



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Fen Bilimleri Enstitüsü



**SÜRDÜRÜLEBİLİR SU MERCİMEĞİ ÜRETİMİ İLE BİTKİSEL BAZLI  
PROTEİN VE KLOROFİL İÇEREN SAĞLIKLI GIDA ÜRÜNLERİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

**Doktora Tezi**

Ayça AKYÜZ

Gıda Mühendisliği

İzmir  
2025



**SÜRDÜRÜLEBİLİR SU MERCİMEĞİ ÜRETİMİ İLE  
BİTKİSEL BAZLI PROTEİN VE KLOROFİL  
İÇEREN SAĞLIKLI GIDA ÜRÜNLERİNİN  
GELİŞTİRİLMESİ**

Ayça AKYÜZ

Danışman : Prof. Dr. Seda ERSUS

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı  
Gıda Mühendisliği Doktora Programı

İzmir  
2025



Ayça AKYÜZ tarafından doktora tezi olarak sunulan “Sürdürülebilir Su Mercimeği Üretimi ile Bitkisel Bazlı Protein ve Klorofil İçeren Sağlıklı Gıda Ürünlerinin Geliştirilmesi” başlıklı bu çalışma EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile EÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 24/01/2025 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oybirliği ile başarılı bulunmuştur.

**Jüri Üyeleri:**

**İmza**

<b>Jüri Başkanı</b>	: .....	.....
<b>Raportör Üye</b>	: .....	.....
<b>Üye</b>	: .....	.....
<b>Üye</b>	: .....	.....
<b>Üye</b>	: .....	.....



# EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

## ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

EÜ Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin ilgili hükümleri uyarınca Doktora Tezi olarak sunduğum “Sürdürülebilir Su Mercimeği Üretimi ile Bitkisel Bazlı Protein ve Klorofil İçeren Sağlıklı Gıda Ürünlerinin Geliştirilmesi” başlıklı bu tezin kendi çalışmam olduğunu, sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı, bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

24/01/2025

Ayça AKYÜZ



**ÖZET****SÜRDÜRÜLEBİLİR SU MERCİMEĞİ ÜRETİMİ İLE BİTKİSEL  
BAZLI PROTEİN VE KLOROFİL İÇEREN SAĞLIKLI GIDA  
ÜRÜNLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

AKYÜZ, Ayça

Doktora Tezi, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Seda ERSUS

Ocak 2025, 152 sayfa

Yapılan bu tez çalışmasında, hayvansal proteinlere alternatif ve sürdürülebilir bir bitkisel protein kaynağı olan su mercimeğinin protein içeriğinin, yetiştirme ortamı olan Hoagland solüsyonu bileşimine bağlı olarak değişiminin belirlenmesi çalışmanın ilk aşaması olarak araştırılmıştır. Hoagland solüsyonu makro elementlerinden  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (%33,06) ve  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'nun (%36,61) etken parametreler olduğu Plackett-Burman faktöriyel tasarımındaki katkı yüzdelere göre belirlenmiştir. Etken parametreler ve pH değeri ile yanıt yüzey yöntemi ile gerçekleştirilen optimizasyon sonucu 3,92 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7,95 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve pH 7,22 değeri optimum koşullar olarak bulgulanmıştır. Optimum koşullarda yetiştirilen su mercimeğinin protein içeriği başlangıca göre 9. gün sonunda %28 oranında artmıştır. Modifiye edilmiş Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeğinin protein içeriği %41,74 iken ticari Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeğinin protein içeriği %33,01 olarak belirlenmiştir.

Protein içeriğinin en yüksek olduğu koşullarda yetiştirilen su mercimeklerinden maksimum verimlilikte protein ekstraksiyonu için gerekli koşullar ikinci aşamada optimize edilmiş ve ekstraksiyon verimini arttırmak amacıyla enzim ve ultrases destekli ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullarda yetiştirilen su mercimeklerinden protein izolasyonu için belirlenen optimum koşullar; pH 9 değeri, 5 mL/g çözünen/katı oranı ve 55 °C ekstraksiyon sıcaklığı olarak belirlenmiştir. Enzim destekli ekstraksiyon protein verimini 2,1 kat, ultrases destekli ekstraksiyon 5,6 kat artış sağlamıştır. Ultrases destekli ekstraksiyon ile izole edilen protein konsantrelerinin kuru madde bazından protein içeriği %60,09 olarak belirlenmiştir. Protein konsantrelerinin mineral madde içeriği

belirlenerek, alternatif protein kaynağı olarak tüketime uygun olduğu belirlenmiştir. Protein konsantrelerinin esansiyel amino asitleri içerdiği, pH 9 değerinde yüksek çözünürlük (%92,16), yüksek köpürme (%92,62) ve emülsiyon aktivitesi (%83,69) göstermiştir. Son olarak izole edilen protein konsantrelerinin atıştırma bar, ekmek ve kek ürünlerine eklenerek ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşal özelliklerine etkisi belirlenmiştir. Gıda ürünlerine protein konsantresi eklenmesi ile ürünlerin protein içeriği artırılması sağlanırken aynı zamanda klorofil, fenolik, flavonoid gibi biyoaktif madde içeriklerinin de değişimiyle antioksidan kapasitelerinde de artış sağlamıştır. Su mercimeği protein konsantresi ilave edilen ürünler yapılan duyuşal analizler sonucunda panelistler tarafından kabul görmüştür.

**Anahtar sözcükler:** Bitkisel protein, Su mercimeği, Optimizasyon, Fonksiyonel gıdalar, Yanıt yüzey yöntemi, Protein izolasyonu

**ABSTRACT****DEVELOPMENT OF HEALTHY FOOD PRODUCTS CONTAINING  
PLANT-BASED PROTEIN AND CHLOROPHYLL WITH  
SUSTAINABLE PRODUCTION OF DUCKWEED**

AKYÜZ, Ayça

Ph.D. in Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Seda ERSUS

Jan 2025, 152 pages

In this thesis, the first phase of the study investigated how the protein content of duckweed, a sustainable plant protein source alternative to animal proteins, varies depending on the composition of the Hoagland solution, which serves as its growing medium. The key parameters from the macro elements of the Hoagland solution,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (33.06%) and  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (36.61%), were determined based on the contribution percentages from the Plackett-Burman factorial design. The optimization performed using response surface methodology with the active parameters and pH value resulted in optimum conditions of 3.92 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7.95 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , and a pH of 7.22. Under these optimum conditions, the protein content of the duckweed increased by 28% by the 9th day. The protein content of duckweed grown in a modified Hoagland solution was found to be 41.74%, while that grown in commercial Hoagland solution was 33.01%.

In the second phase, conditions for maximum protein extraction efficiency from the duckweed grown under the highest protein content were optimized. Enzyme and ultrasound-assisted extractions were performed to increase the extraction yield. The optimum conditions for protein isolation from the duckweed grown under optimal conditions were determined to be a pH value of 9, a solvent/solid ratio of 5 mL/g, and an extraction temperature of 55 °C. Enzyme assisted extraction increased protein yield by 2.1 times, while ultrasound-assisted extraction resulted in a 5.6-fold increase. The protein content of the concentrates isolated using ultrasound-assisted extraction was found to be 60.09% on a dry matter basis. The mineral content of the protein concentrates was analyzed, and it was determined that they were suitable for consumption as an alternative protein

source. The protein concentrates contained essential amino acids and demonstrated high solubility (92.16%), high foaming (92.62%), and emulsion activity (83.69%) at pH 9 value. Finally, the isolated protein concentrates were added to snack bars, bread, and cake products, and their effects on the physical, chemical, and sensory properties of the products were determined. The addition of protein concentrate to food products increased their protein content, while also altering the levels of bioactive compounds such as chlorophyll, phenolics, and flavonoids, leading to an increase in antioxidant activities. The products containing duckweed protein concentrate were well-received by panelists in the sensory analysis.

**Key words:** Plant protein, Duckweed, Optimization, Functional foods, Response Surface Methodology, Protein isolation



## ÖNSÖZ

Yapılan tez çalışması kapsamında, alternatif sürdürülebilir bitkisel protein ve klorofil kaynağı olarak belirlenen su mercimeği bitkisinin protein içeriğini arttıracak şekilde yetiştirme koşullarının ve ortamının besin içeriğinin optimize edilmesi ve seçilen optimum koşulda yetiştirilen su mercimeği bitkisinin gıda sektöründe kullanılmak üzere sürdürülebilir üretiminin sağlanması gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda, su mercimeğinin yetiştirme ortamı olarak belirlenen Hoagland solüsyonunun makro-bileşenlerinin protein içeriğini etkileyen faktörleri Plackett-Burman tasarımı ile belirlenmiştir. Etken parametreler ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve pH değeri) yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilerek su mercimeği belirlenen optimum koşulda yetiştirilmiştir. Ardından ekstraksiyon parametreleri optimize edilerek maksimum verimde protein konsantresi üretimi gerçekleştirilmiştir. İzole edilen protein konsantrelerinin fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikleri belirlendikten sonra su mercimeği protein konsantresi atıştırmalık bar, ekmek ve kek formülasyonlarına eklenerek bu ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyuşsal özelliklerine etkisi belirlenmiştir. Su mercimeği protein konsantresi ilavesi ile atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin artan protein içeriklerinin yanı sıra sağlığı olumlu yönde etkileyen bileşenlerce zenginleştiği belirlenmiştir.

Tez çalışması kapsamında, Ayça AKYÜZ, YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı (Sürdürülebilir Tarım) ve TÜBİTAK 2211/A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı tarafından desteklenmiştir.

İZMİR

24/01/2025

Ayça AKYÜZ



**İÇİNDEKİLER**

ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xxiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xxv
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	4
2.1. Protein .....	4
2.2. Bitkisel Protein Kaynakları .....	7
2.3. Protein İzolasyon Yöntemleri .....	11
2.3.1. Yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyon .....	12
2.3.2. Yardımcı ekstraksiyon yöntemleri .....	16
2.3.3. Protein çöktürme yöntemleri .....	23
2.3.3.1. İzoelektrik çöktürme .....	23
2.3.3.2. Tuz ile çöktürme .....	24
2.4. Sürdürülebilir Tarım-Gıda İlişkisi .....	27
2.5. Su Mercimeği .....	30
2.6. Fonksiyonel Gıda .....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	36

3.1. Gereç .....	36
3.2. Yöntem.....	36
3.2.1. Su mercimekleri yetiştirme koşullarının belirlenmesi .....	38
3.2.1.1. Su mercimeklerinin yetiştirilmesi .....	38
3.2.1.2. Hoagland solüsyonu hazırlanışı .....	38
3.2.1.3. Hoagland solüsyonu seyreltme oranının belirlenmesi .....	39
3.2.1.4. Hoagland solüsyonu pH değerinin belirlenmesi .....	39
3.2.1.5. Makro bileşenlerin Plackett-Burman tasarımı .....	39
3.2.1.6. Merkezi bütünleşik tasarım ile optimizasyon .....	40
3.2.2. Protein izolasyonu.....	41
3.2.2.1. Ham maddenin formu .....	41
3.2.2.2. Ekstraksiyon çözgeninin pH değeri .....	41
3.2.2.3. Ekstraksiyon sıcaklığı .....	42
3.2.2.4. Çözgen/katı oranı .....	42
3.2.2.5. Ultrases destekli ekstraksiyon.....	42
3.2.2.6. Enzim destekli ekstraksiyon.....	43
3.2.2.7. Protein veriminin hesaplanması .....	43
3.2.3. Fonksiyonel Gıda Formülasyonları.....	43
3.2.3.1. Atıştırmalık bar üretimi.....	44
3.2.3.2. Ekmek üretimi.....	44
3.2.3.3. Kek üretimi .....	45

3.3. Analiz Yöntemleri .....	46
3.3.1. Kuru madde analizi.....	46
3.3.2. Protein analizi .....	46
3.3.3. Yağ analizi.....	47
3.3.4. Kül analizi.....	47
3.3.5. Bradford yöntemi ile protein analizi.....	47
3.3.6. Renk değerlerinin belirlenmesi.....	48
3.3.7. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi .....	48
3.3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntüleme.....	48
3.3.9. Amino asit kompozisyonu analizi .....	48
3.3.10. Mineral madde analizi .....	48
3.3.11. Toplam klorofil miktarı analizi.....	49
3.3.12. Toplam fenolik madde miktarı analizi.....	49
3.3.13. Antioksidan kapasite analizi .....	49
3.3.13.1. DPPH radikal süpürme aktivite analizi.....	49
3.3.13.2. ABTS radikal süpürme aktivite analizi.....	50
3.3.14. Toplam flavanoid miktarı analizi.....	50
3.3.15. Protein çözünürlüğü analizi .....	50
3.3.16. Köpürme kapasitesi ve stabilitesi analizi.....	51
3.3.17. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi analizi.....	52
3.3.18. Yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu analizi .....	52

3.3.19. Carr indeksi ve Hausner oranı hesaplanması .....	53
3.3.20. Su aktivitesi analizi .....	53
3.3.21. Tekstür profili analizi.....	53
3.3.22. Duyusal değerlendirme .....	54
3.3.23. İstatistiksel analiz.....	54
4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....	56
4.1. Su Mercimeğinin Kimyasal Kompozisyonu .....	56
4.2. Su Mercimeği Yetiştirme Koşullarının Belirlenmesi.....	57
4.2.1. Hoagland solüsyonu seyreltme oranının belirlenmesi .....	57
4.2.2. Hoagland solüsyonu pH değerinin belirlenmesi .....	58
4.2.3. Makro bileşenlerin Plackett-Burman tasarımı .....	61
4.2.4. Merkezi bütünleşik tasarım ile optimizasyon .....	64
4.3. Protein İzolasyonu.....	70
4.3.1. Ham maddenin depolama yönteminin belirlenmesi.....	70
4.3.2. Ekstraksiyon çözgeninin pH değeri .....	72
4.3.3. Ekstraksiyon sıcaklığı .....	72
4.3.4. Çözgen/katı oranı .....	73
4.3.5. Ultrases destekli ekstraksiyon.....	74
4.3.6. Enzim destekli ekstraksiyon.....	75
4.3.7. Su mercimeği protein konsantresinin kimyasal kompozisyonu.....	76
4.3.8. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin amino asit kompozisyonu .....	77

4.3.9. Su mercimeği protein konsantresinin renk, yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı değerleri.....	78
4.3.10. Su mercimeği protein konsantresinin protein çözünlüğü .....	80
4.3.11. Su mercimeği protein konsantresinin köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi.....	81
4.3.12. Su mercimeği protein konsantresinin emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi.....	83
4.3.13. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin FTIR analizi .....	83
4.3.14. SEM analizi ile su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin yüzeylerinin karakterizasyonu.....	84
4.3.15. Mineral madde analizi .....	86
4.4. Fonksiyonel Gıdaların Üretimi.....	87
4.4.1. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin fiziksel özellikleri.....	87
4.4.2. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin kimyasal kompozisyonu.....	90
4.4.3. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin klorofil miktarı .....	92
4.4.4. Bar, ekmek ve kek ürünlerinin toplam fenolik madde miktarları.....	92
4.4.5. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin antioksidan kapasiteleri.....	93
4.4.6. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin flavonoid miktarları.....	94
4.4.7. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin su aktiviteleri.....	95
4.4.8. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin tekstür özellikleri.....	96
4.4.9. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin duyuusal özellikleri .....	100
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	105
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	107

TEŞEKKÜR.....	140
ÖZGEÇMİŞ.....	142
EKLER.....	149



**ŞEKİLLER DİZİNİ**

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Şekil 2.1.</b> Amino asit (a) ve protein yapısı (b) (Branden and Tooze, 2012). ....	4
<b>Şekil 2.2.</b> Amino asitlerin 3 boyutlu yapısı (Petsko and Ring, 2004).....	5
<b>Şekil 2.3.</b> Hidrofilik, hidrofobik ve amfipatik amino asitler .....	6
<b>Şekil 2.4.</b> Bitki hücre yapısı ve proteinler (Tamayo Tenorio, 2017).....	11
<b>Şekil 2.5.</b> Ultrases uygulaması sırasında kabarcık oluşumu, kritik boyuta ulaşması ve patlaması (Rahman and Lamsal, 2021).....	17
<b>Şekil 2.6.</b> Hücre duvarının enzim ile parçalanması (Gligor et al., 2019).....	17
<b>Şekil 2.7.</b> Mikrodalga ile hücre duvarının ile parçalanması (Kumar et al., 2021)	18
<b>Şekil 2.8.</b> Vurgulu elektrik alan ile hücre zarının parçalanma aşamaları (Kovačić et al., 2021).....	18
<b>Şekil 2.9.</b> Yüksek basınçlı homojenizasyon ile hücre parçalanması (Carullo et al., 2018).....	19
<b>Şekil 2.10.</b> pH ve pI değerine göre amino asitlerin iyon durumları (Cruz-Solis et al., 2023).....	23
<b>Şekil 2.11.</b> Düşük ve yüksek tuz konsantrasyonlarında proteinler (Singh and Bose, 2022).....	25
<b>Şekil 2.12.</b> Yıllara göre dünyanın ekolojik ayak izi ve biyokapasite değerleri (GFN, 2024).....	27
<b>Şekil 2.13.</b> a) Dünyanın ekolojik ayak izi ve biyokapasitesi b) Türkiye'nin yıllar içerisindeki biyokapasite ve ekolojik ayak izi verileri değişimi (GFN, 2024).....	28
<b>Şekil 2.14.</b> Yıllara göre ekolojik ayak izi kategorilerinin dağılımı (GFN, 2024) .	29
<b>Şekil 2.15.</b> <i>Spirodela</i> , <i>Landoltia</i> , <i>Lemna</i> , <i>Wolffiella</i> ve <i>Wolffia</i> cinslerindeki su mercimekleri (Pagliuso et al., 2018).....	30
<b>Şekil 3.1.</b> Çalışmada kullanılan su mercimekleri ( <i>Lemna minor</i> ).....	36

<b>Şekil 3.2.</b> Tez çalışması akım şeması .....	37
<b>Şekil 4.1.</b> H <sub>25</sub> ve H <sub>20</sub> solüsyonlarında yetişen su mercimeklerinin 0, 3, 6 ve 9. gün görüntüleri.....	58
<b>Şekil 4.2.</b> Farklı pH değerlerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle değişimleri .....	60
<b>Şekil 4.3.</b> Plackett Burman tasarımı göre hazırlanan solüsyonlarda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütellerindeki değişim grafiği.....	63
<b>Şekil 4.4.</b> Plackett Burman tasarımına göre hazırlanan solüsyonlarda yetiştirilen su mercimeklerinin 12. gün görüntüleri .....	64
<b>Şekil 4.5.</b> Optimizasyonun 3D yüzey grafikleri (A: ' $KH_2PO_4 \times Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 'nun su mercimeğinin protein içeriğine etkisi, pH değeri 7,5; B: ' $KH_2PO_4 \times pH$ değeri'nin su mercimeğinin protein içeriğine etkisi, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 7,5 mM; C: ' $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O \times pH$ değeri'nin su mercimeğinin protein içeriğine etkisi. $KH_2PO_4$ sıfır seviyesinde 3,5 mM.....	67
<b>Şekil 4.6.</b> Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımı deneme deseni solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle değişimi .....	67
<b>Şekil 4.7.</b> Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımı deneme deseni solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin 12. gün görüntüleri .....	68
<b>Şekil 4.8.</b> Doğrulama analizinde yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle artışı.....	69
<b>Şekil 4.9.</b> HOA ve OPT solüsyonlarda yetiştirilen su mercimekleri biyokütle değişimi.....	69
<b>Şekil 4.10.</b> HOA ve OPT solüsyonlarında yetişen su mercimeklerinin 0. ve 9. gün görüntüleri.....	70
<b>Şekil 4.11.</b> Vakumda kurutulmuş, dondurarak kurutulmuş ve dondurulmuş su mercimekleri ve protein içerikleri.....	71
<b>Şekil 4.12.</b> Ekstraksiyon ortamının pH değerlerine göre protein konsantrasyonu .....	72
<b>Şekil 4.13.</b> Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında izole edilen protein konsantrelerinin protein oranı .....	73
<b>Şekil 4.14.</b> Çözgen/katı oranına göre protein konsantrelerinin protein oranı .....	74

Şekil 4.15. Ekstraksiyon yöntemine göre protein verimi .....	76
Şekil 4.16. Su mercimeği protein konsantresinin (SMP) görüntüsü .....	79
Şekil 4.17. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerine göre protein çözünürlükleri .....	81
Şekil 4.18. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerine göre köpürme kapasitesi.....	82
Şekil 4.19. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerlerine göre 5 ve 30 dk köpürme stabilitesi.....	82
Şekil 4.20. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerlerine göre emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi.....	83
Şekil 4.21. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin FTIR spektrumu .....	84
Şekil 4.22. Su mercimeğine ait a)100 µm, b)50 µm, c)30 µm ve d)10 µm yaklaşma seviyelerindeki SEM görüntüleri.....	85
Şekil 4.23. Su mercimeği protein konsantresine ait a)300 µm, b)100 µm, c)50 µm ve d)30 µm yaklaşma seviyelerindeki SEM görüntüleri .....	86
Şekil 4.24. Su mercimeği protein konsantresi içeren atıştırmalık bar, ekmek ve kekler ve kontrol örneklerinin görüntüsü .....	89
Şekil 4.25. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek formülasyonlarının klorofil miktarları .....	92
Şekil 4.26. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin toplam fenolik madde miktarları.....	93
Şekil 4.27. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan kapasiteleri .....	94
Şekil 4.28. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin flavonoid miktarları .....	95
Şekil 4.29. Kontrol (KB) ve SMP içeren atıştırmalık barın (SMP-B) zaman-kuvvet grafiği.....	97
Şekil 4.30. Kontrol (KE) ve SMP içeren ekmeğin (SMP-E) zaman-kuvvet grafiği .....	98

**Şekil 4.31.** Kontrol (KK) ve SMP içeren kekin (SMP-K) zaman-kuvvet grafiği...99

**Şekil 4.32.** Kontrol ve SMP içeren atıştırmalık barın örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri.....102

**Şekil 4.33.** Kontrol ve SMP içeren ekmeğin örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri .....103

**Şekil 4.34.** Kontrol ve SMP içeren kekin örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri.....104



**ÇİZELGELER DİZİNİ**

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
<b>Çizelge 2.1.</b> Değişken gruplarına göre amino asitlerin sınıflandırılması (Phillips et al., 2013) .....	5
<b>Çizelge 2.2.</b> Bitkisel protein kaynakları ile ilgili literatür çalışmaları .....	9
<b>Çizelge 2.3.</b> Protein ekstraksiyonu etkileyen parametrelerin yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu.....	13
<b>Çizelge 2.4.</b> Yardımcı ekstraksiyon yöntemleri ile protein ekstraksiyonu ve verime etkisine dair literatür çalışmaları .....	20
<b>Çizelge 2.5.</b> Protein çöktürme yöntemlerinin karşılaştırıldığı literatür çalışmaları .....	26
<b>Çizelge 2.6.</b> Bitkisel protein konsantresi/izolatı ile fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi .....	34
<b>Çizelge 3.1.</b> Hoagland solüsyonu için gerekli makro ve mikro bileşenlerin final konsantrasyonları.....	39
<b>Çizelge 3.2.</b> Hoagland solüsyonu makro-bileşenlerinin Plackett-Burman deneme deseni .....	40
<b>Çizelge 3.3.</b> Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım deneme deseni ....	41
<b>Çizelge 3.4.</b> Kontrol ve SMP içeren bar formülasyonları .....	44
<b>Çizelge 3.5.</b> Kontrol ve SMP içeren ekmek formülasyonları.....	45
<b>Çizelge 3.6.</b> Kontrol ve SMP içeren kek formülasyonları.....	45
<b>Çizelge 3.7.</b> Carr indeksi ve Hausner oranlarına göre sınıflandırılması.....	53
<b>Çizelge 3.8.</b> Su mercimeğine, su mercimeği protein konsantresine ve fonksiyonel gıda ürünlerine yapılacak analizler .....	55
<b>Çizelge 4.1.</b> Su mercimeğinin ( <i>Lemna minor</i> ) kimyasal kompozisyonu .....	56

<b>Çizelge 4.2.</b> Farklı pH değerlerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin protein içerikleri .....	59
<b>Çizelge 4.3.</b> Hoagland çözeltisindeki makro elementlerin Plackett-Burman deneme deseni ve yanıtı.....	61
<b>Çizelge 4.4.</b> Plackett-Burman ANOVA sonuçları .....	62
<b>Çizelge 4.5.</b> Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımı deneme deseni ve yanıtları .....	65
<b>Çizelge 4.6.</b> Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım ANOVA sonuçları .....	66
<b>Çizelge 4.7.</b> Ultrases destekli ekstraksiyonun protein konsantrasyonuna göre uygulama koşulları.....	75
<b>Çizelge 4.8.</b> SMP'nin kimyasal kompozisyonu .....	77
<b>Çizelge 4.9.</b> Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantrasyonunun amino asit kompozisyonu .....	78
<b>Çizelge 4.10.</b> SMP'nin renk, yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı değerleri .....	79
<b>Çizelge 4.11.</b> Su mercimeği, su mercimeği protein konsantrasyonunun ve NF protein konsantrasyonunun mineral madde miktarları.....	87
<b>Çizelge 4.12.</b> Atıştırmalık bar, ekme ve keklerin $L^*$ , $a^*$ ve $b^*$ değerleri .....	89
<b>Çizelge 4.13.</b> Atıştırmalık bar, ekme ve kek ürünlerinin kimyasal kompozisyonları .....	91
<b>Çizelge 4.14.</b> Atıştırmalık bar, ekme ve kek ürünlerinin su aktivite değerleri .....	95
<b>Çizelge 4.15.</b> Atıştırmalık bar, ekme ve kek ürünlerinin tekstür özellikleri.....	96
<b>Çizelge 4.16.</b> SMP içeren atıştırmalık bar, ekme ve keklerin kontrol örnekleri ile beraber duyusal test skorları .....	100

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ**

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
%N	% Azot
µs	Mikrosaniye
<i>a</i> *	Kolorimetrede kırmızılık/yeşillik değeri
ABTS	2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ağ/h	Ağırlık/hacim
AlCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	Alüminyum klorür heksahidrat
ANOVA	Varyans analizi
AOAC	Resmi Analitik Kimyagerler Derneği
AU	Alkalaz unit
<i>b</i> *	Kolorimetrede sarılık/mavilik değeri
BGG	Bovine Gama Globulin
C	Karbon
Ca	Kalsiyum
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	Kalsiyum nitrat tetrahidrat
CCD	Merkezi Bütünleşik Tasarım (Central Composite Design)
CI	Carr indeksi
cm	Santimetre
COOH	Karboksil
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	Bakır (II) sülfat pentahidrat
D	Dondurulmuş
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F	Fisher test değeri
Fe	Demir
FT-IR	Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğer
GFN	Küresel Ayak İzi Ağı (Global Footprint Network)
GHz	Gigahertz
H	Hidrojen
H <sub>20</sub>	1/5 oranında seyreltilen Hoagland solüsyonu
H <sub>25</sub>	1/4 oranında seyreltilen Hoagland solüsyonu
H <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·H <sub>2</sub> O	Molibdik asit monohidrat
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sülfürik asit
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	Borik asit
HCl	Hidroklorik asit
HOA	Ticari Hoagland solüsyonu
HPH	Yüksek Basıncılı Homojenizasyon
HPLC-DAD	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi–Diyot dizi dedektörü
Hz	Hertz
K	Potasyum
KB	Kontrol bar
KE	Kontrol ekmek
kg	Kilogram

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Mono potasyum fosfat
kHz	Kilohertz
KK	Kontrol kek
KM	Kuru madde
$\text{KNO}_3$	Potasyum nitrat
kV	Kilovolt
L	Litre
L	Dondurarak kurutulmuş (Liyofilizasyon)
$L^*$	Kolorimetrede aydınlık değeri
M	Molarite
Mg	Magnezyum
mg	miligram
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	Magnezyum sülfat hepta hidrat
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mM	Mili molar
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Manganez klorür tetra hidrat
MPa	Mega paskal
N	Azot
N	Normalite
$\text{Na}_2\text{CO}_3$	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
$\text{NaNO}_2$	Sodyum nitrit

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

NaOH	Sodyum hidroksit
NH <sub>2</sub>	Amino
nm	Nanometre
OPT	Modifiye Hoagland solüsyonu
P	İstatistiki anlamlılık seviyesi
P	Fosfat
PBS	Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
PEF	Vurgulu Elektrik Alan (Pulsed Electric Field)
PET	Polietilen tereftalat
PGNU	Poligalakturonaz unit
pI	İzoelektrik nokta
R	Radikal grup
RNA	Ribonükleik asit
rpm	Dakikadaki tur sayısı
RSM	Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methology)
RuBisCO	Ribuloz bifosfat karboksilaz/oksijenaz
s	Saat
S	Kükürt
Se	Selenyum
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SF	Seyreltme faktörü
SM	Su mercimeği
SMP	Su mercimeği protein konsantresi

**SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ (devam)**

SMP-B	Su mercimeği protein konsantresi içeren bar
SMP-E	Su mercimeği protein konsantresi içeren ekmek
SMP-K	Su mercimeği protein konsantresi içeren kek
sn	Saniye
t	Süre
V	Vakum altında kurutulmuş
W	Watt
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	inko sülfat hepta hidrat



## 1. GİRİŞ

Proteinler, yaşamın temel bileşenlerinden biri olup vücudun büyümesi, yenilenmesi ve metabolik fonksiyonların sürdürülmesi için hayati önem taşımaktadır. Protein kaynakları, hayvansal ve bitkisel olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Hayvansal proteinler, temel amino asitler bakımından zengin olmakla birlikte, çevresel süreklilik ve etik sorunlar nedeniyle sıkça eleştirilmektedir. Bu nedenle bitkisel protein kaynakları, sürdürülebilirlik ve daha düşük çevresel etki potansiyeliyle öne çıkmakta ve giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Bitkisel proteinler, genellikle daha az doymuş yağ içermekte ve lif, vitamin ve fitokimyasallar gibi ek besin özelliklerine sahip kaynaklar olarak ön plana çıkmaktadır (Sabaté and Soret, 2014).

Bitkisel proteinlerin ekstraksiyonu, ürün kalitesini ve fonksiyonel özelliklerini önemli ölçüde etkileyen kritik bir süreçtir. Bu süreçte pH değeri, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, katı/sıvı oranı ve uygulanan yardımcı ekstraksiyon yöntemleri gibi ön işlemler belirleyici rol oynamaktadır. pH değerinin, izoelektrik noktanın altına veya üstüne ayarlanması, protein çözünürlüğünü etkilemektedir. Sıcaklık hem proteinlerin denatürasyon riski hem de ekstraksiyon verimliliği açısından dikkatle kontrol edilmesi gereken bir parametredir. Bunların yanı sıra, protein verimini ve saflığını optimize etmek için seçilen çözgenin ham maddeye oranı büyük bir öneme sahiptir. Protein ekstraksiyonunu etkileyen parametrelerin tek başına ya da birbirleri ile interaksiyonunun protein verimine etkisini belirlemek amacıyla bu parametrelerin optimize edilme gerekliliğini ortaya koymaktadır (Ortega et al., 2024).

Bitkisel proteinlerin izolasyonunda çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar, genellikle çözünürlük farklılıklarına dayalı alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme ve tuz ile çöktürme (salting in/salting out) gibi yöntemler (Cruz-Solis et al., 2023; Cui et al., 2018) ve ileri teknolojilerle geliştirilen membran filtrasyonu (Ehsani et al., 2024), ultrases destekli ekstraksiyon (Hildebrand et al., 2020), enzimatik hidroliz (Chirinos et al., 2017) veya süperkritik sıvı (Capuzzo et al., 2013) teknolojilerini içermektedir. Alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme, ekonomik ve etkili olması nedeniyle yaygın olarak kullanılırken; ultrases ve

enzimatik yöntemler, protein yapısını koruma ve özellikle fonksiyonel proteinlerin çıkarılması için tercih edilmektedir. Bu yöntemlerin seçimi, ham madde tipi, istenilen proteinin kalite ve verimi, maliyet ve çevresel etki gibi faktörlere bağlıdır.

Son yıllarda, su mercimeği (*Lemna minor*) gibi az bilinen ve yenilikçi bitkisel protein kaynakları önem kazanmıştır. Su mercimeği, hızlı biyokütle üretimi, düşük girdi ihtiyacı ve çevresel sürdürülebilirlik avantajlarıyla dikkat çekmektedir. Protein içeriği, kuru ağırlığın %30-45'ine kadar çıkabilen su mercimeği, özellikle amino asit profili açısından hayvansal proteinlere yakın bir kompozisyon sunmaktadır (Chakrabarti et al., 2018). Bu özellikleriyle su mercimeği, fonksiyonel gıdaları zenginleştirme ve bitkisel protein bazlı yenilikçi ürünlerin geliştirilmesinde çok yönlü bir aday olarak öne çıkmaktadır.

Bitkisel proteinlerin gıdalarda kullanımı, tüketici talepleri ve sağlıklı beslenme trendleri doğrultusunda artmıştır. Proteince zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdalar, sadece protein ihtiyacını karşılamakla kalmaz, aynı zamanda vücudun genel sağlık durumunu iyileştirici etkiler gösterebilmektedir. Protein izolatları, konsantreler veya hidrolizatlar, özellikle bitki bazlı yoğurt, peynir, ekmek ve atıştırmalık bar gibi ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Su mercimeği gibi alternatif protein kaynaklarının fonksiyonel gıda formülasyonlarına entegrasyonu hem yenilikçi ürünlerin geliştirilmesi hem de çevresel etki azaltımı için umut verici bir strateji olarak karşımıza çıkmaktadır (Ma et al., 2022; Sosa et al., 2024).

Yapılan tez çalışması kapsamında, alternatif sürdürülebilir bitkisel protein ve klorofil kaynağı olarak belirlenen su mercimeği bitkisinin protein içeriğini arttıracak şekilde yetiştirme koşullarının ve ortamının besin içeriğinin optimize edilmesi ve seçilen optimum koşulda yetiştirilen su mercimeği bitkisinin gıda sektöründe kullanılmak üzere sürdürülebilir üretiminin sağlanması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, su mercimeğinin yetiştirme ortamı olarak belirlenen Hoagland solüsyonunun makro-bileşenlerinin protein içeriğini etkileyen faktörleri Plackett-Burman tasarımı ile belirlenmiştir. Etken parametreler yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile optimize edilerek su mercimekleri bu koşullarda yetiştirilmiştir. Ardından optimum koşulda proteinler ekstrakte edilerek protein konsantresi üretimi gerçekleştirilmiştir. İzole edilen protein konsantrelerinin fiziksel, kimyasal ve

fonksiyonel özellikleri belirlendikten sonra protein konsantresi atıştırma bar, ekmek ve kek formülasyonlarına eklenerek bu ürünlerin fiziksel, kimyasal ve duyu özelliklerine etkisi belirlenmiştir.

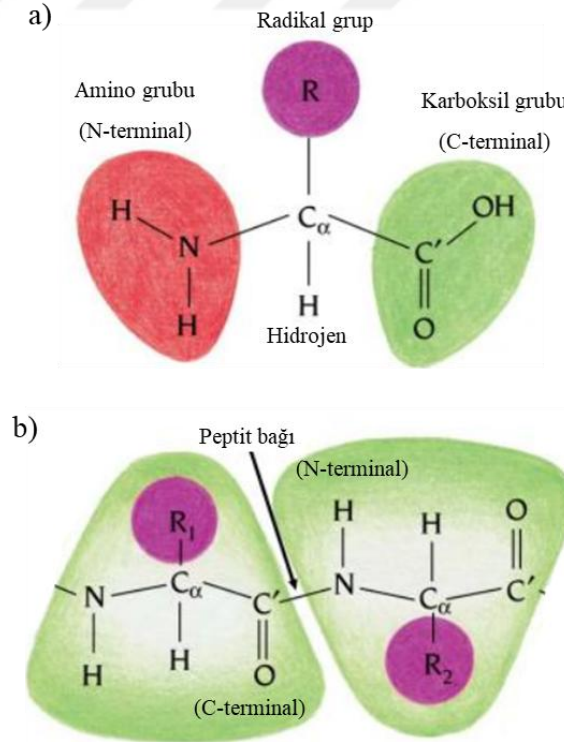


## 2. GENEL BİLGİLER

Bu bölümde tez kapsamında yer alan konular ile ilgili genel bilgilere ve literatür çalışmalarına yer verilmiştir.

### 2.1. Protein

Canlılığın ana yapı taşı olan proteinler, hücre içinde birçok biyolojik reaksiyonda görev almaktadır. Membran yapısında, kas ve bağ dokuda (aktin ve miyosin), taşıma mekanizmasında (hemoglobın), kan dolaşımında (antikor), hücre içi tüm reaksiyonlarda yer alan enzimlerin yapısında, deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) olarak genetik yapıda olmak gibi proteinlerin birçok önemli işlevi vardır (Alberts et al., 2017). Bu önemli molekülün yapı taşı olan amino asitler, merkez  $\alpha$ -karbon (C) atomuna bağlı hidrojen (-H), karboksil (-COOH), amino (-NH<sub>2</sub>) ve radikal (-R) gruplarını içermektedir. Bir amino asidin karbonil grubu (C-terminal) ile diğer amino asidin amino grubunun (N-terminal) peptit bağı ile bağlanması sonucu proteinler oluşmaktadır (Branden and Tooze, 2012). Amino asit ve amino asitlerin peptit bağı ile bağlanması sonucu oluşan proteinin yapısı Şekil 2.1'de verilmiştir.



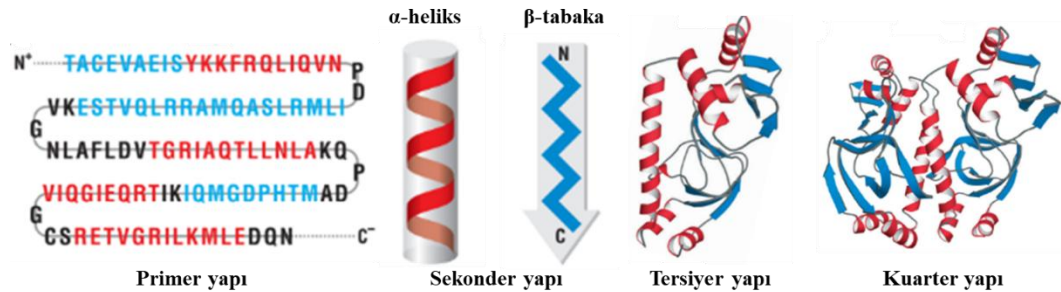
Şekil 2.1. Amino asit (a) ve protein yapısı (b) (Branden and Tooze, 2012).

Amino asitleri farklılaştıran bu radikal ya da değişken olarak adlandırılan gruptur. Değişken gruba göre amino asitler; bazik, asidik, polar yüksüz, aromatik, alifatik ve kükürt içeren amino asitler olarak ayrılmaktadır (Çizelge 2.1). Bunlara ek olarak, glisin değişken grup olarak -H atomuna sahip asimetric bir amino asit ve prolin ikincil amino grubuna sahip olması sebebiyle imino asit olmasıyla bu sınıflandırmaların dışında yer almaktadır (Phillips et al., 1994).

**Çizelge 2.1.** Değişken gruplarına göre amino asitlerin sınıflandırılması (Phillips et al., 1994)

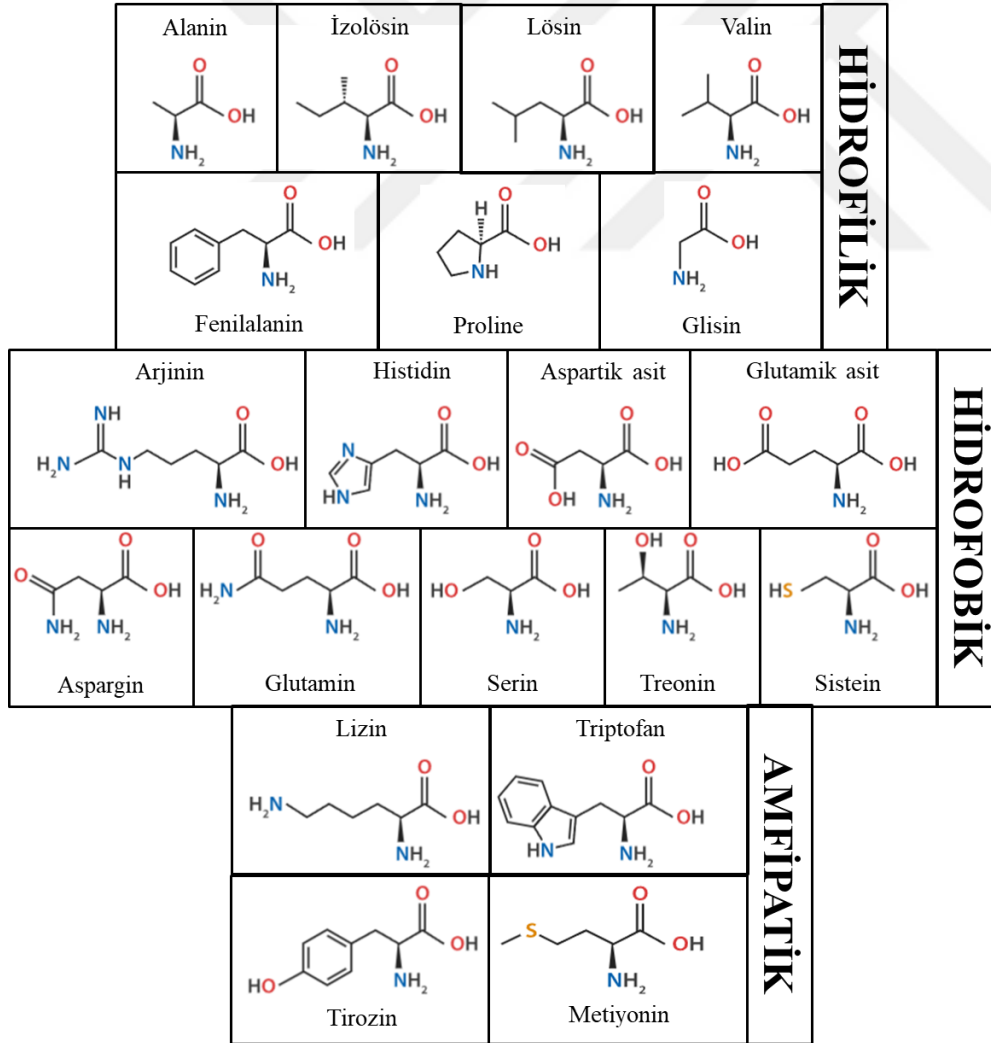
Bazik	Asidik	Polar Yüksüz	Aromatik	Alifatik	Kükürt İçeren
Lizin	Aspartik asit	Aspargin	Fenilalanin	Alanin	Sistein
Arjinin	Glutamik asit	Glutamin	Tirozin	Lösin	Metiyonin
Histidin		Serin	Triptofan	İzolösin	
		Treonin		Valin	

Çizelge 2.1’de yer alan amino asitlere glisin ve prolin amino asidi eklendiğinde toplamda 20 çeşit amino asit vardır. Amino asitlerin çeşitli özelliklerine göre birçok sınıflandırması mevcuttur. Bunlardan biri, 3 boyutlu yapısına göre primer, sekonder, tersiyer ve kuarter yapısıdır. Primer yapı; amino asitlerin düz zincirdeki dizilimi, sekonder yapı; amino asitlerin C=O ve N-H bağlarının hidrojen bağları ile oluşan  $\alpha$ -heliks ve  $\beta$ -yapıları, tersiyer yapı; H-bağları, iyonik bağlar, polar ve polar olmayan bağlar sonucu yapıda meydana gelen katlanmalar sonucu oluşan 3 boyutlu protein yapısı ve son olarak kuarter yapı; birden çok polipeptit zincirler arasındaki tersiyer yapıdaki bağlar ile birbirine bağlanmasıdır (Petsko and Ringe, 2004). Proteinlerin primer, sekonder, tersiyer ve kuarter yapıları Şekil 2.2’de verilmiştir.



**Şekil 2.2.** Amino asitlerin 3 boyutlu yapısı (Petsko and Ring, 2004)

Amino asitler aynı zamanda, birbirleri ve su ile interaksiyonlarına göre hidrofilik, hidrofobik ve amfipatik olarak sınıflandırılmaktadır. Hidrofilik amino asitler suyu seven polar amino asitlerdir. Bu amino asitlerin polar özelliği hidroksil (-OH), amino (-NH<sub>2</sub><sup>+</sup>) ve karboksil (-COOH) gruplarından gelmektedir ve suya hidrojen bağları ile bağlanarak çözünürler. Hidrofobik amino asitler, suyu sevmeyen, polar olmayan, birbirleri ve suyla etkileşime girmeyen, sadece van der Waals etkileşimlerine giren gruplardır. Amfipatik amino asitler ise hem hidrofilik hem de hidrofobik yan gruplara sahiptir. Proteinlerin sahip olduğu amino asitlerin hidrofilik, hidrofobik ve amfipatik dağılımı, 3 boyutlu yapısı ve sayısı fonksiyonel özelliklerini belirlemektedir (Vnućec et al., 2017). Proteinlerin fonksiyonel özelliklerindeki farklılık ise gıda endüstrisindeki kullanım alanlarını belirleyen önemli faktörlerden biridir. Şekil 2.3'te hidrofilik, hidrofobik ve amfipatik amino asitler verilmiştir.



Şekil 2.3. Hidrofilik, hidrofobik ve amfipatik amino asitler

Proteinler, asidik ve bazik, 3 boyutlu yapısı ve su ile interaksiyonlarına göre sınıflandırılmanın yanı sıra besinsel değerini ortaya koymak için esansiyel ve esansiyel olmayan amino asitler olarak da sınıflandırılmaktadır. Vücut tarafından sentezlenemeyen 9 çeşit amino asit, esansiyel amino asit olarak adlandırılır ve besin yoluyla vücuda alınması gerekmektedir. Bu zorunlu amino asitlerin besin yoluyla yeterli miktarda alınmaması hücresel faaliyetlerin aksamasına sebep olmaktadır. Bu sebeple, proteinlerin besinsel değerini esansiyel amino asitlerin varlığı ve miktarı belirlemektedir (Ustunol, 2014). Lösin, izölösin, valin, fenilalanin, treonin, triptofan, metiyonin, lizin ve histidin esansiyel amino asitlerdir. Glisin, prolin, arjinin, sistein, tirozin, glutamin, aspargin, glutamik asit, aspartik asit, serin ve alanin vücut tarafından sentezlenir ve esansiyel olmayan amino asitler olarak adlandırılmaktadır (Xiao and Guo, 2022). Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre yaş, cinsiyet ve yaşam tarzına göre değişmekle birlikte sağlıklı bireylerin günlük alması gereken protein miktarı kg vücut ağırlığı başına 0,8 gram olarak belirtilmiştir (World Health Organization, 2007). Hücre içi birçok görevi olan proteinlerin, dengeli amino asit dağılımına sahip olması ve bu amino asitlerin besin yoluyla vücuda alınması sağlık açısından elzemdir.

## **2.2. Bitkisel Protein Kaynakları**

Protein, sağlıklı bir yaşam için dışarıdan besin yoluyla alınması gereken zorunlu besin grubudur. Bu besin grubu, hayvansal ve bitkisel kaynaklardan sağlanabilmektedir. Et, süt, balık, tavuk, yumurta, vb. gibi hayvansal kaynaklar içerdikleri protein ve esansiyel amino asit miktarı ile yüksek protein kalitesine sahip ana protein kaynağı olarak tüketilmektedirler. Ancak, protein ihtiyacının yalnızca hayvansal kaynaklardan sağlanmasının sağlık açısından olumsuz etkileri mevcuttur (Schönfeldt et al., 2013). Özellikle gelişmiş ülkelerde artan refah seviyesi ile hayvansal kaynaklı proteinlerin tüketiminin arttığı ve bu hayvansal kaynakların yüksek oranda içerdiği doğmuş yağ asidinin kardiovasküler rahatsızlıklara sebep olduğu belirtilmiştir (Richter et al., 2015).

Hayvansal proteinlerin bir diğer olumsuz özelliği sürdürülebilirliğidir. Küresel ısınmaya bağlı olarak, kuraklığın artması ve su kaynaklarının azalması çevresel kaynakları tehdit etmektedir. Bunun yanı sıra, 2050 yılında dünya nüfusunun 10 milyara ulaşması ve bu durumun gıda talebinde %60'lık bir artışa sebep olması beklenmektedir (Alexandratos and Bruinsma, 2012). Kaynakların

giderek azaldığı ancak gıda talebinin popülasyona bağlı sürekli arttığı bu durumda, sürdürülebilirlik kavramı önem kazanmaktadır. Sürdürülebilirlik, ‘gelecek kuşakların kendi ihtiyaçlarını karşılayabilme olanaklarını tehlikeye atmadan bugünün ihtiyaçlarını karşılamak’ olarak tanımlanmıştır (United Nations General Assembly, 1987). Ancak, hayvancılık sektörünün, küresel ısınmanın en önemli sebeplerinden biri olan sera gaz emisyonlarının %14,5’ini oluşturduğu düşünüldüğünde, hayvansal kaynakların çevresel sürdürülebilirliğe olumsuz etkisi görülmektedir (Gerber, 2013).

Hayvansal kaynaklı proteinlerin dezavantajlarının yanı sıra, bitkisel proteinlerin giderek büyüyen bir pazar olması, hayvansal kaynaklara göre daha sürdürülebilir olması, sağlık açısından negatif bir etkisinin olmaması ve ekonomik olması gibi avantajları bitkisel proteinleri bir adım öne çıkarmaktadır (Sá et al., 2020). Küresel bitkisel protein pazarının değeri 2022 yılında 12,2 milyar dolar iken yaklaşık %40’lık bir artışla 2027 yılında 17,4 milyar dolara ulaşması beklenmektedir (Shahbandeh, 2022). Bitkisel kaynakların sera gazı emisyonunun, hayvansal kaynaklara göre daha düşük olması bitkisel kaynakları sürdürülebilirlik açısından öne çıkarmaktadır (Scarborough et al., 2014). Ayrıca, bitkisel proteinlerin amino asit kompozisyonlarına göre çeşitli kaynaklardan sağlanması ile besleyici özelliklerinin artırılabilirdiği, içerdiği antioksidan ve diyet lifi içeriği ile sağlığa olumlu etkilerinin olduğu, hayvansal kaynaklara göre daha ekonomik ve fonksiyonel bileşen olarak kullanılma potansiyeli olduğu belirtilmiştir (Sá et al., 2020). Tüm bu sebepler düşünüldüğünde, alternatif bitkisel protein kaynağı arayışının artması olağandır.

Bitkisel protein kaynakları; yağlı tohumlar, tahıllar, bakliyatlar ve yeşil bitkiler ve yapraklar olmak üzere 4 gruba ayrılmaktadır (Çetiner ve Ersus, 2018). Yağlı tohumlar, yağı alındıktan sonra yüksek oranda protein içeren ve yağı alındığı için protein izolasyonuna uygun protein kaynaklarıdır. Dünyada en fazla ekimi olan yağlı tohumlar; soya, ayçiçeği, yer fıstığı, kolza ve pamuk tohumudur (Rodrigues et al., 2012). Özellikle soya, dünyada en fazla üretim ve tüketimi olan, bitkisel protein denildiğinde akla ilk gelen, içerdiği esansiyel amino asitler ve üstün fonksiyonel özellikleri açısından önemli bir kaynaktır (Karr-Lilienthal et al., 2004). Nişasta ve karbohidrat kaynağı olan tahıllar, yağlı tohumlara göre daha düşük oranda protein içermesine rağmen, üstün fonksiyonel özelliklere sahip gluten gibi

proteinleri içermesi, tahılları önemli bir protein kaynağı yapmaktadır (Shewry et al., 1995). Diğer yandan bakliyatlar ise tahıllara göre daha yüksek protein içeriğine sahip, ekonomik ve protein izolasyonuna uygun protein kaynaklarıdır. Acı bakla, bezelye, fasulye, nohut ve mercimek protein izolasyonunda kullanılan yaygın kaynaklardır (Klupšaitė and Juodeikienė, 2015). Yeşil bitki ve yaprak proteinleri doğada en fazla bulunan alternatif kaynaklardır. Son yıllarda, yüksek oranda protein içeriğine sahip şeker pancarı yaprağı (Akyüz and Ersus, 2021), ebegümece yaprağı (Ersus and Akyüz, 2023), çay yaprağı (Shen et al., 2008), moringa yaprağı (Paula et al., 2017), zeytin yaprağı (Ortega et al., 2024) ve manyok yaprağından (Patra and Prasath, 2024) protein izolasyonu ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bitkisel protein kaynakları ile ilgili çalışmalar Çizelge 2.2’de verilmiştir.

