

Soya Esaslı Ürünlerde Protein Denatürasyonunun İki Farklı Yöntem ile İncelenmesi

Dilara Nilüfer*, Dilek Boyacıoğlu

İTÜ Kimya-Metalurji Fak., Gıda Müh. Bölümü, Maslak, İstanbul

* niluferd@itu.edu.tr

Özet

Buğday unu, yağsız soya unu, soya sütü tozu ve iki farklı soya protein izolatında protein fraksiyonları SDS-PAGE ve DSC metotları ile incelenmiştir. SDS-PAGE paternleri incelendiğinde tahminlenen molekül ağırlığına göre temel olarak glisinin ve β -konglisinin fraksiyonları gözlenmiştir. Soya ve buğday unları arasındaki farklılık dışında örnekler arasındaki elektroforetik paternlerde çok belirgin bir farklılık olmamakla birlikte soya protein izolatının (SPI) birinde kısmen denatüre olmuş soya proteini olarak β -konglisinin α' alt ünitesi tespit edilememiştir. Soya sütü tozunda ise hem glisinin hem de β -konglisinin fraksiyonları daha zayıf bantlar olarak görülmektedir. Soya ununda da, denatüre olmamış soya protein izolatına göre daha zayıf bantlar elde edilmiştir. DSC çalışmalarından da soya sütü tozunda β -konglisinin fraksiyonunun soya unu ve SPI'lara göre kısmen denatüre olduğu görülmektedir. Soya unu ve soya sütü tozunda glisine ait DSC piklerinin zayıflığı da sonuçları doğrulamaktadır. Denatüre olmuş ve denatüre olmamış soya proteini izolatları ve denatürasyona uğrayan soya unu ve soya sütü tozu her iki yöntem ile ayırt edilebilmiştir.

Anahtar kelimeler: Soya, protein, denatürasyon, DSC, SDS-PAGE

Giriş

Soya proteini ürünleri 1960'lı yıllardan bu yana besleyici ve fonksiyonel gıda ingrediye olarak çeşitli gıda ürünleri ile tüketiciye ulaşmaktadır. En yaygın olarak tüketilen soya esaslı ingrediye soya unu, soya sütü, soya protein izolatı ve soya proteini konsantresidir. Soya proteini ürünlerine olan eğilimin başlıca nedeni ekonomik olmasının ve yaygın olarak bulunmasının yanı sıra emülsifikasyon, bağlama, ve doku oluşturma gibi çeşitli fonksiyonel özelliklerine olmaktadır. Besinsel değeri ve sağlığa olan etkileri nedeniyle soya proteini Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmıştır (1, 2). Sedimentasyon özelliklerine bağlı olarak soya proteinleri fraksiyonları 4 ana sınıfta toplanmaktadır: 2S, 7S, 11S ve 15S. Bunların bulunma oranları sırasıyla toplam proteinin %8, %35, %52 ve %5'i olmaktadır. Bu nedenle üzerinde sıklıkla çalışılan soya proteini fraksiyonları β -konglisinin (7S) ve

glisinin (11S)'dir (2). Bu proteinlerin termal denatürasyon ve özelliklerindeki değişimler birçok araştırmaya konu olmuştur. Etkin bir seçici termal denatürasyon ile, birçok soya içeren ürünün (tofu, soya sütü vb.) viskozite, fiziksel özellikler ve fonksiyonel özellikleri değiştirilebilmektedir (3). Bu çalışmada; soya proteini ürünlerinde meydana gelen denatürasyonların incelenmesinde SDS-PAGE ve DSC metotlarının sonuçları karşılaştırılmakta ve analizlenen soya esaslı ingrediyenlerdeki soya proteini denatürasyonunun belirlenmesi amaçlanmaktadır.

