

155316

**TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİNİN
BUĞDAY, BUĞDAY-ARPA VE BUĞDAY-SOYA UNU KARIŞIMLARINDA
PROTEİNLER, HAMUR REOLOJİSİ VE EKMEK KALİTE KARAKTERİSTİKLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİ**

**EFFECTS OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME ON PROTEINS, DOUGH
RHEOLOGY AND BREAD QUALITY CHARACTERISTICS OF WHEAT FLOUR
AND BLENDS OF WHEAT-BARLEY AND WHEAT-SOY FLOURS**

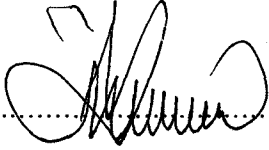
ARZU BAŞMAN

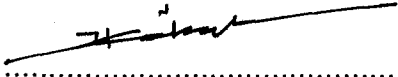
**Hacettepe Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.**


2004


Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne


Bu çalışma jürimiz tarafından GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI' nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan : 
Prof. Dr. Hazım ÖZKAYA

Üye 
Prof. Dr. Hamit KÖKSEL (Danışman)

Üye : 
Prof. Dr. Berrin ÖZKAYA

Üye : 
Doç. Dr. Gülüm ŞUMNU

Üye : 
Yrd. Doç. Dr. Ümran UYGUN

ONAY

Bu tez/....../2004 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

....../....../2004



Prof. Dr. Ahmet ÖZDURAL
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİNİN BUĞDAY, BUĞDAY-ARPA VE BUĞDAY-SOYA UNU KARIŞIMLARINDA PROTEİNLER, HAMUR REOLOJİSİ VE EKMEK KALİTE KARAKTERİSTİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Arzu Başman

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü

ÖZ

Transglutaminaz (TG) proteinlerin yapısındaki glutaminil ve lizil grupları arası kovalent çapraz bağların (disülfid dışı) oluşumunu katalizlemektedir. Bu çalışmada, TG nin buğday, soya, arpa, buğday-soya ve buğday-arpa proteinleri üzerine etkisi ile oluşan polimerler SDS-PAGE yöntemiyle incelenmiştir. Artan miktarlarda TG (%0.1-1.5 w/w) ilavesinin Roane ve Sharpshooter unlarının reolojik (farinograf, tekstür analizörü ile mikroekstensibilite testi, RVA sonuçları) ve ekmeklik özellikleri üzerine etkisi de incelenmiştir. Diğer amaç TG nin katalizlediği çapraz bağlama ile buğday ununa arpa veya soya unununun ekmek kalitesinde bozulma olmaksızın ilave edilebilme olasılığını araştırmaktır. Elektroforez sonucunda artan inkübasyon süresi ile çapraz bağlanmanın önemli derecede arttığı, bazı protein monomerlerinin kaybolduğu veya azaldığı gözlenmiştir. Densitometrik sonuçlar soya proteinlerinin TG için en iyi substrat olduğunu, arpa ve buğday proteinlerinin reaktivite açısından benzer olduğunu göstermiştir. Artan TG ilavesi ile farinograf su absorpsiyonu ve ekstensibilite değerleri azalmış ve Rmax değerleri artmıştır. Düşük seviyelerdeki TG nin ekmek kalitesini (kabuk ve ekmek içi karakteristikleri) düzeltici etkisi varken yüksek seviyelerde (%1 ve %1.5) olumsuz etkisi vardır. TG nin düşük ilave dozlarındaki olumlu etkisi yumuşak buğday çeşidi Roane de daha belirgindir. Artan miktarlarda arpa/soya unu (TG li veya TG siz) ilavesi her iki buğday ununda farinograf su absorpsiyonunu arttırmıştır. Artan seviyelerde TG ile bu karışımlarda hamur direnci artmış ve ekstensibilite azalmıştır. TG, çok az miktarda (%0.25, w/w) ilave edildiğinde bile, arpa unu ilave edilmiş ekmeklerin üretiminde oldukça umut vericidir fakat soya unu ilaveli ekmeklerin kalitesini önemli derecede düzeltmemiştir.

Anahtar Kelimeler: *transglutaminaz, buğday, arpa, soya, SDS-PAGE, hamur reolojisi, ekmek*

Danışman: Prof. Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü

EFFECTS OF TRANSGLUTAMINASE ENZYME ON PROTEINS, DOUGH RHEOLOGY AND BREAD QUALITY CHARACTERISTICS OF WHEAT FLOUR AND BLENDS OF WHEAT-BARLEY AND WHEAT-SOY FLOURS

Arzu Başman

Hacettepe University, Department of Food Engineering

ABSTRACT

Transglutaminase (TG) catalyzes the formation of nondisulfide covalent crosslinks between peptide-bound glutamyl residues and ϵ -amino groups of lysine residues in proteins. In this study, polymers created by the activity of TG on proteins of wheat, soy, barley, wheat-soy, and wheat-barley blends were investigated by SDS-PAGE. The effects of increasing levels of TG (0.1-1.5% w/w) on rheological (farinograph, microextensibility test with texture analyzer, RVA results) and baking properties of Roane and Sharpshooter flours were also investigated. Another objective was to investigate the possibility of incorporating barley or soy flour into wheat flour using TG-catalyzed crosslinking, without deterioration in bread quality. Electrophoretic results showed that with increasing incubation time, the crosslinking is substantially increased, with progressive decrease or disappearance of some protein monomers. Densitometric results indicated that soy proteins were the best substrates of TG while barley and wheat proteins were similar in reactivity. Farinograph water absorption and extensibility values decreased and R_{max} values increased with increasing TG levels. Low levels of TG had improving effects on bread quality (crust and crumb characteristics), while higher levels (1 and 1.5%) had detrimental effects. The improving effect of TG at lower addition levels was more evident for the soft wheat cultivar, Roane. Addition of increasing levels of barley/soy flour (with and without TG) increased farinograph water absorption in both wheat flours. For these blends, dough resistance increased and extensibility decreased with increasing levels of TG. TG showed great promise in processing of bread supplemented with barley flour; even at a very low level (0.25%, w/w), but did not notably improve the quality of soy flour-supplemented breads.

Keywords: *transglutaminase, wheat, barley, soy, SDS-PAGE, dough rheology, bread*

Advisor: Prof.Dr. Hamit KÖKSEL, Hacettepe University, Department of Food Engineering

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora çalışmalarım sırasında değerli görüş ve katkılarıyla beni yönlendiren, bilimsel çalışma etiğini ve grup çalışmasını bizzat yaşatarak öğretmek için sonsuz gayret gösteren, bugünlere gelmemde büyük emeği olan ve desteğini asla kaybetmek istemeyeceğim değerli hocam Sayın Prof. Dr. Hamit KÖKSEL' e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Doktora çalışmam sırasında Michigan State University Food Science and Human Nutrition Department da bana burslu araştırmacı olarak çalışma imkanı sağlayan, değerli görüş ve katkılarıyla beni yönlendiren Prof. Dr. Perry K.W. NG' e,

Tez izleme komitesi toplantılarındaki değerli katkılarından dolayı Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Sayın Prof. Dr. Hazım ÖZKAYA ve Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden Sayın Yrd. Doç. Dr. Ümran UYGUN'a,

Çalışmama maddi destek sağlayan Michigan Agricultural Experiment Station ve Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Merkezi'ne ve Ajinomoto Company' e,

Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Başkanı Sayın Prof. Dr. Ferhunde ŞAHBAZ şahsında Gıda Mühendisliği lisans eğitimim, yüksek lisans ve doktora çalışmalarım sırasında bilimsel gelişim sürecimde büyük emeği olan değerli hocalarıma,

Çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Cengiz CANER' e, Sayın Dr. Rajni MUJOO, Sayın Dianne TRINH, Sayın Ed TANHEHCO, Sayın Salih ÇETİN, Sayın Rıza ÇEVİK' e, denemelerimin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde değerli yardımlarını esirgemeyen Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü'nden Dr. Muzaffer AVCI'ya

Çalışmam süresince desteğiyle her zaman yanımda olan Hububat grubumuza
en içten teşekkürlerimi sunarım.

...VE

hayatım ve doktora çalışmam boyunca büyük destek ve yardımını gördüğüm hayattaki yegane varlığım canım abim Dr. Dt. Adil BAŞMAN' a sonsuz teşekkür ederim.

.... VE BU TEZİ

bugünümü sağlayan, tüm varlığımı borçlu olduğum ve 1 Aralık 2003 tarihine kadar hayatımı varlığıyla anlamlı kılan ve bundan sonra örnek bir insan ve başarılı bir akademisyen olarak adını ve anısını yaşatabileceğim canım anneciğim AHSEN BAŞMAN' a ve bugünlere ulaşmamızda sonsuz şevk kaynağımız olan okuma hedefini bize belleten aramızdan 1975 yılında erkenden ayrılan canım babacığım YAŞAR BAŞMAN' a gönülden teşekkürlerimi sunarak ithaf etmek istiyorum.

Arzu BAŞMAN

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
EKLER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1. Transglutaminaz Enziminin Özellikleri.....	3
2.2. Transglutaminazın Oluşturduğu ϵ -(γ -Glu)Lys Bağının Neden Olduğu Değişimler.....	5
2.2.1. Jel oluşturma.....	5
2.2.2. Viskozite.....	5
2.2.3. Termal stabilite.....	6
2.2.4. Su tutma kapasitesi.....	6
2.3. Transglutaminazın Kullanımının Yasal Durumu.....	6
2.4. Transglutaminazın Gıda Endüstrisinde Kullanımı.....	7
2.4.1. Transglutaminazın gluten ve hamurda kullanımı.....	8
2.4.2. Transglutaminazın fırıncılık ürünlerinde kullanımı.....	13
2.4.3. Transglutaminazın erişte ve makarnada kullanımı.....	15
2.4.4. Transglutaminazın soya ürünlerinde kullanımı.....	16
2.4.5. Transglutaminazın diğer kullanım alanları.....	18
2.5. Arpanın Hububat Endüstrisindeki Kullanım Alanları.....	18
2.6. Soyanın Hububat Endüstrisindeki Kullanım Alanları.....	21
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1. Materyal.....	25
3.2. Metot.....	25
3.2.1. Fiziksel yöntemler.....	25
3.2.1.1. Un verimi tayini.....	25
3.2.2. Kimyasal Yöntemler.....	26

3.2.2.1.	Rutubet miktarı tayini.....	26
3.2.2.2.	Kül miktarı tayini.....	26
3.2.2.3.	Protein miktarı tayini.....	26
3.2.2.4.	Zeleny sedimentasyon testi.....	26
3.2.2.5.	Transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi.....	27
3.2.2.6.	β -glukan analizi.....	27
3.2.3.	Elektroforetik özellikler.....	27
3.2.3.1.	Örnek hazırlama.....	27
3.2.3.2.	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE).....	28
3.2.3.3.	Elektroforez sonuçlarının densitometrik analizi.....	30
3.2.4.	Reolojik testler.....	30
3.2.4.1.	Farinograf araştırmaları.....	30
3.2.4.2.	Miksograf araştırmaları.....	30
3.2.4.3.	Mikroekstensibilite testi.....	31
3.2.4.4.	Mikroviskoanalizör (Rapid Visco Analyzer;RVA) araştırmaları.....	31
3.2.5.	Ekmek yapma denemesi.....	33
3.2.6.	Ekmek örneklerinin değerlendirilmesi.....	33
3.2.6.1.	Hacim ölçümü.....	33
3.2.6.2.	Ekmek içi sertliği tayini.....	33
3.2.6.3.	Ekmek örneklerinin duysal değerlendirmesi.....	34
3.2.7.	İstatistiksel Yöntemler.....	34
4.	ARAşTIRMA SONUÇLARI VE TARTIşMA.....	36
4.1.	Un Örneklerinin Kimyasal Özellikleri.....	36
4.2.	Transglutaminaz ile Polimer Oluşumunun Elektroforetik Olarak İncelenmesi	36
4.2.1.	Transglutaminazın buğday proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi.....	36
4.2.2.	Transglutaminazın soya proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi.....	39
4.2.3.	Transglutaminazın arpa proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi.....	40
4.2.4.	Transglutaminazın buğday-soya karışımlarında çapraz bağlanma üzerine etkisi.....	42

4.2.5.	Transglutaminazın buğday-arpa karışımlarında çapraz bağlanma üzerine etkisi.....	44
4.3.	Buğday Unlarına Artan Seviyelerde Transglutaminaz İlavesinin Etkisi	47
4.3.1.	Reolojik özellikler.....	47
4.3.1.1	Farinogram özellikleri.....	47
4.3.1.2	Mikroekstensibilite test sonuçları.....	47
4.3.1.3	Mikroviskoanalizör sonuçları.....	51
4.3.2	Transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi sonuçları.....	52
4.3.3.	Ekmek kalite karakteristikleri.....	52
4.3.4.	RVA parametreleri ile farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki ilişkiler.....	58
4.3.5.	Mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek hacim değerleri arasındaki ilişkiler.....	61
4.3.6.	İyi kalitede ekmek eldesi için optimum enzim miktarının saptanması.....	61
4. 4.	Buğday-Arpa Unu Karışımlarına Transglutaminaz İlavesinin Etkisi	64
4.4.1.	Reolojik özellikler.....	64
4.4.1.1.	Farinogram özellikleri.....	64
4.4.1.2.	Mikroekstensibilite test sonuçları.....	67
4.4.2.	Ekmek kalite karakteristikleri.....	72
4.5.	Buğday-Soya Unu Karışımlarına Transglutaminaz İlavesinin Etkisi	86
4.5.1.	Reolojik özellikler.....	86
4.5.1.1.	Farinogram özellikleri.....	86
4.5.1.2.	Mikroekstensibilite test sonuçları.....	89
4.5.2.	Ekmek kalite karakteristikleri.....	96
5.	SONUÇLAR.....	107
	KAYNAKLAR DİZİNİ.....	111
	EKLER.....	117
	ÖZGEÇMİŞ.....	119

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 4.1. TG ile muamele edilmiş (a) Roane unu ve (b) Sharpshooter unu SDS-PAGE desenleri	37
Şekil 4.2. TG ile muamele edilmiş (a) Soya unu ve (b) Arpa unu SDS-PAGE desenleri	41
Şekil 4.3. TG ile muamele edilmiş (a) Roane unu /soya unu karışımı and (b) Sharpshooter unu / soya unu karışımı SDS-PAGE desenleri	43
Şekil 4.4. TG ilave edilmiş a)Roane/arpa ununun ve b) Sharpshooter/arpa ununun SDS-PAGE desenleri	45
Şekil 4.5. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter buğday unlarına ait RVA test sonuçları	51
Şekil 4.6. Farklı seviyelerde Transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane çeşidine ait ekmekler üzerine etkisi.....	56
Şekil 4.7. Farklı seviyelerde Transglutaminaz enzimi ilavesinin Sharpshooter çeşidine ait ekmekler üzerine etkisi.....	57
Şekil 4.8. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin ekmek hacim değerlerine etkisi.....	62
Şekil 4.9. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin ekmek içi sertlik değerlerine etkisi.....	63
Şekil 4.10. Her iki buğday çeşidine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim.....	68
Şekil 4.11. Her iki buğday çeşidine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim.....	69
Şekil 4.12. Her iki buğday çeşidine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim.....	70
Şekil 4.13. Her iki buğday çeşidine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim.....	71

Şekil 4.14.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi.....	73
Şekil 4.15.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi.....	74
Şekil 4.16.	TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin her iki çeşitin ekmek hacim değerleri üzerine etkisi.....	75
Şekil 4.17.	TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin her iki çeşitin ekmek içi sertlik değerleri üzerine etkisi.....	77
Şekil 4.18.	Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Roane örneklerinin ekmek içi gözenek özellikleri üzerine etkisi.....	82
Şekil 4.19.	Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Sharpshooter örneklerinin ekmek içi gözenek özellikleri üzerine etkisi.....	83
Şekil 4.20.	Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Roane ekmek örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi...	84
Şekil 4.21.	Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Sharpshooter ekmek örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi.....	85
Şekil 4.22.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim.....	90
Şekil 4.23.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim.....	91
Şekil 4.24.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim.	92
Şekil 4.25.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim.	93
Şekil 4.26.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin alan değerlerindeki değişim.....	94

Şekil 4.27.	Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin alan değerlerindeki değişim.....	95
Şekil 4.28.	TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya ununun ekme hacim değerleri üzerine etkisi.....	97
Şekil 4.29.	TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya ununun ekme içi sertlik değerleri üzerine etkisi.....	98
Şekil 4.30.	Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Roane örneklerinin ekme içi gözenek özellikleri üzerine etkisi.....	102
Şekil 4.31.	Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Sharpshooter örneklerinin ekme içi gözenek özellikleri üzerine etkisi.....	104
Şekil 4.32.	Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Roane ekme örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi...	105
Şekil 4.33.	Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Sharpshooter ekme örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi.....	106

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 4.1. Buğday, soya, arpa ve karışımlarının (buğday/soya, buğday/arpa) inkübasyon süresine karşı densitometrik alanlarının lineer regresyonları.....	46
Çizelge 4.2. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş buğday unu örneklerinin farinogram özellikleri.....	48
Çizelge 4.3. Buğday unlarına farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilerek hazırlanan hamurlarda mikroekstensibilite test sonuçları	50
Çizelge 4.4. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter buğday unlarına ait transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi (ml) sonuçları.....	52
Çizelge 4.5. Farklı seviyelerde transglutaminaz ilave edilmiş buğday unlarından hazırlanan ekmeklerin kalite karakteristikleri	54
Çizelge 4.6. Farklı seviyelerde transglutaminaz ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter çeşitine ait unların RVA parametreleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) ile ekstensibilite test sonuçları, farinograf değerleri ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları (r değeri).....	59
Çizelge 4.7. Transglutaminaz (%0.00-%1.00 seviyesinde) ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter çeşitine ait unların RVA parametreleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) ile ekstensibilite test sonuçları, farinograf değerleri ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları (r değeri).....	60
Çizelge 4.8. Farklı seviyelerde arpa unu içeren buğday-arpa unu karışımının farinogram özellikleri.....	65
Çizelge 4.9. Transglutaminaz ve farklı seviyelerde arpa unu içeren buğday-arpa unu karışımının farinogram özellikleri.....	66
Çizelge 4.10. Enzim (TG) ilavesi ve arpa unu seviyesinin Roane ve Sharpshooter örneklerinin kabuk rengi ve ekmek içi karakteristikleri üzerine etkisinin iki faktörlü tesadüf blokları deneme deseni ANOVA sonuçları.....	78
Çizelge 4.11. Artan miktarlarda arpa unu ilavesinin enzim içeren ve içermeyen Roane ve Sharpshooter ekmek örneklerinin kalite özelliklerine etkisi.....	79
Çizelge 4.12. Farklı seviyelerde soya unu içeren buğday-soya unu karışımının farinogram özellikleri.....	87
Çizelge 4.13. Transglutaminaz ve farklı seviyelerde soya unu içeren buğday-soya unu karışımının farinogram özellikleri.....	88

Çizelge 4.14.	Enzim (TG) ilavesi ve soya unu seviyesinin Roane ve Sharpshooter örneklerinin kabuk rengi ve ekmek içi karakteristikleri üzerine etkisinin iki faktörlü tesadüf blokları deneme deseni ANOVA sonuçları.....	100
Çizelge 4.15.	Artan miktarlarda soya unu ilavesinin enzim içeren ve içermeyen Roane ve Sharpshooter ekmek örneklerinin kalite özelliklerine etkisi.....	101



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SDS-PAGE	: Sodyum Dodesilsülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi
TG	: Transglutaminaz
TA	: Tekstür analizörü
Rmax	: Maksimum direnç, uzamaya karşı direnç
E	: Ekstensibilite, hamur kopuncaya kadar ki uzayabilirliği
A	: Alan, kurvenin altında kalan alan
AACC	: (American Association of Cereal Chemists) Amerikan Hububat Kimyacıları Birliği
APS	: Amonyum Persülfat
TEMED	: Tetrametiletilendiamin
SDS	: Sodyum dodesilsülfat
ME	: 2-merkaptoetanol
LSD	: (Least Significance Difference) En Küçük Önemli Fark
HMW	: (High Molecular Weight) Yüksek Moleküler Ağırlıklı
LMW	: (Low Molecular Weight) Düşük Moleküler Ağırlıklı
ANOVA	: (Analysis of Variance) Varyans Analizi
w/w	: ağırlık/ağırlık
w/v	: ağırlık/hacim
v/v	: hacim/hacim
RVA	: (Rapid Visco Analyzer) mikroviskoanalizör

EKLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
EK 1. Roane buğday ununa ait RVA grafiği.....	117
EK 2. Sharpshooter buğday ununa ait RVA grafiği.....	118



1. GİRİŞ

Son yıllarda tüketicilerin beslenme konusunda daha bilinçli hale gelmesiyle değişen pazar isteklerini karşılayabilmek amacıyla gıda üreticileri formülasyon ve üretim tekniklerinde değişime yönelmişlerdir. Hedef; tat, tekstür ve görünüşü tüketici için arzu edilebilir düzeyde tutarak besinsel değeri arttırmaktır. Üretici ve tüketiciyi buluşturan tercih noktası ise doğal kaynaklarla zenginleştirilmiş gıdalardır. Bu anlamda çeşitli faydalarından dolayı ve ekonomik olmaları sebebiyle arpa ve soya fasülyesinin kullanım alanları genişletilmeye çalışılmaktadır. Soya fasülyesinin protein değerinin yüksekliği, içerdiği antikarsinogen maddeler sayesinde kolon, meme ve prostat gibi kanserleri önlemesi, karbonhidrat oranının az oluşu, hipokolesterolemik etki göstermesi ve dolayısıyla koroner kalp rahatsızlıklarını önlemesi, osteoporoz ve diyabet kontrolünde oldukça etkin rol oynaması kullanımının giderek artmasına sebep olmuştur (Riaz, 1999a-b). Arpa ise %2-10 oranında içerdiği β -glukan sayesinde hipoglisemik ve hipokolesterolemik ajan olarak etki göstermektedir (Klopfenstein, 1988; Newman et al., 1989; Hudson et al., 1992; Bhatti, 1995).

Yaygın tüketimleri sebebiyle hububat ürünleri bu kaynaklarca zenginleştirilme açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Ancak bu kaynaklardan elde edilen unların ekmeğe katılması hem üretimde hem de ürün kalitesinde bazı problemlere yol açmaktadır. Bu olumsuz etkiler arasında ekmeğin aromasında, yapısal ve fiziksel özelliklerinde meydana gelen olumsuz değişiklikler sayılabilir. Bu unlar gluten ağında kesiklikler yapmakta, hamurun gaz tutma kapasitesini azaltmakta, ekmeğin hacmi düşmekte ve ekmeğin içi gözenek yapısı bozulmaktadır (Jakubczyk and Haberowa, 1974; Ranhotra et al., 1974; Newman and McGuire, 1985; Knuckles et al., 1997). Ekmeğin yapımında buğday ununa yağsız soya unu ve arpa unu gibi ekonomik kaynakların ilavesi besinsel değeri arttırmaktadır. Ancak bu kaynakların ilave edilebilmesi için olumsuz etkilerinin giderilmesi gerekmektedir. Ekmeğin yapımında soya ununun neden olduğu benzer olumsuz etkiler doğal ve sentetik glikolipidlerin, potasyum bromat, gliseril monostearat ve sodyum stearoil-2-laktilat (SSL) ilavesi ile bir dereceye kadar giderilebilmektedir. Arpa unu ilavesinin olumsuz etkileri de gliseril monostearat ve kalsiyum stearoil laktilat ilave edilerek düzeltilmektedir.

Bu çalışmada son zamanlarda proteinlerin modifikasyonu amacıyla kullanılan transglutaminaz (TG) enziminin bu kaynakların (arpa unu, soya unu) hem ilave edilebilme oranını arttırmak hem de kalite üzerindeki muhtemel olumsuz etkilerini gidererek mevcut kaliteyi korumak veya iyileştirmek amacıyla kullanım olanakları araştırılmıştır.

Transglutaminaz, proteinlerin yapısındaki glutaminil ve lizil arasında kovalent çapraz bağlar oluşturur. Bu sayede tek bir kaynağın veya farklı kaynakların proteinleri arası çapraz bağlar oluşturarak proteinleri polimerize etmekte kullanılabilir. Çalışmalar TG nin süt, et, soya fasülyesi ve buğday gluteni gibi proteinlerin çapraz bağlanmasını katalizlediğini göstermiştir (Motoki and Seguro, 1998; Kuraishi et al., 1996, 2001). Bu çapraz bağın buğday gluten proteinlerindeki uygulaması buğdaydaki yüksek glutamin içeriğinden dolayı (yaklaşık toplam aminoasitlerin 1/3' ü) özellikle ilgi çekicidir. Ekmek yapımında geleneksel oksidan ajanlar yerine TG nin kullanılabilceği bildirilmiştir.

Bu çalışmada öncelikle buğday unu, soya unu, arpa unu ve bunların karışımlarında (buğday unu/yağsız soya unu ve buğday unu/arpa unu) proteinlerin TG etkisi ile birleşmeleri ve polimer oluşturmaları SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) tekniği ile incelenmiştir. Daha sonra buğday ununa artan miktarlarda TG (%0.1-1.5) ilavesinin hamur reolojisi, ekmek yapımı ve ekmek kalite karakteristiklerine etkisi belirlenmiştir. Reolojik özelliklerden farinogram karakteristikleri, Tekstür Analiz Cihazı ile belirlenen mikroekstensibilite testi değerleri ve mikroviskoanalizör (RVA) ile viskozite değişimleri incelenmiştir. Ekmekleri değerlendirmek amacıyla hacim değeri, ekmek içi sertlik değeri ve diğer ekmek kalite karakteristikleri (kabuk rengi, ekmek içi rengi ve ekmek içi gözenek yapısı) ele alınmıştır. Ekmek içi sertlik değerleri Tekstür Analiz Cihazında belirlenmiştir. Çalışmada ayrıca TG kullanımı ile zayıf ve kuvvetli buğday unlarına ilave edilen yağsız soya unu (%5-25) ve arpa unu (%10-50) miktarlarını kalite özelliklerini koruyarak artırma olanağı incelenmiştir. Bu örneklerin de hamur reolojik özellikleri ve ekmek kalite karakteristikleri incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Transglutaminaz Enziminin Özellikleri

Transglutaminaz (glutaminil-peptid:amin γ -glutamiltransferaz, E.C. 2.3.2.13) enzimi doğada yaygın olarak çeşitli hayvansal ve bitkisel dokularda bulunmaktadır (Zhu et al., 1995; Kuraishi et al., 1996, 2001; Motoki and Seguro, 1998). En çok bilinen transglutaminazlardan biri insan kanındaki faktör XIII dür. Faktör XIII fibrin molekülüleri arası çapraz bağlar yaparak kanamayı önlemekte ve fibrin polimerlerini stabilize etmektedir (Kuraishi et al., 1996, 2001). Transglutaminaz (TG) önceleri kobay karaciğerinden veya sığır plazmasından sınırlı düzeyde elde edilmekte idi. Ancak bu kaynaklardan elde edilen transglutaminazın ticari boyutta üretimi pratik değildir. 1989 yılında ise *Streptoverticillium* sp. den mikrobiyal transglutaminaz izole edilmiştir. Daha önceleri kullanılan aksine mikrobiyal transglutaminaz kalsiyum ilavesine ihtiyaç olmaksızın aktivite göstermektedir ve bu özelliği ile kullanımı daha pratiktir (Motoki and Seguro, 1998; Kuraishi et al., 2001; Gerrard, 2002). Bu özellik, Ca^{+2} a duyarlı süt kazeinleri, soya globülinleri ve miyozin gibi birçok gıda proteininin fonksiyonel özelliklerinin modifikasyonunda faydalı olmaktadır çünkü bu proteinler Ca^{+2} varlığında presipite olarak TG aktivitesinden daha az etkilenmektedirler. İndirgeyici ajanların bulunmadığı durumlarda Cu^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} ve Li^{+2} mikrobiyal transglutaminazı önemli seviyede inhibe etmektedir. Cu^{+2} , Zn^{+2} ve Pb^{+2} gibi metaller sistein deki tiol grubunu bağlamaktadır ve bu durum sisteinin mikrobiyal TG nin aktif kısmının bir parçası olduğu fikrini desteklemektedir (Motoki and Seguro, 1998).

Mikrobiyal transglutaminaz, geniş bir sıcaklık aralığında aktiftir ve birçok gıdanın işleme aralığı olan pH 5-9 aralığında stabildir (Kuraishi et al., 1996, 2001; Motoki and Seguro, 1998). Enzimatik aktivite için optimum sıcaklık $50^{\circ}C$ dir ve mikrobiyal transglutaminaz bu sıcaklıkta aktivitesini 10 dakika sürdürmektedir. $70^{\circ}C$ ye ısıtma durumunda ise aktivitesini birkaç dakikada kaybetmektedir (Motoki and Seguro, 1998).

Transglutaminazın katalizlediği reaksiyonlar şunlardır;

- Transglutaminaz, protein veya peptid bağlı glutaminil yapısındaki γ -karboksiamid ile primer amin arası açıl transfer reaksiyonunu katalizlemektedir.
- Transglutaminaz proteinlerin yapısındaki glutaminil ve lizil arası kovalent çapraz bağlar oluşturmaktadır.
- Uygun primer aminler olmadığında veya lizinin ϵ -amino grubunun bazı kimyasal ajanlarla bloke olması durumunda su, alıcı (acceptor) olarak kullanılmakta ve transglutaminazın deamidasyon tepkimesi ile glutaminil-glutamil dönüşümü sağlanmaktadır. Güvenilir ve yenilebilir özellikte uygun bir bloke edici ajan olmadığı için gıda endüstrisinde deamidasyon tepkimesi şu an pratikte kullanılamamaktadır (Zhu et al., 1995; Kuraishi et al., 1996, 2001; Motoki and Seguro, 1998; Gerrard, 2002).

Protein içeren gıda sistemlerinde transglutaminazın çapraz bağlama reaksiyonu öncelikli olarak gerçekleşmektedir. Bu reaksiyon gıda proteinlerinde çeşitli fiziksel değişimlere neden olmaktadır ve birçok çalışmada gıda proteinlerinin modifikasyonunda bu reaksiyonun nasıl kullanılabileceği araştırılmaktadır (Kuraishi et al., 2001). Birçok işlenmemiş (et, balık) ve işlenmiş (kızarmış tavuk, ızgara et, hamburger) gıda maddesinde transglutaminaz reaksiyonu sonucu oluşan ϵ -(γ -Glu)Lys çapraz bağları bulunmaktadır. Tüm ϵ -(γ -Glu)Lys çapraz bağları enzimatik tepkime sonrası oluşmamaktadır. Bazıları endojen transglutaminaz reaksiyonuna bağlı olarak oluşan doğal çapraz bağlardır (Kuraishi et al., 2001).

Pişme işlemi esnasında canlı organizmaların doku ve organlarında bulunan endojen TG den dolayı G-L bağları oluşmaktadır. Pişme işlemi esnasında sıcaklığın yavaş yükselmesinden dolayı TG bir süre aktivite gösterebilmektedir. Yani pişmiş veya işlenmiş gıdalar da endojen TG ye bağlı olarak G-L bağları içermektedir. Süt, yapısında endojen TG içermediği için G-L bağı da içermez. Endojen TG nin yanısıra ısıtma işlemi ile glutamat γ -karboksil grupları ve lizin ϵ -amino grupları arasında gerçekleşen kimyasal dehidrasyona bağlı olarak da G-L bağları oluşmaktadır. Bu bağlamda ϵ -(γ -Glu)Lys çapraz bağlarını içeren gıdalar uzun zamandan beri tüketilmektedir ve hem çapraz bağlı proteinlerin hem de ϵ -(γ -Glu)Lys deki lizinin vücutta metabolize edilebildiği doğrulanmıştır (Motoki and

Seguro, 1998; Kuraishi et al., 1996, 2001). Sonuç olarak, G-L nin uzun zamandan beri tüketimi TG kullanımının da güvenli oluşunu desteklemektedir.

2.2. Transglutaminazın Oluşturduğu ϵ -(γ -Glu)Lys Bağının Neden Olduğu Değişimler

2.2.1. Jel oluşturma

Transglutaminaz soya proteinleri, süt proteinleri, et, tavuk, balık jelatini ve miyozin gibi konsantre protein çözeltileri ile jel oluşturmaktadır (Motoki and Seguro, 1998). Jel oluşturmeyen bir protein çözeltisi transglutaminazın oluşturduğu çapraz bağlarla jel oluşturabilmektedir. Kendi kendine jel oluşturmeyen kazeinat çözeltisi pH 7 de ve 37°C de 5 ünite/g-protein seviyesinde mikrobiyal TG ile muamele edildiğinde jel oluşturmaktadır. Jel oluşturabilen bir proteinde ise TG etkisiyle daha sıkı jel oluşmaktadır. Bilindiği gibi soya proteinleri ve miyozin ısı işlemi ile jel oluşturmaktadır. Bu protein çözeltileri transglutaminaz ilave edilirse ısı işleme ihtiyacı olmaksızın jel oluşturmaktadır. Bu değişimler ϵ -(γ -Glu)Lys bağının oluşumuna bağlıdır. Ancak bu bağların jel gücünü arttırmada bir sınırının olduğu ve fazla miktardaki bağın jel yapısını zayıflatabileceği unutulmamalıdır. Örneğin; %10 luk kazeinat çözeltisinin 37°C ve pH 6.5 da 20 ünite/g-protein seviyesinde transglutaminaz ilavesinde oluşturduğu jel 15 ünite/g-protein seviyesinde transglutaminaz ilave edilene göre daha zayıftır. Fazla miktarda ϵ -(γ -Glu)Lys bağları içeren jellerin ayrıca su tutma kapasiteleri de azalmakta ve sineresis görülebilmektedir (Kuraishi et al., 1996).

2.2.2. Viskozite

Protein polimerize olduğunda moleküler ağırlığı artmakta ve çözeltisinin viskozitesi artmaktadır. Bundan dolayı transglutaminaz ile muamele edilmiş protein çözeltilerinin de viskozitesi artmaktadır. Çeşitli konsantrasyonlarda TG ile pH 6.5 da ve 55°C de 30 dakika muamele edilmiş kazeinat çözeltisi enzimin inaktive edilmesi için ısıtılmış ve çapraz bağlanma reaksiyonu durdurulmuştur. Dondurularak kurutulduktan sonra TG ile muamele edilmiş kazeinat tozu tekrar hidrate edilmiş ve yüksek enzim konsantrasyonlarında kazeinat jelinin daha viskoz

olduğu gözlenmiştir. Çapraz bağlı kazeinat oluşumu SDS-PAGE ile doğrulanmıştır. Kazeinatın monomer fraksiyonları azalmış veya kaybolmuş ve polimer fraksiyonları (dimer ve trimerler) artmıştır. Jele giremeyen polimer fraksiyonlarının 3 ünite/g-protein seviyesinin üzerinde TG kullanımı ile gerçekleştiği gözlenmiştir. Daha fazla reaksiyon ile (daha fazla zaman, daha fazla enzim ilavesi, daha yüksek sıcaklık vs.) kazeinat çözeltisi jele dönüşebilmektedir (Kuraishi et al., 1996).

2.2.3. Termal stabilite

Transglutaminaz tarafından oluşturulan ϵ -(γ -Glu)Lys bağları kovalent bağlar olup sıcaklık değişimlerine karşı dayanıklıdır. Termal stabilite molekül içi ve moleküller arası bağlardan etkilenmektedir. Jelatin jeli hidrofobik bağlarla stabilize edilmekte, sıcaklık değişimlerinden etkilenmekte ve belirli sıcaklık derecelerine kadar ısıtıldığında çözünmektedir. TG ile muamele edildiğinde yapısına giren az sayıdaki ϵ -(γ -Glu)Lys bağları sayesinde termostabilitesi önemli seviyede artmaktadır (Kuraishi et al., 1996).

2.2.4. Su tutma kapasitesi

Transglutaminaz tarafından oluşturulan ϵ -(γ -Glu)Lys bağları su tutma kapasitesini arttırmaktadır. Jelatin jelleri su moleküllerini protein matriks yapısı içerisinde tutmakta ve %2 protein konsantrasyonunda bile stabil jel oluşturmak mümkün olmaktadır. Sosis ve yoğurt gibi gıda sistemlerindeki jellerde bazen sineresis problemi ortaya çıkmaktadır ve su tutma kapasitesinin artırılması için genellikle jelatin ilave edilmektedir. TG etkisi ile daha stabil kovalent bağların oluşumu sıcaklık değişimlerinin veya fiziksel şokun olduğu durumlarda bile daha fazla suyun tutulmasını sağlayabilmektedir. Örneğin, yoğurtta serum ayrılması TG ilavesi ile önlenmektedir (Kuraishi et al., 1996).

2.3. Transglutaminaz Kullanımının Yasal Durumu

Transglutaminaz enzim preparatı (TGP) ve stabilize transglutaminaz preparatı (STGP) nın her ikisinin de FDA (Food and Drug Administration) tarafından GRAS (Generally Recognized as Safe) listesinde olduğu bildirilmiştir. Bu enzimlerle ilgili

diğer detaylar Şu Şekilde yer almıştır; TGP ve STGP, toksik ve patojen olmayan *Streptovercillium mobaraense* suŐundan elde edilmelidir ve gıdalarda teknik etkiyi yaratacak gerekli minimum seviyede çapraz bağlama ajanı olarak kullanılmalıdır. Üretici firma tarafından STGP, buğday proteininden enzimatik ve asit hidrolizi ile hazırlanmış hidrolize buğday proteini içeren transglutaminaz olarak tanımlanmaktadır. STGP nin hidrolize buğday proteini içermesi hava ile temas esnasında TGP ye kıyasla daha stabil olmasını sağlamaktadır. Ancak bu enzim buğdaya allerjisi olan kiŐilerde allerjik reaksiyona neden olabilmektedir. TGP nin çapraz bağlama ajanı olarak kullanımına izin verildiği gıdalar ve limitleri Őöyle bildirilmiştir; makarnada 25 ppm, ekmekte 15 ppm, pastada (kek, turta, doughnut vs.) 20 ppm, hazır hububat ürünlerinde 45 ppm, pizza hamurunda 20 ppm seviyesinde (FDA GRAS Notice No: GRN 000055).

2.4. Transglutaminazın Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Transglutaminaz, oluşturduğu kovalent çapraz bağlar sayesinde tek bir kaynağın veya farklı kaynakların proteinleri arası çapraz bağlar oluşturarak proteinleri polimerize etmekte kullanılabilir (Chobert et al., 1996; Larre et al., 2000). Transglutaminaz baklagil globülinleri, buğday gluteni, yumurta proteinleri, aktin, miyozin, fibrin, süt kazeinleri, α -laktalbumin ve β -laktoglobülin gibi birçok gıda proteinini çapraz bağlama reaksiyonunda substrat olarak kullanabilmektedir (Kuraishi et al., 1996; Motoki and Seguro, 1998). Bugüne kadar ki alıŐmalar TG nin süt, et, soya fasülyesi ve buğday gluteni gibi proteinlerin çapraz bağlanmasını katalizlediğini göstermiştir (Ikura et al., 1980; Motoki and Nio, 1983; Kurth and Rogers, 1984; Han and Damodaran, 1996; Kuraishi et al., 1996; Köksel et al., 2001). TG ile gıda proteinlerinin modifikasyonu sayesinde çeşitli kimyasal reaksiyonlardan lizinin korunması, yağ ve/veya yağda çözünür materyallerin enkapsüle edilmesi, ısı ve suya dayanıklı filmlerin oluŐturulması, elastikiyet ve su tutma kapasitesinin arttırılması, çözünürlük ve fonksiyonel özelliklerin modifiye edilmesi ve esansiyel aminoasit içeren çeşitli proteinlerin çapraz bağlanması sonucu daha yüksek besinsel değere sahip gıda proteinlerinin oluŐturulması sağlanmaktadır (Zhu et al., 1995). Lizin veya lizin içeren oligopeptidlerin TG reaksiyonu ile yapıya bağlanması ile bazı proteinlerdeki sınırlayıcı aminoasitlerin

miktarları arttırılabilmektedir. Lizin transglutaminaz için iyi bir substrattır çünkü ϵ -amino grubu temel bir amindir (Motoki and Seguro, 1998).

2.4.1. Transglutaminazın gluten ve hamurda kullanımı

Transglutaminazın oluşturduğu çapraz bağın buğday gluten proteinlerindeki uygulaması buğdaydaki yüksek glutamin içeriğinden dolayı (yaklaşık toplam aminoasitlerin 1/3' ü) özellikle dikkate değerdir. Bir çalışmada buğday gluten proteininin düşük lizin içeriği ilave lizin ile arttırılmaya çalışılmıştır. Çalışmada örnekler transglutaminaz ile 37°C de 0, 5, 10, 60 ve 120 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Transglutaminaz etkisiyle moleküller arası çapraz bağın oluşumu SDS-PAGE yöntemiyle incelenmiş ve inkübasyon süresi arttıkça bantların bir kısmında azalma gözlenmiştir. Daha yüksek moleküler ağırlıklı yeni protein bantları oluşmuş ve bunların bir kısmı jele girememiştir. Ayrıca gluten proteinlerinin yüksek glutamin içeriğinden dolayı inkübasyon süresinin artışı ile ilave edilebilen lizin miktarı artmıştır ve 150 dakika inkübasyon sonrasında lizin miktarı başlangıçtaki miktarının 5 katına çıkmıştır (Ikura et al., 1981).

Bir çalışmada mikrobiyal transglutaminaz yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt birimleri içeriği farklı olan üç örneğe ilave edilmiştir. Enzimle muamele edilmemiş örneklerde toplam proteinin %70-90 ı çözünür iken, TG ile muamele edilmiş örneklerde çözünmeyen polimer oluşumu nedeniyle %29-45 i çözünür halde kalmıştır. Enzim muamelesi glutende elastik modulusta artışa neden olmuştur. G' 10-50 kat ve G'' 2-4 kat artmıştır. Glutenin düşük lizin içeriğine karşın, oluşan bağlar ağ yapıyı kuvvetlendirmiş ve glutenin viskoelastik özelliklerini modifiye etmiştir (Larre et al., 1998).

