

**T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**VIŞNE ÇEKİRDEĞİ PROTEİNİNİN MİKROBİYAL TRANSGLUTAMİNAZ  
ENZİMİ İLE MODİFİKASYONUNUN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNE  
ETKİSİ**

**Esra DEMİRKIRAN**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**ŞANLIURFA  
2022**

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa No

|   |     |
|---|-----|
| ÖZET  | i   |
| ABSTRACT  | ii  |
| TEŞEKKÜR  | iii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ   | iv  |
| ÇİZELGELER DİZİNİ   | v   |
| SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ  | vi  |
| 1.GİRİŞ   | 1   |
| 2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR   | 4   |
| 3.MATERYAL ve YÖNTEM  | 10  |
| 3.1.Materyal  | 10  |
| 3.1.1.Vişne çekirdeği   | 10  |
| 3.1.2.Vişne çekirdeğine uygulanan ön işlemler   | 10  |
| 3.1.3.Mikrobiyal transglutaminaz enzimi   | 11  |
| 3.1.4. Kimyasallar  | 11  |
| 3.2. Yöntem   | 11  |
| 3.2.1. Vişne çekirdeği proteini ekstraksiyonu   | 11  |
| 3.2.2. Modifikasyon optimizasyonu   | 13  |
| 3.2.3. Fiziksel ve fizikokimyasal analiz metotları  | 14  |
| 3.2.3.1. Su tutma kapasitesi  | 14  |
| 3.2.3.2. Yağ bağlama kapasitesi   | 15  |
| 3.2.3.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi  | 15  |
| 3.2.3.4. Emülsiyon aktivite indeksi ve stabilitesi  | 16  |
| 3.2.3.5. Çözünürlük analizi   | 17  |
| 3.2.3.6. Renk analizi   | 17  |
| 3.2.3.7. Kitle yoğunluğu (bulk density) ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu (tapped density) | 17  |
| 3.2.3.8. Hausner oranı ve carr indeksi  | 18  |
| 3.2.3.9. Su aktivitesi  | 19  |
| 3.2.3.10. Islanabilirlik  | 19  |
| 3.2.3.11. Nem tayini  | 19  |
| 3.2.3.12.Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)   | 20  |
| 3.2.3.13. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR)                         | 20  |
| 3.2.3.14. XRD ışınlarının kırınımı (XRD) analizi  | 20  |
| 3.2.4. Hidrojel oluşturma özelliği  | 21  |
| 3.2.4.1. Protein-pektin jelleri hazırlama   | 21  |
| 3.2.4.2. Hidrojellerde çözünürlük analizi   | 21  |
| 3.2.4.3. Jel hacim indeksi (VGI)  | 21  |
| 3.2.4.4. Su kaldırma analizi  | 22  |
| 3.2.4.5. Şişme analizi  | 22  |
| 3.2.4.6. Hidrojellerde protein sızıntı analizi  | 23  |
| 3.2.5.İstatistiksel Analizler   | 23  |
| 4.ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA   | 24  |
| 4.1.Vişne Çekirdeği Proteini Modifikasyon Optimizasyonu                                   | 24  |
| 4.2. Vişne Proteini ve Modifiye Edilmiş Vişne Proteinin Fonksiyonel Özellikleri           | 25  |
| 4.2.1. Su tutma kapasitesi  | 25  |
| 4.2.2.Yağ bağlama kapasitesi  | 26  |
| 4.2.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi  | 27  |
| 4.2.4. Emülsiyon aktivite indeksi ve stabilitesi  | 31  |
| 4.2.5. Protein Çözünürlüğü  | 32  |
| 4.2.6. Renk Analizleri  | 33  |
| 4.2.7. Hausner oranı ve carr indeksi  | 34  |
| 4.2.8. Su aktivitesi ( $a_w$ )  | 34  |
| 4.2.9. Islanabilirlik   | 35  |
| 4.2.10. Nem   | 35  |

|  |    |
|--|----|
| 4.3.Enstrümental Analizler   | 35 |
| 4.3.1.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi                     | 35 |
| 4.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopu (FTIR) analizi | 37 |
| 4.3.3.Termal kararlılık (TGA) analizi                                | 38 |
| 4.3.4.X-ray ışınlarının kırınımı (XRD) analizi                       | 39 |
| 4.3.5. Hidrojel Oluşturma Kapasitesi                                 | 40 |
| 5.SONUÇLAR ve ÖNERİLER   | 43 |
| KAYNAKLAR  | 46 |
| ÖZGEÇMİŞ   | 53 |



## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### VİŞNE ÇEKİRDEĞİ PROTEİNİNİN MİKROBİYAL TRANSGLUTAMİNAZ ENZİMİ İLE MODİFİKASYONUNUN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNE ETKİSİ

Esra DEMİRKIRAN

Harran Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN  
Yıl: 2022, Sayfa: 52

Gıda atığı olarak gıda sektöründe yüksek oranda açığa çıkan vişne çekirdeği %29-30 protein içeriğine ve köpük oluşturma, yağ tutma, jelleşme gibi birçok işlevsel özelliğe sahiptir. Vişne çekirdeği proteini bu yönüyle gıda sektörüne doğal bir gıda ingrediyesi kazandırmak için iyi bir hammadDEDİR. Bu çalışmada vişne çekirdeği proteini mikrobiyal transglutaminazla modifiye edilerek emülsiyon aktivitesi, emülsiyon stabilitesi, yağ bağlama kapasitesi, su tutma kapasitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi gibi fonksiyonel özelliklerindeki değişimler karşılaştırılmıştır. Su tutma kapasitesi vişne çekirdeği proteininde  $0.66\pm 0.00$  g/g iken modifiye vişne çekirdeği proteininde tamamen suda çözündüğü için belirlenmemiştir. Yağ tutma kapasitesi vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininde sırasıyla  $1.53\pm 0.06$  g/g,  $8.48\pm 0.28$  g/g olarak bulunmuştur. Maksimum çözünürlük pH 12.0' de vişne çekirdeğinde %  $99.12\pm 0.21$ , modifiye vişne çekirdeği proteininde %  $96.51\pm 0.21$  olarak gözlemlenmiştir. Minimum çözünürlük pH 4.0'te vişne çekirdeği proteini için % $9.24\pm 0.62$ , modifiye vişne çekirdeği proteininde minimum çözünürlük değeri % $12.41\pm 0.56$  olarak gözlemlenmiştir. Özellikle pH 6.0 değerinde vişne çekirdeği proteininde (% $48.71\pm 2.49$ ), modifiye vişne çekirdeği proteininde (% $91.75\pm 0.55$ ) çözünürlük değeri pH değerleri arasında istatistiksel olarak büyük bir artış göstermiştir. Vişne çekirdeği proteini emülsiyon aktivite indeksi  $45.3\pm 1.63$  m<sup>2</sup>/g ve stabilitesi  $15.10\pm 0.03$  dk, modifiye vişne çekirdeği proteini emülsiyon aktivite indeksi  $65.82\pm 0.27$  m<sup>2</sup>/g ve stabilitesi  $26.19\pm 0.95$  dakika olarak belirlenmiştir. pH 4.0' te vişne çekirdeği proteininde köpük oluşumu gözlenmezken modifiye vişne çekirdeği proteininde köpük oluşturma kapasitesi %31, 10. dk 'da %28, 30. dk' da %26 olarak gözlemlenmiştir. pH 10 değerinde vişne çekirdeği proteininde köpük oluşturma kapasitesi %57 iken 10. dakikada köpük stabilitesi %48, 30. dakikada köpük stabilitesi %35 gözlemlenirken modifiye vişne çekirdeği proteininde de köpük oluşturma kapasitesi %68 iken 10. dakikada köpük stabilitesi %64, 30. dakikada köpük stabilitesi %35 olduğu gözlemlenmiştir. Hidrojel oluşturma özelliğinde ise pektin ve modifikasyonun daha kararlı ve güçlü bir jel formu sağladığı görülmüştür. Vişne çekirdeği ve modifiye vişne çekirdeği proteini teknofonksiyonel özellikleri karşılaştırıldığında modifikasyonun fonksiyonel özelliklerde iyileşme sağladığı belirlenmiştir. Üretilen modifiye proteinin teknofonksiyonel özellikleri incelendiğinde elde edilen proteinin gıda işleme aşamalarında kullanım alanı bulabileceği sonucuna varılmıştır.

**ANAHTAR KELİMELER:** Mikrobiyal transglutaminaz enzimi, vişne çekirdeği proteini, fonksiyonel özellikler, çapraz bağlanma, enzimatik modifikasyon

## ABSTRACT

MSc Thesis

### EFFECT OF MODIFICATION OF CHERRY SEED PROTEIN BY MICROBIAL TRANSGLUTAMINASE ENZYME ON FUNCTIONAL PROPERTIES

Esra DEMİRKİRAN

Harran University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN

Year: 2022, Page:52

Cherry seed, which is highly exposed in the food industry as food waste, has a protein content of % 29-30 and many functional properties such as foaming, oil retention and gelling. In this respect, sour cherry seed protein is a good raw material to bring a natural food ingredient to the food industry. In this study, the changes in functional properties such as emulsion activity, emulsion stability, oil binding capacity, water holding capacity, foaming capacity and stability were compared by modifying sour cherry seed protein with microbial transglutaminase. While the water holding capacity was  $0.66\pm 0.00$  g/g in the cherry kernel protein, it could not be determined in the modified sour cherry kernel protein since it was completely water-soluble. The oil holding capacity was found to be  $1.53\pm 0.06$  g/g and  $8.48\pm 0.28$  g/g in cherry seed protein and modified cherry seed protein, respectively. Maximum solubility was observed as %  $99.12\pm 0.21$  in cherry kernel and %  $96.51\pm 0.21$  in modified sour cherry kernel protein at pH 12.0. The minimum solubility was %  $9.24\pm 0.62$  for the cherry seed protein at pH 4.0, and the minimum solubility value was %  $12.41\pm 0.56$  for the modified cherry seed protein. Especially at pH 6.0, the solubility value of cherry seed protein ( $48.71\pm 2.49$ ) and modified cherry seed protein ( $91.75\pm 0.55$ ) showed a statistically significant increase between pH values. Sour cherry seed protein emulsion activity index was  $45.3\pm 1.63$  m<sup>2</sup>/g and stability was  $15.10\pm 0.03$  min, modified sour cherry kernel protein emulsion activity index was  $65.82\pm 0.27$  m<sup>2</sup>/g and stability was  $26.19\pm 0.95$  minutes. While no foam formation is observed in the cherry kernel protein at pH 4.0, the foaming capacity of the modified sour cherry kernel protein is %31. It was observed as 28% at the 10th minute and % 26 at the 30th minute. While the foaming capacity of the cherry core protein at pH 10 is % 57, the foam stability is % 48 at the 10th minute and % 35 at the 30th minute, while the foaming capacity of the modified cherry core protein is % 68, while the foam stability is % 64 at the 10th minute and % 35 at the 30th minute. It has been observed that pectin and modification provide a more stable and strong gel form in hydrogel formation. When the technofunctional properties of cherry kernel and modified sour cherry kernel protein were compared, it was determined that the modification provided improvement in functional properties. When the technofunctional properties of the produced modified protein were examined, it was concluded that the obtained protein could be used in food processing stages.

**KEY WORDS:** Microbial transglutaminase enzyme, cherry kernel protein, functional properties, cross linking, enzymatic modification

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin süresince bilgi ve birikimiyle beni motive eden, farklı bakış açıları ve bilimsel katkılarıyla beni aydınlatan, hiçbir konuda desteğini esirgemeyen kıymetli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Karaaslan' a, Sayın Prof. Dr. Hasan VARDİN'e, Sayın Doç. Dr. Mehmet Fatih YILMAZ'a, tez çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım ve hocam Dr. Öğr. Üyesi Ümran CANSU'ya ve Arş. Gör. Dr. Bülent BAŞYİĞİT'e, laboratuvar çalışmam sırasında yardımcı olan doktora öğrencisi Gülbahar Akyar, doktora öğrencisi Melike Yüçetepe ve doktora öğrencisi Merve Akalan ve emeği geçen öğrenci arkadaşlara, bugüne kadar gerek maddi gerekse manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, benim bu günlere gelmemde büyük rol oynayan aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| Şekil.3. 1.Vişne-vişne çekirdeği-vişne çekirdeği proteini  | 10              |
| Şekil.3. 2.Soğuk pres makinası   | 11              |
| Şekil.3. 3.Vişne çekirdeği protein özütleme akış şeması  | 12              |
| Şekil.3. 4.Modifikasyon işlemi akış şeması   | 13              |
| Şekil.4. 1. VÇP ve MVÇP KOK grafiği  | 29              |
| Şekil.4. 2. VÇP ve MVÇP 10.dakikada köpük stabilitesi grafiği  | 30              |
| Şekil.4. 3.VÇP ve MVÇP 30.dakikada köpük stabilitesi grafiği   | 30              |
| Şekil.4. 4.Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin farklı pH değerlerindeki çözünürlüklerinin karşılaştırılması | 33              |
| Şekil.4. 5. Vişne çekirdeği proteini-Modifiye vişne çekirdeği proteini   | 34              |
| Şekil.4. 6.Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin SEM görüntüleri  | 36              |
| Şekil.4. 7. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR) verileri   | 37              |
| Şekil.4. 8.Termogravimetri analizi diyagramları  | 38              |
| Şekil.4. 9.X-ray ışınlarının kırınımı (XRD) spektroskopisi görüntüleri   | 40              |
| Şekil.4. 10.Vişne çekirdeği proteini-pektin ve modifiye vişne çekirdeği proteini-pektin oluşturduğu hidrojel görüntüleri.                | 42              |

## ÇİZELGELER DİZİNİ

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| Çizelge.3. 1. Deneme Deseni  | 14              |
| Çizelge.4.1.Belirlenen denemelerde yapılan analizlerden bağımlı değişkenlerin sonuçları                                | 24              |
| Çizelge.4.2.Vişne Çekirdeği Proteini ve Modifiye Vişne Çekirdeği Proteininin fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri | 26              |
| Çizelge.4.3.Vişne Çekirdeği Proteini ve Modifiye Vişne Çekirdeği Proteininin Oluşturduğu Hidrojelin Özellikleri        | 41              |



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

|              |   |
|--------------|---|
| aw           | Su aktivitesi   |
| dk           | Dakika  |
| g            | Gram  |
| kg           | Kilogram  |
| L            | Litre   |
| m            | Kütle   |
| mL           | Mililitre   |
| $\mu$ L      | Mikrolitre  |
| $\mu$ m      | Mikrometre  |
| M            | Molar   |
| N            | Normalite   |
| rpm          | 1 dakika içerisinde gerçekleştirilen dönüş/devir sayısı |
| sa           | Saat  |
| sn           | Saniye  |
| $\omega$     | Omega   |
| v            | Hacim   |
| $^{\circ}$ C | Santigrat derece  |
| EAI          | Emülsiyon Aktivite indeksi                              |
| EOİ          | Emülsiyon Oluşturma İndeksi                             |
| ES           | Emülsiyon Stabilitesi                                   |
| ESI          | Emülsiyon Stabilite İndeksi                             |
| KOK          | Köpük Oluşturma Kapasitesi                              |
| KS           | Köpük Stabilitesi                                       |
| MTGaz        | Mikrobiyal Transglutaminaz Enzimi                       |
| MVÇP         | Modifiye Vişne Çekirdeği Proteini                       |
| STK          | Su Tutma Kapasitesi                                     |
| VÇ           | Vişne Çekirdeği   |
| VÇP          | Vişne Çekirdeği Proteini                                |
| YBK          | Yağ Bağlama Kapasitesi                                  |

## 1. GİRİŞ

Dünyadaki nüfusun artışıyla protein kaynakları giderek azalırken buna bağlı olarak alternatif proteinlere duyulan ihtiyaç artmaktadır. Proteinler, vücudun gelişim, büyüme ve onarımı için ve sağlıklı bir yaşam için günlük alınması gereken elzem besin öğeleridir. Son zamanlarda insanların bilinçlenerek daha sağlıklı daha doğal besinlere yönelmesi, veganlık/vejeteryanlık gibi beslenme tercihleri, alım gücü zayıf olan kesimler için hayvansal protein alımının maliyeti ve ulaşılabilirlik sorunu, hayvansal proteinin fazla tüketiminin kalp damar hastalıklarını tetiklemesi ve nüfus artışı insanlığı alternatif protein arayışına yöneltmiştir. Bu noktada araştırmalarda ve tüketimde en iyi kaynak olarak bitkisel proteinler tercih edilmektedir. Bitkisel proteinlerin besleyici özellik yönünden zengin, daha ucuz ve ulaşılabilir, daha çevre dostu ve birçok fonksiyonel özellikleri olması hayvansal proteine iyi bir alternatif protein kaynağı olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. Ucuz ve ulaşılabilir bir protein kaynağı yetersiz beslenme sorununun giderilmesinde büyük bir avantaj sağlama potansiyeline sahiptir.

Yapılan araştırmalar gıda üretiminde kullanılan katkı maddelerinin yerine çeşitli fonksiyonel özellikleri sayesinde bitkisel proteinlerin kullanılabilmesini göstermiştir. Bugüne kadar gıda atığı olarak ortaya çıkan meyve-sebze çekirdeği, kabuğu, sapı, yaprağı gibi ürünler genelde ya doğaya atık olarak bırakılıp çevre kirliliğine neden olmuş ya da yem üretimi, biyoyakıt üretiminde kullanılmıştır. Yapılan araştırmalarla gıda sektöründe açığa çıkan bu yan ürünlerin protein, yağ, mineral gibi birçok besin öğesi yönünden zengin olduğu ve birçok fonksiyonel özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda bitkisel yan ürünlerin değerlendirilerek protein gibi bileşenlerinin tekrar gıda sektöründe hammadde ve ingrediyen olarak kullanılması için çalışmalar ve araştırmalar artmıştır.

Bitkisel proteinler; %48—70 protein içeren protein konsantresi ve bunun yanında %90 dan fazla protein içeren protein izolatu formunda üretilerek gıda sektöründe kullanılmaktadır (Moure ve ark., 2006; Sari ve ark. 2015).

