

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BSA-DEKSTRİN KONJUGATLARININ
İNCELENMESİ**

Kimyager Dila TATAR

**FBE Biyokimya Anabilim Dalından
Hazırlanan**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Huriye KUZU

İSTANBUL, 2007

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	iv
KISALTMA LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT.....	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 BSA.....	3
2.2 Dekstrin.....	5
2.3 Protein-Karbohidrat Kompleksleri ve Konjugatları.....	6
2.4 Maillard Reaksiyonu	7
2.4.1 Maillard reaksiyonunun gerçekleşmesi.....	8
3. MATERYALLER.....	10
3.1 Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	10
3.2 Kullanılan UV-Vis spektrofotometresinin Teçhizat ve Çalışma Parametreleri.....	10
3.3 Kullanılan Protein Ayırıştırma Cihazının Teçhizat ve Çalışma Parametreleri	11
3.4 Kullanılan Fourier Transform Infrared Spektrometre Cihazının Teçhizat ve Çalışma Parametreleri	11
3.5 Kullanılan Kimyasallar	11
4. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	12
4.1 BSA-Dekstrin Kovalent Konjugatlarının Sentezi	12
4.1.1 Farklı mol oranlarında ($n_{BSA}/n_{Dekstrin}$) Konjugatların Hazırlanması için Hesaplamaların Yapılması ve BSA-Dekstrin çözeltilerinin Hazırlanması	12
4.1.2 Çözeltilerin Kurutulması ve 60°C'da Maillard Reaksiyonunun Gerçekleştirilmesi	13
4.1.3 Maillard Reaksiyonunda Süre Faktörünün İncelenmesi	14
4.2 Jel Filtrasyon Kromatografisi ile Konjugatların Saflaştırılması	14
4.3 Trinitrobenzensülfonik Asid Reaktifi (TNBS) ile BSA ve BSA-Dekstrin Konjugatlarında -NH ₂ Grubu Miktarı Tayini	15
4.3.1 -NH ₂ Grubu Miktarı Tayini için BSA ile Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi.....	16
4.3.2 BSA-Dekstrin Konjugatlarında -NH ₂ Grubu Tayini	19
4.4 Konjugatların UV-VIS Spektrofotometre ile İncelenmesi.....	19

4.5	Konjugatların FTIR İle İncelenmesi	20
5.	Sonuçlar	21
5.1	FTIR Spektrumları	21
5.2	Jel Filtrasyon ile saflaştırma işleminde alınan kromatogramlar	24
KAYNAKLAR		34
ÖZGEÇMİŞ		37

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
g	gram
L	litre
ml	mililitre
μl	mikrolitre
M	Molar
nm	nanometre

KISALTMA LİSTESİ

NaCl	Sodyum klorür
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Sodyum dihidrojen fosfat dihidrat
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Disodyum hidrojen fosfat heptahidrat
BSA	Bovin serum albumin
HCl	Hidrokorik asid
NaOH	Sodyum hidroksid
SDS	Sodyum dodesil sülfat
TNBS	Trinitrobenzensülfonik asid
BSA	Bovine serum albumin
GPC	Moleküler eleme kromatografisi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2.1 Bovine Serum Albumin'nin yapısı	4
Şekil 2.2 Nişastanın yapısı (% 10–20 Amiloz, % 80–90 Amilopektin)	5
Şekil 2.3 Dekstrinin molekül yapısı.....	6
Şekil 2.4 Proteinin primer amin grubu(lizin) ile indirgen şeker grupları arasındaki Amadori tipi bağlanma (D. Ofman et al., 2000).....	7
Şekil 2.5 Amadori düzenlenmesi	9
Şekil 4.1 TNBS ile primer amin arasındaki reaksiyon (P. Cayot ve G. Tainturier., 1997)	15
Şekil 4.2 TNBS reaksiyonu ile BSA konsantrasyonuna bağlı olarak –NH ₂ grubu sayısı ile absorbans(340nm) arasında çizilen kalibrasyon eğrisi.....	18
Şekil 5.1 BSA ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2, (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu. .	21
Şekil 5.2 n= BSA/Dekstrin= 1/20H ₂ ve 1/1-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu. .	21
Şekil 5.3 Dekstrin ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu	22
Şekil 5.4 BSA, Dekstrin ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu	23
Şekil 5.5 n= BSA/Dekstrin = 1/10. 48saat, 60 C.....	24
Şekil 5.6 n= BSA/Dekstrin = 1/20, 60 saat, 60 C.....	25
Şekil 5.7 Farklı mol oranlı (n _{BSA} /n _{Dekstrin}) konjugatlarda % bağlanma oranı.	27
Şekil 5.8 n _{BSA} /n _{Dekstrin} : 1/20 oranlı konjugatın farklı sürelerde (12–84 saat) % konjugasyonu	30
Şekil 5.9 n _{BSA} /n _{Dekstrin} : 1/20 farklı sürelerdeki (12–84 saat) reaksiyonun alınan UV-VIS Spektrumları	31
Şekil 5.10 n _{BSA} /n _{Dekstrin} : 1/20 oranlı konjugatın farklı sürelerde (12-84 saat) gerçekleşen reaksiyonunda alınan absorbans değerleri.....	32

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. Farklı mol oranlarında, sabit C_{protein} değerine göre hesaplanan C_{dekstrin} değerleri .	13
Çizelge 4.2. 20–400 µl hacimlerindeki BSA örneklerinin 340 nm de absorbens değerleri	17
Çizelge 5.1 Farklı mol oranlarında($n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$) konjugatlarının konsantrasyon ve UV-VIS 340 nm absorbens değerleri.....	26
Çizelge 5.2. Farklı mol oranlarında($n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$) konjugatlarının –NH ₂ grubu sayıları	27
Çizelge 5.3 Farklı mol oranlarında($n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$) konjugatlarının konsantrasyon ve UV-VIS 340 nm absorbens değerleri.....	28
Çizelge 5.4. Farklı mol oranlarında ($n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$) konjugatlarının –NH ₂ grubu sayıları	29
Çizelge 5.5 $n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$: 1/20 oranlı reaksiyonda farklı sürelerde ölçülen absorbens değerleri.....	31

ÖNSÖZ

Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladığım andan itibaren her türlü yardımı sağlayan ve önerileriyle bana yol gösteren, tez çalışmam sırasında da çok özverili olan değerli hocam Prof. Dr. Huriye KUZU'ya;

Derin bilgi birikimi ve yenilikçi fikirleri ile bana yol gösteren, Biyomühendislik laboratuvarlarında her türlü imkânı bize sunarak bu tezin ortaya çıkmasında büyük katkıları olan Biyomühendislik A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Mustafa AKDESTE'ye;

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Y.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı laboratuvar çalışanlarından başta Mithat ÇELEBİ olmak üzere emeği geçen Özlem ÖZTOLAN'a, Aslı ARSLAN'a, Y.T.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Biyokimya Anabilim Dalında görevli Melda ALTIKATOĞLU'na;

Ayrıca eğitim ve öğretimimde hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan maddi ve manevi desteklerinden dolayı sevgili aileme;

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Dekstrinler suda çözünebilen renksiz polisakkaridlerdir. Dekstrinler nişastanın asidler veya enzimler (α -amilazlar) ile hidrolizi sonucu elde edilirler. Dekstrin çözeltileri nişasta çözeltilerine kıyasla daha az yoğundur.

Bu çalışmada dekstrin Maillard reaksiyonu vasıtasıyla BSA'nın $-NH_2$ gruplarına kovalent olarak bağlandı. Farklı mol oranlarında hazırlanan BSA-Dekstrin çözeltileri liyofilizatörde kurutulduktan sonra 60 C'da 48 saat süreyle bekletildi. 1/20 mol oranlı BSA-Dekstrin konjugatının 60 °C da farklı süreler kullanılarak sentezi de çalışıldı. Konjugatlar jel filtrasyon kromatografisi ile saflaştırıldı. BSA(-NH₂)-dekstrin bağlanma oranı, -NH₂ gruplarına kolayca bağlanan TNBS vasıtasıyla kontrol edildi. Konjugatlar FT-IR spektrometre, Jel filtrasyon kromatografi ve UV-VIS spektrofotometre ile karakterize edildi.

Anahtar kelimeler: BSA, Dekstrin, Maillard Reaksiyonu, BSA-Dekstrin konjugatları, TNBS, UV-VIS, GPC, FT-IR

ABSTRACT

Dextrins are water soluble and colorless polysaccharides. Dextrins are obtained with the hydrolysis of starch by acids or by enzymes (α -amylases). Dextrin solutions are less dense in contrast with the starch solutions.

In this study, dextrin was covalently bonded to primary $-\text{NH}_2$ groups of BSA according to Maillard reaction. Dextrin-BSA solutions that are prepared in different ratios are kept at 60°C for 48 hours after drying in freeze-drier. The synthesis of 1/20 ratio of BSA-Dextrin conjugate at 60°C by using different hours is also studied. The conjugates were purified with gel filtration chromatography. The content of BSA($-\text{NH}_2$)-dextrin bonding was controlled by using trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS) which easily bonds with the $-\text{NH}_2$ groups. These conjugates was also characterized with FT-IR spectrometer, Gel Filtration chromatography and UV-VIS spectrophotometer.

Key words: BSA, Dextrin, Maillard Reaction, BSA-Dextrin conjugates, TNBS, UV-VIS, GPC, FT-IR.

1. GİRİŞ

Gıda endüstrisinde proteinler jelleştirme, köpükleştirme, filim oluşturma gibi fonksiyonel özellikleri ile özel bir yere sahiptirler(Zayas, J. F., 1997). Proteinlerin boyutu, net yükü, çözünürlüğü, solvent ile ilgili karakteristikler, pH, sıcaklık, iyonik güç gibi fizikokimyasal ve yapısal faktörler bu fonksiyonel özellikleri etkilemektedir (Domodaran, S., 1996).

Endüstriyel kullanımını arttırmak için fonksiyonel özellikleri geliştirilen gıda proteinlerine olan ilgi artmaktadır. Polisakkaritlerin stabilleştirici ve proteinlerin emülsifiye edici özelliklerini bir araya getiren protein-polisakkarit kovalent konjugatları suda kolay çözünür (Dickinson ve Galazka,1991). Kimyasal modifikasyonlar yerine, doğal Maillard reaksiyonları kullanılarak gıda ve ilaç endüstrisi için daha güvenli konjugatlar sentezlenebilmektedir (Kato v.d., 1993). Polisakkaritlerin proteinlere bağlanması çözünürlük, termal kararlılık ve emülsifiye edici özelliklerde, herhangi bir fonksiyon kaybı ya da istenmeyen etki meydana gelmeksizin artma sağlamaktadır (Kato, 2002).

Nişastanın hidrolizi sonucu dekstrinler elde edilirler. İndirgen şekerler ve amino asitler arasında Maillard reaksiyonu oluşur. Dekstrin BSA ya Maillard reaksiyonu sonucu kovalent olarak bağlanır. Maillard reaksiyonları gıdaların elde edildiği süreçlerde ısı davranışlar esnasında önem kazanır.

Maillard reaksiyonun gıda endüstrisinde kullanımı yaygındır. Maillard reaksiyonu gıdalarda tatlandıcı olarak kullanılan endüstrinin temelini oluşturur. Ayrıca besinlerin saklanması sonucunda da Maillard reaksiyonunun gerçekleştiği gözlemlenmiştir

Doğal ve ısıtılmış nişastanın, özellikle bazı balık türleri kullanılarak yapılan çalışmalarda ısı davranışları incelenmiştir (Wilson,1994). Maillard tipi reaksiyonlar hayvan yemlerinde bulunan amino asitlerin amino grubu(lizin) ve indirgen şekerler arasında da meydana gelebilir.