**Çizelge 2.2.** Bitkisel protein kaynakları ile ilgili literatür çalışmaları

	<b>Ham madde</b>	<b>Protein oranı</b>	<b>Kaynak</b>
	Soya küspesi	%47,01	(Jankowski et al., 2009)
	Ayçiçeği küspesi	%44,00	(Kaur and Ghoshal, 2022)
	Kolza küspesi	%42,25	(Kalaydzhiev et al., 2020)
<b>YAĞLI TOHUM</b>	Pamuk tohumu küspesi	%56,80	(Kumar et al., 2022)
	Susam küspesi	%41,96	(Sharma et al., 2016)
	Yer fıstığı küspesi	%52,73	(Yu et al., 2007)
	Kanola küspesi	%36,13	(Khattab and Arntfield, 2009)
	Pirinç kepeği	%14,70	(Amagliani et al., 2017)
	Tam buğday unu	%11,55	(Ersus et al., 2024)
<b>TAHİL</b>	Pirinç unu	%7,32	(Amagliani et al., 2017)
	Çavdar	%11,75	(Drakos et al., 2017)
	Arpa	%13,90	(Yalçın et al., 2008)
	Yulaf	%11,20	(Laursen et al., 2024)

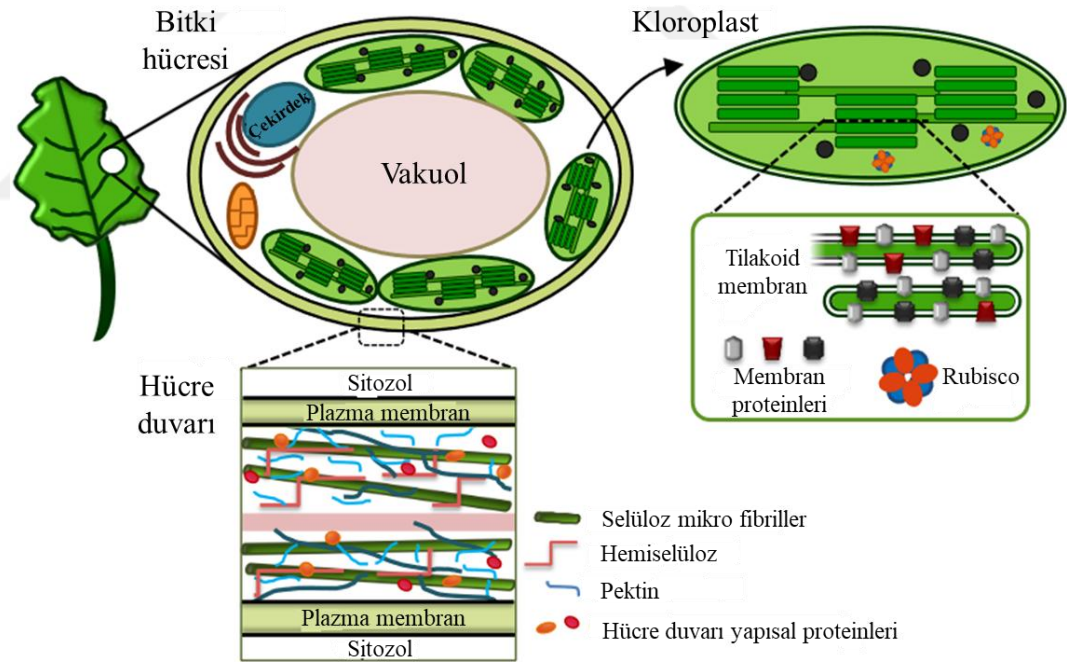
	Nohut	%16,71	(Karaca et al., 2011)
	Acı bakla	%38,20	(Lásztity et al., 2001)
<b>BAKLİYAT</b>	Mercimek	%25,88	(Boye et al., 2010–a)
	Bezelye	%28,80	(Tian et al., 1999)
	Faba	%26,60	(Vioque et al., 2012)
	Maş fasulyesi	%22,27	(Aksoy and Ersus, 2023)
		Şeker pancarı yaprağı	%28,89
	Ebegümece yaprağı	%43,50	(Ersus and Akyüz, 2023)
<b>YEŞİL BİTKİ VE YAPRAK</b>	Moringa yaprağı	%26,72	(Bocarando-Guzmán et al., 2022)
	Manyok yaprağı	%30,10	(Gundersen et al., 2022)
	Akçağaç yaprağı	%43,32	(Yeasmen and Orsat, 2024)
	Brokoli yaprağı	%12,00	(Prade et al., 2021)

Yağlı tohumlar, özellikle yağı alındıktan sonra, yüksek oranda protein içermesi ve ekstrakte edilebilirliğe uygun olması sebebiyle protein izolasyonuna en uygun ham madde kaynakları olarak bilinmektedir. Yağlı tohumlarından ardından bakliyatlar, yüksek protein içeriği ile alternatif bir kaynak olarak değerlendirilirken, tahıllar dünyada tarımı en fazla yapılan ürünlerden olması sebebiyle ön plana çıkmaktadır. Dünya üzerinde en bol bulunan ham madde olmasına rağmen, günümüze kadar yapraklar, düşük protein içeriği ve içerdiği selüloz, hemiselüloz ve pektin gibi karmaşık yapılarından dolayı ekstrakte edilebilirliğinin düşük olması sebebiyle diğer alternatif kaynaklara göre düşük öneme sahipti. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar ile yüksek protein içeriğine sahip yaprakların buluşu ve yenilikçi ekstraksiyon teknikleri ve uygun izolasyon yöntemleri kullanılarak verimin artırılması ile yapraklar, alternatif protein kaynağı olarak önemini arttırmıştır (Rawiwan and Quek, 2024).

### 2.3. Protein İzolasyon Yöntemleri

Protein izolasyonu, ekstraksiyon ve çöktürme olmak üzere 2 ana aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, ham maddenin sahip olduğu proteinlerin çözünürlüğünün yüksek olduğu koşulda, çözgene geçmesi sağlanmaktadır. Ardından, çözgende bulunan proteinlerin çözünürlüğünün en düşük olduğu koşulda çöktürülmesi sonucu yüksek oranda protein içeren protein konsantresi üretimi gerçekleştirilmektedir (Hadnadjev et al., 2017).

Ekstraksiyon, yüksek verimde protein eldesi için protein izolasyonunda kritik öneme sahiptir. Özellikle yaprak hücresinin sahip olduğu ekstra bariyer olan hücre duvarı, protein ekstraksiyonunu zorlaştırmaktadır. Yaprak proteinleri, hücre duvarında selüloz, hemiselüloz ve pektine bağlı ve kloroplastın içinde membran ve rubisco proteinleri şeklinde bulunmaktadır (Tamayo Tenorio, 2017). Şekil 2.4'te yaprak hücresinin yapısı ve proteinlerin bulunduğu yapı gösterilmiştir.



Şekil 2.4. Bitki hücre yapısı ve proteinler (Tamayo Tenorio, 2017)

Bitki hücresinin yapısından kaynaklı düşük protein verimini arttırmak amacıyla ekstraksiyon adımının optimum koşullarda gerçekleştirilmesi gerekmektedir. Ortamın pH değeri, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi ve ham madde/çözgen oranı gibi ekstraksiyonu etkileyen parametrelerin ham maddeye özgü optimum koşullarının belirlenmesi protein verimini arttırmak için elzemdir.

### 2.3.1. Yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyon

Yanıt yüzey yöntemi, Box ve Wilson tarafından düşük maliyet ile yüksek saflık ve verimde ürün eldesini amaçlayan bir yöntem olarak geliştirilmiştir (Dean et al., 2017). İstenilen yanıt ile bir dizi ilişkili olabileceği düşünülen bağımsız değişkenler arasındaki matematiksel ilişkiyi ortaya koyan istatistiksel bu yöntemde, optimum noktayı bulabilmek için 2. dereceden denklem tasarımları kullanılmaktadır (Khuri and Mukhopadhyay, 2010). Optimum noktayı ifade edebilmek için yanıtın ilk önce arttığı daha sonra azaldığı ya da tam tersi ilk önce azaldığı sonra arttığı nokta belirlenmelidir. Bu şekilde, at eyerini andıran bir grafik elde edilerek optimum nokta belirlenmektedir (Dean et al., 2017).

Yanıt yüzey yönteminde en çok kullanılan tasarımlar merkezi bütünleşik tasarım (CCD: Central Composite Design) ve Box-Behnken tasarımlarıdır. Box-Behnken, en az işlem gerektiren ve her bir faktör için 3 seviyenin (-1, 0, +1) yeterli olduğu bir optimizasyon tasarımıdır. Merkezi bütünleşik tasarımı ise her bir faktör için 5 seviye gerektiren ( $-\alpha$ , -1, 0, 1,  $+\alpha$ ) ve ilgi alanını dıştan çevreleyen bir optimizasyon yöntemidir (Dean et al., 2017). Bu yöntemler, ekstraksiyon işleminin verimi arttırmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle sıcaklık, süre ve çözültü/katı oranı gibi parametrelerin optimum değerlerinin belirlenmesi, protein veriminin artmasının yanı sıra enerji, süre tasarrufu ve kimyasal kullanımı açısından önemlidir. Ayrıca, her ham maddenin kendisine özgü hücre yapısı olduğundan ekstraksiyonu etkileyen bu bağımsız değişkenlerin ham maddeye özgü optimum değerlerinin bulunması gerekmektedir. Çizelge 2.3'te çeşitli bitkisel kaynaklardan protein izolasyonunda, protein ekstraksiyonunu etkileyen parametrelerin optimizasyonu ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar derlenmiştir.

Çizelge 2.3. Protein ekstraksiyonu etkileyen parametrelerin yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu

Ham madde	Parametreler	Optimum nokta	Bulgular	Kaynak
Kuşkonmaz yaprakları yan ürünleri	-pH değeri: 8-10 -Süre: 20-60 dk -Sıcaklık: 30-70 °C	-pH değeri: 9 -Süre: 40 dk -Sıcaklık: 50 °C	-Protein izolatu protein içeriği: %90,48 -Protein verimi: %43,47	(dos Santos-Silva et al., 2024)
Susam tohumu	-Çözgen/katı oranı: 40/1-80/1 ağ/h -Süre: 12-24 sa -Sıcaklık: 30-50 °C	-Çözgen/katı oranı: 40/1 ağ/h -Süre: 21 sa -Sıcaklık: 50 °C	-Protein verimi: %80,57	(Khalfallah et al., 2024)
Kırmızı adzuki fasulyesi	-Katı/sıvı oranı: 1/25-1/35 ağ/h -pH değeri: 8,5-9,5 -Sıcaklık: 40-60 °C -Süre: 60-80 dk	-Katı/sıvı oranı: 1/35 ağ/h -pH değeri: 9,13 -Sıcaklık: 59 °C -Süre: 79,37 dk	-Ekstraksiyon verimi: %86,51	(Li et al., 2024)
Aspir küspesi	-Sıvı/katı oranı: 10/1-40/1 mL/g -pH değeri: 8-11 -Sıcaklık: 20-50 °C -Süre: 30-120 dk	-Çözgen/katı oranı: 33,06/1 mL/g -pH değeri: 11 -Sıcaklık: 23,34 °C -Süre: 30,86 dk	-Protein verimi: %75,21	(Korkmaz, 2024)
Soya fasulyesi	-Süre: 6-18 sa -Sıcaklık: 40-70 °C -NH <sub>4</sub> OH konsant.: %0,5-1,5 -Çözgen oranı: 1/5-1/15 ağ/h	-Süre: 12 sa -Sıcaklık: 52,5 °C -NH <sub>4</sub> OH konsant.: %0,5 -Çözgen oranı: 1/10 ağ/h	-Protein verimi: %65,66	(Bello et al., 2023)
Manyok yaprağı	-Süre: 60-120 dk -Sıcaklık: 35-55 °C -Çözgen/katı oranı: 10-30 mL/g -pH değeri: 9-12	-Süre: 114 dk -Sıcaklık: 46 °C -Çözgen/katı oranı: 23,5 mL/g -pH değeri: 11	-Ekstraksiyon verimi: %18,31 -Protein kazanım verimi: %69	(Patra and Prasath, 2024)
Su mercimeği	-Su/katı oranı: %2-6 h/ağ	-Su/katı oranı: %4 h/ağ	-Protein saflığı: %57,6	(Muller et al., 2023)

	-pH değeri: 9-11 -Sıcaklık: 50-80 °C	-pH değeri: 11 -Sıcaklık: 80 °C	-Protein verimi: %60	
Kavun çekirdeği	-Sıcaklık: 45-55 °C -pH değeri:9-10 -Süre: 40-60 dk -Çözgen/katı oranı: 10-20 mL/g	-Sıcaklık: 55 °C -pH değeri:10 -Süre: 62 dk -Çözgen/katı oranı: 23 mL/g	-Protein verimi: %84,11	(Pasrija and Sogi, 2022)
Nohut	-pH değeri: 9-11 -Sıcaklık: 25-35 °C -Çözgen/katı oranı: 15/1-25/1 mL/g -Süre: 60-120 dk	-pH değeri: 9,84 -Sıcaklık: 28,94 °C -Çözgen/katı oranı: 19,06/1 mL/g -Süre: 98,19 dk	-Ekstraksiyon verimi: %60,69 -Nohut protein izolatu protein içeriği: %85,56	(Zhang et al., 2023)
Ceviz	-pH değeri: 8,5-9,5 -Sıcaklık: 50-60 °C -Sıvı/katı oranı: 10/1-30/1 mL/g	-pH değeri: 8,97 -Sıcaklık: 53,64 °C -Sıvı/katı oranı: 22,27/1 mL/g	-Ekstraksiyon verimi: %67,66	(Zhang et al., 2022)
Mikro alg	-pH değeri: 11-12 -Sıvı/katı oranı: 30/1-40/1 mL/g -Sıcaklık: 40-50 °C -Süre: 120-160 dk	-pH değeri: 12 -Sıvı/katı oranı: 40/1 mL/g -Sıcaklık: 45 °C -Süre: 140 dk	-Ekstraksiyon oranı: %40,13	(Sun et al., 2022)
Turp yaprağı	-Süre: 30-60 dk -Örnek/su oranı: 1/10-1/20 g/mL -pH değeri: 7-12	-Süre: 46,89 dk -Örnek/su oranı: 1/15 g/mL -pH değeri: 9,46	-Protein konsantresi verimi: %11,84 -Turp yaprağı protein konsantresi protein içeriği: %88,84	(Kaur and Bhatia, 2022)
Şeker pancarı yaprağı	-Sıcaklık: 25-75 °C -Süre: 40-120 dk -Çözgen/katı oranı: 15-45 mL/g	-Sıcaklık: 54,25 °C -Süre: 81,35 dk -Çözgen/katı oranı: 27,65 mL/g	-Protein verimi: %55,15	(Akyüz and Ersus, 2021)
Balkabağı yan ürünleri	-Sıcaklık: 30-60 °C -Süre: 10-30 dk -pH değeri: 7-10	-Sıcaklık: 32,70 °C -Süre: 16,06 dk -pH değeri: 9,51	-Verim: %70,31	(Lalnunthari et al., 2020)

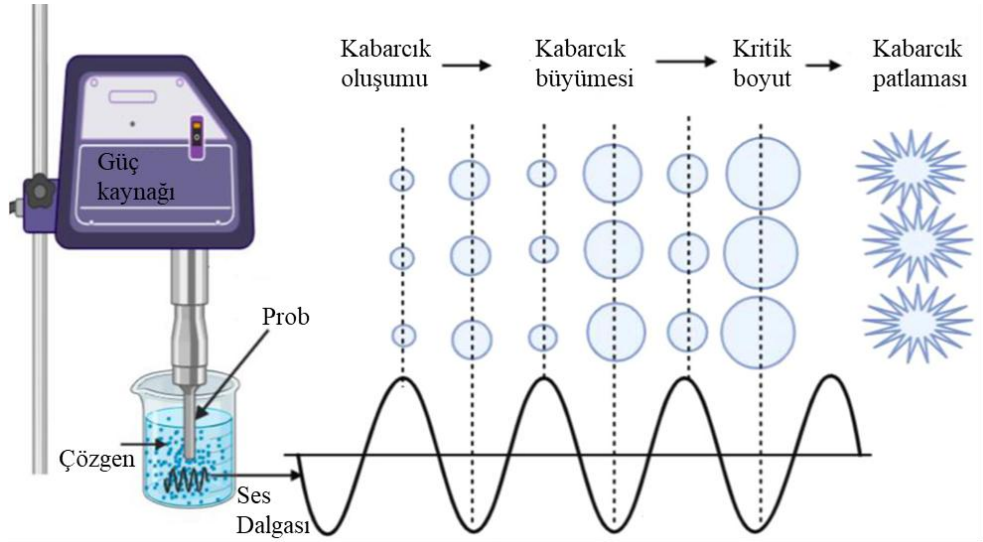
Hünnap çekirdeği	-Sıcaklık: 30-50 °C -Süre: 15-75 dk -pH değeri: 6-10 -Çözgen/katı oranı: 15/1- 35/1 h/ağ	-Sıcaklık: 41,79 °C -Süre: 54,46 dk -pH değeri: 8,65 -Çözgen/katı oranı: 25,9/1 h/ağ	-Ekstraksiyon verimi: %81,52	(Chouaibi et al., 2019)
Susam tohumu	-Katı/sıvı oranı: 1/1-1/3 ağ/h -pH değeri: 9-12 -Sıcaklık: 40-60 °C	-Katı/sıvı oranı: 1/3 ağ/h -pH değeri: 11 -Sıcaklık: 47 °C	-Protein kazanım verimi: %73,10	(Fasuan et al., 2018)
Maş fasulyesi	-Tampon/örnek oranı: 10-20 mL/g -pH değeri: 8,5-9,5 -Sıcaklık: 30-50 °C	-Tampon/örnek oranı: 19,79 mL/g -pH değeri: 9,12 -Sıcaklık: 40 °C	-Protein verimi: 77.12 g protein ekstrakt/100 g)	(Du et al., 2018)
Cañihua (tahıl benzeri)	-Sıcaklık: 30-50 °C -Süre: 35-95 dk -Çözgen/katı oranı: 20/1-40/1 h/ağ -pH değeri: 8-10	-Sıcaklık: 21 °C -Süre: 5 dk -Çözgen/katı oranı: 37/1 h/ağ -pH değeri: 10	-Protein verimi: %88,3	(Betalleluz-Pallardel et al., 2017)
Domates çekirdeği	-Su/ham madde oranı: 40/1-80/1 ağ/h -Ekstraksiyon süresi: 18-54 sa -Karıştırma süresi: 15-25 dk	-Su/ham madde oranı: 82,81 ağ/h -Ekstraksiyon süresi: 49,76 sa -Karıştırma süresi: 24,56 dk	-Protein verimi: %80,37	(Mechmeche et al., 2017)
Kivi çekirdeği	-Sıcaklık: 30-40 °C -pH değeri: 9-10 -Süre: 70-90 dk -Katı/sıvı oranı: 1/12-1/18 ağ/h	-Sıcaklık: 33,9 °C -pH değeri: 9,14 -Süre: 49,2 dk -Katı/sıvı oranı: 1/8,4 ağ/h	-Verim: 613,70 g/kg toplam protein	(Deng et al., 2014)

Çizelge 2.3'te görüldüğü üzere, ekstraksiyon sıcaklığı, süresi, pH değeri ve katı/sıvı oranı parametreleri protein verimini etkileyen önemli bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve yanıt yüzey yöntemi ile ham maddeye özgü optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Proteinlerin yapısını bozmamak için ekstraksiyon sıcaklığı sınırları genellikle 40-60 °C arasında seçilirken, optimum pH değerinin genellikle 9 ile 10 arasında olduğu bulgulanmıştır. Süre ve katı/sıvı oranı parametrelerinde ise ham maddenin içerdiği selüloz, hemiselüloz, pektin ve diğer bileşenlerin varlığı sebebiyle optimum değerler farklılık göstermektedir.

### 2.3.2. Yardımcı ekstraksiyon yöntemleri

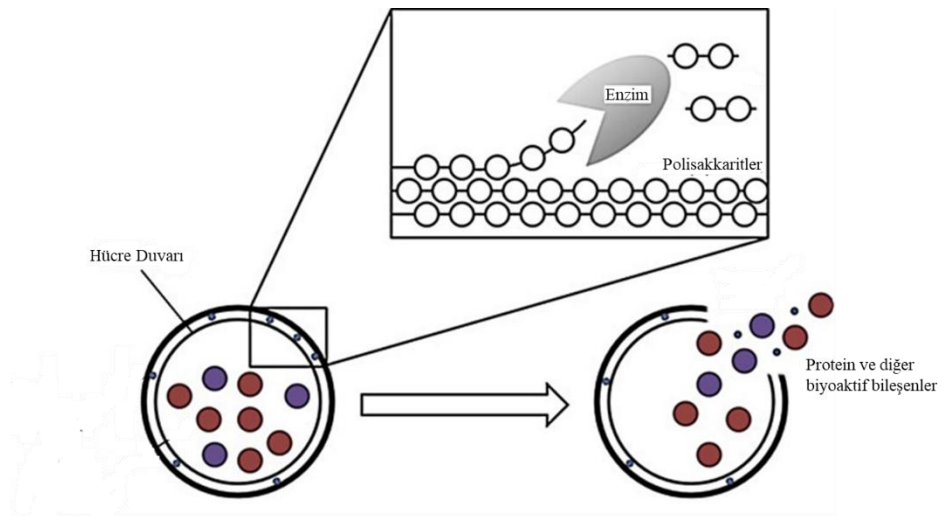
Bitkisel kaynaklardan protein ekstraksiyonu, verimin düşük olması sebebiyle önemli bir zorluktur. Bu zorluk, bitki hücre duvarının varlığından kaynaklanmaktadır. Protein verimini artırmak için ek bir bariyer görevi gören hücre duvarını parçalamak gerekmektedir. Ultrases (Görgüç et al., 2019), enzim (Dias and de Moura Bell, 2022), mikrodalga (Prandi et al., 2022), vurgulu elektrik alan (Kronbauer et al., 2023) ve yüksek basınçlı homojenizasyon (Katsimichas et al., 2023) destekli ekstraksiyon yöntemlerinin, hücre duvarını parçalamada ve böylece protein verimini artırmada etkili olduğu belirlenmiştir.

Ultrases destekli ekstraksiyon, ses dalgaları yardımı ile hücre duvarının kavitasyon ile mekanik parçalanmasını ve böylece ekstraksiyon veriminin artmasını sağlamaktadır. Ultrases insan kulağının duyamayacağı frekanslarda (>20 kHz) yayılım gösterirken, çözücü içerisinde salınım yaparak mekanik bir etki meydana getirmektedir. Ultrases dalgalarının sıvı ortamda yayılması sırasında oluşan kabarcıkların oluşumu, büyümesi ve kritik büyüklüğü ulaşmasının sonunda patlamasına 'kavitasyon' denir. Kaviteasyon, bitki hücre duvarlarının parçalanmasını ve organik maddelerin çözücüye geçişini kolaylaştırmaktadır. Böylece ultrases işlemi düşük sıcaklıklarda, kısa sürede daha yüksek verim vaat eden bir yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır (Rahman and Lamsal, 2021). Ultrases uygulaması sırasında kabarcık oluşumu ve kabarcığın patlamasına kadar olan süreç Şekil 2.5'te verilmiştir.



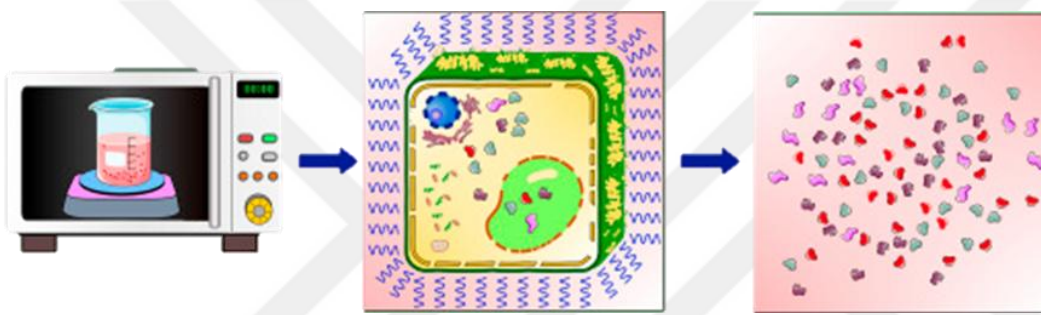
**Şekil 2.5.** Ultrases uygulaması sırasında kabarcık oluşumu, kritik boyuta ulaşması ve patlaması (Rahman and Lamsal, 2021)

Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, sürdürülebilir, çevre dostu ve daha ılımlı koşullarda çalışması sebebiyle yeşil teknoloji olarak adlandırılmaktadır. Enzimler, özellikle hücre duvarında bulunan selüloz, hemiselüloz ve pektini substrat olarak kullanarak hücre duvarını parçalayarak, hücre içinde bulunan biyoaktif bileşenlerin serbest kalmasını sağlamaktadır. Enzim destekli ekstraksiyonun, geleneksel ekstraksiyona göre daha kısa sürede ve ılımlı koşullar altında yüksek verim vermesi endüstride kullanımını yaygınlaştırmaktadır (Puri et al., 2012). Enzim destekli ekstraksiyon ile hücre duvarının parçalanarak hücre içi bileşenlerin salınması Şekil 2.6’da verilmiştir.



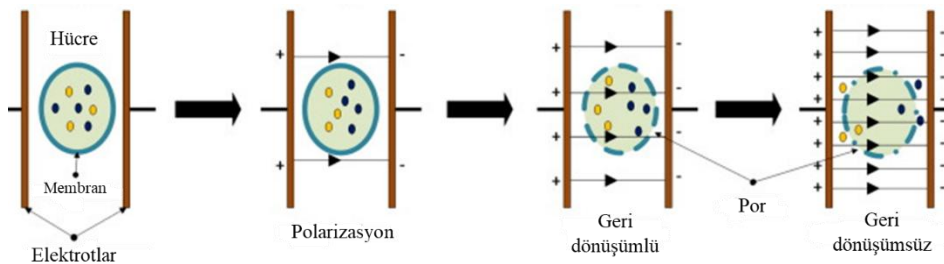
**Şekil 2.6.** Hücre duvarının enzim ile parçalanması (Gligor et al., 2019)

Bir diğer yardımcı ekstraksiyon yöntemi mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemidir. Mikrodalgalar, 300 MHz ile 300 GHz arasındaki elektromanyetik dalgalardır. İyonlar arası etkileşim sonucu oluşan sürtünme ve dipol etkileşim ile ortaya çıkan ısı elektromanyetik enerjiyi termal enerjiye dönüştürmektedir (López-Salazar et al., 2023). Mikrodalga uygulaması sonucu hızlı ısınmadan kaynaklı hücre içindeki su buharlaşmaya ve hücre içi basınç artmaya başlamaktadır. Hücre duvarı bir noktadan sonra bu basınca dayanamaz ve parçalanarak hücre içi bileşenlerin çözüne geçişi kolaylaşmaktadır (Phongthai et al., 2016–b). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, verim artışının yanı sıra süreyi kısaltması bir diğer avantajı olarak karşımıza çıkmaktadır. Şekil 2.7’de mikrodalga destekli ekstraksiyon ile hücre duvarının parçalanması şematik olarak gösterilmiştir.



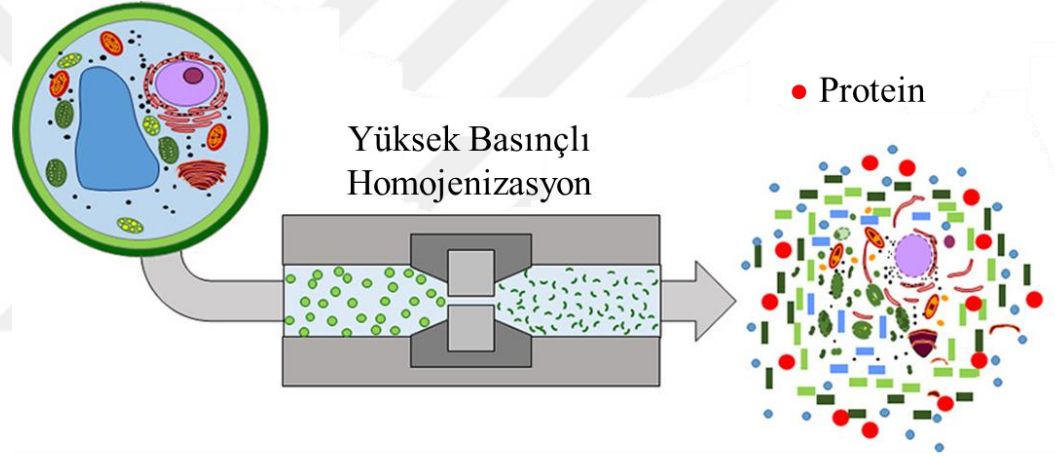
Şekil 2.7. Mikrodalga ile hücre duvarının parçalanması (Kumar et al., 2021)

Vurgulu elektrik alan (Pulsed Electric Field/PEF), iki elektrot arasında yerleştirilen üründen kısa süre aralıkları ile elektrik akımı geçirilerek hücre zarının porlarının geçirgenliğinin artırılmasını ya da hücre zarı yapısını geri dönüşümsüz bir şekilde parçalanması işlemidir. Hücre zarında meydana gelen bu değişikliğe elektroporasyon denir (Martínez et al., 2020). Proteinlerin vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyonunda elektroporasyon olgusundan yararlanarak ekstraksiyon veriminin artırılması hedeflenmektedir. Şekil 2.8’de vurgulu elektrik alan ile hücre zarının parçalanması (elektroporasyon) gösterilmiştir.



Şekil 2.8. Vurgulu elektrik alan ile hücre zarının parçalanma aşamaları (Kovačić et al., 2021)

Yüksek basınçlı homojenizasyon (High Pressure Homogenization/HPH) işlemi ile 2000 barlara çıkan basınç altında, akışkan hızının aniden artması ve hücre süspansiyonunun kayma, uzama, kavitasyon ve türbülans gibi yoğun mekanik strese maruz kalması ve bunun sonucunda hücre duvarının parçalanarak hücre içi bileşenlerin ekstraksiyonu sağlanmaktadır (Katsimichas et al., 2023). Yapılan çalışmalar, vurgulu elektrik alan uygulamasına dirençli hücre duvarlarının yüksek basınç homojenizasyon işlemine direnç gösteremediği bulgulanmış ve yüksek basınçlı homojenizasyon işleminin daha etkili bir ekstraksiyon işlemi olduğu belirtilmiştir (Carullo et al., 2018). Şekil 2.9’da yüksek basınçlı homojenizasyon ile hücre parçalanması gösterilmiştir.



Şekil 2.9. Yüksek basınçlı homojenizasyon ile hücre parçalanması (Carullo et al., 2018)

Ultrases, enzim, mikrodalga, vurgulu elektrik alan ve yüksek basınçlı homojenizasyon yöntemleri ile hücre duvarı parçalanarak hücre içi protein ve diğer bileşenlerin ekstraksiyonunda verimin artırılması ve bunun yanı sıra ılıman koşullarda daha kısa sürede proteinlerin yapısını korumak hedeflenmektedir. Son yıllarda bu yardımcı ekstraksiyon yöntemleri ile verim artışını ortaya koyan birçok çalışma yapılmıştır. Ultrases, enzim, mikrodalga, vurgulu elektrik alan ve yüksek basınçlı homojenizasyon teknolojileri ile yapılan çalışmalar ve bunların protein verimine etkisi Çizelge 2.4’te verilmiştir.

**Çizelge 2.4.** Yardımcı ekstraksiyon yöntemleri ile protein ekstraksiyonu ve verime etkisine dair literatür çalışmaları

Ham madde	Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemi Parametreleri	Yardımcı Ekstraksiyon Yöntemi Parametreleri	Verim	Kaynak
Bezelye	-Bezelye unu/su oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 9,5 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 60 dk	-Bezelye unu/su oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 9,5 -Ultras gücü: 100 W -Süre: 10 dk aç-10 dk kapa (30 dk)	-Geleneksel ekst. protein kazanımı: %49,88 -Ultras destekli ekst. protein kazanımı: %56,11	(Youshanlouei et al., 2024)
Üzüm çekirdeği küspesi	-Çözgen/katı oranı: 20 mL/g -pH değeri: 9,5 -Sıcaklık: 50 °C -Süre: 2 sa	-Çözgen/katı oranı: 16 mL/g -pH değeri: 11 -Süre: 37 dk -Sıcaklık: 33 °C -Ultras gücü: 200W -Ultras frekansı: 40 kHz	-Geleneksel ekst. verimi: %7,1 -Geleneksel ekst. protein içeriği: %33,1 -Ultras destekli ekst. verimi: %14,3 -Ultras destekli ekst. protein içeriği: %55,1	(Garcia et al., 2024)
Alg	-pH değeri: 12 -Alg/çözgen oranı: %8 ağ/h	-Ultras Genliği: %80 -Süre: 30 dk -Görev döngüsü: %60	-Geleneksel ekst. protein verimi: %32,48 -Ultras destekli ekst. protein verimi: %76,83	(Purdi et al., 2023)
Dut yaprağı	-Katı/su oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 9 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 1 sa	-Sıcaklık: 50 °C -Süre: 20 dk -Ultras güç yoğunluğu: 450 W/L -Ultras frekansı: 25 kHz	-Geleneksel ekst. protein verimi: %12,43 -Ultras destekli ekst. protein verimi: %30,03	(Zhao et al., 2023)
Kavun çekirdeği	-Katı/su oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 9 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 2 sa	-Ultras gücü: 375 W -Süre: 17,50 dk -Kesikli: 10 s aç-10 s kapa	-Geleneksel ekst. protein verimi: %15,03 -Ultras destekli ekst. protein verimi: %31,06	(Naik et al., 2022)
Ebegümeçi yaprağı	-Çözgen/katı oranı: 40 mL/g -pH değeri: 7,5-9	-Enzim: Pectinex UF -Enzim konsantrasyonu: %7	-Geleneksel ekst. protein verimi: %9,24 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %82,2	(Ersus and Akyüz, 2023)

	-Sıcaklık: 68 °C -Süre: 30 dk-30 dk	-pH değeri: 5,6 -Sıcaklık: 52,5 °C		
Mantar yan ürünleri	-Kati/sıvı oranı: 1/6 ağ/h -pH değeri: 7,2 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 3 sa	-Enzim: Papain -Enzim/substrat oranı: %1 -Sıcaklık: 65 °C	-Geleneksel ekst. protein verimi: %2 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %24	(Prandi et al., 2023)
Şeker pancarı yaprağı	-Çözgen/kati oranı: 27,65 mL/g -pH değeri: 7,5 -Sıcaklık: 54,25 °C -Süre: 81,35 dk	-Enzim: Pectinex Ultra SP-L -Enzim konsantrasyonu: %8 -Sıcaklık: 45 °C	-Geleneksel ekst. protein verimi: %55,15 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %79,01	(Akyüz and Ersus, 2021)
Susam küspesi	-Kati/sıvı oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 12 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 1 sa	-Enzim: Alcalase 2.4L -Enzim konsantrasyonu: %2 -pH değeri: 8,5 -Sıcaklık: 65 °C	-Geleneksel ekst. protein verimi: ≈%35 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %45	(Koysuren et al., 2021)
Yosun	-Kati/sıvı oranı: 1/20 ağ/h -pH değeri: 7	-Enzim: Alcalase -Enzim konsantrasyonu: %0,2 -pH değeri: 7	-Geleneksel ekst. protein verimi: %15,7 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %59,4	(Naseri et al., 2020)
İnka fıstığı küspesi	-Çözgen/kati oranı: 42/1 h/ağ -pH değeri: 9,5 -Sıcaklık: 54,2 °C -NaCl konsant.: 1,65 M -Süre: 30 dk	-Enzim: Alcalase 2.4L -Enzim konsantrasyonu: %5,6 -Süre: 40,4 dk -Çözgen/kati oranı: 50/1 h/ağ -pH değeri: 9 -Sıcaklık: 50 °C	-Geleneksel ekst. protein verimi: %29,7 -Enzim destekli ekst. protein verimi: %44,7	(Chirinos et al., 2017)
Yağı alınmış pirinç kepeği	-Kati/sıvı oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 10 -Sıcaklık: 30-35 °C	-Mikroalga gücü: 1000 W -Süre: 90 s -Kati/sıvı oranı: 0,89/10 g/mL	-Geleneksel ekst. protein verimi: %2,92 -Mikroalga destekli ekst. protein verimi: %4,37	(Phongthai et al., 2016–b)

	-Süre: 1 sa			
Kavun çekirdeği	-Kati/çözgen oranı: 1/70 ağ/h -pH değeri: 9 -Sıcaklık: 40 °C -Süre: 1 sa	-Mikrodalga gücü: 50 W -Kati/çözgen oranı: 1/30 ağ/h -pH değeri: 10 -Süre: 2 dk	-Geleneksel ekst. protein kazanımı: %72 -Mikrodalga destekli ekst. protein kazanımı: %90	(Behere et al., 2021)
Fıstık	-Kati/çözgen oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 9 -Sıcaklık: 50 °C -Süre: 1 sa	-Mikrodalga gücü: 725 W -Süre: 8 dk	-Geleneksel ekst. verimi: %31,07 -Mikrodalga destekli ekst. verimi: %55	(Ochoa-Rivas et al., 2017)
Makro alg	-Kati/çözgen oranı: %5 ağ/h -Çözgen NaOH konsant: 0,25 M -Sıcaklık: 60 °C -Süre: 1 sa	-Elektrik alan şiddeti: 1 kV/cm -Vurgu tekrarlama oranı: 3 Hz -Vurgu sayısı: 200 -Vurgu genişliği süresi: 50 µs	-Geleneksel ekst. protein verimi: %21,56 -PEF destekli ekst. protein verimi: %64,09	(Prabhu et al., 2019)
Pirinç kepeği	-Kati/çözgen oranı: 1/10 ağ/h -pH değeri: 10 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 1 sa	-Elektrik alan şiddeti: 2,3 kV/cm -Süre: 25 dk -Gerilim: 8 kV -Vurgu sayısı: 250 vurgu/dk	-Geleneksel ekstraksiyon: 2060,28 mg -PEF destekli ekstraksiyon: 2485,82 mg	(Thongkong et al., 2023)
Kabak çekirdeği küspesi	-Çözgen/kati oranı: 29/1 h/ağ -pH değeri: 11 -Sıcaklık: Oda sıcaklığı -Süre: 1 sa	-Basınç: 100 MPa -Sıcaklık: Oda sıcaklığı	-Geleneksel ekst. protein verimi: %45,99 -HPH destekli ekst. protein verimi: %61,92	(Sert et al., 2024)

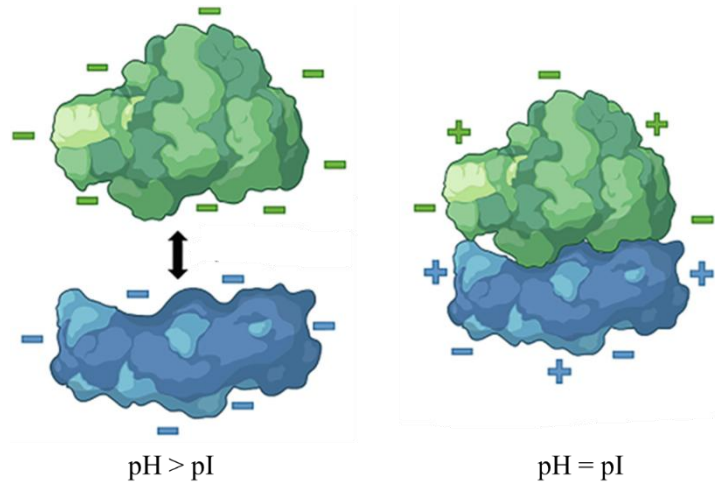
Çizelge 2.4'te görüldüğü üzere, yapılan çalışmalarda kullanılan yardımcı ekstraksiyon yöntemleri ile protein veriminin ve izole edilen protein konsantrelerinin protein içeriğinin arttığı bulgulanmıştır. Aynı zamanda, protein konsantrelerinin fonksiyonel özelliklerinde de değişiklikler meydana gelmektedir (Behere et al., 2021; Koysuren et al., 2021; Ochoa-Rivas et al., 2017). Fonksiyonel özelliklerdeki bu değişim, protein konsantrelerinin farklı ürünlerde kullanımını sağlayarak gıda endüstrisi için alternatif oluşturacağı düşünülmektedir.

### 2.3.3. Protein çöktürme yöntemleri

Protein izolasyonu, ekstraksiyon ve çöktürme olmak üzere birbirini takip eden 2 temel kısımdan oluşmaktadır. Protein içeriği yüksek ve üstün fonksiyonel özellikte protein konsantresi üretimi için ekstraksiyon adımının yanında, uygun protein çöktürme yöntemi ve koşullarının belirlenmesi de önem arz etmektedir. Bu bölümde, protein çöktürme yöntemlerinden izoelektrik çöktürme ve tuz ile çöktürme yöntemlerine yer verilmiştir.

#### 2.3.3.1. İzoelektrik çöktürme

Proteinlerin yapıtaşı olan amino asitler, yapısında yer alan  $-COOH$  ve  $-NH_2$  grupları sebebiyle artı (+) ve eksi (-) yüklü iyonlara sahiptirler. Değişen ortam pH değerine göre, amino asitler + ve - yük ile yüklenecek birbirlerini iterler ve suda iyonlaşarak çözünürler. Ancak, izoelektrik nokta (pI) denilen ve her amino aside özgü belirli pH değerinde + ve - yükler eşitlenerek net yük sıfır olur (Şekil 2.10). Bu pH değerinde amino asitler toplanarak yığın oluşturur ve çökerler (Xia, 2007).



Şekil 2.10. pH ve pI değerine göre amino asitlerin iyon durumları (Cruz-Solis et al., 2023)

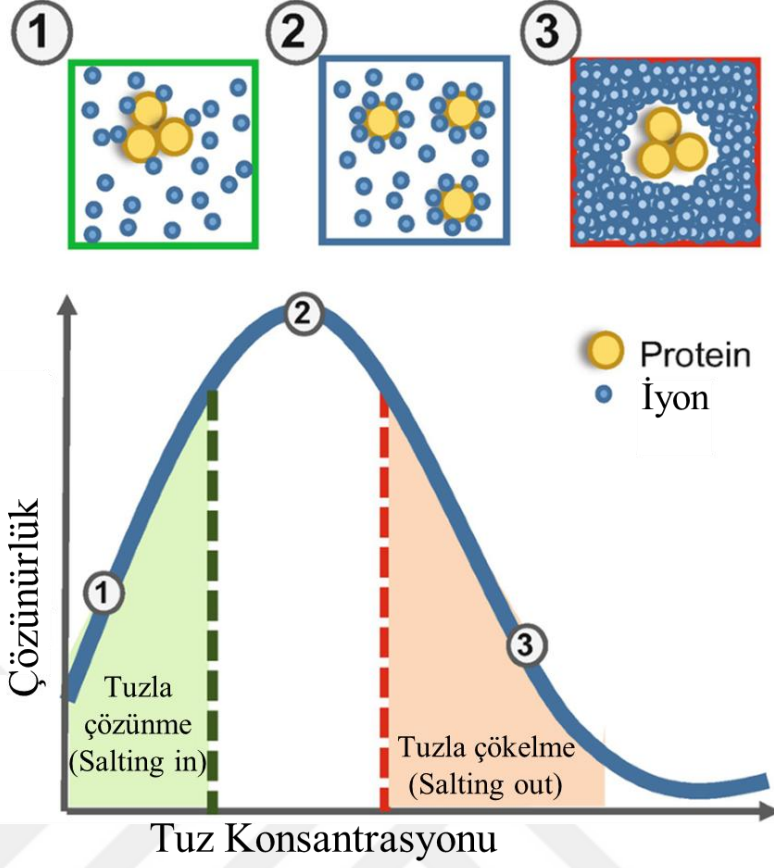
Bitkisel proteinlerin genellikle izoelektrik noktası pH değeri 4-6 arasında iken yaprak proteinlerinin izoelektrik noktası pH değeri 3-5 arasındadır (Cruz-Solis et al., 2023; Nynäs et al., 2023). Yapılan çalışmalar özellikle soya, bezelye, fasulye, faba ve benzeri bakliyat proteinlerinin izoelektrik noktasının pH 4,5 olduğuna işaret etmektedir (Shevkani et al., 2019; Singh et al., 2022). Yaprak proteinlerinin ise 3,5 ile 4 pH değerleri arasında en düşük çözünürlüğü gösterdiği; şeker pancarı yaprağının pI değerinin 3,8, yoncanın 3,7, lahananın 3,6 ve kırmızı pancar yaprağının 4 olduğu belirtilmiştir (Nynäs et al., 2023).

İzoelektrik çöktürmenin avantajları, basit, ekonomik ve endüstride uygulanabilir olmasıdır. Ticari üretimi en fazla olan soya protein konsantresi veya izolatları izoelektrik çöktürme yöntemi ile üretilmektedir. Bezelye, nohut, faba, acı bakla ve mercimek gibi diğer bakliyatlar soya gibi izoelektrik çöktürme için uygun bitkisel kaynaklardır (Boye et al., 2010–b). Ancak, yaprak proteinlerinin izolasyonunda da izoelektrik çöktürme yöntemi sıklıkla kullanılmaktadır. İzoelektrik çöktürme yöntemi ile izole edilen protein konsantreleri ile ilgili çalışmalar Çizelge 2.5'te verilmiştir.

### **2.3.3.2. Tuz ile çöktürme**

Amino asitler düşük tuz konsantrasyonunda + ve – yüklü iyonlarına ayrılarak hidrofilik olurlar ve su-protein etkileşimi ile suda çözünürler. Bu olaya ‘salting in (tuzla çözünme)’ denir. Ancak, tuz konsantrasyonu arttıkça amino asitler çok yüklü hale gelmeye ve sonrasında kümeleşmeye ve protein-protein etkileşimi ile çökmeye başlarlar. Bu olaya ise ‘salting out (tuzla çökelme)’ denir (Burgess, 2009). Şekil 2.11’de amino asitlerin düşük ve yüksek tuz konsantrasyonundaki davranışları gösterilmiştir.

Tuz ile çöktürme yönteminde, ilk olarak düşük tuz konsantrasyonunda ekstrakte edilen proteinler, yüksek tuz konsantrasyonuna getirilerek çöktürme işlemi ile izole edilmektedir. Tuz ile çöktürme yöntemi, özellikle enzim gibi biyolojik katalizörlerin izolasyonunun ilk adımı olarak kullanılmaktadır. Bunun sebebi, izoelektrik çöktürme esnasında proteinlerin yapılarında meydana gelen değişikliklerin tuz ile çöktürme yönteminde oldukça düşük seviyede olması dolayısıyla izole edilen enzimlerin aktivite kaybının düşük olması ile açıklanmaktadır (Palmer and Bonner, 2011).



Şekil 2.11. Düşük ve yüksek tuz konsantrasyonlarında proteinler (Singh and Bose, 2022)

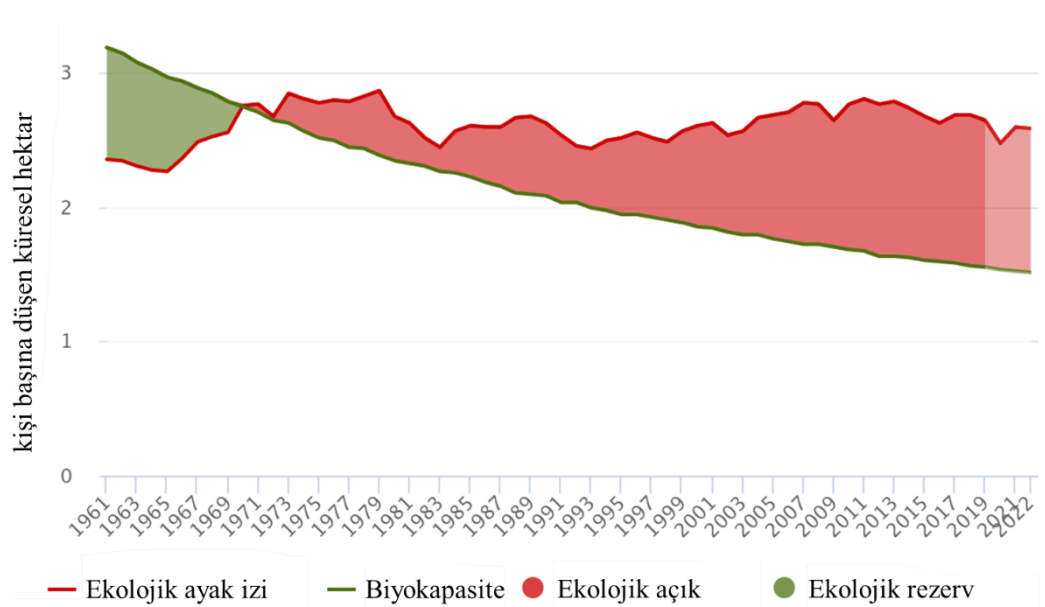
Tuz ile çöktürme yönteminde, ekonomik ve kolay ulaşılabilir olmasının yanı sıra çözünürlüğünün yüksek olması sebebiyle amonyum sülfat  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_2$  tercih edilmektedir. Bu yöntemde, ham maddeye özgü değişken konsantrasyonlarda amonyum sülfat kullanılmaktadır. Çalışmalarda, plazma proteinleri için %40 (Pringels et al., 2018), patates proteinleri için %60 (Zhang et al., 2017) ve selüloz izolasyonu için %80 (Adetuyi et al., 2018) amonyum sülfat konsantrasyonları kullanılmıştır. Bu yöntemde, kullanılan yüksek konsantrasyondaki tuzun sonrasında diyaliz işlemi ile uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla molekül çaplarına göre çeşitli boyutlarda geçirgenliği olan selülozik yapıda diyaliz membranları kullanılmaktadır (Yang et al., 2024). Tuz ile çöktürme yönteminin dezavantajları yüksek miktarda tuz ilavesi ve sonrasında uzaklaştırmak için prosese diyaliz gibi hem süre hem de maliyet açısından ekstra bir adımın eklenmesidir. Bu sebeple, gıda endüstrisinde kullanılacak protein konsantresi ya da izolatu üretimi için kullanımı sınırlıdır. Tuz ile çöktürme yöntemi ile izole edilen protein konsantreleri ile ilgili çalışmalar Çizelge 2.5'te verilmiştir.

