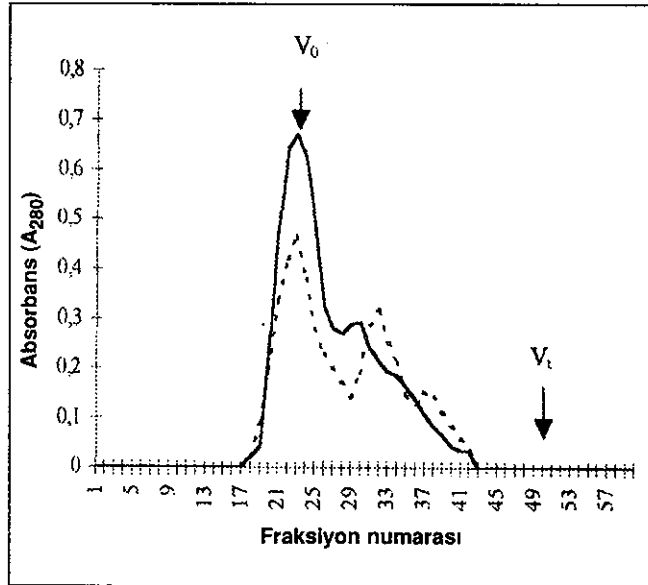
### SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Jel filtrasyon kromatografisi çalışmalarında Bezostaya unu ve bu un ile hazırlanan kontrol hamuru; 50 ppm askorbik asit veya potasyum bromat katkılı optimum yoğrulmuş hamurların ve bu hamurların PE ve WSB ile toplam yağları alınması ile elde edilmiş örnekler kullanılmıştır. Sephacryl S-300 dolgulu 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'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 (ÇELİK ve ark., 2004). Optimum yoğrulmuş kontrol hamurunun jel filtrasyon profili incelendiğinde üç pik elde 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 filtrasyon 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 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 interaksiyonunun artması ve büyük protein agregatlarının oluşmasından kaynaklanabilir.

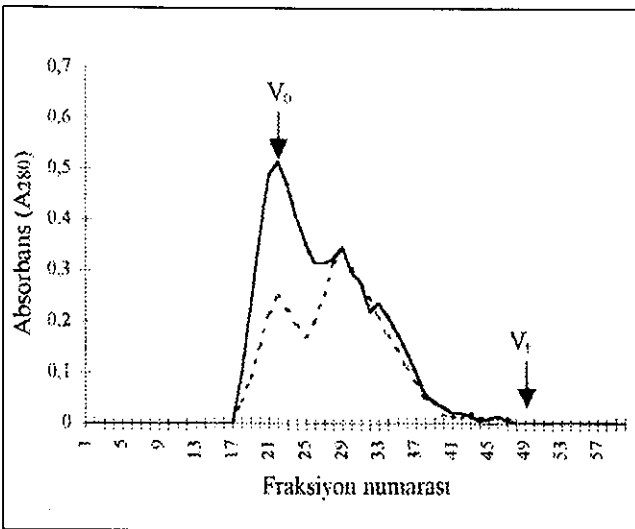
WSB ile lipid ekstraksiyonunun Bezostaya ununda ve optimum yoğrulmuş kontrol hamurunda protein dağılım profiline etkisi Şekil 2' de görülmektedir. Yağı alınmış undan elde edilen kromatogramdaki piklerin, yağı alınmamış undan elde edilenlere (Şekil 1) göre absorbanslarının daha düşük olduğu ve piklerin keskinliklerini yitirdiği görülmektedir. Yağı alınmış undan elde edilen I. pik kolondan boş hacimde çıkmıştır; diğer iki pikin