Gıda sektörü her kaynağın alternatifinin arayışına gitmeye başlamış ve bu araştırmalar sonucunda bitkisel proteinler gıda formülasyonlarında teknofonksiyonel özellikleri ve tekstürü geliştirmek için tercih edilmeye başlanmış ve sektörde sık kullanılan soya ve süt proteinlerine alternatif olmuştur. Farklı kaynaklardan elde edilen bitkisel proteinler; ticari olarak kullanılan izolatlarla karşılaştırıldığında birçok fonksiyonel özellik yönünden eşdeğer olduğu belirlenmiştir (Yavuz ve Özçelik, 2016).

Bitkisel proteinlerin birçok avantajına rağmen gıda formülasyonlarında az kullanılmasının başlıca sebepleri; aminoasit çeşitliliğinin hayvansal proteinlere göre daha az olması, protein dışındaki fitik asit, oligosakkaritler gibi diğer bileşenlerin bulunması, fonksiyonel özelliklerinin gerektiği kadar iyi ve stabil olmamasıdır (Moure ve ark., 2006; Day, 2013).

Gıda atığı olarak yüksek oranda açığa çıkan vişne çekirdeği atık yönetimi ve doğanın korunması açısından ciddi bir sorundur. Vişne çekirdeği jel oluşturma, köpük oluşturma ve yağ bağlama gibi birçok işlevsel özelliğe sahiptir. Vişne çekirdeği proteini bu yönüyle gıda sektörüne doğal bir gıda ingrediyesi kazandırmak için iyi bir hammaddedir. Daha önce yapılan çalışmalarda vişne çekirdeğinin bileşimi ve fonksiyonel özellikleri araştırılmıştır(Çelik ve ark., 2019).

Bu bilgiler doğrultusunda kalıcı çözümler bulmak için teknofonksiyonel özelliklerin artırılmasının ve iyileştirilmesinin gerekliliği ön plana çıkmaktadır. Fonksiyonel özellikleri güçlendirmek ve stabil hale getirilmesi için bazı modifikasyonlar gerekmektedir. Bu modifikasyon yöntemlerinden en etkili ve toksik olmayan yöntem enzimatik modifikasyondur.

Transglutaminaz enziminin gıda sektöründeki uygulamaları araştırılmış ve bu enzimin proteinlerin fonksiyonel özelliklerini büyük bir oranda iyileştirdiğini ve eklendiği gıdanın özelliklerini, tekstürünü ve verimini artırdığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı moleküler modifikasyonların vişne çekirdeği proteinlerinin teknofonksiyonel özellikleri üzerine etkisini araştırmaktır ve araştırmanın spesifik hedefleri şu şekilde sıralanabilir:

- 1.Vişne çekirdeği proteininin mikrobiyal transglutaminazla modifiye edilerek zayıf fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilerek daha kararlı yapılar elde edilmesi
- 2.Daha etkin ve daha stabil fonksiyonel özelliklere sahip, gıdaların üretiminde katkı maddesi kullanılmadan eklendiği ürüne istenilen özellik ve tekstürü kazandıran doğal bir bitkisel protein elde etmek
- 3.Gıda üretim basamakları sırasında açığa çıkan meyve çekirdeği gibi besinsel değeri yüksek yan ürünlerin tekrar değerlendirilerek kullanımın sağlanması ve bir çevre atık probleminin önüne geçilmesi

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Genellikle hayvansal bazlı proteinlerin elde edilmesi için harcanan enerji ve su miktarının bitkiselere göre fazla olması ve hayvan besleme arttıkça doğaya salınan sera gazının arttığına araştırmalarla tespit edilmesi gıda araştırmalarının bitkisel proteinlere yönelmesine neden olmuştur (Asgar ve ark. 2010; González ve ark., 2011).

Vişne çekirdeğinin %29.3 protein, %46.6 karbonhidrat ve %17 toplam yağ içeriği ile besin değerinin yüksek olduğu analiz sonuçları ile belirlenmiştir. Vişne çekirdeği Glutamik asit içeriği yüzde 27.96, arginin içeriği yüzde 9 ve ayrıca prolin, aspartik asit, fenil alanin, glisin, lisin, alanin ve serin gibi zengin ve esansiyel aminoasit içeriğine sahip olduğu tespit edilmiştir (Eryılmaz, 2016).

Vişne çekirdeği proteininin jelleşme konsantrasyonu 6.0g/100g protein, köpük oluşturma kapasitesi %37.5 ve yağ bağlama kapasitesi 3.56g/g protein değerleri ile soya proteinine kıyasla daha iyi fonksiyonel özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir (Eryılmaz, 2016).

Çelik ve ark. (2019), vişne çekirdeği proteinlerinin ekstraksiyonu için optimum pH değeri 10.0 ve proteinlerin çökeltilmesi için optimum pH değeri 4.5 olarak belirlemiş, vişne çekirdeği proteininin fonksiyonel özellikler olarak maksimum çözünürlüğü pH 12.0' da %92.96, minimum çözünürlük % 12.41 ile pH 5.0' da gözlemlenmiş, su tutma kapasitesini 2.42 g su/g, yağ tutma kapasitesini 1.73 g yağ/g ve köpük oluşturma kapasitesini %35,00 emülsiyon aktivite indeksi ve stabilitesini sırası ile 38.91 m<sup>2</sup>/g ve 3,49 dak, asgari jelleşme konsantrasyonu ise %8 olarak belirlemişlerdir.

Enzimatik modifikasyonda enzimlerin sadece o reaksiyona özgü olması ve buna bağlı olarak da toksik bir etkisinin olmaması modifikasyonda tercih edilme sebeplerindedir.

Protein jelleşmesi, sütlü tatlılar, hazır çorbalar, jöle kıvamı istenen birçok formülasyonda ve et ürünlerinde istenen, gıdaların üretim aşamalarında önemli olan bir fonksiyonel özelliktir. Proteinin jel oluşturma ve bünyesinde su ve istenilen diğer bileşenlerini tutma kapasitesi, gıda üretiminde büyük önem taşır. Protein jelleşmesini sağlamak için, tuz veya nişasta gibi pıhtılaştırma özelliği olan maddelerin eklenmesi, asitliği artırma, enzimatik reaksiyonlar ısıtma ve soğutma gibi yöntemler uygulanmaktadır (Wang ve Moraru, 2021; Zhang ve ark., 2014; Zhou ve ark., 2020).

Yavuz ve Özçelik (2016), yaptığı çalışmada bitkisel proteinlerin jelleşme özelliğini karşılaştırmış ve yaygın olarak kullanılan soya protein izolatının baklagillerden ve bezelye protein izolatından daha güçlü ve elastik bir jel yapısı oluşturduğunu, kanola proteininin ise yapısındaki fenolik bileşenlerden dolayı zayıf bir jel yapısı oluşturduğunu belirlemiştir.

Pektin gibi polisakkaritlerle karıştırma ve enzimle modifikasyon jelleşme kapasitesini geliştirmek ve daha kararlı jeller elde etmek için kullanılan bazı yöntemlerdir. Pektin FDA tarafından güvenli bir katkı maddesi olarak kabul edilmiştir (FDA, 2020).

Transglutaminaz enzimi; amin birleşmesi, proteinler arasında oluşturduğu kovalent bağlar proteinlerin çapraz bağlanmasını sağlayan ve deamidasyon tepkimeleri ile proteinlerin polimerizasyonunu katalizleyen tek uygun enzimdir. Gıdalarda istenilen tüketicinin tercih edeceği pürüzsüz bir tekstür ve viskoelastik yapı; gıda üretimi sırasında oluşan fiziksel çapraz bağların ve kovalent bağların dayanıklılığına ve aralarındaki dengeye bağlıdır. Tgaz, daha sağlam jel formu oluşturma, mekanik olarak daha dayanıklı ürünler elde etme, yağ emülsiyonları kullanımını azaltılarak istenilen yapı ve pürüzsüz tekstürü elde etme, ürün besin içeriğini aminoasitlerle zenginleştirme, gıda katkı maddelerinin kullanımını azaltma gibi amaçlarla araştırmalarda ve gıda işleme teknolojisinde kullanılmaktadır. Mikrobiyal Tgaz (MTgaz) enzimi proteinler arasında oluşturduğu kovalent bağlar proteinlerin çapraz bağlanmasını sağlar ve polimerizasyonunu katalizler. MTgazın kontrollü kullanımı; emülsiyon damlacıklarından ağ yaratmada ve gıda kolloidlerinde proteinle

kaplı ara yüzeylerin kararlı kılınmasında potansiyel bir yeni yöntemdir. MTgaz'ın iki tane glikolizasyon bölgesine sahip olduğu ve monomerik bir protein olduğu düşünülmektedir. MTgaz pH 4 ve pH 9 arasında enzimatik aktivite göstermesine rağmen optimum çalışma pH aralığı 5-8 arasında olduğu belirlenmiştir. Buradan da anlaşılacağı gibi MTgaz geniş bir pH aralığında kararlıdır. Enzim maximum 70°C'de bir iki dakika aktivite gösterebilirken 10°C ile donma noktasında çok az aktivasyon göstermiştir. Tgaz için iyi bir substrat olan lizinin ε-amino grubu primer amindir. Bu reaksiyonlarda lizin içeren aminoasit açıl alıcı, protein ise açıl verici olarak çalışır. Bu açıl alıcı peptidlerin modifikasyona uğramadığı tespit edilmiştir. Aynı zamanda reaksiyonda, proteinler açıl alıcı, sadece glutaminli peptidlerde peptid açıl verici grup olarak görev yaparken lizin veya glutaminli peptidlerin modifikasyona uğramayarak sadece substrat olduğu belirlenmiştir (Yüksel ve Erdem, 2008).

Eryılmaz (2016),' in yaptığı çalışmada pH 9' da maksimum %99.2 ve nötr pH da %85.3'lük çözünürlük değeriyle vişne çekirdeği proteini, birçok bitki proteininden daha iyi çözünürlük gösterdiği belirlenmiştir. Vişne çekirdeği protein izolatının zengin polar aspartik asit %7.55, serin %4.49 ve glisin %6.52 aminoasit kalıntıları içerdiği tespit edilmiştir. In vitro sindirilebilirliği %93.91 ve %95.72 olarak tespit edilmiş, vişne çekirdeği proteininin emülsifiye etme aktivitesi %44.86 ve emülsiyon stabilite değeri %96.58 olarak bulunmuştur. Optimum koşullarda (pH 8.5 katı / çözücü oranı: 1/10, 1 saat) ekstrakte edilen vişne çekirdeği proteininin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilite değerleri sırasıyla %450 ve %76 (60 dakikada) tespit edilmiştir. Köpük stabilitesi ölçümleri 10, 30 ve 60. dakikada yapılmış 10 dakikada köpük stabilite değeri %91.30 dakikada %83'e ve 60 dakikada %76 olarak ölçülmüştür.

Yılmaz (2012),' in yaptığı çalışmada vişneden elde ettiği posada neoklorojenik, ferulik ve kafeik asit, kateşin renksiz fenolikler, glikozitler, klorür antosiyaninler olarak tespit edilmiş, antosiyanin ve fenolik bileşikler yönünden zengin olan vişne çekirdeğinin doğal katkı maddesi olarak kullanılabileceği belirlenmiştir.

Karaaslan ve ark. (2016),’nın yaptığı çalışmada vişnelerde toplam fenolik-flavonoid içeriğinin olgunlaşma sırasında azaldığını, aynı dönemde toplam antosiyanin içeriğinin önemli ölçüde arttığını belirlenmiştir.

Yılmaz ve ark. (2018), vişne çekirdeğinin kompozisyonu ve fonksiyonel özellikleri konusunda yaptıkları derlemede vişne meyvesinin endüstriyel atığı olan çekirdeğin, yeni fonksiyonel gıda geliştirmeleri için geri kazanılabilecek değerli miktarlarda biyolojik bileşikler içerdiğini vurgulamışlardır.

Yılmaz (2013),’ in yaptığı çalışmada yapılan analizler sonucunda beyaz un ile vişne çekirdeğinin kıyaslandığında su ve yağ tutma kapasitesinin ve emülsiyon stabilitesinin rafine beyaz undan daha iyi olduğu, köpük oluşturma özelliği az fakat stabilitesinin diğer bitkisel proteinlere göre daha uzun olduğu gözlemlenmiştir. Böylece fırıncılık ürünlerinde ve puding meyve suyu gibi ürünlerde tercih edilebileceği belirtilmiştir.

Tuna (2015),’ nın yaptığı çalışmada vişne çekirdeği unu eklenen kekte unun su kaldırma kapasitesinde düşüş, jelatinizasyonda gecikme, yumuşaklıkta artış, kekin besinsel değerinde artış olmuştur.

Transglutaminaz enzimi ile süt ürünlerinde yapılan çalışmalarda jel oluşturma, su bağlama, emülsiyon oluşturma ve protein çözünürlüğü gibi fonksiyonel özelliklerde iyileşme olduğu ve en iyi sonucun yoğurtta elde edildiği ifade edilmektedir (Karahana, 2015).

Sun ve Arntfield (2011), yaptığı çalışmada transglutaminaz enziminin, bezelye protein izolatu jel oluşturma kapasitesini ve jel elastikiyetini artırdığını, Pinterits ve Arntfield (2008), ise yaptığı çalışmada kanola proteinlerinin transglutaminaz enzimi ile yapılan uygulamada jel oluşturma kapasitesinin ve jel kalitesinin iyileştiğini belirlemişlerdir (Sun ve Arntfield, 2011; Pinterits ve Arntfields, 2008).

TGaz enziminin oluşturduğu çapraz kovalent bağlar sayesinde yoğurdun jel formunda sıklık artmış ve dolayısıyla geçirgenlik azalmış, yapılan çalışmalardan yağ azaltılmış yoğurtlarda kullanıldığında daha iyi tekstür elde edilmiş ve depolama süresince asitliğin daha yavaş düştüğünden raf ömrünü uzattığı gözlemlenmiştir (Karahan, 2015).

Imm ve ark.(2000), Tgaz enziminin yağsız yoğurtlarda su bağlama kapasitesinin ve jel oluşturma özelliğinde önemli bir artış meydana geldiğini belirlemişlerdir.

Özer ve ark. (2007), yaptıkları çalışmada TGaz enziminin yoğurtlarda serum ayrılmasının azalmayı sağladığı ve bunun sebebi olarak proteinler arasında oluşan kovalent bağların jel yapısını kuvvetlendirerek serumun suzmasını önlemesi olduğunu belirtmişlerdir.

Şanlı ve ark. (2011), yaptıkları araştırmada, MTGaz eklenmiş ayranında oluşan çapraz bağlar sayesinde jel yapısının daha sıkılaştığı ve bu jel formu içinde proteinlerin düzenli bir dağılım gösterdiği ve oluşan çapraz bağların artması ile ağ yapının yoğunlaştığı gözeneklerin azaldığı bunun sonucunda serum ayrılmasında azalma ve viskozitede önemli oranda artış gözlenmiştir.

Han ve Spradlin (2008), yaptıkları çalışmalarda mikrobiyal transglutaminaz enziminin serum proteinlerinin kazeinatlara bağlanma etkisini arttırdığını, cottage peynirinde orijinal tat ve tekstüründe bir fark oluşturmadan verimin arttığını ve peynir içinde daha fazla peynir altı suyu proteini tutulumunu sağladığı sonucuna ulaşmışlardır.

Metwally (2007), yaptığı bir çalışmada dondurmaların transglutaminaz enzimi ile muamele edilerek yapıldığında daha az stabilizatör kullanılarak istenilen fiziksel ve duyuşal özelliğe sahip az yağlı dondurma üretimi yapılabileceğini belirlemiştir.

Yüksel ve Erdem (2008), in yaptığı çalışmada MTgaz kullanımı ile oluşan çapraz bağların; et jelleri ve kıymalı et ürünlerinde sıklığın arttığı, kullanılan MTGaz

miktarı arttıkça pişirme sırasında ağırlık kaybının azaldığı, ürün sertliği ve çiğnenebilirliğinde ise artış olduğu, artırılan MTGaz miktarı ile bazı sosislerde sarı rengin azaldığı dolayısıyla gıdaların elastikiyeti, tekstür, tat ve görünüşünde gelişme sağladığı belirtilmiştir. Bu sonuçlara göre et ve et ürünleri üretiminde fosfat ve tuz kullanılmadan MTGaz ile istenilen tekstürde ve özellikte bir et ürünü elde edilebileceği sonucuna varılmıştır.



### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Vişne çekirdeği

Yapılan çalışmadaki vişne çekirdeği (VÇ) Isparta Mavi Deniz A.Ş. firmasından tedarik edilmiştir. Temizlenmiş ve kurutulmuş bir şekilde gelen çekirdekler soğuk presleme yöntemi ile vişne çekirdeği yağı (VÇY) nın bir kısmı uzaklaştırılarak öğütülmüştür.



Şekil.3. 1. a: vişne, b: vişne çekirdeği, c: vişne çekirdeği proteini

##### 3.1.2. Vişne çekirdeğine uygulanan ön işlemler

Yağ çıkarma işlemi Tuan Makina Sp 1560 S marka laboratuvara uygun soğuk pres makinesi ile yapılmıştır (Şekil 3.2.). Ön çalışmalarda optimize edilmiş parametreler 12 rpm sıkma hızı 12 rpm olarak, çıkış ucunun çapı 12 mm olarak çıkış sıcaklığı en fazla 100 °C belirlenmiş yağ çıkartma ve öğütülmüş-yağsız posa çıkarma işlemi gerçekleştirilmiştir (Şengün, 2019).



Şekil.3. 2.Soğuk pres makinası

### 3.1.3. Mikrobiyal transglutaminaz enzimi

Çalışmada kullanılan transglutaminaz enzimi Benosen Gıda San. Ve Tic. A.Ş. isimli firmadan temin edilmiştir.