Larre et al. (2000), *Streptoverticillium* sp. den elde edilmiş TG kullanarak gluten proteinlerinde moleküller arası çapraz bağlanma reaksiyonunu incelemişlerdir. Çalışma farklı enzim konsantrasyonlarında (0.003, 0.006, 0.03 ve 0.3 U/mg kuru gluten) yapılmıştır. Böyle bir modifikasyon hem fizikokimyasal özelliklerde hem de reolojik davranışta değişikliklere neden olmuştur. Bu değişimlerin anlaşılabilmesi için asetik asitte gluten proteininin ekstrakte edilebilirliği çalışılmış, çözünen kısımdaki ve çökeltideki proteinler her prolamin sınıfına özgü antikörlerin

kullanıldığı immunoblot yöntemiyle tanımlanmıştır. TG ile muamele sonrasında çözünür proteinlerin miktarının SDS-PAGE de gösterilen büyük çözünmeyen polimerlerin oluşumuna bağlı olarak oldukça fazla azaldığı gözlenmiştir. Transglutaminazın reaksiyonundan en fazla etkilenen yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt birimleri olmuştur. Glutenin reolojik özellikleri (shear, creep, recovery test) TG ile 18 saat inkübasyon sonrasında çalışılmıştır. Enzimatik reaksiyon ağ yapının önemli şekilde kuvvetlenmesini sağlamıştır. TG ile muamele gluten ağ yapısının özelliklerini modifiye etmektedir. Yüksek ve düşük viskoelastik özellikler gösteren gluten proteinleri enzimatik reaksiyon sonrasında benzer şekilde yüksek viskoelastik özellikler göstermiştir. Viskoelastik özelliklerdeki bu artış polimer oluşumu ile bağdaştırılmıştır. SDS-PAGE ile polimerlerin karakterize edilmesi sonucunda 2+12 gluten proteinlerinin TG aracılığıyla izopeptid bağlarla polimer oluşturabildiği gözlenmiştir. Bununla beraber immunoblotting yöntemi, 18 saat gibi en uzun reaksiyon süresinde bile bazı α ve β -gliadinlerin ve LMW glutenin altbirimlerinin izopeptid bağlarla bağlanamadığını göstermiştir. Her iki alt birimde de glutamin içeriği oldukça yüksek ve kıyaslanabilir olmasına rağmen HMW-GS (yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt birimleri) de 6-8 mol lizin/mol protein varken LMW-GS (düşük moleküler ağırlıklı glutenin alt birimleri) de 1 mol lizin/ mol protein bulunmaktadır. Bu sebeple LMW-GS, TG ile reaksiyonda HMW-GS ye göre daha az yer almaktadır. Enzimle muamele edilmiş gluten proteininin davranışı doğal gluten ile oldukça benzerdir fakat G' (storage modulus) ve G'' (loss modulus) değerleri daha yüksektir. Transglutaminaz reaksiyonu glutende var olan viskoelastik platonun yüksekliğini arttırmıştır. Bu da gluten ağ yapısındaki bağlanmanın artışını yansıtmaktadır. Bununla beraber, ağ yapıda moleküller arası bağların oluşmasına rağmen enzimle muamele olmuş gluten proteininin vizkoz karakterini koruduğu gösterilmiştir. Isıl işlem doğal ve muamele edilmiş gluteni benzer şekilde etkilemektedir fakat TG ile çapraz bağlanmış gluten proteininin ısıl işleme karşı daha az hassas olduğu bildirilmiştir. Bu özellik enzimatik reaksiyon sonrası G' değerinin sıcaklıkla değişiminin daha düşük boyutta olması ile açıklanmıştır.

Köksel et al. (2001), süne proteazlarının gluten proteininde neden olduğu olumsuz etkinin TG kullanımı ile düzeltilme olasılığını kompleks modülüs değerindeki (G^*) değişimi inceleyerek araştırmışlardır. Süne zararlısının (*Eurygaster spp*)

salgıladığı proteolitik enzimler gluten proteinlerinin depolimerizasyonuna neden olarak hamur özelliklerini ve ekmek karakteristiklerini olumsuz yönde etkilemektedir. Yüksek oranda sne zararı görmüş buğday unu sne zararı içermeyen Augusta ve Sharpshooter buğday unları ile karıştırılmıştır. Bu karışımlardan bazılarına TG (%1.5 w/w) ve/veya soya protein izolatu ilave edilmiştir. Bu karışımlarda dinamik reolojik ölçümler 0, 30 ve 60 dakika inkübasyon sonrasında gerçekleştirilmiştir. Reolojik özelliklerdeki değişim frekansın fonksiyonu olarak kompleks modulus (G^*) grafiklerinin karşılaştırılması ile değerlendirilmiştir. G' (Storage modulus) ve G'' (loss modulus) değerleri de G^* gibi frekansa bağımlılık göstermiştir. Sneli buğday unu (%10) ilave edilmiş Augusta ve Sharpshooter çeşidine ait hamurların G^* değerleri 30 dakikalık inkübasyonla önemli şekilde azalmıştır. Bu hamur örnekleri 60 dakikalık inkübasyon sonrasında yumuşak ve yapışkandır. TG ile muamele edilmiş Augusta veya Sharpshooterdan hazırlanan hamurların G^* değerleri ise 60 dakikalık inkübasyonla önemli şekilde artmıştır. Bu artış muhtemelen TG nin katalizlediği çapraz bağlanmanın gluten moleküler ağırlığında yarattığı artıştan kaynaklanmaktadır. Tüm sonuçlar, sne proteaz enzimlerinin hidrolize ettiği hamur yapısının TG enzimi ile tekrar önemli şekilde düzeltilebileceğini göstermektedir.

Babiker et al. (1996), proteazla muamele veya asit hidrolizini takiben TG ile muamelenin gluten proteinin fonksiyonel özelliklerine etkisini araştırmışlardır. Buğday nişasta sanayinin yan ürünü olan gluten proteininin znmez özelliği gıda formülasyonlarında kullanımını kısıtlamaktadır. Çalışmada znmez gluten proteazlarla (kimotripsin, papain, Pronaz ve pepsin) veya 0.05 N HCl ile znr hale getirilmiştir. Bulanık olan her iki hidrolizat TG ile muamele sonrası geniş pH aralığında znr özellik gösteren berrak bir zlti haline gelmiştir. TG ile polimerizasyonla hidrofobisite büyük ölçüde azalmıştır. Her iki hidrolizatın TG ile muamele edilmiş ve edilmemiş rnekleri SDS-PAGE de incelenmiş ve Pronaz hariç tümünün TG ile polimerize olduğu gözlenmiştir. Polimerize olmuş peptidlerin emülsifikasyon özelliklerinin hidrolizatlardan daha iyi olduğu bulunmuştur. Polimerizasyonla hidrolizatların köpük oluşturma özellikleri de iyileştirilmiştir. Hidrolizatların acı tadı ise polimerizasyonla kaybolmuştur.

Bauer et al. (2003), TG ile muamelenin gluten proteinleri üzerine yaptığı yapısal değişiklikleri model peptidler, buğday unu süspansiyonları ve hamurlarda sistematik olarak incelemiştir. HMW glutenin alt birimlerinin aminoasit dizilimlerine benzeyen sentetik peptidler TG ile muamele edildiğinde glutamin ve lizin arası izopeptid bağları oluşmuştur. TG nin gluten proteinleri üzerine etkisini çalışmak amacıyla farklı miktarlarda TG (0-900 mg enzim/kg) bir tamponda çözülmüş ve buğday ununa ilave edilmiştir. Un süspansiyonları inkübe edilmiş, santrifüj edilmiş ve çökelti su, tuz çözeltisi, %60 lık etanol (gliadin fraksiyonu için) ve indirgen ajan içeren SDS çözeltisiyle (glutenin fraksiyonu için) ekstrakte edilmiştir. Fraksiyonların aminoasit analizi, SDS-PAGE, jel filtrasyon HPLC ve ters faz HPLC ile karakterizasyon sonrasında ekstrakte edilebilir gliadin miktarının TG miktarı arttıkça azaldığı görülmüştür. Gliadin fraksiyonunun oligomer kısmı, un örneği TG (450 ve 900 mg TG/kg un) ile muamele edildiğinde oldukça fazla azalmıştır. Glutenin fraksiyonlarının miktarı unun 90 ve 450 mg TG/kg un ile muamelesiyle artmış, 900 mg TG/kg un ile muamelesiyle istatistiksel açıdan önemli şekilde azalmıştır. TG konsantrasyonunun artmasına paralel olarak glutenine bağlı ω -gliadinlerin ve HMW alt birimlerinin miktarları fazlaca azalırken LMW alt birimlerinin miktarı 450 mg TG/kg un ile muamele sonrası en üst düzeye ulaşmıştır. TG nin hamur örnekleri üzerine etkisi un süspansiyonlarındaki ile benzerdir fakat muhtemelen hamurdaki su içeriğinin daha düşük olmasından dolayı daha az etki vardır. Peptidlerin dizilim analizi HMW glutenin alt birimlerinin ve α -gliadinlerin TG nin katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonunda daha çok yer aldığını göstermiştir.

Bir başka çalışmada transglutaminaz ile muamele sonucunda polimer oluşumuna katılan buğday protein komponentlerinin tanımlanması amaçlanmıştır. Un örneği 35°C de TG ile farklı sürelerde (0, 30, 60, 120 ve 240 dakika) inkübe edilmiştir. Polimer oluşum miktarı SE-HPLC (size-exclusion HPLC), SDS-PAGE ve RP-HPLC (reverse phase HPLC) ile incelenmiştir. Polimer oluşumunun inkübasyon süresinin artması ile birlikte arttığı gözlenmiştir. TG nin katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonunun HMW glutenin alt birimlerinde buğdaydaki diğer proteinlere kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir. Literatürde LMW ve HMW glutenin alt birimlerinin her ikisinin de glutamin içeriğinin yüksek ve kıyaslanabilir olduğu, bununla beraber HMW glutenin alt birimleri 6-8 mol lizin/ mol protein

içerirken LMW glutenin alt birimleri 1 mol lizin/ mol protein içerdiği bildirilmiştir. Daha düşük lizin içeriğinin intermoleküler izopeptid bağların oluşumunda LMW glutenin alt birimlerinin daha az yer almasının sebebi olarak gösterilebileceği bildirilmiştir (Mujoo and Ng, 2003).

Gerrard et al. (1998), hamura transglutaminaz ilavesinin kurve yüksekliğini azalttığı yani hamura daha az su ilavesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bununla beraber, yoğurmadan hemen sonra transglutaminaz ile muamele edilmiş hamurların çok sıkı yapıda olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın, standart hamurdaki ile eşdeğer su ilave edilmesi durumunda bile ekmek yapımındaki su içeriği yetersiz kalmıştır. TG (5000 ppm) nin ilave edildiği hamurlarda subjektif olarak su içeriği düzeltildiğinde standart hamurda %62 olan su miktarının TG li hamurlarda %68 olarak arttırılabileceği bildirilmiştir. Nedeni net olarak anlaşılmasa da çapraz bağlama reaksiyonunun gluten proteinlerinin yapısında neden olduğu değişimlerin hamurun su tutma kapasitesini arttırmış olabileceği düşünülmektedir. Alternatif bir açıklama da TG nin farklı bir reaksiyonla glutamini glutamik asite dönüştürmesi sonucu glutenin hidrofilik özelliğinin ve dolayısıyla suya affinitesinin artacağı yönündedir. Transglutaminaz ayrıca ekmek içi yapısını olumlu yönde etkilemiştir.

Collar and Bollain (2004)' nin yaptıkları bir araştırmada hamurda mikrobiyal transglutaminazın tek başına ve hidrokolloidler (hidroksipropilmetilselüloz ve yüksek esterli pektin), amilolitik (α -amilaz) ve amilolitik olmayan (ksilanaz) enzimler ve DATEM (monogliseritlerin diasetil tartarik asit esteri) ile birlikte kullanımının hamurun viskoelastik profiline etkisi yüzey yanıt analizi (response surface analysis) ile incelenmiştir. Transglutaminazın hamura ilavesinin yoğurma, tekstür ve bazı viskoelastik özellikleri düzeltici etkisi bulunmaktadır. Transglutaminaz, DATEM ve/veya hidroksipropilmetilselüloz içeren hamurlara ilave edildiğinde yoğurma parametrelerindeki sinerjistik etkileri arttırmış ve bunun sonucunda su absorpsiyonu, hamur gelişme süresi ve stabilite artmıştır. TG/yüksek esterli pektin/DATEM karışımı kullanıldığında yoğurma ve fermentasyon sırasında su tutma kapasitesi ve gluten kuvveti iyileşmiş ve kohesiv özelliği iyi hamurlar elde edilmiştir.

Rosell et al. (2003) yaptıkları bir çalışmada buğdaya tavlama esnasında glukoz oksidaz (GO) veya transglutaminaz (TG) ilave etmişler ve bunun un proteinleri üzerine etkisini araştırmışlardır. Kullanılan GO dozu 0.4, 2.0 ve 4.0 U/g tane ve TG dozu 0.01, 0.05, 0.1, 1.0, 1.5 ve 2.0 U/g tane dir. Buğday proteinlerindeki modifikasyonlar gluten kalitesinde ve alveograf parametrelerindeki değişimlerin incelenmesi ile analiz edilmiştir. GO veya TG ilavesiyle yaş gluten miktarı artmış fakat gluten kalitesi iyileşmemiştir. TG, gluten indeks değerini azaltmıştır. Yüksek TG konsantrasyonlarında gluten indeks değerleri daha düşük olsa da elde edilen gluten indeks değerleri (TG nin 1.0 ve 1.5 U/g tane uygulamaları için olan hariç) ekmek yapımı için optimum (60-90) aralıktadır. Bu sonuçlar Larre et al. (2000) in TG ilavesi sonrası polimerizasyon reaksiyonuna bağlı olarak gluten çözünürlüğünün azaldığını gösteren sonuçlarından farklıdır. Bu farklılık kullanılan enzim miktarının en az 150 kez daha az olmasına bağlı olabilir. GO ilave edilmiş örneklerde hamurlar kontrole göre daha yüksek sertlik (tenacity) ve daha düşük ekstensibilite değeri verirken TG ilave edilmiş hamurlarda daha düşük sertlik ve daha düşük ekstensibilite değerleri elde edilmiştir. Buna ek olarak deformasyon enerjisi (W) azalmıştır. Protein modifikasyonları kapiler elektroforez ile karakterize edilmiştir. TG nin esas olarak gluteninleri polimerize ettiği ve en fazla yüksek moleküler ağırlıklı glutenin alt birimlerinin polimerize olduğu bildirilmiştir

2.4.2. Transglutaminazın fırıncılık ürünlerinde kullanımı

Transglutaminazın farinograf ve ekstensograf gibi reolojik özellikler üzerine ve ekmek kalitesine etkisini araştıran çalışmalar çok azdır. TG nin hamur elastikliğini iyileştirdiği (Losche, 1995) ve oksidan ajanlar gibi ekmek yapımında pozitif etkiler yaratabileceği bildirilmiştir (Gerrard et al., 1998). Bilindiği gibi oksidanlar ekmek yapımında önemli rol oynamaktadır. Hamura optimum seviyelerde oksidan ilavesi hamur işleme özelliklerini ve ekmek kalitesini iyileştirmesine rağmen, fazla miktarlar zararlı etki yaratabilmektedir (Larre et al., 2000). TG nin etkisinin de oksidan ajanlara benzer olduğu düşünüldüğünde, TG nin ilave edilme miktarının da hamur özellikleri ve ekmek kalitesi üzerine etkisinin olacağı beklenmektedir.

Fırıncılık ürünlerinde transglutaminaz kullanımı ile ilgili ilk çalışmaların Gottmann et al. tarafından 1992 yılında yapıldığı bildirilmiştir. Hamur stabilitesinin ve ekmek

hacminin yoğurma esnasında transglutaminaz enzimi ilavesi ile iyileştirilebileceğini bildirmişlerdir. Bir başka araştırmacı uzun süreli hamur üretim proseslerinde (ön fermente hamurlar) transglutaminazın birtakım avantajlar sağladığını, ekmek içi gözenek yapısını kuvvetlendirdiğini ve hamurun su absorpsiyonunu arttırdığını bildirmiştir. Tüm bu etkiler ticari ekmek üretim masraflarını azaltmaktadır (Kuraishi et al., 2001).

Collar and Bollain (2004) yayınlarında TG nin çeşitli gıdalarda kullanımına ilişkin bazı patentlere (Hiroko and Masao, 1991; Gottmann and Sproessler, 1994; Kuraishi et al., 1999) yer vermişlerdir. Bu patentlerden birinde TG, protein hidrolizatları ile birlikte ekmek katkı maddesi olarak kullanıldığında ekmek kalitesini iyileştirdiği bildirilmiştir. Başka bir patentte TG nin, hamurun elastisitesini iyileştirerek ince gözenekli ekmek eldesini sağladığı rapor edilmiştir. Diğer bir patentte ise transglutaminazın, geleneksel oksidanlarla kıyaslanabilir şekilde mayalı ekmek hamurlarının direncini arttırdığı bildirilmiştir. TG/proteaz, TG/askorbik asit ve TG/amilaz/hemiselülaz ekmek içi özelliklerini iyileştirmektedir.

Transglutaminaz sadece mayalı ekmeklerde değil kek, bisküvi ve pasta gibi fırıncılık ürünlerinde de faydalı etkiler yaratmaktadır. TG ilavesi ile bazı keklerde pişme sonrası çökme önlenmektedir. Ayrıca hacim, iç yapı ve kek tekstürü de iyileşmektedir. TG ilave edilmiş "puff pastry" gibi katmanlı ürünlerde pişme sonrası hamur katmanlarının daha iyi kabardığı ve hacmin %30 arttığı gözlenmiştir. Transglutaminaz ilavesi ile puff pastry gibi fırıncılık ürünlerinde ve bisküvide gevreklik artmış ve bu özellik daha uzun süre korunmuştur. Kızartılmış hamur ürünü olan "doughnut" larda yağ absorpsiyonu TG ilavesi ile yaklaşık %25 oranında azalmaktadır ve transglutaminazsız örneklerdeki %18.2 yağ içeriğine karşın transglutaminazlı ürünler %13.8 yağ içermektedir. Kızartılmış ürünlerin kalorisini azaltmakta bu etkiden yararlanılabileceği düşünülmektedir (Kuraishi et al., 2001).

Gerrard et al. (2000), dondurulmuş pasta hamurları ve kurvasan hamurunda transglutaminazın kullanım olasılığını araştırmışlardır. İlk aşamada TG ilave edilmiş hamurların kontrollerden daha sert olduğu gözlenmiştir. Hamurun ekstensibilitésinin azalması ile laminasyon özelliği hafifçe bozulmuştur. Kurvasan

hamurunun çözüldürülmesi ile kontrol örneğinin yüzeyinde gözle görünür bozulma olmuş, kabuk yüzeyi zayıflamış ve gözle görünür yağ sızması olmuştur. TG ilave edilmiş örneklerde ise bu tarz negatif etkiler gözlenmemiştir. Pişirmeden sonra ise TG içeren kurvasan ve diğer katmanlı ürünlerde hacim artmış, tekstür, çiğneme özelliği ve tabakalı yapının daha iyi olduğu gözlenmiştir. TG, ekmeğe ilave edildiğinde yapıyı 3 boyutta kuvvetlendirip genişmeyi zorlaştırmaktadır. Oysaki katmanlı hamurda yapının kuvvetlenmesi 2 boyutta olup ürünün özelliklerini olumlu etkilemektedir.

Collar and Bollain (2004) yayınlarında TG nin fırıncılık ürünlerinde kullanımına ilişkin bir patente (Kuraishi et al., 1996) yer vermişlerdir. Gözenekli veya çok katmanlı yağca zengin fırıncılık ürünlerine TG ilave edildiğinde duyu özelliklerinin iyileştiği gözlenmiştir.

2.4.3. Transglutaminazın erişte ve makarnada kullanımı

Fırıncılık ürünlerinin endüstriyel boyutta üretiminde çeşitli enzimler kullanılmasına rağmen makarna yapımında enzim kullanımı sınırlı olup bu konu ile ilgili çok az bilgi yayınlanmıştır. Transglutaminaz Japonya' da makarna ve erişte yapımında tekstürü iyileştirmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Transglutaminazın çeşitli Çin ve Japon eriştelerinde ve makarnada kullanılması ile kalite iyileştirilmektedir. Örneğin, makarnada 0.2 ünite/g-un seviyesinde transglutaminaz kullanıldığında enzim ilave edilmemiş makarnaya göre daha yüksek sertlik değerleri elde edilmiştir. Çin eriştelerinde de TG ilavesi ile sertlik değeri artmaktadır. Bu etkiler çeşitli erişte ve makarnalarda görülmektedir ancak ürünün kuru, taze veya pişmiş olma özelliklerine göre fiziksel özelliklerdeki değişim derecesi çeşitlilik göstermektedir. Transglutaminazın oluşturduğu çapraz bağlar ısıya dayanıklı olup eriştelerin sertlik ve elastikiyet özellikleri pişirmeden sonra uzun süre kalıcı olmaktadır. Transglutaminaz ile hamurun yapısı kuvvetlendirildiği için nişasta gluten ağ yapısı içerisinde daha iyi tutulmaktadır. Suyu geçen katı madde miktarı da TG ilavesi ile azalmaktadır. Suyu geçen nişasta miktarının azalmasından dolayı makarna ve eriştelerin yüzeyi daha az yapışkandır ve kümeleşme de azalmıştır. Pişme veriminin artması da beklenen sonuçlardan biridir. Son yıllarda Japonya da uzun raf ömürlü makarna ve eriştelere ilgi artmıştır.

Bu ürünlerin üretiminde kullanılan asitle muamele ve ısı işlem sonrası transglutaminaz ile muamele örneğın sertlik ve elastikiyet özelliklerini korurken enzim ilavesi yapılmamış örneklerde yapının bozulduğu gözlenmiştir (Kuraishi et al., 2001). Sakamoto et al. (1996) düşük kaliteli unların kullanıldığı erişte ve makarnalarda pişme sonrası tekstürdeki bozulmanın TG ilavesi ile önlenebildiğini ve ürün dayanıklılığının arttığını bildirmişlerdir.

Collar and Bollain (2004) yayınlarında TG nin eriştede kullanımına ilişkin bir patente (Yamazaki and Soeda, 1998) yer vermişlerdir. Buğday ununa TG ilavesiyle daha iyi kalitede erişte, pastacılık ürünleri ve ekmek elde edilmiştir.

2.4.4. Transglutaminazın soya ürünlerinde kullanımı

Ikura et al. (1980), transglutaminazın soyanın 7S ve 11S proteinlerini çapraz bağlama özelliğini araştırmışlardır. Örnekler, TG ile 25°C de 0, 5, 10, 20, 30, 60 ve 120 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Her iki proteininde transglutaminazın substratı olduğunu bildirmişlerdir. 11S proteindeki reaksiyonun 7S proteine göre daha hızlı olduğu saptanmıştır. SDS-PAGE ile reaksiyon ürünlerinin analizi 7S proteinin başlıca 3 alt grubunun ve 11S proteinin iki asidik alt grubunun TG nin katalizlediği moleküller arası çapraz bağlama ile polimerize olduğunu göstermiştir. 7S proteinlerden 80000, 72000 ve 52000 moleküler ağırlığa (MA) sahip bantlarda inkübasyon süresi arttıkça azalma olmuştur. 120 dakika örneğinde MA 80000 ve 72000 olan bantlarda %65 azalma, MA 52000 olan bantlarda %50 azalma gözlenmiştir. 11S proteinlerden moleküler ağırlığı 40000, 36000 ve 20000 olan üç banttan ilk ikisi TG ile reaksiyonla kaybolmuştur. Üçüncü bantın miktarında ise değişim gözlenmemiştir. 11S proteinin bazik alt birimleri arasında moleküller arası çapraz bağlanmanın olmadığı bildirilmiştir. 7S ve 11S proteinlerin SDS-PAGE desenlerinde moleküler ağırlığı daha yüksek olan yeni protein bantlarının oluştuğu gözlenmiştir. Ayrıca 120 dakika örneğinin polimerizasyon sonrasında ön ayırım jeline büyük ölçüde giremediği saptanmıştır.

Soya proteinleri, jel oluşturma özelliği ile gıdaya çeşitli tekstürel özellikler kazandırdığı için sosis ve surimi gibi birçok hazır gıdada geniş kullanım alanına sahiptir. Soya proteinlerinin jel oluşturma özelliklerinin TG ile modifikasyonu

üzerine çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Soyada hem 7S hem de 11S globulinlerin TG ile polimerize olduğu saptanmış ve protein çözeltilerinin (50mg/ml) TG ilavesi ile sıkı yapıda jelle dönüştüğü gözlenmiştir. Chanyongvorakul et al. 11S globulinlerin transglutaminaz aracılığı ile sıkı yapıda jel oluşturmaları için gerekli minimum konsantrasyonunun termal jel oluşumu için gerekli olandan daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca 11S globulinlerin TG ile oluşturdukları jellerin termal jellerden daha katı ve elastik olduğu gözlenmiştir. Daha katı bir yapının fazla miktarda çapraz bağlanma ile ilgili olabileceği bildirilmiştir. Isıl işlem görmüş soya glisinini normal glisinine göre enzim polimerizasyonuna daha duyarlıdır çünkü glisinin yüzeyindeki lizin ve glutamin ısı işlem ile artmaktadır. Soya protein izolatu (SPI) ve soya protein konsantratinin (SPK) termal jellerinin fiziksel özellikleri TG ilavesi ile önemli seviyede düzelmiştir. SPI ye NaCl ilavesi ısı işlem görmüş transglutaminazsız jellerin kırılma kuvvetinde azalmaya neden olmuştur. Bununla beraber %3 tuz ilavesi ile transglutaminazlı örneklerin kırılma kuvveti kontrol jeline (NaCl ve transglutaminaz içermeyen) yakın bulunmuştur. Bu etki SPI içeren sosis ve surimi gibi gıdalarda avantaj sağlayabilmektedir. Transglutaminaz ile modifiye edilmiş SPI, SPK ve tekstürize edilmiş bitkisel proteinler ile ilgili bazı patent uygulamaları da mevcuttur (Kuraishi et al., 2001).

Transglutaminaz, soya ürünlerinde tekstürü kontrol etmektedir. Soya proteinlerinin Ca^{+2} , Mg^{+2} ve/veya glukano- δ -lakton ilavesiyle koagülasyonu sonucu "tofu" adı verilen tipik bir soya ürünü elde edilmektedir. Yumuşak ve düzgün tekstürünün sterilizasyon esnasında kolayca zarar görmesinden dolayı uzun süre dayanan tofu üretimi oldukça zordur. Bununla beraber TG ilavesiyle bu ürünün uzun süre düzgün tekstür özelliklerini koruduğu gözlenmiştir. TG ile "yuba" adı verilen yenilebilir soya filminin dayanıklılığının artırılması da mümkün olmaktadır (Motoki and Seguro, 1998). Eski mahsullerden yapılan tofunun kalitesinin artırılmasında yani su tutma kapasitesinin artırılmasında, pürüzsüz ve daha sıkı bir yapının (silky and firmer texture) oluşturulmasında TG nin olumlu etkisi gözlenmiştir (Gerrard, 2002).

2.4.5. Transglutaminazın diğer kullanım alanları

Yukarıda belirtilenlerin dışında transglutaminazın diğer bazı kullanım alanları da vardır:

- Yamauchi ve ark. bazı gıda proteinlerinin ve/veya peptidlerinin allerjik özelliklerinin TG ile azaltılabileceğini bildirmişlerdir. α_{s1} -Casein (23 kDa) 25°C de suda 20 saat TG ile muamele edilerek daha az allerjik olan çapraz bağlı kazein (yaklaşık 90 kDa) üretmişlerdir (Zhu et al., 1995).
- Transglutaminaz ile çapraz bağlama sonucu besinsel değeri yüksek olan lizinin çeşitli zararlı reaksiyonlardan korunması sağlanmaktadır (Gerrard, 2002).
- TG ile muamele edilmiş protein çözeltilisinden şeffaf ve suya dayanıklı protein filmi hazırlanabilmektedir (Motoki and Seguro, 1998).
- Noguchi ve ark. kazeini transglutaminaz ile muamele ederek deaminasyon yapmışlardır. Bu maddenin gıda ve ilaç endüstrisinde barsaklarda mineral absorpsiyonunu arttırmak amacıyla kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Kazein nötral ve hafif asidik koşullarda çözünürdür ve barsaklarda minerallerin çözünür şekilde kalmasını sağlar (Zhu et al., 1995).
- TG ile aktomyozin polimerizasyonu sayesinde ürün bütünlüğünü korumak için dondurma veya pişirmeye gereksinim duymaksızın et ürünlerine tekrar şekil ve form verme işlemi gerçekleştirilmektedir (Kim et al., 1993).
- TG nin yoğurt üretiminde kullanımı ile su tutma kapasitesi iyileşmekte ve yoğurttan su sızması önlenmektedir (Kuraishi et al., 2001).

2.5. Arpanın Hububat Endüstrisindeki Kullanım Alanları

Buğday, mısır ve çeltikten sonra dünyada üretimi en fazla yapılan dördüncü tahıl arpadır ve toplam tahıl üretiminin %12 sini oluşturmaktadır (Jadhav et al., 1998). Türkiye 8 milyon ton üretimi ile dünyanın önemli arpa üreticileri arasında yer almaktadır. Sözü edilen üretim dünya toplam üretiminin %5.2 sidir (Engin ve ark., 1999). Dünyada ve ülkemizde arpanın önemli bir kısmı yemlik olarak tüketilmektedir. Arpanın diğer bir kullanım alanı ise malt üretimidir.

Son yıllarda arpanın yüksek β -glukan içeriği nedeni ile besinsel lif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Suda çözünebilir besinsel liflerle ilgili çalışmalar arpada bulunan β -glukanların hipoglisemik ve hipokolesterolemik ajan olarak etkili olabileceğini göstermektedir. Koroner kalp rahatsızlıkları için ana risk faktörü olan düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) kandaki düzeylerini düşürmede etkilidir. Ayrıca arpa, β -glukan dışında tokoferol izomerleri, bitki sterolleri, trigliseritler ve fosfolipidleri içeren lipid bileşenlerine sahiptir ve bu bileşenlerin de insanlarda serum kolesterolünü düşürdüğü ileri sürülmektedir (McIntosh et al., 1991; Wang et al., 1997). β -glukanların konstipasyon, apandisit, hemoroid, kolon kanseri, ülser gibi hastalıkları önlediği bildirilmektedir. Ayrıca kan glukoz seviyesini dengelemektedir. Yüksek oranda β -glukan ile hastalarda insülin dozajı azaltılabilmektedir (Klopfenstein, 1988).

Arpanın bu yararlarından dolayı son yıllarda gıda sanayinin çeşitli alanlarında kullanım olanakları araştırılmaya başlanmıştır. Günümüzde arpadan kahvaltılık tahıl ürünleri, arpa unundan ekmek, bisküvi, kek yapılmakta, arpa unu kıvam artırıcı olarak ve alkolsüz içeceklerde çözünür lif olarak kullanılmaktadır. Malt unu aroma ve enzim kaynağı olarak birçok unlu ürüne ilave edilmektedir (Newman and Newman, 1991; Bhatt, 1992). Ayrıca buğday ununa arpa unu ilave edilerek bazlama (Başman and Köksel, 1999), yufka (Başman and Köksel, 2001) ve arpa kullanılarak arpa bulguru (Köksel et al., 1999) ve ekstrüzyon ürünleri (Huth et al., 2000; Köksel et al., 2004) yapılmıştır. Arpa kullanılarak β -glukanca zengin yeni fonksiyonel gıdaların geliştirilmesi, arpa içeren gıdaların kullanımlarının yaygınlaşmasında etkili olacaktır.

Mayalı ekmeklerde arpa unu kullanımı, glutenin olmaması ve çözünür life bağlı olarak suyun daha çok tutulması nedeniyle buğday ununa nazaran daha az istenmektedir. Bhatt (1986), beyaz tava ekmeğine %10 u geçmeyen miktarda ilave edilen arpa ununun ekmek hacmi ve görünüşünü ciddi şekilde etkilemediğini bildirmiştir. Klopfenstein and Hosney (1987) in yaptıkları bir çalışmada arpa, yulaf, buğday ve sorgumdan β -glukanca zengin fraksiyonlar hazırlanmıştır. %7 β -glukan içeren ekmeklerde ekmek içi renginin açık krem, kabuk renginin normal ve koyu kahverengi arasında olduğu bulunmuştur. %13 yulaf β -glukanı içeren

ekmeklerin ekmek içi gözenek yapısı ise daha yoğun olup kabuk rengi koyu kahverengidir.

Toplam una %10 dan %40 a kadar katılan arpa unu su absorpsiyonunu eklenen miktarla orantılı olarak arttırmaktadır. Pişmiş ekmek hacmi 4.6 ml/g dan 3.9 ml/g a düşmüş, iç ve dış görünüş bozulmuştur. 25:75, 50:50 ve 75:25 arpa buğday unu karışımlarında artan arpa unu miktarı ile doğru orantılı olarak kabuk rengi, gözenek yapısı ve ekmek hacmi düşmüştür. 30:70 arpa buğday karışımına %1 gliseril monostearat ve %0.5 kalsiyum stearoil laktilat eklendiğinde kabuk ve gözenek renginin, tekstürün kabul edilebilir düzeyde olduğu gözlenmiştir. Bir başka çalışmada ekmek yapımı için hazırlanan arpa-buğday unu karışımında arpa ununun %5 den %10 a yükselmesiyle farinograf hamur stabilitesinin azaldığı, ekstensograf datalarının ise etkilenmediği gözlenmiştir. Ekmek hacmi düşmüş, iç yapı karakteristikleri bozulmuştur. %10 arpa unu katkılı ekmekte kuvvetli arpa aroma ve tadı bulunmaktadır (Newman and McGuire, 1985) .

Knuckles et al. (1997), β -glukanca zenginleştirilmiş ekmek ve makarna hazırlamışlardır. Ekmek ve makarna yapımında %20 ve %40 β -glukanca zengin arpa fraksiyonu ve suda çözünür β -glukan fraksiyonu kullanmışlardır. Ekmekte %5 suda çözünür β -glukan fraksiyonu, makarna yapımında ise %20 suda çözünür β -glukan fraksiyonu kullanılmıştır. β -glukanca zenginleştirilmiş arpa fraksiyonu, ekmek ve makarnada su absorpsiyonunu arttırmış ve ayrıca ekmek yapımında yoğurma zamanı artmıştır. β -glukanca zengin arpa fraksiyonu %20 oranına kadar ekmek ve makarnada tat ve çiğneme ile ilgili duyusal özelliklerce kabul edilebilir ürün vermektedir ve yüksek lif içeriğine bağlı olarak daha sağlıklı ve düşük kalorilidir. Ekmekteki %5 suda çözünür β -glukan ve makarnadaki %20 suda çözünür β -glukan kalite karakteristikleri açısından kontrolle kıyaslanabilir düzeydedir.

Melland et al. bazı arpa çeşitlerinden spagetti hazırlamışlardır. Ürün rengi başlıca dezavantaj olup bazı yöntemlerle ürün rengi ağartılmıştır. Başka bir araştırmacı, arpa ve buğdaydan hazırlanan makarnaların fonksiyonel kalite karakteristiklerini karşılaştırmıştır. Arpadan yapılan makarnada yapışkanlık daha az olup,

kümeleşme değeri, yumuşaklık ve çiğnenebilirlik buğdaydan yapılabildiğine göre daha yüksektir (Newman and Newman, 1991). Erişte (noodle) benzeri ürünlerin yapımında ise arpa unu miktarı arttıkça gri rengin daha hakim olduğu, tat-kokunun bozulduğu, pişirilmiş eriştelerin ağırlığının ve hacminin ise arttığı gözlenmiştir. 20:80 arpa buğday oranında ise pişmiş eriştelerin tat-kokusunun kabul edilebilir düzeyde olduğu tesbit edilmiştir (Newman and McGuire, 1985).

Arpa unu ilavesi "muffin" (bir çeşit küçük kek) ve bisküvi üretiminde de kullanılmış ve kaliteyi mayalı ekmeklerdekine nazaran daha az etkilemiştir. Hacim, görünüş ve tat-koku, 25:75, 50:50 veya 75:25 arpa-buğday karışımlarında benzerdir. Bisküvilerde, arpa unu ilavesi arttıkça yayılma oranı artmaktadır ancak artış kabul edilebilir düzeydedir (Newman and McGuire, 1985). Muffin yapımında %100 arpa unu kullanılabilir ancak çeşit farklılıkları hacmi ve yoğunluğu etkilemektedir. Yapılan duyusal testlerde bu örneklerin kabul edilebilirliğinin kontrol buğday unu ile hazırlanan örneklere eşit veya daha yüksek olduğu bulunmuştur (Newman et al., 1990). Hudson et al. (1992), muffin formülasyonuna %40 oranında β -glukanca zengin arpa fraksiyonu eklemiştir ve yüzeyi düzgün, karakteristik çatlakları olmayan ürün elde etmişlerdir.

Berglund et al., (1994), ekstrüzyon ürünlerinde özellikle yüksek besinsel lifli yiyeceklerin hazırlanmasında arpa ununun kullanılabileceğini göstermişlerdir. %100 arpalı ürünlerde yüksek kitle yoğunluğu ve hacimce genişleme oranının sınırlı olduğu gözlenmiştir. %50 pirinçle karıştırıldığında kitle yoğunluğu %50 oranında azalmıştır ve görünüş %100 pirinçli ürüne benzerdir. Ekstrüzyon, birçok hububat ürününün çözünür lif içeriğinin artmasına neden olmuştur. Duyusal değerlendirmelerde 50:50 ve 65:35 arpa pirinç karışımları gevreklik ve renk açısından %100 pirinç içeren ürüne göre daha yüksek, tat-koku ve toplam kabul edilebilirlikte ise aynı puanları almıştır.

2.6. Soyanın Hububat Endüstrisindeki Kullanım Alanları

Soya fasülyesi, kimyasal bileşiminden dolayı değerli tarımsal ürünlerden biridir. Toplam yağ ve protein miktarı kurumadde üzerinden yaklaşık %60'dır. Geri kalan kısmı ise karbonhidrat (~%35) ve küldür (~%5). Diğer baklagillerin protein içeriği

%20-30 ve tahılların ki %8-15 iken, soya fasülyesi yaklaşık %40 protein içeriği ile birinci sırayı almaktadır. Soya fasülyesi yağ ve protein açısından olduğu gibi diğer bileşim unsurları açısından da zengin bir gıda maddesidir. Soyada bulunan diğer önemli bileşenler fosfolipidler, vitaminler ve minerallerdir. Ayrıca soya, bazıları biyolojik açıdan aktif olarak nitelendirilen birçok minör maddeyi de (tripsin inhibitörleri, fitazlar ve oligosakkaritler) içermektedir. Soya izoflavonlar gibi bazı antikarsinogen maddeleri içermesi nedeniyle kolon, meme ve prostat gibi kanserleri önlemekte, kalp rahatsızlığı osteoporosis ve diabet kontrolünde oldukça etkin rol oynamaktadır. Soya fasülyesinin protein değerinin yüksekliği, kalorisinin düşüklüğü, karbonhidrat oranının az oluşu, kolesterol içermemesi gıdalarda katkı maddesi olarak batı ülkelerinde kullanımının giderek artmasına sebep olmuştur. Soya fasülyesi, besinsel açıdan hayvansal kaynaklı gıda maddelerine en yakın olan bitkisel kaynaklı ürün olarak diyetle protein açığının kapatılmasına katkıda bulunmaktadır (Riaz, 1999b; Olanca ve Köksel, 2002).

Soya fasülyesinin işlenmesi ile tam yağlı soya unu, enzimce aktif soya unu, yağsız soya unu ve tekrar yağ ilave edilmiş soya ürünleri olmak üzere dört temel grup ürün elde edilmektedir. Tam yağlı soya unu; soya fasülyesindeki doğal yağın tümünü içerir, enzimleri ve beslenme değerini olumsuz etkileyen faktörleri uzaklaştırmak için ısıtılma tabii tutulmuştur. Enzimce aktif soya unu; yağ ekstre edilmiş ve sadece ılımlı bir ısıtılma uygulanmış, lipoksidaz aktivitesine sahip undur. Yağsız soya unu; yaklaşık %1 yağ içerir ve enzim aktivitesini uzaklaştırmak için ısıtılma tabii tutulmuştur. Yağsız soya unu, gıdalarda yüksek oranda kullanılan soya ürünleri arasındadır. Düşük seviyede ısıtılma gören bu ürün, direkt olarak özel amaçlar için ya da soya proteini izolatlarının üretiminde kullanılmaktadır. Tekrar yağ ilave edilmiş ürünler ise; yağsız soya ununa değişen miktarlarda soya yağı ve/ veya lesitin ilavesiyle elde edilmektedir (Garcia et al., 1997; Riaz, 1999a).

Soya unlarının fırıncılık ürünlerinde kullanımı; protein miktarı, yağ miktarı, protein çözünürlüğü, üreaz aktivitesi, lipoksidaz aktivitesi ve parçacık büyüklüğü temel alınarak belirlenmektedir. Bunlar içinde protein çözünürlüğü, ürünün fonksiyonelliğini etkileyen başlıca faktördür. Soya ununun içerdiği ve birinci derece de öneme sahip enzimler; lipoksidaz, üreaz, lipaz, amilaz ve proteazdır. Soya

ununun enzim aktivitesi ve besleyici özellikleri protein çözünürlüğü ile ilişkilidir. Soya fasülyesi maksimum beslenme değerine ulaşılabilmesi için inaktive edilmesi gereken beslenme değerini önleyen bazı faktörler içermektedir. İnsan sindirim sistemindeki tripsin enziminin aktivitesini geciktiren anti-tripsin faktörü buna birinci derecede bir örnektir. Beslenme değerini olumsuz etkileyen faktörler ısı ile tahrip edilmektedir (Garcia et al., 1997).

Ekmek üretiminde kullanılan yağsız soya unu hemen hemen tüm enzim aktivitesini tahrip edecek ve lezzeti geliştirecek yeterlilikte fakat ekmek yapım kalitesini bozmayacak derecede ısı ile işleme tabi tutulurlar. Yağsız soya ununun standart fırın ürünlerinde kullanımı ABD de en fazla %3 (un ağırlığı üzerinden) ile sınırlandırılmıştır. Ülkemizde de gıda katkı maddeleri yönetmeliği ekmekte bulunabilecek yağsız soya unu miktarını en fazla 30 g/kg olarak belirtmiştir. Soya unu ekmek üretiminde %1-3 oranında kullanıldığında su kaldırma miktarını arttırmaktadır (Boyacıoğlu, 1996).

Buğday proteinindeki lizin eksikliğini gidermek amacıyla yapılan çalışmalarda; ekmek yapımında kullanılan buğday ununun %11-12 si yerine soya unu kullanılmıştır. Ekonomik oluşu ve iyi bir protein kaynağı olması yağsız soya ununun yağsız süttozu yerine kullanılabilirliğini arttırmaktadır. Soya unu katılan çeşitli kek, hamur işi ve pastacılık ürünlerinin soya unu içermeyenlere göre daha iyi özelliklere sahip oldukları görülmüştür. Makarnaya soya ununun katılması sonucu belirgin, yüksek bir besleyicilik kalitesine ulaşılmıştır. Ekmek formüllerinde kullanılan yağsız süttozu yerine soya unu kullanımı üzerine de araştırmalar yapılmış ve %3 soya unu içeren bir ekmeğin %3 süttozu içeren bir ekmekle aynı besleyici değere sahip olduğu görülmüştür. Katılan soya unu miktarının artmasıyla ekmeğin protein kalitesi de artmaktadır. Ancak buğday ununun %6 sından fazlası yerine soya unu kullanılırsa ekmek karakteristiklerinde bozulmalar görülmekte ve hamur işleme tekniklerinde değişiklikler gerekmektedir (Ötleş ve Atlı, 1996).

Buğday gluteninin viskoelastik karakteristiğinin soya ununda olmaması ekmek üretiminde kullanımını sınırlandırmaktadır. Buğday ununa %3-5 den daha fazla miktarda soya unu ilavesi su absorpsiyonunu, yoğurma ve fermentasyon özelliklerini, ekmek hacmini, ekmek içi gözenek yapısını, rengini ve aromasını

olumsuz etkilemektedir (Hoover, 1971). Soya protein ürünlerinin ekmek kalitesi üzerine benzer olumsuz etkileri Finney et al. (1963), Ranhotra et al. (1974), tarafından da bildirilmiştir. Tsen and Hoover (1973), bir çalışmada ekmek yapımında buğday ununa tam yağlı soya unu ilavesinin hem reolojik hem de ekmeklik karakteristikleri olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Tam yağlı soya unu ilavesi hamurda su absorpsiyonunu arttırmaktadır. Hamur gelişme süresi, %12 soya unu ilavesiyle 10.5 dakikadan 6.4 dakikaya düşmüştür. Ayrıca hamur stabilitesi de soya unu ilavesiyle hızla düşmüştür. %20 soya unu ilavesiyle hamur stabilitesinin 6.4 dakika gibi en düşük seviyeye ulaştığı gözlenmiş ama daha fazla soya unu ilavesiyle bu değer artmıştır. Soya ununun %12-28 arasındaki miktarlarda ekmek formülasyonuna ilavesinin ekmek hacmini azalttığı ve ekmek içi gözenek yapısını bozduğu gözlenmiştir. Bir başka çalışmada (Jakubczyk and Haberowa, 1974) soya unu, soya protein konsantrati ve izolatinin hamur ve ekmek karakteristikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Su absorpsiyonu %3 soya ilavesi ile %3.8-4.7, %5 soya ürünü ilavesiyle %6.1-7.3 artmıştır. Hamur gelişme süresi ve stabilite artmış, yumuşama derecesi ise azalmıştır. Bununla beraber bu olumlu etkiler ekmek pişirme özelliklerine yansımamıştır. Ekstensografla belirlenen fiziksel özelliklerdeki önemli düşüş ise ekmek hacmi ile bağdaştırılabilir bulunmuştur.