Termal prosesler gerçekleşirken meyve sularının kimyasal kompozisyonunda Maillard ürünleri oluşmaktadır. Elma suyundaki hekzoslar ile amino asitler arasında Maillard reaksiyonu sonucu 5-hidroksimetilfurfural (HMF) oluşur (Toribio & Lozano, 1987). İyi kontrol edilen Maillard reaksiyonu gıda sanayisinde proteinleri işlemek için iyi bir metottur.

Yapılan bir çalışma, glukoz dietlerinin nemli ısı işlem ile kurutulması ve saklanması önemli miktarda Maillard reaksiyonu gerçekleştiğini göstermektedir. Düşük plasma glukoz diyetleri ile beslenen Mersin balıklarının plasmalarındaki lizin oranının kontrol diyetiyle

beslenenlere oranla daha düşük olduğu belirlenmiştir. Glukoz diyeti ile beslenen Mersin balığı kontrol dietleriyle karşılaştırıldıklarında çok daha düşük miktarlarda plasma proteini, sistein ve hidroksi prolin içerdiği gözlenmiştir. Buna karşın glukoz ile beslenen mersin balıklarında, kontrol ve HPS (hidrolizlenmiş patates nişastası) ile beslenenlere oranla karaciğer glikojeni, plasma alanin ve -aminobtrik asid ve prolin miktarları gözle görülür miktarlarda yüksek çıkmıştır. Sonuç olarak, mersin balıklarının büyüme performansları diyetle bulunan % 15 HSP den etkilenmemiştir. Ancak, glukoz diyetlerindeki ciddi Maillard reaksiyonu balıkların büyüme performanslarında önemli bir düşüşe neden oluşturmuştur. Maillard reaksiyonu ürünlerinin sindirilmesinin zor olması ve bazı temel amino asidlerin(lizin) yapısının bozulması nedeniyle diyet ürünlerinde kullanılması azalmıştır (Silas S.O. Hung v.d., 2005).

Maillard reaksiyonu temel amino asidlerin yapılarının bozulmasına ve besinlerin değerinde düşmeye neden olmaktadır. Maillard reaksiyonu sindirimi zorlaştırmaktadır.(Friedman et al., 1989). Maillard reaksiyonu ürünleri hayvanların sindirim enzimlerine dirençlidir, ve bu yüzden diyet protein kalitesini düşürmektedir (Tanaka et al., 1977).

2. GENEL BİLGİLER

2.1 BSA

Bovine serum albumin (BSA), bovine kan plazmasındaki temel globular proteinlerden biridir. Albuminler az sayıda triptofan, metiyonin ve çok sayıda sistein ve yüklü aspartik asid, glutamik asid, lizin ve arginin amino asidlerinden oluşmaktadır. BSA daki glisin ve isolösin sayısı ortalama proteinlerden daha azdır. BSA nın yapısı ve fizikokimyasal özellikleri ayrıntılı olarak bilinmektedir. Gıda sistemlerinde bir model protein olarak çalışılmıştır(Boye, J. I., Alli, I., and Ismail, A. A., 1996., Song, K. B., and Damodaran, S., 1987). Dekstran Leuconostoc mesenteroide lerden elde edilen mikrobiyal $1 \rightarrow 6$ - α -D-glokanlar diğer değişik bağlanmalar ($1 \rightarrow 2$ - α -, $1 \rightarrow 3$ - α -, $1 \rightarrow 4$ - α -) ile birbirine dallanarak bağlanır (Robyt, J. F., 1998). Dekstran plazma genişletici ve doğal gıda katkı maddesi olarak Avrupa, Japonya ve Kore’ de kullanılmaktadır.

Elisa testlerinde, blot testlerde ve immunohistokimyada seyreltici veya bloklayıcı olarak kullanılabilir. BSA DNA nın parçalanması sırasında bazı enzimleri stabilize etmek için ve enzimin diğer reaksiyon türlerine yapışmasını engellemek için de kullanılır. BSA nın stabilizasyonda diğer proteinlere etkisi yoktur. Gıda sanayisinde çok daha düşük maliyetle üretilir ve değerlendirilir.

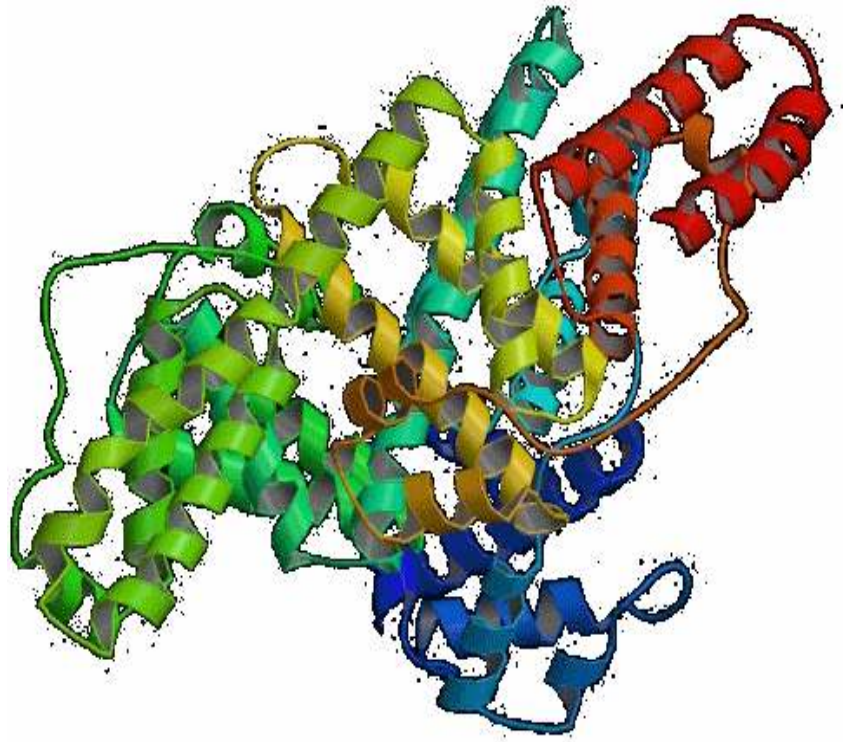
BSA nın yaklaşık % 55 i α -heliks yapısındadır (Peters, Jr., T., 1985).

Fiziksel özellikleri

- Yan zincir sayısı: 583
- Moleküler Ağırlık 66,430 Da (g/mol)
- pI: 5.82.

Çizelge 2.1 BSA'nın içerdği amino asidler(Brown, 1975; Patterson and Geller, 1977; McGillivray *et al.*, 1979; Reed *et al.*, 1980; Hirayama *et al.*, 1990).

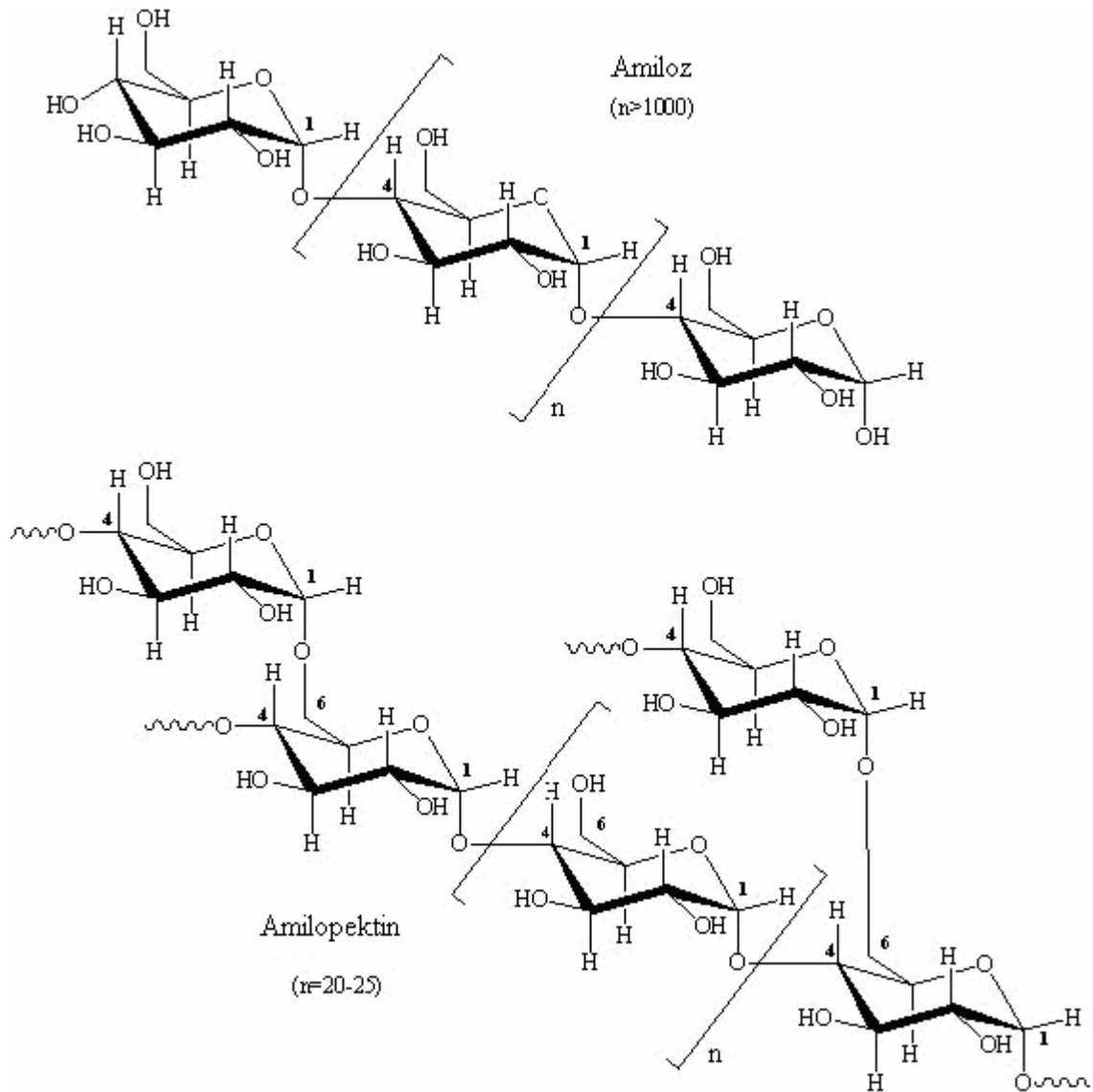
Ala 48	Cys 35	Asp 41	Glu 58
Phe 30	Gly 17	His 16	Ile15
Lys60	Leu 65	Met 5	Asn14
Pro 28	Gln 21	Arg 26	Ser 32
Thr 34	Val 38	Trp 3	Tyr 21



Şekil 2.1 Bovine Serum Albumin'nin yapısı

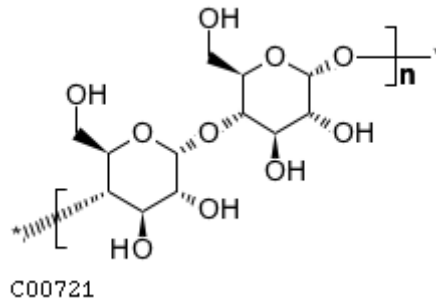
2.2 Dekstrin

Karbonhidratlar doğada yaygın olarak bulunmaktadırlar. Bunlardan nişasta D-Glukoz moleküllerinden oluşan iki doğal biyopolimer, amilopektin ve amilozun, α -1,4 ve α -1,6 glikozid bağlarıyla bağlanmasıyla meydana gelen dallanmış polisakkarit yapısındadır. Nişastanın hidroliz ürünleri veya dekstrinler fonksiyonel özelliklerinden dolayı gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Dekstrinlerde D-Glukoz birimleri α -(1 $\rightarrow$ 4) glikozit bağları ile bağlı durumdadır. Nişasta asid, enzim ya da her ikisi ile hidroliz edilebilir (N.E. Lloyd v.d., 1984; I.S. Chronakis, 1998).



