

TRANSGLUTAMİNİZ VE PROTEİNLERİN MODİFİKASYONUNDA KULLANIMI

TRANSGLUTAMİNASE AND ITS USE FOR PROTEIN MODIFICATION

Şükrü KURT, Ömer ZORBA*

Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Van

ÖZET: Transglutaminazlar, peptidler veya proteinler arasında çapraz bağ oluşumunu katalizleyen enzimlerdir. Geniş bir pH ve sıcaklık aralığında aktivite göstermeleri nedeniyle, bir çok gıdada kullanılabilirler. Amino asitler veya peptitler arasında izopeptid bağlarını katalizleyerek molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlar oluşturup, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmektedirler. Dolayısıyla proteinlerin termal stabiliteleri, jel oluşturma kabiliyetleri, su tutma kapasiteleri, emülsifikasyon özellikleri ve besinsel özellikleri üzerinde önemli rol oynamaktadırlar. Ayrıca, doğal olmaları, biyoyararlılığının olması, pratik kullanımı, ticari olarak elde edilebilmesi ve diğer bazı özellikleri bu enzimlerin önemli derecede kullanılabilirliğinin olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Transglutaminaz, protein

ABSTRACT: Transglutaminases are enzyme capable of catalysing cross-links between peptides or proteins. They are widely used in many foods, because of their activity in a wide range of pH and temperature. They catalyse inter- or intramolecular cross-linking through the formation of isopeptide bonds between aminoacids or peptides to improve functional properties of proteins. Thus, they play an important role in heat stability, gel-formation capability, water-holding capacity, emulsification and nutritional properties of proteins. Also, their natural structure, bioavailability, practical using, commercial availability and some other properties present an important potential for their using.

Keywords: Transglutaminase, protein

GİRİŞ

Gıdaların özelliklerinin geliştirilmesinde, içerdikleri proteinlerin fonksiyonel özellikleri oldukça önemlidir. Önemli oranda protein içeren gıdaların su tutma kapasitesi, jel oluşturma kabiliyetleri, besinsel ve daha bir çok özellikleri, içerdikleri proteinlerin özellikleri ile yakından ilgilidir. Dolayısıyla gıdaların özelliklerinin geliştirilmesinde proteinlerin modifiye edilmesi, ürün özelliklerini önemli derecede geliştirmektedir. Bu amaçla çeşitli enzimlerden yararlanılmaktadır. Bu enzimlerin gıdalarda istenen özellikleri geliştirmesinin yanı sıra, güvenilir olması, ekonomik olması ve duyu özellikleri olumsuz etkilememesi de gerekmektedir. Bir çok gıdada doğal olarak bulunabildikleri gibi, gıdanın hazırlanması veya üretim proseslerinde de kullanılmaktadırlar. Bu amaçlarla Transglutaminaz (TGaz) (EC 2.3.2.13) gibi bazı enzimlerden ticari olarak yararlanılmaktadır.

Son yıllarda proteinlerin modifiye edilmesinde TGaz kullanımı önemli gelişmeler sağlamıştır. Et, süt ve tahıl gibi bir çok gıda kaynaklı proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadırlar. Amino asitler veya peptitler arasında izopeptid bağlarını katalizleyip, molekül içi ve moleküller arası çapraz bağlar oluşturarak proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmektedirler (Larré, Deshayes, Lefebvre ve Popineau 1998, Mizuno, Mitsui ve Motoki 1999, Gómez-Guillén, Sarabia, Solas ve Montero 2001, Sharma, Lorenza ve Qvist 2001, Piersma, Pijpekamp, Wijngaards, Gruppen ve Boumans 2002).

Transglutaminaz'ın Özellikleri

TGaz'lar çeşitli hayvan dokularında, bitkilerde ve mikroorganizmalarda bulunmaktadır. Canlıların çeşitli biyolojik aktivitelerinin gerçekleşmesinde önemli aktivite göstermektedirler (Im, Russel ve Feng 1997, Kura-

* E-posta: omerzorba@yahoo.com

ishi, Yamazaki ve Susa 2001). 1960'lı yıllarda, hayvan orijinli Ca^{2+} a bağlı aktivite gösteren TGaz'ların saflaştırılması, karakterize edilmesi ve ürünlerde kullanımı ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. İlk olarak domuz karaciğerinden elde edilmiş ve uygulamalarından olumlu sonuçlar alınmıştır. Ticari olarak ilk başarılı gıda uygulaması ise, et ve balık parçalarının bağlanması, fibrinojen ve plazma TGaz'larının kombine kullanımı ile gerçekleştirilmiştir (Zhu, Rinzema, Tramper ve Bol 1995). Fakat sınırlı oranda elde edilmesi nedeniyle ticari üretimi gerçekleştirilememiştir. Kaynak sıkıntısı ve karmaşık ayırım ve saflaştırma işlemleri oldukça yüksek maliyet getirmektedir. Bu nedenle mikrobiyal fermentasyonla ucuz substrat kullanılarak, TGaz elde edilmeye çalışılmıştır. Bir çok mikroorganizma üzerinde çalışma yapılmasının ardından, 1989'da *Streptovorticillium mobaraense*'nin TGaz üretim kabiliyetinin oldukça yüksek olduğu bulunmuştur (Ando vd 1989). Daha sonra gıdalarda kullanım amacıyla, Ajinomoto Co., Inc. bu enzimin ticari üretimine başlamıştır. Mikroorganizmadan elde edildiği için de mikrobiyal transglutaminaz (MTGaz) olarak adlandırılmıştır.

Streptovorticillium mobaraense'nin yanı sıra, birçok mikroorganizmadan da TGaz elde edilmesine rağmen, bazılarının aktivitesinin düşük olması ve bazılarının da hücre içi TGaz'a sahip olmalarından dolayı kullanımları sınırlı kalmıştır. (Ho, Leu, Hsieh ve Jiang 2000, Yokoyama vd 2003). *Streptovorticillium*'dan elde edilen MTGaz'ın, memeli kanından elde edilen plazma ve eritrosit TGaz'ından daha fazla protein substratı ile reaksiyona girdiği bildirilmiştir (De Jong ve Koppelman 2002). Dolayısıyla, hem yüksek aktivite gösteren ve hem de hücre dışı enzime sahip olan *Streptovorticillium mobaraense*'nin ticari kullanımının önemi oldukça artmıştır.

