

PROTEİN - SU İNTERAKSİYONLARI

PROTEIN - WATER INTERACTIONS

Nesimi AKTAŞ¹, Hüsnü Yusuf GÖKALP²

¹Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum

²Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Denizli

ÖZET: Protein-su interaksyonları, protein molekülünde mevcut olan çeşitli su bağlanma bölgeleri sayesinde gerçekleşmektedir. Derlemede, bu farklı su bağlanma bölgelerine suyun bağlanma mekanizmalarını açıklayan teorilere yer verilmiştir. Ayrıca, protein molekülündeki bağlanma bölgelerinin sayısı-tabiati, protein konformasyonu ve çevresel faktörler (pH, tuz, sıcaklık) gibi protein-su interaksyonlarını etkileyen faktörler de tartışılmıştır.

ABSTRACT: Protein-water interactions are taken place at various water binding sites on the protein molecule. Theories that explain the mechanism of action of these different water binding sites are reviewed. Factors which affect the protein-water interactions include the number and nature of the binding sites on the protein molecule, protein conformation, and environmental factors such as pH, salt, temperature and others are also, discussed.

GİRİŞ

Gıdaların önemli bileşenlerinden biri olan su, pek çok gıdada toplam kütlelerin en büyük kısmını oluşturmaktadır. Bu bileşen; gıdaların görünüşünde, tad ve aromasında, dondurulmasında, ambalajlama özelliklerinin tayininde, mikrobiyal çoğalmada ve depolama şartları ile süresi üzerinde etkin rol oynamaktadır (FELLOWS, 1988).

Gıdalarda suyu bağlayan, tutan makromoleküller proteinlerdir (GÖKALP, 1989). Proteinlerin suyu tutması, yapısında mevcut olan pozitif ve negatif yüklerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca proteine bağlanacak su molekülündeki oksijenin, bağ yapmamış elektron çifti bulundurması ve elektronegatif olması, su molekülünün polar karaktere sahip olmasını sağlamaktadır. Böylece, proteinlerin elektriksel yüklü reaktif grupları ile polar su molekülü arasında elektrostatik çekim kuvvetleri oluşmaktadır (HORTON ve ark., 1993).

Proteinlerin ve polipeptitlerin su ile yaptıkları interaksyonları belirlemeye yönelik uzun yıllardan beri birçok araştırma yapılmış, bu sayede geliştirilen yöntemler protein izolatlarında ve çeşitli gıda sitemlerinde uygulama alanı bulmuştur (RIEDEL, 1957; BECHTEL ve ark., 1971; KARMAS ve CHEN, 1975; KIRKBRIGHT ve ark., 1975; LEUNG ve ark., 1976; BUSHUK ve MEHROTRA, 1977a,b; KOGA ve YOSHIZUMI, 1977, 1979; MUFFET ve SNYDER, 1980; JAUREGUI ve ark., 1981; TSAI ve OCKERMAN, 1981; HOFMANN, 1982; HOFMANN ve ark., 1982; REUTER, 1982; KAUFFMAN ve ark., 1986; ROOS, 1986a,b-1987; HEINEVETTER ve ark., 1987; ZAYAS ve LIN, 1988-1989; BARGA ve ark., 1991; GÖKALP ve ark., 1993; AKTAŞ ve ark., 1997a,b). Proteinler ile interaksyon sonucunda oluşan serbest ve bağlı su miktarlarının tespiti, gıdaya arzu edilen özelliklerin kazandırılmasında, ürünün stabilitesinde ve ekonomik nedenlerden dolayı önem arz etmektedir.

Bir makromoleküle bağlanma sonucunda oluşan bağlı suyun özellikleri, serbest veya bulk su olarak adlandırılan suyun özelliklerinden farklılıklar gösterir. Bağlanma, suyun buhar basıncında ve kimyasal potansiyelinde değişmeye neden olarak koligatif özelliklerin ortaya çıkmasına sebebiyet vermektedir. Bu durum, sistemin entalpi, entropi ve hacmindeki değişmeyi de beraberinde getirmektedir (GÜRSES ve BAYRAKÇEKEN, 1996). Ayrıca, hidrate olmamış partiküller ile karşılaştırıldığında, protein molekülünün hidrodinamik hacmi artar ve bu yüzden hidrate olmuş proteinin yoğunluğu da düşer. Serbest haldeki su ile kıyaslandığında bağlı suyun kinetik özellikleri de değişime uğrar. Bağlı suyun rotasyonel veya translasyonel hareketi bulk fazdakine göre oldukça yavaştır. Proteinlerle bağlanma sonucunda suyun termodinamik ve kinetik özelliklerindeki bu değişimlerden faydalanarak, gerçekleşen interaksyonlar Differential Thermal

Analysis (DTA), Differential Scanning Calorimetry (DSC), X-Işınları Spektroskopisi ve Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) ile tespit edilebilmektedir (DUCKWORTH, 1971; PARDUCCI ve DUCKWORTH, 1972; LILJAS ve ROSSMANN, 1974; CURRIE ve ark., 1981; DI NOLA ve BROSIO, 1983; KUMAGAI ve ark., 1985; LOVRIC ve ark., 1987; JOHNSON ve ark., 1990; ROOS ve KAREL, 1991; WANG ve KOLBE, 1991).

