

## **Kapiler Elektforez Tekniđi ve Gıda Analizlerinde Kullanım Olanakları - Tahıl Proteinlerinin Analizine Getirdiđi Açılımlar**

Barçın Karakaş\*, Muharrem Certel

Akdeniz Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliđi Bölümü, Antalya

\* barcink@akdeniz.edu.tr

### **Özet**

Kapiler elektforez tekniği diğer kromatografik yöntemlerle kıyaslandığında nispeten daha yenidir ve gıda araştırmalarında giderek artan bir ilgi görmektedir. Kapiler elektforez, özünde kapiler boru içersinde gerçekleştirilen elektforez olmakla birlikte son yıllarda çeşitli gelişmelerle kapiler bölge elektforezi, kapiler jel elektforezi, miselli elektrokinetik kapiler elektrokromatografi ve kapiler elektrokromatografi gibi yeni tekniklerle teknolojisi geliştirilmiştir. Bu derlemede kapiler elektforez yöntemleri, sağladıkları avantajlar ve bu analiz tekniklerinin tahıl proteinlerinin analizinde kullanımını ile ilgili literatür bilgileri özetlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Kapiler elektforez, tahıl proteinleri

### **Giriş**

Elektforez yük taşıyan kimyasal maddelerin elektrik alan içinde hareketidir. Bu hareketi etkileyen faktörler analiz edilen örneğin elektforetik hareketliliği ( $\mu_{ep}$ ), çözeltinin elektroosmotik akışı (electroosmotic flow, EOF) ve Joule ısınmasıdır. Bu parametreler kullanılarak örnek bileşenleri birbirinden ayrılır (1).

Kapiler elektforez (CE) kılcal boru içinde gerçekleştirilen elektforezdir. Bu yöntem, hem büyük hem de küçük moleküllerin ayrımını sağlayabilen mevcut en verimli yöntemdir. Konvansiyonel elektforezden kılcal boru içinde elektforeze geçiş gaz kromatografisi teknikleri için geliştirilen düşük maliyetli, dar iç-çaplı kılcal boruların üretilmesiyle ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi yöntemleri için yüksek hassasiyetli açık-hat (on-line) tanı yöntemlerinin geliştirilmesiyle mümkün olmuştur (2).

Kapiler elektforeze has olumlu özellikler; geniş analitik çeşitlilik, yüksek verimli ayırım, yüksek kütle duyarlılığı, son derece düşük örnek hacimleriyle çalışma olanağı, düşük analiz süreleri (genellikle <30 dak), çözgen (tampon çözelti) ve diğer sarf malzemelerin (kapiler borular vb.) asgari düzeyde kullanımını, ileri tanı sistemleriyle (kütle spektroskopisi gibi) uyumluluk ve temel cihaz kurgusunun basitliği şeklinde sıralanabilir (3).

## Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Sağladığı yüksek verim ve seçicilik sayesinde CE, gıda, ilaç, çevre, adli tıp, biyoloji gibi pek çok araştırma alanında başarıyla kullanılmaktadır. CE protein, peptit ve amino asit dizilimleri, tek hücre analizleri ve DNA dizilim, gen mutasyonu, v.b. genetik araştırmalarda da kullanılmaktadır. Genel istisna olarak lipidlerin dışında pek çok gıda bileşeninin analizi CE ile yapılabilmektedir (4).

CE'in otomatik örnek muamele üniteleri veya diğer analiz yöntemleriyle birleştirilmesi ve otomatik kalibrasyonun yapılabilmesiyle CE'nin rutin gıda analizlerin kullanım imkanı artacaktır. Böylece gerekli olan hassasiyet ve seçicilik sağlanarak daha az sürede daha fazla analiz gerçekleştirilebilecek, kesinlik yanısıra, çalışanlar için daha güvenli bir ortam da temin edilebilecektir (5).

Son yirmi yıldır gıda kimyacılarının kullanımına sunulan analiz yöntemlerinin sayısı üssel artış göstermiş, kapiler elektroforez yöntemi de çeşitli uyarlamalarla geliştirilmiştir. Çeşitli CE yöntemleri Çizelge 1'de özetlenmiştir.

