

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

DOKTORA TEZİ

**VIŞNE ÇEKİRDEĞİ PROTEİNİNİN FARKLI GLİKASYON YÖNTEMLERİ
İLE TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ**

Merve AKALAN

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ŞANLIURFA
2024**

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Proteinler	4
2.1.1. Bitkisel proteinler	5
2.2. Vişne (<i>Prunus cerasus</i> L.)	6
2.2.1. Vişne çekirdeği proteinleri	8
2.3. Proteinlerin Teknofonksiyonel Özellikleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı	9
2.3.1. Çözünürlük	9
2.3.2. Su tutma kapasitesi	10
2.3.3. Yağ bağlama kapasitesi	10
2.3.4. Köpük oluşturma	10
2.3.5. Emülsifikasyon	11
2.4. Bitkisel Proteinlerin Modifikasyonu	12
2.4.1. Maillard reaksiyonu	17
2.4.1.1. Maillard reaksiyon mekanizması	18
2.4.1.2. Glikasyon	20
2.4.1.3. Glikasyon yöntemleri	21
2.4.1.3.1. Islak ısıtma ile glikasyon	22
2.4.1.3.2. Mikrodalga destekli glikasyon	23
2.4.1.3.3. Ultrases destekli glikasyon	25
2.5. Bitkisel Proteinlerin Endüstriyel Uygulama Alanları	28
2.5.1. Bitkisel protein bazlı et analogları	28
2.5.2. Et analogları üretim teknikleri	30
2.5.2.1. Dondurarak yapılandırma tekniği	31
3. MATERYAL ve YÖNTEM	33
3.1. Materyal	33
3.2. Yöntem	33
3.2.1. Vişne çekirdeği proteininin özütlenmesi	36
3.2.2. Maillard konjugatlarının üretimi	38
3.2.2.1. Islak ısıtma glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi	38
3.2.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi	38
3.2.2.3. Ultrases destekli glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi	39
3.3. Analizler	40
3.3.1. Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi	40
3.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)	41
3.3.3. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri	41
3.3.4. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	42
3.3.4.1. Su aktivitesi	42
3.3.4.2. Renk	42
3.3.4.3. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu	42
3.3.4.4. Hausner oranı ve Carr indeksi	43
3.3.4.5. Nem miktarı	43
3.3.5. Termal kararlılık analizi (TGA)	44
3.3.6. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	44
3.3.6.1. Çözünürlük	44
3.3.6.2. Su tutma kapasitesi	44
3.3.6.3. Yağ bağlama kapasitesi	45

3.3.6.4. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi	46
3.3.6.5. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	46
3.3.6.6. Stabilite katsayısı	48
3.3.6.7. Santrifüj çökme oranı	48
3.3.7. Protein ve Maillard konjugat emülsiyonlarının fiziksel stabilitesi	49
3.3.7.1. Emülsiyonların stabilitelere farklı sıcaklıkların etkisi	49
3.3.7.2. Emülsiyonların stabilitelere farklı pH değerinin etkisi	49
3.3.7.3. Emülsiyonların stabilitelere farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi	49
3.3.7.4. Emülsiyonların stabilitelere dondurup-çözüldürmenin etkisi	49
3.3.7.5. Optik mikroskopi ve parçacık boyutu analizi	50
3.4. Protein ve Maillard Konjugatlarından Köfte Analogu Üretimi	50
3.5. Köfte Analogları Analizleri	52
3.5.1. Fizikokimyasal analizler	52
3.5.1.1. Nem içeriği	52
3.5.1.2. Protein miktarı	52
3.5.1.3. pH değeri	52
3.5.1.4. Renk	52
3.5.1.5. Morfolojik yapı (SEM)	53
3.5.1.6. Tekstürel profil analizi (TPA)	53
3.5.1.7. <i>In vitro</i> sindirilebilirlik	53
3.5.1.8. Duyusal analiz	55
3.6. İstatistiksel analizler	56
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA	57
4.1. Maillard Konjugatlarının Üretimi İçin İşlem Koşullarının Optimizasyonu	57
4.1.1. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının işlem koşullarının optimizasyonu	57
4.1.2. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının işlem koşullarının optimizasyonu	60
4.2. Maillard Konjugatlarının Glikasyon Derecesi	64
4.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi	66
4.4. Protein ve Maillard Konjugatların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi	70
4.5. Protein ve Maillard Konjugatlarının Fizikokimyasal Özellikleri	72
4.6. Protein ve Maillard Konjugatlarının Termal Kararlılık Analizi (TGA)	74
4.7. Protein ve Maillard Konjugatlarının Teknofonksiyonel Özellikleri	76
4.7.1. Çözünürlük	76
4.7.2. Su tutma ve yağ bağlama kapasitesi	77
4.7.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi	78
4.7.4. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	80
4.7.5. Stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı	84
4.8. Protein ve Maillard Konjugat Emülsiyonlarının Fiziksel Stabilitesi	86
4.8.1. Emülsiyonların stabilitelere farklı sıcaklıkların etkisi	86
4.8.2. Emülsiyonların stabilitelere farklı pH değerinin etkisi	91
4.8.3. Emülsiyonların stabilitelere farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi	96
4.8.4. Emülsiyonların stabilitelere dondurup-çözüldürmenin etkisi	100
4.9. Köfte Analoglarının Analizleri	104
4.9.1. Fizikokimyasal özellikler	104
4.9.2. Morfolojik yapı	107
4.9.3. Tekstürel profil analizi (TPA)	108
4.9.4. <i>In vitro</i> sindirilebilirlik	111
4.9.5. Duyusal analiz	113
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	115
5.1. Sonuçlar	115
5.2. Öneriler	116
KAYNAKLAR	117
ÖZGEÇMİŞ	134
EKLER	134

ÖZET

Doktora Tezi

VIŞNE ÇEKİRDEĞİ PROTEİNİNİN FARKLI GLİKASYON YÖNTEMLERİ İLE TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN GELİŞTİRİLMESİ

Merve AKALAN

Harran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN

YIL:2024, Sayfa:136

Bitkisel proteinlerin, sürdürülebilirlik ve sağlık açısından geleceğin önemli protein kaynakları olması beklenmektedir. Ancak bitkisel proteinlerin gıda endüstrisinde fonksiyonel içerik olarak kullanımı, hayvansal proteinlere göre daha düşük köpürme, emülsifiye etme özelliklerinden dolayı oldukça sınırlıdır. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için umut verici bir yaklaşım, bitkisel proteinlerin Maillard reaksiyonu yoluyla glikasyonudur. Maillard reaksiyonunun ilk aşaması aracılığıyla protein ve polisakkarit arasında oluşturulan kovalent bağlanma, proteinin teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmektedir. Bu çalışma kapsamında vişne çekirdeği proteini; Arap zıkkı, karboksimetil selüloz ve pektin polisakkaritleri ile ıslak ısıtma glikasyon, mikrodalga destekli glikasyon ve ultrases destekli glikasyon yöntemleri ile Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyonda en uygun işlem parametrelerinin belirlenmesi için yanıt yüzey metodolojisi (RSM) ile optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga destekli glikasyon için güç (Watt) ve işlem süresi (dk), ultrases destekli glikasyon için ise genlik (%) ve işlem süresi (dk) bağımsız değişkenler olarak tanımlanırken, glikasyon derecesi bağımlı değişken olarak tanımlanmıştır. Optimum noktalarda elde edilen Maillard konjugatlarının karakterizasyonu glikasyon derecesi, FTIR ve SEM analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Konjugasyon işlemi vişne çekirdeği proteininin çözünürlük, su tutma/yağ bağlama, köpük oluşturma kapasitesi/stabilitesi ve emülsiyon aktivitesi/stabilitesi gibi teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmiştir. Ancak bu gelişim, farklı polisakkarit tipi/glikasyon yöntemine göre değişkenlik göstermiştir. Gıda sistemlerindeki protein ve Maillard konjugatlarının emülsifikasyon özelliklerini değerlendirmek için, oluşturulan emülsiyonlar farklı sıcaklık, pH ve tuz konsantrasyonları, donma-çözülme işlemi gibi çevresel streslere maruz bırakılmışlardır. Sonuçlar, karboksimetil selüloz ve pektin varlığında hazırlanan konjugatların emülsifiye edici özelliklerinin, Arap zıkkı varlığında hazırlanan konjugat ve tek başına vişne çekirdeği proteinine göre ön plana çıktığını göstermiştir. Glikasyon yöntemlerinden mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların en iyi teknofonksiyonel özellikleri sergilediği belirlenmiştir. Bu bağlamda, gıda endüstrisinde uygulamaya yönelik, mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar ile model gıda analog köfte üretimi gerçekleştirilmiştir. Kontrol olarak vişne çekirdeği proteini ile formüle edilen köfte analogu kullanılmıştır. Köfte analogları fizikokimyasal özellikler, morfolojik yapı, *in vitro* sindirilebilirlik ve duyu analizi yönünden incelenmiştir. Sonuçlar, formülasyonunda karboksimetil selüloz ile konjuge edilen vişne çekirdeği proteinini içeren köfte analogunun öne çıktığını göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELELER: Vişne çekirdeği proteini, Maillard reaksiyonu, protein-polisakkarit konjugasyonu, teknofonksiyonel özellikler, et analogu

ABSTRACT

PhD Thesis

IMPROVEMENT OF TECHNOFUNCTIONAL PROPERTIES OF SOUR CHERRY SEED PROTEIN BY DIFFERENT GLYCATION METHODS

Merve AKALAN

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

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN

Year: 2024, Page:136

Plant based proteins are expected to be important protein sources of the future in terms of sustainability and health. However, the use of plant proteins as functional ingredients in the food industry is reasonably limited due to their lower foaming and emulsifying properties than animal based proteins. A promising approach to overcome these limitations is the glycation of plant proteins via the Maillard reaction. The covalent bonding formed between protein and polysaccharide through the first stage of the Maillard reaction can improve the technofunctional properties of the protein. In this context, within the scope of the study, sour cherry seed protein; Gum arabic was conjugated with carboxymethyl cellulose and pectin polysaccharides by wet heating glycation, microwave-assisted glycation and ultrasound-assisted glycation methods. Optimization was carried out with response surface methodology (RSM) to determine the most suitable process parameters in microwave and ultrasound-assisted glycation. While power (Watt) and processing time (min) were defined as independent variables for microwave-assisted glycation, amplitude (%) and processing time (min) were defined as independent variables for ultrasound-assisted glycation, the degree of glycation was defined as the dependent variable. Characterization of Maillard conjugates obtained at optimum points was carried out by glycation degree, FTIR, and SEM analyses. The conjugation process improved the techno-functional properties of sour cherry seed protein namely solubility, water retention/oil binding, foaming capacity/stability and emulsion activity/stability. However, this development varied depending on the different polysaccharide type/glycation method. By microwave-assisted glycation, conjugates with a higher degree of glycation were obtained with a shorter processing time. To evaluate the emulsification properties of protein and Maillard conjugates in food systems, the created emulsions were exposed to environmental stresses namely different temperature, pH and salt concentrations, and freeze-thaw process. The results showed the emulsifying properties of the conjugates prepared in the presence of carboxymethyl cellulose and pectin were prominent compared to the conjugate prepared in the presence of Gum arabic. Among the glycation methods, conjugates obtained by microwave-assisted glycation exhibited the best technofunctional properties. In this context, patty analog production was carried out with conjugates obtained by microwave-assisted glycation for application to the food industry. Patty analogue formulated with sour cherry seed protein was used as a control. Patty analogues were examined for physicochemical properties, morphological structure, in vitro digestibility and sensory analysis. The results showed the patty analogue containing carboxymethyl cellulose-glycated conjugate in its formulation was the best.

KEYWORDS: Sour cherry seed protein, Maillard reaction, protein-polysaccharide conjugation, techno-functional properties, meat analogue

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca hiçbir konuda desteğini esirgemeyen, tez çalışmamda bilgi ve birikimleriyle bana yol gösteren, akademik kimliğimi şekillendiren, danışmanlığında çalışmaktan onur duyduğum Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN'a gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Doktora eğitimim süresince değerli yorum ve yönlendirmeleriyle tez çalışmamın gelişimine katkıda bulunan, tez izleme komitesi üyeleri Saygıdeğer Hocalarım Prof. Dr. Hasan VARDİN'e ve Doç. Dr. Fatih Mehmet YILMAZ'a gönülden teşekkür ederim.

Tezin değerlendirilmesi aşamasında değerli zamanlarını ayıran ve katkılar sunan, tez savunma sınavı jüri üyeleri Saygıdeğer Hocalarım Doç. Dr. Seda ERSUS'a ve Doç. Dr. Bülent BAŞYİĞİT'e gönülden teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımnda üretim ve analizlerde yardımcı olan, akademik kariyer yolunda birlikte yürüdüğümüz değerli çalışma arkadaşlarım Melike YÜCETEPE'ye, Gülbahar ALTUN'a, Kamile BAYRAK AKAY'a ve Öğr. Gör. Dr. Mehmet Şükrü KARAKUŞ'a teşekkür ederim.

Tez süresince gerekli tüm durumlarda desteklerini esirgemeyen kıymetli çalışma arkadaşlarım Öğr. Gör. Demet EKTİREN'e ve Öğr. Gör. Serap GÜNEŞ'e teşekkür ederim.

Tez çalışmama 21228 proje numarası kapsamında maddi destek veren Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Birimi'ne teşekkür ederim.

Sevgileri ve ahlaki değerleri ile hayatıma ışık tutan, akademik kariyer yolunda “Her yokuşun bir inişi vardır kızım” diyerek beni her zaman destekleyen sevgili anneme, babama ve kıymetli abilerime sonsuz teşekkür ederim.

Merve AKALAN

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Bitkisel proteinlerin köpük oluşturma özellikleri.....	11
Şekil 2.2. Bitkisel proteinlerin emülsifikasyon özellikleri	12
Şekil 2.3. Proteinlerin modifikasyon yöntemleri.....	14
Şekil 2.4. Maillard reaksiyonu mekanizması	18
Şekil 2.5. Karbonil grubu ile serbest amino grubu arasındaki reaksiyon	19
Şekil 2.6. Schiff bazı oluşum reaksiyonu	19
Şekil 2.7. Mikrodalga ısıtmanın temel mekanizması	24
Şekil 2.8. Ultrases cihazı çalışma mekanizması	26
Şekil 2.9. Et analogu üretim teknikleri	30
Şekil 3.1. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması	35
Şekil 3.2. Vişne çekirdeği proteini üretim aşamaları.....	37
Şekil 3.3. Köfte analogu üretim aşamaları	51
Şekil 4.1. Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi	66
Şekil 4.2. Protein, polisakkaritler ve Maillard konjugatlarının FTIR spektrumları	69
Şekil 4.3. Proteinin SEM görüntüsü	71
Şekil 4.4. Maillard konjugatlarının SEM görüntüleri.....	71
Şekil 4.5. Protein ve Maillard konjugatlarının TGA termogramları	75
Şekil 4.6. Protein ve Maillard konjugatlarının stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı	85
Şekil 4.7. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı sıcaklıkların etkisi	87
Şekil 4.8. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda görünüşleri	88
Şekil 4.9. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda görünüşleri .	88
Şekil 4.10. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda mikrografları	90
Şekil 4.11. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı pH değerlerinin etkisi	91
Şekil 4.12. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde görünüşleri	93
Şekil 4.13. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde görünüşleri	93
Şekil 4.14. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde mikrografları	95
Şekil 4.15. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi	97
Şekil 4.16. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında görünüşleri.....	98
Şekil 4.17. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında görünüşleri	98
Şekil 4.18. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında mikrografları.....	99
Şekil 4.19. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna donma-çözme işleminin etkisi.....	101
Şekil 4.20. Vişne çekirdeği proteini ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların donma-çözme işlemi sonrası görünüşleri.....	102
Şekil 4.21. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların donma-çözme işlemi sonrası ışık mikroskobu görüntüleri	103
Şekil 4.22. Köfte analoglarının çiğ ve pişmiş görselleri.....	106
Şekil 4.23. Protein ve Maillard konjugatlar ile üretilen köfte analoglarının SEM görüntüleri.....	108
Şekil 4.24. Köfte analoglarının tekstürel özellikleri.....	110
Şekil 4.25. Köfte analoglarının <i>in vitro</i> sindirilebilirliği	112
Şekil 4.26. Köfte analoglarının duyu parametreleri	114

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.1. Bitkisel proteinlerin farklı modifikasyon yöntemleri ile yürütülen çalışmalar.....	15
Çizelge 2.2. Farklı glikasyon yöntemleri ile yürütülen çalışmalar	27
Çizelge 3.1. Mikrodalga ısıtma ile glikasyon için bağımsız değişkenlerin alt ve üst seviyeleri	38
Çizelge 3.2. Ultrases destekli glikasyon için bağımsız değişkenlerin alt ve üst seviyeleri	40
Çizelge 3.3. In vitro sindirim prosedüründe kullanılan simüle ağız, mide ve bağırsak sıvıları ve stok çözeltileri	54
Çizelge 4.1. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri.....	57
Çizelge 4.2. Mikrodalga destekli Maillard konjugat üretim koşullarının model istatistik sonuçları	58
Çizelge 4.3. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretim koşullarının model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları.....	59
Çizelge 4.4. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları	60
Çizelge 4.5. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri.....	61
Çizelge 4.6. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretim koşullarının model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları	62
Çizelge 4.7. Ultrases destekli Maillard konjugat üretim koşullarının model istatistik sonuçları	63
Çizelge 4.8. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları	64
Çizelge 4.9. Vişne çekirdeği proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	73
Çizelge 4.10. Vişne çekirdeği proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	83
Çizelge 4.11. Köfte analoglarının fizikokimyasal özellikleri	105

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

VÇP	Vişne çekirdeği proteini
AZ	Arap zımkı
KMS	Karboksımetıl selüloz
P	Pektin
VÇP-AZ	Vişne çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatı
VÇP-KMS	Vişne çekirdeği proteini-karboksımetıl selüloz konjugatı
VÇP-P	Vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı
VÇP-KA	Vişne çekirdeği proteini içeren köfte analogu
VÇP-AZ-KA	Vişne çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatı içeren köfte analogu
VÇP-KMS-KA	Vişne çekirdeği proteini-karboksımetıl selüloz konjugatı içeren köfte analogu
VÇP-P-KA	Vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı içeren köfte analogu
II	Islak ısıtma ile glikasyon
MD	Mikroalga destekli glikasyon
US	Ultraseler destekli glikasyon
RSM	Yanıt yüzey yöntemi
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
TGA	Termogravimetrik analiz

1. GİRİŞ

Proteinler, hücrelerin temel yapısal ve fonksiyonel biyomateriyalleridir. Canlı organizmalar kendilerine özgü proteinleri üretebilmek için esansiyel aminoasitlere ihtiyaç duyarlar. Hayvan ve bitki dokuları ana protein kaynaklarıdır. Genel olarak hayvansal proteinler, bitkisel proteinlere göre daha yüksek oranda esansiyel aminoasit, çinko, demir ve B12 vitamini sağlar. Beslenmede protein ihtiyacı, çoğunlukla balık, süt, et ve yumurta gibi hayvansal kaynaklı gıdaları tüketerek karşılanır (Day ve ark., 2022). Ancak hayvansal proteinler besinsel açıdan bitkisel proteinlere kıyasla birçok avantaja sahip olmasına rağmen; hayvan refahı, karbon ayak izi gibi olumsuz çevresel etkileri ve sürdürülebilirliğin olmaması problem teşkil etmektedir. Bu nedenle, hayvansal proteinlere alternatif bitkisel protein kaynaklarının geliştirilerek bu problemin üstesinden gelmek için yenilenebilir nitelikteki protein kaynakları ve sürdürülebilir üretim uygulamaları araştırmaları son zamanlarda önem kazanmıştır. Gıda yan ürünlerinden elde edilen bitkisel kaynaklı proteinler, nüfusun artışı ve dünya çapında yeni protein kaynaklarına olan talebin artması nedeniyle ilgi görmeye başlamıştır (Moore ve ark., 2023).

Ülkemiz vişne üretiminde Rusya, Polonya ve Ukrayna gibi dünyanın önde gelen üreticileri arasında yer almaktadır. Dünya vişne üretiminin %14'lük kısmı Türkiye'de gerçekleşmektedir (FAOSTAT, 2020). Taze olarak tüketimi sınırlı olan vişne meyvesinin büyük bir kısmı endüstriyel olarak meyve suyu, pastacılık, konserve gibi ürünlere işlenmektedir. İşleme sırasında preslenen vişne meyvesinden sap, yaprak, posa ve çekirdek kısımları üretim atığı olarak ortaya çıkmaktadır. Yapısında protein, karbonhidrat yağ gibi değerli bileşenler ihtiva etmesinden dolayı vişne çekirdekleri ekonomik olarak değer yaratma potansiyeli taşımaktadır. Bu bağlamda, vişne çekirdeklerinin sıfır atık politikası ile değerlendirilerek ülke ekonomisine kazandırılması önem arz etmektedir. Yürütülen bu tez çalışmasında, endüstriyel atık olan vişne meyvesinin çekirdeği katma değerli alternatif bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmiştir.

Proteinler, yapısal ve düzenleyici görevlerin dışında, gıda veya biyomateryal üretiminde fonksiyonel bileşen olarak köpük oluşturma, su tutma, yağ bağlama, emülsifiye etme, jelleştirme görevlerini yerine getirmek için kullanılır. Özellikle emülsiyon tipi işlenmiş gıda ürünlerinde emülsiyon stabilitesi ve tekstürel yapı gibi önem arz eden özelliklerin ürüne kazandırılmasında proteinler aktif rol oynarlar (Phillips, 2013). Ancak bitkisel proteinlerin gıda endüstrisinde fonksiyonel bileşen olarak kullanımı, hayvansal proteinlere göre daha düşük çözünürlük, emülsifiye etme, köpürme, jelleştirme gibi özelliklerinden dolayı oldukça sınırlı olması problem teşkil etmektedir (McClements ve Grossmann, 2021). Bitkisel proteinlerin teknofonksiyonel özelliklerinin geliştirilerek gıda formülasyonlarında kullanımlarının yaygınlaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla bitkisel proteinler fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler ile modifiye edilerek teknofonksiyonel özellikleri geliştirilmektedir (Akharume ve ark., 2021). Kimyasal modifikasyon yöntemlerinden glikasyon, protein ve polisakkarit arasında kendiliğinden gerçekleşmesi, reaksiyonu başlatmak için ek kimyasal katkı maddesi gerektirmemesi, düşük enerji tüketimi, güvenli olması, kontrollü reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmesi ve çevre dostu olması avantajlarından dolayı son zamanlarda araştırmacılar tarafından ilgi görmüştür (Sedaghat Doost ve ark., 2020). Maillard reaksiyonu, indirgeyici şekerlerin karbonil grubu ile protein, peptit ve aminoasitlerin serbest amino gruplarının kovalent bağlanması ile gerçekleşen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonudur. Maillard reaksiyonunun başlangıç aşaması olarak bilinen glikasyon sırasında oluşan konjugatlar, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirerek gıda formülasyonlarında kullanımlarını önemli ölçüde artırır (Cui ve ark., 2021).

Protein-polisakkarit glikasyonu için kullanılan geleneksel yöntemler genellikle uzun reaksiyon süresi ve yüksek enerji tüketimi gerektirir. Ayrıca bazı karmaşık protein yapıları reaktif aminoasitlerin Maillard reaksiyonuna katılımını engellemesi ile modifikasyonda yetersiz kalabilmektedir (Wooster ve Augustin, 2006). Bu nedenle geleneksel yöntemlere alternatif olarak proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla son zamanlarda, mikrodalga ve ultrases gibi yeni ve yenilikçi teknolojiler yaygın olarak araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır (Mu ve ark., 2010). Mikrodalga ısıtma mekanizması, dipolar dönme ve iyonik iletim mekanizmaları

ile gıda matrisinde bulunan elektrolitleri ve iyonları etkileyerek Maillard reaksiyonunu hızlandırır. Böylece hızlı ve doğru bir ısıtma ile kısa reaksiyon süresi gibi avantajlar sağlar (Zhang ve ark., 2022). Öte yandan, ultrases uygulaması kavitasyon etkisi yaratarak yüzeylerdeki reaktif grupları açığa çıkarır ve glikasyon reaksiyonu teşvik edilir. Ayrıca geleneksel yöntemle kıyaslandığında yenilikçi yöntemler ile daha üstün fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklere sahip konjugatlar elde edilir (Mu ve ark., 2010). Literatürde, vişne çekirdeği proteininin mikrodalga ve ultrases destekli Maillard reaksiyonu gerçekleştirilen çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle vişne çekirdeği proteinin farklı polisakkaritler ile mikrodalga ve ultrases destekli glikasyonu, glikasyon sonrası teknofonksiyonel özelliklerinin araştırılması yeni bir yaklaşım sağlayacaktır.

Mevcut bilgiler ışığında, tez çalışmasının ana hipotezi, bitkisel protein kaynağı vişne çekirdeği proteininin, gıda formülasyonlarında fonksiyonel bileşen olarak kullanımını sağlamak için teknofonksiyonel özelliklerinin Maillard reaksiyonu yoluyla geliştirilmesidir. Bu amaçla, endüstriyel atık olan vişne çekirdeğinden, katma değeri yüksek vişne çekirdeği proteini elde edilmiş ve protein modifikasyonunda farklı glikasyon tekniklerinin (ıslak ısıtma, mikrodalga destekli ve ultrases destekli) teknofonksiyonel özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Ayrıca protein-polisakkarit glikasyonu için farklı polisakkaritlerin (Arap sakızı (AZ), karboksimetil selüloz (KMS), pektin (P)) etkisi araştırılmıştır. Çalışma kapsamında, yenilikçi teknolojiler mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon işlemlerinde etkili olan proses parametreleri (watt/genlik ve süre) yanıt yüzey yöntemi (RSM) ile optimize edilmiş ve Maillard konjugatlarının karakterizasyonu ortaya konulmuştur. Ayrıca Maillard konjugatları emülsifiye et hamuru prosesini kapsayan köfte analogu formülasyonunda kullanılmıştır. Böylece bitkisel proteinlerin düşük fonksiyonel özellik gösteren bileşen olarak gıda ürünlerinde kullanım sorunlarının önüne geçmeye yönelik potansiyeli değerlendirilmiştir. Bu amaçla, Maillard konjugatlarının fonksiyonel bileşen olarak gıda formülasyonlarında kullanımı kalite ve *in vitro* sindirilebilirlik açısından detaylı olarak ele alınmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Proteinler

Proteinler, aminoasitlerin peptit bağları ile bir araya gelmesiyle meydana gelen biyolojik makromoleküler yapılardır. Proteinleri oluşturan aminoasitler; karboksil grubu, amino grubu, radikal grup ve hidrojen gibi yapıların α -karbon atomuna bağlanması ile meydana gelen monomer yapılardır. Aminoasitleri oluşturan bu yapılardan radikal grupların farklı olması aminoasitler arasındaki temel farklılığı ortaya çıkarmaktadır (Fujii ve ark., 2018). Ayrıca polipeptit zincirindeki aminoasitlerin sayısı, türü ve dizilişi, proteinlerin molekül ağırlığı, konformasyonu, yükü, hidrofobikliği gibi moleküler özelliklerini dolayısıyla fonksiyonel özelliklerini de belirlemede etkili olmaktadır (Liu ve ark., 2017). Aminoasitler esansiyel ve esansiyel olmayan aminoasitler olmak üzere iki gruba ayrılır. Metiyonin, valin, lösin, lizin, izolösin, fenilalanin, triptofan ve teorin esansiyel aminoasitlerdir ve vücutta sentezlenemezler. Dolayısıyla bu aminoasitlerin farklı gıdalar aracılığı ile vücuda alınması gerekmektedir (Saldamlı ve Temiz, 2017). Beslenmede esansiyel aminoasitler genelde hayvansal kaynaklardan (et, balık, süt ürünleri, vb.) karşılanmaktadır. Dünya sağlık örgütü (WHO) verilerine göre, sağlıklı yetişkin bireyler için önerilen protein miktarı 0.83 g/kg/gün seviyesinde olması gerekmektedir (Wu, 2016). Ancak, nüfus artışı ile hayvansal kaynaklardan elde edilen proteinlerin yetersiz kalması, önümüzdeki yıllarda dünya genelinde protein eksikliğinin yaşanmasına neden olacağı ön görülmektedir. Dolayısıyla protein eksikliğinden kaynaklı sağlık sorunlarının artan boyutlarda seyredeceği problemi ile karşı karşıya kalınabilecektir (Wu ve ark., 2018). Dünya çapında et ve et ürünleri tüketiminin artması, hayvan refahı, nitrojen ve sera gazı emisyonları ile ilgili sorunları da beraberinde getirmektedir (Salehin ve ark., 2023; Westhoek ve ark., 2014). Hayvansal kaynaklı proteinlerin özellikle kardiyovasküler hastalıkları tetiklemesi, alternatif sürdürülebilir protein kaynaklarının araştırılmasına yönelimi arttırmıştır. Ayrıca son yıllarda vegan/vejetaryen beslenmeye olan eğilim de alternatif protein kaynağı arayışını desteklemiştir. Bu bağlamda, bitkisel kaynaklı proteinler, hayvansal kaynaklı proteinlere alternatif olarak araştırılmaktadır.

2.1.1. Bitkisel proteinler

Dünya üzerinde sanayileşmede ve küresel nüfusta dikkat çekici bir artış gerçekleşmektedir. Bu durum, çevresel açıdan sürdürülebilir nitelikte gıda kaynaklarının arayışını arttırmıştır. Artan nüfus ve tüketicilerin beslenme alışkanlıklarındaki değişim etkisiyle, diyetle alınması gereken protein ihtiyacının özellikle yenilenebilir kaynaklardan sağlanmasına yönelik araştırmalar güncel hale gelmiştir. Bu bağlamda bitkisel proteinlerin sürdürülebilir kökenli ve çevre dostu olmaları, ekonomik maliyetleri ve hayvansal kaynaklı proteinlerin kardiyovasküler, tansiyon gibi sağlık sorunlarına yol açması nedeniyle alternatif protein kaynağı olarak insan beslenmesinde yer alması hızlı bir ivme kazanmıştır (Wen ve ark., 2019). Bitkisel proteinlerin başlıca kaynakları buğday, mısır, pirinç, soya, bezelye, barbunya, nohut, mercimek, susam, keten tohumu gibi tahıllar, baklagiller, yağlı tohumlardır. Ayrıca, tarım kaynaklı bitkisel atıklar ve endüstriyel yan ürünler gibi sürdürülebilir ve düşük maliyetli ürünlerden bitkisel proteinler izole edilmesi gıda atıklarının azaltılmasında etkili olabilir (Sá ve ark., 2020). Tarımsal ve endüstriyel işleme atıklarının fonksiyonel protein kaynağı olarak araştırıldığı çalışmalar literatürde yer almaktadır. Özellikle tahıl yan ürünlerinden pirinç kepeği (Chandi ve Sogi, 2007), susam kepeği (Görgüç ve ark., 2019), buğday kepeği (Arte ve ark., 2019), baklagillerden soya fasulyesi (Preece ve ark., 2017), barbunya (Wani ve ark., 2015) gibi bitkisel protein kaynakları literatürde araştırmalara konu olmuştur.

Protein kaynağı olarak bitkisel materyallerin kullanımında, içerdikleri esansiyel aminoasit oranının hayvansal kaynaklara göre daha düşük olması (Hughes ve ark., 2011) ve alerjen maddelerin özüte geçmesi (Breiteneder ve Radauer, 2004) gibi dezavantajları bulunmaktadır. Özellikle soya proteini ile yapılan çalışmalarda alerjen protein tespit edilmiştir (L'Hocine ve Boye, 2007). Bu durumlardan dolayı, halihazırda var olan kaynaklardan ziyade, yeni ve yenilikçi kaynakların alternatif bitkisel protein kaynağı olarak araştırılması bilim adamlarının üzerinde durduğu bir konu olmuştur. Meyve işleme atıkları olarak çekirdek ve kabuklar fonksiyonel ve biyolojik özellikleri bakımından katma değeri yüksek kaynaklar olarak ön plana

çıkılmaktadır. Ülkemiz meyve üreticiliğinde büyük bir paya sahip olduğundan endüstriyel meyve yan ürün ve atıklarının değerlendirilerek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi ekonomik katkı sağlayacaktır. Literatürde meyve işleme yan ürünlerinden nar çekirdeği (Yücestepe ve ark., 2021), kayısı çekirdeği (Kıralan ve Ketenoglu, 2022) gibi değerlendirilen bitkisel kaynaklar mevcuttur. Ülkemiz vişne üreticiliğinde ön sıralarda yer alıyor olmasından dolayı endüstriyel yan ürünlerin değerlendirilmesi ve katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda yürütülen bu tez çalışmasında bitkisel protein kaynağı olarak vişne meyvesinin çekirdekleri kullanılmış ve atık olarak görülen çekirdeklerden değerli bir ürün olan bitkisel protein elde edilmiştir.

2.2. Vişne (*Prunus cerasus* L.)

Vişne, *Rosaceae* (gülgiller) familyasının *Prunus* cinsine ait sert çekirdekli bir meyvedir. Dünya çapında birçok *Prunus* türü vişne meyvesi tespit edilmesine rağmen, sadece kiraz (*Prunus avium*) ve vişne (*Prunus cerasus*) meyvelerinin tüketimi ve ticari amaçla kullanımı yaygındır (Shahi-Gharahlar ve ark., 2011). Kiraz, lezzetinden dolayı taze tüketimde, vişne ise şeker ve asit oranının yüksek olmasından dolayı çeşitli gıda ürünlerinde işleme sonrası kullanımı ile ön plana çıkmaktadır. Bu yüzden vişne endüstriyel bir meyve olarak değerlendirilmektedir (Yılmaz ve ark., 2015). Gıda endüstrisinde kullanımı yaygın olan vişnenin üretimi yıldan yıla artış göstermektedir. Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü'nün 2020 yılı raporuna göre, vişnenin tahmini küresel yıllık üretimi 1.479.045 tona ulaşmıştır (FAOSTAT, 2020). Yıllık vişne üretiminde Rusya, Ukrayna, Sırbistan, Polonya ve Türkiye ilk sıralarda yer almaktadır. Ülkemizde 2022 yılında 176.770 ton vişne üretimi bildirilmiştir. Türkiye'de vişne yetiştiriciliği tüm bölgelere yayılmış olmakla birlikte, iklim koşulları uygun olan sınırlı alanlarda ticari olarak tarım yapılmaktadır. Özellikle İç Anadolu bölgesinde Afyonkarahisar (43.430 ton), Konya (31.330 ton), Kütahya (25.990), Ankara (11.407 ton) ve Isparta (10.842 ton) vişne üretimi ile önde gelen illerimizdendir (TUIK, 2022).

Üretilen vişne meyveleri genellikle meyve suyu, reçel, marmelat ve şekerleme ürünlerinde kullanılmakta ya da dondurulmaktadır. Vişne meyvelerinin yaklaşık %85'i

işlendikten sonra vişne suyu, şarap veya kurutulmuş vişne olarak tüketim sektörüne sunulmaktadır. Meyve suyu sektörü bu oranın yaklaşık %30'luk kısmını oluşturmakla birlikte önemli miktarda atık madde olarak çekirdek ortaya çıkmaktadır (Toydemir ve ark., 2013). Bu atık madde ve yan ürünlerin potansiyel olarak geri kazanılarak gıda sanayinde değerlendirilmesi ülke ekonomisine katkı sağlayacaktır (Demirdöven ve ark., 2015). Vişnenin meyve suyu üretim prosesinde kullanımında temel işlem, presleme ile meyve dokusundan suyunun ayrılmasıdır. Presleme işleminde vişne meyvesinden yaprak, sap, posa ve çekirdek kısımları atık olarak ortaya çıkmaktadır. Konserve, pastacılık ya da reçel sektörlerinde vişne meyvesi dondurularak kullanılmadan önce çekirdek meyveden ayrılarak atık olarak değerlendirilir.

Vişne posası, meyvenin eti, çekirdeği ve kabuğundan oluşur. Meyve suyunun preslenmesinden sonra yan ürün olarak elde edilir ve kullanılan prosese göre meyvenin yaklaşık %15-28'lik kısmını oluşturur (Bajerska ve ark., 2015). Genellikle hayvan yemi ve atık olarak kullanılır. Bilimsel literatürde vişne meyvesi endüstriyel atığı olan posanın değerlendirilmesi ve geri kazanımı için çalışmalar mevcuttur. Özellikle diyet lifi ve antosiyanin gibi biyoaktif maddelerin eldesinde kullanılmıştır (Kołodziejczyk ve ark., 2013). Ayrıca içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde atıştırmalıklar, kahvaltılık gevrekler, fırınlanmış ürünler ve yoğurtlarda antioksidan olarak potansiyel kullanım alanlarına sahiptir (Greiby ve ark., 2013). Literatürde vişne meyvesinin işleme sonrası atık yan ürünlerinin karakterize edildiği çalışmalar yer almaktadır (Yılmaz ve ark., 2015). Ayrıca atık yan ürünlerin yüksek antioksidan kapasite gösterdiği (Nowicka ve ark., 2016) ve anti-inflamatuar aktivite sergilediği (Yılmaz ve ark., 2019) de araştırmacılar tarafından tespit edilmiştir. Öte yandan vişne çekirdeği, ağırlıkça %76.5 oranında sert kabuk ve %23.5 oranında yenilebilir iç çekirdekten oluşmaktadır (Kasapoğlu ve ark., 2021). Vişne çekirdeğinin içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde fonksiyonel gıda kaynağı olarak değerlendirilebileceği bildirilmiştir (Bak ve ark., 2010). Yapılan çalışmalarda, vişne çekirdeğinin insan ve hayvan deneklerinde tüketimi sonucu toksisite olmadığı kanıtlanmıştır (Bak ve ark., 2010; Csiki ve ark., 2015). Ayrıca dermaprotektif, kardiyoprotektif, anti-diyabet, antioksidan ve tedavi edici etkiler gibi bir takım fonksiyonel özellikleri de araştırılmıştır (Bak ve ark., 2011; Mahmoud ve ark., 2014). Bu fonksiyonel özellikler, vişne çekirdeğini gıda ve ilaç

endüstrisi açısından katma değeri yüksek bir ürün haline getiren önemli etkenler olarak belirtilebilir. Vişne çekirdeğinin karbonhidrat (% 46.6), protein (% 29.3) ve lipid (% 17.0) bakımından zengin olduğu bildirilmiştir (Yılmaz ve Gökmen, 2013). Aminoasit bileşimine bakıldığında, vişne çekirdeğinin en fazla glutamik asit içerdiği ve çoğu tahılda sınırlayıcı bir esansiyel aminoasit olan lizinin, vişne çekirdeklerinde nispeten yüksek miktarda mevcut olduğu rapor edilmiştir (Yılmaz ve Gökmen, 2013).

2.2.1. Vişne çekirdeği proteinleri

Ülkemiz, vişne üretiminde lider ülkeler arasında yer alması ve vişnenin daha çok endüstriyel bir meyve olarak kullanılması, ayrıca yapısında değerli bileşenler ihtiva etmesinden dolayı vişne çekirdekleri ekonomik olarak büyük değer taşımaktadır. Gıda yan ürünlerinden elde edilen bitkisel kaynaklı proteinler, bilim dünyasında ve gıda endüstrisinde atıkların geri kazanılması projeleri ile ele alınmaktadır. Literatürde susam kepeği, yulaf kepeği gibi protein içeriği %10-20 arasında değişen bitkisel kaynaklar değerlendirilerek yürütülen çalışmalar mevcuttur (Zhang ve ark., 2015; Görgüç ve ark., 2019). Vişne çekirdeğinin fizikokimyasal kompozisyonunun Kasapoğlu ve ark. (2021) tarafından %23.00 karbonhidrat, %39.40 yağ, %35.50 protein, %2.20 kül ve %5.70 nem içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Kasapoğlu ve ark., 2021). Bir başka çalışmada kullanılan vişne çekirdeğinin %30.52 protein, yağı alındıktan sonra kalan posasında ise % 47.26 protein içerdiği rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2021). Endüstriyel gıda atıklarından, karmaşık yapıya sahip olan proteinlerin eldesinde, öncelikle yağ ayırma işleminin daha sonra protein özütlemenin verimi ve saflığı arttırdığı literatürde bildirilmiştir (Çelik ve ark., 2019). Ayrıca özütlemeye kullanılan çözücünün farklı pH değerlerinde, protein verimine etkisinin olduğu ortaya koyulmuştur. Çalışmada asidik ve bazik koşullarda yüksek protein verimi (%70.50-78.90) elde edildiği, fakat izoelektrik noktaya yakınlığından dolayı pH 4, 5 ve 6 değerlerinde verimin düştüğü de rapor edilmiştir (Çelik ve ark., 2019).

2.3. Proteinlerin Teknofonksiyonel Özellikleri ve Gıda Endüstrisinde Kullanımı

Proteinlerin teknofonksiyonel özellikleri; işleme, pişirme, tüketim ve depolama esnasında gıda sistemlerindeki davranışlarını gösteren fiziksel ve kimyasal özelliklerini belirtmektedir. Gıda proteinlerinin teknofonksiyonel davranışları, proteinin boyutu, moleküler yapısı, aminoasit bileşimi, net yük dağılımı, hidrofilik ve hidrofobikliği gibi özellikleri ile ilgilidir. Proteinlerin gıdalarda işlevsel olarak kullanımı emülsifikasyon, köpük oluşturma, su tutma ve yağ bağlama gibi fonksiyonel özellikleri ile paralellik göstermektedir. Özellikle emülsiyon tipi işlenmiş gıdalarda emülsiyon stabilitesinin sağlanması, protein fonksiyonelliği için önem arz eder (Phillips, 2013). Gıda sistemlerinde proteinin arzu edilen fonksiyonu sağlayabilmesi için birden fazla işlevselliği bir arada göstermesi beklenir. Bu fonksiyonel özellikleri temel olarak hidrasyon özellikleri (çözünürlük, su tutma, yağ bağlama), reolojik özellikleri (jelleşme, viskozite) ve yüzey özellikleri (köpük oluşturma, emülsifikasyon) olmak üzere 3 farklı özellik ile belirlemektedir (Moure ve ark., 2006).

2.3.1. Çözünürlük

Proteinlerin çözünabilirliği, yüzeylerindeki hidrofobik ve hidrofilik grupların, solvent ile etkileşimi sonucu enerji değişimi ile ilişkilendirilmektedir. Çözünürlük; emülsifikasyon, köpük oluşturma gibi diğer fonksiyonel özellikleri etkileyen bir parametredir. Ayrıca düşük çözünürlük gösteren proteinlerin gıda proseslerinde kullanımları da kısıtlıdır (Phillips, 2013). Proteinlerde az sayıda hidrofobik grup olması, izoelektrik noktadaki pH değerinin altında veya üstünde elektrostatik itme etkisi, proteinlerin yüksek çözünürlükte olmasını sağlamaktadır (Moure ve ark., 2006). Proteinler, izoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde (4-6) düşük çözünürlük gösterirken, asidik veya bazik ortam koşullarında daha yüksek çözünürlük gösterirler (Boye ve ark., 2010). Özellikle içecekler, fırıncılık ürünleri, emülsifiye ürünler gibi gıda ürünlerinde fonksiyonel özelliklerini sergileyebilmesi için yüksek çözünürlük göstermesi gerekmektedir.

2.3.2. Su tutma kapasitesi

Proteinlerin su tutma kapasitesi, gıda işleme proseslerinde önem arz eden fonksiyonel özelliklerdendir. Proteinin gram başına tutabildiği su miktarı, su tutma kapasitesini belirtir. Düşük su tutma kapasitesine sahip gıdalar, özellikle depolama sırasında kuru ve kırılgan bir yapı gösterir (Boye ve ark., 2010). Proteinlerin su tutma kapasitesi, yapısındaki yüklü grupların sayısına, hidrofobikliğine, ortamın sıcaklığına ve pH değerine, protein konsantrasyonuna ve proteinin aminoasit profiline göre değişiklik göstermektedir (Moure ve ark., 2006). Gıda endüstrisinde fırıncılık ürünlerinde ve et ürünlerinde gevreklik, tazelik gibi kalite parametrelerinde su tutma kapasitesi etki etmektedir.

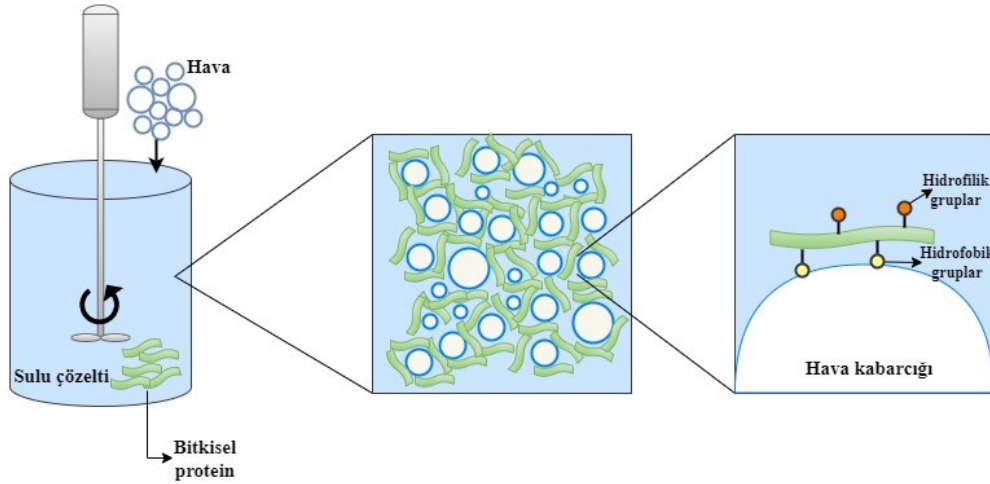
2.3.3. Yağ bağlama kapasitesi

Proteinlerin emülsifikasyon özelliğini etkileyen en önemli parametrelerden biri yağ bağlama kapasitesidir. Proteinin gram başına bağlayabildiği yağ miktarı, yağ bağlama kapasitesini belirlemektedir. Protein ile yağ arasında gerçekleşen etkileşim, gıdanın kalitesi ve tekstürel yapısı üzerinde etkilidir. Apolar grupların varlığı proteinin yağ bağlama mekanizmasını artırır. Ayrıca proteinin daha küçük partikül boyutunda olması daha iyi yağ absorbe ederek bağlamasını sağlar. Gıda endüstrisinde hamur oluşturma, aroma bağlama gibi proseslerde proteinin yağ bağlama özelliği önem arz etmektedir (Phillips, 2013). Gıda endüstrisinde özellikle az yağlı fırıncılık ürünlerinde, gevreklik ve tazelik gibi tekstürel özelliklerini etkilemektedir.

2.3.4. Köpük oluşturma

Proteinler, gıda ürünlerinde gaz halinde bulunan dağılmış fazın stabil hale gelmesi için yüzey aktif madde olarak kullanılırlar. Köpük oluşumu sırasında, havanın sıvı faza dahil olması ve dış etkenlere dayanıklı bir arayüzey filmi oluşması açısından geniş bir arayüzey alanının olması gerekir. Bu arayüzeyde proteinler birbiri üzerine

katlanarak apolar kısımları havanın yüzey kısmında kalacak biçimde dışarı doğru olur. Hava kabarcığı yüzeyine bağlanan proteinler kısmi denatüre olarak bir tabaka oluşturur. Oluşan bu tabaka hava kabarcıklarını hapseder ve bir araya toplanmasını engelleyerek köpük yapısının korunmasını sağlar (Yavuz ve Özçelik, 2016). Proteinlerin köpük oluşturma özellikleri Şekil 2.1.'de gösterilmiştir. Köpük oluşturma, proteinlerin çırpma ve köpürme esnasında hava yüzeyine hızla adsorbe olmasına, hava-su arayüzeyinde yüzey gerilimini azaltarak yeniden yapılanmasına dolayısıyla hızlı bir konformasyonel dönüşüme sahip olmasına, moleküller arası etkileşime girerek viskoelastik ve yapışkan bir yapıda film oluşturabilmesine bağlıdır. Ayrıca, bir proteinin köpük oluşturma kapasitesi, yüzey geriliminin artmasına, hidrofobiklik ve net yük dağılımı gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (Moure ve ark., 2006). Krema gibi çırpılmış gıda ürünlerinde, içeceklerde, keklerde köpük oluşumu önem arz eden fonksiyonel özelliktir.