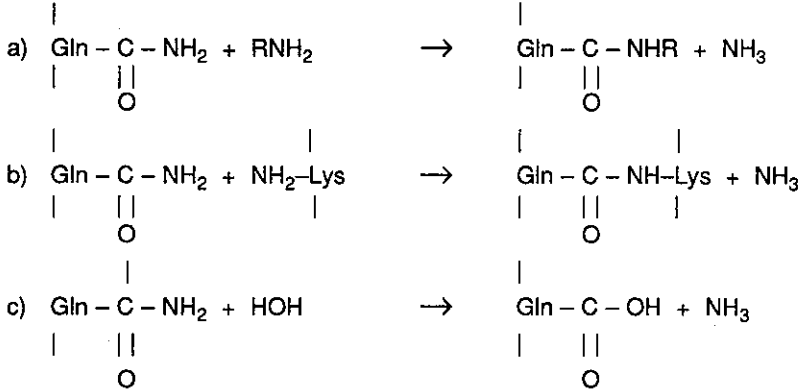
MTGaz'ın memeli TGaz'ından en önemli farklılıklarından biri MTGaz'ın kalsiyumdan bağımsız olması ve Ca^{+2} yokluğunda reaksiyona girebilmesidir. Süt kazeinleri, soya fasülyesi globulinleri ve myosin gibi bir çok protein Ca^{+2} 'a karşı hassastır. Ortamda Ca^{+2} bulunduğunda kolayca çökerler ve MTGaz'a karşı hassaslıkları azalır (Motoki ve Seguro 1998). Dolayısıyla MTGaz'ın bu özelliği, proteinlerin modifiye edilmesinde oldukça önemlidir. MTGaz memeli TGaz'a kıyasla daha fazla çapraz bağ oluşturabilmekte ve tercih edilen rijit ve elastik jellerin oluşumunu sağlayabilmektedir (Matsumura, Lee ve Mori 2000). MTGaz'ın domuz ve balıkların endojen TGaz'ları ile aynı reaksiyonları katalizlemesine rağmen, daha az deamidasyon aktivitesi gösterdiği bildirilmektedir (Ohtsuka, Umezawa, Nio ve Kubota 2001).

MTGaz'ın iki potansiyel glikozilasyon kısmı bulunmasına rağmen, basit bir protein olduğu düşünülmektedir. 331 amino asit içeriğine sahip olup, bu amino asit dizisi içerisinde 64. sırada olmak üzere bir tane sistin rezidü'sü bulunmaktadır. Molekül ağırlığı ise 38.000 olup, bilinen bir çok enzimden küçüktür (Motoki ve Seguro 1998). Geniş bir pH aralığında (4-9) aktivite göstermesi bu anlamda bir çok gıdada kullanılabilirliğini göstermektedir. Optimum pH'sı 4 ile 8 arasında olup, izoelektrik noktası ise 8.9'dur. Ayrıca yüksek sıcaklıklarda oluşan dipeptid bağının stabil olmasından dolayı, ısıtma işlemi uygulanan bir çok gıdada da kullanımı mümkün görülmektedir. Maksimum aktivitesine yaklaşık olarak 50-60°C'de ulaşmakla birlikte, tam aktivitesini 50 °C'de 10 dakika göstermektedir. Ancak, 70°C'de birkaç dakika içerisinde aktivitesini yitirebilmektedir. 10 °C'de de aktivite göstermekle birlikte, donma noktasının biraz üzerinde kısmi aktivite gösterebildiği bildirilmektedir (Motoki ve Seguro 1998).

Transglutaminaz'ın Katalizlediği Reaksiyonlar

TGaz'lar proteinlerin modifikasyonunda genel olarak üç önemli reaksiyonu katalizlemektedirler:

1. Peptid veya proteine bağlı glutamin'in γ -karboksiamid'i ile primer amin arasında açıl transfer reaksiyonunu katalizlerler (Şekil 1a).
2. Protein veya peptitlerin glutamin ve lizin rezidü'leri arasında ϵ -(γ -Glu)Lizin çapraz bağının (G-L bağı) oluşumunu katalizlerler (Şekil 1b).
3. Ortamda uygun bir primer amin bulunmaması veya lizin'in ϵ -amin grubunun belirli ajanlarla bağlanması durumunda, suyun kullanımını katalizlerler (Şekil 1c).

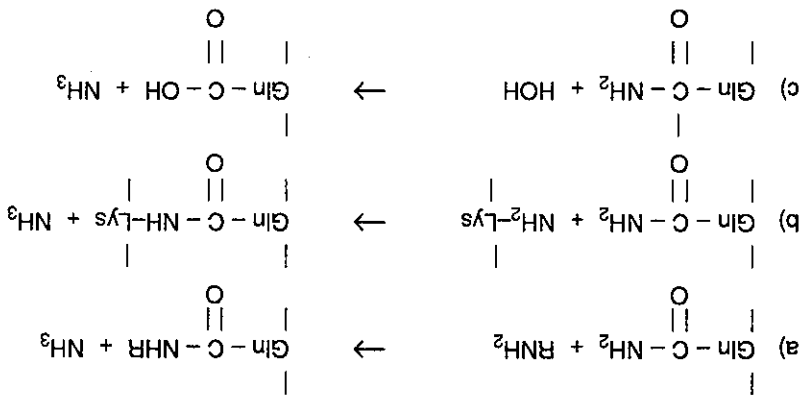


Şekil 1. TGaz'ın katalizlediği genel reaksiyonlar: a) açıl-transfer reaksiyonu; b) çapraz bağ reaksiyonu; c) deamidasyon reaksiyonu (Kuraishi vd 2001)

Protein içeren gıdalarda, ϵ -(γ -Glu)Lizin çapraz bağı hızlı bir şekilde ve diğer reaksiyonlardan daha önce gerçekleşmektedir. Ortamda enzim tarafından kullanılabilir glutamin veya lizin tükenene kadar bu reaksiyon devam etmektedir (Kuraishi vd 2001). Dolayısıyla, bu enzimler protein içeren gıdaların yapısında çeşitli değişikliklere yol açarak, ürün özelliklerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlamaktadırlar (Zhu vd 1995, Tseng, Chen ve Liu 2002). Örneğin mekanik yöntemle kemikten ayrılmış ve traşlama artığı et parçalarının, yeniden ekonomik bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadırlar. Bu tür parça et kullanılan ürünlerde, protein-protein interaksiyonları ve jel oluşumunu sağlayarak, et parçalarının bir arada tutulmasını ve stabil bir yapı kazanmasını sağlamaktadırlar (Nielsen, Petersen ve Møller 1995, Tsao, Kao, Hsieh ve Jiang 2002, Kılıç 2003). Ayrıca, düşük kalite unlarla yapılan çeşitli tahıl ürünlerinde ortaya çıkan tekstürel bozuklukların giderilmesinde ve ekmek hacminin artırılmasında da kullanılabilirler. Çok az bir dozda kullanıldığında bile, tahıl ürünlerinin hamur özellikleri üzerinde modifikasyona neden olmaktadır (Gerrard, Fayle, Wilson, Newberry, Ross ve Kavale 1998, Gerrard, Newberry, Ross, Wilson, Fayle ve Kavale 2000, Basman, Köksel ve Ng 2002a, Tseng ve Lai 2002).