### 3.1.4. Kimyasallar

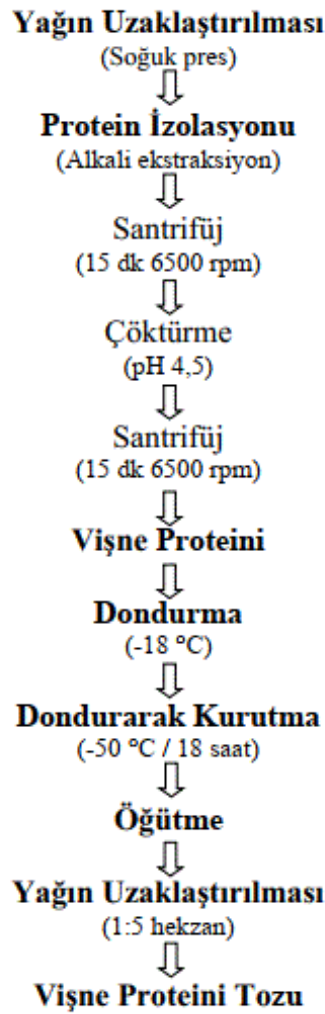
Çalışmada kullanılan kimyasallar Merck ve Sigma firmalarından temin edilmiştir ve analitik saflıktadırlar.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Vişne çekirdeği proteini ekstraksiyonu

Protein izolatu, alkali ekstraksiyon – izoelektrik çöktürme metodu ile ekstrakte edilmiştir. Vişne çekirdeği, soğuk pres makinesi ile yağın bir kısmı alınarak ince bir yağsız posa elde edilmiş, bu posadan 10 gr tartılıp üzerine 290 ml distile su ile karıştırılarak 0.1 N NaOH ile pH 7.8'e ayarlanıp bir saat süre ile çalkalamalı inkübatör ile oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Karışım 6500 rpm'de 4°C' de 15 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra üste ayrılan süpernatant bir behere alınarak 1 M HCl ile pH

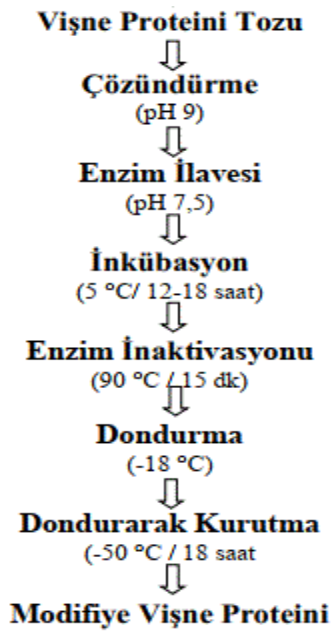
4.5' a ayarlanıp dibe çöken kısım falcon tüplerine alınır ve tekrar 6500 rpm, 4°C' de 15 dakika süre ile santrifüj edilmiştir. Dibe çökmüş olan protein supernatantdan ayrılıp önce -18 °C' de dondurulduktan sonra dondurarak kurutma(freeze) yöntemi ile -50°C' de 18 saat süreyle kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Donmuş olan örnekler ince bir tabaka halinde olduğu için bir öğütme işlemi ile toz forma getirilmiştir. Proteinde kalan yağı uzaklaştırmak için kurutulmuş toz hegzanla muamele edilip etüvde 50 °C de 1-2 saat kurutulmuştur. Elde edilen toz halindeki kurutulmuş protein ağzı kapalı bir kapta 4°C' de muhafaza edilmiştir.



Şekil.3. 3.Vişne çekirdeği protein özütlemeye akış şeması

### 3.2.2. Modifikasyon optimizasyonu

MTGaz enziminin vişne proteini üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla enzim/protein oranı ve muamele süresi bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Belirlenen enzim/protein oranı ve sürelerde VÇP ve MTGaz sabit sıcaklıkla (5 °C) muamele edilmiştir. Kurutulmuş toz halindeki 5 gr VÇP ve 50 ml saf su ile karıştırılarak bir sulu çözelti elde edilerek 0.1 N NaOH ile pH 9.0 olarak ayarlandı. Proteinlerin tamamen çözünmesi için ısıtılmalı manyetik karıştırıcıda 10 dakika karıştırıldı. Daha sonra çözeltinin pH değeri 0.1 M HCl ile enzimin optimum aktivite gösterdiği pH değeri olan 7.5' e ayarlandı. Oda sıcaklığında deneme deseninde belirlenen oranlarda MTGaz enzimi eklenerek 1 dakika manyetik karıştırıcıda karıştırıldı. Daha sonra çözeltinin bulunduğu kabın ağzı parafilm ve alüminyum folyo ile kapatılarak +5 °C deneme deseninde belirlenen süre boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sona erdiğinde sıcak su banyosunda 90°C' de 15 dakika bekletilerek enzimin inaktivasyonu sağlandı. Oda sıcaklığına gelen çözelti polipropilen(pp) kaplara dökülerek önce -18 °C dondurulup daha sonra bu çözelti dondurarak kurutma cihazı ile -50°C 18 saat kurutulup toz haline getirildi ve analizler yapılana kadar ağzı sıkıca kapalı olacak şekilde buzdolabında 4 °C de saklanmıştır.



Şekil.3. 4.Modifikasyon işlemi akış şeması

Çizelge.3. 1. Deneme Deseni

| Deneme no | Protein Miktarı(gr) | Enzim Miktarı(gr) | Süre(sa) |
|-----------|---------------------|-------------------|----------|
| 1         | 5                   | 1                 | 12       |
| 2         | 5                   | 0.5               | 12       |
| 3         | 5                   | 0.25              | 12       |
| 4         | 5                   | 1                 | 18       |
| 5         | 5                   | 0.5               | 18       |
| 6         | 5                   | 0.25              | 18       |

Deneme desenindeki parametrelerden optimum noktanın tespiti için yağ bağlama, emülsiyon stabilitesi ve emülsiyon aktivitesi bağımlı değişkenler olarak seçilmiştir. Yapılan ön çalışmalar doğrultusunda 6 deneme gerektiren bir optimizasyon çalışması oluşturulmuştur.

### 3.2.3. Fiziksel ve fizikokimyasal analiz metotları

#### 3.2.3.1. Su tutma kapasitesi

Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin su tutma kapasitesinin (STK) hesaplanması için darası alınmış olan 50 mL'lik falcon tüplerine 1 g örnek tartılarak 10 mL saf su eklenmiştir. Elde edilen çözelti 1 sa boyunca 15 dakikada bir 3-4 saniye karıştırılmıştır. Örnekler 1 sa bittiğinde 6 500 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Örneğin üstteki kısımda ayrılmış olan sıvı kısmın uzaklaştırılması için falcon tüpü 30 dk 45° lik açı ile filtre kâğıdı üstünde süzdürülerek süre sonunda tüpün son tartımı yapılmıştır. VÇP ve MVÇP (%) su tutma kapasitesini hesaplamada Eşitlik 3.1.'deki formül kullanılmıştır (Cho ve ark., 2004).

$$STK (\%) = \frac{(N3-N2)-N1}{N1} \times 100$$

(3.1)

Bu eşitlikte;

N1: Protein tozu örneğinin ağırlığı (g)

N2: Santrifüj tüpünün darası (g)

N3: Son tartım (g) olarak tanımlanmıştır.

### 3.2.3.2. Yağ bağlama kapasitesi

Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin yağ bağlama kapasitesinin (YBK) hesaplanması için darası alınmış olan 50 mL' lik falcon tüplerine 1 g örnek tartılıp daha sonra 10 mL Ayçiçek yağı (Sole) eklenmiştir. Elde edilen çözelti 1 sa boyunca her 15 dk' da bir 5 sn karıştırılmıştır. Örnekler 1 sa bittiğinde 6 500 rpm hızda çalışan santrifüj cihazında 10 dk santrifüjlenmiştir. Üst kısımda ayrılmış olan sıvı kısmın uzaklaştırılması için falcon tüpü 45<sup>0</sup>C açı ile 30 dk boyunca filtre kağıdından süzdürülerek son tartım alınmıştır. VÇP ve MVÇP yağ bağlama kapasitesi (%) Eşitlik 3.2.' deki formülle hesaplanmıştır (Cho ve ark.,2004).

$$YBK (\%) = \frac{(N3-N2)-N1}{N1} \times 100 \quad (3.2)$$

Eşitlikte;

N1: Protein tozu örneğinin ağırlığı (g)

N2: Santrifüj tüpünün darası (g)

N3: Son tartım (g) olarak verilmiştir.

### 3.2.3.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Freeze yöntemi ile kurutulan numunelerden falcon tüpleri içerisine 0.5 g tartılarak üzerine 40 ml saf su konulduktan sonra çözeltiler hazırlanarak vorteks cihazı ile hızlı bir şekilde karıştırılarak proteinlerin çözünmesi sağlanmıştır. Çözeltiler 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ve 12.0 olmak üzere 6 farklı pH değerine ayarlanmış ve vorteks ile karıştırıldıktan sonra ölçülü silindire hemen aktarılmıştır. 50 ml saf su eklenerek ultraturax cihazı ile 10 000 rpm 1 dk karıştırılıp 0.dk'daki hacim kaydedilmiştir(V1). Daha sonra 10. ve 30. dk' da köpük hacimleri ölçülerek değerler yazılmıştır. Köpük oluşturma kapasitesi (KOK) ile köpük stabilitesi (KS) hesaplanırken 3.3' deki formül kullanılmıştır. (Li ve ark.,2020)

$$KOK (\%) = \frac{V1-V0}{V0} \times 100 \quad (3.3)$$

$$KS10 (\%) = \frac{V2-V1}{V1} \times 100 \quad (3.4)$$

$$KS30 (\%) = \frac{V3-V2}{V2} \times 100 \quad (3.5)$$

Bu eşitlikte;

V0: Başlangıçta hazırlanan çözelti hacmi (mL)

V1: Homojenizasyondan hemen sonra ölçülü silindire aktarılan çözelti hacmi (mL)

V2: Homojenizasyondan 10 dak sonraki çözelti hacmi (mL)

V3: Homojenizasyondan 30 dak sonraki çözelti hacmi (mL)

KS10: 10. dakikada köpük stabilitesi

KS30: 30.dakikada köpük stabilitesi olarak tanımlanmıştır.

#### 3.2.3.4. Emülsiyon aktivite indeksi ve stabilitesi

Numunelerin EAI ve ESI analizleri Pearce ve Kinsella (1978),’nın belirlediği yöntemle yapılmıştır. Elde edilen vişne proteini ve modifiye edilmiş protein örneklerinden saf su ile %1’lik çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltinin pH değeri 9.0-10.0’ a ayarlanarak sıcak su banyosunda ve sonrasında manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak proteinin çözünmesi sağlanmıştır. Herbirinden 30 ml alınan protein çözeltisi 10 mL ayçiçek yağı ile karıştırılmış ve 24 °C 10 000 rpm hızda 1 dk süreyle ultraturrax cihazı ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminin bitiminde ve homojenizasyondan 10 dakika beklendikten sonra herbir örnekten 50 µL alınarak %0.01’lik SDS çözeltisi kullanılarak yüz kat seyreltilmiştir. İşlem sonrası vorteks ile 15 sn karıştırılmıştır. Seyreltilen örneklerin spektrofotometrede baz alınan dalga boyu 500 nm seçilerek ölçümü yapılmıştır. Elde edilen absorbanlar kullanılarak ham vişne proteini ve modifiye edilen protein örneklerinin emülsiyon aktivitesi indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) 3.6 ve 3.7’ de verilen formüllerle hesaplama yapılmıştır.

$$EAI(m^2/g) = (2 \times 2.303 \times A0 \times N) / (C \times \emptyset \times 10000) \quad (3.6)$$

$$ESI(dk) = (A0 \times 10) / (A0 - A10) \quad (3.7)$$

A0: Homojenizasyondan hemen sonra okunan absorbanans  
A10: 10'uncu dakikada okunan absorbanans  
N: Seyreltme faktörü  
C: Protein miktarı (g/mL)  
Ø: Yağın hacim fraksiyonu (0.25)

### 3.2.3.5. Çözünürlük analizi

Protein örneklerinin çözünürlük analizi Liang ve Tang (2013), tarafından belirlenen yöntem modifiye edilerek uygulanmıştır. Her bir örnekten 0.1 g tartılarak üzerine 5 mL saf su ilave edilmiştir. Protein çözeltilerinin pH değerleri 0.5 M HCl ve 0.1 N NaOH kullanarak 2-10 arasında ayarlanmıştır. Daha sonra kullanılan HCl ve NaOH çözeltileri miktarına göre çözelti toplam hacmi 10 mL' ye tamamlanmıştır. Hazırlanan örnekler çalkalamalı inkübatörde 90 dak boyunca 150 rpm'de karıştırılmıştır. Örneklerin çözünmeyen kısımlarının uzaklaştırılması için 5000 rpm de santrifüjlenerek süpernatant kaba filtreden geçirilmiştir. Elde edilen süpernatantların protein içeriği Biüret metodu ile belirlenmiştir (Gornall ve ark., 1949). Kuru kitledeki protein miktarı kheldal yöntemine göre tespit edilmiştir (AOAC, 1990). Örneklerin % çözünürlük değerleri, kuru kitledeki toplam proteine oran olarak belirlenmiştir.

### 3.2.3.6. Renk analizi

Numunelerin (vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini) aydınlık koordinatı ( $L^*$ ), kırmızılık koordinatı( $a^*\pm$ ), sarılık koordinatı( $b^*\pm$ ) değerlerinin belirlenmesi Hunter Lab cihazıyla gerçekleştirilmiştir (Duangmal ve ark., 2008). Numunelerden cihaz haznesine yerleştirilerek iki tekerrürlü analizler yapılmış ve değerler kaydedilmiştir.

### 3.2.3.7. Kitle yoğunluğu (bulk density) ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu (tapped density)

Küme yoğunluğu; toz formdaki numunelerin yoğunluğunu ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Küme yoğunluğu toz formdaki örneğin kapta kapladığı hacimden yararlanılarak hesaplanmaktadır. Numunelerden 5 g tartılarak tartım sonucu

not edilmiştir. Daha sonra tartılan numuneler 50 mL'lik mezüre boşaltılmasından hemen sonra ölçülmüştür(Tatar ve ark., 2014). Küme yoğunluğu aşağıda verilen formülle hesaplanmıştır (Eşitlik 3.8.).

$$d = \frac{m}{v} \quad (3.8)$$

Bu eşitlikte;

d: Küme yoğunluğu (g/ml)

m: Tartılan tozun kütlesi (g)

v: Tozun hacmi (ml) olarak tanımlanmıştır.

Sıkıştırılmış yoğunluk için örneklerin bulunduğu mezür düz yüzey üzerinde elle 200 defa yere vurularak toz zerreciklerin sıkışması sağlanmış ve sonra numunelerin hacmi mezür üzerindeki değerlerden okunmuştur. Toz numunelerin hacmi vuruldukça azalmış ve zerrecikler arası boşluklar her vurmada dolarak zerrecikler sıkışmıştır. Bütün boşluklar dolduğunda hacim sabitlenmiştir(Tatar ve ark., 2014). Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu aşağıda verilen formülle hesaplanmaktadır (Eşitlik 3.9.).

$$\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk} = \frac{\text{Tozun Ağırlığı (g)}}{\text{Sıkıştırılmış Hacim (ml)}} \quad (3.9)$$

### 3.2.3.8. Hausner oranı ve carr indeksi

Hausner oranı; toz numunelerin yığın yoğunluğu ile sıkıştırılmış yoğunluklarının birbirine oranı ile hesaplanır. Toz örneklerde Hausner oranı ile akışkanlık ters korelasyon göstermektedir. Toz numunelerde  $1.25 <$  Hausner oranı ise iyi akışkanlık gösterdiği,  $1.25 >$  Hausner oranı ise düşük akışkanlık gösterdiği anlamına gelmektedir (Davies, 2004). Hausner oranı hesaplaması aşağıda verilen formülle hesaplanmıştır (Eşitlik 3.10.).

$$\text{Hausner Oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk}}{\text{Yığın Yoğunluğu}} \quad (3.10)$$

Toz örneklerin akış özelliği ve Carr indeksi ters korelasyon göstermektedir. Carr indeksi 10 ve 38 arasında değerlendirilmekte ve carr indeksi değeri arttıkça akışkanlık azalmaktadır(Calafato ve Pico, 2004). Carr indeksi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (Eşitlik 3.11.).

$$\text{Carr İndeksi} = \frac{\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk} - \text{Yığın Yoğunluğu}}{\text{Sıkıştırılmış Yoğunluk}} \times 100 \quad (3.11)$$

### 3.2.3.9. Su aktivitesi

Pre Aqua LAB ölçme cihazı kullanılarak toz protein numunelerinin (vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini) su aktivitesi (aw) ölçülmüştür. Yaklaşık 3 g numune, cihazın haznesine konulmuş ve ölçüm sonucu sabitlenene kadar oda sıcaklığında (25±1 °C) bekletilmiş ve numunelerin aw değerleri dijital göstergeden bakılarak kaydedilmiştir. Analiz üç tekerrür yapılmış ve standart sapması hesaplanmıştır.

### 3.2.3.10. Islanabilirlik

Toz numunelerden 1 g tartılmış ve 100 mL lik beher içerisine 20 °C ‘ de 100 ml su konularak numunelerin yüzeyde tamamen ıslanma süresi kaydedilmiştir(Turchiuli ve ark., 2005).

### 3.2.3.11. Nem tayini

Toz numunelerin (vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini) nem miktarını hesaplamada gravimetrik yöntem kullanılmıştır. Etüvde kurutulup desikatörde soğuyan ve sabit tartıma gelmiş olan kapların önce darası alınıp sonra üzerine 0.5 g örnek tartılmış ve 105 °C’de 24 sa süre ile etüvde kurumaya bırakılmıştır. 24 saat dolunca kaplar etüvden alınıp sabit tartıma gelinceye kadar desikatörde tutulmuş ve tekrar kuruyan numunelerle beraber son tartım yapılarak kaydedilmiştir. % nem aşağıdaki formül (Eşitlik 3.12.) kullanılmıştır (İçyer, 2012).

$$Nem (\%) = \frac{N2-N3}{N1} \times 100$$

(3.12)

Bu eşitlikte;

N1: Numunenin ilk ağırlığı (g)

N2: Numunenin ilk ağırlığı ve kap ağırlığı (g)

N3: Petri ve kurutulmuş numune miktarı (son tartım) (g) olarak belirtilmiştir.

### 3.2.3.12. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM)

Protein numunelerinin morfolojik yapılarının incelenmesi için taramalı elektron mikroskobu kullanılmıştır. Net görüntü için numuneleri kaplamada poladyum kullanılmış, SEM görüntüleri için ZEİSS(Almanya) marka taramalı elektron mikroskobu kullanılarak parametre olarak 30 kV vakum ve x5000 büyütme belirlenmiştir (Lin et al., 2020).