Şekil 2.2 Nişastanın yapısı (% 10–20 Amiloz, % 80–90 Amilopektin)

Dekstrinler nişastanın hidrolizi ile düşük molekül ağırlıklı yapılar olarak üretilirler. Karbohidratların genel formülüne sahiptirler, fakat daha kısa zincirlidirler. Endüstride üretimleri genellikle patates nişastasının asidik hidrolizi yoluyla olmaktadır. Dekstrinler suda çözünen, optikçe aktif, beyazdan açık sarıya değişen renkte katı maddelerdir. Nişastanın parçalanması sonucu ekmeğe rengini verirler. Çimlenen tohumlarda da yüksek miktarda bulunmaktadır.



Şekil 2.3 Dekstrinin molekül yapısı

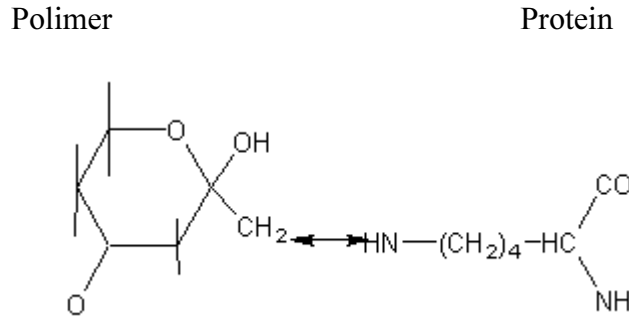
2.3 Protein-Karbohidrat Kompleksleri ve Konjugatları

Son yıllarda proteinlerin (BSA, tripsin) çeşitli karbohidratlar (laktoz, sukroz, mannitol, α -siklodekstrin ve dekstrin) ile birlikte “freeze-drying” soğukta vakum ile kurutulması araştırma konusu olmuştur. Farmasötikler olarak proteinler ve peptidlere ilgi giderek artmaktadır. Bunların ortalama ömrü ve kuru halde saklanarak biyolojik aktivitelerinin korunması önem taşımaktadır. Karbohidratlar hacim arttırma ajanı ve koruyucu katkı maddeleri olarak sıklıkla kullanılırlar. “Freeze-drying” proteinleri kuru elde etmek için en çok kullanılan yöntemlerdendir (Pikal, 1994).

Protein-karbohidrat komplekslerinin üç boyutlu yapısının ayrıntılı bilgisi X-Ray kristalografisinden ve modellemeden elde edilebilir. Bunula birlikte NMR da protein-karbonhidrat etkileşimleri için önemli bilgiler sağlayabilmektedir (Jimenez-Barbero, J., 2000).

Proteinlerin polisakkaridler ile glikoligasyonu, kuru halde sıcaklıkta gerçekleştirilen Millard

reaksiyon ile sağlanmaktadır. Polisakkaridlerin proteinler ile konjugasyonu emülsiyon özelliklerinde artma sağlamaktadır. Ek olarak, proteinlerin çözünürlüğünün, jelleşmesinin, antioksidatif etkisinin artmasına da neden olmaktadır(Kato, A., Shimokawa, K., and Kobayashi, K., 1991; Babiker, E.E., 2002). Bu nedenle, doğal yapıda ve toksik özelliği olmayan protein-polisakkarid konjugatları, özellikle gıda ve sağlık endüstrisinin kullanımı amaçlanarak geliştirilmektedir(Shepherd, R., Robertson, A., Ofman, D., 2000).



Şekil 2.4 Proteinin primer amin grubu(lizin) ile indirgen şeker grupları arasındaki Amadori tipi bağlanma (D. Ofman et al., 2000).

BSA-Dekstran konjugatları ile ilgili yapılan bir çalışmada en yüksek bağlama oranına en küçük makromolekül yapısı kullanıldığında ulaşılmıştır. Bu eğilim BSA'nın oligomerizasyonundan kaynaklanabilir (Moon, T. W., et al., 2006).

2.4 Maillard Reaksiyonu

İndirgen şekerler ve amino asitler arasında sıcaklık etkisi ile oluşan, enzimatik olmayan bir kahverengileşme reaksiyonudur. Reaksiyon, indirgen şekerdeki reaktif karbonil grubu ile amino asitteki nükleofilik amin grubu arasında gerçekleşir. Nemsiz ortam ve yüksek sıcaklık gerekir (pişirme, kızartma, tost yapma). pH > 7,0'de hızlı, pH < 7,0'de ise daha yavaş olarak reaksiyon gerçekleşir. Reaksiyon ürününün rengi; renksiz → sarı → kahverengi → koyu kahverengi şeklinde değişme gösterir.

İndirgen şeker ile proteinlerdeki lizin yan zincirlerinin ε-amino gruplarının kondenzasyon reaksiyonu sonucu Amadori ürünü oluşur. Bu Amadori ürününün oluşumu, Schiff bazı oluşumu ve Amadori yeniden düzenlenmesi yoluyla gerçekleşir. Bu reaksiyonda, şekerin proteinle konjugasyonu kimyasal kataliz gerektirmez, bu reaksiyonu hızlandırmak için sadece sıcaklık gereklidir (W. P. Edwards., 1984).

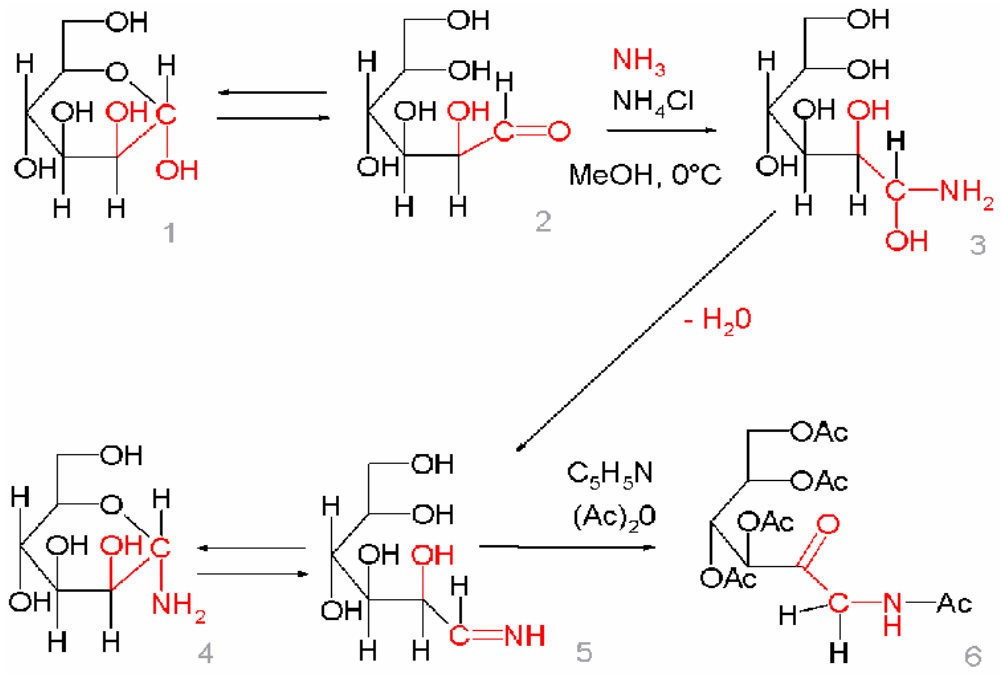
Birçok iç ve dış faktörler Maillard reaksiyonunun hızını etkilemektedirler. Sıcaklık değerleri (Labuza ve Saltmarch, 1981) yanı sıra reaksiyona giren maddelerin konsantrasyonları (Lerici v.d., 1991) ve birbirlerine oranları(O'Brian ve Morrissey, 1989), ortamın pH 'sı (Ashoor ve Zent, 1984), metal iyonlarının(Kato v.d., 1969) ve suyun varlığı(Eichner ve Karel, 1972) Maillard reaksiyonunun hızını etkilemektedir.

Maillard reaksiyonu besin maddelerindeki birçok renk ve tatdan sorumludur:

- Süt ve şekerden karamel yapılması, özellikle sütlü çikolata kaplı karamel şekerlerin üretilmesinde renk ve tad,
- Tostun ekemgin kahverengileşmesi,
- Bira, çikolata, kahve ve Akçağaç pekmezinin renklendirilmesi,
- Güneşte kendi kendine esmerleşen ürünlerin eldesi,
- Kızartılmış veya yakılmış et tadının oluşması,
- Kurutulmuş ve yoğunlaştırılmış süt renginin oluşması.

2.4.1 Maillard reaksiyonunun gerçekleşmesi

Şekerin karbonil grubunun aminoasitin amin grubu ile N-substitue glikozil amin ve su oluşturması gerçekleşir. Kararsız glikozil amin Amodori düzenlenmesine uğrar ve ketozaminler oluşur.



Şekil 2.5 Amadori düzenlenmesi

“(1-2) D-Mannozun açık-kapalı formülü.(3) 1,1-amino-alkol mannoz. (4) yariaminal. (5) Glikozil amin.”

3. MATERYALLER

3.1 Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Kaba terazi	: Precise BJ 6100D
Hassas terazi	: Precise XB 220A
Manyetik karıştırıcı	: Heidolph MR 3001
Su banyosu	: GFL 1086
Liyofilizatör	: Telstar Cryodos
Saf su cihazı	: Millipore F4SN77678
pH metre cihazı	: Inolab
Protein ayırıştırma cihazı	: Model 2110 fraction collector
U.V. Visible Spektrofotometre	: Model V-530 JASCO Program

Kullanılan malzemeler :

- Otomatik pipet : Finnpipette 0-50 µl, 100-1000 µl
- Beher : 50ml, 100 ml, 500 ml, 1 L
- Penisilin şişeleri
- Eppendorf tüpleri

3.2 Kullanılan UV-Vis spektrofotometresinin Teçhizat ve Çalışma Parametreleri

Optical System	: Single monochromator
Detektör	: Silikon fotodiod (S1337)
Işık kaynağı	: Deuterium lamp : 190 to 350 nm
	Halogen lamp : 390 to 1100 nm

3.3 Kullanılan Protein Ayrıştırma Cihazının Teçhizat ve Çalışma Parametreleri

U.V. monitör	: Biorad Econo (model EM-1)
Fraksiyon toplayıcı	: Biorad model 2110 fraction collector
Kayıt edici	: Biorad chart recorder model 1327
Pompa	: Biorad Econo pump (model EP-1)

3.4 Kullanılan Fourier Transform Infrared Spektrometre Cihazının Teçhizat ve Çalışma Parametreleri

FT-IR	: Perkin Elmer
Universal ATR Sampling Accessory	: Perkin Elmer

3.5 Kullanılan Kimyasallar

Kimyasal Maddeler	Üretici Firma	Lot No.
BSA	Sigma	117H1346
Dekstrin	Fluka	31412
Sephadex G-50	Fluka	84946
NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Riedel-de Haen	04269
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Fluka	71647
SDS	Fluka	71725
NaOH	Riedel-de Haen	06203
TNBS	Fluka	80456

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1 BSA-Dekstrin Kovalent Konjugatlarının Sentezi

4.1.1 Farklı mol oranlarında ($n_{BSA}/n_{Dekstrin}$) Konjugatların Hazırlanması için Hesaplamaların Yapılması ve BSA-Dekstrin çözeltilerinin Hazırlanması

$n_{BSA}/n_{Dekstrin}$: 1/20, 1/15, 1/10, 1/ 5 ve 1/1 olarak alındı.

$$\frac{n_{protein}}{n_{polimer}} = \frac{C_{prot} \times M_{A pol}}{C_{pol} \times M_{A prot}} ;$$

$$\frac{n_{protein}}{n_{polimer}} = \frac{C_{prot} \times M_{A pol}}{C_{pol} \times M_{A prot}} ;$$

eşitliğine göre protein (BSA) konsantrasyonu sabit tutularak (Dekstrin) konsantrasyonu hesaplandı.