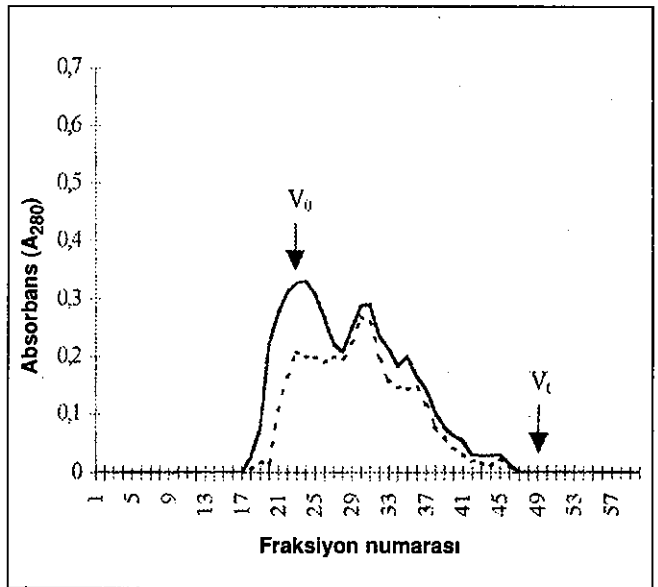
Şekil 1. Bezostaya unu (—) ve optimum yoğrulmuş hamur örneğinin (---) AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözeltisiyle Sephacryl S-300 dolgulu kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profilleri.

moleküler ağırlıkları, yağı alınmamış una benzer biçimde yaklaşık olarak 175 ve 40 kDa olarak saptanmıştır. Buna göre lipid ekstraksiyonunun unda var olan lipid-protein interaksiyonunun kırılmasına, moleküler ağırlığın azalmasına ve bu nedenle boş hacimde çıkan proteinlerin bir kısmının daha küçük moleküler ağırlıklara dağılmasına sebep olabileceği düşünülmektedir.

Lipid ekstraksiyonunun optimum yoğrulmuş kontrol hamuru (Şekil 2) üzerine etkisi incelendiğinde, kolondan boş hacimde çıkan I. pikin alanının yağı alınmamış kontrol hamuruna (Şekil 1) oranla daha az olduğu görülmektedir. Yağı alınmış kontrol hamurundaki II. pikin moleküler ağırlığının yağı alınmamış hamurdaki II. pike yakın olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, yağı alınmış kontrol hamurunda, moleküler ağırlığı 80 kDa olan III. pikin yağı alınmamış hamura göre daha belirgin hale geldiği görülmektedir. CHUNG ve TSEN (1975-b) hamur gelişimi sırasında asitte çözünmeyen kalıntıdaki (glutenin – polar lipid ... nişasta) hidrofilik bağlar suyla yoğurma sırasında kırılıp, asitte çözünen gliadinlerle interaksiyona girip protein kompleksi (glutenin – polar lipid -gliadin) oluşturabileceğini bildirmektedir. Burada – hidrofobik bağlanmayı, ise hidrofilik bağlanmayı göstermektedir. Bu nedenle hamurun yoğrulması sırasında bağlanan lipidlerin ortamdaki uzaklaştırılması ile protein – lipid -protein interaksiyonunun kırılmasından dolayı protein kompleksinin moleküler ağırlığı azalmaktadır. Yağı alınmış un ve kontrol hamurunun protein dağılım profilleri kıyaslandığında, yağı alınmış kontrol hamurunun yağı alınmış una göre daha keskin ve absorbanansı daha



Şekil 3. 50 ppm  $KBrO_3$  katkılı optimum yoğrulmuş (x) ve yağı alınmış  $KBrO_3$  katkılı optimum yoğrulmuş hamurun (—) AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgulu kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profilleri.



Şekil 2. Yağı alınmış Bezostaya unu (—) ve optimum yoğrulmuş yağı alınmış hamur örneğinin (x) AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgulu kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profilleri.

yüksek piklere sahip olduğu görülmektedir.

### Potasyum bromatın etkisi

Bezostaya ununa 50 ppm potasyum bromat katkılı optimum yoğrulmuş hamurun jel filtrasyonu sonucunda üç pik elde edilmiştir (Şekil 3). Bu üç pikin moleküler ağırlıkları optimum yoğrulmuş kontrol hamurundan elde edilen piklerin (Şekil 1) moleküler ağırlığına eşittir (2000 kDa, 230 kDa, 80 kDa). Ancak piklerin alanları arasında farklılık olduğu görülmektedir. Birinci pikin toplam alan içerisindeki oranı azalırken, II. ve III. pikin toplam alan içerisindeki oranlarında artış olduğu gözlenmektedir.