Ekmek yapımında soya ununun neden olduğu benzer olumsuz etkiler doğal ve sentetik glikolipidlerin (Pomeranz et al., 1969a-b), potasyum bromat (Ofelt et al., 1954; Pollock and Geddes, 1960a-b), gliseril monostearat (GMS) ve sodyum stearoil-2-laktilat (SSL) (Tsen and Hoover, 1973; D' Appolonia, 1977) ilavesi ile giderilebilmektedir. Bir çalışmada %0.5 SSL ilavesiyle ekmek formülasyonuna %24 e kadar soya unu ilave edilebildiği ve bu ekmeğin kabul edilebilir özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir. Formülasyona yağsız soya unu ilavesinin tam yağlı soya ununa kıyasla daha kötü sonuç verdiği bildirilmiştir (Tsen and Hoover, 1973).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Araştırmada sert kırmızı yazlık buğday çeşidi Sharpshooter, yumuşak kırmızı kışlık buğday çeşidi Roane, mumsu çıplak arpa çeşidi Merlin ve ticari yağsız soya unu (Nutrisoy 7B Flour, ADM Protein Specialities, Decatur, Ill., USA) kullanılmıştır. Sharpshooter ve Roane buğday çeşidi ve arpa çeşidi Merlin, AACC Metod 26-10A (AACC, 1990) ya göre Bühler tipi laboratuvar değirmeninde (Bühler Bros. Inc., Uzwil, Switzerland) öğütülmüş ve elde edilen unları kullanılmıştır. Roane çeşidinin fiziksel hamur özellikleri zayıf, Sharpshooter çeşidinin ki ise kuvvetlidir. Transglutaminaz enziminin buğday unları üzerine etkisini incelemek amacıyla buğday unlarına %0.10, 0.25, 0.50, 1.00 ve 1.50 (w/w) seviyesinde bakteriyel Transglutaminaz enzimi (100 ünite/g) (Ajinomoto, Teaneck, N.J., USA) ilave edilmiştir. İkinci bir seri örnek hazırlamak amacıyla her iki buğday ununa arpa çeşidi Merlin'e ait undan %10, 20, 30, 40 ve 50 oranında veya ticari yağsız soya unundan %5, 10, 15, 20 ve 25 oranında ilave edilmiştir. Değişik miktarlarda arpa unu veya yağsız soya unu içeren karışımlara %0.25 seviyesinde Transglutaminaz enzimi ilave edilerek farklı bir seri örnek hazırlanmıştır. Enzim miktarı daha önceki çalışmalarda belirlenen optimum miktardır.

3.2. Metot

3.2.1. Fiziksel yöntemler

3.2.1.1. Un verimi tayini

Örnekler yabancı maddelerin uzaklaştırılmasından sonra tavlansmıştır. Tavlama işlemi sırasında sert taneli Sharpshooter çeşidine rutubet düzeyi %15.5, yumuşak taneli Roane çeşidine rutubet düzeyi %14.5 ve Merlin çeşidi arpa örneğine rutubet düzeyi %14.0 olacak şekilde su verilmiştir. Örnekler ağız kapalı kaplarda oda sıcaklığında 24 saat bekletildikten sonra pnömatik taşıma sistemli, 6 pasajlı otomatik Bühler laboratuvar değirmeninde (Bühler Bros. Inc., Uzwil, Switzerland) öğütülmüştür. Değirmende akış hızı yumuşak buğday ve arpa için 75 g/dak ve sert

buğday için 100g/dak olarak ayarlanmıştır. Un verimi aşağıdaki formülden hesaplanmıştır (Özkaya ve Kahveci, 1990).

$$\% \text{ Un verimi} = \frac{\text{Toplam Un (g)} \times 100}{\text{Toplam Un (g)} + \text{İnce kepek (g)} + \text{Kalın kepek (g)}}$$

3.2.2. Kimyasal Yöntemler

3.2.2.1. Rutubet miktarı tayini

Rutubet miktarı, buğday, buğday unları, arpa, arpa unu ve yağsız soya ununda AACC Metod No: 44.01 (AACC, 1990)'e göre saptanmıştır.

3.2.2.2. Kül miktarı tayini

Buğday unlarında kül miktarı tayini, AACC Metod No: 08-01 (AACC, 1990)' e göre saptanmıştır. Yöntemin prensibi, darası belli bir porselen kroze içine tartılan belli miktardaki örneğin 900°C' deki kül fırınında hiç siyah leke kalmayıncaya kadar yakılması ve kalan miktarın ağırlığının belirlenmesidir.

3.2.2.3. Protein miktarı tayini

Buğday unlarının protein (N x 5.7) miktarı, arpa ununun protein (N x 6.25) miktarı ve yağsız soya ununun protein (N x 6.25) miktarı AACC Metod No: 46-12 (AACC, 1990)' de verilen Kjeldahl yöntemine göre saptanmıştır. Yöntemin prensibi, materyali derişik sülfürik asit ve sıcaklık etkisiyle yakmak ve içerisinde bulunan azotu amonyum sülfat halinde bağladıktan sonra bunu derişik sodyum hidroksit çözeltisi ile muamele ederek meydana gelen amonyum hidroksitten azotlu maddelerin miktarını hesaplamaktır.

3.2.2.4. Zeleny sedimentasyon testi

Buğday unlarının sedimentasyon değeri tayini AACC Metod No: 56-61A (AACC, 1990)' ya göre saptanmıştır. Yöntemin prensibi zayıf asit çözeltisindeki un

partiküllerinin şişerek gluten kalitesine göre hacminin artması ve partiküllerin belirli zaman içindeki çöken miktarının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

3.2.2.5. Transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi

Transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi, AACC Metod No: 56-61A (AACC, 1990) da bildirilen sedimentasyon değeri tayini modifiye edilerek geliştirilmiştir. Sedimentasyon silindirlere un örneklerinden 3.2 g (%14 rutubet esasına göre) ve farklı seviyelerde TG (%0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 1.5; w/w) tartılarak üzerine 50 ml bromfenol mavisi çözeltisi ilave edilip çalkalama aletinde 5 dakika çalkalanır. Transglutaminaz enziminin katalizlediği çapraz bağlama etkisini gözlemleyebilmek için 45°C deki su banyosunda 30 dakika inkübe edilir. Süre sonunda 25 ml sedimentasyon test çözeltisi ilave edilerek alette 5 dakika daha çalkalanır. Düz bir zemin üzerinde 5 dakika bekletildikten sonra çökelti hacmi okunur.

3.2.2.6. β -glukan analizi

Arpa ununun β -glukan içeriği β -glukan ve glukoz test kitleri (Megazyme 2/11 Ponderosa Parade, Warriewood Sydney, N.S.W., 2102, Australia) kullanılarak belirlenmiştir. Kullanılan yöntem; McCleary and Glennie-Holmes (1985), McCleary and Cood (1991), McCleary and Mugford (1992) tarafından geliştirilen yöntemlerin modifiye edilmiş şeklidir ve McCleary metot olarak anılmaktadır.

3.2.3. Elektroforetik özellikler

Transglutaminazın tek bir kaynağın proteinleri (buğday unu, arpa unu, yağsız soya unu) ve karışımların (buğday unu/soya unu, buğday unu/arpa unu) proteinlerinde polimer oluşturma düzeyi elektroforez tekniği kullanılarak test edilmiştir.

3.2.3.1. Örnek hazırlama

Buğday unu, soya unu veya arpa unu (1000 mg) ve buğday ununa %20 soya unu (buğday/soya) veya %40 arpa unu (buğday/arpa) ilavesi ile hazırlanan karışımlar (1000 mg) 10 mg transglutaminaz ve distile deiyonize su (4 mL) ile muamele edilmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. Bu karışımlar 35°C de her 15 dakikada bir

vortekslenmek suretiyle 0, 30, 60, 120 veya 240 dakika inkübe edilmiştir. Bu inkübasyon süreleri ve sıcaklık Köksel et al. (2001) in daha önceki çalışma sonuçlarına dayandırılarak seçilmiştir. Kontrol örnekleri transglutaminaz içermemektedir. Enzimatik reaksiyonu sonlandırmak için tüpler hızla buzlu suda soğutulmuştur. Örnekler daha sonra dondurulmuş ve liyofilize edilmiştir. Liyofilize edilen örnekler havanda öğütülmüş ve analizi yapılincaya kadar -20°C de saklanmıştır.

3.2.3.2. Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE)

Herbir örneğin 35°C de farklı inkübasyon süreleri sonunda TG ile verdiği reaksiyon SDS-PAGE yöntemiyle Ng and Bushuk (1987) a göre incelenmiştir. Kullanılan çözeltiler ve işlem koşulları hakkında bilgi aşağıda sunulmuştur.

SDS-PAGE' de kullanılan çözeltiler;

Ekstrakt seyreltme stok çözeltisi: 0.063 M Tris, %2 (w/v) SDS, 5:20 (v/v) gliserol ve %0.01 (w/v) Pyronin Y ile hazırlanmış ve pH sı 6.8 e ayarlanmıştır.

Ekstrakt seyreltme çözeltisi: Ekstrakt seyreltme stok çözeltisi 1:2.5 oranında distile su ile karıştırıldıktan sonra son konsantrasyonu %7 (v/v) olacak şekilde 2-merkaptotanol (ME) ilave edilmiştir.

Ön ayırım jel çözeltisi: %3 (w/v) akrilamid, %0.043 (w/v) N,N'metilenbisakrilamid, 12.5 mL/L ön ayırım jel tampon çözeltisi (1.0 M Tris, pH 6.8), %0.1 (w/v) SDS içerir.

Ayırıcı jel çözeltisi: %14 (w/v) akrilamid, %0.6 (w/v) N,N'metilenbisakrilamid, 94 mL ayırıcı jel tampon çözeltisi (1.0 M Tris, pH 8.8), %0.1 (w/v) SDS içerir.

Elektroforez tampon çözeltisi: 0.192 M glisin, 0.025 M Tris, %1 (w/v) SDS içerir, pH sı 8.3 e ayarlanmıştır.

Stok boya çözeltisi: 1.5 g Coomassie Brilliant Blue G-250, 1 L 2 N H₂SO₄ ilave edildikten sonra distile su ile 2 L' ye tamamlanmıştır.

Boyama çözeltisi: 300 mL stok boya çözeltisi, 35 mL KOH ve 50 mL %100 lük trikloroasetik asit (TCA) içerir.

SDS-PAGE için örnek hazırlama

SDS-PAGE örneklerini hazırlamak için 40 mg liyofilize edilmiş örnek 500 mL ekstrakt seyreltme çözeltisinde çözündürülmüş ve oda sıcaklığında 2 saat boyunca her 15 dakikada bir vortekslenerek proteinler ekstrakte edilmiştir. Bu süre sonunda 95 °C de 3.5 dakika ısıtıcı blokta bekletilmiştir.

SDS-PAGE işlemi

Ayırıcı jel çözeltisine 0.25 g/lt amonyum persülfat (APS) ve 0.5 mL/L tetrametiletildiamin (TEMED) ilave edilerek kalıba (160x180x1.5mm) (Hofer Scientific Instruments, San Francisco, Calif., U.S.A) dökülmüştür. Polimerleşme tamamlandıktan sonra ön ayırım jeline 0.375 g/L APS ve 0.75 mL/L TEMED ilave edilerek ayırıcı jel üzerine dökülmüştür. Moleküler ağırlıkların belirlenebilmesi için kullanılan referans proteinler (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO., U.S.A) şunlardır; miyozin (205000), β -galaktozidaz (116000), fosforilaz b (97000), fruktoz-6-fosfat kinaz (84000), bovin serum albumin (66000), glutamat dehidrogenaz (55000), ovalbumin (45000), gliseraldehit-3-fosfat (36000) dir. Jel yuvalarına protein markörleri, buğday-arpa karışımları ve soya örnekleri hariç 10 μ L örnek enjekte edilmiştir. Protein markörleri için miktar 13 μ L, buğday-arpa karışımları için 12 μ L ve soya örnekleri için 5 μ L dir. Elektroforez işlemi 20°C de ve 2 jel başına 25 mA sabit akımda toplam 20 saatte gerçekleştirilmiştir. Jelde örnek yürütme işlemi tamamlandıktan sonra jeller cam plakalardan çıkartılmış ancak polimer oluşumunun gözlenebilmesi için ön ayırım jeli ayırıcı jelden ayrılmamıştır. Jeller bir gece boyunca Coomassie Brilliant Blue G-250 ile Ng ve Bushuk (1987) yöntemine göre boyanmıştır. Daha sonra jeller jel kurutucuda (Easy Breeze Gel Dryer, Hofer Scientific Instruments, San Francisco, Calif., U.S.A) kurutulmuştur.

3.2.3.3. Elektroforez sonuçlarının densitometrik analizi

Polimer oluşumu SDS-PAGE sonuçlarının densitometrik analizi ile belirlenmiştir. Jeller kurutulduktan sonra elektroforez bant desenleri transmitans/reflektans taramalı densitometrede (Model GS 300; Hoefer Scientific Instruments, San Francisco, Calif., U.S.A) GS 365W programı yardımıyla taranmıştır. Polimerlerin bağıl miktarları (relative quantities) densitogramlardaki ilgili alanlardan hesaplanmış ve farklı örneklerdeki çapraz bağlanma düzeylerinin karşılaştırılabilmesini kolaylaştırmak için normalize edilmiştir. Regresyon analizinde densitometrik görüntünün üst kısmından itibaren jelin %80'i yani yüksek ve düşük moleküler ağırlıklı bölgeler kullanılmıştır. TG nin etkisinin hemen hemen hiç görülmediği alt kısımdaki %20 lik bölüm değerlendirmeye alınmamıştır.

3.2.4. Reolojik testler

3.2.4.1. Farinograf araştırmaları

Örneklerin farinogramları AACC Metod No: 54-21 (AACC, 1990)' e göre saptanmıştır. Her iki unun kontrol, arpa katkılı, yağsız soya unu katkılı örneklerinin, farklı seviyelerde TG (%0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 1.5; w/w) içeren her iki buğday ununun, %0.25 TG içeren ve farklı seviyelerde arpa (%10, 20, 30, 40 ve 50) veya soya unu (%5, 10, 15, 20, 25) ilave edilmiş her iki buğday ununun farinogram özellikleri belirlenmiştir. Farinogramların değerlendirilmesinde Shuey (1984)' den yararlanılmış ve örneklerin su absorpsiyonu, gelişme süresi, yumuşama derecesi, yoğurma tolerans sayısı ve stabilite değerleri saptanmıştır.

3.2.4.2. Miksograf araştırmaları

Örneklerin miksogram özellikleri AACC Metod No: 54-40 (AACC, 1990) a göre 2 g miksograf (National MFG Co. Lincoln, Nebraska) belirlenmiştir. Her iki unun kontrol, arpa katkılı, yağsız soya unu katkılı örneklerinin, farklı seviyelerde TG (%0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 1.5; w/w) içeren her iki buğday ununun, %0.25 TG içeren ve farklı seviyelerde arpa (%10, 20, 30, 40 ve 50) veya soya unu (%5, 10, 15, 20, 25) ilave edilmiş her iki buğday ununun farinogram absorpsiyon değerleri dikkate alınarak ve %2 tuz ilave edilerek miksografları çizilmiş ve pik gelişim süreleri

belirlenmiştir. Hamur, pişme testinde olduğu gibi farinograf absorpsiyonu kadar su ve %2 tuz ilavesi ile hazırlanmıştır. 2g miksografin işlevi de ekmek hamuru hazırlamada kullanılan National M.F.G. yoğurucunun (National M.F.G Co., Lincoln, Nebraska) işlevi ile benzerdir.

3.2.4.3. Mikroekstensibilite testi

Küçük ölçekli ekstensibilite çalışmaları Suchy ve ark. (2000) nın belirtmiş olduğu yöntemle göre Tekstür Analizörünün (TA; Texture Technologies, Scarsdale, NY/ Stable Microsystems, SMS, Godalming, Surrey, UK) SMS/Kieffer hamur ve glutende ekstensibilite ölçen aparatı ile yapılmıştır. Her iki unun kontrol, arpa katkılı, yağsız soya unu katkılı örneklerinin, farklı seviyelerde TG (%0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 1.5; w/w) içeren her iki buğday ununun, %0.25 TG içeren ve farklı seviyelerde arpa (%10, 20, 30, 40 ve 50) veya soya unu (%5, 10, 15, 20) ilave edilmiş her iki buğday ununun mikroekstensibilite test sonuçları belirlenmiştir. Ekstensibilite çalışmaları için hamur örnekleri belirtilen örneklerin 2g miksografta farinograf absorpsiyonu kadar su ve %2 tuz ilave edilerek pik gelişim süresine kadar yoğurulmasıyla hazırlanmıştır. Hamur örnekleri 2 paralel halinde hazırlanmıştır. Miksografta optimum süre yoğurulmuş birinci hamurdan elde edilen 3 hamur şeridi 45 dakika, ikincisinden elde edilen ise 90 dakika 30°C ve %95 bağıl nemde dinlendirilmiştir. Ekstensibilite testinde kullanılan hamur dinlendirme sürelerinden 90 dakika pişme testindeki fermentasyon süresine tekabül etmektedir. Hamur şeritleri Tekstür analizöründe 3.3 mm/s hızda ve başlatıcı kuvvet (trigger force) 1 g olmak üzere 5 kg lık yük hücresi kullanılarak test edilmiştir. Her bir örnek için elde edilen grafikten Rmax (uzamaya karşı direnç), E (hamurun kopuncaya kadar ki uzayabilirliği) ve A (kurvenin altında kalan alan) değerleri okunmuştur.

3.2.4.4. Mikroviskoanalizör (Rapid Visco Analyzer; RVA) araştırmaları

RVA çoğunlukla nişasta özelliklerini değerlendirmek amacıyla kullanılan bir cihazdır. Hububat konusunda çalışan çeşitli araştırmacılar bu cihazı farklı amaçlar için kullanmaktadır. Bunlar; malta işlenmeden önce arpa kalitesinin değerlendirilmesi, buğdayda çimlenmenin tesbit edilmesi, erişte kalitesinin

değerlendirilmesi, un örneklerine uygulanan testlerden farklı çeşitteki yufka türü ekmeklerin kalitesinin tahmini ve ekstrüzyon proses koşullarının optimize edilmesi şeklinde özetlenebilir. Son zamanlarda RVA kullanılarak buğday gluten proteinleri gibi proteinlerin kalitelerinin değerlendirilmesi amacıyla metod geliştirme çalışmaları sürdürülmektedir. Bu çalışmada kullanılan "gluten asit metodu" gluten proteinlerinin seyreltik laktik asit içerisinde süspansiyon viskozitesinin artması esasına dayanmaktadır. RVA sonuçlarının bazı reolojik özelliklerle ilişkisinin olduğu düşünülmektedir ve buradan hareketle farklı seviyelerde transglutaminaz ilavesinin iki buğday çeşidinin gluten kalitesi ve reolojik özellikler üzerine etkisinin RVA ile belirlenmesi amaçlanmıştır.

Örneklerin RVA özellikleri RVA 4 (Newport Scientific, Warriewood, NSW, Australia) de incelenmiştir. Veri değerlendirmesi ThermoLine (Warriewood, NSW, Australia) veri analiz yazılımı ile yapılmıştır. TG ilave seviyeleri %0.1, %0.25, %0.5, %1.0 ve %1.5 dur. Kontrol ve TG ilave edilmiş un örnekleri (15.0 g un, %12 nem esasına göre) 22.5 ml distile su ile karıştırılıp 45°C de ki su banyosunda 30 dakika inkübe edilmiştir. RVA ile analizden hemen önce 2.5 ml 1.0 M laktik asit ilave edilerek karışımdaki son laktik asit konsantrasyonu 0.1 M a getirilmiştir. RVA da gluten asit metodu için kullanılan test profili Çizelge 3.1 de verilmiştir. Un kalitesinin RVA ile belirlenmesinde kullanılan parametreler 3. dakika (V_3) ve 10. dakikadaki viskozite değerleri (V_{10}) ve bu değerler arasındaki farkdır (V_{BD} ; breakdown viskozite). Testler 2 paralel halinde yürütülmüş ve ortalama sonuçlar verilmiştir. RVA test sonuçları (V_3 , V_{10} ve V_{BD}) ile sedimentasyon değeri, farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları (R_{max} , E), ekmek kalite karakteristikleri (hacim, ekmek içi sertliği, ekmek içi gözenek yapısı) arasındaki korelasyon değerleri belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Gluten asit metodunda uygulanan RVA profili

Zaman (dakika:saniye)	Sıcaklık veya Karıştırma Hızı
00:00	25.0°C
00:00	1000 rpm
01:00	160 rpm
05:00	25.0°C
07:00	50.0°C
10:00	50.0°C

3.2.5. Ekmek yapma denemesi

Her iki çeşidin unları (kontrol), bunların arpa unu/ yağsız soya unu katkılı örnekleri, her iki buğday ununun farklı seviyelerde TG (%0.1, 0.25, 0.5, 1.0 ve 1.5 ; w/w) içeren örnekleri, her iki buğday ununun %0.25 TG içeren ve farklı seviyelerde arpa (%10, 20, 30, 40 ve 50) veya soya unu (%5, 10, 15) ilave edilmiş örnekleri kullanılarak AACC Metod No: 10-10B (1990) yöntemine göre doğrudan hamur yapma tekniğiyle ekmekler yapılarak özellikleri incelenmiştir.

Kontrol ekmek örneklerinin hazırlanmasında %14 rutubet esasına göre 100 g un, 6 g şeker, 2 g tuz, 3 g shortening, farinograf absorpsiyonu kadar damıtık su (30°C) ve maya süspansiyonu kullanılmıştır. Maya süspansiyonu AACC metodunda (1990) belirtildiği gibi 5.3 g yaş pres maya/20 mL ye denk olacak şekilde 1.75 g aktif kuru mayadan (Red Star Yeast and Products, Milwaukee, WI, USA) hazırlanmıştır. Hamurlar National M.F.G. yoğurucuda (National M.F.G Co., Lincoln, Nebraska) yoğurulmuştur. Pişme testi 2 paralel olarak yapılmış ve ortalama değerler verilmiştir. Toplam fermentasyon süresi 90 dakika olup hamur yoğurma, birinci havalandırma, ikinci havalandırma ve tavalama arasındaki zaman aralıkları sırasıyla 52 dakika, 25 dakika ve 13 dakikadır. Son dinlendirme süresi 40 dakikaya uzatılmıştır. Son şekli verilen örnekler 220°C de 24 dakika süreyle pişirilmiştir.

3.2.6. Ekmek örneklerinin değerlendirilmesi

3.2.6.1. Hacim ölçümü

Ekmek hacmi, örnekler oda sıcaklığında (20°C, %45 nisbi nem) 2 saat soğutulduktan sonra kolza tohumunun yer değiştirmesi esasına dayalı olarak National M.F.G hacim ölçerinde (National M.F.G, Lincoln, Nebraska) belirlenmiştir. Hacim ölçüldükten sonra ekmek örnekleri plastik torbalarda saklanmıştır.

3.2.6.2. Ekmek içi sertliği tayini

Örnekler, ekmek içi sertliği tayini için plastik torbalarda oda sıcaklığında 24 saat muhafaza edilmiştir. Ekmek içi sertlik tayini Tekstür Analizöründe (TA; Texture

Technologies, Scarsdale, NY/ Stable Microsystems, SMS, Godalming, Surrey, UK) TA4 probu (çapı 1.5 inç) kullanılarak yapılmıştır ve herbiri 12.5 mm kalınlığında ki 2 dilimin %25 (6.25 mm) oranında sıkıştırılabilmesi için gerekli kuvvet (N) değerleri ölçülmüştür.

3.2.6.3. Ekmek örneklerinin duyuşal değerlendirmesi

Ekmek örneklerinin duyuşal değerlendirmesinde kontrol örnekleri açık olarak belirtilmiş, diğer örnekler ise rastgele seçilmiş 2 basamaklı rakamlarla numaralandırılmıştır. Duyusal değerlendirme her paneliste ait özel bölmelerin bulunduğu panel laboratuvarında oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Değerlendirmeye konusunda uzman 3 panelist katılmıştır. Örnekler plastik torbalarda oda sıcaklığında 24 saat muhafaza edildikten sonra kabuk rengi, ekmek içi rengi ve ekmek içi gözenek yapısı gibi ekmek kalite kriterlerince değerlendirilmiştir. Kabuk rengi 1-5 skalasında (1=en kötü ve 5=en iyi), ekmek içi rengi ve ekmek içi gözenek özellikleri 1-10 skalasında (1=en kötü ve 10=en iyi) değerlendirilmiş ve ortalama değerler verilmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Yöntemler

Farklı seviyelerde TG ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter unlarına ait ekstensibilite test sonuçları ve ekmek kalite karakteristiklerine ait veriler 2 faktörlü tesadüf blokları deneme deseninin kullanıldığı varyans analizi ile değerlendirilmiştir. Önemli farklılıklar bulunduğunda ortalamalar arası farkı tesbit etmek amacıyla LSD (Least Significance Difference; en küçük önemli fark) testi uygulanmıştır. TG enzim seviyesinin ekmek hacmi ve ekmek içi sertlik değerine olan etkisini belirlemek amacıyla değişkenler arasında 1., 2. ve 3. derece polinom fonksiyonları türetilmiş ve R^2 değerlerine bakılarak aralarındaki ilişkiyi en iyi açıklayabilen polinomlar seçilmiştir.

Farklı seviyelerde TG ilavesinin Roane ve Sharpshooter unlarının RVA test sonuçları (V_3 , V_{10} ve V_{BD}) ile bu örneklerin sedimentasyon değeri, farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları (R_{max} , E , A), ekmek kalite karakteristikleri (hacim, ekmek içi sertliği, ekmek içi gözenek yapısı) arasındaki

korelasyon değerleri MS excel (MS Excel 97, Microsoft Corp., USA) ile belirlenmiştir.

Arpa ve soya ununun belirli miktarlarda Roane ve Sharpshooter unlarına ilavesiyle hazırlanan TG içeren ve içermeyen karışımların mikroekstensibilite test sonuçları (Rmax, E, A), ekme içi sertlik değerleri ve ekme hacmi verilerine ait standart sapma değerleri MS excel (MS Excel 97, Microsoft Corp., USA) ile belirlenmiştir. Ekme kalite karakteristiklerine de 2 faktörlü ve tek faktörlü tesadüf blokları deneme deseni ile varyans analizi uygulanmıştır.



4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

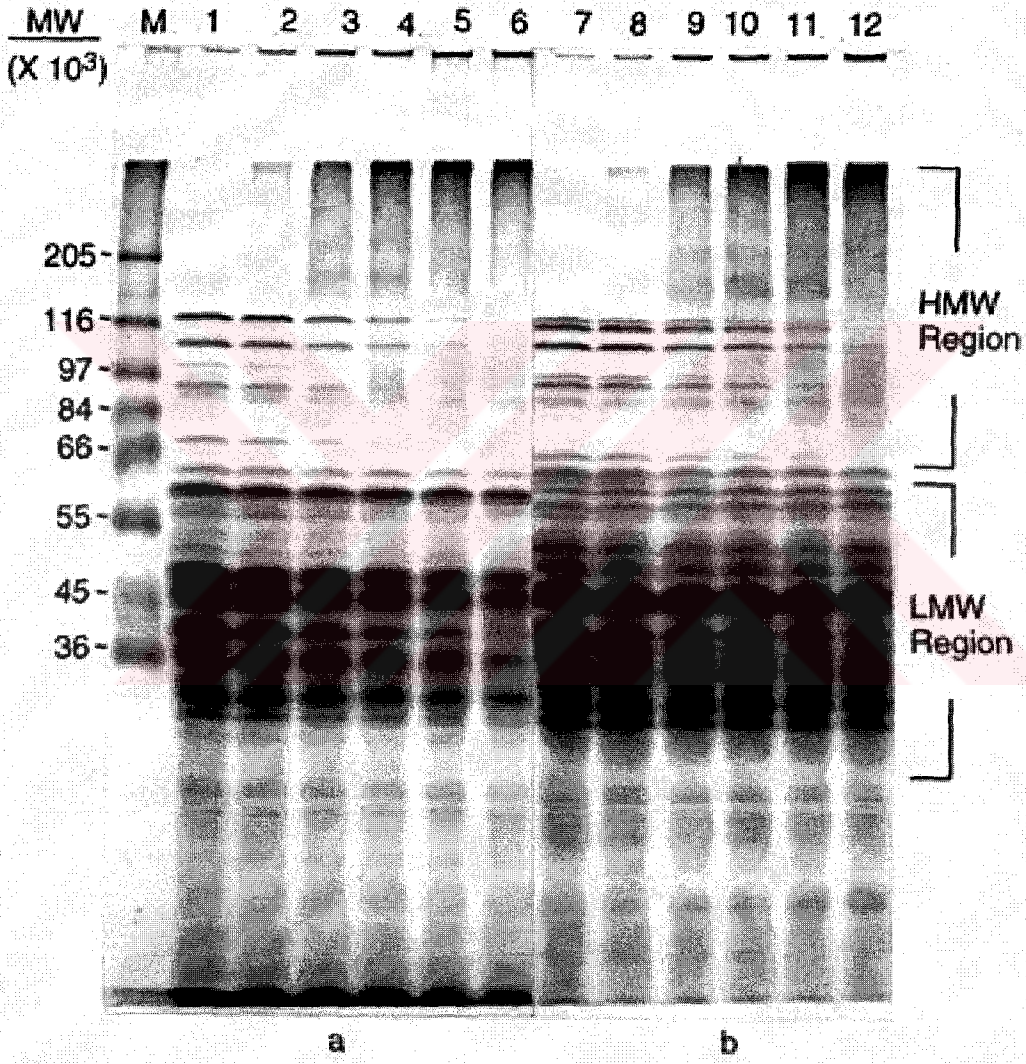
4.1. Un Örneklerinin Kimyasal Özellikleri

Sharpshooter buğday çeşiti %74 verimle, Roane buğday çeşiti %71 verimle ve arpa çeşiti Merlin de %55.4 verimle Bühler tipi laboratuvar değirmeninde una öğütülmüştür. Roane ununun protein (N x 5.7, kurumadde üzerinden) ve kül içerikleri (kurumadde üzerinden) sırasıyla %10.7 ve %0.45, Sharpshooter ununun ise %15.2 ve %0.49'dur. Unlara ait protein değerleri yumuşak ve sert buğday çeşitlerine ait tipik değerlerdir. Ticari yağsız soya unu ve arpa ununda ise sırasıyla %55.6 ve %15.5 (Nx6.25, kurumadde üzerinden) protein içeriği belirlenmiştir. Arpa ununun β -glukan içeriği %4.84 (kurumadde üzerinden) tür.

4.2. Transglutaminaz ile Polimer Oluşumunun Elektroforetik Olarak İncelenmesi

4.2.1. Transglutaminazın buğday proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi

Roane ve Sharpshooter örneklerinin transglutaminaz ile reaksiyonu sonrası elektroforez bant desenlerindeki değişiklikler sırasıyla Şekil 4.1a ve 4.1b de gösterilmiştir. TG nin buğday proteinleri üzerinde polimer oluşumunu katalizlediği gözlenmiştir. Her iki çeşitte de, 0. dakika örneğinin SDS-PAGE deseni (Şekil 4.1, hat 2 ve 8) ayırıcı jelin üst kısmındaki hafif "streaking" (proteinlerin bantlar halinde ayrılmayıp hat boyunca yaygın koyu alan halinde gözlenmesi) haricinde kendi kontrol örneğinden (Şekil 4.1, hat 1 ve 7) farklı değildir. TG ile muamele edilmiş 0 dakika örneği hazırlanırken TG içeren una su ilave edilmiş, vortekslenmiş, hızla dondurulmuş ve liyofilize edilmiştir. Dondurma işleminin enzimatik aktiviteyi durdurduğu düşünülse de çok kısa bir süre de olsa enzim aktif kalmış ve az miktarda çapraz bağlanmayı gerçekleştirmiş olabilir. Bu da 0 dakika örneğinde ayırıcı jelin üst kısmında "streaking" olmasının sebebi olabilir. Daha uzun süre inkübe edilmiş örneklerde de (30 dak., 60 dak., 120 dak. ve 240 dak.) "streaking" gözlenmesi muhtemelen bazı buğday proteinlerinin çeşitli moleküler ağırlıklardaki oligomerleri oluşturmak üzere rastgele çapraz bağlanmasından kaynaklanmış olabilir. Protein ekstraktlarının, SDS-PAGE öncesi %7 lik merkaptotanol ile indirgenmesi elektroforez sonuçlarında gözlenen S-S bağları dışındaki yeni



Şekil 4.1. TG ile muamele edilmiş (a) Roane unu ve (b) Sharpshooter unu SDS-PAGE desenleri M: protein markörü; 1: kontrol; 2: 0 dak. ; 3: 30 dak.; 4: 60 dak.; 5:120 dak.; 6: 240 dak.; 7: kontrol; 8: 0 dak.; 9: 30 dak.; 10: 60 dak.; 11: 120 dak; ve 12: 240 dak; HMW: yüksek moleküler ağırlıklı ; LMW: düşük moleküler ağırlıklı.

kovalent bağların TG polimerizasyonu esnasında oluştuğunu ayrıca doğrulamaktadır.

Yüksek moleküler ağırlıklı bölgedeki proteinlerin çoğu, özellikle yüksek moleküler ağırlıklı (HMW) glutenin alt birimleri inkübasyon esnasında transglutaminazın katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonu ile polimerize olmuştur. Düşük inkübasyon süresinde (30 dakika) bile bir miktar polimerizasyon (Şekil 4.1, hat 3 ve 9) gözlenmektedir. Moleküler ağırlığı 116 kDa civarında olan belirgin bantların relatif yoğunlukları her iki çeşitte de 30 dakika örneğinde azalmaya başlamış ve 240 dakika örneğinde bantlar nerdeyse tamamen kaybolmuştur. Ayrıca moleküler ağırlığı 66 – 97 kDa arasında olan protein bantlarının yoğunluklarının 30 dakika inkübe edilmiş örnekte büyük oranda azaldığı gözlenmiştir. Relatif bant yoğunluklarında gözlenen bu azalma muhtemelen her iki jel bölgesine (ön ayırım ve ayırıcı) giremeyecek kadar yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşumuna bağlıdır. Moleküler ağırlığı 55 kDa dan düşük olan protein bantlarının yoğunlukları ise inkübasyon süresinin artması ile genelde fazla miktarda azalmamıştır. Roane örneklerinde ki azalma daha belirgindir (Şekil 4.1a). LMW (düşük moleküler ağırlıklı) bölgedeki proteinlerin (gliadinler, LMW glutenin alt birimleri ve globulinler) relatif bant yoğunluklarında HMW bölgedeki proteinlere kıyasla daha küçük azalmalar gözlenmiştir ki bu da LMW proteinlerin TG için iyi bir substrat olmadığını ve TG nin katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonunda çok az yer aldığını göstermektedir. Bu sonuçlar, tüm gluten proteinlerinin TG nin substratı olduğunu ve HMW glutenin alt birimleri üzerindeki aktivitenin en yüksek olduğunu gösteren Larre et al (2000) tarafından bildirilen sonuçlara benzerdir.

TG ile muamele edilmiş Roane ve Sharpshooter örneklerinin inkübasyon süresine karşı HMW ve LMW bölgelerindeki bantlarının normalize edilmiş relatif yoğunluklarının regresyon analizi Çizelge 4.1 de verilmiştir. Buğday proteinlerinin elektroforegramlarının hem görsel hem de densitometrik değerlendirme sonuçları HMW ve LMW proteinleri arasında TG den etkilenme açısından bazı farklılıklar olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, HMW ve LMW bölgelerinin regresyon denklemleri ayrı ele alınmıştır. Genel olarak ele alındığında, regresyon denklemlerindeki yüksek eğim değerleri TG nin substrat ile daha yüksek aktive gösterdiğini işaret etmektedir.

İncelenen yumuşak ve sert buğday çeşitlerinin her ikisinin HMW protein bölgesine ait regresyon denkleminin eğimi LMW protein bölgesininkinden daha yüksektir. Bu sonuçlar, HMW proteinlerinin TG ile verdiği çapraz bağlanma reaksiyonunun LMW proteinlerine kıyasla daha fazla olduğu sonucunu doğrulamaktadır ve ayrıca Larre et al (2000) tarafından bildirilen bulgular ile uyum halindedir.

4.2.2. Transglutaminazın soya proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi

Transglutaminazın soya proteinleri (başlıca 7S ve 11S proteinleri) üzerine etkisi Şekil 4.2a da verilmiştir. 7S proteinlerinin moleküler ağırlıkları 66 ve 84 kDa arasında, 11S proteinlerinin ki ise 36 kDa un altındadır (Utsumi et al., 1997). 0 dakika inkübe edilmiş örnekte bile moleküler ağırlığı 116 kDa olan protein bandının üzerinde yeni protein bantlarının oluşmaya başladığı gözlenmiştir. Saf TG aynı SDS-PAGE koşullarında yürütüldüğünde 66 kDa nın üzerinde hiç protein bandı gözlenmemiştir. Kontrol (Şekil 4.2a, hat 1) ve 0 dakika inkübe edilmiş (Şekil 4.2a, hat 2) soya örnekleri arasındaki beklenmeyen farklılık buğday örnekleri için açıklandığı üzere dondurma işlemi öncesi çok kısa süreli çapraz bağlanma reaksiyonuna bağlı olabilir. 0 dakika inkübe edilmiş örnekte 116 kDa ve 205 kDa arası yeni bantların gözlenmesinin yanısıra, 30 ve 60 dakika örneklerinde de (Şekil 4.2a, hat 3 ve 4) 116 kDa üzerinde yaklaşık 10 tane yeni protein bandı açıkça gözlenmektedir. Bu bölgede gözlenen proteinlerin bir kısmı, muhtemelen bazı proteinlerin TG enziminin aktif merkezindeki uyum derecelerine bağlı olarak, bu bölgede spesifik moleküler ağırlıklardaki belirgin bantlar oluşturmuşlardır. Buna ek olarak, bu bölgede proteinlerin bantlar halinde ayrılmayıp hat boyunca yaygın koyu alan halinde gözlenmesi bazı soya proteinlerinin çeşitli moleküler ağırlıklardaki oligomerleri oluşturmak üzere rastgele çapraz bağlanmasından kaynaklanabilir. Bununla beraber, bu bantların yoğunlukları 120 dakika inkübe edilmiş örnekte (Şekil 4.2a, hat 5) azalmıştır ve bu bantlar 240 dakikalık inkübasyonla (Şekil 4.2a, hat 6) kaybolmuştur. Bu da muhtemelen her iki jel bölgesine giremeyecek kadar yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşumuna bağlıdır. Moleküler ağırlıkları 66 ve 84 kDa arasında olan iki tane 7S protein bandınının relatif bant yoğunluklarındaki azalma ilk olarak 30 dakika inkübe edilmiş örnekte (Şekil 4.2a, hat 3) açıkça gözlenmiştir. Bu bantlar 240 dakikalık inkübasyonla (Şekil 4.2a, hat 6) hemen

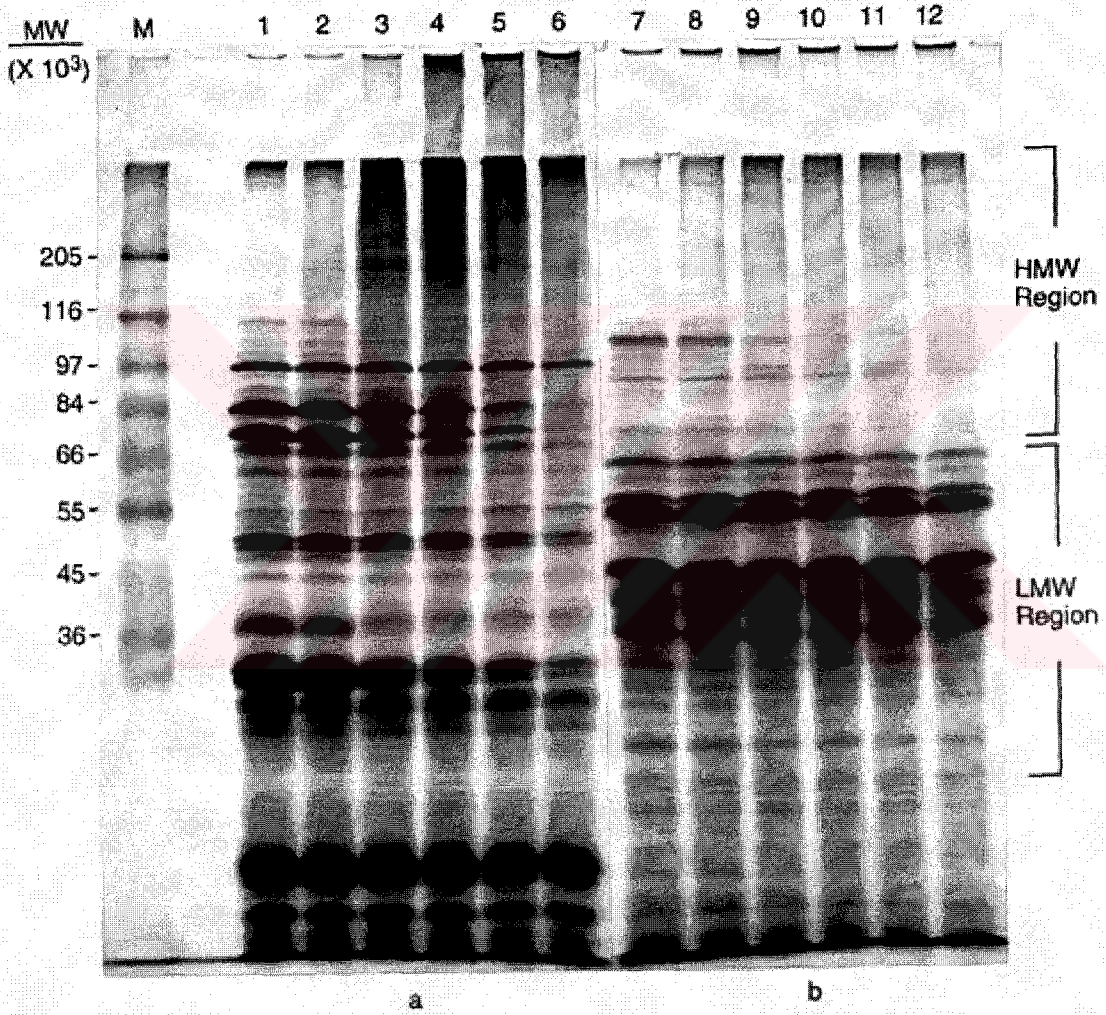
hemen kaybolmuştur. Moleküler ağırlığı 45 ve 55 kDa arasında yer alan bir çift bantın yoğunluğunun 120 dakika inkübe edilmiş örnekte azalmaya başladığı ve 240 dakikalık inkübasyonla bu azalmanın daha da belirginleştiği gözlenmiştir. Bunlara ilaveten, 36 kDa civarındaki (11S) bantların relatif bant yoğunluklarında da 0 dakika inkübasyon sonrasında belirgin azalma gözlenmeye başlanmış ve 240 dakikalık inkübasyonla bantlar büyük ölçüde kaybolmuştur.