$C_{protein}$: 20 mg/ml sbt.

$M_{A protein}$: 66 000 Da.

$M_{A polimer}$: 15 000 Da.

Örnek olarak $n_{BSA}/n_{Dekstrin}$: 1/ 20 oranı için;

$$\frac{n_{BSA}}{n_{Dekstrin}} = \frac{C_{BSA} \times M_{A Dekstrin}}{C_{Dekstrin} \times M_{A BSA}}$$

$$\frac{n_{BSA}}{n_{Dekstrin}} = \frac{C_{BSA} \times M_{A Dekstrin}}{C_{Dekstrin} \times M_{A BSA}}$$

$$\frac{1}{20} = \frac{20 \times 15\,000}{C_{Dekstrin} \times 66\,000} \quad C_{Dekstrin} = 90.91 \text{ mg/ ml. hesaplandı.}$$

$$\frac{1}{20} = \frac{20 \times 15\,000}{C_{Dekstrin} \times 66\,000}$$

Gerekli dekstrin miktarı; $m_{Dekstrin} = 90.91 \text{ mg/ml} \times 2.5 \text{ ml}^* = 227.275 \text{ mg}$, tartıldı ve 1.25 ml 0.1 M pH:7 Fosfat tamponunda çözüldü.

$C_{BSA} = 20 \text{ mg/ml}$ sabit alındı.

Gerekli BSA miktarı; $m_{BSA} = 20 \text{ mg/ml} \times 2.5 \text{ ml} = 50 \text{ mg BSA}$.

* Toplam reaksiyon hacmi 2,5 ml alındı.

UV-VIS Spektrofotometrede 280 nm de ölçülen absorbans değeri dikkate alınarak ($A_{280}/1.34 = \dots \text{mg/ml protein}$), satın alınan BSA'nın protein içeriği % 45 olarak belirlendi.

Buna göre, satın alınan BSA'dan 111 mg. tartıldı, 1.25 ml. 0,1 M pH:7 fosfat tamponunda çözüldü.

Çizelge 4.1. Farklı mol oranlarında, sabit C_{protein} değerine göre hesaplanan C_{dekstrin} değerleri

$n_{\text{BSA/Dextrin}}$	$C_{\text{Dekstrin}} \text{ (mg/ml)}$	$m_{\text{Dekstrin}} = C_{\text{Dekstrin}} \text{ (mg/ml)} \times 2.5 = \dots \text{ (mg)}$
1/20	90.91	227.275
1/15	68.18	170.45
1/10	45.45	113.64
1/5	22.73	56.82
1/1	4.55	11.36

4.1.2 Çözeltilerin Kurutulması ve 60°C'da Maillard Reaksiyonunun Gerçekleştirilmesi

Belirli oranlarda BSA-dekstrin içeren çözeltiler -20 °C da dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurutuldu. BSA-dekstrin karışımları 60°C daki etüvde 48 saat bekletilerek Maillard reaksiyonu gerçekleştirildi. Böylece dekstrin moleküllerinin BSA'nın primer amino gruplarına kovalent olarak bağlanması sağlandı (T. Haertle., 2001).

4.1.3 Maillard Reaksiyonunda Süre Faktörünün İncelenmesi

$n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/20 oranlı konjugatın sentezi, yukarıda verildiği gibi katı karışımların hazırlanmasından sonra, 60°C’da farklı süreler (12–84 saat) ısıtma uygulanarak gerçekleştirildi.

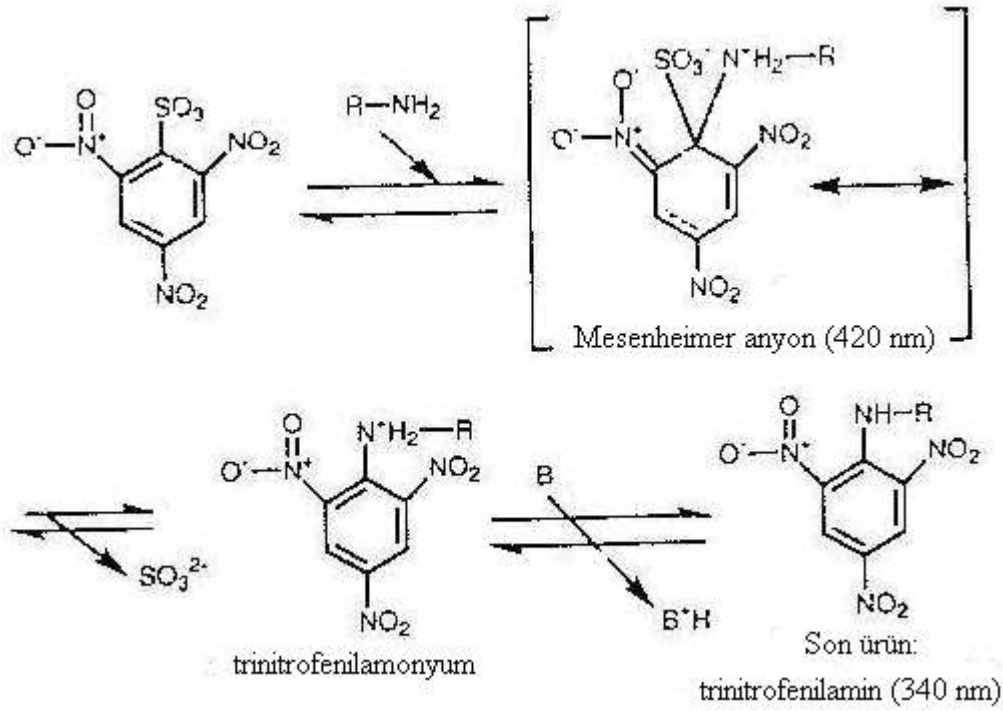
4.2 Jel Filtrasyon Kromatografisi ile Konjugatların Saflaştırılması

Konjugatların saflaştırılması jel filtrasyon kromatografisi (moleküler eleme kromatografisi) ile yapıldı. Bu sistemde molekül büyüklüğüne göre saflaştırma yapılmaktadır. Gözenekler içinde moleküller, etkin bir şekilde yakalanır ve hareketli faz akımı ile uzaklaştırılır. Dolgu maddesinin ortalama gözenek açıklığından büyük moleküller dışarıda tutulur ve böylece hiç alıkonmazlar. Bu büyük moleküller kolondan ilk önce ayrılırlar. Gözeneklerden önemli derecede küçük çapa sahip olan moleküller en uzun süre tutulurlar ve kolondan en son ayrılırlar. Moleküler eleme kromatografisinde analit ve durgun faz arasında kimyasal ve fiziksel etkileşimler yoktur. Bu gibi etkileşimler kolon veriminin azalmasına sebep olduğundan, bu etkileşimlerden korunmak için her türlü gayret gösterilmelidir (Nieman A.T., 1998).

30 mg/1ml (1 ml destile su) örnek ($A_{280}/1,34$ ile hesaplanan) örneği kolona verildi. 0.01 M pH 7.0 Fosfat tamponu kullanılarak her bir tüpte 40 damla olacak şekilde fraksiyonlar toplandı.

Bio –Rad marka protein saflaştırma sistemi, 1,5x30 cm Bio-rad kolon kullanılarak jel filtrasyon işlemi uygulandı. Kolon dolgu maddesi olarak sephadeks G–50 kullanıldı. Ayırma işlemi UV monitör yardımıyla izlendi. Alınan fraksiyonların 280 nm’de okunan absorbans değerleri de kullanılarak kromatogramdan hangi fraksiyonların (tüplerin) toplanacağına karar verildi. Toplanan fraksiyonların konsantrasyonları ($A_{280} / 1,34$) hesaplandı. Kromatogramda önde ve arkadan gelen piklerde reaksiyon gözlenmedi, değerlendirmeye alınmadı. Toplanan eluata trinitrobenzensülfonik asid ile –NH₂ grubu tayini yapıldı.

4.3 Trinitrobenzensülfonik Asid Reaktifi (TNBS) ile BSA ve BSA-Dekstrin Konjugatlarında $-NH_2$ Grubu Miktarı Tayini



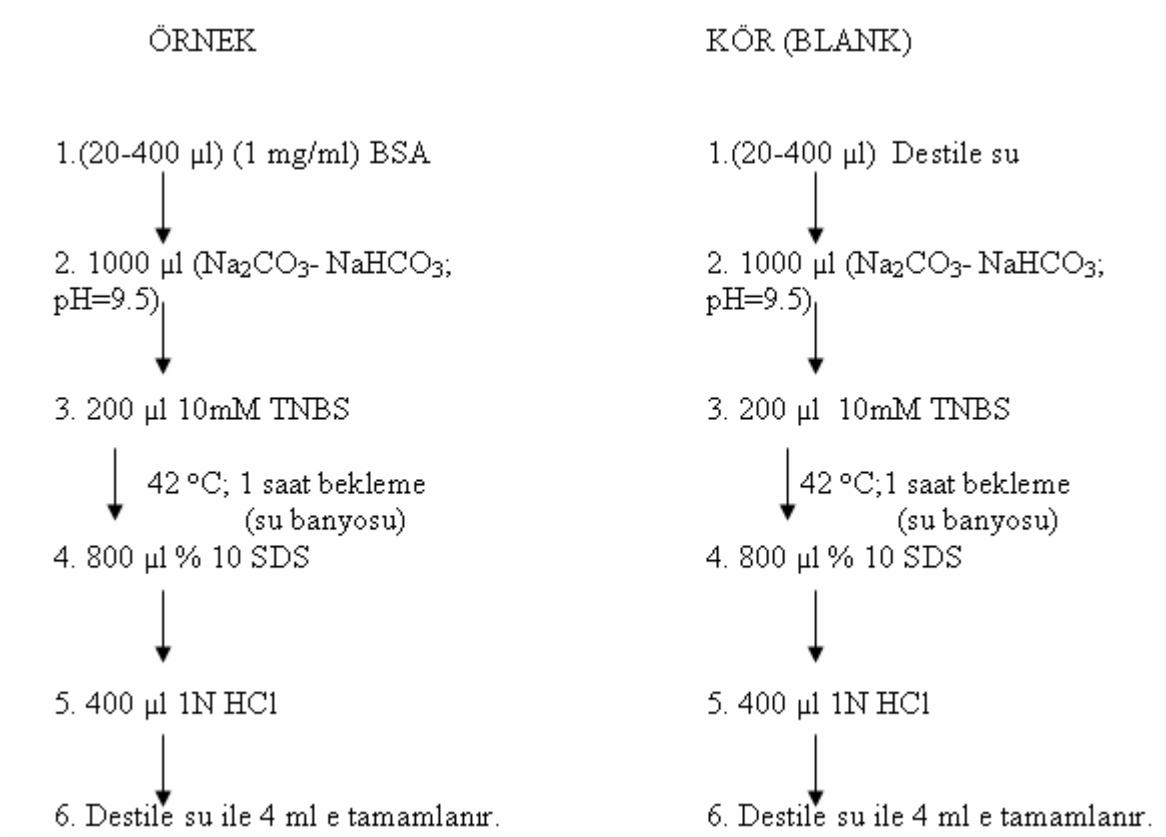
Şekil 4.1 TNBS ile primer amin arasındaki reaksiyon (P. Cayot ve G. Tainturier., 1997)

Serbest amino grupları trinitrobenzensülfonik asid kullanılarak belirlendi (McKellar,1981). BSA ve BSA-Dekstrin konjugatları, Jasco V-500 UV-VIS Spektrofotometre kullanılarak 340 ve 420 nm deki absorbanları kaydedildi. Çalışmalarımızda 340 nm deki absorban değerlerine göre kalibrasyon eğrisi çizildi ve değerler hesaplandı.