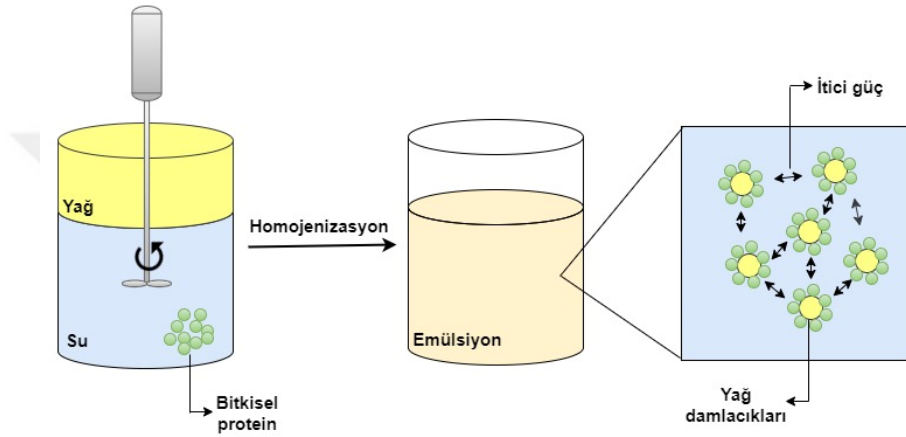


Şekil 2.1. Bitkisel proteinlerin köpük oluşturma özellikleri

2.3.5. Emülsifikasyon

Proteinlerin emülsifiye edici özellikleri işlenmiş et ürünleri, çorbalar, soslar, dondurma ve kek gibi gıda ürünlerinde önem arz eden bir fonksiyonel özelliktir. Proteinler emülsifiye edici özelliklerini, yağ damlacıklarının etrafında film tabakası oluşturarak gösterirler (Şekil 2.2.). Bu özellikleri ile proteinler, yağ damlacıklarının

birleşerek topaklaşma, flokülasyon, kremalaşma ve sedimentasyon gibi yapı değişikliklerin önüne geçer (Boye ve ark., 2010). Proteinlerin yüzey aktif madde özellikleri, yüzeye adsorbe olmalarına ve yüzey gerilimini düşürerek ince viskoelastik yapıda bir film oluşturmaya dayanır. Proteinlerin emülsifikasyon özellikleri hidrofobiklik, yük dağılımı, konformasyon, ortamın sıcaklığı ve pH değeri, molekül ağırlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterir (Moure ve ark., 2006).



Şekil 2.2. Bitkisel proteinlerin emülsifikasyon özellikleri

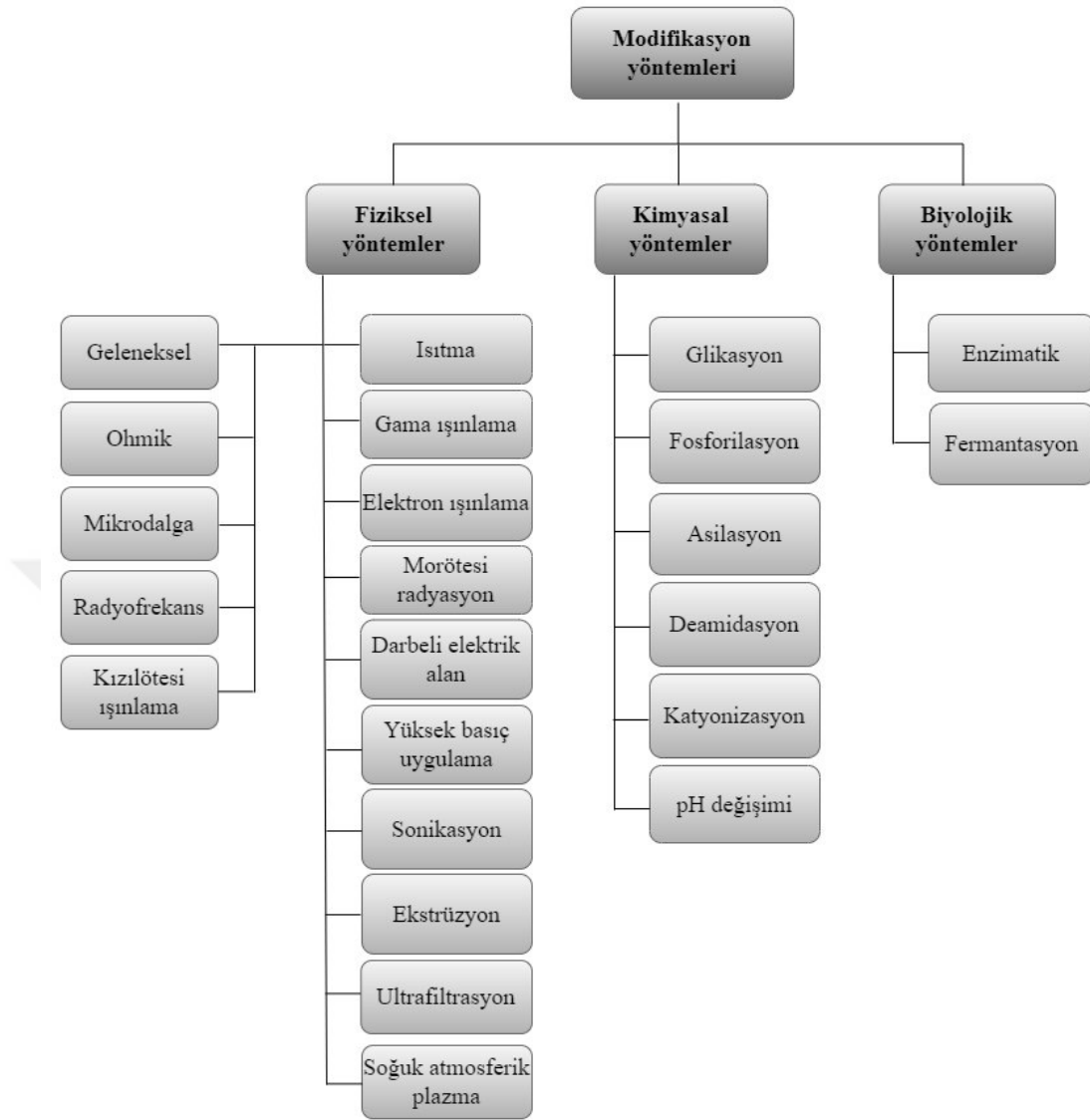
Bitkisel proteinlerin fonksiyonel özellikler açısından gıda endüstrisinde kullanımı, hayvansal proteinlere göre daha düşük köpürme, emülsifiye etme özelliklerinden dolayı oldukça sınırlıdır (McClements ve Grossmann, 2021). Bitkisel proteinlerin gıda formülasyonlarında yaygınlaştırılması ve daha uygulanabilir hale getirilmesi için teknofonksiyonel özellikleri çeşitli modifikasyon yöntemleri ile geliştirilmektedir. Modifiye edilmiş teknofonksiyonel özellikler, bitkisel proteinler için gıda endüstrisinde yeni kullanım alanı fırsatları sağlayacaktır.

2.4. Bitkisel Proteinlerin Modifikasyonu

Proteinler, insan beslenmesinde çeşitli aminoasitleri sağlamanın yanı sıra gıda formülasyonlarında su tutma, yağ bağlama, köpürme, jelleştirme, emülsifiye etme gibi arzu edilen fonksiyonel işlevsellikleri de sağlayan önemli bileşenlerdir (Cao ve Mezzenga, 2019). Bitkisel kaynaklardan elde edilen proteinlerin fonksiyonel

özellikleri hayvansal proteinlere göre daha düşük olduğundan proteinler modifiye edilerek geliştirilmiş özellikler kazandırılmaktadır. Proteinlerin modifikasyonu, moleküler yapısının veya bazı kimyasal gruplarının, fonksiyonel ve biyoaktivite olarak iyileştirilmesi amacıyla değiştirilmesini ifade eder. Bitkisel proteinlerin modifikasyonu, fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek onları gıda sistemleri fonksiyonel bileşenler haline getirme fırsatı sağlar (Nikbakht Nasrabadi ve ark., 2021). Protein modifikasyon yöntemleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler olarak sınıflandırılır. Bu yöntemler Şekil 2.3.'de sunulmuştur.

Proteinlerin işlevselliğini arttırmaya yönelik fiziksel yöntemler, herhangi bir kimyasal ya da enzim kullanılmadan gerçekleştirilen basit yaklaşımlardır. İşlem sırasında kimyasal madde kullanılmadığından dolayı olası kimyasal kalıntılarının istenmeyen sonuçları bu yöntemlerde görülme ihtimalini düşürmektedir. Protein çözeltisinin ısıtma gibi ısı işlem sırasında, polipeptit zincirleri açılarak sülfhidril grupları ve hidrofobik yan zincirleri daha fazla açığa çıkar. Bu yapısal değişiklikler bitkisel proteinlerin teknofonksiyonel özelliklerinin gelişmesinde rol oynar. Bir diğer yöntem olan proteinlerin kimyasal modifikasyonu, yeni fonksiyonel grupların eklenmesi ya da proteinin yapısından çıkarılması ile gerçekleştirilir. Kimyasal yöntemler düşük maliyet, verimlilik ve kullanım kolaylığı nedeniyle yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir.



Şekil 2.3. Proteinlerin modifikasyon yöntemleri

Biyolojik modifikasyon ise enzimatik ve fermantasyon işlemleri ile gerçekleştirilen yöntemdir. Çevre dostu olması ve toksik yan ürünler üretmeden daha az enerji ile gerçekleşen modifikasyon yöntemleridir. Ancak büyük ölçekli uygulamalarda enzim ve kültür maliyeti dezavantaj oluşturmaktadır (Nikbakht Nasrabadi ve ark., 2021). Bitkisel proteinlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik modifikasyon yöntemleri ile yapılan bazı çalışmalar Çizelge 2.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Bitkisel proteinlerin farklı modifikasyon yöntemleri ile yürütülen çalışmalar

Modifikasyon türü	Modifikasyon yöntemi	Bitkisel protein	Önemli bulgular	Referans
Fiziksel modifikasyon	Sonikasyon	Keten tohumu proteini	Geliştirilmiş emülsifiye edici özellikler, köpürme özelliği ve jelleşme	Juodeikiene ve ark., (2020)
	Soğuk atmosferik plazma	Keten tohumu proteini	Geliştirilmiş emülsifiye edici ve köpürme özellikleri	Xu ve ark., (2020)
	Gama ışınlama	Susam tohumu proteini	Geliştirilmiş emülsifiye edici ve köpürme özellikleri	Hassan ve ark., (2018)
	Isıtma	Soya protein izolatu	Geliştirilmiş köpürme kapasitesi ve stabilitesi	Shao ve ark., (2016)
Kimyasal modifikasyon	Glikasyon	Kolza tohumu protein izolatu	Geliştirilmiş çözünürlük, emülsifiye edici özellikler ve termal stabilite	Qu ve ark., (2018)
	Asilasyon	Bezelye proteini	Geliştirilmiş çözünürlük, su tutma kapasitesi, köpürme özellikleri ve emülsiyon stabilitesi	Shah ve ark., (2019)
	Fosforilasyon	Pirinç kepeği proteini	Geliştirilmiş emülsifikasyon özellikleri	Hu ve ark., (2019)
	pH değişimi	Nohut protein izolatu	Geliştirilmiş köpürme kapasitesi ve stabilitesi	Wang ve ark., (2022)
Biyolojik modifikasyon	Enzimatik	Bezelye protein izolatu	Geliştirilmiş köpürme ve emülsifiye edici özellikleri	García Arteaga ve ark., (2020)
	Enzimatik	Pirinç kepeği proteini	Geliştirilmiş emülsiyon stabilitesi	Zang ve ark., (2019)
	Fermantasyon	Soya proteini	Geliştirilmiş çözünürlük, su tutma ve yağ bağlama, köpük oluşturma özellikleri	Meinlschmidt ve ark., (2016)

Kimyasal modifikasyon yöntemlerinden Maillard reaksiyonu yoluyla protein glikasyonu; düşük enerji tüketimi, güvenli olması, kontrollü reaksiyon koşullarında gerçekleştirilmesi ve çevre dostu olması nedeniyle son zamanlarda araştırmacılar tarafından ilgi görmüştür (Sedaghat Doost ve ark., 2020). Protein ve karbonhidrat arasında gerçekleşen Maillard reaksiyon ürünü olan konjugatlar, diğer kimyasal yöntemlerle değiştirilmiş gıda proteinlerine göre daha güvenilir bir yöntemdir. Bu nedenle gıda ürünlerinin emülsifikasyon özelliklerini, dokusunu geliştirmek için gıdalara fonksiyonel bileşen olarak dahil edilebilir (Ge Pan ve Melton, 2007). Ayrıca Maillard konjugatları işleme ve depolama sırasında proteinlerin fonksiyonel özelliklerini değiştirmenin yanı sıra güçlü antioksidan aktivite (Morales ve Babbel, 2002), antibakteriyel aktivite (Rao ve ark., 2011) de gösterirler. Ek olarak, glikasyon ile modifiye edilmiş proteinlerin yapılarındaki alerjeniteyi azalttığı da araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Li ve ark., 2014).

Protein ve polisakkaritlerin bir arada olması, birçok gıda maddesinin stabilitesinde, reolojisinde, yapısında ve dokusunda önemli bir rol oynaması nedeniyle gıda endüstrisinde önem arz etmektedir. Proteinler emülsifikasyon özellikleri ve köpük oluşturma kapasitesi ile katkıda bulunurken, polisakkaritler kıvam artırıcı ve su tutucu özellikleri ile öne çıkmaktadır. Gıda maddelerinin stabilitesi ve yapısı sadece proteinlerin ve polisakkaritlerin özellikleri ile değil, protein-polisakkarit etkileşimlerinin doğasına ve etkileşim gücüne de bağlıdır. Bu yüzden protein-polisakkarit sistemlerinde meydana gelen etkileşimin sonuçları, gıda ürünlerinde arzu edilen özelliklerin geliştirilmesi yönünden önemli bir faktördür (Hemar ve ark., 2001).

Çalışma kapsamında VÇP'nin teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla polisakkaritler (AZ, KMS ve P) ile kontrollü şartlarda Maillard reaksiyonu (glikasyon) yoluyla etkileşime sokularak protein modifikasyonu gerçekleştirilmiştir.

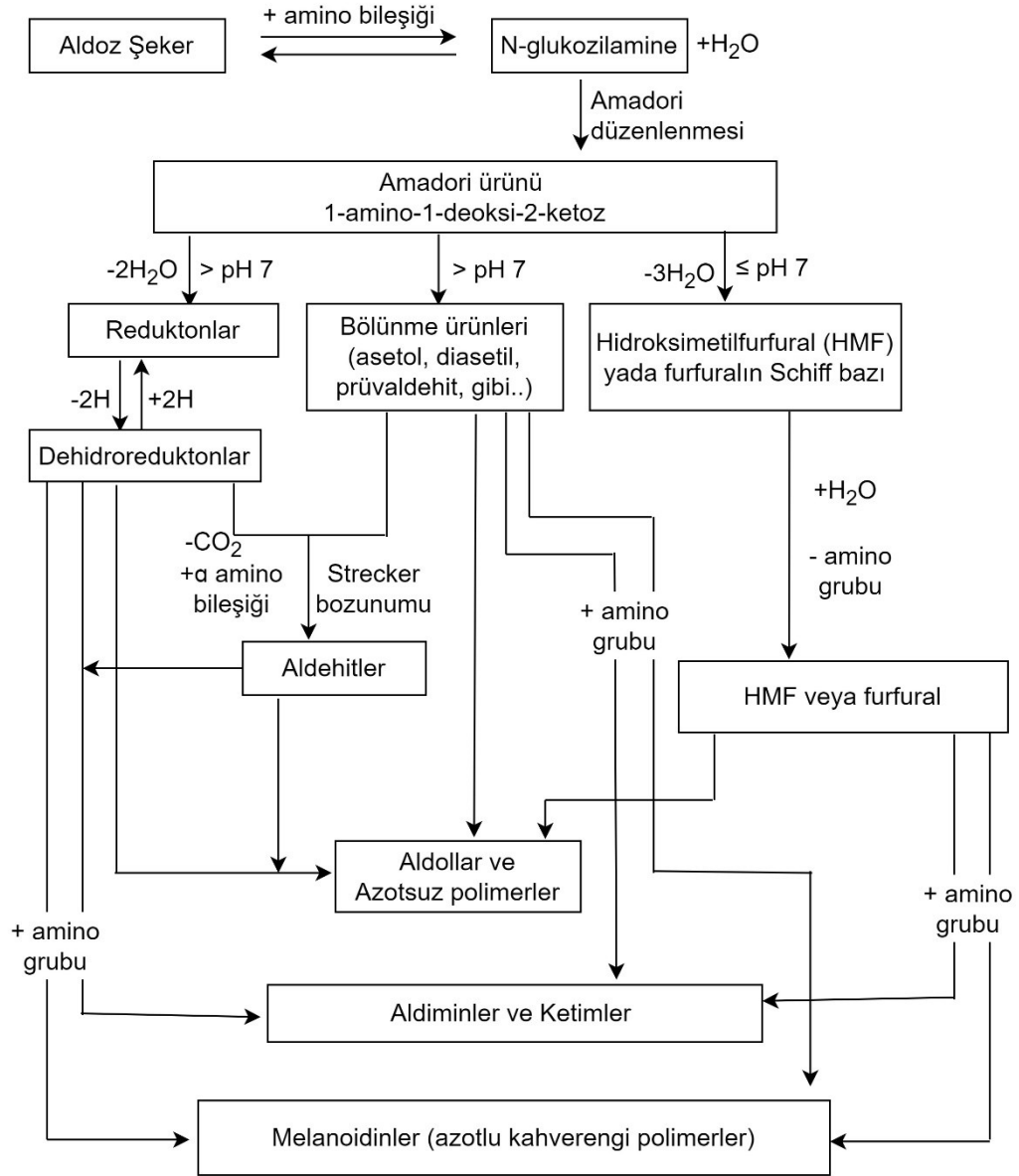
2.4.1. Maillard reaksiyonu

Maillard reaksiyonu, gıdaların ısıtılması veya depolanması sırasında, indirgeyici şekerlerin karbonil grubu ile protein, peptit ve aminoasitlerin serbest amino grupları arasında meydana gelen, enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonudur (Nooshkam ve Varidi, 2020). Adını 1912’de Fransız kimyager Louis Camille Maillard’dan almıştır. LC Maillard, gıdanın ısıtılması sırasında glikoz ve glisin arasında gerçekleşen reaksiyon sonucu melanoidin adı verilen koyu renkli pigmentlerin oluştuğunu bildiren ilk bilim adamı olmuştur (Maillard, 1912). Daha sonra, 1953 yılında Hodge, Maillard reaksiyonunu detaylandırarak yayınlanmış ve bu alanda araştırmaların devam etmesine yol açmıştır. 1979’da İsveç’te Maillard reaksiyonunun önemi ve sağlık üzerine etkilerinin konu alındığı ilk Maillard sempozyumu düzenlenmiştir (Gerrard, 2006). O zamanlardan günümüze Maillard reaksiyonu birçok farklı uygulama alanında yer bulmuştur.

Kontrollü seviyelerde gerçekleştiğinde ekmek, çay, kahve, bira, et vb. gıdaların aroma, renk, tat gibi arzu edilen duyuşal özelliklerinin oluşumu ve son ürün kalitesini geliştirmesinin yanında proteinlerin çözünürlüğünü, emülsiyon özelliklerini de geliştirmesi birçok alanda yer almasına katkı sağlamıştır (Zhou ve ark., 2017). Öte yandan gıdalarda besinsel protein kaybı, toksik bileşik üretimi ve kötü tat oluşumuna neden olur. Özellikle HMF (5-hidroksimetilfurfural) ve akrilamid gibi toksik bileşikler Maillard reaksiyonu sırasında ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden bebek mamaları, meyve suyu, UHT süt gibi ısıl işlem uygulanan gıdaların üretim prosesinde bu toksik bileşiklerin oluşmamasına dikkat edilmektedir (Nooshkam ve ark., 2019). Ayrıca kontrollü olmayan şartlarda gerçekleşen reaksiyon, lisin gibi esansiyel amino asitlerin ve vitaminlerin (özellikle C vitamini) kaybına, dolayısıyla besin kaybına neden olur (Zhang ve ark., 2009). Bu nedenlerden dolayı, besin değeri yüksek, arzu edilen kalitede nihai ürün eldesi için öncelikle Maillard reaksiyonu kontrol altında tutularak gerçekleştirilmelidir.

2.4.1.1. Maillard reaksiyon mekanizması

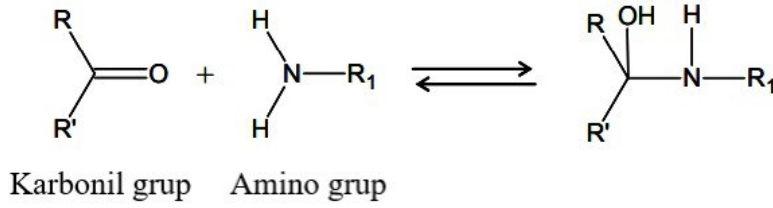
Maillard reaksiyonu Şekil 2.4.'de sunulan karmaşık reaksiyon dizisinden oluşur. Hodge tarafından 1953'te Maillard reaksiyonunun erken, orta ve ileri aşama olmak üzere üç ana aşamada gerçekleştiği açıklanmıştır (Hodge, 1953).



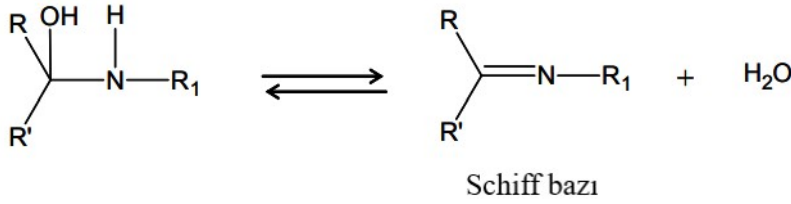
Şekil 2.4. Maillard reaksiyonu mekanizması (Hodge, 1953)

Erken aşamada, su molekülünün yapıdan uzaklaşması sonucu proteinin mevcut amino grubu ve indirgen şekerin karbonil grubu arasında bir reaksiyon meydana

gelerek Schiff bazı oluşur (Şekili 2.5. ve Şekil 2.6.). Bu aşamadaki reaksiyon, Maillard reaksiyonunun geri dönüşümlü tek aşamasıdır. Termodinamik olarak kararsız yapıdaki Schiff bazı bileşiği, Amadori yeniden düzenlenmesi ile renksiz Amadori ürünleri üretir (Martins ve ark., 2000).



Şekil 2.5. Karbonil grubu ile serbest amino grubu arasındaki reaksiyon (Jeantet ve ark., 2016)



Şekil 2.6. Schiff bazı oluşum reaksiyonu (Jeantet ve ark., 2016)

Reaksiyonun orta aşaması, renk değişimlerinin başladığı aşamadır. Burada, Amadori ürünleri sıcaklık, pH ve su aktivitesine bağlı olarak kısa zincir yapısındaki karbonil bileşiklerine parçalanarak reaktif ara bileşikler oluşur. Bu ara bileşikler; enolizasyon, parçalanma, oksidasyon gibi çeşitli reaksiyonlara uğrarlar (Sedaghat Doost ve ark., 2019). Reaksiyonlar sonucu substrat bir aldoz ise Amadori ürünleri (ketoaminler), substrat ketoz ise Heyns ürünleri (aldozaminler) gibi daha stabil yapıda ürünler oluşur (de Oliveira ve ark., 2016). Bu aşamadaki ana değişiklikler; renk ve tatta hafif değişiklik oluşumunun yanı sıra mevcut amino gruplarının sayısında azalma olmasıdır (Nursten, 2005).

Son aşamada, yüksek molekül ağırlıklı kahverengi pigmentler olarak bilinen melanoidinler oluşur (Peng ve ark., 2011). Melanoidinlere ek olarak, ileri glikasyon ürünleri (AGE) olan aldehitler, ketonlar, akrilamidler gibi çeşitli bileşikler oluşur. Bu bileşikler gıdada fiziksel ve kimyasal olarak değişikliklere yol açar (Andriot ve ark., 2004).

2.4.1.2. Glikasyon

Protein glikasyonu, indirgeyici karbonhidratlar ile lizin, histidine, triptofan gibi amino grupları arasında gerçekleşen reaksiyonu kapsayan Maillard reaksiyonunun başlangıç aşamasıdır. Proteinlerin polisakkaritlerle konjugasyonu, proteinin amino grubu ile indirgeyici şekerin karbonil grubu arasındaki reaksiyonla başlar, Schiff bazının üretilmesi ile sonlanır ve sonunda Amadori yeniden düzenlenmesi meydana gelir. Bu reaksiyonlar, Maillard reaksiyonunun başlangıç aşaması olarak bilinir ve glikasyon reaksiyonları olarak adlandırılır (Cui ve ark., 2021). Daha önce de belirtildiği üzere, Maillard reaksiyonu kontrolsüz şartlarda gerçekleştirildiğinde besin kaybı, istenmeyen tat oluşumu ve sağlık açısından tehlikeli olabilecek toksik bileşiklerin (HMF gibi) oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca kontrolsüz ısıtma işlemi, akrilamid gibi kanserojen madde oluşumuna da neden olur (Shapla ve ark., 2018). Bu gibi toksik bileşiklerin oluşumunu önlemek için, Maillard reaksiyonunun kontrol altında tutulması gerekir ve bunu başarmanın bir yolu reaksiyonun erken aşamada kontrollü bir şekilde durdurulmasıdır.

Gıda proteinlerinin çözünürlük, köpürme, jelleşme ve emülsifikasyon özellikleri gibi tekno fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi, son yıllarda bilim ve endüstride önem arz eden bir konu olmuştur (Liu ve ark., 2012). Proteinlerin tekno fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde hidroliz, asitlendirme, asetilasyon, esterleştirme, enzimatik çapraz bağlama gibi fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler kullanılmaktadır (Spotti ve ark., 2013). Ancak bazı yöntemler, toksik bileşenler içermesi ve gıdanın alerjenite, sindirilebilirlik gibi özelliklerini etkilemesi nedeniyle tercih edilmemektedir. Bu nedenlerden dolayı, kontrollü Maillard

reaksiyonu ile, herhangi bir kimyasal katalizör kullanılmadan, indirgeyici polisakkaritlerle konjuge edilerek proteinlerin modifikasyonu son yıllarda popülerlik kazanmıştır (O'Mahony ve ark., 2017; Sun ve ark., 2018).

Amadori ve Heyns bileşiklerinin oluşumundan hemen sonraki reaksiyon, toksik bileşiklerin oluşumunu engellemenin yanısıra ürün kalitesini arttırmanın da bir yoludur. Protein-polisakkarit konjugasyonunun Maillard reaksiyonu ara ürünlerinin oluşumu ile antioksidan aktivitesini (Chen ve Kitts, 2008), çözünürlüğünü (Zhou ve ark., 2017), emülsifikasyon özelliklerini (Wang ve ark., 2018) arttırdığı bildirilmiştir. Bu bağlamda, protein ve indirgeyici şekerler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonunun erken aşamaları olarak tanımlanan, Schiff bazı ve ardından Amadori ve Heyns bileşiklerinin oluşmasına yol açan glikasyon reaksiyonu, Maillard reaksiyonundan daha fazla popülerlik kazanmıştır (Taniguchi ve ark., 2015). Amadori bileşiklerinin proteinler ile daha fazla çapraz bağlanması, zararlı ileri glikasyon ürünlerinin (AGE) oluşumuna neden olduğundan dolayı, glikasyon reaksiyonunun da kontrol altında gerçekleştirilmesi gerekmektedir (Poulsen ve ark., 2013). Glikasyon reaksiyonunun hızı ve kapsamı, ortamın pH'ı, indirgeyici şekerin türü, işlem süresi, sıcaklık gibi birçok faktörden etkilenmektedir (Ge Pan ve Melton, 2007).

2.4.1.3. Glikasyon yöntemleri

Glikasyon, proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için güvenli bir yöntem olduğundan, gıda endüstrisinde uygulanabilir yöntemlerin geliştirilmesi üzerine araştırmalar devam etmektedir. Protein glikasyonu için uygulanan geleneksel ve yenilikçi yöntemler mevcuttur. Geleneksel yöntemler kuru ısıtma ve ıslak ısıtma olmak üzere iki farklı koşulda gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemler, endüstriyel uygulamalar için maliyetli olması ve yeterince verimli olmaması nedeniyle, protein-polisakkarit konjugatlarının üretimine yönelik yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yenilikçi yöntemler mikrodalga (Meng ve ark., 2019), ultrases (Chen ve ark., 2016), darbeli elektrik alan (Han ve ark., 2018), ultrasonikasyon (Li ve ark., 2014) gibi teknolojileri içerir.

Geleneksel yöntemlerden kuru ısıtma ve ıslak ısıtma yöntemleri benzer adımlar içerir ancak numunelerin hazırlanma teknikleri farklıdır. Kuru ısıtma glikasyon yönteminde, hidratlanmış protein-polisakkarit karışımı glikasyon öncesi liyofilize edilerek toz haline getirilirken, ıslak ısıtma glikasyon yönteminde, hidratlanmış numuneler liyofilize edilmeden doğrudan glikasyona tabi tutulurlar (Sedaghat Doost ve ark., 2019). Bu nedenle, kuru ısıtma yöntemi ile hazırlanan numunelerin belirli bir kuruluk düzeyine ulaşması için liyofilize edilmesi zaman almaktadır. Ayrıca bu süre zarfında, karışımdaki proteinlerin ve polisakkaritlerin eşit olmayan dağılımı ve faz ayrılması gibi durumlar görülebilir (Zhuo ve ark., 2013). Bu durumlara ilaveten, reaksiyon süresinin uzun olmasından dolayı reaksiyonun boyutu kontrol altına alınamayabilir. Bu yüzden kuru ısıtma ile glikasyon yöntemi endüstride uygulamaya uygun görülmemektedir (Zhu ve ark., 2008).

2.4.1.3.1. Islak ısıtma ile glikasyon

Islak ısıtma ile glikasyon, bir tampon çözelti içerisinde, protein-polisakkarit karışımının belirli pH değerinde hazırlanıp, belirli süre ve sıcaklıkta ısıtılması ile gerçekleştirilir. Islak glikasyon yöntemi için optimum sıcaklık aralığı 60-95 °C olarak çalışmalarda belirtilmiştir (O'Mahony ve ark., 2017). Islak ısıtma yönteminin kuru ısıtma yöntemine göre avantajı hem daha kısa süre zarfında ve kontrollü olarak gerçekleştirilmesi hem de protein çözünürlüğü ve stabilitesini sağlayarak konjugasyonun daha başarılı bir şekilde gerçekleştirilmesidir (McGuffey ve ark., 2005). Ayrıca ıslak ısıtma yöntemi mikrodalga gibi zaman ve maliyet tasarrufu sağlayan yenilikçi yöntemlere de uygulanabilmesi yönünden avantaj sağlamaktadır (Wang ve ark., 2018).

Geleneksel ısıtma işlemlerinde enerji, malzemenin yüzeylerinden konveksiyon, iletim ve radyasyon yoluyla termal iletimle gerçekleşir. Ancak mikrodalga ısıtma işleminde gıda moleküllerinin elektromanyetik alanla etkileşimi enerji transferine yol açar (Venkatesh ve Raghavan, 2004). Geleneksel ısıtma işlemleri genellikle uzun reaksiyon süresi ve yüksek enerji tüketimi gerektirir. Ayrıca, protein

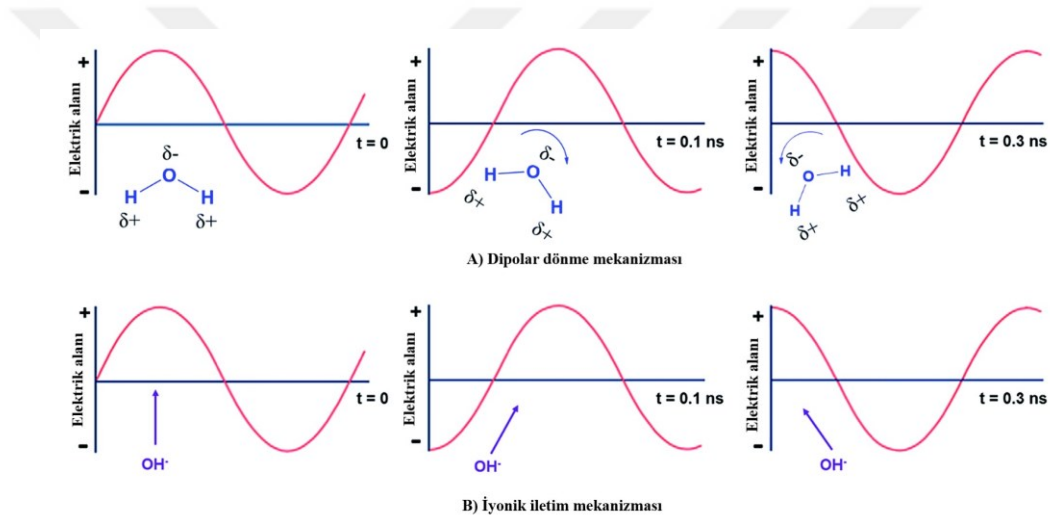
ve karbonhidrat arasındaki glikasyon, geleneksel ıslak ısıtma yöntemi ile daha düşük glikasyon derecesi sergiler. Bu nedenle geleneksel ıslak ısıtma yöntemine alternatif olarak proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek amacıyla son zamanlarda, mikrodalga ve ultrases gibi yeni ve yenilikçi teknolojiler yaygın olarak araştırmacılar tarafından kullanılmaktadır (Mu ve ark., 2010). Mikrodalga, gıda matrisinde bulunan elektrolitleri ve iyonları etkileyerek Maillard reaksiyonunu hızlandırabilen ve kısa reaksiyon süresi gibi avantajlara sahiptir (Zhang ve ark., 2022). Ultrases uygulaması ile glikasyon için daha fazla enerji sağlanarak reaksiyon teşvik edilir. Ayrıca geleneksel yöntemle kıyaslandığında yenilikçi yöntemler ile daha üstün fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklere sahip konjugatlar elde edilir (Mu ve ark., 2010).

2.4.1.3.2. Mikrodalga destekli glikasyon

Mikrodalgalar, 0.3-300 GHz arasında frekansa sahip olan elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalga ısıtma için genellikle 0.915 ve 2.45 GHz kullanılır. Elektromanyetik dalgalar, dielektrik bir malzemeye ulaştığında enerjinin bir kısmı iletilirken, bir kısmı yansıtılır, bir kısmı ise emilerek ısıya dönüştürülür (Meda ve ark., 2017). Mikrodalga ısıtma, bir malzemenin elektromanyetik dalgaları emerek ısıya dönüştürmesi ile üretilir. Bu yüzden mikrodalga ısıtma, hızlı ve doğru bir ısıtma sağlar. Mikrodalga ısıtma mekanizması dipolar dönme ve iyonik iletim mekanizmaları ile açıklanmaktadır (Şekil 2.7.). Dipolar dönme mekanizması, polarize dipolar moleküllerin elektrik alanı yönünde yeniden hizalanmasının oluşturduğu sürtünme ile açıklanmaktadır. Elektrik alanı yüksek frekansa sahip olduğu için, dipollerin dönüşü saniyede 2.45 milyar defa meydana gelerek dönen dipollerin sürtünmesi ile ısı üretimi gerçekleşir. İyonik iletim mekanizması ise, numunenin iyonik yapısı ile açıklanmaktadır. Yüksek frekanslı salınımlı elektrik alanı iyonların salınımlı yer değiştirmesine neden olarak numunenin ısınmasını sağlar (Guo ve ark., 2017).

Mikrodalga ısıtma yöntemi, geleneksel yöntemlere göre enerji tasarrufu sağlayan, kimyasal sentezlerde verimi ve saflığı arttıran bir yöntemdir. Ayrıca, konveksiyon, iletim ve radyasyon yoluyla ısı transferini sağlayan geleneksel ısıtma

yöntemlerinden farklı olarak mikrodalga ısıtma, gıdaya hacimsel bir ısıtma sağlar (Sumnu ve Şahin, 2005). Bu nedenle mikrodalga ısıtma, gıda sanayisinde ve bilim dünyasındaki araştırmalarda popülerlik kazanmıştır. Mikrodalga ısıtma aynı zamanda aşırı ısınma ya da eşit olmayan sıcaklık dağılımına neden olan seçici ısıtmayı da beraberinde getirmektedir. Seçici ısıtma kavramı, mikrodalga enerjisinin polar moleküller tarafından seçici olarak emilimini sağlanması nedeniyle oluşur (Chizoba Ekezie ve ark., 2017). Eşit olmayan ısıtma probleminin üstesinden gelmek için, güç, zaman ve sıcaklık gibi koşulların ısıtma işlemi sırasında optimize edilmesi gerekmektedir.



Şekil 2.7. Mikrodalga ısıtmanın temel mekanizması: A) dipolar dönme mekanizması, B) iyonik iletim mekanizması (Zhang ve ark., 2017)

Geleneksel glikasyon yöntemleri, proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesinde olumlu sonuçlar vermesine rağmen (Alavi ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022), uzun saatler hatta haftalar sürmektedir. Bu nedenle yeni glikasyon teknikleri araştırılmaktadır. Mikrodalga ısıtma, daha kısa sürede daha yüksek ısıtma hızları sağladığı için geleneksel glikasyon yöntemlerine bir alternatiftir. Glikasyon sürecinde, ileri Maillard ürünlerinin üretimi, potansiyel toksik bileşikler içermesi nedeniyle istenmeyen bir durumdur. Mikrodalga ısıtma ile gerçekleştirilen glikasyon, geleneksel yöntemlere göre daha kısa sürede gerçekleştiği için ileri Maillard reaksiyon ürünlerinin üretim olasılığı daha düşüktür (Jia ve ark., 2023). Soya protein izolatının

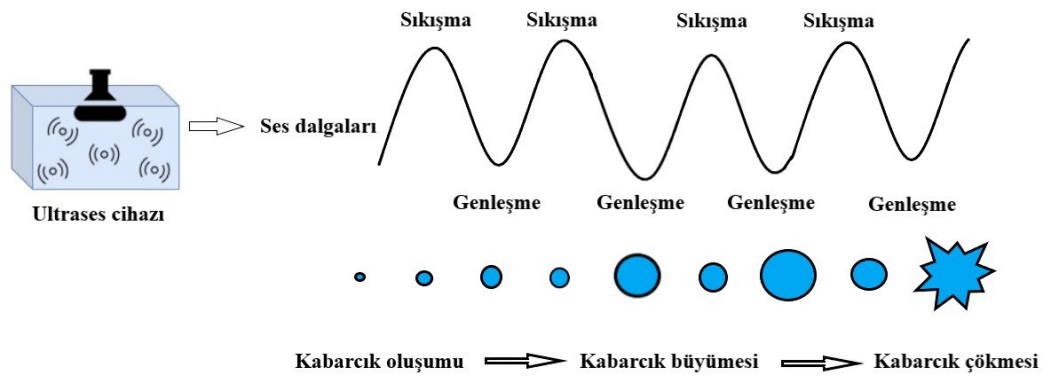
dekstran ile glikasyonu araştırılan çalışmada, konjugatların fizikokimyasal özelliklerinin mikrodalga ve ultrases destekli işlemlerle daha da güçlendirdiği rapor edilmiştir (Liu ve ark., 2021). Bu çalışmalarda, proteinlerin açılması ile mikrodalga glikasyonu sonrası protein-indirgeyici şeker reaksiyonu olasılığının arttığı ortaya koyulmuştur (Guan ve ark., 2011). Çalışmaların genel sonucu, mikrodalga ısıtma ile glikasyonun geleneksel glikasyona göre daha yüksek verimlilikte gerçekleştirildiğini ortaya koymaktadır.

2.4.1.3.3. Ultrases destekli glikasyon

Ultrases, frekansı 20 kHz üzerinde ve insan duyma eşiğinin üzerinde olan ses dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Yu ve ark., 2020). Ultrases dalgalarının hedeflenen ortamdan geçirilmesi, sürekli dalga tipi bir hareketle gerçekleştirilir. Bu hareket, sıkıştırma ve genişleme olmak üzere iki döngü yaratır. Bir sıvıda, genişleme döngüsü sırasında, sıvının çekme mukavemetini aşan negatif basınç nedeniyle boşluklar oluşur. Daha sonra sıkıştırma döngüsü, molekülleri bir araya itebilen pozitif basınç üretir. Akustik enerjinin emilmesi ile boşluklar büyümeye devam eder ve kritik bir büyüklüğe ulaşınca boşluklar patlar, çevreye enerji ve ısı salar. Bu nedenle, ultrases dalgaları tarafından üretilen kavitasyon, kimyasal reaksiyonlar için uygun ortam sağlar (Bhargava ve ark., 2021). Ses dalgaları, güvenli, toksik olmayan ve çevre dostu bir işleme yöntemi olarak kabul edilir (Lee ve Feng, 2011).

Ultrases destekli Maillard reaksiyonu, proteinlerin yapısını, işlevselliğini, fonksiyonel özelliklerini değiştirmek için yenilikçi bir yaklaşımdır. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ultrasesin, son yıllarda Maillard reaksiyonunu teşvik etmek amacıyla kullanımı yaygınlık göstermiştir (Dong ve ark., 2019; Ye ve ark., 2022; Yu ve ark., 2020). Maillard reaksiyonunun ultrases dalgaları ile desteklenmesinin üç nedeni vardır. Birincisi, ultasonik dalgaların kavitasyon etkisidir. Bu etki, Maillard reaksiyonu için reaksiyon koşullarını sağlayan, sıvı içerisinde geçici bir yüksek sıcaklık (~5000K) ve basınç (~1000MPa) ortamı oluşturmaktadır (Stanic-Vucinic ve ark., 2013). Yoğun akustik basınç dalgalanmalarının sonucunda sıvıda küçük

kabarcıkların oluşumu, büyümesi ve şiddetli çöküşü gerçekleşir (Şekil 2.8.). Bu durum protein agregatlarının parçalanmasına ve protein yapısının açılmasına neden olmaktadır. Sonikasyonun neden olduğu küresel protein moleküllerinin kısmi açılması, yüzeylerdeki reaktif grupları açığa çıkararak Maillard reaksiyonuna destek sağlamaktadır (Zhao ve ark., 2022). İkincisi, ultrasesin mekanik etkisidir. Mekanik etki, çözeltinin karışmasını hızlandırarak moleküller arası çarpışmaların sıklaşması ile reaksiyonu hızlandırmaktadır (Dong ve ark., 2019). Üçüncü etki ise, ultrases destekli Maillard reaksiyonu için gereken aktivasyon enerjisi, geleneksel ısı ile gerçekleştirilene göre daha düşüktür (Yu ve ark., 2018). Literatürde yer alan birçok çalışma, ultrases destekli glikasyon ile Maillard reaksiyonunu destekleyerek glikasyon derecesini arttırdığını göstermiştir (Chen ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2017).



Şekil 2.8. Ultrases cihazı çalışma mekanizması

Geleneksel ıslak ısıtma glikasyon ve yenilikçi teknolojiler olan mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon yöntemleri kullanılarak yürütülen bazı çalışmalar Çizelge 2.2.'de verilmiştir. Çalışmalar genel olarak yenilikçi teknolojilerin daha düşük aktivasyon enerjisi gereksinimi ile, daha kısa sürede gelişmiş teknofonksiyonel özelliklerde Maillard konjugatları elde edildiğini rapor etmişlerdir.

Çizelge 2.2. Farklı glikasyon yöntemleri ile yürütülen çalışmalar

Protein	Polisakkarit	Glikasyon yöntemi	Glikasyon koşulları	Önemli bulgular	Kaynak
Maş fasulyesi protein izolatı	Dekstran	Islak ısıtma glikasyon	80-90 °C, 0-6 sa	Geliştirilmiş çözünürlük, emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi	Zhou ve ark., (2017)
Soya proteini izolatı	Ksiloz ve fruktoz	Islak ısıtma glikasyon	80 °C, 10 sa	Geliştirilmiş çözünürlük ve emülsifiye edici özellikler	Wang ve ark., (2018)
Bezelye proteini izolatı	Maltodekstrin	Islak ısıtma glikasyon	90 °C, 5 sa	Geliştirilmiş emülsifiye edici özellikler	Zhang ve ark., (2022)
Nar çekirdeği proteini	Arap zıncı	Islak ısıtma glikasyon	90 °C, 20 dk	Geliştirilmiş tekno fonksiyonel özellikler	Başıyigit ve ark. (2022)
Bakla proteini	Maltodekstrin	Islak ısıtma glikasyon	90 °C, 30dk	Geliştirilmiş çözünürlük, emülsifiye edici özellik ve emülsiyon stabilitesi	Alavi ve ark., (2021)
Pirinç proteini	Dekstran	Mikrodalga destekli glikasyon	85 °C, 150 Watt, 5 dk	Geliştirilmiş, çözünürlük, emülsiyon özellikleri ve köpük oluşturma kapasitesi	Cheng ve ark., (2021)
Pirinç posası proteini	Sodyum aljinat	Mikrodalga destekli glikasyon	78 °C, 186 Watt, 20 dk	Geliştirilmiş çözünürlük ve emülsifiye edici özellikler	Meng ve ark., (2019)
Bezelye proteini	Glikoz, fruktoz, alluloz	Mikrodalga destekli glikasyon	90 °C, 180 Watt, 4 dk	Geliştirilmiş glikasyon derecesi ve çözünürlük	Ertugrul ve ark., (2021)
Soya proteini	D-alluloz, fruktoz, glikoz	Mikrodalga destekli glikasyon	90 °C, 210 Watt, 4 dk	Geliştirilmiş glikasyon derecesi ve çözünürlük	Namli ve ark., (2021)
Soya proteini izolatı	Dekstran	Ultrases ve mikrodalga destekli glikasyon	Ultrases: 80 °C, 25 kHz, 500 W, 40 dk; mikrodalga: 800 W, 2 dk	Geliştirilmiş emülsiyon donma-çözünme stabilitesi	Zhang ve ark., (2017)
Soya proteini izolatı	Lentinan	Ultrases destekli glikasyon	80 °C, 250 Watt, 40 dk	Geliştirilmiş emülsiyon stabilitesi	Wen ve ark., (2020)
Bezelye proteini izolatı	İnulin	Ultrases destekli glikasyon	80 °C, 400 Watt, 25 dk	Geliştirilmiş emülsifiye edici özellikler	Jiang ve ark., (2022)
Fıstık proteini izolatı	Maltodekstrin	Ultrases destekli glikasyon	70 °C, 250 Watt, 10-100 dk	Geliştirilmiş glikasyon, çözünürlük ve emülsifiye edici özellikler	Chen ve ark., (2016)
Soya protein izolatı	Pektin	Ultrases destekli glikasyon	50-80 °C, 270-630 Watt, 15-120 dk	Geliştirilmiş emülsifiye edici özellikler	Ma ve ark., (2020)

2.5. Bitkisel Proteinlerin Endüstriyel Uygulama Alanları

Bitkisel proteinler bilim dünyasında ve endüstride çeşitli uygulama alanlarında yer almaktadırlar. Gıda takviyesi (Shchekoldina ve Aider, 2014), yenilebilir film ve kaplama materyalleri (J. Li ve ark., 2019), emülgatör (Sahraee ve ark., 2019), biyoaktif peptit üretimi (Muhialdin ve ark., 2020), hidrojel üretimi (Song ve Zhang, 2009) ve bitkisel protein bazlı et analoglarının üretiminde (Chiang ve ark., 2019) kullanımları literatürde araştırma konusu olarak son yıllarda önem kazanmıştır. Gıda endüstrisinde yurt dışı ve yurt içinde birçok firma bitkisel protein kaynaklı et/köfte üretimine yönelmiştir. Özellikle soya proteini ve bezelye proteini bazlı köfteler sağlıklı beslenme, vegan beslenme, sporcu beslenmelerinde yer almakta ve üretimi gün geçtikçe artmaktadır. Daha önce de belirtildiği üzere, Türkiye vişne üretiminde öncü ülkelerden biridir. Bu bağlamda tez çalışmasında, atıkları değerlendirmek ve elde edilen yüksek saflıktaki vişne çekirdeği proteinlerini endüstriye kazandırmak amacıyla emülsifiye et hamuru prosesi ile burger köfte analogu üretimini araştırılmıştır.

