

## BUĞDAY GLUTENİN PROTEİNLERİNİN İZOELEKTRİK ODAKLAMA (IEF) YÖNTEMİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Ebru BEYOĞLU Ayten SAĞIROĞLU Hülya YAĞAR

Trakya Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü 22030 EDİRNE

Bu çalışmada, İzoelektrik Odaklama (IEF) tekniği kullanılarak buğdaylarda bulunan glutenin proteinlerini izoelektrik noktasına (*pI*) göre ayırmak amaçlandı.

Trakya Bölgesi'nde ekimi yapılan beş çeşit ekmeklik buğday (Tr. *Vulgare*); *Atilla-12*, *Bezostaya-1*, *Kate A-1*, *Pehlivan* ve *Prostor* unları örnek materyal olarak kullanıldı. İzoelektrik noktaları bilinen standart proteinler olarak Sığır Serum Albumini (BSA),  $\beta$ -Laktoglobulin, Lipaz ve Tripsinojen kullanıldı.

Buğday unları n-bütanol ile muamele edilerek polar lipidler uzaklaştırıldı. Unların içerdiği gluten proteinleri, unların bidestile su ile hamurlaştırılıp bu hamurun yıkanması sonucu elastik, yapışkan ve çözünmeyen hamur formunda elde edildi. % 50 1-Propanol ve 6 M üre ile bu hamurdan ekstrakte edilen glutenin proteinleri 2-Merkaptoetanol ile indirgendi. 6 M üre içeren ekstraktların 1.5 ml'si Sephadex G-200 destek maddesi kullanılarak 1x30 cm ebatındaki kolona uygulandı ve glutenin proteinleri 3 M üre içeren 10 mM Tris.HCl tamponu (pH 8.0) ile elüe edildi. Saflandırılan glutenin proteinleri dializ tüplerinde silikajel yardımıyla konsantre edildi. Örneklerin glutenin proteini miktarları Lowry metoduna göre bulundu.

Bütün örnekler izoelektrik odaklanmaya hazırlandı. pH 3-10 aralığında amfolit içeren poliakrilamid jellere örnekler uygulanmadan önce 15 dak. ön yürütme yapıldı. Bütün örnekler ve standart proteinler jele uygulanarak SE-600 Dikey Dilim Jel Elektroferez Ünitesi'nde 400 Volt'da 4 saatte elektroforetik ayırım gerçekleştirildi.

IEF ile ayrılan protein bantları Coomassie Brilliant Blue R-250 boyası ile boyandı ve boya çıkarma çözeltisi ile görünür hale getirildi.

Bilgisayar bağlantılı scanning dansitometre kullanılarak protein bantları analiz edildi. Dansitometre programı ile her bir protein bandının % alan, Rf ve alan değerleri bulundu. Örnek proteinlerin *pI* değerleri standart proteinlerin Rf değerleri ile *pI* değerleri arasında çizilen standart protein grafiği yardımıyla hesaplandı.

Türkiye'de ekilen buğdaylarda glutenin proteinlerinin ayırımında ilk kez bu method uygulanandı. Beş buğday çeşitinin hepsinde 2-merkaptoetanol varlığında indirgenip, 6 M üre ile ekstrakte edilen örneklerde gluteninlerin çok iyi çözünürleştiği anlaşıldı. Kolon kromatografisi ile saflaştırılan beş örnekte tatmin edici bir saflaştırma sağlanamadı. Beş buğday çeşitinin glutenin proteinleri arasında belirgin protein farklılıklarına rastlanmadı. Bütün örneklerdeki glutenin protein bantlarının izoelektrik noktaları standartlara göre 4-8 arasında tespit edildi.