Çizelge 2.5. Protein çöktürme yöntemlerinin karşılaştırıldığı literatür çalışmaları

Ham madde	Çöktürme Yöntemi ve Koşulları	Karşılaştırma Parametresi	Sonuç	Kaynak
Börülce	İzoelektrik: pH değeri 4,5	Protein içeriği	%85,89	(Moongngarm et al., 2014)
	Amonyum Sülfat: %40		%68,27	
	İzoelektrik-Amonyum Sülfat.: %40-pH değeri 4,5		%79,35	
Patates	İzoelektrik: pH değeri 4	Protein içeriği	%85,80	(Zhang et al., 2017)
	Amonyum Sülfat: %60		%83,20	
Çay atıkları	İzoelektrik: pH değeri 5	Protein çöktürme oranı	≈%45	(Cui et al., 2018)
	Amonyum Sülfat: %80		≈%80	
	İzoelektrik-Amonyum Sülfat: pH değeri 5-%80		≈%90	
İsveç kırmızı deniz yosunu	İzoelektrik: pH değeri 2		≈%22,5	
	Amonyum Sülfat: %80		≈%5	
İsveç yeşil deniz yosunu	İzoelektrik: pH değeri 2	Protein verimi	≈%7,5	(Harrysson et al., 2018)
	Amonyum Sülfat: %80		≈%20	
İsveç yeşil kahverengi yosunu	İzoelektrik: pH değeri 2		≈%25	
	Amonyum Sülfat: %80		≈%2,5	

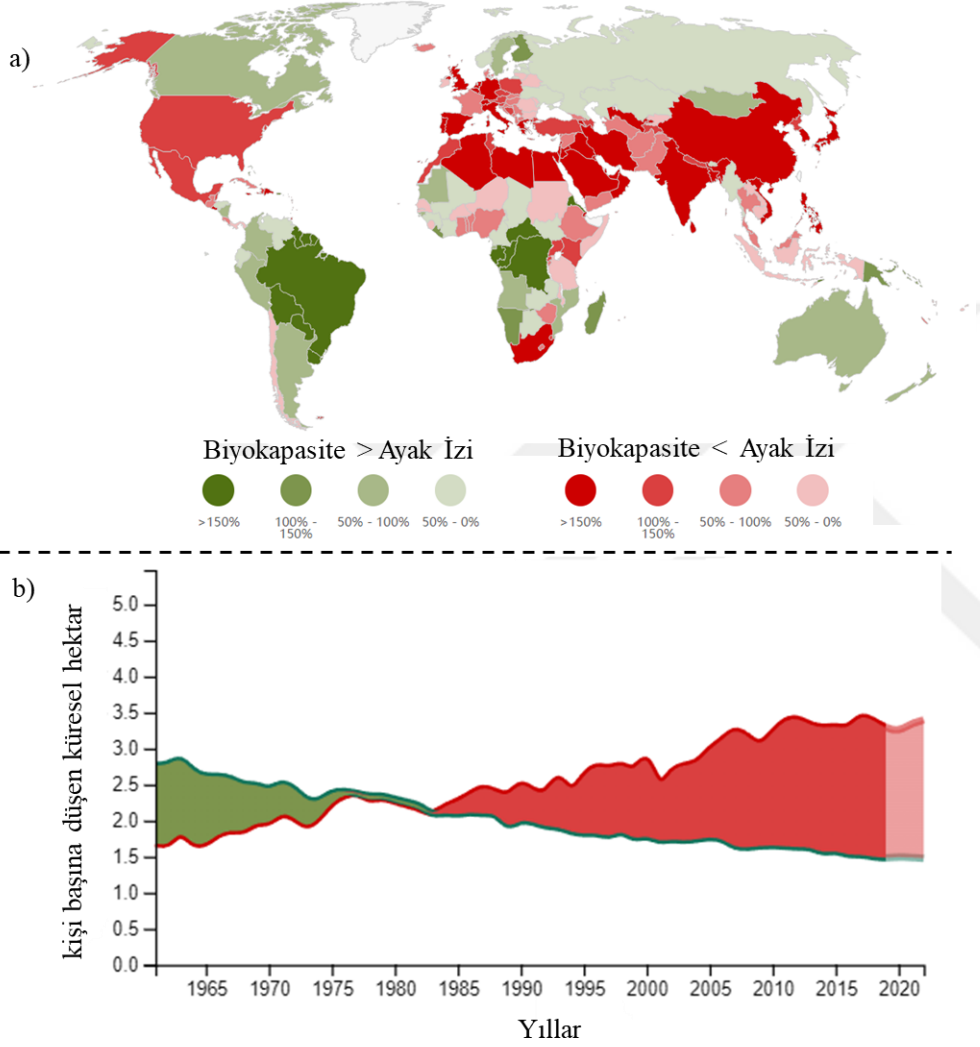
## 2.4. Sürdürülebilir Tarım-Gıda İlişkisi

Günümüzde artan nüfusun yaşam için gerekli ihtiyaçlarını karşılamak giderek zorlaşmaktadır. Küresel ısınmaya bağlı olarak doğal kaynakların giderek azalması ile beraber tarım ve dolayısıyla gıda sektörü olumsuz etkilenmektedir. Bu durum, doğal kaynakların verimli kullanılması zorunluluğunu ortaya çıkarmıştır. Sürdürülebilirlik kavramı bu noktada önem arz etmektedir. Sürdürülebilir kalkınma, Dünya Çevre ve Kalkınma Komisyonu tarafından ‘gelecek nesillerin kendi ihtiyaçlarını karşılama yeteneğini tehlikeye atmadan, bugünün ihtiyaçlarını karşılama’ olarak tanımlanmıştır (Brundtland, 1987). Bu sebeple, çevresel etkilerin gözle görülür bir şekilde artması ile insan eliyle ekosistemin ne ölçüde bozulduğunu somut olarak hesaplamak için ekolojik ayak izi kavramı geliştirilmiştir. Minimum sürdürülebilirlik için biyolojik kapasitenin ekolojik ayak izinden büyük olması gerekmektedir. 1961-2022 verileri incelendiğinde dünyanın ekolojik ayak izinin giderek arttığı biyokapasitenin ise giderek azaldığı görülmektedir. 1970 yılından itibaren ise ekolojik ayak izinin biyokapasiteden daha yüksek olduğu ve bu açığın günümüze kadar artarak devam ettiği belirlenmiştir (Global Footprint Network (GFN), 2024). Şekil 2.12’de dünyanın biyokapasite ve ekolojik ayak izinin yıllara göre verileri verilmiştir.



Şekil 2.12. Yıllara göre dünyanın ekolojik ayak izi ve biyokapasite değerleri (GFN, 2024)

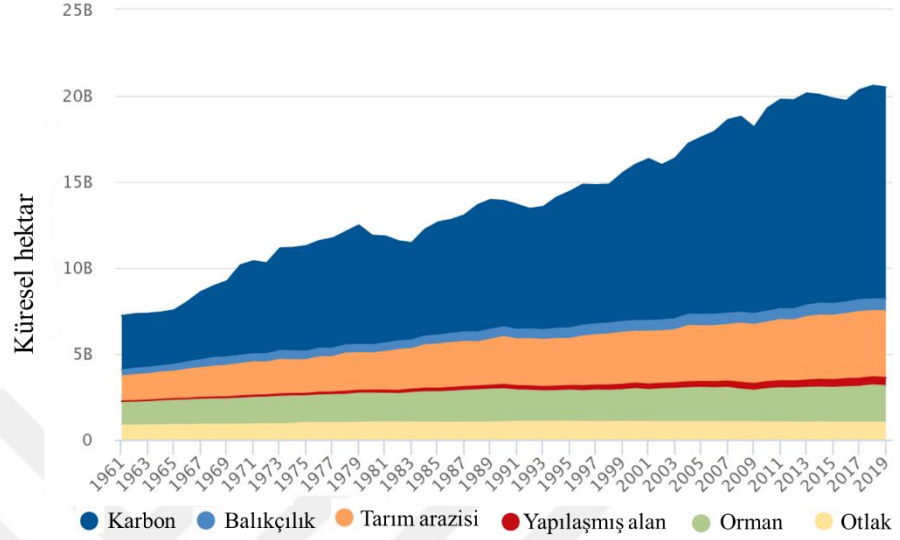
Ülkelerin ekolojik ayak izleri ve biyokapasitelerine bakıldığında (Şekil 2.13), koyu kırmızı ile gösterilen ülkelerin kritik seviyede olduğu görülmektedir. Türkiye'deki veriler incelendiğinde, 1980-85 yılları arasında minimum sürdürülebilirliğin sağlandığı son yıllar olduğu ve günümüze kadar açığın giderek arttığı tespit edilmiştir (GFN, 2024).



**Şekil 2.13.** a) Dünyanın ekolojik ayak izi ve biyokapasitesi b) Türkiye'nin yıllar içerisindeki biyokapasite ve ekolojik ayak izi verileri değişimi (GFN, 2024)

Ekolojik ayak izi; karbon ayak izi, tarım arazisi ayak izi, orman ayak izi, otlak ayak izi, yapılaşmış alan ayak izi ve balıkçılık ayak izi olmak üzere 6 kategoriye ayrılmaktadır (Galli et al., 2014). Kategorilere göre ayak izi verilerine bakıldığında, toplam ayak izine katkısı en yüksek olan kategori karbon ayak izidir (Şekil 2.14). Onu tarım arazisi ayak izi takip etmektedir. Ayrıca, karbon ayak izinin önemli sebeplerinden biri sera gazı emisyonunun %14,5'inin sebebi hayvancılık

sektörüdür (Gerber, 2013). Buna ek olarak, nüfus artışına bağlı olarak gıda talebinde artış beklenmektedir. Tüm bu veriler göz önünde bulundurulduğunda, sürdürülebilir tarım-gıda ilişkisini sağlamak zorunlu hale gelmektedir.



**Şekil 2.14.** Yıllara göre ekolojik ayak izi kategorilerinin dağılımı (GFN, 2024)

Sürdürülebilir tarım, doğal kaynakları gözeterek tarımsal üretimde verimi arttırmayı amaçlayan ve bundan ekonomik ve sosyal anlamda getiri elde etmeyi amaçlayan tarım sistemidir (Velten et al., 2015). Agroekoloji, organik tarım, permakültür, biyodinamik tarım, koruyucu tarım, rejeneratif tarım ve akıllı tarım gibi birçok sürdürülebilir tarım uygulamaları vardır (Oberč and Arroyo Schnell, 2020). Toprak temelli tüm bu tarım uygulamaları ile konvansiyonel tarımın yol açtığı çeşitli sorunlar giderilmeye çalışılmaktadır. Toprak, bitkiler için gerekli besin kaynağını sağlayan gelişim ortamıdır. Ancak, nüfus artışına bağlı tarım arazilerinin azalması, toprak erozyonu, aşırı tarım ilacı kullanımı ve toprak kirliliği gibi nedenler toprağa alternatif tarım yöntemlerine yönelimi arttırmıştır. Hidroponik kültür ortamı toprağa alternatif yetiştirme ortamlarından biridir. Bitki gelişimi için su içerisindeki gerekli elementler ile sınırlı alanda daha yüksek verimde ve daha yüksek kalitede ürün yetiştirilebilmektedir (Mir et al., 2022). Hidroponik kültür ortamı ile daha az gübre ve tarım ilacı kullanımı ve suyun daha efektif kullanımı sağlanabilmektedir. Marul, domates ve salatalık gibi birçok sebzenin bu yöntem ile yetiştirilmesi sürdürülebilir tarım faaliyetlerine alternatif olması açısından önem arz etmektedir (Fussy and Papenbrock, 2022).

## 2.5. Su Mercimeği

Su mercimeği Lemnaceae familyasına ait *Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffiella* ve *Wolffia* cinsleri olan ve 38 türü olan su bitkileridir (Bog et al., 2019). Durgun su üzerinde büyüyen su mercimeği, vejetatif olarak çoğalır ve uygun koşullar altında her 16-32 saatte bir iki katına çıkabilme ve değişen ortam şartlarına yüksek uyum sağlayabilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle 2-3 günlük döngüde hasat edilebilmektedir (Wang et al., 2020). Basit bir bitki olan su mercimeği parlak yeşil yaprağımsı bir yapıdan ve kökçükten oluşmaktadır (Sharma et al., 2019). Şekil 2.15'te 5 farklı cins su mercimeği gösterilmiştir.



Şekil 2.15. *Spirodela*, *Landoltia*, *Lemna*, *Wolffiella* ve *Wolffia* cinslerindeki su mercimekleri (Pagliuso et al., 2018)

Su mercimeği atık suların fitoremediasyonu, atık sudaki toksik metalleri ve diğer besin maddelerini temizlemek için kullanılmakla beraber, Tayland, Laos ve Myanmar gibi Güneydoğu Asya ülkelerinde insan tüketimi için de kullanılmaktadır (Sharma et al., 2019). Ancak, batı ülkelerinde ve ülkemizde su mercimeği bitkisi insan beslenmesinin bir parçası değildir (de Beukelaar et al., 2019). Literatürde yapılan çalışmalarda, türden türe ve yetiştirme koşullarına göre farklılık göstermekle beraber su mercimeklerinin %20-45 aralığında yüksek oranda protein içerdiği ve protein içeriğinin besin ortamının içeriğine bağlı olarak arttırılabileceği belirtilmiştir (Kaplan et al., 2019; Ullah et al., 2021). Biyokütle artışının hızı, değişen ortam koşullarına yüksek adaptasyonu ve kimyasal kompozisyonunun besiyeri içeriği ile istenilen şekilde değiştirilebilmesi, su mercimeğinin sürdürülebilir alternatif bir protein kaynağı olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır.

Su mercimeği yetiştiriciliğinde Schenk ve Hildebrandt solüsyonu, Hutner solüsyonu, Murashige ve Skoog solüsyonu ve Hoagland solüsyonu

kullanılmaktadır. Yapay ortamda yetiştirilen su mercimeğinin, özellikle optimum ortam içeriği ve pH değerinde biyokütlesinde hızlı bir artış sağlanabilmektedir (Baek et al., 2021). Hoagland solüsyonu, bitkinin ihtiyaç duyduğu azot (N), potasyum (K), fosfor (P), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg), kükürt (S) ve demir (Fe) makro elementlerini içermektedir (Zhao et al., 2015). Bu elementler, bitkinin hem biyokütle hem de protein içeriğini artırmada önemli roller oynamaktadırlar. Bu elementlerin hem tek başına hem de interaksiyonları, biyokütle birikimini ve protein sentezini önemli ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle, her bir elementin protein içeriği üzerindeki etkisini istatistiksel olarak belirlemek, protein verimini artırmak açısından önem arz etmektedir.

Farklı türdeki su mercimeklerinden protein izolasyonu ve elde edilen protein konsantrasyonunun kimyasal ve fonksiyonel özellikleri ile ilgili çalışmalar, su mercimeğinin sürdürülebilir protein kaynağı olarak değerlendirilebileceğini öngörmektedir. Bitkisel proteinler, sürdürülebilir olması sebebiyle özellikle gelişmekte olan ülkeler için önemli protein kaynaklarıdır. Bu durumda, ekonomik olan ve yapraklarda bulunan ribuloz bifosfat karboksilaz/oksijenaz (RuBisCO) önemli bir protein kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır. RuBisCO, fotosentezden sorumlu enzimdir ve yaprakta bulunan çözünür proteinlerin %30-65'ini oluşturmaktadır (Bagheri et al., 2017). RuBisCO, dengeli amino asit kompozisyonu, kolay sindirilebilirliği ve alerjik olmaması sebebiyle gıda ve yem endüstrisi için potansiyel oluşturmaktadır (Tanambell et al., 2023). RuBisCO, sindirim sırasında proteolitik parçalanarak kısa zincirli biyoaktif peptitlere parçalanırlar. Biyoaktif peptitlerin antihipertansif antioksidan, antibakteriyel, antikanser ve hafıza güçlendirici gibi sağlığa olumlu birçok etkisi mevcuttur (Grácio et al., 2023; Nawaz et al., 2024; Udenigwe et al., 2017; Yang et al., 2001). Yapılan bir çalışmada, *Lemna gibba* su mercimeklerinden izole edilen protein konsantrasyonunun, pH 7 değerinde, jelleşmesinin soya proteinlerinden çok daha güçlü olduğu, yumurta beyazına göre ise bir miktar zayıf olduğu belirtilmiştir (Nieuwland et al., 2021). Başka bir çalışmada, 6 farklı türdeki; *Spirodela polyrhiza*, *Landoltia punctata*, *Lemna minor*, *Lemna gibba*, *Wolffiella hyalina* ve *Wolffia microscopica*, su mercimeklerinin besleyici değerleri karşılaştırılmıştır. En yüksek protein ve yağ içeriği *Wolffiella hyalina* türünde iken, nişasta içeriği en yüksek olan tür ise *Landoltia punctata* olarak tespit edilmiştir. *Wolffiella hyalina* türünün

yüksek protein içeriğinin yanı sıra, Dünya Sağlık örgütü tarafından önerilen amino asit değerlerini sağlaması beslenme açısından yeterliliğini ortaya koymaktadır (Appenroth et al., 2017). Farklı yetiştirme koşullarının etkisinin incelendiği başka bir çalışmada, organik gübre ile yetiştirilen su mercimeklerinin (*Spirodela polyrhiza*) protein içeriğinin (%35,82) inorganik gübre ile yetiştirilene göre (%30,50) daha yüksek olduğu ve bunun sebebinin organik gübredeki amonyak ve fosfat içeriğinin inorganik gübreye göre fazla olmasından kaynaklandığı belirtilmiştir (Sharma et al., 2019). Yetiştirme ortamının tuz içeriğinin *Lemna minor* türünün protein içeriğine etkisinin araştırıldığı çalışmada, en yüksek protein içeriği %34 ile 4 g/L NaCl konsantrasyonunda yetiştirilen su mercimeklerinde iken en düşük protein içeriği %25 ile 10 ve 12 g/L NaCl konsantrasyonundaki su mercimeklerinde bulunmuştur (Ullah et al., 2021). Tüm bu çalışmalar değerlendirildiğinde, su mercimeğinin alternatif protein kaynağı olarak değerlendirilebileceği ve ortam koşullarının değiştirilerek istenilen özellikte kimyasal kompozisyonunda değişiklikler yapılabileceği görülmektedir.

## 2.6. Fonksiyonel Gıda

Fonksiyonel gıdanın birçok tanımı olmasına rağmen Avrupa Birliği Fonksiyonel Gıda Komisyonu tanımına göre 'Bir gıdanın fonksiyonel gıda sayılabilmesi için, temel beslenme özelliklerinin yanı sıra insan sağlığını iyileştirmede ve/veya hastalıkların oluşumunu önlemede etkili olması gereken gıda' olarak tanımlanmıştır (Kaur and Das, 2011). Fonksiyonel gıdalar, son yıllarda sağlıklı beslenmeye olan ilginin artması ile giderek popüleritesini arttırmaktadır. Kardiyovasküler hastalıklar gibi beslenmeye bağlı hastalıkların sebep olduğu ölümler, ülkemizde ve dünyada giderek artmaktadır. 2021 yılında dünyadaki ölümlerin üçte biri kardiyovasküler hastalıklar kaynaklı meydana gelmiştir. Aynı zamanda, 2021 yılında 20,5 milyon kardiyovasküler hastalık kaynaklı ölümün %80 gibi yüksek bir oranı düşük ve orta gelir grubu ülkelerde görülmüştür (Di Cesare et al., 2024; Lindstrom et al., 2022). Beslenmeye bağlı ve sağlığı tehdit eden bir diğer hastalık ise diyabettir. 2021 yılı verilerine bakıldığında diyabet, dünya üzerinde 20 ile 79 yaş arasındaki 537 milyon yetişkin bireyde ve çoğunlukla düşük ve orta gelirli ülkelerde görülmektedir (Magliano and Boyko, 2021).

Kardiyovasküler ve diyabet gibi hastalıkların özellikle düşük ve orta gelirli ülkelerde görülmesi gıdaya ulaşımdan kaynaklı beslenme eksikliği sebebiyle

olduğu düşünölmektedir. Özellikle protein eksikliği temel sorunlardan biridir. Proteinler, yaşam için hayati öneme sahip makro-moleküller olup sağlığa faydalı bileşenler içermektedir (Dhiman et al., 2024). Bu sebeple, ekonomik protein kaynaklarından izole edilen proteinlerin diğer gıda ürünlerine ilavesi ile proteince zenginleştirilmiş fonksiyonel gıdaların tüketimi sağlığa faydalı ve beslenmeyi destekleyici olacaktır. Bitkisel protein konsantresi ilavesi ile geliştirilen fonksiyonel gıda formölasyonları ile ilgili çalışmalar Çizelge 2.6’da verilmiştir.



Çizelge 2.6. Bitkisel protein konsantresi/izolatı ile fonksiyonel gıda ürünlerinin geliştirilmesi

Protein konsantresi/izolatı	Miktar, %	Ürün	Temel Bulgular	Kaynak
Bezelye protein izolatı	10	Ekmek	-Protein içeriği yüksek ekmek (%23,3) -Kontrolle göre somun hacminde azalma (Tüketici kabulü) -Kabuk ve ekmek içi aydınlık değerinde azalma	(Marchais et al., 2011)
Nohut protein konsantresi	10	Kek	-Nohut protein konsantresi ile zenginleştirilmiş keklerin nem içeriğinde azalma, sertlik, sakızimsılık ve çignenebilirlik değerlerini artma belirlenmiştir. -Protein içeriği %12,2'den %22,2'ye yükselmiştir. -Protein sindirilebilirliği %89,7'den %94,08'e yükselmiştir. -Aydınlık değerinde azalma, sarılık değerinde artma belirlenmiştir. -Duyusal değerlendirmede, yüksek tüketici kabulü göstermiştir.	(Sohaimy et al., 2021)
Soya protein izolatı	20	Ekmek	-Protein içeriği yüksek ekmek (%15,9) -%20 soya protein izolatı içeren ekmek panelistlerin (%55) ilk tercihi -L* değerinde azalma	(Shivaani, 2020)
Pirinç kepeği protein konsantresi	2	Ekmek	-Yumurta albümini yerine %2 oranında pirinç kepeği protein konsantresi kullanımı ile en yüksek özgül hacim sağlanmıştır.	(Phongthai et al., 2016–a)

---

			<p>-Ekmek gözenekliliği ve duysal özellikler gelişmiştir.</p> <p>-Ekmeğin bayatlamasının engellenmesinde yumurta albümininden daha etkili olduğu belirtilmiştir.</p>	
Balkabağı protein konsantresi	10	Ekmek	<p>-Balkabağı protein konsantresi ikamesi ile buğday unundaki lösün eksikliği giderilebilir</p> <p>-Balkabağı protein konsantresi ikamesi ile hamurun gaz tutma ve şekil tutma kapasitelerinde önemli bir değişiklik olmamıştır.</p> <p>-Balkabağı protein konsantresi ikamesi, yüksek protein ve lif içerikli ekmek üretimine olanak sağlamaktadır.</p>	(Galenko et al., 2024)
Nohut protein konsantresi	6	Erişte	<p>-Hamurun elastik ve viskoz modülleri, nohut protein izolatının ikamesindeki artışla artmıştır.</p> <p>-Protein izolatı konsantrasyonundaki artışla birlikte; eriştelerin protein içeriğinde (%7,52 ile 19,3), pişirme süresinde (13,4 ile 15,1 dk), antioksidan aktivitesinde (%22,6 ile 31,3) önemli artış olduğu, buna karşın pişirme kaybının önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir.</p> <p>-%6 nohut protein izolatı ile hazırlanan glutensiz pirinç erişteleri, duysal değerlendirmeye göre daha iyi genel kabul edilebilirlik göstermiştir.</p>	(Sofi et al., 2020)
Moringa yaprağı protein izolatı	15	Bar	<p>-Protein içeriği yüksek bar (%42,55)</p> <p>-Moringa protein izolatı ilavesi olumlu tekstür özellikleri</p> <p>-Atıştırılabilirliğin besleyici özellikleri geliştirilmiştir.</p>	(Javed et al., 2021)

---

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

Tez çalışmasında kullanılan su mercimeği (*Lemna minor*) ön denemeler için Ege Üniversitesi Botanik Bölümü'nden ve diğer tüm analizler için İzmir'deki yerel bir satıcıdan temin edilmiştir. Su mercimekleri, saf su altında yıkandıktan sonra farklı çözeltilerde yetiştirilene kadar distile suda oda sıcaklığında ( $24\pm 1$  °C) bekletilmiştir. Hoagland çözeltisinin makro bileşenleri,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve  $\text{Fe}^{+3}$  ve minor bileşenleri ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ,  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) Sigma Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) satın alınmıştır. Pectinex UF (3300 PGNU/g) ve Alcalase (2,4 AU/g) enzimleri Novozymes (Danimarka) firmasından temin edilmiştir. Bradford protein metodu için standart eğri için Thermo Fisher Scientific (ABD) firmasından temin edilen Bovine Gamma Globulin (2 mg/mL) kullanılmıştır. Tez çalışmasındaki diğer kimyasallar, analitik saflıkta kullanılmıştır. Şekil 3.1'de tez çalışmasında kullanılan su mercimekleri gösterilmiştir.



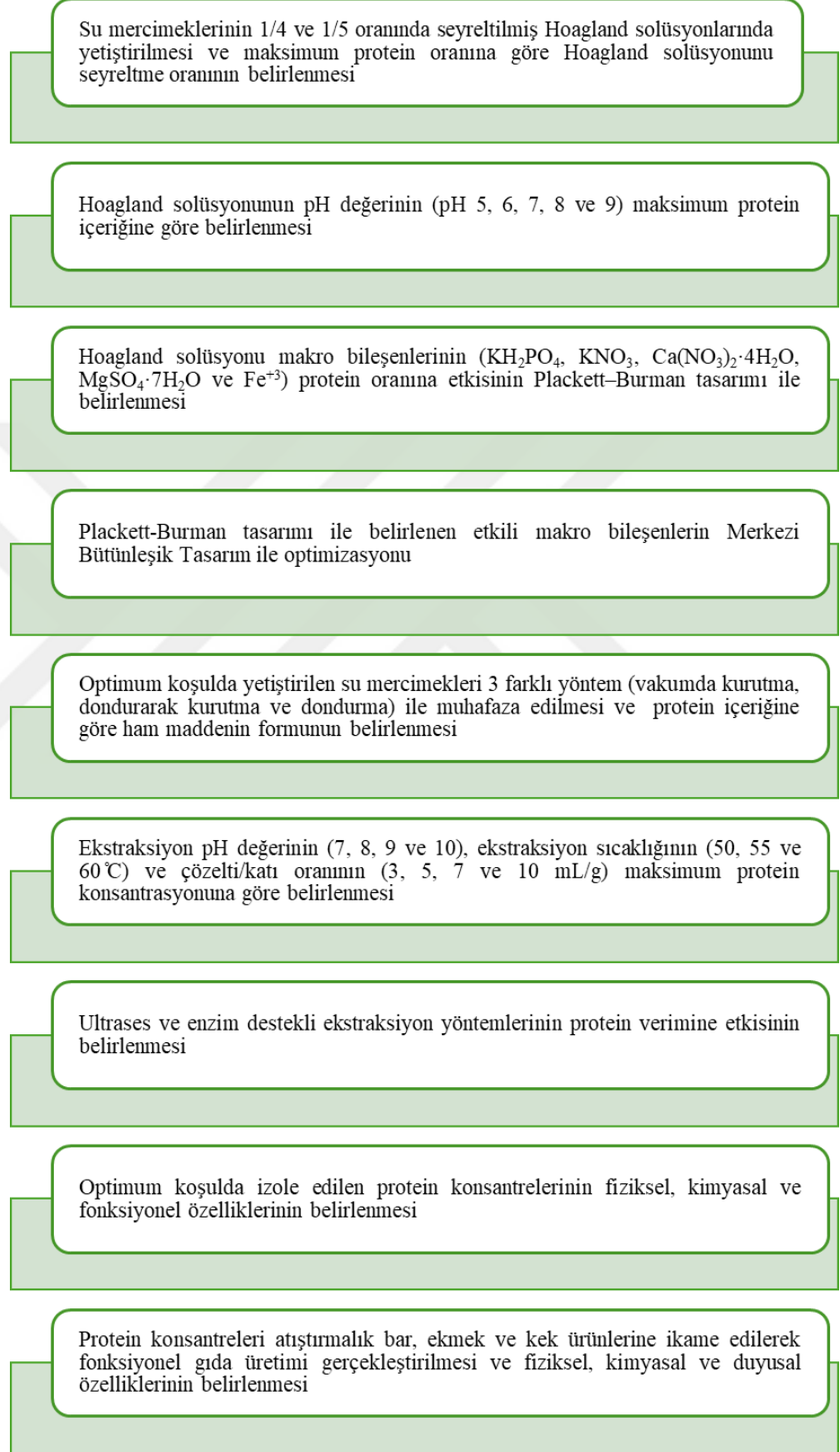
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan su mercimekleri (*Lemna minor*)

#### 3.2. Yöntem

Tez çalışması, 3 iş paketine ayrılmıştır. İlk iş paketinde su mercimeklerinin yetiştirme koşulları maksimum protein içeriğine göre optimize edilmiştir. Bir sonraki iş paketinde optimum koşulda yetiştirilen su mercimeklerinden ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu ve yardımcı ekstraksiyon yöntemleri (ultrases ve enzim destekli) kullanımı ile proteinler maksimum verimde izole edilmiştir. Ardından su mercimeği protein konsantrelerinin fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Son iş paketinde ise elde edilen protein konsantreleri, atıştırmalık bar, ekmekek ve kek gibi fonksiyonel ürünlere ikame

edilerek bu ürünlerin kimyasal kompozisyonu ve duyu özellikleri belirlenmiştir.

Tez çalışmasının genel akım şeması Şekil 3.2.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Tez çalışması akım şeması

### 3.2.1. Su mercimekleri yetiştirme koşullarının belirlenmesi

Tez çalışması kapsamında, su mercimeği bitkisinin yetiştirme koşulları maksimum protein içeriğine göre optimize edilmiştir. Bu kapsamda, ilk adımda Hoagland solüsyonunun seyreltme oranı ve pH değeri belirlenmiştir. Ardından, Plackett-Burman tasarımı ile Hoagland solüsyonu makro bileşenlerinin protein içeriğine etkisi belirlenmiştir. Bu tasarımda belirlenen etkili parametreler, yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım ile optimize edilmiştir. Optimum koşullarda su mercimekleri yetiştirilmesinin ardından protein izolasyonu aşamasına geçilmiştir.

#### 3.2.1.1. Su mercimeklerinin yetiştirilmesi

Yaklaşık 1 g su mercimeği, 500 mL polietilen tereftalat (PET) kaplarda 250 mL Hoagland solüsyonunda oda sıcaklığında ( $25 \pm 2$  °C) yetiştirilmiştir. Solüsyon, her 3 günde bir değiştirilmiştir. Su mercimeklerinin biyokütle artışı solüsyon değişimleri sırasında kaydedilmiştir. 12. günün sonunda yetiştirilen su mercimekleri süzildükten sonra protein oranları kuru madde bazında hesaplanmıştır (Kittiwongwattana and Vuttipongchaikij, 2013).

#### 3.2.1.2. Hoagland solüsyonu hazırlanışı

Hoagland solüsyonu makro bileşikleri; 1 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 1 M  $\text{KNO}_3$ , 1 M  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 1 M  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve 0,05 M  $\text{Fe}^{+3}$ , stok çözeltiler olarak hazırlanmıştır. 0,046 M  $\text{H}_3\text{BO}_3$ , 0,009 M  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,00075 M  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,00032 M  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  ve 0,000111 M  $\text{H}_2\text{MoO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  içeren mikro bileşen solüsyon karışımı temin edilmiştir. Ardından 1 L Hoagland solüsyonu hazırlamak için yukarıda belirtilen konsantrasyondaki stok çözeltilerden 1 mL  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 5 mL  $\text{KNO}_3$ , 5 mL  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 2 mL  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ve 1 mL  $\text{Fe}^{+3}$  ve 1 mL mikro bileşen solüsyondan alınarak toplam 15 mL'lik karışım 1 L'ye tamamlanmıştır. Hoagland solüsyonunun içerdiği bileşiklerin son konsantrasyonu Çizelge 3.1'de verilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Hoagland solüsyonu için gerekli makro ve mikro bileşenlerin final konsantrasyonları

Bileşik	Konsantrasyon	1 L'lik çözelti için stoktan alınan mL	Final konsantrasyonu
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	1 M	1 mL	1 mM
$\text{KNO}_3$	1 M	5 mL	5 mM
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1 M	5 mL	5 mM
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1 M	2 mL	2 mM
$\text{Fe}^{+3}$	0,05 M	1 mL	0,05 mM
Mikro bileşenler		1 mL	

### **3.2.1.3. Hoagland solüsyonu seyreltme oranının belirlenmesi**

Çalışmanın ilk adımı, literatüre göre hazırlanan Hoagland solüsyonunun seyreltme oranının belirlenmesidir. Bu amaçla, Çizelge 3.1'e göre hazırlanan Hoagland solüsyonu 1/4 ( $\text{H}_{25}$  solüsyonu) ve 1/5 ( $\text{H}_{20}$  solüsyonu) oranlarında seyreltilerek hazırlanan solüsyonlarda su mercimekleri yetiştirilmiştir. Seyreltme oranı 9. gün sonundaki su mercimeklerinin kuru madde bazındaki protein oranına göre belirlenmiştir.

### **3.2.1.4. Hoagland solüsyonu pH değerinin belirlenmesi**

Plackett-Burman tasarımından önce, pH değerinin sabit tutulması amacıyla belirlenen seyreltme oranında hazırlanan Hoagland solüsyonun pH değerleri 5, 6, 7, 8 ve 9 değerlerine ayarlanarak en yüksek protein içeriğine sahip pH değeri belirlenmiştir.

### **3.2.1.5. Makro bileşenlerin Plackett-Burman tasarımı**

Hoagland solüsyonu makro-bileşenlerinin etkisini ortaya koymak ve yanıt yüzey yöntemindeki bağımsız değişkenleri belirlemek amacıyla Plackett-Burman deney tasarımı kullanılmıştır. Design Expert programı (7.0.0. sürümü, State-Ease, Inc., Minneapolis, MN, ABD) kullanılarak,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (0,1–1 mM),  $\text{KNO}_3$  (0,5–5 mM),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0,5–5 mM),  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,2–2 mM) ve  $\text{Fe}^{+3}$  (0,1–1 mM) faktörleri ile 12 denemeden oluşan bir deneme deseni oluşturulmuştur (Çizelge 3.2). Design Expert programındaki Plackett-Burman tasarımı en az 11 faktör gerektirmesi sebebiyle program tarafından önerildiği şekilde faktör sayısını 11'e tamamlayacak şekilde diğer bağımsız değişkenler Dummy 1-6 olarak tanımlanmıştır. Tasarımın yanıtı, su mercimeğinin kuru bazında protein içeriği

olarak belirlenmiştir. Seçilen alt (-) ve üst (+) seviye konsantrasyonları, orijinal Hoagland solüsyonu konsantrasyonları ve ön çalışmalar dikkate alınarak seçilmiştir. Modeldeki anlamlı terimler, %95 güven aralığında varyans analizi (ANOVA), Fisher testi değeri (F değeri) ile değerlendirilmiştir. Plackett-Burman'daki ANOVA sonuçlarına göre anlamlı bulunan faktörler, optimizasyon faktörleri olarak seçilmiştir (Rana et al., 2021).

**Çizelge 3.2.** Hoagland solüsyonu makro-bileşenlerinin Plackett-Burman deneme deseni

Bağımsız değişken	Sembol	Alt limit (-1)	Üst Limit (+1)
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	A	0,1	1
$\text{KNO}_3$	B	0,5	5
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	C	0,5	5
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	D	0,2	2
$\text{Fe}^{+3}$	E	0,1	1
Dummy 1	F	-1	+1
Dummy 2	G	-1	+1
Dummy 3	H	-1	+1
Dummy 4	J	-1	+1
Dummy 5	K	-1	+1
Dummy 6	L	-1	+1

### **3.2.1.6. Merkezi bütünleşik tasarım ile optimizasyon**

Plackett-Burman deneme tasarımında belirlenen Hoagland solüsyonunun anlamlı parametreleri, yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım kullanılarak optimize edilmiştir. Hoagland solüsyonunun makro elementlerine ek olarak, solüsyonun pH değeri de optimizasyon tasarımına dahil edilmiştir. Bağımsız değişkenlerin;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2-5 mM),  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (5-10 mM) ve pH değeri (6-9), su mercimeğinin protein oranına etkisi araştırılmıştır (Çizelge 3.3). Deneme deseni, 3'ü merkez nokta olmak üzere 17 deneme içermektedir. Modeldeki anlamlı parametreler, %95 güven aralığında varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Model doğruluğu, uyum eksikliği (lack of fit) ve Fisher testi değeri (F değeri) ile belirlenmiştir. Modelin tahmin edilen değeri ne ölçüde karşıladığını belirlemek amacıyla optimum noktada, doğrulama analizi (4 tekrar) yapılmıştır. Son olarak, optimum parametrelerde yetiştirilen su mercimeğinin protein içerikleri, ticari Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimekleri ile karşılaştırılmıştır.

**Çizelge 3.3.** Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım deneme deseni

Bağımsız değişken	Sembol	- $\alpha$	-1	0	+1	+ $\alpha$
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	A	0,98	2	3,5	5	6,02
Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	B	3,30	5	7,5	10	11,71
pH değeri	C	4,98	6	7,5	9	10,02

### 3.2.2. Protein izolasyonu

Optimize koşullarda yetiştirilen su mercimeklerinden proteinlerin maksimum verimde izolasyonunu gerçekleştirmek amacıyla ilk olarak ham maddenin formu (vakumda kurutulmuş, dondurarak kurutulmuş ve dondurulmuş) belirlenmiştir. Sonrasında, protein izolasyon parametreleri optimize edilerek maksimum verimde protein konsantrasi üretimi yapılmıştır. Protein konsantreleri alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme yöntemi ile elde edilmiştir. Protein verimini arttırmak için optimizasyonun yanı sıra ultrases ve enzim destekli yardımcı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır.

#### 3.2.2.1. Ham maddenin formu

Su mercimeklerinden protein izolasyonunda, ham maddenin formunun protein içeriğine etkisini belirlemek için su mercimekleri 3 farklı yöntem ile muhafaza edilmiştir. Yetiştirilen su mercimekleri, vakumda kurutularak (65 °C, 515-775 mmHg), dondurarak kurutularak (-30 °C, 50 kPa) ve dondurarak (-18 °C) muhafaza edilmiştir. Ardından, 3 farklı yöntemle muhafaza edilen su mercimeklerinin kuru madde bazında protein oranları bulgulanmış ve istatistiksel olarak aradaki farklılıklar değerlendirilmiştir.

#### 3.2.2.2. Ekstraksiyon çözgeninin pH değeri

Ham maddenin formu belirlendikten sonra ekstraksiyon ortamının pH değeri belirlenmiştir. Bu amaçla, su mercimeğine 5 mL/g çözgen/katı oranında pH 7, pH 8, pH 9 ve pH 10 değerlerindeki tampon ilave edilmiş ve karışımlar Ultra-Turrax (HG-15D, Daihan, Wertheim, Almanya) yardımı ile 14000 rpm'de 3 dk homojenize edilmiştir. 50 °C'de 30 dk ekstraksiyondan sonra tülbent yardımı ile kaba filtrasyonu yapılmış ve ardından 6000 rpm'de 20 dk santrifüjden sonra süpernatantların protein konsantrasyonu (mg/mL) Bradford metodu ile bulgulanmıştır (Bradford, 1976).

Farklı pH değerlerindeki protein konsantrasyonları istatistiksel ( $P<0,05$ ) olarak karşılaştırılmış ve ekstraksiyon çözgeninin pH değeri belirlenmiştir.

### **3.2.2.3. Ekstraksiyon sıcaklığı**

Su mercimeğine 5 mL/g çözgen/katı oranında belirlenen pH değerindeki tampon ilave edilmiş ve karışımlar Ultra-Turrax ile 14000 rpm'de 3 dk homojenize edilmiştir. Ardından, su mercimeği/çözgen karışımı ayrı sıcaklıklarda; i) 50, ii) 55 ve iii) 60°C'de 30 dk olan koşullarda ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Kaba filtrasyon ve 6000 rpm'de 20 dk santrifüjün ardından süpernatantın pH değeri 1 N HCl ile 3,5'e ayarlanmış ve 30 dk 300 rpm'de karıştırılmıştır. Sonrasında, 6000 rpm'de 30 dk santrifüj işleminin ardından pelet -30°C'de liyofilizatörde (Liyolife Freeze-Dryer, 253.3.6/22/194, Manisa, Türkiye) vakum altında dondurularak kurutulmuştur (Akyüz and Ersus, 2021). Elde edilen protein konsantrelerinin protein içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlendikten sonra en yüksek protein içeriğine sahip sıcaklık istatistiksel olarak ( $P<0,05$ ) belirlenmiştir (AOAC, 1990).

### **3.2.2.4. Çözgen/katı oranı**

Su mercimeklerine 3, 5, 7 ve 10 mL/g çözgen/katı oranında belirlenen pH değerindeki tampon ilave edilmiş ve karışımlar Ultra-Turrax ile 14000 rpm'de 3 dk homojenize edilmiştir. Ardından, belirlenen ekstraksiyon sıcaklığında 30 dk proteinler ekstrakte edilmiştir. Kaba filtrasyon ve 6000 rpm'de 20 dk santrifüjün ardından süpernatantın pH değeri 1 N HCl ile 3,5'e ayarlanmış ve 30 dk 300 rpm'de karıştırılmıştır. Sonrasında, 6000 rpm'de 30 dk santrifüj işleminin ardından pelet -30°C'de liyofilizatörde (Liyolife Freeze-Dryer, 253.3.6/22/194, Manisa, Türkiye) vakum altında dondurularak kurutulmuştur (Akyüz and Ersus, 2021). Elde edilen protein konsantrelerinin protein içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlendikten sonra en yüksek protein içeriğine sahip çözgen/katı oranı istatistiksel olarak ( $P<0,05$ ) belirlenmiştir (AOAC, 1990).

### **3.2.2.5. Ultrases destekli ekstraksiyon**

Su mercimeği belirlenen çözgen/katı oranında belirlenen pH değerindeki tampon ile homojenize edildikten sonra ultrases işlemi uygulanmıştır. Ultrases işlemi Bandelin (Sonopuls, 253.3.6/21/32.41, Almanya) marka prob ile gerçekleştirilmiştir. Maksimum protein verimi için uygulama parametreleri optimize edilmiştir. İlk olarak, karışıma %60, %80 ve %100 genlikte 10 dk sürekli

bir ultrases işlemi gerçekleştirilmiş ve optimum ekstraksiyon koşullarında protein ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve süpernatantın protein konsantrasyonu Bradford yöntemi ile belirlenmiştir (Bradford, 1976). İkinci adımda, belirlenen genlikte ultrases işlemi, 5, 10 ve 15 dk sürekli olarak uygulanmış ve genlik denemesinde olduğu gibi süpernatantın protein konsantrasyonu belirlenmiştir. Son adımda ise ultrases işleminin sürekli ve kesikli denemeleri belirlenen genlik ve sürede denenmiş ve maksimum protein konsantrasyonuna göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Hildebrand et al., 2020).

### **3.2.2.6. Enzim destekli ekstraksiyon**

Enzim destekli ekstraksiyon işleminde Pectinex UF ve Alcalase L enzimleri kullanılmıştır. Enzimatik ekstraksiyon, daha önce yapılan çalışmalarda belirlenen parametrelerde gerçekleştirilmiştir. Pectinex UF için pH 7 değerinde 50 °C’de %7 enzim konsantrasyonunda 30 dk (Ersus and Akyüz, 2023), Alcalase L için ise pH 8 değerinde 55 °C’de %5 enzim konsantrasyonunda 30 dk (Akyüz et al., 2024) olarak uygulanmıştır. Enzimatik ekstraksiyonun ardından koşulları belirlenen geleneksel ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş ve süpernatantın protein konsantrasyonuna göre enzim seçimi yapılmıştır.

### **3.2.2.7. Protein veriminin hesaplanması**

Protein izolasyonunda nihai yöntemin belirlenmesi amacıyla alkali ekstraksiyon (optimum koşulda), ultrases destekli alkali ekstraksiyon ve enzim destekli alkali ekstraksiyon yöntemlerinin protein verimleri hesaplanarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir ( $P<0,05$ ). Protein verimi aşağıdaki formüle (Eşitlik 1) göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Protein verimi} = \frac{100 \text{ g örnekten elde edilen protein tozundaki g protein}}{100 \text{ g örneğin kuru maddede içerdiği g protein}} \times 100 \text{ (Eşitlik 1)}$$

### **3.2.3. Fonksiyonel Gıda Formülasyonları**

Optimum koşullarda izole edilen su mercimeği protein konsantresi (SMP) ile atıştırmalık bar, ekmekek ve kek üretimi gerçekleştirilmiştir. Atıştırmalık bar, ekmekek ve kek ürünlerinin üretim parametreleri ve formülasyonlarına bu bölümde yer verilmiştir.

### 3.2.3.1. Atıştırma bar üretimi

Atıştırma bar üretimindeki girdiler; kuru hurma, kuru üzüm, badem, fındık, tahin-pekmez karışımı ve yulafıdır. SMP, yulaf ununa %12,5 oranında eklenmiştir. Diğer girdiler, kontrol barında kullanılan miktarlar ile aynı miktarda kullanılmıştır. Kontrol ve SMP içeren bar formülasyonları Çizelge 3.4'te verilmiştir. Islatılıp parçalanmış kuru hurma ve üzümler, ezilmiş badem ve fındık ve diğer girdiler ile karıştırılmıştır. Sonrasında karışıma dikdörtgen şekli (7,5 x 2 x 2 cm) verilerek 100 °C'de fırında 90 dk pişirilmiştir. KB ve SMP-B örnekleri yapılması planlanan analizlere kadar doypack ambalajlarda muhafaza edilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Kontrol ve SMP içeren bar formülasyonları

<b>Girdiler</b>	<b>Kontrol Bar (KB)</b>	<b>SMP Bar (SMP-B)</b>
Kuru hurma (g)	20	20
Kuru üzüm (g)	20	20
Badem (g)	10	10
Fındık (g)	10	10
Tahin-pekmez karışımı (g)	40	40
Yulaf ezmesi (g)	20	17,5
Yulaf unu (g)	20	17,5
SMP (g)	-	5

### 3.2.3.2. Ekmek üretimi

Ekmek üretimindeki girdiler; buğday unu, su, tuz, maya, şeker, ayçiçek yağı ve kabartma tozudur. 100 gram buğday ununa göre kullanılan diğer girdilerin miktarları Çizelge 3.5'te gösterilmiştir. SMP, buğday ununa %5 oranında eklenmiştir. Diğer girdiler, kontrol ekmeğinde kullanılan miktarlar ile aynı miktarda kullanılmıştır. Maya, 35 °C şekerli suda aktive edildiikten sonra diğer girdiler ile karıştırılarak hamur yoğurulmuştur. Yoğurulan ve yuvarlak (roll ekmek) şekil verilen (7,5 cm çapında) hamur, 37 °C'de 45 dk bekletildikten sonra, 200 °C fırında 25 dk pişirilmiştir. KE ve SMP-E örnekleri yapılması planlanan analizlere kadar doypack ambalajlarda muhafaza edilmiştir (Guevara-Arauz et al., 2015).

**Çizelge 3.5.** Kontrol ve SMP içeren ekmekek formülasyonları

<b>Girdiler</b>	<b>Kontrol Bar (KB)</b>	<b>SMP Ekmek (SMP-E)</b>
Buğday unu (g)	100	95
SMP (g)	-	5
Su (mL)	38	38
Tuz (g)	1,6	1,6
Şeker (g)	3	3
Ayçiçek yağı (mL)	1	1
Kabartma tozu (g)	1	1
Maya (g)	1	1

### **3.2.3.3. Kek üretimi**

Kek üretimindeki girdiler; buğday unu, ayçiçek yağı, şeker, yumurta, tuz, süt, vanilya, kakao ve kabartma tozudur. 100 gram buğday ununa göre kullanılan diğer girdilerin miktarları Çizelge 3.6'da gösterilmiştir. SMP, buğday ununa %10 oranında eklenmiştir. Diğer girdiler, kontrol kekinde kullanılan miktarlar ile aynı miktarda kullanılmıştır. Yumurta ve şeker karıştırıldıktan sonra süt ve yağ ilavesi yapılmıştır. Tekrar karıştırılan karışımın üzerine toz girdiler eklenerek kek karışımı elde edilmiştir. Karışım kek kalıbına (5 cm çapında silikon kalıp) döküldükten sonra 180 °C fırında 50 dk pişirilmiştir. KK ve SMP-K örnekleri yapılması planlanan analizlere kadar doypack ambalajlarda muhafaza edilmiştir (Aslan and Bilgiçli, 2021).

**Çizelge 3.6.** Kontrol ve SMP içeren kek formülasyonları

<b>Girdiler</b>	<b>Kontrol Bar (KB)</b>	<b>SMP Kek (SMP-K)</b>
Buğday unu (g)	100	90
SMP (g)	-	10
Ayçiçek yağı (g)	50	50
Tuz (g)	0,2	0,2
Şeker (g)	75	75
Yumurta (g)	60	60
Kabartma tozu (g)	3	3
Vanilya (g)	1	1
Kakao (g)	5	5
Süt (mL)	40	40

### 3.3. Analiz Yöntemleri

Su mercimeğinin (SM), su mercimeği protein konsantresinin (SMP) ve su mercimeği protein konsantresi içeren fonksiyonel atıştırılabilir bar (SMP-B), ekmeke (SMP-E) ve kek (SMP-K) ürünlerinin kimyasal kompozisyonunu belirlemek için yapılan analizlere ek olarak ürünlerin fiziksel, fonksiyonel, morfolojik ve duyuşsal özelliklerini belirlemek için yapılan analizler de bu bölümde yer almaktadır.

#### 3.3.1. Kuru madde analizi

Kuru madde içeriğini belirlemek için 3-5 g'lık örnekler, darası alınan petri kaplarına tartılarak 65 °C'de vakumlu etüvde (Nüve EV018, Türkiye) sabit ağırlığa ulaşana kadar kurutulmuştur (AOAC, 1990). Etüvden çıkarılan petri kapları desikatörde soğutulduktan sonra tartılmış ve %KM aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Eşitlik 2).

$$\%Kuru\ madde\ (KM) = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100 \quad (Eşitlik\ 2)$$

$m_1$ : Petri darası (g)

$m_2$ : Örnek miktarı+petri darası (g)

$m_3$ : Sabit tartıma gelen örnek miktarı+petri darası (g)

#### 3.3.2. Protein analizi

Protein içeriği Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. 1–1,5 g örneğe 13-14 mL %95–96'lık  $H_2SO_4$  ilave edilmiş ve yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından, %40'lık NaOH ile distilasyon yapılmıştır. Sonrasında, 0,1 N HCl ile titrasyon edilmiş ve sarfiyat kaydedilmiştir. Aşağıdaki eşitliklere göre %N (Eşitlik 3) ve %Protein (Eşitlik 4) içeriği hesaplanmıştır. Azot-protein dönüşüm faktörü olarak 6,25 kullanılmıştır (AOAC, 1990).

$$\%N = \frac{(S - B) \times 0,014 \times N}{m} \times 100 \quad (Eşitlik\ 3)$$

$$\%Protein = \%N \times 6,25 \quad (Eşitlik\ 4)$$

S: Örnek denemede 0,1 N HCl'nin titrasyon hacmi (mL);

B: Kör denemede 0,1 N HCl'nin titrasyon hacmi (mL);

N: HCl'nin normalitesi

m: Örnek miktarı (g)

### 3.3.3. Yağ analizi

Toplam yağ içeriği Sokselet yöntemi ile belirlenmiştir (AOAC, 1990). Yaklaşık 10 g kurutulmuş, öğütülmüş örnek sokselet ekstraktörüne yerleştirilmiş ve çözücü olarak yaklaşık 200 mL (1,5 sifon) hekzan kullanılarak örnek içerisindeki yağ ekstrakte edilmiştir. Örnek içerisindeki yağ oranı aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Eşitlik 5).

$$\%Yağ = \frac{M_2 - M_1}{m} \times 100 \quad (Eşitlik 5)$$

M<sub>1</sub>: Sabit tartıma getirilmiş balonun ağırlığı (g)

M<sub>2</sub>: Balonda darası+örnekteki yağ miktarı (g)

m: Örnek miktarı (g)

### 3.3.4. Kül analizi

3-5 g örnek, darası alınmış kül krozelerine tartılmış ve ön yakma işlemine tabi tutulmuştur. Ardından, 6 saat boyunca 550 °C'de kül fırınında (Nüve MF 120, Türkiye) yakma işlemine devam edilmiş ve toplam kül aşağıdaki eşitliğe (Eşitlik 6) göre hesaplanmıştır (AOAC, 1990).

$$\%Kül = \frac{M_2 - M_1}{m} \times 100 \quad (Eşitlik 6)$$

M<sub>1</sub>: Sabit tartıma getirilmiş kroze ağırlığı (g)

M<sub>2</sub>: Kroze darası+kül miktarı (g)

m: Örnek miktarı (g)

### 3.3.5. Bradford yöntemi ile protein analizi

Ekstraksiyon ortamının pH değeri ve yardımcı ekstraksiyon yöntemlerindeki parametreleri belirlemede, süpernatantın protein konsantrasyonu Bradford yöntemi ile belirlenmiştir (Bradford, 1976). 100 µL örnek üzerine 2 mL Coomassie Blue boya çözeltisi eklenmiş ve 595 nm'de absorbans ölçümü yapılmıştır. Yöntemin kalibrasyon eğrisi 1, 0,75, 0,5, 0,25, 0,125 ve 0,025 mg/mL konsantrasyonlarındaki Bovine Gama Globulin (BGG) kullanılarak belirlenmiştir.

### 3.3.6. Renk değerlerinin belirlenmesi

Hunter-Lab kolorimetre Colorflex model renk ölçüm cihazı (Management Company, ABD) kullanılarak örneklerin CIELAB renk değerleri,  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri ölçülmüştür. Örneklerin farklı noktalarından en az 4 okuma olacak şekilde ölçümler yapılmıştır (Azetsu and Suetake, 2021).

### 3.3.7. Fourier dönüşümü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin moleköl yapısındaki bağlarının tanımlanması amacıyla Perkin Elmer FTIR spektrometresi kullanılmıştır. Örneklerin,  $4\text{ cm}^{-1}$  çözünürlükte,  $4000 - 650\text{ cm}^{-1}$  aralığında,  $25\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$  oda sıcaklığında ölçümleri kaydedilmiştir (Tekin and Ersus, 2024).

### 3.3.8. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntüleme

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin morfolojik özelliklerini taramalı elektron mikroskobu (SEM: Scanning Electron Microscopy) ile belirlenmiştir (Tekin and Ersus, 2021).