2.5.1. Bitkisel protein bazlı et analogları

Son yıllarda, geleneksel hayvansal kaynaklı gıdaların yerine alternatif protein kaynağı olarak bitkisel kaynaklar üzerine araştırmalar önem kazanmıştır. Dünya nüfusunun 2050 yılına kadar kademeli olarak 9 milyarlık bir platoya ulaşması ve et üretiminin 337 milyon ton bazında, yaklaşık %50-73 oranda artmasının öngörülmesi nedeniyle, küresel et üretiminin tüketim taleplerini karşılaması zorlaşacaktır (Bonny ve ark., 2015; Vossen ve ark., 2020). Ayrıca, doğal kaynakların sınırlı olması, hayvansal protein kaynaklarının sürdürülebilirlik sorunu olması da bu duruma neden olarak görülmektedir. Bunların yanı sıra, hayvan yetiştiriciliği ile ilgili çevresel ve etik sorunlar olması, yüksek miktarda kırmızı et tüketiminin kalp-damar hastalıkları ve obezite gibi sağlık sorunlarından dolayı hayvansal kaynaklı proteinler ile ilgili endişeler söz konusudur (Dekkers ve ark., 2018). Bu nedenlerden dolayı et analogları, hayvan refahı, çevre sorunları, dini kısıtlamalar, etik/sosyal yönler ve hayvan eti

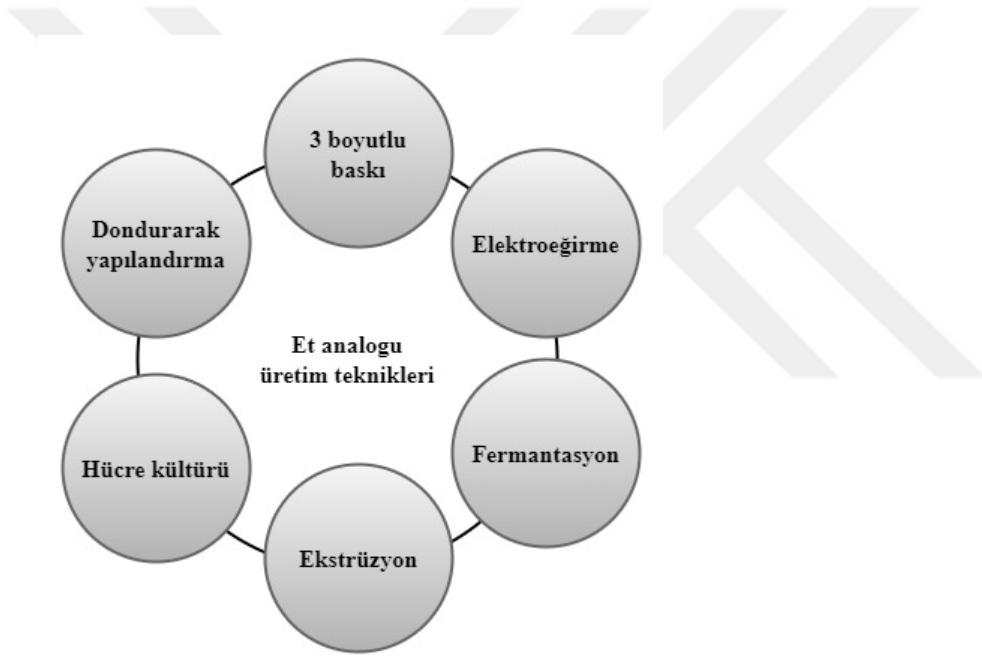
tüketiminin sağlık sorunları konusunda bilinçli olan tüketicilerin dikkatini çekmiştir. Dolayısıyla, bitkisel kaynaklı proteinlerden oluşan kompozitler kullanılarak bitki bazlı et ve alternatiflerinin geliştirilmesi yoluyla çeşitlendirilmesi, sürdürülebilir bir yaklaşımı desteklemektedir. Günümüzde sağlıklı beslenmeye yönelik tüketici talebi, artan vegan/vejetaryen beslenme popülaritesi, et fiyatlarının artması ve kırmızı et tüketiminden kaçınma veya azaltma gibi alışkanlıklar et analoglarına olan ilgiyi arttırmıştır. Gelişmekte olan birçok ülke, hayvansal protein kaynaklarının sürdürülebilirliğinin olmadığını, bu nedenle nüfusun protein ihtiyacını karşılamamanın yolunu bitki bazlı et ikameleri oluşturarak sağlamakta olduğunu savunmaktadır (Babault ve ark., 2015).

Et analoglarının önemli kriterlerinden biri, gastrointestinal sindirim sisteminde sergilediği davranıştır. Et analogu ile alınan proteininin sindirilebilirliği, sağlık ve tüketici tercihi yönünden önem arz eder. Proteinlerin bağlı olduğu polipeptit zincirindeki aminoasitlerin türü, sayısı ve dizilimi protein molekülünün doğal yapısı, gastrointestinal sistemdeki sindirimini ve emilimini etkiler. Ayrıca, proteinin denatürasyonu, agregasyonu, ortamın pH değeri ve gıda matrisi gibi faktörler de protein sindiriminde rol oynar. Proteinlerin sindirimi, mide sıvısı içerisindeki pepsin enzimi etkisiyle midede başlar. Sindirimin büyük kısmı ise, tripsin ve kimotripsin gibi proteaz enzimlerinin varlığında ince bağırsakta gerçekleşir. Proteinlerin sindirimi, proteaz enzimlerinin polipeptit zincirlerinde bulunan peptit bağlarına erişebilirliğine bağlı olarak değişmektedir (Shaghaghian ve ark., 2022). Proteinler büyüme, gelişme ve sağlığın korunması için, kan dolaşımına emilebilen küçük peptitlere veya serbest aminoasitlere sindirilir. Dolayısıyla protein sindirilebilirliğinin düşük olması, aminoasitlerin biyoyararlanımını azaltacaktır (Xie ve ark., 2020).

Et analogu, hayvan etinin görsel olarak, lezzet olarak ve lifli doku yapısı taklit edilerek oluşturulan bitki bazlı ürünlerdir (Pietsch ve ark., 2017). Et analogu üretiminde en önemli nokta, lifli yapıya sahip dokusal profilin sağlanmasıdır. Bu yapı, bitki bazlı protein kaynağının doğru seçilmesi ve uygun teknikler ile proses koşullarının sağlanması ile sağlanabilir (Palanisamy ve ark., 2018).

2.5.2. Et analogları üretim teknikleri

Et analogları, etin kendine özgü dokusunu taklit ederek ve belirli yapılandırma süreçlerine maruz bırakılarak lifli bir yapıya ulaşması için geliştirilen üretim tekniklerini içerir. Etin kaslı yapısını taklit etmek için birçok teknik araştırılmıştır (Şekil 2.9.). Bu teknikler, hücre kültürü, elektroegirme gibi yapısal malzemelerin birleştirilmesini sağlayan aşağıdan yukarıya stratejisi ve ekstrüzyon, dondurarak yapılandırma gibi genel bir kuvvet kullanılarak biyopolimerlerin yapılandırılmasını sağlayan yukarıdan aşağıya stratejisidir (Dekkers ve ark., 2016).



Şekil 2.9. Et analogu üretim teknikleri

Et analoglarının lifli yapıya benzemesi için birçok yaklaşım olsa da hücre kültürü, elektroegirme gibi tekniklerin yüksek maliyet, emek ve büyük ölçeklerde üretimin zorluğu gibi dezavantajları olmaktadır (Dekkers ve ark., 2018). Bu bağlamda, dondurarak yapılandırma tekniği diğerlerine göre hem düşük maliyetli olması hem de üretim kolaylığı açısından avantajlı bir tekniktir.

2.5.2.1. Dondurarak yapılandırma tekniği

Lifli yapıda et analogu üretimi, bitkisel kaynaklı bir protein emülsiyonunun dondurulmasını ve buz kristallerinin oluşmasını içermektedir. Bu oluşum, düzenli ve ayırt edici bir gözenekli yapı oluşturarak arzu edilen lifli mikroyapıyla sonuçlanmaktadır. Et analogu, bitkisel kaynaklı proteinden üretilmesine rağmen, katmanları birbirini tabaka gibi kaplayan mikro lifli yapısı, hayvan eti kaslarına benzer yapı sergiler (Arora ve ark., 2023). Dondurarak yapılandırma tekniğinde proteinleri tekstüre etmenin temel prensibi adım adım şu şekilde gerçekleşir; öncelikle dondurulmuş bir protein çözeltisi dispersiyonu, soğutma yüzeyine paralel olacak şekilde buz kristalleri oluşturur. Buz kristallerinin büyümesiyle hizalanmış protein moleküllerini tutan paralel bölgeler oluşur. Protein içeriği ve nem içeriği arasındaki formülasyon oranı değişmediğinden, proses uzatılmış lifli bir yapı ile sonuçlanır. Daha sonrasında nemin dondurularak kurutulmasıyla sert ve lifli proteinin kuru bir kitlesi elde edilir (Arora ve ark., 2023). Yuliarti ve ark. (2023), tarafından dondurarak yapılandırma tekniği kullanılarak et benzeri duysal ve dokusal özelliklere sahip bitki bazlı et analogu üretimi gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlarda buğday gluteni ve bezelye proteini kullanılarak üretilen et analogunun fizikokimyasal ve duysal özellikleri incelendiğinde, bezelye proteinin ilave edilmesinin yapıyı güçlendirdiği, sertliği, viskoelastikiyeti ve çiğnenebilirliği arttırdığı rapor edilmiştir (Yuliarti ve ark., 2021).

Çalışma kapsamında, bitki bazlı köfte analogları üretiminde, lifli yapıyı sağlamak için protein emülsiyonunun dondurulmasını içeren dondurarak yapılandırma tekniği kullanılmıştır. Dondurarak yapılandırma tekniği ile lifli yapı oluşturma, et analogu üretiminde kullanılan protein kaynağına da bağlıdır (Dekkers ve ark., 2018). Farklı proteinler, et benzeri nihai yapı oluşumunda rol alan çözünürlük, jelleşme ve doku oluşumu özellikleri açısından farklı yapısal fonksiyon etkileşimlerine sahiptirler (Meade ve ark., 2005). Soya, bezelye ve buğday proteini et analoglarına dahil edilen bitkisel kaynaklı proteinlerdendir (Joshi ve Kumar, 2015).

Et analogu formülasyonunda, metilselüloz, ksantan zamkı, aljinat, konjak glikomannan gibi bağlayıcı madde görevi gören bileşenler kullanılmaktadır (Bakhsh ve ark., 2021; Dekkers ve ark., 2018; Jiang ve ark., 2020). Bağlayıcı özellik gösteren bu maddeler, prosteki protein, su ve lipidin etkileşimini geliştirirler (Bohrer, 2019). Selüloz eter türevi olan metil selüloz, yüksek sıcaklıkta bir jel ağı oluşturma kabiliyetine sahiptir (dos Santos Carvalho ve ark., 2022). Su bağlama ve nem tutma yeteneği ile ürünün duyuşal özelliklerini geliştirdiğinden çeşitli ve et alternatiflerinde ve işlenmiş etlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Bakhsh ve ark., 2021).



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

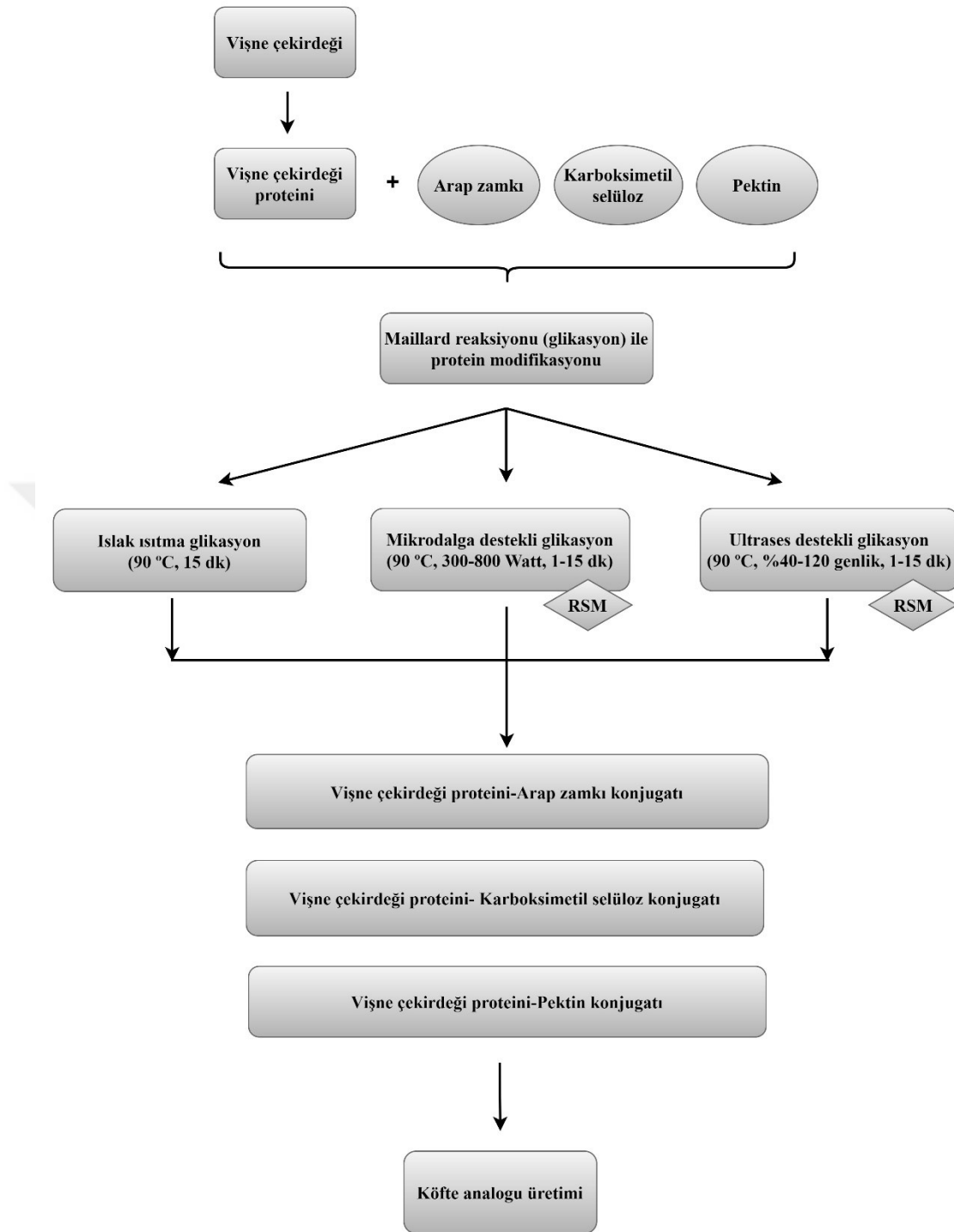
Vişne çekirdekleri, Isparta’da faaliyet gösteren Mavi Deniz Gıda A.Ş. firmasından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan Arap zıkkı (püskürtmeli kurutucu ile kurutulmuş, pH değeri 5.0, kül içeriği <%4.0), karboksimetil selüloz (CAS numarası: 9004-32-4) ve pektin (toz formda elma pektini, kül içeriği <%7.0) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Hidroklorik asit (HCl) (%37 w/w, CAS numarası: 7647-01-0), sodyum hidroksit (NaOH) (CAS numarası: 1310-73-2), o-ftalaldehit (OPA) (CAS numarası: 643-79-8), β -merkaptoetanol (CAS numarası: 60-24-2) Sigma Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından satın alınmıştır. Köfte analoglarının formülasyonu için buğday unu (Sinangil, Türkiye), soya proteini (protein içeriği: 86.3g/100g) (Proteinocn, Türkiye), sarımsak tozu, soğan tozu ve pancar tozu (Kuruyemiş, Türkiye), karabiber ve kimyon (Knorr, Türkiye), kabartma tozu (Pakmaya, Türkiye) ve metilselüloz (CAS numarası: 9004-67-5) kullanılmıştır. Köfte analoglarının *in vitro* sindirilebilirliğinde kullanılan α -amilaz (20 U/mg aktiviteye sahip, CAS numarası: 232-565-6), pepsin (250 U/mg aktiviteye sahip, CAS numarası: 9001-75-6), tripsin (10 U/mg aktiviteye sahip, CAS numarası: 9002-07-7), lipaz (125 U/mg aktiviteye sahip, CAS numarası: 9001-62-1), safra tuzu (CAS numarası: 8008-63-7) liyofilize toz halinde Sigma Aldrich (St. Louis, MO, ABD) firmasından satın alınmıştır. Tüm kimyasallar analitik saflıkta olmasına dikkat edilerek kullanılmıştır.

3.2. Yöntem

Tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması Şekil 3.1.’de sunulmuştur. Çalışma, 3 temel aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada, vişne meyvesi çekirdeklerinden alkali özütleme ve izoelektrik çökeltme metodu ile VÇP özütlenmiştir. İkinci aşamada, özütlenen VÇP, 3 farklı polisakkarit (AZ, KMS ve P) ile ve 3 farklı glikasyon yöntemi (ıslak ısıtma, mikrodalga destekli ve ultrases destekli)

ile Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Bu aşamada mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon yöntemleri için en uygun işlem parametreleri RSM ile belirlenmiştir. Her bir glikasyon yönteminde optimum işlem koşullarında üretilen Maillard konjugatları liyofilizatör ile kurutularak dokuz farklı nihai Maillard konjugatı elde edilmiştir. Ardından, VÇP ve Maillard konjugatlarının karakterizasyon ve teknofonksiyonel analizleri gerçekleştirilmiştir. Üçüncü aşamada, teknofonksiyonel özellikleri geliştirilmiş ve en iyi emülsifikasyon özelliklerine sahip Maillard konjugatları, model gıda olarak emülsifiye et hamuru prosesini kapsayan analog köfte üretiminde formülasyona dahil edilerek etkinlikleri test edilmiştir.



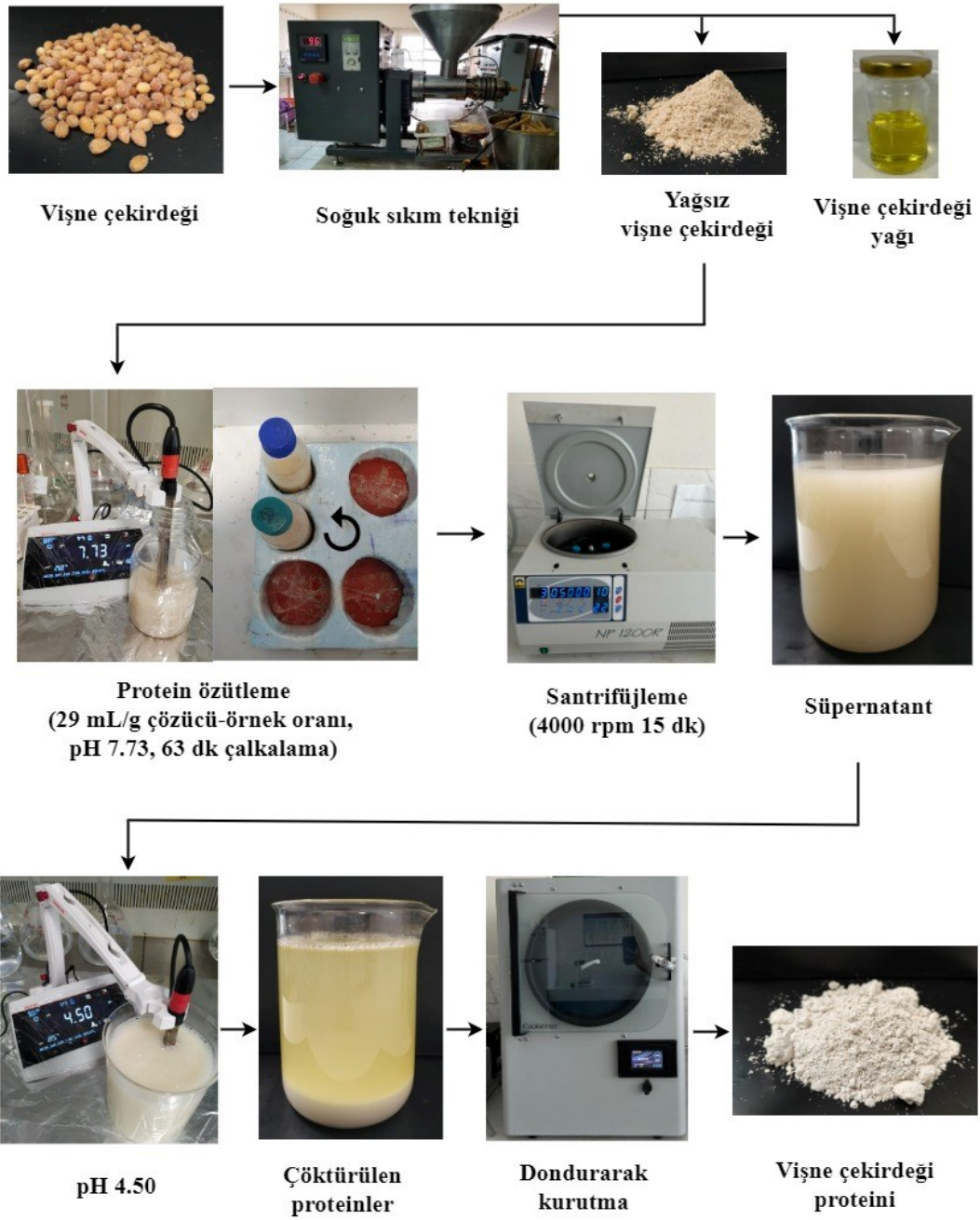


Şekil 3.1. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması

3.2.1. Vişne çekirdeği proteininin özütlenmesi

Vişne çekirdeği proteini üretim işlem basamakları Şekil 3.2.'de sunulmuştur. Vişne çekirdeklerinden protein özütleme işlemi öncesi soğuk sıkım yöntemi ile yağ alınmıştır. Çekirdekte bulunan yağın ayrılması için laboratuvar ölçekli soğuk pres cihazı (Tuan Makina Sp 1560 S) kullanılmıştır. Cihazın dönüş hızı 12 rpm, çıkış sıcaklığı maksimum 100 °C ve çıkış ucu çapı 12 mm olarak sabitlenerek yağsız posa elde edilmiştir.

Yağı alınmış vişne çekirdeklerinden protein özütleme işlemi, laboratuvarımızda daha önce optimizasyon işlemi ile belirlenen parametreler kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Başyigit ve ark., 2021). Vişne çekirdeği proteinleri, alkali özütleme ve izoelektrik çöktürme metodu kullanılarak özütlenmiştir. Bu amaçla, 10 g yağsız posa, 290 ml saf su ile karıştırılarak pH değeri 1 M NaOH ile 7.73'e ayarlanmıştır. Hazırlanan karışım çalkalayıcıda (250 rpm) oda sıcaklığında 63 dakika boyunca özütleme işlemine tabi tutulmuştur. Süre sonunda karışım 4000 rpm'de 15 dk boyunca santrifüjlenmiştir. İşlem sonrası elde edilen süpernatantlar toplanarak pH değeri 1 M HCl yardımıyla 4.50'ye ayarlanarak izoelektrik noktada çöktürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Çöktürülen proteinler 4000 rpm'de 10 dk santrifüjlenerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Elde edilen protein dondurarak kurutma cihazı (Coolormed, Türkiye) ile kurutulmuş ve analizlere kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. Vişne çekirdeği proteini üretim aşamaları

3.2.2. Maillard konjugatlarının üretimi

3.2.2.1. Islak ısıtma glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi

Islak ısıtma yöntemi ile glikasyon için optimum koşullar, laboratuvarımızda daha önce ön denemeleri yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Başyigit ve ark., 2022). İki g VÇP ve 1 g polisakkarit (AZ, KMS ve P), 100 mL'lik bir cam şişe içerisindeki 0.2 M sodyum fosfat tampon çözeltisi ile oda sıcaklığında 2 sa boyunca karıştırılmıştır. Çözeltiler, 0.1 M NaOH ve/veya 0.1 M HCl kullanılarak pH değeri 7.0'a ayarlanmış ve bir gece buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra çözeltiler su banyosunda 90 °C'de 15 dk boyunca kontrollü Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Süre sonunda karışım yaklaşık 1 dk buzlu suda bekletilerek reaksiyonun sonlanması sağlanmıştır. Santrifüj tüplerine aktarılan karışım 4000 rpm'de 10 dk santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatant dondurarak kurutulmuş ve analizler için kullanılmak üzere toz haline getirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi

Mikrodalga destekli glikasyon uygulaması için optimum koşullar her bir polisakkarit için ayrı ayrı yüzey yanıt metodolojisi (RSM) kullanılarak belirlenmiştir. Konjugat üretimi deney tasarımı mikrodalga gücü (Watt) ve işlem süresi (dk) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Merkezi tümleşik tasarım (CCD) kullanılarak oluşturulan deney tasarımı, 5 tekrarlı merkez nokta olmak üzere 13 denemeden oluşmaktadır. Bağımsız değişkenlerin alt ve üst sınırları Çizelge 3.1.'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Mikrodalga ısıtma ile glikasyon için bağımsız değişkenlerin alt ve üst seviyeleri

Bağımsız değişkenler	Birim	-1	0	+1
Mikrodalga gücü	Watt	300	550	800
İşlem süresi	dk	1	8	15

Islak ısıtma yönteminde belirtildiği gibi bir gece öncesinden hazırlanan 100 mL sodyum fosfat tampon içerisindeki protein:polisakkarit (2:1) karışımı, mikrodalga özel cam balonuna aktarılmıştır. Mikrodalga ısıtma uygulaması, IR ve fiber optik termometre ile donatılmış laboratuvar tipi mikrodalga cihazında (Sineo, Mass-II Plus, Çin) gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga cihazında, sıcaklığın 90 °C'ye ulaşması için önceki çalışmalara göre bazı değişikliklerle 2 kademeli işlem uygulanmıştır (Nasrollahzadeh ve ark., 2017). Birinci kademede 800 Watt (mikrodalga gücü) ve 2 dk (işlem süresi) uygulanarak çözelti iç sıcaklığının 90 °C'ye ulaşması sağlanmıştır. Ardından ikinci kademede her bir deneme noktası için belirtilen mikrodalga gücü ve süre uygulaması ile glikasyon gerçekleştirilmiştir. İşlem sonrası solüsyonlar 4000 rpm' de 10 dk santrifüjlenerek elde edilen süpernatant dondurarak kurutulmuştur. Kurutulan konjugatlar analizlerde kullanılmak üzere toz haline getirilerek +4 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.3. Ultrases destekli glikasyon ile Maillard konjugatlarının üretimi

Ultrases destekli glikasyon uygulaması için optimum koşullar her bir polisakkarit için ayrı ayrı RSM kullanılarak belirlenmiştir. Konjugat üretimi deney tasarımı cihaz genliği (%) ve işlem süresi (dk) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Ultrases uygulaması 60 Hz frekans ve 665 W güce sahip laboratuvar tipi ultrases cihazında (Wiseclean WUCD10H) gerçekleştirilmiştir. Merkezi tümleşik tasarım (CCD) kullanılarak oluşturulan deney tasarımı, 5 tekrarlı merkez nokta olmak üzere 13 denemeden oluşmaktadır. Bağımsız değişkenlerin alt ve üst sınırları Çizelge 3.2.'de verilmiştir. İlk olarak, VÇP ve polisakkarit (AZ, KMS ve P), 100 mL sodyum fosfat tampon ile 2 sa boyunca homojen hale gelene kadar karıştırılmış ve bir gece +4 °C'de bekletilmiştir. Karışımlar kapaklı cam şişelerde iç sıcaklığı 90 °C'ye ulaşması için ön denemeler ile belirlenen %120 genlikte 2 dk ultrases uygulandıktan sonra, her bir deneme noktası için belirtilen cihaz genliği ve işlem süresi uygulanarak glikasyon gerçekleştirilmiştir. İşlem sonrası karışımlar 4000 rpm' de 10 dk süre ile santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatantlar dondurularak kurutulmuştur. Kurutulan

konjugatlar analizlerde kullanılmak üzere toz haline getirilerek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.2. Ultrases destekli glikasyon için bağımsız değişkenlerin alt ve üst seviyeleri

Bağımsız değişkenler	Birim	-1	0	+1
Genlik	(%)	40	80	120
İşlem süresi	dk	1	8	15

Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyonda seçilen yanıtı tahmin etmek için kullanılan ikinci dereceden polinom modeli aşağıda verilmiştir.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^n \beta_i X_i + \sum_{i=1}^n \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.1)$$

Bu eşitlikte, y ; tahmin edilen bağımlı değişken (glikasyon derecesi), X_i ve X_j ; bağımsız değişkenler, β_0 ; kesişim katsayısı, β_i ; doğrusal denklem katsayısı, β_{ii} ; ikinci dereceden denklem katsayısı, β_{ij} ; etkileşim katsayısı, n ; faktör sayısını ifade etmektedir.

3.3. Analizler

3.3.1. Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi

Konjugatların glikasyon derecesi, serbest amino gruplarının yüzdesinin ölçülmesi yöntemine dayanan OPA yöntemine göre belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2022). İlk olarak, 40 mg OPA (1 mL metanolde çözündürülmüş), 25 mL boraks tamponu (0.1 mol/L), 2.5 mL SDS çözeltisi (%20 w/v) ve 100 µL β-merkaptotanol karıştırılmış ve distile su ile 50 ml’ye tamamlanarak OPA reaktifi hazırlanmıştır. Daha sonra, 0.2 mL konjugat solüsyonu (2 mg/mL) ve 4 Ml OPA reaktifi karıştırılarak 35 °C’de 2 dk boyunca karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda solüsyonların absorbansı UV-Vis spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 340 nm dalga boyunda

okunmuştur. Konjugatların glikasyon derecesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad (3.2)$$

Burada, A_0 : tek başına proteinin absorbans değeri, A_t : Konjugatın absorbans değerini ifade etmektedir.

3.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

Konjugatların, protein-polisakkarit etkileşimini tespit etmek için bir IRTracer100 (EN230V) spektrometresi (Shimadzu Corporation., Kyoto, Japonya) kullanılarak FTIR analizi gerçekleştirilmiştir. Spektrum taramaları 500-4000 dalga boyu arasında ve 1 cm^{-1} çözünürlükte gerçekleştirilmiştir (Xu ve ark., 2018).

3.3.3. Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri

Protein ve konjugatların yüzey morfolojisini ve mikroyapısını incelemek amacıyla taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Zeiss Sigma 300, Zeiss Co., Oberkochen, Almanya) kullanılmıştır. Numuneler sıvı nitrojen ile dondurulduktan sonra altın püskürtme ile kaplanmıştır ve SEM ile görüntüler alınmıştır (Zha ve ark., 2021).

3.3.4. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

3.3.4.1. Su aktivitesi

Numunelerin su aktivitesi (a_w) değerleri Pre Aqua LAB ölçüm cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Cihazın örnek kabına konulan yaklaşık 3 g numune, oda sıcaklığında denge nem değerine ulaşınca kadar bekletilmiştir. Dijital göstergeden okunan değerler numunelerin su aktivitesi olarak kaydedilmiştir.

3.3.4.2. Renk

Toz numunelerin renk değerleri (L^* , a^* , b^*) Hunter Lab cihazı (Color Quest® XE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (AOAC, 1984).

3.3.4.3. Yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu

Toz numunelerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu, analizde kullanılan miktar ve bu miktarın kapladığı ilk ve son hacimden yararlanılarak hesaplanmıştır (Tatar ve ark., 2014). İlk olarak 3 g numune tartılarak 25 mL hacme sahip cam mezur içerisine alınmıştır. Numunenin mezur içerisinde kapladığı ilk hacim baz alınmıştır. Daha sonra içerisinde örneklerin bulunduğu mezur düz bir zemin üzerinde sabit hacme gelene kadar yaklaşık 200 kez vurulmuş ve son hacmi kaydedilmiştir. Numunelerin yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu aşağıda verilen denklemler ile hesaplanmıştır.

$$\text{Yığın yoğunluğu} = \frac{\text{Kullanılan örnek miktarı (g)}}{\text{İlk hacim (mL)}} \quad (3.3)$$

$$\text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu} = \frac{\text{Kullanılan örnek miktarı (g)}}{\text{Son hacim (mL)}} \quad (3.4)$$

3.3.4.4. Hausner oranı ve Carr indeksi

Toz numunelerinin Hausner oranı ve Carr indeksi değerlerinin hesaplanmasında yığın yoğunluğu ve sıkıştırılmış yığın yoğunluğu değerleri baz alınarak aşağıdaki denklemler ile hesaplanmıştır (Tatar ve ark., 2014).

$$\text{Hausner oranı} = \frac{\text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}}{\text{Yığın yoğunluğu}} \quad (3.5)$$

$$\text{Carr indeksi} = \frac{\text{Sıkıştırılmış yığın yoğunluğu} - \text{yığın yoğunluğu}}{\text{sıkıştırılmış yığın yoğunluğu}} * 100 \quad (3.6)$$

3.3.4.5. Nem miktarı

Toz numunelerin toplam nem miktarı gravimetrik yöntemle hesaplanmıştır (AOAC, 1998). İlk olarak petri kapları sabit tartıma getirilip daraları kaydedilmiştir. Daha sonra petrilere 1 g numune tartılarak 105 °C’de 24 s boyunca etüve yerleştirilmiştir. Süre sonunda numuneleri içeren petriler desikatörde soğutulmaya bırakılmış ve toplam nem miktarları aşağıda verilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam nem miktarı} = \frac{N_1 - N_2}{N_3} \times 100 \quad (3.7)$$

Burada;

N₁: Tartılan numunenin kütlece ağırlığı (g) + petri kabı ağırlığı (g)

N₂: Suyu uzaklaştırılmış örneğin kütlece ağırlığı (g) + petri kabı ağırlığı (g)

N₃: Tartılan numunenin kütlece ağırlığı (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.5. Termal kararlılık analizi (TGA)

Protein ve Maillard konjugatlarının termal davranışı, inert bir atmosferde (N₂), 30 °C'den 1000 °C'ye kadar 10 °C/dk ısıtma hızında çalışan Termogravimetrik Analizör DTG-60 H (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) cihazı ile ölçülmüştür (Mshayisa ve ark., 2021).

3.3.6. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

3.3.6.1. Çözünürlük

Protein ve konjugatların çözünürlüğü Bradford metoduna göre hesaplanmıştır (Bradford, 1976). Bu amaçla, numuneler 10 mM fosfat tampon (pH değeri 7.0) içerisinde 1 mg/mL olacak şekilde hazırlanmış ve oda sıcaklığında 30 dk boyunca karıştırılmıştır. Süre sonunda numuneler 4000 rpm'de 10 dk santrifüjleme işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen süpernatanttaki protein miktarı Bradford kiti kullanılarak belirlenmiştir. Protein ve konjugatların çözünürlükleri aşağıda verilen denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlük} = \frac{\text{Süpernatanttaki protein miktarı}}{\text{Numunedeki protein miktarı}} \times 100 \quad (3.8)$$

3.3.6.2. Su tutma kapasitesi

Protein ve konjugatların su tutma kapasitesini (STK) belirlemek için, darası alınan 50 mL'lik santrifüj tüplerine 1 g numune tartılmış ve üzerine 10 mL saf su ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında her 15 dk'da bir 10 sn vorteks yardımı ile 1 s boyunca karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantın ayrılması için, santrifüj tüpü yaklaşık 45 °C'lik açı oluşturacak şekilde 30 dk filtre kağıdı üzerinde süzülmesi sağlanmıştır. Daha sonra numuneler tartılarak

ağırlıkları kaydedilmiştir. Protein ve konjugatların STK değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Cho ve ark., 2004).

$$STK (\%) = \frac{(S_3 - S_2) - S_1}{S_1} \times 100 \quad (3.9)$$

Burada;

S₁: Protein/konjugat toz numunenin kütlece ağırlığı (g)

S₂: Santrifüj tüpünün darası (g)

S₃: Süzme işlemi sonrası son tartım (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.6.3. Yağ bağlama kapasitesi

Protein ve konjugatların yağ bağlama kapasitesini (YBK) belirlemek için, STK analizine benzer şekilde, darası alınan 50 mL'lik santrifüj tüplerine 1 g numune tartılıp üzerine 10 mL Ayçiçek yağı ilave edilmiştir. Karışım oda sıcaklığında her 15 dk'da bir 10 sn vortekslenmek üzere 1 sa boyunca karıştırılmıştır. Süre sonunda karışım 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantın ayrılması için, santrifüj tüpü yaklaşık 45 °C'lik açı oluşturacak şekilde 30 dk filtre kağıdı üzerinde süzülmesi sağlanmıştır. Daha sonra numuneler tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Protein ve konjugatların YBK değerleri aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır (Cho ve ark., 2004).

$$YBK (\%) = \frac{(Y_3 - Y_2) - Y_1}{Y_1} \times 100 \quad (3.10)$$

Burada;

Y₁: Protein/konjugat toz numunenin kütlece ağırlığı (g)

Y_2 : Santrifüj tüpünün darası (g)

Y_3 : Süzme işlemi sonrası son tartım (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.6.4. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Numunelerin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesini belirlemek için, 50 mL hazırlanan protein veya konjugat çözeltisi (%1, w/v) 100 mL'lik ölçüm silindiri 1 dk boyunca Ultra-Turrax homojenizatör (IKA-T18 Basic, Japonya) 12.000 rpm'de homojen hale getirilmiştir. Homojenizasyon öncesi ve sonrası hacimler kaydedilerek aşağıdaki eşitliklere göre protein ve konjugatların köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi hesaplanmıştır (Cho ve ark., 2004).

$$\text{Köpük oluşturma kapasitesi (\%)} = \frac{(V_2 - V_1)}{V_1} * 100 \quad (3.11)$$

$$\text{Köpük stabilitesi (\%)} = \frac{V_t}{V_2} * 100 \quad (3.12)$$

Burada;

V_1 : Homojenleştirmeden önceki hacim (mL)

V_2 : Homojenleştirmeden sonraki hacim (mL)

V_t : Homojenleştirme işleminden 10 dk sonraki hacim (mL) olarak ifade edilmiştir.

3.3.6.5. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

Protein ve konjugatların emülsiyon özelliklerini belirlemek için her analizde taze emülsiyon hazırlanmıştır. Bu amaçla, ilk olarak 0.5 g protein/konjugat 100 mL potasyum fosfat tampon (10 mM, pH 7.0) içerisinde çözündürülmüştür. Daha sonra, bir

beherde protein/konjugat solüsyonu (7.5 mL) ve mısır yağı (2.5 mL), Ultra-Turrax homojenizatör yardımıyla 12.000 rpm'de 1 dk boyunca karıştırılarak su içinde yağ emülsiyonu (%25, v/v) oluşturulmuştur (Lee ve ark., 2021).

Emülsiyon aktivite indeksi (EAI) için, 50 µL taze hazırlanan emülsiyon ve 5 mL sodyum dodesil sülfat (SDS) (%0.1, w/v) karıştırılarak 500 nm dalga boyunda nm'de UV-Vis spektrofotometre (Model UV-1280, Shimadzu, Japonya) ile absorbans değeri okunmuştur. Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) için ise, emülsiyon aktivitesi için hazırlanan karışıma aynı prosedür 10. ve 30. dk'larda (ESI10 ve ESI30) uygulanarak absorbans değerleri okunmuştur. Protein ve konjugatların EAI ve ESI değerleri aşağıda verilen eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \cdot 2.303 \cdot A_0 \cdot SF}{C \cdot \varphi \cdot \theta \cdot 1000} \quad (3.13)$$

$$ESI \text{ (dk)} = \frac{A_0}{(A_0 - A_t)} \cdot t \quad (3.14)$$

Burada;

A_0 : Homojenizasyon işleminden hemen sonra okunan absorbans değeri

SF: Seyreltme faktörü

C: Protein/konjugat konsantrasyonu

φ : Optik yol

θ : Yağ hacim fraksiyonu

A_t : Homojenizasyon işleminden sonra ilgili zamanda (10. ve 30. dk) okunan absorbans değerini belirtmektedir.

3.3.6.6. Stabilite katsayısı

Protein veya konjugatlar ile hazırlanan emülsiyonların stabilite katsayısı (R) Li ve ark., metoduna göre belirlenmiştir (Li ve ark., 2019). Bu amaçla, taze hazırlanan 10 mL protein/konjugat emülsiyonu 2000 rpm’de 15 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası elde edilen süpernatant 100 kat seyreltilmiştir. Seyreltilmiş ve seyreltilmemiş numunelerin absorbansı UV-Vis spektrofotometrede 750 nm’de okunmuştur. Emülsiyonların R değeri aşağıda verilen eşitliğe göre hesaplanmıştır.

$$\text{Stabilite katsayısı (R)} = \frac{A_2}{A_1} \quad (3.15)$$

Burada,

A₁: Seyreltilmemiş numunenin absorbans değeri

A₂: Seyreltilmiş numunenin absorbans değeri olarak tanımlanmaktadır.

3.3.6.7. Santrifüj çökme oranı

Taze hazırlanan protein/konjugat emülsiyonu (10 mL) bir santrifüj tüpüne aktararak 2500 rpm’de 40 dk boyunca santrifüjlenmiş ve elde edilen sıvı faz uzaklaştırılmıştır. İçerisinde çökelti bulunan santrifüj tüpleri 30 dk boyunca ağız kısımları aşağıda olacak şekilde ters çevrilerek kalan sıvının da uzaklaştırılması sağlanmıştır. Süre sonunda santrifüj tüplerinde kalan çökelti tartılarak aşağıdaki eşitliğe göre emülsiyonların CPR değeri hesaplanmıştır (Li ve ark., 2019).

$$\text{Santrifüj çökme oranı} = \frac{m_2}{m_1} \times 100 \quad (3.16)$$

Burada,

m₁: Başlangıçtaki emülsiyon ağırlığı (g)

m₂: Çökelti ağırlığı (g)

3.3.7. Protein ve Maillard konjugat emülsiyonlarının fiziksel stabiliteleri

3.3.7.1. Emülsiyonların stabilitelerine farklı sıcaklıkların etkisi

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların sıcaklığa karşı stabilitelerini değerlendirmek için 30 dk boyunca farklı sıcaklıklara (20, 40, 60, 80 ve 100 °C) maruz bırakılmışlardır. İşlem sonrası emülsiyonlar oda sıcaklığına getirilmiş ve 24 s bekletildikten sonra mikrograf ve parçacık boyutu üzerine etkileri incelenmiştir (Xu ve ark., 2017).

3.3.7.2. Emülsiyonların stabilitelerine farklı pH değerinin etkisi

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların pH değerlerine karşı stabilitelerini belirlemek için Bölüm 3.3.6.5'deki gibi taze hazırlanan emülsiyonların pH değerleri 1M NaOH veya 1 M HCl ile farklı seviyelere (3.0, 5.0, 7.0, 9.0 ve 11.0) ayarlanmıştır. Karıştırıcıda 1 sa karıştırıldıktan sonra emülsiyonların mikrografları ve parçacık boyutu değişimi incelenmiştir.

3.3.7.3. Emülsiyonların stabilitelerine farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların iyonik strese karşı dirençlerini değerlendirmek için, emülsiyonlara farklı konsantrasyonlarda (0-500 mM) NaCl ilave edilmiştir. Emülsiyonlar oda sıcaklığında 1 dk boyunca vortekslendikten sonra mikrografları ve parçacık boyutu değişimi incelenmiştir (Xu ve ark., 2017).

3.3.7.4. Emülsiyonların stabilitelerine dondurup-çözündürmenin etkisi

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların dondurma-çözdürme işlemine karşı etkisini belirlemek için, pH değeri 7.0 olan numuneler önce 72 sa

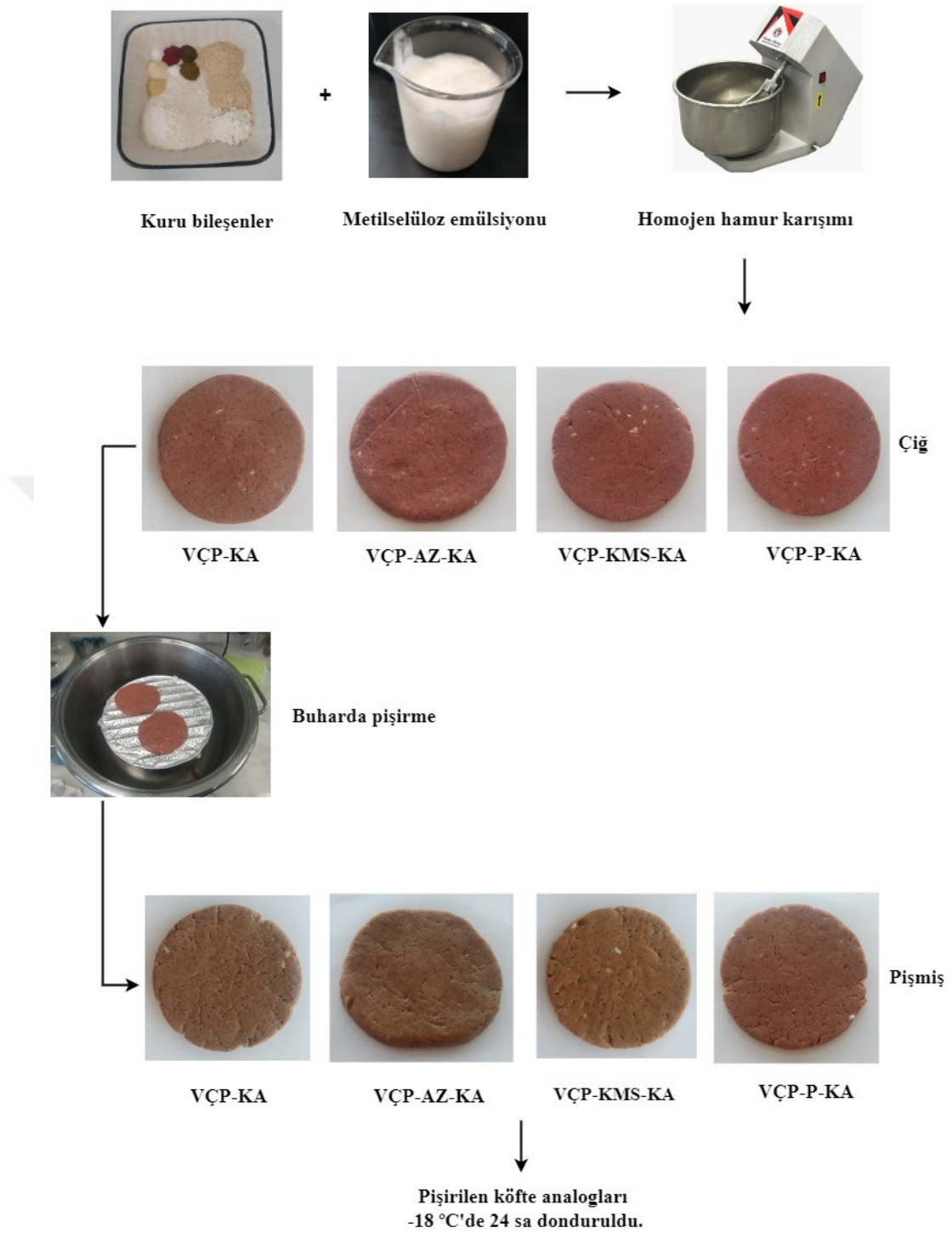
boyunca -18 °C’de tutulmuştur. Süre sonrası 2 sa oda sıcaklığında çözülmesi için bekletilmiştir. Dondurup-çözdürmenin emülsiyonların parçacık boyutu üzerine etkileri ve mikrografları incelenmiştir (Cabezas ve ark., 2019).

3.3.7.5. Optik mikroskopi ve parçacık boyutu analizi

Emülsiyon numuneleri arasındaki damlacık boyutu farklılıklarını tespit etmek için objektif lensli (10x ve 40x) bir optik mikroskop kullanılmıştır. Her bir numuneden 50 µL’lik emülsiyon alınarak mikroskop lamı üzerine yerleştirilmiş ve üzerine lamel kapatılarak mikrografları alınmıştır (Dokić ve ark., 2012). Numunelerin damlacık boyutları ImageJ programı ile hesaplanmış ve sonuçlar ortalama çap boyutu olarak sunulmuştur.