### 3.2.3.13. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR)

FTIR numunedeki bağların pozisyonunu, yapısını, amino guruplarını belirleyen bir cihazdır. IRTracer-100 model Shidmadzu Corforation firmasına ait (Kyota, Japan) FTIR spektrofotometresi kullanılmış, cihazda kullanılan çalışma verileri 4000 ile 500  $\text{cm}^{-1}$  bölgede olacak şekilde 1  $\text{cm}^{-1}$  veri aralığına ayarlanmıştır. Numuneler Potasyum bromürle hazırlanmış ve oda sıcaklığında kaydedilmiştir (Xiong ve ark., 2016).

### 3.2.3.14. XRD ışınlarının kırınımı (XRD) analizi

Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin yapıları XRD-6000 (Shimadzu, Tokyo, Japan) cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Tüm örnekler  $\text{CuK}\alpha$  radyasyon dalga boyunda ve 40 kV'de 1.54 amstrong (Å), ve 0.02 'lik artış aralığı ile 5° ve 60° arasındaki açılar aralığında analiz gerçekleştirilmiştir (Ghribi ve ark., 2015).

### 3.2.4. Hidrojel oluşturma özelliği

#### 3.2.4.1. Protein-pektin jelleri hazırlama

Bir gün önceden %2' lik hazırlanan pektin çözeltisi 5 saat 20°C' de çalkalamalı inkübatör ile sürekli karıştırılarak hidrasyonu sağlanmış ve gece boyunca buzdolabında muhafaza edilmiştir. Kullanımdan önce çıkarılarak oda sıcaklığına gelmesi beklenmiştir (Wang ve ark., 2020). Örneklerden oda sıcaklığında 3 g tartılıp üzerine 10 ml saf su eklenerek seyreltilmiştir. Hazırlanan çözeltiler 5 saat 20°C de çalkalamalı inkübatörde sürekli karıştırılmış, 1 gece buzdolabında bekletilerek daha iyi hidrate olması sağlanmıştır. Kullanımdan önce buzdolabından çıkarılıp hafif oda sıcaklığına getirilen çözeltinin üzerine daha önceden hazırlanan %2' lik pektin çözeltisinden 1:1 oranında eklenerek karışımların pH değeri 6.0' a ayarlanmıştır. 1 saat boyunca 20°C' de karıştırıldıktan sonra küçük cam bardaklara streç konularak içerisine karışım dikkatlice dökülmüştür. Sıcaklık kontrollü bir su banyosunda 90°C' de 90 dakika ısıtılmış ve çıkarılıp buzlu su içerisinde soğuk şok uygulanarak soğutulmuştur. 1 gece buzdolabında bekletilen jeller analizden önce buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına (20 °C) gelmesi beklenmiştir (Zhuang ve ark., 2020).

#### 3.2.4.2. Hidrojellerde çözünürlük analizi

5 mg örnek alınarak üzerine 5ml saf su eklenerek 30 dk çalkalamalı inkübatörde karıştırıldıktan sonra 10 dakika santrifüj cihazında santrifüjlenmiştir. Daha sonra çözeltinin üst fazından 20µl alınarak üzerine 1 µl Bradford çözeltisi eklenerek 5 dk beklenmiştir. Spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Bradford, 1976).

#### 3.2.4.3. Jel hacim indeksi (VGI)

10 ml lik mezürlere 5 ml yüksekliğinde hazırlanan jellerden koyularak ilk yüksekliği kaydedildikten sonra 24 saat 7 °C' de bekletilmiştir. Daha sonra jelin son

yüksekliği tekrar ölçülerek elde edilen veriler aşağıdaki Eşitlik 3.8. ile hesaplama yapılmıştır.

$$VGI = \frac{VG}{VT} \times 100 \quad (3.13)$$

VG: Jel hacmi(ml)

VT: Toplam hacim(ml)

#### 3.2.4.4. Su kaldırma analizi

2 g jel örneklerden tüplere alınarak ilk tartımı yapıp kaydedilmiştir. Daha sonra 3000 rpm de 20 dakika santrifüjlenir. Filtre kâğıdı konulmuş hunilerin üzerine 45° eğik konularak su fazın süzülmesi sağlanmıştır. Tüpte kalan jelin son tartımı alınarak aşağıdaki Eşitlik 3.14. ile hesaplanmıştır (Wu ve ark.,2009).

$$WHC = \frac{W_2}{W_1} \times 100 \quad (3.14)$$

W2: Son Tartım (g)

W1: ilk tartım(g)

#### 3.2.4.5. Şişme analizi

Silindirik bir örnek kütlesi jelin merkezinden (10 mm yüksekliğinde 8 mm çapında) alınarak tartımı yapılmıştır. Plastik bir süzgeç ile süzülerek tampon solüsyona (150 ml pH:7.0) ya da 50 ° C de deiyonize su içerisine 15 dakika daldırılmıştır. Çıkarılan jelin etrafındaki sular hafifçe alınarak işlem sonunda son tartımdaki değer kaydedilmiştir. Aşağıdaki Eşitlik 3.15 ile hesaplama yapılmıştır (Ozel ve ark.2017).

$$\text{Şişme Oranı (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{W_0} \times 100 \quad (3.15)$$

W1: Şişmiş Jelin ağırlığı(g)

W0: Jelin başlangıç ağırlığı(g)

**3.2.4.6. Hidrojellerde protein sızıntı analizi**

2 gr jel örnek üzerine 8 ml (0,05M pH:7.0) sodyum fosfat tamponu eklenerek 30 dakikada bir karıştırılmak üzere 2 saat bekletilmiştir. Daha sonra 4000 rpm de 10 dk santrifüjledikten sonra supernatantdaki çözünür protein miktarı Bradford yöntemi ile ölçülmüştür. Spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okuma yapılmıştır (Wang ve ark., 2013).

**3.2.5. İstatistiksel Analizler**

Yapılan bütün denemeler ve analizler en az üç tekerrür şeklinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel değerlerinin belirlenmesi için Chicago, USA üretimi olan paket programı 22.0 SPSS SPSS Inc. kullanılarak hesaplamalar yapılmıştır.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

### 4.1. Vişne Çekirdeği Proteini Modifikasyon Optimizasyonu

Vişne çekirdeği soğuk pres makinesi ile yağı alınarak yağsız posa elde edilmiştir. Bu posadan alkali ekstraksiyon ve izoelektrik nokta ile çöktürme yöntemi ile protein ekstrakte edilip dondurarak kurutma yöntemi ile kurutulmuş ve kalan yağ ise hegzanla uzaklaştırılmıştır. Elde edilen VÇP etüvde kurutularak ağzı kapalı şekilde buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Modifikasyon işlemi belirlenen çalışma koşullarında deneme deseninde belirlenen enzim/protein oranı ve sürelerde uygulanmıştır. Modifikasyonun optimum koşullarını belirlemek için bağımlı değişkenler; emülsiyon aktivitesi, emülsiyon stabilitesi, yağ bağlama kapasitesi olarak seçilmiştir. Yapılan ön çalışmalar doğrultusunda 6 deneme gerektiren bir optimizasyon çalışması yapılmıştır. Denemelerde yapılan analizlerden elde edilen veriler Çizelge 4.1. de verilmiştir. Analiz sonuçları doğrultusunda optimum nokta 5°C' de 1/20 enzim /protein oranı ve 18 saat modifikasyon süresi olan deneme şartlarında sağlanmış ve söz konusu değişkenler optimum örnek üretmek için çalışma parametreleri olarak kabul edilmiştir. Optimum koşullarda üretilen MVÇP, doğrulama analizlerinin tekrar yapılması için ve ileri analizler için kullanılmıştır. VÇP ve optimum MVÇP belirlenen analizler yapılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Çizelge.4. 1. Belirlenen denemelerde yapılan analizlerden bağımlı değişkenlerin sonuçları

| Deneme No | Enzim/protein oranı | Süre(sa) | EAI(m <sup>2</sup> /g) | ESİ(dk)    | YBK(g/g)  |
|-----------|---------------------|----------|------------------------|------------|-----------|
| D1        | 1/5                 | 12       | 52.16±0.65             | 14.44±0.16 | 2.70±0.00 |
| D2        | 1/10                | 12       | 53.31±0.19             | 13.83±0.11 | 2.79±0.20 |
| D3        | 1/20                | 12       | 61.37±0.19             | 15.39±0.12 | 7.00±0.05 |
| D4        | 1/5                 | 18       | 57.19±0.38             | 27.35±0.57 | 3.34±0.02 |
| D5        | 1/10                | 18       | 57.19±1.15             | 17.42±0.04 | 7.85±0.31 |
| D6        | 1/20                | 18       | 65.82±0.19             | 26.19±0.67 | 8.48±0.20 |

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.(n=3)

## 4.2. Vişne Proteini ve Modifiye Edilmiş Vişne Proteinin Fonksiyonel Özellikleri

### 4.2.1. Su tutma kapasitesi

Gıdaya eklenen katkı maddelerinin ürünün bünyesindeki tuttukları su, son ürünün duyuusal fiziksel özelliklerini, viskozitesini, karakteristik yapısını etkiler. Bu durum bazı gıdalarda geliştirilmek istenen bir özellik iken bazı gıdalarda da istenmeyen bir durum olarak karşımıza çıkabilir. Örneğin su tutma kapasitesi viskozite değeri yüksek olması istenen hamur, çorba, sütlü tatlı ve fırıncılık ürünleri sektörü için istenen bir fonksiyonel özelliktir. Suyun tutulması istenen durumlarda protein yapılarının çözünme göstermeden suyu bünyesinde tutarak viskoziteyi arttırıp son ürüne kıvamlı bir form sağlaması istenmektedir (Seena ve Sridhar, 2005). Görüldüğü gibi proteinlerin su tutma kapasitesi gıda üretim sektöründe önemli bir fonksiyonel özelliktir. Proteinin su tutma kapasitesi şekline, boyuta, hidrofobik-hidrofilik etkileşimlere bağlıdır. Su tutma özelliğini ortamdaki yağ, karbohidrat varlığı ve ayrıca ortamdaki aminoasitlerin niteliği de etkilemektedir (Saldamlı ve Temiz, 1998).

VÇP su tutma kapasitesi  $0.66\pm 0.00$ g/g olarak bulunmuştur. MVÇP için yapılan su tutma kapasitesi analizinde protein tamamen çözündüğünden dolayı bir sonuç kaydedilememiştir (Çizelge.4.2). Yapılan araştırmalar sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde VÇP su tutma kapasitesi, Fernandez-Quintela ve ark. (1997)' nin yaptığı araştırmada bakla proteini (1.8 g/g) , soya proteini (1.3 g/g) ve bezelye proteininden (1.7 g/g) , mahlep çekirdeği protein konsantresi 2.81g/g(Güzel,2011) kayısı çekirdeği içi proteini 1.4 g/g (Sharma ve ark., 2010) ile 3.87-5.60 g/g çözünürlük gösteren pirinç kepeği konsantresinden (Chandi ve Sogi, 2006) daha azdır.

Çizelge.4. 2. Vişne Çekirdeği Proteini ve Modifiye Vişne Çekirdeği Proteininin fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri

|  | Vişne proteini | Modifiye vişne proteini |
|--|----------------|-------------------------|
| Su tutma kapasitesi (g/g)                | 0.66±0.00      | -                       |
| Yağ bağlama kapasitesi (g/g)             | 1.53±0.06      | 8.48±0.28               |
| Emülsiyon aktivitesi (m <sup>2</sup> /g) | 45.3±1.63      | 65.82±0.27              |
| Emülsiyon stabilitesi (dk)               | 15.10±0.03     | 26.19±0.95              |
| L*                                       | 88.87±0.00     | 70.87±0.00              |
| a*                                       | 0.85±0.00      | 1.34±0.00               |
| b*                                       | 11.38±0.00     | 6.92±0.00               |
| Hausner oranı                            | 1.43±0.12      | 1.36±0.03               |
| Carr indeksi                             | 30.20±6.05     | 26.59±1.50              |
| Su aktivitesi                            | 0.17±0.00      | 0.46±0.00               |
| Islanabilirlik (dk)                      | 4.01±0.02      | 46.5±0.73               |
| Nem(%)                                   | 4.26±0.35      | 1.35±0.04               |

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.(n=3)

#### 4.2.2. Yağ bağlama kapasitesi

Gıdaların duyuşsal ve fiziksel özelliklerini etkileyen en önemli faktörlerden biri de yağ ve proteinlerin arasındaki interaksiyonlardır. Bu etkileşimler sıcaklık, pH ve ortamdaki diğer değişkenlere bağlı farklılık gösterebilirler. Proteinlerin üzerine yapılan araştırmalarda hidrofobitesini yüksek çözünürlüğü ise düşük olan protein moleküllerinin yağ bağlama kapasitesi daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Düşük yoğunluklu, partikül boyutu küçük protein toz formlarının da yüksek yoğunluklu formlara oranla yağ bağlama kapasitesi daha yüksek olduğu belirlenmiştir(Cheftel ve ark., 1985). VÇP ile MVÇP yağ bağlama kapasitesi sonuçları Çizelge 4.2' de verilmiştir. VÇP yağ bağlama kapasitesi 1.53±0.06 g/g iken MVÇP YBK 8.48±0.28 g/g bulunmuştur. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında MVÇP YBK önemli ölçüde artış göstermiştir. Modifikasyon işlemi yağ bağlama kapasitesinde pozitif yönde etki göstermiştir.

Elde ettiğimiz verilere göre literatürle karşılaştırıldığında MVÇP' nin yağ bağlama kapasitesi; Fernandez-Quintela ve ark. (1997)' nin yaptığı araştırmada baklagillerde YBK 1.20 g/g ile bezelye proteini, soya proteini ise 1.10 g/g, bakla proteini 1.60 g/g, 1.18 g/g YBK ile keten tohumu (Martinez-Flores ve ark., 2005), 3.32 g/g YBK ile kaju izolatu (Ogunwolu ve ark., 2009), 1.40 g/g YBK ile kayısı çekirdeği izolatu (Sharma ve ark., 2010), YBK 1.66 g/g(Güzel,2011) olarak belirlenen mahlep çekirdeği içi proteini, 2.93 g/g YBK ile badem izolatu (Sze-Tao ve ark., 2000) gibi

birçok tohum ve meyve çekirdeği izolatu ve konsantrelerinden büyük bir farkla daha yüksektir. Yüksek yağ tutma kapasitesi ile gıda üretiminde kullanılan pek çok katkıdan daha iyi fonksiyonel özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir. STK ve YBK, proteinlerin emülsifikasyon kapasitesini değerlendirmek için önemli parametrelerdir (Ren ve ark., 2019).

#### 4.2.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Köpük; sıvı tabakasından ince bir form ile ayrılmış hava hücrelerinden oluşan bir sistemdir. Bu sistem pek stabil değildir. Köpük tabakanın stabilitesini artırmak için hava/su fazı arasında gerilimin hızla düşürülmesi gerekmektedir. Bunun içinde bazı yüzey aktif maddeler kullanılmaktadır. Köpük oluşturma özelliği; protein hidrofobikliği, ara yüzey özelliği ve ayrıca köpük tutma kabiliyetine sahip proteinin en önemli fizikokimyasal özelliklerinden biridir (Dakhili ve ark., 2019). Köpük oluşumu için en önemli faktör çırpma ya da hava enjekte etme işlemi sırasında su/hava arasında oluşan ara yüzeydeki gerilimin hızlı bir şekilde düşürülmesidir (Makri ve ark., 2005). Protein türü, hazırlama metodu, çözünürlüğü, kompozisyonu ve konsantrasyonu ayrıca ortam pH'sı, ortamdaki tuz varlığı ve hidrofobik interaksyonlar köpük oluşumu ve stabilitesini etkilemektedir. Aynı zamanda farklı uygulama ile oluşan bazı reaksiyonlar ve moleküllerdeki değişimler köpük oluşumunu etkilemektedir. Köpük oluşumunu ve stabilitesini etkileyen faktörler arasında net yük, moleküler esneklik, yük dağılımı, yüzey hidrofobitesi, hidrodinamik özellikler de bulunmaktadır (Massoura ve ark., 1998). Proteinler mükemmel hidrofilik-hidrofobik aminoasit dengesi ortamında yüksek çözünürlük ve yüzey yükü olduğunda yüksek köpük oluşturma kapasitesi artmaktadır (Lafarga ve ark., 2018; Shevkani ve ark., 2015).

Köpük stabilitesinin artması sürekli fazda çözünebilir proteinlerin sıvı fazda çözünmesine ve yüzey aktif özelliğine bağlıdır. Gıdadaki proteinlerin birbiri arasındaki etkileşimin artması viskozite artışına ve ara yüzeydeki oluşan film tabakası köpük stabilitesinde artışa neden olur. (Kaur ve Singh, 2007).