Çizelge 1 CE yöntemleri ve çalışma prensipleri

<b>CE Yöntemi</b>	<b>Tarifi</b>
Kapiler bölge elektroforezi (Capillary Zone Electrophoresis, CZE)	Ayırma, çözünenlerin elektroforetik hareketliliklerine bağlı olarak gerçekleşir ve kapiler içerisinde elektroforetik tampon içinde çözünmüş iyonik türlerin farklı hızlarla göç etmelerine dayanır.
Kapiler jel elektroforezi (Capillary Gel Electrophoresis, CGE)	Ayırma çözünenlerin büyüklüklerine bağlı olarak, çapraz-bağlanmış yapılı jel ile doldurulmuş kapiler içindeki deliklerden geçmeleriyle olur.
Miselli elektrokinetik kapiler elektro-kromatografi (Micellar Electrokinetic Capillary Chromatography, MECK)	Temel ayırma mekanizması çözünenlerin miselli faz ile çözgen fazı arasındaki paylaşma dayanır. CE'de bu yöntem sayesinde yük taşıyan moleküller birbirinden ayrılabilirdiği gibi, nötr moleküllerin ayrımı da mümkün olabilmektedir.
Kapiler elektrokromatografi (Capillary Electrochromatography, CEC)	Kapiler boru kromatografik dolgu maddesi (yada durağan faz) ile doldurulmuş veya kaplanmış. Kılcal boru içindeki akış elektroosmotik akış sayesinde (kimi zaman basınç takviyesi de kullanılarak) temin edilir. Kolondaki <i>tutunma süresi</i> elektroforetik göç ve kromatografik tutunmanın bir bileşimi olarak belirlenir.
Kapiler izoelektrik odaklama (Capillary isoelectric focusing, CIEF)	Amfoter maddelerin izoelektrik noktalarına göre veya pI değerlerine göre ayrımı sağlanır. Elektrik alan uygulanacak kolon boyunca pH meyili oluşturulur.
Kapiler izotakofores (Capillary Isotachopheresis,	Ayırma sürekli olmayan tampon çözelti içinde, çözünenlerin elektroforetik hareketliliklerine bağlı

---

CITP)	olarak hareket etmelerine dayalı olarak gerçekleşir. Bu şekilde iki çözgen arasında aynı hızlarda ilerleyen bir dizi bitişik bölge (örnek bölgeleri) oluşur.
-------	--

---

\* Tarifler yapılırken (7) kullanılmıştır.

### **Tahıl Proteinlerinin Analizinde CE**

Tahıllar, hem besin öğeleri hem de ekonomik değer bakımından önemlidir ve pek çok gıda ve yem maddesinin ana bileşenleridir. Fonksiyonel ve besinsel işlevlerinden dolayı CE ile tahıl proteinlerinin analizi çok ilgi görmüştür (5, 6).

Proteinler ve peptidler doğal *pI*-değerlerinden farklı olan pH'larda net yük taşıyıcı, yani nadiren nötrdür. Ayrıca pek çok peptid ve bütün proteinler yapılarında hidrofobik kalıntılar barındırır. Kapiler elektroforez yüklü ve hidrofobik özellikler taşıyan bu bileşik gurubu için ideal analiz yöntemlerindedir (8). Tahıl proteinlerinin HPCE (9, 10) ile ve CEC (8) ile analizi üzerine yayınlanmış detaylı derlemeler mevcuttur.

Tahıl proteinlerinin analizi çeşitli amaçlara yönelik olarak yapılabilmektedir. Pek çok çalışmada tahıl türlerinin genotipinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Her türe ait proteinlerin (prolaminler) kendine has "parmak izleri" olmakta, bu şekilde örneğin hangi türe ait olduğu tespit edilebilmektedir. Tahıl proteinleri ile son ürün kalitesi arasındaki ilişkiler araştırılırken CE kullanılmaktadır. Örneğin buğday kalitesini belirlemede önemli bir faktör olan buğday sertliğine ilişkin bilgi edinilebilmesi amacıyla buğday proteinleri analiz edilmektedir. Son yıllarda tahıl proteinlerinin analizinde CE'nin kullanıldığı çalışmalar arasında genetik modifikasyon varlığının tespiti ve enzim aktivitelerinin tayini de yer almaktadır. Son yıllarda tahıl proteinlerinin analizi üzerine gerçekleştirilmiş bazı çalışmalar Çizelge 2'de verilmiştir.