Lipid ekstraksiyonunun 50 ppm potasyum bromat katkılı optimum yoğrulmuş hamur üzerine etkisi incelendiğinde, protein dağılım profiline farklılık gösterdiği görülmektedir (Şekil 3). Yağı alınmış potasyum bromat içeren hamur iki pik içermektedir; I. pikin yağı alınmamış ör-

nekte olduğu gibi boş hacimde çıktığı; ancak pikin alanının daha küçük olduğu gözlenmektedir. Moleküler ağırlığı 280 kDa civarında olan II. pikin alanının I. pike göre daha büyük olduğu saptanmıştır. Lipid ekstraksiyonunun etkisi genel olarak un ve kontrol hamuruna benzer özelliktedir. Bu örneklerin tümünde, yağın uzaklaştırılması ile protein - lipid ... protein interaksiyonunun kırılması moleküler ağırlıkta azalmaya neden olmaktadır.

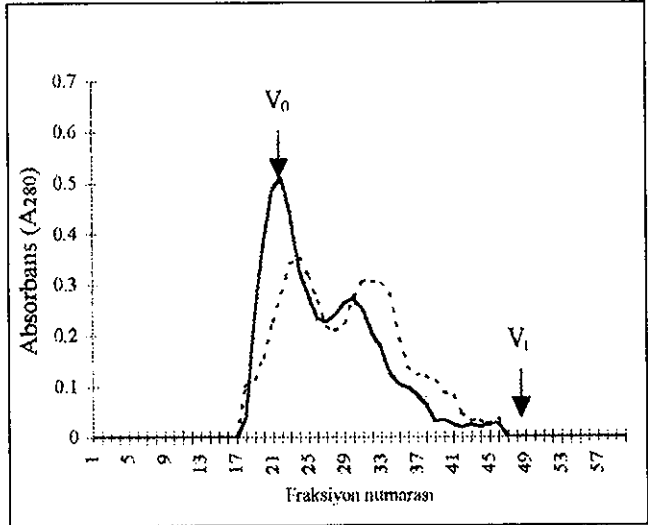
### Askorbik asitin etkisi

Bezostaya ununa 50 ppm askorbik asit katkılı optimum yoğrulmuş hamurun jel filtrasyonu sonucunda üç pik elde edilmiştir (Şekil 4.). Elde edilen protein dağılım profili ve pikleri oluşturan proteinlerin moleküler ağırlıkları optimum yoğrulmuş kontrol hamurununkine (Şekil 1) benzemektedir. Bununla beraber, kontrol hamurundan farklı olarak piklerin alanlarının daha küçük olduğu gözlenmektedir.

WSB ile ekstrakte edilmiş askorbik asit içeren hamurun protein dağılım profili Şekil 4' de görülmektedir. Askorbik asit katkılı yağı alınmış örneğe ait I. pikin kolondan boş hacimde çıktığı ancak alanının yağı alınmamış örneğe oranla daha az olduğu saptanmıştır. Kolondan boş hacimde çıkan pikin dışında yaklaşık olarak moleküler ağırlığı 150 kDa olan II. pik ve moleküler ağırlığı 40 kDa olan çok belirgin olmayan bir omuz şeklinde III. pikin varlığı görülmektedir.

Askorbik asit ve potasyum bromat katkılı hamurların protein dağılım profilleri ile kontrol hamurunun protein dağılım profili kıyaslandığında, proteinlerin kolonda alıkonma sürelerinin benzer olduğu görülmektedir. Bununla beraber, piklerin alanlarındaki azalmanın oksidanların etkisi ile yoğurma sırasında kovalent bağlı daha büyük protein agregatlarının oluşması ve bunların AU çözücüsünde çözünmemesi nedeniyle santrifüj işlemi sırasında çökelerek ayrılmasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Bu araştırmada lipid ekstraksiyonunun, protein-lipid-protein interaksiyonunun kırılmasına ve protein kompleksinin moleküler ağırlığının azalmasına neden olduğu jel filtrasyon çalışmaları ile belirlenmiştir. Protein - lipid ... protein interaksiyonunun kırılmasından dolayı protein agregatlarının moleküler ağırlığının küçülerek boş hacimde çıkan proteinlerin daha küçük moleküler ağırlıklara dağıldığı saptanmıştır. Unun, kontrol hamuru ve katkı maddeleri ile hazırlanan hamurlarla kıyaslandığında lipid ekstraksiyonundan en fazla etkilenen örnek olduğu görülmektedir. Oksidan katkı maddelerinin gluten proteinleri üzerindeki etkileri de bu araştırmada saptanmıştır. Lipid-protein interaksiyonu ile ilgili çalışmalarda, başlangıç materyaline (un, hamur veya gluten) ve farklı ekstraksiyon koşullarına göre elde edilen bugünkü bilgilerimize rağmen, bu interaksiyonun daha iyi anlaşılabilmesi için bir çok araştırmacının üzerinde durduğu gibi (BEKES et al., 1983; CHUNG, 1986; CHUNG et al., 1978; vd) moleküler düzeyde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir. Böylece proteinlerin fonksiyonel özelliklerindeki değişimler ve bu değişimlerin ekme kalitesi üzerindeki etkilerini daha iyi anlayabilmek mümkün olacaktır.