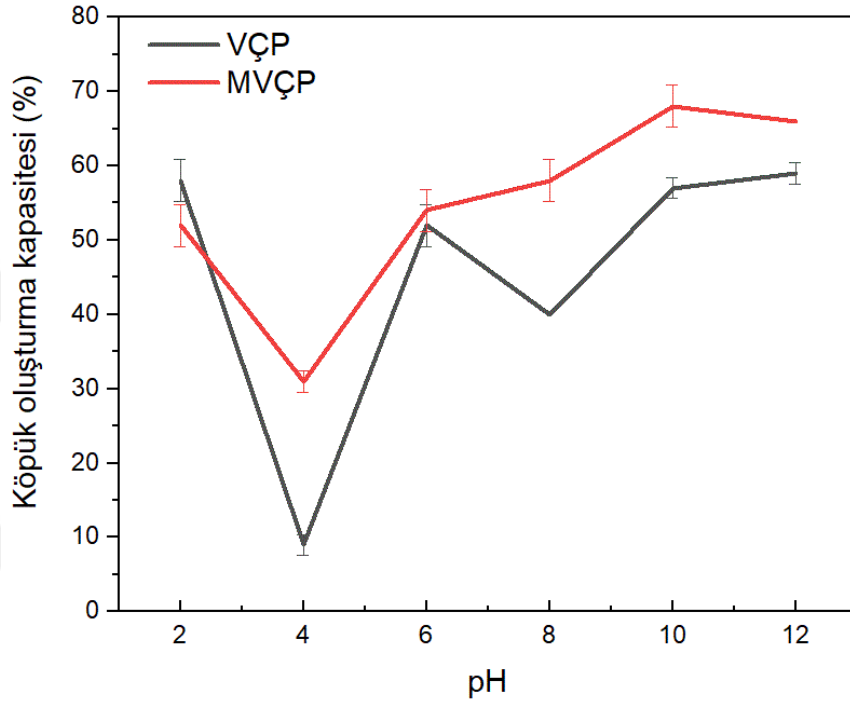
pH değerinin 2.0 olduğu noktada köpük oluşum kapasitesi VÇP için %58, 10.dk'da köpük stabilitesinin %50 ve 30.dakikada köpük stabilitesinin %47 olduğu

tespit edilirken MVÇP için KOK %52, 10. dk 'da köpük stabilitesinin %49 ve 30. dakikada köpük stabilitesinin %48 olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında iki proteinde yakın değerler bulunduğu görülmektedir. pH 4.0' te ise VÇP' nde köpük oluşumu gözlenmezken MVÇP'de KOK %31,10. dk 'da %28,30. dk' da %26 gibi az bir köpük oluşumu gözlemlenmiştir. Bu düşük sonucun sebebi proteinin bu asidik pH aralığında izoelektirik noktası olmasıdır. pH 6.0 değerinde VÇP KOK %52 iken 10. dakikada KS 42, 30.dakikada KS 29 gözlemlenirken MVÇP de KOK %54 iken 10. dakikada KS 48, 30.dakikada KS 28 olduğu gözlemlenmiştir. Bu pH değerinde iki protein için değerler yakın çıkmıştır. pH 8.0 değerinde VÇP KOK %40 iken 10. dakikada KS %31, 30.dakikada KS %25.5 gözlemlenirken MVÇP de KOK %58 iken 10. dakikada KS %49, 30. dakikada KS %28 olduğu gözlemlenmiştir. pH 10 değerinde VÇP KOK %57 iken 10. dakikada KS %48, 30. dakikada KS %35 gözlemlenirken MVÇP de KOK %68 iken 10. dakikada KS %64, 30. dakikada KS %35 olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçları karşılaştırdığımızda pH 10 değerinde MVÇP in VÇP den daha iyi KOK ve KS sahip olduğu gözlemlenmiştir. pH 12.0 'de VÇP köpük oluşum kapasitesi %59 iken; 10. dakikada köpük stabilitesi %53 ve 30. dakikada köpük stabilitesi %26.5 olarak ölçülmüştür. pH 12.0' de MVÇP KOK % 66, 10. dk' da % 61 30. dk 'da %55 olduğu görülmüştür. Sonuçları genel olarak değerlendirmek için Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 30. dk değerler için ise Şekil 4.3'te verilen grafikler incelendiğinde modifiye vişne çekirdeği proteininin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi eğrileri VÇP değerlerine göre daha yüksek olduğu ve değerlerin artış göstermiş olduğu görülmektedir.

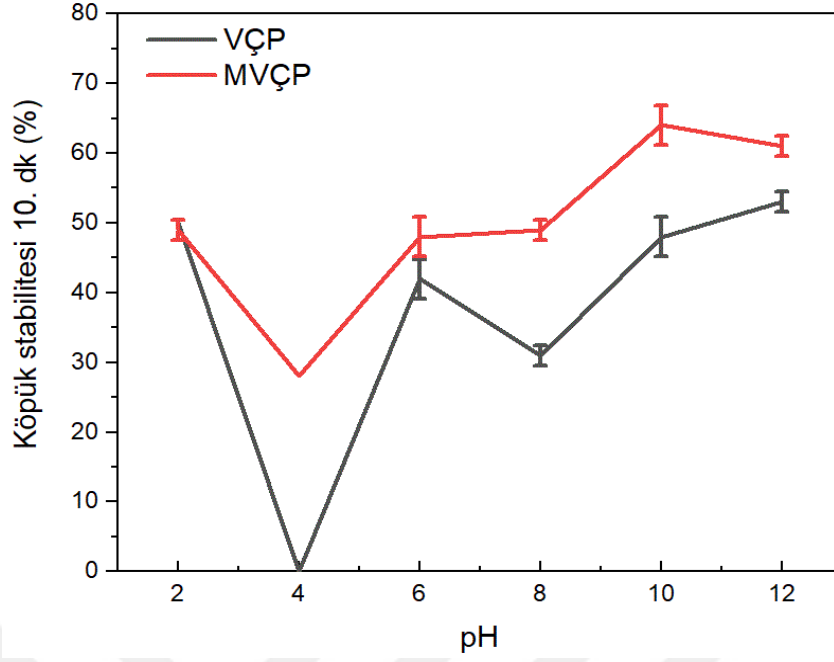
Tüm bu veriler doğrultusunda VÇP ve MVÇP köpük oluşturma kapasitesilerinin izoelektirik noktası pH 4.0'den uzaklaştıkça çözünürlüğün artmasıyla doğru orantılı olarak artış gösterdiği söylenebilir. En fazla köpük oluşturma kapasitesi her iki protein için sırasıyla pH 10.0 ve pH 12.0'de gözlemlenmiştir. En yüksek köpük stabilitesinin 10 dk.' da her iki proteinde pH 12.0' de gözlemlenmiştir. 30.dk'larda en yüksek olduğu değerler MVÇP için pH 12 noktasında iken VÇP için pH 10'da yer almaktadır.

Mahlep çekirdeği içi protein konsantrasyonunun köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi sırasıyla pH 12.0' da %43.75 ve %71.33 (30 dakika sonunda) (Güzel,2011) iken çalışmada elde edilen değerlerle karşılaştırıldığında VÇP % 59 ve MVÇP % 66 daha iyi

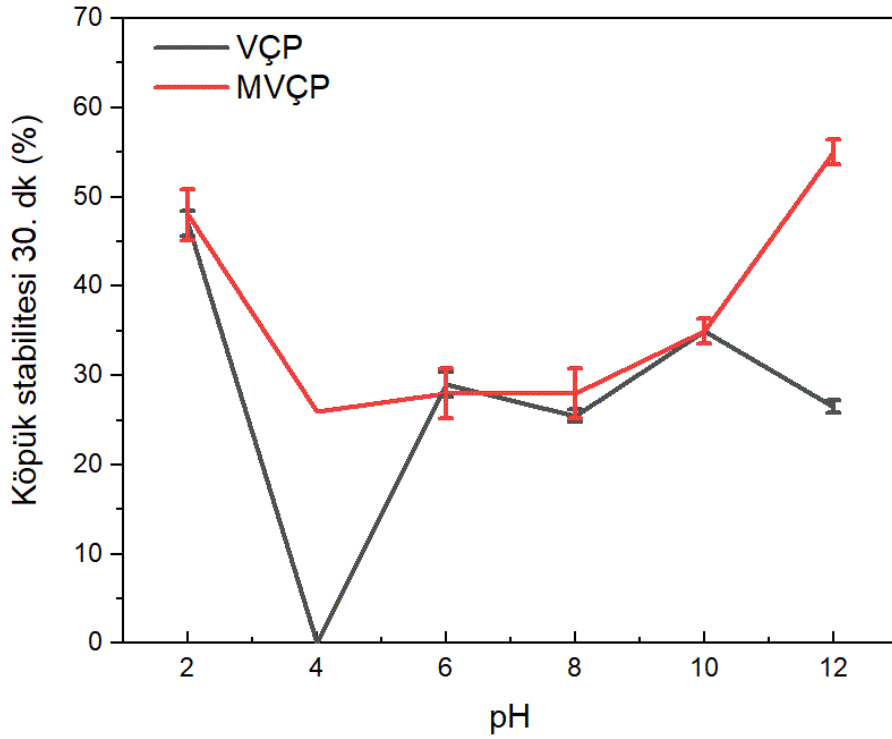
köpük oluşturma özelliği gösterirken, köpük stabilitesinde ise VÇP %48 ve MVÇP %55 ile daha düşük olduğu sonucuna varılmıştır. Bezelye izolatu köpük oluşturma kapasitesi %143 (Sumner ve ark., 1980) değeri ile VÇP ve MVÇP' ne göre daha yüksek köpük oluşturma özelliği gösterdiği, ayrıca mikrodalga uygulanmış kanola çekirdeği proteini köpük oluşturma indeksi % 102.67 köpük stabilitesi 30. dk %95.05 (Li ve ark., 2020) değerlerine göre daha düşük olduğu belirlenmiştir.



Şekil.4. 1. Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini köpük oluşturma kapasitesi grafiği



Şekil.4. 2. VÇP ve MVÇP 10.dakikada köpük stabilitesi grafiği



Şekil.4. 3. VÇP ve MVÇP 30.dakikada köpük stabilitesi grafiği

#### 4.2.4. Emülsiyon aktivite indeksi ve stabilitesi

Emülsiyon aktivite indeksi (EAİ); su/yağ gibi birbiri ile karışmayan en az iki farklı sıvının emülsiyon oluştururken protein molekülünün ara yüzeye adsorblanabilme kabiliyetidir. Emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) ise emülsiyonun dayanıklılığının bir göstergesidir. Elde edilen emülsiyonda faz ayrımı meydana gelmeden stabil kalabildiği süredir. Proteinlerin emülsiyon özelliklerini belirleyen ana karakteristikler protein konsantrasyonu ve yüzey hidrofobisitesidir (Subagio, 2006). Bunların dışında proteinin kaynağı, çözünürlüğü, konsantrasyonu, ortamın pH sı, sıcaklık, metot ve kullanılan alet ekipman gibi farklı kriterler proteinlerin emülsiyon oluşturma özelliklerini etkiler. Protein moleküllerinin emülsiyon oluşturma indeksi yapılan çalışmalarda suda çözünürlükle paralellik olduğu sonucuna varılmıştır. (Bilgi ve Çelik, 2004). Daha fazla yüzey yüküne ve daha iyi çözünürlüğe sahip protein, daha güçlü emülsiyon stabilitesi sergilerken, yüzey yüklerinin hidrofobiklik ile etkileşimi emülsiyon oluşumu ve stabilitesinde olumsuz bir etkiye sahiptir (Li ve ark., 2020).

Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini emülsiyon aktivitesi indeksi sonuçları Çizelge 4.2.'de belirtilmiştir. Çizelgeden görülebileceği gibi EAİ değerleri VÇP için  $45.3 \pm 1.63 \text{ m}^2/\text{g}$  ve MVÇP için  $65.82 \pm 0.27 \text{ m}^2/\text{g}$  olarak tespit edilmiştir. MVÇP emülsiyon aktivite indeksi VÇP emülsiyon aktivite indeksinden daha yüksek bulunmuştur.

EAİ değerleri için yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde buğday proteini  $155 \text{ m}^2/\text{g}$ ,  $44.78 \text{ m}^2/\text{g}$  ile badem izolatu (Sze-Tao ve ark., 2000),  $115.9 \text{ m}^2/\text{g}$  ile soya protein izolatu (Webb ve ark., 2002),  $57 \text{ m}^2/\text{g}$  peyniraltı suyu protein izolatu (Webb ve ark., 2002),  $27.21 \pm 2.50 \text{ m}^2/\text{g}$  ile mahlep çekirdeği içi protein konsantresi emülsiyon aktivite indeksi (Güzel,2011),  $20.4 \text{ m}^2/\text{g}$  yulaf kepeği protein konsantresinin ise  $18.9 \text{ m}^2/\text{g}$  (Guan ve ark., 2006) ve  $534 \text{ m}^2/\text{g}$  ile sümbül fasulyesi protein izolatu (Subagio, 2006), bezelye protein izolatu %38 (Sumner ve ark., 1980), kanola çekirdeği proteini emülsiyon oluşturma kapasitesi %100(Li ve ark., 2020) olarak belirlendiği görülmüştür.

VÇP ve MVÇP 10. Dakikadaki emülsiyon stabilite indeksleri sırasıyla  $15.10 \pm 0.03$ -  $26.19 \pm 0.95$  dakika olarak belirlenmiştir. MVÇP VÇP' ne göre daha

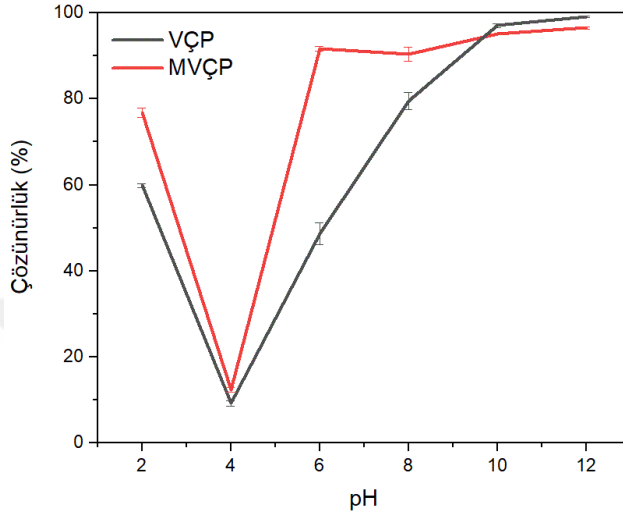
yüksek emülsiyon stabilite indeksi göstermiştir. Literatür araştırmaları ile karşılaştırıldığında MVÇP; ESİ yerfıstığı protein konsantresi ESİ 19.18 dakika (Wu ve ark., 2009) değerine göre daha yüksek, ancak 162 dakika ile sümbül fasulyesi protein izolatu (Subagio, 2006) ve mahlep çekirdeği protein konsantresinin emülsiyon stabilite indeksi 81.05 dakika (Güzel, 2011) ve mikrodalga ile önışleme tabi tutulmuş kanola çekirdeği proteini emülsiyon stabilitesi %94.07 (Li ve ark., 2020) olarak bulunan değerlerle karşılaştırıldığında modifiye vişne proteini emülsiyon stabilitesi daha düşüktür.

#### 4.2.5. Protein Çözünürlüğü

Proteinlerin çözünürlüğü fonksiyonel özelliklerde belirleyici bir özelliktir. İstenilen bir emülsiyon özelliği için çözünürlüğün yüksek olması gerekmektedir. Proteinin çözünürlüğü; iyonik güç, sıcaklık, ortam pH'sı, protein konsantrasyonu ile ortamdaki çözücüler gibi faktörlere bağlıdır. Proteinin kaynağından ekstraksiyonu ve özütlenmesi işlemlerinde çözünürlüğü ile ilgili bilgiler önemlidir. Çözünürlük, gıda endüstrisinde proteinlerin değerlendirilmesi ve kullanımı açısından önemlidir (Cheftel ve ark., 1985).

VÇP ve MVÇP nin pH 2.0-12.0 arasındaki protein çözünürlük profili Şekil 4.4'de verilmiştir. VÇP de maksimum çözünürlük %99.12  $\pm$ 0.21 pH 12.0'da gözlemlenirken MVÇP de maksimum çözünürlük % 96.51 $\pm$ 0.21 ile pH 12.0' da gözlemlenmiştir. Hem VÇP hem de MVÇP pH 8.0, 10.0, 12.0 değerlerinde iyi çözünürlük göstermiştir. En düşük çözünürlük VÇP için %9.24 $\pm$ 0.62 ile pH 4.0 değerinde elde edilmiş ve MVÇP' nde de minimum çözünürlük değeri %12.41 $\pm$ 0.56 ile pH 4 değerinde gözlenmiştir. Bu sonuçlara göre VÇP ve MVÇP için izoelektrik noktanın (pI) pH 4.0 değerinde bulunduğu sonucu çıkarılmıştır. Özellikle pH 6.0 değerinde VÇP %48.71 $\pm$ 2.49 çözünürlük değeri ile MVÇP %91.75 $\pm$ 0.55 çözünürlük ile pH değerlerine göre 2 kat gösterdiği artışla dikkat çekmektedir. Genel olarak Çizelge incelendiğinde pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0 değerlerindeki VÇP ve MVÇP çözünürlükleri karşılaştırıldığında MVÇP çözünürlük sonuçlarının önemli ölçüde artış gösterdiği gözlemlenmiştir. Gıda proteinlerinin çoğunluğu min. çözünürlük asidik pH

4.0-5.0 değerlerinde, max. çözünlük pH 10.0-12.0 değerlerinde olduğu belirlenmiştir (Damodaran, 1997). Mahlep çekirdeği proteini ile yapılan çalışmada maksimum çözünlük pH 12.0' da %95.97 oranında ve minimum çözünlük %16.71 değeri ile pH 6.0' da göstermiştir (Güzel,2011).

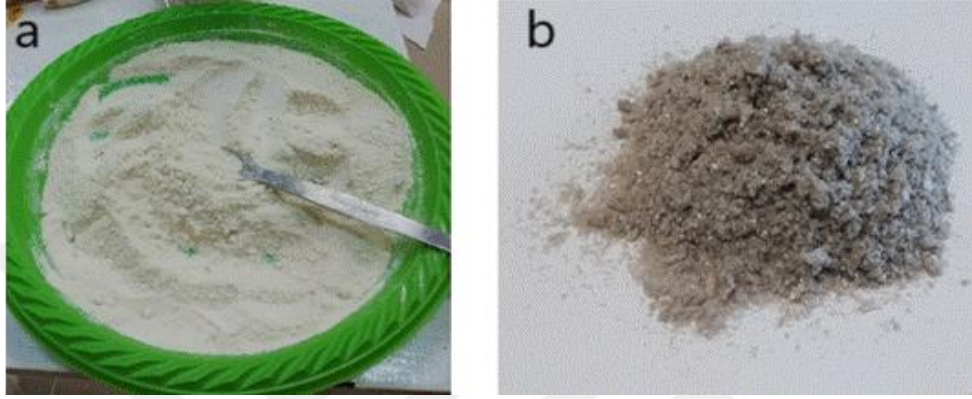


şekil.4. 4. Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin farklı pH değerlerindeki çözünlüklerinin karşılaştırılması

#### 4.2.6. Renk Analizleri

Hunter Lab cihazı kullanılarak protein örneklerinin renk özelliği belirlenmiştir. Modifikasyon işlemi öncesi ve sonrası protein tozlarının L\*, a\*, b\* değerleri ölçülmüştür. Analizlerin sonuçları Çizelge 4.2.'de gösterilmiştir. şekil 4.5'te ise VÇP ve MVÇP görüntüleri sunulmuştur. VÇP rengi açık sarıya yakinken, MVÇP ise parlak bir gri renk almıştır. VÇP L\*:88.87, a\*: 0.85 b\*: 11.38 iken MVÇP L\*:70. 87, a\*: 1.34, b\*: 6.92 olarak gözlemlenmiştir. Bu sonuçlara göre aydınlık değeri (L\*) modifikasyon işleminden sonra azalırken kırmızı-yeşil (a\*) değeri artmış ve sarı-mavi (b\*) değeri ise azalmıştır. Modifikasyon sonrası bu değişim ve L\* değerindeki değişim modifikasyon sırasında proteinin çözünmesi ve enzimin çalışması için uygulanan pH değişimleri ve ısıtmalı manyetik karıştırma işleminden kaynaklanmış olabileceği düşünölmektedir. Diğer protein izolatlarının renk değerlerine bakıldığında çökeltisi suyla yıkanmış bezelye protein izolatında b\* değeri 22.1 ve L\* değeri 62.8, a\* değeri 5.0 (Sumner ve ark., 1980), çökeltisi %70 alkol içeriğine sahip çözeltili ile muamele

edilmiş sümbül fasulyesinin protein izolatu b\* değeri 3.36, L\*değeri 90.32 ve a\* değeri 1.76, (Subagio, 2006) ve farklı nohutlardan üretilen protein izolatlarında b\* değerleri 22.46-24.95, L\*değerleri 58.63- 61.33, a\* değerleri 1.88-2.21, (Kaur ve Singh, 2007) mahlep çekirdeği proteini b\*değeri 8.68, L\*değeri 55.59, a\*: 4.61 (Yıldırım, 2011) gibi değerler elde edilmiştir.