Gıda ürünlerinin tekstürlerini geliştirerek, proteinlerdeki lizini çeşitli kimyasal reaksiyonlardan koruyabilmektedirler. Lipidleri ve/veya lipid'te çözünür materyalleri enkapsüle ederek, ısı ve suya dirençli filimler oluşturmak suretiyle jel oluşturma özelliklerini geliştirdiği için fazla ısı işlem gerektirmeyebilirler (Zhu vd 1995, Yıldırım ve Hettiarachchy 1998, Færgemand, Murray, Dickinson ve Qvist 1999). Çözünürlük ve bir çok fonksiyonel özellikleri modifiye edebilirler. Ayrıca, allerjenik etkisi olabilen soya ve gluten gibi proteinlerin, allerjenik etkilerini azaltabilmektedirler (Babiker, Matsudomi ve Kato 1998, Gerrard, Fayle, Brown, Sutton, Simmons ve Rasiyah 2001).

Proteinler arasında oluşturulan çapraz bağlar sadece ilave edilen enzimlerle gerçekleşmemekte, aynı zamanda endojen TGaz'ların etkisiyle de gerçekleşebilmektedir. Süt ürünlerinin doğal materyalinin TGaz içermemesi nedeniyle süt ürünleri hariç, et ve balık yumurtası gibi bazı gıdalarda endojen TGaz'ların etkisiyle belirli oranlarda çapraz bağ bulunmaktadır. İşlenmiş, özellikle de ısı işlem görmüş gıdalarda çapraz bağlar, işlenmemiş gıda materyallerindeki çapraz bağlardan daha fazladır. Bu durum, işlem sırasında endojen TGaz'ın kısmen de olsa aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır. Geniş bir sıcaklık aralığında aktivite gösterebilen bu enzimler, ısı işlem sırasında çapraz bağların oluşumunu katalizleyebilmektedirler. Bu bağlar, TGaz'ın ilavesiyle ve doğal gıda materyalinde bulunan endojen TGaz'ların yanı sıra, ısı işlem etkisiyle de gerçekleşebilmektedir. Isıl işlem, glutamat rezidü'lerinin γ -karboksiamid grubu ile lizin rezidü'lerinin ϵ -amino grubu arasında kimyasal dehidrasyon ile çapraz bağların oluşumunu sağlayabilmektedir (Motoki ve Seguro 1998, Kuraishi vd 2001).

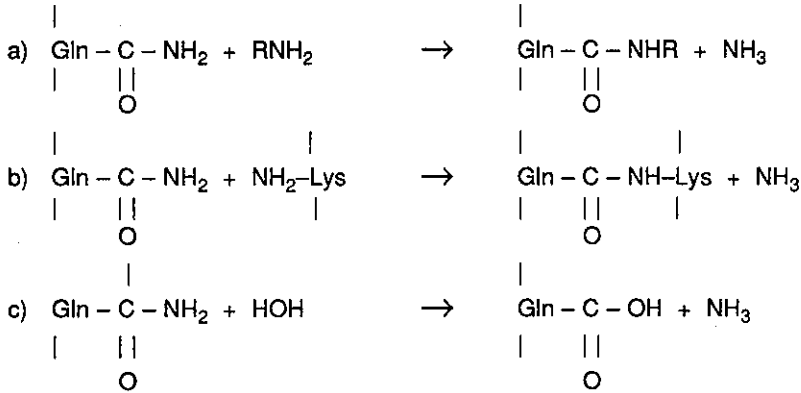


Şekil 1. TGaz'ın katalizlediği genel reaksiyonlar: a) ağıl-transfer reaksiyonu; b) gapraz bağ reaksiyonu; c) deamidasyon reaksiyonu (Kuraishi vd 2001)

Protein içeren gıdalarda, e- (γ -Glu)Lizin gapraz bağ hızla bir şekilde ve diğer reaksiyonlardan daha önce gerçekleşmektedir. Ortamda enzim tarafından kullanılabilir olacak glutamin veya lizin tükenene kadar bu reaksiyon devam etmektedir (Kuraishi vd 2001). Dolayısıyla, bu enzimler protein içeren gıdaların yapısında geçitli değişikliğe yol açarak, ürün özelliklerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlamaktadır (Zhu vd 1995, Tseng, Chen ve Liu 2002). Örneğin mekanik yöntemle ayrılmış ve traşlama artığı eti parçalarının, yeniden ekonomik bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadır. Bu tür parça et kullanılan ürünlerde, protein- protein interaksiyonları ve jel oluşumunu sağlayarak, et parçalarının bir arada tutulmasını ve stabil bir yapı kazanmasını sağlamaktadır (Nielsen, Petersen ve Møller 1995, Tsao, Kao, Hsieh ve Jiang 2002, Kılıç 2003). Ayrıca, düşük kalite unlarla yapılan geçitli tahıl ürünlerinde ortaya çıkan tekstürel bozuklukların giderilmesinde ve ekmeğe hacminin artırılmasında da kullanılmaktadır. Çok az bir dozda kullanıldığında bile, tahıl ürünlerinin hamur özellikleri üzerinde modifikasyona neden olmaktadır (Gerrard, Fayle, Wilson, Newberry, Ross ve Kavalie 1998, Gerrard, Newberry, Foss, Wilson, Fayle ve Kavalie 2000, Basman, Köksel ve Ng 2002a, Tseng ve Lai 2002).

Gıda ürünlerinin tekstürlerini geliştirmek, proteinlerdeki lizini geçitli kimyasal reaksiyonlardan koruyabilmektedir. Lipidleri ve/veya lipitlere çözünür materyalleri enkapsüle ederek, ISI ve suya dirençli fillimier oluşturmak suretiyle jel oluşuma özelliklerini geliştirdiği için taze ISI işlem gerektirmeyebiller (Zhu vd 1995, Yıldı- rım ve Hettiarachchy 1998, Færgemand, Murray, Dickinson ve Qvist 1999). Çözünürlük ve bir çok fonksiyonel özellikleri modifiye edebilirler. Ayrıca, alerjenik etkiyi olabilen soya ve gluten gibi proteinlerin, alerjenik etki- leri azaltılabilmektedirler (Babiker, Matsudomi ve Kato 1998, Gerrard, Fayle, Brown, Sutton, Simmons ve Rasi- ah 2001).