Tüm bölgeler (HMW + LMW bölgeler) için inkübasyon süresine karşı densitometrik alanların lineer regresyonlarına (Çizelge 4.1) bakıldığında soya proteinlerinin en yüksek eğim değeri ile TG nin substratı olma açısından buğday ve arpa proteinlerinden daha iyi olduğu gözlenmiştir.

4.2.3. Transglutaminazın arpa proteinlerinin çapraz bağlanması üzerine etkisi

Arpa proteinlerinin transglutaminaz ile reaksiyonu sonrası elektroforez bant desenlerindeki değişiklikler Şekil 4.2b de verilmiştir. Elektroforegram sonuçlarına bakıldığında inkübasyon süresinin artışına bağlı olarak TG nin arpa proteinleri üzerinde polimer oluşumunu katalizlediği gözlenmiştir. Ancak arpa proteinlerinin TG ile çapraz bağlanması soya proteinlerine (Şekil 4.2a) göre daha azdır. Çapraz bağlanma miktarı daha az olsa da arpa proteinleri de TG nin substratı olarak kabul edilebilir. Arpa proteinlerine ait elektroforegramlarda ön ayırım jeline "streaking" gözlenmezken ayırıcı jelde 0 dakika örneğinde çok az olmakla birlikte TG içeren tüm örneklerde "streaking" gözlenmektedir. Moleküler ağırlıkları 97 ve 116 kDa arasında olan protein bantları (glutelinler ve bazı prolaminler/hordeinler) ve 66 kDa un hemen üzerindeki protein bantları (hordeinler) 30 dakika boyunca TG ile inkübe edildiğinde kaybolmaya başlamıştır. Çapraz bağlanma reaksiyonu moleküler ağırlığı 36 kDa ve 45 kDa arasında olan (globulinler ve prolaminler/hordeinler) bantların yoğunluklarında hafif azalmalara neden olmuştur.

Tüm bölgeler (HMW + LMW bölgeler) için inkübasyon süresine karşı densitometrik alanların lineer regresyonlarına (Çizelge 4.1) bakıldığında arpa ve buğday proteinlerinin TG nin substratı olma açısından birbirinden önemli düzeyde farklı olmadığı gözlenmiştir ki bu da regresyon doğrularının eğimlerinin benzer olması ile açıklanabilir.

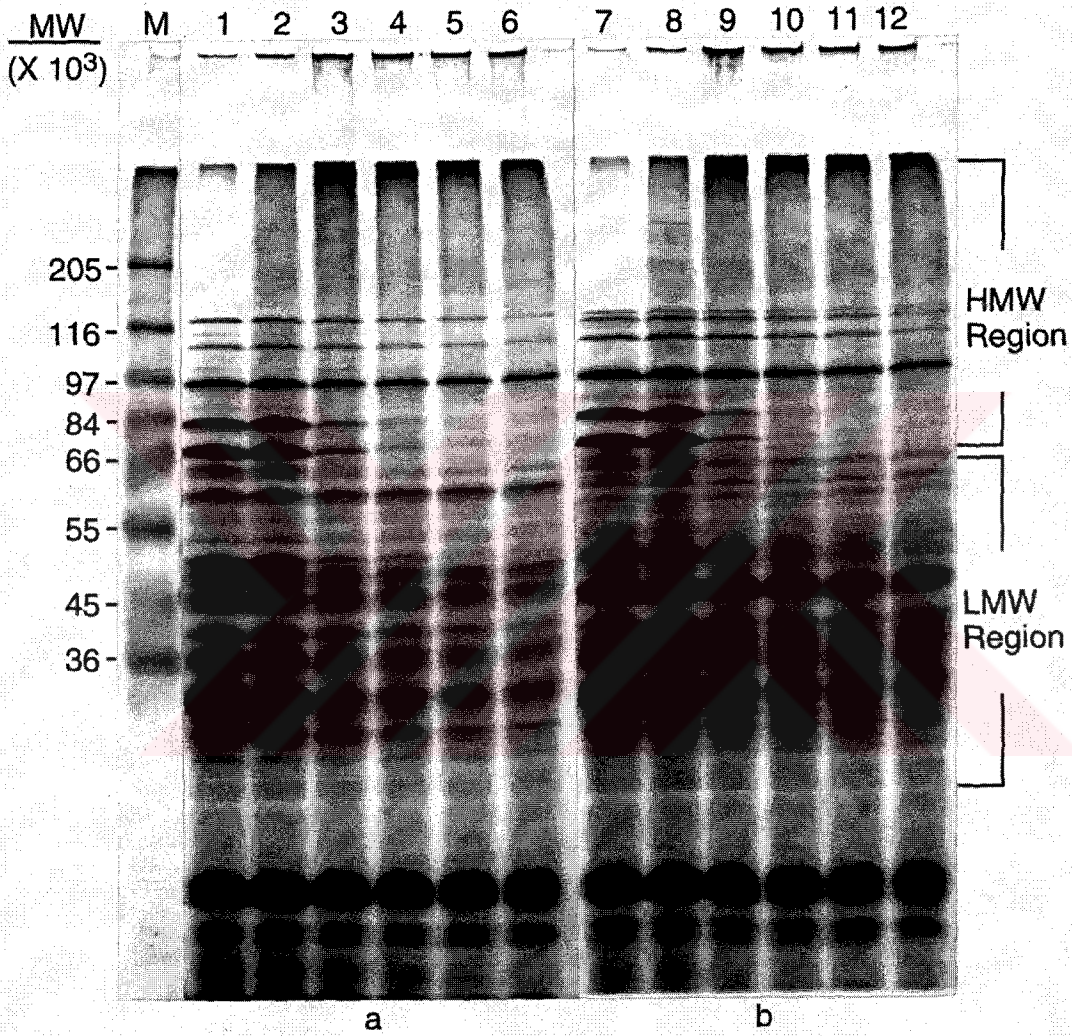


Şekil 4.2. TG ile muamele edilmiş (a) Soya unu ve (b) Arpa unu SDS-PAGE desenleri M: protein markörü; 1: kontrol; 2: 0 dak.; 3: 30 dak.; 4: 60 dak.; 5:120 dak.; 6: 240 dak.; 7: kontrol; 8: 0 dak.; 9: 30 dak.; 10: 60 dak.; 11: 120 dak.;12: 240 dak; HMW: yüksek moleküler ağırlıklı ; LMW: düşük moleküler ağırlıklı.

4.2.4. Transglutaminazın buğday-soya karışımlarında çapraz bağlanma üzerine etkisi

Transglutaminazın Roane ve Sharpshooter unlarının yağsız soya unu ile hazırlanan karışımlarının elektroforetik bant desenleri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.3a ve 4.3b de verilmiştir. Soya proteinleri elektroforegramlarında gözlenen (Şekil 4.2a) moleküler ağırlığı 116 kDa üzerinde olan yeni protein bantları buğday-soya karışımlarının 0 ve 30 dakika örneklerinde de gözlenmiştir (Şekil 4.3, hat 2 ve 3, hat 8 ve 9). Roane veya Sharpshooter örneği ve soya ile hazırlanan karışımların her ikisinde de kontrol örneği hariç ayırıcı jeldeki tüm inkübasyon sürelerinde proteinlerin bantlar halinde ayrılmayıp hat boyunca yaygın koyu alan halinde olduğu görülmektedir.

Önceden de tartışıldığı üzere, TG nin buğday proteinleri arasında katalizlediği çapraz bağlama sonucu 116 kDa civarındaki bant 240 dakikalık inkübasyonla kaybolmuştur (Şekil 4.1, hat 6). Diğer taraftan, buğday ve soya proteinleri karışımlarında TG nin çapraz bağlama reaksiyonu sonrası 240 dakikalık inkübasyonda bile (Şekil 4.3, hat 6) bu bantların kaybolmaması dikkate değerdir. Bu, soya proteinlerinin, buğday proteinlerine kıyasla, transglutaminazın aktif bölgesinde daha iyi uyum göstermesine ve böylece buğday proteinleri arasında TG nin katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonunu kısmen de olsa engellemesine bağlı olabilir. Bununla beraber, buğday-soya karışım örneklerinin 7S proteinleri (66 – 84 kDa) TG ile inkübasyon sonucunda dikkate değer seviyede azalmıştır (Şekil 4.3, hat 6 ve 12) ve bu azalma sadece soya örneğine ait elektroforegramdaki ile (Şekil 4.2a, hat 6) benzerdir. Han and Damodaran (1996), iki protein arası TG nin katalizlediği heterolog çapraz bağlama reaksiyonunun muhtemelen substrat proteinlerinin enzimin aktif kısmındaki termodinamik uyumuna (compatibility) bağlı olduğu ve böylece benzer ve benzer olmayan proteinler arası çapraz bağlanmayı etkilediğini bildirmişlerdir.



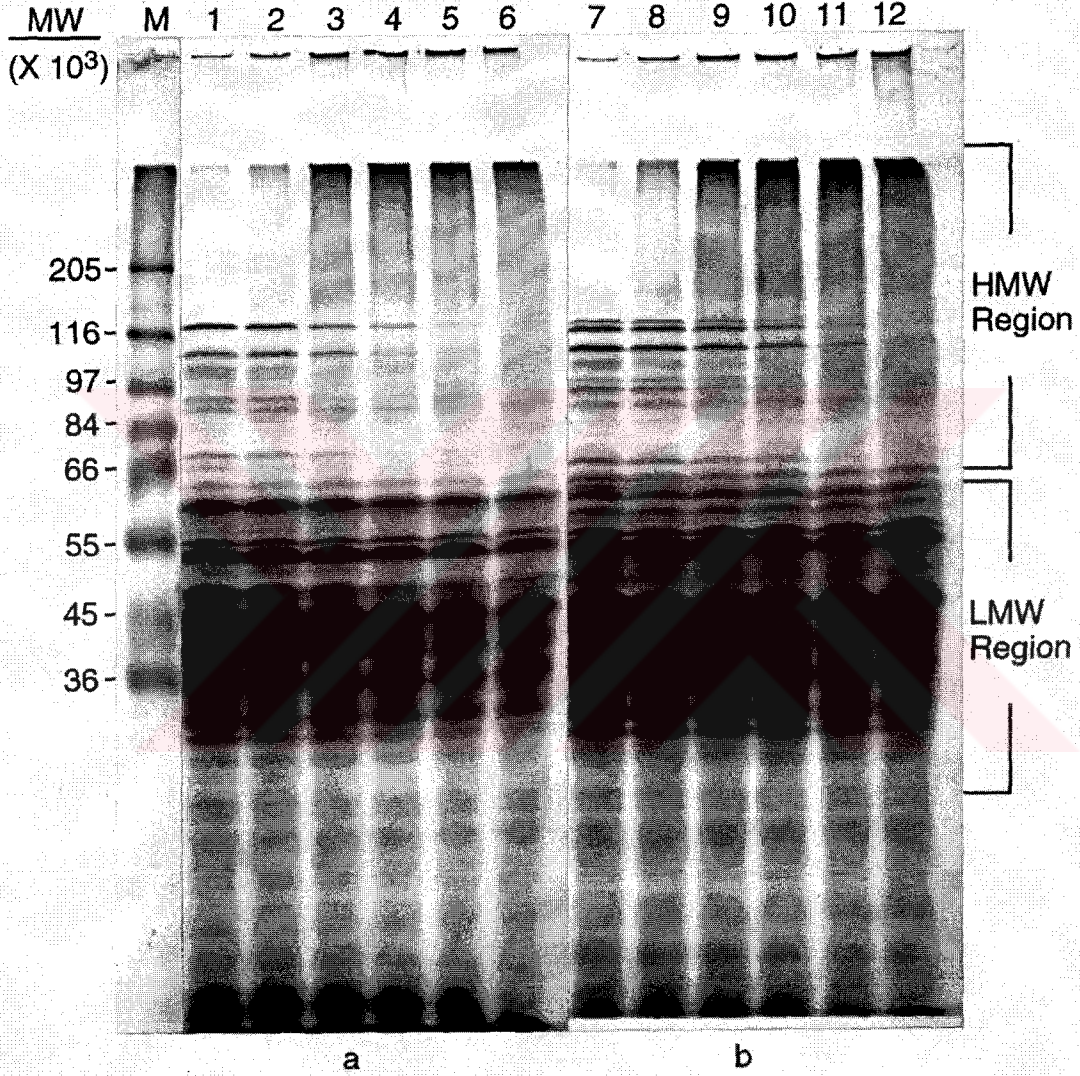
Şekil 4.3. TG ile muamele edilmiş (a) Roane unu /soya unu karışımı ve (b) Sharpshooter unu / soya unu karışımı SDS-PAGE desenleri
M: protein markörü; 1: kontrol; 2: 0 dak. ; 3: 30 dak.; 4: 60 dak.; 5:120 dak.; 6: 240 dak.; 7: kontrol; 8: 0 dak.; 9: 30 dak.; 10: 60 dak.; 11: 120 dak; ve 12: 240 dak; HMW: yüksek moleküler ağırlıklı ; LMW: düşük moleküler ağırlıklı.

Buğday-soya unu karışımları için SDS-PAGE sonuçları TG nin etkisinin belirli proteinler üzerine olduğunu göstermiştir. Moleküler ağırlığı 66 ve 84 kDa arasında olan 7S proteinler, 55 kDa in hemen alt kısmında olan gliadin ve LMW glutenin alt birimleri ve 36 kDa civarındaki 11S protein bantlarının relatif yoğunlukları 30 dakika boyunca TG ile inkübasyonla azalmaya başlamıştır. Bu azalma artan inkübasyon süresi ile birlikte daha belirgin hale gelmiştir.

İnkübasyon süresine karşı densitometrik alanların lineer regresyonlarına (Çizelge 4.1) bakıldığında, buğday-soya karışımlarında çapraz bağlanma miktarının her iki çeşitte de HMW bölgede LMW bölgeye kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir. HMW ve LMW bölgelerin regresyon doğrularının eğimleri arasındaki fark Sharpshooter (sert buğday) çeşiti için daha fazladır.

4.2.5. Transglutaminazın buğday-arpa karışımlarında çapraz bağlanma üzerine etkisi

Transglutaminazın Roane ve Sharpshooter unlarının arpa unu ile hazırlanan karışımlarının elektroforetik bant desenleri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.4a ve 4.4b de verilmiştir. TG nin buğday ve arpa karışımlarındaki etkisi buğday (Şekil 4.1) ve arpa (Şekil 4.2b) için tek tek etkisinin toplamı gibidir. Buğday proteinleri arası çapraz bağlanma miktarı arpa ilavesinden etkilenmemiştir. 240 dakikalık inkübasyonla TG nin katalizlediği çapraz bağlama sonucu moleküler ağırlığı 116 kDa (Şekil 4.4, hat 6 ve 12) civarında olan bazı protein bantları kaybolmuştur. Bu etki buğday-soya karışımlarında soyanın buğday proteinleri arası çapraz bağlanmayı yavaşlattığı (Şekil 4.3, hat 6 ve 12) etkiden farklıdır. Buğday-arpa karışımlarının her ikisinde de kontrol örneği hariç ayırıcı jeldeki tüm hatlarda "streaking" görülmektedir. Moleküler ağırlığı 66 ve 116 kDa arasında olan protein bantlarının yoğunluklarının inkübasyon süresinin artması ile birlikte azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca, Roane çeşitine ait örneklerde 36 ve 45 kDa arasındaki bantların yoğunluklarında da önemli azalmalar kaydedilmiştir.



Şekil 4.4. TG ilave edilmiş a) Roane/arpa unununun ve b) Sharpshooter/arpa unununun SDS-PAGE desenleri M: protein markörü; 1: kontrol; 2: inkübasyon süresi 0 dak; 3: 30 dak; 4: 60 dak; 5:120 dak; 6: 240 dak; 7: kontrol; 8: 0 dak; 9: 30 dak; 10: 60 dak; 11: 120 dak; ve 12: 240 dak; HMW: yüksek moleküler ağırlıklı; LMW: düşük moleküler ağırlıklı

Çizelge 4.1. Buğday, soya, arpa ve karışımlarının (buğday/soya, buğday/arpa) inkübasyon süresine karşı densitometrik alanlarının lineer regresyonları

TG ilave edilmiş örnek	Bölge	Denklemler ^a	r
Roane unu	HMW	$y = -0.28x + 95.57$	0.96*
	LMW	$y = -0.10x + 88.36$	0.75
Sharpshooter unu	HMW	$y = -0.26x + 79.31$	0.87*
	LMW	$y = -0.08x + 94.81$	0.90*
Roane/soya karışımı	HMW	$y = -0.23x + 82.41$	0.86*
	LMW	$y = -0.18x + 82.71$	0.82*
Sharpshooter/soya karışımı	HMW	$y = -0.33x + 85.52$	0.95*
	LMW	$y = -0.11x + 100.72$	0.98*
Roane/arpa karışımı	HMW	$y = -0.23x + 89.39$	0.95*
	LMW	$y = -0.17x + 99.99$	0.98*
Sharpshooter/arpa karışımı	HMW	$y = -0.27x + 83.45$	0.91*
	LMW	$y = -0.08x + 99.25$	0.98*
Roane	Tüm	$y = -0.14x + 89.86$	0.87*
Sharpshooter	Tüm	$y = -0.10x + 92.44$	0.89*
Soya	Tüm	$y = -0.23x + 95.51$	0.97*
Arpa	Tüm	$y = -0.10x + 102.29$	0.92*

^a y : Normalize edilmiş densitometrik alan

x : İnkübasyon süresi

* r, $\alpha=0.05$ düzeyinde önemlidir

Buğday-arpa karışımlarının inkübasyon süresine karşı densitometrik alanlarının lineer regresyonları (Çizelge 4.1) değerlendirildiğinde inkübasyonla birlikte HMW bölgedeki bantların relatif yoğunluklarının azalma hızının LMW bölgedekilere kıyasla daha belirgin olduğu gözlenmiştir. HMW ve LMW bölgelerin regresyon doğrularının eğimleri arasındaki fark Sharpshooter çeşiti ile hazırlanan örnekler için daha fazladır.

4.3. Buğday Unlarına Artan Seviyelerde Transglutaminaz İlavesinin Etkisi

4.3.1. Reolojik özellikler

4.3.1.1. Farinogram özellikleri

Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi içeren unların farinogram özellikleri Çizelge 4.2 de verilmiştir. Artan seviyelerde TG ilavesi ile su absorpsiyon değeri Roane çeşitinde %56.2 den %54.4 e, Sharpshooter çeşitinde de %63.4 den %60.2 ye düşmüştür. Su absorpsiyon değerindeki azalma Sharpshooter çeşitine ait örneklerde daha belirgindir. Bulunan sonuçlar, hamura TG ilavesinin kurve yüksekliğini azalttığını ve bunun da daha az su ilavesini gerektirdiğini bildiren Gerrard et al (1998) tarafından açıklanan sonuçlar ile benzerdir. Sharpshooter kontrol örneğinin hamur gelişme süresi ve stabilite değeri Roane kontrol örneğinden ve TG ilave edilmiş Roane örneklerinden oldukça fazladır. Hem Roane hem de Sharpshooter örneklerinde, hamur gelişme süresi ve stabilite değerleri önce artan enzim dozu ile artmış fakat yüksek TG ilavesi ile azalmıştır. Yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerlerinin ise her iki çeşitte artan enzim dozu ile genellikle arttığı gözlenmiştir. Roane çeşitine kıyasla Sharpshooter çeşitinde transglutaminaz ilavesiyle yumuşama derecesi değerleri oldukça fazla artmıştır.

4.3.1.2. Mikroekstensibilite test sonuçları

Hamurun ekstensibilitesini ve gücünü belirlemek amacıyla genellikle ekstensograf ve alveograf kullanılmaktadır. Bu cihazlarla yapılan çalışmalar zaman alıcı olup fazla miktarda un örneğine gereksinim vardır ve enzim gibi fazla miktarda kullanımı ekonomik açıdan sınırlı olan ingrediyenler için de uygulanması güçtür. Örneğin, standart ekstensograf yönteminde 300 g örneğe ihtiyaç vardır ve bu yöntem farklı seviyelerde enzim ilavesini gerektiren enzimatik çalışmalarda ekonomik değildir. Bu nedenle bu çalışmada Tekstür analizörü kullanılarak küçük ölçekli ekstensibilite testi yapılmıştır.

Çizelge 4.2. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş buğday unu örneklerinin farinogram özellikleri

Örnek	Enzim Seviyesi (%)	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme Süresi (dakika)	Stabilite (dakika)	Yoğurma Tolerans Sayısı (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Roane	0.00	56.2	1.0	1.3	85	100
	0.10	56.2	1.2	1.6	85	110
	0.25	55.9	1.5	1.8	90	110
	0.50	55.4	1.5	2.0	85	120
	1.00	54.8	1.3	1.5	110	120
Sharpshooter	1.50	54.4	1.2	1.2	120	140
	0.00	63.4	6.3	5.3	40	50
	0.10	63.2	6.5	5.8	40	50
	0.25	62.8	6.8	6.1	40	50
	0.50	62.3	5.8	6.8	35	60
	1.00	61.4	5.5	6.8	35	80
	1.50	60.2	5.0	6.0	60	100

Roane ve Sharpshooter çeşitlerine ait unlara artan seviyelerde TG ilavesinin maksimum direnç (R_{max}), ekstensibilite (E) ve alan (A) değerleri üzerine etkisi Çizelge 4.3 de verilmiştir. Her iki dinlendirme süresinde de (45 ve 90 dakika) TG ilavesi arttıkça R_{max} değerleri istatistiksel açıdan önemli seviyede ($P < 0.05$) artmış ve ekstensibilite değerleri de azalmıştır. Sharpshooter çeşitinin 45 ve 90 dakika dinlendirilen kontrol örneklerinin her ikisinin R_{max} değeri aynı süre dinlendirilen Roane kontrol örneğine ait R_{max} değerinden daha yüksektir. 45 dakika dinlendirilen Roane örneğine %0.5 TG ilavesi ile R_{max} değeri, kuvvetli hamur özelliklerine sahip olan Sharpshooter kontrol örneği ile kıyaslanabilir bir değere ulaşmıştır. Bununla beraber, 90 dakika gibi daha uzun dinlendirme süresinde ise %0.25 TG ilavesi ile Roane örneği Sharpshooter kontrol örneği ile kıyaslanabilir değere ulaşmıştır. 45 dakika dinlendirilen örneklerin mikroekstensibilite test sonuçları değerlendirildiğinde, transglutaminazın yüksek dozlarında (%1, %1.5) Roane örneklerinin R_{max} değerlerinin Sharpshooter örneklerine kıyasla istatistiksel açıdan önemli seviyede ($P < 0.05$) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Roane örnekleri yüksek seviyelerde TG ilavesi ile kademeli olarak daha kuvvetli hale gelmiştir. Çalışmanın ileri aşamalarında ekmek yapma denemelerinde fermentasyon süresi 90 dakika olarak seçildiği için TG ilave edilmiş hamur örneklerinin 90 dakikalık dinlendirme sonrasında elde edilen mikroekstensibilite test sonuçlarının daha yararlı bilgi sağlayacağı düşünülmektedir. R_{max} değerleri 90 dakika dinlendirilmiş örneklerden yüksek TG ilavesi yapılmış olanlarda, özellikle %1.5 seviyesinde ilave yapılanlarda, düşük ilave seviyelerine nazaran daha fazla artmıştır. Sharpshooter örneklerinde bu durum daha belirgindir.

Her iki çeşitte 45 dakikalık dinlendirme sonrasında kontrol örneklerinin ekstensibilite değerleri 97.4 mm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3). TG ilavesi arttıkça her iki çeşitte benzer azalma eğilimi gözlenmiştir. 45 ve 90 dakikalık dinlendirme süreleri sonrası ekstensibilite değerlerindeki azalma her iki çeşitte de kıyaslanabilir düzeydedir.

Alan değerlerinde her iki çeşitte 45 ve 90 dakikalık dinlendirme sürelerinde istatistiksel açıdan önemli değişimler gözlenmiştir. Alan hem R_{max} hem de E değerlerinin fonksiyonu olduğu ve dolayısıyla bu değerlerdeki değişime bağlı olduğu için alan değerlerindeki bu değişimler düzenli değildir.

Çizelge 4.3. Buğday unlarına farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilerek hazırlanan hamurlarda mikroekstensibilite test sonuçları^{a,b}

Enzim Seviyesi (%)	Dinlendirme Süresi					
	45 dakika			90 dakika		
	Rmax (g)	E (mm)	A (gmm)	Rmax (g)	E (mm)	A (gmm)
0.00	18.2 fg	97.4 a	928 fg	16.8 h	98.7 a	850 f
0.10	16.4 g	96.6 a	779 g	15.6 h	99.2 a	753 f
0.25	22.4 f	87.5 b	1007 f	33.9 g	74.8 b	1205 e
0.50	34.3 de	65.5 de	1234 e	55.9 e	61.6 c	1609 cd
1.00	74.0 a	50.6 f	1836 a	72.1 c	53.3 d	1723 cd
1.50	74.2 a	53.0 f	1853 a	85.7 b	51.7 de	1993 b
0.00	32.0 e	97.4 a	1722 ab	32.8 g	96.3 a	1749 c
0.10	38.7 d	79.3 c	1704 ab	33.5 g	73.7 b	1568 cd
0.25	39.0 d	66.6 d	1491 cd	46.3 f	63.4 c	1613 cd
0.50	44.9 c	69.0 d	1634 bc	53.0 e	61.0 c	1677 cd
1.00	44.4 c	59.7 e	1380 de	65.0 d	49.1 de	1521 d
1.50	63.1 b	51.4 f	1653 bc	104.0 a	48.8 e	2415 a
LSD ($\alpha=0.05$)	5.21	6.28	174.2	5.68	4.38	214.2

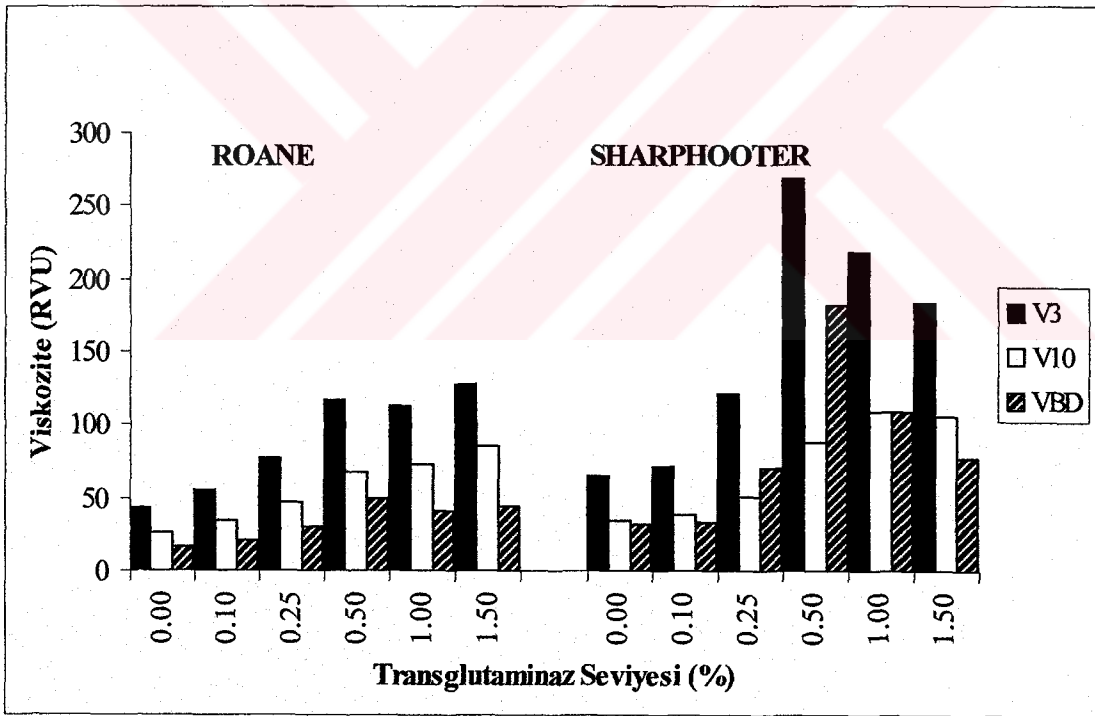
Rmax: Uzamaya karşı direnç, E: hamur kopuncaya kadarki uzayabilirliği, A: Alan

a: Aynı sütunda aynı harf ile belirtilen değerler istatistiksel olarak önemli düzeyde birbirinden farklı değildir

b: Değerler üç denemenin ortalaması olarak verilmiştir.

4.3.1.3. Mikroviskoanalizör sonuçları

Farklı seviyelerde TG ilavesinin Roane ve Sharpshooter unlarının RVA da elde edilen viskozite değerleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) üzerine etkisi Şekil 4.5 (Ek 1, Ek 2) de verilmiştir. TG seviyesinin artması ile birlikte her iki çeşit için V_{10} değerleri artmıştır, ancak Sharpshooter çeşidine ait örnek için %1 ve %1.5 TG ilave seviyesinde elde edilen değerler aynıdır. Her iki çeşitte V_3 değerleri ise %0.5 TG ilave seviyesi dahil olmak üzere artmıştır. Roane çeşitinde %1 TG seviyesinde hafif düşüş, %1.5 seviyesinde ise artış gözlenmiştir. Sharpshooter da ise %1 ve %1.5 da düşüş kaydedilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter buğday unlarına ait RVA test sonuçları^a

(V_3 : 3.dakikadaki viskozite değeri; V_{10} : 10.dakikadaki viskozite değeri;

V_{BD} : $V_3 - V_{10}$)

^a: Değerler iki denemenin ortalaması olarak verilmiştir.

4.3.2. Transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi sonuçları

Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter buğday unlarına ait modifiye sedimentasyon test sonuçları Çizelge 4.4 de verilmiştir. Transglutaminaz ilavesi ve inkübasyon olmaksızın buğday unlarının sedimentasyon değerleri Roane için 31 ml ve Sharpshooter için 40 ml olarak saptanmıştır. %0.00 enzim içeren Roane ve Sharpshooter örneklerinde bu değerlerin sadece inkübasyon ile sırasıyla 38 ve 54 ml ye ulaştığı gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Artan miktarlarda transglutaminaz ilavesiyle bu değer Roane çeşitinde 58 ml ye kadar yükselmiştir. Sharpshooter çeşitinde ise %0.25 TG ilave seviyesinde bu değer 59 ml ye yükselmiş, diğer ilave dozlarında değişmemiştir.

Çizelge 4.4. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter buğday unlarına ait transglutaminazlı modifiye sedimentasyon testi (ml) sonuçları ^a

Enzim Seviyesi (%)	Roane	Sharpshooter
0.00	38	54
0.10	43	56
0.25	48	59
0.50	55	59
1.00	58	59
1.50	58	58

^a: Değerler iki denemenin ortalaması olarak verilmiştir.

4.3.3. Ekmek kalite karakteristikleri

Daha önce de belirtildiği üzere artan miktarlarda TG ilavesi her iki çeşitte farinograf su absorpsiyonunu azaltmıştır. Bu çalışmada farinograf su absorpsiyonu ekmek üretiminde de absorpsiyon değeri olarak kullanılmıştır. Ekmek yapımı esnasında yoğurma işleminden hemen sonra hamurların konsistensinin ekmek yapımı için uygun olduğu tesbit edilmiş fakat fermentasyon ilerledikçe hamurlar sertleşmiştir. Yüksek seviyelerde TG ilave edilmiş hamurlar (%0.5, 1.0 ve 1.5) şekil verme esnasında oldukça serttir ve hamura son şekli verildiğinde kat yeri belli olmaktadır. Bu gözlemler hamurun daha fazla suyu tolere edebileceğini göstermektedir.

Gerrard et al (1998), TG nin çapraz bağlama ile gluten proteinlerinin yapısını değiştirdiğini ve böylece muhtemelen glutaminin kısmen glutamik aside hidrolizi ile gluten proteinlerinin hidrofilik özelliğinin artmasına bağlı olarak su absorplama kapasitesini arttırdığını bildirmiştir. Ancak reolojik sonuçların pişme testi sonuçları ile karşılaştırılabilmesi için ekmek yapımı esnasında absorpsiyon artırılmamıştır.

Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilavesinin ekmek kalite özelliklerine etkisi Çizelge 4.5 de verilmiştir. TG ilavesinin ekmek hacmi ve ekmek sertlik değerleri üzerine etkisi istatistiksel açıdan önemli ($P < 0.05$) bulunmuştur. Beklenildiği gibi Sharpshooter çeşitine ait kontrol ekmeğinin hacmi Roane kontrol örneğinin hacminden oldukça yüksektir. Roane örneklerinde ekmek hacmi %0.5 TG ilavesine kadar önemli seviyede artmıştır. Kontrolü ile kıyaslandığında Sharpshooter örneklerinde de %0.5 TG ilavesine kadar ekmek hacminde hafif artışlar olmasına rağmen bu artış istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. Roane çeşitine ait ekmek örneklerinin hacmindeki artış TG nin zayıf gluteni kuvvetliye çevirerek reolojik özellikler üzerine etkili olmasının bir sonucu olabilir. Bu sonuç, Larre et al. (2000), Köksel et al. (2001) tarafından da bildirilmiştir. Gerrard et al (1998), TG nin ekmek yapımında oksidan ajanlara benzer faydalı etki yaratabileceğini bildirmiştir. Ancak, bu çalışmada TG nin yüksek dozlarının (%1 ve %1.5) ekmek hacmi üzerine negatif etkisi gözlenmiştir ve bunun muhtemel nedeni de aşırı miktarda çapraz bağlanmanın oldukça kuvvetli hamur oluşturmasıdır.

Beklenildiği gibi Sharpshooter kontrol örneğinin ekmek içi sertlik değeri Roane kontrol örneğinden daha düşüktür. Genelde ekmek içi yumuşaklık ve ekmek hacim değerleri düşük miktarda TG ilavesine pozitif ve benzer nitelikte cevap vermektedir. Bu nedenle ekmek içi sertlik değerlerindeki kısmi azalmanın ekmek hacmindeki artış ve dolayısıyla ekmek içi gözenek özelliklerindeki düzelme ile ilgili olduğu düşünülebilir. Düşük TG dozlarında (%0.1, %0.25) Sharpshooter dan elde edilen ekmekler Roane çeşitinden elde edilen ekmeklere göre istatistiksel olarak önemli düzeyde daha yumuşaktır. Her iki çeşitin ekmek içi sertlik değerleri %0.5 ve %1 TG ilave seviyelerinde istatistiksel olarak birbirinden farklı değildir.

Çizelge 4.5. Farklı seviyelerde transglutaminaz ilave edilmiş buğday unlarından hazırlanan ekmeklerin kalite karakteristikleri ^a

Örnek	Enzim Seviyesi (%)	Ekmek Hacmi ^b (cm ³)	Ekmek İçi		Ekmek İçi		Kabuk Rengi ^c
			Sertliği ^c (N)	Rengi ^c	Gözenek Yapısı ^c	Rengi ^c	
Roane	0.00	560 de	11.47 c	7.5 e	6.5 de	5.0 a	
	0.10	585 d	7.46 d	7.5 e	7.2 c	5.0 a	
	0.25	625 c	6.68 de	8.0 de	8.2 b	5.0 a	
	0.50	670 b	6.07 ef	8.5 cd	8.0 b	5.0 a	
	1.00	545 e	11.78 c	8.0 de	6.7 cd	4.5 ab	
	1.50	458 f	20.67 a	7.5 e	5.2 f	4.0 bc	
Sharpshooter	0.00	763 a	3.89 h	9.5 ab	9.2 a	5.0 a	
	0.10	785 a	4.79 gh	10.0 a	9.8 a	5.0 a	
	0.25	785 a	3.94 h	10.0 a	9.8 a	5.0 a	
	0.50	772 a	5.27 fg	9.5 ab	9.5 a	4.5 ab	
	1.00	555 de	11.02 c	9.0 bc	8.5 b	3.5 c	
	1.50	427 f	16.05 b	8.0 de	6.0 e	2.5 d	
LSD ($\alpha=0.05$)		35.0	0.986	0.78	0.69	0.53	

^a : Aynı sütunda aynı harf ile belirtilen değerler istatistiksel olarak önemli düzeyde birbirinden farklı değildir

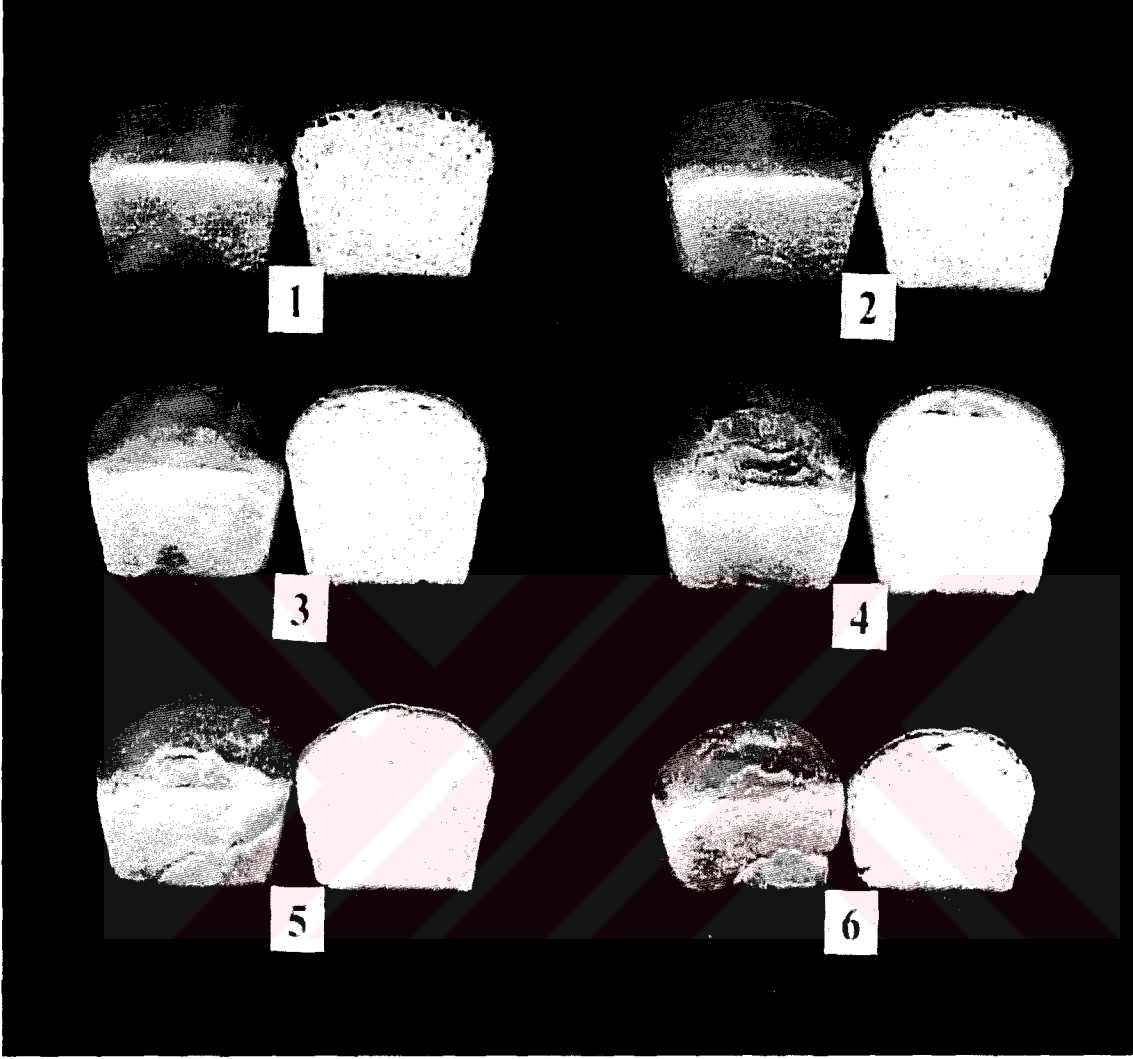
^b : Değerler iki denemenin ortalaması olarak verilmiştir.

^c : Değerler üç denemenin ortalaması olarak verilmiştir.

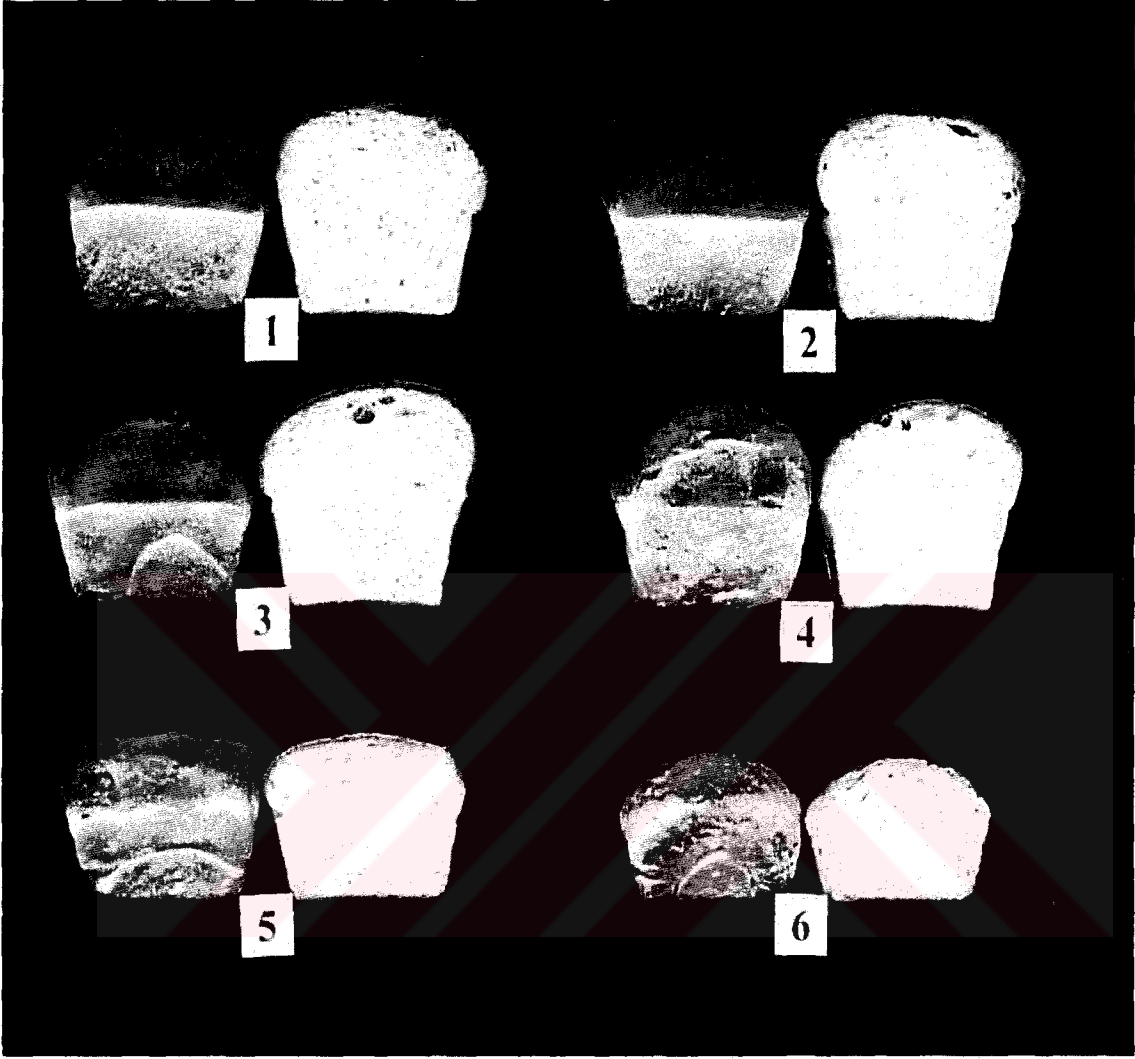
Kabuk rengi (1=en kötü, 5=en iyi), ekmek içi rengi ve ekmek içi gözenek özellikleri (1=en kötü, 10=en iyi)

TG nin ekmek içini yumuşatma etkisi sadece Roane çeşitinde %0.1-%0.5 ilave seviyesinde istatistiksel açıdan önemlidir. %1 ve %1.5 TG ilave seviyesinde ekmek içi sertlik değerleri artmaktadır. Bu da muhtemelen aşırı miktarda çapraz bağlanmadan kaynaklanan oldukça kuvvetli hamur oluşumuna bağlıdır.