Şekil.4. 5. a, vişne çekirdeği proteini, b, modifiye vişne çekirdeği proteini

#### 4.2.7. Hausnerr oranı ve carr indeksi

Carr indeksi ve Hausnerr oranı kitle yoğunluğu ve sıkıştırılmış kitle yoğunluğu ile hesaplanmaktadır. Hausnerr oranı 1 ve 1.60 arasında değerlendirilirken, Carr indeksi 10 ile 38 arasında değerlendirilir. Carr indeksi ve Hausnerr oranı arttıkça akışkanlık azalmaktadır(Başıyigit ve Çam, 2017). Çizelge 4.2.' de görüldüğü gibi VÇP Housner oranı 1.43, MVÇP ise 1.36 olarak, Carr indeksi ise VÇP 30.20, MVÇP 26.59 olarak belirlenmiştir. Bu değerlere göre modifikasyon işlemi sonrası akışkanlık çok az artmıştır.

#### 4.2.8. Su aktivitesi ( $a_w$ )

Su aktivitesi gıdalardaki reaksiyonlarda kullanılabilecek serbest su olarak tanımlanmıştır (Quek ve ark., 2007). Su aktivitesi yüksek olduğunda gıdalardaki serbest su da fazla olacağından kimyasal reaksiyonlar, bozulmalar hızlanır ve ürünün raf ömrü kısalmır (Vardin ve Yaşar, 2012). Çizelge 4.2.'de VÇP ve MVÇP örnekleri su aktivitesi değerleri verilmiştir. Değerler iki tekerrürün ortalaması alınarak

hesaplanmıştır. VÇP  $a_w$  değeri 0.17 iken MVÇP 0.46 olarak sonuçlar elde edilmiştir. Modifikasyon işlemi sonrasında VÇP  $a_w$  değerinin arttığı gözlemlenmiştir.

#### 4.2.9. Islanabilirlik

Islanabilirlik; partiküllerin suyu absorbe edebilmesidir. Islanabilirliği etkileyen faktörler örneğe temas eden su ve örneklerin partikül büyüklüğüdür (Gaiani ve ark., 2007; Freudig ve ark., 1999). Yüzeydeki hidrofobik bir bileşen (yağ v.b) varlığında ıslanabilirlik değeri düşerken, hidroskobik bir bileşen (laktöz) varlığında ise artmaktadır (Fäldt ve Bergenståhl, 1996). Çizelge 4.2.' de ıslanabilirlik değerleri verilmiştir. Islanabilirlik değeri VÇP 4.01 dk iken MVÇP 46.5 dak olarak belirlenmiştir. Burada modifikasyon işlemi ıslanabilirlik süresinde büyük bir farka neden olmuştur. VÇP'den bu kadar farklı olması yağ tutma kapasitesinin yüksek olduğu düşünülebilir.

#### 4.2.10. Nem

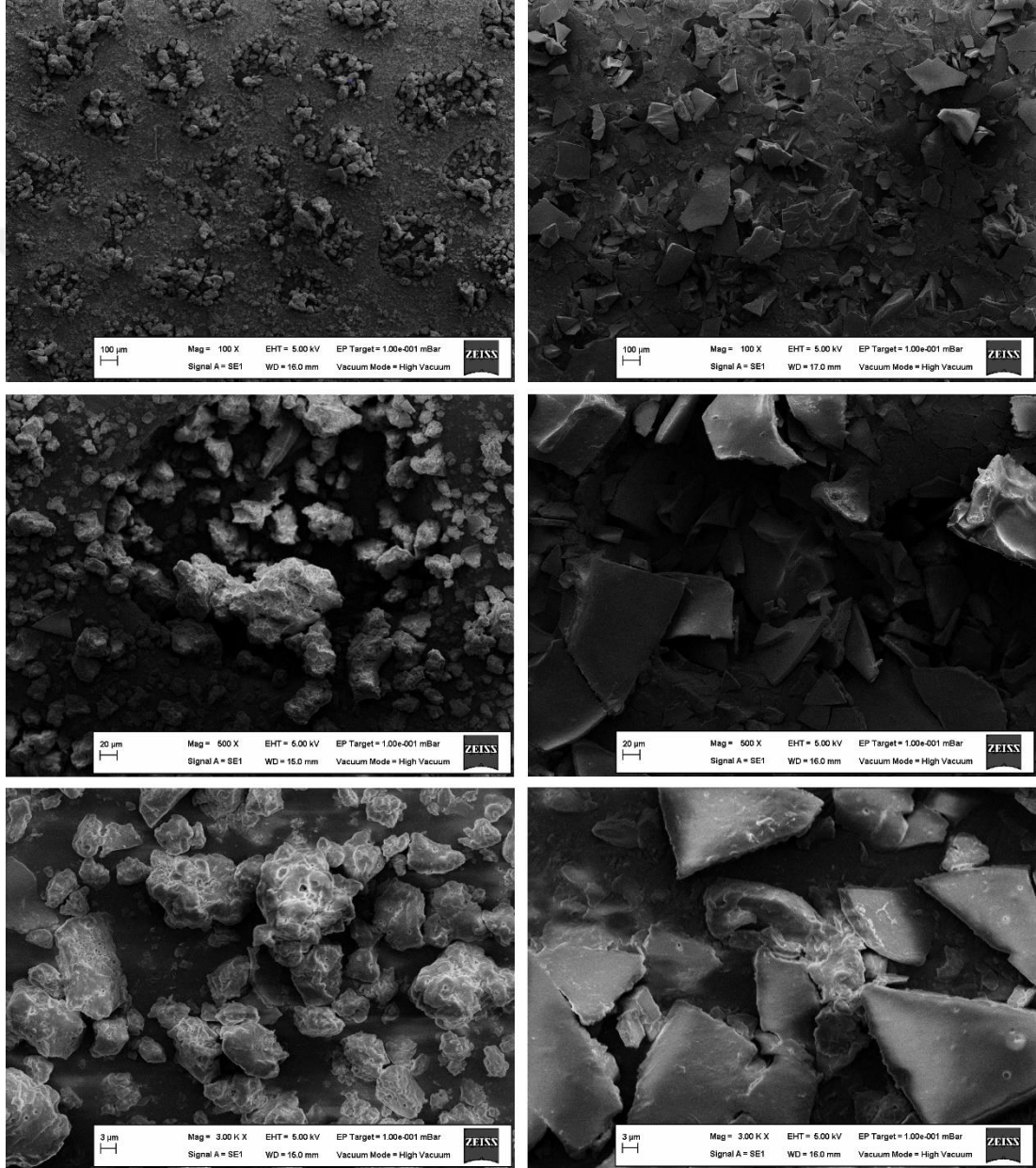
Nem gıdalarda yer alan toplam suyun % cinsinden ifade edilmesidir (Quek ve ark., 2007). Çizelge 4.2' de VÇP ve MVÇP örnekleri nem değerleri verilmiştir. Modifikasyon öncesi ve sonrası nem değerleri karşılaştırıldığında VÇP nem değeri % 4.26 modifikasyon işlemi sonrası MVÇP nem değeri % 1.35 nem değerine düşmüştür.

### 4.3.Enstrümental Analizler

#### 4.3.1.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Modifikasyon işleminin vişne proteini yüzey deseni üzerindeki etkisini gözlemlemek için SEM analizi ile değerlendirilmiştir. Elde edilen SEM mikrograflarında modifiye edilmemiş protein tozlarında partikül boyutlarının daha düzgün bir dağılıma sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Modifiye edilmiş vişne protein tozunun değişken boyutlarda olduğu gözlemlenmiştir. Vişne proteininde, modifikasyondan sonra toz yapısının daha düzensiz bir yapı ve prüzüz yüzeyle sahip

olduğu görünmektedir. Ancak modifiye edilmemiş protein tozu pürüzlü bir yüzeye ve küresel bir şekle sahiptir. Modifiye edilmiş protein tozu partikülleri, yüksek büyütme altında ufalanmış çok katmanlı tabaka yapısı olarak şekillenmiştir. Her iki protein örneğinde dondurarak kurutulması göz önünde bulundurulduğunda modifikasyon işlemi protein morfolojisi üzerinde oldukça etkili olmuştur. Kurutma esnasında oluşan kristal yapı ve kuruma hızı partikül boyutuna etki etmiş olabilir.



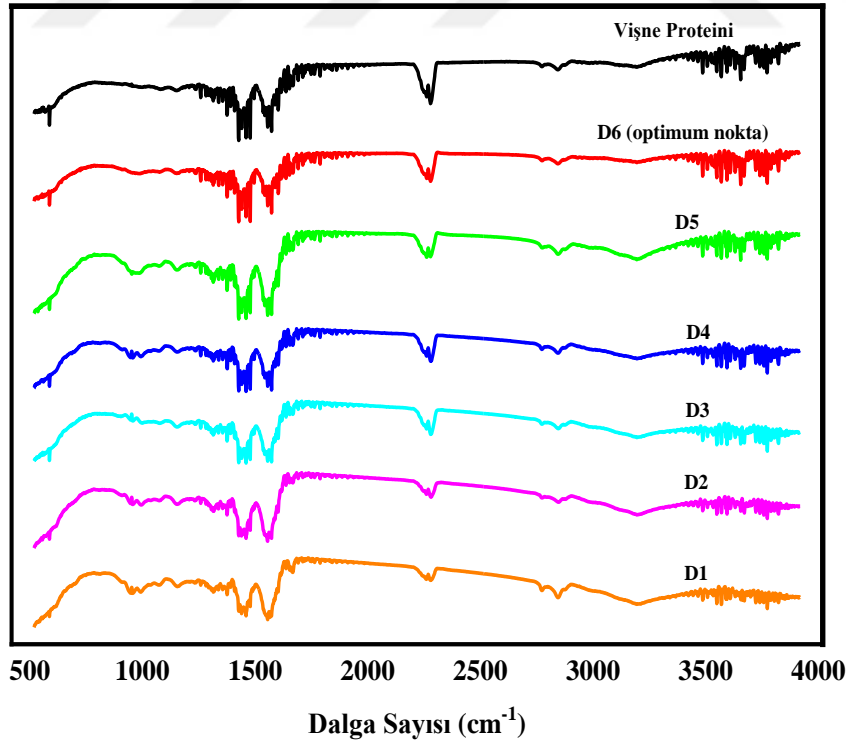
Ham vişne proteini

Modifiye vişne proteini

Şekil.4.6. Vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteininin SEM görüntüleri

#### 4.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopu (FTIR) analizi

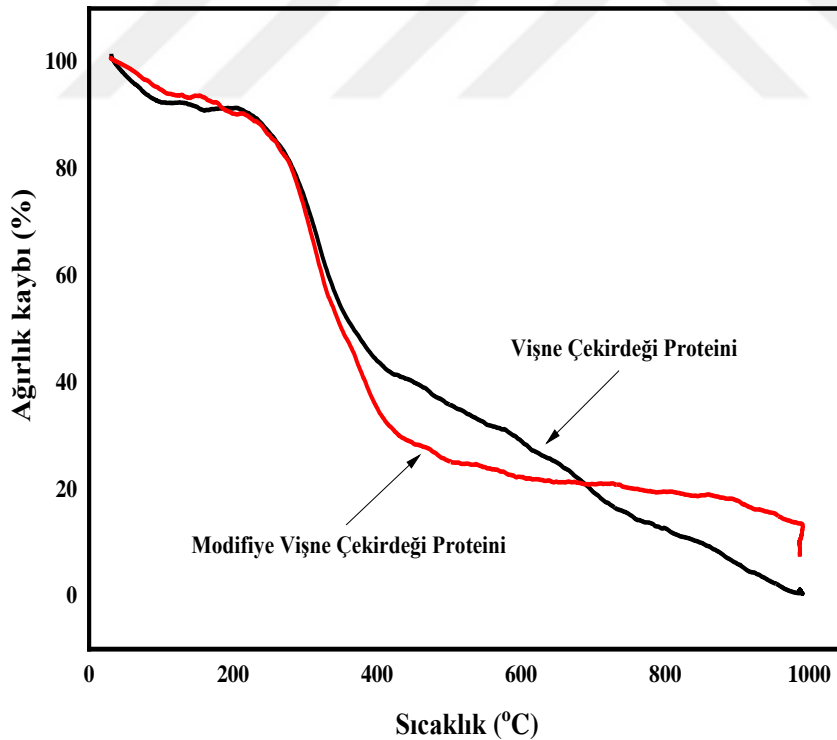
Modifiye vişne çekirdeği proteininin ve vişne çekirdeği proteininin molekül türünü incelemek ve değişimini görmek için FTIR spektroskopisi analizleri yapılmıştır. 500-4000 dalga boyunda çalışılmıştır. Analizlerden önce numunelerin su aktivite değerleri yaklaşık 0.1 olarak belirlenmiştir. Uygulanan modifikasyon işleminin proteinler arasında yeni oluşturduğu bağların incelenmesi için FTIR sonuçları kaydedilmiştir (Şekil 4.6.). Proteinlerin yapısındaki değişimler, protein-protein arasındaki oluşan kovalent ve çapraz bağların yapılarını ve ortamdaki bileşenleri incelemek için cihazda belirlenen parametreler şu şekilde verilmiştir: 1600-1700  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu amid I grubu için, 1520-1565  $\text{cm}^{-1}$  amid II grubu için, ~1300-1700  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu amid III grupları için belirlenen dalga boyu( $\gamma$ ) aralığıdır(Pezzei ve ark., 2010; Dufour, 2009).VÇP ile denemeler karşılaştırıldığında VÇP'nin karakteristik özelliklerinin değişmediği yapılan FTIR spektroskopisinden elde edilen grafikten (Şekil 4.7) net olarak görülmektedir.



Şekil 4.7. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR) verileri

### 4.3.3. Termal kararlılık (TGA) analizi

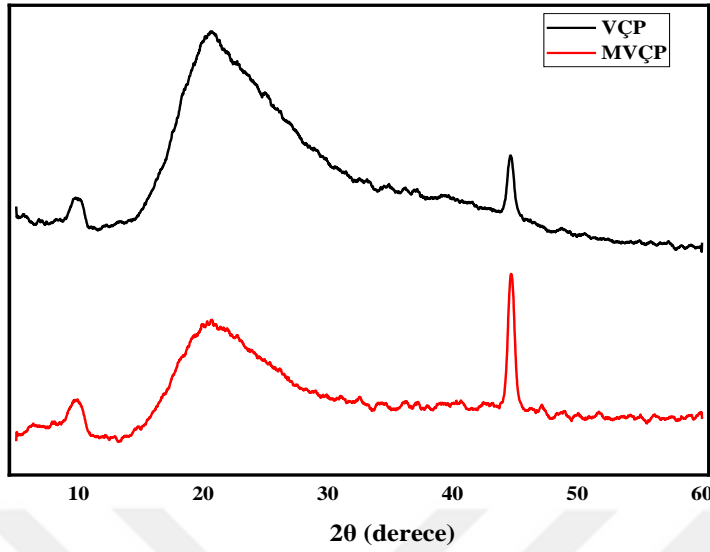
VÇP ve MVÇP numuneleri termal özellikleri karşılaştırmak için TGA analizi yapılmıştır. Bu eğri, numunenin termal davranışlarının gözlemlenmesini sağlar. TGA sıcaklığa bağlı olarak maksimum ağırlık değişimini vermektedir. VÇP ve MVÇP numunelerinin TGA ağırlık kaybı eğrileri Şekil 4.8’ de verilmiştir. Ağırlık kaybı eğrileri incelendiğinde VÇP ve MVÇP ağırlık kaybı 300°C ye kadar aynı oranda düşüş göstermiş, 300°C ve 700°C arasında ise düşüş oranları ve sıcaklıkları değişmiştir. Bu sıcaklık aralığında MVÇP deki ağırlık kaybı VÇP göre daha az gözlemlenmiştir. 420°C’ de MVÇP de %30 ağırlık kaybı görülürken VÇP de %40 ağırlık kaybı görülmüştür. 700°C’ de hem VÇP hem de MVÇP’ de ağırlık kaybı %20 olarak görülmektedir. 1000°C’de VÇP ağırlık kaybı %0 iken MVÇP %10 ağırlık kaybı görülmüştür. Bu eğriler incelendiğinde modifikasyon işleminin vişne çekirdeği proteininin ısıya dayanıklılığını artırdığı sonucuna varılabilir.