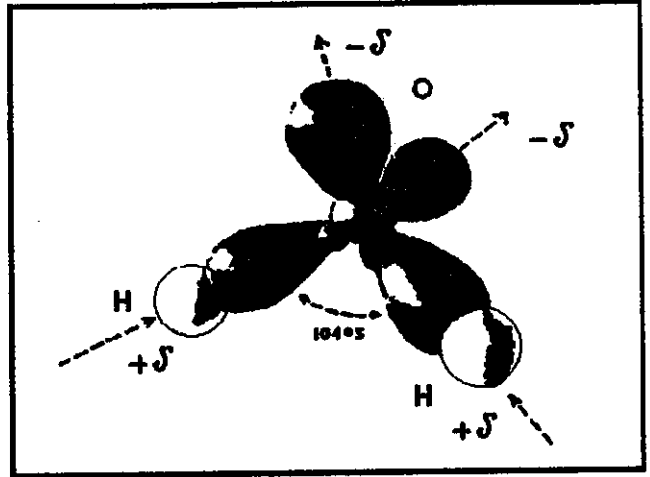
PROTEİN - SU İTERAKSİYONLARI

Su molekülü, dalga mekaniğine göre iki hidrojen atomunun 1S orbitallerinin oksijenin yarı dolu olan $2P_x$ ve $2P_y$ orbitalleri ile SP^3 hibritleşmesi yaparak bu melez orbitallerin tetrahedral simetride maksimum çakışmasından oluşmaktadır. O-H bağ uzunluğu 0.096nm (0.96Å) ve iki bağ arasındaki açı, tetrahedral simetrisinin aksine $104^\circ50'$ 'dir. Bağ açısının düşük olma nedeni Şekil 1'den de görüleceği gibi oksijen üzerinde bulunan ve bağa katılmayan iki çift elektrondan kaynaklanmaktadır. Bu elektronlara bağlayıcı olmayan elektronlar da denilmekte ve bağ elektronlarına göre daha fazla hareket etme serbestliğine sahip olduklarından dolayı daha büyük bir hacim içerisinde bulunmaktadır. Bu nedenle bağ yapmış elektron çiftleri üzerine itme yaparlar ve bağ açısını bir miktar küçültürler tetrahedral simetriye sahip moleküllerdeki $109^\circ.28'$ 'lik bağ açısını $104^\circ50'$ 'ye indirirler. Ayrıca bu şekildeki bir düzenlenme su molekülünün 1.83 Debye (61×10^{-25} Coulomb. metre) gibi büyük bir dipol momentine sahip polar bir madde kılmalıdır (FINE ve BEALL, 1990).

Su molekülü kendisi gibi polar veya poralize olabilir moleküllerle hidrojen bağı oluşturarak interaksyon yapabilmektedir. Oluşan hidrojen ağlarının enerjisi, su molekülleri arasında kurulan hidrojen bağının enerjisinden daha büyüktür. Su ile hidrojen bağı oluşturan asıl gruplar hidroksil, karboksil ve amin grupları olup bunları aldehit ve karbonil grupları takip etmektedir. Bu polar gruplar dönüşümlü olarak suyun moleküler organizasyonunu modifiye ederler ve biyolojik makromoleküllerde su ile interaksyon için cazibe alanları oluştururlar (ÇETİNKAYA, 1993).

Alifatik zincirler veya benzen halkası gibi apolar gruplar, suya afinite göstermezler. Ancak, su molekülü yüzeyle ilişkili belirli apolar gruplar etrafında kendi kendini düzenleyebilmektedir. Böylece biyolojik makromoleküllerin apolar bölgesindeki belirli grupların etrafı, su molekülleri ile düzenli bir şekilde sarılabilmekte ve bir su molekülünün diğer su molekülü ile oluşturduğu kafes içerisinde tutulabilmektedir. Böylece su moleküllerinin düzensizliği normal suya göre azalmaktadır. Tutulmuş olan apolar gruplar da birbirlerine yetirence yaklaştıklarında Van der Waals elektrostatik çekim kuvvetlerinin etkisinde kalırlar. Her hidrokarbon zincirinin etrafında su moleküllerinin düzenli şekilde dizilmelerinden dolayı, küçük gruplar stabilitesinde ve düzenlenme derecelerinde bir artışa karşılık olarak entropide de artış gerçekleşir. Entropi artışı ile gerçekleşen bu interaksyona, hidrofobik interaksyon adı verilmektedir. Bu interaksyon türünün çözeltideki proteinlerde büyük bir öneme sahip olduğu belirtilmekte ve 55°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda maksimum stabiliteyi sağladığı vurgulanmaktadır (MULTON ve ark., 1988).

Genelde, biyolojik bir maddeye suyun ilgisi, polar ve polar olmayan grupların nisbi sayılarına, bunların steriksel olarak engellenmemelerine ve yönelimlerine bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Örneğin polar olmayan grupların büyük kısmını içeren lipitler veya hidrokarbonlar, suya karşı düşük afinite gösterirlerken, bir çok polar kısım içeren proteinler ve karbohidratlar, suya karşı büyük ilgi gösterirler (SANDERSON, 1981; UYAR, 1990).



Şekil 1. Sudaki sp^3 melez orbitallerinin yönelimleri.

Gıdalarda proteinlerle interaksyon yaparak bağlanan veya protein molekülünün elektrisel yükünün çekim etkisinde kalan toplam suyu oluşturan fraksiyonlar hakkında günümüze kadar net bir sınıflandırma yapılmamıştır. ROSS (1978), ve ROOS (1986a) toplam suyu, serbest ve bağlı su şeklinde tanımlarken, PRICE ve SCHWEIGERT (1987) ve JUDGE ve ark., (1989), bağlı, immobil ve serbest su olarak üç kısımda incelenmişlerdir. Araştırmacılar gıda maddesi içerisinde suyun değişik şekillerde ve farklı bölgelerde lokalize olmasını Şekil 2'de gösterilen mekanizma ile açıklamışlardır. Bu mekanizmaya göre,

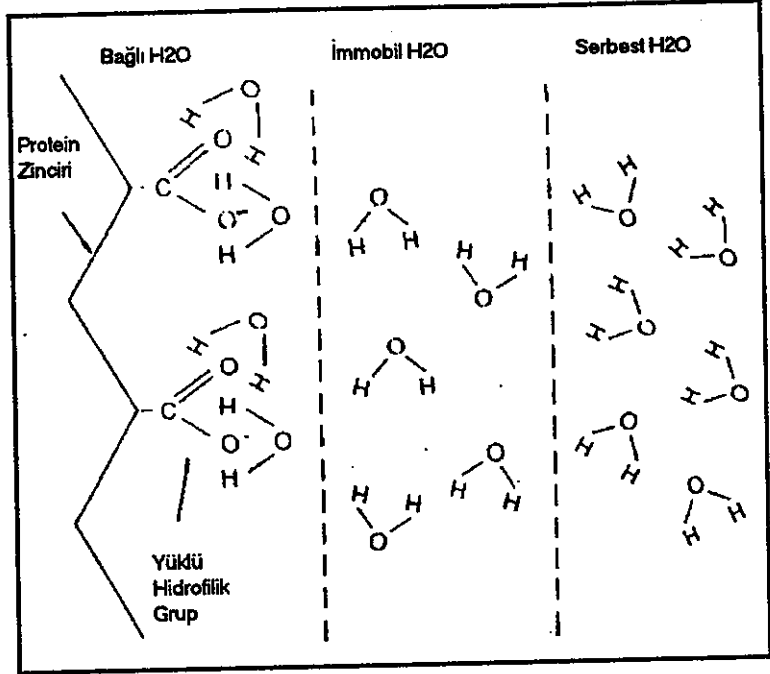
1. Proteinlerde asidik ve bazik karakterli amino asitlerin mevcudiyeti, molekül üzerinde çok yüksek bir elektriki alan oluşturmakta ve bu proteinlere su molekülü grup-dipol interaksyonları ile bağlanmaktadır. Bu yapı bağlı suyu oluşturmaktadır.