Deneyisel Çalışma

4.3.1 $-NH_2$ Grubu Miktarı Tayini için BSA ile Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

25 mg BSA(protein) 25 ml destile suda çözülerek, BSA stok çözeltisi hazırlandı. Aşağıdaki süreç izlenerek kalibrasyon eğrisi çizildi.

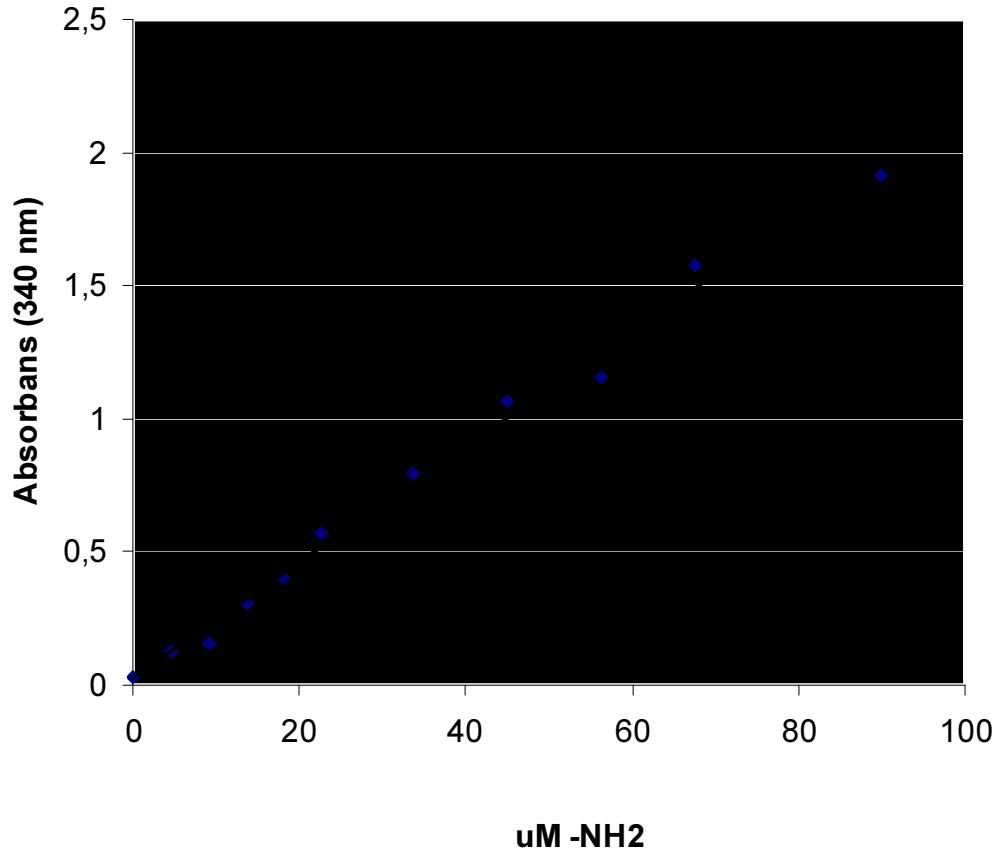


Yukarıda gösterilen işlemten sonra köre karşı farklı konsantrasyonlardaki BSA örneklerinin UV-VIS Spektrofotometrede 340 nm deki absorbanları ölçüldü. Değerler aşağıdaki tabloya işlendi.

Çizelge 4.2. 20–400 µl hacimlerindeki BSA örneklerinin 340 nm de absorbands değerleri

V_{BSA} (µl)	$C_{tüp}$ (mg/ml)	$(C_{tüp}/66000) \times (10^8)$ (mmol/ml)	$(C_{tüp}/66000) \times 60^*$ (µM –NH ₂)	Absorbans (340 nm)
20	0,005	7,6	4,56	0,129
40	0,010	15,15	9,1	0,154
60	0,015	22,73	13,6	0,311
80	0,02	30,3	18,0	0,403
100	0,025	37,88	22,50	0,569
150	0,0375	56,82	33,75	0,798
200	0,050	75,76	45,0	1,063
250	0,0625	94,71	56,25	1,158
300	0,0750	113,64	67,50	1,580
400	0,100	151,52	90,0	1,917

* BSA'da bulunan lizin sayısı 60.

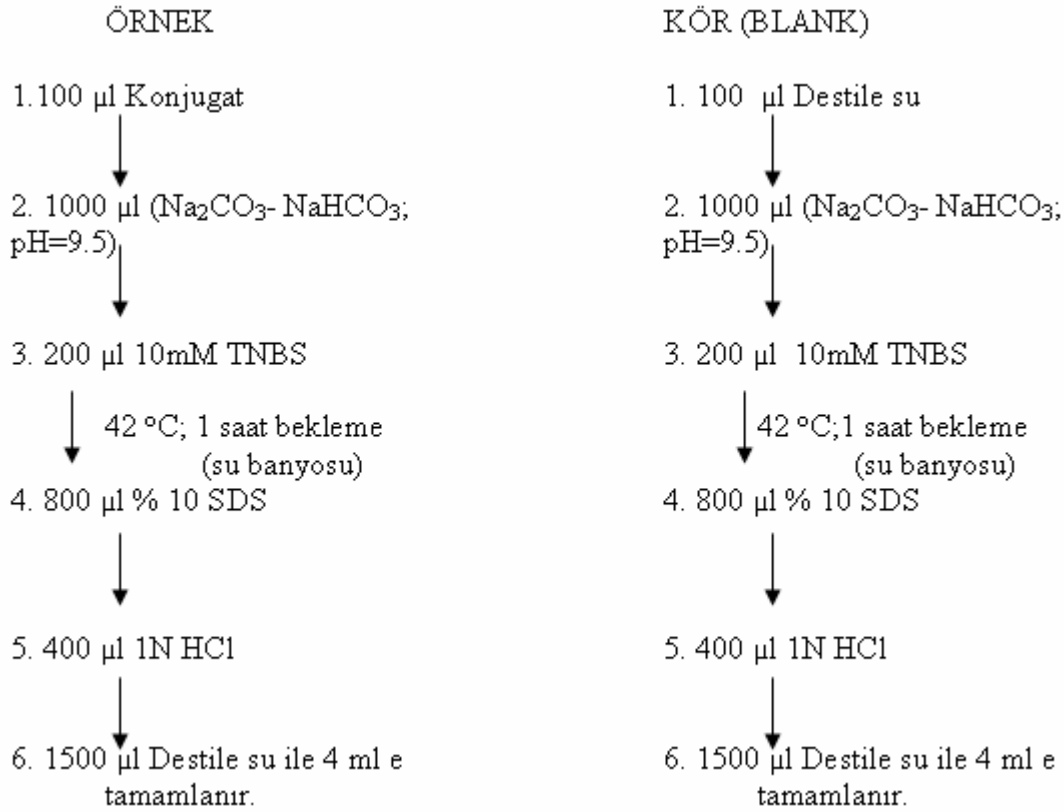


Şekil 4.2 TNBS reaksiyonu ile BSA konsantrasyonuna bağlı olarak –NH₂ grubu sayısı ile absorbans(340nm) arasında çizilen kalibrasyon eğrisi

$$Y = 0,0216X + 0,0288, R^2 = 0,9916, n = 10.$$

4.3.2 BSA-Dekstrin Konjugatlarında –NH₂ Grubu Tayini

Jel filtrasyon kromatografisi ile saflaştırılan farklı mol oranlı konjugatlar için aşağıdaki süreç izlendikten sonra UV-VIS Spektrofotometre ile 340 nm deki absorbans değerleri kaydedildi. Kalibrasyon eğrisi kullanılarak konjugatlardaki –NH₂ grubu sayısı tespit edildi.



Yukarıda gösterilen işlemlerden sonra köre karşı farklı mol oranlı BSA/Dekstrin örneklerinin ve 1/20 mol oranlı örneğin farklı sürelerde sentezlenen konjugatlarının UV-VIS Spektrofotometrede 340 nm deki absorbansları ölçüldü.

4.4 Konjugatların UV-VIS Spektrofotometre ile İncelenmesi

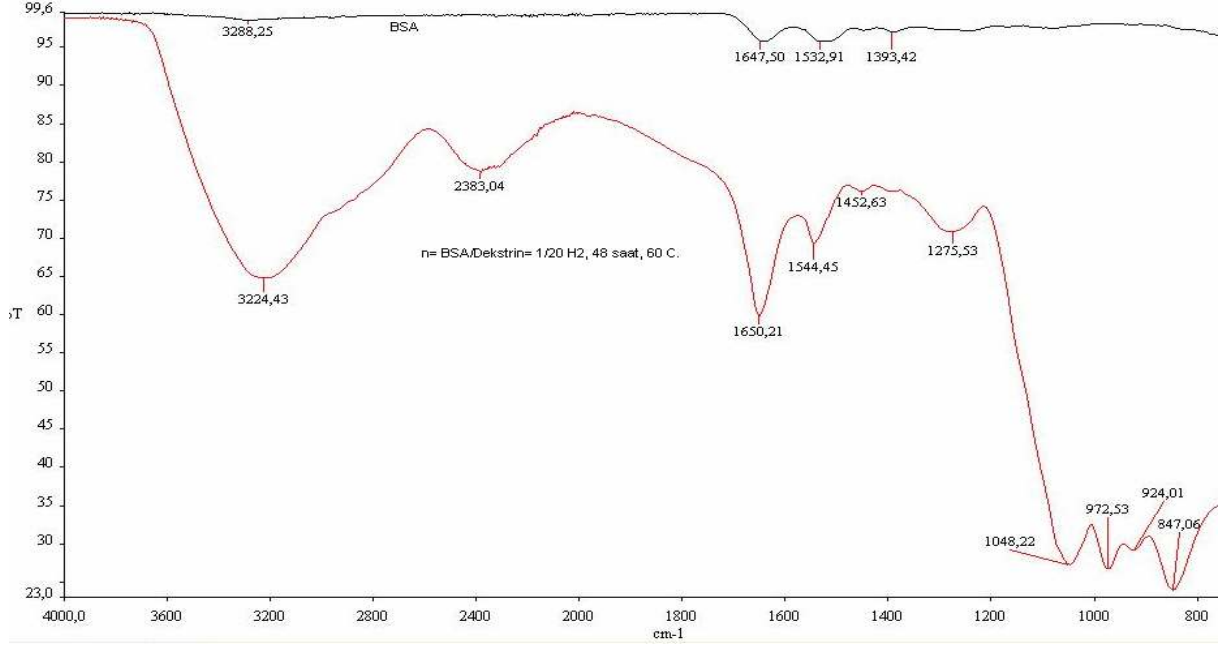
Sentezlenen örnekler saflaştırılmadan ve saflaştırmadan sonra UV-VIS Spektrofotometrede 250–500 nm dalga boyu arasında spektrumları alındı.