Düşük seviyelerde TG ilavesi her iki çeşitte de genellikle ekmek içi rengi ve gözenek yapısında iyileştirici etki yaratmaktadır (Çizelge 4.5). Ekmek içi rengindeki düzelme sadece Roane çeşitinde %0.5 TG ilave düzeyinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Ayrıca istatistiksel analiz sonuçları %0.5 seviyesine kadar TG ilavesinin Roane örneklerinin ekmek içi gözenek yapısında da önemli düzeyde iyileşme sağladığını göstermiştir. Roane kontrol örneğinin homojen olmayan ve iri gözenekli ekmek içi yapısı %0.1-0.5 TG seviyelerinde giderek daha küçük gözenekli ve homojen olmuştur (Şekil 4.6). Sharpshooter kontrol örneği Roane kontrol örneğinden daha iyi ekmek içi rengi ve gözenek özelliklerine sahiptir. Sharpshooter örneklerinin ekmek içi rengi ve gözenek yapısı TG ilavesi ile hafifçe düzelse de bu iyileşme istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ($P < 0.05$) (Çizelge 4.5). Sharpshooter örneklerinin %0.1 ve %0.25 TG ilave seviyesinde ekmek içi gözenek özelliklerindeki gelişme Şekil 4.7 de görülmektedir. Bununla beraber %0.25 TG ilavesinden başlayarak Sharpshooter çeşitine ait ekmek örneklerinin kabuk özellikleri bozulmaya başlamıştır. Şekil verme esnasında yüksek seviyelerde TG ilave edilmiş hamurlar (%0.5, 1.0 ve 1.5) oldukça serttir ve pişme sonrasında hamurun kat yeri belli olmaktadır. TG ilavesinin Roane örneklerinin kabuk özellikleri üzerine istenmeyen etkisi %0.5 gibi daha yüksek seviyede TG ilavesinde gözlenmeye başlamıştır (Şekil 4.6). Bu istenmeyen etki her iki çeşitte de artan TG ilavesi ile artmıştır. Yüksek miktarlarda TG ilavesi ekmek içi gözenek özelliklerinde ve kabuk özelliklerinde olumsuz etki yaratmıştır. Bu, muhtemelen transglutaminazın hamuru fazlasıyla kuvvetlendirme etkisine bağlı olabilir. Belirtmekte fayda görülen diğer bir husus da kabuk renginin enzim ilavesi arttıkça daha açık renkli hale gelmesidir. Ekmek kabuk rengindeki azalma Roane örnekleri için %1.5 ve Sharpshooter örnekleri için %1 TG seviyesinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur (Çizelge 4.5). Kabuk rengindeki açılmanın muhtemel sebebi transglutaminaz reaksiyonu sonucu lizinin miktarının azalmasına bağlı olarak Maillard reaksiyonunun sınırlı düzeyde gerçekleşmesi olabilir.



Şekil 4.6. Farklı seviyelerde Transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane çeşidine ait ekmekler üzerine etkisi.
TG ilave seviyeleri (w/w); enzimsiz (no:1), %0.1 (no:2), %0.25 (no:3), %0.5 (no:4), %1(no:5), %1.5 (no:6)



Şekil 4.7. Farklı seviyelerde Transglutaminaz enzimi ilavesinin Sharpshooter çeşidine ait ekmekler üzerine etkisi.
TG ilave seviyeleri (w/w); enzimsiz (no:1), %0.1 (no:2), %0.25 (no:3), %0.5 (no:4), %1 (no:5), %1.5 (no:6)

4.3.4. RVA parametreleri ile farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki ilişkiler

Farklı seviyelerde (%0.00 - %1.50) transglutaminaz ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter çeşitine ait unların "RVA gluten asit metodu" ile elde edilen RVA parametreleri (V_3 , V_{10} ve V_{BD}) ile farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları (r değerleri) Çizelge 4.6 da verilmiştir. Roane çeşiti için korelasyon katsayılarının Sharpshooter çeşiti için olandan genelde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Roane örneklerinde RVA parametreleri ile sedimentasyon test sonuçları ve ekstensibilite test sonuçları arasında, R_{max45} ile V_{BD} arasındaki korelasyon hariç, 0.83 ve üzeri korelasyon değerleri gözlenmiştir. Roane çeşitinde farinograf su absorpsiyonu ile RVA parametreleri arasındaki korelasyon Sharpshooter çeşiti için olandan daha yüksekken stabilite ile olan korelasyonlar Sharpshooter çeşitinde daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar, "RVA gluten asit metodu" nun buğday unlarının bazı reolojik özellikleri hakkında fikir vermede iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Transglutaminaz ilave seviyeleri %0.00 ve %1.00 arasında alındığında özellikle Sharpshooter çeşitine ait unların RVA parametreleri ile reolojik özellikler ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayılarının (r değerleri) genellikle yükseldiği gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.6. Farklı seviyelerde^a transglutaminaz ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter çeşitine ait unların RVA parametreleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) ile ekstensibilite test sonuçları, farinograf değerleri ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları (r değeri)^b

ROANE	V_3	V_{10}	V_{BD}
Sedimentasyon değeri	0.98	0.98	0.94
Rmax 45	0.83	0.89	0.69
Ekstensibilite 45	-0.96	-0.97	-0.89
Rmax 90	0.96	0.99	0.87
Ekstensibilite 90	-0.97	-0.97	-0.93
Farinograf Absorpsiyonu	-0.92	-0.96	-0.81
Farinograf Gelişme Süresi	0.48	0.39	0.60
Stabilite	0.09	-0.04	0.28
Yoğurma Tolerans Sayısı	0.71	0.80	0.53
Farinograf Yumuşama Derecesi	0.89	0.93	0.79
Ekmek Hacmi	-0.22	-0.35	-0.01
Ekmek İçi Sertlik Değeri	0.42	0.53	0.23
Ekmek İçi Gözenek Yapısı	-0.24	-0.35	-0.06
SHARPSHOOTER	V_3	V_{10}	V_{BD}
Sedimentasyon değeri	0.78	0.71	0.74
Rmax 45	0.54	0.78	0.32
Ekstensibilite 45	-0.66	-0.84	-0.47
Rmax 90	0.54	0.83	0.29
Ekstensibilite 90	-0.74	-0.87	-0.55
Farinograf Absorpsiyonu	-0.61	-0.90	-0.35
Farinograf Gelişme Süresi	-0.64	-0.88	-0.41
Stabilite	0.90	0.74	0.88
Yoğurma Tolerans Sayısı	-0.08	0.27	-0.29
Farinograf Yumuşama Derecesi	0.52	0.87	0.24
Ekmek Hacmi	-0.38	-0.79	-0.09
Ekmek İçi Sertlik Değeri	0.43	0.81	0.14
Ekmek İçi Gözenek Yapısı	-0.28	-0.67	-0.02

^a Transglutaminaz ilave seviyeleri (%) 0.00, 0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 1.50

^b Korelasyon katsayıları 0.80 in üzerinde olanlar koyu gösterilmiştir.

(V_3 : 3.dakikadaki viskozite değeri; V_{10} : 10.dakikadaki viskozite değeri; V_{BD} : V_3 - V_{10})

Çizelge 4.7. Transglutaminaz (%0.00-%1.00 seviyesinde) ilave edilmiş Roane ve Sharpshooter çeşitine ait unların RVA parametreleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) ile ekstensibilite test sonuçları, farinograf değerleri ve ekmekek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları (r değeri)^a

ROANE	V_3	V_{10}	V_{BD}
Sedimentasyon değeri	0.98	1.00	0.94
Rmax 45	0.75	0.82	0.64
Ekstensibilite 45	-0.94	-0.97	-0.88
Rmax 90	0.95	0.98	0.89
Ekstensibilite 90	-0.96	-0.98	-0.92
Farinograf Absorpsiyonu	-0.90	-0.95	-0.83
Farinograf Gelişme Süresi	0.72	0.68	0.76
Stabilite	0.60	0.52	0.70
Yoğurma Tolerans Sayısı	0.54	0.64	0.39
Farinograf Yumuşama Derecesi	0.95	0.95	0.92
Ekmekek Hacmi	0.38	0.27	0.52
Ekmekek İçi Sertlik Değeri	-0.17	-0.08	-0.28
Ekmekek İçi Gözenek Yapısı	0.35	0.27	0.44
SHARPSHOOTER	V_3	V_{10}	V_{BD}
Sedimentasyon değeri	0.78	0.75	0.74
Rmax 45	0.89	0.87	0.83
Ekstensibilite 45	-0.71	-0.78	-0.62
Rmax 90	0.85	0.97	0.73
Ekstensibilite 90	-0.75	-0.84	-0.65
Farinograf Absorpsiyonu	-0.82	-0.98	-0.67
Farinograf Gelişme Süresi	-0.76	-0.86	-0.65
Stabilite	0.94	0.93	0.88
Yoğurma Tolerans Sayısı	-0.95	-0.96	-0.88
Farinograf Yumuşama Derecesi	0.69	0.93	0.52
Ekmekek Hacmi	-0.43	-0.77	-0.23
Ekmekek İçi Sertlik Değeri	0.54	0.84	0.35
Ekmekek İçi Gözenek Yapısı	-0.38	-0.68	-0.21

^a Korelasyon katsayıları 0.80 in üzerinde olanlar koyu gösterilmiştir.
(V_3 : 3.dakikadaki viskozite değeri; V_{10} : 10.dakikadaki viskozite değeri; V_{BD} : V_3 - V_{10})

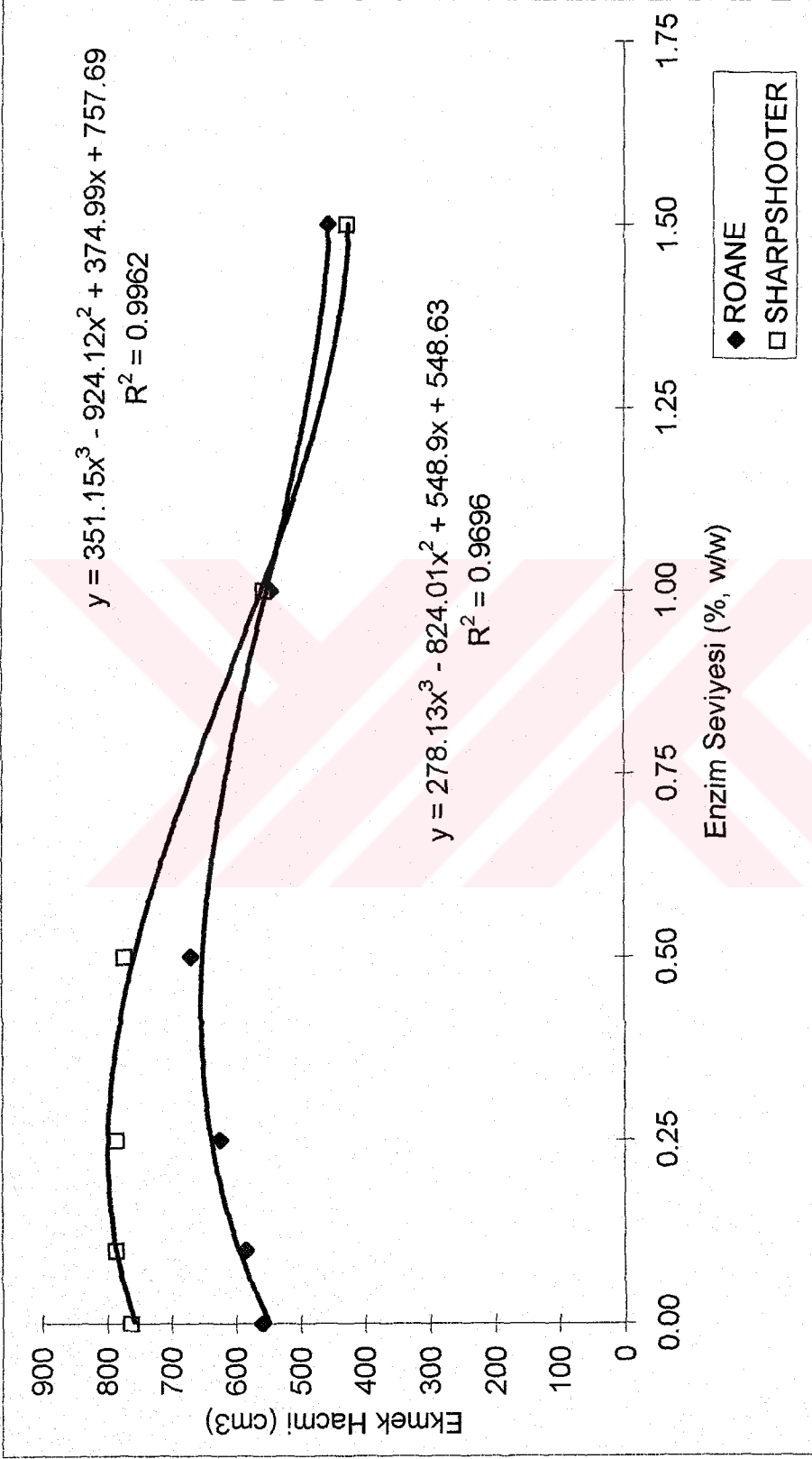
4.3.5. Mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek hacim değerleri arasındaki ilişkiler

90 dakika dinlendirilen örneklerin mikroekstensibilite test sonuçları ekmek hacim değerleri ile birlikte değerlendirildiğinde, genellikle R_{max} değerleri 30-55g arasında ve E değerleri 60-90 mm arasında olan örneklerin daha yüksek ekmek hacmine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu çalışmanın sonucuna göre bu R_{max} ve E değerleri optimum olarak alınabilir. Roane örneklerinin ekmek hacim değerleri, R_{max} ve E değerlerine bakıldığında kontrol örneği ile %0.1 TG ilave edilmiş örnek arasında istatistiksel açıdan önemli fark gözlenmemiştir. Artan miktarlarda TG ilavesi ile R_{max} ve E değerleri yukarıda bahsedilen optimum değerlere ulaştığında ekmek hacim değerleri artmıştır. Bununla beraber, daha yüksek TG ilave seviyelerinde (%1 ve %1.5), R_{max} ve E değerinin optimumdan sapmasına paralel olarak hacim de düşmüştür. Literatürde mikroekstensibilite özellikleri ile ekmek yapma kalitesi arasındaki ilişkiyi açıklayan herhangi bir bilgiye rastlanmamıştır. Bu bulguların doğrulanması için R_{max} ve E nin optimum değerleri ile ekmek hacmi arasındaki ilişkiyi inceleyen daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

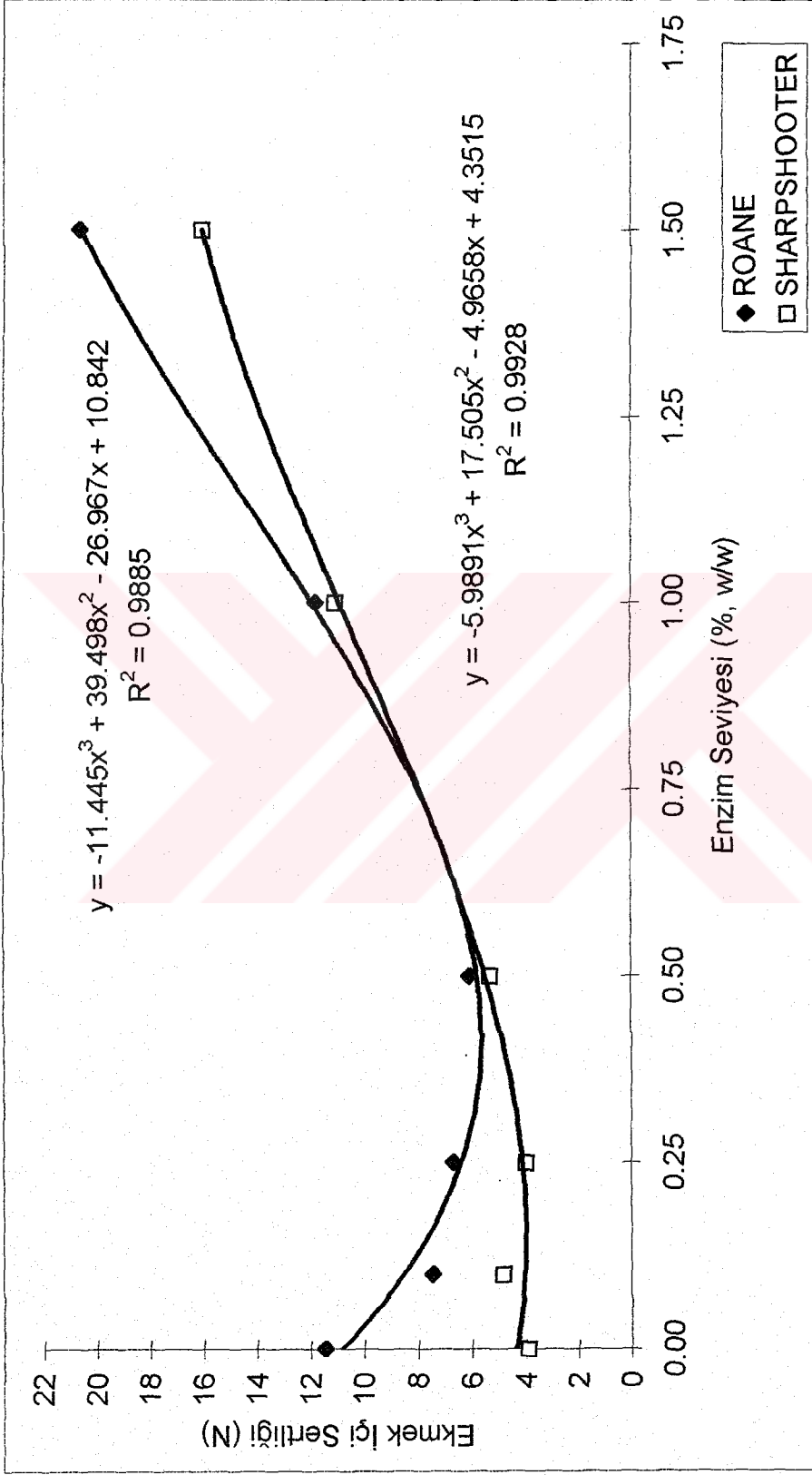
4.3.6. İyi kalitede ekmek eldesi için optimum enzim miktarının saptanması

Her iki çeşit için transglutaminaz ilave seviyesine karşı ekmek hacmi ve ekmek içi sertlik değeri grafikleri sırasıyla Şekil 4.8 ve 4.9 da verilmiştir. Transglutaminaz seviyesinin ekmek hacmi veya ekmek içi sertlik değerine etkisini değerlendirmek için aralarındaki ilişkiyi en iyi açıklayan eşitliği bulmak amacıyla birinci, ikinci ve üçüncü derece polinom fonksiyonları türetilmiştir. Üçüncü derece polinom fonksiyonunun en yüksek R^2 değeri ile deneysel veriyi en iyi şekilde tanımlayan denklemi verdiği bulunmuştur. Her iki çeşitte de 3. derece polinom fonksiyonu ile, toplam varyasyonun hacimce en az %97 si ve ekmek içi sertlik değerince de %99 u tanımlanabilmektedir.

Enzim seviyesine karşı ekmek hacmi grafiğinin maksimum noktasından ve enzim seviyesine karşı ekmek içi sertlik değeri grafiğinin minimum noktasından iyi kalitede ekmek eldesi için optimum enzim seviyesi belirlenebilir. Şekil 4.8 ve 4.9 değerlendirildiğinde Roane çeşitinde minimum ekmek içi sertlik değerinin ve



Şekil 4.8. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin ekmeK hacim değerlerine etkisi



Şekil 4.9. Farklı seviyelerde transglutaminaz enzimi ilavesinin Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin ekmeği için sertlik değerlerine etkisi

maksimum ekmek hacmi değerinin %0.42 TG enzimi ilavesi ile elde edildiği bulunmuştur. Diğer taraftan, sert buğday çeşiti Sharpshooter için daha düşük seviyelerdeki enzim miktarı yeterlidir. Sharpshooter çeşitinde en iyi ekmek hacim değerine %0.23 TG ilavesi ile ve en iyi ekmek içi sertlik değerine %0.15 TG ilavesi ile ulaşılmıştır. Bununla beraber, daha önce de belirtildiği gibi, artan miktarlarda enzim ilavesi Sharpshooter çeşitinin ekmek hacim ve ekmek içi sertlik değerlerinde istatistiksel açıdan önemli olan düzeltici bir etki yapmamıştır.

4. 4. Buğday-Arpa Unu Karışımlarına Transglutaminaz İlavesinin Etkisi

4.4.1. Reolojik özellikler

4.4.1.1. Farinogram özellikleri

Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan örneklerden TG ilave edilmemiş ve edilmiş olanların farinogram özelliklerindeki değişim sırasıyla Çizelge 4.8 ve 4.9 da verilmiştir. Su absorpsiyon değerinin artan arpa unu miktarı ile her iki çeşite ait örneklerde arttığı gözlenmiştir. TG ile muamele edilmemiş ve edilmiş örneklerdeki artış Roane çeşitinde %12 civarında olup Sharpshooter için bu artış daha düşüktür. Literatürde de artan miktarlarda arpa ununun su absorpsiyonunu orantılı olarak arttırdığı bildirilmiştir (Newman and McGuire, 1985; Basman and Köksel, 1999). TG ile muamele edilmemiş un karışımlarının hamur gelişme süresi ve stabilite değerleri artan arpa unu miktarı ile Roane çeşitinde genellikle artmış fakat Sharpshooter da azalmıştır. Her iki çeşitin TG ilave edilmemiş örneklerinde, yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi arpa unu ilave seviyesi arttıkça artmıştır. Artış Sharpshooter çeşiti için daha belirgindir (Çizelge 4.8). Arpa unu ilavesinin TG ile muamele edilmiş örneklerde hamur gelişme süresi ve stabilite değerleri üzerine etkisi TG ile muamele edilmemişlere benzer bulunmuştur. Yani Roane çeşitinde genellikle bir artış gözlenirken Sharpshooter çeşitinde azalma kaydedilmiştir. Enzim içeren örneklerin yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesindeki değişimin artan arpa unu miktarı ile düzensiz olarak değiştiiği gözlenmiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.8. Farklı seviyelerde arpa unu içeren buğday-arpa unu karışımının farinogram özellikleri

Örnek	Arpa Unu seviyesi (%)	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme Süresi (dakika)	Stabilite (dakika)	Yoğurma Tolerans Sayısı (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Roane	0	56.2	1.0	1.3	85	100
	10	58.8	1.4	1.8	90	110
	20	61.4	1.4	1.8	100	120
	30	63.5	1.6	1.8	100	130
	40	66.0	1.6	1.8	100	130
Sharpshooter	50	68.4	1.9	1.5	100	130
	0	63.4	6.3	5.3	40	50
	10	64.7	4.3	4.5	40	90
	20	66.2	3.3	2.8	70	120
	30	68.0	3.0	2.6	70	130
	40	69.9	2.8	2.6	90	130
	50	72.0	2.5	2.5	90	130

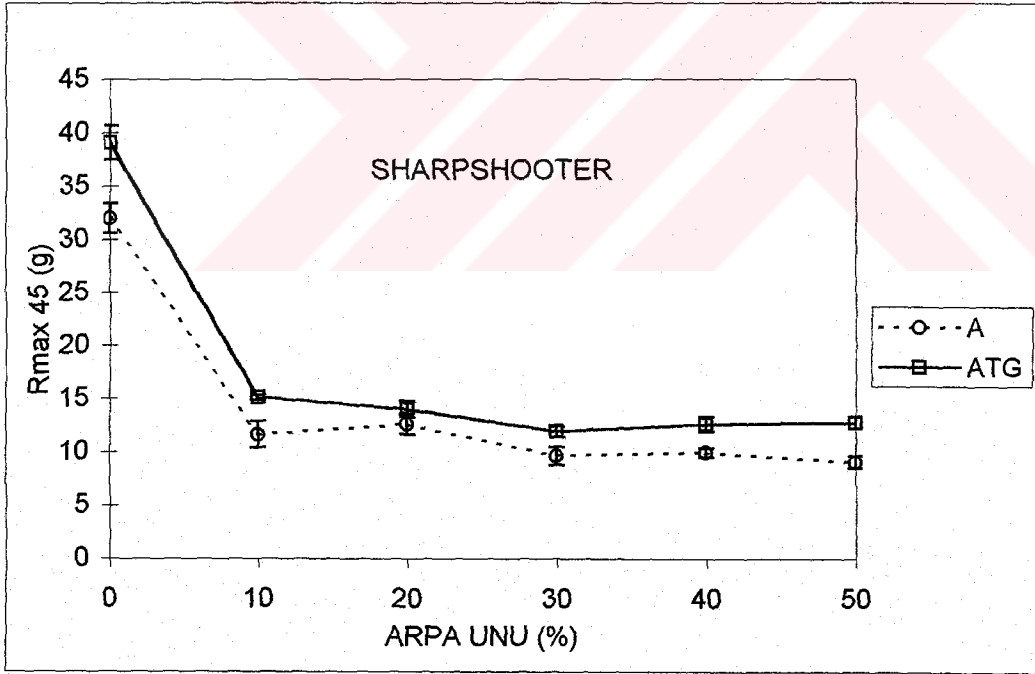
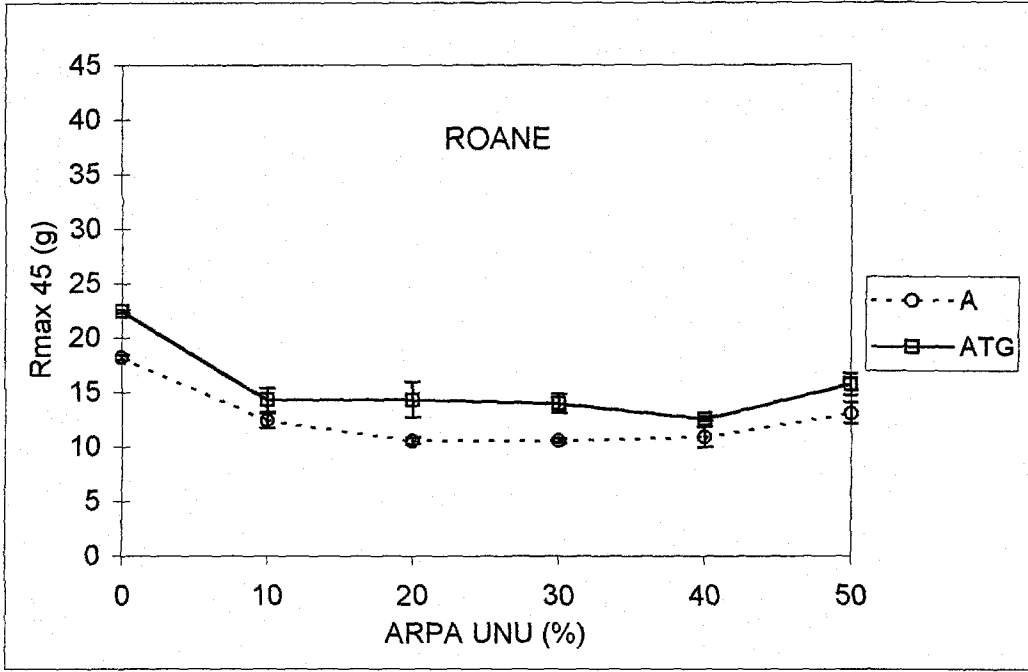
Çizelge 4.9. Transglutaminaz ve farklı seviyelerde arpa unu içeren buğday-arpa unu karışımının farinogram özellikleri

Örnek	Arpa Unu seviyesi (%)	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme Süresi (dakika)	Stabilite (dakika)	Yoğurma Tolerans Sayısı (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Roane + TG	0	55.9	1.5	1.8	90	110
	10	58.7	1.4	1.8	110	120
	20	58.8	1.4	2.2	80	115
	30	63.2	1.4	2.0	100	130
	40	65.4	1.7	2.0	85	120
	50	68.0	1.7	1.2	100	130
Sharpshooter + TG	0	62.8	6.8	6.1	40	50
	10	64.4	4.0	5.3	40	60
	20	65.8	3.5	2.6	70	100
	30	67.8	3.0	2.6	80	120
	40	69.6	2.6	2.5	80	120
	50	71.6	2.6	2.6	80	120

4.4.1.2. Mikroekstensibilite test sonuçları

Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin R_{max} değerlerindeki değişim Şekil 4.10 da, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.11 de verilmiştir. Kontrolü ile kıyaslandığında, her iki çeşitte ve her iki dinlendirme süresinde (45 ve 90 dakika) buğday ununa artan miktarlarda arpa unu ilavesi enzim içeren ve içermeyen örneklerin R_{max} değerlerinde azalmaya sebep olmuştur (Şekil 4.10 ve 4.11). Bu azalma Sharpshooter çeşitinde daha belirgindir. Roane ve Sharpshooter çeşitlerine ait kontrol örneklerinin R_{max} değerleri arasında gözlenen belirgin fark TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde arpa unu ilave seviyesi arttıkça azalmıştır. TG ilave edilmiş örnekler edilmemişlerle kıyaslandığında, TG ilavesinin her iki çeşitte 45 ve 90 dakika dinlendirilen örneklerde R değerlerinde artışa sebep olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.10 ve 4.11).

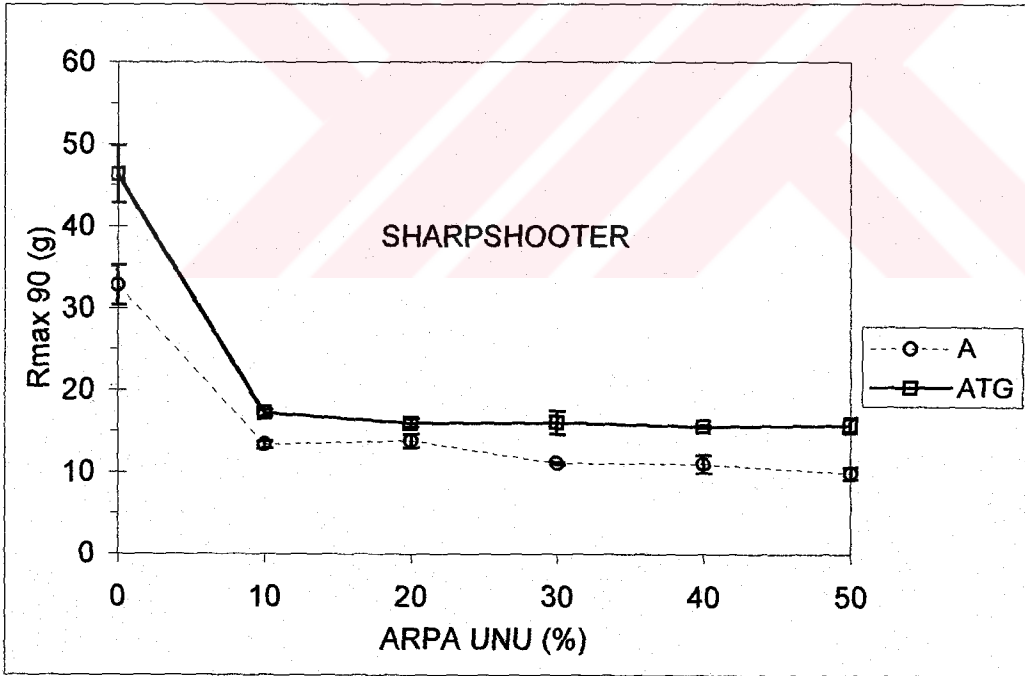
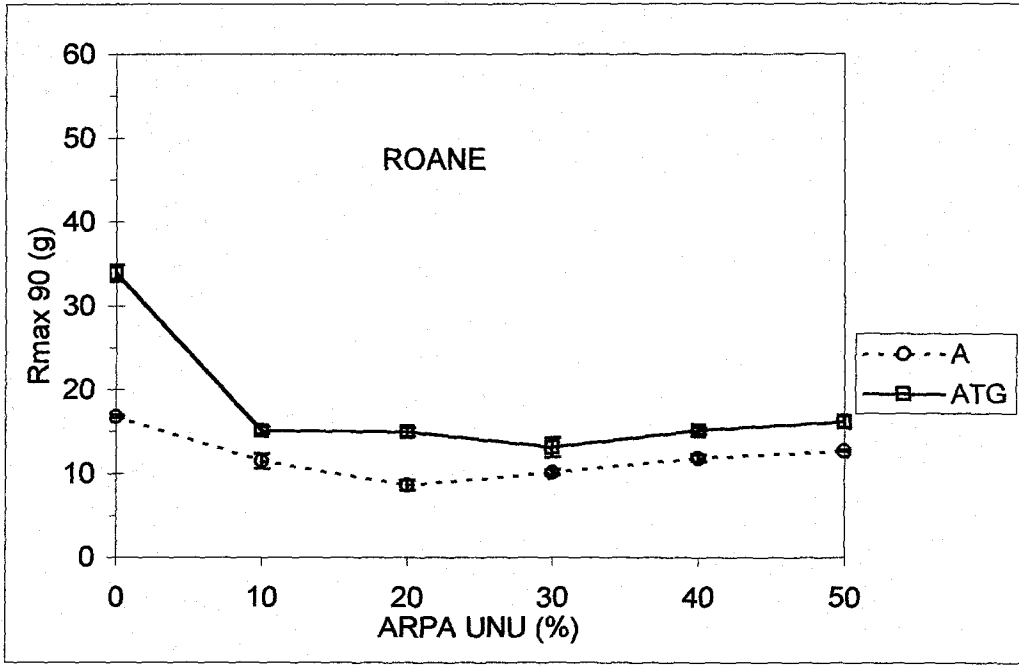
Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim Şekil 4.12 de, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.13 de verilmiştir. Her iki çeşitin enzim içeren ve içermeyen 45 ve 90 dakika dinlendirilen örneklerinde buğday ununa artan miktarlarda arpa unu ilavesiyle kendi kontrolüne kıyasla E değerlerinde genellikle azalma gözlenmiştir (Şekil 4.12 ve 4.13). Tek istisnai durum her iki çeşitte %10 arpa unu içeren 45 ve 90 dakika dinlendirilmiş TG ile muamele edilmiş ve edilmemiş örneklerin E değerlerindeki hafif artıştır. Ancak daha fazla arpa unu ilavesiyle E değerleri düşmeye başlamıştır. TG ilave edilmiş örnekler edilmemişlerle kıyaslandığında, TG ilavesinin her iki çeşitte 45 ve 90 dakika dinlendirilmiş örneklerde E değerlerinde belirgin azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.12 ve 4.13).



Şekil 4.10. Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)

A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler

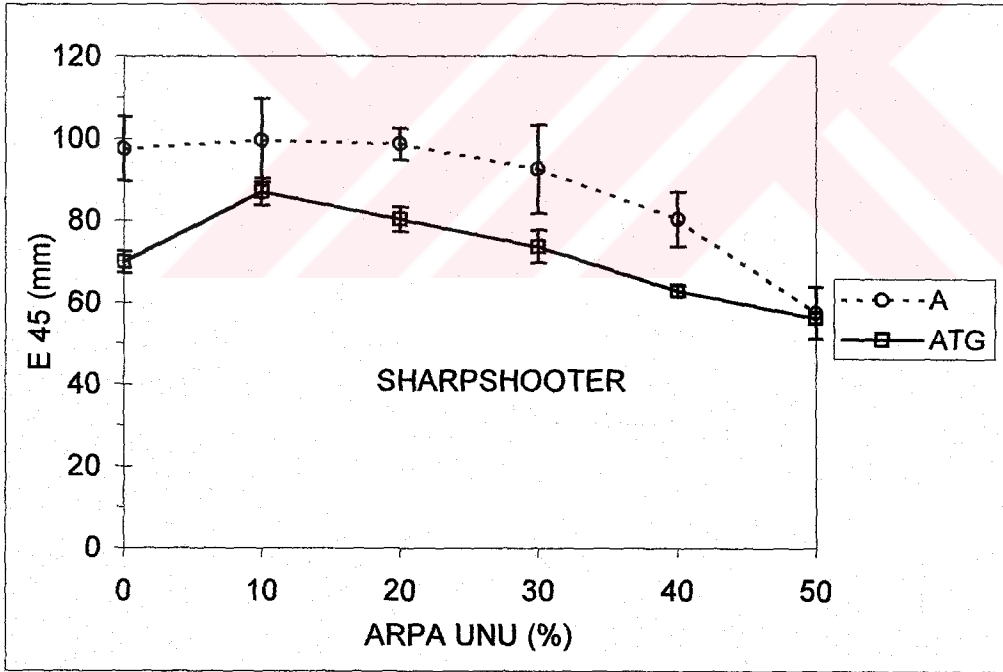
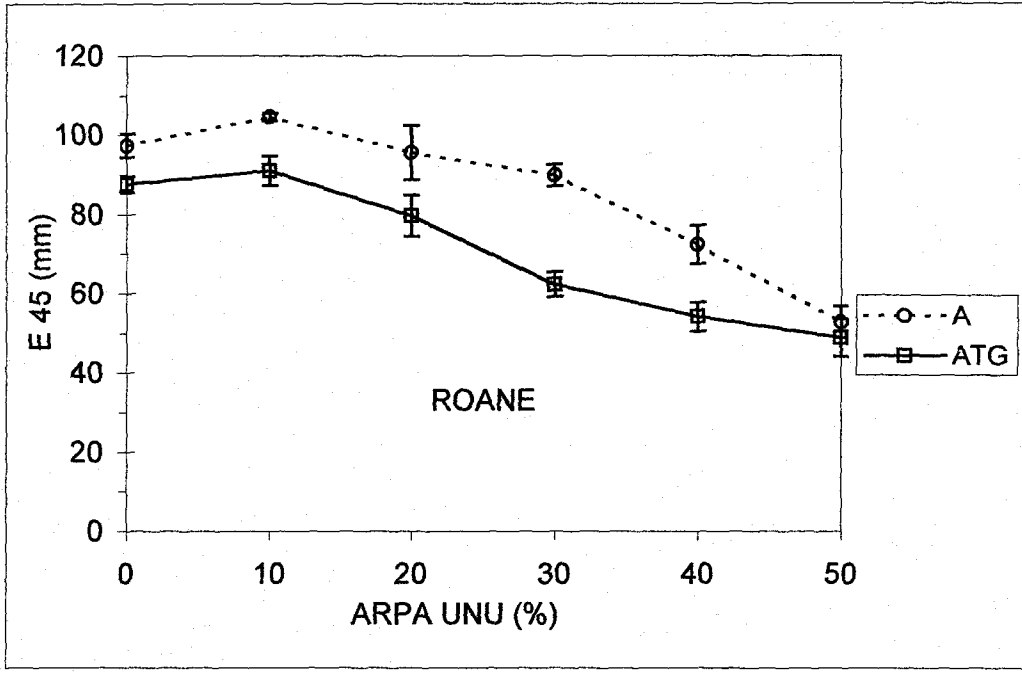
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.11. Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)

A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler

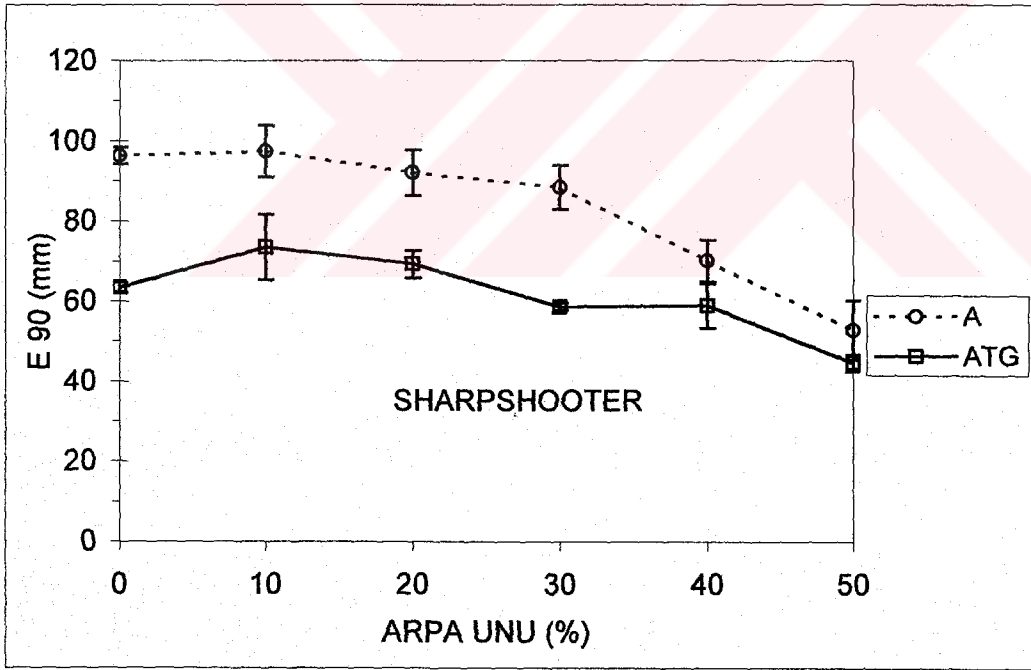
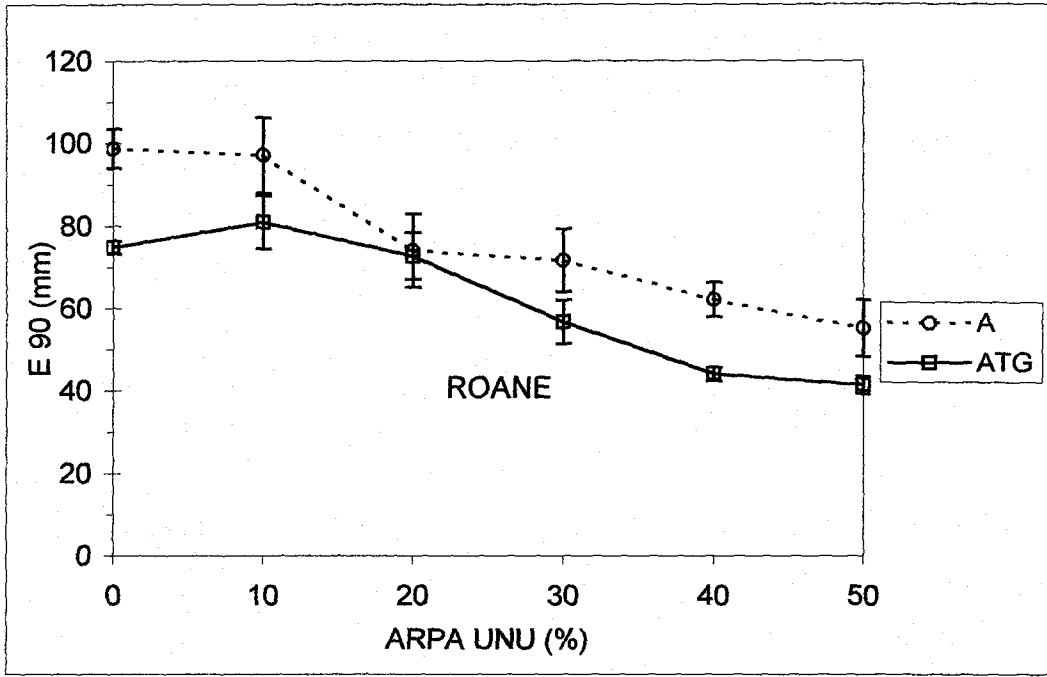
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.12. Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)

A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler

ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



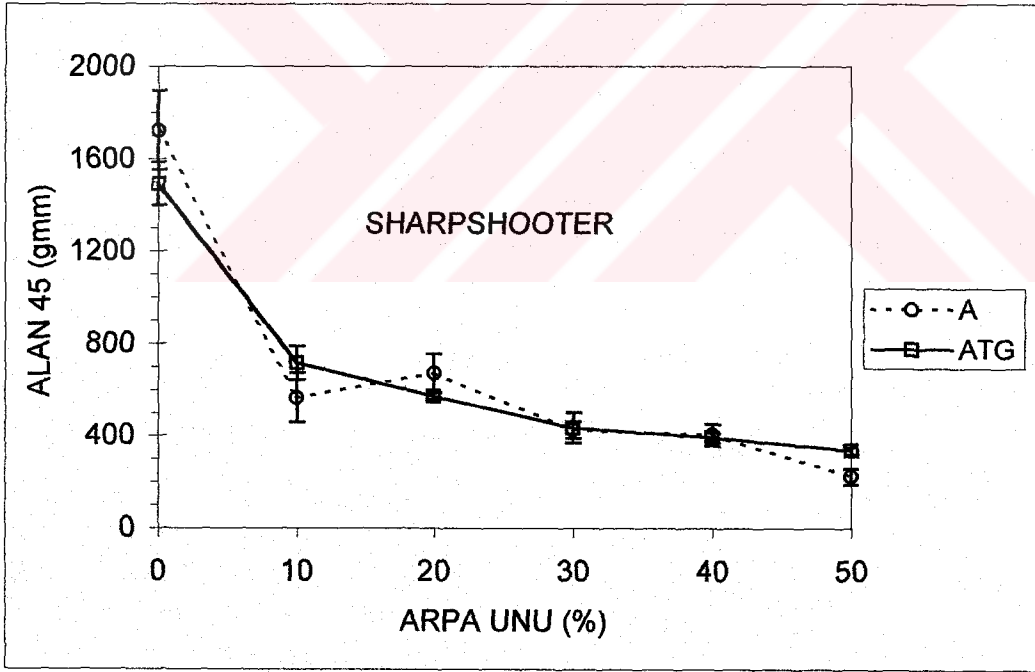
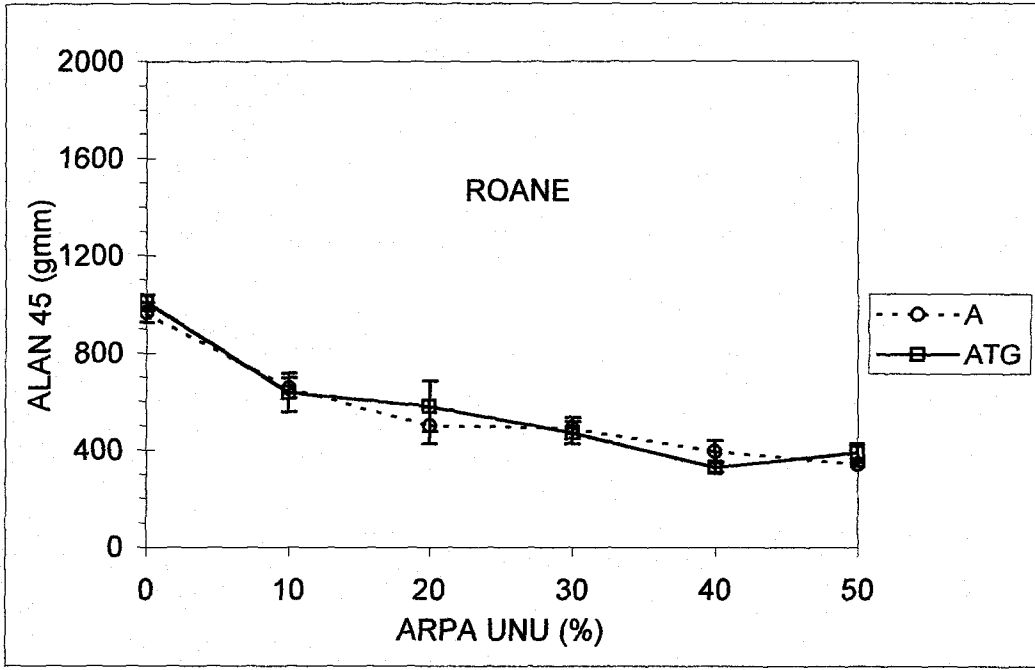
Şekil 4.13. Her iki buğday çeşitine farklı seviyelerde arpa unu ilave edilerek hazırlanan TG ilave edilmiş ve edilmemiş, 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi Şekil 4.14 de, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.15 de verilmiştir. TG ile muamele edilmiş ve edilmemiş örneklerde hem 45 dakika hem de 90 dakikalık dinlendirme süresinde arpa unu ilave seviyesi arttıkça her iki çeşitte de kontrol örneğine kıyasla alan değerleri azalmıştır (Şekil 4.14 ve 4.15).