2. Bağlı suyun oluşumu proteinlerin elektrisel çekim kuvvetlerinin izole edilmesine sebep olmaktadır. Bundan dolayı ortamda bulunan diğer su molekülleri proteine bağlanmış olan su molekülleri ile dipol-dipol interaksyonu yapmakta ve bu yapıda da immobil karakterli su formu oluşmaktadır.

3. Sadece kapılar kuvvetlerle tutunan, yönelimleri yüklü gruplara bağlı olmayan serbest su fraksiyonu. FENNEMA (1985), bir gıda maddesinde bulunan suyun proteinlerle yaptıkları interaksyonları, mekanizmalarını ve bunlara ait özellikleri Çizelge 1, 2, ve 3'teki gibi özetlemiştir.

Bir gıda matrisi içindeki suyun, proteinlerle yapmış olduğu interaksyonlar hakkında en geniş ve en kapsamlı sınıflandırma CHOU ve MORR (1979) tarafından yapılmış olup, bu araştırmacılar bir gıda sisteminde proteinlerle interaksyon yapan veya onun tesiri altında kalan su tiplerini ve interaksyon şekillerini aşağıdaki gibi ifade etmişlerdir.

Yapısal Su: Protein molekülüne hidrojen bağıyla bağlanan ve proteinlerin tabii yapılarının stabilizasyonunda rol alan sudur. Makromolekül içindeki her birim su molekülü, iki veya daha fazla hidrojen



Şekil 2. Su moleküllerinin proteinlere tutunması

Çizelge 1. Gıdalardaki Yapısal Su ve Özellikleri

Genel Özelliği	Bu su, susuz bileşenlerin ayrılmaz bir parçasıdır, örneğin protein matrisi içindeki su.
Saf suya göre donma noktası	-40°C'de dahi dondurulamaz (bağlı).
Çözücü özelliği	Yok.
Saf suya göre moleküler seviyede translasyon hareketlilik	Yok
Saf suya göre buharlaşma entalpisi	Oldukça fazla
Yüksek su içeriğine sahip bir gıdadaki % toplam su (%90 H ₂ O veya 9gH ₂ O/g kuru madde).	< %0.03
Şekil 3'deki sorpsiyon izotermi ile ilişkisi, izoterm bölgesi	Yapısal Suyun, su aktivitesi hemen sıfırdır. Su sebepten I. bölgenin en sonunda bulunur.
Neden olduğun en yaygın bozulma olayı	Otooksidasyon

Çizelge 2. Gıdalardaki Viesinal (Protein Molekülüne En Yakın Çevre Suyu) ve Multilayer (Çok Tabakalı) Su ve Özellikleri

Özellik	Visinal Su	Multilayer Su
Genel Özelliği	Susuz bileşenlerin spesifik hidrofilik bölgeleri ile kuvvetli bir şekilde su-iyon ve su-dipol interaksiyonları ile bağlanan sudur. Suyun bu tipi maksimum seviyede olduğu zaman, susuz bileşenlerin hidrofilik gruplarını güçlü bir şekilde tek tabaka halinde sarar. Ayrıca mikrokapillerdeki suyu da içine alır (0,1 µm çapında)	Susuz bileşenlerin hidrofilik gruplarının etrafındaki çeşitli ilave tabakaları oluşturan, ilk tabakayı işgal eden sudur. Su-su ve su çözünabilir madde hidrojen bağıdır hakimdir.
Saf suya göre donma noktası	-40°C'de dondurulamaz (bağlı)	-40°C'de genelde dondurulamaz (bağlı). Geri kalanlarında donma noktası düşük olmakla beraber dondurulabilir.
Çözücü özelliği	Yok	Hafiften orta dereceye kadar Hafiften orta dereceye kadar az.
Saf suya göre moleküler seviyede translasyonel hareketlilik	Büyük ölçüde az.	Hafiften orta dereceye kadar fazla . %3 ±2
Saf suya göre buharlaşma entalpisi	Büyük oranda fazla	
Yüksek su mahteviyatına sahip gıdalardaki % toplam su % 90 H ₂ O veya gH ₂ O/g kuru madde)	% 0.5 ± 0.4	
Şekil 3'deki sorpsiyon izotermi ile ilişkisi, izoterm bölgesi	I. İzoterm bölgesinde bulunan su çok az miktarda yapısal sudan oluşur, geri kalanı visinal sudur. I. bölgenin üst sınırı belirgin değildir, ürüne ve sıcaklığa bağlı olarak değişir.	I. izoterm ile II. İzoterm bölgesindeki su +II. izoterm bölgesi sınırları içinde kalan ve bu bölgeye ilave edilebilen yada uzaklaştırılabilen sudan oluşur. Bu su, büyük oranda çok tabakalı sudur. II. bölgenin sınırları belirgin değildir, sıcaklık ve ürüne göre değişir.
Neden olduğu en yaygın bozulma olayı	Monolayer değerindeki genel stabilite (0.2-0.3 a _w)	Bu bölgenin alt kademelerine doğru su oranı azaldıkça bütün reaksiyon hızlarında artma gözlenir.

bağıyla bağlanmaktadır. Reaksiyonlarda kullanılmadığı gibi çözücü olarak da rol almaz. Her ne kadar toplam suyun çok az miktarını ihtiva ediyor ise de uzaklaştırılması, protein molekülünün konformasyonu ve yapısı üzerinde çok büyük etkiler oluşturur. Proteinlerden bu suyun uzaklaştırılması geri dönüşümsüz bir olaydır.