Proteinler arasında oluşturulan gapraz bağlar sadece ilave edilen enzimlerle gerçekleştirilmekte, aynı zamanda endojen TGaz'ların etkisiyle de gerçekleştirilmektedir. Süt ürünlerinin doğal materyalinin TGaz içere- memesi nedeniyle süt ürünleri harig, et ve balık yumurtası gibi bazı gıdalarda endojen TGaz'ların etkisiyle be- irli oranlarda gapraz bağ bulunmaktadı. İşlenmiş, özellikle de ISI işlem görmüş gıdalarda gapraz bağlar, işlen- memiş gıda materyallerindeki gapraz bağlardan daha fazladır. Bu durum, işlem sırasında endojen TGaz'ın kis- men de olsa aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır. Geniş bir sıcaklık aralığında aktivite gösteren bu enzimler, ISI işlem sırasında gapraz bağların oluşumunu katalizleyebilmektedirler. Bu bağlar, TGaz'ın ilavesi- le ve doğal gıda materyalinde bulunan endojen TGaz'ların yanı sıra, ISI işlem etkisiyle de gerçekleştirilmek- tedir. ISI işlem, glutamat rezidü'lerinin γ -karboksiamid grubu ile lizin rezidü'lerinin e-amino grubu arasında kim- yasal dehidrasyon ile gapraz bağların oluşumunu sağlayabilmektedir (Motoki ve Seguro 1998, Kuraishi vd 2001).



Şekil 1. TGaz'ın katalizlediği genel reaksiyonlar: a) açıl-transfer reaksiyonu; b) çapraz bağ reaksiyonu; c) deamidasyon reaksiyonu (Kuraishi vd 2001)

Protein içeren gıdalarda, ϵ - (γ -Glu)Lizin çapraz bağı hızlı bir şekilde ve diğer reaksiyonlardan daha önce gerçekleşmektedir. Ortamda enzim tarafından kullanılabilir glutamin veya lizin tükenene kadar bu reaksiyon devam etmektedir (Kuraishi vd 2001). Dolayısıyla, bu enzimler protein içeren gıdaların yapısında çeşitli değişikliklere yol açarak, ürün özelliklerinin geliştirilmesinde önemli katkılar sağlamaktadırlar (Zhu vd 1995, Tseng, Chen ve Liu 2002). Örneğin mekanik yöntemle kemikten ayrılmış ve traşlama artığı et parçalarının, yeniden ekonomik bir şekilde değerlendirilmesini sağlamaktadırlar. Bu tür parça et kullanılan ürünlerde, protein-protein interaksiyonları ve jel oluşumunu sağlayarak, et parçalarının bir arada tutulmasını ve stabil bir yapı kazanmasını sağlamaktadırlar (Nielsen, Petersen ve Møller 1995, Tsao, Kao, Hsieh ve Jiang 2002, Kılıç 2003). Ayrıca, düşük kalite unlarla yapılan çeşitli tahıl ürünlerinde ortaya çıkan tekstürel bozuklukların giderilmesinde ve ekmek hacminin artırılmasında da kullanılabilirler. Çok az bir dozda kullanıldığında bile, tahıl ürünlerinin hamur özellikleri üzerinde modifikasyona neden olmaktadır (Gerrard, Fayle, Wilson, Newberry, Ross ve Kavale 1998, Gerrard, Newberry, Ross, Wilson, Fayle ve Kavale 2000, Basman, Köksel ve Ng 2002a, Tseng ve Lai 2002).

Gıda ürünlerinin tekstürlerini geliştirerek, proteinlerdeki lizini çeşitli kimyasal reaksiyonlardan koruyabilmektedirler. Lipidleri ve/veya lipit'te çözünür materyalleri enkapsüle ederek, ısı ve suya dirençli filimler oluşturmak suretiyle jel oluşturma özelliklerini geliştirdiği için fazla ısı işlem gerektirmeyebilirler (Zhu vd 1995, Yıldırım ve Hettiarachchy 1998, Færgemand, Murray, Dickinson ve Qvist 1999). Çözünürlük ve bir çok fonksiyonel özellikleri modifiye edebilirler. Ayrıca, allerjenik etkisi olabilen soya ve gluten gibi proteinlerin, allerjenik etkilerini azaltabilmektedirler (Babiker, Matsudomi ve Kato 1998, Gerrard, Fayle, Brown, Sutton, Simmons ve Rasiyah 2001).

Proteinler arasında oluşturulan çapraz bağlar sadece ilave edilen enzimlerle gerçekleşmemekte, aynı zamanda endojen TGaz'ların etkisiyle de gerçekleşebilmektedir. Süt ürünlerinin doğal materyalinin TGaz içermemesi nedeniyle süt ürünleri hariç, et ve balık yumurtası gibi bazı gıdalarda endojen TGaz'ların etkisiyle belirli oranlarda çapraz bağ bulunmaktadır. İşlenmiş, özellikle de ısı işlem görmüş gıdalarda çapraz bağlar, işlenmemiş gıda materyallerindeki çapraz bağlardan daha fazladır. Bu durum, işlem sırasında endojen TGaz'ın kısmen de olsa aktivite göstermesinden kaynaklanmaktadır. Geniş bir sıcaklık aralığında aktivite gösterebilen bu enzimler, ısı işlem sırasında çapraz bağların oluşumunu katalizleyebilmektedirler. Bu bağlar, TGaz'ın ilavesiyle ve doğal gıda materyalinde bulunan endojen TGaz'ların yanı sıra, ısı işlem etkisiyle de gerçekleşebilmektedir. Isıl işlem, glutamat rezidü'lerinin γ -karboksiamid grubu ile lizin rezidü'lerinin ϵ -amino grubu arasında kimyasal dehidrasyon ile çapraz bağların oluşumunu sağlayabilmektedir (Motoki ve Seguro 1998, Kuraishi vd 2001).