Şekil.4. 8. Termogravimetri analizi diyagramları

#### 4.3.4.X-ray ışınlarının kırınımı (XRD) analizi

Katı haldeki gıda maddeleri kristal, yarı kristal veya amorf olarak sınıflandırılır (Chen ve ark., 2017). Vişne çekirdeği proteini (VÇP) ve modifiye vişne çekirdeği proteininin (MVÇP) XRD verileri Şekil 4.9.'da gösterilmektedir. Numunelerden amorf yapıdakilerin pikleri genelde daha geniş bir çan eğrisi oluştururken kristalite değeri yüksek olanların XRD grafiği incelendiğinde daha dar açılı bir pik oluşturduğu gözlemlenmiştir (Caparino ve ark., 2012). VÇP ve MVÇP paralel bir grafik göstermiş, 20 °C de daha fazla amorf bir yapı gösterirken 10°C ve 50°C de daha düşük bir pikle amorf özellik göstermiştir. VÇP ve MVÇP kıyaslandığında MVÇP ait grafikte 20 °C de amorf yapı azalarak pik daha keskinleşmiş, amorf yapı azalmıştır. Buradan anlaşıldığı üzere VÇP ve MVÇP amorf yapıya sahip ve kristalitesinin düşük olduğu sonucu bulunmuştur. Literatür araştırmalarına bakıldığında kanola çekirdeği proteini(Li ve ark.,2020), bezelye protein izolatu (Lan ve ark.,2019) soya proteini izolatu (Zhang ve ark., 2012), Kaushik ve ark. (2016)' nın yaptığı çalışmada keten tohumunun proteini ve nohut protein konsantreleri (Ghribi ve ark., 2015)  $2\theta = 20^\circ$  de bir tepeye sahip geniş bir bant olan baskın bir amorf hali sergilemişlerdir. Amorf özelliklere sahip proteinlerin mükemmel çözünürlüğe, daha iyi su tutma kapasitesine ve sıkıştırılabilirliğe sahip olduğu gözlemlenmiştir (Chen ve ark., 2017). Kanola çekirdeği proteininin kristal olmayan özelliklerine,  $10^\circ$  ve  $20^\circ$  de tepe açıları sunan  $\alpha$ -sarmal ve  $\beta$ -tabakanın ikincil yapısının sebep olduğu bulunmuştur (Bendit, 1960).



Şekil.4. 9. X-ray ışınlarının kırınımı (XRD) spektroskopisi görüntüleri

#### 4.3.5. Hidrojel Oluşturma Kapasitesi

Vişne çekirdeği proteini, pektin-vişne çekirdeği proteini, modifiye vişne çekirdeği proteini ve modifiye vişne çekirdeği proteini -pektin olmak üzere dört farklı örneğin jel oluşturma kapasitelerinin ve özelliklerinin araştırılarak sonuçların karşılaştırılması için hidrojel analizleri yapılmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 4.3' te yer almaktadır.

Çizelge 4.3. incelendiğinde su kaldırma kapasitesi modifikasyon işlemi ve pektin ilavesi ile önemli bir artış göstermiştir. Modifikasyon işlemi sırasında oluşan bağların sıkı bir yapı oluşturması ve pektinin de bu bağların arasında dolgu görevi yapması ile birlikte daha dayanıklı ve kararlı bir hidrojel elde edilerek su kaldırma kapasitesinin artışı gözlemlenmiştir. Bu da su salma sorunu yaşanan gıdalarda istenilen yapının elde edilebileceğini göstermektedir. Aynı tablo jel hacim indeksi ve şişme oranında da gözlemlenmektedir. Protein sızdırılabilirlik değerinde ise VÇP % 19.11 iken VÇP-pektin de %18.72, MVÇP de 18.26 iken MVÇP-pektinin oluşturduğu hidrojelde % 10.51 olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre modifiye protein ve pektinle elde edilen jelde dışarıya salınan protein miktarının azalması oluşan hidrojel yapıda

protein miktarının daha fazla tutulduğunu göstermiştir. Bu gıda sektöründe istenen bir özelliktir. Sonuçlar sıra ile gözlemlendiğinde bu başarıyı pektinin eklenmesi ile elde edildiği sonucuna varılabilir. Elde edilen verilere ve Şekil 4.10. daki görsel değerlendirildiğinde modifiye proteinin pektinle oluşturduğu hidrojellerin jelleşme özelliği ve kararlılığı, tekstürel olarak dayanıklılığı ve sıklığı artırdığı sonucuna varılmıştır.

Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında bezelye protein izolatu jelleşme konsantrasyonu %16(Fernandez-Quintela ve ark. (1997), kuşburnu çekirdeği proteini jel oluşturma konsantrasyonu %8 (Moure ve ark. 2001), Çin çileği jel oluşturma konsantrasyonu %12 (Cheng ve ark. 2009), kaju fıstığı jel oluşturma konsantrasyonu %10 (Ogunwolu ve ark. 2009) vişne çekirdeği proteini jel oluşturma konsantrasyonu %8(Gedik,2011) olarak belirlendiği görülmüştür. Modifiye vişne çekirdeği proteininin oluşturduğu jel yapısı literatürle karşılaştırıldığında daha güçlü ve kararlı olduğu analiz sonuçlarıyla görülmektedir.

Çizelge.4. 3. Vişne Çekirdeği Proteini ve Modifiye Vişne Çekirdeği Proteininin Oluşturduğu Hidrojelin Özellikleri

|                                    | Vişne Proteini | Vişne proteini+Pektin | Modifiye Vişne Proteini | Modifiye vişne proteini+Pektin |
|------------------------------------|----------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------|
| Su Kaldırma Kapasitesi (%)         | 56.28±0.58     | 72.23±1.00            | 81.92±0.21              | 89.31±0.62                     |
| Jel Hacim İndeksi(%)               | 61±1.41        | 65.01±1.44            | 91.26±6.69              | 97.42±1.07                     |
| Protein Sızdırılabilirlik Oranı(%) | 19.11±0.25     | 18.72±0.42            | 18.26±0.15              | 10.51±0.15                     |
| Şişme Oranı (%)                    | 0.78±0.07      | 1.47±0.62             | 2.81±0.91               | 4.45±0.76                      |

Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir.(n=3)



Şekil.4.10. a: modifiye vişne çekirdeği proteini-pektin, b: vişne çekirdeği proteini-pektin oluşturduğu hidrojel görüntüleri.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu çalışmada MTGaz enziminin vişne proteini üzerindeki etkisinin belirlenmesi amacıyla vişne çekirdeği proteinine MTgaz enzimi ile 5<sup>0</sup>C de modifikasyon işlemi uygulanmış freeze yöntemi ile kurutulmuştur. Yapılan analizlerle vişne çekirdeği proteininin modifikasyon öncesi ve sonrası bazı fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özelliklerindeki değişim ortaya konulmuş, optimum modifikasyon şartları belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarla optimum modifikasyon koşulları 1/20 enzim/protein oranı ve 18 saat inkübasyon süresi olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar modifikasyon işleminin vişne çekirdeği proteininin fonksiyonel özelliklerinde iyileşme ve kararlılık sağladığını göstermiştir. Modifiye proteinin gıda üretim aşamalarında daha kaliteli ve daha kararlı ürünler elde etmek için bir gıda ingrediyesi olarak kullanılma potansiyeline sahip olduğu verilerle ortaya konulmuştur. Çalışmada elde edilen veriler özet olarak aşağıda sırayla belirtilmiştir.

Proteinlerin çözünürlükleri incelendiğinde maksimum çözünürlük pH 12.0' da vişne çekirdeği proteininde (102.86±3.52) gözlemlenirken, modifiye vişne çekirdeği proteininde (99.41±4.32) olarak gözlemlenmiştir. En düşük çözünürlük ise pH 4,0 değerinde vişne çekirdeği proteini için (%9,24±0.62), modifiye vişne çekirdeği proteini için (%12.41±0.56) olarak gözlemlenmiştir. Özellikle pH 6,0 değerinde elde edilen çözünürlük değerleri vişne çekirdeği proteini (%48,71±2.49) modifiye vişne çekirdeği proteini (%91,75±0.55) incelendiğinde modifikasyon işleminin protein çözünürlüğünde neden olduğu artış dikkat çekmektedir. Genel olarak proteinlerin pH 2, 4, 6, 8, 10, 12 değerlerindeki çözünürlükleri karşılaştırıldığında modifiye vişne çekirdeği proteininde çözünürlük sonuçlarının önemli ölçüde artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

Yağ bağlama kapasitesi vişne çekirdeği proteininde 1.53±0.06 g/g iken modifiye vişne çekirdeği proteininde 8.48±0.28 g/g bulunmuştur. Modifikasyon işleminin yağ bağlama özelliğinde önemli bir fark oluşturduğu sonucuna varılmıştır. Su tutma kapasitesi ise vişne çekirdeği proteininde 0.66 g/g olarak tespit edilirken modifiye vişne çekirdeği proteini suda tamamen çözüldüğünden belirlenememiştir.

Emülsiyon aktivite indeksi değerleri vişne çekirdeği proteini için  $45.3 \pm 1.63 \text{ m}^2/\text{g}$  ve modifiye vişne çekirdeği proteini için  $65.82 \pm 0.27 \text{ m}^2/\text{g}$ , VÇP ve MVÇP 10. Dakikadaki emülsiyon stabilite indeksleri sırasıyla  $15,10 \pm 0.03$ -  $26,19 \pm 0,95$  dakika olarak belirlenmiştir. Emülsiyon aktivite indeksinde ve emülsiyon stabilite indeksinde modifiye vişne çekirdeği proteini değerleri vişne çekirdeği proteini değerlerinden daha yüksek bulunmuştur.

Vişne çekirdeği proteini pH 12.0 'da köpük oluşum kapasitesi %59, 10. dakikada köpük stabilitesi %53 ve 30. dakikada köpük stabilitesi %26.5 olarak ölçülmüştür. pH 12.0' da modifiye vişne çekirdeği proteini KOK % 66, 10. dk' da % 61 30. dk 'da %55 olduğu görülmüştür. pH 4.0' te ise VÇP' nde köpük oluşumu gözlenmezken MVÇP' de KOK %31.10 gibi az bir köpük oluşumu gözlemlenmiştir. Genel olarak sonuçlar karşılaştırıldığında modifiye proteinin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi vişne çekirdeği proteininden daha iyi olduğu sonucu elde edilmiştir.

VÇP ve MVÇP pektinle oluşturduğu hidrojelde yapılan analizler ve incelemeler sonucunda pektinin ve modifikasyon işleminin hidrojel oluşturma kapasitesini artırdığı, oluşan kovalent bağlar sayesinde daha stabil daha kararlı ve güçlü bir hidrojel yapısı elde edildiği sonucuna varılmıştır.

Modifiye edilmiş vişne çekirdeği proteini gıda sektöründe en çok kullanılan soya proteinine göre bazı özelliklerde yakın ve hatta daha iyi işleve sahip olduğu için emülsifiye edici, stabilizatör gibi amaçlarla kullanılmak üzere yeni bir doğal katkı maddesi alternatifi sunabileceği elde edilen verilerle ortaya konulmuştur. Aynı zamanda kalıcı bir şekilde atık yönetimi gerçekleştirilerek bir çevre kirliliği sorunu giderilmiş olup, zengin besin öğelerine sahip vişne çekirdeği gıda üretiminde doğal ve etkin bir gıda ingrediyesi olarak daha iyi alanlarda değerlendirilmiş olur. Ülke kaynaklarının korunması ve ekonomiye sağlanabilecek katkıda diğer bir avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu çalışmada; birçok gıda maddesinin üretimi sırasında farklı aşamalarda kullanılarak gıdanın biyoyararlılığını artıran, kalitesini, tat ve tekstürünü geliştiren ve yeni fonksiyonel gıda ve ingrediyenlerin keşfedilmesini sağlayan

transglutaminaz enzimi kullanılarak modifikasyonla fonksiyonel özelliklerin daha iyi ve kararlı hale getirilebildiği sonucuna varılmıştır.

Ekonomik değeri düşük olan ve genelde gıda atığı olarak açığa çıkan vişne çekirdeğinin çeşitli gıdaların fonksiyonel özelliklerini iyileştirerek maddi ve besleyici değerini artırılmasına ve farklı ürünlerin üretilmesine katkı sağlayacağı sonucuna varılmıştır.

Farklı çalışmalarda;

- Modifiye proteinin ürünlerde kullanımı sağlanarak elde edilen gıdanın fonksiyonel özellikleri araştırılabilir.
- Vişne çekirdeği proteini farklı modifikasyon yöntemleri uygulanarak fonksiyonel ve fiziko kimyasal özellikleri üzerindeki etkileri incelenebilir.

## KAYNAKLAR

- ADEBOWALE, K.O. and LAWAL, O.S., 2003. Foaming, Gelation And Electrophoretic Characteristics Of Mucuna Bean (*Mucuna Pruriens*) Protein Concentrates. Food Chemistry, 83: 237–246.
- AOAC INTERNATIONAL., 1990. Official Methods of Analysis, (Vol. 67),14<sup>th</sup> ed.: Association of Official Analytical Chemists.
- ASGAR, M. A., FAZİLÂH, A., HUDA, N., BHAT, R. and KARİM, A. A. (2010) Nonmeat Protein Alternatives as Meat Extenders and Meat Analogs. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 9: 513-529.
- ASLAN, D., 2015. Ultrason Tekniği ile Farklı Fonksiyonel Yağlar Kullanılarak Yeni Süt Bazlı Emülsiyonların Geliştirilmesi. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi. Kayseri.103s.
- BASYIGIT, B. ve CAM, M., 2017. Püskürtmeli Kurutucu ile Nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) Esansiyel Yağı Mikrokapsülasyonu. Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi, 21(1): 24-34.
- BAŞYİĞİT, B., SAĞLAM, H., KANDEMİR, Ş., KARAASLAN, A. and KARAASLAN, M. 2020. Microencapsulation Of Sour Cherry Oil By Spray Drying: Evaluation Of Physical Morphology, Thermal Properties, Storage Stability, And Antimicrobial Activity. Powder Technology,364:654-663.
- BENDİT, E. G. 1960. A Quantitative X-Ray Diffraction Study Of The Alpha-Beta Transformation İn Wool Keratin. Textile Research Journal,30: 547-555.
- BİLGİ, B. ve ÇELİK, S., 2004. Solubility and Emulsifying Properties of Barley Protein Concentrate. Europe Food Research Technology, 218: 437-441
- BOURNE, M. 2002. Food Texture and Viscosity: Concept and Measurement. Cornell University, Newyork.
- BRADFORD, M. M. 1976. A Rapid And Sensitive Method For The Quantitation Of Microgram Quantities Of Protein Utilizing The Principle Of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2), 248–254.
- CALAFATO, N. R. and PICO, G., 2004. Griseofulvin and Ketoconazole Solubilization by Bile Salts Studied Using Fluorescence Spectroscopy. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 47: 198-204.
- CAPARINO, O., TANG, J., NINDO, C., SABLANI, S., POWERS, J. and FELLMAN, J., 2012. Effect Of Drying Methods On The Physical Properties And Microstructures Of Mango (Philippine ‘Carabao’var.)Powder. Journal of Food Engineering, 111 (1): 135-148.
- CHANDİ, G.K. and SOĞI, D.S., 2006. Functional Properties of Rice Bran Protein Concentrates. Journal of Food Engineering, Article in press.
- CHEFTEL, J.C., CUQ, J.L. and LORIENT, D., 1985. Amino Acids, Peptides and Proteins. Ch. 5 in Food Chemistry O.R. Fennema (Ed.), pp.246-369. Marcel Dekker, Inc., New York
- CHEN, X., ZHOU, R., XU, X., ZHOU, G. And LIU, D. (2017). Structural Modification By High-Pressure Homogenization For Improved Functional Properties Of Freeze-Dried Myofibrillar Proteins Powder. Food Research International, 100: 193-200.
- CHENG, J., ZHOU, S., WU, D., CHEN, J., LIU, D. and YE, X., 2009. Bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) kernel: A new protein source, Food Chemistry, 112: 469–473.

- CHENG, Y., DONKOR, P., REN, X., WU, J., AGYEMONG, K., AYİM, L., et al. (2019) Effect of Ultrasound Pretreatment with mono Frequency and Simultaneous dual Frequency on the Mechanical Properties and Microstructure of whey Protein Emulsion Gels. *Food Hydrocolloids*,89: 434-442.
- CHO, S. M., KWAK, K. S., PARK, D. C., GU, Y. S., JI, C. I. and JANG, D. H., 2004. Processing Optimization and Functional Properties of Gelatin From Shark (*Isurus oxyrinchus*) Cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18: 573-579
- ÇELİK, M., GÜZEL, M. ve YILDIRIM, M., 2019. Effect Of Ph On Protein Extraction From Sour Cherry Kernels And Functional Properties Of Resulting Protein Concentrate. *Journal of Food Science and Technology*,56: 3023-3032.
- DAKHİLİ, S., ABDOLALIZADEH, L., HOSSEİNİ, S. M., SHOJAEI-ALIABADI, S. and MİRMOGHATAE, L., 2019. Quinoa Protein: Composition, Structure And Functional Properties. *Food Chemistry*, 299:125-161.
- DAMODARAN, S., 1997. Food proteins: An overview. In S. Damodaran & A. Paraf (Eds.), *Food proteins and their applications*, New York: Marcel Dekker. 1–21.
- DAVİES, P., 2004. Oral Solid Dosage Forms. *Pharmaceutical Preformulation and Formulation*, (Ed: M Gibson), Interpharm/CRC, Boca Raton, 379-458.
- DAY, L., 2013 Proteins From Land Plants– Potential Resources For Human Nutrition And Food Security. *Trends in Food Science & Technology*, 32: 25-42.
- DUANGMAL, K., SAICHEUA, B. and SUEEPRASAN, S., 2008. Colour Evaluation of Freeze-Dried Roselle Extract as a Natural Food Colorant in a Model System of a Drink. *LWT-Food Science and Technology*, 41 (8): 1437-1445.
- DUBE, M. SCHAFFER, C., NEIDHART, S. and CARLE, R., 2007. Texturisation and Modification of Vegetable Proteins for Food Applications Using Microbials Transglutaminase. *European Food Research and Technology*.
- DUFOUR E., 2009. Principles of Infrared Spectroscopy in Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control, Ed. Sun D., Elsevier Ltd, Dublin.
- ERYILMAZ, S. H., 2016. Valorization of Functional Protein From a Plant Based Food Waste: Sour Cherry Kernel and its Physicochemical Characteristics. İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, Türkiye
- FÄLDT, P. And BERGENSTÅHL, B., 1996. Spray-dried Whey Protein/Lactose/Soybean Oil Emulsions. 2. Redispersability, Wettability and Particle Structure. *Food Hydrocolloids*, 10(4): 431-439.
- FDA(2020) U.S. Food And Drug Administration Code Of Federal Regulations 21CFR184.1588
- FERNANDEZ-QUINTELA, A., MACARULLA, M.T., DEL BARRÍO, A.S. and MARTINEZ, J.A., 1997. Composition and Functional Properties of Protein Isolates Obtained From Commercial Legumes Grown in Northern Spain. *Plant Foods for Human Nutrition*, 51: 331-342
- FREUDIG, B., HOGEKAMP, S. and SCHUBERT, H., 1999. Dispersion of Powders in Liquids in A Stirred Vessel. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 38(4): 525-532.
- GAIANI, C., SCHER, J., EHRHARDT, J. J., LINDER, M., SCHUCK, P., DESOBRY, S. and BANON, S., 2007. Relationships between Dairy Powder Surface Composition and Wetting Properties During Storage: Importance of Residual Lipids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16): 6561-6567.