Monolayer (İlk Tabakayı Oluşturan) Su : Monolayer terimi, tek tabaka halinde adsorplanmış su molekülü manasında değil, adsorbe olabilecek bütün bölgelerin su ile adsorbe olması halini tanımlamaktadır. Spesifik su bağlanma bölgelerine hidrojen bağıyla veya dipol interaksiyonlar ile bağlanarak, protein molekülü etrafında ilk tabakada adsorbe olan sudur. Tipik bir protein %4-9 dolayında monolayer su değerine sahiptir. Genellikle çözücü olarak rol almaz, ancak belirgin reaksiyonlar için kullanılabilir.

Unfreezable (Dondurulamayan) Su: Çok düşük sıcaklıklarda bile dondurulamayan, protein molekülünün her bir polar grubu etrafında toplanmış su molekülü olarak ifade edilebilir. Yapısal ve monolayer sudan oluşmaktadır. Dondurulamayan suyun miktarı; ürünü amino asit kompozisyonu ve proteinlerin sahip olduğu polar yan zincirler ile değişebilmektedir.

Hidrofobik Hidrasyon Suyu: Proteinlerin hidrofobik gruplarının etrafında bulunan su olup, bir protein molekülü ile başka bir protein molekülü arasında kalan sudur ve protein yapısı ile ağ oluşturmaktadır. Gerçek tabiatı henüz tam anlamı ile açıklanamamıştır.

İmbibisyon veya Kapiler Su: Protein moleküllerine fiziksel olarak veya yüzey çekim kuvvetleriyle tutunmuş olan sudur. Jel haline getirilmiş tuzsuz peynir, et, et emülsiyonları gibi gıdalarda suyun asil kısmını oluşturmaktadır. Çözücü olarak görev yapabildiği gibi kimyasal reaksiyonlarda da kullanılabilir. Bununla beraber, protein kütlelerinden, değişik yöntemler ile uzaklaştırılması çok zordur.

Çizelge 3. Gıdalarda Bulk Fazı Oluşturan Suyun Kısımları ve Özellikleri

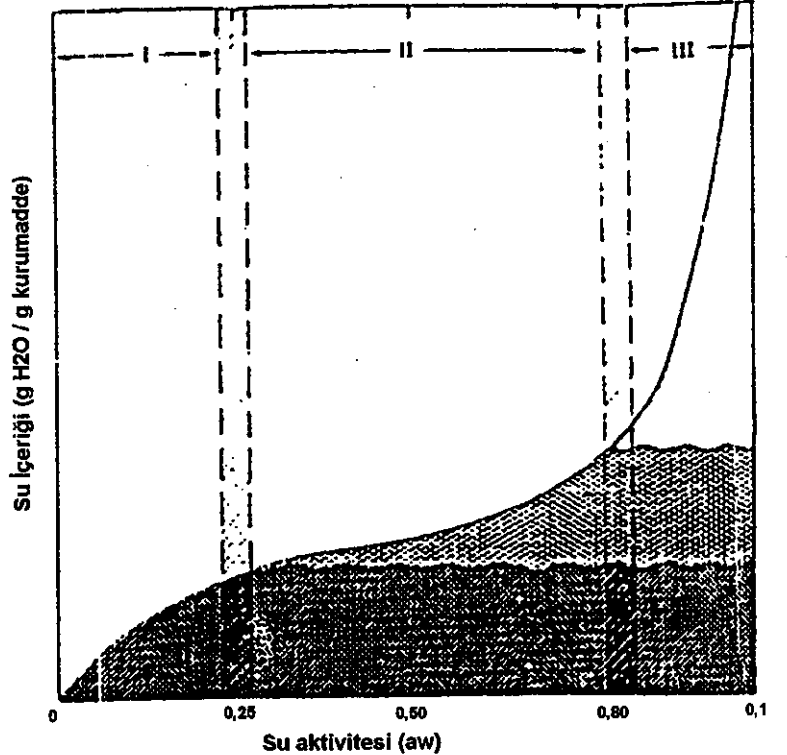
Özellik	Serbest Su	Entrapped (Tutuklu) Su
Genel Özelliği	Daha ileri pozisyonlarda bulunan su olup, susuz bileşenlerden uzaktır. Su-su hidrojen bağları hakimdir. Seyreltik bir tuz solüsyonundaki özelliklere sahiptir. Makroskobik akış engellenmemiştir.	Daha ileri pozisyonlarda bulunan su olup, susuz bileşenlerden uzaktır. Su-su hidrojen bağları hakimdir. Seyreltik bir tuz solüsyonundaki özelliklere sahiptir. Mevcut olan makroskobik akış, jel veya dokunun matrisi ile engellenmiştir.
Saf suya göre donma noktası	Donma noktasının az veya orta derecede düşürülmesi ile dondurulabilir.	Donma noktasının az veya orta derecede düşürülmesi ile dondurulabilir.
Çözücü özelliği Saf suya göre moleküler seviyede translasyonel hareketlilik Saf suya göre buharlaşma entalpisi Yüksek su mahteviyatına sahip gıdalardaki % toplam su % 90 H ₂ O veya gH ₂ O/g kuru madde) Şekil 3'deki sorpsiyon izotermi ile ilişkisi, izoterm bölgesi	Yüksek Çok az düşer Esas itibarıyla değişmez ~ %96 III. bölgedeki su + I. ve II. bölgelerdeki su + III. bölge sınırları içine ilave edilebilen veya uzaklaştırılabilen suyu ihtiva eder. Hücre yapıları ve jelleri bulunmadığı durumlarda III. bölgedeki su, büyük oranda serbest sudur. III. bölgenin alt sınırları belirgin değildir, sıcaklık ve ürüne göre değişir.	Yüksek Çok az düşer Esas itibarıyla değişmez ~ %96 III. bölgedeki su + I. ve II. bölgelerdeki su + III. bölge sınırları içine ilave edilebilen yada uzaklaştırılabilen sudur. Hücre bileşenleri ve jelinin mevcudiyetinden III. bölgedeki su entrapped (tutuklu) sudur. III. bölgenin alt sınırları belirgin değildir, sıcaklık ve ürüne göre değişir.
Neden olduğu en yaygın bozulma olayı	Birçok kimyasal reaksiyon hızlı bir şekilde gerçekleşir. Mikrobiyal gelişme hızlı olur.	Birçok kimyasal reaksiyon hızlı bir şekilde gerçekleşir. Mikrobiyal gelişme hızlı olur.