Bazı durumlarda lizin ve glutamin arasında çapraz bağ oluşum reaksiyonları, kazein ve jelatine olduğu gibi kolay bir şekilde gerçekleşmemektedir. Enzimatik çapraz bağ oranı, protein substratının makromoleküler yapıya bağlı olarak değişebilmektedir. Örneğin, kazeinin esnek özelliğe sahip olması substrat olarak önemini artırmaktadır. Bu özellikten dolayı, glutamin aktif pozisyona gelerek reaksiyona girmektedir (Dickinson 1997). Diğer taraftan, ovalbumin ve b-laktoglobulin gibi bazı globuler proteinler ile TGaz reaksiyona girememektedir. Aktif duruma getirebilmek için çeşitli yöntemlerle bu proteinlerin yapılarının değiştirilmesi gerekmektedir. Nitekim, β -kazein ve b-laktoglobulin'e MTGaz uygulaması ile birlikte, 40°C'de 400MPa basınç uygulandığında bu iki proteinin dimer ve trimerler oluşturduğu bildirilmiştir (Lauber, Noack, Klostermeyer ve Henle 2001a, Lauber, Krause, Klostermeyer ve Henle 2003). Rijit yapıya sahip olan proteinlerin çapraz bağ oluşumunu engellemelerinden dolayı, bu proteinlerin yapılarının çeşitli metotlarla destabilize edilerek, lizin ve glutaminin kullanımının kolaylaştırılması gerekmektedir (Dickinson 1997, Babin ve Dickinson 2001). Bu amaçla Ca^{+2} iyon bağının uzaklaştırılması veya daha çok bir indirgen ajanın kullanılması üzerinde durulmaktadır. İndirgen ajan olarak daha çok DTT (ditiyothreitol) kullanılarak araştırmalar yapılmaktadır. DTT disülfid bağlarını kırarak, protein yapısının açılmasını sağlar. Böylece lizin ve glutaminin çapraz bağ oluşturmasını kolaylaştırır. a-lactoalbumin ve β -lactoglobulin gibi birçok proteinin, DTT ile yapıları açılarak çapraz bağ oluşturmasını sağlamıştır (Færgemand ve Qvist 1999, De Jong ve Koppelman 2002). DTT'nin gıdalarda kullanımının uygun olmaması nedeniyle başka alternatif metotlar da denenmiştir. Örneğin, ısı işlem uygulaması da disülfid bağlarının kırılmasına neden olmaktadır (Dickinson 1997, Sharma vd 2001). Nitekim, β -lactoglobulinin 90°C'ye ısıtılmasından sonra MTGaz bu proteinde çapraz bağ oluşumunu gerçekleştirmiştir. Yine aynı protein üzerinde pH'nın etkisi araştırılmış ve pH 8.5-9'da yapı kısmen açılarak çapraz bağın oluştuğu belirlenmiştir (De Jong ve Koppelman 2002). TGaz ile çapraz bağ oluşturmak için, sıcaklık ve pH'nın kombine kullanımının yanı sıra, yüksek basınç uygulaması gibi bazı metotlar uygulanarak da proteinlerin rijit yapısını kısmen de olsa açmak mümkündür (Ashie, Lanier ve McDonald 1999, Jung, De Lamballerie-Anton ve Ghoul 2000).

Yüksek basınç uygulaması substrat oranını artırarak, çapraz bağların katalizlenmesinde TGaz'ın aktivitesinin artmasını sağlamaktadır (Ashie ve Lanier 1999). Yapılan çalışmalarda TGaz'ın yüksek basınca dirençli olduğu, ancak mikrobiyolojik inaktivasyon uygulamalarında denen 600MPa'ın MTGaz'da kısmen aktivite kaybına yol açtığı bildirilmiştir (Lee ve Park 2002). Başka bir çalışmada ise tampon çözeltide MTGaz'ın önemli stabilite gösterdiği ve 60°C'de 400MPa'nın üzerinde kısmen aktivite kaybettiği bildirilmiştir (Lauber, Noack, Klostermeyer ve Henle 2001b). Dolayısıyla yapılan bu çalışmaların sonucunda, yüksek basınç teknolojisi ile TGaz'ın kombine kullanımının protein modifikasyonunu sağlayarak ürün özelliklerini geliştirebileceği belirlenmiştir. Ancak, uygulanacak basınç seviyesinin ve TGaz'ın kullanım oranının, gıda ürününe bağlı olarak optimize edilmesinde yeni çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Transglutaminaz'ın Proteinlerin Emülsiyon Özellikleri Üzerindeki Etkileri

TGaz'lar polipeptid zincirlerinde ve proteinlerde katalizlediği spesifik reaksiyonlar sonucu, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirerek, su tutma kabiliyetlerini, emülsiyon stabilitesini, viskozitelerini ve diğer bazı emülsiyon özelliklerini geliştirmektedirler (Ruiz-Carrascal ve Regenstein 2002, Sharma, Zakora ve Qvist 2002). Ayrıca bu tür ürünlerin jel oluşturma özelliklerinin, dolayısıyla tekstürlerinin geliştirilmesinde de oldukça önemlidirler.

Enzimatik çapraz bağlar, su içerisinde yağ emülsiyonlarının stabilizasyonunda, süt proteinlerinin stabilizasyonunu kontrol edebilmektedirler. Enzimatik çapraz bağların oranındaki artış, yağ damlacıklarının damla hacimlerinin stabilitesini azaltmaktadır. Bu bağların oranı düşük olduğunda ise, flokülasyona karşı yüksek stabilite gösterdiği bildirilmektedir (Færgemand, Otte ve Qvist 1998). β -kazeinle kararlı hale getirilen emülsiyonlarda, emülsiyon aktivite indeksinin azalmasına rağmen, TGaz'ın polimerizasyonunun artmasıyla birlikte, emülsiyonun depolama stabilitesinin arttığı belirlenmiştir (Liu ve Srinivasan 1999). Emülsifikasyondan önce oluşan çapraz bağların, emülsifikasyondan sonra oluşanlara kıyasla, daha zayıf emülsiyon stabilitesine yol açtığı bildirilmektedir (Sharma vd 2002).

Gıda ürünlerinin, özellikle de et emülsiyonlarının özelliklerinin geliştirilmesinde et proteinlerinin yanı sıra, süt proteinleri ve soya proteinleri gibi bazı hayvansal ve bitkisel proteinler kullanılmaktadır (Tsao vd 2002, Mugurama vd 2003, Pietrasik 2003, Pietrasik ve Jarmoluk 2003). Bu proteinler, özellikle de myosin ve kazeinler, TGaz için oldukça önemli substratlardır. TGaz bu farklı proteinler arasında da etkileşimlerin oluşmasını sağlayarak, emülsifikasyon özelliklerini daha fazla geliştirmektedir (Kuraishi vd 2001, Motoki ve Seguro 1998). Ayrıca zayıf emülsifikasyon özelliklerine sahip olan sorgum proteinleri gibi bazı proteinlerin emülsifikasyon özelliklerini geliştirdiği de bildirilmektedir (Babiker ve Kato 1998).

Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini etkilemek ve gıda ürünlerine, özellikle de emülsifiye ürünlere belirli bir tekstür kazandırmak için tuz ve fosfatlar kullanılmaktadır. NaCl kullanımı proteinlerin çözünürlüğünü artırarak, su tutma, jel oluşturma ve çeşitli emülsifikasyon özelliklerini geliştirmektedir (Schut 1976, Zorba, Gökalp, Yetim ve Ockerman 1993). Ancak, ürünün özelliklerini geliştirmek için yüksek seviyelerde kullanımı, duysal özellikleri olumsuz etkileyebileceği gibi, yüksek tansiyon gibi bazı sağlık problemlerine de yol açmaktadır. Bu amaçla çeşitli klorid tuzları ve ikame edici diğer katkıların kullanımı denenmektedir (Pietrasik ve Li-Chan 2002). Yapılan çalışmalarda TGaz kullanımının tuz ve fosfat kullanım seviyelerinin azaltılması için önemli bir alternatif olduğu belirlenmiştir (Ramírez, Uresti, Téllez ve Vázquez 2002, Téllez-Luis, Uresti, Ramírez ve Vázquez 2002). Yapılan bir çalışmada TGaz (F XIIIa), tuz ve fosfatla birlikte kullanıldığında sinerjistik bir etki yaparak, ürünün tekstürünü geliştirebildiği bildirilmektedir (Nielsen vd 1995). Yine aynı çalışmada, TGaz kullanımıyla ilave tuz ve fosfat seviyelerinin düşürülmesinin mümkün olduğu da bildirilmektedir.