3.4. Protein ve Maillard Konjugatlarından Köfte Analogu Üretimi

Protein ve mikrodalga destekli Maillard konjugatları ile köfte analogu üretimi literatürde yer alan çalışma baz alınarak ön denemelerle ve bazı değişiklikler yapılarak gerçekleştirilmiştir (Yuliarti ve ark., 2023). Dondurarak yapılandırma tekniği kullanılarak üretilen köfte analogu formülasyonu protein/konjugat (%17), buğday unu (%10), soya proteini (%5), ekmek içi tozu (%10), sarımsak tozu (%1), soğan tozu (%1), kabartma tozu (%0.25), pancar tozu (%0.75), karabiber (%0.5), kimyon (%0.5), tuz (%1), metilselüloz (%3), su (%40) ve sıvı yağ (%10) ile oluşturulmuştur. Köfte analogu üretim aşamaları Şekil 3.3.’de sunulmuştur. İlk olarak kuru bileşenler harmanlanmıştır. Daha sonra metilselüloza formülasyona göre su ve yağ ilave edilerek bir emülsiyon oluşturulmuştur. Kuru bileşenler ile metilselüloz emülsiyonu bir hamur yoğurma cihazında (KitchenAid, ABD) düşük hızda (~500 rpm) karıştırılarak homojen bir hamur elde edilmiştir. Hamur, her biri 50 g ağırlığında, 10 cm çapında ve ~1cm kalınlıkta köfteler haline getirilmiştir. Oluşturulan köfteler daha sonra 14 dk boyunca buharda pişirilmiştir. Oda sıcaklığına getirildikten sonra ayrı ayrı kaplara paketlenerek 24 s boyunca -18 °C’de dondurulmuştur.



(VÇP-KA: Vişne çekirdeği proteini içeren köfte analogu, VÇP-AZ-KA: Vişne çekirdeği proteini-Arap zamkı konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-KMS-KA: Vişne çekirdeği proteini-Karboksimetil selüloz konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-P-KA: Vişne çekirdeği proteini-Pektin konjugatı içeren köfte analogu)

Şekil 3.3. Köfte analogu üretim aşamaları

3.5. Köfte Analogları Analizleri

3.5.1. Fizikokimyasal analizler

3.5.1.1. Nem içeriği

Dondurulmuş köfteler analiz öncesinde +4 °C’de çözündürülmüştür. Nem içeriği gravimetrik yöntem ile 105 °C’de 24 sa etüvde tutulduktan sonra numunelerin son ağırlığının başlangıç ağırlığına oranlanması ile hesaplanmıştır (AOAC, 1998).

3.5.1.2. Protein miktarı

Köftelerin protein içeriği elementel analiz cihazı (FlashSmart Elemental, ThermoFisher Scientific, ABD) ile belirlenmiştir. Numunelerin protein içeriği, azot değerinin 6.25 ile çarpılmasıyla elde edilmiştir.

3.5.1.3. pH değeri

Protein ve konjugatlardan üretilen köfte analoglarının pH değerleri dijital bir pH metre (OHAUS, ABD) yardımıyla oda sıcaklığında ölçülmüştür. Bu amaçla, her bir köfte hamurundan 5 g alınarak 20 mL distile su içerisinde 2 dk boyunca homojen hale getirilmiştir. Daha sonra pH metrenin prob ucu hazırlanan homojen karışıma daldırılmış ve dijital ekranda sabitlenen pH değeri kaydedilmiştir (AOAC, 1984).

3.5.1.4. Renk

Köfte numunelerinin renk değerleri, buharlama işleminden önce ve sonra (L^* , a^* , b^*) Hunter Lab cihazı (Color Quest® XE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (AOAC, 1984).

3.5.1.5. Morfolojik yapı (SEM)

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan köfte analoglarının yüzey morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) (ZEISS Sigma 300 Field Emission SEM, Oberkochen, Almanya) kullanılarak belirlendi. Dondurulmuş köfteler dondurarak kurutulduktan sonra yüzey morfolojileri belirlenmiştir (Yuliarti ve ark., 2021). Numuneler altın-paladyum ile kaplandıktan sonra morfolojik yapıları görüntülenmiştir.

3.5.1.6. Tekstürel profil analizi (TPA)

Köfte analogu numunelerinin buharlama işlemi öncesi ve sonrası sertlik, esneklik, yapışkanlık ve çiğnenebilirlik gibi doku profilleri TA-XT plus doku analiz cihazı (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, UK) yardımıyla ölçüldü. Doku analizi cihazı 5.0 mm/s test hızı, 5 mm hareket mesafesine sahip silindirik prob (P/35) ve HDP/90 ölçüm parametrelerinde kullanılmıştır.

3.5.1.7. *In vitro* sindirilebilirlik

Protein ve Maillard konjugatları ile üretilen köfte analogları *in vitro* gastrointestinal sindirime tabi tutulmuştur. Sindirim aşamalarını simüle etmek için; simüle tükürük sıvısı, simüle mide sıvısı ve simüle bağırsak sıvısı Çizelge 3.3.'deki gibi hazırlanmıştır (Minekus ve ark., 2014).

Ağız fazı için, 3 g köfte 4.8 mL simüle tükürük sıvısı ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu karışıma α -amilaz (enzim aktivitesi 75U/mL) ve 0.3 M kalsiyum klorür (25 μ L) ilave edilmiştir. Sodyum hidroksit (1 M) ile karışımın pH değeri 7.0'a ayarlandıktan sonra toplam hacim saf su ile 9 mL'ye tamamlanmıştır. Elde edilen karışım çalkalamalı su banyosunda (200 rpm) 37 °C'de 2 dk tutularak köfteler simüle ağız ortamından geçirilmiştir. Süre sonunda 4.5 mL ağız fazı sindirim ürünü

(bolus) alınarak 90 °C’de 10 dk enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve analizler için dondurarak kurutulmuştur.

Mide fazı için, 4.5 mL ağız fazından gelen kısmen sindirime uğramış köfte (bolus), 4.095 mL simüle mide sıvısı ile karıştırılmıştır. Karışıma, 0.3 M kalsiyum klorür (2.25 µL), pepsin enzimi (enzim aktivitesi 2000 U/mL) ve saf su (402.75 µL) eklenmiştir. Ardından 1 M HCl ile karışımın pH değeri 3.0’a ayarlanmış ve 37 °C’deki çalkalamalı su banyosunda (200 rpm) 2 sa boyunca mide sindirimine tabi tutulmuştur. Süre sonunda 4.5 mL mide fazı sindirim ürünü (kimüs) alınarak 90 °C’de 10 dk enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve analizler için dondurarak kurutulmuştur.

Bağırsak fazı için, 4.5 mL mide fazında sindirime uğramış köfte (kimüs) üzerine 4.1625 mL simüle bağırsak sıvısı ilave edilmiştir. Karışıma tripsin (enzim aktivitesi 100 U/mL), lipaz (enzim aktivitesi 2000 U/mL) ve α-amilaz (enzim aktivitesi 2000 U/mL) enzimleri eklenmiştir. Ardından safra tuzu (45 mg), 0.3 M kalsiyum klorür (10 µL) ve 328.50 mL saf su eklenerek karışımın pH değeri 1M NaOH ile 7.0’a ayarlanmıştır. Karışım 37 °C’deki çalkalamalı su banyosunda (200 rpm) 2 sa boyunca bağırsak sindirimine tabi tutulmuştur. Süre sonunda 4.5 mL bağırsak fazı sindirim ürünü alınarak 90 °C’de 10 dk enzim inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve analizler için dondurarak kurutulmuştur.

Çizelge 3.3. In vitro sindirim prosedüründe kullanılan simüle ağız, mide ve bağırsak sıvıları ve stok çözeltileri (Minekus ve ark., 2014)

Solüsyon adı	Stok solüsyon konsantrasyonu		SSF (pH 7)		SGF (pH 3)		SIF (pH 7)	
	(g/L)	(M)	(g/L)	(M)	(g/L)	(M)	(g/L)	(M)
KCl	37.3	0.5	15.10	15.10	6.90	6.90	6.80	6.80
KH ₂ PO ₄	68	0.5	3.70	3.70	0.90	0.80	0.80	0.80
NaHCO ₃	84	1	6.80	13.60	12.50	25.00	42.50	85.00
NaCl	117	2	-	-	11.80	47.20	9.60	38.40
MgCl ₂ (H ₂ O) ₆	30.5	0.15	0.50	0.15	0.40	0.12	1.10	0.33
(NH ₄) ₂ CO ₃	48	0.5	0.06	0.06	0.50	0.50	-	-
HCl	-	6	0.09	1.10	1.30	15.60	0.70	8.40
CaCl ₂ (H ₂ O) ₂	44.1	0.3	0.025	1.50	0.005	0.15	0.04	0.60

SSF: Simüle ağız sıvısı, SGF: Simüle mide sıvısı, SIF: Simüle bağırsak sıvısı

Ağız, mide ve bağırsak fazı sonrası dondurarak kurutulan sindirim ürünleri, numunelerin her biri *in vitro* protein sindirilebilirliğinin belirlenmesi için

kullanılmıştır. Örneklerin protein içerikleri Bradford yöntemi belirlenmiş ve standart protein olarak sığır serum albümini kullanılmıştır (Bradford, 1976). Köfte analoglarının *in vitro* protein sindirilebilirlikleri, toplam çözünür protein içeriği ve *in vitro* sindirim sonrası belirlenen protein içeriği baz alınarak aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır (Xie ve ark., 2022).

$$\text{Protein sindirilebilirliği} = \frac{P_0 - P_1}{P_0} * 100 \quad (3.17)$$

P₀: Sindirim öncesi protein içeriği (g)

P₁: Sindirilmemiş protein içeriği (g)

3.5.1.8. Duyusal analiz

Bitkisel protein ve Maillard konjugatlarını içeren köfte numunelerinin duyusal özellikleri, Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Öğretim üyeleri ve lisansüstü öğrencilerinden oluşan 12 kişilik (27-42 yaş arasında, 7 kadın ve 5 erkek panelist) panel ekibi tarafından değerlendirilmiştir. Köfte örnekleri, elektrikli ocakta 120-150 °C’de her bir yüzü 3 dk (iç ısı yaklaşık 72 °C olana kadar) pişirildikten sonra duyusal olarak değerlendirmeye sunulmuştur. Panelistler her bir köfte numunesini görünüm, renk tonu, koku yoğunluğu, sululuk, yağlı tat, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, çiğnenebilirlik ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirmiştir. Numunelerin panelistlerde bıraktığı etkiye göre Ek 1’de sunulan skala üzerinde 0; kabul edilemez-10; mükemmel derecede olacak şekilde puanlamaları talep edilmiştir. Her bir duyusal özellik için kayıt altına alınan puanların toplamı ve ortalamaları alınarak hesaplama yapılmıştır.

3.6. İstatistiksel analizler

Tez çalışması kapsamında tüm üretimler, analizler ve optimizasyon işlemleri üç tekrarlı 2 paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Ortalama değerler, standart sapmalar ve tüm grafikler OriginPro 2021b (Origin Lab Inc.) ile elde edilmiştir. Elde edilen veriler Windows için SPSS 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) istatistik paketi ile bağımsız örnekler t-testi ($p < 0,05$) veya tek yönlü varyans analizi ANOVA (Tukey's HSD) kullanılarak yapılmıştır. Optimizasyon işlemi için oluşturulan deneme tasarımlarında yanıt yüzey yöntemine göre Design Expert 7.0 paket programı (Stat-Ease, Minneapolis, ABD) kullanılmıştır. En uygun model seçiminde belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}) ve uyum eksikliği (lack of fit) parametrelerinden yararlanılmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1. Maillard Konjugatlarının Üretimi İçin İşlem Koşullarının Optimizasyonu

4.1.1. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının işlem koşullarının optimizasyonu

Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde optimum koşulların belirlenmesi için mikrodalga gücü (Watt) ve işlem süresi (dk) parametrelerinin glikasyon derecesine etkisi incelenmiştir. Reaksiyon koşulları, RSM kullanılarak optimize edilmiştir. Sıcaklık (90 °C) sabit tutularak mikrodalga gücü (300-800 Watt) ve işlem süresinin (1-15 dk) glikasyon derecesine etkisini belirlemek üzere merkezi tümleşik tasarım ile 5 tekrarlı 13 denemeden oluşan deneme noktaları oluşturulmuştur. Konjugatların üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri Çizelge 4.1.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri

Deneme noktaları	Bağımsız değişkenler		Bağımlı değişken		
	Güç (Watt)	Süre (dk)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-AZ)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-KMS)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-P)
1	373.22	12.95	55.45	39.92	52.39
2	800.00	8.00	20.73	48.84	22.67
3	300.00	8.00	60.84	40.12	56.78
4	550.00	8.00	39.82	59.13	46.46
5	373.22	3.05	54.02	30.34	58.46
6	726.78	3.05	20.50	48.27	20.05
7	550.00	8.00	25.61	60.16	31.55
8	726.78	12.95	40.95	45.41	47.89
9	550.00	8.00	29.02	58.79	32.96
10	550.00	8.00	27.89	57.78	37.83
11	550.00	8.00	36.00	58.95	42.94
12	550.00	1.00	27.66	37.34	33.60
13	550.00	15.00	42.66	42.48	49.60

Deneme noktalarının sonuçlarına göre Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi VÇP-AZ konjugatı için %20.50-60.84, VÇP-KMS konjugatı için %30.34-60-16, VÇP-P konjugatı için %20.05-58.46 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretimi için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasına ait model çıktıları Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}), p değeri ve anlamlı olmayan uyum eksikliği (lack of fit) parametreleri çalışma için uygun model seçiminde istatistiksel parametreler olarak dikkate alınmıştır. Bu parametreler dikkate alındığında, VÇP-AZ ve VÇP-KMS konjugatları için kuadratik modelin (ikinci dereceden polinom modeli), VÇP-P konjugatı için ise 2FI modelin (iki faktörlü/etkileşimli) bağımlı değişken olan GD için en uygun modeller olduğu belirlenmiştir. Tüm konjugatlarda, elde edilen model istatistik sonuçlarında p değerinin (uyum eksikliği) 0.05'ten küçük olması modellerin anlamlı olduğunu göstermektedir. Anlamlı olmayan uyum eksikliğinin (lack of fit) 0.05'ten büyük değere sahip olması modelin başarılı olduğunu göstermektedir. Güçlü bir istatistiksel model için regresyon katsayısının (R^2) en az 0.80 olması gerekmektedir. Tüm konjugatlarda R^2 değerinin yüksek olması, deneysel ve tahmini sonuçların uyumlu olduğunu ve elde edilen model yanıtlarının tahmini sonucu doğruladığını göstermektedir.

Çizelge 4.2. Mikrodalga destekli Maillard konjugat üretim koşullarının model istatistik sonuçları

Konjugat	Bağımlı değişken	Model	Standart sapma	R^2	R^2_{adj}	Uyum eksikliği	p -değeri
VÇP-AZ	GD	Kuadratik	5.32	0.9082	0.8425	0.6960	0.0460
VÇP-KMS	GD	Kuadratik	1.74	0.9822	0.9695	0.3334	<0.0001
VÇP-P	GD	2FI	5.69	0.8533	0.8044	0.6870	0.0088

Optimizasyon çalışması kapsamında bağımsız değişkenlerin (mikrodalga gücü ve işlem süresi) glikasyon derecesi üzerine istatistiksel olarak etkisinin olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bağımsız değişkenlerin interaksiyonlarının bağımlı değişken üzerine etkisine bakıldığında, kuadratik modele uyumlu olan VÇP-AZ konjugatının

güç×güç ikinci derece etkileşiminin glikasyon derecesini önemli düzeyde etkilediği görülürken ($p<0.05$), VÇP-KMS konjugatının hem güç×güç hem de süre×süre ikinci derece etkileşiminin etkisinin önemli düzeyde olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3.).

Çizelge 4.3. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretim koşullarının model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Parametreler	Katsayı	Glikasyon derecesi (%) VÇP-AZ	Glikasyon derecesi (%) VÇP-KMS	Glikasyon derecesi (%) VÇP-P
Kesişim	β_0	31.67**	58.96***	43.32***
Kuadratik				
Güç	β_1	-13.09***	4.47***	-11.90***
Süre	β_2	5.39*	1.75*	5.05*
Etkileşimli				
Güç×süre	β_{12}	4.76	-3.11**	9.48**
İkinci derece				
Güç×Güç	β_{11}	5.75*	-7.54***	-
Süre×Süre	β_{22}	2.94	-9.83***	-

Model denklemi: Y (Bağımlı değişken) = $\beta_0 + \beta_1$ (Güç) + β_2 (Süre) + β_{12} (Güç×Süre) + β_{11} (Güç×Güç) + β_{22} (Süre×süre). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

Model denklemi ve ilgili katsayılar denklemde yerine koyulduğunda, konjugatların GD değerini (bağımlı değişken) tahmin etmek için eşitlikler aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

VÇP-AZ konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 31.67 - 13.09(\text{Güç}) + 5.39(\text{Süre}) + 4.76(\text{Güç} \times \text{Süre}) + 5.75(\text{Güç} \times \text{Güç}) + 2.94(\text{Süre} \times \text{Süre})$$

VÇP-KMS konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 58.96 + 4.47(\text{Güç}) + 1.75(\text{Süre}) - 3.11(\text{Güç} \times \text{Süre}) - 7.54(\text{Güç} \times \text{Güç}) - 9.83(\text{Süre} \times \text{Süre})$$

VÇP-P konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 41.32 - 11.90(\text{Güç}) + 5.05(\text{Süre}) + 9.48(\text{Güç} \times \text{Süre})$$

Glikasyon sürecinde, işlemlerin kontrolsüz gerçekleştirilmesi sonucu HMF (5-hidroksimetilfurfural) ve akrilamid gibi potansiyel toksik bileşikler içeren ileri Maillard ürünleri üretilir. İstenmeyen bu toksik bileşikler üründe besinsel protein kaybı, toksisite ve kötü tat oluşumuna neden olur. Toksik bileşiklerin oluşumunun önüne geçmek için, işlem parametrelerinin optimize edilmesi önem arz etmektedir. Bu bağlamda, modelleme işleminin ardından glikasyon derecesini maksimize ederek mikrodalga destekli glikasyon yönteminin optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Maillard konjugatlarının RSM ile elde edilen optimum işlem koşulları, kabul edilebilirlik seviyeleri, program çıktıları ve doğrulamak için deneysel olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4.'de sunulmuştur. Program çıktıları ve deneysel sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür. RSM kullanılarak elde edilen verilere göre mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde optimum çalışma koşulları; VÇP-AZ konjugatı için 0.832 kabul edilebilirlik seviyesinde 373 Watt mikrodalga gücü, 12 dk işlem süresi, VÇP-KMS konjugatı için 0.983 kabul edilebilirlik seviyesinde 600 Watt mikrodalga gücü, 8 dk işlem süresi, VÇP-P konjugatı için ise 0.886 kabul edilebilirlik seviyesinde 373 Watt mikrodalga gücü, 3 dk işlem süresi olarak bulgulanmıştır. Elde edilen Maillard konjugatları optimal koşullarda hazırlanarak sonraki adımlarda kullanılmıştır.

Çizelge 4.4. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının üretiminde yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları

Glikasyon yöntemi	Maillard konjugatları	İşlem parametreleri		Kabul edilebilirlik	Glikasyon derecesi (%)	
		Güç (Watt)	Süre (dk)		Program çıktısı	Deneysel sonuç
Mikrodalga destekli glikasyon	VÇP-AZ	373	12	0.832	55.45	55.55±0.81
	VÇP-KMS	600	8	0.983	59.64	59.38±0.47
	VÇP-P	373	3	0.886	58.46	58.39±0.83

4.1.2. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının işlem koşullarının optimizasyonu

Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde optimum koşulların belirlenmesi için cihaz genliği (%) ve işlem süresi (dk) parametrelerinin glikasyon derecesine etkisi incelenmiştir. Reaksiyon koşulları, yanıt yüzey metodolojisi (RSM)

kullanılarak optimize edilmiştir. Sıcaklık (90 °C) sabit tutularak cihaz genliği (%40-120) ve işlem süresinin (1-15 dk) glikasyon derecesine etkisini belirlemek üzere merkezi tümleşik tasarım ile 5 tekrarlı 13 denemeden oluşan deneme noktaları oluşturulmuştur.

Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri Çizelge 4.5.'de sunulmuştur. Deneme noktalarının sonuçlarına göre Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi VÇP-AZ konjugatı için %3.01-51.43, VÇP-KMS konjugatı için %10.54-52.99, VÇP-P konjugatı için %8.29-61.56 arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde merkezi tümleşik tasarım kullanılarak oluşturulan deneme noktaları ve konjugatların glikasyon dereceleri

Deneme noktaları	Bağımsız değişkenler		Bağımlı değişken		
	Genlik (%)	Süre (dk)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-AZ)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-KMS)	Glikasyon derecesi (%) (VÇP-P)
1	40.00	1.00	3.01	10.54	8.29
2	40.00	8.00	20.37	17.59	24.92
3	80.00	1.00	4.99	12.73	10.12
4	80.00	8.00	35.92	32.89	46.05
5	40.00	15.00	9.31	26.45	13.90
6	80.00	8.00	37.45	34.49	47.51
7	80.00	15.00	24.06	46.51	28.27
8	120.00	1.00	11.42	18.46	17.03
9	120.00	8.00	42.09	38.49	46.53
10	80.00	8.00	51.43	39.44	61.56
11	120.00	15.00	28.89	52.99	34.01
12	80.00	8.00	36.25	33.31	46.32
13	80.00	8.00	34.37	31.30	44.28

Optimizasyon çalışması kapsamında bağımsız değişkenlerin (genlik ve işlem süresi) glikasyon derecesi üzerine istatistiksel olarak etkisinin olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bağımsız değişkenlerin interaksiyonlarının bağımlı değişken üzerine etkisine bakıldığında, kuadratik modele uyumlu olan VÇP-AZ ve VÇP-P konjugatlarının *süre*×*süre* ikinci derece etkileşiminin glikasyon derecesini önemli

düzeyde etkilediği görülürken ($p<0.01$), VÇP-KMS konjugatının *genlik*×*süre* ikinci derece etkileşiminin etkisinin önemli düzeyde olduğu görülmüştür (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretim koşullarının model katsayıları ve varyans analizi (ANOVA) sonuçları

Parametreler	Katsayı	Glikasyon derecesi (%) VÇP-AZ	Glikasyon derecesi (%) VÇP-KMS	Glikasyon derecesi (%) VÇP-P
Kesişim	β_0	36.19*	24.77***	40.42**
Kuadratik				
Süre	β_1	7.14*	14.04***	6.79*
Genlik	β_2	8.29*	9.23**	8.41*
Etkileşimli				
Genlik×süre	β_{12}	2.79	4.66*	2.84
İkinci derece				
Genlik×Genlik	β_{11}	-4.72	-2.86	-23.90
Süre×Süre	β_{22}	-21.43**	-4.44	-7.37**

Model denklemi: Y (Bağımlı değişken) = $\beta_0 + \beta_1$ (süre) + β_2 (genlik) + β_{12} (süre × genlik) + β_{11} (Genlik × Genlik) + β_{22} (Süre×süre). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$.

Model denklemi ve ilgili katsayılar denklemde yerine koyulduğunda, konjugatların glikasyon derecesini (bağımlı değişken) tahmin etmek için eşitlikler aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

VÇP-AZ konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 38.19 + 7.14(\text{süre}) + 8.29(\text{genlik}) + 2.79(\text{süre} \times \text{genlik}) - 21.43(\text{süre} \times \text{süre}) - 4.72(\text{genlik} \times \text{genlik})$$

VÇP-KMS konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 38.77 + 14.04(\text{süre}) + 9.23(\text{genlik}) + 4.65(\text{süre} \times \text{genlik}) - 2.86(\text{süre} \times \text{süre}) - 4.44(\text{genlik} \times \text{genlik})$$

VÇP-P konjugatı için:

$$\text{Glikasyon derecesi (\%)} = 47.42 + 6.79(\text{süre}) + 8.41(\text{genlik}) + 2.84(\text{süre} \times \text{genlik}) - 23.90(\text{süre} \times \text{süre}) - 7.37(\text{genlik} \times \text{genlik})$$

Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretimi için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasına ait model çıktıları Çizelge 4.7.'de verilmiştir. Belirleme katsayısı (R^2), düzeltilmiş belirleme katsayısı (R^2_{adj}), p değeri ve anlamlı olmayan uyum eksikliği (lack of fit) parametreleri çalışma için uygun model seçiminde istatistiksel parametreler olarak dikkate alınmıştır. Bu parametreler dikkate alındığında, VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları için kuadratik modelin (ikinci dereceden polinom modeli) bağımlı değişken olan glikasyon derecesi için en uygun model olduğu belirlenmiştir. Tüm konjugatlarda regresyon katsayısının (R^2) 0.80'den yüksek olması, uyum eksikliğinin olasılık değerinin (p değeri) 0.05'ten küçük olması ve anlamlı olmayan uyum eksikliğinin 0.05'ten büyük değere sahip olması Design Expert programında glikasyon derecesi için önerilen modelin deneysel verilere uygunluğunu göstermektedir.

Çizelge 4.7. Ultrases destekli Maillard konjugat üretim koşullarının model istatistik sonuçları

Konjugat	Bağımlı değişken	Model	Standart sapma	R^2	R^2_{adj}	Uyum eksikliği	p -değeri
VÇP-AZ	GD	Kuadratik	6.11	0.9071	0.8408	0.3803	0.0370
VÇP-KMS	GD	Kuadratik	3.32	0.9611	0.9333	0.4964	0.0380
VÇP-P	GD	Kuadratik	6.96	0.9038	0.8351	0.7303	0.0496

Maillard konjugatlarının RSM ile elde edilen optimum işlem koşulları, kabul edilebilirlik seviyeleri, program çıktıları ve doğrulamak için deneysel olarak elde edilen sonuçlar Çizelge 4.8.'de sunulmuştur. Program çıktıları ve deneysel sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür. RSM kullanılarak elde edilen verilere göre ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde optimum çalışma koşulları; VÇP-AZ konjugatı için 0.824 kabul edilebilirlik seviyesinde %120 genlik, 10 dk işlem süresi, VÇP-KMS konjugatı için 1.000 kabul edilebilirlik seviyesinde %120 genlik, 15 dk işlem süresi, VÇP-P konjugatı için ise 0.794 kabul edilebilirlik seviyesinde %100 genlik, 10 dk işlem süresi olarak bulgulanmıştır. Elde edilen Maillard konjugatları optimal koşullarda hazırlanarak sonraki adımlarda kullanılmıştır.

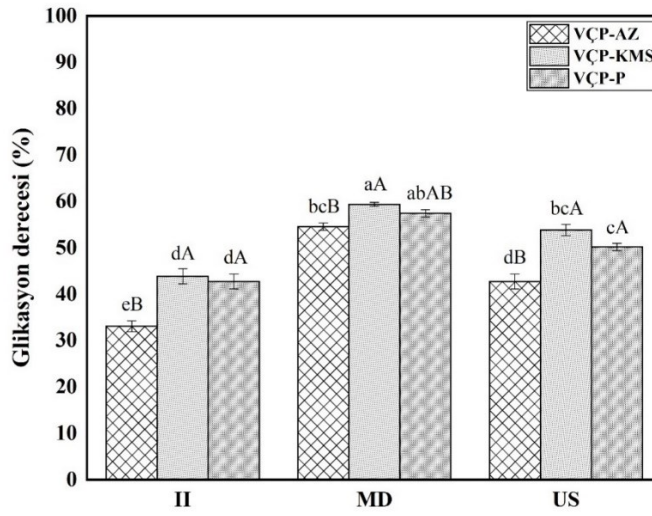
Çizelge 4.8. Ultrases destekli Maillard konjugatlarının üretiminde yanıt yüzey yöntemi optimizasyon sonuçları

Glikasyon yöntemi	Maillard konjugatları	İşlem parametreleri		Kabul edilebilirlik	Glikasyon derecesi (%)	
		Genlik (%)	Süre (dk)		Program çıktısı	DeneySEL sonuç
Ultrases	VÇP-AZ	120	10	0.824	42.92	42.61±1.61
destekli	VÇP-KMS	120	15	1.000	52.99	53.13±1.21
glikasyon	VÇP-P	100	10	0.794	50.56	50.17±0.86

4.2. Maillard Konjugatlarının Glikasyon Derecesi

Glikasyon derecesi (GD), Maillard konjugasyon sürecini değerlendirmeye yönelik bir göstergedir (Guan ve ark., 2006). Konjugasyon sırasında proteinin serbest amino grubu ile indirgeyici şekerin karbonil grubu reaksiyona girer ve reaksiyon proteindeki serbest amino grubunun azalmasıyla sonuçlanır (Han ve ark., 2022). Bu yaklaşımla GD, proteinlerin serbest amino grubu içeriğindeki değişiklikler belirlenerek tanımlanır (Boostani ve ark., 2017). OPA, GD değerini belirlemek ve gerekli modifikasyonları takiben protein karışımında kalan serbest amino grubunu ölçmek için yaygın kullanılan bir yöntemdir (Sajib ve ark., 2020). Çalışma kapsamında, Maillard konjugatlarının GD değeri OPA metodu ile belirlenmiştir. Başlangıçta modifiye edilmiş bir amino grubu bulunmadığı için sonuçlar VÇP ile kıyaslanarak hesaplanmıştır. Maillard konjugatlarının GD değerleri Şekil 4.1.'de sunulmuştur. Karbonhidrat tipinin ve konjugasyon yönteminin glikasyon derecesi üzerinde önemli bir etkisi olduğu görülmüştür. Islak ısıtma yöntemi ile su banyosunda gerçekleştirilen Maillard reaksiyonu sonucu elde edilen konjugatlarda GD değerleri VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P için sırasıyla %33.07, %43.86, %42.73 iken, mikrodalga destekli Maillard konjugatlarında %55.55, %59.38, %58.39, ultrases destekli Maillard konjugatlarında %42.61, %53.13, %50.17 olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda, ıslak ısıtma ve ultrases destekli glikasyona göre daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Mikrodalga destekli glikasyonda, ısıtmanın dipol moleküllerin dönmesine neden olması, moleküller ve atomlar arasında daha etkin bir temas sağlanması ve dolayısıyla aktivasyon enerjisini düşürmesi diğer yöntemlere göre başarısını arttırmıştır (Nasrollahzadeh ve ark., 2017). Pirinç proteini-dekstran konjugatının araştırıldığı çalışmada, geleneksel glikasyon için gerekli olan aktivasyon enerjisi 75.09 kJ/mol iken, mikrodalga destekli glikasyonda

ise 28.52 kJ/mol gerektiği bildirilmiştir. Araştırmacılar düşük aktivasyon enerjisi gereksinimini, mikrodalga enerjisinin ürettiği yüksek derecede aktif elektron ve iyonlar tarafından aktivasyon enerjisini düşürmesine atfetmişlerdir (Cheng ve ark., 2021). Ayrıca mikrodalga ısıtma mekanizması, mikrodalgaların protein katlanma ve açılma kinetiğine etkisi ile proteinlerin reaktivitesini değiştirmesi de başarılı bir konjugasyon işlemi sağlamaktadır (Bohr ve Bohr, 2000). Ultrases destekli ısıtmada, çok sayıda kavitasyon kabarcığı oluşması ve bu kabarcıkların protein açılmasına, dolayısıyla proteinde konformasyonel değişikliklere neden olarak polipeptitlerin açılarak etki bölgelerinin açığa çıkmasına neden olmuştur (Sun ve ark., 2020). Ayrıca ultrases sistemi, reaktif gruplar arasında çarpışma olasılığının artmasına neden olduğu için Maillard konjugasyon sürecini hızlandırmıştır (Zhao ve ark., 2021). Geleneksel ıslak ısıtma yönteminin, yüksek derecede ikincil topaklaşmaya neden olmasından dolayı, daha az serbest amino grubu, karbonil grubu ile reaksiyona girer (Guan ve ark., 2011). Bu nedenlerden dolayı ıslak ısıtma glikasyon yöntemi ile konjugasyon işleminin, mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon yöntemlerine göre daha düşük derecede gerçekleştiği görülmüştür. Bitkisel proteinlerin ultrases destekli Maillard reaksiyonu ile modifikasyonu üzerine yürütülen çalışmalarda yer fıstığı protein izolatu-maltodekstrin konjugatının glikasyon derecesi %32.40 (Chen ve ark., 2016), pirinç proteini-dekstran konjugatının glikasyon derecesi %17.70 (Chen ve ark., 2022), ovalbumin-ksiloz konjugasyonunun glikasyon derecesi %27.21 (X. Liu ve ark., 2021) olduğu rapor edilmiştir. VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatlarının glikasyon derecesinin daha yüksek olması KMS ve P'nin daha fazla indirgeyici uç ve daha az sterik yapıda olması ile ilişkilendirilebilir. VÇP-GA konjugatında bu durum güçlü sterik itme etkisine bağlanmıştır (Han ve ark., 2022). Ayrıca, GD'nin polisakkaritlerin boyutu ve yapısı ile ilişkili olduğunu bildiren araştırmacıların sonucu ile çalışma kapsamındaki bulgular uyum sağlamıştır (Haar ve ark., 2011). Sonuç olarak, Maillard reaksiyonu yoluyla protein ve polisakkaritler arasındaki konjugasyon işlemi, mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon ile daha kısa sürede daha yüksek glikasyon derecesi sağlamıştır. Ayrıca, sonuçlar VÇP ile AZ, KMS ve P polisakkaritlerinin kontrollü Maillard reaksiyonunun başarılı bir konjugasyon işlemi ile sonuçlandığını göstermektedir.



(^{a-c}Tüm konjugatlar arasında önemli farklılıklar göstermiştir ($p<0.05$). ^{A-C}Her yöntemin kendi içindeki konjugatlar önemli ölçüde farklılık göstermiştir ($p<0.05$), II: Islak ısıtma destekli glikasyon, MD: Mikrodalga destekli glikasyon, US:Ultrases destekli glikasyon)

Şekil 4.1. Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi

4.3. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi

Proteindeki serbest amino grupları ile polisakkaritteki indirgeyici şekerler arasında gerçekleşen kimyasal reaksiyon olan Maillard konjugasyon işlemi, FTIR spektroskopisi ile doğrulanmıştır. Protein, polisakkaritler ve konjugatların FTIR spektrumları Şekil 4.2.'de sunulmuştur. Reaksiyon sonrası konjugatların absorpsiyon bantlarında kayma ve azalmalar gözlemlenebilir. Ayrıca molekül içi ve moleküller arası bağlar etkileşime girerek yeni absorpsiyon bantları görünür hale gelebilir (Pirestani ve ark., 2018).

Karbonhidratlar genel olarak benzer spektrumlar sergilemiştir. Yaklaşık 2900-3250 cm^{-1} dalga boyunda görülen pikler, karbonhidratların yapısında bulunan C-H ve O-H gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmektedir. 1600-1700 cm^{-1} dalga boyunda N-H bükülmesi ve C=O gerilmesi ve 1022-1060 cm^{-1} dalga boylarındaki karakteristik pikler ise C-O germe ve C-O-H bükülmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Kang ve ark., 2019). Bu karakteristik bantlar AZ spektrumunda 1022.85, 1658.08, 3248.21, KMS

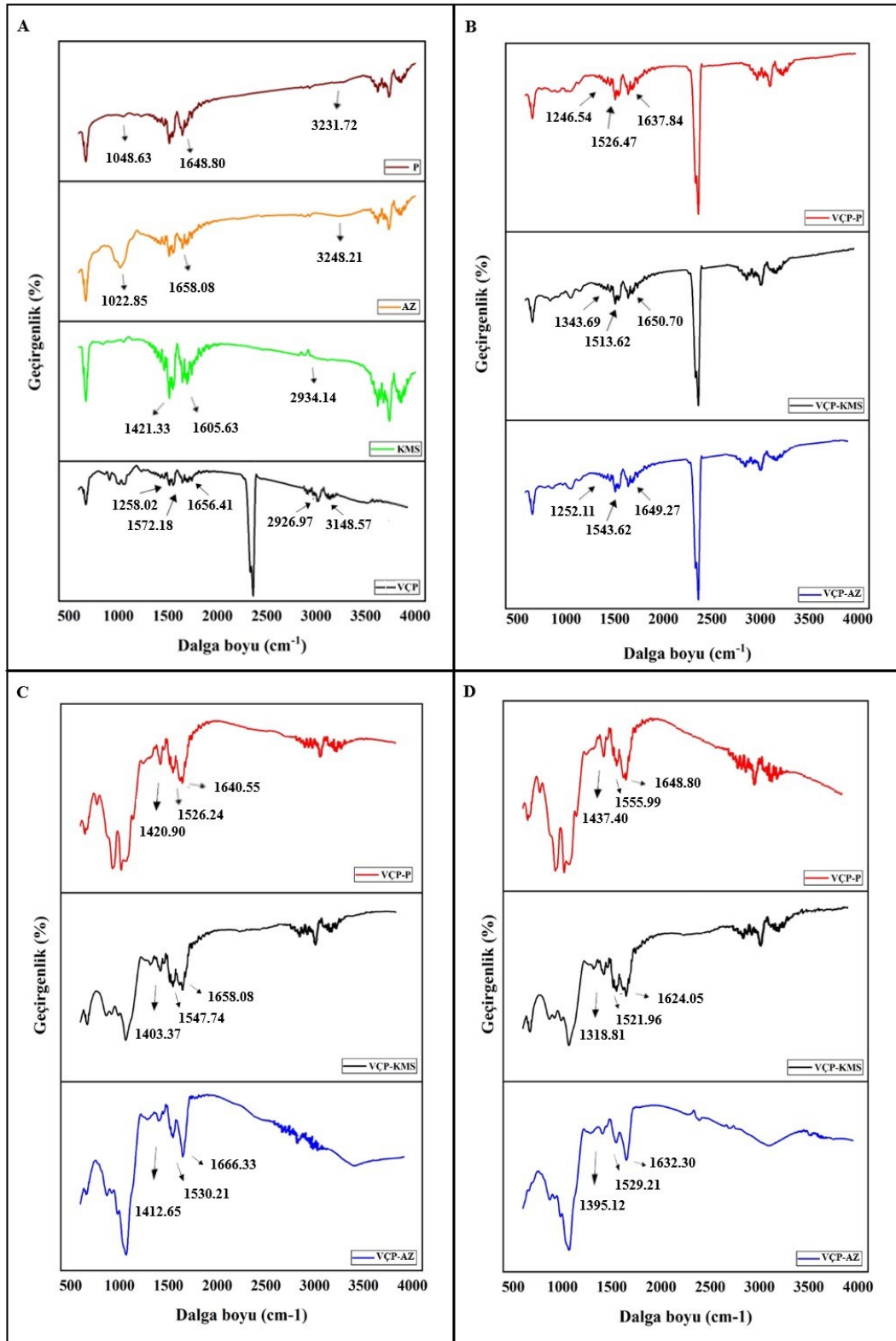
spektrumunda 1421.33, 1605.63, 2934.13 ve P spektrumunda 1048.63, 1648.80, 3231.72 dalga boylarında görülen pikler ile doğrulanmıştır (Şekil 4.2A.).

FTIR spektrumlarında, proteinlerin parmak izi bölgesi olarak tanımlanan karakteristik absorpsiyon bantları Amid I (C=O gerilmesi), Amid II (N-H deformasyonu) ve Amid III (C-N gerilmesi ve N-H deformasyonu) sırasıyla 1700-1600 cm^{-1} , 1600-1500 cm^{-1} and 1300-1200 cm^{-1} dalga boyundaki bantlardır (Ebrahimi ve ark., 2016). VÇP spektrumlarındaki karaktestik Amid I, Amid II ve Amid III absorpsiyon bantları sırasıyla 1656.41 1572.18 ve 1258.02 cm^{-1} dalga boylarında belirgin olarak görülmüştür (Şekil 4.2A.). Bu bantlar ıslak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlarda VÇP-AZ spektrumunda 1649.27 (Amid I), 1543.62 (Amid II), 1252.11 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-KMS spektrumunda 1650.70 (Amid I), 1513.62 (Amid II), 1343.69 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-P spektrumunda 1637.84 (Amid I), 1526.47 (Amid II), 1246.54 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına kayma göstermiştir. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda VÇP-AZ spektrumunda 1666.33 (Amid I), 1530.21 (Amid II), 1412.65 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-KMS spektrumunda 1658.08 (Amid I), 1547.74 (Amid II), 1403.37 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-P spektrumunda 1640.55 (Amid I), 1526.24 (Amid II), 1420.90 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarında görülmüştür. Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda VÇP-AZ spektrumunda 1632.30 (Amid I), 1529.21 (Amid II), 1395.12 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-KMS spektrumunda 1624.05 (Amid I), 1521.96 (Amid II), 1318.81 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına, VÇP-P spektrumunda 1648.80 (Amid I), 1555.99 (Amid II), 1437.40 (Amid III) cm^{-1} dalga boylarına kaymıştır.

Proteinlerin spesifik grupları ile ilgili pikleri temsil eden, C-H ve NH_2 'nin simetrik gerilmesi ile ilişkili olan Amid A ve Amid B bantları sırasıyla 3148.57 ve 2926.97 cm^{-1} dalga boylarında gözlemlenmiştir. Bu karakteristik bantlar, Maillard konjugatlarında da tespit edilmiştir ancak pik zirvelerinde düşüşler görülmüştür. Proteinler ve polisakkaritler arasında gerçekleşen Maillard reaksiyonu sonucu FTIR spektrumunda serbest -OH ve -NH_2 bağlarının bulunduğu bölgelerde değişiklikler

meydana gelebilir. Bu değişiklik, reaksiyonun doğal bir sonucu olarak proteindeki amino grubu ve polisakkaritlerdeki karbonil grubu arasındaki kovalent bağlanmaya, dolayısıyla şeker halkasının ucundaki hidroksil grubunun bozunarak FTIR spektrumunda titreşime neden olmasına atfedilmiştir (Gu ve ark., 2010).

Maillard konjugatlarında Amid I bölgesinde ($1600-1800\text{ cm}^{-1}$) proteine göre belirgin bir azalma olduğu tespit edilmiştir. Bu değişiklik, aminoasitler ile indirgeyici şekerler arasındaki reaksiyonun bu bölgede meydana gelmesine ve numunelerde Maillard reaksiyonunun başladığına atfedilir (Xu ve ark., 2018). Ayrıca Maillard konjugatlarının Amid II ($1600-1570\text{ cm}^{-1}$) ve Amid III ($1250-1350\text{ cm}^{-1}$) bölgelerindeki pik yoğunluğunda da düşüş gözlemlenmiştir. Bu düşüş, reaksiyon sonucu aminoasit tüketiminin olduğunu doğrulamıştır. Dolayısıyla, protein ile karşılaştırıldığında piklerin yoğunluğunun azalması, Maillard reaksiyonu sırasında serbest amino gruplarının reaksiyona katılarak azaldığını ortaya koymuştur. Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda bu düşüşler ve yoğunluklar, ıslak ısıtma glikasyona göre daha belirgin olarak görülmüştür. Ayrıca, KMS ve P varlığında elde edilen konjugatların spektrumlarında AZ içeren konjugatlara kıyasla piklerin zirvelerindeki düşüş belirginlik göstermiştir. Bu durum, Maillard reaksiyonunun karbonhidrat tarafı olan KMS ve P'nin AZ'ye kıyasla daha başarılı bir konjugasyon işlemi gerçekleştirdiğini doğrulamaktadır. Ek olarak, KMS ve P varlığında elde edilen konjugatlar tüm yöntemlerde AZ içeren konjugatlara göre daha yüksek glikasyon derecesi göstermesi (Bölüm 4.2.) de bu sonuçlar ile uyumluluk göstermiştir.



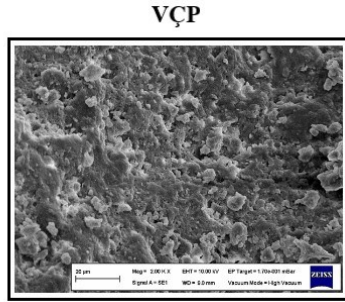
(AZ: Arap zamkı, KMS: Karboksimetil selüloz, P: Pektin), B: Islak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlar, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, D: Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar)

Şekil 4.2. Protein, polisakkaritler ve farklı yöntemler ile elde edilen Maillard konjugatlarının FTIR spektrumları (A: Vişne çekirdeği proteini ve polisakkaritler)

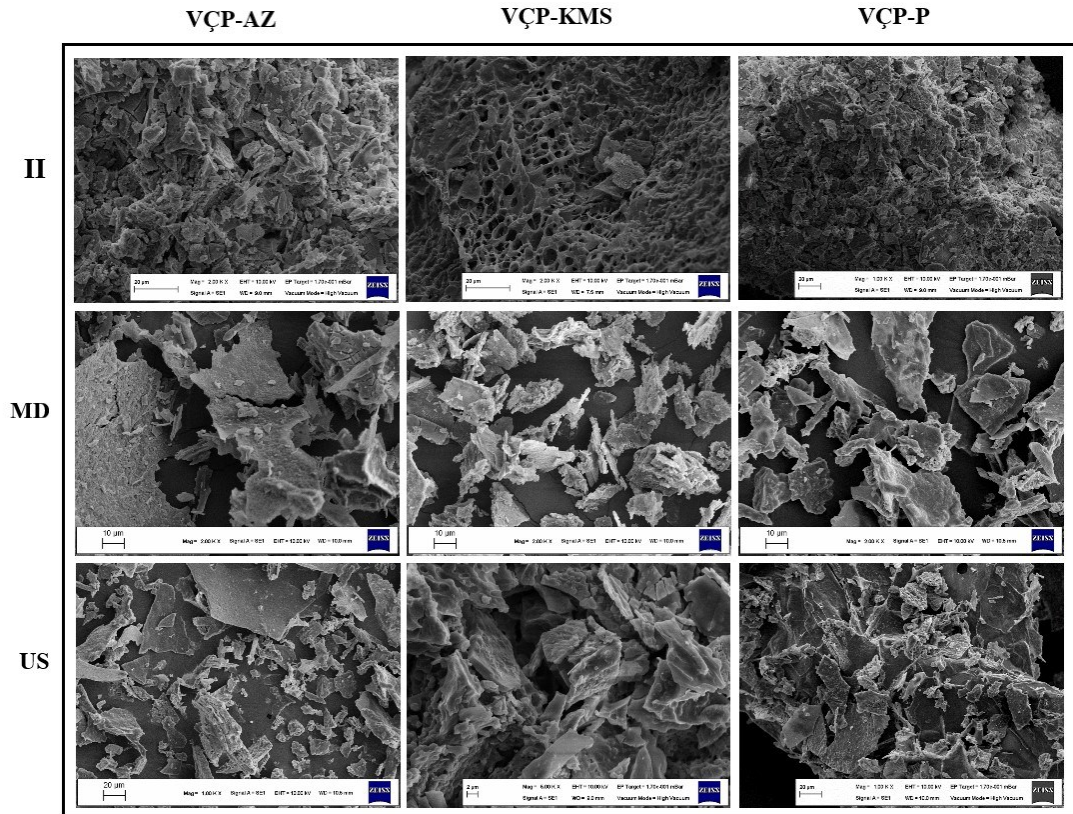
4.4. Protein ve Maillard Konjugatların Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Protein ve Maillard konjugatlarının yüzey morfolojileri SEM ile görüntülenmiş ve görüntüler Şekil 4.3. ve Şekil 4.4.'de sunulmuştur. VÇP'nin, düzgün olmayan yapıya ve ayırt edilemeyen nispeten yuvarlak ve pürüzsüz yüzeye sahip olduğu görüntülenmiştir. Nar çekirdeği proteini için de homojen olmayan düzensiz bir yüzey morfolojisi rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022). Maillard konjugasyonu işlemi sonrası modifiye edilen proteinin yüzey morfolojisi değişmiştir. Protein ve polisakkaritler arasında kovalent bağların oluşması nedeniyle konjugatlarda iri, pürüzlü, keskin kenar yapısına sahip parçalı yapılar tespit edilmiştir. Süt proteinleri ve mısır lifi konjugatlarının SEM görüntülerinde de küresel olan proteinin konjugasyon sonrası kompakt ve homojen olmayan yapılar görüntülediği rapor edilmiştir. Bu durum, polisakkaritlerin proteinlerin yüzeyine sıkı bir şekilde bağlanmasına atfedilmiştir (Yadav ve ark., 2012). Islak ısıtma glikasyon ile elde edilen VÇP-P konjugatında yarım spiraller ve homojen olmayan üst üste binmiş tabaka halinde yapılar görülürken, VÇP-KMS konjugatında yoğun bir ağ yapısı ve daha pürüzsüz bir yüzey görüntülenmiştir. Maillard konjugatlarında, konjugasyonda kullanılan materyale göre son ürünlerin morfolojik yapılarının farklılık gösterdiği rapor edilmiştir (Zha ve ark., 2021). Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda birbirine nispeten daha sıkı bağlı yapılar ve tabaka halinde yüzeyler görüntülenmiştir. Bu durum, mikrodalga ve ultrases uygulamasının protein yapısını açıp genişletebilmesi ve proteinler ile polisakkaritler arasındaki glikasyonu teşvik ettiğini doğrulamaktadır (Bohr, 2000). Ultrases destekli glikasyonda kaviteasyon kuvvetinin etkisi, proteinin yapısının bozularak değişime uğramasına neden olmaktadır (Zhao ve ark., 2022). Mikrodalga ve ultrases destekli Maillard reaksiyonu ile ön işlem uygulanan karpuz çekirdeği proteini-glikoz konjugatlarında da geleneksel yöntemle kıyasla tabaka halinde parçalanmış yapılar görüntülediği rapor edilmiştir (Zhang ve ark., 2022). Konjugatlar arasındaki yapısal çeşitliliğin nedeni, glikasyonda kullanılan protein ve polisakkaritler arasındaki etkileşim düzeyine göre farklılık göstermesidir. Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyonda elde edilen sıkı ağ yapısı

ve kompakt yapılar, konjugatların TGA analizinde termal dayanıklılığını da doğrulamaktadır (Bölüm 4.5.).