### 3.3.9. Amino asit kompozisyonu analizi

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin toplam amino asit kompozisyonu analizi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi-diyot dizisi detektörü (HPLC-DAD: High Pressure Liquid Chromatography-Diode-Array Detection) ile belirlenmiştir. Hidroliz için örnekler, 6 M HCl asit ile muamele edilmiştir (Araya et al., 2021).

### 3.3.10. Mineral madde analizi

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin içerdii sodyum (Na), magnezyum (Mg), fosfor (P), potasyum (K), kalsiyum (Ca), mangan (Mn), demir (Fe), çinko (Zn) ve selenyum (Se) minerallerinin konsantrasyonu Endüktif Eşleşmiş Plazma Kütle Spektrometresi (ICP-MS: Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer) ile belirlenmiştir (Ahmad et al., 2021).

### 3.3.11. Toplam klorofil miktarı analizi

Örneklere belirli oranda %80'lik aseton çözeltisi ilave edilmiş ve karışım 14000 rpm'de 3 dk Ultra-Turraks ile homojenize edilmiştir. Ardından, örnekler 7500 rpm'de 15 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında Whatman No 1 ile filtre edilen supernatant 25 mL'ye tamamlanmıştır. Spektrofotometrede (UV-VIS., Peak Instruments, C-7200, Houston, ABD) 663 ve 645 nm'de absorbans ölçümleri yapılan örneklerin toplam klorofil miktarı aşağıdaki eşitliğe (Eşitlik 7) göre hesaplanmıştır (Tekin and Ersus, 2021).

$$\text{Toplam Klorofil Miktarı, } \frac{mg}{g} = \frac{(20,2 \times A_{645} + 8,02 \times A_{663})}{1000} \times SF \quad (\text{Eşitlik 7})$$

SF: Seyreltme faktörü

$A_{645}$ : 645 nm'deki absorbans ölçümü

$A_{663}$ : 663 nm'deki absorbans ölçümü

### 3.3.12. Toplam fenolik madde miktarı analizi

Örnekler belirli oranda %80'lik etanol ile homojenize edildikten sonra 7500 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiş ve ekstrakt elde edilmiştir. Ardından, 0,5 mL ekstrakt üzerine 2,5 mL %10'luk Folin Ciocalteau çözeltisi eklenmiş ve vorteks yardımı (100 rpm, 2 dk) ile karıştırılmıştır. Sonrasında, 75 g/L konsantrasyonundaki  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  çözeltisinden 2 mL ilave edilmiştir. Örnekler, tekrar vorteks yardımı ile karıştırıldıktan sonra 50 °C'de 5 dk inkübe edilmiş ve ardından soğutulularak spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit çözeltileri ile (10, 20, 30, 40 ve 50 mg/L) ile kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri/100 g olarak verilmiştir (Ersus et al., 2024).

### 3.3.13. Antioksidan kapasite analizi

#### 3.3.13.1. DPPH radikal süpürme aktivite analizi

Örneklerin DPPH radikal süpürme aktivitesi Hwang ve Lee (2023) yöntemine göre belirlenmiştir. %80'lik etanol ile ekstrakte edilen örneklerin 517 nm'de DPPH radikalini indirgemesi ölçülmüştür. Bu doğrultuda, 0,5 mL örnek üzerine 4 mL

etanol (%96) ve 0,5 mL DPPH radikali (1 mmol/L) eklenmiştir. Ardından, 15 s vorteks ile karıştırıldıktan sonra örnekler karanlık ortamda 30 dk bekletilmiş ve absorbans ölçümleri yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için farklı konsantrasyondaki Troloks çözeltileri (0, 25, 50 ve 100 µg/mL) kullanılmıştır. Sonuçlar µg Troloks eşdeğeri/100 g olarak ifade edilmiştir.

### **3.3.13.2. ABTS radikal süpürme aktivite analizi**

Örneklerin ABTS radikal süpürme aktivitesi Hwang ve Lee (2023) yöntemine göre belirlenmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesi için hazırlanan örnek ekstraktları kullanılmıştır. ABTS boya çözeltisi, 7 mM ABTS ve 2,45 mM potasyum persülfat, pH 7,4 değerindeki fosfat tamponunda (PBS) çözülerek hazırlanmıştır. ABTS boya çözeltisi 24 saat karanlık ortamda bekletildikten sonra 732 nm'de 0,8-0,9 absorbans olacak şekilde seyreltilmiştir. Ardından, 100 µL örnek üzerine 1900 µL ABTS boya çözeltisi eklenmiş ve 30 dk karanlık ortamda bekledikten sonra 734 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için farklı konsantrasyondaki Troloks çözeltileri (0, 25, 50, 100 ve 200 µg/mL) kullanılmıştır. Sonuçlar µg Troloks eşdeğeri/100 g olarak ifade edilmiştir.

### **3.3.14. Toplam flavonoid miktarı analizi**

Örnekler belirli oranda %80'lik etanol ile ekstrakte edilmiştir. Ardından, 1 mL örnek üzerine 0,3 mL %5'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisi eklendikten sonra vorteks yardımı ile karıştırılmış ve 5 dk karanlıkta bekletilmiştir. Sonrasında 0,3 mL %10'luk AlCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O eklendikten sonra tekrar karıştırılıp 5 dk bekletilmiştir. Son olarak, 2 mL 1 M NaOH eklendikten sonra karışım 10 mL'ye distile su ile tamamlanmış ve 510 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmıştır. Kalibrasyon eğrisi için farklı konsantrasyonlardaki kateşin çözeltileri (0, 100, 200, 300 ve 400 mg/L) kullanılmıştır. Sonuçlar mg kateşin eşdeğeri/100 g olarak ifade edilmiştir (Kim et al., 2003).

### **3.3.15. Protein çözünürlüğü analizi**

Protein konsantrelerinin pH 2, 3, 3,5, 5, 6,5, 7, 8, 9 ve 9,5 değerlerindeki çözünürlüğü Bradford (1976) yöntemi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, %1,5'lik (ağ/h)

protein konsantreleri hazırlanmış ve 0,1 M HCl ve 0,1 N NaOH çözeltileri kullanılarak pH değerleri ayarlanmıştır. Ardından, karışımlar 2 saat boyunca oda sıcaklığında (25 °C±1) 300 rpm’de karıştırılmıştır. Ardından, 6000 rpm’de 20 dk santrifüj işleminin ardından örneklerin Bradford ile protein konsantrasyonları belirlenmiştir. Örneklerin %protein çözünürlüğü aşağıdaki eşitliğe (Eşitlik 8) göre hesaplanmıştır.

$$\%Protein\ çözünürlüğü = \frac{PK[\frac{\mu g}{ml}] \times SF \times V[ml]}{m[g] \times 10^6 \times \frac{\%KM}{100} \times \frac{\%P}{100}} \times 100 \quad (Eşitlik\ 8)$$

PK: Kalibrasyon eğrisinden bulunan protein konsantrasyonu (µg/mL)

SF: Seyreltme faktörü

V: Protein konsantresi çözeltisi hacmi (mL)

m: Protein konsantresi miktarı (g)

10<sup>6</sup>: g-µg dönüşümü

KM: Protein konsantresinin % kuru maddesi

P: Protein konsantresinin % protein içeriği

### 3.3.16. Köpürme kapasitesi ve stabilitesi analizi

Protein konsantrelerinin izoelektrik noktasında (pH 3,5 değeri), nötr pH değerinde ve çözünürlüğünün en yüksek olduğu pH değerinde köpürme kapasitesi ve stabilitesi belirlenmiştir. %1,5’lik (ağ/h) protein konsantresi çözeltileri belirlenen pH değerlerine getirildikten sonra 100 mL’lik mezürde 10500 rpm’de 90 s Ultra-Turraks ile karıştırılmıştır. Ardından, 90 saniye sonraki köpük hacmi ölçülmüştür. Köpürme kapasitesi aşağıdaki eşitliğe (Eşitlik 9) göre hesaplanmıştır. Köpürme stabilitesi için karışımın 5. ve 30. dk köpük hacimleri ölçülerek Eşitlik 10’e göre hesaplanmıştır (Jakobson et al., 2023).

$$\%Köpürme\ Kapasitesi = \frac{V_k}{V_0} \times 100 \quad (Eşitlik\ 9)$$

V<sub>k</sub>: Köpük hacmi (mL)

V<sub>0</sub>: Başlangıç karışım hacmi (mL)

$$\%Köpürme\ Stabilitesi(t) = \frac{V_{tk}}{V_k} \times 100 \quad (Eşitlik\ 10)$$

$V_{t,k}$ : t. zamanındaki köpük hacmi (mL)

$V_k$ : Başlangıç köpük hacmi (mL)

### 3.3.17. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi analizi

Protein konsantrelerinin izoelektrik noktasında (pH 3,5 değeri), nötr pH değerinde ve çözünürlüğünün en yüksek olduğu pH değerinde emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi belirlenmiştir. %2'lik (ağ/h) protein konsantresi çözeltisi 10000 rpm'de 30 s Ultra-Turraks ile karıştırılmıştır. Ardından, 10 mL ayçiçek yağı eklendikten sonra 14000 rpm'de 2 dk homojenize edilmiştir. Sonrasında, karışım 1720 rpm'de 5 dk santrifüj edilmiş ve emülsiyon hacmi ölçülmüştür. Emülsiyon aktivitesi aşağıdaki eşitliğe (Eşitlik 11) göre hesaplanmıştır. Emülsiyon stabilitesi için karışım 80 °C'de 30 dk bekletilmiştir. Santrifüj işleminin ardından bulunan emülsiyon hacmi ilk emülsiyon hacmine oranlanarak (Eşitlik 12) emülsiyon stabilitesi hesaplanmıştır (Nath and Rao, 1981).

$$\%Emülsiyon\ Aktivitesi = \frac{V_E}{V_0} \times 100 \quad (Eşitlik\ 11)$$

$V_E$ : Emülsiyon hacmi (mL)

$V_0$ : Başlangıç karışım hacmi (mL)

$$\%Emülsiyon\ Stabilitesi(t) = \frac{V_S}{V_E} \times 100 \quad (Eşitlik\ 12)$$

$V_S$ : Isıl işlem sonrası emülsiyon hacmi (mL)

$V_E$ : Başlangıç emülsiyon hacmi (mL)

### 3.3.18. Yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu analizi

Örnekler, darası bilinen 25 mL'lik mezürde 20 mL'ye tamamlanmış ve örneğin miktarı (g) ölçülmüştür. Yığın yoğunluğu örneğin miktarının hacmine oranı olarak hesaplanmış ve  $kg/m^3$  olarak ifade edilmiştir (Jinapong et al., 2008).

Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu analizinde ise mezüre 100 kez vurularak örnek miktarının hacme oranı ile hesaplanmış ve  $kg/m^3$  olarak ifade edilmiştir (Jinapong et al., 2008).

### 3.3.19. Carr indeksi ve Hausner oranı hesaplanması

Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu belirlenen örneklerin Carr indeksi ve Hausner oranı aşağıdaki eşitliklere (Eşitlik 13 ve 14) göre hesaplanmıştır (Jinapong et al., 2008).

$$\text{Carr indeksi, \%} = \frac{\text{Yığın yoğunluğu} - \text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}}{\text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 13})$$

$$\text{Hausner oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}}{\text{Yığın yoğunluğu}} \quad (\text{Eşitlik 14})$$

Carr indeksi örneğin akabilirliği, Hausner oranı ise yapışkanlığı hakkında bilgi veren değerlerdir. Bu değerlere göre örneklerin bu özelliklerinin sınıflandırılması Çizelge 3.7’de verilmiştir.

**Çizelge 3.7.** Carr indeksi ve Hausner oranlarına göre sınıflandırılması

%CI	Akabilirlik	Hausner oranı	Yapışkanlık
<15	Çok iyi	<1,2	Düşük
15-20	İyi	1,2-1,4	Orta
20-35	Orta	>1,4	Yüksek
35-45	Kötü		
>45	Çok kötü		

### 3.3.20. Su aktivitesi analizi

Örneklerin su aktivite değerleri Testo marka (Almanya) cihaz ile belirlenmiştir. Örnek cihazın haznesine yerleştirilerek su aktivitesi değeri ölçülmüştür (Shih et al., 2016).

### 3.3.21. Tekstür profili analizi

Bar, ekmek ve keklerin sertlik (g), esneklik (mm), yapışkanlık, sakızimsılık (g), çiğnenebilirlik (g/mm) ve elastikiyet gibi tekstür özellikleri tekstür analizörü (P/36R prob, TA.XTplusC, Stable Micro Systems) ile belirlenmiştir. Ölçüm yapılacak barların boyutları 25 x 25 x 10 mm olacak şekilde ayarlanmıştır. Ekmeklerin kabuk kısımları çıkarıldıktan sonra 40 x 40 x 25 mm boyutlarına getirilmiştir. Kek ürünleri ise 30 x 30 x 20 mm boyutlarına getirilerek ölçümler yapılmıştır. Test parametreleri; 1 mm/s test hızı, %50 derinlik ve 1. ve 2. sıkıştırma arasındaki zaman aralığı 30 s olarak belirlenmiştir (Gómez et al., 2007). Test, tüm örneklerle 1. Gün ve üç tekrar olacak şekilde uygulanmıştır.

### 3.3.22. Duyusal değerlendirme

Su mercimeği protein konsantresi ikame edilmiş fonksiyonel ürünler (atıştırmalık bar, ekmek, kek), yaş aralığı 25-50 olan 10 panelist ile duyusal değerlendirme testine tabi tutulmuştur. Fonksiyonel ürünler renk, koku, doku, genel beğeni ve satın alma isteği gibi farklı özelliklere göre 5 puanlık skalada değerlendirilmiştir. Panelistler tarafından 5 puanlık derecelendirme ölçeğinde 5-Çok beğendim, 4-Beğendim, 3-Orta derecede beğendim, 2-Beğenmedim, 1-Hiç beğenmedim olarak değerlendirilmiştir. Puanlamanın ardından tüm sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (Nasir et al., 2020).

### 3.3.23. İstatistiksel analiz

Analizler, iki tekerrür ve üç tekrarlı olarak geręekleřtirilmiř ve sonuçlar ortalama standart sapma olarak sunulmuştur. Örnekler arasındaki farkı belirlemek için SPSS programında (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) %95 güven düzeyinde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanılarak bağımsız t-testi geręekleřtirilerek belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). Design Expert programı 7.0.0 versiyonu (State-Ease, Inc., Minneapolis, MN, ABD) kullanılarak Plackett-Burman faktöriyel tasarımı ve yanıt yüzeyi yöntemi merkezi bütünleşik tasarım ile optimizasyon geręekleřtirilmiřtir. Ayrıca, Çizelge 3.8'de su mercimeğine (SM), su mercimeği protein konsantresine (SMP) ve fonksiyonel gıda ürünlerine (SMP-B, SMP-E ve SMP-K) yapılacak analizler gösterilmiştir.

**Çizelge 3.8.** Su mercimeğine, su mercimeği protein konsantresine ve fonksiyonel gıda ürünlerine yapılacak analizler

<b>SM</b>	<b>SMP</b>	<b>SMP-B, SMP-E, SMP-K</b>
-Toplam kuru madde	-Toplam kuru madde	-Toplam kuru madde
-Protein	-Protein	-Protein
-Yağ	-Kül	-Yağ
-Kül	-Renk	-Kül
-FT-IR	-FT-IR	-Renk
-SEM	-SEM	-Klorofil
-Amino asit kompozisyonu	-Amino asit kompozisyonu	-Toplam fenolik
-Mineral	-Mineral	-Antioksidan Kapasite
-Klorofil	-Klorofil	-Flavonoid
-İstatistiksel analiz	-Protein çözünürlüğü	-Su aktivitesi
	-Köpürme kapasitesi/stabilitesi	-Duyusal değerlendirme
	-Emülsiyon aktivitesi/stabilitesi	-İstatistiksel analiz
	-Yığın yoğunluğu	
	-Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu	
	-Carr Endeks ve Hausner oranı	
	-İstatistiksel analiz	

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Su Mercimeğinin Kimyasal Kompozisyonu

Su mercimeğinin başlangıçtaki toplam kuru madde, protein, yağ ve kül içerikleri Çizelge 4.1’te verilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan *Lemna minor* için protein içeriği  $39,81 \pm 1,28$  bulunmuştur. Su mercimeğinin protein içeriği, tür ve yetiştirme ortamına bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik göstermektedir (Appenroth et al., 2017). Yapılan çalışmalarda, *Lemna gibba* türünün protein içeriği  $33,6$  (Nieuwland et al., 2021), Lemnature firmasından temin edilen su mercimeğinin protein içeriği  $35,8$  (Muller et al., 2023) ve *Lemna paucicostata* türünün protein içeriği ise  $35,08$  (Abdullahi and Mohammed, 2023) olarak bulunmuştur. Başka bir çalışmada, 4 farklı türün (*Lemna gibba*, *Spirodela polyrhiza*, *Spirodela punctata* ve *Wolffia columbiana*) protein içeriğinin  $25,2-36,5$  arasında değiştiği bildirilmiştir (Rusoff et al., 1980). Başka bir çalışmada, yapay yetiştirme ortamı olarak seçilen Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeğinin (*Wolffia arhiza*) protein içeriğinin  $50,89$  olduğu bildirilmiştir (Hu et al., 2022). Su mercimeğinin yağ içeriği ise  $3,43 \pm 0,13$  olarak belirlenmiştir. Literatürde, yağ içeriklerine bakıldığında, *Wolffia globosa* türünün kuru madde bazında  $3,03$  (Duangjarus et al., 2022), *Lemna gibba*, *Spirodela polyrhiza*, *Spirodela punctata* ve *Wolffia columbiana* türlerinin ise kuru madde bazında  $4,5-6,6$  (Goopy and Murray, 2003) arasında yağ içerdiği bildirilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan *Lemna minor* için kül içeriği ise  $16,24 \pm 0,38$  olarak bulunmuştur. Çalışmalarda farklı türdeki su mercimeklerinin kül içeriklerinin  $11,71$  (Hu et al., 2022),  $13,7-17,1$  (Goopy and Murray, 2003),  $14,6$  (Duangjarus et al., 2022),  $18$  (Nieuwland et al., 2021) ve  $19$  (Men et al., 2001) olduğu bulgulanmıştır. Su mercimeğinin kimyasal bileşimindeki bu farklılık, türe ve yetiştirilen ortam koşullarına (sıcaklık, nem, ışık yoğunluğu, pH değeri) göre değişmesinden kaynaklanmaktadır (Molina-Alcaide and Yáñez-Ruiz, 2008).

**Çizelge 4.1.** Su mercimeğinin (*Lemna minor*) kimyasal kompozisyonu

Bileşenler	Su mercimeği ( <i>Lemna minor</i> )
Toplam Kuru Madde (%)	$3,18 \pm 0,02$
Nem (%)	$96,82 \pm 0,02$
Protein (g/100 g KM)	$39,81 \pm 1,28$
Yağ (g/100 g KM)	$3,43 \pm 0,13$
Kül (g/100 g KM)	$16,24 \pm 0,38$

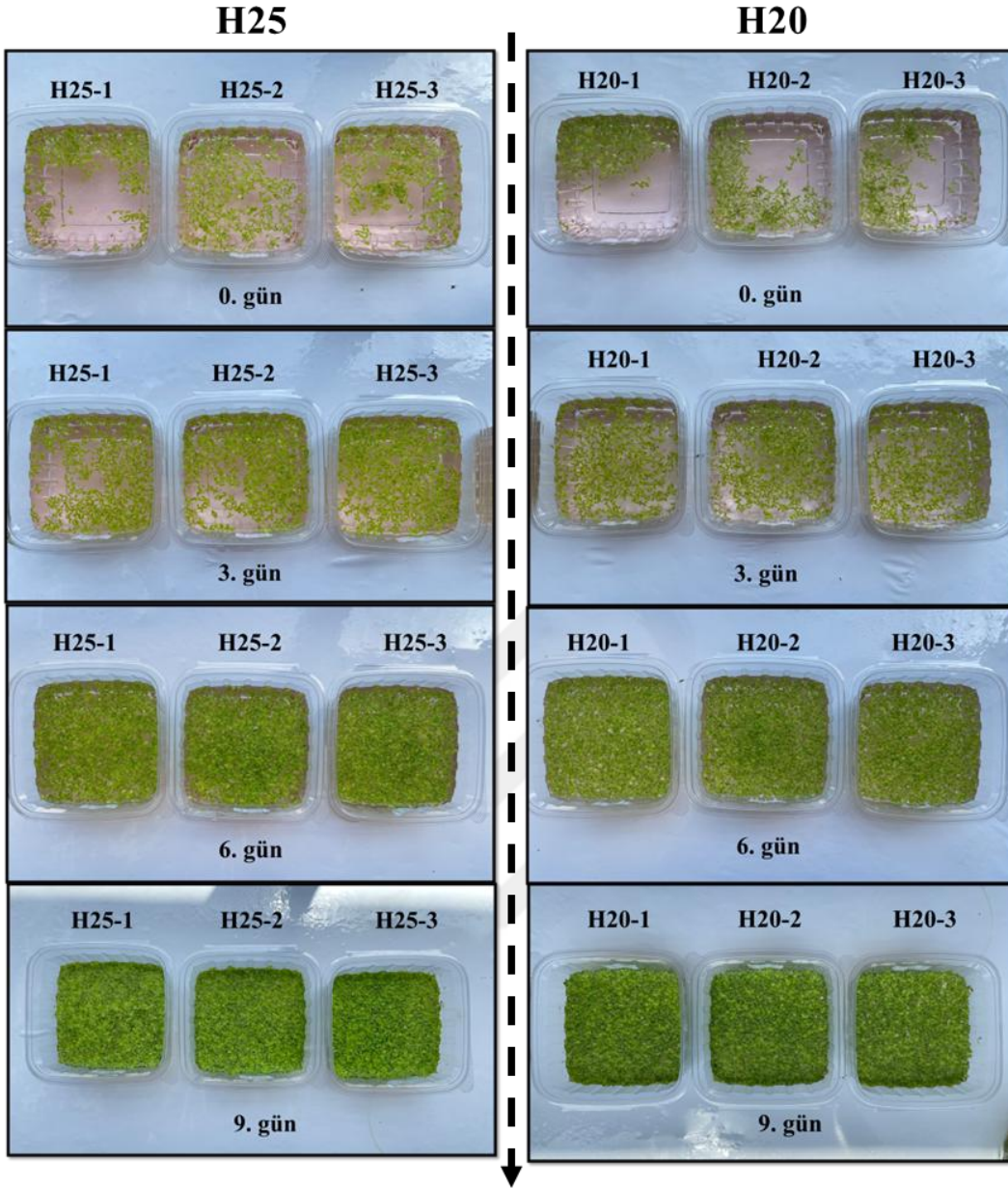
## 4.2. Su Mercimeği Yetiştirme Koşullarının Belirlenmesi

Bu bölümde, su mercimeğinin optimum yetiştirme koşullarının protein içeriğine göre belirlenmesi için yapılan analizler ve sonuçları ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. İlk olarak solüsyonun seyreltme oranı, ardından solüsyonun pH değerinin protein içeriğine etkisi tespit edilmiştir. Sonrasında, Hoagland solüsyonu makro-bileşenlerinin su mercimeğinin protein içeriğine etkisi Plackett-Burman tasarımı ile belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı parametreler merkezi bütünleşik tasarım ile optimize edilmiştir.

### 4.2.1. Hoagland solüsyonu seyreltme oranının belirlenmesi

Ticari formülasyonuna göre hazırlanan Hoagland solüsyonu 1/4 (H<sub>25</sub>) ve 1/5 (H<sub>20</sub>) oranında seyreltilmiştir. H<sub>25</sub> ve H<sub>20</sub> solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin 9. günün sonunda kuru madde bazındaki protein içerikleri sırasıyla %43,18±1,27<sup>a</sup> ve %26,67±0,89<sup>b</sup> olarak bulunmuştur. Protein içerikleri arasındaki anlamlı istatistiksel farklılık sebebiyle 1/4 oranında seyreltilmiş Hoagland solüsyonu, su mercimeklerini yetiştirmek için kullanılmıştır.

Su mercimeği yetiştirmede Hoagland solüsyonunun kullanıldığı çalışmalarda, Hoagland solüsyonları genellikle 1/4 ve 1/5 oranında seyreltilmiştir (Guo et al., 2023; Hu et al., 2022; Liu et al., 2017). Bunun sebebi, Hoagland solüsyonunun, su kültüründe yetişen bitkiler için oldukça konsantre bir yetiştirme ortamı olmasıdır. Bu sebeple hem bitki gelişimi hem de maksimum protein içeriği için yeterli konsantrasyonda bileşenlerin varlığı önem arz etmektedir. Yapılan çalışmalarda özellikle Hoagland solüsyonundaki azot içeriğinin bitkinin fotosentez, klorofil oluşumu ve protein sentezi açısından önemli olduğu belirtilmiştir. Dolayısıyla daha yüksek konsantrasyondaki azot, daha yüksek oranda fotosentez, daha yüksek oranda klorofil oluşumu ve daha yüksek oranda protein sentezini teşvik edeceği düşünülmektedir (de Bever et al., 2013).













Şekil 4.1. H<sub>25</sub> ve H<sub>20</sub> solüsyonlarında yetişen su mercimeklerinin 0, 3, 6 ve 9. gün görüntüleri

#### 4.2.2. Hoagland solüsyonu pH değerinin belirlenmesi

Su mercimekleri, ticari formülasyona göre hazırlanan, 1/4 oranında seyreltilen ve pH 5, 6, 7, 8 ve 9 değerlerine ayarlanan Hoagland solüsyonunda yetiştirilmiş ve 9. gün sonunda kuru madde bazında protein içerikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir.

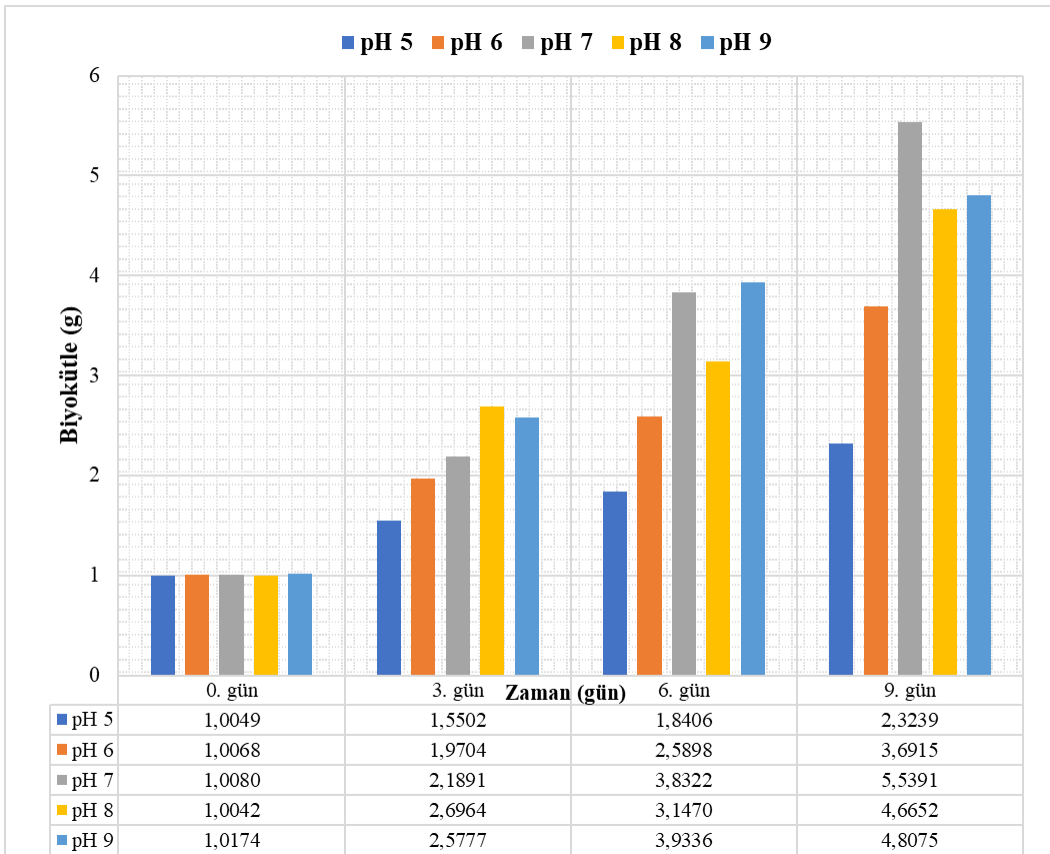
**Çizelge 4.2.** Farklı pH değerlerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin protein içerikleri

pH değeri	0. gün	9. gün	%Protein (KM)
pH 5 değeri			44,76±0,99 <sup>ab</sup>
pH 6 değeri			39,07±1,21 <sup>c</sup>
pH 7 değeri			47,08±1,35 <sup>a</sup>
pH 8 değeri			37,06±1,01 <sup>c</sup>
pH 9 değeri			45,42±1,04 <sup>ab</sup>

Sonuçlar, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a, b, c,</sup> pH değerleri arasındaki istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ( $P<0,05$ ).

Protein içeriklerine bakıldığında, pH 7 değerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farkla en yüksek protein içeriğine sahip olduğu görülmektedir ( $P<0,05$ ). Onu pH 9 ve 5 değerleri takip etmektedir. En düşük protein içerikleri ise pH 6 ve 8 değerlerinde bulunmuştur. Protein içeriklerinin yanı sıra, bitkinin gelişimi de değerlendirilmiştir. Bu sebeple, solüsyon değişimleri sırasında farklı pH değerlerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle takibi yapılmış ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. Farklı pH değerlerindeki Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle değişimleri

Biyokütle değişimlerine bakıldığında, 9. gün sonunda protein içeriğinde olduğu gibi biyokütle artışında da pH 7 değerinin en yüksek olduğu belirlenmiştir. pH 7 değerini, 9 ve 8 değerleri takip etmektedir. pH 5 değeri protein içeriği açısından yüksek olmasına rağmen biyokütle artışının oldukça düşük olduğu bulgulanmıştır. Hoagland solüsyonunun pH değerinin 7 olmasının protein verimi açısından uygun olduğu tespit edilmiştir. pH değerinin *Lemna minor* bitkisinin

büyüme ve protein oranına etkisinin incelendiği bir çalışmada, benzer sonuçlar elde edilmiştir. En yüksek protein içeriğinin ve bitki gelişim oranının pH 7 değerinde yetiştirilen su mercimeklerinde olduğu belirlenmiştir (Ullah et al., 2023).

#### 4.2.3. Makro bileşenlerin Plackett-Burman tasarımı

Seçilen 5 faktörün en düşük (-) ve en yüksek (+) seviyeleri ile oluşturulan Plackett-Burman deneme deseni ile su mercimeğinin protein oranına etkisi belirlenmiştir. Deneme desenine göre hazırlanan solüsyonlar, 1/4 seyreltme oranında ve pH 7 değerinde hazırlanmıştır. Deneme deseni ve yanıt olarak belirlenen kuru maddede protein içeriği Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Hoagland çözeltisindeki makro elementlerin Plackett-Burman deneme deseni ve yanıtı

Solüsyon	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (mM)	KNO <sub>3</sub> (mM)	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> (mM)	MgSO <sub>4</sub> (mM)	Fe <sup>+3</sup> (mM)	Protein (g/100 g KM)
1	0,1 (-)	5 (+)	5 (+)	2 (+)	0,1 (-)	24,62
2	1 (+)	0,5 (-)	0,5 (-)	0,2 (-)	1 (+)	22,08
3	0,1 (-)	0,5 (-)	0,5 (-)	2 (+)	0,1 (-)	19,51
4	0,1 (-)	0,5 (-)	0,5 (-)	0,2 (-)	0,1 (-)	20,89
5	1 (+)	0,5 (-)	5 (+)	2 (+)	0,1 (-)	41,62
6	1 (+)	5 (+)	5 (+)	0,2 (-)	0,1 (-)	34,63
7	0,1 (-)	0,5 (-)	5 (+)	0,2 (-)	1 (+)	33,74
8	0,1 (-)	5 (+)	5 (+)	0,2 (-)	1 (+)	30,07
9	1 (+)	5 (+)	0,5 (-)	2 (+)	1 (+)	35,45
10	1 (+)	0,5 (-)	5 (+)	2 (+)	1 (+)	45,52
11	1 (+)	5 (+)	0,5 (-)	0,2 (-)	0,1 (-)	29,47
12	0,1 (-)	5 (+)	0,5 (-)	2 (+)	1 (+)	25,64

Farklı Hoagland solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin protein içerikleri %19,51-45,52 arasında bulunmuştur. Model, %95 güven düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,05$ ). Plackett-Burman tasarımında protein içeriği için KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O ve Fe<sup>+3</sup> karelerin toplamının yüzdeleri (SS%) sırasıyla %33,06, %0,11, %36,61, %5,01 ve %5,42 olarak belirlenmiştir. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O bağımsız değişkenleri, p-değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı faktörler olarak tespit edilmiştir ( $P<0,05$ ). Modelin uyumluluğu için önemli olan R<sup>2</sup> ve ayarlanmış-R<sup>2</sup> değerlerine bakıldığında, sırasıyla 0,9907 ve 0,9489'dur. Bu değerlerin birbirine ve 1'e yakın

olması modelin uyumlu olduğunu göstermektedir (Babu and Srivastava, 2007).

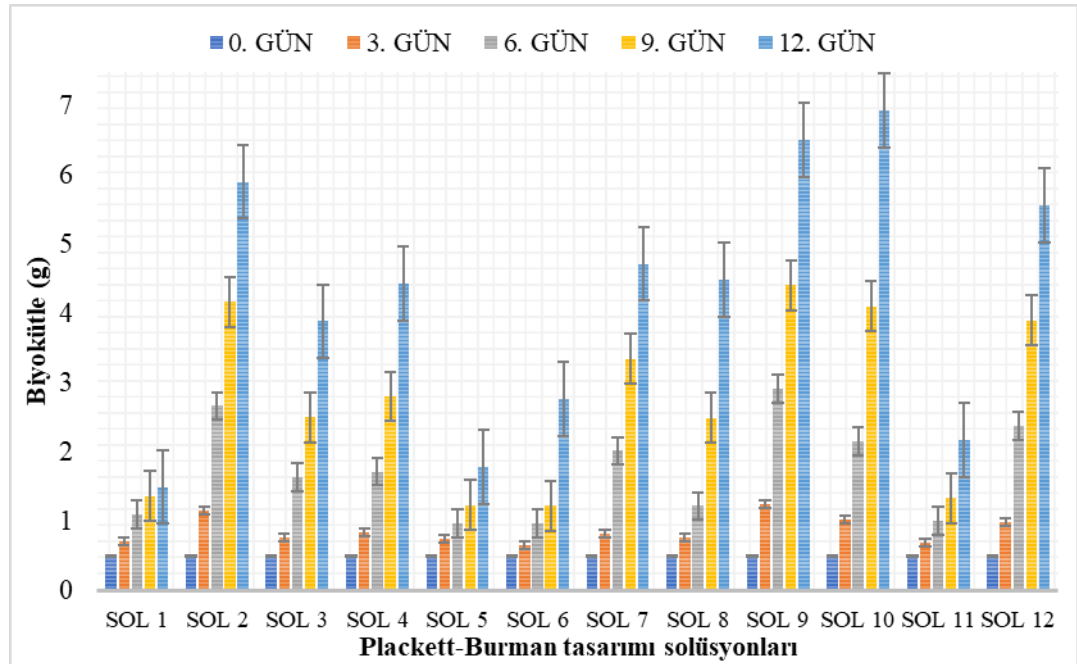
Çizelge 4.4'te modelin ANOVA sonuçlarına yer verilmiştir.

**Çizelge 4.4.** Plackett-Burman ANOVA sonuçları

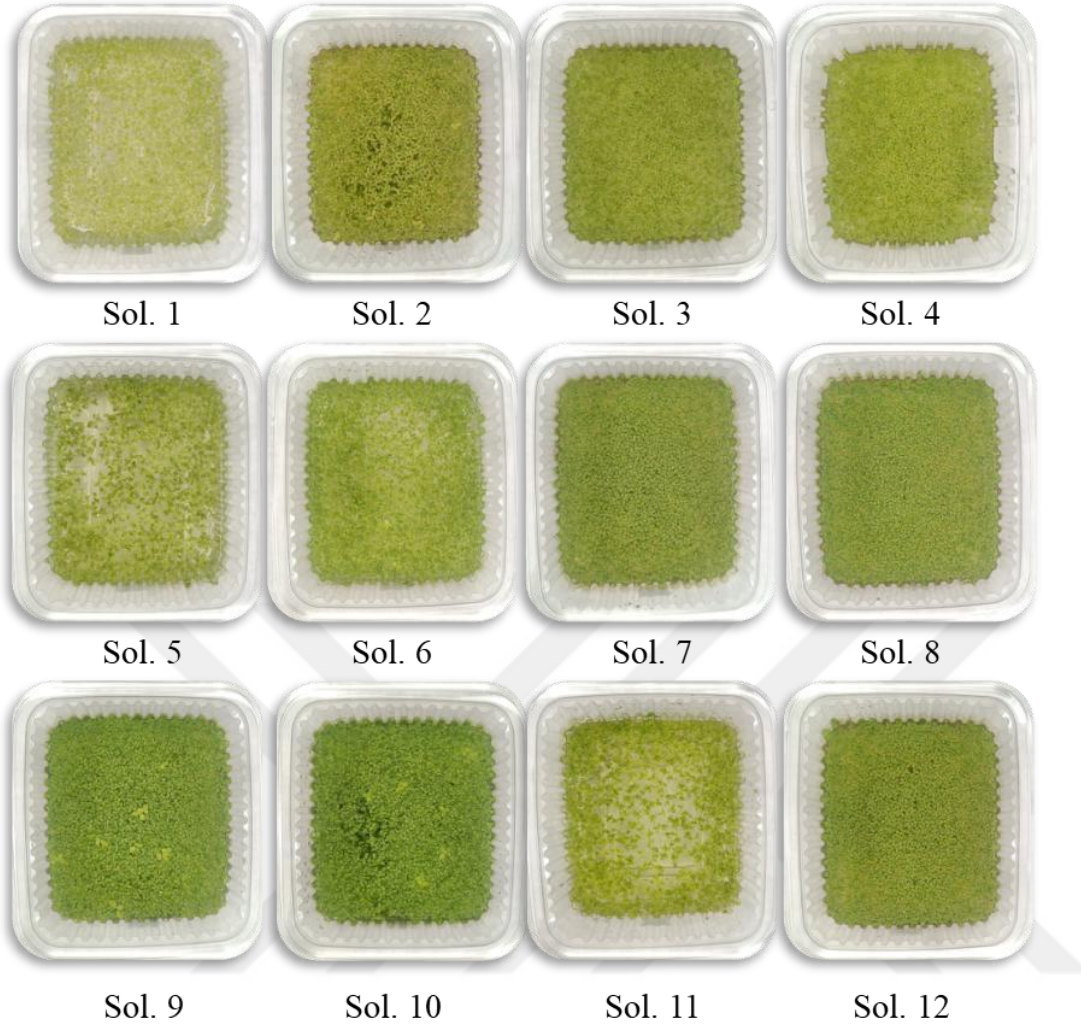
Kaynak	Karelerin Toplamı	df	Karelerin Ortalaması	F değeri	p değeri Olasılık>F
Model	742,91	9,00	82,55	23,70	<b>0,0411</b>
A-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	247,88	1,00	247,88	71,16	<b>0,0138</b>
C-Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	274,56	1,00	274,56	78,82	<b>0,0125</b>
D-MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	37,59	1,00	37,59	10,79	0,0815
E-Fe <sup>+3</sup>	40,63	1,00	40,63	11,66	0,0761
F-Dummy 1	21,76	1,00	21,76	6,25	0,1297
G-Dummy 2	22,36	1,00	22,36	6,42	0,1268
J-Dummy 4	15,28	1,00	15,28	4,39	0,1713
K-Dummy 5	46,02	1,00	46,02	13,21	0,0681
L-Dummy 6	36,82	1,00	36,82	10,57	0,0830
Kalıntı	6,97	2,00	3,48		
Cor Total	749,88	11,00			

Bitkiler, büyüme ve gelişmeleri için azot (N), potasyum (K), fosfor (P), kükürt (S), kalsiyum (Ca), magnezyum (Mg) ve demir (Fe) gibi elementlere ihtiyaç duymaktadır. Potasyum ve fosfor önemli elementlerin başında gelmektedir. Hoagland solüsyonunda, potasyum ve fosfor kaynağı olarak potasyum monofosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) kullanılmıştır. Potasyum, fotosentez, azot ve karbon metabolizması, şeker transferi ve protein sentezinde yer alan enzimlerin kofaktörü olarak görev almaktadır (Oosterhuis et al., 2014). Bunun yanı sıra, potasyumun önemi bir diğer önemli element olan azot ile ilişkisinden gelmektedir. Potasyum, protein sentezindeki enzimlerin aktivasyonunda önemli rol oynayan bir elementtir ve azot emilimini desteklemektedir (Xu et al., 2020). Yapılan bir çalışmada, yetiştirme ortamındaki potasyum miktarının yapraktaki baskın protein olan RuBisCO üzerine etkisi araştırılmıştır. RuBisCO konsantrasyonunun potasyum konsantrasyonuna bağlı olduğu, ancak potasyum eksikliğinin RuBisCO aktivitesini daha olumsuz etkilediği belirlenmiştir (Xu et al., 2020). Bitki büyümesi için bir diğer elzem element ise fosfordur. Fosfor, hücrenin yaşamsal faaliyetlerini sürdürmesi için gerekli enerjiyi sağlayan ATP molekülünün yapısında bulunan bir element olduğundan eksikliği metabolik reaksiyonların akmasına neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, ortamdaki fosfor içeriğinin artırılmasına bağlı olarak protein

ve biyokütle artışı sağladığı belirtilmiştir (Ullah et al., 2022). Plackett-Burman tasarımına göre, Hoagland solüsyonunun bir diğer önemli makro-bileşeni, kalsiyum ve azot kaynağı olan  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 'dır. Amino asitlerin yapı taşı olan azot, bitki büyümesi için vazgeçilmez bir diğer elementtir. Yapılan çalışmalarda, azot içeriğinin artmasıyla protein oranının arttığı tespit edilmiştir. Fosfor içeriğinin azalması, ATP sentezinde aksamaya ve dolayısıyla protein üretiminin azalmasına neden olabilmektedir (Li et al., 2022). Ullah et al. (2022) yaptığı çalışmada, su mercimeğinin kontrol grubunun protein içeriği %27 bulunurken, 30 ppm azot içeren bir ortamda yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği %29, 30 ppm azot ve 30 ppm fosfor içeren bir ortamda yetiştirilenlerde %33 olarak bulunmuştur. Kalsiyum, hücre duvarı ve zarındaki önemli işlevleri nedeniyle bitkiler için önemli bir elementtir (White and Broadley, 2003). Kalsiyum ve magnezyum arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada, kalsiyum oranının magnezyum oranından yüksek olmasının su mercimeğinin gelişimi için gerekli olduğu ortaya konmuştur (Walsh et al., 2020). Tüm bu çalışmalarla uyumlu olarak, su mercimeğinin protein içeriğini artırmada istatistiksel olarak anlamlı parametrelerin literatürle uyumlu olduğu görülmektedir. Su mercimeğinin 12. gündeki biyokütlesindeki değişimin grafiği ve su mercimeğinin farklı solüsyonlardaki görüntüleri sırasıyla Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Plackett Burman tasarıma göre hazırlanan solüsyonlarda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütlelerindeki değişim grafiği



**Şekil 4.4.** Plackett Burman tasarımına göre hazırlanan solüsyonlarda yetiştirilen su mercimeğinin 12. gün görüntüleri

Biyokütle artışlarına bakıldığında Plackett-Burman deneme desenindeki 9 ve 10 numaralı denemeye göre hazırlanan solüsyonlarda yetiştirilen su mercimeğinin 12. gün sonundaki biyokütle artışının diğer solüsyonlara göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, bu solüsyonlarda yetişen su mercimeğinin protein içeriğinin de yüksek olduğu bulgulanmıştır. Su mercimeğinin protein içeriği ve biyokütle artışı arasındaki bu pozitif ilişki literatür çalışmaları ile de uyumludur (Ullah et al., 2023).

#### 4.2.4. Merkezi bütünleşik tasarım ile optimizasyon

Plackett-Burman tasarımında belirlenen  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2 mM-5 mM) ve  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (5 mM-10 mM) faktörlerine ek olarak, pH değeri (6-9) yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımına 3. bağımsız değişken olarak eklenmiştir. 3'ü

orta nokta olmak üzere toplam 17 noktadan oluşan deney tasarımının ve yanıt olarak belirlenen su mercimeklerinin kuru maddedeki protein içeriği Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünlük tasarımı deneme deseni ve yanıtları

Deneme	Kodlanmış değişkenler			Kodlanmamış değişkenler			Protein içeriği (g/100 g KM)
	A	B	C	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	pH değeri	
1	-1	-1	1	2	5	9	31,50
2	0	$\alpha$	0	3,5	11,7	7,5	45,09
3	-1	1	-1	2	10	6	37,52
4	1	1	-1	5	10	6	42,44
5	0	$-\alpha$	0	3,5	3,3	7,5	30,80
6	1	-1	1	5	5	9	37,04
7	$\alpha$	0	0	6,02	7,5	7,5	45,08
8	0	0	0	3,5	7,5	7,5	54,24
9	0	0	$-\alpha$	3,5	7,5	4,98	46,29
10	0	0	0	3,5	7,5	7,5	51,28
11	$-\alpha$	0	0	0,98	7,5	7,5	30,43
12	1	1	1	5	10	9	39,56
13	0	0	$\alpha$	3,5	7,5	10,02	43,95
14	0	0	0	3,5	7,5	7,5	53,13
15	-1	-1	-1	2	5	6	35,12
16	1	-1	-1	5	5	6	45,30
17	-1	1	1	2	10	9	43,31

Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünlük tasarımına göre hazırlanan farklı Hoagland solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin kuru madde bazındaki protein içerikleri %30,43 ile 54,24 arasında bulunmuştur. ANOVA sonuçlarına göre (Çizelge 4.6), %95 güven düzeyinde model istatistiksel olarak anlamlı ( $P < 0,05$ ) ve uyum eksikliği (lack of fit) anlamlı değildir ( $P > 0,05$ ). Ayrıca, program tarafından ikinci dereceden denklemin önerilmesi optimizasyona uygunluğunu göstermektedir. Anlamlı parametreler; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> x KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O x Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O ve pH değeri x pH değeri'dir. İnteraksiyonlar ve pH değeri model için istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P > 0,05$ ). R<sup>2</sup> değerinin 0,75'ten büyük olması (R<sup>2</sup> = 0,9482) ve adj-R<sup>2</sup> değerinin 0,8'den büyük olması (adj-R<sup>2</sup> = 0,8816) modelin uygunluğunu göstermektedir (Le Man et al., 2010; Rheem et al., 2017). Ayrıca bu değerlerin 1'e ve birbirlerine

yakınlığı da modelin uygunluğunu ortaya koymaktadır (Babu and Srivastava, 2007).

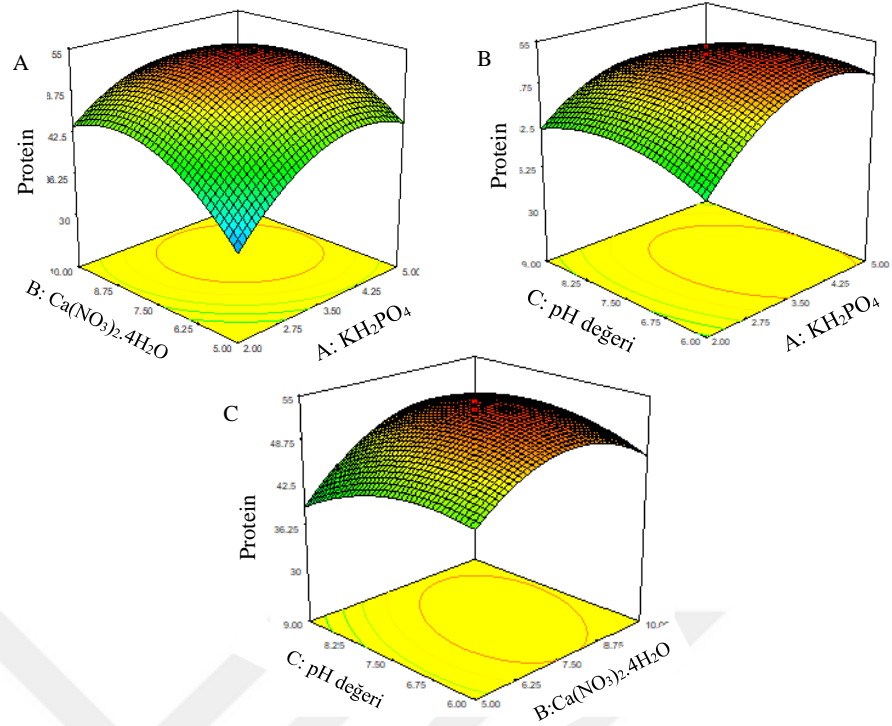
**Çizelge 4.6.** Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım ANOVA sonuçları

Kaynak	Karelerin Toplamı	df	Karelerin Ortalaması	F değeri	p değeri Olasılık>F
Model	835,49	9	92,83	14,23	0,0010
A-KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	126,28	1	126,28	19,36	0,0032
B-Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	105,19	1	105,19	16,13	0,0051
C-pH değeri	12,20	1	12,20	1,87	0,2138
AB	26,46	1	26,46	4,06	0,0838
AC	22,14	1	22,14	3,40	0,1079
BC	27,34	1	27,34	4,19	0,0798
A <sup>2</sup>	336,99	1	336,99	51,66	0,0002
B <sup>2</sup>	328,76	1	328,76	50,40	0,0002
C <sup>2</sup>	92,43	1	92,43	14,17	0,0070
Kalıntı	45,66	7	6,52		
Uyum Eksikliği	41,19	5	8,24	3,68	0,2272
Saf Hata	4,47	2	2,24		
Cor Total	881,15	16			

Modelin denklemi aşağıdaki Eşitlik 15'te verilmiştir. Kodlanmış değişkenlere dayalı protein içeriği (Y) formülü aşağıdaki gibidir.

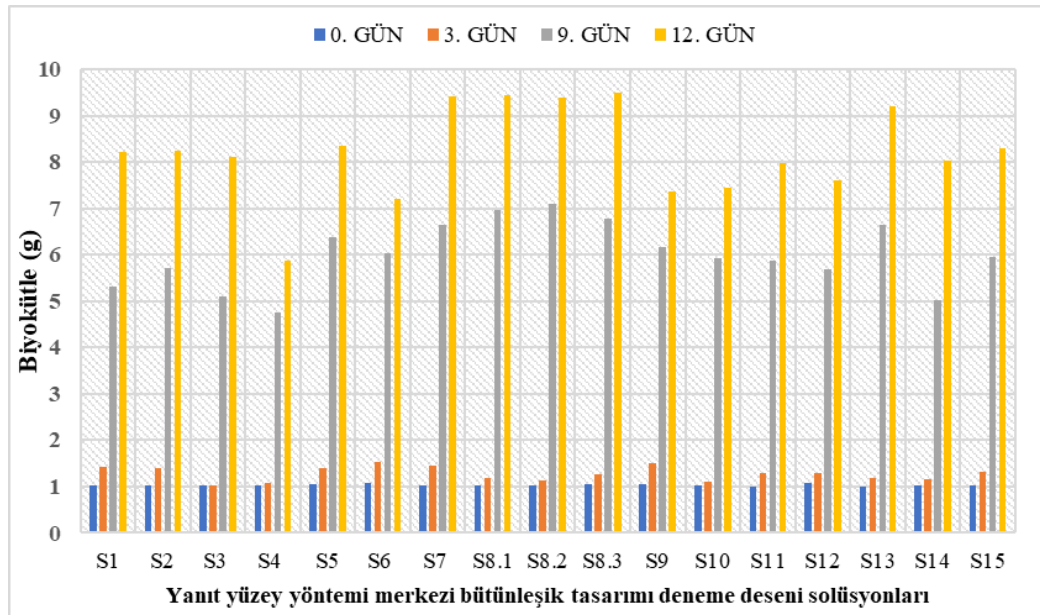
$$Y = 52,92 + 3,04A + 2,78B - 0,94C - 1,82AB - 1,66AC + 1,85BC - 5,47A^2 - 5,40B^2 - 2,86C^2 \quad (\text{Eşitlik 15})$$

Şekil 4.5'te KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O ve pH değeri arasındaki interaksiyonların 3 boyutlu yüzey grafikleri verilmiştir. Optimum nokta, 3 boyutlu yüzey grafiklerinde açıkça görülmektedir. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O ve pH değerlerinin belirli bir noktaya kadar (optimum nokta) artmasının su mercimeklerinin protein içeriğini artırdığı, bu noktadan sonra artmasının protein içeriğini azalttığı belirlenmiştir. Bunun nedeninin aşırı miktarda potasyum, fosfor, kalsiyum ve azotun hücre içi dengeyi bozarak hücrel aktivite bozulması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Xu et al., 2020). Aynı şekilde, pH değerinin belirli bir noktadan sonra artması su mercimeğinin protein içeriğini olumsuz etkilemiştir.