Transglutaminaz'ın Proteinlerin Jel Oluşturma Özellikleri Üzerindeki Etkileri

TGaz'ın oluşturduğu jeller, kovalent karakterde çapraz bağlar oluşturması ve daha az miktarda proteinlerle jel oluşturabilmesinden dolayı, ısı işlem uygulanan jellerden farklıdır. Bu enzimlerle oluşturulan jeller daha stabil, daha güçlü ve daha düzgün özelliktedir. Ayrıca, oluşturulan izopeptid bağlarının dönüşümsüz (irreversible) olması ve güçlü protein-protein etkileşimleri sağlaması, jel matrisini önemli ölçüde kararlı kılmaktadır (Tseng, Liu ve Chen 2000). Bazı durumlarda birden fazla polipeptid içeren proteinlerin polipeptid zincirlerinin arasında bağlar oluşturarak, proteinin ısı kararlılığını artırmaktadır (Ota, Sawa, Nio ve Ariyoshi 1999, Tseng vd 2000). Ürünlerin jel özelliklerinin geliştirilmesinde TGaz'lar yalnız kullanılabilirliği gibi, düşük ısı işlemle birlikte kullanılabilirliği de bildirilmektedir (Tseng vd 2000). Zira, yüksek ısı işlem uygulaması ile oluşan protein agregasyonu, jel ağlarına kısmen zarar verebilmekte ve böylece su kaybına neden olmaktadır (Pietrasik ve Li-Chan 2002).

Proteinlerin jel oluşturma mekanizmaları, dondurma sırasında stabil olmayan balık proteinlerinin surimi tipi ürünlere işlenmesinde oldukça önemlidir. Son zamanlarda surimi tipi ürünlerin oluşturulmasında, özellikle jel oluşturma kabiliyeti düşük olan bazı su ürünlerinde bu özelliği geliştirmek için, TGaz kullanımı yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu araştırmalar sonucunda, hem materyalde bulunan endojen TGaz'ların ve hem de ilave edilen TGaz'ların çeşitli balık ürünlerinin jel oluşturma kabiliyetlerini önemli ölçüde geliştirdiği belirlenmiştir (Ramírez, Rodríguez-Sosa, Morales ve Vázquez 2000, Hsieh, Tsai ve Jiang 2002b, Yongsawatdigul, Worra-
tao ve Park 2002).

Surimi üzerinde yapılan bazı çalışmalarda ise, yüksek oranda MTGaz'ın kullanımının suriminin jel oluşturma kabiliyetini azaltabildiği bildirilmiştir (Jiang, Hsieh, Ho ve Chung 2000a, Jiang, Hsieh, Ho ve Chung 2000b). Bu durumun fazla oranda çapraz bağ oluşumundan dolayı, protein jellerinin kolay kırılabilir olmasından kaynaklanmış olabileceği bildirilmektedir (Hsieh, Tsai ve Jiang 2002a). Ayrıca, gıda materyalinde bulunan bazı enzimler proteolitik özellikte olmaları nedeniyle jel oluşumunu engelleyebilmektedirler. Dolayısıyla TGaz ile birlikte rekombine sistatin gibi inhibitörlerin kullanımı surimi tipi ürünlerin jel oluşturma özelliklerini daha fazla geliştirmektedir (Gómez-Guillén, Hurtado ve Montero 2002, Hsieh vd 2002a, Hsieh vd 2002b, Pérez-Mateos, Montero ve Gómez-Guillén 2002). Bu inhibitörlerin yanı sıra, koyun ve keçi gibi bazı hayvanların sütlerinde ise doğal TGaz inhibitörü bulunmaktadır. Sütlerde bulunan bu inhibitörün, çapraz bağlı proteinlerin fonksiyonelliğini değiştirmeden, çapraz bağ miktarını kontrol edebildiği bildirilmektedir (De Jong, Wijngaards ve Kop-

pelman 2003). De Jong vd (2003) çalışmaları sonucunda, inhibitörün TGaz'ın sistin rezidüsünün aktif kısmına bağlanarak inhibisyon etkisi göstermiş olabileceğini bildirmektedirler. Yine aynı çalışmada, TGaz miktarı inhibitör miktarından az olduğunda çapraz bağ oluşumunun, TGaz tamamen inhibe olana kadar devam ettiği bildirilmiştir. Nitekim, Lauber, Henle ve Klostermeyer (2000) yaptıkları çalışmada, belli bir süre sonra ortamda önemli miktarda kazein monomerlerinin olmasına rağmen, çapraz bağ oluşumunun durduğunu bildirmişlerdir. Kazeinin TGaz için çok önemli bir substrat olduğu düşünüldüğünde, bu sonucun inhibitör etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Transglutaminaz'ın Proteinlerin Besin Değeri Üzerindeki Etkileri

TGaz'lar, amino asitlerin ve peptitlerin proteinlere kovalent bağ ile bağlanmasını sağlayarak, proteinlerin besinsel değerlerini artırmaktadırlar. Örneğin, buğday gluteninin amino asit rezidülerinin yaklaşık 1/3'ü glutaminden oluşmaktadır. MTGaz katalizörlüğünde glutenin esansiyel bir amino asit olan lizin rezidüsü ile çapraz bağ oluşturması sağlanarak besinsel değeri artırılabilir (Basman, Köksel ve Ng 2002b).

Beslenme açısından, ϵ -(γ -Glu)Lizin çapraz bağının biyolojik değeri, bu bağın degradasyonu ile yakından ilgilidir. Memelilerin bilinen mide enzimleri, gıdalarla alınan proteinleri amino asitlere parçalayabilmesine rağmen, oluşan bu çapraz bağları kıramamaktadır. Ancak bu bağlar, böbreklerde bulunan γ -glutamilamin siklotransferaz tarafından lizin ve 5-oxoprolin parçalanmaktadır. Böylece lizin vücutta kullanılabilir (Motoki ve Seguro 1998).

