



# Basit Şekerler ile Glike Edilmiş Soya Proteinini İzolatının Hidrasyon Davranışının Zamansal Alanda NMR Relaksometre Tekniği ile İncelenmesi



Serap Namlı\*, Gülüm Şumnu, Mecit Halil Öztop

Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği, Ankara, Türkiye, 06800

## ÖZET

Jelleşme, emülgatör özelliği gösterme, su ve yağ tutma kapasitesi bakımından iyi işleme kabiliyetine sahip olan soya proteini gıda endüstrisinde önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle, soya proteininin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Şekerlerin karbonil grupları ile proteinlerin serbest amino grupları arasında gerçekleşen ve Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olarak da bilinen glikasyon, proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesine katkı sağlamaktadır. Bu çalışmada, soya proteini izolatının glikoz, fruktoz ve nadir şeker olan D-alüloz ile sulu ortamda glikasyonu farklı pH'larda gerçekleştirilmiştir (pH 7 ve pH 10). Glikasyon süresini kısaltmak amacıyla mikrodalga ile glikasyon yöntemi kullanılmıştır. Glikasyon sonucu oluşan ürünlerin hidrasyon davranışı Zamansal Alanda Nükleer Manyetik Rezonans (Time Domain-NMR) relaksometre tekniği kullanılarak incelenmiş ve  $T_2$  spin-spin gevşeme süreleri ölçülmüştür. Glikasyon öncesi ve sonrasında elde edilen gevşeme süreleri, soya proteini izolatının yapısında meydana gelen değişimler ve sistemdeki suyun hareketliliği hakkında önemli bilgiler vermiştir. Bu sonuçlara göre, pH 7'de glike edilen soya proteini izolatlarının  $T_2$  süresi artarken, pH 10'da glike edilen örneklerde  $T_2$  sürelerinin azaldığı görülmüştür. Buna göre, pH 7'de yapılan glikasyonun soya proteini izolatlarının hidrasyon yeteneğini azalttığı, pH 10'da yapılan glikasyonun ise hidrasyon yeteneğini arttırdığı çıkarımı yapılmıştır.

## GİRİŞ

Soya proteini, gıda endüstrisinde 1960'lardan beri besleyici ve fonksiyonel bir gıda bileşeni olarak kullanılan en popüler bitki bazlı proteinlerden biridir (Singh, Kumar, Sabapathy, & Bawa, 2008). Soya proteinlerinin zayıf fonksiyonel özellikleri, son yıllarda yapısal modifikasyonu alanındaki çalışmaları arttırmıştır. Herhangi bir kimyasal katalizör kullanımı olmaksızın proteinlerin indirgen şekerlerle konjugasyonu ile protein modifikasyonuna glikasyon adı verilmektedir. Maillard reaksiyonunun ilk basamakları olarak da bilinen glikasyon reaksiyonu temelde ısıtma ile hızlandırılan doğal bir reaksiyondur (Niu vd., 2011). Tıpkı Maillard reaksiyonunda olduğu gibi pH, sıcaklık, zaman, su aktivitesi ile protein ve şeker türü gibi iç ve dış faktörler de glike proteinlerin fonksiyonel ve fizikokimyasal özelliklerini etkilemektedir (Liu vd., 2012).

Zamansal alanda nükleer manyetik rezonans (TD-NMR), gıda örneklerinin kimyasal, yapısal ve moleküler durumları hakkında temel bilgiler sağlamaktadır. Enine gevşeme süresi olarak da bilinen spin-spin gevşeme süresi ( $T_2$  zamanı), enine manyetizasyonun sıfıra düşmesi için gereken süredir (Kırtıl & Öztop, 2016).  $T_2$  gevşeme süresi, sistemdeki su hareketliliğini ölçmek için kullanılabilir, bu sayede bir bileşenin hidrasyon davranışındaki değişiklikler yorumlanabilmektedir (Kırtıl vd., 2017). Bu nedenle  $T_2$  gevşeme süresi, gıda örneklerinin su içeriği ve su moleküllerinin komşu makromoleküller ile etkileşimleri hakkında bilgi sağlamaktadır ve glikasyon çalışmalarında protein-şeker etkileşimlerini anlamak için kullanılabilir (Kırtıl vd., 2014).