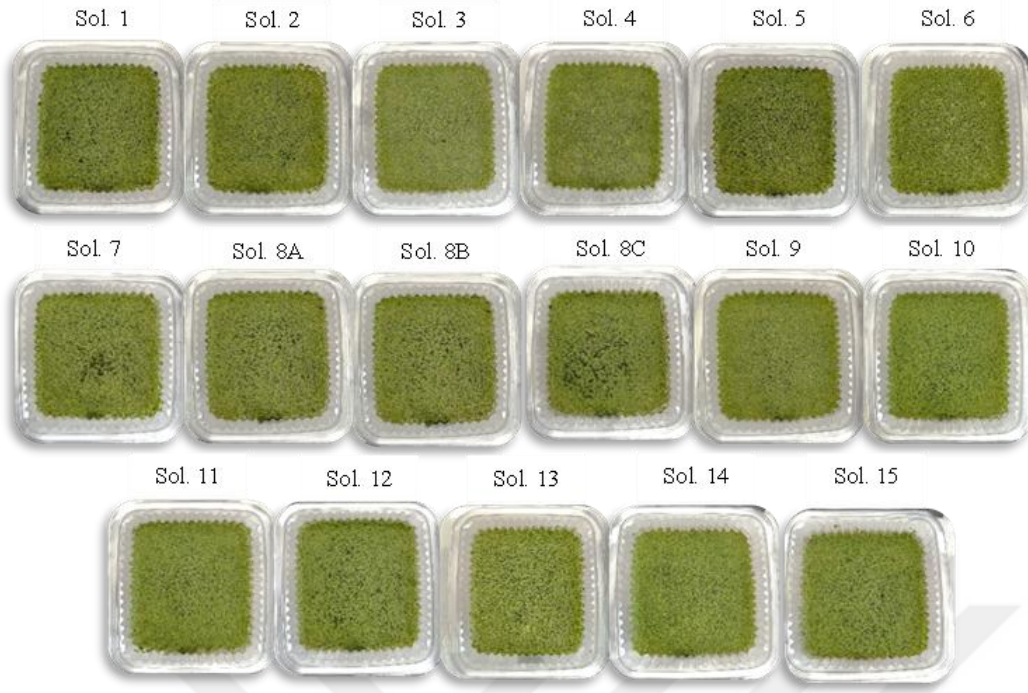


**Şekil 4.5.** Optimizasyonun 3D yüzey grafikleri (A: ' $KH_2PO_4 \times Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 'nun su mercimeğinin protein içeriğine etkisi, pH değeri 7,5; B: ' $KH_2PO_4 \times pH$  değeri'nin su mercimeğinin protein içeriğine etkisi,  $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$  7,5 mM; C: ' $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O \times pH$  değeri'nin su mercimeğinin protein içeriğine etkisi.  $KH_2PO_4$  sıfır seviyesinde 3,5 mM

Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım deneme desenine göre hazırlanan Hoagland solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütlesindeki değişimin grafiği ve 12. gündeki görüntüleri sırasıyla Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmiştir.



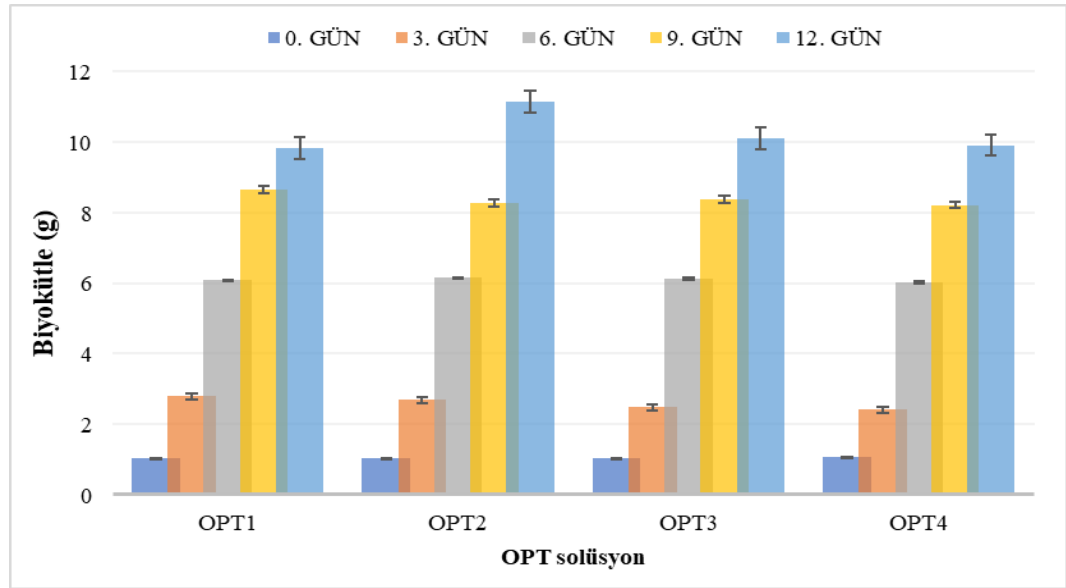
**Şekil 4.6.** Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarım deneme deseni solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle değişimi



**Şekil 4.7.** Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımı deneme deseninde yetiştirilen su mercimeklerinin 12. gün görüntüleri

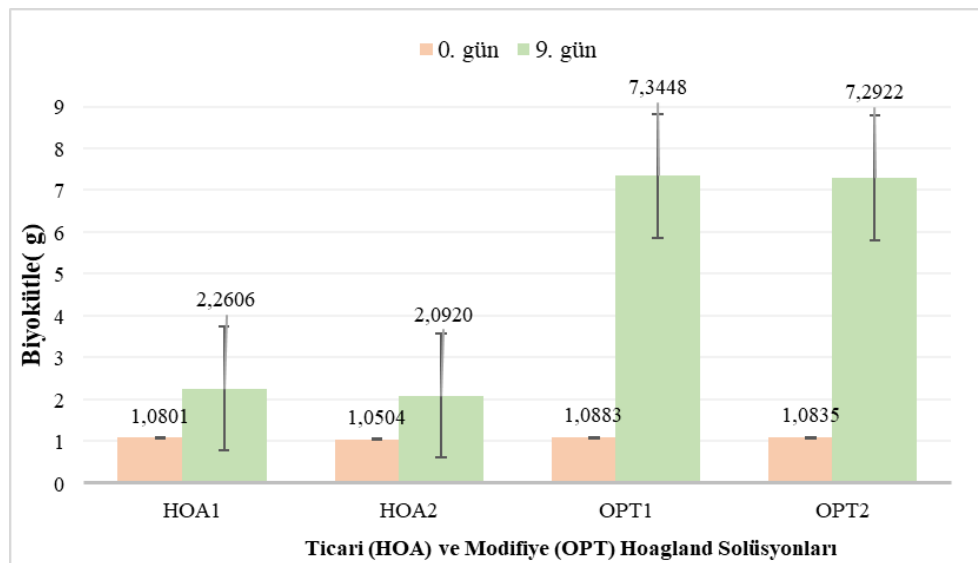
Yanıt yüzey yöntemi merkezi bütünleşik tasarımı deneme desenine göre oluşturulan Hoagland solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin en yüksek protein içeriği ile en yüksek biyokütle artışı aynı solüsyonda (Solüsyon 8/Orta nokta) belirlenmiştir. Bu durum, bitki gelişimi ile protein içeriği arasında Plackett-Burman deneme tasarımında da olduğu gibi pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir (Ullah et al., 2023).

Optimum nokta 3,92 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7,95 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve 7,22 pH değeri olarak belirlenmiştir. Diğer makro-bileşenler ticari Hoagland solüsyonundaki miktarlarda kullanılmıştır. Program tarafından belirlenen bu parametrelerde hazırlanan Hoagland solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği %53,68 olarak öngörülmüştür. Bu noktada, 4 adet doğrulama analizi yapılarak su mercimeklerinin protein içeriği ve biyokütle artışı belirlenmiştir. Optimum noktada protein içeriğinin %51,09 olduğu bulunmuş ve program tarafından tahmin edilen değere %95,18 oranında uyduğu belirlenmiştir. Şekil 4.8'de doğrulama analizinde yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle artışı gösterilmiştir.



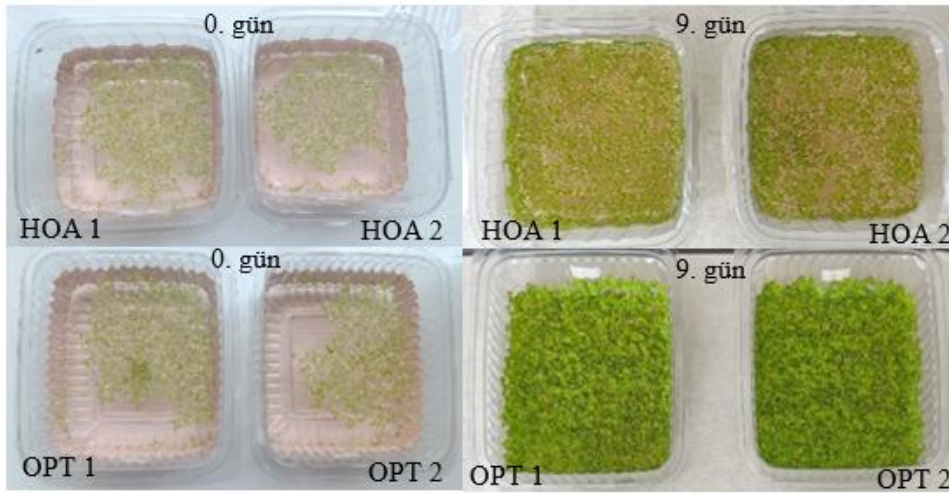
Şekil 4.8. Doğrulama analizinde yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle artışı

Doğrulama analizinin ardından su mercimekleri modifiye Hoagland solüsyonunda (OPT) ve ticari Hoagland solüsyonunda (HOA) yetiştirilmiştir. Yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği ve biyokütle artışı 9. günün sonunda belirlenmiştir. OPT'de yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği  $41,74 \pm 0,53$  iken, HOA'da yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği  $33,01 \pm 0,77$  olarak bulunmuştur. OPT ve HOA solüsyonlarında yetiştirilen su mercimeklerinin protein içerikleri arasındaki fark istatistiksel anlamlıdır ( $P < 0,05$ ). Ayrıca, OPT solüsyonunda yetiştirilen su mercimeklerinin biyokütle artışının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. HOA ve OPT solüsyonlarda yetiştirilen su mercimekleri biyokütle değişimi

OPT solüsyonda yetiştirilen su mercimeğinin protein içeriğinin yanıt yüzey yönteminde bulunan değere göre düşük olmasının sebebi, sıcaklık ve ışık faktörlerinin sabit tutulmaması ile açıklanmaktadır. Bu nedenle protein içeriği yanıt yüzey yönteminde bulunan değere göre düşük olmasına rağmen OPT solüsyonda yetiştirilen su mercimeklerinin protein içeriği ve biyokütle artışının ticari Hoagland solüsyonunda (HOA) yetiştirilen su mercimeklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. OPT ve HOA solüsyonunda yetiştirilen su mercimeğinin 0. ve 9. gün görüntüleri Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. HOA ve OPT solüsyonlarında yetişen su mercimeklerinin 0. ve 9. gün görüntüleri

### 4.3. Protein İzolasyonu

Bu bölümde, optimum yetiştirme koşulunda yetiştirilen su mercimeklerinin muhafaza yöntemi, ekstraksiyon ortamının pH değeri, ekstraksiyon sıcaklığı, çözen/katı oranı, yardımcı ekstraksiyon yöntemlerinin etkisi ve yardımcı ekstraksiyon yöntemlerinin uygulama koşulları belirlenerek maksimum verimde protein izolasyonu gerçekleştirilmiştir.

#### 4.3.1. Ham maddenin depolama yönteminin belirlenmesi

Optimum koşulda yetiştirilen su mercimekleri, vakumda kurutulmuş (V), dondurarak kurutulmuş (L) ve dondurulmuş (D) şekilde muhafaza edilmiştir. Şekil 4.5'te farklı yöntemlerle muhafaza edilen su mercimekleri ve kuru madde bazındaki protein içerikleri verilmiştir.

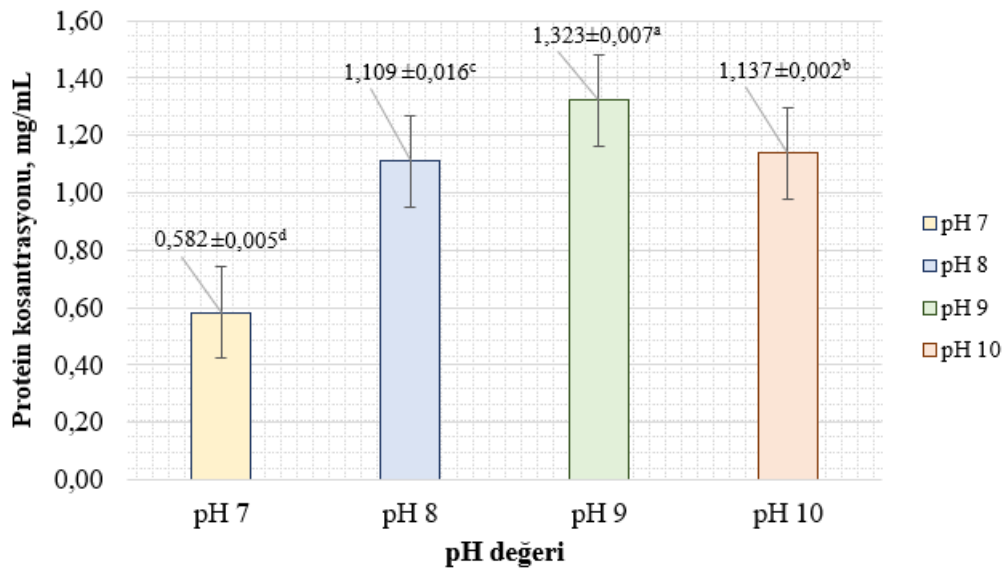


**Şekil 4.11.** Vakumda kurutulmuş, dondurarak kurutulmuş ve dondurulmuş su mercimekleri ve protein içerikleri

Protein içeriklerine bakıldığında, dondurulmuş su mercimeklerinin protein içeriğinin vakumda ve dondurarak kurutulmuş su mercimeklerine göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Özellikle kurutulan örneklerdeki düşük protein içeriğinin sebebi kurutma sıcaklık ve sürelerine bağlı olarak proteinlerin yapısının bozulmasıyla ilişkilidir (Hassan et al., 2007; Uribe et al., 2019). Ayrıca, yapılan çalışmalarda aynı yöntem ile farklı güç uygulamalarında kurutulan örneklerin de protein içeriklerinde farklılık belirlenmiştir (Alibas et al., 2021). Protein içeriklerinin yanı sıra, ham maddenin taze, kuru ya da yaş olmasının proteinlerin ekstrakte edilebilirliğini etkilemektedir. Taze ve kuru su mercimeklerinden protein ekstraksiyonu yapılan bir çalışmada, üretim verimi, protein verimi ve protein geri kazanımları değerlendirilmiş ve taze örneklerin önemli oranda her 3 kategoride yüksek verim sağladığı belirlenmiştir. Bunun sebebinin, yaprakların içerdiği selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi suyu tutan bileşiklerin kurutma ile oranca artması ile açıklanabilir. Kuru su mercimeklerinin suyu tutarak proteinlerin ekstrakte edilebilirliğini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Nitiwuttithorn et al., 2024). Dondurma işleminde ise oluşan buz kristallerinin çözülme esnasında hücre duvarının parçalanması ile yapraklardan protein ekstrakte edilebilirliğini arttırabileceği belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda, dondurma işleminin protein ekstrakte edilebilirliğini %30 oranında arttırabileceğini belirtilmiştir (Gahly and Alkoik, 2010; Kinsella, 1970). Tüm bu değerlendirmeler ışığında, su mercimeğinden protein izolasyonu için ham maddenin dondurularak depolanmasına karar verilmiştir.

### 4.3.2. Ekstraksiyon çözgeninin pH değeri

pH 7, 8, 9 ve 10 değerlerindeki tampon çözeltiler ile ekstraksiyon uygulamasının ardından elde edilen ekstraktın protein konsantrasyonları sırasıyla  $0,582\pm 0,005^d$ ,  $1,109\pm 0,016^c$ ,  $1,323\pm 0,007^a$  ve  $1,137\pm 0,002^b$  olarak bulunmuştur (Şekil 4.12). Literatür yapılan çalışmalar incelendiğinde, bitkisel ham maddelerden protein ekstraksiyonunda en yüksek verimin pH 9 değerinde görüldüğü belirlenmiştir. Optimum pH değerleri; pirinç kepeğinde 9,02 (Loan et al., 2023), cevizde 8,97 (Zhang et al., 2022), bezelyede 9,11 (Sethi et al., 2021) ve kuşkonmaz yaprakları yan ürünlerinde 9 (dos Santos-Silva et al., 2024) olarak belirlenmiştir. Bu durum, bitkisel kaynakların alkali ortamda çözünürlüğü yüksek olan amino asitlerden glutenin, aspartik asit ve glutamik asidi yüksek oranda içermesi ile açıklanabilmektedir (Damodaran, 2008).

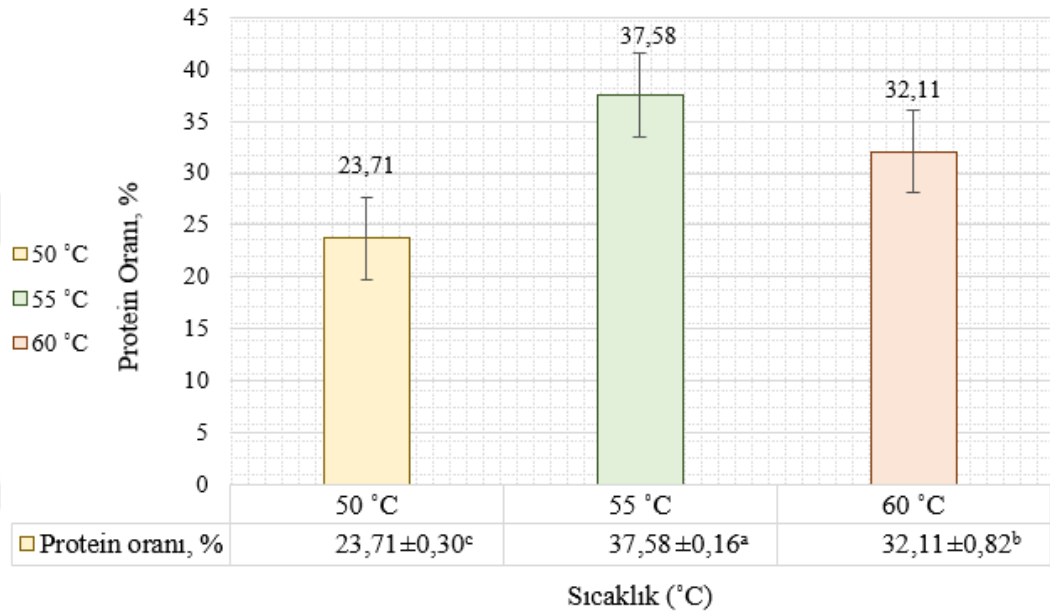


Şekil 4.12. Ekstraksiyon ortamının pH değerlerine göre protein konsantrasyonu

### 4.3.3. Ekstraksiyon sıcaklığı

50, 55 ve 60 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinin ardından elde edilen protein konsantrasyonlarının Kjeldahl yöntemi ile belirlenen protein içerikleri Şekil 4.13'te verilmiştir. Protein konsantrasyonlarının en yüksek protein içeriğinin 55 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi olduğu belirlenmiştir ( $P<0,05$ ). Ham maddeye göre değişiklik göstermek ile birlikte genellikle protein yapısının bozulmaması amacıyla optimum ekstraksiyon sıcaklıkları 40 ile 60 °C arasında uygulanmaktadır. Literatür incelendiğinde, kavun çekirdeğinde 55 °C (Pasrija and

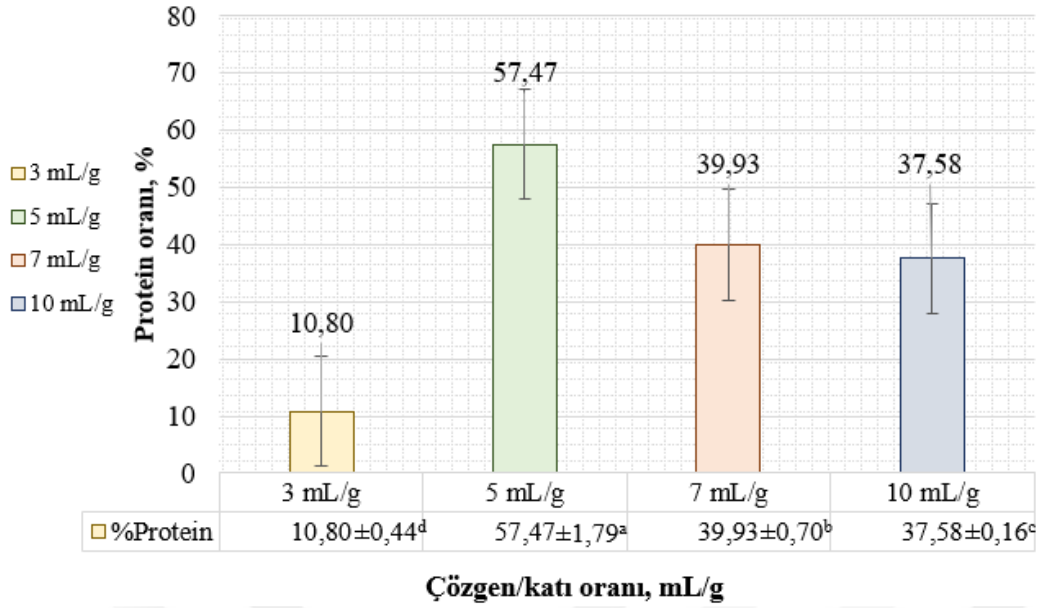
Sogi, 2022), cevizde 53,64 °C (Zhang et al., 2022), şeker pancarı yaprağında 54,25 °C (Akyüz and Ersus, 2021) ve bezelyede 53,35 °C (Sethi et al., 2021) optimum ekstraksiyon sıcaklıkları olarak belirlenmiştir. Bu durum, sıcaklığın artmasıyla hidrojen ve disülfid bağlarının kırılması ve böylece proteinlerin çözünürlüğünün artması ile açıklanabilmektedir. Ancak, 60 °C ve üzeri sıcaklıklarda proteinlerin yapısının bozulmasına bağlı olarak protein uçlarının çapraz bağlanması ve çökelme eğilimi göstermesi ile çözünürlük azalabilmektedir (Paraman et al., 2007; Pasrija and Sogi, 2022).



Şekil 4.13. Farklı ekstraksiyon sıcaklıklarında izole edilen protein konsantrlerinin protein oranı

#### 4.3.4. Çözgen/katı oranı

3 mL/g, 5 mL/g, 7 mL/g ve 10 mL/g çözgen/katı oranında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinin ardından elde edilen protein konsantrlerinin Kjeldahl yöntemi ile belirlenen protein içerikleri Şekil 4.14'te verilmiştir. Protein konsantrlerinin en yüksek protein oranı çözgen/katı oranı 5 mL/g iken bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). En düşük protein içeriği 3 mL/g'da iken 5 mL/g'dan itibaren artan çözgen/katı oranında protein içerikleri azalmıştır. Bu durum, moleküllerin düzensiz ve düşük enerjili olma isteğiyle açıklanabilmektedir. Protein molekülleri, kimyasal potansiyel farkı eşitlenene kadar hücreden daha düzensiz olan ekstraksiyon ortamına geçmeye devam etmekte ve böylece ekstraksiyon verimi artmaktadır (Mechmeche et al., 2017).



Şekil 4.14. Çözgen/katı oranına göre protein konsantrasyonlarının protein oranı

Dondurulmuş su mercimeklerinden pH 9 değerinde, 5 mL/g çözgen/katı oranında 55 °C’de 30 dk alkali ekstraksiyon prosesinin protein verimi  $5,04 \pm 0,08\%$  olarak bulunmuştur.

#### 4.3.5. Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases uygulamasının protein konsantrasyonuna göre optimum koşulları Çizelge 4.7’de verilmiştir. *Chlorella vulgaris* türü algten protein izolasyonu ile yapılan bir çalışmada, ultrases uygulamasındaki %20’den %100’e artan genliğin protein geri kazanımını yaklaşık %30 oranında arttırdığı bulgulanmıştır. Ayrıca, 10 dk ultrases uygulamasındaki protein geri kazanımının 18 saatlik geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır (Hildebrand et al., 2020). Bu durum, yüksek genlikte yüksek enerji yoğunluğu ve gücüne bağlı olarak hücrelerde daha yüksek oranda kaviteasyon meydana gelmesi ile açıklanabilmektedir (Rahman and Lamsal, 2021). Ayrıca, ultrases uygulama süresini uzatmanın kaviteasyona bağlı olarak kütle transferini arttırdığı ve böylece proteinlerin ekstrakte edilebilirliğini kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Görgüç et al., 2019). Ancak, artan süre ile beraber sıcaklığın kontrolünün sağlanması zorlaşmaktadır. Artan sıcaklık ile vizkozite düşer, yüzey gerilimi azalır ve buhar basıncı artar. Buhar basıncındaki artış daha fazla kaviteasyon kabarcığı oluşturmasına rağmen şiddetlerinin düşük olması sebebiyle ses dalgası etkisi azaltmaktadır (Chemat et al., 2017).

**Çizelge 4.7.** Ultrases destekli ekstraksiyonun protein konsantrasyonuna göre uygulama koşulları

Ultrases koşulları		Protein konsantrasyonu (mg/mL)
Genlik (%)	60	1,33±0,02 <sup>c</sup>
	80	1,47±0,01 <sup>b</sup>
	100	1,80±0,04 <sup>a</sup>
Süre (dk)	5	1,74±0,03 <sup>b</sup>
	10	1,81±0,02 <sup>a</sup>
	15	1,55±0,04 <sup>c</sup>
Uygulama	Kesikli	1,82±0,01 <sup>b</sup>
	Sürekli	2,05±0,02 <sup>a</sup>

Sonuçlar, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a, b, c</sup>, Her bir uygulama koşulu kendi içinde istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ( $P<0,05$ ).

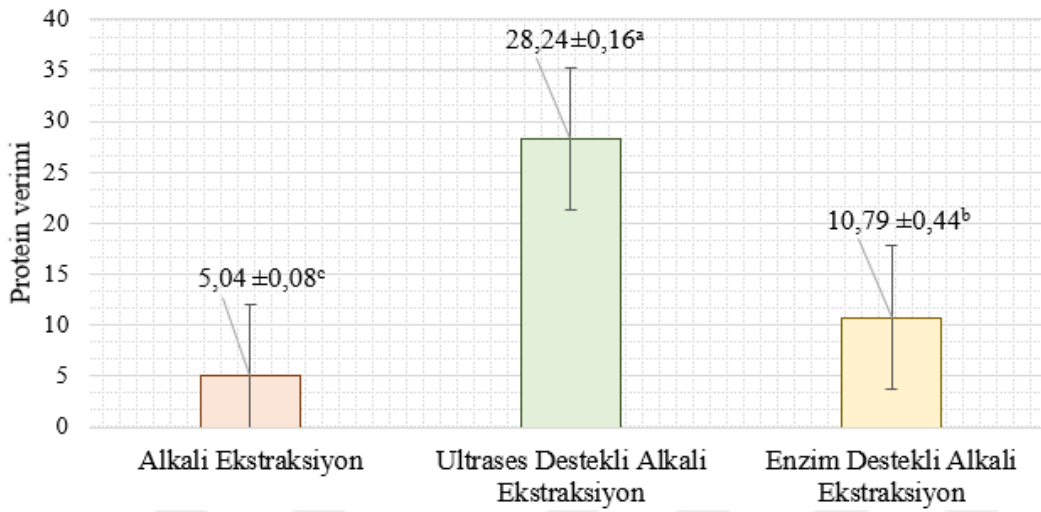
%100 genlik, 10 dk süre ve sürekli uygulanan ultrases işlemi ve ardından alkali ekstraksiyon işlemi ile protein verimi %28,24±0,16<sup>a</sup> olarak belirlenmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyon ile alkali ekstraksiyon uygulamasına göre protein veriminde yaklaşık 5,6 kat artış tespit edilmiştir. Literatürde, ultrases destekli ekstraksiyonun geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla dut yaprağında 2,4 kat (Zhao et al., 2023), moringa tohumunda 3 kat (Fatima et al., 2023), kavun çekirdeğinde 2 kat (Naik et al., 2022), fasulyede 1,7 kat (Zhao et al., 2021) ve bezelyede 1,4 kat (Youshanlouei et al., 2022) verim artışı sağladığı bulgulanmıştır.

#### 4.3.6. Enzim destekli ekstraksiyon

Pectinex UF ve Alcalase destekli gerçekleştirilen ekstraksiyonların protein konsantrasyonları sırasıyla 1,77±0,03<sup>b</sup> mg/mL ve 1,99±0,01<sup>a</sup> olarak bulunmuştur. Alcalase destekli ekstraksiyonu protein verimi %10,79±0,44<sup>b</sup> olarak belirlenmiştir. Alcalase destekli ekstraksiyon (%10,79) ile alkali ekstraksiyon (%5,04) uygulamasına göre protein veriminde yaklaşık 2,1 kat artış sağlanmıştır. Susam küspesinden Alcalase destekli protein ekstraksiyonunda verimin %35'ten %45'e arttığı tespit edilmiştir (Koysuren et al., 2021). Bir başka çalışmada, Alcalase enzimi kullanılarak su yosununda protein veriminin %15,7'den %59,4'e arttığı belirtilmiştir (Naseri et al., 2020).

Protein verimleri kıyaslandığında ultrases destekli ekstraksiyonun en etkili protein izolasyonu yöntemi olduğu belirlenmiştir. Su mercimeğinden protein izolasyonunda ultrases destekli alkali ekstraksiyon izoelektrik çöktürme yöntemi

kullanılmıştır. Şekil 4.15'te alkali ekstraksiyon, ultrases destekli alkali ekstraksiyon ve enzim destekli alkali ekstraksiyonun protein verimleri gösterilmiştir.



Şekil 4.15. Ekstraksiyon yöntemine göre protein verimi

#### 4.3.7. Su mercimeği protein konsantresinin kimyasal kompozisyonu

Su mercimeği protein konsantresinin toplam kuru madde, nem, toplam kül ve protein analizleri sonucu Çizelge 4.8'de verilmiştir. Literatürde, protein izolatu tanımı 'Kuru madde bazında %90 oranında protein içermelidir' şeklindedir (Wang et al., 2004). Ancak, protein konsantresi tanımında farklı kaynaklarda farklı tanımlar görülmektedir. %50-75 arasında (Morr and Ha, 1993), %40-90 arasında (Fang et al., 2010) ve en az kuru madde bazında %65 (Wang et al., 2004) protein içermesi gerektiğini belirten birçok kaynak mevcuttur. Bu bağlamda, %60,09 protein içerikli su mercimeği protein tozları 'protein konsantresi' olarak tanımlanmıştır. Farklı türdeki su mercimeklerinden farklı ekstraksiyon teknikleri ile izole edilen protein konsantrelerinin kuru madde bazındaki protein ve kül içerikleri farklılık göstermektedir. Yapılan bir çalışmada, *Spirodela polyrhiza* türü su mercimeklerinden izole edilen protein konsantresinin protein içeriği %67,83 ve kül içeriği %1,59 olarak bulunmuştur (Yu et al., 2011). Başka bir çalışmada, aynı türden izole edilen protein konsantrelerinin protein içeriği %64,6 ve kül içeriği ise %7,3 olarak belirlenmiştir (Fasakin, 1999). *Wolffia arrhiza* türünden ultrases destekli ekstraksiyon ile izole edilen protein konsantrelerinin protein içeriği %64,19 ve kül içeriği ise %0,94 olarak bulgulanmıştır (Nitiwuttithorn et al., 2024). SMP'nin klorofil içeriği 7,26 mg/g olarak belirlenmiştir. Pongamia ağacı yapraklarından

izole edilen protein konsantresinin klorofil içeriği 3,8 mg/g (Khan and Varshney, 2015), yonca protein konsantresinin 6,1 mg/g (Ohshima and Ueda, 1984), çimen protein konsantresinin 7,2 mg/g (Pérez-Vila et al., 2024) ve kavak ağacı yaprağı protein konsantresinin 4,68 mg/g (Khan et al., 2014) olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.8.** SMP'nin kimyasal kompozisyonu

Bileşenler	SMP
Toplam Kuru Madde (%)	98,26±0,05
Nem (%)	1,74±0,05
Protein (g/100 g KM)	60,09±0,06
Kül (g/100 g KM)	4,17±0,13
Klorofil (mg/g)	7,26±0,03

#### 4.3.8. Su mercimeği ve protein konsantresinin amino asit kompozisyonu

Su mercimeği (SM) ve su mercimeği protein konsantresinin (SMP) amino asit kompozisyonu Çizelge 4.9'da verilmiştir. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresi önemli oranda esansiyel amino asitleri içermektedir. Su mercimeğinde başı çeken esansiyel amino asitler lösin, fenilalanin ve izolösin, su mercimeği protein konsantresinde ise lösin, fenilalanin ve valindir. Özellikle valin ve izolösin amino asitlerinin kas gelişimi üzerindeki olumlu etkileri, protein konsantrelerinin gıda takviyesi olarak kullanılması açısından önemlidir (Tymchak, 2013). Glutamik asit, aspartik asit ve arjinin su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin önemli esansiyel olmayan amino asitleridir. Aspartik asit, arginin, lizin, metiyonin, treonin ve izolösin sentezinde önemli rol oynarken, glutamik asit, mono sodyum glutamat formunda bir gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Tymchak, 2013). Tüm bunlar, su mercimeği protein konsantresinin gıda takviyesi olarak kullanımını olumlu yönde etkilemektedir. Chakrabarti et al. (2018) *Lemna minor* türü su mercimeğinin amino asit profili ile ilgili yaptığı çalışma ile sonuçların benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Ancak, yapılan diğer çalışmalar ile farklılıkların olduğu tespit edilmiştir (Appenroth et al., 2017; Hu et al., 2022; Miltko et al., 2024). Amino asit kompozisyonlardaki bu farklılık, türe ve yetiştirilen ortam koşullarına (sıcaklık, nem, ışık yoğunluğu, pH değeri) göre değişmesinden kaynaklanmaktadır (Molina-Alcaide and Yáñez-Ruiz, 2008).

**Çizelge 4.9.** Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin amino asit kompozisyonu

<b>Esansiyel Amino Asitler</b>	<b>SM (g/100 g)</b>	<b>SMP (g/100 g)</b>	<b><i>Lemna minor</i> (g/100 g)</b> (Chakrabarti et al., 2018)
Lösin	3,5	4,9	4,1
İzolösin	2,2	3,1	2,0
Valin	1,1	3,2	2,7
Fenilalanin	2,4	3,4	2,6
Treonin	1,2	2,5	1,9
Triptofan	0,8	1,5	0,4
Metiyonin	1,1	1,6	0,9
Histidin	0,8	1,3	0,9
Lizin	1,5	2,9	2,7
<b>Esansiyel Olmayan Amino Asitler</b>	<b>SM (g/100 g)</b>	<b>SMP (g/100 g)</b>	<b><i>Lemna minor</i> (g/100 g)</b> (Chakrabarti et al., 2018)
Aspartik asit	3,2	3,7	3,7
Glutamik asit	5,6	6,1	6,4
Serin	1,6	2,0	2,4
Glisin	2,1	2,5	2,9
Tirozin	1,2	2,1	1,9
Arjinin	2,4	3,2	3,1
Alanin	1,9	2,5	2,9
Sistein	0,5	1,2	0,4
Prolin	1,1	1,4	1,3
Hidroksiprolin	0,2	0,8	0,1

#### **4.3.9. Su mercimeği protein konsantresinin renk, yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı değerleri**

Su mercimeği protein konsantresinin renk değerleri, yığın yoğunluğu, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, Carr indeksi ve Hausner oranı Çizelge 4.10'da verilmiştir. SMP'nin renk değerleri incelendiğinde özellikle protein konsantrelerinin aydınlık değerinin düşük olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.16). Bunun sebebi, yaprak proteinlerindeki baskın protein olan RuBisCO'nun klorofillere bağlı olması ve ekstraksiyon sırasında klorofilin degrade olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Kaur and Bhatia, 2023). Yapraklardan izole edilen protein konsantrelerinin  $L^*$  değerlerine bakıldığında, turp yaprağı protein konsantresinin 49,70 (Kaur and Bhatia, 2022), ebegümeçi yaprağı protein konsantresinin 51,32 (Ersus and Akyüz, 2023), alfalfa protein konsantresinin 56,7 (Hadidi et al., 2020)

ve moringa yaprağı protein konsantresinin 34,09 (Adewumi et al., 2022) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, protein konsantrelerinin renk değerleri, protein izolasyon yöntemi (Toews and Wang, 2013) ve ekstraksiyon ortamının pH değerine (Adebowale et al., 2007) göre değişebilmektedir. Enzim destekli ekstraksiyon ile izole edilen turp protein konsantresinin  $L^*$  değerinin 45,80'e düştüğü (Kaur and Bhatia, 2023), ultrases-ultrafiltrasyon destekli ekstraksiyon ile izole edilen alfalfa protein konsantresinin  $L^*$  değerinin 68,1'e yükseldiği (Hadidi et al., 2020) saptanmıştır.

**Çizelge 4.10.** SMP'nin renk, yoğunluk, Carr indeksi ve Hausner oranı değerleri

Fiziksel özellikler			SMP		
$L^*$	$a^*$	$b^*$	20,03±0,03	0,26±0,04	3,87±0,11
Yığın yoğunluğu (kg/m <sup>3</sup> )			264,4±1,15		
Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu (kg/m <sup>3</sup> )			296,7±1,67		
Carr indeksi (%)			20,97±0,77		
Hausner oranı			1,27±0,01		



**Şekil 4.16.** Su mercimeği protein konsantresinin (SMP) görüntüsü

Toz ürünlerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu ürünlerin işlenmesi, paketlenmesi ve depolanmasında önemli bir role sahiptir. SMP'nin yığın yoğunluğu 264,4±1,15 kg/m<sup>3</sup> olarak bulunurken, sıkıştırılmış yığın yoğunluğu 296,7±1,67 kg/m<sup>3</sup> olarak bulunmuştur. Literatürde çeşitli kaynaklardan izole edilen yaprak proteinlerinin sıkıştırılmış yığın yoğunlukları incelendiğinde, alfalfa protein konsantresinin 160 kg/m<sup>3</sup> (Wang and Kinsella, 1976), şeker pancarı yaprağı protein

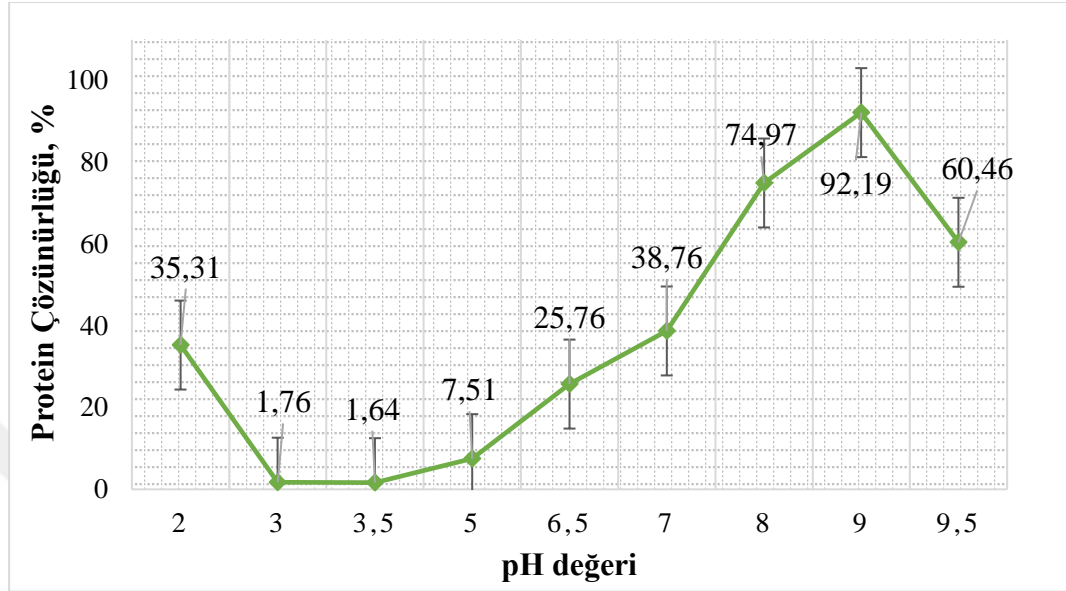
konsantresinin 99,77 kg/m<sup>3</sup> (Akyüz and Ersus, 2021) ve ebeğümeci protein konsantresinin 318,51 kg/m<sup>3</sup> (Ersus and Akyüz, 2023) olduğu belirtilmiştir. Protein konsantrelerinin yoğunlukları arasındaki bu fark partikül boyutuna (Yeasmen and Orsat, 2024), protein izolasyon yöntemine (Ersus and Akyüz, 2023), ekstraksiyon ortamının pH değerine (Yeasmen and Orsat, 2024), yardımcı ekstraksiyon yöntemine (Yeasmen and Orsat, 2024) ve farklı kurutma tekniklerinin uygulanmasına (Zhang et al., 2018) bağlı olabilmektedir.

Toz ürünlerin akışkanlığının yorumlanmasına yardımcı olan Carr indeksi Çizelge 3.4'e göre SMP için sınır değerden 'orta' olarak belirlenmiştir. Yapışkanlık ile ilgili bilgi veren Hausner oranı ise Çizelge 3.4'e göre 'orta' olarak tespit edilmiştir. Akışkanlık ve yapışkanlık arası ters bir ilişki vardır. Akışkanlığın 'iyi' olarak tanımlanmaya çok yakın değerde iken yapışkanlığın 'orta' olarak tanımlanması bu durumu açıklamaktadır. Bunun nedeni, küçük parçacık boyutu nedeniyle parçacıklar arasındaki temas yüzeyinin artmasıyla açıklanabilmektedir (Jinapong et al., 2008).

#### **4.3.10. Su mercimeği protein konsantresinin protein çözünürlüğü**

Su mercimeği protein konsantresinin pH 2, 3, 3,5 (pI nokta), 5, 6,5, 7, 8, 9 ve 9,5 değerlerindeki protein çözünürlükleri Şekil 4.17'de gösterilmiştir. Protein çözünürlüğü %1,64-92,19 arasında değişmektedir. SMP, izoelektrik bölgede (pH 3-3,5 değerleri) en düşük çözünürlüğe sahipken en yüksek çözünürlüğü bazik bölgede göstermektedir. Bu durum, izoelektrik noktada protein-protein interaksyonu ile proteinlerin çökmesi ile açıklanabilmektedir. İzoelektrik noktanın altındaki ve üstündeki pH değerlerinde ise çözünürlüğün arttığı tespit edilmiştir. U-şeklindeki bu desen birçok bitkisel kaynaktan izole edilen protein konsantresi ve izolatında saptanmıştır (Adebowale and Lawal, 2003; Ghribi et al., 2015; Hojilla-Evangelista et al., 2018; Ogunwolu et al., 2009). Asit ortamında proteinler pozitif yüklü, alkali ortamında ise negatif yüklü olarak protein-çözgen etkileşimi ile çözünürlükleri artar. Ancak, SMP'nin alkali bölgedeki çözünürlüğü asidik bölgedeki çözünürlüğünden daha yüksektir. Bunun sebebi, SMP'nin yüksek oranda negatif yüklü ve polar yüksüz amino asitlere sahip olması ile açıklanabilmektedir (Singh and Sogi, 2018). Ayrıca, düşük çözünürlük proteinlerin denatürasyonunu belirtmektedir (Waglay et al., 2014). Sonuç olarak, SMP'nin

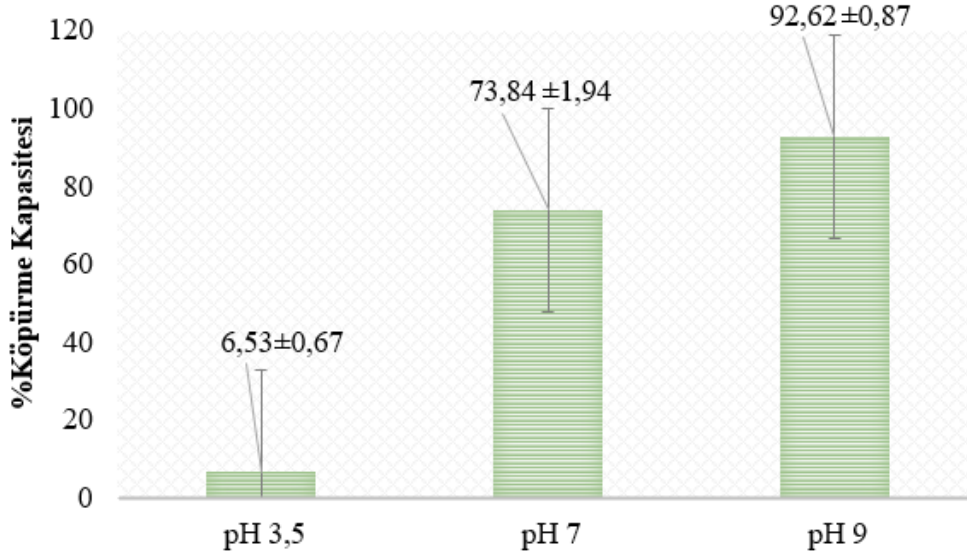
nispeten bakliyat proteinlerine göre düşük çözünürlüğü proteinlerin degrade olmuş olabileceğini göstermektedir (Boye et al., 2010–a). Ayrıca, yüksek güçteki ultrases uygulamasının proteinler degradasyonuna sebep olabileceği ve bu durumun protein çözünürlüğünü düşürebileceği düşünülmektedir (Rahman and Lamsal, 2021).



Şekil 4.17. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerine göre protein çözünürlükleri

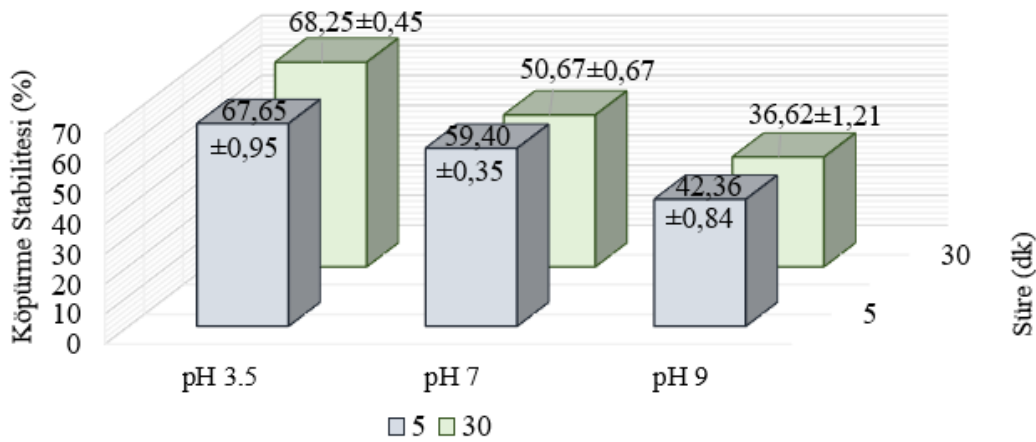
#### 4.3.11. Su mercimeği protein konsantresinin köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi

Su mercimeği protein konsantresinin pH 3,5 değerinde (izoelektrik nokta), pH 7 değerinde (nötr pH değeri) ve pH 9 değerinde (çözünürlüğün en yüksek olduğu pH değeri) köpürme kapasitesi Şekil 4.18’de verilmiştir. En yüksek köpürme kapasitesi pH 9 değerinde, en düşük ise izoelektrik noktası olan pH 3,5 değerinde belirlenmiştir. Bu durum, proteinlerin çözünürlüğü, esnekliği ve yüzey hidrofobitesi ile ilgilidir (Amagliani et al., 2021). İsoelektrik nokta dışında proteinlerin artı (asidik) ve eksi (alkali) yüklü hale gelmesi ile su ile interaksyonu sonucu çözünürlükleri ve esneklikleri artarken hidrofobitesi azalmaktadır. Bu durum, proteinin hava-su arayüzüne daha hızlı yayılmasına ve böylece köpük oluşumu kapasitesinin artmasına sebep olmaktadır (El Nasri and El Tinay, 2007).



Şekil 4.18. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerine göre köpürme kapasitesi

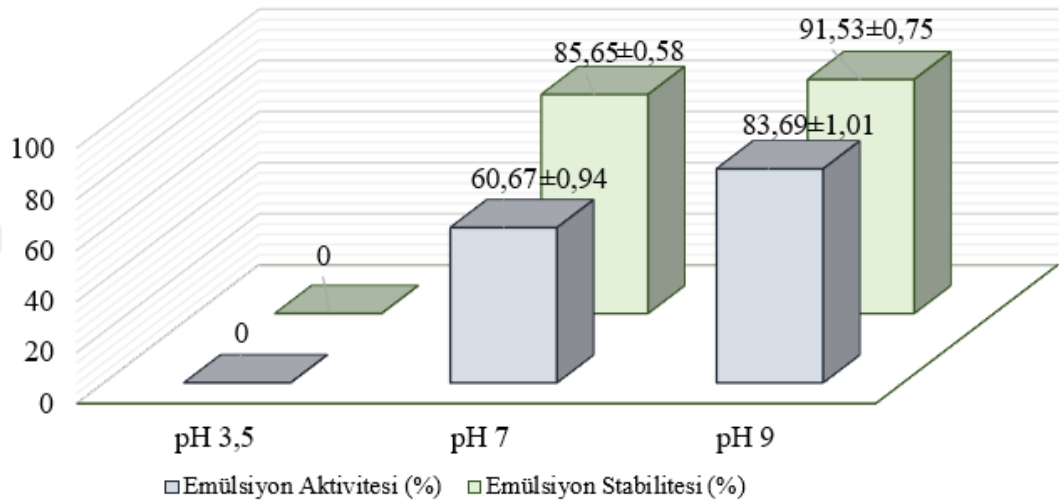
Su mercimeği protein konsantresinin pH değerine göre değişen köpürme stabilitesi Şekil 4.19’da gösterilmiştir. pH değerine göre köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi arasında ters bir ilişki olduğu görülmektedir. SMP’nin izoelektrik noktada köpük stabilitesini yüksek oranda koruduğu, çözünürlüğün en yüksek olduğu pH 9 değerinde ise stabilitenin düştüğü belirlenmiştir. Bunun sebebi, izoelektrik noktada net yükün sıfır olmasıyla, elektrostatik itmenin minimum seviyede olması ile açıklanabilmektedir. Minimum seviyedeki interaksyon ile proteinler daha kararlı hava-su arayüzü oluşturmaktadır (Lamsal et al., 2007). Elektrostatik itmenin daha yüksek olduğu pH 7 ve 9 değerinde ise köpük stabilitesi giderek azalmakta olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.19. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerlerine göre 5 ve 30 dk köpürme stabilitesi

#### 4.3.12. Su mercimeği protein konsantresinin emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi

Su mercimeği protein konsantresinin pH 3,5 (izoelektrik nokta), pH 7 (nötr pH değeri) ve pH 9 değerlerinde (çözünürlüğün en yüksek olduğu pH değeri) emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi Şekil 4.20’de verilmiştir. En yüksek emülsiyon aktivitesi pH 9 değerinde tespit edilmiştir. İzoelektrik noktada ise emülsiyon oluşumu tespit edilmemiştir. Bu durum, köpürme kapasitesinde olduğu gibi proteinlerin çözünürlük profili ile benzerlik göstermektedir. Çözünürlüğün en düşük olduğu nokta olan izoelektrik noktada, proteinlerin elektrostatik itme gücünün minimum olmasına bağlı olarak arayüz oluşumunu zayıflatmaktadır. Ancak, izoelektrik nokta dışında elektrostatik itme gücü arttıkça emülsiyon oluşturma yeteneği giderek artmaktadır (Ogunwolu et al., 2009).