KAYNAKLAR

- Ando H, Adachi M, Umeda K, Matsuura A, Nonaka M, Uchio R, Tanaka H ve Motoki M. 1989. Purification ve Characteristics of a Novel Transglutaminase Derived from Microorganisms. *Agric. Biol. Chem.*, 53: 2613-2617.
- Ashie I.N.A ve Lanier T.C. 1999. High Pressure Effects on Gelation of Surimi ve Turkey Breast Muscle Enhanced by Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 64(4):704-708.
- Ashie I.N.A, Lanier T.C ve MacDonald G.A. 1999. Pressure-induced Denaturation of Muscle Proteins ve its Prevention by Sugar ve Polyols. *Journal of Food Science*, 64(5):818-822.
- Babiker E.F.E, Matsudomi N ve Kato A. 1998. Masking of Antigen Structure of Soybean Protein by Conjugation with Polysaccharide ve Cross-linkage with Microbial Transglutaminase. *Nahrung*, 42(3/4): 158-159.
- Babiker E.E ve Kato A. 1998. Improvement of the Functional Properties of Sorghum Protein by Protein-polysaccharide ve Protein-Protein Complexes. *Nahrung*, 42(5): 286-289.
- Babin H ve Dickinson E. 2001. Influence of Transglutaminase Treatment on the Thermoreversible Gelation of Gelatin. *Food Hydrocolloids*, 15:271-276.
- Basman A, Köksel H ve Ng P.K.W. 2002a. Effects of Increasing Levels of Transglutaminase on the Rheological Properties ve Bread Quality Characteristics of Two Wheat Flours. *Eur Food Res Technol*, 215:419-424.
- Basman A, Köksel H ve Ng P.K.W. 2002b. Effects of Transglutaminase on SDS-PAGE Patterns of Wheat, Soy, ve Barley Proteins ve their Blends. *Journal of Food Science*, 67(7):2654-2658.
- De Jong G.A.H, ve Koppelman S.J. 2002. Transglutaminase Catalyzed Reactions: Impact on Food Applications. *Journal of Food Science*, 67(8):2798-2806.
- De Jong G.A.H, Wijngaards G ve Koppelman S.J. 2003. Transglutaminase Inhibitor from Milk. *Journal of Food Science*, 68(3):820-825.
- Dickinson E. 1997. Enzymic Crosslinking as a Tool for Food Colloid Rheology Control ve Interfacial Stabilization. *Trends in Food Science & Technology*, 8:334-339.
- Færgemand M, Otte J ve Qvist K.B. 1998. Emulsifying Properties of Milk Proteins Cross-linked with Microbial Transglutaminase. *Int. Dairy Journal*, 8:715-723.
- Færgemand M ve Qvist K.B. 1999. On the Importance of Using a Ca^{2+} Independent Transglutaminase for Cross-linking of β -Lactoglobulin. *Food Hydrocolloids*, 13:199-201
- Færgemand M, Murray B.S, Dickinson E ve Qvist K.B. 1999. Cross-linking of adsorbed casein films with transglutaminase. *International Dairy Journal*, 9:343-346.
- Gerrard J.A, Fayle S.E, Wilson A.J, Newberry M.P, Ross M ve Kavale S. 1998. Dough Properties ve Crumb Strength of White Pan Bread as Affected by Microbial Transglutaminase. *Journal Of Food Science*, 63(3):472-475.
- Gerrard J.A, Newberry M.P, Ross M, Wilson A.J, Fayle S.E ve Kavale S. 2000. Pastry Lift ve Croissant Volume as Affected by Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 65(2):312-314.

- Gerrard J.A, Fayle S.E, Brown P.A, Sutton K.H, Simmons L ve Rasiah, I. 2001. Effects of Microbial Transglutaminase on the Wheat Proteins of Bread ve Croissant Dough. *Journal of Food Science*, 66(6): 782-786.
- Gómez-Guillén M.C, Sarabia A.I, Solas M.T ve Montero P. 2001. Effect of Microbial Transglutaminase on the Functional Properties of Megrin (*L. boscii*) skin gelatin. *J Sci Food Agric* 81: 665-673.
- Gómez-Guillén M.C, Hurtado J.L ve Montero P. 2002. Autolysis ve Protease Inhibition Effects on Dynamic Viscoelastic Properties during Thermal Gelation of Squid Muscle. *Journal of Food Science*, 67(7):2491-2496.
- Ho M.-L, Leu S.-Z, Hsieh J.-F ve Jiang S.-T. 2000. Technical Approach to Simplify the Purification Method ve Characterization of Microbial Transglutaminase Produced from *Streptovorticillium ladakanum*. *Journal of Food Science*, 65(1):76-80.
- Hsieh J.-F, Tsai G.-J ve Jiang S.-T. 2002a. Microbial Transglutaminase ve Recombinant Cystatin Effects on Improving the Quality of Mackerel Surimi. *Journal of Food Science*, 67(8):3120-3125.
- Hsieh J.-F, Tsai G.-J ve Jiang S.-T. 2002b. Improvement of Hairtail Surimi Gel Properties by NADPH-Sulfite Reductase, Recombinant Cystatin, ve Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 67(8):3152-3158.
- Im M.-J, Russel M.A ve Feng J.-F. 1997. Transglutaminase II: A New Class of GTP-Binding Protein with New Biological Functions. *Cell Signal.*, 9(7): 477-482.
- Jiang S.-T, Hsieh J.-F, Ho M.-L ve Chung Y.-C. 2000a. Combination Effects of Microbial Transglutaminase, Reducing Agent, ve Protease Inhibitor on the Quality of Hairtail Surimi. *Journal of Food Science*, 65(2):241-245.
- Jiang S.-T, Hsieh J.-F, Ho M.-L ve Chung Y.-C. 2000b. Microbial Transglutaminase Affects Gel Properties of Golden Threaddin-bream ve Pollack Surimi. *Journal of Food Sci*, 65(4):694-699.
- Jung S, De Lamballerie-Anton M ve Ghouil M. 2000. Modifications of Ultrastructure ve Myofibrillar Proteins of *Post-rigor* Beef Treated by High Pressure. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 33:313-319.
- Kılıç B. 2003. Effect of Microbial Transglutaminase ve Sodium Caseinate on Quality of Chicken Döner Kebab. *Meat Science*, 63:417-421.
- Kuraishi C, Yamazaki K ve Susa Y. 2001. Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry. *Food Reviews International*, 17(2):221-246.
- Larrè C, Deshayes G, Lefebvre J ve Popineau Y. 1998. Hydrated Gluten Modified by A Transglutaminase. *Nahrung*, 42(3/4): 155-157.
- Lauber S, Henle T ve Klostermeyer H. 2000. Relationship Between the Crosslinking of Caseins by Transglutaminase ve the Gel Strength of Yoghurt. *Eur Food Technol*, 210:305-309.
- Lauber S, Noack I, Klostermeyer H ve Henle T. 2001a. Oligomerisation of β -lactoglobulin by Microbial Transglutaminase During High Pressure Treatment. *Eur Food Res Tech* 213:246-247.
- Lauber S, Noack I, Klostermeyer H ve Henle T. 2001b. Stability of Microbial Transglutaminase to High Pressure Treatment. *Eur Food Res Technol* 213:273-276.
- Lauber S, Krause I, Klostermeyer H ve Henle T. 2003. Microbial Transglutaminase Crosslinks β -casein ve β -lactoglobulin to Heterologous Oligomers Under High Pressure. *Eur Food Technol*, 216:15-17.
- Lee E.Y ve Park J. 2002. Pressure inactivation Kinetics of Microbial Transglutaminase from *Streptovorticillium mobaraense*. *Journal of Food Science*, 67(3):1103-1107.
- Liu M ve Srinivasan D. 1999. Effect of Transglutaminase-catalyzed Polymerization of Beta-casein on its Emulsifying Properties. *Journal of Agricultural ve Food Chemistry*, 47:1514 -1519.
- Matsumura Y, Lee D-S ve Mori, T. 2000. Molecular Weight Distributions of α -lactalbumin Polymers Formed by Mammalian ve Microbial Transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, 14:49-59.
- Mizuno A, Mitsui M ve Motoki M. 1999. Glass Transition Temperature of Casein as Affected by Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 64(5):796-798.
- Motoki M ve Seguro K. 1998. Transglutaminase ve its Use for Food Processing. *Trends in Food Science & Technology*, 9: 204-210.
- Mugurama M, Tsuruoka K, Katayama K, Erwanto Y, Kawahara S, Yamauchi K, Sathe S.K ve Soeda T. 2003. Soybean ve Milk Proteins Modified by Transglutaminase Improves Chicken Sausage Texture Even at Reduced Levels of Phosphate. *Meat Science*, 63(2): 191-197.
- Nielsen G.S, Petersen B.R ve Møller A.J. 1995. Impact of Salt, Phosphate ve Temperature on the Effect of a Transglutaminase (F X111a) on the Texture of Restructured Meat. *Meat Science*, 41(3): 293-299.
- Ohtsuka T, Umezawa Y, Nio N ve Kubota K. 2001. Comparison of Deamidation Activity of Transglutaminases. *Journal of Food Science*, 66(1):25-29.
- Ota M, Sawa A, Nio N ve Ariyoshi Y. 1999. Enzymatic Ligation for Synthesis of Single-Chain Analogue of Monellin by Transglutaminase. *Biopolymers*, 50:193-200.
- Pérez-Mateos M, Montero P ve Gómez-Guillén M.C. 2002. Addition of Microbial Transglutaminase ve Protease Inhibitors to Improve Gel Properties of Frozen Squid Muscle. *Eur Food Res Technol*, 214:377-381.