## YÖNTEM

### Soya Proteinini İzolatının Basit Şekerler ile Mikrodalga Glikasyonu



Ön çalışmalarla belirlenen konsantrasyonlarda soy protein izolatı (SPI) ve şekerler (glikoz, fruktoz ve D-alüloz) farklı pH'lardaki (pH 7 ve pH 10) 0.1 M fosfat tampon çözeltilerinde çözülmüştür (SPI:şeker oranı).



Hazırlanan karışımlar 210 W mikrodalga gücünde 4 dakika boyunca ısıtılmıştır. Mikrodalga ısıtmanın hemen sonrasında reaksiyonu durdurmak için buz banyosunda soğutulmuştur.



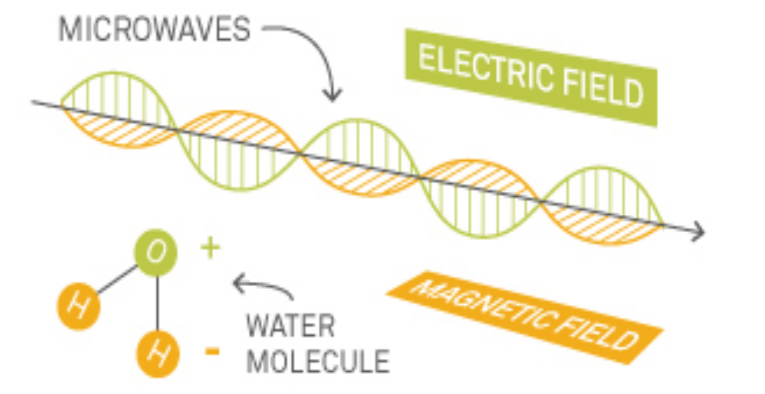
Hazırlanan örnekler  $-18^{\circ}$  C'de dondurulmuştur.



Dondurulan örnekler 48 saat boyunca liyofilize edilmiştir.



Elde edilen örnekler toz haline getirilerek analizlerde kullanılmıştır.



## SONUÇLAR

Tablo 1. pH 7'de glike edilen proteinin glikasyon öncesi ve sonrasındaki  $T_2$  gevşeme süreleri

Şeker Tipi	Glikasyon Öncesi	Glikasyon Sonrası
	$T_2$ (ms)	$T_2$ (ms)
Fruktoz	98.44 ± 0.10 <sup>d</sup>	192.55 ± 12.65 <sup>b</sup>
Glikoz	95.72 ± 0.08 <sup>d</sup>	161.71 ± 3.56 <sup>c</sup>
D-alüloz	99.30 ± 0.07 <sup>d</sup>	231.39 ± 13.24 <sup>a</sup>

- İstatistiksel analizler sonucunda pH 7'de yapılan glikasyonun proteinin  $T_2$  gevşeme süresini arttırdığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).
- Glikasyon aynı zamanda bir yoğunlaşma reaksiyonu da olduğundan reaksiyon sırasında su molekülleri sisteme bırakılmaktadır.
- pH 7'de serbest amino grubu ve indirgen şeker grubu analizlerinden elde edilen sonuçlara göre kısmi denatürasyonun olduğu belirlenmiştir ve denatürasyon, protein yapısının içindeki hidrofobik parçaları ortaya çıkarmaktadır.
- Bu sebeple,  $T_2$  gevşeme süresindeki artışın, su moleküllerinin hidroksil ve amino grupları ile kimyasal değişimi ve su moleküllerinin sisteme salınmasıyla ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (Öztop vd., 2010).
- Sonuç olarak, pH 7'de yapılan glikasyonun, proteinin hidrasyon yeteneğini azalttığı belirlenmiştir.