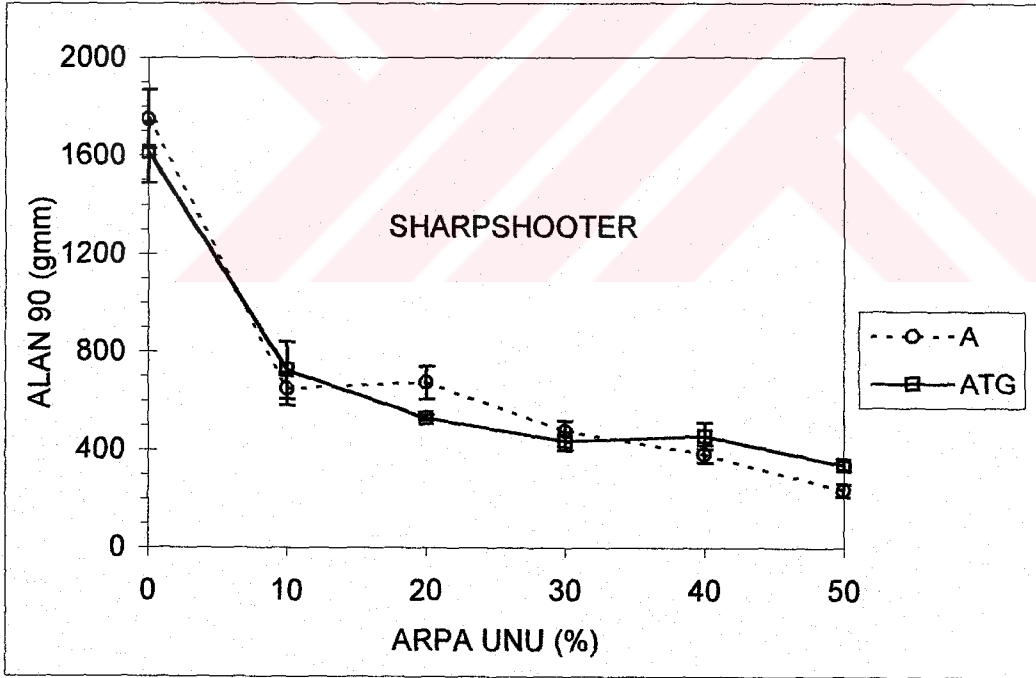
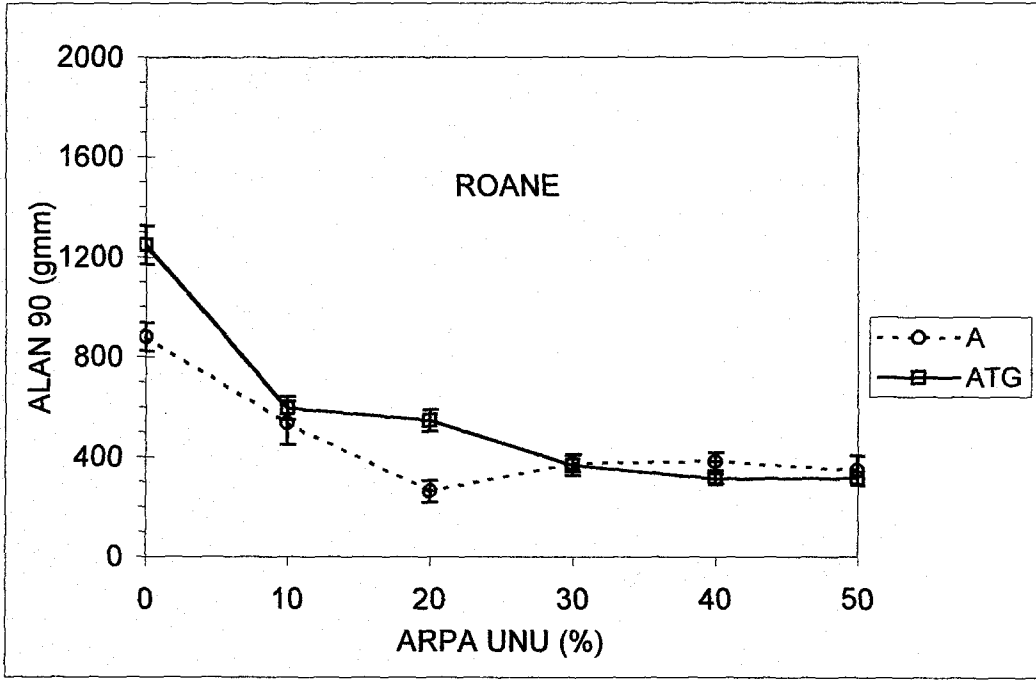
Alan değerlerindeki değişim R_{max} ve E değerlerindeki değişime benzerdir. Bu sonuç, alanın R ve E nin bir fonksiyonu olması ve bu değerlerdeki değişime bağlı olmasından kaynaklanmaktadır.

4.4.2. Ekmek kalite karakteristikleri

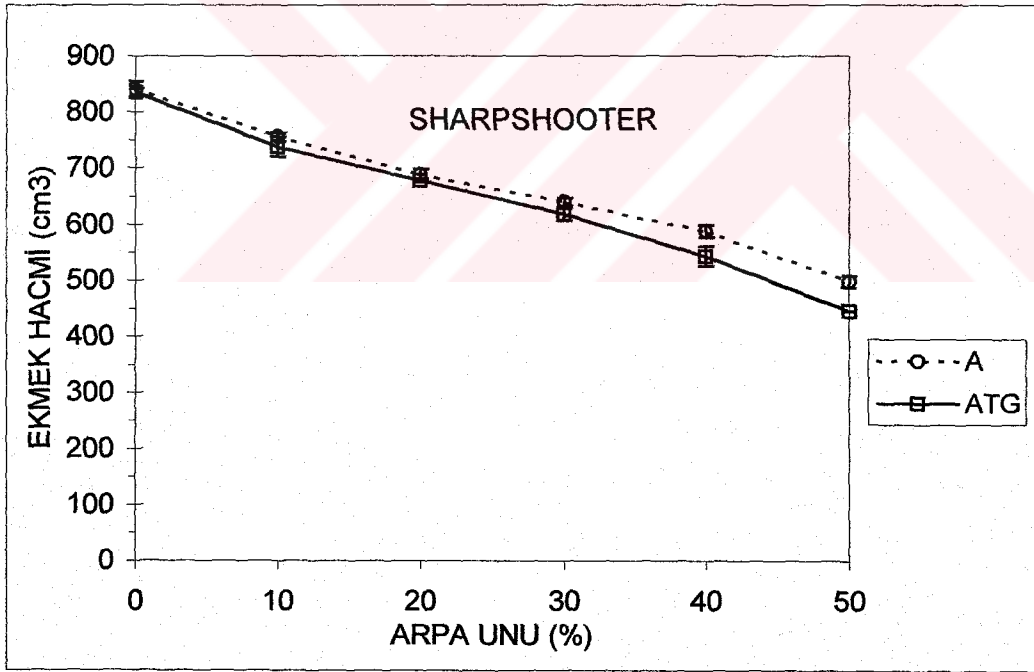
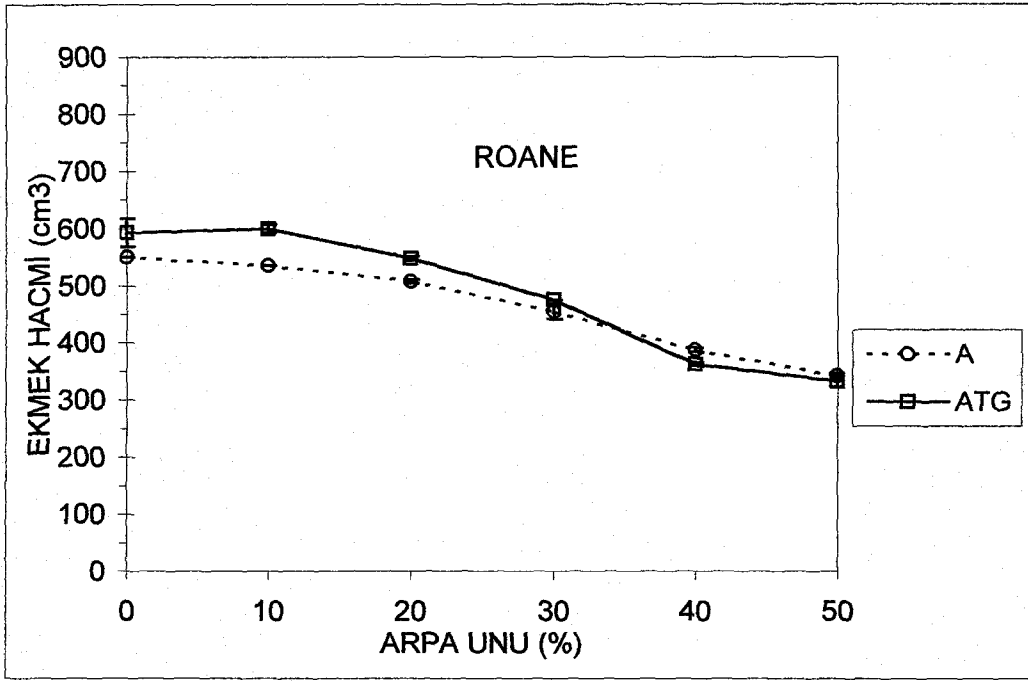
TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklere artan miktarlarda arpa unu ilavesinin her iki çeşitin ekmek hacmi ve ekmek içi sertlik değerleri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 de verilmiştir. TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde arpa unu miktarı arttıkça genellikle ekmek hacmi azalmıştır. Başka bir çalışmada da arpa unu oranı %10 dan %40 a arttırıldığında ekmek hacminin 4.6ml/g dan 3.9 ml/g a düştüğü bildirilmiştir (Newman and McGuire, 1985). Ekmek hacmindeki benzer bir azalma ayrıca Swanson and Penfield (1988) tarafından da bildirilmiştir. Yaklaşık %30 arpa unu ilavesine kadar TG ilave edilmiş Roane ekmek örneklerinin hacmi ilave edilmemişlerden daha yüksektir (Şekil 4.16). TG ilavesi sayesinde Roane ununa %20 oranında arpa unu ilave edilebileceği ve TG ilave edilmemiş Roane kontrol örneği ile kıyaslandığında ekmek hacminde herhangi bir olumsuz etki yapmadığı gözlenmiştir. Bildirmekte fayda görülen bir diğer nokta da, %0 ve %10 arpa unu içeren TG ilave edilmiş Roane ekmek örneklerinin kontrol ekmeğinden (TG ve arpa unu içermeyen) daha yüksek ekmek hacmine sahip olduğudur. Bununla beraber, TG ilavesi ile birlikte arpa ununun tüm ilave seviyelerinde Sharpshooter ekmek örneklerinin hacminde hafif azalmalar gözlenmiştir (Şekil 4.16) ve muhtemelen bunun kuvvetli hamur oluşumuna sebep olan aşırı çapraz bağlanmadan kaynaklandığı düşünülmektedir. Sharpshooter daha kuvvetli gluten özelliklerine sahip bir un örneğidir ve protein içeriği Roane örneğinden daha yüksektir. Dolayısıyla TG nin katalizlediği çapraz bağlama, hatta Roane örneğindeki eşdeğer miktardaki çapraz bağlama, Sharpshooter çeşiti için



Şekil 4.14. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.15. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

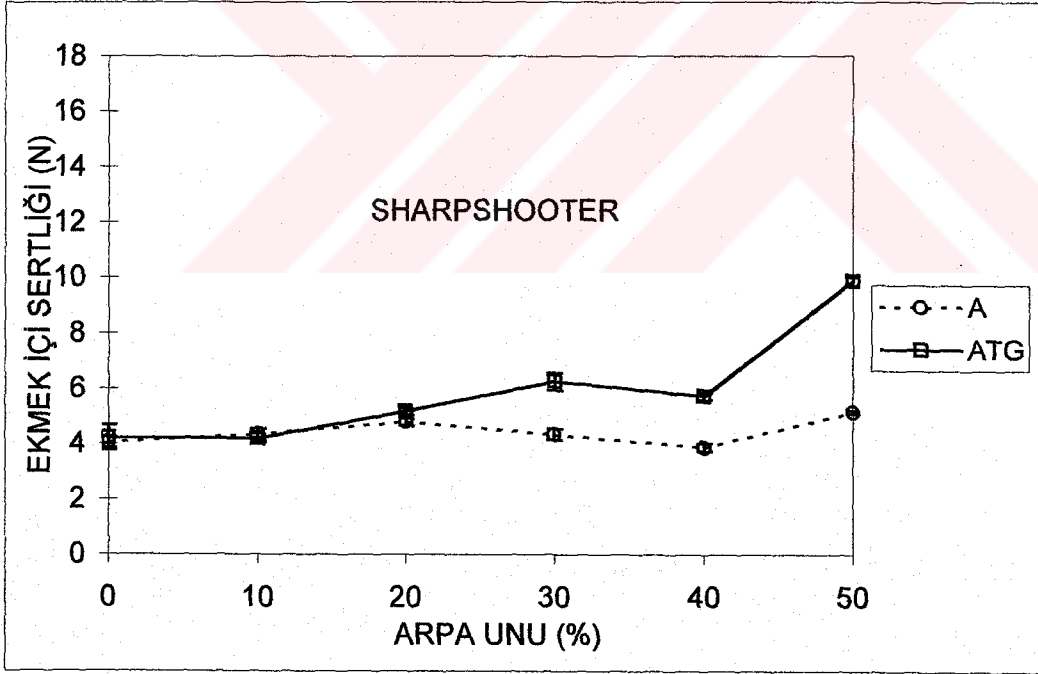
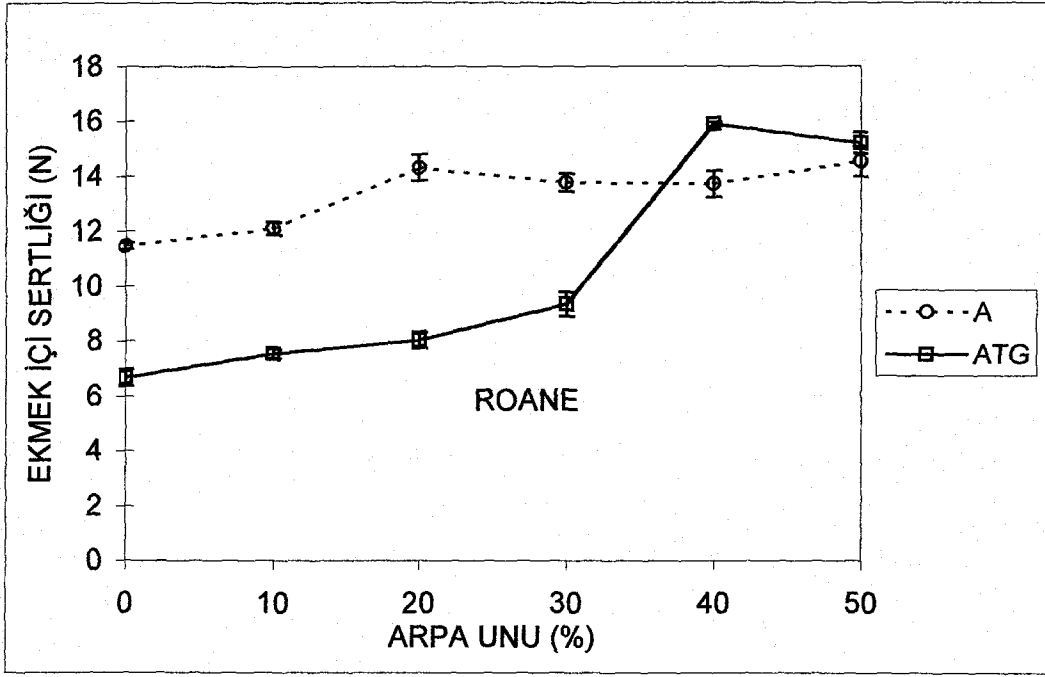


Şekil 4.16. TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin her iki çeşitin ekme hacim değerleri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

çok fazla olabilmektedir. Buradan hareketle, yumuşak buğday unlarına fazla miktarda arpa unu katılabilmesinde TG ilavesinin oldukça fonksiyonel olduğu söylenebilir. Arpa unu ilave edilmiş Roane ekmek örneklerinin hacmindeki artış, TG nin buğday (Şekil 4.1) ve arpa proteinlerinde (Şekil 4.2b) veya her iki protein arasında (Şekil 4.4) katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonuna bağlı olarak zayıf gluteni kuvvetliye çevirmesinin ve daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi hamurun reolojik özelliklerinde yarattığı değişimin bir sonucu olabilir.

TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde arpa unu ilave seviyesi arttıkça Roane ve Sharpshooter örneklerinin ekmek içi sertlik değerleri genellikle artmıştır (Şekil 4.17). Artan arpa unu miktarı ile ekmek içi sertlik değerindeki artışın bir kısmının bu ekmek örneklerinin hacmindeki azalma ve ekmek içi özelliklerindeki bozulma ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Beklenildiği gibi Sharpshooter kontrol örneğinin (enzim ve arpa unu içermeyen) ekmek içi sertlik değeri Roane kontrol örneğinin (enzim ve arpa unu içermeyen) ekmek içi sertlik değerinden daha düşüktür. Aynı miktarda arpa unu ve arpa unu+TG ilave edilmiş Sharpshooter ekmek örnekleri kendilerine karşılık gelen Roane ekmek örnekleriyle kıyaslandığında Sharpshooter ekmek örneklerinin daha yumuşak olduğu gözlenmiştir. Örneklere TG ilavesi, Roane+arpa unu karışımından hazırlanan ekmeklerin %30 arpa unu ilavesi dahil olmak üzere daha yumuşak olmasını sağlamıştır. Ancak Sharpshooter+arpa unu karışımlarına TG ilave edildiğinde ekmek içi sertlik değerlerinin TG ilave edilmemiş eşdeğerlerine kıyasla, özellikle yüksek dozlarda arpa unu ilave edilmiş örneklerde, daha fazla olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.17).

İki faktörlü (enzim ilavesi x arpa unu ilave seviyesi) tesadüf blokları deneme deseni ANOVA sonuçlarına bakıldığında Roane ve Sharpshooter ekmek örneklerinin kabuk rengi ve ekmek içi karakteristikleri (ekmek içi rengi ve gözenek yapısı) üzerine bu interaksiyonun etkisinin önemsiz olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.10). Bu sebeple verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde sadece arpa unu seviyesini ele alan tek faktörlü ANOVA testi kullanılmıştır. Tek faktörlü (arpa unu seviyesi) ANOVA testinin sonucuna göre her iki buğday ununa arpa unu ilavesi enzim içeren ve içermeyen örneklerin kabuk rengi ve ekmek içi gözenek özelliklerinin tümünde bazı arpa seviyelerinde önemli ($P<0.05$) azalmalara neden olmuştur (Çizelge 4.11). Beklenildiği gibi bu sonuçlar, artan arpa unu miktarı ile



Şekil 4.17. TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda arpa unu ilavesinin her iki çeşitin ekmek içi sertlik değerleri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
A: Arpa unu ilave edilmiş örnekler
ATG: Arpa unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

Çizelge 4.10. Enzim (TG) ilavesi ve arpa unu seviyesinin Roane ve Sharpshooter örneklerinin kabuk rengi ve ekme içi karakteristikleri üzerine etkisinin iki faktörlü tesadüf blokları deneme deseninde uygulanan varyans analizi sonucu elde edilen önemlilik (P) dereceleri

Faktör	ROANE				SHARPSHOOTER			
	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Ekme içi rengi	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Ekme içi rengi
A (Enzim yok / var)	ÖD	0.0050	0.0015	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD
B (Arpa unu seviyesi)	0.0000	0.0000	0.0001	0.0006	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
A x B (Enzim ve arpa unu interaksyonu)	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

ÖD ; Önemli Değil

Çizelge 4.11. Artan miktarlarda arpa unu ilavesinin enzim içeren ve içermeyen Roane ve Sharpshooter ekme örneklerinin kalite özelliklerine etkisi^a

Arpa unu seviyesi (%)	ROANE				ROANE + TG			
	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi gözenek yapısı
0	5.0 a	7.5 a	6.5 a	5.0 a	8.0 a	8.5 a	5.0 a	8.5 a
10	5.0 a	7.0 ab	6.5 a	5.0 a	7.5 ab	8.0 a	5.0 a	8.0 a
20	5.0 a	6.5 abc	6.0 ab	5.0 a	7.5 ab	8.0 a	5.0 a	8.0 a
30	4.0 ab	6.0 bcd	5.0 abc	4.0 ab	6.5 bc	6.0 b	4.0 ab	6.0 b
40	3.0 b	5.5 cd	4.5 bc	3.0 b	6.0 c	5.0 bc	3.0 b	5.0 bc
50	3.0 b	5.0 d	3.5 c	3.0 b	5.5 c	4.0 c	3.0 b	4.0 c
LSD ($\alpha=0.05$)	1.37	1.49	1.99	1.37	1.48	1.88	1.37	1.88
Arpa unu seviyesi (%)	SHARPSHOOTER				SHARPSHOOTER + TG			
	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi gözenek yapısı
0	5.0 a	9.5 a	9.5 a	5.0 a	10.0 a	10.0 a	5.0 a	10.0 a
10	5.0 a	9.0 ab	9.5 a	5.0 a	9.0 ab	10.0 a	5.0 a	10.0 a
20	5.0 a	8.0 abc	9.5 a	5.0 a	8.5 ab	9.5 ab	5.0 a	9.5 ab
30	5.0 a	7.5 bc	9.0 a	5.0 a	7.5 bc	8.5 bc	5.0 a	8.5 bc
40	4.5 a	6.5 cd	8.0 ab	4.5 a	6.5 cd	7.5 c	4.5 a	7.5 c
50	3.5 b	5.5 d	6.5 b	3.0 b	5.0 d	5.5 d	3.0 b	5.5 d
LSD ($\alpha=0.05$)	0.94	1.88	1.88	1.15	1.79	1.48	1.15	1.48

^a Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark yoktur.

Kabuk rengi (1=en kötü, 5=en iyi), ekme içi rengi ve ekme içi gözenek özellikleri (1=en kötü, 10=en iyi)

ekmek hacmindeki azalma ve ekmek içi sertlik değerlerindeki artışa paraleldir. TG ilave edilmemiş Sharpshooter örneklerinin kendilerine karşılık gelen Roane örneklerine kıyasla ekmek içi rengi ve gözenek yapısına ait değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Benzer farklılık ekmek örneklerinin kabuk rengi içinde geçerlidir. TG ilave edilmiş örneklerden Sharpshooter a ait olanların ekmek içi karakteristiklerinin de genellikle Roane örneklerinden daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Aynı miktarda arpa unu içeren TG ile muamele edilmiş Roane örnekleri TG ile muamele edilmemişlerle kıyaslandığında TG içeren örneklerin ekmek içi rengi ve gözenek özelliklerinin daha iyi olduğu saptanmıştır. Enzim içeren ve içermeyen ekmek örneklerinin kabuk rengi değerleri ise aynı bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Ekmek içi gözenek özelliklerindeki değişim ekmek içinin görüntülediği fotoğraflardan da açıkça görülebilmektedir. Roane çeşitine ait kontrol örneği ve farklı miktarlarda arpa unu ilave edilmiş örneklerin ekmek içi görüntüleri topluca Şekil 4.18 de verilmiştir. Bu ekmek örneklerinin gözenek yapısı iri olup homojen bir yapı sergilemezken TG ilavesi ile %10 ve %20 seviyelerinde arpa unu ilave edilmiş Roane örnekleri daha homojen ve ince bir görünüm almıştır (Şekil 4.18). Bu durum ekmek örneklerinin kendisinde fotoğraflardakinden daha belirgindir. Sharpshooter çeşitine ait kontrol örneği ve farklı miktarlarda arpa unu ilave edilmiş örneklerin ekmek içi görüntüleri topluca Şekil 4.19 da verilmiştir Sharpshooter kontrol örneğinin (enzim ve arpa unu içermeyen) ekmek içi gözenek özellikleri Roane kontrol örneğinden daha iyidir. Sharpshooter çeşitine ait kontrol örneğinin ve düşük seviyelerde arpa unu içeren örneklerin ekmek içi gözenek özellikleri TG ilavesi ile hafifçe iyileşse de, iyileşme Roane örneklerinde gözlenenden daha azdır (Şekil 4.19).

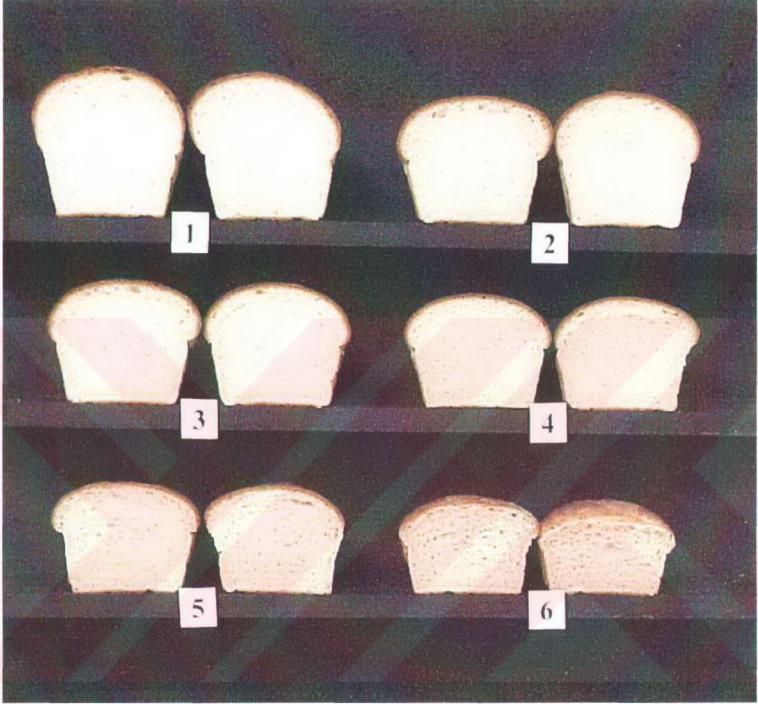
Farklı miktarlarda arpa unu içeren Roane ekmek örneklerinin dış görünüşleri Şekil 4.20 de verilmiştir. Ekmek örneklerinin kabuk özellikleri %20 arpa unu ilavesinde hafifçe, daha yüksek miktarda arpa unu içeren örneklerde ise oldukça fazla bozulmuştur. Arpa ununun Roane örneklerinin kabuk özelliklerinde yarattığı olumsuz etki Sharpshooter örneklerinde daha yüksek miktarda arpa unu ilavesinde (%50) gözlenmiştir (Şekil 4.21). Bununla beraber, arpa unu ilave edilmiş örneklere TG ilave edildiğinde Roane örneklerinde %30 arpa unu seviyesi dahil olmak üzere

ve Sharpshooter örneklerinde %40 arpa unu seviyesi dahil olmak üzere kabuk özellikleri daha düzgün ekmekler elde edilmiştir (Şekil 4.20 ve 4.21). Belirtmekte fayda görülen bir diğer hususta her iki çeşitte de TG ilave edilmiş ekmeklerin kabuk renginin TG içermeyen ekmeklere nazaran daha açık olduğudur. Bu durum ekmek örneklerinin kendisinde fotoğraflardakinden daha belirgindir. Kabuk rengindeki açılma muhtemelen transglutaminazın katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonuna bağlı olarak azalan lizin miktarının Maillard reaksiyonu için sınırlayıcı rol oynamasından kaynaklanmaktadır. Literatürde arpa+buğday unu karışımlarından (25:75; 50:50; 75:25) hazırlanan ekmeklerde arpa unu miktarı arttıkça kabuk renginin, ekmek içi gözenek özelliklerinin ve ekmek hacim değerlerinin azaldığı bildirilmiştir (Newman and McGuire, 1985). Swanson and Penfield (1988), %20 arpa unu içeren ekmeklerin gözenek özelliklerinin kontrole kıyasla daha kötü olduğunu bildirmişlerdir.





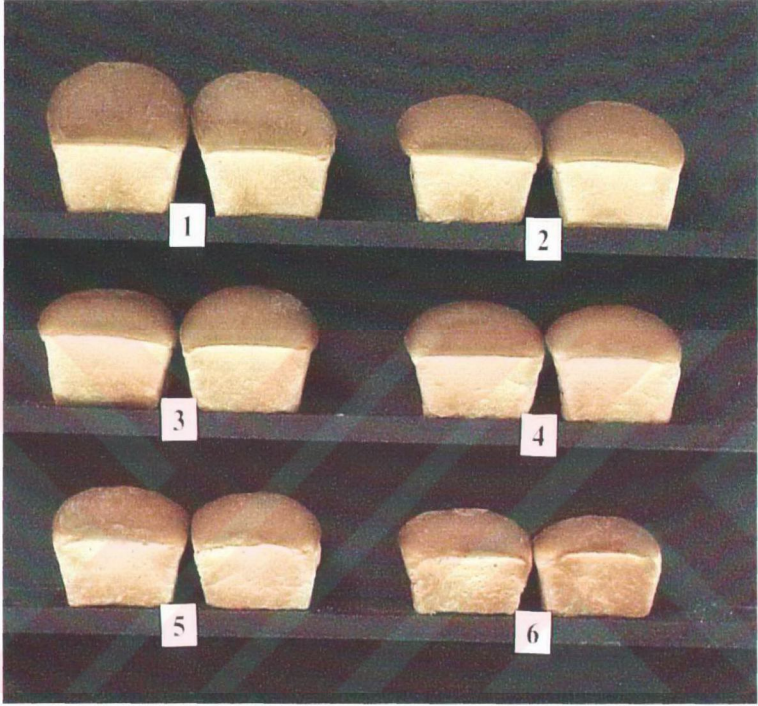
Şekil 4.18. Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Roane örneklerinin ekmek içi gözenek özellikleri üzerine etkisi. Arpa unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %10 (No 2), %20 (No 3), %30 (No 4), %40 (No 5), %50 (No 6). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmek örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.



Şekil 4.19. Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Sharpshooter örneklerinin ekmek içi gözenek özellikleri üzerine etkisi. Arpa unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %10 (No 2), %20 (No 3), %30 (No 4), %40 (No 5), %50 (No 6). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmek örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.



Şekil 4.20. Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Roane ekmeğinin dış görünüşleri üzerine etkisi.
Arpa unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %10 (No 2), %20 (No 3), %30 (No 4), %40 (No 5), %50 (No 6).
TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmeğinin sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.



Şekil 4.21. Transglutaminazın farklı miktarlarda arpa unu içeren Sharpshooter ekmeğ örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi. Arpa unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %10 (No 2), %20 (No 3), %30 (No 4), %40 (No 5), %50 (No 6). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmeğ örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.

4.5. Buğday-Soya Unu Karışımlarına Transglutaminaz İlavesinin Etkisi

4.5.1. Reolojik özellikler

4.5.1.1. Farinogram özellikleri

Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin farinogram özellikleri üzerine etkisi sırasıyla Çizelge 4.12 ve 4.13 de verilmiştir. Her iki buğday çeşidine ait unlara artan miktarlarda yağsız soya unu ilavesiyle TG içeren veya içermeyen örneklerin farinograf su absorpsiyon değeri artmıştır. Artış, Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin TG ile muamele edilmiş ve edilmemiş örneklerinde %10.5 civarındadır. TG ile muamele edilmemiş örneklerde Roane çeşitinde artış %56.2 den %66.5 a, Sharpshooter çeşitinde ise %63.4 den %73.8 e kadar olmuştur. Transglutaminaz enzimi ile muamele edilmiş örneklerdeki artış da enzimsiz örneklere benzer olup, Roane çeşiti için %55.9 dan %66.4 e, Sharpshooter çeşitinde ise %63.4 den %73.8 e kadardır. Artan miktarlarda yağsız soya unu ilavesiyle su absorpsiyon değerinde benzer artışlar olduğu literatürde de bildirilmiştir (Tsen and Hoover, 1973; Jakubczyk and Haberowa, 1974; Ranhotra et al., 1974). TG ilave edilmemiş karışımlardan Roane çeşitinde hamur gelişme süresi 1.0 dakikadan 5.0 dakikaya düzenli olarak artmış, Sharpshooter çeşitinde ise 6.3 dakikadan 7.0 dakikaya doğru düzensiz değişimler gözlenmiştir. Enzim içermeyen karışımların stabilite değerleri Roane çeşitinde %10 soya unu ilavesine kadar, Sharpshooter çeşitinde ise %15 soya unu ilavesine kadar artmıştır. Bu ilave seviyelerinin üzerinde soya unu ilavesiyle stabilite değerleri azalmıştır. Fakat, %25 soya unu ilavesi yapılmış Sharpshooter unu hariç tüm örneklerin stabilite değerleri her çeşitin kendi kontrolünden yüksek bulunmuştur (Çizelge 4.12). Jakubczyk and Haberowa (1974), soya ürünleri (soya protein izolatı ve konsantratu, yağsız soya unu, işlenmiş soya unu) ilavesi ile hamur gelişme süresi ve stabilite değerlerinin uzadığını bildirmişlerdir. Roane ve Sharpshooter çeşitlerinin yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerlerinde düzensiz değişimler gözlenmiştir ve soya ununun en yüksek ilave seviyesinde genellikle bu değerler artmıştır. TG ilave edilmiş örneklerde de soya unu ilavesiyle Roane çeşitinde hamur gelişme süresinde düzenli bir artış gözlenirken Sharpshooter çeşitinde düzensiz bir artış kaydedilmiştir. Aynı karışımların stabilite değerleri Roane çeşitinde %15 soya unu ilavesine kadar, Sharpshooter çeşitinde ise %10

Çizelge 4.12. Farklı seviyelerde soya unu içeren buğday-soya unu karışımının farinogram özellikleri

Örnek	Soya Unu seviyesi (%)	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme Süresi (dakika)	Stabilite (dakika)	Yoğurma Tolerasans Sayısı (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Roane	0	56.2	1.0	1.3	85	100
	5	57.2	1.8	3.3	60	80
	10	59.0	3.4	4.5	60	70
	15	62.4	4.0	3.1	60	70
	20	64.5	4.2	2.8	65	110
	25	66.5	5.0	2.0	80	120
Sharpshooter	0	63.4	6.3	5.3	40	50
	5	63.8	7.3	7.3	40	60
	10	65.6	6.5	7.0	30	60
	15	67.6	6.0	7.0	40	50
	20	71.0	6.5	5.8	50	70
	25	73.8	7.0	2.3	70	110

Çizelge 4.13. Transglutaminaz ve farklı seviyelerde soya unu içeren buğday-soya unu karışımının farinogram özellikleri

Örnek	Soya Unu seviyesi (%)	Su absorpsiyonu (%)	Gelişme Süresi (dakika)	Stabilite (dakika)	Yoğurma Sayısı (BU)	Tolerans Derecesi (BU)	Yumuşama Derecesi (BU)
Roane + TG	0	55.9	1.5	1.8	90		110
	5	56.9	1.5	1.6	80		110
	10	59.0	3.3	3.5	70		100
	15	62.2	3.6	4.0	50		80
	20	64.6	4.0	2.5	50		70
	25	66.4	5.0	2.2	50		60
Sharpshooter + TG	0	63.4	6.3	5.3	40		50
	5	64.0	7.0	6.0	40		70
	10	65.2	7.0	6.0	50		100
	15	67.6	5.5	5.7	50		100
	20	71.0	6.7	3.5	40		70
	25	73.8	6.7	3.5	40		65

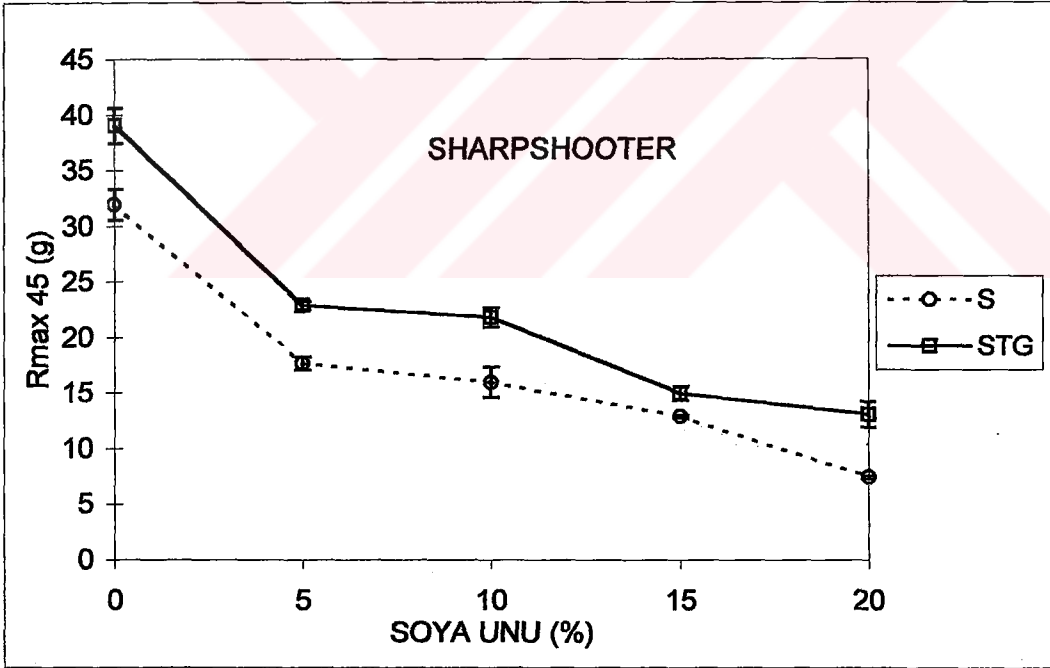
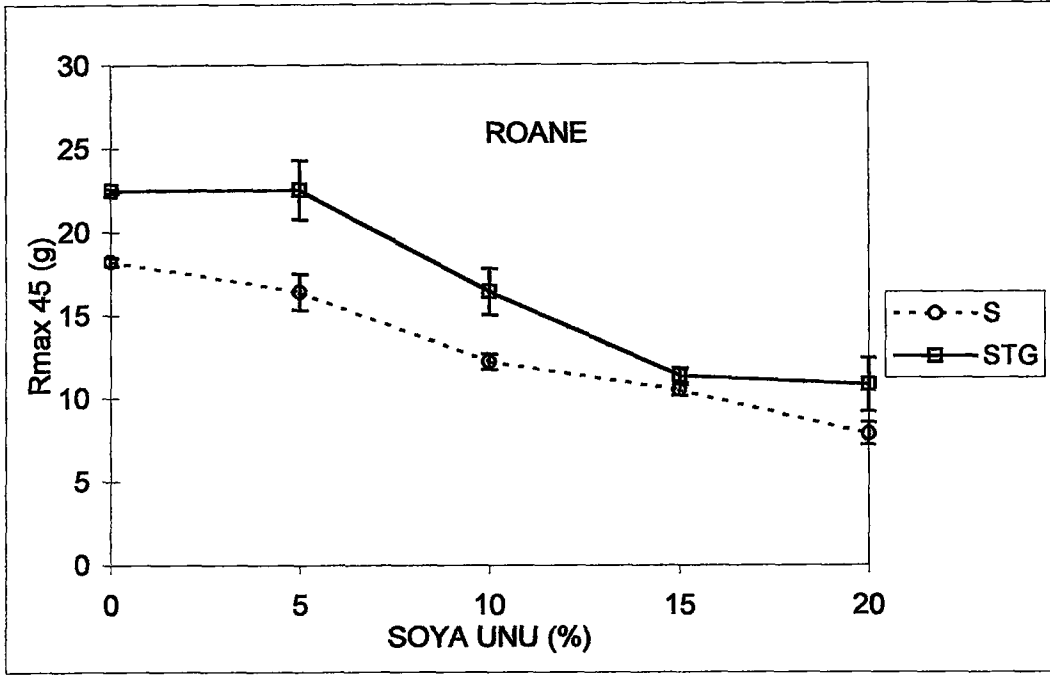
soya unu ilavesine kadar artmıştır. Roane çeşitinin yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerlerinde artan soya unu ilavesiyle azalma gözlenirken Sharpshooter çeşitinde önce artış sonra azalma kaydedilmiştir (Çizelge 4.13) .