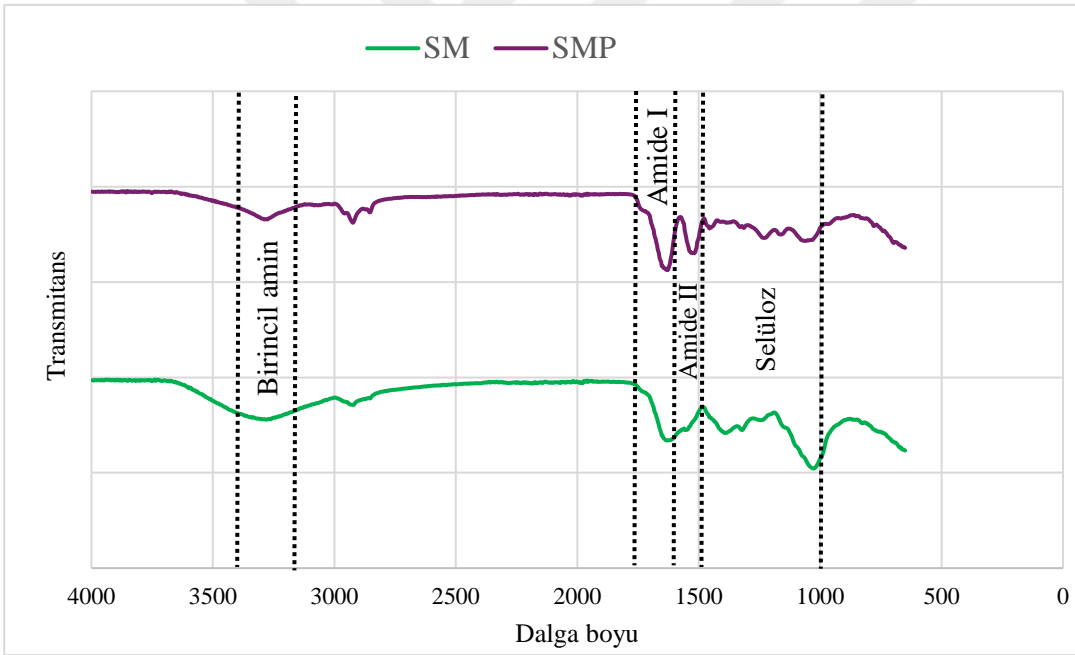


Şekil 4.20. Su mercimeği protein konsantresinin pH değerlerine göre emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

#### 4.3.13. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin FTIR analizi

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin FTIR spektrumları Şekil 4.21’de gösterilmiştir. Çözelti, kristal ve katı fazlardaki proteinlerin konformasyonel değişimlerini ve saflığını incelemek için etkili bir yaklaşım olan FTIR spektroskopisi, su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin spektral bantlarındaki tepe noktaları incelendiğinde örneklerin saflığı hakkında bilgiler vermektedir. Amid I ( $1600\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ ) ve amid II ( $1500\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ ) proteinlere

özgü en baskın olan bantların görüldüğü dalga boylarıdır. Bunun yanında amid A ( $3300\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$ ) bandı da proteinlerin varlığını işaret etmektedir (Achouri et al., 2012; Kong and Yu, 2007; Schwaighofer et al., 2018; Yang et al., 2022). Şekil 4.21'e göre SM ve SMP örneklerinin proteinlere özgü tüm bu spektrumları gösterdiği belirlenmiş ve proteinlerin varlığı ortaya konmuştur. Bunun yanı sıra, SMP'nin SM'ye göre daha belirgin pikler gösterdiği görülmektedir. Bunun yanı sıra,  $1000\text{ cm}^{-1}$  bandında başlayan artış selüloz içeriğindeki artışı ve  $900\text{ cm}^{-1}$  bandında selülozun glikoz birimleri arasındaki B-glukozik bağları ifade etmektedir (Benini et al., 2018; Melikoğlu et al., 2023). Yapılan çalışmalarda,  $1000\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$  bandındaki pikler ise selülozun kristalinitesinin arttığının göstergesi olarak belirtilmiştir (Kruer-Zerhusen et al., 2018). Su mercimeği protein konsantrisine göre daha belirgin oluşu protein konsantrisindeki selüloz miktarının daha düşük olduğunu göstermektedir.

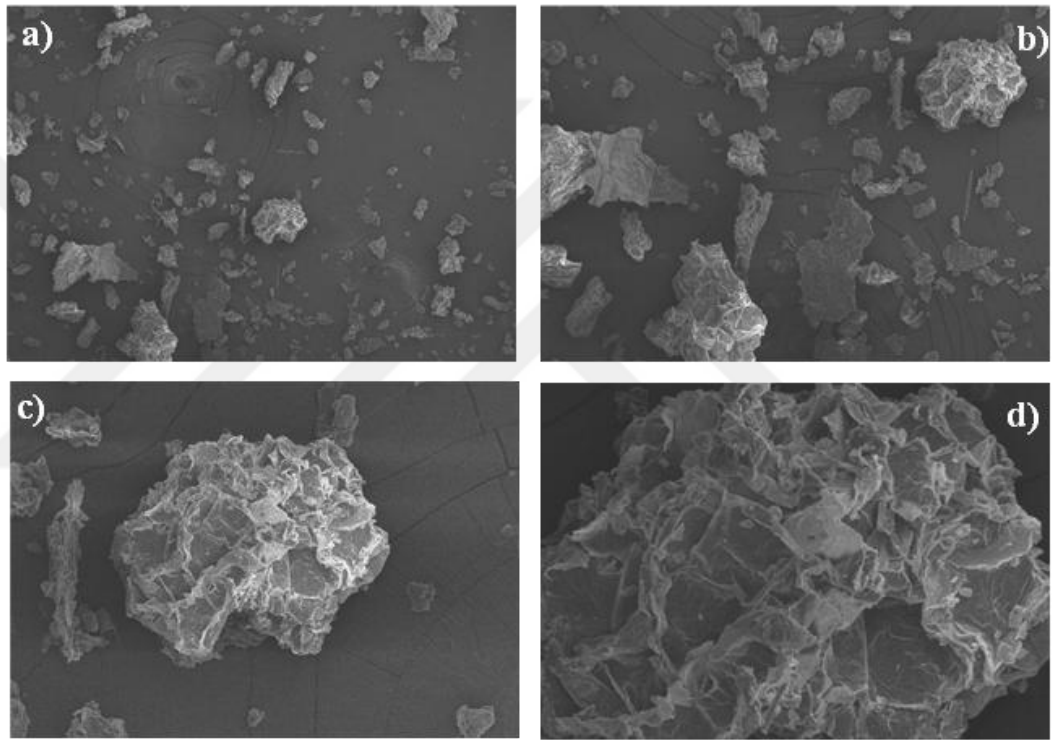


Şekil 4.21. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantrisinin FTIR spektrumu

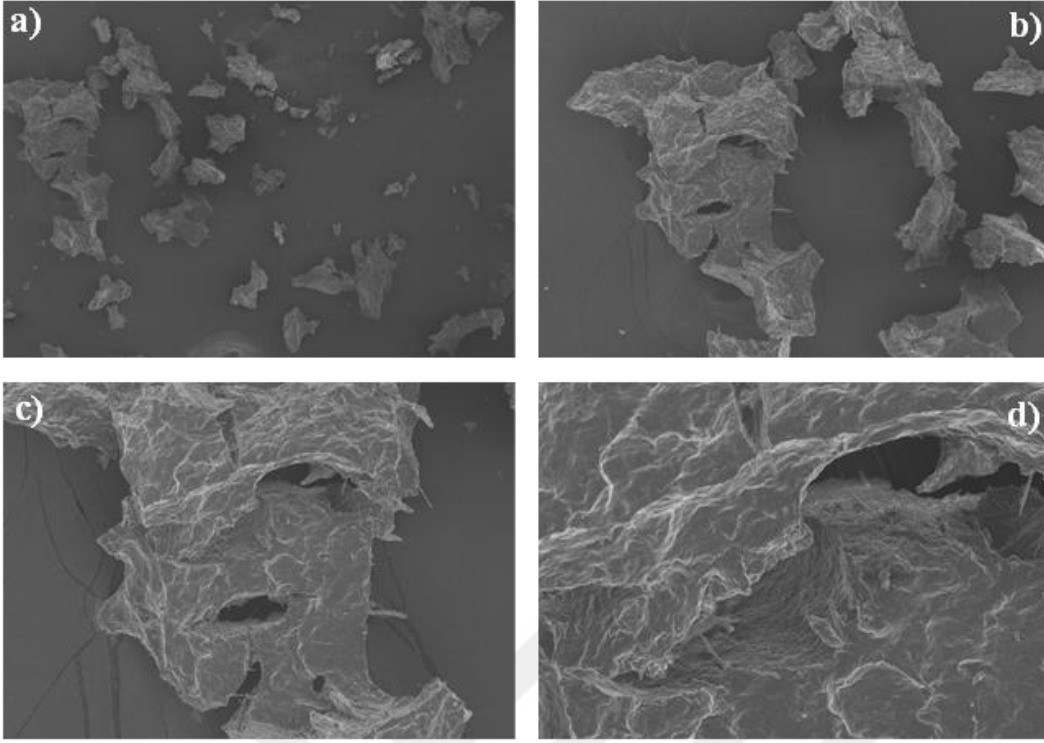
#### 4.3.14. SEM analizi ile su mercimeği ve su mercimeği protein konsantrisinin yüzeylerinin karakterizasyonu

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantrisine ait farklı yaklaşma seviyelerindeki SEM görüntüleri sırasıyla Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'te verilmiştir. Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantrisinin SEM görüntülerine bakıldığında benzer yapıda bileşiklerin varlığı görülmektedir. Pul (flake) şeklindeki düzensiz

yapıların, hücre matrisinde izolasyon sırasında çözülmüş proteinler olduğu ve dondurarak kurutma esnasında bu pul yapısının oluştuğu düşünülmektedir. Literatürde, dondurarak kurutulmuş proteinlerin SEM görüntülerinin benzer yapıda olduğu bildirilmiştir (Berghout, 2015; Jia et al., 2021; Jiang et al., 2014). Bunun sebebi, dondurarak kurutmanın uzun sürmesine bağlı olarak proteinlerin birbirleriyle etkileşime girerek agregasyon oluşturmasıyla açıklanmaktadır. Ayrıca, buz kristallerinin süblimleşme ile gaz fazına geçmesi esnasında büyük gözeneklerin oluşması morfolojik özellikleri etkilemektedir (Bhatta et al., 2020; Özdemir et al., 2022).



**Şekil 4.22.** Su mercimeğine ait a)100 µm, b)50 µm, c)30 µm ve d)10 µm yaklaşma seviyelerindeki SEM görüntüleri



**Şekil 4.23.** Su mercimeği protein konsantresine ait a)300 µm, b)100 µm, c)50 µm ve d)30 µm yaklaşma seviyelerindeki SEM görüntüleri

#### 4.3.15. Mineral madde analizi

Su mercimeği ve su mercimeği protein konsantresinin içerdiği kalsiyum (Ca), demir (Fe), potasyum (K), magnezyum (Mg), manganez (Mn), çinko (Zn), sodyum (Na), fosfor (P) ve selenyum (Se) minerallerinin miktarları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Su mercimeğinde özellikle kalsiyum (43455 mg/kg) ve fosfor (22312 mg/kg) elementlerinin yüksek miktarda bulunduğu belirlenmiştir. Genellikle diyet açısından Ca:P oranının 1:1 veya 2:1 oranında olması önerilmektedir (Loughrill et al., 2017). Su mercimeğinde kalsiyum:fosfor oranı 1,94 olarak tespit edilmiştir. Yapılan bir çalışmada, *Lemna minuta* ve *Lemna minor* karışımı su mercimeklerinde 19500 mg/kg kalsiyum (Ca) ve 9000 mg/kg fosfor (P) tespit edilirken Ca:P oranı 2,16 olarak bulunmuştur (Roman and Brennan, 2019). Su mercimeği protein konsantresinde ise kalsiyum ve sodyum elementlerinin yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Protein izolasyonunun ardından kalsiyum, magnezyum, manganez, çinko, fosfor ve selenyum miktarlarında önemli oranda azalma tespit edilmiştir. Özellikle fonksiyonel ürünlerde kullanılan su mercimeği protein konsantresinin (SMP) içerdiği minerallerin miktarı gıda olarak tüketimi açısından önem arz

etmektedir. Yapılan bir çalışmada, *Lemna gibba* ve *Lemna minor* türleri karışımından elde edilen protein konsantresinin (NF) içerdiği mineral madde miktarları Çizelge 4.11’de verilmiştir (Turck et al., 2023). Ayrıca, çalışmada NF su mercimeği konsantresinin spesifikasyonu incelendiğinde, demirin 670 mg/kg, çinkonun 50 mg/kg ve manganezin 100 mg/kg’ın altında olmasının güvenlik açısından uygun olduğu belirtilmiştir (Turck et al., 2023). Tüm bu çalışmalar değerlendirildiğinde, çalışmada kullanılan *Lemna minor* su mercimeğinden izole edilen protein konsantresinin insan beslenmesine uygun özellikte olduğu bulgulanmıştır.

**Çizelge 4.11.** Su mercimeği, su mercimeği protein konsantresinin ve NF protein konsantresinin mineral madde miktarları

<b>Mineral</b>	<b>SM (mg/kg)</b>	<b>SMP (mg/kg)</b>	<b>NF (mg/kg)</b> (Turck et al., 2023)
Kalsiyum (Ca)	43455±5215	5428±651	2300-5700
Demir (Fe)	234±35	412±62	350-420
Potasyum (K)	3329±400	3489±419	5800-11900
Magnezyum (Mg)	8839±1060	778±93	740-1120
Manganez (Mn)	184±50	9±2	40-97
Çinko (Zn)	177±21	39±5	22-43
Sodyum (Na)	4557±547	5141±617	-
Fosfor (P)	22312±2677	3489±419	-
Selenyum (Se)	0,126±0,02	0,012±0,02	-

#### 4.4. Fonksiyonel Gıdaların Üretimi

Su mercimeği protein konsantresi ikame edilen atıştırmalık bar (SMP-B), ekmek (SMP-E) ve kek (SMP-K) ürünlerinin kontrol gruplarıyla beraber (kontrol bar (KB), kontrol ekmek (KE) ve kontrol kek (KK)) fiziksel, kimyasal ve duyuşal özellikleri bu bölümde verilmiştir.

##### 4.4.1. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin fiziksel özellikleri

Su mercimeği protein konsantresi ilave edilen atıştırmalık bar, ekmek ve keklerin ve kontrol gruplarının görüntüleri Şekil 4.24’te verilmiştir. Ekmeklerin hacimleri karşılaştırıldığında, KE’nin SMP-E’ye göre ekmek hacminin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. KE’nin yüksekliği 3,23±0,05 cm iken SMP-E’nin yüksekliği 3,06±0,05 cm olarak bulunmuş ve aralarında istatistiksel olarak bir fark

olmadığı bulgulanmıştır ( $P>0,05$ ). Ayrıca, SMP ilavesi ile ekmeğin dış yüzeyinde pürüzlülüğün arttığı belirlenmiştir. Kek örneklerinin hacimlerinde de benzer bir durum tespit edilmiştir. KK'nın yüksekliği  $5,70\pm 0,08^a$  cm iken SMP-K'nin yüksekliği  $5,20\pm 0,04^b$  cm olarak bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Ancak, ekmekte ikame oranı %5 iken kekte %10 olması sebebiyle ekmekteki hacim farkı anlamlı değilken kekteki hacim farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Kontrol ve SMP içeren ekmeğin ve kekteki hacim farkının sebebi, un oranının azalmasına bağlı olarak gluten içeriğinin azalması ile açıklanmaktadır (Nasir et al., 2020). Bunun yanı sıra, su mercimeğinden protein izolasyonu sırasında proteinlerle beraber izole edilen selüloz, hemiselülozların su tutma özelliklerine bağlı olarak gluten matrisinin bozulması ile açıklanmaktadır (Khalid et al., 2017).

Kontrol örneklerinin ve SMP içeren örneklerin renk değerleri ( $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri) Çizelge 4.12'de verilmiştir. SMP ikamesinin örneklerin renklerine önemli bir etkisi olmuştur. SMP ilavesi ile bar, ekmeğin ve keklerin aydınlık değerinin düştüğü belirlenmiştir.  $L^*$  değerindeki en önemli azalma ekmeğin örneklerinde tespit edilmiştir. Bunun sebebi, barın pekmez ve kekin kakao içermesi sebebiyle kontrol örneklerinin aydınlık değerinin düşük olmasından kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda, tüm kontrol örneklerinin yeşillik ve mavilik değerleri SMP ilavesi ile artmıştır.  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerindeki bu azalışın sebebi, SMP'nin yüksek oranda klorofil içermesinden kaynaklanmaktadır (Nudel et al., 2023). Bar, ekmeğin ve kek üretimi sırasında uygulanan ısı ile klorofil degrade olarak kahve renkli feofitinlere dönüşerek aydınlık değerini düşürdüğü düşünülmektedir. Ayrıca, SMP izolasyonu sırasında izoelektrik çöktürmede kullanılan asit ile klorofil klorofilid bileşiklerine dönüşerek mavi-yeşil renk almaktadır. Bu durumun ise  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerindeki azalmaya sebep olduğu düşünülmektedir (Heaton and Marangoni, 1996).



Şekil 4.24. Su mercimeği protein konsantresi içeren atıştırılmalık bar, ekmek ve kekler ve kontrol örneklerinin görüntüsü

Çizelge 4.12. Atıştırılmalık bar, ekmek ve keklerin  $L^*$ ,  $a^*$  ve  $b^*$  değerleri

Örnek		$L^*$	$a^*$	$b^*$
KB		37,59±0,51 <sup>a</sup>	10,87±0,10 <sup>a</sup>	29,05±0,26 <sup>a</sup>
SMP-B		24,51±0,27 <sup>b</sup>	1,76±0,09 <sup>b</sup>	12,84±0,49 <sup>b</sup>
KE	Ekmek içi	68,67±0,13 <sup>a</sup>	3,44±0,03 <sup>a</sup>	23,08±0,06 <sup>a</sup>
	Kabuk	59,77±0,56 <sup>a</sup>	10,96±0,12 <sup>a</sup>	28,22±0,36 <sup>a</sup>
SMP-E	Ekmek içi	31,26±0,74 <sup>b</sup>	0,61±0,06 <sup>b</sup>	12,17±0,41 <sup>b</sup>
	Kabuk	45,50±0,95 <sup>b</sup>	1,11±0,20 <sup>b</sup>	16,13±0,51 <sup>b</sup>
KK	Kek içi	33,06±0,10 <sup>a</sup>	9,76±0,07 <sup>a</sup>	14,36±0,10 <sup>a</sup>
	Kabuk	24,51±0,10 <sup>a</sup>	12,00±0,08 <sup>a</sup>	13,60±0,20 <sup>a</sup>
SMP-K	Kek içi	22,84±0,03 <sup>b</sup>	4,04±0,09 <sup>b</sup>	13,33±0,17 <sup>b</sup>
	Kabuk	19,77±0,07 <sup>b</sup>	6,91±0,05 <sup>b</sup>	7,78±0,15 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> Aynı ürün grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,05$ )

#### 4.4.2. Atıstırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin kimyasal kompozisyonu

Kontrol ve SMP içeren bar, ekmek ve kek ürünlerinin kuru madde, nem, kül, protein, yağ, karbohidrat içerikleri ve kalori değerleri Çizelge 4.13'te verilmiştir. Bar, ekmek ve kek ürünlerinin kuru madde ve nem değerlerine bakıldığında gruplar arasında birbirine yakın değerlerin olduğu görülmektedir. Ancak, SMP ikame oranı %12,5 olan bar ürününde, nem içeriği istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ( $P<0,05$ ). Bunun sebebi, yüksek oranda protein içeren SMP'nin su tutma özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Zorzi et al., 2020). Kontrol ekmeği ile SMP içeren ekmek arasında ise ikame oranının (%5) düşük olmasına bağlı olarak kuru madde ve nem içerikleri arasında istatistiksel olarak bir fark tespit edilmemiştir ( $P>0,05$ ). Kek örneğinde ise kontrol örneğinin nem içeriğinin SMP içeren örneğe göre yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi, SMP'nin kek formülasyonundaki yağ ile emülsiyon oluşturarak su tutma özelliğini gösterememesi ile açıklanabilmektedir (Akter et al., 2021). SMP'nin yüksek oranda mineral madde içermesi sebebiyle SMP içeren bar, ekmek ve kek örneklerinin kontrol örneklerine göre yüksek oranda kül ve protein içerdiği saptanmıştır. Özellikle bar formülasyonunda 'proteini arttırılmış bar' ifadesi kullanılabilmesi için 'gıdanın benzer bir ürüne göre en az %30 daha fazla protein içermesi gerekir' şeklindedir (Türk Gıda Kodeksi, 2023). SMP içeren bar, kontrol barına göre yaklaşık %41 oranında daha fazla protein içermesi sebebiyle SMP-B 'proteini arttırılmış bar' olarak ifade edilmiştir. Aynı zamanda, SMP içeren barın daha düşük kaloride olmasına rağmen, daha yüksek oranda protein ve mineral içermesi farklı tüketici grupları tarafından kabul görmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ekmek ve kek ürünlerinin protein içeriklerinde SMP ilavesi ile sırasıyla %29 ve %12'lik bir artış sağlanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Beslenme Beyanları Yönetmeliğine göre 'protein ilaveli' terimini kullanabilmek için 'gıda enerji değerinin en az %12'sinin protein tarafından sağlanması gerekir' koşulunu sağlaması gerekmektedir (2023). Buna göre, SMP içeren ekmek ürünlerinde gıda enerji değerinin yaklaşık %12'si (%11,74) protein tarafından karşılanmaktadır. Bu sebeple, SMP içeren ekmek örnekleri 'protein ilaveli ekmek' olarak tanımlanmıştır.

Çizelge 4.13. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin kimyasal kompozisyonları

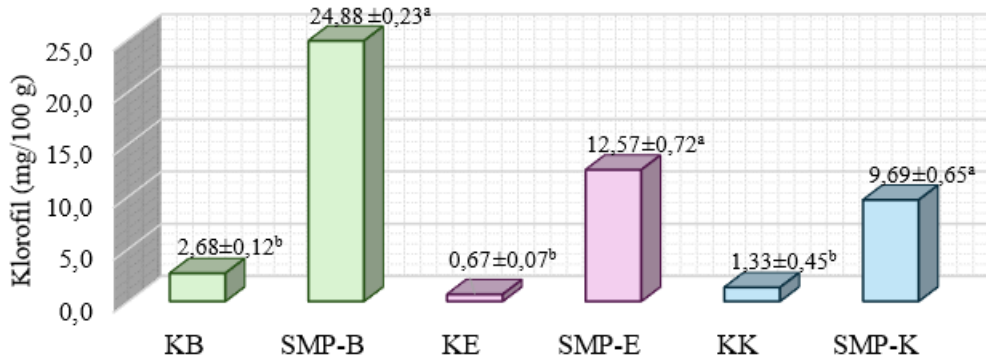
Örnek	KB	SMP-B	KE	SMP-E	KK	SMP-K
Toplam Kuru madde (%)	85,71±0,50 <sup>a</sup>	84,29±0,22 <sup>b</sup>	67,08±0,59 <sup>a</sup>	68,79±0,78 <sup>a</sup>	87,15±0,11 <sup>b</sup>	88,75±0,39 <sup>a</sup>
Nem (%)	14,29±0,50 <sup>b</sup>	15,71±0,22 <sup>a</sup>	32,92±0,59 <sup>a</sup>	31,21±0,78 <sup>a</sup>	12,85±0,11 <sup>a</sup>	11,25±0,39 <sup>b</sup>
Kül (g/100 g)	3,67±0,27 <sup>b</sup>	6,46±,20 <sup>a</sup>	1,55±0,04 <sup>b</sup>	1,72±0,06 <sup>a</sup>	1,26±0,02 <sup>b</sup>	1,34±0,02 <sup>a</sup>
Protein (g/100 g)	7,87±0,29 <sup>b</sup>	11,10±0,10 <sup>a</sup>	6,22±0,16 <sup>a</sup>	8,00±0,15 <sup>b</sup>	6,20±0,09 <sup>b</sup>	6,91±0,03 <sup>a</sup>
Yağ (g/100 g)	18,93±0,11 <sup>a</sup>	18,63±0,03 <sup>b</sup>	0,84±0,05 <sup>a</sup>	0,85±0,06 <sup>a</sup>	18,83±0,43 <sup>b</sup>	20,02±0,25 <sup>a</sup>
Karbohidrat* (g/100 g)	55,24±0,71 <sup>a</sup>	48,10±0,29 <sup>b</sup>	58,47±0,68 <sup>a</sup>	58,22±0,80 <sup>a</sup>	60,86±0,65 <sup>a</sup>	60,48±0,28 <sup>a</sup>
Kalori (kcal)	422,8±2,6 <sup>a</sup>	404,5±0,7 <sup>b</sup>	266,3±2,3 <sup>a</sup>	272,5±3,2 <sup>b</sup>	437,7±1,7 <sup>b</sup>	449,7±2,6 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Aynı ürün grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,05$ )

Karbohidrat\* = 100 - (%Nem + %Kül + %Protein + %Yağ)

#### 4.4.3. Atıştırılmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin klorofil miktarı

Kontrol ve SMP içeren atıştırılmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin klorofil miktarları Şekil 4.25'te verilmiştir. SMP ilavesi ile tüm ürün formülasyonlarında klorofil miktarının arttığı tespit edilmiştir. En fazla artış gösteren SMP-B örneği, en az artış gösteren ise SMP-K örneğidir. SMP ilavesi ile barın klorofil içeriğinin 9,3, ekmeğin 18,8 ve kekin 7,3 kat arttığı belirlenmiştir. Klorofil içeriğindeki artış, formülasyonlarına bağlı olarak SMP içerme oranları ile ilişkilidir. Yapılan bir çalışmada, kıvırcık marul ikameli bar ürünlerinin klorofil içeriğinde benzer şekilde bir artış tespit edildiği belirtilmiştir. Kontrol barı 5 mg/100 g klorofil içerirken, %30 oranında kıvırcık marul ilave edilen barın klorofil içeriği yaklaşık 26 mg/100 g olarak belirlenmiştir (Kowalska et al., 2021).

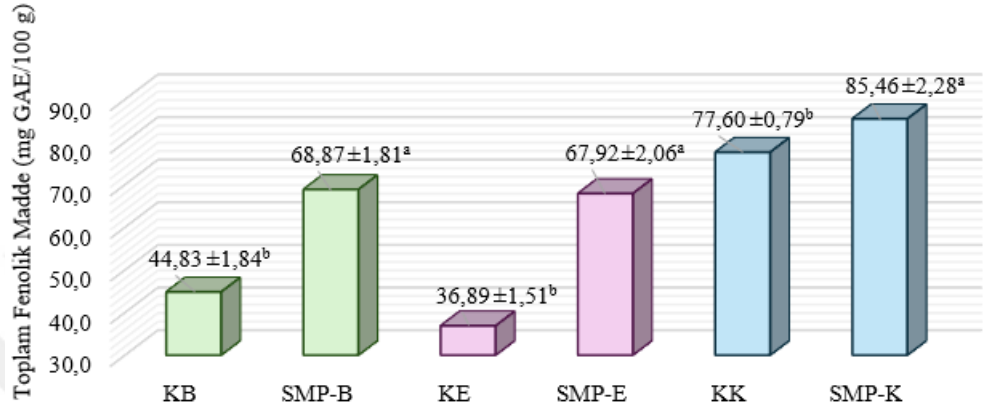


Şekil 4.25. Atıştırılmalık bar, ekmek ve kek formülasyonlarının klorofil miktarları

#### 4.4.4. Bar, ekmek ve kek ürünlerinin toplam fenolik madde miktarları

SMP içeren atıştırılmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin kontrolleri ile fenolik madde miktarları Şekil 4.26'da verilmiştir. SMP ilavesi ile atıştırılmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin fenolik miktarlarının belirgin oranda arttığı tespit edilmiştir. En yüksek fenolik madde içeriği 85,46±2,28 mg GAE/100 g ile SMP içeren kek (SMP-K) örneğinde iken onu kontrol keki (KK) 77,60±0,79 mg GAE/100 g ile takip etmektedir. Kontrol kekinin yüksek fenolik içeriğinin sebebi, fenolik bileşenlerce zengin olan kakao içermesinden kaynaklanmaktadır (Oracz et al., 2015). SMP içeren bar (SMP-B) örneği 68,87±1,81 mg GAE/100 g ile kek örneklerini takip etmektedir. SMP ilavesinin yanı sıra, hurma ve üzümünden gelen fenolik bileşenler ile fenolik bileşenlerce zengin sağlıklı bir atıştırılmalık ürün elde edilmiştir (Abouzeed et al., 2018; Yaqub et al., 2016). SMP'nin fenolik madde miktarına

etkisine bakıldığında, atıştırmalık barda yaklaşık %54, ekmekte %84 ve kekte %10 oranında artış belirlenmiştir. Yeşil yapraklı bitkiler fenolik bileşenlerce zengin ham maddelerdir. Bu ham maddelerden protein izolasyonu sırasında, polifenol oksidaz enzimi ile parçalanan fenolik bileşenler proteinler ile bağ yapmaktadır. Bu sebeple, yapraklarda baskın protein olan RuBisCO, yüksek oranda fenolik madde içermektedir (Ducrocq et al., 2020; Grácio et al., 2023; Pearce and Brunke, 2023).

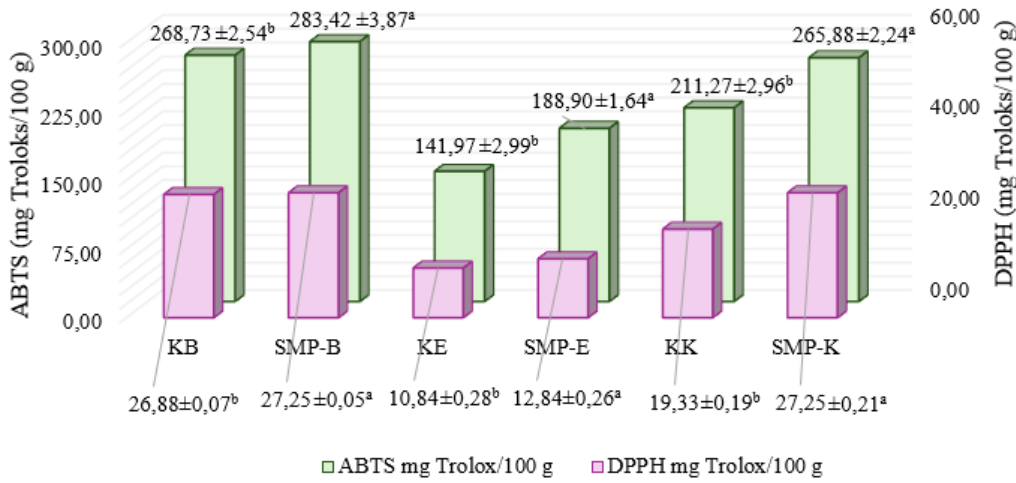


Şekil 4.26. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin toplam fenolik madde miktarları

#### 4.4.5. Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin antioksidan kapasiteleri

SMP içeren atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin kontrolleri ile DPPH ve ABTS yöntemleri ile belirlenen antioksidan kapasiteleri Şekil 4.27'de verilmiştir. ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan kapasite değerlerinin DPPH yöntemine göre yüksek olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, Amerika'da popüler meyve, sebze ve içeceklerin antioksidan kapasite tayininde ABTS ve DPPH yöntemleri kıyaslanmış ve ABTS yönteminin daha yüksek sonuçlar verdiği saptanmıştır. Yüksek pigmentli ve hidrofilik antioksidanların saptanmasında ABTS yönteminin daha etkili olduğu bulgulanmıştır (Floegel et al., 2011). Turp yaprağından izole edilen protein konsantrelerinin DPPH ve ABTS antioksidan kapasiteleri karşılaştırıldığında, ABTS yönteminin (16,89±1,06 mg TE/g) DPPH yöntemine (11,87±2,02 mg TE/g) göre daha yüksek kapasite gösterdiği bulgulanmıştır (Kaur and Bhatia, 2022). En yüksek antioksidan kapasite hem DPPH hem de ABTS yöntemi ile sırasıyla 27,25±0,05 ve 283,42±3,87 mg Troloks eşdeğeri/100 g olmak üzere SMP içeren atıştırmalık barda (SMP-B) tespit edilmiştir. ABTS yöntemine göre, SMP ilavesi ile antioksidan kapasitede sırasıyla kontrol barı, kontrol ekmeği ve kontrol kekine göre yaklaşık %5,5, %33,1 ve %25,9

oranında artış sağlanmıştır. DPPH yöntemine göre, SMP ilavesi ile antioksidan kapasitede sırasıyla kontrol barı, kontrol ekmeği ve kontrol kekine göre yaklaşık %1,4, %18,5 ve %41,0 oranında artış sağlanmıştır. SMP ilavesi ile antioksidan kapasitesindeki bu artış, SMP'nin yüksek oranda içerdiği fenolik bileşenler ve klorofil ile ilişkilidir (Ducrocq et al., 2020; Grácio et al., 2023; Pearce and Brunke, 2023). KB'deki yüksek antioksidan kapasite ise, kuru hurma (Yaqub et al., 2016) ve kuru üzüm (Abouzeed et al., 2018) ek olarak tahin (Labban and Sumainah, 2021) ve pekmez (Helvacıoğlu et al., 2018) ilavesinden kaynaklanmaktadır.

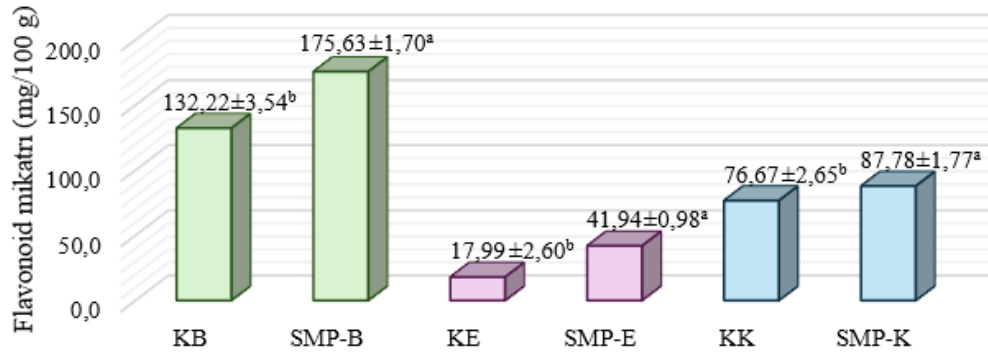


Şekil 4.27. Atıştırmalık bar, ekmeği ve kek ürünlerinin DPPH ve ABTS yöntemlerine göre antioksidan kapasiteleri

#### 4.4.6. Atıştırmalık bar, ekmeği ve kek ürünlerinin flavonoid miktarları

SMP içeren atıştırmalık bar, ekmeği ve kek ürünlerinin kontrol örnekleri ile içerdikleri flavonoid miktarları Şekil 4.28'de verilmiştir. En yüksek flavonoid miktarı  $175,63 \pm 1,70$  mg KE/100 g ile SMP içeren atıştırmalık barda belirlenmiştir. SMP içeren örneklerin arasında en düşük flavonoid miktarı ise SMP içeren ekmekte saptanmasına rağmen, en yüksek artış oranı %133 ile SMP içeren ekmekte belirlenmiştir. SMP ilavesi ile atıştırmalık bar ve kekteki artış oranları ise sırasıyla %33 ve %15 olarak bulgulanmıştır. Literatürde su mercimeğinden izole edilen protein konsantrelerinin flavonoid içeriği ile bilgi olmamasına rağmen farklı yapraklardan izole edilen protein konsantrelerinin flavonoid içerikleri ile ilgili çalışmalar mevcuttur. Yer elması yaprağından protein izolasyonu yapılan bir çalışmada, yer elması yaprağı protein konsantresinin toplam fenolik maddelerin

yarısını flavonoidlerin oluşturduğu ve flavonoidlerin çoğunluğunun ise flavonlar olduğu belirtilmiştir (Kaszás et al., 2020). Turp yaprağından izole edilen protein konsantrasyonunun ise serbest flavonoid miktarı  $4,05 \pm 0,31$  mg/g olarak ifade edilmiştir (Kaur and Bhatia, 2022). SMP ilavesi ile protein takviyesinin yanı sıra antioksidan özellik gösteren bileşiklerin varlığı sağlıklı formülasyonların geliştirilmesinde önemli rol oynamaktadır.



Şekil 4.28. Atıştırmalık bar, ekmekek ve kek ürünlerinin flavonoid miktarları

#### 4.4.7. Atıştırmalık bar, ekmekek ve kek ürünlerinin su aktiviteleri

SMP içeren atıştırmalık bar, ekmekek ve kek ürünlerinin ve kontrol örneklerinin su aktivite değerleri Çizelge 4.14'te verilmiştir. SMP ilavesinin su aktivitesi değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi tespit edilmemiştir ( $P > 0,05$ ). Bar ve kek ürünlerinin su aktiviteleri 0,60'tan küçük olması, mikrobiyal gelişimi sınırlandırır ve ürünlerin uzun süre depolanmasını sağlamaktadır (Smith et al., 2004). Ekmekek, yüksek nem içeren fırıncılık ürünleri arasında sınıflandırılmaktadır ve kontrol ekmekeği ( $a_w = 0,89$ ) ve SMP içeren ekmekek ( $a_w = 0,90$ ), yüksek su aktivitesi sebebiyle mikrobiyal açıdan bozulmaya açıktır (Smith et al., 2004).

Çizelge 4.14. Atıştırmalık bar, ekmekek ve kek ürünlerinin su aktivite değerleri

Ürün grubu	Sıcaklık (°C)	Su Aktivitesi ( $a_w$ )
KB	23,4 ± 0,25	0,52 ± 0,01 <sup>a</sup>
SMP-B	24,0 ± 0,08	0,53 ± 0,00 <sup>a</sup>
KE	20,2 ± 0,22	0,89 ± 0,01 <sup>a</sup>
SMP-E	21,1 ± 0,12	0,90 ± 0,00 <sup>a</sup>
KK	22,3 ± 0,05	0,54 ± 0,02 <sup>a</sup>
SMP-K	23,7 ± 0,17	0,55 ± 0,00 <sup>a</sup>

<sup>a-b</sup> Aynı ürün grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P < 0,05$ )

#### 4.4.8. Atıştırılmalık bar, ekme ve kek ürünlerinin tekstür özellikleri

SMP içeren atıştırılmalık bar, ekme ve keklerin kontrol örnekleri ile beraber tekstür özellikleri Çizelge 4.15'te gösterilmiştir. SMP ilavesi atıştırılmalık bar, ekme ve keklerin sertliğinin arttığı belirlenmiştir. Tüm ürün gruplarındaki sertlik, sakızimsılık ve çiğnenebilirlik değerlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı ( $P<0,05$ ) iken esneklik ve yapışkanlık değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). SMP ilavesi atıştırılmalık bar örneklerinin elastikiyetini anlamlı olarak azaltırken diğer ürün gruplarında önemli bir etki göstermemiştir. SMP ilavesi ile sertlik değerinin 1046 g'dan 1899 g'ye artmıştır. Atıştırılmalık bar üretiminde pişirme sırasında denatüre olan proteinlerin reaktif kısımlarının açılması ve nişasta ile bağlanarak daha sert bir yapı oluşturmaya sebep olmaktadır (Sunyoto et al., 2019). Yapılan çalışmalar, protein içeriğinin artması ile atıştırılmalık barların sertlik değerlerinin arttığı belirtilmiştir (Rawat and Darappa, 2015). Aynı zamanda, barın artan protein içeriğinin, depolama süresi boyunca sertliğin giderek artmasına sebep olduğu bulgulanmıştır (You et al., 2024). SMP ilavesi ile ekme ve kekin sertlik değerleri sırasıyla 2047 g'den 2429 g'ye ve 3018 g'den 4060 g'ye artmıştır. Ekme ve kek ürünlerinde, un yerine ikame edilen SMP ile gluten oranı azalmış ve sertlik değerleri artmıştır. Aynı zamanda, SMP'nin içerdiği kompleks karbohidratlı bileşikler, ekme ve keklerde sıkı bir yapı oluşturarak gluten matrisini bozmaktadır (Pathak et al., 2016). SMP içeren bar, ekme ve keklerin kontrol örnekleri ile beraber zamana karşı kuvvet grafikleri Şekil 4.29 (KB ve SMP-B), Şekil 4.30 (KE ve SMP-E) ve Şekil 4.31'de (KK ve SMP-K) gösterilmiştir.

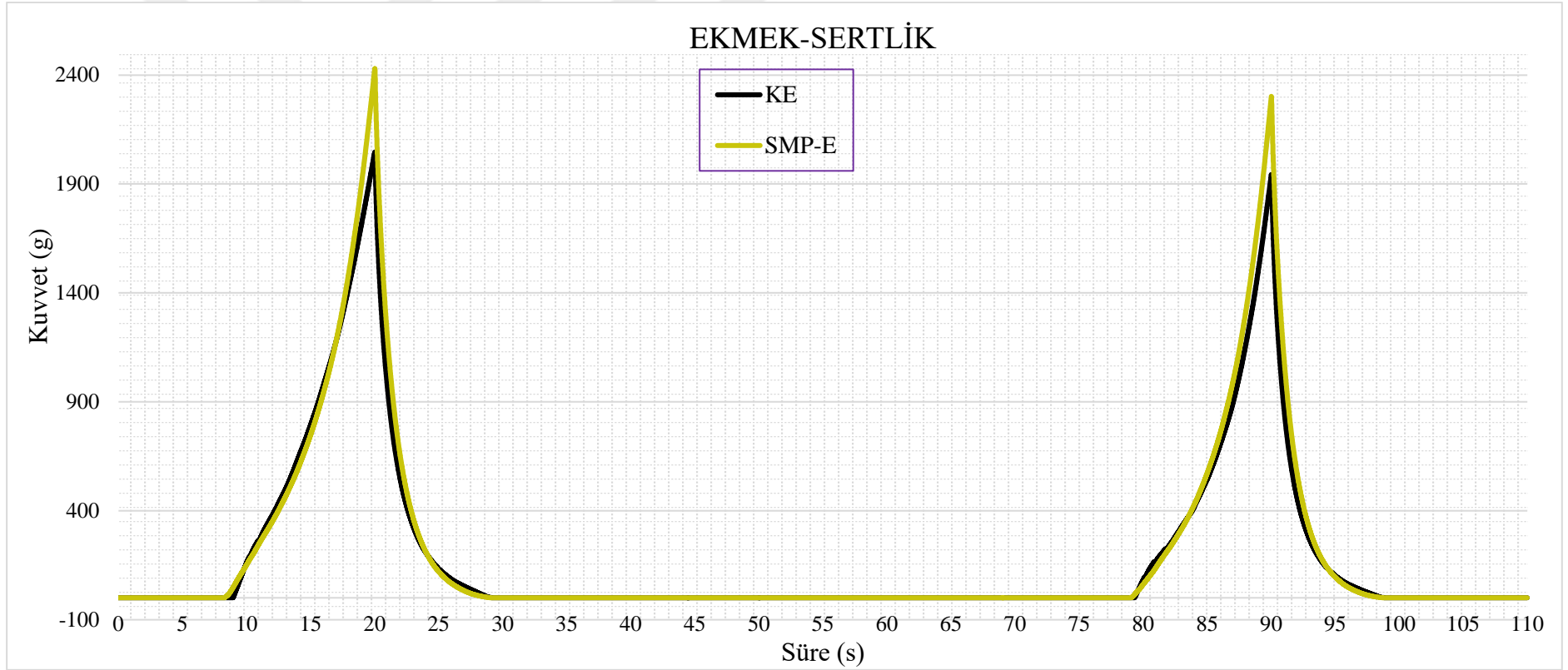
**Çizelge 4.15.** Atıştırılmalık bar, ekme ve kek ürünlerinin tekstür özellikleri

Özellik	KB	SMP-B	KE	SMP-E	KK	SMP-K
Sertlik (g)	1046±89 <sup>b</sup>	1899±72 <sup>a</sup>	2047±77 <sup>b</sup>	2429±69 <sup>a</sup>	3018±56 <sup>b</sup>	4060±69 <sup>a</sup>
Esneklik (mm)	0,09±0,02 <sup>a</sup>	0,11±0,02 <sup>a</sup>	0,51±0,02 <sup>a</sup>	0,52±0,05 <sup>a</sup>	0,40±0,02 <sup>a</sup>	0,34±0,03 <sup>a</sup>
Yapışkanlık	0,75±0,05 <sup>a</sup>	0,80±0,06 <sup>a</sup>	0,77±0,07 <sup>a</sup>	0,82±0,07 <sup>a</sup>	0,65±0,03 <sup>a</sup>	0,68±0,05 <sup>a</sup>
Sakızimsılık (g)	892±18,8 <sup>b</sup>	1258±40,6 <sup>a</sup>	1574±43,0 <sup>b</sup>	1980±43,4 <sup>a</sup>	1945±45,0 <sup>b</sup>	2779±89,1 <sup>a</sup>
Çiğnenebilirlik (g/mm)	78±5,6 <sup>b</sup>	156±16,9 <sup>a</sup>	801±17,9 <sup>b</sup>	1034±39,6 <sup>a</sup>	777±34,3 <sup>b</sup>	935±37,5 <sup>a</sup>
Elastikiyet	0,47±0,03 <sup>a</sup>	0,30±0,02 <sup>b</sup>	0,34±0,02 <sup>a</sup>	0,31±0,03 <sup>a</sup>	0,25±0,02 <sup>a</sup>	0,22±0,02 <sup>a</sup>

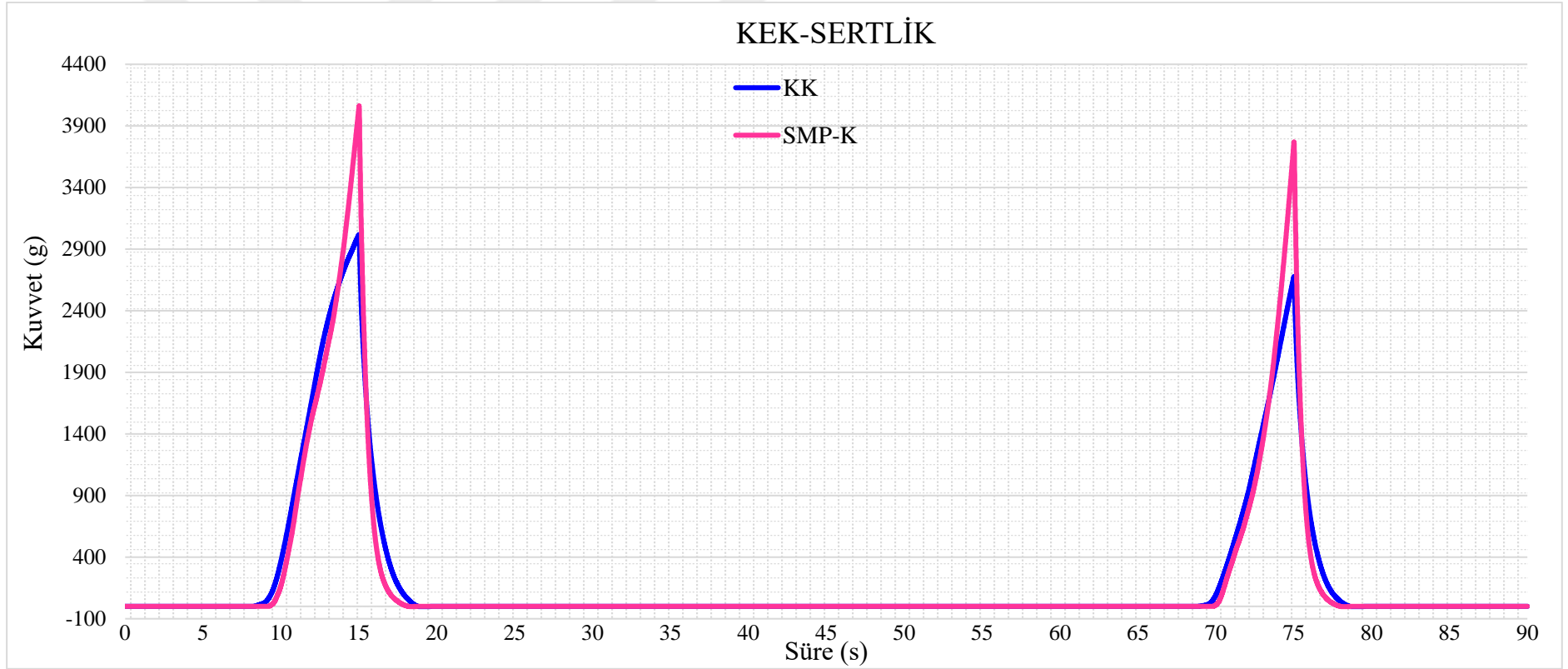
<sup>a-b</sup> Aynı ürün grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,05$ )



Şekil 4.29. Kontrol (KB) ve SMP içeren atıştırılmalık barın (SMP-B) zaman-kuvvet grafiği



Şekil 4.30. Kontrol (KE) ve SMP içeren ekmeğin (SMP-E) zaman-kuvvet grafiği



Şekil 4.31. Kontrol (KK) ve SMP içeren kekin (SMP-K) zaman-kuvvet grafiği

#### 4.4.9. Atıştırılabilirlik bar, ekmekek ve kek ürünlerinin duyuusal özellikleri

SMP içeren atıştırılabilirlik bar, ekmekek ve keklerin kontrol örnekleri ile beraber duyuusal özellikleri 10 panelist tarafından değerlendirilmiştir. Duyusal test sonuçları Çizelge 4.16'da gösterilmiştir. SMP içeren atıştırılabilirlik bar, ekmekek ve kekin tekstür özelliklerinin panelistler tarafından kabul gördüğü belirlenmiştir. SMP ilavesinin atıştırılabilirlik barın renk, simetri/bütünlük, sertlik/yumuşaklık ve yapışkanlık özelliklerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Atıştırılabilirlik bara SMP ilavesi panelistlerin koku, yabancı koku, genel beğeni ve satın alma isteği açısından tercihlerini etkilemiştir ( $P<0,5$ ). SMP ilavesinin ekmeğin hacim, simetri/bütünlük, ekmekek içi rengi, elastikiyet, genel beğeni ve satın alma isteği özelliklerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Ekmeğe SMP ilavesi ekmeğin kabuk rengi, gözenek yapısı, koku ve yabancı koku özellikleri açısından panelistlerin tercihlerini etkilemiştir ( $P<0,5$ ). Kek formülasyonunun duyuusal değerlendirme skorlarına bakıldığında, atıştırılabilirlik bar ve ekmeğe göre daha yüksek puan aldığı belirlenmiştir. SMP ilave edilen kekin simetri/bütünlük özelliği dışında diğer tüm duyuusal özelliklerinin panelistlerin tercihine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $P>0,05$ ). Bunun sebebi, kek formülasyonunda kakao kullanımı ile kontrol ve SMP içeren kek örneklerinin benzer görünümde olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, SMP içeren atıştırılabilirlik bar ve ekmekek ürünlerinde en düşük puanı alan koku özelliğinin, kek ürününde istenmeyen bir özellik olarak değerlendirilmemesinin sebebi, formülasyonda yer alan vanilya girdisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Kek formülasyonunda kakao ve vanilya girdilerinin, SMP'nin olumsuz özelliklerini (renk ve koku) kamufle etmesi, duyuusal özellikler açısından SMP oranının arttırabilmesine imkan vermektedir.