Şekil 4.3. Proteinin elektron mikroskobu görüntüsü



Şekil 4.4. Maillard konjugatlarının elektron mikroskobu görüntüleri

4.5. Protein ve Maillard Konjugatlarının Fizikokimyasal Özellikleri

Vişne çekirdeklerinden alkali özütme ve izoelektrik çökeltme metodu işlem prosedürleri sonucu, %90.88 protein içeriğine sahip VÇP elde edilmiştir. VÇP ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.9’da sunulmuştur. Su aktivitesi (a_w) gıdalarda biyokimyasal reaksiyonlardan sorumlu serbest suyu tanımlar (Quek ve ark., 2007). VÇP’nin su aktivitesi değeri 0.29, Maillard konjugatlarının su aktivitesi 0.24 ile 0.28 aralığında bulunmuştur. Gıdalardaki su aktivitesi değeri 0.9’un altına düştüğünde bakteriyel gelişim görülmediği rapor edilmiştir (Syamaladevi ve ark., 2016). Gıdalarda yer alan toplam suyu temsil eden nem miktarı VÇP için %2.48, Maillard konjugatları için %2.04-2.36 aralığında olduğu bulunmuştur. Kurutma sonrası nihai ürünlerde nem miktarının %5’in altında olması başarılı bir işlem olarak kabul edilmiştir.

Tüketici tercihlerinde kabul edilebilirlik yönünden renk, kalite parametresi olarak değerlendirilir. Gıda uygulamalarına yönelik konjugatlar, renk veya tatta en az seviyede değişikliklerle, gelişmiş işlevsellik sağlamalıdır. Bu yüzden Maillard konjugatlarının renk değişikliğini önlemek için reaksiyon kontrollü şartlarda gerçekleştirilmesi gerekmektedir (Oliver ve ark., 2006). VÇP’nin L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 84.33, 1.17, 11.15 bulunmuştur. Maillard konjugatlarının L^* (açıklık-koyuluk) değerleri 88.37-93.83 arasında ölçülmüştür. Maillard konjugatları, VÇP’ye göre beyaza daha yakın renk göstermişlerdir. Bu durum, Maillard reaksiyonunun kontrollü şartlar altında gerçekleştirilmesinin, istenmeyen renk oluşumunun önüne geçildiğini göstermektedir. Carr indeksi değeri, toz numunelerin serbest akış davranışını, Hausner oranı ise yapışkanlıklarını değerlendirmek için kullanılan parametrelerdir (Karrar ve ark., 2021). VÇP için Carr indeksi değeri 6.25 iken, Maillard konjugatları için 39.47 ile 59.18 arasında bulunmuştur. Hausner oranı ise VÇP için 1.06, konjugatlar için 1.47 ile 1.59 arasında bulunmuştur. Literatürde Hausner oranı 1.00 ile 1.60 arası yapışkanlık dereceleri sınıflandırılmıştır (Turchiuli ve ark., 2005). Sonuçlar, konjugatların yapışkan olmayan toz numuneler olarak kabul edilebilir seviyede olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.9. Vişne çekirdeği proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

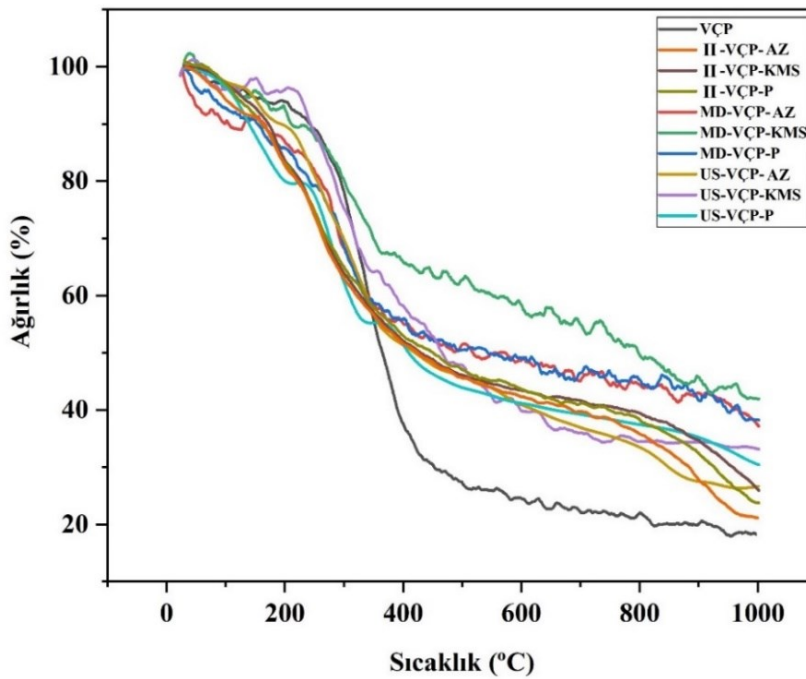
Analizler	VÇP	Islak ısıtma glikasyon			Mikrodalga destekli glikasyon			Ultras ses destekli glikasyon		
		VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P	VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P	VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P
Su aktivitesi	0.29±0.01 ^a	0.28±0.03 ^{ab}	0.27±0.00 ^{abc}	0.26±0.00 ^{abc}	0.26±0.00 ^{abc}	0.25±0.00 ^{bc}	0.24±0.00 ^c	0.25±0.00 ^{bc}	0.25±0.01 ^c	0.24±0.01 ^c
Nem (%)	2.48±0.10 ^a	2.36±0.28 ^b	2.16±0.07 ^b	2.10±0.03 ^b	2.12±0.11 ^b	2.06±0.05 ^b	2.04±0.46 ^b	2.10±0.21 ^b	2.11±0.15 ^b	2.08±0.52 ^b
Renk L[*]	84.33±0.83 ^d	91.40±2.00 ^{abc}	93.83±0.47 ^a	88.15±0.43 ^{cd}	92.86±0.04 ^a	91.47±0.37 ^{abc}	88.37±2.11 ^{bed}	91.86±0.04 ^{abc}	92.47±0.37 ^{ab}	86.87±1.40 ^d
a[*]	1.17±0.09 ^a	0.19±0.11 ^{bc}	-0.11±0.02 ^c	1.71±0.03 ^a	0.05±0.08 ^{bc}	0.08±0.02 ^{bc}	0.54±0.40 ^b	0.05±0.10 ^{bc}	0.07±0.02 ^{bc}	0.29±0.05 ^{bc}
b[*]	11.15±0.08 ^{ab}	7.60±0.11 ^{cd}	6.19±0.22 ^d	13.84±0.13 ^a	7.25±0.05 ^{cd}	8.23±0.77 ^{bed}	11.22±2.43 ^{ab}	7.05±0.05 ^{cd}	7.98±0.70 ^{bed}	9.94±0.83 ^{bc}
Carr indeksi	6.25±0.00 ^f	45.00±0.00 ^d	59.18±0.00 ^e	39.47±0.00 ^a	44.07±2.84 ^d	52.22±0.65 ^d	44.32±0.71 ^b	47.36±1.58 ^{cd}	50.21±0.30 ^d	44.83±0.73 ^{bc}
Hausner oranı	1.06±0.00 ^f	1.45±0.01 ^d	1.59±0.00 ^e	1.39±0.00 ^a	1.44±0.03 ^d	1.52±0.00 ^d	1.44±0.01 ^b	1.47±0.02 ^{cd}	1.50±0.00 ^d	1.45±0.01 ^{bc}

a-f Aynı satır içindeki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$).

4.6. Protein ve Maillard Konjugatlarının Termal Kararlılık Analizi (TGA)

Gıdaların ısıtma, kurutma ve pişirme gibi proseslerde meydana gelebilecek değişimlerin gözlemlenebilmesi açısından termal analiz önem arz etmektedir. TGA termogramları, malzemelerin sıcaklığa bağlı olarak meydana gelen kütle kaybını ortaya çıkararak termal davranışları hakkında bilgi sağlar (Karaaslan ve ark., 2021). VÇP ve Maillard konjugatlarının TGA termogramları Şekil 4.5.'de sunulmuştur. Numunelerin termal ayrışması 30-1000 °C sıcaklık aralığında 3 ana aşamada meydana gelmiştir. Protein ve konjugatlardaki ilk kütle kaybı 200 °C'nin altında gerçekleşmiştir. İlk aşama, protein ve konjugatlar için yaklaşık %10'dan daha az bir kütle kaybı ile sonuçlanmıştır. Bu aşamadaki kütle kaybı, serbest ve bağlı suyun buharlaşmasına bağlanmaktadır (Başyigit ve ark., 2020). Su moleküllerinin buharlaşması, protein ve konjugatların ilk aşamadaki kütle kaybına neden olduğu rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2021). Tüm numunelerde en yüksek kütle kaybı 200 °C'den sonra ikinci aşamada meydana gelmiştir (200-450 °C). Bu aşamada, proteinin kütle kaybında ani bir düşüş gözlenirken, konjugatlarda daha kademeli bir düşüş gözlemlenmiştir. İkinci aşamadaki kütle kaybı su moleküllerinin tamamen uzaklaşarak proteindeki polipeptit zincirlerinin bozulması veya ayrışmasına atfedilmiştir (Mshayisa ve ark., 2021). İkinci aşamada en fazla kütle kaybı VÇP (%59,86)'de gerçekleşmiştir. Bunu, ıslak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlar sırasıyla VÇP-AZ (%36,34), VÇP-KMS (%28,91) ve VÇP-P (%35,22) ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar VÇP-AZ (%33,91), VÇP-KMS (%26,92) ve VÇP-P (%31,41) takip etmiştir. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda ise kütle kaybının VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P için sırasıyla %26,38, %22,56 ve %23,73 olduğu görülmüştür. Protein ve polisakkaritler arasındaki etkileşimler (çapraz bağlama) veya konjugasyon ile elde edilen ara maddelerden dolayı ikinci aşamada kütle kaybı daha düşük olduğu önceki bir çalışmada rapor edilmiştir (Mshayisa ve ark., 2021). Maillard konjugatlarındaki düşük kütle kaybı, Maillard reaksiyonu sırasında protein ve polisakkarit arasındaki kovalent bağ ile ilişkilendirilmiştir (Schmidt ve ark., 2005). Maillard konjugasyonuna dahil olmayan protein, üçüncü adımın sonunda kütlelerinin tamamını kaybetmiştir. Bu durumun aksine, AZ, KMS ve P varlığında hazırlanan konjugatlar, kütlelerini büyük oranda (yaklaşık %30-45) korumuştur. Proteine göre Maillard konjugatları daha üstün

termal direnç davranışı sergilemiştir. Farklı glikasyon yöntemlerinden mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların üstün termal dirence sahip olduğu ve VÇP-KMS konjugatının 1000 °C’de kütlesinin yaklaşık %45 ini koruyarak termal stabilitede daha yüksek kararlılık gösterdiği tespit edilmiştir. Benzer şekilde nar çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatının, tek başına proteine göre %47 daha yüksek termal kararlılık sergilediği önceki bir çalışmada rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022). Maillard konjugatları genel olarak sıcaklığa karşı yüksek direnç gösterdikleri için ısı uygulaması gerektiren proseslere dahil edilmeleri özellikle gıda ve ilaç endüstrisinde avantaj sağlayacaktır.



(VÇP: Vişne çekirdeği proteini, II-VÇP-AZ: Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatı, II-VÇP-KMS: Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı, II-VÇP-P: Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı, MD-VÇP-AZ: Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatı, MD-VÇP-KMS: Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı, MD-VÇP-P: Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı, US-VÇP-AZ: Ultrases destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-Arap zımkı konjugatı, US-VÇP-KMS: Ultrases destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı, US-VÇP-P: Ultrases destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı)

Şekil 4.5. Protein ve Maillard konjugatlarının termogravimetrik eğrileri

4.7. Protein ve Maillard Konjugatlarının Teknofonksiyonel Özellikleri

Protein ve Maillard konjugatlarının gıda sistemlerindeki davranışlarını gösteren teknofonksiyonel özellikleri Çizelge 4.10.'da sunulmuş ve sonuçlar alt başlıklar halinde detaylı olarak incelenmiştir.

4.7.1. Çözünürlük

Çözünürlük, proteinlerin işlevsel özellik göstermesinde en önemli fonksiyonel parametrelerden biridir. Yüksek oranda çözünürlük göstermesi, proteinlerin gıda sistemlerine daha kolay entegre edilebilmesini sağlamaktadır. VÇP ve farklı yöntemlerle elde edilen Maillard konjugatlarının çözünürlük değerleri Çizelge 4.10.'da sunulmuştur. Tek başına VÇP çözünürlüğü %68.26 bulunmuştur. Proteinin Maillard reaksiyonu ile polisakkaritlerle bir araya getirilerek konjugat haline getirilmesi çözünürlüğünü arttırmıştır. Su banyosunda ıslak ısıtma glikasyon metodu ile elde edilen konjugatlarda çözünürlük VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P konjugatları için sırasıyla %77.17, %82.68, %80.81 bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P için sırasıyla %80.84, %85.44, %84.90 ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda ise çözünürlük VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P sırasıyla %79.78, %84.14, %83.16 bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların en yüksek çözünürlüğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Mikrodalga ısıtmanın, topaklanmayı azaltarak protein-polisakkarit etkileşimini arttırdığı önceki çalışmalarda vurgulanmıştır (Nasrollahzadeh ve ark., 2017). Sonuçlara göre glikasyonun mikrodalga ve ultrases destekli gerçekleştirilmesi, hidrofilik polisakkaritlerin proteine kovalent bağlanmasını önemli ölçüde desteklemiştir (Kim ve Shin, 2016). Benzer şekilde, karpuz çekirdeği-glikoz konjugatının ultrases ve mikrodalga destekli glikasyon ön işlemine tabi tutulmasının, geleneksel ıslak ısıtma yöntemine göre çözünürlüğü %55 daha fazla arttırdığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2022). Bezelye proteininin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi üzerine yapılan çalışmada, geleneksel ıslak ısıtma yöntemine göre mikrodalga ısıtma ile glikasyon sonrası

çözünürlüğünün arttığı rapor edilmiştir (Ertugrul ve ark., 2021). Polisakkarit türünün ve glikasyon yönteminin çözünürlük üzerine önemli etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca protein-polisakkarit etkileşimlerinin çözünürlük üzerine istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Bu durum, protein-polisakkarit konjugatları, tek başına proteine kıyasla daha fazla hidrofilik gruba sahip olmasına atfedilmiştir.

Glikasyon sonucu proteinin negatif yük oranı arttığından, daha geniş pH aralığında çözünürlük sağlar (Jiménez-Castaño ve ark., 2005). VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları tüm yöntemlerde VÇP-AZ konjugatına göre üstün çözünürlük sergilemiştir. Maillard konjugatları üzerine yapılan çalışmalarda KMS ve P gibi anyonik polisakkaritler ile etkileşimin, proteinin yüzeyindeki negatif yükleri arttırdığı ve çözünürlüğün artmasına önemli bir katkı sağladığı bildirilmiştir (Ma ve ark., 2020; Zhu ve ark., 2020). Maillard konjugat oluşumu, hidrofilik olan polisakkaritin hidrofobik proteinin yüzeyine bağlanması ile gerçekleşmektedir. Sakkaritin -OH grubunun hidrojen bağlama yeteneği, protein yüzeyinin hidrofobikliğini değiştirerek, proteinin hidrofobik yüzeyine tutunur. Böylece su ve protein arasındaki etkileşimi geliştirerek çözünürlüğün artmasına neden olmaktadır (Li ve ark., 2013). Mu ve ark. (2010) glikasyon derecesinin artmasıyla birlikte konjugatların çözünürlüğünün arttığını vurgulamıştır (Mu ve ark., 2010). Sonuçlar, glikasyon derecesi (Bölüm 4.2.) yüksek olan VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatlarının VÇP-AZ konjugatına göre daha yüksek çözünürlük göstermesi de literatür bulguları ile uyum sağlamıştır.

4.7.2. Su tutma ve yağ bağlama kapasitesi

Su tutma kapasitesi (STK) ve yağ bağlama kapasitesi (YBK), proteinlerin yapısındaki hidrofilik ve hidrofobik dengenin göstergesi olarak değerlendirilir. Yüksek STK ve YBK değerine sahip proteinler genellikle çeşitli gıda ürünlerinde nem kaybının azalmasına ve işlemede verimin artmasına yardımcı olmaktadır. VÇP ve Maillard konjugatlarının STK ve YBK değerleri Çizelge 4.10.'da verilmiştir. VÇP'nin su tutma kapasitesi %242.91 bulunmuştur. Maillard konjugasyon ürünleri, sulu fazda

yüksek çözünürlük gösterdiklerinden dolayı STK değeri tespit edilememiştir. Hammaddelerin kimyasal yapısındaki değişiklikler, STK'yı önemli ölçüde değiştirmektedir (Amid ve ark., 2013). Maillard konjugasyonu, proteinin YBK değerini arttırmıştır. VÇP'nin YBK değeri %228.09 bulunmuştur. Su banyosunda ıslak ısıtma glikasyon metodu ile elde edilen konjugatlarda YBK değeri VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P konjugatları için sırasıyla %503.51, %569.09, %535.24, mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P için sırasıyla %525.45, %580.99, %548.21, ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda ise VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P sırasıyla %517.73, %575.52, %540.61 bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar üstün YBK sergilemiştir. YBK gelişimi, protein molekülünün yüzeyinde bulunan hidrofobik gruplarla ilişkilendirilmiştir (Çelik ve ark., 2019). Bu nedenle, bu fonksiyonel özellik açısından istenen artış, polisakkaritin proteine kovalent bağlanması sırasında VÇP'nin hidrofobik kalıntılarının ortaya çıkmasına atfedilebilir. Mikrodalga ısıtma işlemi protein katlanma ve açılma kinetiğine etki etmesi sonucu protein molekülü yüzey yapısı daha fazla değişkenlik gösterir. Artan hidrofobiklik, protein ve yağ moleküllerinin etkileşimini artırır. YBK değerinin yüksek olması gıda üretiminde ürün formülasyonuna giren yağ miktarının azaltılmasına, aroma bileşenlerinin korunmasına ve ürünün raf ömrünün uzamasına yardımcı olur. KMS polisakkariti içeren konjugatlar tüm yöntemlerde YBK yönünden öne çıkmıştır. KMS, hidrofobik bir polisakkarit yapısında olmasına rağmen birçok hidrofilik karboksil grubu içerir. Dolayısıyla amfifilik karaktere sahiptir (Schuh ve ark., 2013). Bu özellikleri ile kovalent bağlanma sonucu proteine gelişmiş fonksiyonel özellik sağlarlar. Su ve ark. (2010) tarafından da soya proteininin fonksiyonel özelliklerinin KMS ile konjugasyonu sonucu geliştirildiği rapor edilmiştir (Su ve ark., 2010).

4.7.3. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Kararlı yapıda köpük oluşumu, ürün yapısının ve duyu kalitesinin gelişimine katkı sağlar. Proteinler, hava-su arayüzünde birikerek yüzey özelliklerini geliştirir. Bu yönüyle, köpük oluşumunda stabilizatör olarak rol oynarlar (de Oliveira ve ark., 2016).

Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi, proteinlerin köpürme özelliklerini karakterize etmek için yaygın olarak kullanılan özelliklerdir. Köpük oluşturma kapasitesi, köpük hacmindeki değişikliğin ölçülmesi ile belirlenirken, köpük stabilitesi ise köpüğün hacmindeki azalma ile belirlenir (Gharbi ve Labbafi, 2019).

Protein ve farklı yöntemler ile elde edilen Maillard konjugatlarının köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi Çizelge 4.10'da sunulmuştur. Tek başına VÇP %60.00 köpük oluşturma kapasitesine sahip iken 10 dk sonrasında %59.96 köpük stabilitesi göstermiştir. Proteinin polisakaritlerle Maillard konjugasyonu köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesini geliştirmiştir. Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile elde edilen VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları sırasıyla %70.00, %80.00, %79.00 köpük oluşturma kapasitesi, %85.70, %96.21, %91.12 köpük stabilitesi göstermiştir. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları sırasıyla %79.00, %81.00, %86.00 köpük oluşturma kapasitesi, %90.00, %97.67, %96.46 köpük stabilitesi göstermiştir. Ultrases destekli glikasyonda ise VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları sırasıyla %76.00, %85.00, %83.00 köpük oluşturma kapasitesi, %88.18, %97.65, %96.37 köpük stabilitesi sergilemiştir. Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, geleneksel ıslak ısıtma glikasyona göre daha yüksek köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi sergilemiştir. Bu durum, mikrodalga ve ultrases sistemlerinin üstün glikasyon derecesine sahip konjugatlar elde edildiğini ve dolayısıyla fonksiyonel özellikleri geliştirmiş olduğunu doğrulamıştır. Mikrodalga ve ultrases ısıtma etkisi, protein yapısındaki hidrofobik grupların yüzeye çıkarak artan hidrofobik etkileşim yoluyla hava-su arayüzey filmini destekler. Böylece elde edilen konjugatların köpürme kapasitesi ve stabilitesi artar. Ayrıca partikül boyutunun küçülmesi ve çözünürlüğün artması, daha küçük hava kabarcıkları üreterek köpürme stabilitesini arttırır (Martínez-Velasco ve ark., 2018). KMS ve P ile elde edilen konjugatlar tüm yöntemlerde köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi yönünden öne çıkmıştır. Maillard konjugasyonunun proteinlerin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesini geliştirdiği önceki çalışmalarda da bildirilmiştir. Nar çekirdeği proteininin %61.00 köpük kapasitesi gösterdiği, Arap zıkkı ile konjugasyonu sonrası ise %64.00 köpük oluşturma kapasitesi gösterdiği rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022).

4.7.4. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

Emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) proteinlerin emülsifiye edici özelliklerini belirlemek için kullanılan parametrelerdir. Proteinler, sulu ortamda dağılan yağ damlacıklarının etrafında bir film oluşturarak emülgatör görevi görür. Bu sayede yağ damlacıklarında birleşme, topaklanma ve kremalaşma gibi yapısal değişikliklerin önüne geçerler. EAI ile proteinin birim başına emülsiyon haline getirebildiği yağ miktarı belirlenirken, ESI ile emülsiyonun yapısındaki değişikliklere belirli bir süre boyunca dayanıklılığı ölçülür (Yıldız ve ark., 2017). VÇP ve Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonların EAI ve ESI değerleri Çizelge 4.10.'da verilmiştir.

EAI değeri tek başına protein ile oluşturulan emülsiyon için 7.00 m²/g bulunmuştur. Maillard reaksiyonu proteinin EAI değerini önemli ölçüde etkilemiştir. Bu değer ıslak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonlardan VÇP-AZ için 14.29 m²/g, VÇP-KMS için 16.41 m²/g ve VÇP-P 18.66 m²/g bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonlardan VÇP-AZ için 21.86 m²/g, VÇP-KMS için 27.32 m²/g ve VÇP-P için 23.62 m²/g, ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonlardan VÇP-AZ için 16.06 m²/g, VÇP-KMS için 25.48 m²/g ve VÇP-P 21.78 m²/g bulunmuştur. Maillard konjugatları arasında en yüksek EAI değerine sahip mikrodalga destekli VÇP-KMS konjugatı, tek başına VÇP ile oluşturulan emülsiyonun EAI değerini %285.71 arttırmıştır. Protein ve Maillard konjugatlarının ESI değerleri dikkate alındığında, konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların tek başına proteine göre stabilitelerini daha fazla koruduğu tespit edilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek ESI değerine sahip mikrodalga destekli VÇP-KMS konjugatının, tek başına VÇP ile oluşturulan emülsiyonun ESI değerini 10 dk ve 30 dk sonra sırasıyla %95.56 ve %109,75 arttırdığı bulgulanmıştır. Suda yağ emülsiyonlarında proteinlerin emülsifiye edici davranışlarının Maillard konjugasyon işlemi ile geliştirildiği ve stabilize etmek için Maillard konjugatlarının emülgatör olarak kullanımı önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Nooshkam ve Varidi, 2020).

Mikrodalga ve ultrases destekli Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonlar, geleneksel ıslak ısıtma Maillard konjugatlarına kıyasla stabil ve kararlı yapı göstermişlerdir. Mikrodalga ısıtma işlemi, gıda matrisinde bulunan elektrolitleri ve iyonları harekete geçirerek Maillard reaksiyonunu hızlandırır ve kısa reaksiyon süresinde gelişmiş fonksiyonel özelliklerde konjugatlar elde edilmesi gibi avantajlar sağlar (Nasrollahzadeh ve ark., 2017). Pirinç proteininin fonksiyonel özelliklerini geliştirme üzerine yapılan çalışmada, mikrodalga destekli glikasyonun, pirinç proteini-dekstran konjugatının emülsiyon özelliklerini geliştirdiği bildirilmiştir (Cheng ve ark., 2021).

Ultrases destekli ısıtmanın Maillard reaksiyonunu hızlandırdığı (Chen ve ark., 2016) ve geleneksel ıslak ısıtma yöntemine göre ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların daha gelişmiş fonksiyonel özelliklere sahip olduğu vurgulanmıştır (Mu ve ark., 2010). Önceki bir çalışmada, ultrases destekli glikasyon ile elde edilen soya proteini-lentinan konjugatının EAI ve ESI değerlerinin, soya proteinine kıyasla sırasıyla %180,52 ve %116,15 arttırdığı rapor edilmiştir (Wen ve ark., 2020).

Farklı yöntemlerle elde edilen Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonlar arasında VÇP-KMS konjugatının varlığında emülsiyon stabilitesi daha kararlı yapı ile öne çıkmıştır. Konjugasyonda kullanılan polisakkaritlerin yapısı ve molekül ağırlığı, konjugatların özelliklerini etkiler. Yüksek moleküler ağırlığa sahip polisakkaritler, sterik engellemeyi artırırken, dallanmış yapıdaki polisakkaritler konjugatların emülsifiye edici özelliklerini geliştirerek yağ damlacıklarının birleşmesini önlerler. Böylece daha stabil yapı sağlarlar (de Oliveira ve ark., 2016). Ayrıca AZ gibi bazı polisakkaritlerdeki protein kısmı, konjugatın emülsifikasyon performansını arttırmada rol oynar. Soya proteininin maltodekstrin ve Arap zampkı ile Maillard reaksiyonu sonucu elde edilen konjugatların fonksiyonel özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada, proteinin emülsifiye edici özelliklerinin iki polisakkaritle konjugasyonunun dikkate değer ölçüde iyileştirildiği bildirilmiştir. Soya proteini-Arap zampkı EAI ve ESI değerlerinin soya proteini-maltodekstrin konjugatına göre sırasıyla %24,20 ve %56,60 oranında artış sergilediği bulunmuştur. Araştırmacılar, Arap zampkının bu üstünlüğünü

dallanmış yapısına ve karbonhidrat zincirinde bulunan az sayıda protein kalıntısına atfetmişlerdir. Protein kalıntıları yağ yüzeyine adsorbe olarak emülsiyon stabilizatörü görevi gördüğü rapor edilmiştir (Xue ve ark., 2013).

Proteinler, suda yağ emülsiyonlarında ara yüzey filmi oluşturarak damlacık toplanmasını önler. Proteinin polisakkarit ile kovalent bağlanma yoluyla modifikasyonu sonucu oluşan konjugat, yağ-su arayüzeyine daha sıkı adsorbe olarak güçlü bir koruyucu katman oluşturur. Ayrıca küresel yapıdaki proteinlerin yapılarının açılması sonucu daha fazla hidrofobik grup açığa çıkar ve modifiye proteinler ara yüzeye daha hızlı göç ederler. Böylece modifiye proteinin emülsifiye edici özellikleri artar (Cheng ve ark., 2021).

Maillard konjugatlarının gelişmiş emülsifiye edici özellik sergilemesi proteinin hidrofilik/hidrofobik dengesinin değişmesine bağlanmaktadır. Protein ile hidrofilik polisakkarit arasındaki konjugasyon, proteinin çözünürlüğünü geliştirerek, sulu ortamda konsantrasyonunu ve hareketliliğini arttırır. Proteinin yapısındaki konformasyonel değişiklikler, proteinler için daha esnek bir yapı sağlayarak yağ-su arayüzüne doğal proteinlerden daha hızlı adsorbe olmasını ve arayüzey filminin yeniden düzenlenmesini sağlar. Böylece konjuge proteinler gelişmiş emülsifikasyon özellik gösterirler (O'Mahony ve ark., 2017).

Mevcut çalışmalar, Maillard reaksiyonuna tabi tutulan tüm polisakkaritlerde aynı etkiyi elde etmenin mümkün olmadığını ve seçilen polisakkarit türünün, proteinlerin arayüzey işlevselliği üzerinde dikkate değer bir etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca bu çalışmalar, Maillard reaksiyonu konjugat ürünlerinin emülsiyon aktivite ve stabilitelerinin, kovalent kombinasyonunun karbonhidrat kısmına bağlı olduğunu vurgulamışlardır (Li ve ark., 2016; Li ve ark., 2009; Liu ve ark., 2010; Saatchi ve ark., 2019; Wang ve ark., 2011; Wang ve ark., 2019).

Çizelge 4.10. Vişne çekirdeği proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

Analizler	VÇP	Islak ısıtma glikasyon			Mikrodalga destekli glikasyon			Ultrases destekli glikasyon		
		VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P	VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P	VÇP-AZ	VÇP-KMS	VÇP-P
Çözünürlük (%)	68.26±0.65 ^e	77.17±2.28 ^d	82.68±3.26 ^{bce}	80.81±1.31 ^{bc}	80.44±0.62 ^{bcd}	85.44±0.31 ^a	84.90±0.15 ^a	79.78±0.31 ^{cd}	84.14±0.31 ^{ab}	83.16±0.15 ^{abc}
Su tutma kapasitesi (%)	242.91±3.98	Te	Te	Te	Te	Te	Te	Te	Te	Te
Yağ bağlama kapasitesi (%)	228.09±1.02 ⁱ	503.51±1.10 ⁱ	569.09±1.69 ^f	535.24±1.87 ^e	525.45±1.19 ^g	580.99±1.76 ^a	548.21±0.48 ^d	517.73±0.33 ^b	575.52±1.41 ^b	540.61±0.07 ^e
Köpük kapasitesi (%)	60.00±2.83 ^d	70.00±2.83 ^c	80.00±2.83 ^{ab}	79.00±1.41 ^{ab}	81.00±1.41 ^{ab}	86.00±2.83 ^a	85.00±1.41 ^a	76.00±2.83 ^{bc}	85.00±1.41 ^a	83.00±1.41 ^{ab}
Köpük stabilitesi (%)	59.96±1.89 ^e	85.70±0.58 ^d	96.21±1.90 ^{ab}	91.12±1.95 ^{bc}	90.12±0.17 ^{cd}	97.67±0.08 ^a	96.46±1.72 ^a	88.18±1.42 ^{cd}	97.65±0.04 ^a	96.37±1.77 ^{ab}
Emülsiyon aktivitesi (m ² /g)	7.00±0.91 ^h	14.29±0.09 ^g	16.41±0.10 ^f	18.66±1.07 ^e	21.86±0.04 ^{cd}	27.32±0.29 ^a	23.62±0.10 ^c	16.06±0.01 ^{fg}	25.48±0.29 ^b	21.78±0.10 ^d
Emülsiyon stabilitesi (ESI10)	45.49±0.92 ^f	62.20±0.62 ^e	72.74±0.05 ^{cd}	73.65±0.81 ^c	81.27±0.93 ^{ab}	88.31±0.86 ^a	82.71±0.36 ^{ab}	65.29±0.98 ^{de}	80.18±1.25 ^{bc}	78.07±2.92 ^{bc}
Emülsiyon stabilitesi (ESI30)	41.93±1.95 ^e	54.31±1.33 ^d	57.93±0.82 ^{cd}	62.59±0.76 ^c	81.01±1.81 ^a	86.68±1.93 ^a	83.17±1.03 ^a	57.28±0.75 ^{cd}	70.33±2.66 ^b	68.88±1.18 ^b

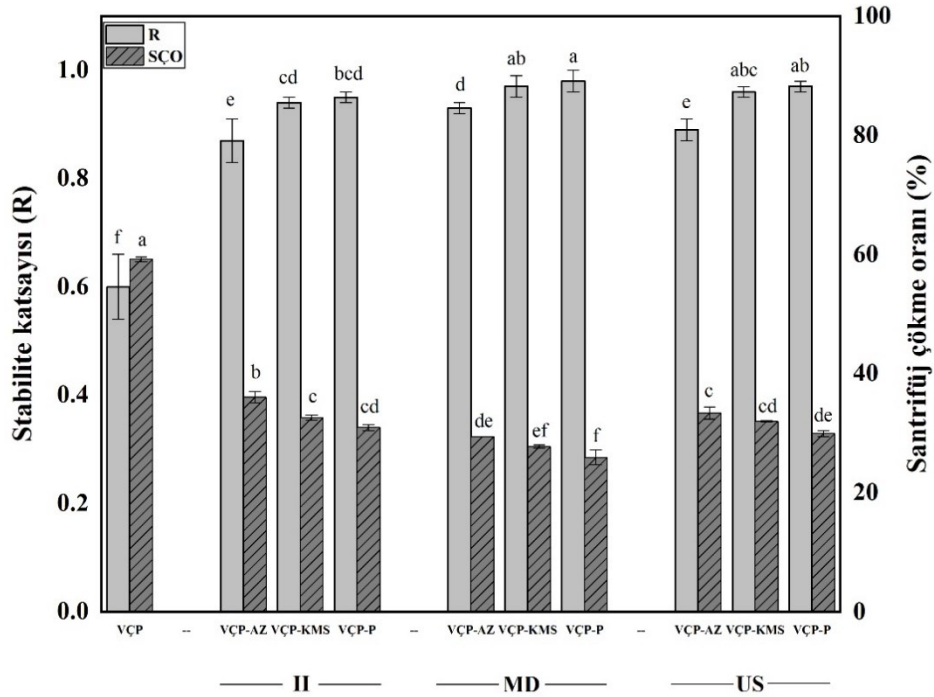
^{a-i} Aynı satır içindeki farklı harfler istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Te: Tespit edilemedi.

4.7.5. Stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı

VÇP ve Maillard konjugatları tarafından stabilize edilen emülsiyonların stabilite katsayısı (R) ve santrifüj çökme oranı (SÇO) değerleri, Şekil 4.6.'da verilmiştir. R değeri, emülsiyon stabilitesi için pozitif bir göstergedir ve 0 ile 1 arasında değişir (Li ve ark., 2019). Konjugasyon işleminin R değeri üzerinde dikkate değer bir etkisi olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Bu değer, emülsiyonların hazırlanmasında emülgatör olarak Maillard konjugatlarının kullanılmasıyla artan bir eğilim göstermiştir. R değeri, VÇP emülsiyonu için 0,60 iken, konjugatlar ile stabilize edilen emülsiyonlarda bu değer artarak 1'e yaklaştığı tespit edilmiştir. VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P için ıslak ısıtma glikasyonda sırasıyla 0.87, 0.94, 0.95, mikrodalga destekli glikasyonda 0.93, 0.97, 0.98, ultrases destekli glikasyonda 0.89, 0.96, 0.97 bulunmuştur. Veriler, konjugatların üstün yüzey aktif özelliği sergilediğini göstermiştir. Bu durum, artan elektrostatik itme kuvvetlerinin, karbonhidratların varlığında flokülasyon oluşumunu devre dışı bırakmasıyla açıklanabilir. Böylece partiküller emülsiyon içinde askıda kalarak daha kararlı emülsiyon davranışı sağlar (Li ve ark., 2019).

R değerinin aksine SÇO değeri emülsiyon stabilitesi için negatif bir göstergedir. Stabilitesi yüksek emülsiyonların R değeri yüksek, SÇO değeri düşüktür (Li ve ark., 2019). Emülsiyonların konjugatlar ile stabilize edilmesi, Şekil 4.6.'da görüldüğü gibi VÇP emülsiyonuna kıyasla SÇO değerini düşürmüştür. Tek başına VÇP varlığında SÇO değeri %59.17 bulunmuştur. Islak ısıtma glikasyonda VÇP-AZ, VÇP-KMS, VÇP-P için sırasıyla %36.04, %32.61, %30.92 mikrodalga destekli glikasyonda %29.41, %27.74, %25.91 ultrases destekli glikasyonda ise %33.36, %31.98, %29.93 bulunmuştur. Bu sonuçlar, tek başına VÇP'ye kıyasla konjugatların arzu edilen yağ bağlama kapasitesine atfedilebilir (Liu ve ark., 2020). Sonuçlar, Maillard reaksiyon ürünü konjugatları ile oluşturulan emülsiyonların üstün stabiliteye sahip olduğunu açıkça göstermiştir. Dolayısıyla, Maillard reaksiyonu yoluyla polisakkaritlerin VÇP ile birleştirilmesinin, proteinin yüzey aktif madde özelliğini geliştirmek için etkili bir uygulama olabileceği anlamına gelir. Ayrıca, R ve SÇO değerleri ile mikrodalga destekli glikasyon işleminde daha stabil ve kararlı emülsiyonlar elde edilebileceği

tespit edilmiştir. Mikrodalga destekli Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların daha düşük yüzey gerilimi yani daha yüksek yüzey aktif özelliğe sahip olduğu bu sonuçlarla desteklenmiştir. Literatürde, kolza tohumu protein izolatına karbonhidrat eklenmesinin emülsiyonun SÇO değerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (Li ve ark., 2019). Benzer sonuçlar, nar çekirdeği proteini izolatının Arap zıkkı ile Maillard reaksiyonu sonucu oluşan konjugat için de rapor edilmiştir. Araştırmacılar, konjugatın R değeri 0.95 iken, tek başına protein için bu değerin 0.64 olduğunu ve emülsiyonlara Maillard konjugatı (%28.26) katılmasının tek başına proteine (%45.42) göre SÇO değerini düşürdüğü bildirilmiştir. (Başyigit ve ark., 2022).



(II: Islak ısıtma destekli glikasyon, MD: Mikrodalga destekli glikasyon, US: Ultrases destekli glikasyon, VCP-AZ: Vişne çekirdeği proteini-Arap zıkkı içeren konjugat, VCP-KMS: Vişne çekirdeği proteini-karboksümetil selüloz içeren konjugat, VCP-P: Vişne çekirdeği proteini-pektin içeren konjugat)

Şekil 4.6. Protein ve Maillard konjugatlarının stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı

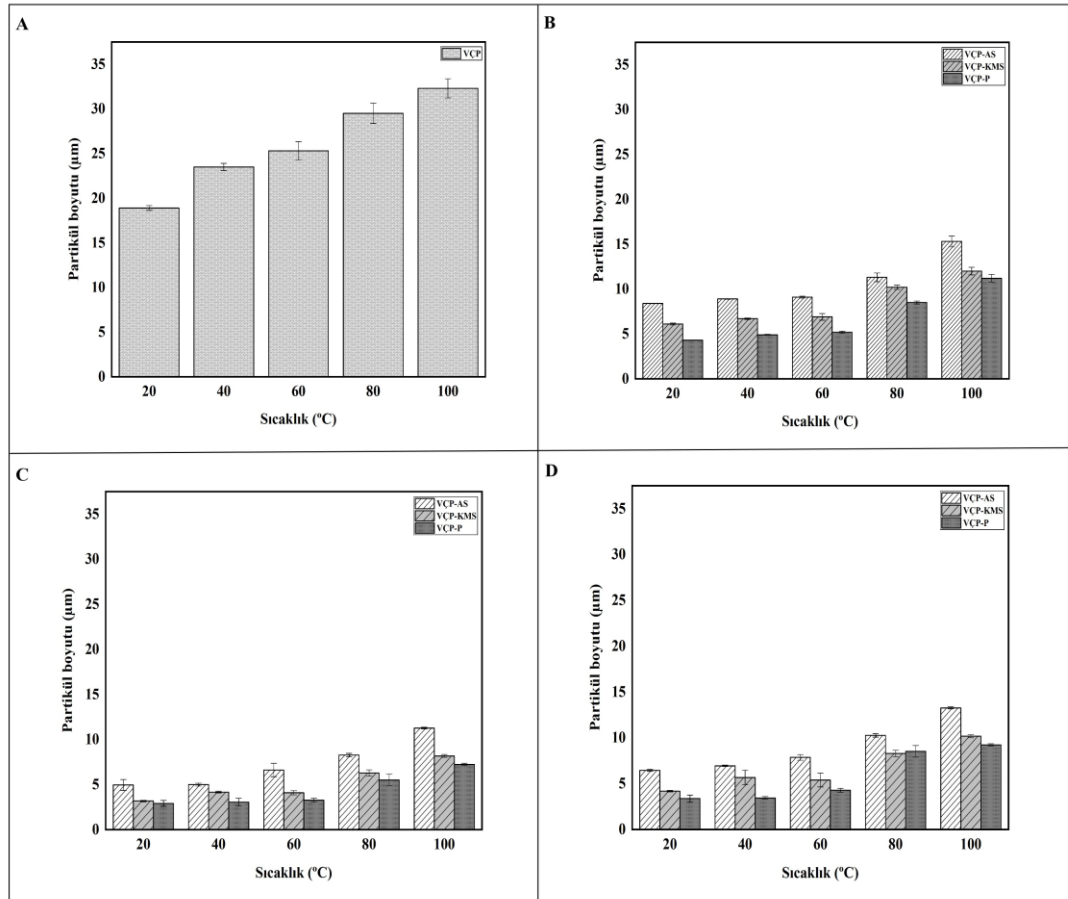
4.8. Protein ve Maillard Konjugat Emülsiyonlarının Fiziksel Stabiliteleri

4.8.1. Emülsiyonların stabilitelerine farklı sıcaklıkların etkisi

Ticari uygulamalarda gıda emülsiyonlarının işleme, depolama ve kullanımı sırasında ısı işleme dayanıklı olması önem arz etmektedir. Tek başına proteinler tarafından stabilize edilen emülsiyonlar ısı işleme karşı hassas olduğundan, ara yüzeyde protein denatürasyonu ile faz ayırımı gerçekleşmektedir (Zha ve ark., 2019). Bu bağlamda, çalışmanın bu bölümünde tek başına protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlara farklı sıcaklıklar (20, 40, 60, 80 ve 100 °C) uygulanarak sıcaklığa karşı stabiliteleri incelenmiştir. Emülsiyon özellikleri ortalama damlacık çapına, emülsiyonların görünümüne ve mikrograflarına göre değerlendirilmiştir. Tüm numuneler için damlacık çapı benzer dağılım sergilemiştir. Uygulanan sıcaklık arttıkça emülsiyonların ortalama damlacık çapında önemli artışlar olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). VÇP emülsiyonları tüm sıcaklıklara karşı en düşük stabiliteyi göstermiştir. Sıcaklık 20 °C'den 100 °C'ye yükseldiğinde emülsiyonların parçacık boyutu 18.90-32.30 µm aralığında değişmiştir (Şekil 4.7A.). VÇP ile stabilize edilen emülsiyon görüntülerinde yağ birikimi oluşması, emülsiyon ortalama parçacık çapındaki artışı belirgin bir şekilde ortaya koymaktadır (Şekil 4.8.). Ayrıca çap artışını optik mikroskop görüntüleri de desteklemektedir (Şekil 4.10A.). Sıcaklık arttıkça, protein emülsiyonunun damlacık çapı optik mikrograflarda da artan oranlarda görülmüştür. Bu durum, proteinlerin yüksek sıcaklıklarda denatürasyona uğramaları ile ilişkili olabilir çünkü denatürasyon sonucu emülsiyondaki arayüz katmanının azalması nedeniyle yağ birikimine yol açar.

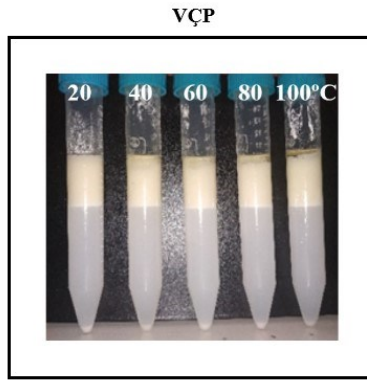
Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonlar, tüm sıcaklıklarda tek başına proteine göre yüksek stabilite göstermiştir. Protein ve polisakkaritin kovalent bağlanması, protein molekülleri ve moleküller arası hidrofobik etkileşimi azaltarak proteinin termal stabilitesini artırır (Nasrollahzadeh ve ark., 2017). VÇP-P konjugat emülsiyonlarının uygulanan glikasyon yöntemlerinde termal stabilitesini en çok koruyan olarak öne çıkmıştır. Konjugat emülsiyonlarının ortalama parçacık çapı 20

°C'den 100 °C'ye yükseldiğinde ıslak ısıtma glikasyonda 4.30-15.27 µm aralığında, mikrodalga destekli glikasyonda 2.91-11.26 µm aralığında, ultrases destekli glikasyonda ise 3.36-13.34 µm aralığında değişmiştir (Şekil 4.7.). Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların ortalama parçacık çapı termal değişime karşı daha yüksek direnç göstermiştir. En yüksek termal direnç gösteren mikrodalga destekli VÇP-P konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonun, VÇP ile stabilize edilen emülsiyona göre %186.85 daha küçük partikül boyutu sergilediği tespit edilmiştir. Glikasyon işleminin mikrodalga destekli gerçekleştirilmesi, daha yüksek derecede glike edilmiş konjugatların oluşumunu sağladığından, termal dirence karşı geleneksel ve ultrases destekli yöntemlere göre daha kararlı yapı sergilemişlerdir.