Şekil 4. 50 ppm askorbik asit katkılı optimum yoğrulmuş (æ) ve yağı alınmış askorbik asit katkılı optimum yoğrulmuş hamurun (—) AU (0.1 M asetik asit, 3 M üre) çözücüsüyle Sephacryl S-300 dolgu kolondan geçirilmesi ile elde edilen protein dağılım profilleri.

### 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.
- CARR, N. C., DANIELS, N. W. R., FRAZIER, P. J., 1992. Lipid interactions in breadmaking, *Critical Reviews in Food and Nutrition.*, 31, 237-258.
- CHUNG, O. K., 1986. Lipid-protein interaction in wheat flour, dough, gluten and protein fractions, *Cereal Foods World.*, 31, 242-256.
- CHUNG, O., K., POMERANZ, Y., 1978, Acid soluble proteins of wheat flours I. Effect of delipidation on protein extraction, *Cereal Chem.*, 55, 230-243.
- CHUNG, O. K., TSEN, C. C., 1975-a. Distribution of lipids in acid-soluble protein components as affected by dough-mixing and surfactants, *Cereal Chem.*, 52, 823-832.
- CHUNG, O. K., TSEN, C. C., 1975-b. Changes in lipid binding and protein extractability during dough mixing in presence of surfactants, *Cereal Chem.*, 52, 549-560.
- CHUNG, O. K., POMERANZ, Y., AND FINNEY, K. F. 1978, Wheat flour lipids in breadmaking, *Cereal Chem.*, 55, 598-618.
- 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.
- ÇELİK, S., KÖKSEL, H., SİVRİ, D. 2004. Surfektanların buğday proteinleri üzerine etkisinin jel filtrasyon tekniği ile incelenmesi *Gıda* 29: 5-8.
- 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.
- DUPUIS, B. 1997. The chemistry and toxicology of potassium bromate. *Cereal Foods World* 42, 171-183.
- HOSENEY, R. C., POMERANZ, Y., FINNEY, K. F., 1970. Functional (Breadmaking) and biochemical properties of wheat components. VII. Petroleum ether-soluble lipoproteins of wheat flour, *Cereal Chem.*, 47, 153-159.
- KHAN, K., BUSHUK, W. 1979. Studies of glutenin, XII, Gel filtration, isoelectric focusing and amino acid composition studies, *Cereal Chem.*, 56, 505-512.
- LASZTITY, R., BEKES, F., ORSI, F., SMIED, I., EMBER KARPATI, M., 1987. Protein-lipid and protein-carbohydrates interaction in the gluten complex, in *Proc. 3rd Int. Workshop on Gluten Proteins (9-12 May)*, R. Lasztity and F. Bekes (eds), pp. 343-353.
- 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., 1980. Interaction between lipids and gluten proteins, *Ann. Technol. Agric.*, 29, 385-397.
- POMERANZ, Y., AND CHUNG, O. K. 1982. Lipid-protein interaction: New findings and interpretation, In *Proc. 7 Th. Cereal and Bread Congress, Prague.* 825-830.
- SCHOFIELD J D 1994. Wheat proteins: structure and functionality in milling and breadmaking, In *Wheat Production, Properties and Quality*, Ed by W. Bushuk and V. F. Rasper. Chapter 7, pp., 73-99. Blackie Academic and Professional, Glaskow,UK.
- TSEN, C., C., 1964, Ascorbic acid as a flour improver, *The Bakers Digest*, 38(5), 44-47.
- WHITAKER, J., R., 1963, Determination of molecular weights of proteins by gel filtration on sephadex, *Analytical Chem.*, 12, 1950-1953.