- GEDİK, M., 2010. Vişne Çekirdeği İçinden Üretilen Protein Konsantresinin Bazı Kimyasal ve Fonksiyonel Özellikleri. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat,60s.
- GHRİBİ, A. M., GAFSİ, I. M., BLECKER, C., DANTHİNE, S., ATTİA, H. and BESBES, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. Journal of Food Engineering, (165):179-188
- GONZÁLEZ, A. D., FROSTELL, B. and CARLSSON KANYAMA, A., 2011. Protein Efficiency Per Unit Energy And Per Unit Greenhouse Gas Emissions: Potential Contribution Of Diet Choices To Climate Change Mitigation. Food Policy, 36: 562-570.
- GORNALL, A. G., BARDAWİLL, C. J. and DAVID, M. M., 1949. Determination of Serum Proteins By Means Of The Biuret Reaction. Journal of Biological Chemistry, 177: 751-66.
- GUAN, X., YAO, H., CHEN, Z., SHAN, L. and ZHANG, M., 2006. Some Functional Properties of Oat Bran Protein Concentrate Modified by Trypsin. Food Chemistry,101:163-170.
- GÜZEL, M., 2011. Mahlep Çekirdeğinden İzole Edilen Proteince Zengin Ürünün Bazı Kimyasal ve Fonksiyonel Özelliklerinin İncelenmesi. Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Tokat,49s.
- HAN, X.Q., SPRADLİN, J. E., 2000. Patent No. US006093424A. Amerika Birleşik Devletleri.
- HE, Z., LİU, C., ZHAO, J., Lİ, W. and WANG, Y. (2021). Physicochemical Properties Of A Ginkgo Seed Protein-Pectin Composite Gel. Food Hydrocolloids,118:106781.
- IMM, J., LİAN, P. and LEE, C., 2000. Gelation and Water Binding Properties of Transglutaminase-treated Skim Milk Powder. Journal of Food Science, 65 (2): 200-205.
- İÇYER, N. C., 2012. Nar Kabuğu Fenolik Bileşiklerinin Su ile Ekstraksiyonu ve Ekstraktların Mikroenkapsülasyonu. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Kayseri, 110s.
- JAIN, S. and ANAL, A. K.,2016. Optimization of Extraction Functional Protein Hydrolysates From Chicken Egg Shell Membrane(ESM) by Ultrasonic Assisted Extraction (UAE) and Enzymatic Hydrolysis. LWT-Science and Technology,9:295-302
- KARAASLAN, M., YILMAZ, F. M., KARAASLAN, A. and VARDİN, H. 2016. Synthesis and Accumulation of Anthocyanins in Sour Cherries During Ripening in Accordance with Antioxidant Capacity Development and Chalcone Synthase Expression. Eur. Food Res. Technol. 242:189- 198.
- KARAASLAN, M., ŞENGÜN, F., CANSU, Ü., BAŞYİĞİT, B., SAĞLAM, H. and KARAASLAN, A., 2020. Gum Arabic/maltodextrin microencapsulation confers peroxidation stability and antimicrobial ability to pepper seed oil. Food Chemistry,337: 127748.
- KARAHAN, L. E. 2015. Mikrobiyal Transglutaminaz Enzimi ve Süt Ürünlerinde Kullanımı. Yaşam Bilimleri Dergisi, 5 (2).
- KAUR, M. and SINGH, N., 2007. Characterization of Protein Isolates from Different Indian Chickpea (*Cicer arietinum l.*) Cultivars. Food Chemistry, 102:366-374.

- KAUSHİK, P., DOWLING, K., MCKNIGHT, S., BARROW, C. J., WANG, B. and ADHIKARI, B. 2016. Preparation, Characterization And Functional Properties Of Flax Seed Protein Isolate. *Food Chemistry*, 197: 212-220
- KINSELLA, J.E., 1979. Functional Properties of Soy Proteins. *J. Am. Oil Chemists' Soc.*, 56, 242-258.
- KINSELLA, J.E., 1981. Functional Properties of Proteins: Possible Relationships Between Structure and Function in Foams. *Food Chem.* 7, 273-288.
- KINSELLA, J. E. 1982. Food Protein Determination Mechanisms And Functionality. American Chemist Society, 206: 301-320.
- LAFARGA, T., ÁLVAREZ, C., BOBO, G. and AGUILÓ-AGUAYO, I., 2018. Characterization of Functional Properties of Proteins from Ganxet Beans (*Phaseolus vulgaris L. var. Ganxet*) Isolated Using an Ultrasound-Assisted Methodology. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, (98): 106-112.
- LAN, Y., XU, M., OHM, J., CHEN, B. and RAO, J., 2019. Solid dispersion-based spray-drying improves solubility and mitigates beany flavour of pea protein isolate. *Food Chemistry*, 278: 665-673.
- LI, X., SHI, J., SCANLON, M., XUE, S.J. and LU, J., 2020. Effects of Pretreatments on Physicochemical and Structural Properties of Proteins Isolated From Canola Seeds After Oil Extraction by Supercritical-CO<sub>2</sub> Process. *LWT-Food Science and Technology*, 137: February 2021.
- LIANG, H.N. and TANG, C.H. 2013. pH-dependent emulsifying properties of pea [*Pisum sativum(L.)*] proteins. *Food Hydrocolloids*, 33: 309-319.
- LIN, N., LIU, B., LIU, Z. and QI, T. 2020. Effects of Different Drying Methods on the Structures and Functional Properties of Phosphorylated Antarctic Krill Protein. *Journal of Food Science*, 85: 3691.
- MAKERI, M. U., ABDULMANNAN, F., ILOWEFAH, M. A., CHIEMELA, C., BALA, S. M. and MUHAMMAD, K., 2017. Comparative Physico-Chemical, Functional and Structural Characteristics of Winged Bean [*Psophocarpus Tetragonolobus DC*] and Soybean [*Glycine Max.*] Protein Isolates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11: 835-846
- MAKRI, E., PAPALAMPROU, E. and DOXASTAKIS, G., 2005. Study Of Functional Properties of Seed Storage Proteins From Indigenous European Legume Crops (Lupin, Pea, Broad Bean) in Admixture With Polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 19(3):583-594.
- MARTINEZ-FLORES, H.E., SOTO, E.B., GANICA-ROMO, M.G., SALDANA, A.L. and PENAGOS, C.J.C., 2005. Chemical and Functional Properties of Flaxseed Protein Concentrate Obtained Using Surface Response Methodology.
- MASSOURA, E., VEREIJKEN, J.M., KOLSTER, P. and DERKSEN, J.T.P., 1998. Proteins From *Crambe abyssinica* Oilseed. I. Isolation Procedure. *Journal of The American Oil Chemists. Society*, 75: 329-335.
- METWALLY, A. M. 2007. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on properties of ice cream with different composition. *International Journal of Food Science and Technology*, 42: 939-947.
- MOURE, A., RUA, M., SINEIRO, J. and DOMINGUEZ, H., 2001. Extraction and Functionality of Membrane-Concentrated Protein from Defatted *Rosa rubiginosa* Seeds. *Food Chemistry*, 74: 327-339.

- MOURE, A., SINEIRO, J., DOMÍNGUEZ, H. and PARAJÓ, J. C., 2006. Functionality of Oilseed Protein Products: a Review. *Food Research International*, 39: 945-963.
- OGUNWOLU, S.O., O. HENSHAW, F., MOCK, H.P., SANTROS, A., O. and AWONORIN, S., 2009. Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale L.*) nut. *Food Chemistry*, 115: 852–858
- OZEL, B., ÇIKRİKÇİ, S., AYDIN, O. and OZTOP, M. H., 2017. Polysaccharide Blended Whey Protein Isolate-(WPI) Hydrogels: a Physicochemical and Controlled Release Study. *Food Hydrocolloids*, 71:35-46.
- ÖZER, B., KIRMACI, H. A., ÖZTEKİN, Ş., HAYALOĞLU, A. and ATAMER, M. 2007. Incorporation of Microbial Transglutaminase into non-fat Yogurt Production. *International Dairy Journal*, 17 (2): 199-207.
- PEARCE, K.N. and KINSELLA, J.E., 1978. Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique. *J. Agric. Food Chem.*, 26: 716-723.
- PEZZEI, C., PALLUA J.D., SCHAEFER, G., SEIFARTH, C., HUCK-PEZZEI, V., BITTNER, K.L., KLOCKER, H., BARTSCH, G., BONNA, K.G. and HUCK, C.W., 2010. Characterization of Normal and Malignant Prostate Tissue by Fourier Transform Infrared Microspectroscopy, *Molecular BioSystems*, 6: 2287–2295.
- PINTERİTS, A. and ARNTFIELD, S.D., 2008. Improvement of Canola Protein Gelation Properties Through Enzymatic Modification with Transglutaminase. *LWT - Food Science and Technology*, 41(1): 128-138.
- QUEK, S. Y., CHOK, N. K. and SWEDLUND, P., 2007. The Physicochemical Properties Of Spray-Dried Watermelon Powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5): 386-392.
- REN, Z. Y., CHEN, Z. Z., ZHANG, Y. Y., ZHAO, T., YE, X. G. and GAO, X., 2019. Functional Properties and Structural Profiles of Water-Insoluble Proteins from Three Types of Tea Residues. *LWT-Food Science and Technology*, 110: 324–331.
- RUBİNO, M.I., ARNTFIELD, S.D., NADON, C.A. and BERNATSKY, A., 1996. Phenolic Protein Interactions In Relation to the Gelation Properties of Canola Protein. *Food Research International*, 29(7): 653-659
- SALDAMLI, İ. ve TEMİZ, A., 1998. Gıda kimyası; Aminoasitler, Peptitler ve Proteinler. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, 195-257, Ankara
- SARİ, Y. W., SYAFİTRİ, U., SANDERS, J. P. M. and BRUİNS, M. E. 2015 How biomass composition determines protein extractability. *Industrial Crops & Products*, 70: 125–133
- SCHWENKE, K.D., DAHME, A. and WOLTER, T.H., 1998. Heat-induced Gelation of Rapeseed Proteins: Implication of Electrostatic Effects, In *Plant Proteins from European Crops: Food and Nonfood Applications*, Edited by J. Guéguen, Y. Popineau, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 126p.
- SEENA, S. and SRIDHAR, K. R., 2005. Physicochemical, functional and cooking properties of Canavalia. *Journal of Food Chemistry*, 32: 406–412.
- SHARMA, P.C., TILAKRATNE, B.M.K.S. and ANİL GUPTA, J., 2010. Utilization of Wild Apricot Kernel Press Cake for Extraction of Protein Isolate. *Food Sci Technol*, 47(6): 682– 685.
- SHEVKANI, K., SINGH, N., KAUR, A. and RANA, J. C., 2015. Structural and

- Functional Characterization of Kidney Bean and Field Pea Protein Isolates: A Comparative Study. *Food Hydrocolloids*, 43: 679–689.
- SINGH, H. and NEWSTEAD, D. F., 1992. Aspects of Proteins in Milk Powder Manufacture. *Advanced Dairy Chemistry*, 1: 735-765.
- SUBAGIO, A., 2006. Characterization of hyacinth bean (*Lablab purpureus L. Sweet*) seeds from Indonesia and their protein isolate. *Food Chemistry*, 95: 65-70.
- SUMNER, A.K., NIELSEN, M.A. and Youngs, C.G., 1980. Production and Evaluation of Pea Protein Isolate. 40th. Annual Meeting of the Institute of Food Technologist, 46: 364-366.
- SUN, X.D. and ARNTFIELD, S.D., 2011. Gelation Properties of Salt-Extracted Pea Protein Isolate Induced by Heat Treatment: Effect of Heating and Cooling Rate. *Food Chemistry* 124(3): 1011-1016.
- SZE-TAO, K.W.C. and SATHE, S.K., 2000. Functional properties and in vitro digestibility of almond (*Prunus dulcis L.*) protein isolate. *Food Chemistry*, 69: 153-160
- ŞANLI, T., SEZGİN, E., ŞENEL, E., ve BENLİ, M. (2011). Geleneksel Yöntemle Ayran Üretiminde Transglutaminaz Kullanımının Ayranın Özellikleri Üzerine Etkileri. *Gıda*, 36 (2): 217-224.
- TATAR, F., TUNÇ, M. T., DERVISOĞLU, M., CEKMECELİOĞLU, D. and KAHYAĞLU, T., 2014. Evaluation of Hemicellulose as a Coating Material with Gum Arabic for Food Microencapsulation. *Food Research International*, (57): 168-175.
- TUNA, H. E. (2015). Gıda Atığı Olan Vişne, Nar, Kabak ve Kayısı Çekirdeklerinin Kek Üretiminde Değerlendirilmesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, 98s.
- TURCHIULI, C., FUCHS M., BOHIN, M., CUVELIER, E., ORDONNAUD, C., PEYRAT-MAILLARD, M.N. and DUMOULIN E. 2005. Oil Encapsulation by Spray Drying and Fluidised Bed Agglomeration. *Inn. Food Sci. Emerg. Technology*, 6: 29–35.
- VARDİN, H. ve YASAR, M., 2012. Optimisation of Pomegranate (*Punica Granatum L.*) Juice Spray Drying as Affected by Temperature and Maltodextrin Content. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(1): 167-176.
- WANG, Y., LIU, C., MA, T. ve ZHAO, J. 2019. Physicochemical and functional properties of  $\gamma$ -aminobutyric acid-treated soy proteins. *Food Chemistry*, 295: 267–273.
- WANG, Y., ZHAO, J., ZHANG, W., LIU, C., JAUREGİ, P. and HUANG, M. 2020. Modification of Heat-induced Whey Protein gels by Basic Amino Acids. *Food Hydrocolloids*, 100: 105397.
- WANG, S., YANG, Y., SHAO, G., QU, D., ZHAO, H., YANG, L., et al., 2020. Soy protein Isolated soy Hull Polysaccharides Concentration on the Storage Stability and Interfacial Rheological Properties. *Food Hydrocolloids*, 101, 105-490.
- WANG, W., SHAN, M., JİONG, L., SONG, Q., LIU, S. and XİE, J. 2020. Influence of Mesona Blumes Polysaccharide on the Gel Properties and Microstructure of Acid-induced Soy Protein Isolate Gels. *Food Chemistry*, 313: 125-126.
- WANG, L. ve MORARU, C.I. 2021. Structure and Shelf Stability of Milk Protein Gels Created by Pressure-assisted enzymatic Gelation. *Journal of Dairy Science*, 104: 3970-3979.

- WEBB, M.F., NAEMM, H.A. and SCHMİDT., 2002. Food Protein Functionality in a Liquid System: A Comparison of Deamidated Wheat Protein with Dairy and Soy Proteins. *Journal of Food Science*. 67: 2896-2902.
- WU, H., WANG, Q., MAA, T. and REN, J., 2009. Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42: 343–348.
- WU, M. XİONG, Y.L., CHEN, J., TANG, X. and ZHOU, G. 2009. Rheological and Microstructural Properties of Porcine Myofibrillar Protein-lipid Emulsion Composite Gels. *Journal of Food Science*, 74(4): E207-E217.
- XİONG, Z., ZHANG, M. and MA, M., 2016. Emulsifying Properties of Ovalbumin: Improvement and Mechanism by Phosphorylation in the Presence of Sodium Tripolyphosphate. *Food Hydrocolloid*, 60: 29–37.
- YAVUZ, M. ve ÖZÇELİK, B., 2016. Bitkisel Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özellikleri. İstanbul Teknik Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü. *Akademik Gıda*(14)4: 424-430.
- YILMAZ, C., 2013. Vişne Çekirdeği Atıklarının Gıda İngrediyeni Olarak Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Gıda Mühendisliği Bölümü
- YILMAZ, M. F., 2012. Vişne ( *Prunus cerasus L.* ) Posasından Fenolik Madde Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı.
- YILMAZ, M.F., GÖRGÜÇ, A., KARAASLAN, M., VARDİN, H., BİLEK, S., UYGUN, Ö. and BİRCAN, C. 2018: Sour Cherry By-products: Compositions, Functional Properties and Recovery Potentials – A Review, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- YÜCETEPE, M., BAŞYİĞİT, B. and KARAASLAN, M., 2021. Design of Novel Nutritious Microcapsules Comprising  $\omega$ -5 Fatty Acids and Essential Amino Acids by Assembling Pomegranate Seed Derived Macromolecules. *LWT*, 143: 111162
- YÜKSEL, Z., ve ERDEM, Y. K. 2008. Gıda Endüstrisinde Transglutaminaz Uygulamaları:2.Enzimin Gıda Süreçlerinde Kullanım Olanakları. *Gıda*, 33 (3): 143-149.
- ZHANG, M., SONG, F., WANG, X. L. and WANG, Y. Z., 2012. Development of Soy Protein İsolate/Waterborne Polyurethane Blend Films with İmproved Properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100: 16-21
- ZHANG, S., HSİEH, F.H. and VARDHANABHUTİ, B. 2014. Acid-induced Gelation Properties of Heated Whey Protein-pectin Soluble Complex (Part-I): Effect of initial ph. *Food Hydrocolloids*, 36, 76-84.
- ZHOU, F., PAO, M., LİU, Y., GUO, N., ZHANG, Q. and WANG, J. 2020. Effects of Na<sup>+</sup> on the Cold Gelation Between a low Methoxyl Pectin Extracted From *Premna microphylla turcz* and soy protein İsolate. *Food Hydrocolloids*, 104: 105-762.
- ZHUANG, X.B., JİANG, X.P., ZHOU, H.Y., CHEN, Y.J., ZHAO, Y., YONG, H.S., et al. 2020. Insight into the Mechanism of Physicochemical İnfluence by Three Polysaccharides on Myofibrillar Protein Gelation. *Carbohydrate Polymers*, 229: 115-449.