4.5.1.2. Mikroekstensibilite test sonuçları

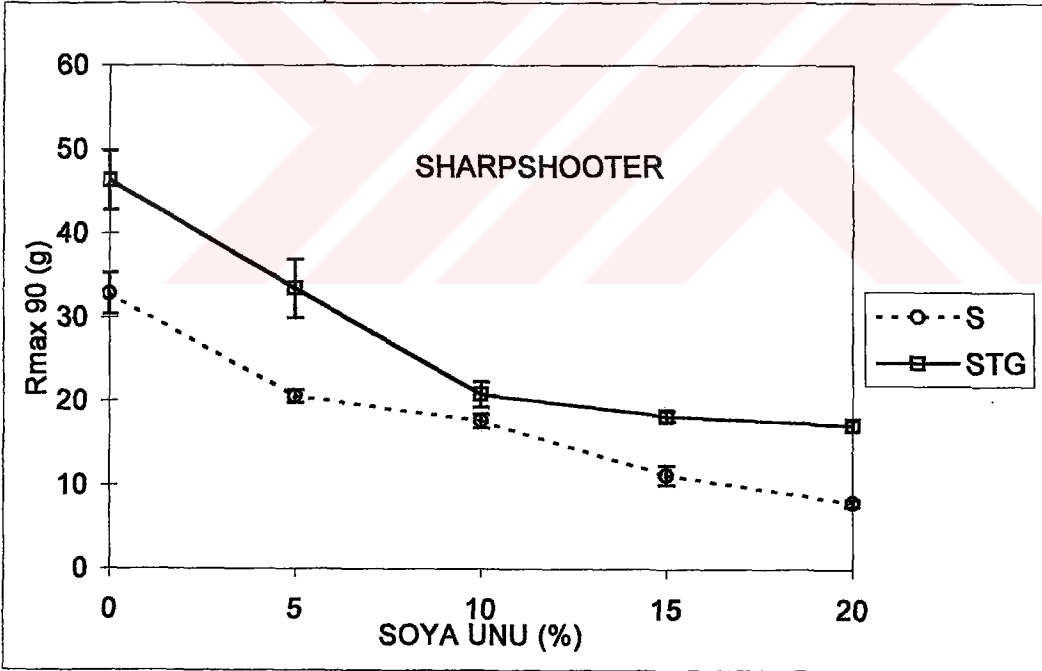
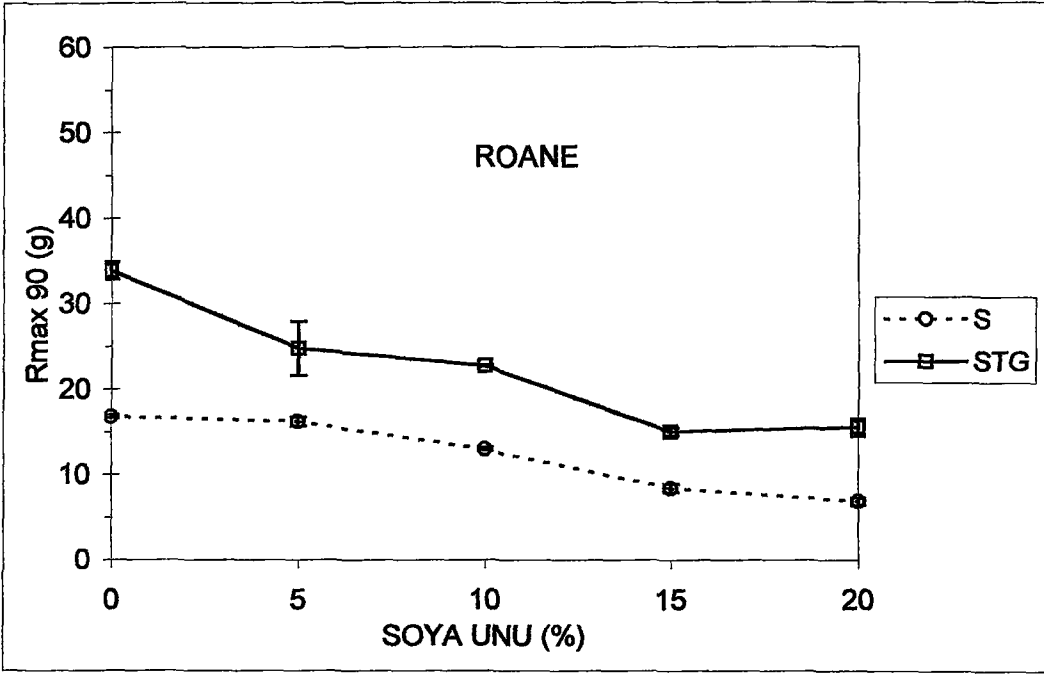
Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim Şekil 4.22 de, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.23 de verilmiştir. Her iki çeşite ait buğday ununa artan miktarlarda yağsız soya unu ilavesi her iki dinlendirme süresinde de (45 ve 90 dakika) Rmax değerlerinde genellikle kademeli bir azalmaya sebep olmuştur. Benzer bir azalma transglutaminaz ile muamele edilmiş örneklerin Rmax değerlerinde de gözlenmiştir. Azalma Sharpshooter çeşitinde daha belirgindir. TG içermeyen eşdeğer örnekleriyle kıyaslandığında, TG ilavesi genellikle soya ununun tüm ilave seviyelerinde her iki dinlendirme süresinde her iki çeşitin Rmax değerlerinde artışa sebep olmuştur.

Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim Şekil 4.24 de, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.25 de verilmiştir. Her iki çeşitte ve her iki dinlendirme süresinde buğday ununa artan miktarlarda soya unu ilavesi enzim içeren ve içermeyen örneklerin E değerlerinde genellikle düzensiz değişimlere sebep olmuştur. Ancak TG ilave edilmiş Roane örneklerinde hem 45 dakika hem de 90 dakika dinlendirilen örneklerde düzenli bir azalma gözlenmiştir. TG içeren eşdeğer örnekleriyle kıyaslandığında, TG ilavesi soya ununun tüm ilave seviyelerinde her iki dinlendirme süresinde iki çeşitin de E değerlerinde genellikle azalmaya sebep olmuştur.

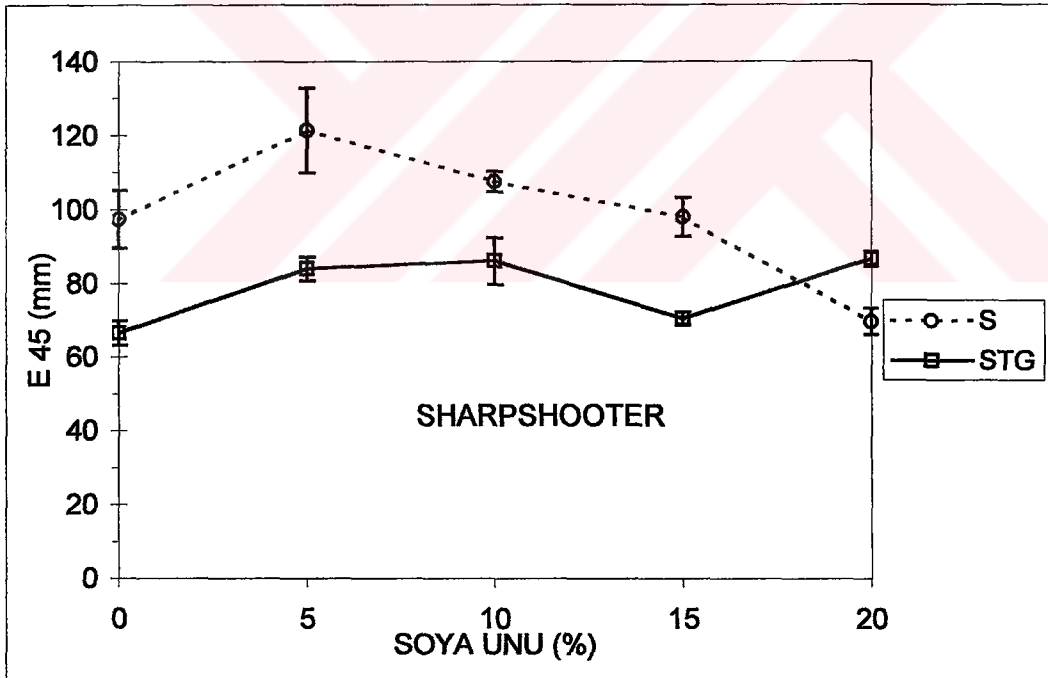
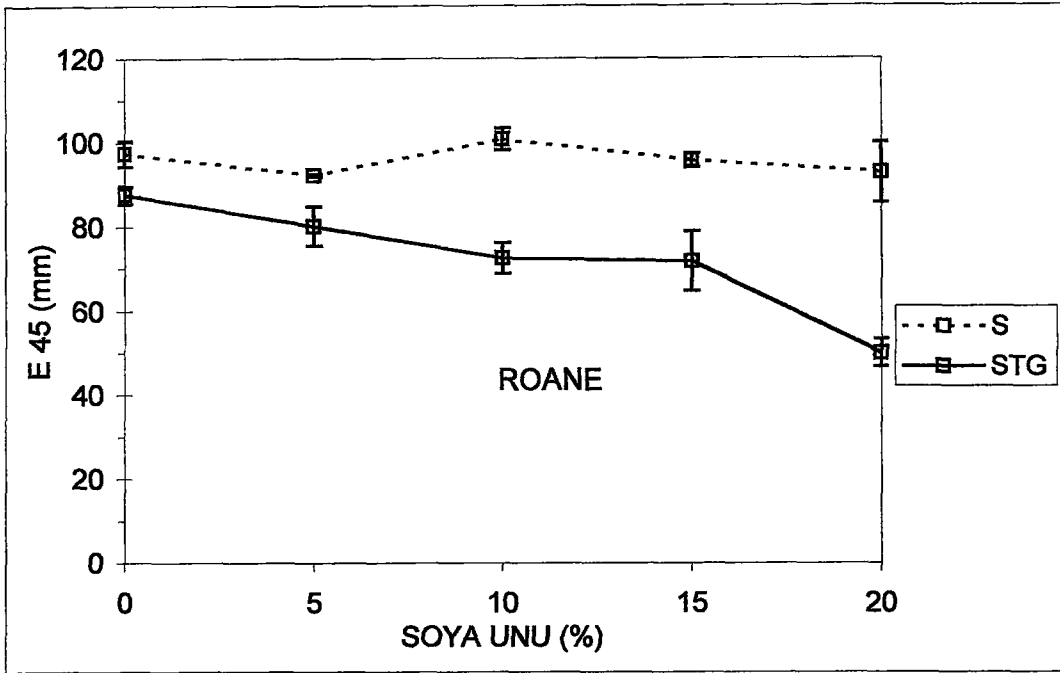
Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilmiş hamur örneklerinin alan değerleri üzerine etkisi Şekil 4.26 de, 90 dakika dinlendirilen örneklerin ki ise Şekil 4.27 de verilmiştir. Alan hem Rmax hem de E değerlerinin bir fonksiyonudur ve soya unu ilave seviyesi arttıkça TG ilave edilmiş ve edilmemiş tüm örneklerde her iki



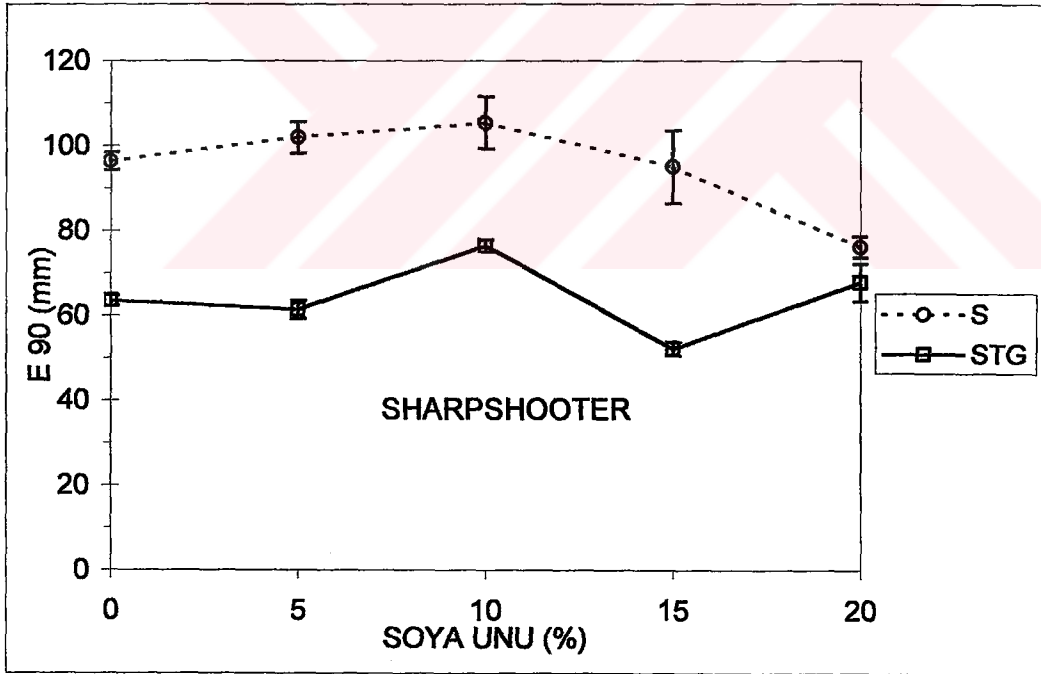
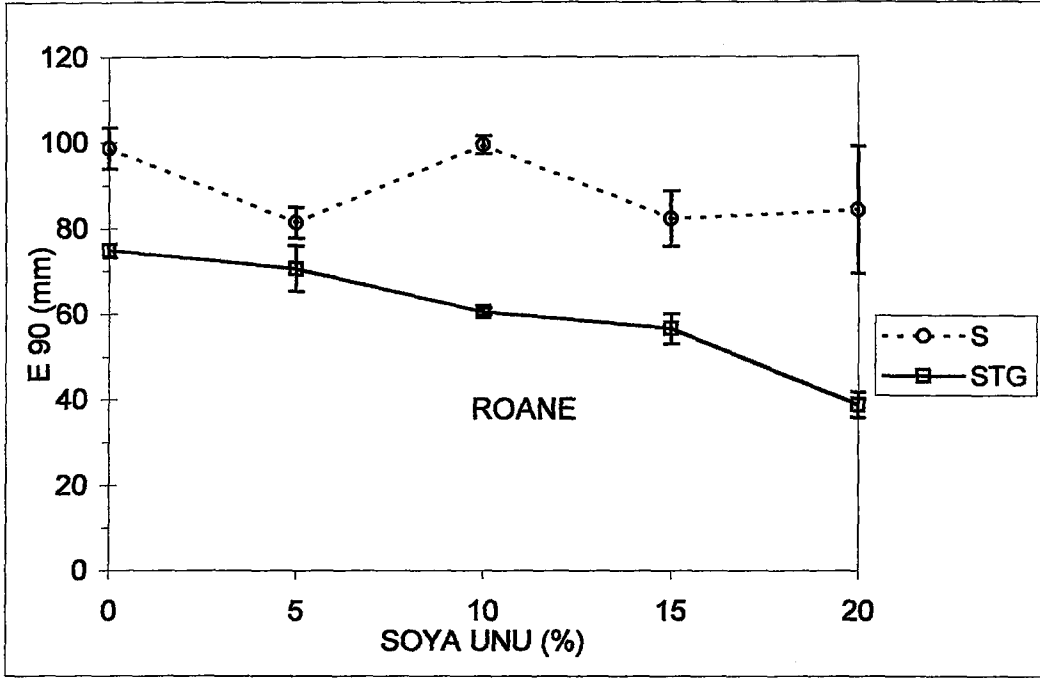
Şekil 4.22. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



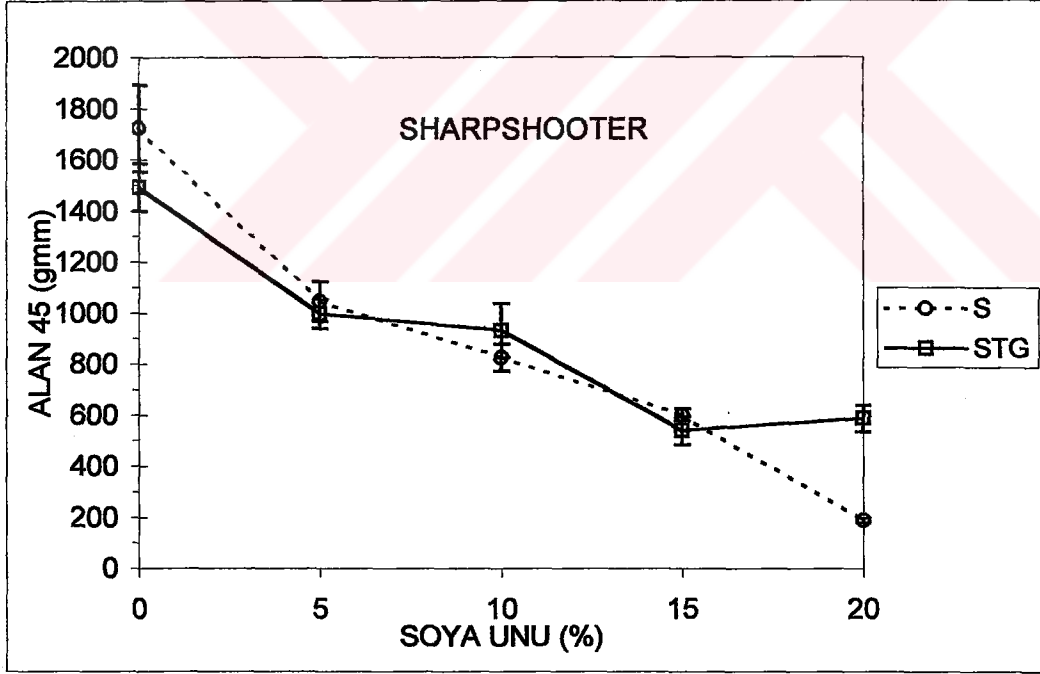
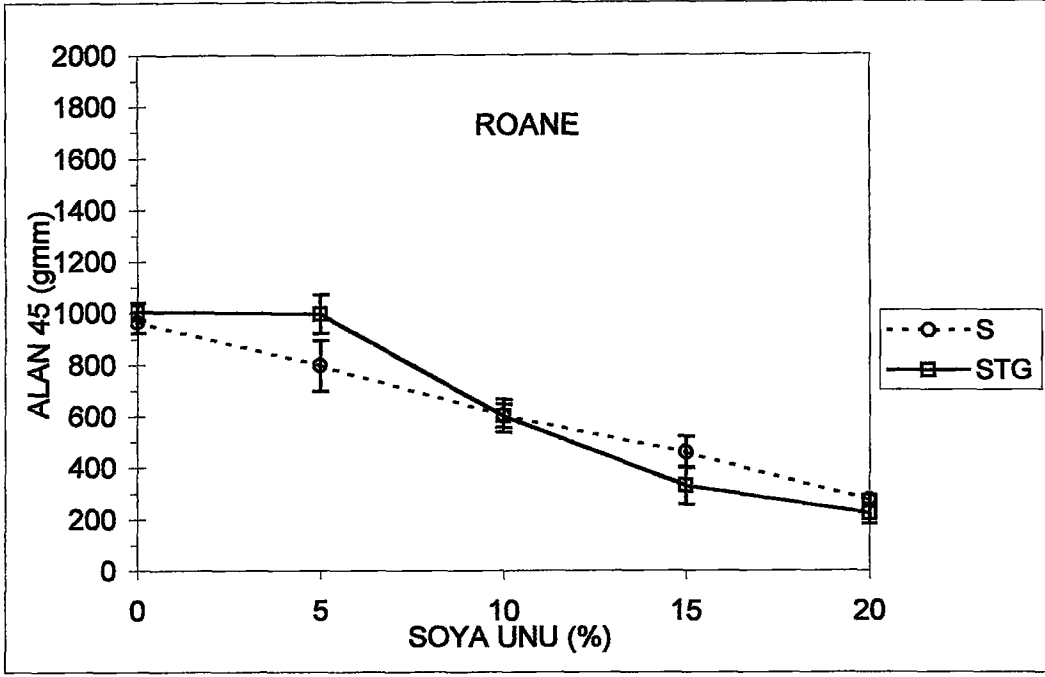
Şekil 4.23. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin Rmax değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



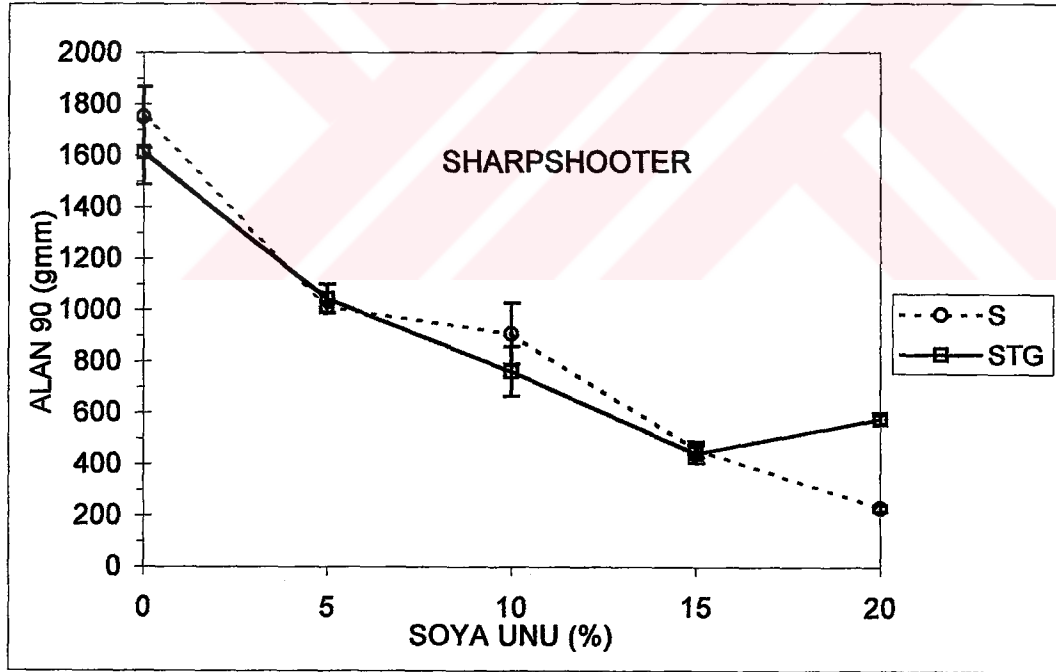
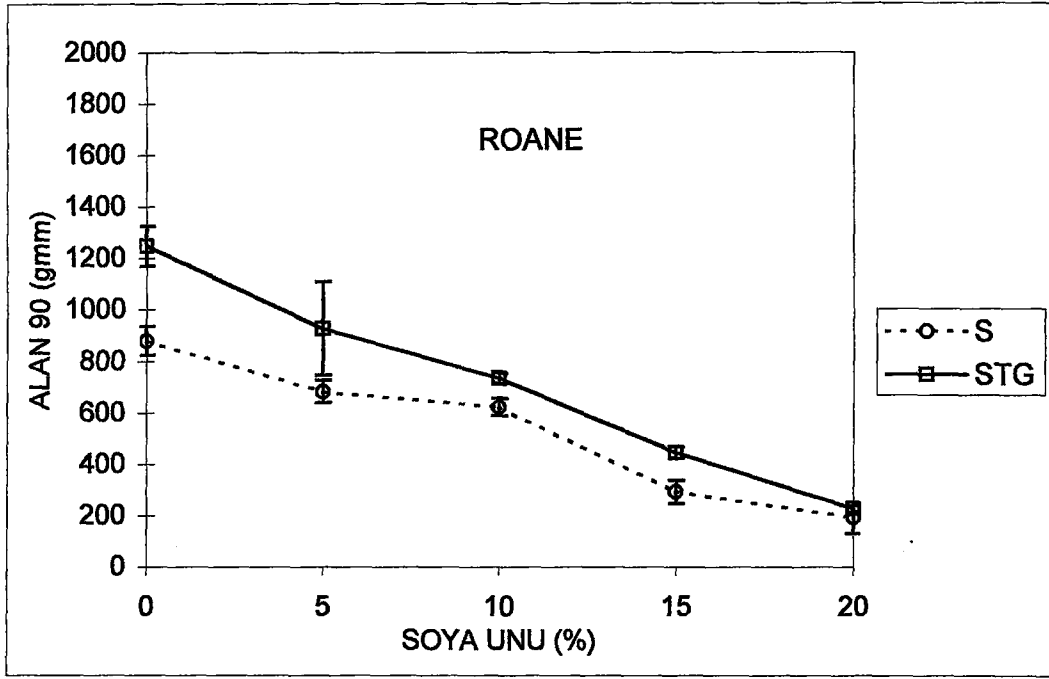
Şekil 4.24. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.25. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin E değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.26. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 45 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin alan değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



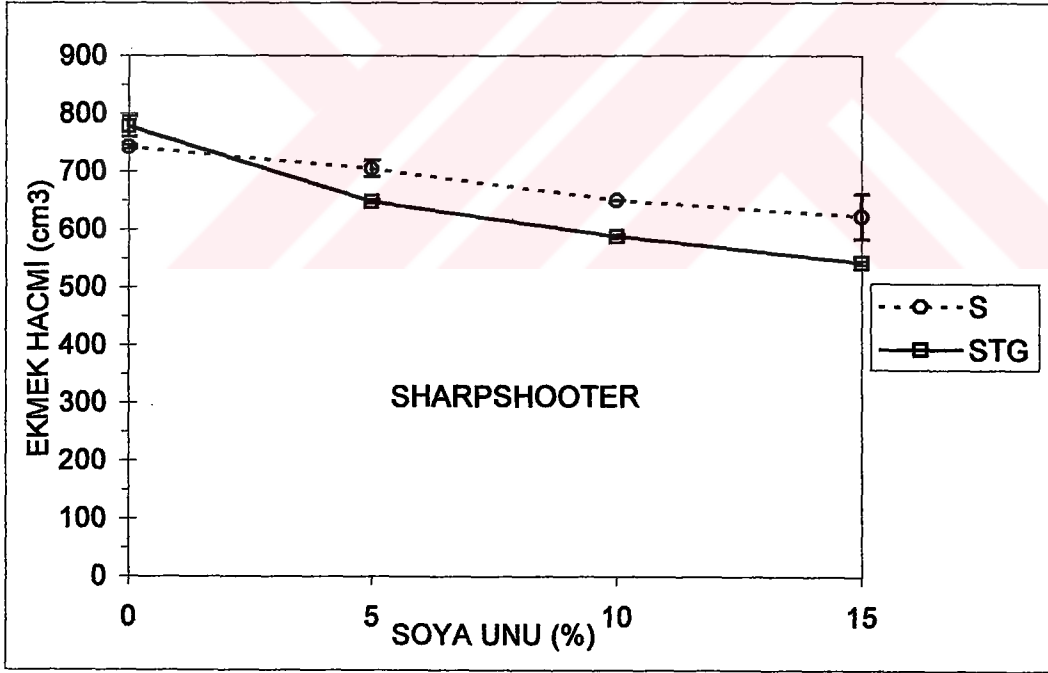
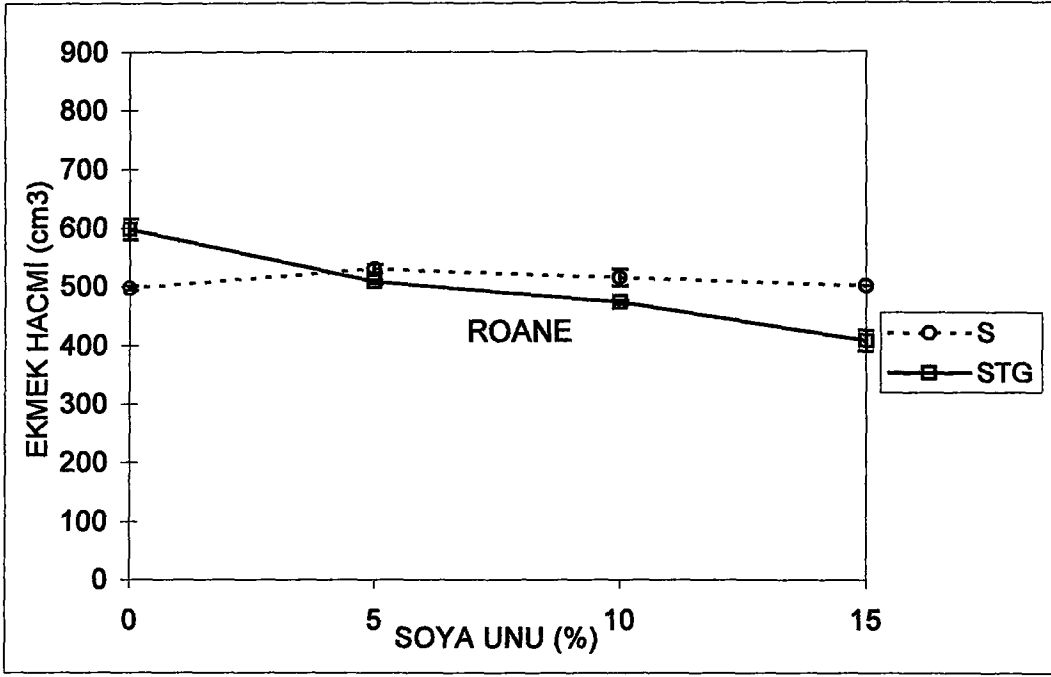
Şekil 4.27. Her iki çeşitte TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesinin 90 dakika dinlendirilen hamur örneklerinin alan değerlerindeki değişim (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

dinlendirme süresinde Roane ve Sharpshooter örneklerinin alan değerleri genellikle azalmıştır Jakubczyk and Haberowa (1974), soya unu ilavesi ile hamurun fiziksel özelliklerinde gözlenen ve ekstensograf ile belirlenen önemli azalmalar olduğunu bildirmiştir.

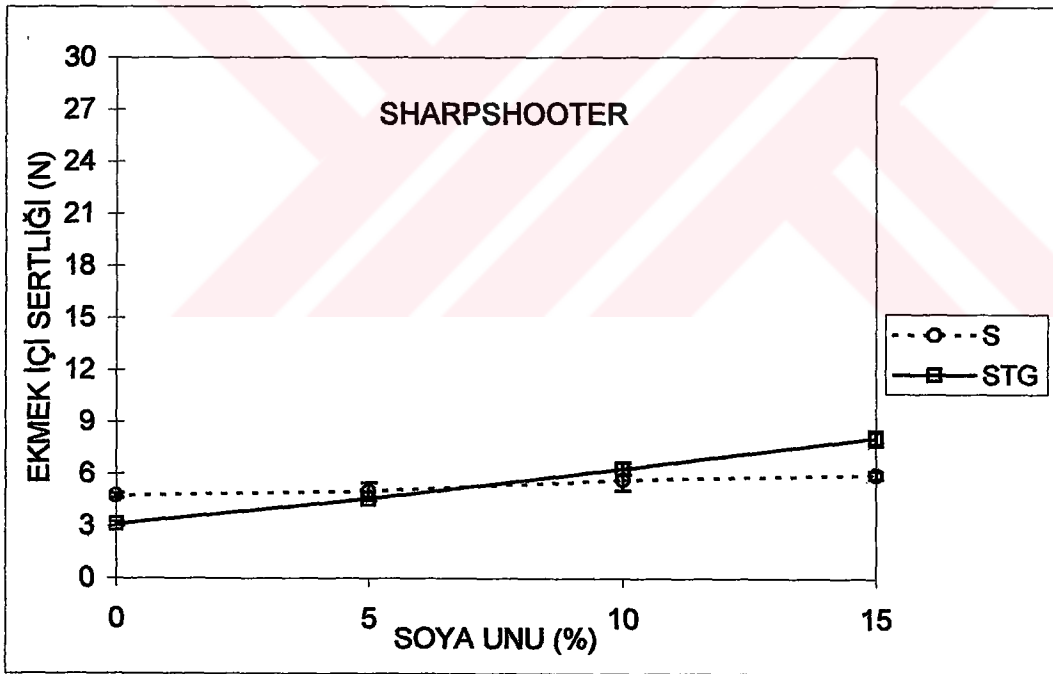
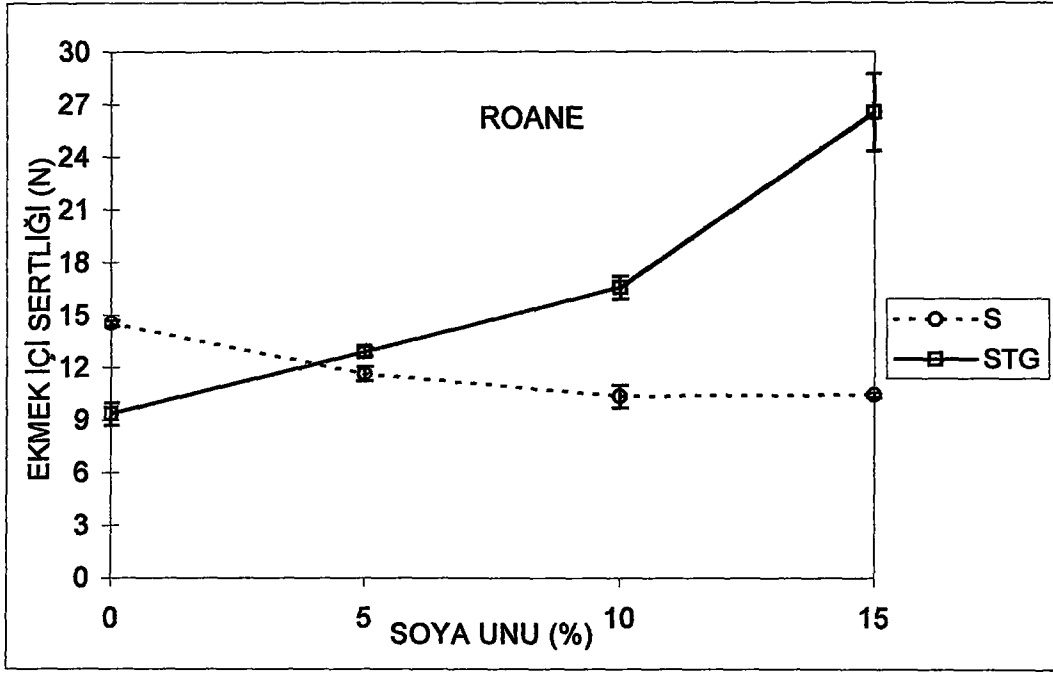
4.5.2. Ekmek kalite karakteristikleri

TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklere artan miktarlarda soya unu ilavesinin Roane ve Sharpshooter çeşitlerine ait ekmeklerin hacim ve ekmek içi sertlik değerleri üzerine etkisi sırasıyla Şekil 4.28 ve Şekil 4.29 da verilmiştir. Farinograf çalışmalarında her iki buğday ununa %25 seviyesine kadar soya unu ilave edilebilmiş ancak yoğurma ve şekil verme aşamalarında hamura elle şekil verilemediği için %20 ve %25 seviyelerinde soya unu ilavesi ile ekmek yapımı mümkün olmamıştır. Soya unu ilave seviyesi arttıkça TG içeren ve içermeyen Sharpshooter ekmek örneklerinin ve TG ile muamele edilmiş Roane örneğinin hacim değerleri azalmıştır. TG içermeyen Roane ekmek örneklerinin hacim değerleri %5 soya unu ilavesi ile hafifçe artmış ve daha yüksek miktarlarda soya unu ilavesinde hacim değerleri sabit kalmıştır. Transglutaminaz içeren örnekler içermeyenlerle kıyaslandığında ekmek hacim değerlerinin enzim içeren örneklerde genelde daha düşük olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.28). Diğer bazı araştırmacılar da buğday ununa çeşitli seviyelerde soya unu ilavesinin ekmek hacminde ve diğer ekmek karakteristiklerinde azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (Tsen and Hoover, 1973; Ranhotra et al., 1974).

Enzim ilave edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya unu ilavesi Roane örneklerinin ekmek içi sertlik değerlerinde azalmaya sebep olurken Sharpshooter örneklerinin ekmek içi sertlik değerleri kayda değer ölçüde değişmemiştir. Bununla beraber, TG ile muamele edilmiş örneklerde soya unu seviyesi arttıkça Roane çeşitinin ekmek içi sertlik değerlerinde keskin bir artış ve Sharpshooter çeşitinde ise hafif bir artış gözlenmiştir. Buğday+soya unu karışımlarına TG ilave edildiğinde ekmek içi sertlik değerlerinin yüksek soya seviyelerinde TG ilave edilmemiş örneklere kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.29). Enzim içeren örneklerde artan soya unu miktarı ile ekmek içi sertlik değerindeki artış kısmen ekmek örneklerinin hacmindeki azalma (Şekil 4.28) ile bağdaştırılabilir. Beklenildiği



Şekil 4.28. TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya ununun ekme hacim değerleri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler



Şekil 4.29. TG ilave edilmiş ve edilmemiş örneklerde artan miktarlarda soya ununun ekmeke içi sertlik değeri üzerine etkisi (Barlar standart sapmaları göstermektedir)
 S: Soya unu ilave edilmiş örnekler
 STG: Soya unu içeren ve TG ile muamele edilmiş örnekler

gibi Sharpshooter çeşitine ait enzim içeren ve içermeyen tüm örneklerin ekmek içi sertlik değerleri Roane çeşitine ait ekmeklerinkinden daha düşüktür.

İki faktörlü (enzim ilavesi x soya unu ilave seviyesi) tesadüf blokları deneme deseni ANOVA sonuçlarına bakıldığında Roane ve Sharpshooter ekmek örneklerinin kabuk rengi ve ekmek içi karakteristikleri (ekmek içi rengi ve gözenek yapısı) üzerine enzim ilavesi x soya unu seviyesi interaksyonunun etkisinin önemsiz olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.14). Bu sebeple verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde sadece soya unu seviyesini ele alan tek faktörlü ANOVA testi kullanılmıştır. Tek faktörlü (soya unu seviyesi) ANOVA testinin sonucuna göre her iki buğday ununa artan miktarlarda soya unu ilavesi kabuk renginde ve ekmek içi gözenek özelliklerinde azalmalara neden olmuştur. Sadece, transglutaminaz içeren Roane örneğinin ekmek içi gözenek özelliklerindeki azalma istatistiksel olarak önemlidir ($P < 0.05$) (Çizelge 4.15). Beklenildiği gibi bu özelliklerdeki azalma, artan soya unu miktarı ile ekmek hacmindeki azalma ve ekmek içi sertlik değerlerindeki artışa paraleldir. TG ilave edilmemiş Sharpshooter örneklerinin aynı seviyede soya unu içeren Roane örneklerine kıyasla ekmek içi rengi ve gözenek yapısına ait değerlerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Benzer farklılık transglutaminaz içeren ekmek örnekleri için de geçerlidir. Her iki çeşitin enzim içeren ve içermeyen ekmek örneklerinin kabuk rengi değerleri ise aynıdır (Çizelge 4.15).

Ekmek içi gözenek özellikleri ekmek içinin görüntülediği fotoğraflardan da görülebilmektedir. Roane çeşitine ait kontrol ve farklı miktarlarda soya unu ilave edilmiş örneklerin ekmek içi görüntüleri topluca Şekil 4.30 da verilmiştir. TG ile muamele edilmiş Roane ekmek örnekleri aynı miktarda soya unu içeren fakat TG ile muamele edilmemiş örneklerine kıyasla genellikle daha iyi ekmek içi gözenek özelliklerine ve rengine sahiptir (Şekil 4.30, Çizelge 4.15). TG içermeyen ekmek örneklerinin iri ve homojen olmayan gözenek yapısı TG ilavesi ile kontrol ve %5 soya unu ilave edilmiş Roane örneklerinde homojen ve ince bir görünüm almıştır (Şekil 4.30). Bu durum ekmek örneklerinin kendisinde fotoğraflardakinden daha belirgindir.