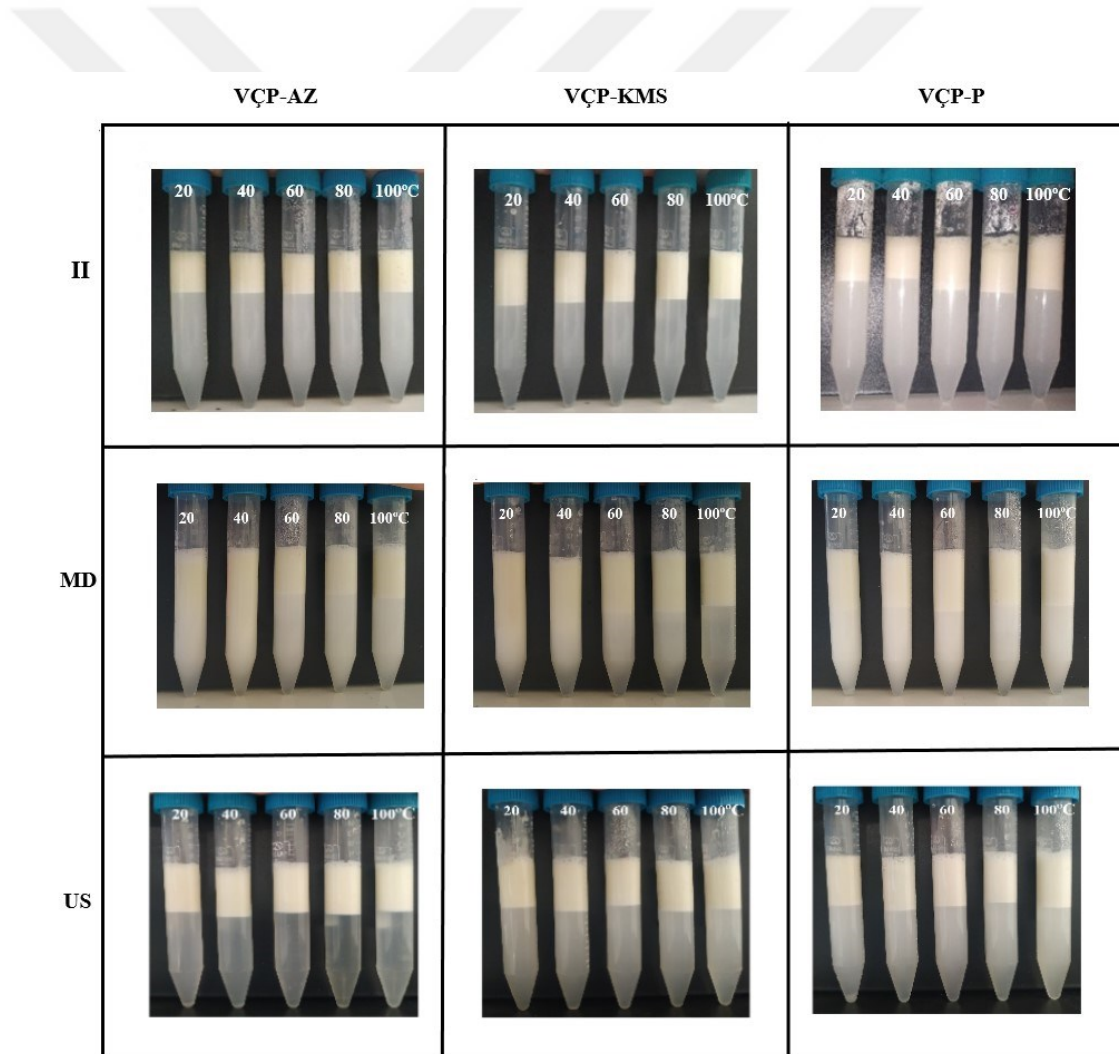


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, D: Ultrases destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlar)

Şekil 4.7. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı sıcaklıkların etkisi



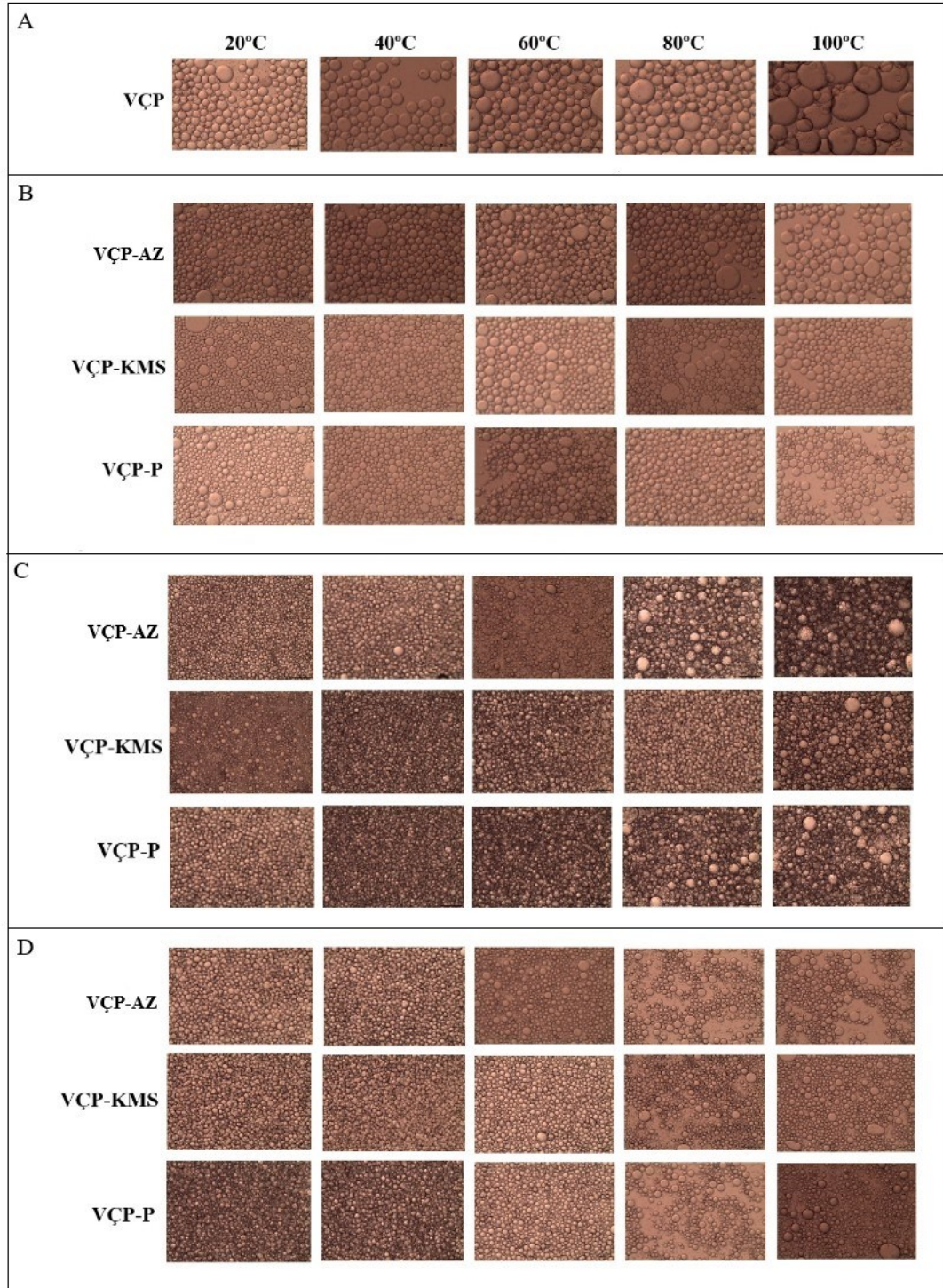
Şekil 4.8. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda görünüşleri



Şekil 4.9. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda görünüşleri

Damlacık boyutu sonuçlarına göre VÇP-AZ ve VÇP-KMS emülsiyonlarının VÇP-P emülsiyonlarına göre ihmal edilebilir düzeyde daha düşük parçacık boyutu elde edilmiş fakat tek başına VÇP emülsiyondan daha yüksek stabilite gösterdiği görülmüştür (Şekil 4.10.). Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen VÇP-P konjugatı 100 °C sıcaklıkta VÇP içeren emülsiyona göre stabilitesini %75 oranında koruduğu tespit edilmiştir. Isıl işlem sonrası emülsiyonlarda partikül boyutunun VÇP-P emülsiyonlarına göre daha yüksek olmasının nedeninin, su içinde yağ arayüzünde oluşan hidrofobikliğin daha fazla olması ve adsorbe edilen proteinlerin açılarak daha az stabil özellik göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Başyigit ve ark., 2022). Ayrıca, artan sıcaklık ile konjugat emülsiyonlarının görünümünde önemli bir fark görülmedi (Şekil 4.9.). Bu durum, emülsiyon damlacıkları arasındaki sterik ve elektrostatik itme kuvvetinden kaynaklanıyor olabilir. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlar, katyonik amino gruplarını anyonik hale dönüştürerek emülsiyonlarda negatif yükün artmasına yol açarlar. Artan negatif yüklerin, ısıl işlem sonrası emülsiyon stabilitesini arttırdığı bildirilmiştir (Pan ve ark., 2020). Mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon yöntemlerinde Maillard reaksiyonunu teşvik edici etkisi ile yük dengesinin sağlanması daha stabil emülsiyonların elde edilmesini sağlamıştır.

Bezelye proteini izolatu-Arap zankı Maillard konjugatının su içinde yağ emülsiyonunun stabilitesinin araştırıldığı çalışmada, konjugatlar tarafından stabilize edilen emülsiyonların uygulanan farklı sıcaklıklarda tek başına bezelye proteinine göre %24 daha küçük ortalama parçacık boyutu sergilediği bildirilmiştir (Zha ve ark., 2019). Nar çekirdeği protein izolatu-Arap zankı konjugatı ile elde edilen emülsiyonlarda da görülmüştür. Protein ve konjugatların ısıl işleme karşı davranışlarını incelemek amacıyla farklı sıcaklıklara (20-100 °C) maruz bırakılan konjugat içeren emülsiyonların, tek başına protein içeren emülsiyona göre stabilitesini koruduğu rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022). Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında, yüksek sıcaklık gerektiren gıda proseslerinde tek başına protein yerine emülgatör olarak konjugatların kullanılmasının daha makul bir yaklaşım olduğunu göstermektedir.

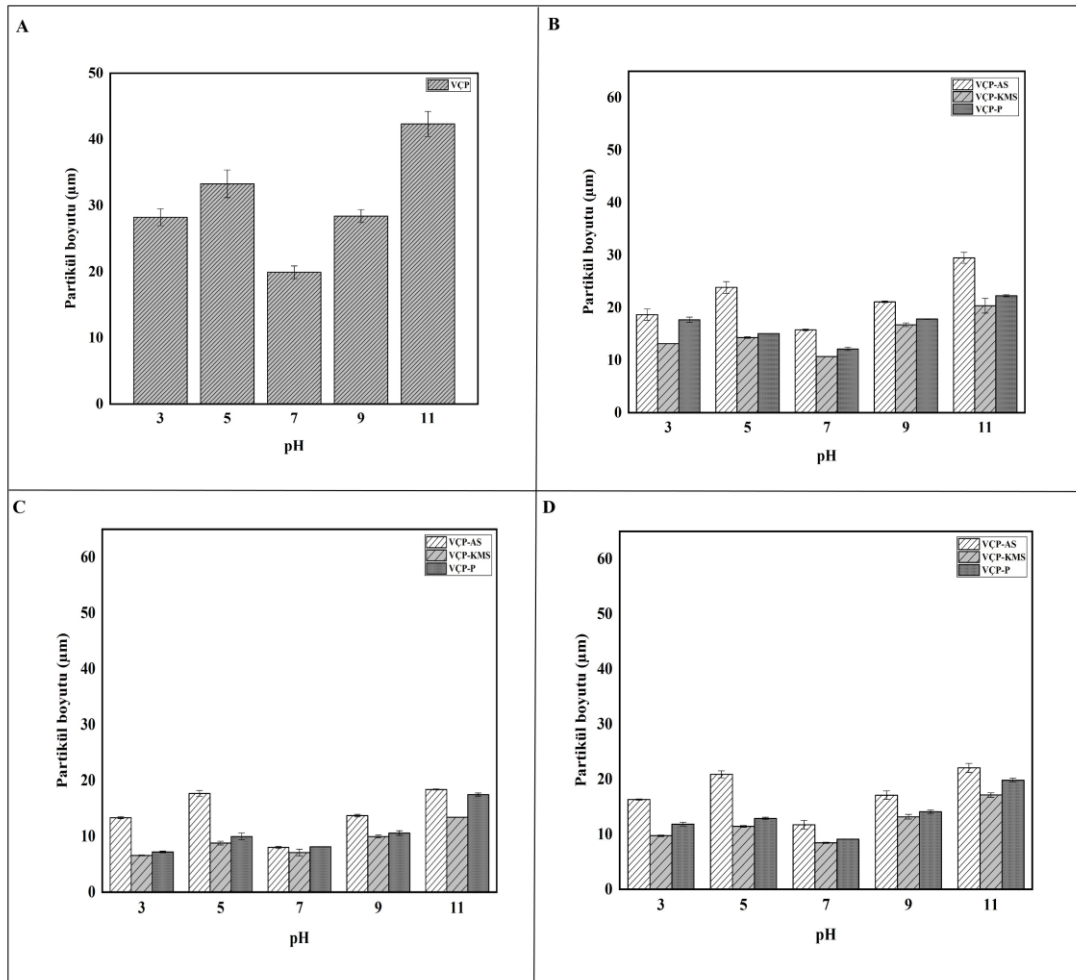


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlar, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, D: Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar)

Şekil 4.10. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı sıcaklıklarda mikrografları

4.8.2. Emülsiyonların stabilitelere farklı pH değerinin etkisi

Gıda üretiminde kullanılan emülsiyonlar, farklı pH değerindeki ortamlara maruz kalmaktadırlar. Bu nedenle pH değerinin emülsiyon stabilitesi üzerinde etkisini değerlendirmek için, protein ve Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonlar farklı pH değerlerine (3.0-5.0-7.0-9.0-11.0) maruz bırakılarak kararlılıkları incelenmiştir. Emülsiyonların pH değişimine karşı dirençleri ortalama damlacık çapı, emülsiyon görüntüleri ve mikrograflarına göre değerlendirilmiştir.

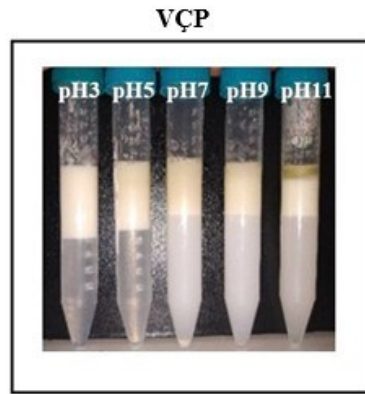


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, D: Ultrases destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları)

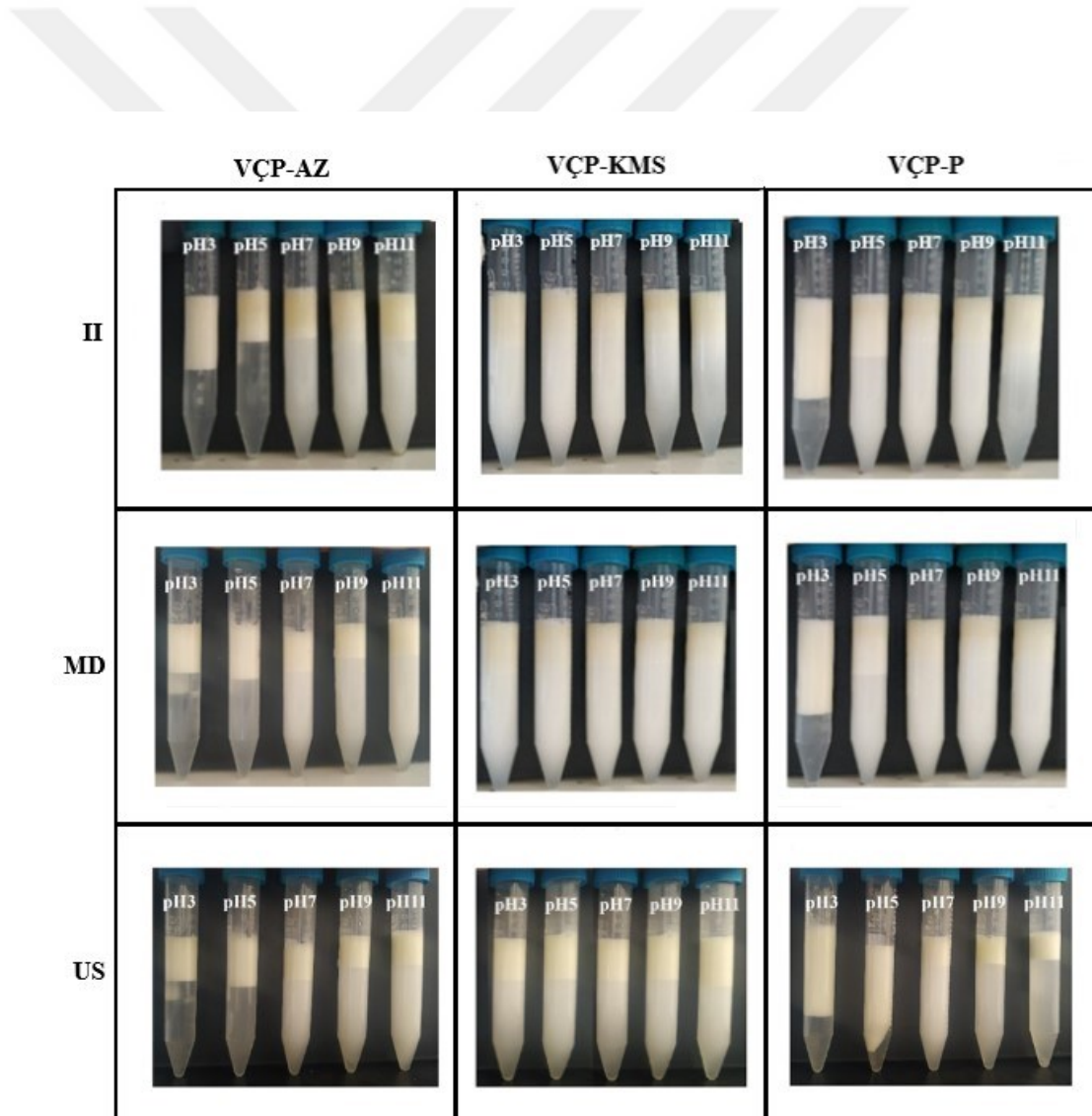
Şekil 4.11. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı pH değerlerinin etkisi

Tek başına protein kullanılarak stabilize edilen emülsiyonların ortalama damlacık çapları, tüm pH değerlerinde konjugatların varlığında oluşturulan emülsiyonların damlacık çaplarından daha yüksek bulunmuştur. pH 3.0, 5.0, 7.0, 9.0 ve 11.0'deki parçacık boyutu, yalnızca VÇP için 28.21, 33.27, 19.90, 28.40 ve 42.32 μm bulunmuştur. Emülsiyon damlacık çapı sonuçlarına göre kremalaşmaya ve topaklanmaya karşı direnci en düşük olan, tek başına protein ile hazırlanan emülsiyonlar olmuş, bunu ıslak ısıtma glikasyon, ultrases destekli glikasyon ve mikrodalga destekli glikasyon takip etmiştir. Farklı yöntemler ile elde edilen konjugatlar arasında VÇP-KMS konjugatı tüm pH değerlerine karşı en yüksek direnci göstermiştir. VÇP-KMS konjugatı pH 7.0'da ortalama damlacık çapı ıslak ısıtma glikasyon yönteminde 10.69 μm , mikrodalga destekli glikasyonda 7.09 μm , ultrases destekli glikasyonda ise 8.44 μm ile en yüksek kararlılığı gösteren konjugat olmuştur. Emülsiyon damlacık çapı boyutu sonuçları, emülsiyon görüntüleri ve optik mikrografları ile de uyum sağlamıştır. Şekil 4.12. incelendiğinde protein ile hazırlanan emülsiyonlarda pH 11 değerinde yağ ayrılması tespit edilmiştir. Konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonlarda yağ ayrılması gözlemlenmemiştir. Bu durum yüksek pH değerlerinde Maillard konjugatlarının stabilitelerini korumada üstün davranışlarını ortaya koymaktadır.

Protein-polisakkarit etkileşimlerinin yapısı, belirli pH değerinde, iki biyopolimer molekülü üzerinde bulunan yüklerin sayısına ve dağılımına bağlıdır (Gu ve ark., 2005). Anyonik polisakkarit molekülleri, protein yüzeyinde bulunan katyonik bölgelerin varlığından dolayı, protein moleküllerinin izoelektrik noktasının etrafında bulunan protein kaplı yağ damlacıklarına adsorbe olurlar. Nötr pH değerinde ise protein kaplı yağ damlacıkları güçlü negatif yük anyonik polisakkaritleri ittiği için adsorbsiyon çok az ya da hiç görülmez (Fioramonti ve ark., 2015). Düşük pH değerlerinde VÇP-KMS ile hazırlanan emülsiyon hariç diğer numunelerde serum oluşumu gözlemlenmiştir (Şekil 4.13.). Düşük pH değerlerinde serum tabakasının oluşumunun nedeni, proteinlerin izoelektrik noktasına yakınlığından dolayı elektrostatik itme kuvvetinin azalmasına bağlanmıştır (Xu ve ark., 2017).



Şekil 4.12. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde görünümleri

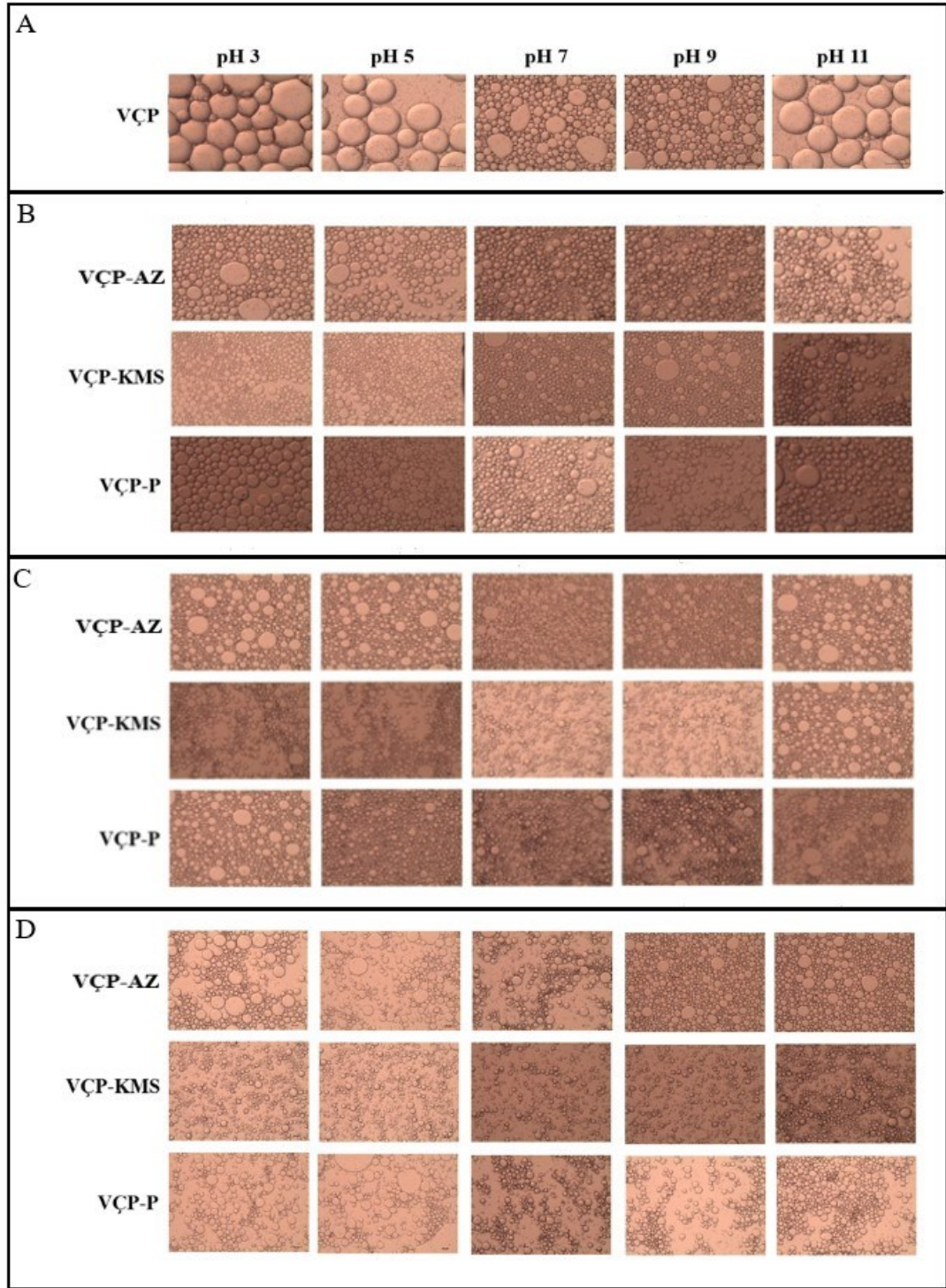


Şekil 4.13. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde görünümleri

VÇP-KMS konjugatları, tüm yöntemlerde farklı pH değerlerindeki emülsiyonlarda serum oluşumunu engellemiştir. Bu durum, VÇP-KMS kullanılarak hazırlanan emülsiyonların, VÇP-AZ ve VÇP-P emülsiyonlarına göre pH değişimine karşı daha fazla direnç gösterdiğini ortaya koymuştur. VÇP-KMS konjugatları emülsiyon damlacıkları arasındaki sterik ve elektrostatik itme kuvvetlerini daha güçlü kullanarak, diğer konjugatlara göre daha kalın bir ara yüzey katmanı oluşturmuştur (Wooster ve Augustin, 2007).

Protein ve konjugatlar ile oluşturulan emülsiyonların optik mikrografları Şekil 4.14.'de sunulmuştur. Görüntüler, emülsiyon parçacık boyutu ve emülsiyon görünimleri doğrulamaktadır. Tek başına protein ile elde edilen emülsiyonlarda daha büyük partikül boyutuna sahip ve düzensiz damlacıklar görülürken, konjugatlarda partikül boyutu daha düşük ve düzenli yapıda damlacıklar görülmüştür. Özellikle, yağ ayrılmasının görüldüğü pH 11'deki VÇP emülsiyonunun mikrografında görünen emülsiyon damlacıklarının boyutu ile falkon görünümü birbirini desteklemektedir.

Nar çekirdeği proteininin emülsifiye edici özelliklerinin artırılması için Arap zamkı ile konjugasyonu ile oluşturulan emülsiyonun pH 11'de stabilitesini korurken, protein emülsiyonunda yağ fazı ayrımı olduğu bildirilmiştir (Başyigit ve ark., 2022). Hidrolize pirinç glutelini emülsiyonunun stabilitesini arttırmak için pektin, aljinat, Arap zamkı ve ksantan gibi farklı anyonik polisakkaritlerle konjugasyonunun araştırıldığı çalışmada da pektin ve Arap zamkı ile oluşturulan kompleks yapının pH değeri 5'in altında olduğunda serum tabakası oluşumu gözlemlendiği sonucuna varılmıştır (Xu ve ark., 2017). Naik ve ark. (2022), ultrases destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen fıstık proteini izolatu-Arap zamkı konjugatının alkali pH değerlerinde yüksek stabilite gösterdiği, asidik pH (3-6) değerlerinde ise düşük stabilite gösterdiği rapor edilmiştir (Naik ve ark., 2022). Araştırmacılar bu durumu, amino gruplarının protein yüzeyinden kaybolmasına neden olan ve çözünürlüğü etkileyen Arap zamkının etkisine atfetmişlerdir.

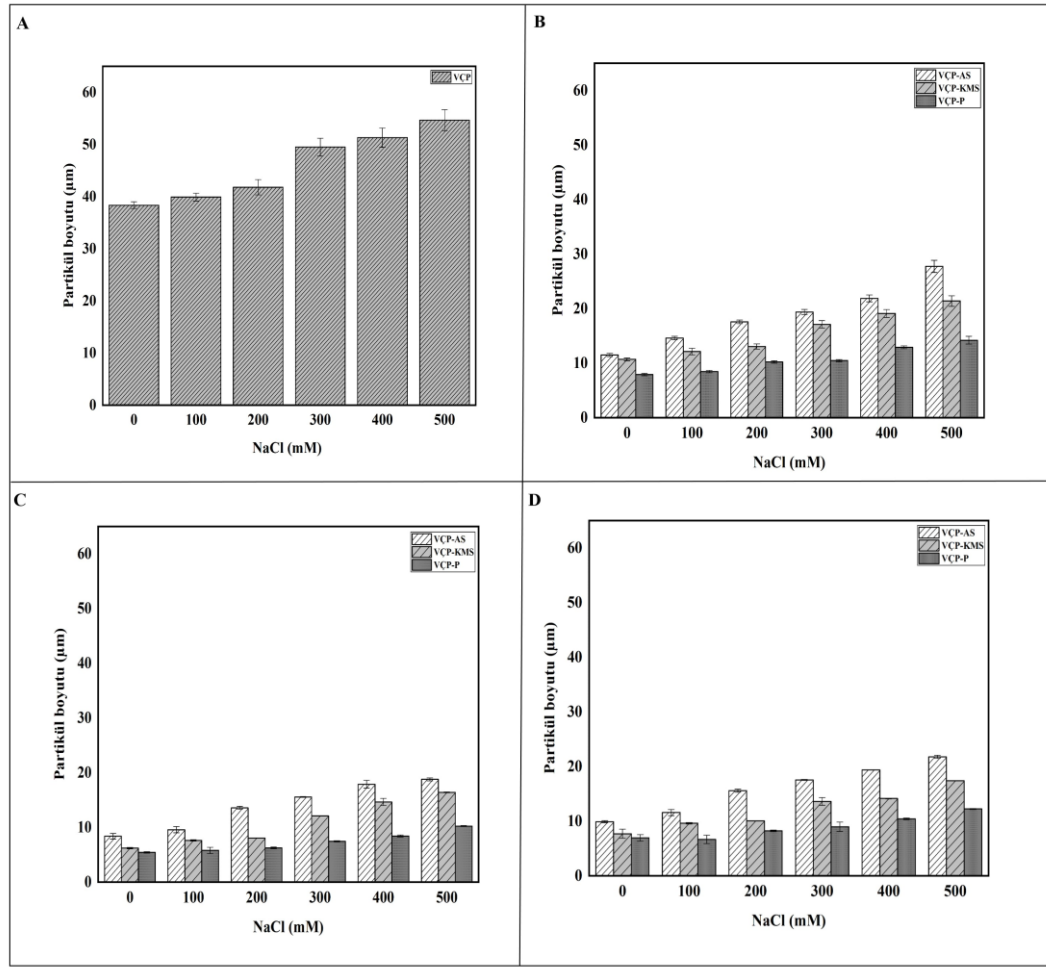


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları, D: Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları)

Şekil 4.14. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı pH değerlerinde mikrografları

4.8.3. Emülsiyonların stabilitelerine farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi

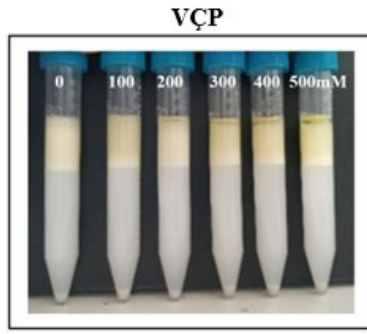
Gıdalarda evrensel olarak kullanımı yaygın olan tuz, kolloidal parçacıkların yüzey potansiyelinin azalmasına ve topaklaşmasına neden olmaktadır (Wang ve ark., 2016). Bu bağlamda çalışmanın bu aşamasında VÇP ve farklı yöntemler ile elde edilen konjugatlar kullanılarak hazırlanan emülsiyonların iyonik güce (0-500 mM NaCl) karşı stabilite davranışları değerlendirilmiştir. Bu davranış, emülsiyonların ortalama damlacık çapı, emülsiyon görüntüleri ve ışık mikroskobu görünümüleri gibi farklı parametreler kullanılarak yorumlanmıştır. Tuz konsantrasyonunun 0 mM'dan 500 mM'a çıkarılmasıyla tüm emülsiyonların parçacık boyutunda kademeli bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.15.). Tek başına VÇP ile stabilize edilen emülsiyonlarda ortalama damlacık çapı 38.34-54.66 µm arasında değişirken, ıslak ısıtma glikasyonda 7.9-27.74 µm, mikrodalga destekli glikasyonda 5.43-18.76 µm, ultrases destekli glikasyonda 6.93-21.76 µm arasında değiştiği tespit edilmiştir. Sonuçlar, farklı tuz konsantrasyonlarında emülsiyon stabilitesini korumada konjugatların tek başına VÇP'ye göre daha etkili olduğunu göstermiştir. Emülsiyon damlacık çapı boyut sonuçlarına göre, iyonik strese karşı en yüksek kararlılığı mikrodalga destekli glikasyon ile oluşturulan konjugatların gösterdiği görülmektedir. VÇP-KMS ve VÇP-P varlığında stabilize edilen emülsiyonlar iyonik strese karşı tüm yöntemlerde en fazla direnci göstermiştir. Bu sonuç, Maillard reaksiyonu sırasında VÇP ile KMS ve P arasında oluşan van der Waals gibi daha güçlü bağlardan kaynaklanıyor olabilir. Pektinin emülsiyon sistemlerinde protein destekleyici bir malzeme olduğu önceki çalışmalarda doğrulanmıştır (Xu ve ark., 2017). VÇP-KMS ile karşılaştırıldığında, VÇP-P ile stabilize edilen emülsiyonların yağ damlacıkları, incelenen tüm konsantrasyonlarda tuz ilavesine karşı nispeten yüksek stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Başıyigit ve ark. (2022), nar çekirdeği proteininin emülsifiye edici özelliklerinin geliştirilmesi üzerine yaptıkları çalışmada, proteinin Arap zımbı ile konjuge edilmesinin iyonik güce karşı stabilitesinin arttırdığını bildirmişlerdir (Başıyigit ve ark., 2022). Bir başka çalışmada, hidrolize pirinç gluteninin ksantan zımbı ve pektin ile oluşturulan emülsiyonda, pektin ile stabilize edilen emülsiyonun tuz konsantrasyonuna karşı stabilitesinin kararlılığını koruduğu rapor edilmiştir (Xu ve ark., 2017).



(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları, C: Ultrases destekli glikasyon ile üretilen Maillard konjugatları)

Şekil 4.15. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna farklı tuz konsantrasyonlarının etkisi

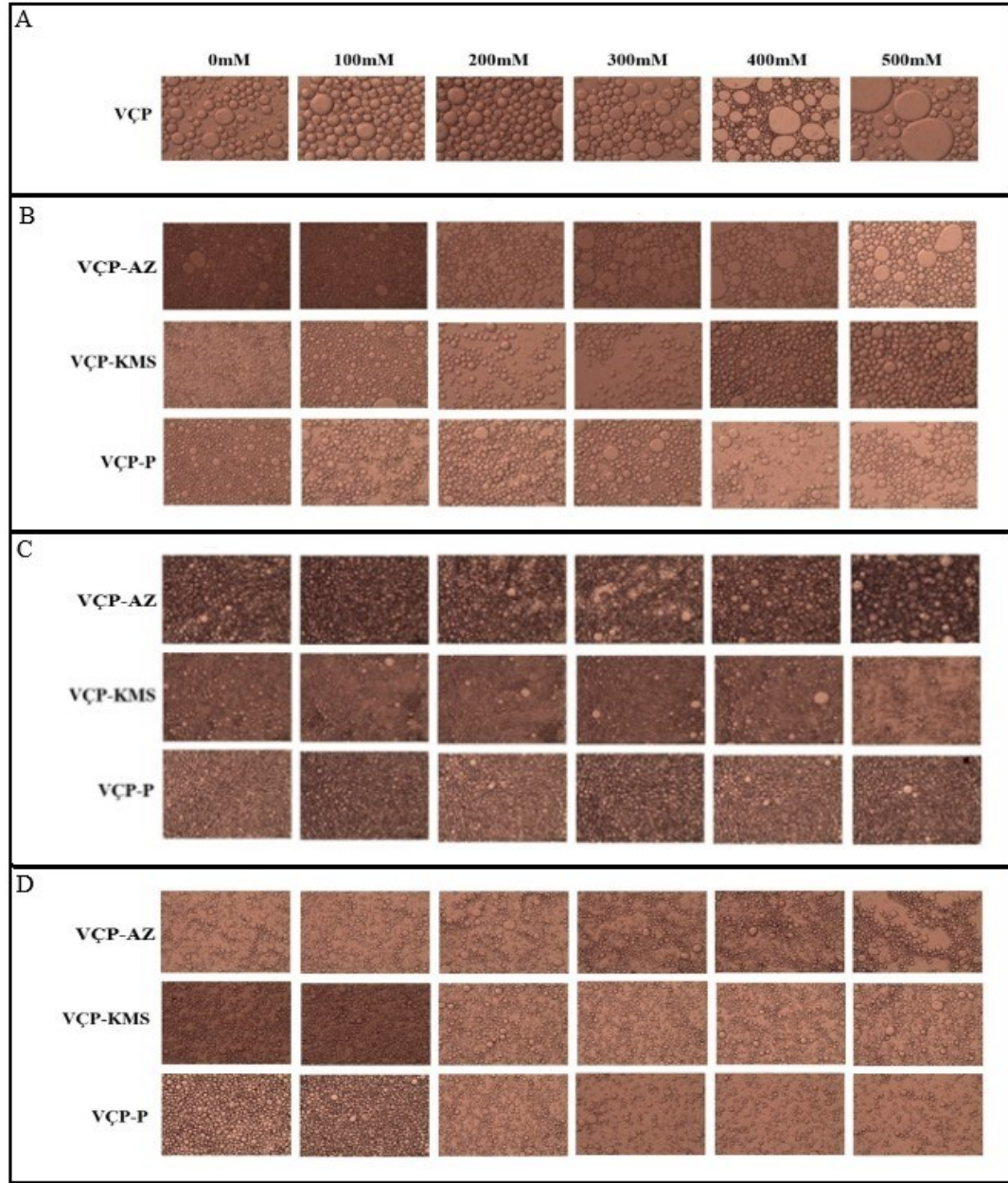
Konjugatların tuz stabilitesine karşı dirençli davranışı emülsiyon görüntüleri (Şekil 4.17.) ve mikrografları (Şekil 4.18.) ile desteklemiştir. Tek başına VÇP ile oluşturulan emülsiyonlarda artan tuz konsantrasyonu ile görüntülerde yağ fazı ayrımı da dikkat çekici şekilde artmıştır (Şekil 4.16.). Ancak konjugatlar ile stabilize edilen emülsiyonlarda yağ fazı ayrımı gözlemlenmemiş ve emülsiyonlar kararlılığını artan tuz konsantrasyonlarında da korumuştur. Bu durum, tuz konsantrasyonuna bağlı olarak damlacıklar arasındaki çekim kuvvetinin artmasına rağmen, konjugatların yağ toplanmasını önleme gücüne sahip olduğu anlamına gelmektedir. Ayrıca bu güç, mikrograflarda da desteklenmiştir.



Şekil 4.16. Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında görünümleri



Şekil 4.17. Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında görünümleri

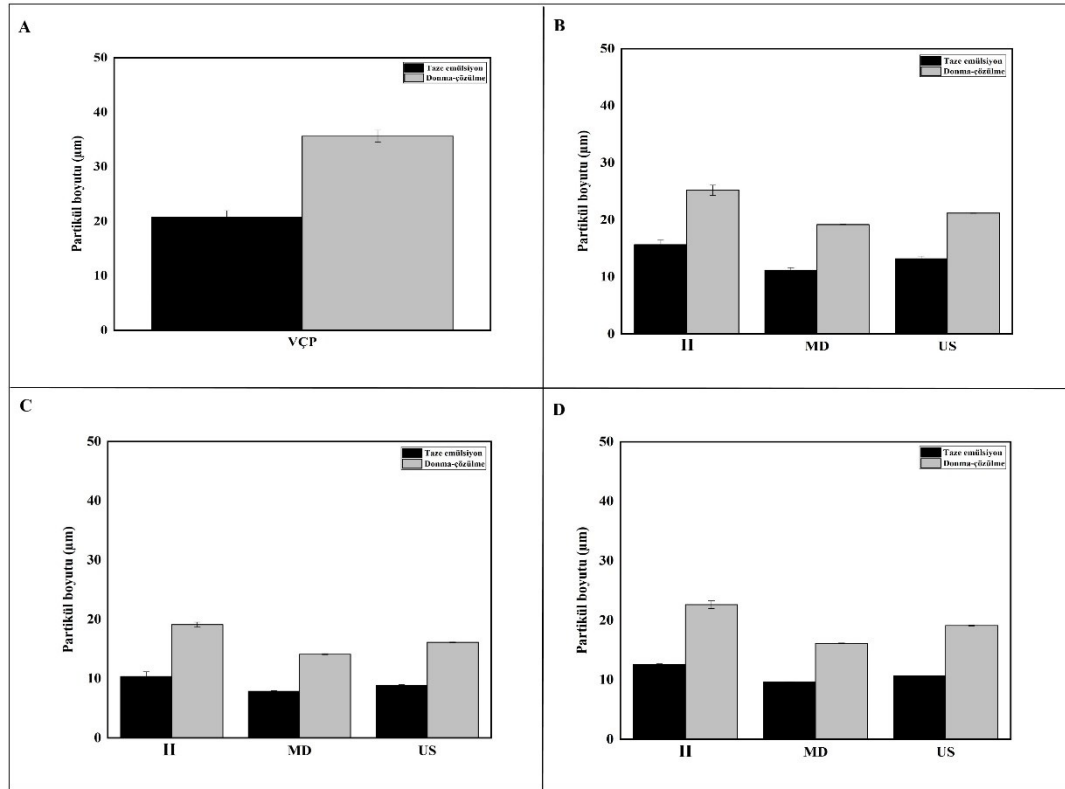


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile elde edilen Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları, D: Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları)

Şekil 4.18. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların farklı tuz konsantrasyonlarında mikrografları

4.8.4. Emülsiyonların stabilitelerine dondurup-çözündürmenin etkisi

Soslar, mayonez ve çorbalar gibi emülsiyon bazlı birçok ticari gıda ürünü, donduruldukları takdirde daha uzun raf ömrüne sahip olmaktadır. Dondurma genellikle işleme aşamasında, çözündürme ise tüketimden önce gerçekleştirilen işlemlerdir. Donma çözülme stabilitesinin düşük olması birçok gıda emülsiyonunu karakterize eder, çünkü damlacıklar genellikle yağ veya su fazlarında kristalleşme sonucu birleşir (Thanasukarn ve ark., 2004). Çalışmanın bu aşamasında VÇP ve farklı yöntemler ile elde edilen konjugatlar kullanılarak hazırlanan emülsiyonların donma çözülme işleminin (-18°C’de 72 saat donma ve 25°C’de 2 saat çözülme) neden olduğu destabilizasyona karşı stabilite davranışları incelenmiştir. Taze ve çözölmüş emülsiyonların damlacık boyutları, görünüşleri ve mikrografları incelenmiştir. Taze hazırlanmış emülsiyonlara göre işlem sonunda dondurulup çözölmüş emülsiyonların ortalama damlacık çapında artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.19.). Tek başına VÇP içeren taze emülsiyonlarda ortalama çap 20.73 µm iken, çözödürme işlemi sonrası bu değer 35.61 µm olduğu tespit edilmiştir. Damlacık boyutundaki bu artış emülsiyonun falkon görüntüsünde ve mikrografta da net bir şekilde görölmüştür. Islak ısıtma glikasyon yönteminde VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlarda taze emülsiyonlarda 15.67, 10.34, 12.62 µm iken, donma-çözölme işlemi sonrası bu değerler sırasıyla 25.68, 19.11, 22.63 µm olmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon yönteminde VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlarda taze emülsiyonlarda 11.17, 7.86, 9.57 µm iken, donma-çözölme işlemi sonrası bu değerler sırasıyla 19.18, 14.17, 16.34 µm olmuştur. Ultrases destekli glikasyon yönteminde VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlarda taze emülsiyonlarda 13.16, 8.83, 10.21 µm iken, donma-çözölme işlemi sonrası bu değerler sırasıyla 21.14, 16.12, 19.47 µm olmuştur. Bu sonuçlar, tek başına protein emülsiyonlarındaki yağ damlacıklarının etrafında zayıf bir ara yüzey tabakası olması ile açıklanabilir. Maillard konjugasyonu ile yağ damlacıklarına flokülasyon ve agregasyona karşı stabilite sağlayan daha güçlü bir ara yüzey tabakası oluşturulduğundan konjugatlar donma çözölme işlemine karşı daha kararlı yapı göstermiştir (Başyigit ve ark., 2022).

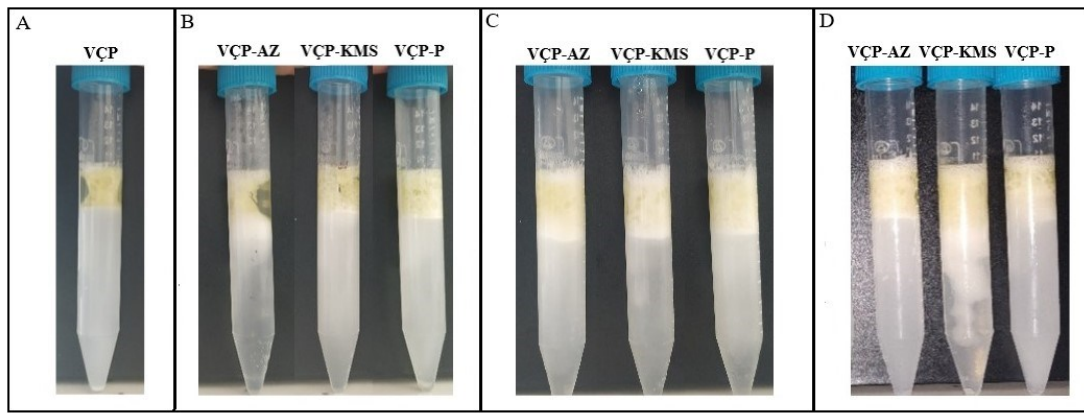


(A: Vişne çekirdeği proteini ile stabilize edilen emülsiyon, B: Vişne çekirdeği proteini-Arap zıkkı konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonlar, C: Vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonlar, D: Vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonlar)

Şekil 4.19. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların partikül boyutuna donma-çözme işleminin etkisi

Tek başına VÇP ile oluşturulan emülsiyonun, donma çözülme işlemine karşı oldukça kararsız olduğu, yağlanma ve kremalaşma olduğu Şekil 4.20A.'de görülmektedir. VÇP-KMS ve VÇP-P varlığında oluşturulan emülsiyonlar, donma çözülme işleminden sonra stabilitelelerini korumada daha yüksek kararlılık göstermiştir (Şekil 4.20). Ancak VÇP-GA konjugatı ile oluşturulan emülsiyonlarda kararlılık seviyesi tek başına protein ile stabilize edilen emülsiyondan yüksek kararlılık gösterirken, diğer polisakkaritler ile stabilize edilen emülsiyonlara göre daha düşük kararlılık göstermiştir. Tek başına VÇP'nin kullanıldığı emülsiyonlarda yağ fazı seviyesi, konjugatlara göre çok daha açık bir şekilde görülmüştür (Şekil 4.20.). Su banyosunda ıslak ısıtma glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatlarında, mikrodalga ve ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlara göre kararlılığın daha düşük olduğu görülmüştür. Özellikle VÇP-AZ konjugatı ıslak ısıtma glikasyon

yönteminde, diğer yöntemlere göre kararlılığını koruyamadığı görülmüştür (Şekil 4.20B.). Mikrodalga destekli glikasyonda yağ fazı ayrımı görülmemiş ve emülsiyonlar donma çözölmeye karşı kararlılıklarını korumuşlardır (Şekil 4.20C.). Sonuçlar, tek başına protein yerine donma-çözölmeye karşı direncinin, başta VÇP-KMS ve VÇP-P olmak üzere konjugat içeren emülsiyonlara göre daha yüksek olduğunu açıkça göstermiştir. Tek başına protein yerine donma-çözölmeye işlemine karşı daha stabil emülsiyonlar oluşturma için Maillard konjugatlarının emülgatör olarak kullanılması önceki çalışmalarda da makul olarak görülmüştür (Cabezas ve ark., 2019; Thanasukarn ve ark., 2004).