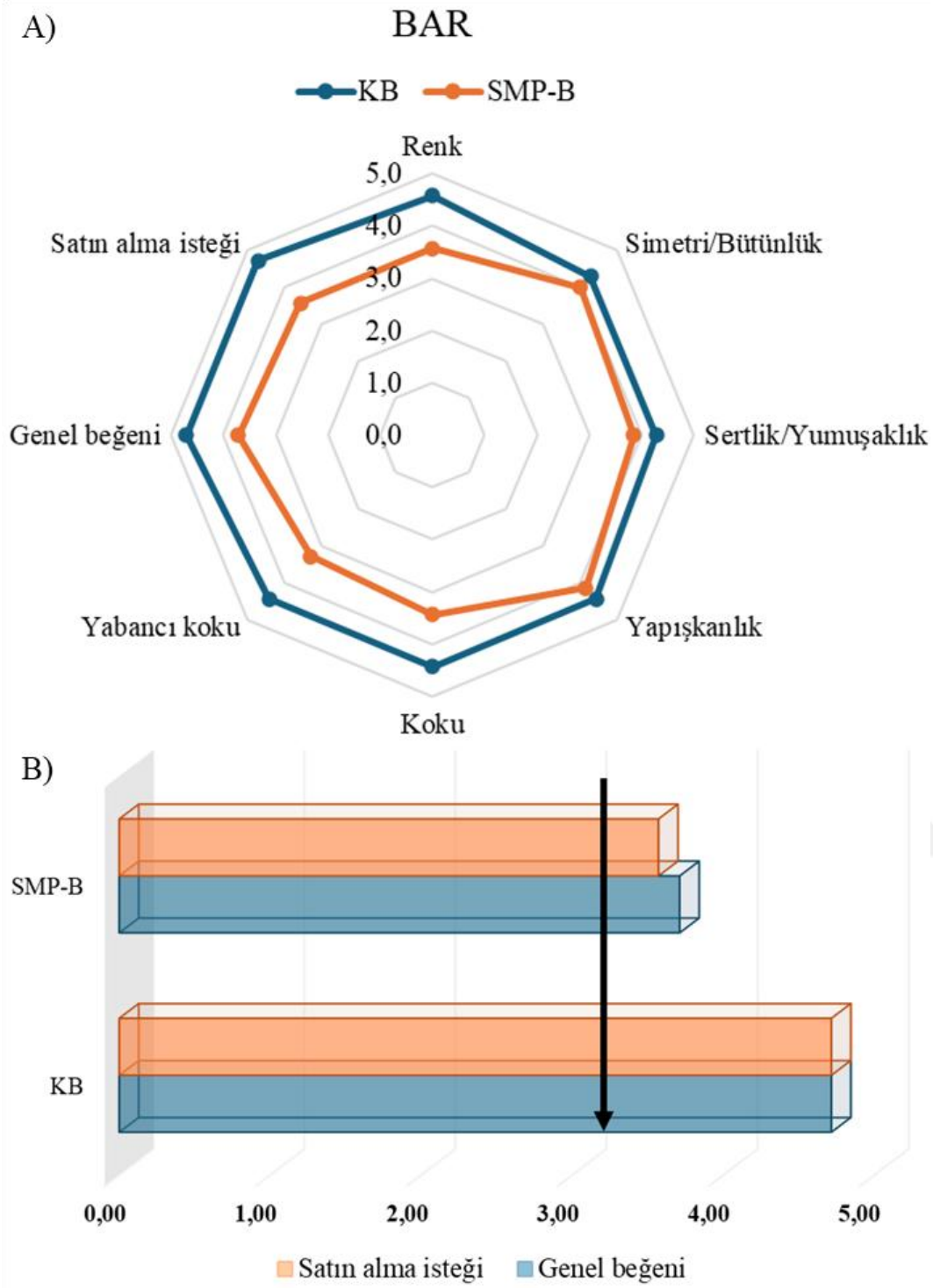
**Çizelge 4.16.** SMP içeren atıştırılabilirlik bar, ekmekek ve keklerin kontrol örnekleri ile beraber duyuusal test skorları

ÖZELLİK	KB	SMP-B
Renk	4,57±0,53 <sup>a</sup>	3,57±1,27 <sup>a</sup>
Simetri/Bütünlük	4,29±0,76 <sup>a</sup>	4,00±0,82 <sup>a</sup>
Sertlik/Yumuşaklık	4,29±0,76 <sup>a</sup>	3,86±0,90 <sup>a</sup>
Yapışkanlık	4,43±0,79 <sup>a</sup>	4,14±0,38 <sup>a</sup>
Koku	4,43±0,54 <sup>a</sup>	3,43±0,98 <sup>b</sup>
Yabancı koku	4,43±0,54 <sup>a</sup>	3,29±0,95 <sup>b</sup>
Genel beğeni	4,71±0,49 <sup>a</sup>	3,71±0,76 <sup>b</sup>
Satın alma isteği	4,71±0,49 <sup>a</sup>	3,57±0,54 <sup>b</sup>

<b>ÖZELLİK</b>	<b>KE</b>	<b>SMP-E</b>
Kabuk rengi	4,57±0,54 <sup>a</sup>	3,43±0,98 <sup>b</sup>
Hacim	4,57±0,79 <sup>a</sup>	3,57±0,98 <sup>a</sup>
Simetri/Bütünlük	4,29±0,76 <sup>a</sup>	3,86±0,90 <sup>a</sup>
Ekmek içi rengi	4,43±0,54 <sup>a</sup>	3,71±1,11 <sup>a</sup>
Gözenek yapısı	4,71±0,49 <sup>a</sup>	3,57±0,98 <sup>b</sup>
Elastikiyet	4,57±0,54 <sup>a</sup>	4,00±1,00 <sup>a</sup>
Koku	4,71±0,49 <sup>a</sup>	3,14±1,07 <sup>b</sup>
Yabancı koku	4,57±0,54 <sup>a</sup>	3,00±1,16 <sup>b</sup>
Genel beğeni	4,71±0,49 <sup>a</sup>	4,00±1,00 <sup>a</sup>
Satın alma isteği	4,71±0,49 <sup>a</sup>	4,00±1,00 <sup>a</sup>
<b>ÖZELLİK</b>	<b>KK</b>	<b>SMP-K</b>
Kabuk rengi	4,86±0,38 <sup>a</sup>	4,57±0,54 <sup>a</sup>
Hacim	4,86±0,38 <sup>a</sup>	4,71±0,49 <sup>a</sup>
Simetri/Bütünlük	4,71±0,49 <sup>a</sup>	4,14±0,38 <sup>b</sup>
Kek içi rengi	4,86±0,38 <sup>a</sup>	4,43±0,54 <sup>a</sup>
Gözenek yapısı	4,57±0,54 <sup>a</sup>	3,86±0,69 <sup>a</sup>
Elastikiyet	4,71±0,49 <sup>a</sup>	4,29±0,49 <sup>a</sup>
Koku	4,71±0,49 <sup>a</sup>	4,14±0,69 <sup>a</sup>
Yabancı koku	4,71±0,49 <sup>a</sup>	3,86±1,07 <sup>a</sup>
Genel beğeni	4,86±0,38 <sup>a</sup>	4,43±0,54 <sup>a</sup>
Satın alma isteği	4,86±0,38 <sup>a</sup>	4,57±0,54 <sup>a</sup>

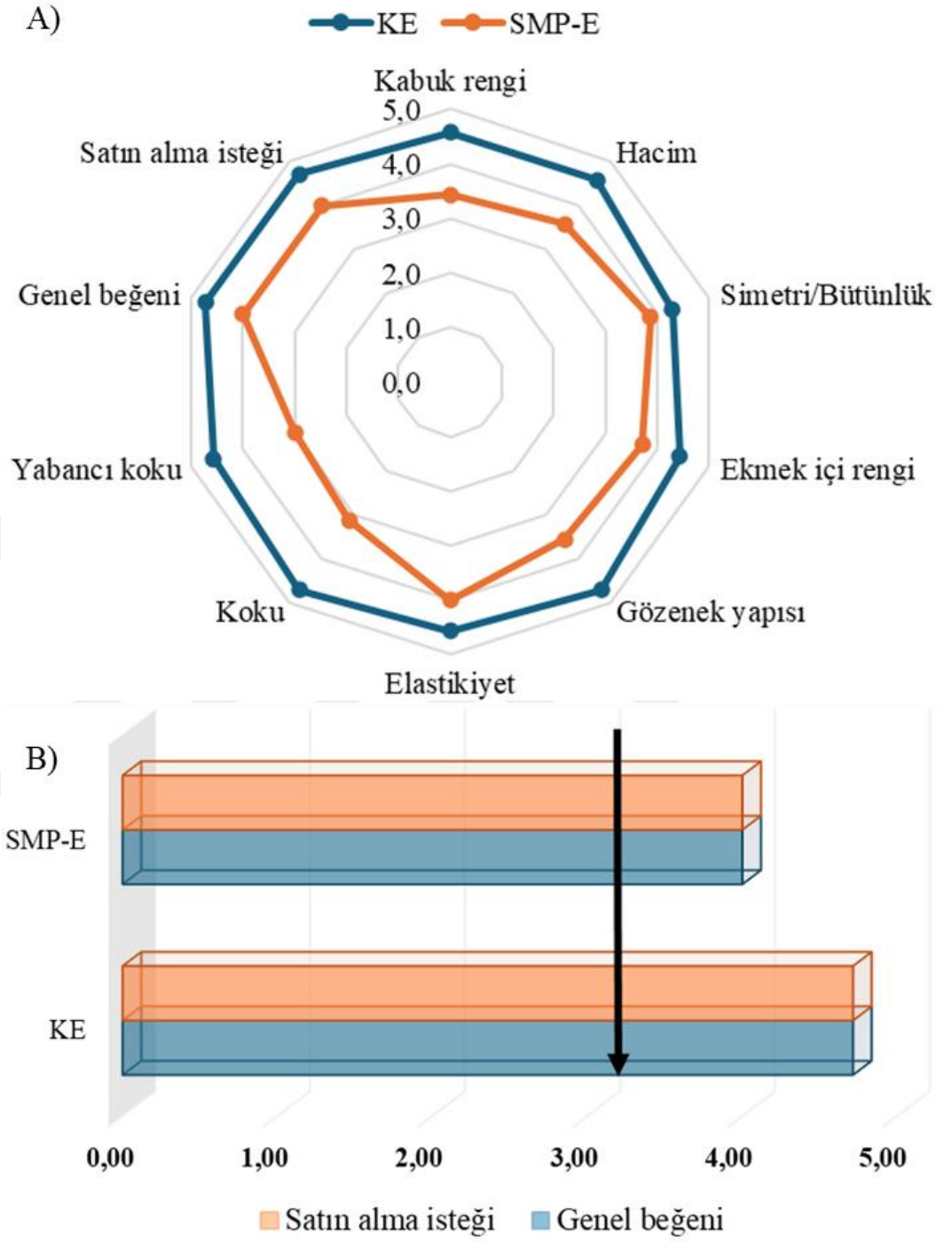
<sup>a-b</sup> Aynı ürün grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır ( $P<0,05$ )

Genel beğeni skorlarına bakıldığında, SMP içeren atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinin puanlarının sırasıyla 3,71, 4,00 ve 4,43 olarak saptanmıştır. Satın alma isteği skorlarının ise sırasıyla 3,57, 4,00 ve 4,57'tir. Genel beğeni ve satın alma isteği skorlarının kritik seviyenin (>3 puan) üstünde puan alması genel olarak SMP içeren atıştırmalık barın, ekmeğin ve kekin tüketici tarafından tercih edilebileceğini göstermektedir. SMP içeren atıştırmalık barın, ekmeğin ve kekin kontrol örnekleri ile beraber örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteğini (B) belirten grafiği sırasıyla Şekil 4.32, Şekil 4.33 ve Şekil 4.34'te verilmiştir.

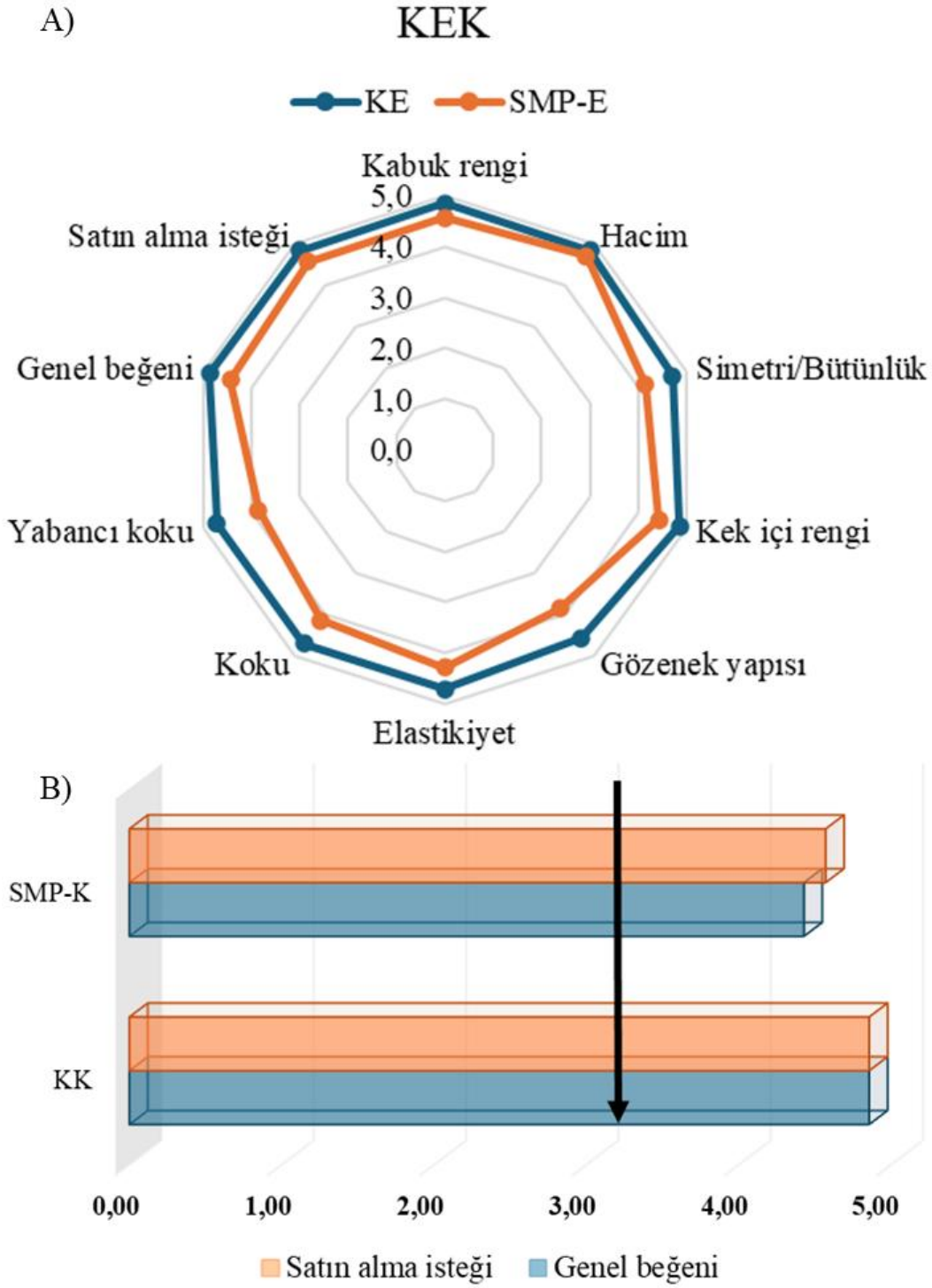


Şekil 4.32. Kontrol ve SMP içeren atıştırılmalık barın örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri

## EKMEK



Şekil 4.33. Kontrol ve SMP içeren ekmeğin örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri



Şekil 4.34. Kontrol ve SMP içeren kekin örümcek ağı (A) ve genel beğeni/satın alma isteği (B) grafikleri

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkisel proteinler, doğal yapıları ve fonksiyonel özellikleri sayesinde tüketici taleplerini karşılayan sürdürülebilir ve çevre dostu alternatifler olarak öne çıkmaktadır. Su mercimeği (*Lemna minor*) gibi yenilikçi protein kaynaklarının gıdalarda kullanım potansiyelini ve fonksiyonel gıdalardaki rolünü değerlendirmek bu açıdan önem arz etmektedir. Su mercimeği özellikle hızlı biyokütle artışı, zengin amino asit profili ve çevresel sürdürülebilirlik avantajlarıyla fonksiyonel gıda formülasyonları için umut verici bir ham madde olarak karşımıza çıkmaktadır. Bununla birlikte, su mercimeğinin fonksiyonel gıdalara entegrasyonunun artması, sadece yenilikçi ürünlerin geliştirilmesine katkı sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda protein kaynağındaki çeşitliliğin artırılması ve çevresel etkilerin azaltılmasını da desteklemektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında, Hoagland solüsyonunun makro-bileşenlerinin optimizasyonu, su mercimeğinin protein içeriğindeki değişime göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz sonuçları, su mercimeği protein içeriğinin  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve pH değeri faktörlerine duyarlı olduğunu göstermiştir. Su mercimeğinin en yüksek protein içeriği, 3,92 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 7,95 mM  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ve 7,22 pH değeri optimum koşullarında elde edilmiştir. Ticari Hoagland solüsyonuna göre modifiye edilmiş Hoagland solüsyonunda protein içeriği yaklaşık %27 oranında arttırılmıştır. Bu bulgular, su mercimeğinin verimli bir şekilde protein kaynağı olarak kullanılabilmesi için uygun yetiştirilme koşullarının önemini vurgulamaktadır.

Protein verimini arttırabilmek için ilk adım olarak protein ekstraksiyonu parametrelerinin optimize edilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları pH 9 değeri, 55 °C ekstraksiyon sıcaklığı, 30 dk ekstraksiyon süresi ve 5 mL/g çözügen/katı oranı olarak belirlenmiştir. İkinci adım olarak ise ultrases ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Optimum ekstraksiyon koşullarındaki protein verimi %5,04 iken, ultrases destekli ekstraksiyon ile verim %28,24'e artmıştır.

Su mercimeği protein konsantrelerinin %60 oranında protein içermesi ve esansiyel amino asitlerin varlığı beslenme değerini arttırmaktadır. Bunun yanı sıra, su mercimeği protein konsantrelerinin pH 9 değerinde yüksek çözünürlük, yüksek

köpürme kapasitesi ve emülsiyon aktivitesi göstermesi fonksiyonel gıda ürünlerinde kullanımını mümkün kılmaktadır.

Su mercimeği protein konsantresi, atıştırmalık bar, ekmek ve kek gibi fonksiyonel gıda ürünlerinde başarılı bir şekilde ikame edilmiştir. Elde edilen ürünlerde, su mercimeği proteinlerinin dokusal özellikleri ve besin değeri saptanmıştır. Özellikle atıştırmalık barlarda, protein içeriği artarken, ürünün duyusal özellikleri panelistler tarafından kabul görmüştür. Ekmek ve kek üretiminde ise, su mercimeği protein konsantresinin ürünün besleyici değerini artırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, su mercimeği protein konsantresinin fonksiyonel gıdalarda daha geniş bir kullanım alanı bulması için kapsamlı araştırmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışmadan hareketle, aşağıdaki önerilerin araştırılması bu gelişmeleri destekleyeceği düşünülmektedir.

- ✓ Su mercimeği yetiştirilmesinde, çevresel diğer faktörlerin (sıcaklık, nem, ışık şiddeti, vb.) optimize edilmesiyle ideal yetiştirme koşullarının daha ayrıntılı bir şekilde belirlenmesinin su mercimeğinin protein içeriğini arttıracığı düşünülmektedir.
- ✓ Su mercimeği protein konsantresinin protein sindirilebilirliğinin in vitro ve in vivo çalışmaları ile belirlenmesi elde edilen protein konsantrelerinin besleyiciliği açısından önemli olacaktır. Bu şekilde, diğer bitkisel protein kaynakları ile karşılaştırılması, alternatif protein kaynaklarının potansiyelini daha iyi anlaşılmasına olanak tanıyacaktır.
- ✓ Atıştırmalık bar, ekmek ve kek ürünlerinde kullanılan ikame oranının artırılması ve duyusal açıdan kabul edilebilirliğinin artırılması amacıyla formülasyonların geliştirilebileceği çalışmalar yapılabileceği düşünülmektedir. Su mercimeği protein konsantresinin farklı gıda formülasyonlarında da denenmesi, geniş kullanım potansiyelini belirlemek için açısından önem arz edeceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, su mercimeği protein konsantrelerinin potansiyelini, gıda ürünlerinde kullanımlarını ve üretim tekniklerini daha verimli hale getirmek için yapılacak daha ileri düzey araştırmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abdullahi, A.I. & Mohammed, T., 2023**, Duckweed as an Underutilized Species Having Potential in Feed Sector. *Aquatic Food Studies*, 3(1), 144.
- Abouzeed, Y.M., Zgheel, F., Elfahem, A.A., Almagarhe, M.S., Dhawi, A., Elbaz, A., Hiblu, M.A., Kammon, A. & Ahmed, M.O., 2018**, Identification of phenolic compounds, antibacterial and antioxidant activities of raisin extracts. *Open Veterinary Journal*, 8(4): 479–484.
- Achouri, A., Nail, V. & Boye, J.I., 2012**, Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties. *Food Research International*, 46(1): 360–369.
- Adebowale, K.O. & Lawal, O.S., 2003**, Foaming, gelation and electrophoretic characteristics of mucuna bean (*Mucuna pruriens*) protein concentrates. *Food Chemistry*, 83(2): 237–246.
- Adebowale, Y.A., Adeyemi, I.A., Oshodi, A.A. & Niranjana, K., 2007**, Isolation, fractionation and characterisation of proteins from Mucuna bean. *Food Chemistry*, 104(1): 287–299.
- Adetuyi, F. O., Akintimehin, E. S., Karigidi, K. O., Okonji, R. E., & Adeniyi, D. A., 2018**, Partial Purification and Characterisation of Cellulase from Sugarcane as affected by postharvest storage of Sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) stem. *Tropical Agricultural Science*, 41(1), 379–392.
- Adewumi, O.O., Felix-Minnaar, J.V. & Jideani, V.A., 2022**, Functional Properties and Amino Acid Profile of Bambara Groundnut and *Moringa oleifera* Leaf Protein Complex. *Processes*, 10(2), 205.
- Ahmad, I., Rawoof, A., Dubey, M. & Ramchiary, N., 2021**, ICP-MS based analysis of mineral elements composition during fruit development in *Capsicum* germplasm. *Journal of Food Composition and Analysis*, 101, 103977.
- Aksoy, Z. & Ersus, S., 2023**, The comparative studies on the physicochemical properties of mung bean protein isolate–polysaccharide conjugates prepared by ultrasonic or controlled heating treatment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102690.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Akter, B., Haque, M., Ahiduzzaman, M., Haque, M. & Ali, M., 2021**, Formulation of Jackfruit Seed Protein Enriched Cake. *Annals of Bangladesh Agriculture*, 24(1): 17–39.
- Akyüz, A. & Ersus, S., 2021**, Optimization of enzyme assisted extraction of protein from the sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves for alternative plant protein concentrate production. *Food Chemistry*, 335, 127673.
- Akyüz, A., Tekin, İ., Aksoy, Z. & Ersus, S., 2024**, Determination of process parameters and precipitation methods for potential large-scale production of sugar beet leaf protein concentrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(6): 3235–3245.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K. & Walter, P., 2017**, *Molecular Biology of the Cell*, Norton & Company.
- Alexandratos, N. & Bruinsma, J., 2012**, World Agriculture towards 2030/2050: The 2012 Revision. 1–147p.
- Alibas, I., Yilmaz, A., Asik, B.B. & Erdoğan, H., 2021**, Influence of drying methods on the nutrients, protein content and vitamin profile of basil leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96, 103758.
- Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A.L. & O'Mahony, J.A., 2017**, Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients. *Journal of Food Composition and Analysis*, 59: 18–26.
- Amagliani, L., Silva, J.V.C., Saffon, M. & Dombrowski, J., 2021**, On the foaming properties of plant proteins: Current status and future opportunities. *Trends in Food Science and Technology*, 118: 261–272.
- AOAC., 1990**, AOAC: Official Methods of Analysis. Volume 1, 15th Edition, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemist.
- Appenroth, K.J., Sree, K.S., Böhm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M., & Jahreis, G., 2017**, Nutritional value of duckweeds (*Lemnaceae*) as human food. *Food Chemistry*, 217: 266–273.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Araya, M., García, S., Rengel, J., Pizarro, S. & Álvarez, G., 2021**, Determination of free and protein amino acid content in microalgae by HPLC-DAD with pre-column derivatization and pressure hydrolysis. *Marine Chemistry*, 234, 103999.
- Aslan, M. & Bilgiçli, N., 2021**, Improvement of functional cake formulation with fermented soy (*Glycine max*) and lupin (*Lupinus albus* L) powders. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 26, 100429.
- Azetsu, T. & Suetake, N., 2021**, Chroma enhancement in cielab color space using a lookup table. *Designs*, 5(2), 32.
- Babu, G.L.S. & Srivastava, A., 2007**, Reliability analysis of allowable pressure on shallow foundation using response surface method. *Computers and Geotechnics*, 34(3): 187–194.
- Baek, G.Y., Saeed, M. & Choi, H.K., 2021**, Duckweeds: their utilization, metabolites and cultivation. *Applied Biological Chemistry*, 64(1), 1-15.
- Bagheri, R., Ahmad, J., Bashir, H., Iqbal, M. & Qureshi, M.I., 2017**, Changes in rubisco, cysteine-rich proteins and antioxidant system of spinach (*Spinacia oleracea* L.) due to sulphur deficiency, cadmium stress and their combination. *Protoplasma*, 254(2): 1031–1043.
- Behere, M., Patil, S.S. & Rathod, V.K., 2021**, Rapid extraction of watermelon seed proteins using microwave and its functional properties. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 51(3): 252–259.
- Bello, I., Adeniyi, A., Mukaila, T. & Hamed, A., 2023**, Optimization of Soybean Protein Extraction with Ammonium Hydroxide (NH<sub>4</sub>OH) Using Response Surface Methodology. *Foods*, 12(7), 1515.
- Benini, K.C.C. de C., Voorwald, H.J.C., Cioffi, M.O.H., Rezende, M.C. & Arantes, V., 2018**, Preparation of nanocellulose from *Imperata brasiliensis* grass using Taguchi method. *Carbohydrate Polymers*, 192: 337–346.
- Berghout, J.A.M., 2015**, Functionality-driven fractionation of lupin seeds. Doctoral dissertation, Wageningen University, Wageningen.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Betalalleluz-Pallardel, I., Inga, M., Mera, L., Pedreschi, R., Campos, D., & Chirinos, R., 2017**, Optimisation of extraction conditions and thermal properties of protein from the Andean pseudocereal cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). *International Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 1026–1034.
- Bhatta, S., Stevanovic, T. & Ratti, C., 2020**, Freeze-drying of maple syrup: Efficient protocol formulation and evaluation of powder physicochemical properties. *Drying Technology*, 38(9): 1138–1150.
- Bocarando-Guzmán, M.D., Luna-Suárez, S., Hernández-Cázares, A.S., Herrera-Corredor, J.A., Hidalgo-Contreras, J.V., & Ríos-Corripio, M.A., 2022**, Comparison of the physicochemical and functional properties of flour and protein isolate from moringa (*Moringa oleifera* Lam.) leaves. *International Journal of Food Properties*, 25(1): 733–747.
- Bog, M., Appenroth, K.J. & Sree, K.S., 2019**, Duckweed (*Lemnaceae*): Its Molecular Taxonomy. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3, 117.
- Boye, J., Zare, F. & Pletch, A., 2010–b**, Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2): 414–431.
- Boye, J.I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S.H., 2010–a**, Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2): 537–546.
- 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.
- Branden, C.I., & Tooze, J., 2012**, The Building Blocks. In *Introduction to Protein Structure* (2nd ed., pp. 1–12). Garland Science.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Brundtland, G.H., 1987**, Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future Towards Sustainable Development 2. Part II. Common Challenges Population and Human Resources 4.
- Burgess, R.R., 2009**, Chapter 20 Protein Precipitation Techniques. Methods in Enzymology. Volume 463, Academic Press Inc., pp: 331–342.
- Capuzzo, A., Maffei, M.E. & Occhipinti, A., 2013**, Supercritical fluid extraction of plant flavors and fragrances. *Molecules*, 18(6): 7194–7238.
- Carullo, D., Abera, B.D., Casazza, A.A., Donsi, F., Perego, P., Ferrari, G., & Pataro, G., 2018**, Effect of pulsed electric fields and high pressure homogenization on the aqueous extraction of intracellular compounds from the microalgae *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 31: 60–69.
- Çetiner, M., & Bilek, S.E., 2018**, Bitkisel protein kaynakları. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(2), 111-126.
- Chakrabarti, R., Clark, W.D., Sharma, J.G., Goswami, R.K., Shrivastav, A.K., & Tocher, D.R., 2018**, Mass production of *Lemna minor* and its amino acid and fatty acid profiles. *Frontiers in Chemistry*, 6, 479.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., & Abert-Vian, M., 2017**, Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560.
- Chirinos, R., Aquino, M., Pedreschi, R., & Campos, D., 2017**, Optimized Methodology for Alkaline and Enzyme-Assisted Extraction of Protein from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) Kernel Cake. *Journal of Food Process Engineering*, 40(2), e12412.
- Chouaibi, M., Boussaid, A., Donsi, F., Ferrari, G., & Hamdi, S., 2019**, Optimization of the Extraction Process by Response Surface Methodology of Protein Isolate from Defatted Jujube (*Zizyphus lotus* L.) Seeds. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 25(4): 1509–1521.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Cruz-Solis, I., Ibarra-Herrera, C.C., Rocha-Pizaña, M. del R. & Luna-Vital, D., 2023**, Alkaline Extraction–Isoelectric Precipitation of Plant Proteins. *In Green Protein Processing Technologies from Plants*. Cham: Springer International Publishing, PP: 1–29.
- Cui, Q.Y., Ni, X.H., Zeng, L., Tu, Z., Li, J., Sun, K., Chen, X., & Li, X.H., 2018**, Optimization of preliminary purification conditions for protein extraction from tea residues. *Acta Horticulturae*, 1208, pp: 455–462.
- Damodaran, S., 2008**, Amino acids, peptides, and proteins. In: Damodaran, S., Parkin, K.L. and Fennema, O.R. (eds.). *Fennema's Food Chemistry*. 4th Edition, Abingdon, UK: CRC Press: Taylor & Francis Group, PP: 219–323.
- de Beukelaar, M.F.A., Zeinstra, G.G., Mes, J.J. & Fischer, A.R.H., 2019**, Duckweed as human food. The influence of meal context and information on duckweed acceptability of Dutch consumers. *Food Quality and Preference*, 71: 76–86.
- de Bever, A., Ndakidemi, P.A., & Laubscher, C.P., 2013**, Effects of different combinations of Hoagland's solution and *Azolla filiculoides* on photosynthesis and chlorophyll content in *Beta vulgaris* subsp. *Cyca* 'fordhook giant' grown in hydroponic cultures. *African Journal of Biotechnology*, 12(16).
- Dean, A., Voss, D. & Draguljić, D., 2017**, Response Surface Methodology. In R. DeVeaux, S. E. Fienberg, & I. Olkin (Eds.), *Design and Analysis of Experiments* (2nd ed., pp. 565–608). Springer.
- Deng, J., Sun, T., Cao, W., Fan, D., Cheng, N., Wang, B., Gao, H., & Yang, H., 2014**, Extraction optimization and functional properties of proteins from kiwi fruit (*Actinidia chinensis* Planch.) seeds. *International Journal of Food Properties*, 17(7), 1612-1625.
- Dhiman, N., Habib, M., Jan, K., Bashir, K. & Jan, S., 2024**, Proteins as Functional Foods and Nutraceuticals. *Functional Foods and Nutraceuticals: Chemistry, Health Benefits and the Way Forward*. Cham: Springer International Publishing, PP: 17–35.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Di Cesare M., Perel P., Taylor S., Kabudula C., Bixby H., Gaziano T.A., McGhie D.V., Mwangi J., Pervan B., Narula J., Pineiro D., Pinto F.J., 2024,** The Heart of the World. *Global Heart* 19(1): 11.
- Diasa, F.F.G. & de Moura Bell, J.M.L.N., 2022,** Understanding the impact of enzyme-assisted aqueous extraction on the structural, physicochemical, and functional properties of protein extracts from full-fat almond flour. *Food Hydrocolloids*, 127, 107534.
- dos Santos-Silva, A.C., Saraiva, B.R., Lazzari, A., Dos Santos, H., de Oliveira, É.L., Sato, F., Meurer, E.C., & Matumoto-Pintro, P.T., 2024,** Optimization and Characterization of Protein Extraction from Asparagus Leafy By-Products. *Foods*, 13(6), 894.
- Drakos, A., Malindretou, K., Mandala, I. & Evageliou, V., 2017,** Protein isolation from jet milled rye flours differing in particle size. *Food and Bioproducts Processing*, 104: 13–18.
- Du, M., Xie, J., Gong, B., Xu, X., Tang, W., Li, X., Li, C., & Xie, M., 2018,** Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein. *Food Hydrocolloids*, 76: 131–140.
- Duangjarus, N., Chaiworapuek, W., Rachtanapun, C., Ritthiruangdej, P., & Charoensiddhi, S., 2022,** Antimicrobial and Functional Properties of Duckweed (*Wolffia globosa*) Protein and Peptide Extracts Prepared by Ultrasound-Assisted Extraction. *Foods*, 11(15), 2348.
- Ducrocq, M., Boire, A., Anton, M., Micard, V., & Morel, M.H., 2020,** Rubisco: A promising plant protein to enrich wheat-based food without impairing dough viscoelasticity and protein polymerisation. *Food Hydrocolloids*, 109, 106101.
- Ehsani, M., Westphalen, H., Doan, H., Lohi, A., & Abdelrasoul, A., 2024,** Advancing Faba Bean Protein Purification Using Membrane Technology: Current State and Future Perspectives. *Journal of Composites Science*, 8(1), 15.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- El Nasri, N.A., & El Tinay, A.H., 2007**, Functional properties of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) protein concentrate. *Food Chemistry*, 103(2): 582–589.
- Ersus, S., & Akyüz, A., 2023**, Enzyme assisted extraction of protein from mallow leaf (*Malva sylvestris* L.) for production of alternative protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(4): 3283–3294.
- Ersus, S., Yılmaz, B., Akyüz, A., Visali, R., Allahverdiyeva, Z., Askerova, I., Hasanova, A., Kamalov, R., & Aliyeva, D., 2024**, The effect of amaranth and fennel addition on the physical and chemical properties of breads. *Cereal Research Communications*, 52(2): 803–812.
- Fang, Y., Selomulya, C., & Chen, X.D., 2010**, Characterization of milk protein concentrate solubility using focused beam reflectance measurement. *Dairy Science & Technology*, 90(2-3), 253-270.
- Fasakin, E.A., 1999**, Nutrient quality of leaf protein concentrates produced from water fern (*Azolla africana* Desv) and duckweed (*Spirodela polyrrhiza* L. Schleiden). *Bioresource Technology*, 69(2): 185–187.
- Fasuan, T.O., Omobuwajo, T.O., & Gbadamosi, S.O., 2018**, Optimization of simultaneous recovery of oil and protein from sesame (*Sesamum indicum*) seed. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), e13341.
- Fatima, K., Imran, M., Ahmad, M. H., Khan, M. K., Khalid, W., Al-Farga, A., Alansari, W.S., Shamlan, G., & Eskandrani, A.A., 2023**, Ultrasound-Assisted Extraction of Protein from *Moringa oleifera* Seeds and Its Impact on Techno-Functional Properties. *Molecules*, 28(6), 2554.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., & Chun, O.K., 2011**, Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(7): 1043–1048.
- Fussy, A., & Papenbrock, J., 2022**, An overview of soil and soilless cultivation techniques-chances, challenges and the neglected question of sustainability. *Plants*, 11(9), 1153.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Gahly, A.E., & Alkoaik, F.N., 2010**, Extraction of Protein from Common Plant Leaves for Use as Human Food. *American Journal of Applied Sciences*, 7(3): 331–342.
- Galenko, O., Shevchenko, A., Ceccanti, C., Mignani, C., & Litvynchuk, S., 2024**, Transformative shifts in dough and bread structure with pumpkin seed protein concentrate enrichment. *European Food Research and Technology*, 250(4): 1177–1188.
- Galli, A., Wackernagel, M., Iha, K., & Lazarus, E., 2014**, Ecological footprint: Implications for biodiversity. *Biological Conservation*, 173: 121–132.
- Garcia, S.R., Orellana-Palacios, J.C., McClements, D.J., Moreno, A., & Hadidi, M., 2024**, Sustainable proteins from wine industrial by-product: Ultrasound-assisted extraction, fractionation, and characterization. *Food Chemistry*, 455, 139743.
- Gerber, P.J., 2013**, Tackling Climate Change through Livestock : A Global Assessment of Emissions and Mitigation Opportunities. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 1–115p.
- Ghribi, A.M., Gafsi, I.M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H., & Besbes, S., 2015**, Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165: 179–188.
- Gligor, O., Mocan, A., Moldovan, C., Locatelli, M., Crişan, G., & Ferreira, I.C., 2019**, Enzyme-assisted extractions of polyphenols–A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 88, 302-315.
- Global Footprint Network (GFN), 2024**. Advancing the Science of Sustainability, Open Data Platform. 2024. [Online] <[https://data.footprintnetwork.org/?\\_ga=2.183399014.1576763266.1735377547-178935058.1735377547#/](https://data.footprintnetwork.org/?_ga=2.183399014.1576763266.1735377547-178935058.1735377547#/)> [Erişim tarihi: 28.12.2024].
- Gómez, M., Ronda, F., Caballero, P.A., Blanco, C.A., & Rosell, C.M., 2007**, Functionality of different hydrocolloids on the quality and shelf-life of yellow layer cakes. *Food Hydrocolloids*, 21(2): 167–173.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Goopy, J.P., Murray, P.J., 2003,** A Review on the Role of Duckweed in Nutrient Reclamation and as a Source of Animal Feed. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 16(2): 297–305.
- Görgüç, A., Bircan, C., & Yılmaz, F.M., 2019,** Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283: 637–645.
- Grácio, M., Oliveira, S., Lima, A., & Boavida Ferreira, R., 2023,** RuBisCO as a protein source for potential food applications: A review. *Food Chemistry*, 419, 135993.
- Guevara-Arauz, J.C., Bárcenas, D.G., Ortega-Rivas, E., Martínez, J.D.P., Hernández, J.R., & de Jesús Ornelas-Paz, J., 2015,** Effect of fiber fractions of prickly pear cactus (nopal) on quality and sensory properties of wheat bread rolls. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5): 2990–2997.
- Gundersen, E., Christiansen, A.H.C., Jørgensen, K., & Lübeck, M., 2022,** Production of leaf protein concentrates from cassava: Protein distribution and anti-nutritional factors in biorefining fractions. *Journal of Cleaner Production*, 379, 134730.
- Guo, L., Fang, Y., Jin, Y., He, K., & Zhao, H., 2023,** High starch duckweed biomass production and its highly-efficient conversion to bioethanol. *Environmental Technology & Innovation*, 32, 103296.
- Hadidi, M., Khaksar, F.B., Pagan, J., & Ibarz, A., 2020,** Application of Ultrasound-Ultrafiltration-Assisted alkaline isoelectric precipitation (UUAIP) technique for producing alfalfa protein isolate for human consumption: Optimization, comparison, physicochemical, and functional properties. *Food Research International*, 130, 108907
- Hadnadev, M., Hadnadev-Dapčević, T., Pojić, M., Šarić, B., Mišan, A., Jovanov, P., & Sakač, M., 2017,** Progress in vegetable proteins isolation techniques: A review. *Food and Feed Research*, 44(1): 11–21.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Harrysson, H., Hayes, M., Eimer, F., Carlsson, N.G., Toth, G.B., & Undeland, I., 2018**, Production of protein extracts from Swedish red, green, and brown seaweeds, *Porphyra umbilicalis* Kützing, *Ulva lactuca* Linnaeus, and *Saccharina latissima* (Linnaeus) J. V. Lamouroux using three different methods. *Journal of Applied Phycology*, 30(6): 3565–3580.
- Hassan, S.W., Umar, R.A., Maishanu, H.M., Matazu, I.K., Faruk, U.Z., & Sani, A.A., 2007**, The Effect of Drying Method on the Nutrients and Non-nutrients Composition of Leaves of *Gynandropsis gynandra* (Capparaceae). *Asian Journal of Biochemistry*, 2(5): 349–353.
- Heaton, J.W., & Marangoni, A.G., 1996**, Chlorophyll degradation in processed foods and senescent plant tissues. *Trends in Food Science & Technology*, 7(1): 8–15.
- Helvacıoğlu, S., Charehsaz, M., Güzelmeriç, E., Türköz, A. E., Yeşilada, E., & Aydın, A., 2018**, Comparatively investigation of grape molasses produced by conventional and industrial techniques. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 22(1): 44–51.
- Hildebrand, G., Poojary, M.M., O'Donnell, C., Lund, M.N., Garcia-Vaquero, M., & Tiwari, B.K., 2020**, Ultrasound-assisted processing of *Chlorella vulgaris* for enhanced protein extraction. *Journal of Applied Phycology*, 32(3): 1709–1718.
- Hojilla-Evangelista, M.P., Sutivisedsak, N., Evangelista, R.L., Cheng, H.N., & Biswas, A., 2018**, Composition and Functional Properties of Saline-Soluble Protein Concentrates Prepared from Four Common Dry Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(8), 1001-1012.
- Hu, Z., Fang, Y., Yi, Z., Tian, X., Li, J., Jin, Y., He, K., Liu, P., Du, A., Huang, Y., & Zhao, H., 2022**, Determining the nutritional value and antioxidant capacity of duckweed (*Wolffia arrhiza*) under artificial conditions. *LWT*, 153, 112477.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Hwang, S.J., & Lee, J.H., 2023**, Comparison of antioxidant activities expressed as equivalents of standard antioxidant. *Food Science and Technology*, *43*, e121522.
- Jakobson, K., Kaleda, A., Adra, K., Tammik, M.L., Vaikma, H., Kriščiunaite, T., & Vilu, R., 2023**, Techno-Functional and Sensory Characterization of Commercial Plant Protein Powders. *Foods*, *12*(14), 2805.
- Jankowski, J., Juskiwicz, J., Gulewicz, K., Lecewicz, A., Slominski, B.A., & Zdunczyk, Z., 2009**, The effect of diets containing soybean meal, soybean protein concentrate, and soybean protein isolate of different oligosaccharide content on growth performance and gut function of young turkeys. *Poultry Science*, *88*(10): 2132–2140.
- Javed, M.S., Amjad, A., Shah, M., Shah, F.U.H., Sardar, H., Tariq, M.R., Khan, A.A., Sajid, M.W., Ali, U., Amir, M., & Nasir, F., 2021**, Isolation and characterization of *Moringa oleifera* L. Flower protein and utilization in functional food bars. *Food Science and Technology*, *41*, 643-652.
- Jia, W., Rodriguez-Alonso, E., Bianeis, M., Keppler, J.K., & van der Goot, A.J., 2021**, Assessing functional properties of rapeseed protein concentrate versus isolate for food applications. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *68*, 102636.
- Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., Chen, Y., Ma, W., Qi, B., & Zhang, M., 2014**, Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Research International*, *62*: 595–601.
- Jinapong, N., Supphantharika, M., & Jamnong, P., 2008**, Production of instant soymilk powders by ultrafiltration, spray drying and fluidized bed agglomeration. *Journal of Food Engineering*, *84*(2): 194–205.
- Kalaydzhiev, H., Georgiev, R., Ivanova, P., Stoyanova, M., Silva, C.L., & Chalova, V.I., 2020**, Enhanced solubility of rapeseed meal protein isolates prepared by sequential isoelectric precipitation. *Foods*, *9*(6), 703.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kaplan, A., Zelicha, H., Tsaban, G., Meir, A. Y., Rinott, E., Kovsan, J., Novack, L., Thiery, J., Ceglarek, U., Burkhardt, R., Willenberg, A., Tirosh, A., Cabantchick, I., Stampfer, M.J., & Shai, I., 2019**, Protein bioavailability of *Wolffia globosa* duckweed, a novel aquatic plant – A randomized controlled trial. *Clinical Nutrition*, 38(6): 2576–2582.
- Karaca, A.C., Low, N., & Nickerson, M., 2011**, Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44(9): 2742–2750.
- Karr-Lilienthal, L.K., Grieshop, C.M., Merchen, N.R., Mahan, D.C., & Fahey, G.C. 2004**, Chemical Composition and Protein Quality Comparisons of Soybeans and Soybean Meals from Five Leading Soybean-Producing Countries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(20), 6193-6199.
- Kaszás, L., Alshaal, T., El-Ramady, H., Kovács, Z., Koroknai, J., Elhawat, N., Nagy, E., Cziáky, Z., Fári, M., & Domokos-Szabolcsy, É., 2020**, Identification of bioactive phytochemicals in leaf protein concentrate of jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.). *Plants*, 9(7): 1–17.
- Katsimichas, A., Karveli, I., Dimopoulos, G., Giannakourou, M., & Taoukis, P., 2023**, Kinetics of high pressure homogenization assisted protein extraction from *Chlorella pyrenoidosa*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 88, 103438.
- Kaur, G., & Bhatia, S., 2022**, Radish leaf protein concentrates: optimization of alkaline extraction for production and characterization of an alternative plant protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4): 3166–3181.
- Kaur, G., & Bhatia, S., 2023**, Alpha-amylase-assisted extraction of protein concentrates from *Raphanus sativus* L. leaves. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(16): 15051–15065.
- Kaur, R.P., & Ghoshal, G., 2022**, Sunflower protein isolates-composition, extraction and functional properties. *Advances in Colloid and Interface Science*, 306, 102725.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kaur, S., & Das, M., 2011**, Functional foods: An overview. *Food Science and Biotechnology*, 20(4): 861–875.
- Khalfallah, R., Mechmeche, M., Ksontini, H., Jmoui, I., Hamdi, M., & Kachouri, F., 2024**, Optimization of protein extraction from sesame seeds by using response surface methodology RSM. *Nutrire*, 49(1), 16.
- Khalid, K.H., Ohm, J.B., & Simsek, S., 2017**, Whole wheat bread: Effect of bran fractions on dough and end-product quality. *Journal of Cereal Science*, 78: 48–56.
- Khan, L.H., & Varshney, V.K., 2015**, Optimization of Process Conditions for Isolation of Leaf Protein Concentrate from *Pongamia pinnata* and its Proximate Nutritional Composition. *IOSR Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 8(5), 24-33.
- Khan, L.H., Varshney, V.K., & Naithani, S., 2014**, Utilization of Biomass Residue (Leaves) Generated from *Populus deltoides* Plantations for Development of Protein Concentrate. *Waste and Biomass Valorization*, 5(6): 995–1004.
- Khattab, R.Y., & Arntfield, S.D., 2009**, Functional properties of raw and processed canola meal. *LWT*, 42(6): 1119–1124.
- Khuri, A. I., & Mukhopadhyay, S., 2010**, Response surface methodology. *Wiley interdisciplinary reviews: Computational statistics*, 2(2), 128-149.
- Kim, D.O., Jeong, S.W., & Lee, C.Y., 2003**, Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *Food Chemistry*, 81(3): 321–326.
- Kinsella, J.E., 1970**, Evaluation of plant leaf protein as a source of food protein. *Chemistry & Industry*, 17: 550–554.
- Kittiwongwattana, C., & Vuttipongchaikij, S., 2013**, Effects of nutrient media on vegetative growth of *Lemna minor* and *Landoltia punctata* during in vitro and ex vitro cultivation. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 7(1): 60-69.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Klupšaitė, D., & Juodeikienė, G., 2015**, Legume: composition, protein extraction and functional properties. A review. *Chemical Technology*, 66(1), 5-12.
- Kong, J., & Yu, S., 2007**, Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8): 549–559.
- Korkmaz, F., 2024**, Safflower protein as a potential plant protein powder: optimization of extraction and spray-drying process parameters and determination of physicochemical and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104, 7408-7416.
- Kovačić, D., Rupčić, S., Kralik, D., Jovičić, D., Spajić, R., & Tišma, M., 2021**, Pulsed electric field: An emerging pretreatment technology in a biogas production. *Waste Management*, 120: 467–483.
- Kowalska, H., Kowalska, J., Ignaczak, A., Masiarz, E., Domian, E., Galus, S., Ciurzyńska, A., Salamon, A., Zając, A., & Marzec, A., 2021**, Development of a high-fibre multigrain bar technology with the addition of curly kale. *Molecules*, 26(13), 3939.
- Koysuren, B., Oztop, M.H., & Mazi, B.G., 2021**, Sesame seed as an alternative plant protein source: A comprehensive physicochemical characterisation study for alkaline, salt and enzyme-assisted extracted samples. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11): 5471–5484.
- Kronbauer, M., Shorstkii, I., da Silva, S.B., Toepfl, S., Lammerskitten, A., & Siemer, C., 2023**, Pulsed electric field assisted extraction of soluble proteins from nettle leaves (*Urtica dioica* L.): kinetics and optimization using temperature and specific energy. *Sustainable Food Technology*, 1(6): 886–895.
- Kruer-Zerhusen, N., Cantero-Tubilla, B., & Wilson, D.B., 2018**, Characterization of cellulose crystallinity after enzymatic treatment using Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). *Cellulose*, 25(1): 37–48.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Kumar, M., Potkule, J., Patil, S., Mageshwaran, V., Radha, Satankar, V., Berwal, M.K., Mahapatra, A., Saxena, S., Ashtaputre, N., & Souza, C.D., 2022**, Evaluation of detoxified cottonseed protein isolate for application as food supplement. *Toxin Reviews*, 41(2): 412–419.
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., Belwal, T., Dahuja, A., Joshi, S., Berwal, M.K., Satankar, V., Bhoite, A.G., Amarowicz, R., Kaur, C., & Kennedy, J.F., 2021**, Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595.
- Labban, L., & Sumainah, G., 2021**, The Nutritive and Medicinal Properties of Tahini: A Review. *International Journal of Nutrition Sciences*, 6(4): 172–179.
- Lalnunthari, C., Devi, L.M., & Badwaik, L.S., 2020**, Extraction of protein and pectin from pumpkin industry by-products and their utilization for developing edible film. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5): 1807–1816.
- Lamsal, B.P., Koegel, R.G., & Gunasekaran, S., 2007**, Some physicochemical and functional properties of alfalfa soluble leaf proteins. *LWT*, 40(9): 1520–1526.
- Lásztity, R., Khalil, M.M., Haraszi, R., Baticz, O., & Tömösközi, S., 2001**, Isolation, functional properties and potential use of protein preparations from lupin. *Food/Nahrung*, 45(6), 396-398.
- Laursen, N.F., Atil, G.U., Gregersen, S.B., Corredig, M., & Christensen, C.H., 2024**, Composition and functionality differences of oat protein concentrates: Potential of less refined concentrates obtained by wet milling. *Food Hydrocolloids*, 155, 110187.
- Le Man, H., Behera, S.K., & Park, H.S., 2010**, Optimization of operational parameters for ethanol production from Korean food waste leachate. *International Journal of Environmental Science & Technology*, 7, 157-164.
- Li, H., Wang, L., Zhang, Z., Yang, A., & Liu, D., 2022**, Effect of Phosphorus Supply Levels on Nodule Nitrogen Fixation and Nitrogen Accumulation in Soybean (*Glycine max* L.). *Agronomy*, 12(11), 2802.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Li, M., Huang, J., Chen, Y., Liu, C., & Wu, X., 2024**, Protein from red adzuki bean: extraction optimization, glycosylation modification and physicochemical properties of glycation products. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-17.
- Lindstrom, M., Declene, N., Dorsey, H., Fuster, V., Johnson, C.O., LeGrand, K.E., Mensah, G.A., Razo, C., Stark, B, Turco, J.V., & Roth, G.A., 2022**, Summary of Global Burden of Disease Study Methods. *Journal of the American College of Cardiology*, 80(25): 2372–2425.
- Liu, C., Dai, Z., & Sun, H., 2017**, Potential of duckweed (*Lemna minor*) for removal of nitrogen and phosphorus from water under salt stress. *Journal of Environmental Management*, 187: 497–503.
- Loan, L.T.K., Minh, Q.H., Minh, T.N., Nhung, N.T., Xuan, T.D., Duong, V.X., Trung, K.H., Minh, L.H.N., Khanh, T.D., & Ha, T.T.T., 2023**, Optimization of protein extraction from “Cam” rice bran by response surface methodology. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 11(2): 290–296.
- López-Salazar, H., Camacho-Díaz, B.H., Arenas Ocampo, M.L., & Jiménez-Aparicio, A.R., 2023**, Microwave-assisted Extraction of Functional Compounds from Plants: A Review. *BioResources*, 18(3): 6614–6638.
- Loughrill, E., Wray, D., Christides, T., & Zand, N., 2017**, Calcium to phosphorus ratio, essential elements and vitamin D content of infant foods in the UK: Possible implications for bone health. *Maternal & child nutrition*, 13(3), e12368.
- Ma, K.K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A.A., McClements, D.J., & Kinchla, A.J., 2022**, Functional performance of plant proteins. *Foods*, 11(4), 594.
- Magliano, D.J., & Boyko, E.J., 2021**, Global picture. *IDF Diabetes Atlas*. 10th Edition, Brussels: International Diabetes Federation, PP: 34–62.
- Marchais, L.-P. Des, Foisy, M., Mercier, S., Villeneuve, S., & Mondor, M., 2011**, Bread-making potential of pea protein isolate produced by a novel ultrafiltration/diafiltration process. *Procedia Food Science*, 1: 1425–1430.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Martínez, J.M., Delso, C., Álvarez, I., & Raso, J., 2020**, Pulsed electric field-assisted extraction of valuable compounds from microorganisms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(2): 530–552.
- Mechmeche, M., Kachouri, F., Chouabi, M., Ksontini, H., Setti, K., & Hamdi, M., 2017**, Optimization of Extraction Parameters of Protein Isolate from Tomato Seed Using Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 10(3): 809–819.
- Melikoğlu, A.Y., Tekin, İ., Hayatioğlu, N., & Ersus, S., 2023**, Development of environmentally friendly composite packaging films from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) plant wastes. *Food Bioscience*, 55, 102991.
- Men, B.X., Ogle, B., & Lindberg, J.E., 2001**, Use of Duckweed as a Protein Supplement for Growing Ducks. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 14(12): 1741–1746.
- Miltko, R., Majewska, M.P., Wojtak, W., Bialek, M., Kowalik, B., & Czauderna, M., 2024**, Comparing the chemical composition of lesser duckweed (*Lemna minor* L.) grown in natural and laboratory settings. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 33(3), 357–367.
- Mir, Y.H., Mir, S., Ganie, M.A., Shah, A.M., Majeed, U., Chesti, M.H., Mansoor, M., Irshad, I., Javed, A., Sadiq, S., & Wani, F.J., 2022**, Soilless farming: An innovative sustainable approach in agriculture. *Pharma Innovation Journal*, 11(6), 2663-75.
- Molina-Alcaide, E., & Yáñez-Ruiz, D.R., 2008**, Potential use of olive by-products in ruminant feeding: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 147(1–3): 247–264.
- Moongngarm, A., Sasanam, S., Pinsiri, W., Inthasoi, P., Janto, S., & Pengchai, J., 2014**, Functional Properties of Protein Concentrate From Black Cowpea and Its Application. *American Journal of Applied Sciences*, 11(10): 1811–1818.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Morr, C.V., & Ha, E.Y.W., 1993**, Whey Protein Concentrates and Isolates: Processing and Functional Properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33(6): 431–476.
- Muller, T., Bernier, M.È., & Bazinet, L., 2023**, Optimization of Water Lentil (Duckweed) Leaf Protein Purification: Identification, Structure, and Foaming Properties. *Foods*, 12(18), 3424.
- Naik, M., Natarajan, V., Modupalli, N., Thangaraj, S., & Rawson, A., 2022**, Pulsed ultrasound assisted extraction of protein from defatted Bitter melon seeds (*Momardica charantia* L.) meal: Kinetics and quality measurements. *LWT*, 155, 112997.
- Naseri, A., Jacobsen, C., Sejberg, J.J., Pedersen, T.E., Larsen, J., Hansen, K.M., & Holdt, S.L., 2020**, Multi-extraction and quality of protein and carrageenan from commercial spinosum (*Eucheuma denticulatum*). *Foods*, 9(8), 1072.
- Nasir, S., Allai, F. M., Gani, M., Ganaie, S., Gul, K., Jabeen, A., & Majeed, D., 2020**, Physical, Textural, Rheological, and Sensory Characteristics of Amaranth-Based Wheat Flour Bread. *International Journal of Food Science*, 2020(1), 8874872.
- Nath, J.P., & Rao, M.S.N., 1981**, Functional Properties of Guar Proteins. *Journal of Food Science*, 46(4): 1255–1259.
- Nawaz, M.A., Kasote, D.M., Ullah, N., Usman, K., & Alsafran, M., 2024**, RuBisCO: a sustainable protein ingredient for plant-based foods. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1389309.
- Nieuwland, M., Geerdink, P., Engelen-Smit, N.P., Van Der Meer, I.M., America, A.H., Mes, J.J., Kootstra, A.M.J., Henket, J.T.M.M., & Mulder, W.J., 2021**, Isolation and Gelling Properties of Duckweed Protein Concentrate. *ACS Food Science and Technology*, 1(5): 908–916.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Nitiwuttithorn, C., Wongsasulak, S., Vongsawasdi, P., & Yongsawatdigul, J., 2024**, Effects of alkaline and ultrasonication on duckweed (*Wolffia arrhiza*) protein extracts' physicochemical and techno-functional properties. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 8, 1343615.
- Nudel, A., Cohen, R., Abbo, S., & Kerem, Z., 2023**. Developing a nutrient-rich and functional wheat bread by incorporating *Moringa oleifera* leaf powder and gluten. *LWT*, 187, 115343.
- Nynäs, A.L., Newson, W.R., Langton, M., Wouters, A.G.B., & Johansson, E., 2023**, Applicability of leaf protein concentrates from various sources in food: Solubility at food-relevant pH values and air-water interfacial properties. *LWT*, 184, 114962.
- Oberč, B. P., & Arroyo Schnell, A., 2020**, *Approaches to sustainable agriculture: exploring the pathways towards the future of farming*. IUCN, International Union for Conservation of Nature.
- Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S.O., & Chuck-Hernández, C., 2017**, Microwave and Ultrasound to Enhance Protein Extraction from Peanut Flour under Alkaline Conditions: Effects in Yield and Functional Properties of Protein Isolates. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3): 543–555.
- Ogunwolu, S.O., Henshaw, F.O., Mock, H.P., Santos, A., & Awonorin, S.O., 2009**, Functional properties of protein concentrates and isolates produced from cashew (*Anacardium occidentale* L.) nut. *Food Chemistry*, 115(3): 852–858.
- Ohshima, M., & Ueda, H., 1984**, Effects of Some Treatments on the Yield and the Nutritive Value of Lucerne Leaf Protein Concentrate. *Japanese Journal of Zootechnical Science*, 55, 584-590.
- Oosterhuis, D.M., Loka, D.A., Kawakami, E.M., & Pettigrew, W.T., 2014**, The Physiology of Potassium in Crop Production. *Advances in agronomy*, 126, 203-233.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E., 2015,** The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(9): 1176–1192.
- Ortega, M.L.S., Orellana-Palacios, J.C., Garcia, S.R., Rabanal-Ruiz, Y., Moreno, A., & Hadidi, M., 2024,** Olive leaf protein: Extraction optimization, in vitro digestibility, structural and techno-functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 128273.
- Özdemir, E.E., Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F.M., 2022,** Physicochemical, functional and emulsifying properties of plant protein powder from industrial sesame processing waste as affected by spray and freeze drying. *LWT*, 154, 112646.
- Pagliuso, D., Grandis, A., Igarashi, E.S., Lam, E., & Buckeridge, M.S., 2018,** Correlation of apiose levels and growth rates in duckweeds. *Frontiers in Chemistry*, 6, 291.
- Palmer, T., & Bonner, P.L., 1991,** Extraction and purification of enzymes. *Understanding enzymes. Ellis Horwood, Chichester*, 301-317.
- Paraman, I., Hettiarachchy, N.S., Schaefer, C., & Beck, M.I., 2007,** Hydrophobicity, solubility, and emulsifying properties of enzyme-modified rice endosperm protein. *Cereal Chemistry*, 84(4): 343–349.
- Pasrija, D., & Sogi, D.S., 2022,** Extraction optimization and functional properties of muskmelon seed protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5): 4137–4150.
- Pathak, D., Majumdar, J., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R., 2016,** Characterization of physicochemical properties in whole wheat bread after incorporation of ripe mango peel. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3): 554–561.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Patra, A., & Prasath, V.A., 2024**, Isolation of detoxified cassava (*Manihot esculenta* L.) leaf protein by alkaline extraction-isoelectric precipitation: Optimization and its characterization. *Food Chemistry*, 437: 137845.
- Paula, P.C., Sousa, D.O.B., Oliveira, J.T.A., Carvalho, A.F.U., Alves, B.G.T., Pereira, M.L., Farias, D.F., Viana, M.P., Santos, F.A., Morais, T.C., & Vasconcelos, I.M., 2017**, A protein isolate from *Moringa oleifera* leaves has hypoglycemic and antioxidant effects in alloxan-induced diabetic Mice. *Molecules*, 22(2), 271.
- Pearce, F.G., & Brunke, J.E., 2023**, Is now the time for a Rubiscuit or Ruburger? Increased interest in Rubisco as a food protein. *Journal of Experimental Botany*, 74(2), 627-637.
- Pérez-Vila, S., Fenelon, M., Hennessy, D., O'Mahony, J.A., & Gómez-Mascaraque, L.G., 2024**, Impact of the extraction method on the composition and solubility of leaf protein concentrates from perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Food Hydrocolloids*, 147, 109372.
- Petsko, G., & Ringe, D., 2004**, Protein Structure and Function. London, UK: New Science Press, 1–189p.
- Phillips, L.G., Whitehead, D.M., & Kinsella, J., 1994**, Structure–Function Properties of Food Proteins. Academic Press.
- Phongthai, S., D'Amico, S., Schoenlechner, R., & Rawdkuen, S., 2016–a**, Comparative study of rice bran protein concentrate and egg albumin on gluten-free bread properties. *Journal of Cereal Science*, 72: 38–45.
- Phongthai, S., Lim, S.T., & Rawdkuen, S., 2016–b**, Optimization of microwave-assisted extraction of rice bran protein and its hydrolysates properties. *Journal of Cereal Science*, 70: 146–154.
- Prabhu, M.S., Levkov, K., Livney, Y.D., Israel, A., & Golberg, A., 2019**, High-Voltage Pulsed Electric Field Preprocessing Enhances Extraction of Starch, Proteins, and Ash from Marine Macroalgae *Ulva ohnoi*. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(20): 17453–17463.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Prade, T., Muneer, F., Berndtsson, E., Nynäs, A.L., Svensson, S.E., Newson, W.R., & Johansson, E., 2021**, Protein fractionation of broccoli (*Brassica oleracea*, var. Italica) and kale (*Brassica oleracea*, var. Sabellica) residual leaves — A pre-feasibility assessment and evaluation of fraction phenol and fibre content. *Food and Bioproducts Processing*, 130: 229–243.
- Prandi, B., Cigognini, I.M., Faccini, A., Zurlini, C., Rodríguez, Ó., & Tedeschi, T., 2023**, Comparative Study of Different Protein Extraction Technologies Applied on Mushrooms By-products. *Food and Bioprocess Technology*, 16(7): 1570–1581.
- Prandi, B., Di Massimo, M., Tedeschi, T., Rodríguez-Turienzo, L., & Rodríguez, Ó., 2022**, Ultrasound and Microwave-assisted Extraction of Proteins from Coffee Green Beans: Effects of Process Variables on the Protein Integrity. *Food and Bioprocess Technology*, 15(12): 2712–2722.
- Pringels, L., Broeckx, V., Boonen, K., Landuyt, B., & Schoofs, L., 2018**, Abundant plasma protein depletion using ammonium sulfate precipitation and Protein A affinity chromatography. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 1089: 43–59.
- Purdi, T.S., Setiowati, A.D., & Ningrum, A., 2023**, Ultrasound-assisted extraction of *Spirulina platensis* protein: physicochemical characteristic and techno-functional properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(5): 5474–5486.
- Puri, M., Sharma, D., & Barrow, C.J., 2012**, Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants. *Trends in Biotechnology*, 30(1): 37–44.
- Rahman, M.M., & Lamsal, B.P., 2021**, Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2): 1457–1480.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Rana, Q.U.A., Khan, M.A.N., Irfan, M., Shah, A.A., Hasan, F., Khan, S., Ahmed, S., Adnan, F., Li, W., Ju, M., & Badshah, M., 2021,** Starved *Spirodela polyrhiza* and *Saccharomyces cerevisiae*: a potent combination for sustainable bioethanol production. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(5): 1665–1674.
- Rawat, N., & Darappa, I., 2015,** Effect of ingredients on rheological, nutritional and quality characteristics of fibre and protein enriched baked energy bars. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5): 3006–3013.
- Rawiwan, P., & Quek, S.Y., 2024,** Physicochemical and functional attributes of RuBisCo-enriched Brassicaceae leaf protein concentrates. *Food Hydrocolloids*, 151, 109887.
- Rheem, S., Rheem, I., & Oh, S., 2017,** Response surface methodology using a fullest balanced model: A re-analysis of a dataset in the Korean journal for food science of animal resources. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(1): 139–146.
- Richter, C.K., Skulas-Ray, A.C., Champagne, C.M., & Kris-Etherton, P.M., 2015,** Plant protein and animal proteins: Do they differentially affect cardiovascular disease risk? *Advances in nutrition*, 6(6), 712-728.
- Rodrigues, I.M., Coelho, J.F.J., & Carvalho, M.G.V.S., 2012,** Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*, 109(3): 337–346.
- Roman, B. & Brennan, R.A., 2019,** A beneficial by-product of ecological wastewater treatment: An evaluation of wastewater-grown duckweed as a protein supplement for sustainable agriculture. *Ecological Engineering*, 142, 100004.
- Rusoff, L.L., Blakeney, E.W., & Culley, D.D., 1980,** Duckweeds (Lemnaceae family): a potential source of protein and amino acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(4): 848–850.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Sá, A.G.A., Moreno, Y.M.F., & Carciofi, B.A.M., 2020**, Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science and Technology*, 97: 170–184.
- Sabaté, J., & Soret, S., 2014**, Sustainability of plant-based diets: Back to the future. *The American journal of clinical nutrition*, 100, 476S-482S.
- Scarborough, P., Appleby, P.N., Mizdrak, A., Briggs, A.D., Travis, R.C., Bradbury, K.E., & Key, T.J., 2014**, Dietary greenhouse gas emissions of meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans in the UK. *Climatic Change*, 125(2): 179–192.
- Schönfeldt, H.C., Pretorius, B., & Hall, N., 2013**, The impact of animal source food products on human nutrition and health. *South African Journal of Animal Science*, 43(3): 394–412.
- Schwaighofer, A., Montemurro, M., Freitag, S., Kristament, C., Culzoni, M.J., & Lendl, B., 2018**, Beyond Fourier Transform Infrared Spectroscopy: External cavity quantum cascade laser-based mid-infrared transmission spectroscopy of proteins in the Amide I and Amide II Region. *Analytical chemistry*, 90(11), 7072-7079.
- Sert, D., Rohm, H., & Struck, S., 2024**, High-pressure-assisted protein isolation from pumpkin seed press cake. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(1): 368–379.
- Sethi, S., Yadav, D.N., Snigdha, S., & Gupta, A., 2021**, Optimization of process parameters for extraction of protein isolates from Khesari dhal (*Lathyrus sativus* L). *LWT*, 137, 110368.
- Shahbandeh, M., 2022**, "Plant protein market value worldwide from 2022 to 2027". [Online] <<https://www.statista.com/statistics/658619/global-plant-protein-market-value/>> [Erişim tarihi: 14.07.2024].