4.5 Konjugatların FTIR İle İncelenmesi

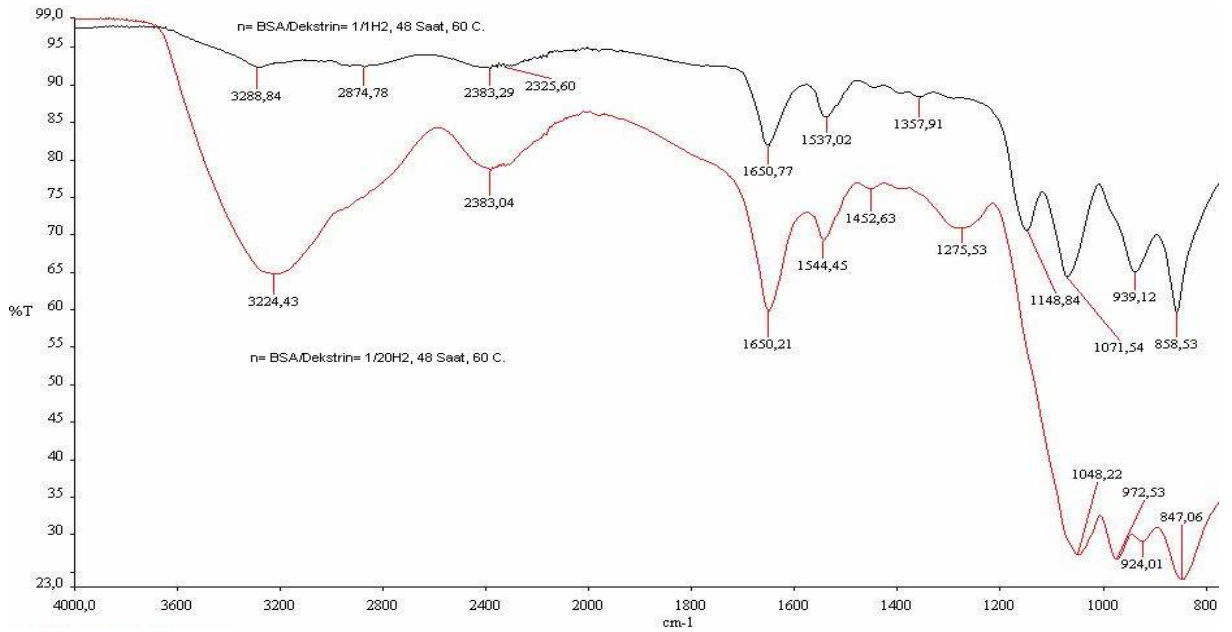
BSA, dekstran, $n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}} = 1/20$ ve $1/1$ (48 saat, Havuz 2) katı örneklerinin Fourier Transform Infrared Spektrometre kullanılarak spektrumları alındı.

5. Sonuçlar

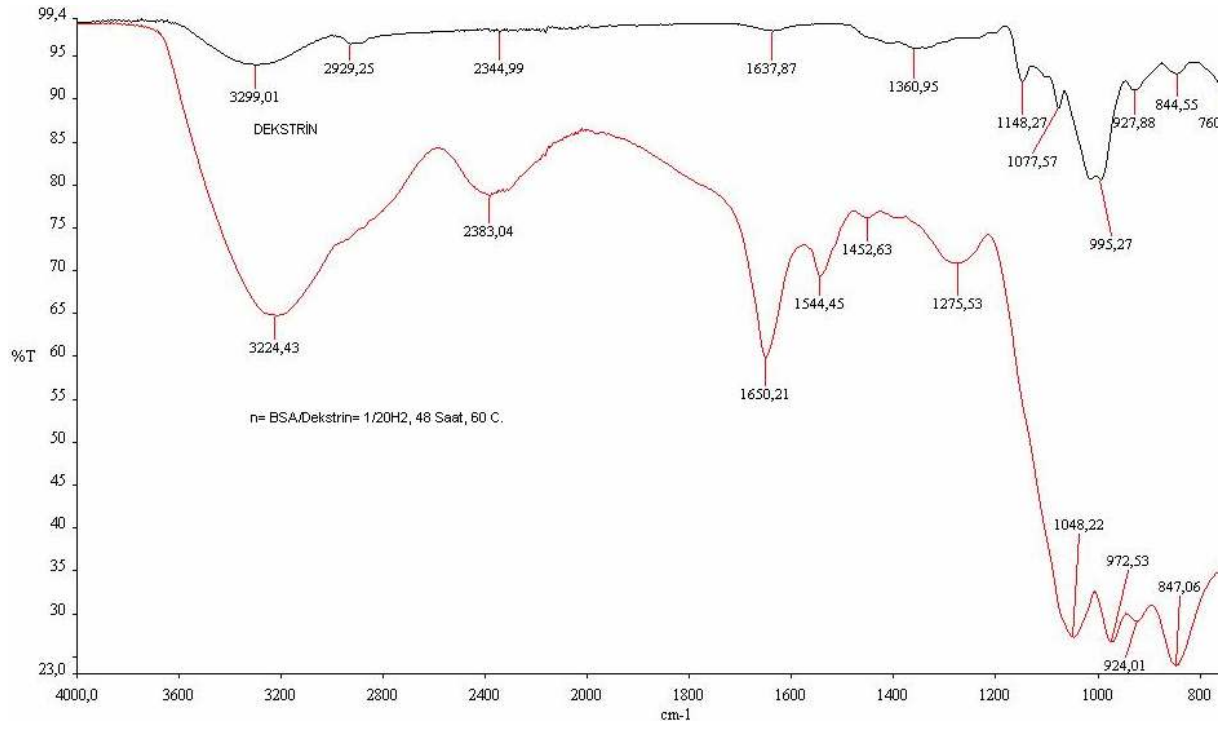
5.1 FTIR Spektrumları



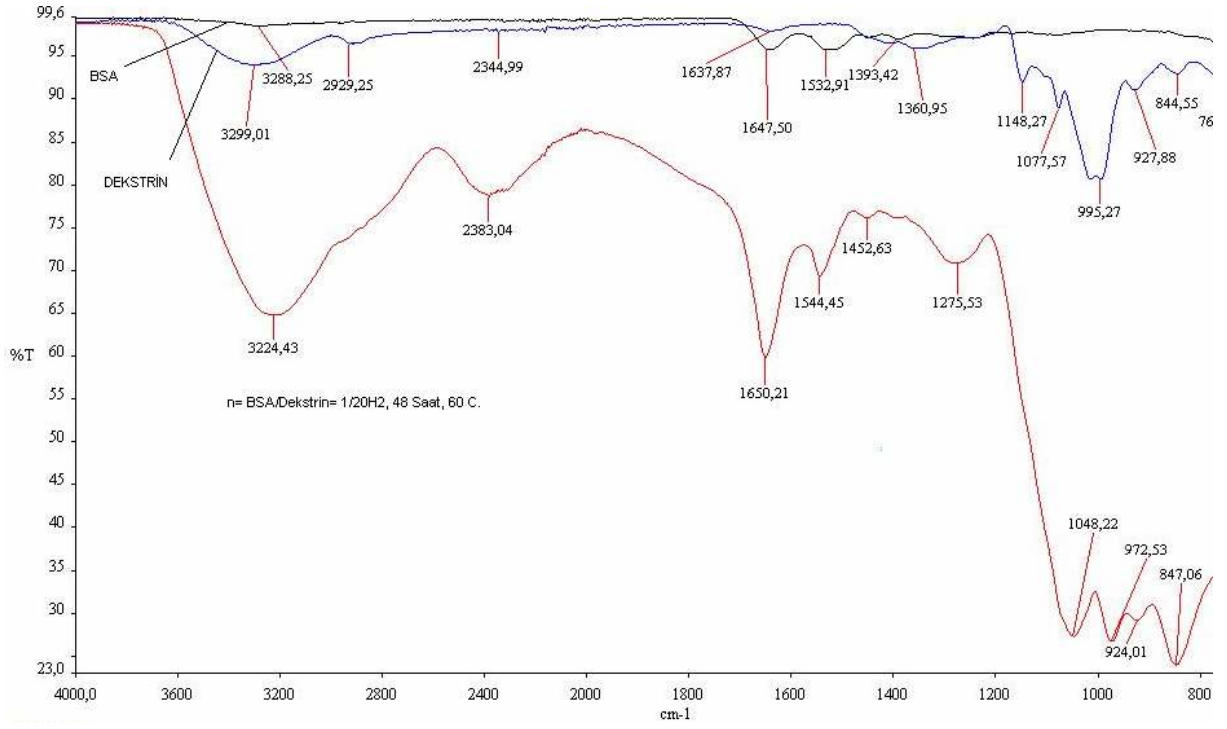
Şekil 5.1 BSA ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2, (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu.



Şekil 5.2 n= BSA/Dekstrin= 1/20H2 ve 1/1-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu

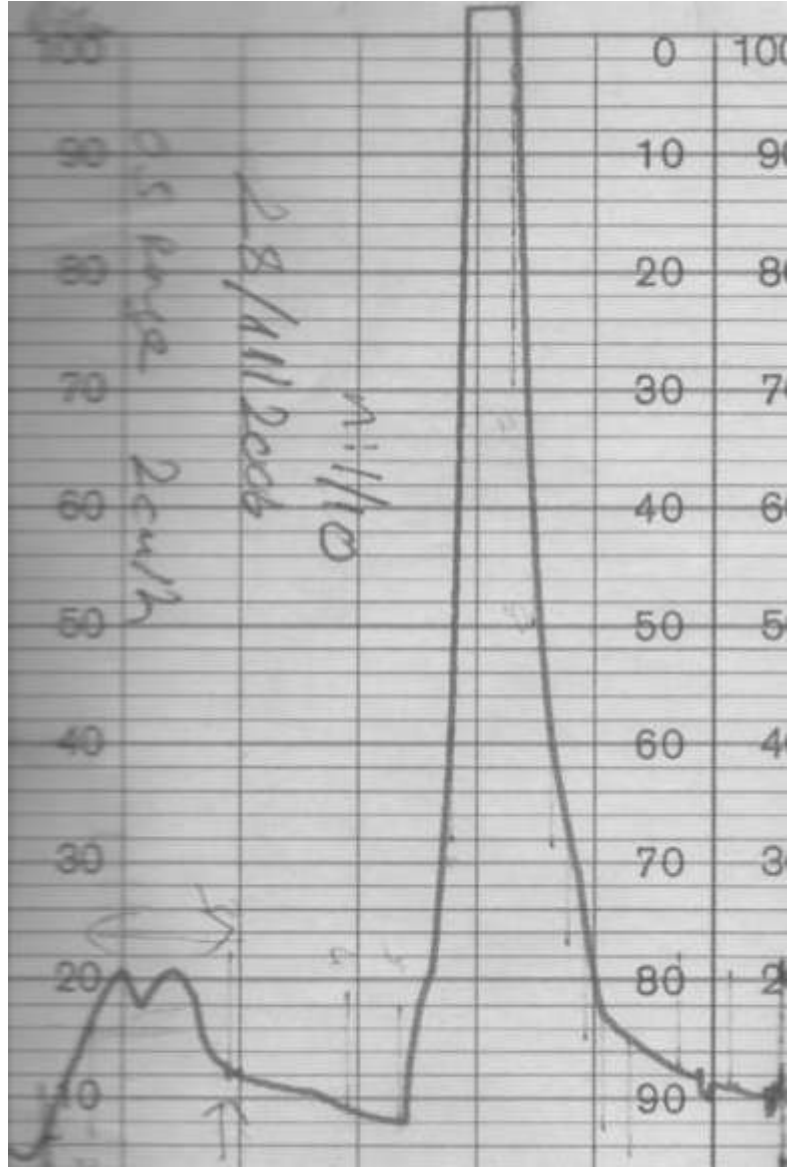


Şekil 5.3 Dekstrin ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu



Şekil 5.4 BSA, Dekstrin ve n= BSA/Dekstrin= 1/20-Havuz2 (48 Saat, 60 °C). nin FT-IR spektrumu

5.2 Jel Filtrasyon ile saflaştırma işleminde alınan kromatogramlar

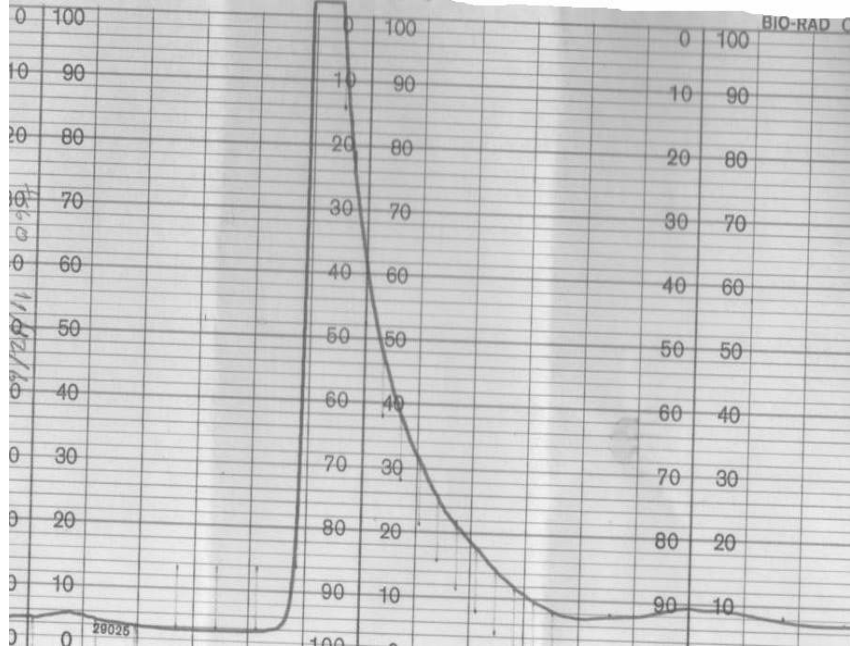


şekil 5.5 $n = \text{BSA/Dekstrin} = 1/10$. 48saat, $^{0}60\text{ C}$.