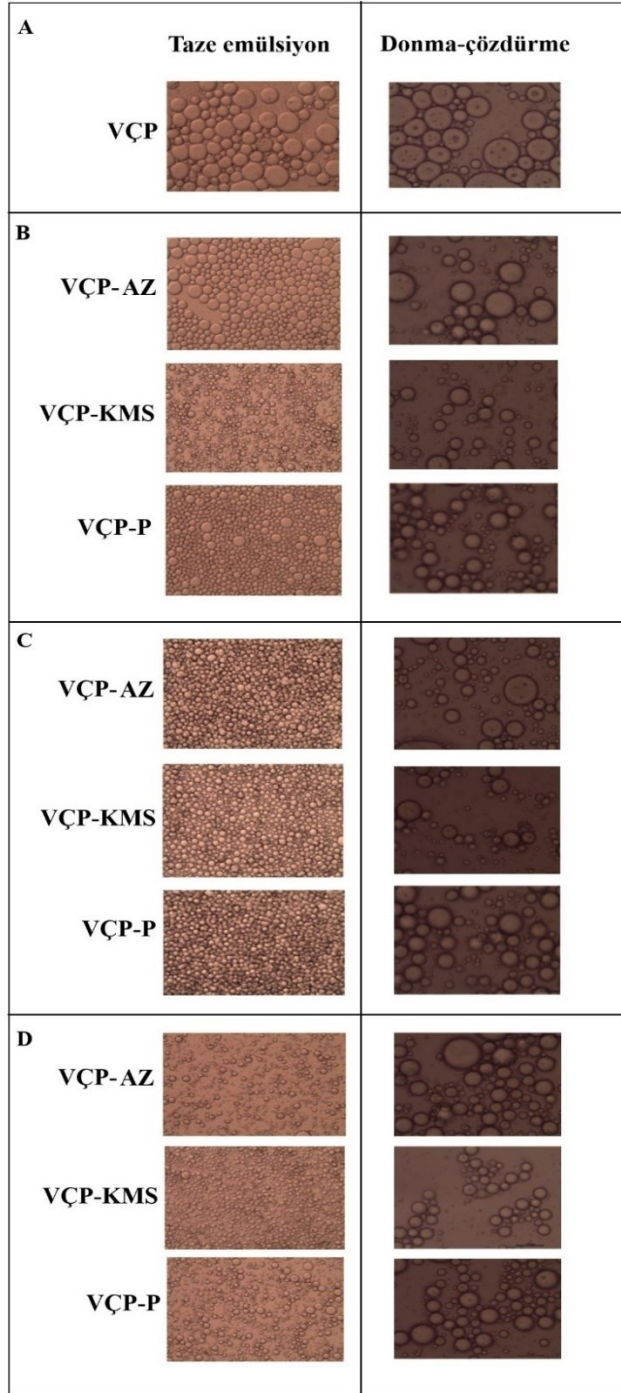


(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma Maillard konjugatları, C: Mikrodalga destekli Maillard konjugatları, D: Ultrases destekli Maillard konjugatları)

Şekil 4.20. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların donma-çözme işlemi sonrası görünimleri

Emülsiyonların damlacık çapı boyutu ve görüntülerini, mikrografları ile de desteklemiştir. Donma-çözölmeye işlemi sonrası mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlarda, diğer yöntemlere göre emülsiyon damlacıklarının çapının küçüldüğü görülmüştür (Şekil 4.21C.). Bu sonuç hem emülsiyonların partikül boyutu hem de mikrograflarında birbirini desteklemiştir. Literatürde, nar çekirdeği proteininin Arap zımkı ile Maillard konjugasyonunun emülsifiye direncinin artırılması üzerine yapılan çalışmada benzer sonuçlar bildirilmiştir. Taze emülsiyonun parçacık boyutu tek başına proteinde 6.62 μm iken konjugatta 11.86 μm olduğu, dondurulup çözöldüröldükten sonra ise proteinde 3.51 μm konjugatta 8.62 μm rapor edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022). Benzer şekilde, soya protein izolatu-dekstran konjugatı ile

stabilize edilen emülsiyonların tek başına soya proteini emülsiyonuna göre donma-çözünme döngüsünde daha kararlı yapı gösterdiği bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2017).



(A: Vişne çekirdeği proteini, B: Islak ısıtma glikasyon ile elde edilen konjugatlar, C: Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, D: Ultrases destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar)

Şekil 4.21. Protein ve Maillard konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların donma-çözme işlemi sonrası mikrografları

4.9. Köfte Analoglarının Analizleri

Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile elde edilen Maillard konjugatları en iyi teknofonksiyonel ve özellikle emülsifikasyon özellikleri sergilediğinden, emülsifiye et hamuru prosesini kapsayan köfte analogu üretiminde kullanılmışlardır. Formülasyonda tek başına VÇP içeren köfte analogu kontrol olarak değerlendirilmiştir.

4.9.1. Fizikokimyasal özellikler

Protein ve farklı polisakkaritler ile elde edilen Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarının nem ve protein içerikleri, pH değerleri, çiğ ve pişmiş renk parametreleri Çizelge 4.11.'de sunulmuştur. VÇP ile hazırlanan köfte analogunun nem içeriği %43.68 iken, Maillard konjugatları ile hazırlanan VÇP-AZ-KA, VÇP-KMS-KA ve VÇP-P-KA'nın nem içerikleri sırasıyla %60.10, %64.02 ve %62.00 bulunmuştur. Proteinin Maillard reaksiyonu yoluyla polisakkaritler ile konjuge edilmesinin fonksiyonel özelliklerini geliştirdiği önceki bölümlerde rapor edilmiştir. Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarının daha yüksek nem içeriğine sahip olması, geliştirilen su tutma kapasitesine atfedilebilir. KMS içeren konjugat ile formüle edilen köfte analogu, nem içeriği ile öne çıkmıştır. Selüloz ve selüloz türevlerinin su tutma kapasitesini artırarak gıdalarda pişirme ve tekstür geliştirmede rol oynadığı önceki çalışmalarda vurgulanmıştır (Elleuch ve ark., 2011). Köfte analogların protein miktarı, formülasyona konjugat dahil edilmesiyle artmıştır. Bu durum, konjugasyonda kullanılan polisakkaritlerin yapısında az da olsa protein yapısının olmasına atfedilmiştir. AZ'nin arabinogalaktan-protein ve glikoprotein gibi protein bileşenlerini %3'ten az da olsa içerdiği rapor edilmiştir (Ali ve ark., 2018). Ayrıca, formülasyona dahil edilen soya proteini, iyi bir esansiyel aminoasit kaynağı ve protein sindirilebilirliği düzenlenmiş aminoasit skoru olarak adlandırılan "PDCAAS" değeri hayvansal proteinle karşılaştırılabilir düzeyde bitkisel proteindir (Bohrer,

2019). Köfte analoglarının protein içeriği önceki çalışmalarda bildirilen değerler (%23.02-%25.83) ile de uyumlu bulunmuştur (Yuliarti ve ark., 2021).

Proteinin çözünürlük, su tutma/yağ bağlama, emülsifiye etme gibi birçok teknofonksiyonel özellikleri ortamın pH değerinden etkilenir. Dolayısıyla bitki bazlı köfte analogunun yapısı açısından önemli rolü vardır. Tek başına protein içeren köfte analogunun pH değeri 5.62, Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarının pH değerleri ise 6.69 (VÇP-AZ-KA), 6.72 (VÇP-KMS-KA) ve 6.56 (VÇP-P-KA) bulunmuştur. Numunelerin pH değerleri başlangıç hammaddelerinin pH değerlerine atfedilmiştir. Literatürde yer alan önceki bir çalışmada, hammadde olarak kullanılan fermente soya fasulyesinden daha düşük pH değerine sahip konjak jellerin (4.76) formülasyona eklenmesinin, köfte analogunun pH değerini 6.70'den 6.46'ya düşürdüğü rapor edilmiştir (Yuliarti ve ark., 2023).

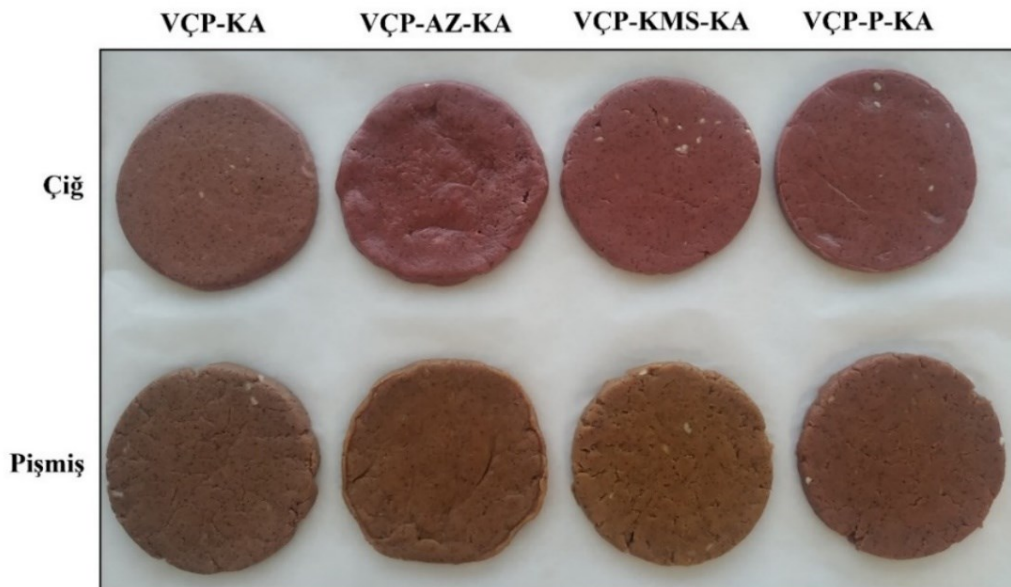
Çizelge 4.11. Köfte analoglarının fizikokimyasal özellikleri

Analizler		VÇP-KA	VÇP-AZ-KA	VÇP-KMS-KA	VÇP-P-KA
Nem içeriği (%)		43.68±0.22 ^d	60.10±0.02 ^c	64.02±0.01 ^a	62.00±0.01 ^b
Protein miktarı (%)		19.78±0.75 ^c	20.56±0.88 ^b	24.66±0.57 ^a	22.06±0.62 ^b
pH değeri		5.62±0.01 ^b	6.69±0.08 ^a	6.72±0.06 ^a	6.56±0.13 ^a
Renk L *		51.03±0.22 ^a	43.05±0.34 ^c	45.30±0.04 ^b	45.88±0.01 ^b
a*	Çiğ	13.50±0.26 ^b	18.01±0.63 ^a	18.24±0.29 ^a	17.34±0.14 ^a
b*		11.66±0.05 ^a	9.82±0.36 ^c	10.83±0.03 ^b	10.08±0.03 ^c
L*		47.75±0.40 ^a	43.36±1.00 ^c	46.24±0.58 ^{ab}	44.49±0.11 ^{bc}
a*	Pişmiş	10.68±0.21 ^a	12.28±0.14 ^b	12.32±0.21 ^b	13.87±0.42 ^a
b*		14.16±0.17 ^b	18.10±1.12 ^a	20.20±0.01 ^a	14.75±0.29 ^b

(VÇP-KA: Vişne çekirdeği proteini içeren köfte analogu, VÇP-AZ-KA: Vişne çekirdeği proteini-Arap zamkı konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-KMS-KA: Vişne çekirdeği proteini-Karboksimetil selüloz konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-P-KA: Vişne çekirdeği proteini-Pektin konjugatı içeren köfte analogu)

Renk, et ürünlerinde tüketici tercihini etkileyen kritik parametrelerdendir. Bu yüzden analog et ürünü üretiminde tüketiciyi cezbedecek renk tonunun olması tercih sebebi olacaktır. Köfte analoglarının çiğ ve pişmiş görselleri Şekil 4.22.'de

sunulmuştur. Formülasyona tek başına protein yerine Maillard konjugatlarının eklenmesi ile köfte analoglarının yüzey renklerinde önemli ölçüde değişiklik gözlemlenmiştir. Köfte analoglarının L^* (siyahlık-beyazlık), a^* (yeşillik-kırmızılık), b^* (mavilik-sarıklık) değerleri pişirme öncesi ve sonrası ölçülmüş ve sonuçlar Çizelge 4.11.'de sunulmuştur. VÇP ile formüle edilen köfte analogunun L^* değeri 51.03 iken, Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analoglarının ise 43.05 (VÇP-AZ-KA), 45.30 (VÇP-KMS-P) ve 45.88 (VÇP-P-KA) ölçülmüştür. Sonuçlar, Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analoglarının proteine göre daha aydınlık olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde a^* kırmızılık değeri Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarında daha belirgin hale gelmiştir. Konjugat içeren köfte analogları çiğ durumda iken 18.01 (VÇP-AZ-KA), 18.24 (VÇP-KMS-P) ve 17.34 (VÇP-P-KA) ölçülürken, pişmiş durumda 12.28 (VÇP-AZ-KA), 12.32 (VÇP-KMS-P) ve 13.87 (VÇP-P-KA) ölçülmüştür. Protein ile formüle edilen köfte analogunda ise a^* kırmızılık değeri çiğ durumda 13.50 pişmiş durumda 10.68 ölçülmüştür. Köfte analoglarının formülasyonunda doğal bir renklendirici olarak kullanılan ve betanin olarak bilinen pancar tozunun kırmızımsı renginin buharda pişirme işlemi sonrası Maillard konjugatları ile rengini koruduğu görülmüştür.

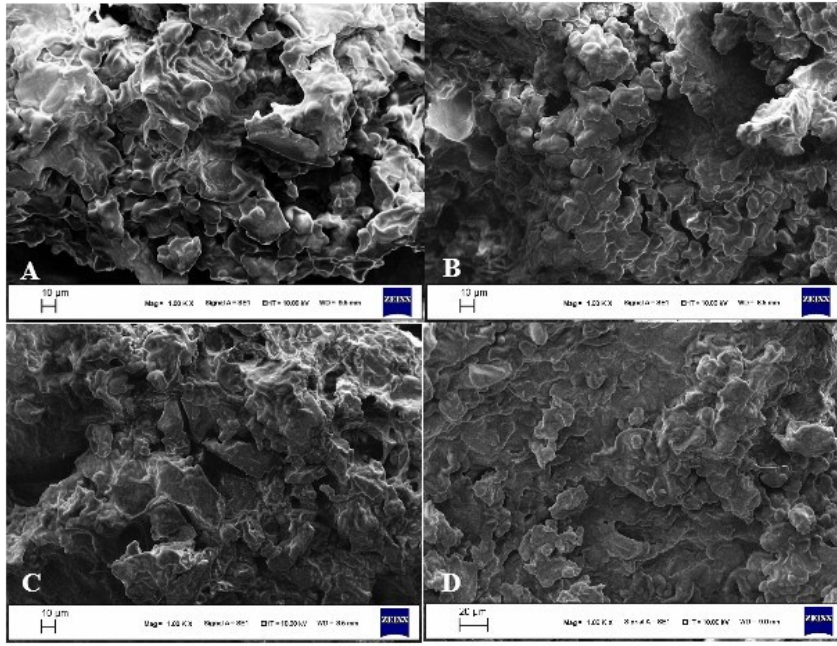


Şekil 4.22. Köfte analoglarının çiğ ve pişmiş görselleri

4.9.2. Morfolojik yapı

Protein ve Maillard konjugatları ile üretilen köfte analoglarının dondurarak kurutulduktan sonra morfolojik yapıları SEM ile görüntülenmiş ve görüntüler Şekil 4.23.'de sunulmuştur. SEM görüntüleri, analog köftenin protein ağ yapısı hakkında bilgi verir. VÇP içeren köfte analogu toplanmış bir ağ şeklinde düzensiz ve kaba bir yapı göstermiştir. Maillard konjugatları ile üretilen köfte analoglarında ise birbirine bağlı, katmanlı ve daha homojen yapılar görülmüştür. VÇP-KMS konjugatı ile üretilen köfte analogu, daha gözenekli ağ yapısı sergilemiştir. Önceki çalışmalarda, KMS ilavesinin, protein molekül zincirlerinin açılmasını destekleyerek lifli ağ yapısı oluşumu için protein moleküllerinin yeniden düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir (Yu ve ark., 2023).

Yuliarti ve ark. (2021), farklı oranlarda bezelye proteini ve buğday proteini içeren, dondurarak yapılandırma tekniği ile bitki bazlı et analogu ürettikleri çalışmada, iki proteinin eşit oranda eklendiği et analogunun benzer şekilde heterojen dağılıma sahip, katmanlı ve gözenekli bir yapı sergilediğini bildirmişlerdir (Yuliarti ve ark., 2021). Araştırmacılar bir başka çalışmada farklı oranlarda konjak jel ilavesinin daha düzenli ve düzgün bir yüzey sergilediğini, eklenen konjak jelin protein ağ yapısı için köprü görevi görerek bağlayıcı özellik sergilediğini bildirmişlerdir (Yuliarti ve ark., 2023). Sonuçlar, dondurarak yapılandırma tekniğinin, protein molekülleri arasındaki çapraz bağlanmanın hizalanmasını kolaylaştıran buz kristallerinin oluşumu yoluyla Maillard konjugatlarının kullanımın et analogu yapısını geliştirdiğini göstermiştir.



(A: Protein içeren köfte analogu, B: Protein-Arap zıncığı konjugatı içeren köfte analogu, C: Protein-karboksimetilselüloz konjugatı içeren köfte analogu, D: Protein-pektin içeren köfte analogu)

Şekil 4.23. Protein ve Maillard konjugatlar ile üretilen köfte analoglarının SEM görüntüleri

4.9.3. Tekstürel profil analizi (TPA)

Et ürünlerinin dokusal özellikleri, nihai ürünün yeme kalitesini belirleyen parametrelerdendir. Bu amaçla tez çalışmasının bu aşamasında köfte analoglarının tekstürel profilleri araştırılmıştır. Protein ve Maillard konjugatları ile hazırlanan köfte analoglarının sertlik, çiğnenebilirlik, yapışkanlık ve esneklik özellikleri Şekil 4.24.'de sunulmuştur. Hamur formülasyonuna protein yerine Maillard konjugatlarının dahil edilmesi, köftelerin tekstürel yapısını etkilemiştir.

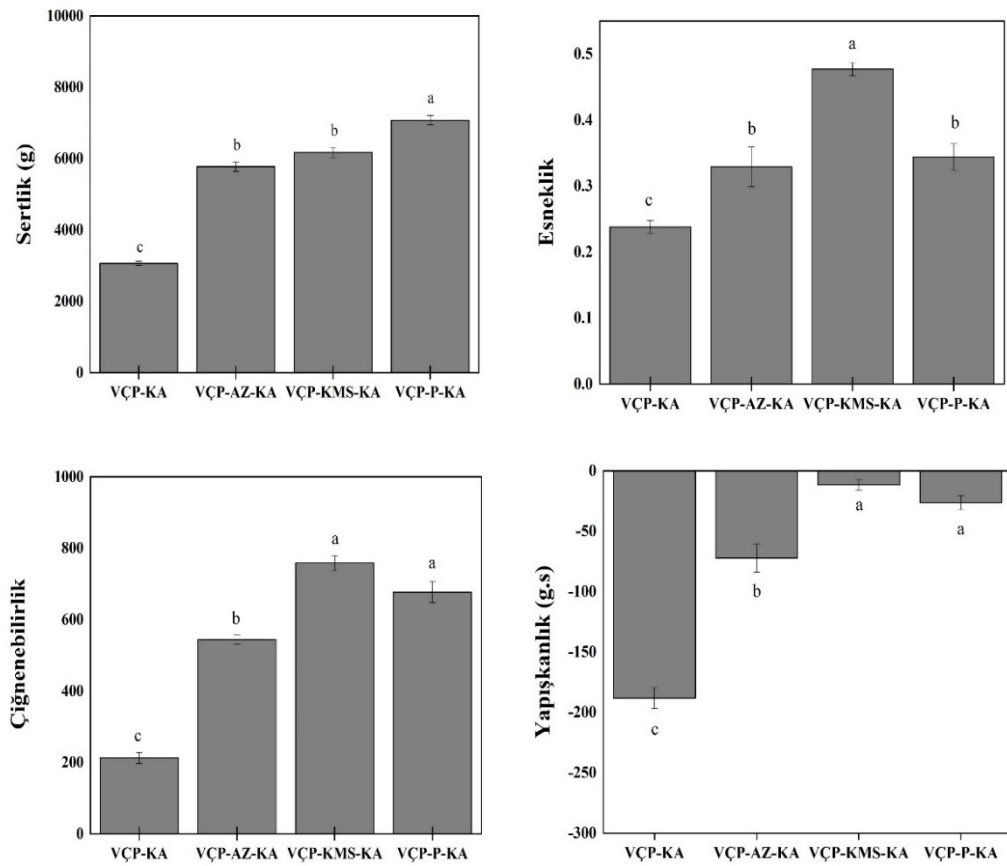
Sertlik, bir ürünün azı dişleri arasında sıkıştırılması için gereken maksimum kuvvet olarak yorumlanmaktadır (Chandra ve Shamasundar, 2015). Tek başına VÇP içeren köfte analogu (3066.94 g) en düşük sertlik değerini göstermiştir. Bunu VÇP-KMS-KA (5728.03 g), VÇP-P-KA (5612.04 g) ve VÇP-AZ-KA (5369.58 g) takip etmiştir. Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarının sertliğindeki artış, protein ve karbonhidratların kompakt bir ağ yapısı oluşturmaya atfedilmiştir. Tek başına

protein içeren hamur daha gevşek ve dağılabilir yapıda iken, Maillard konjugatları kompakt ağ yapısından dolayı daha sıkı ve sert bir yapı göstermiştir. Ayrıca, konjugatlardaki karbonhidrat kısmı, polimerler arasındaki moleküler ilişkilerinin sayısını arttırarak proteinin jelleşme ağ yoğunluğunu etkiler. Bu durumdan dolayı, konjugat ilavesinin köftelerin genel dokusunu geliştirdikleri öngörülmektedir (Schuh ve ark., 2013). Yularti ve ark. (2023), tarafından gerçekleştirilen çalışmada, fermente soya fasulyesi ile hazırlanan et analoglarına konjak jel ilave edilmesinin viskoelastikiyet ve sertlik gibi tekstürel özelliklerini geliştirildiği rapor edilmiştir (Yularti ve ark., 2023). Araştırmacılar bir başka çalışmalarında farklı oranlarda bezelye proteini ve buğday proteini içeren bitki bazlı et analogu üretiminde, formülasyona bezelye proteininin eklenmesinin sertlik, çiğnenebilirlik ve viskoelastiklik gibi özelliklerini arttırırken, buğday proteini eklenmesinin ise dokusal ve viskoelastiklik özelliklerini azalttığını bildirmişlerdir (Yularti ve ark., 2021).

Et analoglarında yapışkanlık, yapıyı oluşturan iç bağların gücünü ve kopmadan önceki deforme olabilme derecesini ifade eder (Radocaj ve ark., 2011). Tek başına protein ile hazırlanan köfte analogu en yüksek yapışkanlık değerini gösterirken, Maillard konjugatları ile hazırlanan köfte analogları ise daha düşük yapışkanlık değeri göstermişlerdir. VÇP-KMS-KA en düşük yapışkanlığa sahip köfte analogu özelliği sergilemiştir. Fermente soya fasulyesine %6 oranında konjak jel ilavesinin yapışkanlığı neredeyse tamamen azalttığı ve bu durumun köftenin yüzey yapışkanlığını önlediği bildirilmiştir (Yularti ve ark., 2023).

Elastikiyet, numunede deformasyona neden olan kuvvet uygulandıktan sonra, önceki formuna dönmesi olarak nitelendirilmektedir (Szczesniak, 2002). Köfte hamuruna Maillard konjugatlarının dahil edilmesi numunelerin elastikiyetini arttırmıştır. Tek başına protein ile formüle edilen köfte analogunun elastikiyet değeri 0.238 iken, VÇP-AZ, VÇP-KMS ve VÇP-P konjugatları ile hazırlanan köfte analoglarının elastikiyet değerleri sırasıyla 0.329, 0.477 ve 0.344 bulunmuştur. VÇP-KMS konjugatı ile formüle edilen köfte analogu en yüksek esnekliği göstermiştir. Köfte analoglarının esnekliği ile çiğnenebilirliği paralellik göstermiştir.

Çiğneme, gıdanın yutmaya hazır duruma gelinceye kadar küçük parçalara ayrılması için gereken kuvveti ifade eder (Szczeniak, 2002). Köfte analoglarının tek başına protein yerine Maillard konjugatları ile hazırlanması, çiğnenebilirliğini arttırmıştır (Şekil 4.24.). KMS ile konjuge edilen proteini içeren köfte analogu çiğnenebilirlikte öne çıkmıştır. Et ürünlerinin hamurlarında karbonhidratların işlevselliği, protein ile arasındaki etkileşime bağlı olarak değişkenlik gösterir (Schuh ve ark., 2013). Sonuçlar duyuşsal olarak çiğnenebilirliğe tabi tutulan köfte analogları ile uyum göstermektedir. Panelistler tarafından en yüksek çiğnenebilirlik puanını VÇP-KMS konjugatını içeren köfte analogunun alması da tekstürel yapıyı doğrulamıştır (Bölüm 4.9.5.).



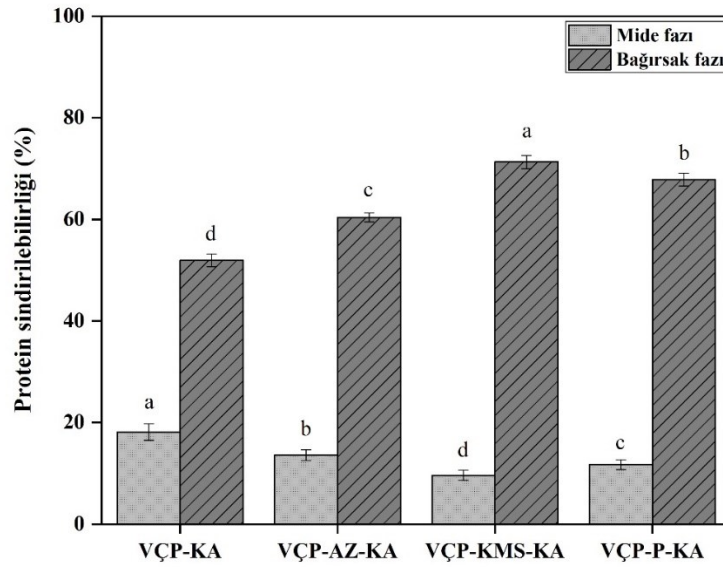
(VÇP-KA: Vişne çekirdeği proteini içeren köfte analogu, VÇP-AZ-KA: Vişne çekirdeği proteini-Arap zamkı konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-KMS-KA: Vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-P-KA: Vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı içeren köfte analogu)

Şekil 4.24. Köfte analoglarının tekstürel özellikleri

4.9.4. *In vitro* sindirilebilirlik

Diyetle alınan proteinler, insan vücudunda emilmeden önce aminoasitlere ya da kısa polipeptitlere parçalanır. Bu nedenle gıdalardaki proteinin besin değerini değerlendirirken protein içeriği, aminoasit bileşimi, sindirilebilirliği ve biyoyararlanımı gibi özelliklerinin dikkate alınması gerekir (Jiménez-Munoz ve ark., 2021). Sindirilebilirlik, gastrointestinal sistemde bulunan proteaz enzimlerinin, sindirilen proteini aminoasitlerine parçalamadaki başarısını ifade eder. Biyoyararlanım ise, sindirilen proteindeki aminoasitlerin ne kadarının vücut tarafından emildiğini gösterir (Stein ve ark., 2007). Proteinin biyoyararlanımı, sindirilebilirlik derecesine göre değerlendirilir (Xie ve ark., 2022). Bu doğrultuda, tez çalışmasının bu aşamasında protein ve mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analoglarının protein sindirilebilirliği araştırılmıştır. Formülasyonunda tek başına protein içeren köfte analogu veya Maillard konjugatlarını içeren köfte analogların protein sindirilebilirliği, simüle edilmiş *in vitro* sindirim ortamında önemli bir fark göstermiştir (Şekil 4.25.). VÇP ile formüle edilen köfte analogu için toplamda %70.09 protein sindirilebilirliği tespit edilmiştir. Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analoglarından VÇP-AZ-KA, VÇP-KMS-KA ve VÇP-P-KA ise protein sindirilebilirliği sırasıyla %73.97, % 80.89 ve %79.52 olarak bulunmuştur. Sonuçlar, proteini tek başına formülasyona dahil etmek yerine glikasyon ile modifiye edip Maillard konjugatı olarak kullanılmasının protein sindirilebilirliğini arttırdığını göstermiştir. Sindirim fazlarına bakıldığında, ağız fazında proteini parçalayan enzimler olmadığından protein sindirimi gerçekleşmemiştir. Sindirim işlemi mide fazında başlamış ve bağırsak fazında sonlanmıştır. Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analogları, tek başına VÇP içerene göre mide fazında daha az sindirilebilirlik göstermiştir. Bu durum Maillard konjugatlarının mide fazındaki asidik ortama ve enzimlere karşı daha dirençli olduğuna atfedilmiştir. VÇP-KMS konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonlar farklı pH değerindeki ortamlarda gösterdiği yüksek emülsiyon stabilitesi ile öne çıkan emülsiyon olarak, asidik ortama sahip mide fazında da stabilitesini en çok koruyan formülasyon olarak VÇP-KMS-KA öne çıkmıştır. Benzer yaklaşım, lutein ile zenginleştirilen emülsiyonların stabilitesini korumak amacıyla kazein-dekstran konjugatları ile enkapsüle edildiği çalışmada da rapor

edilmiştir. Araştırmacılar, emülsiyonların konjugat ile enkapsüle edilmesinin mide fazında stabilitesini koruyarak bağırsak fazına erişilebilirliği arttırdığını rapor etmişlerdir (Gümüş ve ark., 2016). Bu sonuçlar, Maillard konjugatları ile hazırlanan emülsiyonların pH, tuz, sıcaklık gibi çevresel strese karşı dayanıklılığını da doğrulamaktadır (Bölüm 4.8.). VÇP ile formüle edilen köfte analogun protein sindiriminin %18.16'sı midede, %51.93'ü bağırsakta gerçekleşmiştir. Literatürde hayvansal et ve bitki bazlı et analoglarının protein sindirilebilirliği üzerine birçok çalışma mevcuttur (Cutroneo ve ark., 2023; Shaghaghian ve ark., 2022). Bu çalışmalar, bitkisel protein bazlı et analoglarının gerçek ete göre sindirilebilirliğinin daha düşük olduğunu kanıtlamıştır. Bir başka çalışmada, sığır eti ve bitki bazlı et ile kıyaslandığında et analogundaki proteinlerin midede daha hızlı, bağırsakta ise daha yavaş sindirildiği rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2021).



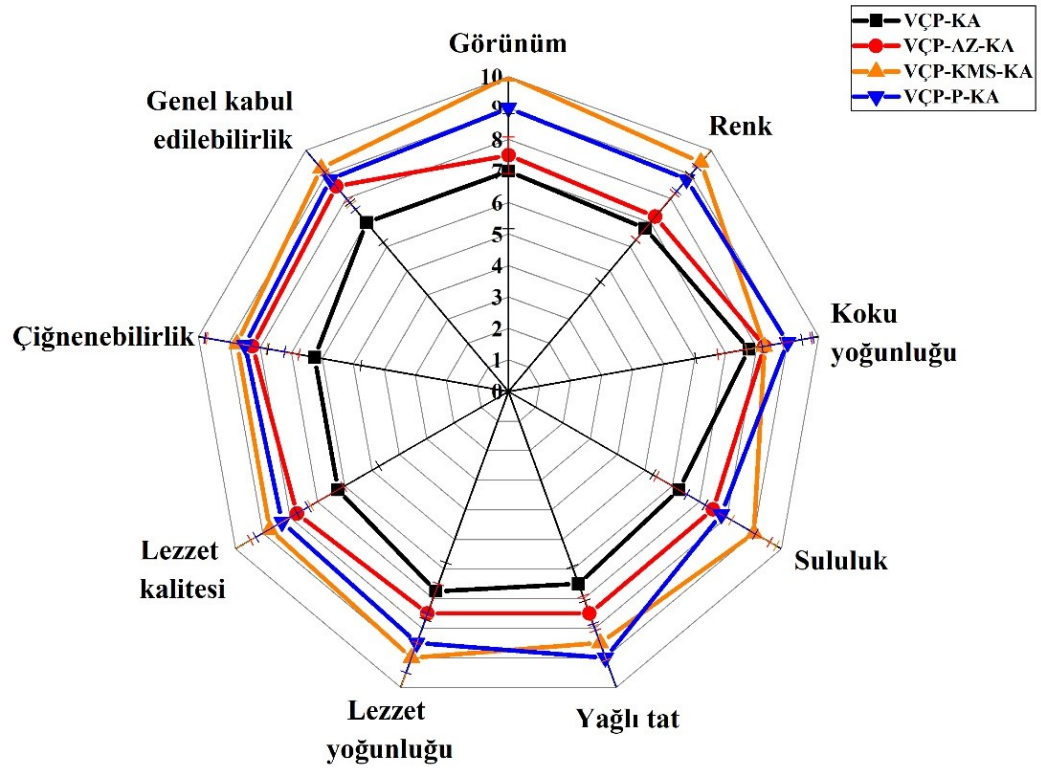
(VÇP-KA: Vişne çekirdeği proteini içeren köfte analogu, VÇP-AZ-KA: Vişne çekirdeği proteini-Arap zamkı konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-KMS-KA: Vişne çekirdeği proteini-karboksimetil selüloz konjugatı içeren köfte analogu, VÇP-P-KA: Vişne çekirdeği proteini-pektin konjugatı içeren köfte analogu)

Şekil 4.25. Köfte analoglarının in vitro sindirilebilirliği

4.9.5. Duyusal analiz

Köfte analoglarının görünüm, renk tonu, koku yoğunluğu, sululuk, yağlı tat, lezzet yoğunluğu, lezzet kalitesi, çiğnenebilirlik ve genel kabul edilebilirlik açısından değerlendirmeleri Şekil 4.26.'da sunulmuştur. Köfte analoguna Maillard konjugatlarının dahil edilmesi, duyusal parametrelerini etkilemiştir. Görünüm olarak köfte benzerliği yönünden panelistler tarafından değerlendirilen numunelerden VÇP içeren köfte analogu 7.00 puan, Maillard konjugatlarını içeren köfte analoglarından VÇP-AZ-KA, VÇP-KMS-KA, VÇP-P-KA ise sırasıyla 7.50, 10.00, 9.00 puan olarak derecelendirilmiştir. Kırmızı rengi pancar tozu ile sağlanan burger köfte analoglarının renk tonu değerlendirmesinde 9.50 puan ile VÇP-KMS-KA öne çıkmıştır.

Et ve et bazlı ürünlerin sululuğu, tüketicinin kabulünü büyük ölçüde etkileyen bir faktördür. Köfte tadımı sırasında ürünün ağızda bıraktığı sulu ve yağlı tat özellikleri bakımından VÇP-KMS-KA ve VÇP-P-KA köfte analogları öne çıkmıştır. Bu konjugatların nem içeriğinin daha yüksek olması da sululuk parametresini desteklemektedir. Maillard konjugatlarının ağızda bıraktığı sululuk hissi, proteine göre daha yüksek su tutma ve yağ bağlama gibi fonksiyonel özelliklerine atfedilebilir. Lezzet kalitesi parametresi olarak, panelistler bilindik köfte lezzeti hissi vermesi yönünden VÇP-KMS-KA ve VÇP-P-KA köfte analoglarına sırasıyla 8.75 ve 8.30 puan vermişlerdir. Çiğnenebilirlik özelliği bakımından Maillard konjugatları ile üretilen köfte analogları puanlamasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p<0.05$). Fakat tek başına protein ile üretilen köfte analoguna göre daha yüksek çiğnenebilirlik göstermişlerdir. Bu durum Maillard konjugatları ile üretilen köfte analoglarının tekstürel özellikleri ile de desteklenmiştir (Bölüm 4.9.3.). Genel kabul edilebilirlik değerlendirmesinde, VÇP-KMS-KA (9.25 puan) panelistler tarafından en çok tercih edilen köfte analogu olarak öne çıkarken, bunu VÇP-P-KA (8.80 puan), VÇP-AZ-KA (8.50 puan), VÇP-KA (7.00 puan) takip etmiştir.



Şekil 4.26. Köfte analoglarının duysal parametreleri

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Tez çalışması kapsamında, vişne çekirdeklerinden elde edilen bitkisel proteinin farklı polisakkaritler (AZ, KMS ve P) ve farklı glikasyon yöntemleri (ıslak ısıtma, mikrodalga destekli ve ultrases destekli) ile modifiye edilerek teknofonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada endüstride meyve işleme atığı olan vişne meyvesinin çekirdeklerinden yüksek saflıkta bitkisel protein (VÇP) elde edilmiştir. İkinci aşamada, VÇP'nin AZ, KMS ve P ile Maillard reaksiyonu yoluyla glikasyonu için mikrodalga ve ultrases destekli proseslerde en uygun işlem parametreleri (Watt/genlik ve süre) RSM kullanılarak belirlenmiştir. Ardından geleneksel ıslak ısıtma, mikrodalga destekli ve ultrases destekli glikasyon yöntemleri ile Maillard konjugatları üretilmiş ve karakterize edilmiştir. Su içinde yağ emülsiyonlarını stabilize etmek için emülgatör olarak Maillard konjugatlarının kullanımı değerlendirilmiştir. Son aşamada, model gıda olarak emülsifiye et hamuru prosesini kapsayan köfte analogu üretiminde, teknofonksiyonel özellikleri geliştirilen mikrodalga destekli Maillard konjugatların etkinlikleri test edilmiştir.

Elde edilen bulgular ışığında, mikrodalga ve ultrases gibi yenilikçi teknolojilerin desteği ile gerçekleştirilen Maillard reaksiyonu sonucu, geleneksel yöntemle göre kısa sürede yüksek glikasyon derecesine sahip konjugatlar elde edilmiştir. Maillard reaksiyonu yoluyla VÇP'nin polisakkaritlerle optimum koşullarda gerçekleştirilen glikasyonu çözünürlük, su tutma/yağ bağlama kapasitesi, köpük kapasitesi/stabilitesi ve emülsifikasyon gibi teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmiştir. Mikrodalga destekli glikasyonun en iyi teknofonksiyonel özellikleri sağlayan glikasyon yöntemi olduğu bulgulanmıştır. VÇP-KMS ve VÇP-P tüm yöntemlerde gelişen teknofonksiyonel ve yüzey aktif madde özellikleri ile öne çıkan konjugatlar olmuştur. Çevresel strese karşı (donma-çözme işlemi, sıcaklık, tuz konsantrasyonu ve pH değişimi) en yüksek stabiliteyi mikrodalga destekli glikasyon

ile elde edilen konjugatlar ile stabilize edilen emülsiyonlar sergilemiştir. Bu bağlamda, mikrodalga destekli Maillard konjugatları, model gıda olarak et analogu formülasyonunda test edilmişlerdir. Maillard konjugatları ile formüle edilen köfte analogları, tek başına VÇP ile formüle edilen kontrol köfte analoguna göre gelişmiş tekstürel özellikler ve protein sindirilebilirliği sergilemiştir.

Sonuç olarak, tez çalışmasından elde edilen çıktılar ışığında, endüstriyel atıklardan katma değeri yüksek bitkisel protein elde edilmesi ve kontrollü şartlarda Maillard reaksiyonu yoluyla modifiye edilerek gıda endüstrisine emülsifiye edici madde olarak kazandırılması gerek ülke ekonomisi gerekse çevresel açıdan olumlu katkılar sağlayacaktır.

5.2. Öneriler

- Maillard reaksiyonu ile modifiye edilen VÇP'ler, geliştirilmiş teknofonksiyonel özellikleri ile bitkisel protein bazlı hidrojel üretiminde kullanılabilir.
- Maillard konjugatları iyonik strese, yüksek sıcaklığa, pH değişikliklerine karşı yüksek stabiliteye sahip olduğundan uçucu yağların, aroma ve biyoaktif bileşenlerin korunmasında gıda ve ilaç endüstrisi için umut verici kapsülleme materyali olarak değerlendirilebilir.
- Maillard konjugatları yenilebilir film üretiminde ve gıda ambalajlama materyali olarak kullanılabilir.
- Maillard konjugatları uzun süreli fiziksel ve kimyasal kararlılık sağlayan Pickering emülsiyonlarında yüzey aktif madde özellikleri ile kullanılabilir.
- Bitkisel protein bazlı Maillard konjugatları doğal emülgatör ve stabilizatör olarak gıda formülasyonlarında değerlendirilebilir.
- Modifiye edilen VÇP'lerin emülsifiye et üretim proseslerinde davranışları farklı üretim teknikleri ile üretilmeleri ileriki çalışmalarda ele alınabilir.

KAYNAKLAR

- AKHARUME, F. U., ALUKO, R. E. and ADEDEJİ, A. A., 2021. Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 20(1): 198–224.
- ALAVİ, F., CHEN, L., WANG, Z. and EMAM-DJOMEH, Z., 2021. Consequences of heating under alkaline pH alone or in the presence of maltodextrin on solubility, emulsifying and foaming properties of faba bean protein. *Food Hydrocolloids*, 112, 106335.
- ALİ, A., GANİE, S. A. and MAZUMDAR, N. 2018. A new study of iodine complexes of oxidized gum arabic: an interaction between iodine monochloride and aldehyde groups. *Carbohydrate polymers*. 180, 337-347.
- AMİD, B., MİRHOSEİNİ, H., POORAZARANG, H. and MORTAZAVİ, S., 2013. Implications of Partial Conjugation of Whey Protein Isolate to Durian Seed Gum through Maillard Reactions: Foaming Properties, Water Holding Capacity and Interfacial Activity. *Molecules*. 18(12): 15110–15125.
- ANDRIOT, I., LE QUÉRÉ, J. L. and GUICHARD, E., 2004. Interactions between coffee melanoidins and flavour compounds: impact of freeze-drying (method and time) and roasting degree of coffee on melanoidins retention capacity. *Food Chemistry*, 85(2): 289–294.
- AOAC INTERNATIONAL., 1984. *Official Methods of Snalysis* (Vol. 67, pp. 503–515), 14th ed.: Association of Official Analytical Chemists.
- AOAC INTERNATIONAL., 1998. *Official Methods of Analysis* (15th ed.). Washington DC.
- ARORA, S., KATARİA, P., NAUTİYAL, M., TUTEJA, I., SHARMA, V., AHMAD, F., HAQUE, S., SHAHWAN, M., CAPANOGLU, E., VASHİSHTH, R. and GUPTA, A. K., 2023. Comprehensive Review on the Role of Plant Protein As a Possible Meat Analogue: Framing the Future of Meat. *ACS Omega*, 8(26): 23305–23319.
- ARTE, E., HUANG, X., NORDLUND, E., and KATİNA, K., 2019. Biochemical characterization and technofunctional properties of bioprocessed wheat bran protein isolates. *Food Chemistry*, 289, 103–111.
- BABAULT, N., PAİZİS, C., DELEY, G., GUÉRİN-DEREMAUX, L., SANİEZ, M.-H., LEFRANC-MİLLOT, C. and ALLAERT, F. A., 2015. Pea proteins oral supplementation promotes muscle thickness gains during resistance training: a double-blind, randomized, Placebo-controlled clinical trial vs. Whey protein. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1).
- BAJERSKA, J., MİLDNER-SZKUDLARZ, S., GÓRNAS, P. and SEGLİNAC, D., 2015. Improved postprandial response and feeling of satiety after consumption of sour cherry pomace enriched muffins. *World Academy of Science, Engineering and Technology, Int. J. Nutr. Food Eng*, 2.
- BAK, I., CZOMPA, A., CSEPANYİ, E., JUHASZ, B., KALANTARİ, H., NAJM, K., AGHEL, N., VARGA, B., HAINES, D. D. and TOSAKİ, A., 2011. Evaluation of Systemic and Dermal Toxicity and Dermal Photoprotection by Sour Cherry Kernels. *Phytotherapy Research*, 25(11): 1714–1720.
- BAK, I., LEKLİ, I., JUHASZ, B., VARGA, E., VARGA, B., GESZTELYİ, R., SZENDREİ, L. and TOSAKİ, A., 2010. Isolation and Analysis of Bioactive

- Constituents of Sour Cherry (*Prunus cerasus*) Seed Kernel: An Emerging Functional Food. *Journal of Medicinal Food*, 13(4): 905–910.
- BAKHSH, A., LEE, S.-J., LEE, E.-Y., SABİKUN, N., HWANG, Y.-H. and JOO, S.-T., 2021. A Novel Approach for Tuning the Physicochemical, Textural, and Sensory Characteristics of Plant-Based Meat Analogs with Different Levels of Methylcellulose Concentration. *Foods*, 10(3): 560.
- BAŞYİĞİT, B., SAĞLAM, H., KANDEMİR, Ş., KARAASLAN, A. and KARAASLAN, M., 2020. Microencapsulation of sour cherry oil by spray drying: Evaluation of physical morphology, thermal properties, storage stability, and antimicrobial activity. *Powder Technology*, 364: 654–663.
- BAŞYİĞİT, B., YÜCETEPE, M., AKYAR, G., KARAASLAN, A. and KARAASLAN, M., 2022. Enhancing thermal and emulsifying resilience of pomegranate fruit protein with gum Arabic conjugation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, 112516.
- BAŞYİĞİT, B., YÜCETEPE, M., KARAASLAN, A. and KARAASLAN, M., 2021. High efficiency microencapsulation of extra virgin olive oil (EVOO) with novel carrier agents: Fruit proteins. *Materials Today Communications*, 28, 102618.
- BHARGAVA, N., MOR, R. S., KUMAR, K. and SHARANAGAT, V. S., 2021. Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105293.
- BOHR, H. and BOHR, J., 2000. Microwave-enhanced folding and denaturation of globular proteins. *Physical Review E*, 61(4): 4310–4314.
- BOHRER, B. M., 2019. An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Science and Human Wellness*, 8(4): 320–329.
- BONNY, S. P. F., GARDNER, G. E., PETHICK, D. W. and HOCQUETTE, J.-F., 2015. What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2): 255–263.
- BOOSTANI, S., AMİNLARI, M., MOOSAVI-NASAB, M., NIAKOSARI, M. and MESBAHI, G., 2017. Fabrication and characterisation of soy protein isolate-grafted dextran biopolymer: A novel ingredient in spray-dried soy beverage formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 297–307.
- BOYE, J., ZARE, F. and PLETCH, A., 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2): 414–431.
- 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.
- BREİTENEDER, H. and RADAUER, C., 2004. A classification of plant food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(5): 821–830.
- CABEZAS, D. M., PASCUAL, G. N., WAGNER, J. R. and PALAZOLO, G. G., 2019. Nanoparticles assembled from mixtures of whey protein isolate and soluble soybean polysaccharides. Structure, interfacial behavior and application on emulsions subjected to freeze-thawing. *Food Hydrocolloids*, 95: 445–453.
- CAO, Y. and MEZZENGA, R., 2019. Food protein amyloid fibrils: Origin, structure, formation, characterization, applications and health implications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 269: 334–356.