Materyal ve Yöntem

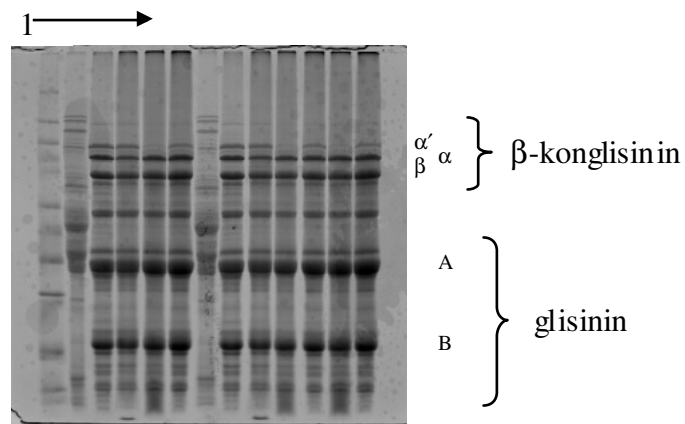
Analizlenen ingrediyenler; soya unu (ADM Ingredients, ABD), buğday unu, soya sütü tozu (Devansoy, ABD), soya protein izolatları; SPI 1 PROLISSE TM (Cargill Inc., ABD) ve SPI 2 PROFAM 891 (ADM Ingredients, ABD) olarak seçilmiştir. DSC termogramları DSC 2920 (TA instruments New Castle, ABD) cihazı yardımı ile azot gazı altında elde edilmiştir. Örnekler (10 mg) hermetikli alüminyum tavacıklarda protein denatürasyonunu incelemek amacıyla DSC ile -60 °C'dan 150 °C'e 5 °C/dk hızda ısıtılmış, 140 °C ye ulaştıktan sonra numune oda sıcaklığına dek hızla soğutulmuş ve tekrar analizlenmiştir. Hiçbir endotermik tepki olmaması dönüşümsüz protein denatürasyonun gerçekleştiğini göstermektedir (4). Numuneler (25 mg) 1 ml ekstraksiyon suyu çözeltisi içerisinde karıştırılmış, 100 °C'de 3 dk blok ısıtıcıda bekletilmiş ve 13000 rpm hızda 5 dk santrifüjlenmiştir. SDS içerisinde PAGE 20 °C'de sabit akımda 25 mA tek bir jel için 4 saat olarak uygulanmıştır. Protein marker 6500-205000 Da molekül ağırlığı aralığındaki proteinlerin saptanmasına olanak vermiştir. Numuneler jellere 8,10 ve 12.5 µl olarak Çizelge 1'deki sırada verilmiş ve ayırım sonrası jeller Coomassie Brilliant Blue boya çözeltisinde boyanmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

Çizelge 1 : SDS-PAGE uygulanan örnekler ve sıraları

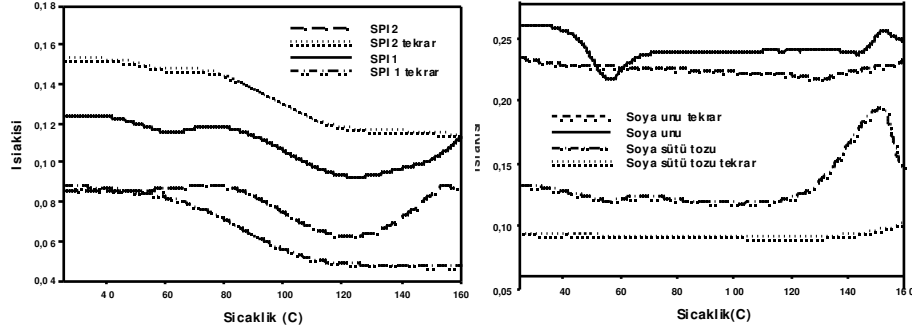
Sıra	Numuneler	Sıra	Numuneler
1	-	9	Soya unu (10 µl)
2	Marker (12 µl)	10	Soya sütü tozu (12,5 µl)
3	Buğday Unu (10 µl)	11	Soya proteini izolatı 2 (8 µl)
4	Soya unu (10 µl)	12	Soya proteini izolatı 1 (8 µl)
5	Soya sütü tozu (12,5 µl)	13	Soya proteini izolatı 2 (10µl)
6	Soya proteini izolatı 2 (10µl)	14	Soya proteini izolatı 1 (10µl)
7	Soya proteini izolatı 1 (10µl)	15	-
8	Buğday Unu (10 µl)		