Hidrodinamik Hidrasyon Suyu: Difüzyon ve diğer hareketler süresince protein makromolekülü etrafına transfer edilen sudur.

CHOU ve MORR (1979), FENNEMA (1985) ve MIN (1986), birçok biyolojik materyal ve proteinler için değişik su aktivitesi aralıklarında su buharı sorpsiyon izotermilerinin Şekil 3'de gösterildiği gibi "Sigmoidal tip II" de olduğunu, bu izotermi üç bölgeye ayrılabilirliğini göstermişlerdir. Sırasıyla bu bölgeler ve su fraksiyonları ile olan ilişkilere aşağıda verilmiştir.

1. 0-0.25 a_w Arası Bölge: Monolayer suyun absorblandığı bölgeyi oluşturur.

2. 0.25 - 0.8 a_w Arası Bölge: Bu bölgede, a_w değerinin yavaş bir seyir ile artmasından dolayı gıda maddesinin su içeriğinde de yavaş bir artış meydana gelmektedir. Bu bölgede genellikle dondurulamayan su absorbe olmaktadır.



Şekil 3. Düşük su içerikli gıdalar için geliştirilmiş sorpsiyon izotermi

3. a_w 0.8'in Üstündeki Bölge: aw'deki yavaş artışa karşılık, su içeriğinde hızlı bir artış sözkonusudur. Bu bölge, imbibisyon veya kapiller suyun bulunduğu bölgedir.

Hidrasyon bölgelerinin tabiatı-sayısı, pH, eriyebilir maddelerin cinsi-miktarı, protein konformasyonu ve sıcaklık su bağlamada asıl bileşenler olan proteinlerin su bağlama özelliklerini etkileyebilmektedir. Sıralanan bu faktörlerin etki mekanizması şöyle açıklanabilir.

a. Hidrasyon Bölgelerinin Tabiatı ve Sayısı: Polar amino asit grupları protein-su interaksyonu için asıl bölgelerdir. Bu polar bölgelerin katyonik, anyonik veya noniyonik olup olmadığı, bağlanmalarda büyük rol oynamaktadır. CHOU ve MORR (1979), katyonik, anyonik ve noniyonik bağlanma bölgelerine, su molekülünün farklı miktarlarının bağlandığını tespit etmişlerdir. Bu durum Tablo 4'te gösterilmiştir. Ayrıca su bağlanacak olan bölgelere çeşitli iyonların özellikle de Ca⁺² ve Mg⁺² gibi divalent iyonların bağlanması suyun bağlanmasını engelleyebilmektedir (FENNEMA, 1985 anyonik veya noniyonik olup olmadığı, bağlanmalarda büyük rol oynamaktadır. CHOU MORR (1979), katyonik, anyonik ve noniyonik bağlanma bölgelerine, su molekülünün farklı miktarlarının bağlandığını tespit etmişlerdir. Bu durum Tablo 4'te gösterilmiştir. Ayrıca su bağlanacak olan bölgelere çeşitli iyonların özellikle de Ca⁺² ve Mg⁺² gib divalent iyonların bağlanması suyun bağlanmasını engelleyebilmektedir (FENNEMA, 1985; JUDGE ve ark., 1989).

b. pH veya Protein Molekülünün Net Yükünün Etkisi: Yapılan araştırmalardan belirlendiği üzere, iyonize olmuş amino asit grupları iyonize olmamış gruplardan daha fazla su bağlamaktadır. pH'nın 4'ün altına düşmesiyle, karboksil grupları iyonize olmamış forma dönüşerek, molekülün su bağlama özelliğini azaltmaktadır. Laktik asit oluşumuyla beraber kasın postmortem periyodunda gözlenen pH'daki düşme, miyofibriler proteinlere has olan izoelektrik noktaya gelmeye neden olmaktadır. Bu durum da reaktif grupların sayısını azaltmaktadır. İzoelektrik noktada pozitif ve negatif yükler birbirine eşit olacağından, bu yüklü gruplar birbirlerini çekerek suyun bağlanması için kullanılabilir bölgeyi azaltmaktadır. İzoelektrik noktanın üstünde ve altındaki pH değerleri, proteinler üzerindeki net yükün artmasına, neticede immobil ve bağlı su yüzdesinin daha fazla olmasına sebebiyet vermektedir (MARTIN ve FREDEEN, 1974; HAMM, 1982; OCKERMAN, 1983; KNEIFEL ve ark., 1991). Yukarıda tanımlanmış olan bu ilişki Şekil 4'den de görülebilmektedir.

Eriyebilir Maddelerin Miktarı-Cinsi: İyonik şiddet ve iyonların türü, proteinlerin çözünübilirlik, viskozite, jelasyon, şişme ve su bağlama kapasitesi üzerinde önemli etkiye sahiptir. Protein-su interaksyonlarında tuzun miktarı ve cinsine bağımlı değişimler, amino asit yan grupları ve su moleküllerinin yarışmalı olarak bağlanmasından kaynaklanmaktadır (PEARSON ve YOUNG, 1979). Bir protein molekülüne bağlı bulunan tuzun miktarı, sistemdeki aw'nin bir fonksiyonu olarak değişirken, proteinlere bağlı suyun miktarı ise tuz konsantrasyonunun bir fonksiyonudur. Protein çözünübilirliği üzerine tuz konsantrasyonunun etkisi, elektrostatik ve hidrofobik ineraksiyonlar olmak üzere tuzun çift yönlü etkisine dayanmaktadır. Düşük tuz konsantrasyonlarında protein çözünübilirliğindeki artış, elektrostatik interaksyonların etkisinden, yüksek tuz