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Sharma, J., Clark, W.D., Shrivastav, A.K., Goswami, R.K., Tocher, D.R., & Chakrabarti, R., 2019**, Production potential of greater duckweed *Spirodela polyrhiza* (L. Schleiden) and its biochemical composition evaluation. *Aquaculture*, 513, 734419.
- Sharma, L., Singh, C., & Sharma, H.K., 2016**, Assessment of functionality of sesame meal and sesame protein isolate from Indian cultivar. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3): 520–526.
- Shen, L., Wang, X., Wang, Z., Wu, Y., & Chen, J., 2008**, Studies on tea protein extraction using alkaline and enzyme methods. *Food Chemistry*, 107(2): 929–938.
- Shevkani, K., Singh, N., Chen, Y., Kaur, A., & Yu, L., 2019**, Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications. *Journal of food science and technology*, 56, 2787-2798.
- Shewry, P.R., Napier, J.A., & Tatham, A.S., 1995**, Seed Storage Proteins: Structures 'and Biosynthesis. *The plant cell*, 7(7), 945.
- Shih, M.C., Hwang, T.S., & Chou, H.Y., 2016**, Physicochemical and functional property changes in soy protein isolates stored under high relative humidity and temperature. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1): 902–908.
- Shivaani, M., 2020**, Characterization of Whole Wheat Bread Reformulated with Pea and Soy Protein Isolates. *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*, 10(3): 112–119.
- Singh, N., & Bose, K., 2022**, Introduction to Recombinant Protein Purification. *Textbook on Cloning, Expression and Purification of Recombinant Proteins*. Singapore: Springer Nature Singapore, PP: 115–140.
- Singh, N., Jain, P., Ujinwal, M., & Langyan, S., 2022**, Escalate protein plates from legumes for sustainable human nutrition. *Frontiers in nutrition*, 9, 977986.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Singh, T.P., & Sogi, D.S., 2018**, Comparative study of structural and functional characterization of bran protein concentrates from superfine, fine and coarse rice cultivars. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111: 281–288.
- Smith, J.P., Daifas, D.P., El-Khoury, W., Koukoutsis, J. and El-Khoury, A., 2004**, Shelf Life and Safety Concerns of Bakery Products - A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44(1): 19–55.
- Sofi, S.A., Singh, J., Chhikara, N., Panghal, A., & Gat, Y., 2020**, Quality characterization of gluten free noodles enriched with chickpea protein isolate. *Food Bioscience*, 36, 100626.
- Sohaimy, S.A.E., Brennan, M.A., Darwish, A.M.G. & Brennan, C.S., 2021**, Chickpea Protein Isolation, Characterization and Application in Muffin Enrichment. *International Journal of Food Studies*, 10: SI57–SI71.
- Sosa, D., Alves, F.M., Prieto, M.A., Pedrosa, M.C., Heleno, S.A., Barros, L., Feliciano, M., & Carcho, M., 2024**, *Lemna minor*: Unlocking the Value of This Duckweed for the Food and Feed Industry. *Foods*, 13(10), 1435.
- Sun, Z., Chi, Q., Sun, L., & Liu, Y., 2022**, Protein extraction from microalgae residue and nutritional assessment. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 45(11): 1879–1888.
- Sunyoto, M., Andoyo, R., & Masitoh, E., 2019**, Characteristics of High Protein Snack Bar Made of Modified Sweet Potato Flour. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 347, No. 1, p. 012064). IOP Publishing.
- Tamayo Tenorio, A., 2017**, Sugar Beet Leaves For Functional Ingredients. Wageningen, Netherlands, 1–187p.
- Tanambell, H., Møller, A.H., Roman, L., Corredig, M., & Dalsgaard, T.K., 2023**, Supramolecular structure modification of RuBisCO from alfalfa during removal of chloroplastic materials. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 87, 103408.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Tekin, İ., & Ersus, S., 2021**, Electrically assisted ionic gelling encapsulation of enzymatically extracted zinc-chlorophyll derivatives from stinging nettle (*Urtica urens* L.). *Journal of Food Process Engineering*, 44(7), e13743.
- Tekin, İ., & Ersus, S., 2024**, Development of thermoplastic starch/poly(butylene adipate-co-terephthalate) biobased active packaging films and potential usage in the food industry. *Journal of Applied Polymer Science*, 141(33).
- Thongkong, S., Klangpetch, W., Unban, K., Tangjaidee, P., Phimolsiripol, Y., Rachtanapun, P., Jantanasakulwong, K., Schönlechner, R., Thipchai, P., & Phongthai, S., 2023**, Impacts of Electroextraction Using the Pulsed Electric Field on Properties of Rice Bran Protein. *Foods*, 12(4), 835.
- Tian, S., Kyle, W.S.A., & Small, D.M., 1999**, Pilot scale isolation of proteins from field peas (*Pisum sativum* L.) for use as food ingredients. *International Journal of Food Science and Technology*, 34(1): 33–39.
- Toews, R., & Wang, N., 2013**, Physicochemical and functional properties of protein concentrates from pulses. *Food Research International*, 52(2): 445–451.
- Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., De Henauw, S., Hirsch-Ernst, K.I., ... & Knutsen, H.K., 2023**, Safety of water lentil protein concentrate from a mixture of *Lemna gibba* and *Lemna minor* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. *EFSA Journal*, 21(4), e07903.
- Türk Gıda Kodeksi, 2023**, *Türk Gıda Kodeksi Beslenme Beyanları Yönetmeliği*. Volume 4.
- Tymchak, L.L., 2013**, Amino Acids and Proteins. *Clinical chemistry: principles, techniques, and correlations*, Lippincott Williams & Wilkins, 223-262.
- Udenigwe, C.C., Okolie, C.L., Qian, H., Ohanenye, I.C., Agyei, D., & Aluko, R.E., 2017**, Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase as a sustainable and promising plant source of bioactive peptides for food applications. *Trends in Food Science and Technology*, 69: 74–82.
- Ullah, H., Gul, B., Khan, H., & Zeb, U., 2021**, Effect of salt stress on proximate composition of duckweed (*Lemna minor* L.). *Heliyon*, 7(6).

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Ullah, H., Gul, B., Khan, H., Akhtar, N., Rehman, K. U., & Zeb, U., 2022**, Effect of growth medium nitrogen and phosphorus on nutritional composition of *Lemna minor* (an alternative fish and poultry feed). *BMC Plant Biology*, 22(1), 214.
- Ullah, H., Gul, B., Khan, H., Ur Rehman, K., Hameed, I., Zeb, U., & Roomi, S., 2023**, Impact of pH on the growth and nutritional profile of *Lemna minor* L. as a sustainable alternative for Pakistan's feed sector. *Aquaculture International*, 31(4): 1879–1891.
- United Nations General Assembly, 1987**, Report of the World Commission on Environment and Development. 1–247p.
- Uribe, E., Vega-Gálvez, A., García, V., Pastén, A., López, J., & Goñi, G., 2019**, Effect of different drying methods on phytochemical content and amino acid and fatty acid profiles of the green seaweed, *Ulva* spp. *Journal of Applied Phycology*, 31(3): 1967–1979.
- Ustunol, Z., 2014**, Introduction to Food Proteins. In: Ustunol, Z. (ed.). *Applied Food Protein Chemistry*. Wiley, PP: 3–5.
- Velten, S., Leventon, J., Jager, N., & Newig, J., 2015**, What is sustainable agriculture? A systematic review. *Sustainability*, 7(6): 7833–7865.
- Vioque, J., Alaiz, M., & Girón-Calle, J., 2012**, Nutritional and functional properties of *Vicia faba* protein isolates and related fractions. *Food Chemistry*, 132(1): 67–72.
- Vnučec, D., Kutnar, A., & Goršek, A., 2017**, Soy-based adhesives for wood-bonding—a review. *Journal of Adhesion Science and Technology*, 31(8): 910–931.
- Waglay, A., Karboune, S., & Alli, I., 2014**, Potato protein isolates: Recovery and characterization of their properties. *Food Chemistry*, 142: 373–382.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Walsh, É., Paolacci, S., Burnell, G., & Jansen, M.A.K., 2020,** The importance of the calcium-to-magnesium ratio for phytoremediation of dairy industry wastewater using the aquatic plant *Lemna minor* L. *International Journal of Phytoremediation*, 22(7): 694–702.
- Wang, H., Johnson, L.A., & Wang, T., 2004,** Preparation of Soy Protein Concentrate and Isolate from Extruded-Expelled Soybean Meals. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81, 713-717.
- Wang, J.C., & Kinsella, J.E., 1976,** Functional properties of novel proteins: alfalfa leaf protein. *Journal of Food Science*, 41(2): 286–292.
- Wang, Y., Wang, X., Yang, R., Niu, L., & Wang, W., 2020,** Comparison of protein extraction methods for 2DE-based proteomic analysis of duckweed *Spirodela polyrhiza*, a small aquatic model plant. *Aquatic Botany*, 163, 103216.
- White, P.J., & Broadley, M.R., 2003,** Calcium in plants. *Annals of Botany*, 92(4): 487–511.
- World Health Organization, 2007,** Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Geneva, Switzerland.
- Xia, X., 2007,** *Bioinformatics and the Cell*. Boston, MA: Springer US, 207–219p.
- Xiao, F., & Guo, F., 2022,** Impacts of essential amino acids on energy balance. *Molecular Metabolism*, 57: 101393.
- Xu, X., Du, X., Wang, F., Sha, J., Chen, Q., Tian, G., Zhu, Z., Ge, S., & Jiang, Y., 2020,** Effects of Potassium Levels on Plant Growth, Accumulation and Distribution of Carbon, and Nitrate Metabolism in Apple Dwarf Rootstock Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 11, 904.
- Yalçın, E., Çelik, S. & İbanoğlu, E., 2008,** Foaming properties of barley protein isolates and hydrolysates. *European Food Research and Technology*, 226(5): 967–974.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Yang, S., Yunden, J., Sonoda, S., Doyama, N., Lipkowski, A. W., Kawamura, Y., & Yoshikawa, M., 2001**, Rubiscolin, a  $\delta$  selective opioid peptide derived from plant Rubisco. *FEBS Letters*, 509(2): 213–217.
- Yang, S., Zhang, Q., Yang, H., Shi, H., Dong, A., Wang, L., & Yu, S., 2022**, Progress in infrared spectroscopy as an efficient tool for predicting protein secondary structure. *International Journal of Biological Macromolecules*, 206: 175–187.
- Yang, W., Su, Y., Wang, R., Zhang, H., Jing, H., Meng, J., Zhang, G., Huang, L., Guo, L., Wang, J., & Gao, W., 2024**, Microbial production and applications of  $\beta$ -glucosidase-A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 256, 127915.
- Yaqub, S., Farooq, U., Shafi, A., Akram, K., Murtaza, M. A., Kausar, T., & Siddique, F., 2016**, Chemistry and Functionality of Bioactive Compounds Present in Persimmon. *Journal of Chemistry*, 2016(1), 3424025.
- Yeasmen, N., & Orsat, V., 2024**, Pulsed ultrasound assisted extraction of alternative plant protein from sugar maple leaves: Characterization of physical, structural, thermal, electrical, and techno-functional properties. *Food Hydrocolloids*, 152, 109960.
- You, X.Y., Ding, Y., Bu, Q.Y., Wang, Q.H., & Zhao, G.P., 2024**, Nutritional, Textural, and Sensory Attributes of Protein Bars Formulated with Mycoproteins. *Foods*, 13(5).
- Youshanlouei, Y. A., Kiani, H., Mousavi, M., Mousavi, Z. E., Tao, Y., & Halim, R., 2024**, Persian everlasting pea (*Lathyrus rotundifolius* L.) protein isolate as a potential protein source for food application: Effect of ultrasound-assisted extraction method on the properties of the protein isolates. *Journal of Food Process Engineering*, 47(1), e14533.
- Youshanlouei, Y.A., Kiani, H., Mousavi, M., & Mousavi, Z.E., 2022**, Grass pea (*Lathyrus sativus* L.) protein yield and functionality as affected by extraction method: Alkaline, ultrasound-assisted, and ultrasound pretreatment extraction. *Cereal Chemistry*, 99(4): 931–946.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

- Yu, G., Liu, H., Venkateshan, K., Yan, S., Cheng, J., Sun, X. S., & Wang, D., 2011**, Functional, Physiochemical, and Rheological Properties of Duckweed (*Spirodela polyrhiza*) Protein. *Transactions of the ASABE*, 54(2): 555–561.
- Yu, J., Ahmedna, M., & Goktepe, I., 2007**, Peanut protein concentrate: Production and functional properties as affected by processing. *Food Chemistry*, 103(1): 121–129.
- Zhang, D. Q., Mu, T. H., Sun, H. N., Chen, J. W., & Zhang, M., 2017**, Comparative study of potato protein concentrates extracted using ammonium sulfate and isoelectric precipitation. *International Journal of Food Properties*, 20(9): 2113–2127.
- Zhang, R., Zhang, Y., Wu, Y., Liu, J., Ye, T., & Wang, S., 2018**, Succinylated whey protein isolate as a sustained-release excipient of puerarin derivative oral tablets: Preparation, optimization and pharmacokinetics. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(4): 383–394.
- Zhang, S., Zheng, H., Zhang, R., Shi, M., Ren, R., Cheng, S., & Dun, C., 2022**, Extraction optimization and antioxidant activity evaluation of se-enriched walnut proteins. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(7), e16719.
- Zhang, Y., Huang, X., Zeng, X., Li, L., & Jiang, Y., 2023**, Preparation, functional properties, and nutritional evaluation of chickpea protein concentrate. *Cereal Chemistry*, 100(2): 310–320.
- Zhao, L., Cheng, X., Song, X., Ouyang, D., Wang, J., Wu, Q., & Jia, J., 2023**, Ultrasonic assisted extraction of mulberry leaf protein: Kinetic model, structural and functional properties, in vitro digestion. *Process Biochemistry*, 128: 12–21.
- Zhao, Y., Wen, C., Feng, Y., Zhang, J., He, Y., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H., 2021**, Effects of ultrasound-assisted extraction on the structural, functional and antioxidant properties of *Dolichos lablab* L. Protein. *Process Biochemistry*, 101, 274–284.

**KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)**

**Zhao, Z., Shi, H. J., Wang, M. L., Cui, L., Zhao, H., & Zhao, Y., 2015,** Effect of nitrogen and phosphorus deficiency on transcriptional regulation of genes encoding key enzymes of starch metabolism in duckweed (*Landoltia punctata*). *Plant Physiology and Biochemistry*, 86: 72–81.

**Zorzi, C.Z., Garske, R.P., Flôres, S.H., & Thys, R.C.S., 2020,** Sunflower protein concentrate: A possible and beneficial ingredient for gluten-free bread. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 66, 102539.



## TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim hayatım boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, desteklerini hiç esirgemeyen saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Seda ERSUS'a emekleri ve hayatımdaki varlığı için sonsuz teşekkür ederim.

Tezimin bütün aşamalarını büyük bir özveriyle takip eden ve değerli vakitlerini ayırarak tezimin gelişmesi ve yayına dönüşmesi konusunda büyük katkı sağlayan tez izleme komitesi hocalarım Prof. Dr. Mehmet Yekta GÖKSUNGUR ve Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ'a çok teşekkür ederim. Doktora savunma jürimde yer almayı kabul ederek değerli vakitlerini ayıran hocalarım Prof. Dr. Ahmet YEMENİCİOĞLU ve Doç. Dr. Emine NAKİLCİOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Yakın zamanda kaybettiğimiz hayat tecrübeleriyle bize yol gösteren, akademik çalışmalarımızda hep destekçimiz olan kıymetli hocam Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Kemal DEMİRAĞ'a çok teşekkür ederim.

Süreç boyunca değerli arkadaşlıklarını ve yardımlarını esirgemeyen kıymetli ekip arkadaşlarım Dr. İdil TEKİN, Yük. Müh. Zülal AKSOY, Yük. Müh. Büşra YILMAZ, Berfu AZAK, Yük. Müh. Eylül Elif METİNER, Yük. Müh. Şule BAYRAK ve Yük. Müh. Öykü KILIÇ'a çok teşekkür ederim. Ayrıca, hayatımın önemli bir parçası olan aynı yolda yürüdüğüm tüm bu süreç boyunca desteklerini esirgemeyen kıymetli dostlarım Dr. Damla BAYANA, Dr. Berna ÖZTÜRK ve Büşra Zümrüt ÖCAL'a çok teşekkür ederim. Tezimin ilk aşamasında ham maddenin temini ve su mercimeği ile ilgili bilgilendirmeleri için Ege Üniversitesi Biyoloji Bölümü Botanik Anabilim dalında görevli hocamız Prof. Dr. Hasan YILDIRIM'a çok teşekkür ederim. FTIR analizlerim sırasında yardımını esirgemeyen Dr. Korcan KORBA'ya çok teşekkür ederim. Yağ analizlerim sırasında yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Onur ÖZDİKİCİLER'e çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca aldığım her kararda koşulsuz yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen çok değerli ailem; annem Ünzile AKYÜZ, babam Atila AKYÜZ, kardeşim Arda AKYÜZ ve Merve ASKERDEN'e çok teşekkür ederim.

Doktora çalışmalarım boyunca, YÖK 100/2000 Doktora Burs Programı (Sürdürülebilir Tarım) ve TÜBİTAK 2211/A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı tarafından burs almaya hak kazandım. Maddi desteklerinden dolayı ve

genç araştırmacıların her daim yanlarında oldukları için Yüksek Öğretim Kurulu (YÖK) ve Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) çok teşekkür ederim.

24/01/2025

İmzası

Ayça AKYÜZ



**ÖZGEÇMİŞ**

**Adı Soyadı:** Ayça AKYÜZ

**Öğrenim Bilgisi**

Doktora	Ege Üniversitesi-İZMİR-Gıda Mühendisliği (2019- )
Yüksek Lisans	Ege Üniversitesi-İZMİR-Gıda Mühendisliği – Meyve-Sebze İşleme Anabilim Dalı (2016-2018) (3,63/4,00)
Lisans	İstanbul Teknik Üniversitesi (İTÜ)-İstanbul-Gıda Mühendisliği (2011-2016) (2,89/4,00)

**Lisans Tezi**

**Tez Konusu:** Effects of Lentil, Chickpea And Bean Flour Substitutions on Cake Quality

**Danışman:** Doç. Dr. Dilara NİLÜFER ERDİL

**Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Konusu:** Gıda endüstrisi için alternatif bitkisel protein tozu üretimi (2018)

**Danışman:** Prof. Dr. Seda ERSUS

**Doktora Tezi**

**Tez Konusu:** Sürdürülebilir Su Mercimeği Üretimi ile Bitkisel Bazlı Protein ve Klorofil İçeren Sağlıklı Gıda Ürünlerinin Geliştirilmesi

**Danışman:** Prof. Dr. Seda ERSUS

**Makaleler**

- OSTOJÍĆ, S., MICIĆ, D., DUKIĆ, J., SABLJAK, I., **AKYÜZ, A.**, ERSUS, S. & JAMBRAK, A.N. (2025). Thermal Characteristics and Kinetics of the Thermal Degradation of Sugar Beet Waste Leaves and Pulp in Relation to Chemical Composition. *Foods*, 14, 1-21
- AKSOY, Z., **AKYÜZ, A.** & ERSUS, S. (2024). Optimization of Protein Extraction from Mallow Leaves: Enhancing Yield Through Various Extraction Methods. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 25-36.
- AKYÜZ, A.**, & ERSUS, S. (2024). Optimization of Hoagland solution macroelements as a culture media, for increasing protein content of duckweeds (*Lemna minor*). *Food Chemistry*, 453, 139647.
- AKYÜZ, A.**, TEKİN, İ., AKSOY, Z., & ERSUS, S. (2024). Plant Protein Resources, Novel Extraction and Precipitation Methods: A Review. *Journal of Food Process Engineering*, 47(10), e14758.
- AKYÜZ, A.**, TEKİN, İ., AKSOY, Z., & ERSUS, S. (2024). Determination of process parameters and precipitation methods for potential large-scale production of sugar beet leaf protein concentrate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(6), 3235-3245.
- ERSUS, S., & **AKYÜZ, A.** (2023). Enzyme assisted extraction of protein from mallow leaf (*Malva sylvestris* L.) for production of alternative protein concentrate. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(4), 3283-3294.
- ERSUS, S., YILMAZ, B., **AKYÜZ, A.**, VİSALİ, R., ALLAHVERDİYEVA, Z., ASKEROVA, I., ... & ALİYEVA, D. (2023). The effect of amaranth and fennel addition on the physical and chemical properties of breads. *Cereal Research Communications*, 52(2), 803-812.
- METİNER, E. E., ERSUS, S., YILMAZ, B., AKSOY, Z., **AKYÜZ, A.**, & TEKİN, İ. (2023). Pastörizasyon İşlemi Uygulanan Kuru Trabzon Hurmalarının Depolama Süresince Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. *Meyve Bilimi*, 10(Özel Sayı), 48-54.

**AKYÜZ, A., TEKİN, İ., & ERSUS, S., 2022.** Comparison Of Different Methods In The Extraction Of Phenolic Compounds From Bay Leaf (*Laurus Nobilis* L.). *Journal Of Apitherapy and Nature*, 5(1), 27-34.

**AKYÜZ, A., & ERSUS, S. (2021).** Optimization of enzyme assisted extraction of protein from the sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves for alternative plant protein concentrate production. *Food Chemistry*, 335, 127673.

**ERSUS, S., AKYÜZ, A., & TEKİN, İ. (2019).** Hydroxymethyl furfural formation in grape and pomegranate juices over heating treatments. In *Proceedings of the 1st International/11th National Food Engineering Congress, Antalya, Turkey* (pp. 7-9).

**AKYÜZ, A., & BİLEK, S. E. (2018).** Protein çöktürme yöntemlerinin karşılaştırılması. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(2), 83-92.

#### **Ulusal Düzeydeki Toplantılarda Yapılan Sunum ve Poster Bildirileri**

**TEKİN, İ., AKYÜZ, A., & ERSUS, S. (2022).** Yeni Nesiller İçin Sağlıklı ve Yenilikçi Atıştırmalıklar, Sürdürülebilir Gıda Sistemleri Kongresi, 10-12 Kasım 2022, Manisa (Poster Bildiri).

**AKYÜZ, A., TEKİN, İ., AKSOY, Z. & ERSUS, S. (2022).** Gıda Endüstrisinde Vegan Ürünlerin Yeri ve Önemi, Sürdürülebilir Gıda Sistemleri Kongresi, 10-12 Kasım 2022, Manisa (Poster Bildiri).

**ERSUS, S., METİNER, E.E., YILMAZ, B., AKSOY, Z., AKYÜZ, A. & TEKİN, İ. (2022).** Pastörizasyon İşlemi Uygulanan Kuru Trabzon Hurmalarının Depolama Süresince Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi, Ulusal Meyvecilik Sempozyumu, 27-30 Eylül Eğirdir, Isparta (Sözlü Bildiri).

**ERSUS, S., TEKİN, İ., AKYÜZ, A. & YALÇIN MELİKOĞLU, A. (2020).** Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Kosullarının Bezelye Kabuğu, Nar Çekirdeği ve Nar Kabuğundan Fenolik Bileşik Ekstraksiyonu Üzerine Etkisi, Poster Sunumu, Türkiye 13. Gıda Kongresi 21-23 Ekim 2020, Çanakkale (Poster Bildiri).

**AKYÜZ, A., TEKİN, İ. & ERSUS, S. (2020).** Alternatif Bitkisel Protein Kaynakları, Poster Sunumu, Türkiye 13. Gıda Kongresi, 21-23 Ekim 2020, Çanakkale (Poster Bildiri).

ERSUS BILEK, S., ÇETİNER, M., **AKYÜZ, A.** & HAYATIOĞLU, N. (2017). Atıştırmalık Nar Üretimi, 10. Gıda Mühendisliği Kongresi, 9-11 Kasım 2017, Antalya.

TEKİN, İ., **AKYÜZ, A.**, & ERSUS BILEK, S. (2017). Moleküler Tarçın-Zencefil-Bal Kürecikleri Üretimi, 10. Gıda Mühendisliği Kongresi, 9-11 Kasım 2017, Antalya.

### **Uluslararası Düzeydeki Toplantılarda Yapılan Sunumlar**

TEKİN, İ., **AKYÜZ, A.**, AKSOY, Z. & ERSUS, S. (2024). Determination of Physicochemical Properties of Faba Bean, Sunflower, and Pumpkin Seed Plant Protein Concentrates, International Sustainability in Life Congress (SUIC), held on May 19-22, 2024, Kuşadası, AYDIN (Poster Presentation).

**AKYÜZ, A.**, ERSUS, S. (2024). Effect of pH Value of Growing Medium on Protein and Biomass of Duckweed, International Sustainability in Life Congress (SUIC-2024) held on May 19-22, 2024/Kuşadası, AYDIN (Poster Presentation).

**AKYÜZ, A.**, TEKİN, İ., AKSOY, Z. & ERSUS, S. (2024). Comparison of Some Assisted Extraction Methods To Improve Protein Yield From Sugar Beet Leaves, International Sustainability in Life Congress (SUIC), held on May 19-22, 2024, Kuşadası, AYDIN (Oral Presentation).

BASDEMİR, E., CANTURK, E., OZTOP, M. H., ERSUS, S., **AKYUZ, A.** & TEKİN, I. (2023) Observing The Wetting Of A Tomato Leather-Cheese Sandwich By Magnetic Resonance Imaging (MRI), 7th International ISEKI-Food Conference (ISEKI-Food 2023), Paris, 5-7 July (Oral Presentation).

PLESLIĆ, S., STULIĆ, V., VUKUŠIĆ PAVIČIĆ, T., ZADRAVEC, M., ERSUS, S., **AKYUZ, A.**, TEKİN, I., AKSOY, Z., OZTOP, M. H. & MALTAR-STRMEČKI, N. (2022). Comparative study on physicochemical properties of tomato juices with non-irradiated and irradiated supplements: olive powder and sugar-beet leaves protein, 2022 Annual Conference and Exhibition: Functional Foods, Nutraceuticals, Natural Health Products, and Dietary Supplements (ISNFF), Istanbul, 02-05 October (Oral Presentation).

- AKYÜZ, A. & ERSUS, S.** (2022). Change in the Biomass and Protein Ratio of Duckweed According to the Growing Conditions, IV-INTERNATIONAL BAKU CONFERENCE ON SCIENTIFIC RESEARCH held on November 30-December 01, 2022, Baku-Azerbaijan Baku Odlar Yurdu University (Oral Presentation).
- AKYÜZ, A., TEKİN, İ. & ERSUS, S.** (2019). Comparison of different extraction methods of phenolic compounds from bay leaf (*Laurus nobilis* L.), 1st International/11th National Food Engineering Congress, 7-9 November, Antalya (Oral Presentation).
- ERSUS, S., AKYÜZ, A. & TEKİN, İ.** (2019). Hydroxymethyl Furfural Formation in Grape and Pomegranate Juices over Heating Treatments, 1st International/11th National Food Engineering Congress, 7-9 November, Antalya (Poster presentation).
- AKYÜZ, A., BİLEK, S.,** Comparison Of Protein Precipitation Methods In Sugar Beet (*Beta vulgaris* L.) Leaf, 3. Uluslararası Tarım, Gıda, Veteriner ve Eczacılık Bilimleri Konferansı (ICAFOP 2019) 16 -18 Nisan ,2019, Trabzon (Oral Presentation).
- BİLEK, S., AKYÜZ, A.** (2019). The Changes In Ascorbic Acid Content Of Frozen, Dried And Canned Pineapples, 3. Uluslararası Tarım, Gıda, Veteriner ve Eczacılık Bilimleri Konferansı (ICAFOP 2019) 16 -18 Nisan ,2019, Trabzon (Poster Presentation).
- ÇETİNER, M., AKYÜZ, A., YALÇIN MELİKOĞLU, A., HAYATİOĞLU, N., BİLEK, S.** (2018). Goji Berry (*Lycium Barbarum*) Meyvesinin Fitokimyasal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi, 6. Gıda Güvenliği Kongresi, 3-4 Mayıs 2018, İstanbul.

## Projeler ve Projelerde Aldığı Görevler

Proje No	Projedeki Görevi	Proje Adı	Başlama-Bitiş Tarihi	Destek Miktarı (TL)
TÜBİTAK (1002) 119O310	Bursiyer	Ebegümeci Yaprağından Alternatif Bitkisel Protein Tozu Üretimi ve Farklı Yöntemlerle Protein İzolasyonun Optimizasyonu	2019-2020	44.465,00 TL
EU-PRIMA 2032	Gönüllü Bursiyer	Functionalized Tomato Products (FunTomP)	2021/2025	-
TÜBİTAK (1002) 122O275	Bursiyer	Maş Fasulyesinden Bitkisel Protein İzolatı ve Polisakkarit Konjugatı ile Vegan Mayonez Üretimi	2022-2023	Bideb Burslusu

## Ödüller/Burslar

AYÇA AKYÜZ, 11.09.2019-11.09.2023, 100/2000 YÖK Doktora Bursu, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Sürdürülebilir Tarım alanında (Yüksek Lisans Dereceli Doktora).

AYÇA AKYÜZ, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2211-A Genel Yurt İçi Doktora Burs Programı, 01.12.2020 - 30.11.2024.

AYÇA AKYÜZ, Etkinlik Destekleri ve Eğitim Bursları Müdürlüğü, 2250-Lisansüstü Bursları Performans Programı, 2023- 2.

**Verilen Uygulamalı Dersler**

Üniversite Adı	Akademik Yıl	Dönem	Ders Adı
Ege Üniversitesi	2019-2020	Bahar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hububat Teknolojisi (4 sa)</li><li>• Bilgisayar Programlama (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2020-2021	Güz	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bilgisayar (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2020-2021	Bahar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Bilgisayar Programlama (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2021-2022	Güz	<ul style="list-style-type: none"><li>• Temel İşlemler Laboratuvarı (9 sa)</li><li>• Et Teknolojisi (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2021-2022	Bahar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meyve ve Sebze Teknolojisi (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2022-2023	Güz	<ul style="list-style-type: none"><li>• Temel İşlemler Laboratuvarı (3 sa)</li><li>• Bilgisayar (4 sa)</li></ul>
Ege Üniversitesi	2022-2023	Bahar	<ul style="list-style-type: none"><li>• Meyve ve Sebze Teknolojisi (4 sa)</li></ul>

**EKLER**

**Ek 1.** Bovine Gama Globulin kalibrasyon eğrisi

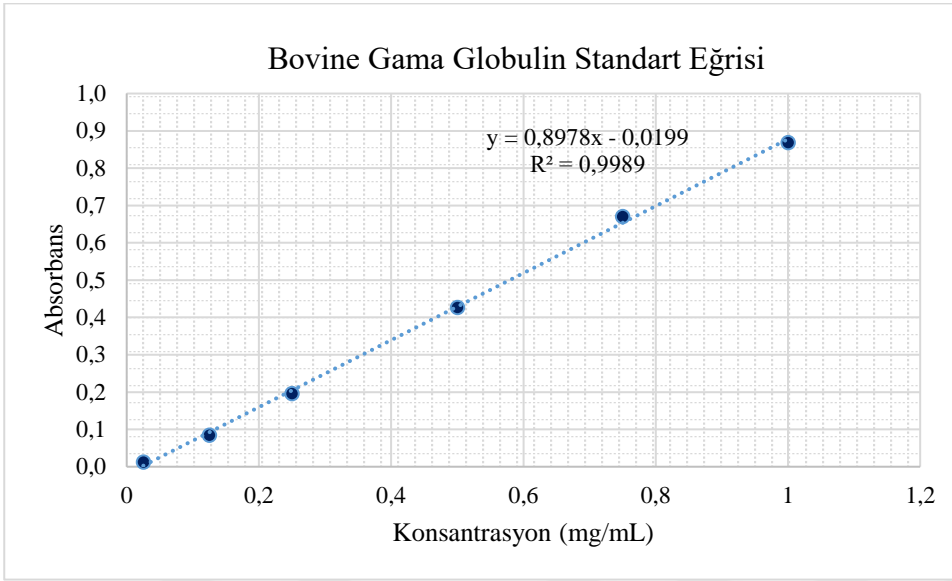
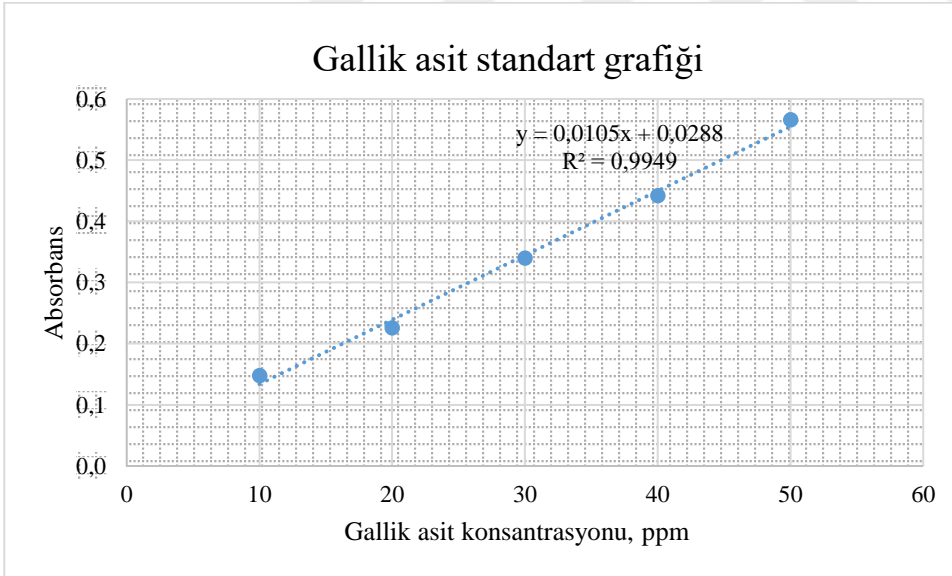
**Ek 2.** Toplam fenolik madde miktarı Gallik asit eşdeğer kalibrasyon eğrisi

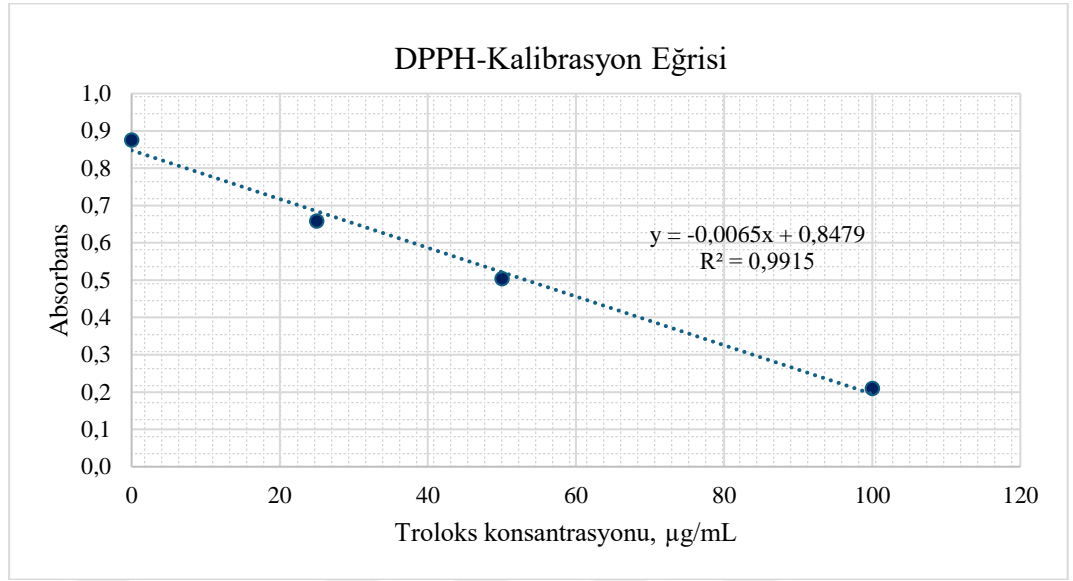
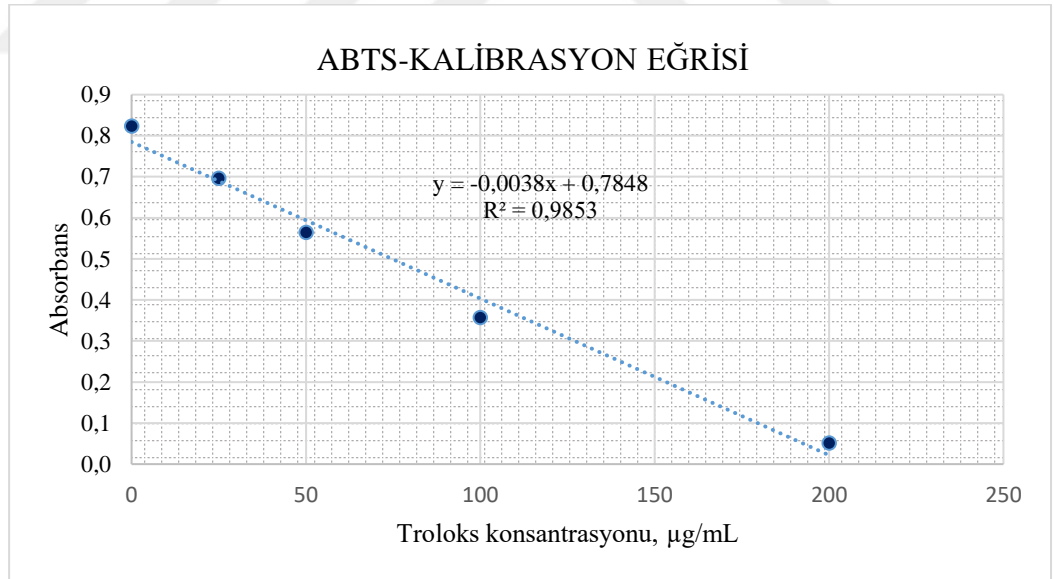
**Ek 3.** DPPH yöntemi Troloks eşdeğer kalibrasyon grafiği

**Ek 4.** ABTS yöntemi Troloks eşdeğer kalibrasyon grafiği

**Ek 5.** Toplam flavonoid miktarı kateşin kalibrasyon grafiği



**Ek 1.** Bovine Gama Globulin kalibrasyon eğrisi**Ek 2.** Toplam fenolik madde miktarı Gallik asit eşdeğer kalibrasyon eğrisi

**Ek 3. DPPH yöntemi Troloks eşdeğer kalibrasyon grafiği****Ek 4. ABTS yöntemi Troloks eşdeğer kalibrasyon grafiği**

**Ek 5.** Toplam flavonoid miktarı kateşin kalibrasyon grafiği