Aralık: 0,05

İlerleme: 2 cm/h.

Damla sayısı: 40/tüp.



Şekil 5.6 $n = \text{BSA/Dekstrin} = 1/20$, 60 saat, $^{0}60\text{ C}$.

Aralık: 0,05

İlerleme: 2 cm/h.

Damla sayısı: 40/tüp

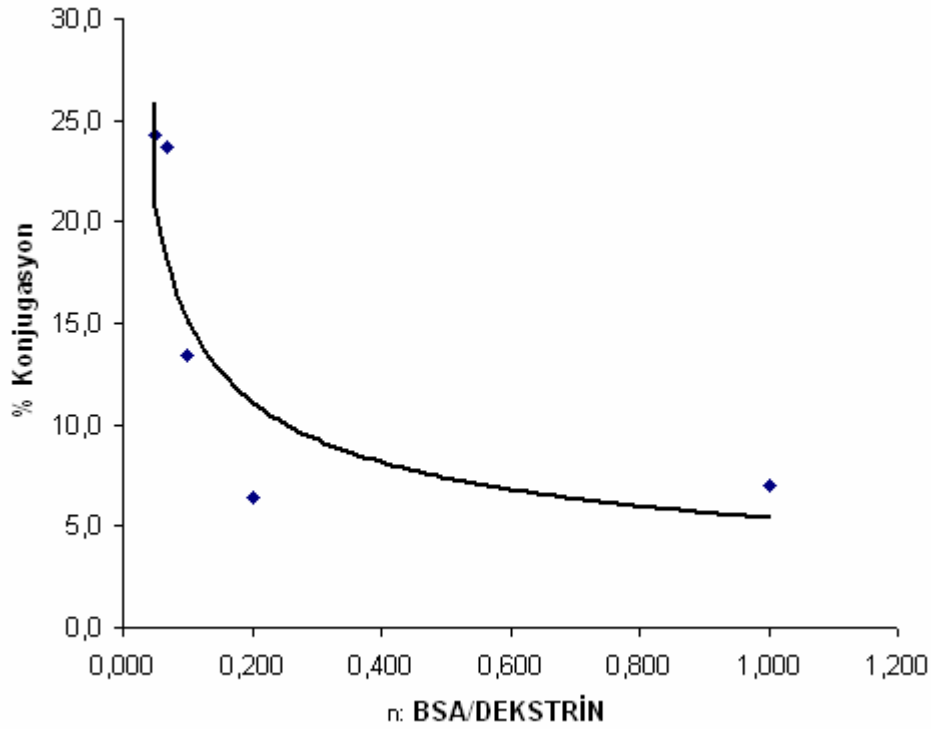
Çizelge 5.1 Farklı mol oranlarında($n_{BSA}/n_{Dextrin}$) konjugatlarının konsantrasyon ve UV-VIS 340 nm absorbands değerleri

$n_{BSA}/n_{Dextrin}$	$C_{tüp}$ (mg/ml)	$(C_{tüp}/66000) \times 10^8$ (mmol/ml)	$\mu M -NH_2$	Y=Absorbans* (340 nm)
BSA	0,0291	40,9	0,409	0,597
1/1	0,0105	15,8	0,158	0,211
1/5	0,0144	21,85	0,218	0,282
1/10	0,073	11,02	0,1102	0,131
1/15	0,0075	11,36	0,1136	0,095
1/20	0,0090	13,57	0,1357	0,105

NOT: Üç adet ölçüm değerinin ortalamasıdır.

Çizelge 5.2. Farklı mol oranlarında($n_{BSA}/n_{Dextrin}$) konjugatlarının $-NH_2$ grubu sayıları

$n_{BSA}/n_{Dextrin}$	Y=Absorbans* (340 nm)	(Y=0,0216X+0,0288) x=*	x/ μM $-NH_2$
BSA	0,597	26,30	64
1/1	0,211	8,44	53
1/5	0,282	11,72	54
1/10	0,131	4,73	43
1/15	0,095	3,079	27
1/20	0,105	3,530	26

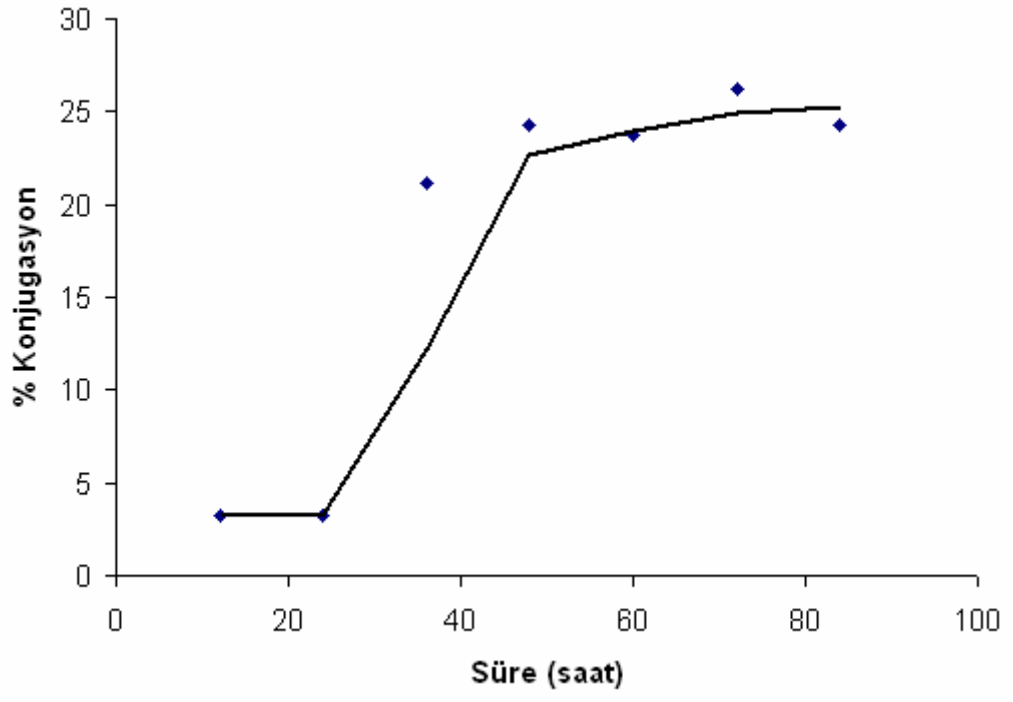
Şekil 5.7 Farklı mol oranlı ($n_{BSA}/n_{Dextrin}$) konjugatlarda % bağlanma oranı.

Çizelge 5.3 Farklı mol oranlarında($n_{BSA}/n_{Dextrin}$) konjugatlarının konsantrasyon ve UV-VIS 340 nm absorbands değerleri

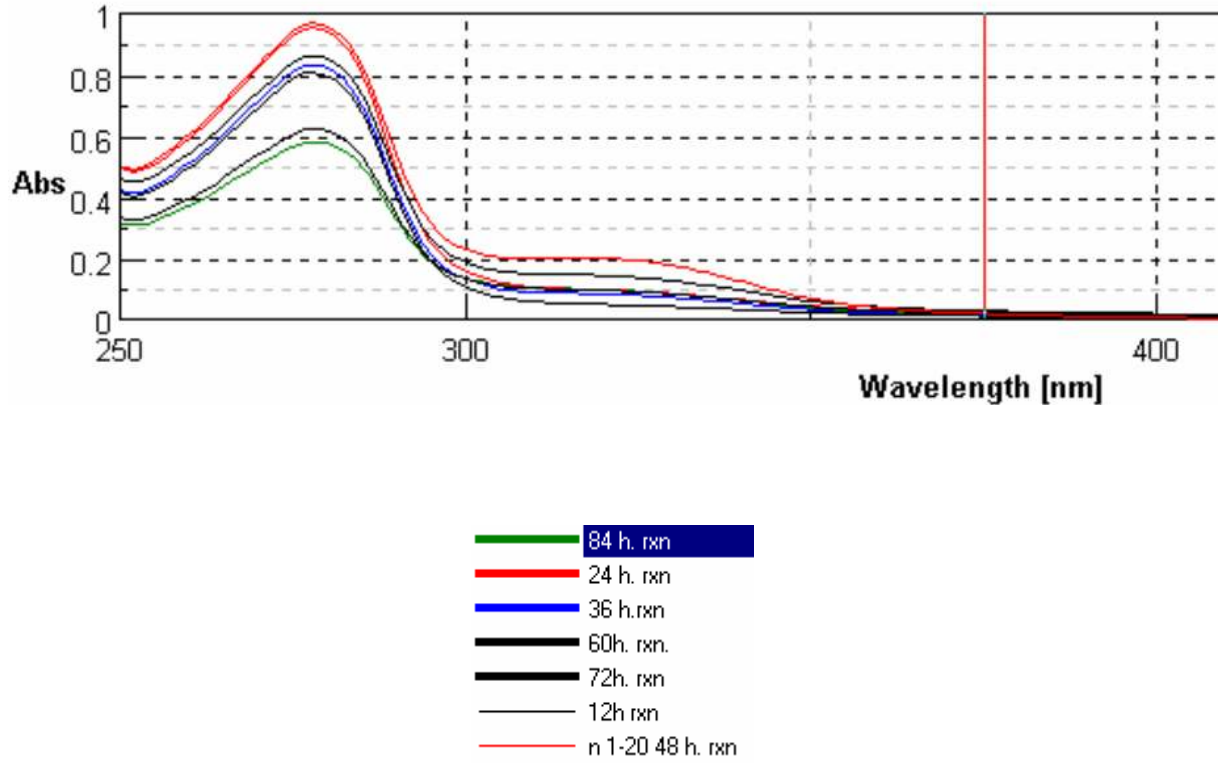
Süre (saat)	$C_{tüp}$ (mg/ml)	$(C_{tüp}/66000) \times 10^8$ (mmol/ml)	$\mu M -NH_2$	Y=Absorbans* (340 nm)
12	0,0064	9,75	0,09752	0,154
24	0,0089	1,34	0,134	0,200
36	0,0068	10,30	0,103	0,0975
48	0,0090	13,57	0,1357	0,105
60	0,0070	10,60	0,106	0,090
72	0,0067	10,20	0,102	0,080
84	0,0084	12,72	0,127	0,100