Çizelge 4. Amino Asitlerin NMR ile Belirlenmiş Su Tutma Kapasiteleri

Amino Asit	Su Tutma Kapasitesi (mol H ₂ O/birim aminoasit)
İyonize polar	
Asp-	6
Glu-	7
Tyr+	7
Arg+	3
His+	4
Lys+	4
İyonize olmamış polar	
Asn	2
Gln	2
Pro	3
Ser, Thr	2
Trp	2
Asp	2
Glu	2
Tyr	3
Arg	3
Lys	4
Polar olmayan	
Ala	1
Gly	1
Phe	0
Vla	1
Ile, Leu, Met	1

konsantrasyonlarında protein çökmesi ise hidrofobik interaksiyonların etkisinden kaynaklanmaktadır. Birinci durumu ifade etmede "Salting in" ikinci durumu ifade etmede ise "Salting out" terimleri kullanılabilir (TELEFONCU, 1988).

Tuz, ilavesi ile özellikle et proteinlerinin su bağlama kapasitelerindeki artış protein molekülünün anyon (Cl^-) bağlamayı tercih etmesinden kaynaklanmaktadır. Bu tercih, klor anyonunun, amonyum ile bağ yapma gücünün, sodyum katyonunun oksijenle bağ yapma gücünden daha fazla olmasından kaynaklanmaktadır. pH'nın izoelektrik noktadan yüksek olması durumunda, protein molekülü ile klor iyonlarının bağlanması net negatif yükün artmasına ve miyofibrillerin aralarının açılmasına neden olarak bu bölgelere daha fazla suyun girmesine sebebiyet verecektir. İzoelektrik

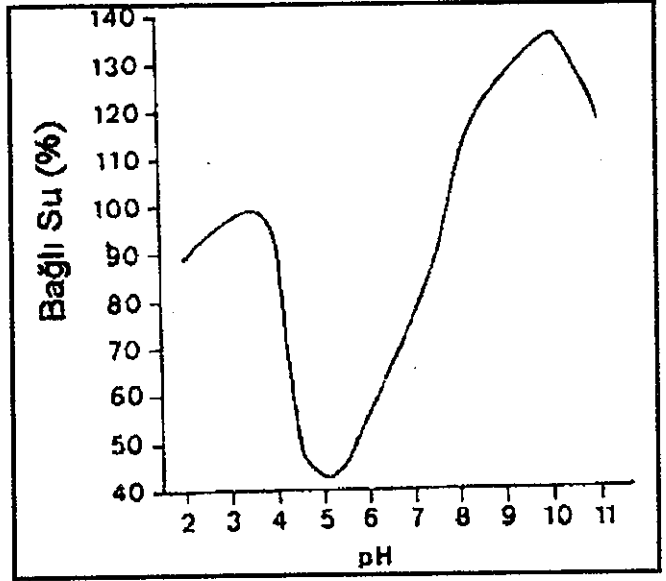
noktadan düşük pH'larda proteinin pozitif yükü, klor iyonları ile nötralize edilerek, proteinin net pozitif yükü ve su tutma kapasitesi düşmektedir (OCKERMAN, 1983; LAWRIE, 1991).

Protein Konformasyonu: Protein molekülünün konformasyonunun değişimi, protein molekülünün tabiatını ve hidrasyon bölgelerinin mevcudiyetini etkileyerek su bağlamanın termodinamiksel karakterini değiştirebilmektedir. Protein molekülünün konformasyonel yapısındaki değişimin tabiatı, suyun ilave hızına veya sistemden uzaklaşma hızına bağlı olmaktadır. Protein konformasyonunun kompakt bir halden, rastgele bir halka formuna geçişi, önceden yapı içerisinde hapsedilmiş peptit bağlarını ve amino asit yan zincirlerini açığa çıkarır ve sulu çevre ile daha fazla interaksiyon yapma özelliği ortaya çıkarır. Böylece proteinin denatüre olmuş veya açılmış konformasyon hali daha fazla su bağlama özelliğine sahip olmaktadır. Protein molekülünün ısıtılması, konsantre edilmesi, kurutulması ve tekstürizasyon işlemleri, kuaternar yapıyı değiştirerek, su bağlama için polar amino asit gruplarının kullanılabilirliğini azaltmaktadır. Hidrofobik interaksiyonlar ile protein agregasyonu, etkili bir şekilde proteinin toplam yüzey alanını azaltmakta veya proteinin çökmesine neden olmaktadır. Diğer taraftan, bazı durumlarda protein sisteminin agregasyon hali, yeniden oluşmuş yapı içinde suyun emilmesiyle protein-su interaksiyonlarını oluşturabilmektedir (WALSTRA ve DE ROOS, 1993).

Sıcaklık: Sıcaklık, protein-su interaksiyonlarının tüm çeşitlerinde önemli bir faktördür. Herhangi bir protein aynı a_w 'de, genelde yüksek sıcaklıklarda düşük sıcaklıklara göre daha az su bağlamaktadır (BENADO ve RIZVI, 1985). Çünkü sorpsiyon işlemi ekzotermik bir olay olup bu olayların gerçekleşme eğilimi artan sıcaklıkla azalmaktadır (CERTEL ve ERTUGAY, 1996).

SONUÇ

Protein-su interaksiyonlarını geniş bir kapsamlı bir şekilde tanımlayabilmek bizlere kantitatif olarak tarif edilebilir avantajlar sağlayacaktır. Herhangi bir protein sistemindeki farklı su tiplerinin tanımlayabilmek ve miktarlarını tespit etmek, proteinin yapısını, protein-su interaksiyonlarının tabiatını ve protein fonksiyonlitesindeki farklılıkları açıklamada yol gösterici olacaktır. Ayrıca herhangi bir gıda maddesinin uzun süre belirli şartlar altında muhafaza edilmesine, su tiplerinin ve miktarlarının ortaya çıkarılması da büyük önem arz etmektedir. Zira toplam suyu oluşturan her bir fraksiyon su aktivitesine az veya çok katkıda bulunmaktadır.



Şekil 4. Bağlı su yüzdesi ile pH ilişkisi.