Bulgular ve Tartışma

Şekil 1'de buğday unu, yağsız soya unu, soya sütü tozu, iki farklı soya protein izolatına (SPI2 Profam 891 ve SPI1 Prolisse) ait SDS-PAGE patemi görülmektedir. 7S proteinleri 66 KDa ve 84 KDa aralığında, 11S proteinleri ise 36 KDa altındadır (5). Tahminlenen molekül ağırlığına göre glisinin ve β -konglisinin fraksiyonları gözlenmiştir. β -konglisinin alt üniteleri ise α , α' , ve β olarak verilmiştir. Glisinin asidik ve bazik alt-üniteleri sırasıyla A ve B olarak belirtilmiştir. Bu sonuçlar diğer literatür verileri ile benzerlik göstermektedir (6, 7). Soya ve buğday unları arasındaki farklılık dışında örnekler arasındaki elektroforetik paternlerde çok belirgin bir farklılık olmamakla birlikte, daha önce kısmen denatüre olmuş soya proteini olarak saptanan SPI 1 numunesinde β -konglisinin α' alt ünitesi tespit edilememiştir. Soya sütü tozunda da β -konglisinin fraksiyonları daha zayıf bantlar olarak görülmektedir. Glisinin fraksiyonlarında ise, soya sütü tozunun daha zayıf bantlar verdiği görülmüştür, kısmen denatürasyonun göstergesi olabilmektedir. Soya ununda da denatüre olmamış SPI'na göre daha zayıf bantlar elde edilmiştir. SPI'lar DSC ile analizlendiğinde, soya proteinlerinin 7S ve 11S fraksiyonları 60-70 °C ve 110-120 °C civarlarında iki endotermik pik olarak elde edilmiştir. İlk pik β -konglisinin ait olup ikinci büyük endotermik pik glisinin denatürasyon pikidir (3). Soya sütü tozu numunesi için ise bu fraksiyonlar soya ununa kıyasla daha küçük pikler halinde elde edilmiş olup, kısmen denatüre proteinlere sahip oldukları tespit edilmiştir. Denatüre olmuş ve denatüre olmamış SPI'ları DSC sonuçları ile ayırt edilebilmiştir (Şekil 2). Soya sütü tozunda β -konglisinin fraksiyonunun, soya unu ve SPI'lara göre kısmen denatüre olduğu açıkça görülmektedir. Soya unu ve soya sütü tozunda glisine ait DSC piklerinin zayıflığı da sonuçları doğrulamaktadır.



Şekil 1. SDS-PAGE elektroforetigramı



Şekil 2. Proteinlerin DSC ile analizlenmesi a) SPI 1 ve SPI 2 b) soya unu ve soya sütü tozu

Sonuç

SDS-PAGE ve DSC ile yapılan denatürasyon tespitlerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Soya içeren fonksiyonel gıda formülasyonlarının yaratılmasında amaca uygun ingrediyenin seçilmesinin bu veriler ışığında daha kolay olacağı düşünülmektedir.

Teşekkür

SDS-PAGE analizlerine yardımlarından ötürü H.Ü. Gıda Müh. Bölümü'nden Prof. Dr. Hamit Köksel ve Ar. Gör. Burcu Olanca'ya teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- 1.Endres JG. 2001. Historical Aspects. In *Soy Protein Products: Characteristics, Nutritional Aspects and Utilization*, JG Endres (ed),pp.2-4, AOCS Press, Champaign.
- 2.Khatib KA, Herald TJ, Aramouni FM, Macritchie F, Schapaugh WT. 2002. Characterization & functional properties of soy β -conglycinin & glycinin of selected genotypes. *J of Food Sci*, 67(8): 2923-2929.
- 3.Liu Z, Chang SKC, Li L, Tatsumi E. 2004. Effect of selective thermal denaturation of soy proteins on soymilk viscosity tofu's physical properties.*Food Res Int*, 37:815-822.
- 4.Ma CY, Harwalker VR.1988.Studies of thermal denaturation of oat globulin by differential scanning calorimetry. *J of Food Sci*,53:531-534.
- 5.Basman A, Köksel H, Ng PKW. 2002. Effects of transglutaminase on SDS-PAGE patterns of wheat, soy and barley proteins their blends. *J of Food Sci*,67(7):2654-2658.
- 6.Ma CY, Liu WS, Kwok KC, Kwok F. 1997. Isolation and characterization of proteins from soymilk residue. *Food Res Int*, 29: 799-805.
- 7.Riblett AL, Herald TJ, Schmidt KA, Tilley KA. 2001.Characterization of β -conglycinin & glycinin soy protein fractions from four selected soy genotypes. *J Agric & Food Chem*, 49: 4983-4989.