- Piersma S.R, Pijpekamp A, Wijngaards G, Gruppen H ve Boumans H. 2002. Quantitation ve Localisation of (*in vitro*) Transglutaminase-catalysed Glutamine Hydroxylation Using Mass Spectrometry. *Enzyme ve Microbial Technology*, 30:266-272.
- Pietrasik Z ve Li-Chan E.C.Y. 2002. Respons Surface Metodology Study on the Effects of Salt, Microbial Transglutaminase ve Heating Temperature on Pork Batter Gel Properties. *Food Research International*, 35:387-396.
- Pietrasik Z. 2003. Binding ve Textural Properties of Beef Gels Processed with κ -carrageenan, Egg Albumin ve Microbial Transglutaminase. *Meat Science*, 63: 317-324.
- Pietrasik Z ve Jarmoluk A. 2003. Effect of Sodium Caseinate ve κ -carrageenan on Binding ve Textural Properties of Pork Muscle Gels Enhanced by Microbial Transglutaminase Addition. *Food Research International*, 36:285-294.
- Ramírez J.A, Rodríguez-Sosa R, Morales O.G ve Vázquez M. 2000. Surumi Gels from Striped Mullet (*Mugil cephalus*) Employing Microbial Transglutaminase. *Food Chemistry*, 70:443-449.
- Ramírez J, Uresti R, Téllez S ve Vázquez M. 2002. Using Salt ve Microbial Transglutaminase as Binding Agents in Restructured Fish Products Resembling Hams. *Journal of Food Sci*,67:1778-1784.
- Ruiz-Carrascal J ve Regenstein J. 2002. Emulsion Stability ve Water Uptake Ability of Chicken Breast Muscle Proteins as Affected by Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*,67(2):734-739.
- Schut J. 1976. *Food Emulsions* (Ed:Stig Friberg). *Food Science*, Marcel Dekker Inc., 453s, New York.
- Sharma R, Lorenza P.C ve Qvist K.B. 2001. Influence of Transglutaminase treatment of Skim Milk on the Formation of ϵ -(γ -glutamyl)lysine ve the Susceptibility of Individual Proteins Towards Crosslinking. *International Dairy Journal*, 11:785-793.
- Sharma R, Zakora M ve Qvist K.B. 2002. Characteristics of Oil-water Emulsions Stabilised by an Industrial α -lactalbumin concentrate, Cross-linked Before ve After Emulsification, by a Microbial Transglutaminase. *Food Chemistry*, 79:493-500.
- Téllez-Luis S, Uresti R.M, Ramírez J.A ve Vázquez M. 2002. Low-salt Restructured Fish Products Using Microbial Transglutaminase as Binding Agent. *J Sci Food Agric*, 82:953-959.
- Tsao C.-Y, Kao Y.-C, Hsieh J.-F ve Jiang S.-T. 2002. Use of Soy Protein ve Microbial Transglutaminase as a Binder in Low-sodium Restructured Meats. *Journal of Food Science*, 67(9):3502-3506.
- Tseng T-F, Liu D-C ve Chen M.T. 2000. Evaluation of Transglutaminase on the Quality of Low-salt Chicken Meat-balls. *Meat Science*, 55:427-431.
- Tseng T-F, Chen M-T ve Liu D-C. 2002. Purification of Transglutaminase ve its Effects on Myosin Heavy Chain ve Actin of Spent Hens. *Meat Science*, 60:267-270.
- Tseng C.-S ve Lai H.-M. 2002. Physicochemical Properties of Wheat Flour Dough Modified by Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 67(2):750-755.
- Yıldırım M ve Hettiarachchy N.S. 1998. Properties of Films Produced by Cross-linking Whey Proteins ve 11S Globulin Using Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 63(2):248-252.
- Yokoyama K, Ohtsuka T, Kuraishi C, Ono K, Kita Y, Arakawa T ve Ejima D. 2003. Gelation of Food Protein Induced by Recombinant Microbial Transglutaminase. *Journal of Food Science*, 66(1):48-51.
- Yongsawatdigul J, Worratao A, ve Park J.W. 2002. Effect of Endogenous Transglutaminase on Threadfin Bream Surimi Gelation. *Journal of Food Science*, 67(9):3258-3263.
- Zhu Y, Rinzema A, Tramper J ve Bol J. 1995. Microbial Transglutaminase-Rewiev of Its Production ve Application in Food Processing. *Appl Microbiol Biotechnol*,44:277-282.
- Zorba Ö, Gökalp H.Y, Yetim H ve Ockerman H.W. 1993. Model System Evaluations of the Effects of Different Levels of K_2HPO_4 , NaCl ve Oil Temperature on Emulsion Stability ve Viscosity of Fresh ve Frozen Turkish Style Meat Emulsions. *Meat Science*, 34: 145-161.