KAYNAKLAR

- AKTAŞ, N., TÜLEK, Y., GÖKALP, H.Y. 1997a. Determination of Freezable Water Content of Beef Semimembranous Muscle DSC Study. *J. Thermal Anal.* 48: 259-266.
- AKTAŞ, N., TÜLEK, Y., GÖKALP, H.Y. 1997b. Determination of Differences in Free and Bound Water Contents of Beef Muscle by DSC Under Various Freezing Conditions. *J. Thermal Anal.* 50: 617-624.
- BARGA, M.T., DESTEFANIS, G., PAGONA TOSCANO, G., BRUGIAPAGLIA, A. 1991. Two Reading Techniques of The Filter Paper Press Method For Measuring Meat Water-Holding Capacity. *Meat Sci.* 29: 183-189.
- BECHTEL, P.J., PALNITKAR, M.P., HELDMAN, D.R., PEARSON, A.M. 1971. Bound Water Determination Using Vacuum Differential Scanning Calorimetry. *J. Food Sci.* 36: 84-86.
- BENADO, A.L., RIZVI, S.S. H. 1985. Thermodynamics Properties of Water on Rice as Calculated from Reversible and Irreversible Isotherms. *J. Food Sci.* 50: 101-104.
- BUSHUK, W., MEHROTRA, V.K. 1977 a. Studies of Water Binding by Differential Thermal Analysis. II. Dough Studies Using The Melting Mode. *Cereal Chem.* 54: 320-325.
- BUSHUK, W., MEHROTRA, V.K. 1977 b. Studies of Water Binding by differential Thermal Analysis. III. Bread Studies Using The Melting Mode. *Cereal Chem.* 54: 326-332.
- CERTEL, M., ERTUGAY, F. 1996. Gıdalarda Nem Sorspsiyon İzotermi. *Standart.* 417: 44-47.
- CHOU, D.H., MORR, C.V. 1979. Protein-Water Interactions and Functional Properties. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* 56: 53-62.
- CURRIE, R.W., JORDON, R., WOLFE, F.H. 1981. Changes in Water Structure in Postmortem Muscle, as Determined by NMR T₁ Values. *J. Food Sci.* 46: 822-823.
- ÇETİNKAYA B. 1993. Anorganik Kimya İnönü Üniversitesi Basımevi, Malatya. s: 131.
- DI NOLA, A., BROSIO, E. 1983. Bound and Free Water Determination by Pulsed Nuclear Magnetic Resonance. *J. Food Technol.* 18: 125-128.
- DUCKWORTH, R.B. 1971. Differential Thermal Analysis of Frozen Food Systems. I. The Determination of Unfreezable Water. *J. Food Technol.* 6: 317-3257.
- FELLOWS, P. 1988. *Food Processing Technology.* Ellis Horwood Ltd. Chichester, England. p. 505.
- FENNEMA, O.R. 1985. *Food Chemistry.* Second Edition. Marcel Dekker, Inc. New York, USA. p. 939.
- FINE, L. W., BEALL, H. 1990. *Chemistry for Engineers and Scientist.* Saunders Collage Publishing, Philadelphia. U.S.A.: 1006.
- GÖKALP, H.Y. 1989. Et ve su Ürünleri İşleme Teknolojisi Ders Notu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi Bölümü. Erzurum.
- GÖKALP, H.Y., KAYA, M., TÜLEK, Y., ZORBA, Ö. 1993. Et ve Ürünlerinde Kalite Kontrolü ve Laboratuar Uygulama Klavuzu. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Tesisi, Erzurum.
- GÜRSES, A., BAYRAKÇEKEN, S. 1996. Deneysel Fizikokimya. Atatürk Üniv. Yayın No: 807 K.K. Eğitim Fak. Yayın No: 62. Ders Kitapları Serisi No: 48. Erzurum. s: 285.
- HAMM, R. 1982. Postmortem Changes in Muscle with regard to Processing of Hot-boned Beef. *Food Technol.* 105-115.
- HEINEVTER, L., GASSMANN, B., KROLL, J. 1987. Evaluation of the Water Binding Properties of Meat Binders, Substitues and Extenders by Different Physical and Chemical Methods. *Die Nahrung.* 31: 889-898.
- HOFFMAN, K. 1982. Bestimmung Der Wasserbindung Des Fleisches: Schanelle, Nichtplanimetrische Auswertung Der Filterpapier-Pressmethode. *Fleischwirtsch.* 62: 346-348.
- HOFFMAN, K., HAMM, R., BLUCHEL, E. 1982. Neues Über Die Bestimmung Der Wasserbindung Des Fleisches Mit Hilfe Der Filterpapierpressmethode. *Fleischwirtsch.* 62: 87-94.
- HORTON, H.R., MORAN, L.A., OCHS, R.S., RAWN, J.D., SCRIMGEOUS, K.G. 1993. *Principles of Biochemistry.* Neil Patterson Publishers Prentice Hall Englewood Cliffs New Jersey, U.S.A. p: 2.2.
- JAUREGUI, C.A., REGENSTEIN, J.M., BAKER, R.C. 1981. A Simple-Centrifual Method for Measuring Expressible Moisture a Water-Binding Property of Muscle Foods. *J. Food Sci.* 46: 1271-1273.
- JOHNSON, J.M., DAVIS, E.A., GORDON, J. 1990. Interactions of Starch and Sugar Water Masured by Electron Spin Resonance and Differential Scaning Calorimetry. *Cereal Chemist.* 67: 286-291.
- JUDGE, M.D., ABERLE, E.D., FORREST, J.C., HEDRICK, H.B., MERKEL, R.A. 1989. *Principles Of Meat Science.* Second Edition, Kendall / Hunt Publishing Company Iowa. p. 351.
- KARMAS, E., CHEN, C.C. 1975. Relationship Between Water Activity and Water Binding in High and Intermediate Moisture Foods. *J. Food Sci.* 49:, 800-801.
- KAUFFMAN, R.G., EKELENBOM, G., VAN DER WAL., H.G., ENGEL, B., ZAAR, M. 1986. A Comparison of Methods Estimate Water Holding Capacity In Postrigor Porcine Muscle. *Meat Sci.* 18: 307-322.
- KIRKBRIGHT, G.F., MAYNE, P.J., WEST, T.S. 1975. Technical Note: Application Of A Permittivity, Method For The Rapid Determination Of Water In Meat. *J. Food Technol.* 10: 103-108.
- KNEIFEL, W., PAQUIN, P., ABERT, T., RICHARD, J.P. 1991. Water Holding Capacity of Proteins With Special Regard to Milk Proteins and Methodological Aspects-A Review. *J. Dairy Sci.* 74: 2027-2041.