Kapiler elektroforez yöntemleri her geçen gün geliştirilmektedir ve analizler kolaylaşmaktadır. Yakın bir zaman içinde CE'nin rutin analizlerde kullanılır hale geleceği kuşkusuzdur.

Çizelge 2. Tahıl proteinlerinin analizinde kullanılan bazı CE uygulamaları

---

<b>Örnek</b>	<b>Yöntem</b>	<b>Uygulama alanı</b>	<b>Kaynak</b>
Buğday	CZE	Genotip tayini; Kalite özelliklerinin belirlenmesi	11, 12 13
Buğday	SDS-CE	Genotip tayini; kalite özelliklerinin belirlenmesi/ıslah	14, 15, 16
Buğday	CZE/RP-HPLC	Yakın varyantlar arasında ayırım	17
Buğday	CZE-PCR	Kalite özelliklerinin belirlenmesi ve ıslah	18

---

## Türkiye 9. Gıda Kongresi; 24-26 Mayıs 2006, Bolu

Buğday	A-CE <sup>2</sup>	Alt türlerin ayrımı	19
Mısır	CZE-LIF <sup>1</sup>	Genotip ve genetik modifikasyon tayini	20, 21
Pirinç	SDS-CE	Enzim aktivitesi	22
Arpa	CZE	Genotip tayini	23

<sup>1</sup> LIF: lazer teşvikli floresan dedektör

<sup>2</sup> A-CE: Asidik CE (asidik tamponla yürütülen CE)

### **Kaynaklar**

1. Manz A. 2003. Electrophoresis. *Bioanalytical Chemistry*. World Science Pub. Co., Inc. s47-84.
2. Xu Y. 1996. *The Chemical Educator*. 1 (2): 1-14.
3. Tagliaro F, Dely Z, Mikšik I, Ulfelder KJ. 1998. Concepts and principles of high performance capillary electrophoresis. HPLC in Enzymatic Analysis (Ed: Rossomando, E.) John Wiley & Sons, NY.
4. Dong Y. 1999. *Trends in Food Science & Technology*. 10: 87-93.
5. Castañeda G, Rodríguez-Flores J, Ríos A. 2005. *J. Sep. Sci.* 28: 915-924.
6. Bean SR, Lookhart GL. 2000. *J. Chromatogr. A*. 881: 23-36.
7. Reikkola M, Jönsson JA, Smith RM. 2004. *Pure Appl. Chem.* 76 (2): 443-451.
8. Bandilla D., Skinner CD. 2004. *J. Chromatogr. A*. 1044: 113-129.
9. Bean SR, Lookhart GL. 2001. *Electrophoresis*. 22: 1503-1509.
10. Bean SR, Bietz JA, Lookhart GL. 1998. *J. Chromatogr. A*. 814: 25-41.
11. Bietz JA, Schmalzried E, 1995. *Lebensm. Wissensch. Technol.* 28: 174-184.
12. Lookhart GL, Bean SR. 1996. *Cereal Chem.* 73: 81-87.
13. Sebastiano R, Simo-Alfonso EF, Cittero A, Ramis-Ramos G. 2004. *Electrophoresis*. 25: 2970-2977.
14. Zhu J, Khan K. 2001. *Cereal Chem.* 78: 737-742.
15. Bean SR, Lookhart GL. 1999. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4246-4255.
16. Sutton KH, Bietz JA. 1997. *J. Cereal Sci.* 25: 9-16.
17. Bean SR, Lookhart GL. 1997. *Cereal Chem.* 74: 758-780.
18. Salmanowicz ve Moczulski, 2004. *J. Chromatogr. A*. 1032: 313-318.
19. Yan Y, Jiang Y, Sun M, Yu J, Xiao Y, Zheng J, Hu Y, Cai M, Li Y, Hsam SLK, Zeller F. 2004. *Cereal Chem.* 81:561-566.
20. Garcia-Canas V, Gonzalez R, Cifuentes A. 2004. *Electrophoresis*. 25: 2219-2226.
21. Garcia-Canas V, Gonzalez R, Cifuentes A. 2002. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4497.
22. Watanabe T, Yamamoto A, Nagai S, Terabe S. 1998. *Electrophoresis*. 19: 2331-37.
23. Lookhart GL, Bean SR, Jones BL. 1999. *Electrophoresis*. 20: 1605-1612.