Tablo 2. pH 10'da glike edilen proteinin glikasyon öncesi ve sonrasındaki  $T_2$  gevşeme süreleri

Şeker Tipi	Glikasyon Öncesi	Glikasyon Sonrası
	$T_2$ (ms)	$T_2$ (ms)
Fruktoz	98.44 ± 0.10 <sup>a</sup>	88.38 ± 2.87 <sup>b</sup>
Glikoz	95.72 ± 0.08 <sup>a</sup>	97.40 ± 4.52 <sup>a</sup>
D-alüloz	99.30 ± 0.07 <sup>a</sup>	93.79 ± 3.37 <sup>ab</sup>

- İstatistiksel analizler sonucunda pH 10'da yapılan glikasyonun proteinin  $T_2$  gevşeme süresini azalttığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ).
- Yapılan deneylerde pH 10'da pH 7'dekine oranla daha fazla glikasyonun gerçekleştiği belirlenmiştir. Glikasyon sonucunda daha fazla suyun sisteme bırakılması beklenmesine rağmen  $T_2$  değerlerinde azalma görülmüştür.
- Yapılan analizlerde pH10'da daha kapsamlı gerçekleşen glikasyon reaksiyonunun Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarına geçtiği belirlenmiştir. Amadori dönüşümünde, Schiff bazı bileşiklerini üretmek için yapıya su eklemektedir. Bu nedenle Maillard reaksiyonunun sonraki aşamalarında su hareketliliğinin kısıtlandığı ve dolayısıyla  $T_2$  gevşeme sürelerinin azaldığı gözlemlenmiştir.
- Sonuç olarak, pH 10'da yapılan glikasyonun, proteinin hidrasyon yeteneğini arttırdığı belirlenmiştir.

## Kaynaklar

- Kırtıl, E., Öztop, M. H. 2016. "1H Nuclear Magnetic Resonance Relaxometry and Magnetic Resonance Imaging and Applications in Food Science and Processing". Food Engineering Reviews. Springer US.
- Kırtıl, E., Öztop, M. H., Sirijariyawat, A., Ngamchuachit, P., Barrett, D. M., McCarthy, M. J. 2014. "Effect of pectin methyl esterase (PME) and CaCl2 infusion on the cell integrity of fresh-cut and frozen-thawed mangoes: An NMR relaxometry study". Food Research International, 66, 409–416.
- Kırtıl, E., Tonyali, B., Aydogdu, A., Yıldız Bulut, E., Cilek Tatar, B., Öztop, M. H. 2017. "Visualisation of cakes differing in oil content with magnetic resonance imaging". International Journal of Food Properties, 20(1), S1025–S1036.
- Liu, J., Ru, Q., Ding, Y. 2012. "Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure, a review". Food Research International, 49(1), 170–183.
- Niu, L. Y., Jiang, S. T., Pan, L. J., Zhai, Y. S. 2011. "Characteristics and functional properties of wheat germ protein glycosylated with saccharides through Maillard reaction". International Journal of Food Science and Technology, 46(10), 2197–2203.
- Öztop, M. H., Rosenberg, M., Rosenberg, Y., McCarthy, K. L., McCarthy, M. J. 2010. "Magnetic resonance imaging (MRI) and relaxation spectrum analysis as methods to investigate swelling in whey protein gels". Journal of Food Science, 75(8).
- Singh, P., Kumar, R., Sabapathy, S. N., Bawa, A. S. 2008. "Functional and edible uses of soy protein products". Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 7(1), 14–28.

## Teşekkür

Bu araştırma, TÜBİTAK tarafından desteklenen Bezelye ve Soya Proteinleri ile Nadir Şekerin (D-psikoz) Mikrodalga Isıtma Tekniği Kullanarak Glikasyonu ve Glike Proteinlerin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi (Proje no: 118R048) isimli çalışmanın bir parçasıdır.