Çizelge 4.14. Enzim (TG) ilavesi ve soya unu seviyesinin Roane ve Sharpshooter örneklerinin kabuk rengi ve ekmeği içi karakteristikleri üzerine etkisinin iki faktörlü tesadüf blokları deneme deseninde uygulanan varyans analizi sonucu elde edilen önemlilik (P) dereceleri

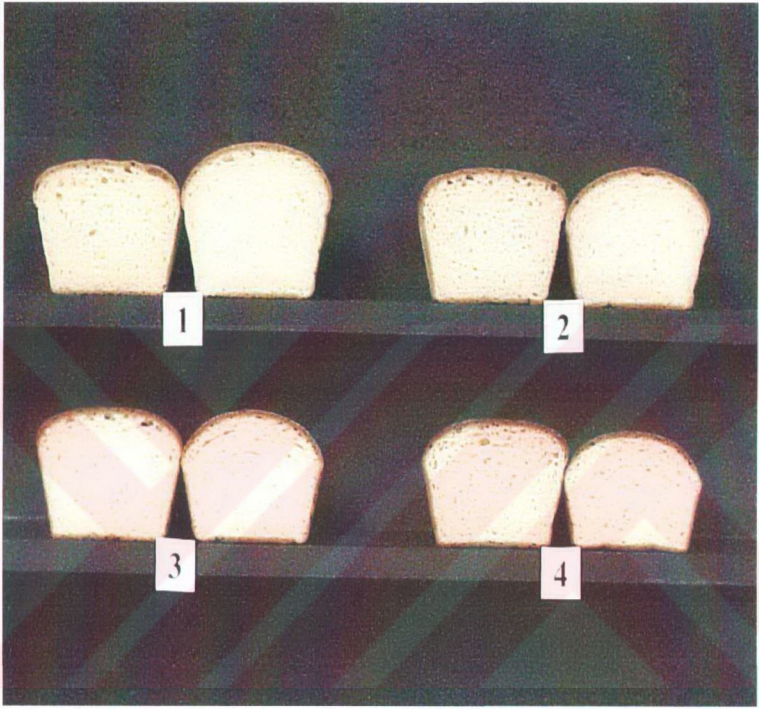
Faktör	ROANE			SHARPSHOOTER		
	Kabuk rengi	Ekmeği içi rengi	Ekmeği içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekmeği içi rengi	Ekmeği içi gözenek yapısı
A (Enzim yok / var)	0.2141	0.1422	0.0292	0.3064	ÖD	0.0950
B (Soya unu seviyesi)	0.0687	0.1820	0.0428	0.1499	0.0263	0.0319
A x B (Enzim ve soya unu etkileşimi)	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

ÖD : Önemli Değil

Çizelge 4.15. Artan miktarlarda soya unu ilavesinin enzim içeren ve içermeyen Roane ve Sharpshooter ekme örneklerinin kalite özelliklerine etkisi ^a

Soya unu seviyesi (%)	ROANE			ROANE + TG		
	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı
0	5.0	7.0	6.5	5.0	8.0	8.5 a
5	5.0	7.0	6.5	5.0	7.5	8.0 ab
10	4.5	6.5	6.0	5.0	7.0	7.0 b
15	4.0	6.0	6.0	4.5	6.5	5.5 c
LSD ($\alpha=0.05$)	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	1.30
Soya unu seviyesi (%)	SHARPSHOOTER			SHARPSHOOTER + TG		
	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı	Kabuk rengi	Ekme içi rengi	Ekme içi gözenek yapısı
0	5.0	9.5	9.5	5.0	10.0	10.0
5	5.0	9.0	9.0	5.0	9.0	9.5
10	4.5	8.5	8.5	5.0	8.5	9.0
15	4.0	7.5	7.5	4.5	8.0	8.5
LSD ($\alpha=0.05$)	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

^a Aynı sütun içinde aynı harfle gösterilen değerler arasında istatistiki olarak önemli bir fark yoktur. Kabuk rengi (1=en kötü, 5=en iyi), ekme içi rengi ve ekme içi gözenek özellikleri (1=en kötü, 10=en iyi)

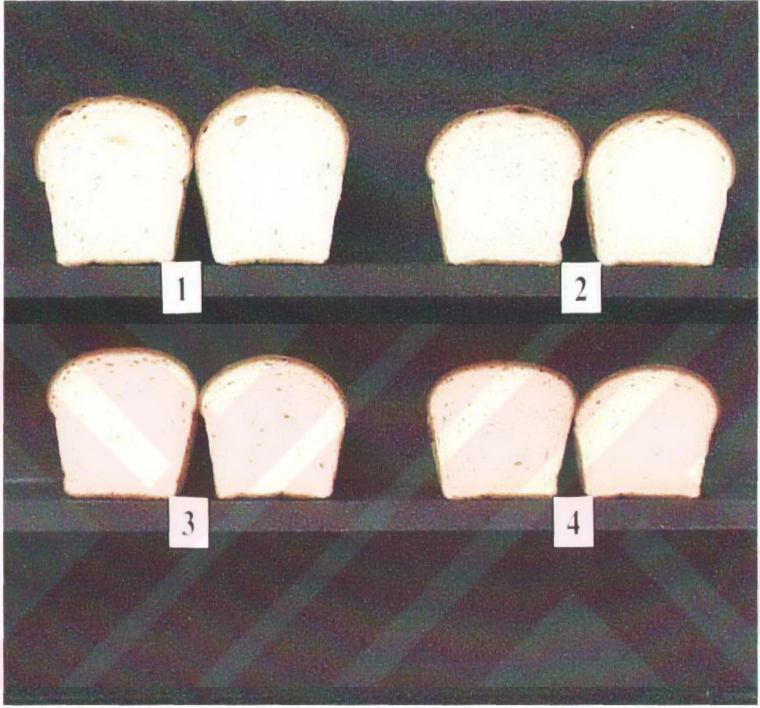


Şekil 4.30 Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Roane örneklerinin ekme içi gözenek özellikleri üzerine etkisi. Soya unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %5 (No 2), %10 (No 3), %15 (No 4). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekme örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.

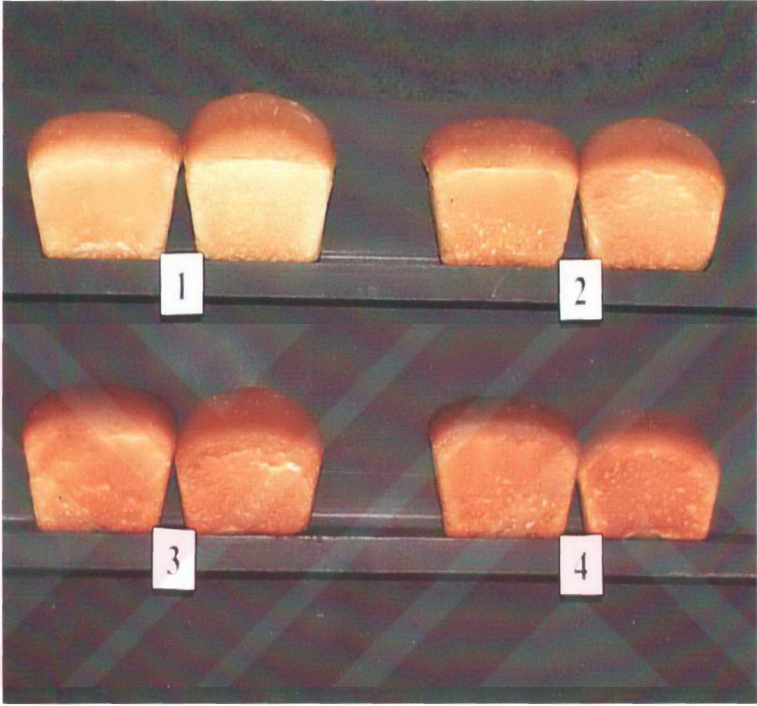
Sharpshooter çeşitine ait kontrol ve farklı miktarlarda soya unu ilave edilmiş örneklerin ekmeği içi görüntüleri topluca Şekil 4.31 de verilmiştir. Beklenildiği gibi Sharpshooter kontrol örneğinin (enzim ve soya unu içermeyen) ekmeği içi gözenek özellikleri Roane kontrol örneğinden daha iyidir. Sharpshooter çeşitine ait değişik seviyelerde soya unu içeren örneklerin ekmeği içi gözenek özelliklerinde de TG ilavesi ile birlikte iyileşme gözlenmiştir.

Farklı miktarlarda soya unu içeren Roane ekmeği örneklerinin dış görünüşleri Şekil 4.32 de Sharpshooter ekmeği örneklerinin dış görünüşleri ise Şekil 4.33 de verilmiştir. TG içeren örneklerin daha açık renkli ekmeği kabuğu oluşturmaları soya unu ilaveli ekmeğlerde de gözlenmiştir (Şekil 4.32 ve Şekil 4.33). Bu durum ekmeği örneklerinin kendisinde fotoğraflardakinden daha belirgindir.

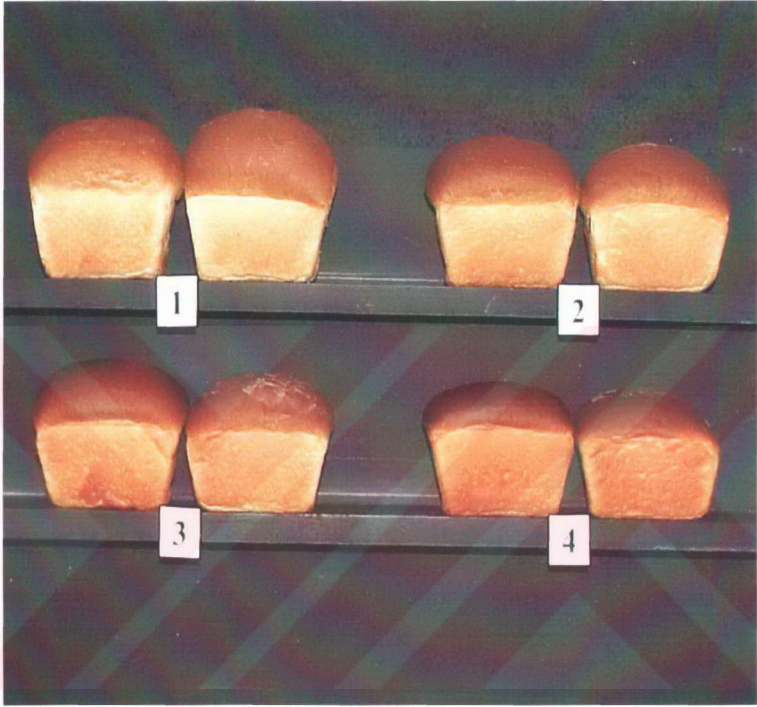
Transglutaminaz buğday (Şekil 4.1) ve soya proteinlerinde (Şekil 4.2a) veya her iki protein arasında (Şekil 4.3) çapraz bağlama reaksiyonunu katalizlemektedir. Ancak enzim ilavesiyle birlikte her iki çeşite ait soya unu ilave edilmiş ekmeğlerin hacim ve ekmeği içi sertlik değerlerinde gözlenen olumsuz etki elektroforez sonuçlarında gözlenen çapraz bağlanmanın fonksiyonel olmadığı fikrini uyandırmaktadır.



Şekil 4.31 Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Sharpshooter örneklerinin ekmek içi gözenek özellikleri üzerine etkisi. Soya unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %5 (No 2), %10 (No 3), %15 (No 4). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmek örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.



Şekil 4.32 Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Roane ekmeğinin dış görünüşleri üzerine etkisi. Soya unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %5 (No 2), %10 (No 3), %15 (No 4). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmeğinin sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.



Şekil 4.33 Transglutaminazın farklı miktarlarda soya unu içeren Sharpshooter ekmeğ örneklerinin dış görünüşleri üzerine etkisi. Soya unu ilave seviyeleri (w/w): kontrol (No 1), %5 (No 2), %10 (No 3), %15 (No 4). TG ilave edilmemiş ve edilmiş ekmeğ örneği sırasıyla her numaranın solunda ve sağında verilmiştir.

5. SONUÇLAR

Transglutaminaz enziminin buğday, buğday-arpa ve buğday-soya unu karışımlarında proteinler, hamur reolojisi ve ekmek kalite karakteristikleri üzerine etkilerinin incelendiği bu çalışmada elde edilen başlıca bulgular şu şekilde özetlenebilir:

i. SDS-PAGE sonuçları, transglutaminazın tek bir kaynağın (buğday unu, soya unu, arpa unu) proteinleri arasında ve buğday unu/soya unu, buğday unu/arpa unu karışımında çapraz bağlama reaksiyonunu katalizlediğini göstermiştir. Enzim ilave edilmiş örneklerde inkübasyon süresinin artmasına bağlı olarak bantların relatif yoğunluklarında azalma gözlenmiştir. Bu azalma muhtemelen her iki jel bölgesine (ön ayırım ve ayırıcı) giremeyecek kadar yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşumuna bağlıdır.

Buğday çeşitlerinin her ikisinin inkübasyon sürelerine karşı densitometrik alanların lineer regresyon denkleminin eğimi HMW protein bölgesinde LMW protein bölgesininkinden daha yüksektir. Bu sonuçlar, HMW proteinlerinin TG ile verdiği çapraz bağlanma reaksiyonunun LMW proteinlerine kıyasla daha fazla olduğu sonucunu doğrulamaktadır. Buğday unu/soya unu ve buğday unu/arpa unu karışımlarında da çapraz bağlanma miktarının her iki çeşitte de HMW bölgede LMW bölgeye kıyasla daha fazla olduğu gözlenmiştir.

Tüm bölgeler için inkübasyon süresine karşı densitometrik alanların lineer regresyonlarına bakıldığında soya proteinlerinin en yüksek eğim değeri ile TG nin substratı olma açısından buğday ve arpa proteinlerinden daha iyi olduğu gözlenmiştir. Arpa ve buğday proteinlerinin ise birbirinden önemli düzeyde farklı olmadığı yani regresyon doğrularının eğimlerinin benzer olduğu gözlenmiştir.

ii. Artan seviyelerde TG (%0.0-%1.5) ilavesi ile her iki çeşitte farinograf su absorpsiyon değerleri düşmüştür. Her iki çeşitte gelişme süresi ve stabilite değerleri önce artan enzim dozu ile artmış fakat yüksek seviyede TG ilavesi ile azalmıştır. Yoğurma tolerans sayısı ve yumuşama derecesi değerlerinin ise her iki çeşitte artan enzim dozu ile genellikle arttığı gözlenmiştir.

Her iki dinlendirme süresinde de (45 ve 90 dakika) TG ilavesi arttıkça her iki çeşitte R_{max} değerleri istatistiksel açıdan önemli seviyede ($P<0.05$) artmış ve E değerleri de azalmıştır. 90 dakika dinlendirilen Roane örneğine %0.25 TG ilavesi ile R_{max} değeri, kuvvetli hamur özelliklerine sahip olan Sharpshooter kontrol örneği ile kıyaslanabilir bir değere ulaşmıştır

RVA da elde edilen viskozite değerleri incelendiğinde TG seviyesinin artması ile birlikte her iki çeşitin V_{10} değerleri artmıştır. V_3 değerleri de her iki çeşitte %0.5 TG ilave seviyesi dahil olmak üzere artmıştır.

Sedimentasyon değeri Roane unu için 31 ml, Sharpshooter unu için 40 ml olarak saptanmıştır. Modifiye yöntemde bu değerlerin sadece inkübasyon ile sırasıyla 38 ml ve 54 ml ye ulaştığı saptanmıştır. Artan miktarlarda TG ilavesi ve inkübasyonla birlikte bu değer Roane çeşidinde 58 ml ye, Sharpshooter çeşidinde ise 59 ml ye yükselmiştir.

Artan miktarlarda TG ilavesinin ekmek yapımına etkisi incelendiğinde; yoğurma işleminden hemen sonra hamurların konsistensinin ekmek yapımı için uygun olduğu fakat fermentasyon ilerledikçe hamurların sertleştiği gözlenmiştir ve yüksek seviyelerde TG ilave edilmiş hamurlara (\geq %0.5) son şekli verildiğinde kat yeri belli olmaktadır. Roane örneklerinde ekmek hacmi %0.5 TG ilavesine kadar önemli seviyede artmıştır. TG nin ekmek içini yumuşatma etkisi Roane çeşidinde %0.1-0.5 ilave seviyesinde istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur. Bu etkiler, TG nin zayıf gluteni kuvvetliye çevirerek reolojik özellikler üzerine etkili olmasının bir sonucu olabilir. Sharpshooter örneklerinde de %0.5 TG ilavesine kadar ekmek hacminde hafif artışlar olmasına rağmen bu artış istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır. TG nin yüksek dozlarının (%1 ve %1.5) ekmek hacmi ve ekmek içi sertlik değerleri üzerine negatif etkisi gözlenmiştir ve bunun muhtemel nedeni de aşırı miktarda çapraz bağlanmanın oldukça kuvvetli hamur oluşturmasıdır. Düşük seviyelerde TG ilavesi her iki çeşitte de genellikle ekmek içi rengi ve gözenek yapısında iyileştirici etki yaratmaktadır. Ekmek kabuk renginin TG ilave seviyesi arttıkça açıldığı gözlenmiştir. Bunun muhtemel sebebi TG reaksiyonu sonucu lizinin miktarının azalmasına bağlı olarak Maillard reaksiyonunun sınırlı düzeyde gerçekleşmesi olabilir.

RVA parametreleri (V_3 , V_{10} , V_{BD}) ile farinograf değerleri, mikroekstensibilite test sonuçları ve ekmek kalite karakteristikleri arasındaki korelasyon katsayıları Roane eşidi için Sharpshooter eşidi için olandan genelde daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, "RVA gluten asit metodu" nun buğday unlarının bazı reolojik özellikleri hakkında fikir vermede iyi bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Mikroekstensibilite testinde 90 dakika dinlendirilen örneklerin sonuçları ekmek hacim değerleri ile birlikte değerlendirildiğinde, genellikle R_{max} değerleri 30-55 g arasında ve E değerleri 60-90 mm arasında olan örneklerin daha yüksek ekmek hacmine sahip olduğu gözlenmiştir. Bu nedenle bu çalışmanın sonucuna göre bu R_{max} ve E değerleri optimum olarak alınabilir.

İyi kalitede ekmek eldesi için optimum enzim miktarının saptanmasında üçüncü derece polinom fonksiyonu en yüksek R^2 değeri ile deneysel veriyi en iyi şekilde tanımlayan denklemi vermiştir. Roane eşidinde minimum ekmek içi sertlik değeri ve maksimum ekmek hacmi değeri %0.42 TG enzimi ilavesi ile elde edilmiştir. Sharpshooter eşidinde en iyi ekmek hacim değerine %0.23 TG ilavesi ile ve en iyi ekmek içi sertlik değerine %0.15 TG ilavesi ile ulaşılmıştır.

iii. Her iki çeşide artan miktarlarda arpa unu ilavesi TG içeren ve içermeyen örneklerin farinograf su absorpsiyon değerini arttırmıştır. Her iki çeşitte ve her iki dinlendirme süresinde buğday ununa artan miktarlarda arpa unu ilavesi enzim içeren ve içermeyen örneklerin R_{max} değerlerinde ve E değerlerinde kontrole kıyasla genellikle azalmaya sebep olmuştur. TG içeren örnekler içermeyenlerle kıyaslandığında TG ilavesinin R değerlerinde artışa, E değerlerinde azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir.

TG içeren ve içermeyen örneklerde arpa unu miktarı arttıkça genellikle ekmek hacmi azalmış ve ekmek içi sertlik değerleri artmıştır. Yaklaşık %30 arpa unu ilavesine kadar TG ilave edilmiş Roane ekmek örneklerinin hacmi ilave edilmemişlerden daha yüksek, ekmek içi sertlik değeri daha düşük, kabuk ve ekmek içi gözenek özellikleri daha iyidir. TG ilavesi sayesinde Roane ununa %20 oranında arpa unu ilave edilebileceği ve TG ilave edilmemiş Roane kontrol örneği ile kıyaslandığında ekmek hacminde herhangi bir olumsuz etki yapmadığı gözlenmiştir. Hacimdeki bu artış, TG nin buğday ve arpa proteinlerinde veya her iki

protein arasında katalizlediği çapraz bağlama reaksiyonuna bağlı olarak zayıf gluteni kuvvetliye çevirmesinin ve hamurun reolojik özelliklerinde yarattığı değişimin bir sonucu olabilir. Bununla beraber, TG ilavesi ile birlikte arpa ununun tüm ilave seviyelerinde Sharpshooter ekmek örneklerinin hacminde hafif azalmalar gözlenmiş ve ekmek içi sertlik değerleri artmıştır. TG ilavesiyle birlikte Sharpshooter örneklerinin ekmek içi gözenek özelliklerindeki düzelme de Roane örneklerine kıyasla daha azdır. TG ilave edilmiş ve %30 a kadar arpa unu içeren Sharpshooter örneklerinin kabuk özellikleri daha düzgündür.

TG ilavesi, arpa unu ilave edilmiş yumuşak buğday unundan ekmek üretiminde ümitvar sonuçlar vermiştir. Ekonomik ve β -glukanca zengin arpa ununun TG kullanımı ile daha yüksek miktarlarda ekmeğe ilavesi sağlığa katkının yanısıra enzim maliyetini düşürme açısından da faydalı olacaktır.

iv. Her iki çeşide artan miktarlarda soya unu ilavesi TG içeren ve içermeyen örneklerin farinograf su absorpsiyon değerini arttırmıştır. Artan miktarlarda soya unu ilavesi her iki çeşide ait enzim içeren ve içermeyen örneklerin R_{max} değerlerinde azalmaya sebep olmuştur. TG ilave edilmiş örnekler edilmemişlerle kıyaslandığında TG ilavesinin R değerlerinde artışa, E değerlerinde azalmaya sebep olduğu gözlenmiştir.

Soya unu seviyesi arttıkça TG içeren ve içermeyen Sharpshooter ekmek örneklerinin ve TG içeren Roane örneğinin hacim değerleri azalmıştır. TG içeren örneklerin ekmek hacim değerlerinin enzim içermeyenlere kıyasla genelde daha düşük olduğu gözlenmiştir. TG içeren örneklerde soya unu seviyesi arttıkça Roane çeşidinin ekmek içi sertlik değerlerinde keskin bir artış ve Sharpshooter çeşidinde ise hafif bir artış gözlenmiştir. Her iki çeşide ait TG ile muamele edilmiş ekmek örnekleri TG içermeyen örneklerine kıyasla genellikle daha iyi ekmek içi gözenek özelliklerine ve rengine sahiptir.

Transglutaminaz buğday ve soya proteinlerinde veya her iki protein arasında çapraz bağlama reaksiyonunu katalizlemektedir. Ancak enzim ilavesiyle birlikte her iki çeşite ait soya unu ilave edilmiş ekmeklerin hacim ve ekmek içi sertlik değerlerinde gözlenen olumsuz etki elektroforez sonuçlarında gözlenen çapraz bağlanmanın fonksiyonel olmadığı fikrini uyandırmaktadır

KAYNAKLAR DİZİNİ

- AACC, 1990, Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, (8th ed.), The Association: St Paul, MN.
- Babiker, E.F.E., Fujisawa, N., Matsudomi, N. and Kato, A., 1996, Improvement in the Functional Properties of Gluten by Protease Digestion or Acid Hydrolysis followed by Microbial Transglutaminase Treatment, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 3746-3750.
- Başman, A. and Köksel, H., 1999, Properties and composition of Turkish flat bread (bazlama) supplemented with barley flour and wheat bran. *Cereal Chemistry*, 76, 4, 506-511.
- Başman, A. and Köksel, H., 2001, Effects of barley flour and wheat bran supplementation on the properties and composition of Turkish flat bread, yufka. *European Food research and Technology*, 212, 198-202.
- Bauer, N., Koehler, P., Wieser, H. and Schieberle, P., 2003, Studies on Effects of Microbial Transglutaminase on Gluten Proteins of Wheat. I. Biochemical Analysis, *Cereal Chemistry*, 80, 6, 781-786
- Berglund, P.T., Fastnought, C.E., Holm, E.T., 1994, Physicochemical and Sensory Evaluation of Extruded High-Fiber Barley Cereals, *Cereal Chemistry*, 71, 91-95
- Bhatty, R.S., 1986, Physicochemical and functional (breadmaking) properties of hullless barley fractions, *Cereal Chemistry*, 63:31
- Bhatty, R.S., 1992, β -Glucan content and Viscosities of Barleys and Their Roller-Milled Flour and Bran Products, *Cereal Chemistry*, 69:5, 469-471
- Bhatty, R.S., 1995, Hull-less barley bran: A Potential New Product From an Old Grain, *Cereal Foods World*, 40, 11, 819-824
- Boyacıoğlu, M.H., 1996, Soya Ununun Ekmek Katkı Maddesi olarak Kullanımı, *Un Mamülleri Dünyası, Ekim-Kasım*, S/14-18
- Chobert, J. M., Briand, L., Guegen, J., Poponeau, Y., Larre, C., and Haertle, T., 1996, Recent Advances in Enzymatic Modifications of Food Proteins for Improving Their Functional Properties, *Nahrung*, 40, 177-182
- Collar, C. and Bollain, C., 2004, Impact of microbial transglutaminase on the viscoelastic profile of formulated bread doughs, *European Food Research and Technology*, 218, 139-146
- D'Appolonia, B.L., 1977, Rheological and Baking Studies of Legume-Wheat Flour Blends, *Cereal Chem.*, 54, 1, 53-63
- Engin, A., Başgül, A., Özkara, R., 1999, Efes Pilsen Arpa Araştırma Geliştirme Çalışmaları, *Hububat Sempozyumu*, 8-11 Haziran 1999, Konya, s. 602-607

FDA GRAS Notice No: GRN 000055 Food and Drug Administration, Washington, DC 20204, 7-10-2003 (<http://www.cfsan.fda.gov/~rdb/opa-g055.html>)

Finney, K.F., Rubenthaler, G. and Pomeranz, Y., 1963, Soy product variables affecting bread-baking. *Cereal Sci. Today* 8:166

Garcia, M.C., Torre, M., Marina, M.L., Laborda, F., 1997, Composition and Characterization of Soyabean and Related Products, *Critical Reviews in Food Science and Human Nutrition*, 37, 4, 361-391

Gerrard, J.A., Fayle, S.E., Wilson, A.J., Newberry, M. P., Ross, M. and Kavale, S., 1998, Dough Properties and Crumb Strength of White Pan Bread as Affected by Microbial Transglutaminase, *J. Food Sci.*, 63, 472-475

Gerrard, J.A., Newberry, M.P., Ross, M., Wilson, A.J., Fayle, S.E. and Kavale, S., 2000, Pastry Lift and Croissant Volume as Affected by Microbial Transglutaminase, *Journal of Food Science*, 65, 2, 312-314

Gerrard, J.A., 2002, Protein-protein crosslinking in food: methods, consequences, applications , *Trends in Food Science and Technology*, 13, 391-399 246

Han, X-Q. and Damodaran, S., 1996, Thermodynamic Compatibility of Substrate Proteins Affects Their Cross-Linking by Transglutaminase, *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1211-1217

Hoover, W.J., 1971, Blend K bread, *Soybean Digest*, November, 14-17

Hudson, C.A., Chiu, M.M. and Knuckles, B.E., 1992, Development and Characteristics of High-Fiber Muffins with Oat Bran, Rice Bran or Barley Fiber Fractions, *Cereal Foods World*, 37, 5, 373

Huth, M., Dongowski, G., Gebhardt, E. and Flamme, W., 2000, Functional Properties of Dietary Fibre Enriched Extrudates from Barley, *Journal of Cereal Science*, 32, 2, 115-128

Ikura, K., Kometan, T., Sasaki, R. and Chiba, H., 1980, Crosslinking of Soybean 7S and 11S Proteins by Transglutaminase, *Agric. Biol. Chem.*, 44, 12, 2979-2984

Ikura, K., Yoshikawa, M., Sasaki, R. and Chiba, H., 1981, Incorporation of Amino Acids into Food Proteins by Transglutaminase, *Agric. Biol. Chem.*, 45, 11, 2587-2592.

Jadhav, S.J., Lutz, S.E., Ghorpade, V.M., Salunkhe, D.K., 1998, Barley: Chemistry and Value-added processing. *Critical Reviews in Food Science*, 38, 2, 123-171.

Jakubczyk, T. and Haberowa, H., 1974, Soy Flour in European-Type Bread, *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 51, 120A-122A

- Kim, S.H., Carpenters, J.A., Lanier, J.C., Wicker, L., 1993, Polymerization of Beef Actomyosin Induced by Transglutaminase, *Journal of Food Science*, 58, 3, 473-474, 491
- Klopfenstein, C.F. and Hosney, R.C., 1987, Cholesterol-lowering Effect of Beta-Glucan-Enriched Bread, *Nutrition Reports International*, November, 36, 5, 1091-1097
- Klopfenstein, C.F., 1988, The Role of Cereal β -Glucans in Nutrition and Health, *Cereal Foods World*, 33, 865
- Knuckles, B.E., Hudson, C.A., Chiu, M.M. and Sayre, R.N., 1997, Effect of β -Glucan Barley Fractions in High-Fiber Bread and Pasta, *Cereal Foods World*, 42, 2, 94-99
- Köksel, H., Edney, M.J., Özkaya, B., 1999, Barley Bulgur: Effect of processing and cooking on chemical composition. *Journal of Cereal Science*, 29, 185-190
- Köksel, H., Sivri, D., Ng, P.K.W and Steffe, J.F., 2001, Effects of Transglutaminase Enzyme on Fundamental Rheological Properties of Sound and Bug-Damaged Wheat Flour Doughs, *Cereal Chem.*, 78, 1, 26-30
- Köksel, H., Ryu, G.H., Basman, A., Demiralp, H., Ng, P.K.W, 2004, Effects of extrusion variables on the properties of waxy hulless barley extrudates, *Nahrung-Food*, 48,1, 19-24
- Kuraishi, C., Sakamoto, J. and Soeda, T., 1996, The usefulness of Transglutaminase for Food Processing, *Biotechnology for Improved Foods and Flavors* edited by: Gary R. Takeoka, Roy Teranishi, Patrick J. Williams, Akio Kobayashi, ACS Symposium Series 637, USA
- Kuraishi, C., Yamazaki, K. and Susa, Y., 2001, Transglutaminase: Its Utilization in the Food Industry, *Food Reviews International*, 17 (2), 221-246
- Kurth, L. and Rogers, P.J., 1984, Transglutaminase Catalyzed Crosslinking of Myosin to Soya Protein, Casein and Gluten, *J. Food Sci.*, 49, 573-589
- Larre, C., Deshayes, G., Lefebvre, J. and Popineau, Y., 1998, Hydrated gluten modified by a transglutaminase, *Nahrung*, 42, 155-157.
- Larre, C., Denery-Papini, S., Popineau, Y., Deshayes, G., Desserme, C., and Lefebvre, J., 2000, Biochemical Analysis and Rheological Properties of Gluten Modified by Transglutaminase, *Cereal Chem.*, 77, 32-38
- Losche, I.K., 1995, Enzymes in Baking, *World of Food Ingredients*: May-June 22-25
- McCleary, B.V. and Codd, R., 1991, Measurement of (1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)- β -D-glucan in barley and oats: A streamlined enzymic procedure, *J. Sci. Food Agric.*, 55, 303-312

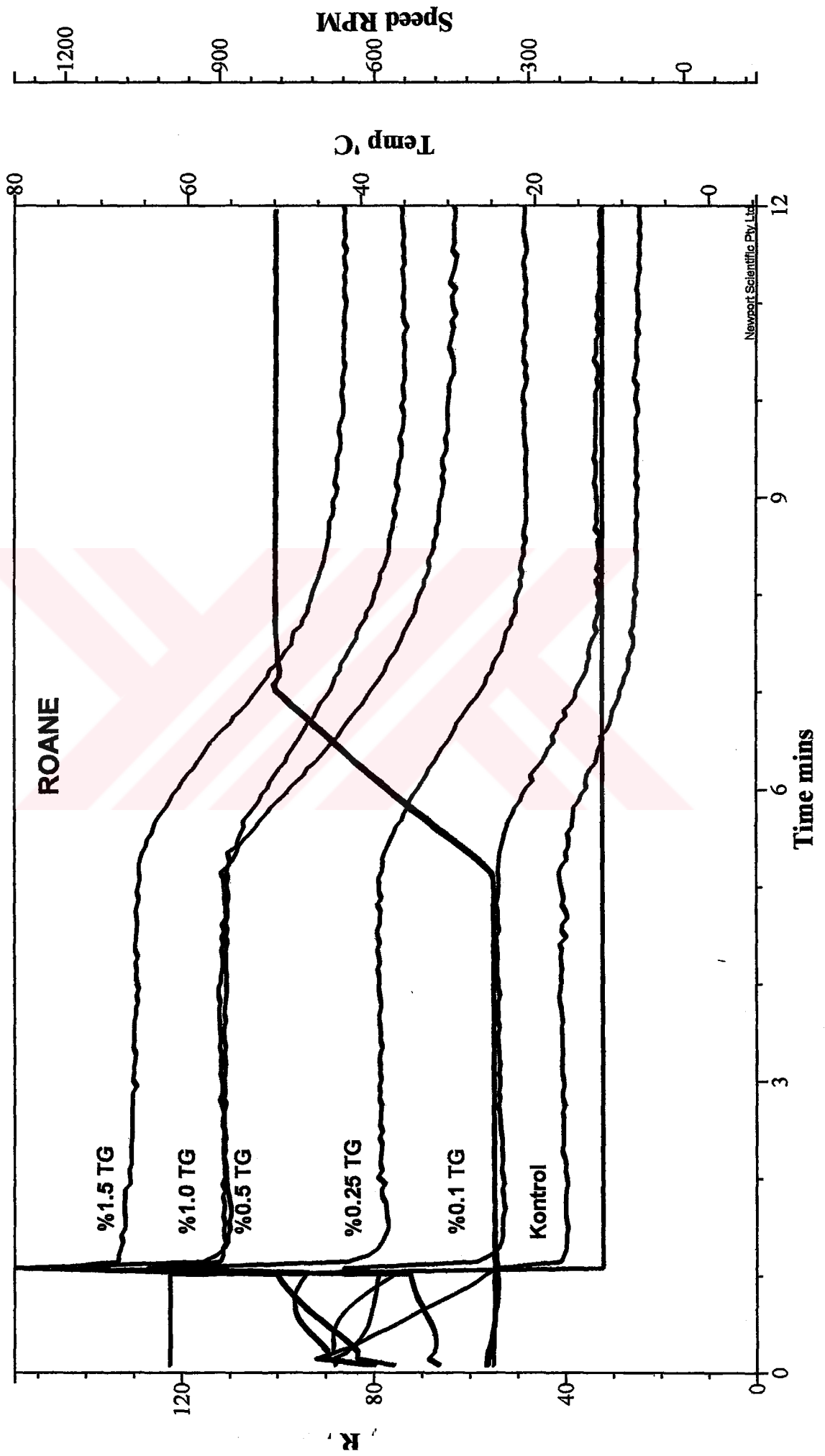
- McCleary, B.V. and Glennie-Holmes, M., 1985, Enzymic quantification of (1→3), (1→4)-β-D-glucan in barley and malt, *J. Inst. Brew.*, 91, 285-295
- McCleary, B.V. and Mugford, D.C., 1992, "Interlaboratory evaluation of β-glucan analysis methods" in the changing role of oats in human and animal nutrition, *Proceedings of the Fourth International Oat Conference, Adelaide, Australia, Oct 19-23*
- McIntosh, G.H., Whyte, J., McArthur, R., Nestel, P.J., 1991, Barley and wheat foods: influence on plasma cholesterol concentrations in hypercholesterolemic men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 53, 1205-1209.
- Motoki, M. and Nio, N., 1983, Crosslinking Between Different Food Proteins by Transglutaminase, *J. Food Sci.*, 48, 561-566
- Motoki, M and Seguro, K., 1998, Transglutaminase and its use for food processing, *Trends in Food Science and Technology*, 9, 204-210
- Mujoo, R. and Ng, P.K.W., 2003, Identification of Wheat Protein Components Involved in Polymer Formation on Incubation with Transglutaminase, *Cereal Chemistry*, 80, 6, 703-706
- Newman, C.W. and McGuire, C.F., 1985, Nutritional Quality of Barley: Chapter 14 in *Barley*, Rasmusson, D.C. (Ed), *Agronomy Monograph No. 26*, American Society of Agronomy, ASA-CSSA-SSSA, Madisson, Wisconsin, USA, pp 403-456
- Newman, R.K., Newman, C.W and Graham, H., 1989, The Hypocholesterolemic Function of Barley β-Glucans, *Cereal Foods World*, 34, 10, 883-886
- Newman, C.W., McGuire, C.F. and Newman, C.W., 1990, Composition and muffin baking characteristics of flours from four barley cultivars, *Cereal Foods World*, 35:563
- Newman, R.K. and Newman, C.W., 1991, Barley as a Food Grain, *Cereal Foods World*, 36:9, 800-805
- Ng, P.K.W. and Bushuk, W., 1987, Glutenin of Marquis Wheat as a Reference for Estimating Molecular Weights of Glutenin Subunits by Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis, *Cereal Chem*, 64, 324-327
- Ofelt, C.W., Smith, A.K. and Mills, J.M., 1954, Baking Behaviour and Oxidation Requirements of Soy Flour. II. Commercial Defatted Soy Flours, *Cereal Chem.*, 31, 23-28
- Olanca, B., Köksel, H., 2002, Soya sütü ve soya sütü ürünleri, *Hububat 2002 Hububat Ürünleri ve Teknolojisi Kongre ve Sergisi*, 3-4 Ekim 2002, Gaziantep, S/ 617-627
- Ötleş, S., Atlı, Y., 1996, Soya ununun besleyici değeri ve kullanımı, *Un Mamülleri Dünyası*, Ocak-Mart, S/20-25

- Özkaya, H. ve Kahveci, B., 1990, Tahıl ve Ürünleri Analiz Yöntemleri, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No: 14, Ankara.
- Pollock, J.M. and Geddes, W.F., 1960a, Soy Flour as a White Bread Ingredient I. Preparation of Raw and Heat-treated Soy Flours, and Their Effects on Dough and Bread, *Cereal Chem.*, 37, 19-29
- Pollock, J.M. and Geddes, W.F., 1960b, Soy Flour as a White Bread Ingredient II. Fractionation of Raw Soy Flour and Effects of the Fractions in Bread, *Cereal Chem.*, 37, 30-53
- Pomeranz, Y., Shogren, M.D., and Finney, K.F., 1969a, Improving Breadmaking Properties with Glycolipids. I. Improving Soy Products with Sucroesters. *Cereal Chem.* 46, 503
- Pomeranz, Y., Shogren, M.D., and Finney, K.F., 1969b, Improving Breadmaking Properties with Glycolipids. II: Improving Various Protein Enriched Products. *Cereal Chem.* 46, 512
- Ranhotra, G.S., Loewe, R.J. and Lehmann, T.A., 1974, Breadmaking Characteristics of Wheat flour Fortified with Various Commercial Soy Protein Products, *Cereal Chem.*, 51, 629-634
- Riaz, M.N., 1999a, Healthy Baking with Soy Ingredients, *Cereal Foods World*, 44, 3, 136-139
- Riaz, M.N., 1999b, Soybeans as Functional Foods, *Cereal Foods World*, 44, 2, 88-92
- Rosell, C.M., Wang, J., Aja, S., Bean, S., Lookhart, G., 2003, Wheat flour Proteins as Affected by Transglutaminase and Glucose Oxidase, *Cereal Chemistry*, 80, 1, 52-55.
- Sakamoto H, Yamazaki K, Kaga C, Yamamoto Y, Ito R, Kurosawa Y., 1996, Strength enhancement by addition of Microbial Transglutaminase during Chinese Noodle Processing, *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, 43,5, 598-602.
- Shuey, W.C., 1984, Interpretation of Farinogram Chv in: The farinograph Handbook, Third Edition, B.L. D'Appolania and W.H. Kunerth, (Eds.), AACC Inc, St Paul, MN, USA, 64p
- Suchy, J., Lukow, O.M. and Ingelin, M.E., 2000, Dough Microextensibility Method Using a 2-g Mixograph and a Texture Analyzer, *Cereal Chem.*, 2000, 77, 1, 39-43
- Swanson, R.B., and Penfield, M.P. 1988, Barley flour level and salt level selection for a whole grain bread formula, *J. Food Sci.*, 53,: 896-901
- Tsen, C.C. and Hoover, J., 1973, High-Protein Bread from Wheat Flour Fortified with Full-fat Soy Flour, *Cereal Chem.*, 50, 7-16

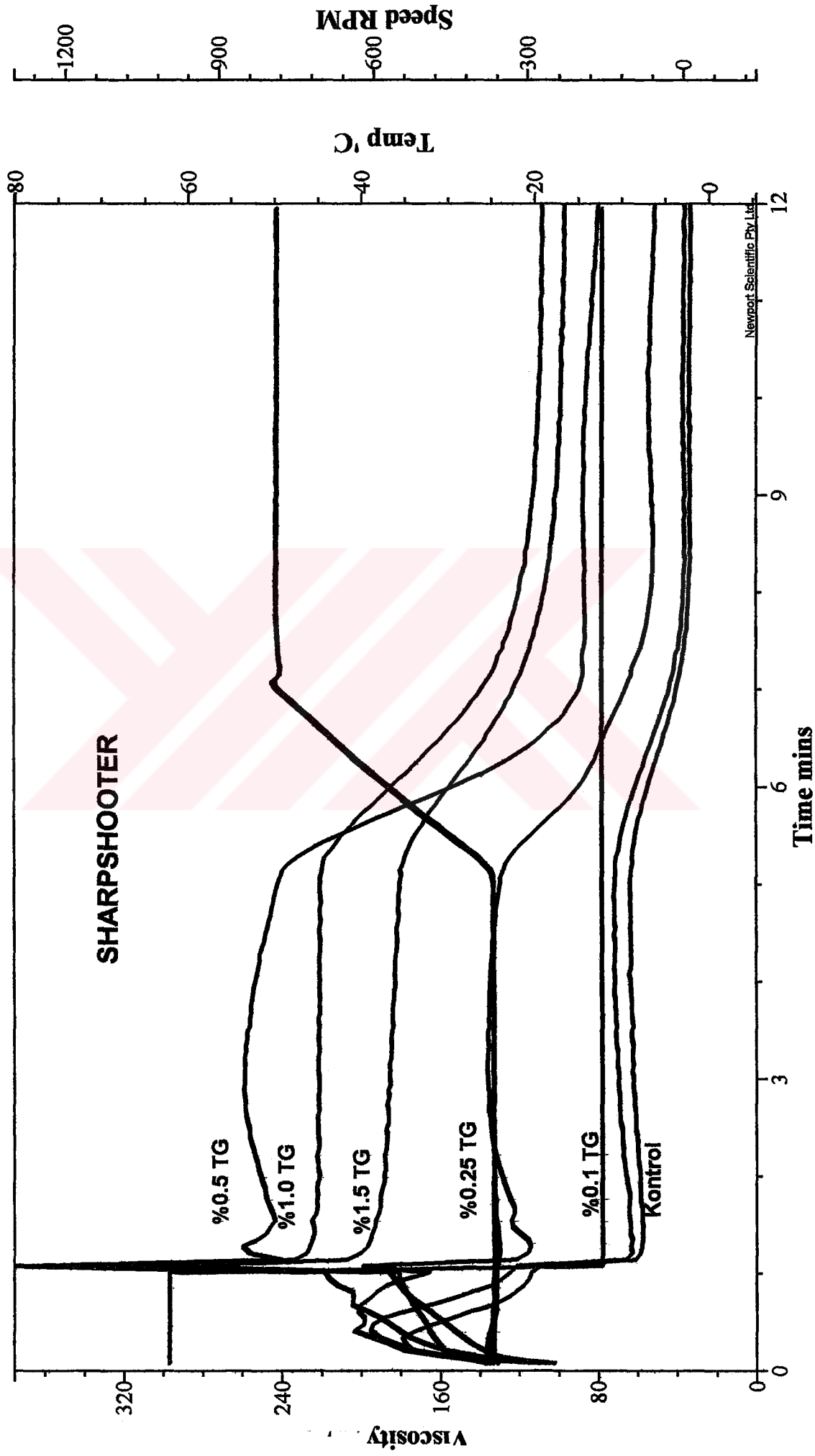
- Utsumi, S., Matsuma, Y., Mori, T., 1997, structure-function relationships of soy proteins. In: Damodaran S., Paraf, A., editors. Food proteins and their applications. New York: Marcel Dekker. P 257-291.
- Wang, L., Behr, S.R., Newman, R.K., Newman, C.W., 1997, Comparative cholesterol-lowering effects of barley β -glucan and barley oil in golden syrian hamsters. *Nutrition Research*, 17, 1, 77-88.
- Zhu, Y., Rizema, A., Tramper, J. and Bol, J., 1995, Microbial transglutaminase-a review of its production and application in food processing, *Appl Microbiol Biotechnol*,44:277-282



EK 1. Roane buğday ununa ait RVA grafiği



EK 2. Sharpshooter buğday ununa ait RVA grafiği



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Arzu BAŞMAN
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 20.06.1973
Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise : 1988-1991 Ankara Gazi Anadolu Lisesi
Lisans : 1991-1995 Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Y. Lisans : 1995-1998 Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Doktora : 1998-2004 Hacettepe Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
Yabancı Dil : İngilizce
İş Tecrübesi : Gıda Mühendisi, Ankara Un Sanayicileri Derneği (1996-1997)
: Araştırma Görevlisi, H. Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü (1998-)
: Burslu Araştırmacı, Michigan State University, Food Science and Human Nutrition Department, MI, USA (Ağustos-Kasım 2000)