- ÇELİK, M., GÜZEL, M. and YILDIRIM, M., 2019. Effect of pH on protein extraction from sour cherry kernels and functional properties of resulting protein concentrate. *Journal of Food Science and Technology*, 56(6): 3023–3032.
- CHANDI, G. K. and SOGI, D. S., 2007. Functional properties of rice bran protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 79(2): 592–597.
- CHANDRA, M. V. and SHAMASUNDAR, B. A., 2015. Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. *International Journal of Food Properties*, 18(3): 572–584.
- CHEN, L., CHEN, J., WU, K. and YU, L., 2016. Improved Low pH Emulsification Properties of Glycated Peanut Protein Isolate by Ultrasound Maillard Reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(27): 5531–5538.
- CHEN, X. and KITTTS, D. D., 2008. Antioxidant Activity and Chemical Properties of Crude and Fractionated Maillard Reaction Products Derived from Four Sugar – Amino Acid Maillard Reaction Model Systems. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1126(1): 220–224.
- CHEN, X., ZHAO, H., WANG, H., XU, P., CHEN, M., XU, Z., WEN, L., CUI, B., YU, B., ZHAO, H., JIAO, Y. and CHENG, Y., 2022. Preparation of high-solubility rice protein using an ultrasound-assisted glycation reaction. *Food Research International*, 161: 111737.
- CHENG, Y. H., MU, D. C., JIAO, Y., XU, Z. and CHEN, M. L., 2021. Microwave-assisted maillard reaction between rice protein and dextran induces structural changes and functional improvements. *Journal of Cereal Science*, 97: 103134.
- CHIANG, J. H., LOVEDAY, S. M., HARDACRE, A. K., and PARKER, M. E., 2019. Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogues. *Food Structure*, 19: 100102.
- CHIZOBA EKEZIE, F. G., SUN, D. W., HAN, Z. and CHENG, J. H., 2017. Microwave-assisted food processing technologies for enhancing product quality and process efficiency: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 67: 58–69.
- CHO, S. M., KWAK, K. S., PARK, D. C., GU, Y. S., JI, C. I., JANG, D. H., LEE, Y. B. and KIM, S. B., 2004. Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18(4): 573–579.
- CSIKI, Z., PAPP-BATA, A., CZOMPA, A., NAGY, A., BAK, I., LEKLI, I., JAVOR, A., HAINES, D. D., BALLA, G. and TOSAKI, A., 2015. Orally Delivered Sour Cherry Seed Extract (SCSE) Affects Cardiovascular and Hematological Parameters in Humans. *Phytotherapy Research*, 29(3): 444–449.
- CUI, H., YU, J., ZHAI, Y., FENG, L., CHEN, P., HAYAT, K., XU, Y., ZHANG, X. and HO, C.-T., 2021. Formation and fate of Amadori rearrangement products in Maillard reaction. *Trends in Food Science & Technology*, 115: 391–408.
- CUTRONEO, S., PRANDI, B., FACCINI, A., PELLEGRINI, N., SFORZA, S. and TEDESCHI, T., 2023. Comparison of protein quality and digestibility between plant-based and meat-based burgers. *Food Research International*, 172: 113183.
- DAY, L., CAKEBREAD, J. A. and LOVEDAY, S. M., 2022. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119: 428–442.
- de OLIVEIRA, F. C., COIMBRA, J. S. DOS R., DE OLIVEIRA, E. B., ZUÑIGA, A. D. G. and ROJAS, E. E. G., 2016. Food Protein-polysaccharide Conjugates

- Obtained via the Maillard Reaction: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7): 1108–1125.
- DEKKERS, B. L., BOOM, R. M. and VAN DER GOOT, A. J., 2018. Structuring processes for meat analogues. *Trends in Food Science & Technology*, 81: 25–36.
- DEKKERS, B. L., NIKIFORIDIS, C. V. and VAN DER GOOT, A. J., 2016. Shear-induced fibrous structure formation from a pectin/SPI blend. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 36: 193–200.
- DEMİRDÖVEN, A., KARABIYIKLI, Ş., TOKATLI, K. and ÖNCÜL, N., 2015. Inhibitory effects of red cabbage and sour cherry pomace anthocyanin extracts on food borne pathogens and their antioxidant properties. *LWT- Food Science and Technology*, 63(1): 8–13.
- DOKIĆ, L., KRSTONOŠIĆ, V. and NIKOLIĆ, I., 2012. Physicochemical characteristics and stability of oil-in-water emulsions stabilized by OSA starch. *Food Hydrocolloids*, 29(1): 185–192.
- DONG, Z. Y., LIU, W., ZHOU, Y. J., REN, H., LI, M. Y. and LIU, Y., 2019. Effects of ultrasonic treatment on Maillard reaction and product characteristics of enzymatic hydrolysate derived from mussel meat. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6).
- dos SANTOS CARVALHO, J. D., RABELO, R. S. and HUBINGER, M. D., 2022. Thermo-rheological properties of chitosan hydrogels with hydroxypropyl methylcellulose and methylcellulose. *International Journal of Biological Macromolecules*, 209: 367–375.
- EBRAHIMI, S. E., KOOCHEKI, A., MILANI, E. and MOHEBBI, M., 2016. Interactions between *Lepidium perfoliatum* seed gum – Grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate in composite biodegradable film. *Food Hydrocolloids*, 54: 302–314.
- ELLEUCH, M., BEDIGIAN, D., ROISEUX, O., BESBES, S., BLECKER, C. and ATTIA, H., 2011. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124(2): 411–421.
- ERTUGRUL, U., NAMLI, S., TAS, O., KOCADAGLI, T., GOKMEN, V., SUMNU, S. G. and OZTOP, M. H., 2021. Pea protein properties are altered following glycation by microwave heating. *LWT*, 150: 111939.
- FAOSTAT, 2020. Food and Agricultural commodities Production, Countries by Commodity. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Accessed 25 December 2020.
- FİORAMONTI, S. A., MARTÍNEZ, M. J., PÍLOSO, A. M. R., RUBÍOLO, A. C. and SANTIAGO, L. G., 2015. Multilayer emulsions as a strategy for linseed oil microencapsulation: Effect of pH and alginate concentration. *Food Hydrocolloids*, 43: 8–17.
- FUJII, N., TAKATA, T., FUJII, N., AKI, K. and SAKAUE, H., 2018. D-Amino acids in protein: The mirror of life as a molecular index of aging. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Proteins and Proteomics*, 1866(7): 840–847.
- GARCÍA ARTEAGA, V., APÉSTEGUI GUARDIA, M., MURANYI, I., EISNER, P., and SCHWEIGGERT-WEISZ, U., 2020. Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65: 102449.

- GE PAN, G. and MELTON, L. D., 2007. Nonenzymatic Browning of Lactose and Caseinate during Dry Heating at Different Relative Humidities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(24): 10036–10042.
- GERRARD, J. A., 2006. The Maillard reaction in food: Progress made, challenges ahead—Conference Report from the Eighth International Symposium on the Maillard Reaction. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6): 324–330.
- GHARBİ, N. and LABBAFİ, M., 2019. Influence of treatment-induced modification of egg white proteins on foaming properties. *Food Hydrocolloids*, 90: 72–81.
- GÖRGÜÇ, A., BİRCAN, C. and YILMAZ, 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.
- WALİGREİBY, I., SİDDİQ, M., DOLAN, K. D. and KELKAR, S., 2013. Effect of non-isothermal processing and moisture content on the anthocyanin degradation and colour kinetics of cherry pomace. *International Journal of Food Science & Technology*, 48(5): 992–998.
- GU, F. L., KİM, J. M., ABBAS, S., ZHANG, X. M., XİA, S. Q. and CHEN, Z. X., 2010. Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein–glucose. *Food Chemistry*, 120(2): 505–511.
- GU, Y. S., DECKER, E. A. AND MCCLEMENTS, D. J., 2005. Influence of pH and carrageenan type on properties of β -lactoglobulin stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 19(1): 83–91.
- GUAN, J. J., QİU, A. Y., LİU, X. Y., HUA, Y. F. and MA, Y. H., 2006. Microwave improvement of soy protein isolate–saccharide graft reactions. *Food Chemistry*, 97(4): 577–585.
- GUAN, J. J., ZHANG, T. B., HUİ, M., YİN, H. C., QİU, A. Y. and LİU, X. Y., 2011. Mechanism of microwave-accelerated soy protein isolate–saccharide graft reactions. *Food Research International*, 44(9): 2647–2654.
- GUMUS, C. E., DAVIDOV-PARDO, G. AND MCCLEMENTS, D. J., 2016. Lutein-enriched emulsion-based delivery systems: Impact of Maillard conjugation on physicochemical stability and gastrointestinal fate. *Food Hydrocolloids*, 60: 38–49.
- GUO, Q., SUN, D. W., CHENG, J. H. and HAN, Z., 2017. Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67: 236–247.
- HAN, L., ZHOU, S., ZHANG, X., LU, K., Qİ, B. and Lİ, Y., 2022. Effect of carbohydrate type on the structural and functional properties of Maillard-reacted black bean protein. *Journal of Food Science*, 87(1): 165–177.
- HAN, Z., CAİ, M., CHENG, J. H. and SUN, D.-W., 2018. Effects of electric fields and electromagnetic wave on food protein structure and functionality: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 75: 1–9.
- HASSAN, A. B., MAHMOUD, N. S., ELMAMOUN, K., ADİAMO, O. Q. and AHMED, I. A. M. 2018. Effects of gamma irradiation on the protein characteristics and functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) seeds. *Radiation Physics and Chemistry*, 144: 85–91.
- HEMAR, Y., TAMEHANA, M., MUNRO, P. A. and SİNGH, H., 2001. Viscosity, microstructure and phase behavior of aqueous mixtures of commercial milk protein products and xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 15(4–6): 565–574.

- HODGE, J. E., 1953. Dehydrated Foods, Chemistry of Browning Reactions in Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1(15): 928–943.
- HU, Z., QIU, L., SUN, Y., XIONG, H. and OGRA, Y. 2019. Improvement of the solubility and emulsifying properties of rice bran protein by phosphorylation with sodium trimetaphosphate. *Food Hydrocolloids*, 96: 288–299.
- HUGHES, G. J., RYAN, D. J., MUKHERJEA, R. and SCHASTEEN, C. S., 2011. Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23): 12707–12712.
- JEANTET, R., CROGUENEC, T., SCHUCK, P. and BRULÉ, G. 2016. *Handbook of Food Science and Technology*, 1: 1–248.
- JIA, W., GUO, A., ZHANG, R. and SHI, L., 2023. Mechanism of natural antioxidants regulating advanced glycosylation end products of Maillard reaction. *Food Chemistry*, 404: 134541.
- JIANG, S., ZHAO, S., JIA, X., WANG, H., ZHANG, H., LIU, Q. and KONG, B., 2020. Thermal gelling properties and structural properties of myofibrillar protein including thermo-reversible and thermo-irreversible curdlike gels. *Food Chemistry*, 311: 126018.
- JIANG, W., ZHANG, Y., JULIAN MCCLEMENTS, D., LIU, F., AND LIU, X., 2022. Impact of pea protein-inulin conjugates prepared via the Maillard reaction using a combination of ultrasound and pH-shift treatments on physical and oxidative stability of algae oil emulsions. *Food Research International*, 156: 111161.
- JIMÉNEZ-CASTAÑO, L., LÓPEZ-FANDIÑO, R., OLANO, A. and VILLAMIEL, M. 2005. Study on β -lactoglobulin glycosylation with dextran: effect on solubility and heat stability. *Food Chemistry*, 93(4): 689–695.
- JIMÉNEZ-MUNOZ, L. M., TAVARES, G. M. and CORREDIG, M., 2021. Design future foods using plant protein blends for best nutritional and technological functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 113: 139–150.
- JOSHI, V. and KUMAR, S., 2015. Meat Analogues: Plant based alternatives to meat products- A review. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 5(2): 107.
- JUODEIKIENE, G., ZADEIKE, D., TRAKSELYTE-RUPSIENE, K., GASAUSKAITE, K., BARTKIENE, E., LELE, V., VISKELIS, P., BERNATONIENE, J., IVANAUSKAS, L. and JAKSTAS, V., 2020. Functionalisation of flaxseed proteins assisted by ultrasonication to produce coatings enriched with raspberries phytochemicals. *LWT*, 124: 109180.
- KANG, Y. R., LEE, Y. K., KIM, Y. J. and CHANG, Y. H., 2019. Characterization and storage stability of chlorophylls microencapsulated in different combination of gum Arabic and maltodextrin. *Food Chemistry*, 272: 337–346.
- KARAASLAN, M., ŞENGÜN, F., CANSU, Ü., BAŞYİĞİT, B., SAĞLAM, H. and KARAASLAN, A., 2021. Gum arabic/maltodextrin microencapsulation confers peroxidation stability and antimicrobial ability to pepper seed oil. *Food Chemistry*, 337: 127748.
- KARRAR, E., MAHDİ, A. A., SHETH, S., MOHAMED AHMED, I. A., MANZOOR, M. F., WEI, W. and WANG, X., 2021. Effect of maltodextrin combination with gum arabic and whey protein isolate on the microencapsulation of gourd seed oil using a spray-drying method. *International Journal of Biological Macromolecules*, 171: 208–216.

- KASAPOĞLU, K. N., DEMİRCAN, E., ERYILMAZ, H. S., KARAÇA, A. C. and ÖZÇELİK, B., 2021. Sour Cherry Kernel as an Unexploited Processing Waste: Optimisation of Extraction Conditions for Protein Recovery, Functional Properties and In Vitro Digestibility. *Waste and Biomass Valorization*, 12(12): 6685–6698.
- KİM, D. Y. and SHİN, W. S., 2016. Functional improvements in bovine serum albumin–fucoidan conjugate through the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 190: 974–981.
- KİRALAN, M. and KETENOĞLU, O., 2022. Apricot (*Prunus armeniaca* L.) Kernel: A Valuable by-Product. In *Mediterranean Fruits Bio-wastes* (pp. 547–558).
- KOŁODZIEJCZYK, K., SÓJKA, M., ABADÍAS, M., VIÑAS, I., GUYOT, S. and BARON, A., 2013. Polyphenol composition, antioxidant capacity, and antimicrobial activity of the extracts obtained from industrial sour cherry pomace. *Industrial Crops and Products*, 51: 279–288.
- LEE, H. and FENG, H., 2011. Effect of Power Ultrasound on Food Quality (pp. 559–582).
- LEE, H. W., LU, Y., ZHANG, Y., FU, C. and HUANG, D., 2021. Physicochemical and functional properties of red lentil protein isolates from three origins at different pH. *Food Chemistry*, 358: 129749.
- L'HOCİNE, L. and BOYE, J. I., 2007. Allergenicity of Soybean: New Developments in Identification of Allergenic Proteins, Cross-Reactivities and Hypoallergenization Technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(2): 127–143.
- Lİ, C., HUANG, X., PENG, Q., SHAN, Y. And XUE, F., 2014. Physicochemical properties of peanut protein isolate–glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(5): 1722–1727.
- Lİ, J., PRADYAWONG, S., HE, Z., SUN, X. S., WANG, D., CHENG, H. N. and ZHONG, J., 2019. Assessment and application of phosphorus/calcium-cottonseed protein adhesive for plywood production. *Journal of Cleaner Production*, 229: 454–462.
- Lİ, Q., WANG, Z., DAI, C., WANG, Y., CHEN, W., JU, X., YUAN, J. and HE, R., 2019. Physical stability and microstructure of rapeseed protein isolate/gum Arabic stabilized emulsions at alkaline pH. *Food Hydrocolloids*, 88: 50–57.
- Lİ, W., ZHAO, H., HE, Z., ZENG, M., QİN, F. and CHEN, J., 2016. Modification of soy protein hydrolysates by Maillard reaction: Effects of carbohydrate chain length on structural and interfacial properties. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 138: 70–77.
- Lİ, Y., LU, F., LUO, C., CHEN, Z., MAO, J., SHOEMAKER, C. and ZHONG, F., 2009. Functional properties of the Maillard reaction products of rice protein with sugar. *Food Chemistry*, 117(1): 69–74.
- Lİ, Y., ZHONG, F., Jİ, W., YOKOYAMA, W., SHOEMAKER, C. F., ZHU, S. and XIA, W., 2013. Functional properties of Maillard reaction products of rice protein hydrolysates with mono-, oligo- and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 30(1): 53–60.
- LİU, F., FENG, S., GUO, Y., Lİ, Z., CHEN, L., HANDA, A. and ZHANG, Y., 2021. The rheological characteristics of soy protein isolate-glucose conjugate gel during simulated gastrointestinal digestion. *Food Structure*, 29: 100210.

- LǪU, F., MA, C., GAO, Y. and MCCLEMENTS, D. J., 2017. Food-Grade Covalent Complexes and Their Application as Nutraceutical Delivery Systems: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1): 76–95.
- LǪU, J., RU, Q. and DǪNG, Y., 2012. Glycation a promising method for food protein modification: Physicochemical properties and structure, a review. *Food Research International*, 49(1): 170–183.
- LǪU, P., LǪ, Y., GAO, L., ZHOU, X., MA, P. and WANG, Q., 2020. Effect of different carbohydrates on the functional properties of black rice glutelin (BRG) modified by the maillard reaction. *Journal of Cereal Science*, 93: 102979.
- LǪU, S., ELMER, C., LOW, N. H. and NICKERSON, M. T., 2010. Effect of pH on the functional behaviour of pea protein isolate–gum Arabic complexes. *Food Research International*, 43(2): 489–495.
- LǪU, X., YANG, Q., YANG, M., DU, Z., WEǪ, C., ZHANG, T., LǪU, B. and LǪU, J., 2021. Ultrasound-assisted Maillard reaction of ovalbumin/xylose: The enhancement of functional properties and its mechanism. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73: 105477.
- LǪU, Y., WEǪ, Z.-C., DENG, Y.-Y., DONG, H., ZHANG, Y., TANG, X.-J., LǪ, P., LǪU, G. and ZHANG, M.-W., 2020. Comparison of the Effects of Different Food-Grade Emulsifiers on the Properties and Stability of a Casein-Maltodextrin-Soybean Oil Compound Emulsion. *Molecules*, 25(3): 458.
- MA, X., CHEN, W., YAN, T., WANG, D., HOU, F., MǪAO, S. and LǪU, D., 2020. Comparison of citrus pectin and apple pectin in conjugation with soy protein isolate (SPI) under controlled dry-heating conditions. *Food Chemistry*, 309: 125501.
- MA, X., HOU, F., ZHAO, H., WANG, D., CHEN, W., MǪAO, S. and LǪU, D., 2020. Conjugation of soy protein isolate (SPI) with pectin by ultrasound treatment. *Food Hydrocolloids*, 108: 106056.
- MAHMOUD, F., HAǪNES, D., AL-AWADHǪ, R., DASHTǪ, A. A., AL-AWADHǪ, A., IBRAHǪM, B., AL-ZAYER, B., JUHASZ, B. and TOSAKǪ, A., 2014. Sour cherry (*Prunus cerasus*) seed extract increases heme oxygenase-1 expression and decreases proinflammatory signaling in peripheral blood human leukocytes from rheumatoid arthritis patients. *International Immunopharmacology*, 20(1): 188–196.
- MAǪLLARD, L. C., 1912. Action des acides amines sur les sucres. Formation des melanoidins par voie methodiqu'e. *Compt. Rend. Hebd. Seances Acad. Sci.* 154:66–68.
- MARTǪNEZ-VELASCO, A., LOBATO-CALLEROS, C., HERNÁNDEZ-RODRǪGUEZ, B. E., ROMÁN-GUERRERO, A., ALVAREZ-RAMǪREZ, J. and VERNON-CARTER, E. J., 2018. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba L.*) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44: 97–105.
- MARTǪNS, S. I. F. S., JONGEN, W. M. F. and VAN BOEKEL, M. A. J. S., 2000. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11(9–10): 364–373.
- MCCLEMENTS, D. J. and GROSSMANN, L., 2021. A brief review of the science behind the design of healthy and sustainable plant-based foods. *Npj Science of Food*, 5(1): 17.

- MCGUFFEY, M. K., EPTING, K. L., KELLY, R. M. and FOEGEDING, E. A., 2005. Denaturation and Aggregation of Three α -Lactalbumin Preparations at Neutral pH. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8): 3182–3190.
- MEADE, S. J., REID, E. A. and GERRARD, J. A., 2005. The Impact of Processing on the Nutritional Quality of Food Proteins. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 88(3): 904–922.
- MEDA, V., ORSAT, V. and RAGHAVAN, V., 2017. Microwave heating and the dielectric properties of foods. In *The Microwave Processing of Foods* (pp. 23–43).
- MEINLSCHMIDT, P., UEBERHAM, E., LEHMANN, J., REINEKE, K., SCHLÜTER, O., SCHWEIGGERT-WEISZ, U. and EISNER, P., 2016. The effects of pulsed ultraviolet light, cold atmospheric pressure plasma, and gamma-irradiation on the immunoreactivity of soy protein isolate. *Innovative Food Science ve Emerging Technologies*, 38: 374–383.
- MENG, X., LI, T., SONG, T., CHEN, C., VENKITASAMY, C., PAN, Z. and ZHANG, H., 2019. Solubility, structural properties, and immunomodulatory activities of rice dreg protein modified with sodium alginate under microwave heating. *Food Science & Nutrition*, 7(8): 2556–2564.
- MINEKUS, M., ALMINGER, M., ALVITO, P., BALLANCE, S., BOHN, T., BOURLIEU, C., CARRIÈRE, F., BOUTROU, R., CORREDIG, M., DUPONT, D., DUFOUR, C., EGGER, L., GOLDING, M., KARAKAYA, S., KIRKHUS, B., LE FEUNTEUN, S., LESMES, U., MACIERZANKA, A., MACKIE, A. and BRODKORB, A., 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food Funct.*, 5(6): 1113–1124.
- MOORE, S. S., COSTA, A., POZZA, M., VAMERALI, T., NIERO, G., CENSI, S. and DE MARCHI, M., 2023. How animal milk and plant-based alternatives diverge in terms of fatty acid, amino acid, and mineral composition. *npj Science of Food*, 7(1): 50.
- MORALES, F. J. and BABBEL, M.-B., 2002. Antiradical Efficiency of Maillard Reaction Mixtures in a Hydrophilic Media. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10): 2788–2792.
- MOURE, A., SINEIRO, J., DOMÍNGUEZ, H. and PARAJO, J. C., 2006. Functionality of oilseed protein products: A review. *Food Research International*, 39(9): 945–963.
- MSHAYISA, V. V., VAN WYK, J., ZOZO, B. and RODRÍGUEZ, S. D., 2021. Structural properties of native and conjugated black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae protein via Maillard reaction and classification by SIMCA. *Heliyon*, 7(6): e07242.
- MU, L., ZHAO, M., YANG, B., ZHAO, H., CUI, C. and ZHAO, Q., 2010. Effect of Ultrasonic Treatment on the Graft Reaction between Soy Protein Isolate and Gum Acacia and on the Physicochemical Properties of Conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(7): 4494–4499.
- MUHIALDIN, B. J., ABDUL RANI, N. F. and MEOR HUSSIN, A. S., 2020. Identification of antioxidant and antibacterial activities for the bioactive peptides generated from bitter beans (*Parkia speciosa*) via boiling and fermentation processes, *LWT*, 131: 109776.

- NAİK, R. R., WANG, Y. and SELOMULYA, C. 2022. Improvements of plant protein functionalities by Maillard conjugation and Maillard reaction products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(25): 7036-7061.
- NAMLİ, S., SUMNU, S. G. and OZTOP, M. H., 2021. Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose. *Food Bioscience*, 40: 100897.
- NASROLLAHZADEH, F., VARİDİ, M., KOOCHEKİ, A. and HADİZADEH, F., 2017. Effect of microwave and conventional heating on structural, functional and antioxidant properties of bovine serum albumin-maltodextrin conjugates through Maillard reaction. *Food Research International*, 100: 289–297.
- NIKBAKHT NASRABADI, M., SEDAGHAT DOOST, A. and MEZZENGA, R., 2021. Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118: 106789.
- NOOSHKAM, M. and VARİDİ, M., 2020. Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: A review. *Food Hydrocolloids*, 100: 105389.
- NOOSHKAM, M., VARİDİ, M. and BASHASH, M., 2019. The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275: 644–660.
- NOWICKA, P., WOJDYŁO, A. and SAMOTIĆHA, J., 2016. Evaluation of phytochemicals, antioxidant capacity, and antidiabetic activity of novel smoothies from selected *Prunus* fruits. *Journal of Functional Foods*, 25: 397–407.
- NURSTEN, H. E., 2005. The Maillard reaction: chemistry, biochemistry and implications. *Royal Society of Chemistry*.
- OLIVER, C. M., MELTON, L. D. and STANLEY, R. A., 2006. Creating Proteins with Novel Functionality via the Maillard Reaction: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4): 337–350.
- O'MAHONY, J. A., DRAPALA, K. P., MULCAHY, E. M. and MULVIHILL, D. M., 2017. Controlled glycation of milk proteins and peptides: Functional properties. *International Dairy Journal*, 67: 16–34.
- PALANISAMY, M., TÖPFL, S., AGANOVIC, K. and BERGER, R. G., 2018. Influence of iota carrageenan addition on the properties of soya protein meat analogues. *LWT*, 87: 546–552.
- PAN, Y., WU, Z., XIE, Q. T., LI, X. M., MENG, R., ZHANG, B. and JIN, Z. Y. 2020. Insight into the stabilization mechanism of emulsions stabilized by Maillard conjugates: Protein hydrolysates-dextrin with different degree of polymerization. *Food Hydrocolloids*, 99: 105347.
- PENG, X., MA, J., CHEN, F. and WANG, M., 2011. Naturally occurring inhibitors against the formation of advanced glycation end-products. *Food & Function*, 2(6): 289.
- PIETSCH, V. L., EMİN, M. A. and SCHUCHMANN, H. P., 2017. Process conditions influencing wheat gluten polymerization during high moisture extrusion of meat analog products. *Journal of Food Engineering*, 198: 28–35.
- PIRESTANI, S., NASIRPOUR, A., KERAMAT, J., DESOBRY, S. and JASNIĘWSKI, J., 2018. Structural properties of canola protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system. *Food Hydrocolloids*, 79: 228–234.
- PHILLIPS, L. G., 2013. Structure-function properties of food proteins. Academic Press.

- POULSEN, M. W., HEDEGAARD, R. V., ANDERSEN, J. M., DE COURTEN, B., BÜGEL, S., NIELSEN, J., SKIBSTED, L. H. and DRAGSTED, L. O., 2013. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. *Food and Chemical Toxicology*, 60: 10–37.
- PREECE, K. E., HOOSHYAR, N., KRIJGSMAN, A. J., FRYER, P. J. and ZUIDAM, N. J., 2017. Intensification of protein extraction from soybean processing materials using hydrodynamic cavitation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41: 47–55.
- QU, W., ZHANG, X., HAN, X., WANG, Z., HE, R. and MA, H., 2018. Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates. *Food Hydrocolloids*, 82: 329–337.
- QUEK, S. Y., CHOK, N. K. and SWEDLUND, P., 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5): 386–392.
- RADOCAJ, O., ĐIMIĆ, E. and VUJASIĆNOVIĆ, V., 2011. Optimization of the texture of fat-based spread containing hull-less pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seed press-cake. *Acta Periodica Technologica*, 42: 131–143.
- RAO, M. S., CHAWLA, S. P., CHANDER, R. and SHARMA, A., 2011. Antioxidant potential of Maillard reaction products formed by irradiation of chitosan–glucose solution. *Carbohydrate Polymers*, 83(2): 714–719.
- SAATCHI, A., KIANI, H. and LABBAFI, M., 2019. A new functional protein-polysaccharide conjugate based on protein concentrate from sesame processing by-products: Functional and physico-chemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 122: 659–666.
- SAHRAEE, S., MİLANI, J. M., REGENSTEIN, J. M. and KAFİL, H. S., 2019. Protection of foods against oxidative deterioration using edible films and coatings: A review. *Food Bioscience*, 32: 100451.
- SAJIB, M., ALBERS, E., LANGELAND, M. and UNDELAND, I., 2020. Understanding the effect of temperature and time on protein degree of hydrolysis and lipid oxidation during ensilaging of herring (*Clupea harengus*) filleting co-products. *Scientific Reports*, 10(1): 9590.
- SALDAMLI, I. ve TEMİZ, A., 2017. Amino Asitler, Peptitler, Proteinler, Gıda Kimyası, Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, Türkiye, 227-317.
- SALEHİN, S., RASMUSSEN, P., MAİ, S., MUSHTAQ, M., AGARWAL, M., HASAN, S. M., SALEHİN, S., RAJA, M., GİLANİ, S. and KHALİFE, W. I., 2023. Plant Based Diet and Its Effect on Cardiovascular Disease. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4): 3337.
- SCHMİDT, V., GİACOMELLİ, C. and SOLDİ, V., 2005. Thermal stability of films formed by soy protein isolate–sodium dodecyl sulfate. *Polymer Degradation and Stability*, 87(1): 25–31.
- SCHUH, V., ALLARD, K., HERRMANN, K., GİBİS, M., KOHLUS, R. and WEİSS, J., 2013. Impact of carboxymethyl cellulose (CMC) and microcrystalline cellulose (MCC) on functional characteristics of emulsified sausages. *Meat Science*, 93(2): 240–247.
- SEDAGHAT DOOST, A., NIKBAKHT NASRABADI, M., GOLİ, S. A. H., VAN TROYS, M., DUBRUEL, P., DE NEVE, N. and VAN DER MEEREN, P., 2020. Maillard conjugation of whey protein isolate with water-soluble fraction of

- almond gum or flaxseed mucilage by dry heat treatment. *Food Research International*, 128: 108779.
- SEDAGHAT DOOST, A., NIKBAKHT NASRABADI, M., WU, J., A'YUN, Q. and VAN DER MEEREN, P., 2019. Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. *Trends in Food Science & Technology*, 91: 1–11.
- SHAGHAGHIAN, S., MCCLEMENTS, D. J., KHALESÍ, M., GARCÍA-VAQUERO, M. and MIRZAPOUR-KOUHDASHT, A., 2022. Digestibility and bioavailability of plant-based proteins intended for use in meat analogues: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 129: 646–656.
- SHAH, N. N., K.V., U. and SINGHAL, R. S., 2019. Hydrophobically modified pea proteins: Synthesis, characterization and evaluation as emulsifiers in eggless cake. *Journal of Food Engineering*. 255: 15–23.
- SHAHÍ-GHARAHLAR, A., ZAMANI, Z., FATAHÍ, R. and BOUZARÍ, N., 2011. Estimation of genetic diversity in some Iranian wild *Prunus* subgenus *Cerasus* accessions using inter-simple sequence repeat (ISSR) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 39(4–6): 826–833.
- SHAO, Y. Y., LIN, K. H. and KAO, Y. J. 2016. Modification of foaming properties of commercial soy protein isolates and concentrates by heat treatments. *Journal of food quality*. 39(6): 695-706.
- SHAPLA, U. M., SOLAYMAN, MD., ALAM, N., KHALİL, MD. I. and GAN, S. H., 2018. 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*. 12(1): 35.
- SHCHEKOLDINA, T. and AIDER, M., 2014. Production of low chlorogenic and caffeic acid containing sunflower meal protein isolate and its use in functional wheat bread making. *Journal of Food Science and Technology*. 51(10): 2331–2343.
- SOLTANI FIROUZ, M., FARAHMANDÍ, A. and HOSSEINPOUR, S., 2019. Recent advances in ultrasound application as a novel technique in analysis, processing and quality control of fruits, juices and dairy products industries: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 57: 73–88.
- SONG, F. and ZHANG, L.-M., 2009. Gelation Modification of Soy Protein Isolate by a Naturally Occurring Cross-Linking Agent and Its Potential Biomedical Application. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 48(15): 7077–7083.
- SPOTTÍ, M. J., PERDUCA, M. J., PIAGENTINÍ, A., SANTIAGO, L. G., RUBÍOLO, A. C. and CARRARA, C. R., 2013. Does dextran molecular weight affect the mechanical properties of whey protein/dextran conjugate gels? *Food Hydrocolloids*, 32(1): 204–210.
- STANIĆ-VUCINIĆ, D., PRODIĆ, I., APOSTOLOVIĆ, D., NIKOLIĆ, M. and ČIRKOVIĆ VELICKOVIĆ, T., 2013. Structure and antioxidant activity of β -lactoglobulin-glycoconjugates obtained by high-intensity-ultrasound-induced Maillard reaction in aqueous model systems under neutral conditions. *Food Chemistry*, 138(1): 590–599.
- STEIN, H. H., SÈVE, B., FULLER, M. F., MOUGHAN, P. J. and DE LANGE, C. F. M., 2007. Invited review: Amino acid bioavailability and digestibility in pig feed ingredients: Terminology and application. *Journal of Animal Science*, 85(1): 172–180.

- SU, J. F., HUANG, Z., YUAN, X. Y., WANG, X. Y. and LI, M. 2010. Structure and properties of carboxymethyl cellulose/soy protein isolate blend edible films crosslinked by Maillard reactions. *Carbohydrate polymers*, 79(1): 145-153.
- SUMNU, G. and ŞAHİN, S., 2005. Recent Developments in Microwave Heating. In *Emerging Technologies for Food Processing* (pp. 419–444).
- SUN, J., MU, Y., MOHAMMED, O., DONG, S. and XU, B., 2020. Effects of single-mode microwave heating and dextran conjugation on the structure and functionality of ovalbumin–dextran conjugates. *Food Research International*, 137: 109468.
- SUN, T., XU, H., ZHANG, H., DING, H., CUI, S., XIE, J., XUE, B. and HUA, X., 2018. Maillard reaction of oat β -glucan and the rheological property of its amino acid/peptide conjugates. *Food Hydrocolloids*, 76: 30–34.
- SYAMALADEVI, R. M., TANG, J., VILLA-ROJAS, R., SABLANI, S., CARTER, B. and CAMPBELL, G., 2016. Influence of Water Activity on Thermal Resistance of Microorganisms in Low-Moisture Foods: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(2): 353–370.
- SZCZESNIAK, A. S., 2002. Texture is a sensory property. *Food Quality and Preference*, 13(4): 215–225.
- TANIGUCHI, N., ENDO, T., HART, G. W., SEEBERGER, P. H. and WONG, C. H., 2015. Glycoscience: Biology and medicine. *Glycoscience: Biology and Medicine*, 1–1569.
- TATAR, F., TUNÇ, M. T., DERVİSOĞLU, M., CEKMECELİOĞLU, D. and KAHYAĞLU, T., 2014. Evaluation of hemicellulose as a coating material with gum arabic for food microencapsulation. *Food Research International*, 57: 168–175.
- TER HAAR, R., WESTPHAL, Y., WIERENGA, P. A., SCHOLS, H. A. and GRUPPEN, H., 2011. Cross-Linking Behavior and Foaming Properties of Bovine α -Lactalbumin after Glycation with Various Saccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23): 12460–12466.
- THANASUKARN, P., PONGSAWATMANIT, R. and MCCLEMENTS, D. J., 2004. Influence of emulsifier type on freeze-thaw stability of hydrogenated palm oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 18(6): 1033–1043.
- TOYDEMİR, G., CAPANOĞLU, E., KAMILOĞLU, S., BOYACIOĞLU, D., DE VOS, R. C. H., HALL, R. D. and BEEKWILDER, J., 2013. Changes in sour cherry (*Prunus cerasus* L.) antioxidants during nectar processing and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Functional Foods*, 5(3): 1402–1413.
- TUIK, 2022. Bitkisel Üretim Verileri. (www.tuik.gov.tr) (Erişim tarihi: 25.12.2022).
- TURCHİULI, C., ELOUALIA, Z., EL MANSOURI, N. and DUMOULIN, E., 2005. Fluidised bed agglomeration: Agglomerates shape and end-use properties. *Powder Technology*, 157(1–3): 168–175.
- VENKATESH, M. S. and RAGHAVAN, G. S. V., 2004. An Overview of Microwave Processing and Dielectric Properties of Agri-food Materials. *Biosystems Engineering*, 88(1): 1–18.
- VOSSEN, E., GOETHALS, S., DE VRIEZE, J., BOON, N., VAN HECKE, T. and DE SMET, S., 2020. Red and processed meat consumption within two different dietary patterns: Effect on the colon microbial community and volatile metabolites in pigs. *Food Research International*, 129: 108793.

- WANG, B., WANG, L., LI, D., ADHIKARI, B. and SHI, J., 2011. Effect of gum Arabic on stability of oil-in-water emulsion stabilized by flaxseed and soybean protein. *Carbohydrate Polymers*, 86(1): 343–351.
- WANG, L. H., SUN, X., HUANG, G. Q. and XIAO, J. X., 2018. Conjugation of soybean protein isolate with xylose/fructose through wet-heating Maillard reaction. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(4): 2718–2724.
- WANG, W., DU, G., LI, C., ZHANG, H., LONG, Y. and NI, Y., 2016. Preparation of cellulose nanocrystals from asparagus (*Asparagus officinalis* L.) and their applications to palm oil/water Pickering emulsion. *Carbohydrate Polymers*, 151: 1–8.
- WANG, Y., GAN, J., LI, Y., NIRASAWA, S. and CHENG, Y., 2019. Conformation and emulsifying properties of deamidated wheat gluten-maltodextrin/citrus pectin conjugates and their abilities to stabilize β -carotene emulsions. *Food Hydrocolloids*, 87: 129–141.
- WANG, Y., WANG, S., LI, R., WANG, Y., XIANG, Q., LI, K. and BAI, Y. 2022. Effects of combined treatment with ultrasound and pH shifting on foaming properties of chickpea protein isolate. *Food Hydrocolloids*. 124: 107351.
- WANG, Z., ZHANG, C., ZHANG, T., JU, X. and HE, R., 2018. Effects of acylation and glycation treatments on physicochemical and gelation properties of rapeseed protein isolate. *RSC Advances*, 8(70): 40395–40406.
- WANI, I. A., SOGI, D. S., SHIVHARE, U. S. and GILL, B. S., 2015. Physico-chemical and functional properties of native and hydrolyzed kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein isolates. *Food Research International*, 76: 11–18.
- WEN, C., ZHANG, J., QIN, W., GU, J., ZHANG, H., DUAN, Y. and MA, H., 2020. Structure and functional properties of soy protein isolate-lentinan conjugates obtained in Maillard reaction by slit divergent ultrasonic assisted wet heating and the stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 331: 127374.
- WEN, C., ZHANG, J., YAO, H., ZHOU, J., DUAN, Y., ZHANG, H. and MA, H., 2019. Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 53: 83–98.
- WESTHOEK, H., LESSCHEN, J. P., ROOD, T., WAGNER, S., DE MARCO, A., MURPHY-BOKERN, D., LEIP, A., VAN GRINSVEN, H., SUTTON, M. A. and OENEMA, O., 2014. Food choices, health and environment: Effects of cutting Europe's meat and dairy intake. *Global Environmental Change*, 26: 196–205.
- WOOSTER, T. J. and AUGUSTIN, M. A., 2006. β -Lactoglobulin–dextran Maillard conjugates: Their effect on interfacial thickness and emulsion stability. *Journal of Colloid and Interface Science*, 303(2): 564–572.
- WOOSTER, T. J. and AUGUSTIN, M. A., 2007. Rheology of whey protein–dextran conjugate films at the air/water interface. *Food Hydrocolloids*, 21(7): 1072–1080.
- WU, G., 2016. Dietary protein intake and human health. *Food & Function*, 7(3): 1251–1265.
- WU, S., ZHU, W., THOMPSON, P. and HANNUN, Y. A., 2018. Evaluating intrinsic and non-intrinsic cancer risk factors. *Nature Communications*, 9(1): 3490.
- XIE, Y., CAI, L., ZHAO, D., LIU, H., XU, X., ZHOU, G. and LI, C., 2022. Real meat and plant-based meat analogues have different in vitro protein digestibility properties. *Food Chemistry*, 387: 132917.

- XIE, Y., WANG, C., ZHAO, D., ZHOU, G. and LI, C., 2020. Processing Method Altered Mouse Intestinal Morphology and Microbial Composition by Affecting Digestion of Meat Proteins. *Frontiers in Microbiology*, 11.
- XU, J., HAN, D., CHEN, Z., LI, M. and JIN, H., 2018. Effect of glucose glycosylation following limited enzymatic hydrolysis on functional and conformational properties of black bean protein isolate. *European Food Research and Technology*, 244(6): 1111–1120.
- XU, X., LUO, L., LIU, C. and MCCLEMENTS, D. J., 2017. Utilization of anionic polysaccharides to improve the stability of rice glutelin emulsions: Impact of polysaccharide type, pH, salt, and temperature. *Food Hydrocolloids*, 64: 112–122.
- XU, Y., MA, X. Y., GONG, W., LI, X., HUANG, H. B. and ZHU, X. M., 2020. Nanoparticles based on carboxymethylcellulose-modified rice protein for efficient delivery of lutein. *Food & Function*, 11(3): 2380–2394.
- XUE, F., LI, C., ZHU, X., WANG, L. and PAN, S., 2013. Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugate prepared through Maillard reaction. *Food Research International*, 51(2): 490–495.
- YADAV, M. P., STRAHAN, G. D., MUKHOPADHYAY, S., HOTCHKISS, A. T. and HICKS, K. B., 2012. Formation of corn fiber gum–milk protein conjugates and their molecular characterization. *Food Hydrocolloids*, 26(2): 326–333.
- YAVUZ, M. ve ÖZÇELİK, B., 2016. Bitkisel protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4): 424–430.
- YE, Y., DAI, S., ZHANG, H., HE, S., HU, W., CAO, X. and WEI, Z., 2022. Ultrasound-Assisted Preparation of Maillard Reaction Products Derived from Hydrolyzed Soybean Meal with Meaty Flavor in an Oil-In-Water System. *Molecules*, 27(21): 7236.
- YILDIZ, G., ANDRADE, J., ENGESETH, N. E. and FENG, H., 2017. Functionalizing soy protein nano-aggregates with pH-shifting and mano-thermo-sonication. *Journal of Colloid and Interface Science*, 505: 836–846.
- YILMAZ, C. and GÖKMEN, V., 2013. Compositional characteristics of sour cherry kernel and its oil as influenced by different extraction and roasting conditions. *Industrial Crops and Products*, 49: 130–135.
- YILMAZ, F. M., GÖRGÜÇ, A., KARAASLAN, M., VARDİN, H., ERSUS BİLEK, S., UYGUN, Ö. and BİRCAN, C., 2019. Sour Cherry By-products: Compositions, Functional Properties and Recovery Potentials – A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(22): 3549–3563.
- YILMAZ, F. M., KARAASLAN, M. and VARDİN, H., 2015. Optimization of extraction parameters on the isolation of phenolic compounds from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) pomace. *Journal of Food Science and Technology*, 52(5): 2851–2859.
- YU, H., SEOW, Y.-X., ONG, P. K. C. and ZHOU, W., 2018. Effects of high-intensity ultrasound and oil type on the Maillard reaction of d-glucose and glycine in oil-in-water systems. *Npj Science of Food*, 2(1): 2.
- YU, H., ZHONG, Q., LIU, Y., GUO, Y., XIE, Y., ZHOU, W. and YAO, W., 2020. Recent advances of ultrasound-assisted Maillard reaction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64: 104844.

- YU, X., WANG, H., YUAN, Y., SHI, J., DUAN, Y., WANG, L., WANG, P. and XIAO, Z., 2023. Changes in physicochemical and structural properties of pea protein during the high moisture extrusion process: Effects of carboxymethylcellulose sodium and different extrusion zones. *International Journal of Biological Macromolecules*, 251: 126350.
- YÜCETEPE, M., BAŞYİĞİT, B. and KARAASLAN, M., 2021. Design of novel nutritious microcapsules comprising ω -5 fatty acids and essential amino acids by assembling pomegranate seed derived macromolecules. *LWT*, 143: 111162.
- YULIARTI, O., KIAT KOVIS, T. J. and YI, N. J., 2021. Structuring the meat analogue by using plant-based derived composites. *Journal of Food Engineering*, 288: 110138.
- YULIARTI, O., NG, L., KOH, W. M., ABDULLAH TAN, M. F. B. M. F. and DWI SENTANA, A., 2023. Structural properties of meat analogue with added konjac gels. *Food Hydrocolloids*, 142: 108716.
- ZANG, X., YUE, C., WANG, Y., SHAO, M. and YU, G. 2019. Effect of limited enzymatic hydrolysis on the structure and emulsifying properties of rice bran protein. *Journal of Cereal Science*. 85: 168-174.
- ZHA, F., DONG, S., RAO, J. and CHEN, B., 2019. Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285: 130–138.
- ZHA, F., GAO, K., RAO, J. and CHEN, B., 2021. Maillard-driven chemistry to tune the functionality of pea protein: Structure characterization, site-specificity, and aromatic profile. *Trends in Food Science & Technology*, 114: 658–671.
- ZHANG, B., GUO, X., ZHU, K., PENG, W. and ZHOU, H., 2015. Improvement of emulsifying properties of oat protein isolate–dextran conjugates by glycation. *Carbohydrate Polymers*, 127: 168–175.
- ZHANG, J., WEN, C., DUAN, Y., ZHANG, H. and MA, H., 2022. Structure and functional properties of watermelon seed protein-glucose conjugates prepared by different methods. *LWT*, 155: 113004.
- ZHANG, Q., AMES, J. M., SMITH, R. D., BAYNES, J. W. and METZ, T. O., 2009. A Perspective on the Maillard Reaction and the Analysis of Protein Glycation by Mass Spectrometry: Probing the Pathogenesis of Chronic Disease. *Journal of Proteome Research*, 8(2): 754–769.
- ZHANG, Q., CHENG, Z., ZHANG, J., NASIRU, M. M., WANG, Y. and FU, L., 2021. Atmospheric cold plasma treatment of soybean protein isolate: insights into the structural, physicochemical, and allergenic characteristics. *Journal of Food Science*, 86(1): 68–77.
- ZHANG, X., LI, X., LIU, L., WANG, L., MASSOUNGA BORA, A. F. and DU, L., 2020. Covalent conjugation of whey protein isolate hydrolysates and galactose through Maillard reaction to improve the functional properties and antioxidant activity. *International Dairy Journal*, 102: 104584.
- ZHANG, X., RAJAGOPALAN, K., LEI, H., RUAN, R. and SHARMA, B. K., 2017. An overview of a novel concept in biomass pyrolysis: microwave irradiation. *Sustainable Energy & Fuels*, 1(8): 1664–1699.
- ZHANG, Z., WANG, B. and ADHIKARI, B., 2022. Maillard reaction between pea protein isolate and maltodextrin via wet-heating route for emulsion stabilisation. *Future Foods*, 6: 100193.

- ZHANG, Z., WANG, X., YU, J., CHEN, S., GE, H. and JIANG, L., 2017. Freeze-thaw stability of oil-in-water emulsions stabilized by soy protein isolate-dextran conjugates. *LWT*, 78: 241–249.
- ZHAO, C., YIN, H., YAN, J., NIU, X., QI, B. and LIU, J., 2021. Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 112: 106278.
- ZHAO, S., HUANG, Y., MCCLEMENTS, D. J., LIU, X., WANG, P. and LIU, F., 2022. Improving pea protein functionality by combining high-pressure homogenization with an ultrasound-assisted Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 126: 107441.
- ZHOU, H., HU, Y., TAN, Y., ZHANG, Z. and MCCLEMENTS, D. J., 2021. Digestibility and gastrointestinal fate of meat versus plant-based meat analogs: An in vitro comparison. *Food Chemistry*, 364: 130439.
- ZHOU, L., WU, F., ZHANG, X. and WANG, Z., 2017. Structural and functional properties of Maillard reaction products of protein isolate (mung bean, *Vigna radiate* (L.)) with dextran. *International Journal of Food Properties*, 1–13.
- ZHU, D., DAMODARAN, S. and LUCEY, J. A., 2008. Formation of Whey Protein Isolate (WPI)–Dextran Conjugates in Aqueous Solutions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(16): 7113–7118.
- ZHU, X., ZHAN, F., ZHAO, Y., HAN, Y., CHEN, X. and LI, B., 2020. Improved foaming properties and interfacial observation of sodium caseinate-based complexes: Effect of carboxymethyl cellulose. *Food Hydrocolloids*, 105: 105758.
- ZHUO, X., QI, J., YIN, S., YANG, X., ZHU, J. and HUANG, L., 2013. Formation of soy protein isolate–dextran conjugates by moderate Maillard reaction in macromolecular crowding conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(2): 316–323.

EKLER

EK 1. Köfte analogu numuneleri için duyusal analiz formu

Köfte Analogu Duyusal Analiz Formu

Sayın Panelist,

- Size sunulan köfte örnekleri (A, B, C, D) hakkındaki düşüncelerinizi aşağıda belirtilen kriterlere göre değerlendiriniz.
- Ürünün sizde bıraktığı etkiye göre aşağıdaki skala üzerinde 1 ile 10 arasında puan veriniz.
- Puanlamada;

0: Kabul edilemez- 10: Mükemmel derecede olacak şekilde numaralandırınız.

- Sizlerin yapacağı puanlama, çalışmaya yön verecektir.
- Her ürün tadımı sonrası ağızınızı su ile çalkalayınız.
- Katılımınız için teşekkür ederiz.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Görünüm											
Renk tonu											
Koku yoğunluğu											
Sululuk											
Yağlı tat											
Lezzet yoğunluğu											
Lezzet kalitesi											
Çiğnenebilirlik											
Genel kabul edilebilirlik											

Köfte analoglarının duyusal değerlendirmesinde kullanılan tanımlayıcı parametreler ve açıklamaları:

Görünüm: Köfte burger benzerliği

Renk tonu: Canlı, parlak kırmızı, kahverengimsi renk

Koku yoğunluğu: Koku ile alakalı etmenlerin yoğunluğu

Sululuk: Ürünün ağızda alınan sulu hissi

Yağlılık: Ürünün ağızda alınan yağlı hissi

Lezzet yoğunluğu: Lezzet ile alakalı etmenlerin ağızda bıraktığı his

Lezzet kalitesi: Bilindik köfte lezzeti hissi

Çiğnenebilirlik: Yutmadan önce ağızda çiğnemek için harcanan iş gücü

Genel kabul edilebilirlik: Panelist tarafından algılanan beğeni ortalamasını ifade eder

EK 2. Bradford yöntemi ile protein miktarı hesaplanmasında sığır serum albümini eğrisi