- KOGA, K., YOSHIZUMI, H. 1977. Differential Scanning Calorimetry (DSC) Studies On The Structures Of Water-Ethenol Mixtures And Aged Whiskey. *J. Food Sci.* 42: 1213-1217.
- KOGA, K., YOSHIZUMI, H. 1979. Differential Scanning Calorimetry (DSC) Studies On The Freezing Processes Of Water-Ethenol Mixtures And Distilled Sipirits. *J. Food Sci.* 44: 1386-1389.
- KUMAGAI, H., NAKAMURA, K., FUJIWHARA, J. 1985. DSC Measurement of Frozen Water in Liquid Foods. *Agric. Biol. Chem.* 49: 3097-3101.
- LAWRIE, R.A. 1991. *Meat Science*. Pergoman Press. Oxford. p: 293.
- LEUNG, H.K., STEINBERG, M.P., WEI, L.S., NELSON, A. I. 1976. Water Binding of Macromolecular Determined by Pulsed NMR. *J. Food Sci.* 41: 297-300.
- LILJAS, A., ROSSMANN, M.G. 1974. X-Ray Studies of Protein Interactions. *Annu. Rev. Biochem.* 4: 475-507.
- LOVRIC, T., PILOZOTA, V., JANEKOVIC, A. 1987. DSC Study of The Thermophysical Properties of Aqueous Liquid and Semi-Liquid Foodstuffs at Freezing Temperatures *J. Food Sci.* 52: 772-776.
- MARTIN, A.H., FREDEEN, H.T. 1974. Postmortem pH Change as Related To Tenderness and Water-Holding Capacity of Muscle From Steer, Bull And Heifer Carcasses. *Can. J. Anim. Sci.* 54: 127-135.
- MIN, D.B. 1986. *Food Component And Analysis*. The Ohio State Univ. Ohio. p. 224.
- MUFFETT, D.J., SNYDER, H.E. 1980. Maasurement of Unfrozen and Free Water in Soy Proteins by Differential Scanning Calorimetry. *J. Agric. Food Chem.* 28: 1303-1305.
- MULTON, J.L., REIMBERT, A.M., MARSH, D., EYDT, A.J. 1988. *Preservation and Storage of Grains, Seeds and Their By-Products*. Lavoisier Publishing Inc. 175 Fifth Avenue, New York. p: 159.
- OCKERMAN, H.W. 1983. *Chemistry Of Meat Tissue*. Tenth Edition. Department Of Animal Sci. The Ohio State Univ. Columbus, OH., USA.
- PARDUCCI, L.G., DUKWORTH, R.B. 1972. Differential Thermal Analysis Of Frozen Food Systems II. Micro-Scale Studies On Egg White, Cod And Celery. *J. Food Technol.* 7: 423-430.
- PEARSON, A.M., YOUNG, R.B. 1989. *Muscle and Meat Biochemistry*. Academic Press. Inc. San Diego, California, USA. p: 457.
- PRICE, J.F., SCHWEIGERT, B.S. 1987. *The Science Of Meat And Meat Products*. Third Edition, Food And Nutrition Press. USA. p. 639.
- REUTER, G. 1982. Verfahren Zur Erkennung Von Fleischqualität-Sabweichungen Bei Schlachtierkörpern. *Fleischwirtsch.* 62: 1153-1160.
- RIEDEL, L. 1957 *Kalorimetrische Untersuchungen Über Das Gefrieren Von Fleisch*. *Kaltetetchnik.* 9: 38-40.
- ROOS, Y.H. 1986 a. Phase Transitions an Unfreezable Water Content of Carrots, Reindeer Meet and White Bread Studied Using Differential Scanning Calorimetry. *J. Food Sci.* 51: 684-686.
- ROOS, Y.H. 1987. Effect of Moisture on The Thermal Behavior of Strawberries Studied Using Differential Scanning Calorimetry. *J. Food Sci.* 52: 146-149.
- ROSS, Y., KAREL, M. 1991. Amorphous State and Delayed Ice Formation in Science Solutions. *Int. J. Food Sci. And Technol.* 26: 553-566.
- ROSS, K.D. 1978. Differential Scanning Calorimetry of Non-Freezable Water in Solute-Macromolecule-Water Seystems. *J. Food Sci.* 43: 1812-1815.
- SANDERSON, G.R. 1981. Polysaccharides in Foods. *Food Technol.* 50-54.
- TELEFONCU, A. 1988. Protein Yapısı ve Fonksiyonu. *Biyokimya Lisansütü Yaz Okulu*. 3-15 Ekim, Çeşme / İzmir.
- UYAR, T. 1990. *Organik Kimya*. Birinci Baskı. Güneş Kitapevi Ltd. Şti. Ankara. p: 1226
- TSAI, T.C., OCKERMAN, H.W. 1981. Water Binding Measurement of Meat. *J. Food Sci.* 46: 697-707.
- WALSTRA, P., DE ROOS, A.L. 1993. Proteins at Air-Water and Oil Water Interfaes: Static and Dynamic Aspects. *Food Reviews Int.* 9: 503-525.
- WANG, D.Q., KOLBE, E. 1991. Thermal Properties of Surimi Analyzed Using DSC. *J. Food Sci.* 56: 302-308.
- ZAYAS, J.F., LIN, C.S. 1988. Quality Characteristics of Frankfurters Containing Corn Germ Protein. *J. Food Sci.* 53: 1587-1595.
- ZAYAS, J.F., LIN, C.S. 1989. Corn Germ Protein in Frankfurters: Textural Color, And Sensory Characteristics And Storage Stability. *J. Food Quality.*, 12, 283-303.