Çizelge 5.4. Farklı mol oranlarında ($n_{BSA}/n_{Dextrin}$) konjugatlarının $-NH_2$ grubu sayıları

Süre (saat)	Y=Absorbans* (340 nm)	(Y=0,0216X+0,0288) x=*	x/ μ M $-NH_2$
12	0,154	5,80	59
24	0,200	7,93	59
36	0,0975	3,18	31
48	0,105	3,53	26
60	0,090	2,83	27
72	0,080	2,35	23
84	0,100	3,30	26



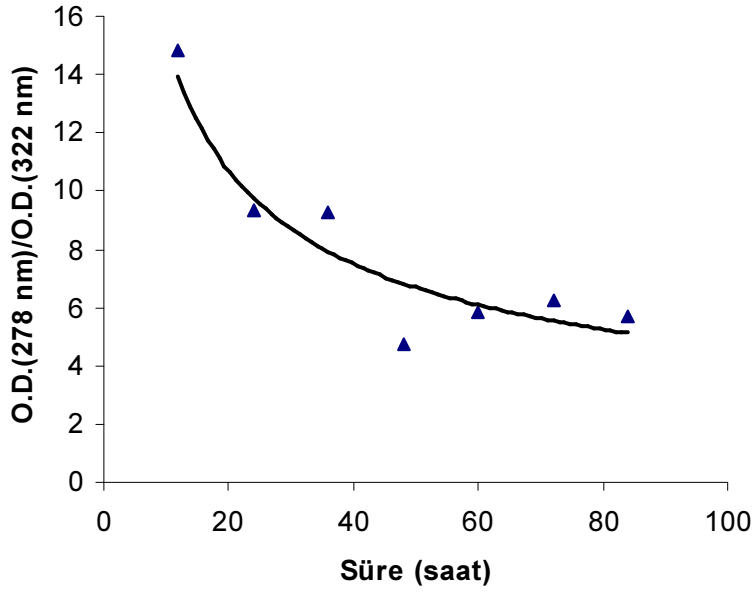
Şekil 5.8 $n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/20 oranlı konjugatın farklı sürelerde (12–84 saat) % konjugasyonu



Şekil 5.9 $n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$: 1/20 farklı sürelerdeki (12–84 saat) reaksiyonun alınan UV-VIS Spektrumları

Çizelge 5.5 $n_{\text{BSA}}/n_{\text{Dextrin}}$: 1/20 oranlı reaksiyonda farklı sürelerde ölçülen absorbans değerleri.

Süre (saat)	Absorbans (278 nm)	Absorbans (322 nm)	Absorbans (278) / Absorbans(322)
12	0,8145	0,0547	14,8
24	0,961	0,1030	9,33
36	0,839	0,0906	9,26
48	0,976	0,2050	4,76
60	0,868	0,01490	5,83
72	0,630	0,1010	6,24
84	0,589	0,1030	5,72



Şekil 5.10 $n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/20 oranlı konjugatın farklı sürelerde (12-84 saat) gerçekleşen reaksiyonunda alınan absorbans değerleri.

Sonuçların değerlendirilmesi;

Bu çalışmada, özellikle gıda endüstrisinde önemi olan Maillard Reaksiyonu BSA ile Dekstrin arasında kovalent bağlanma gerçekleştirilerek incelendi. Reaksiyon aşağıda verildiği şekilde değerlendirildi.

- BSA'nın primer amin gruplarına (lizin) Maillard reaksiyonu ile dekstrinin kovalent olarak bağlanması sağlandı.
- BSA-Dekstrin kovalent bağlanması TNBS reaktifi kullanılarak spektrofotometrik yöntem ile incelendi.
- BSA-Dekstrin bağlanmasında farklı mol oranlı $n_{BSA}/n_{Dextrin}$ konjugatları değerlendirildi. Polimer oranı arttıkça bağlanmanın arttığı gözlemlendi; $n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/15 ve $n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/20 örneklerinde en yüksek bağlanma sağlandı.
- BSA-Dekstrin bağlanmasında $n_{BSA}/n_{Dextrin}$: 1/20 oranlı reaksiyonun farklı sürelerde bağlanma durumu incelendi. 48 saatten sonraki reaksiyonlarda bağlanmanın yaklaşık olarak sabit kaldığı gözlemlendi.
- BSA-Dekstrin konjugatlarının FT-IR spektrumları değerlendirildi.

KAYNAKLAR

- Ashoor, S. H. and Zent, J. B.. Maillard Browning in Common Amino Acids and Sugars", J. Food Sci., 1984, 49, 1206-1207.
- Babiker, E. E., Effect of chitosan conjugation on the functional properties and bacterial activity of gluten peptides. Food Chem., 2002, 79, 367-372.
- Boye, J. I., Alli, I., and Ismail, A. A., Interactions involved in the gelatin of bovine serum albumin. J. Agric. Food Chem., 1996, 44, 996-1004.
- Bozkurt, H., Göğüş, F., Eren, S., Pekmezde Maillard Esmerleşme Reaksiyonlarının Kinetik Modellenmesi, Tr. J. of Engineering and Environmental Science, 1998, 22, 455 (460) Tübitak.
- Brown, J. R., Structure of Bovine serum albumin. Fed. Proc, 1975, 34, 591–591.
- Chronakis, I. S., Crit. Rev. Food Sci, Abstract, 1998, 38, 599.
- Dickinson, E., Galazka, V. B., Emulsion stabilization by ionic and covalent complexes of β -lactoglobulin with polysaccharides. Food Hydrocolloids, 1991, 5 (3), 281–296.
- Domodaran, S., Fennema, O. R., Marcel Dekker, Amino acids, peptides, and proteins, In "Food Chemistry" 3 rd ed. New York, 1996, 321-429.
- Edwards, W. P. J., Soc. Dairy Technol., 1984, 37 (4), 122.
- Eichner, K., Karel, M., The Influence of Water Content and Water Activity on the Sugar-Amino Browning Reaction Model Systems under Various Conditions", Food Chem., 1972, 20, 218-223.
- Hirayama, K., Akashi, S., Furuya, M., Fukuhara, K. I., Rapid confirmation and revision of the primary structure of bovine serum albumin by ESIMS and FRIT-FAB LC/MS. Biochem. Biophys. Res. Commun, 1990, 173, 639–646.
- Hodge, J. E., Chemistry of Browning Reactions in Model Systems", J. Argric. Food Chem, 1953, 1, 928-943.
- Jimenez-Barbero J.,et al., NMR Investigations Of Protein-Carbohydrate Interactions., Eur. J. Biochem., FEBS 2000, 267, 3965-3978.
- Kato, A., Industrial application of Maillard-type protein-polysaccharides conjugates. Food Science and Technology Research, 2002, 8, 193–199.
- Kato, A., Minaki, K., Kobayashi, K., Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1993, 41, 540-543.
- Kato, A., Magdassi, S., Dekker, M., Preparation and functional properties of protein-polysaccharide conjugates. In "Surface Activity of Proteins," ed. New York, 1996pp. 115–130.

Kato, A., Shimokawa, K., Kobayashi, K., Improvement of the functional properties of insoluble gluten by pronase digestion followed by dextran conjugation. *J. Agric. Food Chem.*, 1991, 39, 1053-1056.

Kato, H., Yamamoto, M. and Fujimaki, M., Mechanisms of Browning degradation of D-fructose in special comparison with D-glucose-glycine reaction", *Agric. Biol. Chem.* 1969, 33, 939–940.

Labuza, T. P. and Saltmarch, M., The Nonenzymic Browning Reaction As Affected by Water in Foods", In *Water Activity Influences Food Quality*, Academic Press., New York. 1981

Lloyd N.E., Nelson, W. I., Whistler, R. L. Bemiller, J. N., Paschall, E.F., Editors, *Starch Chemistry and Technology*, Academic Press, Orlando, FL, 1984, 614.

McGillivray, R. T. A., Chung, D.W. and Davie, E.W., Biosynthesis of bovine plasma proteins in a cell-free system. Amino-terminal sequence of preproalbumin. *Eur. J. Biochem.* 1979, 98, 477–485.

McKellar, R. C., Development of off-flavors in ultra-high temperature and pasteurized milk as a function of proteolysis. *Journal of Dairy Science*, 1981, 64, 2138–2145.

Millqvist-Fureby A., Surface Characterisation of freeze-dried protein-carbohydrate mixtures *International Journal of Pharmaceutics* 1999, 191, 2 (30 november), 103–114.

Moon, T. W., et al., Molecular Characteristics of Bovine Serum Albumin-Dextran Conjugates *Bioscience Biotechnol. Biochem.*, 2006, 70 (9), 2070.

Nakamura, S., Shu, Y.W., Sahara, Kato, A., *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 1996, 44, 2544-2548.

O'Brian, J., Morrissey, P. A., Nutritional and Toxicological Aspects of the Maillard Browning Reaction in Foods", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1989, 28, (3), 211–248.

Patterson, J.E., and Geller, D.M., Bovine microsomal albumin: Amino terminal sequence of bovine proalbumin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1977, 74, 1220–1226.

Peters, Jr., T., Serum albumin. *Adv. Protein Chem.*, 1985, 37, 161-245.

Pikal, M., Freeze-drying of proteins: process, formulation and stability, *ACS Symp. Series*, 1994, 567, 120–133.

Reddy, I. M., Kella, N. D. K. and Kinsella, J. E., Structural and Conformational Basis of the Resistance of beta-lactoglobulin to Peptic and Chymotryptic Digestion. *J. Agric. Food Chem.* 1988, 36, 737–741.

Robyt, J. F., Polysaccharide I: structure and function. In "Essentials of Carbohydrate Chemistry," ed. Robyt, J. F., Springer, New York, 1998, 172-227.

Shepherd, R., Robertson, A., Ofman, D., Dairy glycoconjugate emulsifier: casein-maltodextrins. *Food Hydrocolloids*, 2000, 14, 281–286.

Song, K. B., Damodaran, S., Structure-function relationship of proteins: adsorption of structural intermediates of bovine serum albumin at the air-water interface. *J. Agric. Food Chem.*, 1987, 35, 236-241.

Soog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Principles of Instrumental Analysis, fifth edition, 1998.

Tanaka, M., Kimiagar, M., Lee, T.-C., Chichester, C.O., Effect of Maillard browning reaction on nutritional quality of protein. In: Friedman, M. (Ed.), Protein Crossing: Nutritional and Medical Consequences. Plenum Publishing Corp., New York, 1977, 321–341.

Trevor S. Gentry, John S. Roberts., Formation kinetics and applications of 5-hydroxymethylfurfural as a time-temperature indicator of lethality for continuous pasteurization of apple cider, *Innovative Food Science and Emerging Technologies.*, 2004, 5, 327–333.

Silas S.O. et al., Utilization of diets with hydrolyzed potato starch, or glucose by juvenile white sturgeon (*Acipenser transmontanus*), as affected by Maillard reaction during feed processing. *Aquaculture*, 2005, 248, 103–109.

Wilson, R. P., Utilization of dietary carbohydrate by fish. *Aquaculture.*, 1994, 124, 67–80.

Valdivieso, L. A., Cervantes, C. T., Song, S., Cabrera, R. A., Laskowski, J. S., Dextrin as a Non-Toxic Depressant for Pyrite in Flotation with Xanthates as Collector, *Minerals Engineering*, 2004.

Zayas, J. F., Introduction. IN “Functionality of proteins in Food,” Springer, New York, 1997, pp.1-4.

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi	13.02.1979	
Doğum yeri	İstanbul	
Lise	1993-1997	Yabancı Dil Ağırlıklı Orhan Cemal Feri soy Lisesi
Lisans	1998-2003	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	2003- 2007	Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı