

Fındık Protein İzolatı Gam Arabik ve Sodyum Aljinat Konjugatlarının Optimizasyonu ve
Karakterizasyonu

Tuba SARI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Aralık 2024

Optimization and Characterization of Hazelnut Protein Isolate Gum Arabic and Sodium
Alginate Conjugates

Tuba SARI

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Food Engineering

December 2024

Fındık Protein İzolatı Gam Arabik ve Sodyum Aljinat Konjugatlarının Optimizasyonu ve
Karakterizasyonu

Tuba SARI

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı
YÜKSEK LİSANS TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

Danışman: Doç. Dr. İlyas ATALAR

“TÜBİTAK tarafından 123O911 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Aralık 2024

ONAY

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Tuba SARI**'nın YÜKSEK LİSANS tezi olarak hazırladığı “Fındık Protein İzolatı Gam Arabik ve Sodyum Aljinat Konjugatlarının Optimizasyonu ve Karakterizasyonu” başlıklı bu çalışma, jürimizce lisansüstü yönetmeliğin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek oybirliği ile kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. İlyas ATALAR

İkinci Danışman : -

Yüksek Lisans Tez Savunma Jürisi:

Üye: Prof. Dr. Nevzat KONAR

Üye: Doç. Dr. Yaşar KARADUMAN

Üye: Doç. Dr. İlyas ATALAR

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma TÜMSEK

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. İlyas ATALAR danışmanlığında hazırlamış olduğum “Fındık Protein İzolatı Gam Arabik ve Sodyum Aljinat Konjugatlarının Optimizasyonu ve Karakterizasyonu” başlıklı Yüksek Lisans tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallarına uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 30/12/2024

Tuba SARI

ÖZET

Bitkisel proteinler, yenilenebilir kaynakları, düşük maliyetleri ve çevresel faydaları nedeniyle giderek artan bir ilgi görmektedir. Ancak, fonksiyonel özelliklerindeki sınırlamalar, bu proteinlerin gıda endüstrisindeki kullanım alanlarını kısıtlamaktadır. Bu tez çalışması, bitkisel protein kaynaklarından biri olan fındık proteinlerinin hayvansal proteinlere alternatif olarak gıda endüstrisindeki potansiyelini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Soğuk pres yöntemiyle elde edilen fındık yağı ekstraksiyon atığından fındık protein izolatu (FPİ) elde edilmiş ve fonksiyonel özellikleri geliştirmek amacıyla sodyum aljinat (SA) ve gam arabik (GA) polisakkaritleri ile farklı sıcaklık (60-90°C), süre (3-12 saat) ve protein-polisakkarit oranlarında (%25-%75) ıslak ısıtma yöntemiyle konjuge edilmiştir. Optimum koşullarda gerçekleştirilen konjugasyon işlemi sonucunda FPİ'nin çözünürlüğü %15,23'ten SA-FPİ konjugatlarında %52,12'ye, GA-FPİ konjugatlarında ise %59,82'ye yükselmiştir. Kontrol FPİ'nin 7,11 m²/g olan emülsiyon aktivite değeri, GA-FPİ'de 22,49 m²/g'ye ve SA-FPİ'de ise 31,55 m²/g'ye yükselmiştir. Emülsiyon stabilitesi kontrol FPİ'de %80,65'ten, GA-FPİ konjugatlarında %104,4'e, SA-FPİ konjugatlarında ise %95,45'e yükselmiştir. Glikasyon derecesi en yüksek %20,16 değeri ile SA-FPİ konjugatlarında tespit edilmiştir. Viskozite değerleri, GA-FPİ konjugatlarında daha yüksek bulunmuştur. SA'nın anyonik özellikleri viskoziteyi azaltırken, GA daha kararlı bir jel yapısı sağlamıştır. Yapısal analizler, konjugasyonla β -sheet oranında artış ve α -heliks oranında azalma olduğunu göstermiştir. Kontrol FPİ'ye kıyasla konjugatlarda L* (aydınlık) değeri artarken, a* (kırmızı) ve b* (sarı) değerleri azalmıştır. SA-FPİ ve GA-FPİ'nin esmerleşme indeksi kontrol FPİ'den daha düşük bulunmuştur. Glikasyon sırasında HMF miktarı GA-FPİ için 4,86 mg/kg, SA-FPİ için 3,56 mg/kg arasında bulunmuştur. Zeta potansiyel analizleri, kontrol FPİ'ye göre GA-FPİ için azalma göstererek elektrostatik itmenin azaldığını ve agregasyonu artırdığını göstermektedir. SA-FPİ ise kontrole göre daha negatif zeta potansiyeli göstermiştir. Sonuç olarak, SA-FPİ ve GA-FPİ konjugatlarının çözünürlük, jel kuvveti ve emülsiyon özelliklerini artırarak gıda endüstrisinde etkili bir şekilde kullanılabileceği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Fındık protein izolatu, gam arabik, sodyum aljinat, konjugasyon, Maillard reaksiyonu, ıslak ısıtma

SUMMARY

Plant-based proteins are gaining increasing attention due to their renewable nature, low cost, and environmental benefits. However, limitations in their functional properties restrict their application in the food industry. This thesis aims to evaluate the potential of hazelnut protein, a plant-based protein source, as an alternative to animal proteins in the food industry. Hazelnut protein isolate (HPI) was obtained from the by-product of hazelnut oil extraction using the cold press method. To enhance its functional properties, HPI was conjugated with sodium alginate (SA) and gum arabic (GA) polysaccharides using the wet-heating method under different temperature (60–90°C), time (3–12 hours), and protein-to-polysaccharide ratio conditions (25–75%). As a result of the conjugation process conducted under optimum conditions, the solubility of HPI increased from 15.23% to 52.12% in SA-HPI conjugates and 59.82% in GA-HPI conjugates. The emulsion activity of control HPI (7.11 m²/g) increased to 22.49 m²/g in GA-HPI and 31.55 m²/g in SA-HPI. Emulsion stability improved from 80.65% in control HPI to 104.4% in GA-HPI and 95.45% in SA-HPI conjugates. The highest glycation degree was observed in SA-HPI conjugates, reaching 20.16%. Viscosity values were found to be higher in GA-HPI conjugates. The anionic properties of SA reduced viscosity, whereas GA provided a more stable gel structure. Structural analyses showed an increase in β -sheet content and a decrease in α -helix content after conjugation. Compared to control HPI, L* (lightness) values increased in the conjugates, while a* (redness) and b* (yellowness) values decreased. The browning index of SA-HPI and GA-HPI conjugates was lower than that of control HPI. During glycation, the HMF content ranged between 4.86 mg/kg in GA-HPI and 3.56 mg/kg in SA-HPI. Zeta potential analysis indicated a decrease in GA-HPI compared to control HPI, signifying reduced electrostatic repulsion and increased aggregation. On the other hand, SA-HPI exhibited a more negative zeta potential than the control. In conclusion, the conjugation of HPI with SA and GA enhanced solubility, gel strength, and emulsion properties, demonstrating that these conjugates can be effectively utilized in the food industry.

Keywords: Hazelnut protein isolate, gum arabic, sodium alginate, conjugation, Maillard reaction, wet heating

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren ve destek olan danışman hocam Doç. Dr. İlyas ATALAR'a,

Yüksek lisansa başladığım dönemde desteğini esirgemeyen Kütahya İl Tarım ve Orman Müdürü Orhan ÖZÇALIK'a, tez çalışmam süresince moral ve motivasyon sağlayarak beni cesaretlendiren Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Genel Sekreter Yardımcısı Murat TEKELİ'ye, Şube Müdürüm Zekeriya KORKMAZ'a, Kütahya Tarım ve Orman İl Müdürlüğünde görev yapan mesai arkadaşlarıma,

Tez laboratuvar çalışmalarında özellikle gece geç saatlerde beni yalnız bırakmayan arkadaşım Hatice ELEN'e,

Birlikte yürüdüğümüz yolda beni sonsuz sabırla destekleyen Sadettin DOĞU'ya,

Tez çalışmamı destekleyen TÜBİTAK'a (Proje no: 123O911),

Hayatım boyunca her zaman yanımda olan, bana her koşulda destek veren aileme ve varlığıyla bana güç ve mutluluk kaynağı olan biricik oğluma en derin teşekkürlerimi sunarım.

Tuba SARI

Eskişehir, Aralık 2024

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xviii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	6
2.1. Proteinler	6
2.1.1. Konformasyonel yapıları	7
2.1.1.1. <u>Proteinlerin primer (birincil) yapısı</u>	8
2.1.1.2. <u>Proteinlerin sekonder (ikincil) yapısı</u>	8
2.1.1.3. <u>Proteinlerin tersiyer (üçüncül) yapısı</u>	12
2.1.1.4. <u>Proteinlerin kuarterner (dördüncül) yapısı</u>	12
2.1.2. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri	13
2.1.2.1. <u>Çözünürlük</u>	15
2.1.2.2. <u>Su bağlama ve tutma kapasitesi</u>	16
2.1.2.3. <u>Arayüzey özellikleri</u>	16
2.1.2.4. <u>Emülsiyon oluşturma</u>	18
2.1.2.5. <u>Köpük oluşturma</u>	19
2.1.2.6. <u>Jelleşme</u>	19
2.1.2.7. <u>Viskozite</u>	20
2.2. Bitkisel Proteinler	22
2.3. Bitkisel Proteinlerin Çeşitli İşleme Teknikleriyle Modifikasyonu.....	23
2.3.1. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için fiziksel teknikler	24
2.3.2. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için kimyasal teknikler	28
2.3.3. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için biyolojik/enzimatik teknikler ...	30
2.4. Maillard Reaksiyonu ve Önemi	32

İÇİNDEKİLER

Sayfa

2.4.1. Maillard reaksiyonunun kimyası	33
2.5.1. Kuru ısıtma	37
2.5.2. Islak ısıtma.....	38
2.5.3. Yenilikçi yaklaşımlar	39
2.6. Maillard Konjugatlarının Potansiyel Uygulamaları ve Fonksiyonel Özellikleri.....	40
2.6.1. Çözünürlük	42
2.6.2. Emülsiyon oluşumu ve stabilitesi	49
2.6.3. Viskozite ve viskoelastik davranış.....	55
2.6.4. Köpük oluşumu ve stabilitesi.....	58
2.6.5. Termal stabilite	62
2.6.6. Jelleşme.....	66
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	70
3.1. Materyal.....	70
3.2. Yöntem	70
3.2.1. Fındık posasından protein izolasyonu ve karakterizasyonu	70
3.2.2. Maillard konjugatlarının hazırlanması.....	72
3.2.3. Optimizasyon işleminde uygulanan analizler	73
3.2.3.1. <u>Protein çözünürlüğü</u>	73
3.2.3.2. <u>Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi</u>	74
3.2.3.3. <u>Glikasyon derecesinin belirlenmesi</u>	74
3.2.3.4. <u>HMF içeriği</u>	75
3.2.3.5. <u>Optimizasyon işlemi</u>	76
3.2.4. Karakterizasyon işlemi için uygulanan yöntemler	76
3.2.4.1. <u>Viskozite ve jel kuvveti analizleri</u>	76
3.2.4.2. <u>Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri</u>	77
3.2.4.3. <u>Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi</u>	78
3.2.4.4. <u>Serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların belirlenmesi</u>	78
3.2.4.5. <u>Zeta potansiyelinin tespiti</u>	79
3.2.4.6. <u>Yüzey hidrofobisite analizi</u>	79

İÇİNDEKİLER

Sayfa

3.2.4.7. <u>İstatiksel analizler</u>	80
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	81
4.1. Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatının Konjugasyonuna Ait Bulgular ve Tartışmalar	81
4.1.1. Glikasyon derecesi.....	81
4.1.2. Çözünürlük	85
4.1.3. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	87
4.1.4. HMF miktarı	91
4.1.5. Sodyum aljinat-fındık protein izolatu konjugasyonunun işlem koşullarının optimizasyonu.....	92
4.2. Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karakterizasyon Analizleri	94
4.2.1. Viskozite ve jel kuvveti analizleri	94
4.2.2. Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri.....	97
4.2.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi.....	98
4.2.4. Serbest ve toplam sülfidril (-SH) gruplarının belirlenmesi	100
4.2.5. Yüzey hidrofobisite	101
4.2.6. Zeta potansiyeli.....	102
4.3. Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugasyonuna Ait Bulgular ve Tartışmalar	103
4.3.1. Glikasyon derecesi.....	103
4.3.2. Çözünürlük	104
4.3.3. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	106
4.3.4. HMF miktarı	109
4.3.5. Gam arabik-fındık protein izolatu konjugasyonunun işlem koşullarının optimizasyonu.....	110
4.4. Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karakterizasyon Analizleri ..	113
4.4.1. Viskozite ve jel kuvveti analizleri	113
4.4.2. Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri.....	115

İÇİNDEKİLER

Sayfa

4.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi	116
4.4.4. Serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların belirlenmesi	117
4.4.5. Yüzey hidrofobisite	118
4.4.6. Zeta potansiyeli.....	118
4.5. Optimum Koşullarda Üretilen Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatı ve Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karşılaştırılması.....	119
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	122
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	124

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Protein yapı taşlarının şematik gösterimleri: a) amino asit, b) polipeptit zinciri.....	7
2.2. Proteinlerin genel yapıları	7
2.3. α -heliksin yapısal özellikleri: a) α -heliksin ana zinciri, b) α -heliksin şematik diyagram.....	9
2.4. Paralel β -levhanın yapısal özellikleri: a) paralel β -levhadaki hidrojen bağı düzenini gösteren şematik gösterimi, b) paralel β -levhanın top-çubuk modeli	11
2.5. Antiparalel β -levhanın yapısal özellikleri a) antiparalel β -levhadaki hidrojen bağı düzeninin şematik gösterimi, b) antiparalel β -levhanın top-çubuk modeli	11
2.6. Proteinlerde dimer ve tetramer oluşumunun şematik gösterimi	13
2.7. Bitki bazlı protein modifikasyon yaklaşımları şeması	25
2.8. Ultrasound işleminden önce (solda) ve sonra (sağda) çözeltideki proteini gösteren ultrasound sisteminin bir şeması	26
2.9. Maillard reaksiyonunun şematik sunumu.....	33
2.10. Maillard reaksiyonunun aşamaları ve alt ürün özellikleri	35
2.11. Maillard konjugatı hazırlamak için geleneksel ve yenilikçi yöntemler.....	37
2.12. Protein-polisakkarit konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonların şematik gösterimi.....	49
2.13. Proteinle stabilize edilen emülsiyonlarda gerçekleşen temel kararsızlık mekanizmalarının şematik diyagramı	51
3.1. Soğuk sıkım işlemiyle fındıklardan yağın uzaklaştırılması.....	70
3.2. Soğuk sıkım atığı fındık küspesinden protein izolasyonu aşamaları.....	71
3.3. Islak ısıtma yöntemiyle gerçekleştirilen konjugasyon işlemi ve elde edilen tozların liyofilizasyonu.....	73
3.4. HPLC cihazında HMF bileşenine ait kalibrasyon eğrisi	75
4.1. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının glikasyon derecesi üzerine etkisi	84
4.2. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının çözünürlük değeri üzerine etkisi	85

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
4.3. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPİ konjugatlarının emülsiyon aktivitesi üzerine etkisi	88
4.4. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPİ konjugatlarının emülsiyon stabilitesi üzerine etkisi	90
4.5. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPİ konjugatlarının HMF değeri üzerine etkisi	91
4.6. SA-FPİ konjugatlarının optimum koşulları	93
4.7. SA-FPİ konjugatlarına ait akış davranış grafiği	95
4.8. SA-FPİ konjugatlarına ait frekans tarama grafiği	96
4.9. SA-FPİ konjugatlarına ait sıcaklık tarama grafiği	97
4.10. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait FTIR Spektrumu ..	99
4.11. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait sekonder yapı değişimi	99
4.12. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının glikasyon derecesi üzerine etkisi	104
4.13. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının çözünürlük değerleri üzerine etkisi	105
4.14. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının emülsiyon aktivitesi değerleri üzerine etkisi	107
4.15. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının emülsiyon stabilitesi değerleri üzerine etkisi	108
4.16. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının HMF değerleri üzerine etkisi	110
4.17. GA-FPİ konjugatlarının optimum koşulları	112
4.18. GA-FPİ konjugatlarına ait akış davranış grafiği	114
4.19. GA-FPİ konjugatlarına ait frekans tarama grafiği	114
4.20. SA-FPİ, GA-FPİ konjugatlarına ait sıcaklık tarama grafikleri	115
4.21. GA-FPİ konjugatlarına ve FPİ tozlarına ait FTIR Spektrum	116
4.22. GA-FPİ konjugatlarına ve FPİ tozlarına ait sekonder yapı dağılım grafikleri	117

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Gıda uygulamalarında proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin temel kategorileri	15
3.1. Fındık küspesi protein izolatına ait genel kompozisyon	72
3.2. Her iki karbonhidrat türü/ fındık protein izolatı konjugasyonu için kullanılan deneme planı	72
4.1. SA-FPİ konjugat tozlarına ait sonuçlar	82
4.2. SA-FPİ konjugat tozlarına ait model sonuçları	83
4.3. SA-FPİ konjugat tozlarına ait tahminleme katsayıları	92
4.4. SA-FPİ konjugasyonuna ait optimum noktadaki tahmini değerler ve deneysel veriler	94
4.5. SA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait renk değişimleri	97
4.6. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait sekonder yapı değişimi	100
4.7. FPİ ve SA-FPİ örneklerine ait serbest ve toplam sülfidril (-SH) gruplarının miktarı	101
4.8. FPİ ve SA-FPİ örneklerine ait yüzey hidrofobisite değeri	101
4.2.6. Zeta potansiyeli.....	102
4.9. FPİ ve SA-FPİ örneklerine ait zeta potansiyeli değeri	102
4.10. GA-FPİ konjugat tozlarına ait sonuçlar.....	104
4.11. GA-FPİ konjugat tozlarına ait model sonuçları.....	106
4.12. GA-FPİ konjugat tozlarına ait tahminleme katsayıları.....	111
4.13. GA-FPİ konjugatlarının optimum noktadaki tahmini değerleri ve deneysel verilere ait ortalamalar	113
4.14. GA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait renk değişimleri.....	115
4.15. GA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait sekonder yapı dağılımı	117
4.16. GA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların miktarı	118
4.17. FPİ ve GA-FPİ örneklerine ait yüzey hidrofobisite değeri	118
4.18. GA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait zeta potansiyeli değerleri.....	119
4.19. FPİ, SA-FPİ ve GA-FPİ konjugatlarının karakterizasyon analiz sonuçları.....	120

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
A_0	Glikasyondan önce numunenin absorbansı
A_T	Glikasyondan sonra numunenin absorbansı
a/a	Ağırlık/ağırlık
a/h	Ağırlık/hacim
a^*	Kırmızılık/yeşillik değeri
b^*	Mavilik/sarıklık değeri
L^*	Parlaklık/beyazlık değeri
b_0	Regresyon sabiti
b_1, b_2, b_3	Lineer katsayıları
b_{11}, b_{22}, b_{33}	Kuadratik katsayılar
b_{12}, b_{13}, b_{23}	Etkileşim katsayıları
%	Yüzde
°	Derece
°C	Santigrat Derece
ΔA	Başlangıç ve 10 dakika sonraki absorbans değeri farkı
ΔE	Toplam renk farkı değeri
ΔH	Entalpi değişimi
Δt	Zaman farkı
F	Protein-ANS konjugatının floresan okuması
F_0	Proteinsiz ANS çözeltisinin okuması
G'	Depolama modülü
G''	Kayıp modülü
$\dot{\gamma}$	Kayma hızı
K	Konsistens katsayısı
n	Akış davranış indeksi
τ	Kayma gerilimi

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler Açıklama

x	Boyutsuz sayı
X ₁ , X ₂ , X ₃	Bağımsız değişkenler
η	Görünür viskozite
ζ-potential	Zeta potansiyeli
φ	Phi açısı
ψ	Psi açısı
<	Küçüktür
>	Büyüktür
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
κ	Kappa
-SH	Sülfidril

Kısaltmalar Açıklama

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ANS	1-anilino-8-naphthalene-sulfonate
BI	Esmerleşme indeksi
BG	Acı badem gamı
BPI	Bezelye protein izolatu
dk	Dakika
EC	Emülsiyon kapasitesi
EAI	Emülsiyon aktivitesi indeksi
ESI	Emülsiyon stabilitesi indeksi
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FPI	Fındık protein izolatu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GA	Gam arabik

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
g	Gram
HMF	Hidroksimetilfurfural
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
KI	Potasyum iyodür
KBr	Potasyum bromür
Kg	Kilogram
kDa	Kilodalton
KK	Köpük kapasitesi
KS	Köpük stabilitesi
LGC	En düşük jelleşme konsantrasyonu
m ²	Metrekare
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mV	Milivolt
MHz	Megahertz
M	Molar
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
μmol	Mikromol
μg	Mikrogram
NaCl	Sodyum klorür
nm	Nanometre
OPA	O-phthaldialdehyde
Pa	Pascal
p	Anlamlılık değeri
pH	Hidrojen iyonu konsantrasyonu
pl	İzoelektrik nokta
rad/s	Radyan/saniye

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar	Açıklama
RFI	Relatif floresan yoğunluğu
rpm	Dakikadaki devir sayısı
R	Radikal
R ²	Belirlilik katsayısı
SA	Sodyum Aljinat
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SPI	Soya proteini izolatu
SS	Kareler toplamı
vd.	Ve diğerleri
W	Watt
TG	Transglutaminaz
β-Lg	β-laktoglobulin

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Bitki bazlı proteinler, düşük maliyetleri, sürdürülebilir yapıları ve yüksek besin değerleri sayesinde doğal ve çevre dostu ürünlerin geliştirilmesinde büyük bir ilgi odağı haline gelmiştir. Artan tüketici talebi, gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerini bitki bazlı protein içerikleri geliştirmeye teşvik etmektedir. Bitki bazlı proteinlerin sürdürülebilirlikleri, daha düşük çevresel etkileri ve etik profilleri nedeniyle gıda ürünlerinin formülasyonlarında hayvansal kaynaklı proteinlerin yerini alması üzerine yoğunlaşan araştırmalar giderek artmaktadır (Hussain vd., 2024).

Fındık, kullanım alanı genişliği ve yüksek ekonomik değeri nedeniyle çeşitli ülkelerde geniş çapta yetiştirilmektedir. Türkiye, dünya fındık üretiminde lider konumdadır ve yıllık küresel fındık üretiminin yaklaşık %75'ini karşılamaktadır. Türkiye'yi İtalya, Çin ve diğer ülkeler takip etmektedir (FAO, 2022; Herrera vd., 2020; Bener vd., 2022). Fındığın ekonomik değerinin artmasıyla birlikte, dünya genelinde fındık ekim alanları genişlemekte ve fındık yan ürünlerinin miktarı da büyük ölçüde artmaktadır. Fındık içi, fındığın toplam ağırlığının %50'sinden daha azını oluştururken, hasat ve işleme süreçleri sırasında kabuk, dış zar, zuruf ve yaprak gibi çeşitli yan ürünler ortaya çıkmaktadır (Allegrini vd., 2022). Bu durum, kayda değer miktarda atık oluşumuna yol açarak çevre üzerinde baskı yaratmaktadır. Dolayısıyla, bu sorunun önlenmesi ve ortaya çıkan yan ürünlerin değerlendirilmesi amacıyla akademik çalışmalara ihtiyaç vardır. Günümüzde birçok çalışma, fındık ve yan ürünlerinin güçlü antioksidan özelliklere sahip fenolik bileşikler açısından zengin olduğunu ve gıda, ilaç, hayvancılık, kozmetik endüstrilerinde kullanılma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. Literatürde farklı coğrafi bölgelerden elde edilen fındıkların morfolojik özellikleri ve kimyasal bileşimini, ayrıca farklı iklim koşulları ve kavurma işlemlerinin çeşitli fındık türlerindeki polifenoller ve tokoferoller üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar mevcuttur (Król ve Gantner, 2020; Król vd., 2020). Ancak, bu çalışmalar daha çok farklı bölgelerin ve işleme yöntemlerinin fındık kalitesi üzerindeki etkisine odaklanmıştır. Bazı çalışmalar ise fındığın gastronomi ve sanayi uygulamaları da dahil olmak üzere dünya genelindeki önemine ve ekonomik potansiyelini artırma yollarına değinmiştir (Guiné ve Correia, 2020). Bu çalışmaların genel amacı, fındığı hem değerli hem

de sürdürülebilir bir kaynak olarak ön plana çıkarmaktır. Bazı araştırmacılar fındık yağı işleme sürecinden elde edilen kabuk, küspe, nişasta ve zar gibi yan ürünlerin kimyasal bileşimlerini, sağlık üzerindeki faydalarını, gıda olarak kullanım potansiyellerini ve işleme teknolojilerini incelemiştir (Nawaz ve Khalifa, 2022; Fuso vd., 2021).

Bu yan ürünler arasında, alternatif bitkisel protein kaynaklarından biri olarak öne çıkan yağı alınmış fındık küspesi dikkat çekmektedir (Sarıcaoğlu vd., 2018). *Betulaceae* familyasına ait olan fındık (*Corylus avellana L.*) yaklaşık %60 yağ içeriği ile beslenme ve sağlık açısından en önemli kuruyemiş çeşitlerinden biridir. Yağ çıkarma işlemi sonrasında elde edilen küspe, yaklaşık %35-41 oranında protein içerir. Bu proteinlerin büyük bir kısmı, moleküler ağırlıkları sırasıyla 58–60 kDa ve 50–51 kDa olan iki ana alt fraksiyon, 11S globulin ve 7S vicilin, tarafından oluşmaktadır (Locatelli vd., 2011, 2015). Fındık küspesi, fındık yağı üretiminin bir yan ürünü olup, çikolata üretiminde şeker ve süt kaynaklı tozların bir kısmını, sertlik ve kırılabilirliği etkilemeden ikame edebileceği ortaya koyulmuştur (Bursa vd., 2021). Ayrıca daha sağlıklı ve düşük maliyetli olup antioksidan kapasiteye sahip polifenoller içerdiği belirtilmiştir. Fındık küspesinin salam formülasyonunda (Atalar vd., 2024), dondurma formülasyonunda (Atalar vd., 2021), kefir üretiminde (Atalar, 2019) ve yoğurt üretiminde kullanıldığı (Gül vd., 2022) çalışmalar da bulunmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, fındık küspesinden fındık proteini ekstraksiyonu ve ekstrakte edilen proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi ve geliştirilmesine odaklanmıştır (Gül vd., 2018; Gül vd., 2023; Sarıcaoğlu vd., 2018; Tatar vd., 2015).

Akasya gamı olarak da bilinen gam arabik (GA), gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bir çözünür diyet lifi olarak işlev görmektedir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi, GA'yı besin değerleri etiketinde diyet lifi olarak belirtmektedir (FDA, 2021). Proteinlerin konjugasyonunda, akasya ağaçlarının salgılarından elde edilen GA en yaygın kullanılan polisakkaritlerden biridir (Başyigit vd., 2022). Benzer moleküler ağırlığa sahip diğer polisakkaritlerle karşılaştırıldığında düşük viskoziteye sahip, anyonik, hidrofilik ve heteropolisakkarit bir yapı göstermektedir (Pirestani vd., 2018). Üstün emülsiyon oluşturma, kıvam verme, jelleşme, kaplama ve stabilizasyon özellikleri nedeniyle GA, uzun süredir gıda endüstrisinde tercih edilmektedir (Başyigit vd., 2022). Literatürdeki birçok çalışmada, kinoa (Chen vd., 2024), kanola (Pirestani vd., 2017a), bezelye (Zha vd., 2019a, 2019b) ve nar

çekirdeği (Başyigit vd., 2022) proteinlerinin GA ile konjugasyonu sonucunda teknolojik fonksiyonel özelliklerinin iyileştirildiği bildirilmiştir.

Sodyum aljinat (SA), kahverengi deniz alglerinden ekstrakte edilen, mükemmel biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik ve film oluşturma özelliklerine sahip ve gıda muhafazasında geniş bir uygulama alanına sahip doğal bir anyonik polisakkarittir (Zhang vd., 2023). Öte yandan, iyot ve mannoz ekstraksiyonunun bir yan ürünü olarak fukoidan bitkilerinden elde edilen makromoleküler bir hidrokolloiddir. Protein ve polisakkarit arasındaki etkileşimlere dayanarak gıda proteinlerinin su tutma, jelleşme ve emülsifiye etme özelliklerini iyileştirmek için yaygın bir şekilde tercih edilmektedir (Yao vd., 2018).

"Protein modifikasyonu" terimi, proteinlerin moleküler yapısının veya birkaç kimyasal grubunun, teknik işlevselliklerini ve biyoaktivite gelişimlerini sağlamak amacıyla özel yöntemlerle değiştirilmesi sürecini ifade etmektedir. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu, proteinlerin fizikokimyasal özelliklerini değiştirerek ve sınırlamalarını ele alarak gıda sistemleri için çok işlevli bileşenler haline getirilmesi fırsatını sunmaktadır. Fiziksel ve biyolojik yöntemlerin çoğu, ölçek büyütme ve genel maliyetler açısından faydalar sağlayarak endüstriyel düzeyde bitki bazlı proteinlerin iyileştirilmesinde kullanılmaktadır. Örneğin, ısı işlem ve yüksek basınç teknikleri gibi bazı fiziksel yöntemler, gıda işleme süreçlerinde uzun süredir kullanılmaktadır. Ancak, bu tekniklerin enerji ve maliyet etkinliği, sürdürülebilir kalkınma hedefleriyle tam uyum sağlamak için yeniden değerlendirilmelidir. Kimyasal modifikasyon yaklaşımları, kimyasallara ihtiyaç duymaları ve toksik yan ürünler oluşturabilmeleri nedeniyle endüstri ve tüketici açısından ideal değildir. Kimyasal modifikasyon yaklaşımları arasında glikasyon, harici kimyasallara ihtiyaç duymaz ve kimyasal veya toksik yan ürünler üretmez. Bu nedenle, gıda güvenliği düzenlemeleri açısından, bu yöntem temiz etiketli bileşenlere yönelik artan trendle uyumlu olarak bitki bazlı proteinler için istenen bir kimyasal modifikasyon yaklaşımı olarak kabul edilmektedir (Nikbakht Nasrabadi vd., 2021).

Maillard reaksiyonu aynı zamanda Maillard glikasyonu, Maillard konjugasyonu ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu olarak da bilinir. Reaksiyon protein veya amino asitlerin serbest amino grubunun, indirgen şekerin karbonil grubu ile kondensasyonu

başlar (Miller ve Gerrard, 2005). Protein konjugasyonu genellikle Maillard reaksiyonunun başlangıç aşamasında gerçekleştirilir ve doğal protein, teknolojik işlevini korumakla kalmaz, aynı zamanda polisakkaritlerin yardımıyla geliştirilmiş fonksiyonel özelliklere sahip olur. Ayrıca, polisakkaritlerin mono- ve disakkaritlere kıyasla nispeten düşük indirgeme potansiyeli ve yüksek moleküler sterik engelini, ileri Maillard reaksiyonunun gerçekleşmesini önlediğini ve glikasyon reaksiyonu sırasında protein-polisakkarit konjugatının bozulmasını engellediğini belirtmekte fayda vardır. Bunun yanı sıra, protein-polisakkarit konjugatları oluşturmak için doğal ve güvenli substratlar kullanılır ve kontrol edilen reaksiyon koşulları altında tehlikeli veya toksik ileri reaksiyon ürünleri elde edilmez. Bu nedenle, protein-polisakkarit konjugatları, güvenli ve sağlıklı özelliklere sahip yenilikçi gıdalar üretmek için etkili bileşenler olarak uygulanmaktadır (Nooshkam vd., 2023).

Geleneksel olarak, glikasyona uğramış bitki proteinleri genellikle kuru ya da ıslak ısıtma yöntemleriyle üretilmektedir. Kuru ısıtma yönteminde, polisakkarit ve protein içeren sulu çözeltiler (reaktan tipine bağlı olarak belirlenen oranlarda) liyofilize edilir ve ardından toz haline getirilir. Elde edilen toz, sıcaklık (40–80°C), bağıl nem (genellikle %65 veya %79) ve süre (birkaç saat ile haftalar arasında değişebilir) gibi kontrol edilen koşullar altında konjugasyon işlemini gerçekleştirmek için kullanılır. Konjugasyon işlemi, reaksiyonun sonlandırılması amacıyla oda sıcaklığına soğutulularak tamamlanır (De Oliveira vd., 2016). Kuru ısıtma yöntemi, protein-karbonhidrat konjugatlarının üretimi için basit bir yöntem olarak ilave bir substrat gerektirmemesi, reaksiyon koşullarının kolayca kontrol edilebilir olması, toksik ve zararlı ürünler üretilmemesi, uygulamanın kolay olması ve uzun süreli depolama imkanı sunma gibi avantajlara sahiptir. Ancak, bu yöntemle konjugatların oluşumu genellikle birkaç gün sürmektedir. Bu nedenle, uzayan reaksiyon süresi sırasında istenmeyen aşırı kahverengi renk ve tat oluşumu, bu yöntemin dezavantajlarından biridir (Zhang vd., 2019). Ayrıca, reaksiyon sırasında protein ve karbonhidratlar arasındaki düzensiz temas, reaksiyona girmemiş proteinler ve serbest polisakkaritler gibi çeşitli nihai ürünlerin oluşmasına neden olur. Bunun yanı sıra, kuru ısıtma öncesinde liyofilizasyonun yüksek maliyeti nedeniyle bu yöntemin seri üretim için uygulanabilirliği sınırlıdır; bundan dolayı sprey kurutma gibi alternatif kurutma yöntemleri önerilmektedir (Sedaghat Doost vd., 2019). Islak ısıtma yöntemi, bu sorunların üstesinden gelmek ve geliştirilmiş fonksiyonel özelliklere sahip protein-polisakkarit konjugatları hazırlamak amacıyla benimsenmiştir (Chen vd., 2017). Kuru ve ıslak ısıtma arasındaki temel fark, protein ve polisakkaritin

başlangıçta sulu bir çözelti içinde çözülmesi ve ardından karışımın kontrollü bir sıcaklıkta ısıtılmasıdır (Akhtar ve Ding, 2017). Islak ısıtma yöntemi, inkübasyon süresini yüksek sıcaklıklarda yalnızca birkaç saate indirerek, konjugasyonun Maillard reaksiyonunu başlangıç aşamasıyla sınırlayabilme ve esmerleşme renginin gelişimini daha iyi kontrol edebilme imkanı sunar. Bu nedenle, bu ısıtma yöntemi gıda endüstrisi için daha uygulanabilir bir seçenek olarak değerlendirilmektedir (Nooshkam ve Madadlou, 2016; Xu vd., 2018).

Uygun bir glikasyon işleminden sonra, doğal proteinlerin çözünürlüğü, emülsifiye edici özellikleri, köpüklenme özellikleri, jel özelliği, termal stabilitesi ve biyolojik işlevsellikleri önemli ölçüde geliştirilir. Sonuç olarak, protein-polimer konjugatları doğal proteinin izoelektrik noktası, yüksek sıcaklık ve yüksek tuz konsantrasyonu gibi zorlu çevresel koşullarda bile iyi düzeyde fonksiyonel özellikler sergileyebilmektedir. Bu geliştirilmiş tekno-fonksiyonel özelliklere dayanarak, konjugatlar biyoaktif bileşenlerin stabilitesini, işlevini ve biyoyararlanımını artırmak amacıyla kapsülleme ve taşıma için nanoemülsiyon, nanopartikül ve nanojel üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, sıvı, jel ve 3 boyutlu baskılı gıdalar gibi yeni nesil gıdaların ve biyolojik olarak parçalanabilir ambalaj malzemelerinin üretimi için tekno-fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş bileşenler sağlamak amacıyla da kullanılabilir (Zhang vd., 2019).

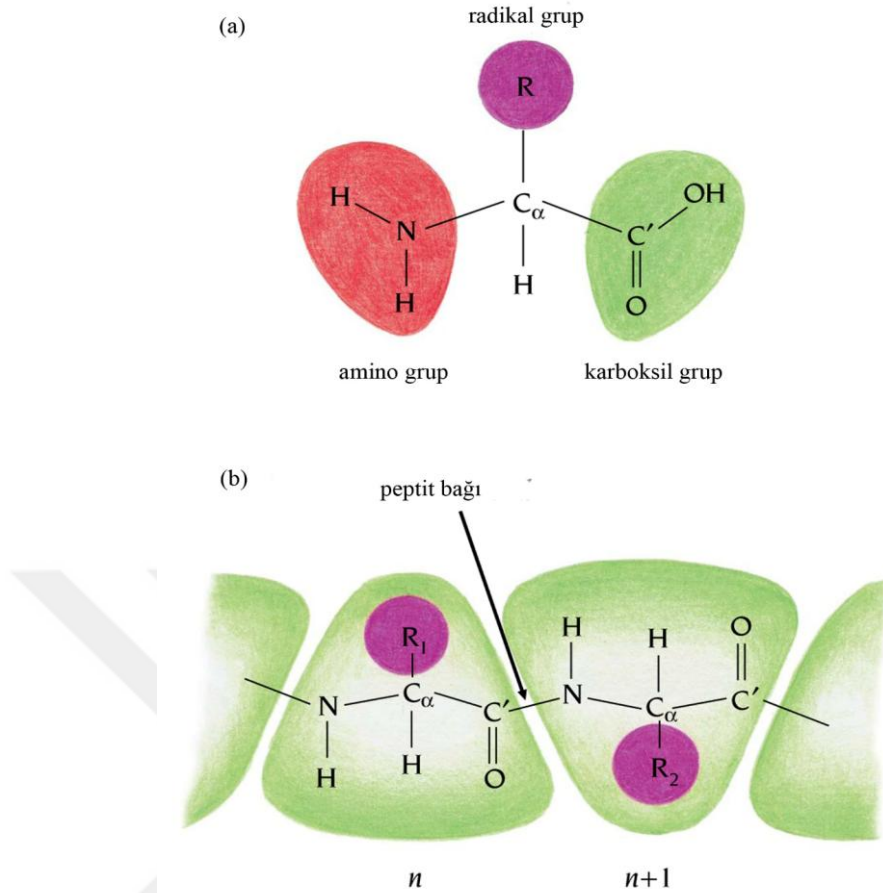
Bu tez çalışması kapsamında, bitkisel protein kaynağı olarak soğuk pres ekstraksiyon atığından izole edilen fındık proteini kullanılmıştır. Elde edilen protein izolatının fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için farklı polisakkaritler (SA, GA) ile geleneksel ıslak ısıtma yöntemi kullanılarak konjuge edilmesi, işlem parametrelerinin (süre, sıcaklık, reaktan oranı) optimize edilmesi ve elde edilen konjugatların tekno-fonksiyonel özelliklerindeki (çözünürlük, emülsiyon özellikleri, viskozite, jelleşme kuvveti vb.) değişimlerin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda, özellikle fındık yağı üretiminden arta kalan ve genellikle yem sanayisinde değerlendirilen fındık küspesinin, bitkisel protein kaynağı olarak fonksiyonel gıda üretimlerinde ve gıdaların besin değerinin artırılmasında kullanımı için bir ön çalışma niteliği taşıması hedeflenmektedir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Proteinler

Amino asitler proteinlerin temel yapısal birimleridir. Bir amino asitin genel formülünde merkezi bir karbon atomuna ($C\alpha$) bağlı bir hidrojen atomu ($-H$), bir amino grubu ($-NH_2$), bir karboksil grubu ($-COOH$) ve her amino asit için değişik olan bir radikal (R) grubu bağlanır (Şekil 2.1a). Bir amino asidi diğerinden ayıran özellik, farklı R grubu taşımasıdır. R grup, yani yan zincir, amino asidin sahip olduğu özelliklere bağlı olarak farklılık göstermektedir. R grubunun boyutu, yapısı, yükü ve suda çözünürlüğü gibi fizikokimyasal özellikleri, ilgili amino asidin karakteristik fonksiyonunu şekillendirmektedir. İnsan vücudundaki proteinler, temel 20 farklı amino asitten oluşmaktadır. Proteinlerin çok çeşitli işlevleri, bu 20 amino asidin farklı sayılarda ve dizilimlerde bir araya gelmesinden kaynaklanmaktadır (Saldamlı ve Temiz, 1998). Amino asitler, bir molekülün amino grubunun ($-NH_2$) başka bir molekülün karboksil grubu ($-COOH$) ile reaksiyona girmesi sonucu bir mol su açığa çıkararak peptit bağı oluşturur (Şekil 2.1b). Amino asitlerin peptit bağlarıyla bir araya gelmesi, peptit zincirlerini oluşturur. Peptit zincirleri, içerdikleri amino asit sayısına göre adlandırılır. Örneğin, bir amino asit içerenler mono-peptit, iki amino asit içerenler di-peptit, üç amino asit içerenler tri-peptit olarak isimlendirilir. Genel olarak, 10 kadar amino asit içeren kısa zincirli yapılar oligopeptit, daha uzun zincirli yapılar ise polipeptit olarak adlandırılır (Whitford, 2013).

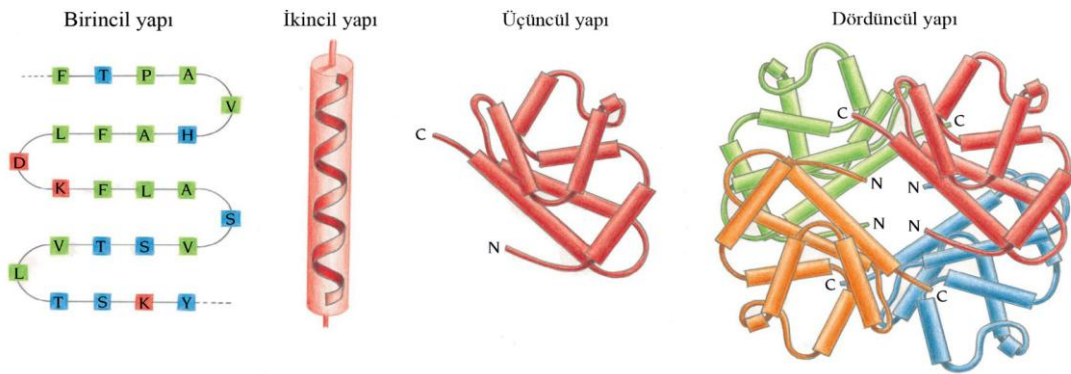
Proteinlerin ve peptitlerin yapısını, çözünürlüğünü ve yağ bağlama kapasitesini etkileyen başlıca faktörlerden biri, amino asit kalıntılarının hidrofobiklik derecesidir. Bu hidrofobik kalıntılar, genellikle proteinin iç kısmında, çevrenin polaritesinin organik bir faza benzer olduğu bir bölgede yer alır ve sudan uzak durma eğilimindedir. Proteinlerin işlevsel çeşitliliği, esasen, amino asit dizilimlerinin yeniden düzenlenmesiyle ortaya çıkan çok sayıda üç boyutlu konformasyondan kaynaklanmaktadır (Damodaran ve Parkin, 2017).



Şekil 2.1. Protein yapı taşlarının şematik gösterimleri: a) amino asit, b) polipeptit zinciri (Branden ve Tooze, 2012)

2.1.1. Konformasyonel yapıları

Şekil 2.2’de proteinlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.2. Proteinlerin genel yapıları (Branden ve Tooze, 2012)

2.1.1.1. Proteinlerin primer (birincil) yapısı

Bir proteinin birincil yapısı, amino asitlerin peptit bağları aracılığıyla kovalent olarak bağlandığı doğrusal dizilimi ifade etmektedir. Polipeptit zincirinin serbest α -amino grubuna sahip uç N-terminal, serbest α -karboksil (α -COOH) grubuna sahip ucu ise C-terminal olarak adlandırılmaktadır. Birincil dizi bilgisi ifade edilirken, N-terminal polipeptit zincirinin başlangıcını; C-terminal ise sonunu temsil etmektedir. Proteinin primer yapısı, polipeptit zincirinin omurgası olarak kabul edilir. Peptit bağları, omurgadaki toplam kovalent bağların yaklaşık üçte birini oluşturduğundan, sınırlı dönme serbestlikleri omurga esnekliğini büyük ölçüde kısıtlamaktadır. Sadece N-C α ve C α -C bağları dönme serbestliğine sahiptir ve bunlar sırasıyla ϕ (phi) ve ψ (psi) dihedral açıları olarak ifade edilmektedir. Bu açılar aynı zamanda ana zincir bükülme açıları olarak da bilinmektedir. N-C α ve C α -C bağları tekli bağlar olduğundan, ϕ ve ψ dihedral açıları teorik olarak 360°'lik bir dönme özgürlüğüne sahip olsa da yan zincir atomlarının neden olduğu sterik engeller bu dönme özgürlüğünü kısıtlamaktadır. Bu sınırlamalar polipeptit zincirinin esnekliğini daha da azaltmaktadır (Damodaran ve Parkin, 2017).

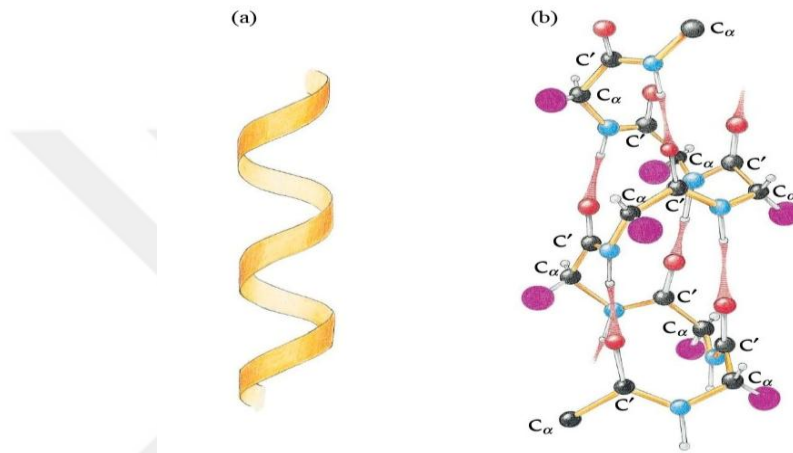
2.1.1.2. Proteinlerin sekonder (ikincil) yapısı

İkincil yapı, birincil yapıdaki belirli bölgelerde zincir içi ve/veya zincirler arası bağların oluşumu sonucunda meydana gelmektedir. Bu bağların oluşması, polipeptit zincirinde kendi eksenini etrafında kıvrımların oluşmasına yol açmaktadır. Polipeptit zincirinin sarmal şekilde kıvrılmasını sağlayan güç, genelde iki elektronegatif atom arasında (çoğunlukla O ve N arasında) kurulan hidrojen bağlarıdır. Bir başka deyişle ikincil yapı, polipeptit zincirinin belirli bölgelerinde amino asit kalıntılarının periyodik uzaysal düzenini ifade etmektedir.

Periyodik yapılar, bir segmentteki ardışık amino asit kalıntılarının aynı değerinde ϕ ve ψ bükülme açıları almasıyla oluşmaktadır. ϕ ve ψ açılarının bükülmesi, amino asit yan zincirleri arasındaki yakınlık veya kısa menzilli kovalent olmayan etkileşimler tarafından yönlendirilmektedir ve bu durum serbest enerjide bir azalmaya yol açmaktadır. Düzensiz veya rastgele yapı, polipeptit zincirindeki, ardışık amino asit kalıntılarının farklı ϕ ve ψ bükülme açıları sahip olduğu bölgeleri işaret etmektedir (Saldamlı ve Temiz, 1998).

Proteinlerde genel olarak iki tür periyodik (düzenli) ikincil yapı bulunmaktadır. Bunlar sarmal (α -heliks) ve levha (β -sheet) yapılarıdır (Saldamlı ve Temiz, 1998).

Protein sarmal yapıları, ardışık amino asit kalıntılarının ϕ ve ψ açılarının aynı sabit değerde bükülmesiyle meydana gelmektedir. α -heliks, polipeptit zincirinin spiral şeklinde düzenlenmesiyle oluşur ve proteinlerde bulunan en yaygın sarmal yapıdır (Şekil 2.3a) (Saldamlı ve Temiz, 1998).

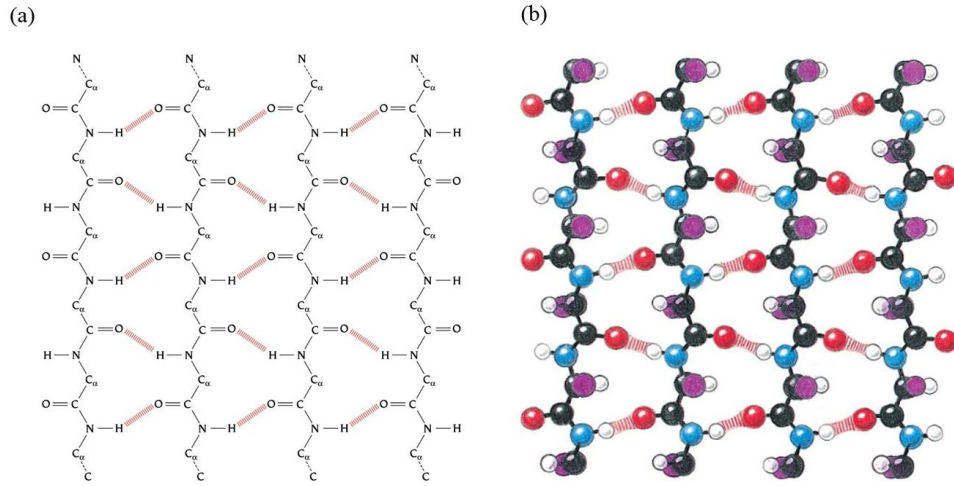


Şekil 2.3. α -heliksin yapısal özellikleri: a) α -heliksin ana zinciri, b) α -heliksin şematik diyagramı (Branden ve Tooze, 2012)

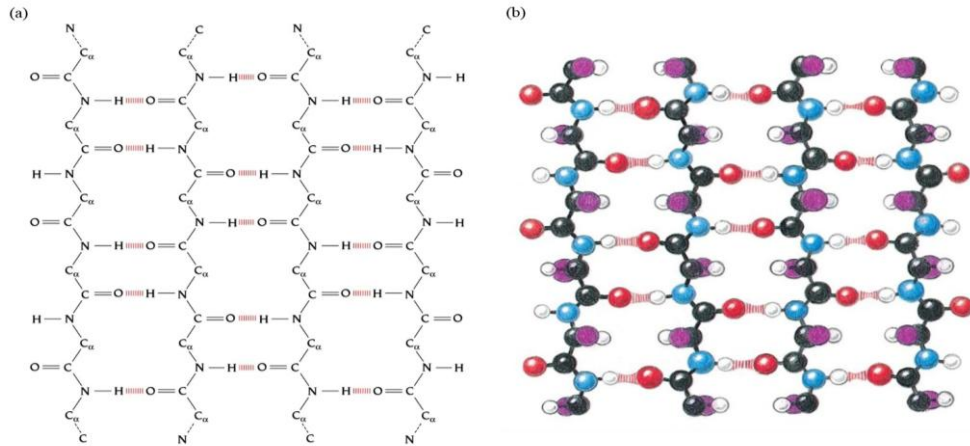
α -heliksler, hidrojen bağlarıyla stabilize edilmektedir. Bu yapıda, her bir omurga N-H grubu, kendisinden dört kalıntı önceki C=O grubuna hidrojen bağıyla bağlanmaktadır. Hidrojen bağları, sarmalın eksenine paralel olarak uzanmaktadır. Şekil 2.3b'de α -heliksin şematik diyagramı gösterilmiştir. Oksijen atomları kırmızı, azot atomları mavi, oksijen ve azot atomları arasındaki hidrojen bağları kırmızı ve çizgili olarak, yan zincirler ise mor daireler şeklinde temsil edilmiştir. Hidrojen bağındaki azot, hidrojen ve oksijen atomları bir doğru üzerinde yer aldığından hidrojen bağının açısı hemen hemen sıfırdır. α -heliksin oluşumuna dair detaylar, amino asit dizisinde ikili kod olarak gömülüdür. İkili kod, dizideki polar ve apolar kalıntıların düzeniyle ilgilidir. Proteinlerde bulunan çoğu α -sarmal yapı, amfifilik özellik göstermesi nedeniyle sarmalın bir yarısı hidrofobik kalıntılarla, diğer yarısı ise hidrofilik kalıntılarla kaplıdır. Çoğu proteinde, sarmalın apolar yüzeyi proteinin iç kısmına yönelerek genellikle diğer apolar yüzeylerle hidrofobik etkileşimlere girmektedir (Damodaran ve Parkin, 2017).

β -sheet yapıdaki polipeptit zinciri α -heliksteki gibi sarmal şekilde değil yayılmış durumdadır. Diğer bir farklılık da α -helikste aynı polipeptit zinciri üzerinde hidrojen köprüleri ile kararlı bir yapı sağlanırken β -sheet yapılarda farklı polipeptit zincirleri üzerinde hidrojen köprüleri ile kararlılık sağlanmaktadır. Bu genişlemiş formda, C=O ve N-H grupları zincirin yönüne dik olarak yerleşmiştir, bu nedenle hidrojen bağlarının yalnızca zincir bölümleri arasında oluşması mümkündür, zincir içinde oluşmamaktadır.

β -levhaları genellikle 5-15 amino asit kalıntısı uzunluğundadır. Proteinlerde, aynı moleküldeki iki β -şeridi, hidrojen bağları aracılığıyla etkileşir ve β -sheet olarak tanımlanan levha benzeri bir yapı oluşturur. Levha benzeri yapıda, yan zincirler levhanın düzleminin üzerine ve altına doğru, yani dik bir şekilde yönelmiştir. Şeritlerin N $\rightarrow$ C yönelimlerine bağlı olarak, paralel β -sheet ve antiparalel β -sheet olmak üzere iki tür β -sheet yapısı oluşur (Saldamlı ve Temiz, 1998). Eğer hizalanmış β sarmallarındaki amino asitler biyokimyasal olarak aynı yönde (amino terminalden karboksil terminale) ilerliyorsa, bu tabaka paralel olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.4a). Şekil 2.4b’de paralel β -levhanın top-çubuk modeli gösterilmektedir. Oksijen atomları kırmızı, azot atomları mavi, hidrojen atomları beyaz, ana zincirdeki karbon atomları (C α) siyah, yan zincirler mor daireler şeklinde temsil edilmiştir. Eğer ardışık sarmallardaki amino asitler sırasıyla zıt yönlerde (amino terminalden karboksil terminale ve ardından karboksil terminalden amino terminale) ilerliyorsa, bu tabaka antiparalel olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.5a). Şekil 2.5b’de antiparalel β -levhanın top-çubuk modeli gösterilmektedir. Oksijen atomları kırmızı, azot atomları mavi, hidrojen atomları beyaz ve ana zincirdeki karbon atomları (C α) siyah, yan zincirler mor daireler şeklinde temsil edilmiştir. Her iki formun da kendine özgü hidrojen bağı düzeni vardır. Antiparalel β -sheet yapılarda, N-H $\cdots$ O atomları düz bir çizgi üzerinde (hidrojen bağı açısı sıfır) yer alır, bu da hidrojen bağlarının stabilitesini artırır. Buna karşın, paralel β -sheet yapılarda atomlar bir açıyla yerleşir, bu da hidrojen bağlarının stabilitesini azaltır. Bu nedenle, antiparalel β -sheet yapılar, paralel β -sheet yapılardan daha stabildir (Damodaran ve Parkin, 2017).



Şekil 2.4. Paralel β -levhanın yapısal özellikleri: a) paralel β -levhadaki hidrojen bağı düzenini gösteren şematik gösterimi, b) paralel β -levhanın top-çubuk modeli (Branden ve Tooze, 2012)



Şekil 2.5. Antiparalel β -levhanın yapısal özellikleri a) antiparalel β -levhadaki hidrojen bağı düzeninin şematik gösterimi, b) antiparalel β -levhanın top-çubuk modeli (Branden ve Tooze, 2012)

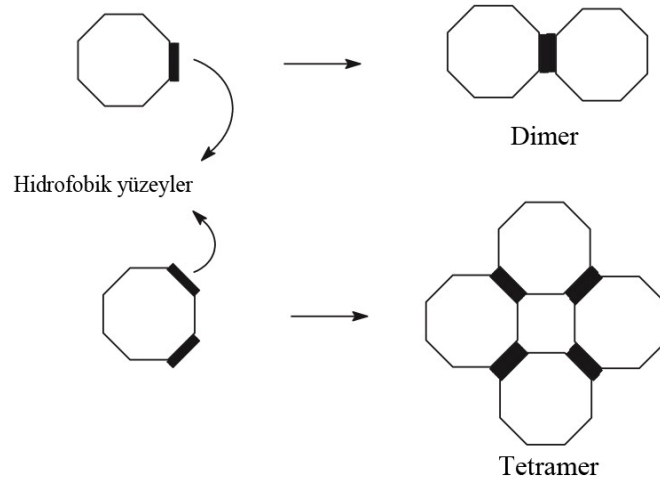
β -levha yapısı genellikle α -sarmal yapısından daha stabildir. Büyük ölçüde β -levha yapısı içeren proteinler genellikle yüksek denatürasyon sıcaklıklarına sahiptir. α -sarmal tipi proteinlerin çözeltileri ısıtılıp soğutulduğunda, genellikle α -sarmal yapısı β -levha yapısına dönüşür (Mak vd., 1980). Ancak, ısı ile β -levha yapısının α -sarmal yapısına dönüşümü proteinlerde gözlemlenmemiştir (Pan vd., 1993).

2.1.1.3. Proteinlerin tersiyer (üçüncül) yapısı

Tersiyer yapı, katlanmış polipeptit zincirini temsil eder ve geniş bir şekilde ayrılmış amino asit kalıntılarının uzaysal düzenlemesi olarak tanımlanmaktadır. Bir proteinin tersiyer yapısını sormak, aslında “protein katlanması nedir?” sorusunu sormakla eşdeğerdir. Protein katlanması, ikincil yapıların birleşmesiyle meydana gelerek kompakt, globüler bir molekül oluşturmaktadır. İkincil yapı birimleri, β -levhalarda olduğu gibi hidrojen bağları yoluyla etkileşime girmektedir. Bunun yanında, disülfid köprüleri, elektrostatik etkileşimler, van der Waals etkileşimleri, hidrofobik bağlar ve omurga dışındaki gruplar arasındaki hidrojen bağları da tersiyer yapının oluşumunda rol oynamaktadır. Stabil bir tersiyer yapı oluşturabilmek için proteinlerin, itici veya olumsuz etkileşimlerden daha fazla çekici etkileşim oluşturması gerekmektedir. Tersiyer katlanmaların stabilizasyonu, proteinlerdeki farklı güç ve sıklıklara sahip etkileşimlere dayanmaktadır. Disülfid köprüleri, sistein yan zincirleri arasında güçlü kovalent bağlar oluşturarak protein katlanmasını düzenlemektedir. Bu bağlar, genellikle primer dizide geniş bir mesafeyle ayrılmış sistein kalıntıları arasında oluşmaktadır. Disülfid köprüsü, ardışık sistein kalıntıları arasında oluşmaz; genellikle her sistein arasında en az beş kalıntı bulunur. Disülfid köprüsü oluşumu, polipeptitin genel konformasyonunu kısıtlamaktadır. Disülfid bağları yalnızca yüksek sıcaklık, asidik pH veya indirgen maddeler varlığında kırılmaktadır. Disülfid bağları, protein yapısının kritik bir bileşeni olarak, özellikle dış çevresel stres koşullarında protein stabilitesine önemli katkıda bulunmaktadır (Whitford, 2013).

2.1.1.4. Proteinlerin kuarterner (dördüncül) yapısı

Kuarterner yapı, bir protein birden fazla polipeptit zinciri içerdiğinde, bu zincirlerin uzaysal düzenini ifade etmektedir. Biyolojik olarak önemli pek çok protein, dimer, trimer, tetramer vb. olarak bulunmaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Proteinlerde dimer ve tetramer oluşumunun şematik gösterimi (Damodaran ve Parkin, 2017)

Bu kuarternler kompleksler, aynı zamanda oligomerler olarak da adlandırılmaktadır. Aynı polipeptitlerden oluşan alt birimler veya farklı polipeptitlerden oluşan alt birimler tarafından meydana gelmektedir. Oligomerik yapıların oluşumu, spesifik protein-protein etkileşimlerinin bir sonucudur. Bunlar, öncelikle hidrojen bağları, hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler gibi kovalent olmayan etkileşimlerle yönlendirilmektedir. Bir proteindeki hidrofobik amino asit kalıntılarının oranı, oligomerik yapılar oluşturma eğilimini etkilemektedir. %30'dan fazla hidrofobik amino asit kalıntısı bulunan proteinler, daha az hidrofobik amino asit kalıntısına sahip olanlara göre daha fazla oligomerik yapı oluşturma eğilimindedir. Kuarternler yapının oluşumu, öncelikle alt birimlerin açığa çıkmış hidrofobik yüzeylerini gömmek için termodinamik gereksinim tarafından yönlendirilmektedir. Bir proteinin hidrofobik amino asit içeriği %30'dan fazla olduğunda, bazı proteinlerde tüm polar olmayan kalıntıların iç kısma gömülü olduğu tersiyer bir yapı oluşturmak fiziksel olarak imkansız hale gelmektedir. Sonuç olarak, yüzeyde büyük hidrofobik alanların bulunma olasılığı artmaktadır ve bu alanlar arasındaki hidrofobik etkileşimler, dimerler, trimerler vb. oluşumuna yol açmaktadır (Damodaran ve Parkin, 2017).

2.1.2. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri, gıda sistemlerinde proteinlerin işlenme sırasında ve sonrasında sergilediği davranışları ve etkileşimleri belirleyen fizikokimyasal özellikler

olarak tanımlanır ve bu özellikler, nihai ürünün kalite özellikleri üzerinden değerlendirilmektedir. Örneğin, buğday gluteni, mayalı ekmeklerdeki viskoelastik özellikleriyle, süt proteinleri peynir yapımında pıhtılaşma özelliğiyle, yumurta albümini keklerde kabarma yeteneğiyle ve papain enzimi etlerde yumuşatıcı etkisiyle bilinmektedir. Bu gibi özellikler, proteinlerin gıdalardaki belirgin işlevlerini temsil etse de, proteinler aynı zamanda birçok başka önemli fonksiyonu da yerine getirmektedir. Bu işlevler, modern gıda işleme süreçlerini kolaylaştırmak için tanınmalı ve optimize edilmelidir. Gıda proteinleri genellikle, her biri farklı özelliklere (çözünürlük, izoelektrik nokta, denatürasyona duyarlılık vb.) sahip birden fazla farklı proteinden oluşur. Bu nedenle, belirli bir protein karışımına atfedilen fonksiyonel özelliklerin, genellikle tüm proteinlerin değil, yalnızca bu karışımındaki bir bileşenin özelliklerini yansıttığı unutulmamalıdır. Gereken spesifik fonksiyonellik, gıda sistemi ve uygulamaya bağlı olarak değişir ve elbette hiçbir protein tüm istenen işlevleri tek başına yerine getiremez. Bu nedenle, yeni protein kaynakları, protein konsantreleri ve izolatları geliştirilirken fonksiyonel özelliklerin sistematik bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir (Kinsella ve Melachouris, 1976).

Proteinlerin farklı işlevselliklerini belirleyen fiziksel ve kimyasal özellikler arasında büyüklük, şekil, amino asit bileşimi ve dizilimi, net yük ve yük dağılımı, hidrofobiklik/hidrofiliklik oranı, sekonder, tersiyer ve kuarterner yapılar, moleküler esneklik/sertlik ve diğer bileşenlerle etkileşim/reaksiyon yeteneği yer almaktadır. Ancak, proteinlerin çok sayıda fiziksel ve kimyasal özelliğe sahip olması nedeniyle, herhangi bir işlevsel özelliği belirli moleküler özelliklerle ilişkilendirmek zordur. Model protein sistemlerinde bazı deneysel bağlantılar kurulmuş olsa da, bu sistemlerdeki davranışlar genellikle gerçek gıda ürünlerindeki davranışlarla örtüşmez. Bu farkın bir nedeni, gıdaların işlenmesi sırasında proteinlerin denatürasyona uğramasıdır. Denatürasyon derecesi, pH, sıcaklık, işleme koşulları ve ürün özelliklerine bağlıdır (Damodaran ve Parkin, 2017).

Proteinlerin bazı yaygın işlevsel özellikleri arasında çözünürlük, jelleşme, emülsifikasyon, köpük oluşumu, su ve yağ bağlama, viskozite, film oluşumu ve diğerleri yer almaktadır (Çizelge 2.1). Tüm bu işlevsellikler, proteinlerin doğal, orta veya denatüre hallerindeki moleküler özellikleri (yüzey yükü, yüzey hidrofobikliği, moleküler ağırlık, izoelektrik nokta, ikincil yapılar ve tersiyer yapılar) tarafından yönetilmektedir (Foegeding ve Davis, 2011; Kinsella ve Melachouris, 1976).

Çizelge 2.1. Gıda uygulamalarında proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin temel kategorileri (Akharume vd., 2021)

Genel Özellik	Spesifik fonksiyonel terim
Organoleptik / kinestetik	Renk, tat, koku, tekstür, ağızda bıraktığı his, pürüzsüzlük, kumluluk, bulanıklık vb.
Hidrasyon	Çözünürlük, dağılabilirlik, ıslanabilirlik, su absorblama, şişme, kalınlaşma, jelleşme, su tutma kapasitesi, sinerez, viskozite, hamur oluşumu vb.
Yüzey	Emülsiyon, köpürme, havalandırma, çırpma, protein/lipid film oluşumu, lipit bağlama, aroma bağlama, stabilizasyon vb.
Yapısal / tekstürel / reolojik	Esneklik, kumluluk, yapışma, çiğnenebilirlik, viskozite, yapışma, ağ çapraz bağlanması, toplanma, yapışkanlık, jelleşme, hamur oluşumu, tekstür oluşumu, lif oluşumu, ekstrüde edilebilirlik, elastikiyet vb.
Diğer	Katkı maddeleri ile uyumluluk, enzimatik, inertlik, modifikasyon özellikleri

2.1.2.1. Çözünürlük

Proteinin çözünürlüğü, proteinin sulu bir çözücü içinde çözünebilme yeteneğini ifade etmektedir. Katlanmış proteinlerin doğal durumunda, polar olmayan ve hidrofobik gruplar proteinlerin çekirdeğine gömülüdür ve hidrofilik kalıntılar yüzeye doğru yönelme eğilimindedir. Çözeltide, proteinin hidrofilik grupları ile çözücü arasındaki etkileşim, proteinin çözünürlüğü için kritik öneme sahiptir. Proteinlerin çözünürlüğü, protein ve çözücü arasındaki iyonik etkileşim baskın olduğunda artmaktadır. Protein molekülleri arasındaki elektrostatik itme çok zayıfladığında, protein molekülleri birleşme ve çökme eğilimi göstererek çözünmezliğe neden olmaktadır. Osborne sınıflandırması proteinleri su, asit/alkali çözeltileri, tuz ve alkoldeki çözünürlüklerine göre dört ana fraksiyona ayırmaktadır. Proteinler genellikle asit, alkalın veya çözücü (tuzlu veya tuzsuz) kullanılarak pH'ları izoelektrik noktalarından uzağa ayarlanarak çözünür hale getirilmektedir. Protein moleküllerinin net yükünün sıfır olduğu izoelektrik noktasında, proteinlerin çözünürlüğü minimumdur. Proteinlerin net pozitif veya negatif yük taşıdığı çözücü koşulları altında, proteinlerin yüzeyindeki yüklü amino asit kalıntıları çözücüdeki iyonik gruplarla etkileşime girerek proteinlerin dağılmasını ve çözünmesini kolaylaştırmaktadır. (Day, 2013; Matthews, 2001).

2.1.2.2. Su bağlama ve tutma kapasitesi

Proteinlerin su bağlama kapasitesi, kuru protein tozunun %90–95 bağıl nemde su buharı ile dengeye ulaştığında gram protein başına bağlanan su miktarı olarak tanımlanmaktadır. Bir proteinin su bağlama kapasitesi kısmen amino asit bileşimine bağlıdır. Yüklü gruplara sahip amino asit kalıntı sayısı ne kadar fazlaysa, su bağlama kapasitesi de o kadar yüksektir. İyonik güç, pH, sıcaklık, tuz türleri ve protein konformasyonu gibi birçok çevresel faktör proteinlerin su bağlama kapasitesini etkilemektedir. Proteinler, izoelektrik noktadaki pH'larında en az hidratasyona sahiptir, çünkü bu pH'da artan protein-protein etkileşimleri, suyla etkileşimin en aza inmesine yol açmaktadır. İsoelektrik noktadaki pH'nın üzerinde ve altında, net yük ve itici kuvvetlerin artması nedeniyle, proteinler şişerek daha fazla su bağlamaktadır. Çoğu proteinin su bağlama kapasitesi, pH 9-10 arasında herhangi bir pH'dan daha yüksektir. Bu durum, sülfidril ve tirozin kalıntılarının iyonizasyonundan kaynaklanmaktadır. pH 10'un üzerinde, lizin kalıntılarının pozitif yük taşıyan ϵ -amino gruplarının kaybı, su bağlamada azalmaya yol açmaktadır.

Gıda uygulamalarında, bir proteinin su tutma kapasitesi, su bağlama kapasitesinden daha önemlidir. Su tutma kapasitesi, proteinin suyu emerek bir protein matrisinde yerçekimine karşı tutma yeteneğidir. Buradaki su, bağlı su, hidrodinamik su ve fiziksel olarak hapsolmuş (kapiler) suyun toplamını ifade etmektedir. Ancak yapılan çalışmalar, proteinlerin su tutma kapasitesi ile su bağlama kapasitesi arasında pozitif bir şekilde korelasyon olduğunu göstermektedir (Damodaran ve Parkin, 2017).

2.1.2.3. Arayüzey özellikleri

Proteinler amfifilik moleküllerdir ve hava-su arayüzüne veya yağ-su arayüzüne kendiliğinden göç ederler. Proteinlerin sıvı fazdan arayüze kendiliğinden göç etmesi, proteinlerin serbest enerjisinin arayüzde, sıvı faza göre daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, denge kurulduğunda, proteinlerin arayüz bölgesindeki konsantrasyonu her zaman sıvı fazdaki konsantrasyondan çok daha yüksek olmaktadır. Küçük moleküllü yüzey aktif maddelerden farklı olarak, proteinler, arayüzde yüksek viskoelastik özelliklere sahip bir film oluşturur ve bu film, depolama ve taşıma sırasında mekanik darbelere dayanma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, proteinle stabilize edilmiş köpükler ve emülsiyonlar, küçük

moleküllü yüzey aktif maddelerle hazırlananlara göre daha stabildir ve bu amaçlar için yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Damodaran ve Parkin, 2017).

Arzu edilen yüzey aktif proteinlerin, bir arayüze hızla adsorbe olabilme, arayüzde hızla açılabilme ve yeniden yönlenebilme yeteneği gibi özelliklere sahip olduğu ve bir kez arayüzde bulunduklarında, komşu moleküllerle etkileşime girerek, termal ve mekanik hareketlere dayanabilen güçlü bir kohezif, viskoelastik film oluşturabildikleri tespit edilmiştir (Petersson vd., 2013, Shelp vd., 2012).

Proteinlerin yüzey aktivitesini en çok etkileyen moleküler özellik, moleküler esneklikleridir. Bu durum, bir proteinin bir ortamdan diğerine, örneğin sıvı fazdan bir arayüze geçerken hızlı bir yapısal değişim gösterebilme kabiliyetiyle ilgilidir. Bir protein filminin arayüzdeki mekanik dayanımı, moleküller arası kohezyon etkileşimlerine bağlıdır. Bu etkileşimler, çekici elektrostatik kuvvetler, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimleri içerir. Adsorbe olmuş proteinlerin disülfid-sülfidril değişim reaksiyonlarıyla arayüzde polimerleşmesi, filmin viskoelastik özelliklerini güçlendirmektedir. Arayüzdeki protein konsantrasyonu genellikle %20–25 (ağırlık/hacim) civarındadır ve proteinler neredeyse jel benzeri bir durumda bulunmaktadır. Bu jel benzeri filmin kararlılığı ve viskoelastik özellikleri, çeşitli kovalent olmayan etkileşimlerin dengeli bir şekilde gerçekleşmesine bağlıdır. Örneğin, hidrofobik etkileşimler çok güçlü olursa, bu durum arayüzde agregasyona, koagülasyona ve protein çökmesine yol açarak filmin bütünlüğüne zarar verebilmektedir. Benzer şekilde, itici elektrostatik kuvvetler çekici etkileşimlerden çok daha güçlü olursa, yoğun ve kohezif bir film oluşumu engellenebilmektedir. Bu nedenle, kararlı ve viskoelastik bir film oluşturmak için çekici, itici ve hidrasyon etkileşimlerinin uygun bir dengede olması gereklidir.

Emülsiyonlar ve köpüklerin oluşumu ile stabilitesine ilişkin temel ilkeler büyük oranda benzerdir. Ancak, bu arayüzlerin enerjileri farklı olduğu için, her bir arayüzde proteinlerin işlevsel olabilmesi için gereken moleküler özellikler birbirinden farklıdır. Başka bir şekilde ifade etmek gerekirse, iyi bir emülgatör olan bir protein, aynı derecede etkili bir köpük oluşturamayabilir (Damodaran ve Parkin, 2017).

2.1.2.4. Emülsiyon oluşturma

Gıda emülsiyonları, iki veya daha fazla karışmayan sıvıdan birinin diğer sıvı içinde mikro büyüklükte damlacıklar olarak dağıldığı dispersiyonlardan oluşmaktadır. Örneğin, mayonez, krema veya çorba gibi yağ-su emülsiyonlarında genellikle yağ dağılmış faz iken, su sıvı fazdır. Margarin ise su-yağ emülsiyonlarına bir örnektir; burada su dağılmış faz olup yağ ise sıvı fazdır (McClements, 2007). Proteinlerin amfifilik doğası ve film oluşturma yetenekleri, proteinlerin arayüzde adsorbe olması, arayüz gerilmesini düşürmesi ve yağ-su ya da su-yağ arayüzlerinde emülsiyonlar oluşturmaları, emülgatör olarak işlev görmesini sağlar. Bir kez arayüze adsorbe olduktan sonra, proteinler açılır ve hidrofobik gruplarını yağ fazına, hidrofilik gruplarını ise su fazına yönlendirerek kendilerini konumlandırır. Dağılan ve sıvı faz arasındaki arayüz gerilmesi düşer ve protein filmleri dağılmış damlacıkların etrafında oluşarak emülsiyon oluşumunu kolaylaştırır (Lam ve Nickerson, 2013).

Proteinlerin fiziko-kimyasal özellikleri, emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilite için kritik öneme sahiptir. Proteinlerin su fazındaki çözünürlüğü, emülsiyon süreci için çok önemlidir; çünkü çözünebilir proteinler adsorbe olamaz ve yağ-su arayüzünde viskoelastik bir film oluşturmazlar. Yüksek çözünürlük, genellikle proteinlerin yağ-su arayüzüne daha hızlı dağılabilmesi için istenen bir özelliktir (Nawaz vd., 2021). Daha az çözünebilir veya yüksek hidrofobik özellik gösteren proteinler, emülsiyonlarda kararsızlığa neden olarak çökme yapabilmektedir. Diğer yandan, hidrofobik etkileşimler, proteinlerin yağ-su arayüzünde tutunması ve adsorbe olmaları için de önemlidir, burada daha yüksek entegrasyon genellikle daha yüksek emülsiyon kapasitesi ile sonuçlanmaktadır. Adsorpsiyon gerçekleştiğinde, yağ damlacıkları etrafında stabil protein filmlerinin oluşumu ve emülsiyon stabilitesi, damlacıklar arasındaki elektrostatik ve sterik itmelere bağlıdır. Bu damlacıklar negatif ya da pozitif yüklü olabilmektedir. Bu nedenle, pH değerinin proteinlerin izoelektrik noktalarına yakın olduğu durumlarda, damlacıkların flokülasyonu, koalesansı veya agregasyonu meydana gelerek emülsiyonlarda kararsızlığa yol açabilmektedir (Lam ve Nickerson, 2013; Damodoran, 2005).

2.1.2.5. Köpük oluşturma

Köpükler, havanın bir sulu faz içinde dağılmış olduğu kolloidal sistemlerdir. Proteinler, hidrofilik ve hidrofobik kısımlardan oluşan yüzey aktif moleküllerdir. Aerasyon gerçekleştiğinde (örneğin çırpma veya hava püskürtme), proteinler gaz/sıvı arayüzeyinde açılır ve kutupsal hareketlilik ile yeniden yönlenir. Hidrofilik gruplar sulu faza, hidrofobik gruplar ise gaz fazına doğru yönelir, çünkü proteinler, polar ve nonpolar amino asit kalıntılarının varlığı nedeniyle amfifilik özelliklere sahiptir; bu da arayüzeydeki yüzey gerilmesinin azalmasına yol açmaktadır. Proteinler, polipeptitlerin elektrostatik, hidrofobik ve hidrojen bağları yoluyla etkileşimi ve bir araya gelmesi sonucu hava kabarcıklarının etrafında koruyucu bir film oluşturarak köpük oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Murray, 2007; Alleoni, 2006).

Proteinlerin gıda köpüklerinin oluşumu ve stabilizasyonundaki rolü genellikle köpük kapasitesi (KK) ve köpük stabilitesi (KS) ile değerlendirilmektedir. KK, çözeltiye hava dahil etme yeteneğini ifade eder ve genellikle köpük hacmindeki artışın ölçülmesiyle belirlenir. KS ise köpüğün istenen görünümünü koruma stabilitesini tanımlar ve zamanla azalan köpük hacmi ölçülerek değerlendirilir (Gharbi ve Labbafi, 2019). KK ve KS değerleri, temelde proteinlerin hızla adsorbe olabilme, hava/sıvı arayüzünde konformasyonel değişime, yeniden yapılanma yeteneklerine ve intermoleküler etkileşimler yoluyla kohezif viskoelastik bir film oluşturma kapasitesine bağlıdır. Kısacası, daha hızlı adsorpsiyon, proteinlerin hızla açılması, düşük yüzey gerilmesi ve yüksek yüzey esnekliğine sahip ağ yapılarının oluşumu, kararlı köpüklerin oluşumunu destekleyen en yaygın özelliklerdir (Wierenga ve Gruppen, 2010).

2.1.2.6. Jelleşme

Protein jelleşmesi, proteinlerin sol durumdan jel benzeri bir yapıya dönüşmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu, proteinlerin önemli bir işlevsel özelliğidir çünkü birçok gıda sistemine, özellikle elastik gıda yapıları için istenen kalınlaşma ve jel oluşturma, su tutma, stabilizasyon ve sineresis etkileri gibi belirli özellikler kazandırmaktadır. Proteinlerin jelasyon süreci, proteinlerin açılması, ayrışması, birleşmesi ve agregasyonu sonucunda üç boyutlu çapraz bağlı bir protein ağı oluşturmaktadır. Gıda proteinlerinde jelasyon süreci ısı,

basınç, iyon, asit ve enzimle indüklenen yöntemler ile gerçekleştirilebilmektedir (Totosaus vd., 2002).

Isı ile jelasyonda, doğal proteinler ısı ile kısmi olarak açılır ve ardından moleküllerin sıralı bir protein jel ağına agregasyonu gerçekleşmektedir. Yüksek basınç, proteinlerin ikincil, tersiyer ve kuaterner yapılarında konformasyonel değişikliklere yol açarak denatürasyona, agregasyona ve jelasyona neden olmaktadır (Speroni vd., 2010). Protein işlevselliğini değerlendirirken her zaman dikkate alınması gereken iki faktör elektrostatik koşullar (pH ve tuz konsantrasyonu) ve protein konsantrasyonudur (Foegeding ve Davis, 2011). Kalsiyum ve sodyum gibi iyonların protein sistemlerine eklenmesi, sistemdeki elektrostatik yükleri gölgeleyerek moleküller arasındaki itici kuvvetleri azaltır ve proteinlerin birleşmesini ve jelasyonunu indüklemektedir. Benzer şekilde, pH değerinin izoelektrik noktaya yakın bir değere düşürülmesi, proteinlerin yük yoğunluğunu azaltır ve protein agregasyonunu ve jelasyonunu tetiklemektedir. Enzimle indüklenen jelasyonda, enzimatik hidroliz, daha küçük proteinler veya peptit fragmentleri içeren protein hidrolizatları üretmektedir. Bu, açılmış proteinlerin hidrofobik bölgelerinin erişilebilirliğini artırarak hidrofobik etkileşimler yoluyla agregasyonu teşvik eder ve jel ağları oluşturmaktadır (Wouters vd., 2016).

2.1.2.7. Viskozite

Birçok protein suyu emer ve genellikle şişer, bu da hidrodinamik özelliklerde değişikliklere yol açar. Bu değişiklikler, protein dispersiyonlarının yoğunlaşması ve viskozitesinin artışı olarak kendini gösterir. Protein dispersiyonlarının akış özellikleri ve viskozitesine dair bilgi, işleme ve proses tasarımı (pompalama, besleme hızı, püskürtmeli kurutma, ısı değişimi), yeni ürün geliştirme, kalite kontrol testlerinin tasarımı, ürünlerin ağız hissi ve fiziksel görünümü konuları açısından pratik öneme sahiptir. Bu bilgiler, proteinlerin fizikokimyasal etkileşimlerine dair bilgi sağlayabilir. Akış özellikleri, protein moleküllerinin boyutu, şekli, yükü, çözünürlüğü ve şişme kapasitesi gibi faktörlere bağlıdır. Bu özellikler, çevresel koşullar (sıcaklık, konsantrasyon, pH, iyonik kuvvet) ile değişebilir. Ayrıca viskozite, proteinlerdeki yapısal değişimlerin ve modifiye edilmiş gıda proteinlerinin hidrodinamik/reolojik özelliklerinin bir göstergesi olabilir (Kinsella ve Melachouris, 1976).

Soslar, çorbalar, içecekler gibi birçok sıvı veya yarı katı türde gıdanın tüketici tarafından kabul edilebilirliği, ürünün viskozite veya kıvam özelliklerine bağlıdır. Bir çözeltinin viskozitesi, uygulanan bir kuvvet veya kayma gerilimi altındaki akışa karşı gösterdiği direnç ile ilgilidir. İdeal bir çözeltide, kayma gerilimi (yani, birim alana uygulanan kuvvet, F/A), kayma hızı ile doğru orantılıdır. Bu tür akışkanlar 'Newtonyen akışkanlar' olarak adlandırılır. Çözeltilerin akış özellikleri, çözücünün türüne göre önemli ölçüde değişmektedir. Yüksek moleküler ağırlığa sahip çözünür polimerler, çok düşük konsantrasyonlarda dahi viskoziteyi önemli derecede artırmaktadır. Bu durum, boyut, şekil, esneklik ve hidrasyon gibi birkaç moleküler özelliğe bağlıdır. Rastgele kıvrılmış makromoleküllerin çözeltileri, aynı moleküler ağırlığa sahip kompakt katlanmış makromoleküllerin çözeltilerine göre daha yüksek viskozite göstermektedir. Protein çözeltileri de dahil olmak üzere çoğu makromoleküler çözeltinin, özellikle yüksek konsantrasyonlarda Newtonyen davranış sergilemediği gözlemlenmektedir. Bu sistemlerde, kayma hızı arttıkça viskozite katsayısı azalmaktadır. Bu davranış "psödoplastik" veya "kayma incilmesi" olarak bilinmektedir.

Protein çözeltilerinin psödoplastik davranışı, protein moleküllerinin ana eksenlerini akış yönüne doğru hizalama eğiliminden kaynaklanmaktadır. Zayıf bağlarla tutulan dimerlerin ve oligomerlerin monomerlerine ayrılması da kayma incelmeye katkı sağlamaktadır. Kayma veya akış durduğunda, viskozite, protein moleküllerinin rastgele yönelimlerine geri dönme hızına bağlı olarak başlangıçtaki değere dönebilir ya da dönmeyebilir. Jelatin veya aktomyozin gibi lifli protein çözeltileri genellikle yönlendirilmiş şekilde kaldığından orijinal viskozitelerini hızlı bir şekilde geri kazanamazlar. Diğer taraftan soya proteinleri ve peynir altı suyu proteinleri gibi globüler protein çözeltileri akış durduğunda hızla viskozitelerini geri kazanmaktadır. Bu tür çözeltiler "tikotropik" olarak adlandırılır. Yüksek protein konsantrasyonlarında veya protein jellerinde, protein-protein etkileşimleri sayıca fazla ve güçlü olduğundan proteinler plastik viskoelastik davranış sergilemektedir. Bu durumlarda, akışı başlatmak için belirli bir miktar kuvvet, yani "akma gerilmesi" gereklidir. Proteinlerin viskozite davranışı, büyüklük, şekil, protein-çözücü etkileşimleri, hidrodinamik hacim ve moleküler esneklik gibi birkaç değişken arasındaki karmaşık etkileşimlerin bir yansımasıdır (Rao vd., 1986; Damodaran ve Parkin, 2017).

2.2. Bitkisel Proteinler

Bitkisel protein talebi dünya çapında hızla artmakta ve gıda endüstrisinin büyüyen alanlarından biri olmaya devam etmektedir. Bitkisel protein tüketimindeki artış, küresel nüfusun büyümesi, protein kaynaklarının sürdürülebilirliği ve çevresel etkisi, sağlık ve yaşam kalitesi konuları ile değişen sosyo-demografik faktörler gibi bir dizi faktörden kaynaklanmaktadır (Aydar vd., 2020). Bitkisel proteinin kullanımı, pek çok geleneksel mutfakta uzun bir geçmişe sahip olmasına rağmen, bu tür ürünlerin pazarı hala gelişmekte ve hızla değişmektedir. Gün geçtikçe tüketici tercihleri ve alışkanlıkları değişmektedir ve bitki bazlı protein alımlarında yapılan tercihler artık yalnızca maliyet ve tat ile sınırlı değildir. Bazı tüketiciler kişisel sağlık ve diyet konularına daha fazla önem verirken, diğerleri ise gıda kaynaklarının sürdürülebilirliği, çeşitliliği veya yeniliği konularına daha fazla odaklanmaktadır (McClements vd., 2019).

Bitki bazlı bir gıda ürünü, tahıllar, baklagiller, kuruyemişler, tohumlar, meyve ve sebzeler gibi bitkisel kaynaklar kullanılarak formüle edilen ve et veya süt ürünleri gibi hayvansal içerik barındırmayan bir üründür. Bu bitki bazlı alternatiflerin yeni ürün geliştirmede kullanımı giderek artmakta ve market raflarında önemli ölçüde bitki bazlı gıda ve içecek ürünleri yer almaktadır (Vanga ve Raghavan, 2018). Ancak, bitkisel protein kaynaklarından üretilen bazı ürünlerin besleyici değer, duyu kalite ve fonksiyonel özellikler bakımından et ve süt bazlı eşdeğerlerine kıyasla genellikle daha düşük olduğu belirtilmektedir (İsmail vd., 2020). Bitkisel proteinlerin yetersiz temel amino asit bileşimi, insan sağlığının besin ihtiyaçlarını tam anlamıyla karşılamak için önemli bir eksiklik olarak görülmektedir. Ayrıca, bitki bazlı alternatiflerde bulunan alerjenler ve besin emilimini engelleyici bileşenler, diğer besinlerin biyoyararlanımını sınırlayabilir ve hatta sağlığı olumsuz etkileyebilmektedir (Pilolli vd., 2020). Bitkisel proteinlerdeki fasulyemsi/otumsu istenmeyen tatlar da bu proteinlerin yaygın gıda uygulamalarında kullanılmasını sınırlamış ve hayvansal kaynaklı proteinlere kıyasla tüketiciler tarafından genellikle daha az kabul görmesine neden olmuştur (Aydar vd., 2020).

Bitkisel proteinlerin gıdalarda fonksiyonel bileşenler olarak kullanımı, tüketicilerin “temiz etiket” talebi nedeniyle giderek artmaktadır (Zhu vd., 2018). Bitkisel proteinler, hayvansal proteinlere kıyasla daha çevre dostu ve yenilenebilir alternatifler olarak kabul

edilmektedir. Hayvancılık ile karşılaştırıldığında, üretimleri daha az arazi kullanımını gerektirir, sera gazı emisyonlarını önemli ölçüde azaltarak ormansızlaşma ve iklim değişikliği etkilerini en aza indirir (Poore ve Nemecek, 2018). Bu proteinlerin, tarımsal faaliyetlerden kaynaklanan bitkisel atıklar ve tarla ürünleri ile yağ endüstrisinin yan ürünleri gibi sürdürülebilir ve ucuz kaynaklardan izole edilmesi mümkündür. Böylece gıda israfının azalacağı öngörülmektedir (Pojić vd., 2018). Bu doğrultuda, son çalışmalar mercimek, bezelye, yulaf, kinoa, yağlı tohumlar (kolza, pamuk, fındık, ceviz, badem, yer fıstığı, susam, kanola vb.), çeşitli baklagiller ve/veya bu kaynakların atık ve yan ürünlerinden protein ekstraksiyonuna odaklanmıştır (Kim vd., 2016; Tırgar vd., 2017; Xiong vd., 2018; Zhu vd., 2018).

Fındık kuruyemişler arasında besleyiciliği ve zengin içeriğiyle dikkat çeker. Proteinler, lifler, doymamış yağ asitleri, steroller ve fitokimyasallar gibi değerli besinlerin yanı sıra tokoferoller, polifenoller, potasyum, kalsiyum, magnezyum, selenyum gibi temel mineraller ve B-kompleks vitaminler gibi mikro besinleri de içerir. Genellikle %62 yağ, %16 protein ve %11 karbonhidrattan oluşur. Ancak, bileşimi toprak, iklim, tarımsal müdahaleler gibi diğer yetiştirme faktörleri ve çeşide bağlı olarak önemli ölçüde farklılık gösterebilir (Sarıcaoğlu vd., 2018). Fındık içeri, %11–14 oranında diyet lifi içerir ve bu oran birçok diğer kuruyemiş, meyve, sebze ve tahıldan daha yüksektir. Bunun yanı sıra, fındık içinin çözünmeyen diyet lifi, selüloz, pektik polisakkaritler ve ksilandan oluşurken; çözünür diyet lifi heteroglikan, pektik polisakkaritler ve ksilandan oluşur. Bu durum, fındık içini elma, narenciye kabuğu, kinoa ve soya gibi diğer kaynaklardan farklı kılar (Zhao vd., 2023).

2.3. Bitkisel Proteinlerin Çeşitli İşleme Teknikleriyle Modifikasyonu

Bitkilerden elde edilenler de dahil olmak üzere çeşitli gıda proteinlerinin modifikasyonu için genel bir model önermek zordur. Proteinler, karmaşık biyomoleküllerdir ve modifikasyonları için tek bir “herkese uyan” yaklaşım uygulanamaz. İstenen işlevselliğe bağlı olarak, protein bileşeninin doğasını (izole edilip edilmediği veya diğer polimerlerle bağlı olup olmadığı) ve yapısal özelliklerini bilmek, ayrıca hedeflenen işlevsel özelliğin modifikasyonunu sağlamak için gereken mekanizmayı bilmek önemlidir (Phillips, 2013). Bu nedenle, yapısal özellikleri ve gerekli mekanizmayı göz önünde bulundurarak işlevsel özelliği ele almak için özel olarak tasarlanmış bir yaklaşım geliştirmek daha kolay hale gelir.

Örneğin, protein bileşenlerinin çözünürlüğünü artırmak için molekül boyutunun küçültülmesi, elektrostatik itmenin artırılması ve daha hidrofilik bir polimerle konjugasyon yoluyla hidrofilikliğin artırılması, protein izoelektrik noktası ve net yükünün ayarlanması gibi mekanizmalar gerekebilir (Damodaran, 2008; De Oliveira vd., 2016). Kısaca, protein moleküllerinde bu tür değişikliklere neden olabilecek herhangi bir yaklaşım (pH değişimi, homojenizasyon, ultrasonikasyon, proteoliz, hidroliz, konjugasyon, açılasyon ve esterifikasyon vb.) çözünürlüğün artmasına yol açabilir. Benzer şekilde, bir proteinin emülsifiye etme ve köpük oluşturma aktivitelerini artırmak, çözünürlüğüne ek olarak hidrofilik-hidrofobik özellikleri arasında bir denge sağlayan mekanizmaları gerektirebilir (Aachary vd., 2014; Damodaran, 2008).

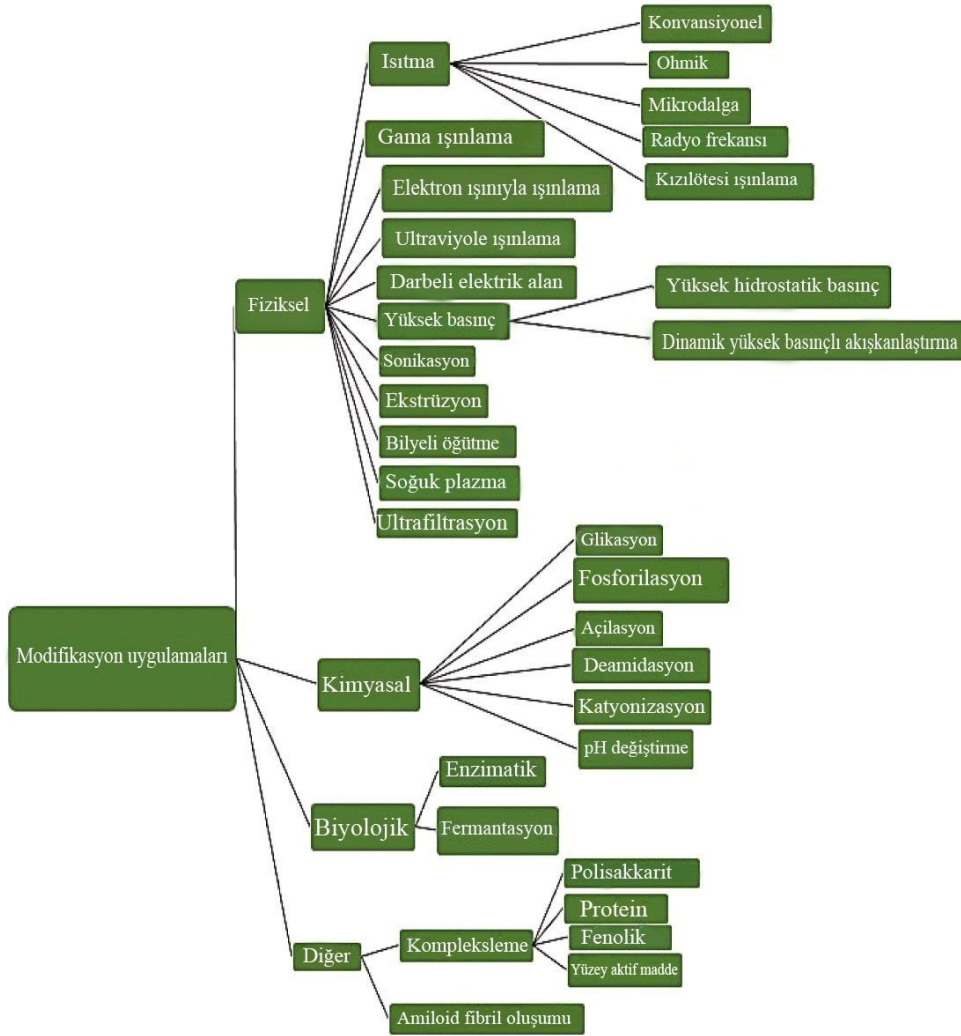
Genel olarak, protein modifikasyon yöntemleri fiziksel, kimyasal, biyolojik ve diğer yenilikçi yöntemler olarak sınıflandırılabilir ve bu yöntemlerin şematik bir gösterimi Şekil 2.7’de sunulmuştur.

2.3.1. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için fiziksel teknikler

Protein yapılarını değiştirmek amacıyla bir gıda matrisi içerisinde ya da izole halde proteinlere belirli kuvvet alanlarının uygulanmasını içeren yaklaşımlar fiziksel yöntemler olarak sınıflandırılabilir. Genel olarak, bu teknikler protein boyutunun küçülmesi ve yeniden dağılımı, açılma, yeniden bir araya gelme ya da protein konformasyonunun kalıcı olarak denatüre olmasıyla sonuçlanır (Akharume vd., 2021).

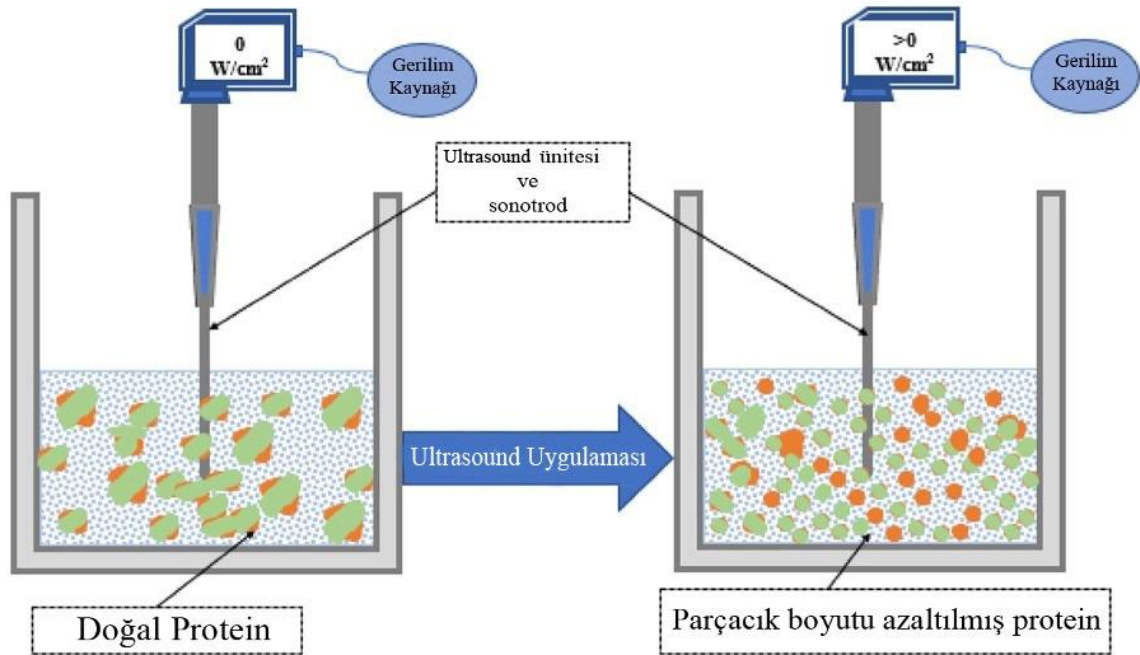
Isıl işlem, protein içeren gıdaların modifiye edilmesinde yaygın olarak kullanılan bir işleme tekniğidir (Sharif vd., 2018). Isı enerjisi, pişirme, kavurma, kurutma ve yüksek sıcaklıkta ekstrüzyon gibi süreçlerde önemli derecede rol oynar. Kısaca, ısıl işlem, protein denatürasyonu sıcaklığının üzerinde uygulandığında, peptit zincirlerinin termal hareketliliğine yol açar ve bu durum hidrofobik etkileşimlerin yanı sıra elektrostatik, hidrojen ve disülfid bağlarının kopmasına neden olabilir. Bu süreç, başlangıçta geri dönüşümlü bir açılma ile başlasa da, özellikle daha yüksek sıcaklıklarda açılma kalıcı hale gelir. Bu kalıcı denatürasyon, protein moleküllerinin ikincil ve üçüncül yapılarının kaybıyla birlikte gerçekleşir (Davis ve Williams, 1998; Sun-Waterhouse vd., 2014). Genellikle bu durumda, proteinin hidrofobik çekirdeği açığa çıkar ve hidrofobik etkileşimlerle, hidrojen

ve disülfid/sülfhidril bağlanması yoluyla yeni bir güçlendirilmiş çapraz bağlanma meydana gelir (Zink vd., 2016). Bu nedenle, kontrollü ısı uygulaması, gıda protein bileşenlerinin yapısını değiştirmek ve buna bağlı olarak bazı fonksiyonel özellikleri iyileştirmek için kullanılır (Davis ve Williams, 1998; Peng vd., 2016; Sun-Waterhouse vd., 2014). Bu fonksiyonel özellikler, ısıtma sıcaklığı, ısıtma hızı, iyonik konsantrasyon ve protein çözeltisinin pH'sının dikkatlice ayarlanmasına bağlıdır (Zink vd., 2016). Belirli bitki proteinlerinin ısıl işlem görmesiyle, protein jelleşmesinin (Sun ve Arntfield, 2011b), emülsifikasyon özelliklerinin (Peng vd., 2016) iyileştirilebileceği rapor edilmiştir. Ancak bu işlem, protein çözünürlüğünü geliştirmemiştir (Davis vd., 2001; Sun-Waterhouse vd., 2014).



Şekil 2.7. Bitki bazlı protein modifikasyon yaklaşımları şeması (Nikbakht Nasrabadi vd., 2021)

Ultrasonik dalgaların gıda materyallerine uygulanması, 1950'lerde özellikle gıdaların yumuşatılması amacıyla ortaya çıkmıştır (Simjian, 1959). Ultrasound teknolojisi insan kulağı tarafından algılanamayan (>16 kHz) yüksek frekanslı ses dalgalarına dayanan çevre dostu, yenilikçi ve sürdürülebilir bir tekniktir. Bu süreç, geleneksel termal işlemlere kıyasla daha yüksek verimlilik, daha yüksek işlem hızı, daha kolay ve ucuz uygulama, daha düşük ekipman kontaminasyonu ile işlenen gıdaların daha yüksek kalite ve fonksiyonelliği gibi çeşitli avantajlara sahiptir (Gharibzadeh ve Smith, 2020). Bu teknoloji (Şekil 2.8) yayılan bir akustik dalga olup, bu dalga ortamın uzunlamasına kaymasına yol açarak ortamın sıkışmasına ve seyrilmesine neden olur (O'Sullivan vd., 2017). Ultrasound, proteinlerin fiziksel ve kimyasal modifikasyonu için kullanılan düşük frekanslı ultrasound (16 ila 100 kHz, güç 10 ila 1.000 W/cm²), ile gıdaların fizikokimyasal özelliklerini değerlendirmek için kullanılan yüksek frekanslı ultrasound (100 kHz ile 1 MHz, güç <1 W/cm²) olmak üzere iki kategoriye ayrılır (Jiang vd., 2014; O'Sullivan vd., 2017).



Şekil 2.8. Ultrasound işleminden önce (solda) ve sonra (sağda) çözeltideki proteini gösteren ultrasound sisteminin bir şeması (Akharume vd., 2021)

Ultrasound uygulaması, çözeltideki protein moleküllerinin lokalize hidrodinamik kesilmesi ve ısıtılması sonucu yapısının değiştirilmesi yoluyla protein işlevselliğini büyük ölçüde değiştirir. Hidrodinamik kesilme, ultrasound sonotrodunun ürettiği ultrasonik

kavitasyonun bir sonucudur. Ultrasonik kavitasyon, kısa bir süre boyunca dalga yayılımındaki lokalize basınç farkları tarafından üretilen gaz kabarcıklarının hızlı birikmesi ve çökmesi ile karakterize edilir (O’Sullivan vd., 2017).

Yüksek statik basınç tekniği, bazı bitki proteinlerinin fonksiyonel özelliklerini değiştirmek için yaygın olarak kullanılan bir yöntem olup, genellikle 200 ila 700 MPa arasında uygulanmaktadır (Farkas, 2016; Messens vd., 1997). Protein işlevselliğini, özellikle de jelleşme davranışını etkileyen yapısal değişiklikler, uygulanan basınç seviyesi ve süresiyle birlikte işlem sırasında sıcaklık, pH ve iyonik güç gibi protein çözeltisinin özellikleri tarafından tetiklenir. Yüksek basınç işlemi, çözeltideki protein moleküllerinin yapısını değiştirerek yırtılma, denatürasyon ve bir araya toplanma gibi etkiler oluşturur. Bu işlem, protein moleküllerinde hacim değişikliği yaratma prensibine dayanır. Bu prensip, basıncı hacimle ters bir ilişkiyle ilişkilendiren Le Chateliers ilkesine dayanmaktadır. Hacimdeki azalma artan basınçla desteklenir ve bunun tersi de geçerlidir (Messens vd., 1997). Çözelti içindeki proteinin hacmi, atomlarının hacmini, kusurlu katlanmadan kaynaklanan boşluk hacmini ve çözeltideki çözücülerle etkileşim sonucunda meydana gelen hacim değişikliğini kapsar (Yang ve Powers, 2016). Böylece, yüksek basınç uygulaması, protein boşluklarının sıkışmasına, kovalent olmayan etkileşimlerin (molekül içi hidrofobik ve elektrostatik etkileşimler) kopmasına ve yeni kovalent olmayan/yarı kovalent bağların oluşmasına neden olur (Messens vd., 1997; Yang ve Powers, 2016).

Ekstrüzyon, karışmış bileşenlerin yüksek basınç (1,5–30,0 MPa) ve yüksek sıcaklık (90–200°C) altında, büyük bir döner vida tarafından sürekli karıştırma ve yüksek mekanik gerilimlere maruz bırakıldığı; mekanik kesme, ısı ve basıncı bir araya getiren termo-mekanik bir işlemdir (Sedaghat Doost vd., 2019). Protein uygulamalarında, ekstrüzyon pişirme özellikle soya protein izolatı (SPI), buğday gluteni ve bezelye protein izolatı (BPI) gibi bitki bazlı proteinlerin, et alternatifleri olarak kullanılan bitkisel proteinlere tekstüre edilmesi için uygulanır (Chiang vd., 2019). Kısa süreli ve yüksek yoğunluklu ekstrüzyon koşulları, bitkisel proteinlerin çözünürlük, tekstür, emülsiyon ve jel oluşturma gibi fonksiyonel özelliklerini etkiler. Çoğu bitkisel protein, kalıp öncesindeki alanda pişirme sıcaklığı 130–170°C arasında, %30–70 orta ila yüksek nem içeriğiyle ve 150–160 rpm vida hızıyla çift vidalı ekstrüderde işlenir (Chen vd., 2011; Chiang vd., 2019). Ekstrüzyonda, pişirme sonrası ürünün genişlemesini önlemek için soğutucu bir kalıp kullanılır. Et benzeri özelliklere sahip

dokulu bitkisel proteinler üretmek için %50 ila %80 arasında yüksek nemli ekstrüzyon tercih edilirken, %30 ve altında düşük nemli ekstrüzyonun daha sert ve daha az çözünür bir proteine neden olduğu bildirilmiştir (Chen vd., 2011). Nem içeriğinin yanı sıra, kesme kuvveti, mekanik enerji, varil sıcaklığı, vida hızı ve besleme oranı gibi farklı işlem parametrelerinin kombinasyonu, genellikle ekstrüzyonla üretilen dokulu bitkisel proteinin kalitesini etkileyebilir.

Soğuk plazma teknolojisi, özellikle sterilizasyon amacıyla kullanılan, aynı zamanda protein fonksiyonelliğini değiştirmek için doğrudan gıda yüzeylerine uygulanan, yeni gelişen termal olmayan bir teknolojidir. Soğuk plazma teknolojisi, bir gaz ortamına enerji verilerek gaz moleküler bağlarının parçalanması sonucu tamamen veya kısmen iyonize olmuş gazlardan oluşan plazma adı verilen madde durumunu oluşturur. Bu süreçte, reaktif oksijen türleri, reaktif azot türleri ve ultraviyole radyasyon gibi bir dizi aktif bileşen meydana gelir. Oluşturulan plazmanın özellikleri, kullanılan gaz türü, enerji deşarj kaynağı (elektriksel, termal, optik, elektromanyetik vb.) ve elektrot türü gibi faktörlere bağlıdır (Attri vd., 2015; Venkataratnam vd., 2019).

2.3.2. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için kimyasal teknikler

Kimyasal modifikasyonlar, proteinlerin kimyasal ajanlarla tepkimeye girerek yeni bağlar oluşturduğu veya mevcut bağları kırdığı, böylece orijinal protein yapılarını değiştirdiği süreçlerdir. Genellikle bu yaklaşım, protein yan zincirlerinin (örneğin amino, karboksil, disülfid/sülfhidril, imidazol, indol ve fenolik) kimyasal reaksiyona girme özelliklerini kullanarak proteinlerin biyofiziksel özelliklerini ve fonksiyonelliğini değiştirmeyi hedefler. Buradaki amaç, bazı amino asit kalıntılarındaki ϵ -amino grubu veya diğer amino ve hidroksil gruplarını değiştirerek protein üzerindeki net yükü değiştirmektir (Panyam ve Kilara, 1996). Kimyasal olarak modifiye edilmiş proteinlerin, doğal moleküllere kıyasla geliştirilmiş fonksiyonel özellik gösterdiği bildirilmiştir. Ancak, kimyasal modifikasyon tekniklerinin ticarileştirilmesi, toksik kimyasal yan ürünlerin üretimi, maliyet, tüketici beklentileri ve mevzuat nedeniyle sınırlıdır. Bu nedenle, kimyasal modifikasyon, özellikle de temiz etiketli ürünlere olan eğilimler göz önüne alındığında, gıda endüstrisinde daha az tercih edilen bir yöntemdir (Sun-Waterhouse vd., 2014; Zhang vd., 2019).

Glikasyon, protein moleküllerindeki lizin kalıntılarının yan zincirlerine veya N-terminal bölgesine karbonhidrat gruplarının bağlanmasını içerir. Bu reaksiyon genellikle Maillard reaksiyonu sırasında gerçekleşir ve lizin ϵ -amino grubu, argininin guanidino grubu, sistenin tiyol grubu, histidinin imidazol grubu, triptofanın indol grubu veya amino asitlerin herhangi bir N-terminal amino grubu ile indirgen şekerlerin (mono-, di- veya polisakkaritler) karbonil grubu arasında kovalent bağ oluşumunu kapsar. Bu sayede, stabil protein-polisakkarit konjugatları veya diğer glikokonjugatlar meydana gelir (Akıllıoğlu ve Gökmen, 2016). Maillard reaksiyonu, kurutma, pişirme, kavurma, mikrodalga ısıtma veya herhangi bir kuru ya da ıslak ısıtma işlemi sırasında, genellikle su aktivitesinin 0.5 ile 0.8 arasında olduğu koşullarda gerçekleşen kompleks, enzimatik olmayan bir esmerleşme sürecidir (Oliver vd., 2006a). Bu reaksiyon, üç aşamaya ayrılır: erken, ara ve son aşamalar. Erken aşama, genellikle glikozilasyon olarak adlandırılır ve bir amino grubu ile karbonil içeren bir bileşik arasında başlangıç kondensasyonunun meydana gelmesiyle oluşan Schiff bazı ve ardından ketoamin oluşturmak üzere gerçekleşen geri dönüşümsüz Amadori düzenlemesiyle karakterize edilir (Akıllıoğlu ve Gökmen, 2016; Oliver vd., 2006a). Proteinlerin biyofiziksel özelliklerinin glikozilasyon yoluyla modifikasyonu, Maillard reaksiyonunun erken aşamasındaki reaksiyon koşullarının dikkatli bir şekilde kontrol edilmesini gerektirir. Glikozilasyon ile protein modifikasyonunu etkileyen faktörler arasında reaksiyon sıcaklığı ve süresi, pH, bağıl nem, konjugatların türü ve proteine oranı, glikozilasyon derecesi gibi etkenler yer alır (Akıllıoğlu ve Gökmen, 2016; Solá vd., 2007). Maillard reaksiyonu bölüm 2.4'te ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

Açılasyon, bitki proteinlerinin fonksiyonel özelliklerini değiştirmek için yaygın olarak uygulanan kimyasal bir türevlendirme tekniğidir. Reaksiyon, bir açıl grubunun amino asit kalıntılarının amino veya hidroksil gruplarına aktarılmasını içerir. Protein açılasyonu, açılleyici maddeye ve açılleyici maddenin bağlandığı amino/hidroksil grubuna bağlı olarak farklı terminolojiyle ifade edilir (Aryee vd., 2018).

Kimyasal deamidasyon, proteinlerin yüksek sıcaklıkta güçlü veya hafif asidik/alkalik maddelerle reaksiyona girerek amonyak molekülünün kaybıyla gerçekleşen bir reaksiyonu ifade eder (Hamada ve Swanson, 1994). Genel olarak, deamidasyon, δ -(asparagin) veya γ -(glutamin) amid gruplarının amonyak salınımı ile karboksilik gruplara (α - ve γ -aspartik asitler ve glutamik asitler) dönüştürülmesini içerir (Li vd., 2010). Deamidasyon oranı

sıcaklık, pH, su aktivitesi, amino asit dizisi ve iyonik olmayan bir katalizörün varlığından etkilenir. Deamidasyon derecesi, deamidasyon reaksiyonları sırasında açığa çıkan amonyağın proteindeki toplam amide oranı ile ölçülür. Genellikle seyreltik alkali veya asit deamidasyonu tercih edilir çünkü güçlü alkali/asidik deamidasyon, protein denatürasyonu ve yüksek peptit hidrolizine yol açabilir ve daha da önemlisi ticarileştirilmesi zordur (Hamada ve Swanson, 1994).

Fosforilasyon, bitki bazlı proteinlerin besleyici biyoyararlanımını korumasına olanak tanıyan bir kimyasal modifikasyon yöntemi olarak değerlendirilir. Fosforilasyon, proteinlerin birincil dizisine fosfat gruplarının eklenmesi işlemidir ve bu, proteinlerin işlevselliğini önemli ölçüde düzenler. Protein kinaz adı verilen bir enzim, fosfat grubunun proteinlerin belirli amino asit kalıntılarına kovalent olarak bağlanmasını katalize eder. Bunun sonucunda, proteinin şekli değişerek aktivitesi ve stabilitesi modifiye edilir. Ayrıca fosforilasyon, diğer proteinlerin fosforile edilmiş bölgeler aracılığıyla bağlanmasını sağlayarak proteinler arası etkileşimleri de etkiler (Liu vd., 2020).

2.3.3. Bitki bazlı proteinlerin modifikasyonu için biyolojik/enzimatik teknikler

Proteinlerin yapısal özelliklerini değiştirmek için proteolitik ve proteolitik olmayan enzimlerin kontrollü kullanımı, enzimatik modifikasyon tekniklerini oluşturur. İstenen fonksiyonel özelliğe bağlı olarak, enzimatik modifikasyon bir protein yapısını parçalamak veya yeniden oluşturmak için uygulanabilir. Proteolitik enzimler (örneğin, pepsin, papain, tripsin), hidroliz sürecinde proteinlerin primer amino asit dizisindeki peptit bağlarını keserek fonksiyonelliği değiştirmek için kullanılır. Proteolitik olmayan enzimler (örneğin, transglutaminaz [TG]), protein çapraz bağlanması yoluyla protein yapısını yeniden oluşturmak ve tekstürel özellikleri artırmak için enzimatik modifikasyonda kullanılır (Buchert vd., 2010). Enzimler belirli bölgelerde proteini parçalar veya protein üzerinde etki eder. Örneğin tripsin, lizin ve arginin gibi bazik kalıntıları; kimotripsin fenilalanin, tirozin ve triptofan gibi aromatik kalıntıları parçalarken, mikrobiyal TG proteinin glutamin ve lizin kalıntısını çapraz bağlar (Akharume vd., 2019). Genellikle enzimatik modifikasyon, hızlı reaksiyon süresi, enzimlerin özgünlüğü ve hafif reaksiyon koşulları nedeniyle kimyasal modifikasyona göre daha çok tercih edilir (Buchert vd., 2010).

Proteinlerin enzimatik hidrolizi, proteolitik enzimler ve protein substratları arasında gerçekleşen katalitik bir reaksiyonu içerir. Bu reaksiyon, peptit bağlarının kopmasına ve substratın düşük moleküler ağırlıklı kısa zincirli peptitler ve amino asitlere ayrılmasına yol açar (Bučko vd., 2016; Eckert vd., 2019). Enzimatik hidroliz süreci, test edilen enzim ve substratın optimum pH ve sıcaklık koşullarında gerçekleştirilmelidir. Örneğin, hidroliz sırasında pH'da aşırı bir düşüş enzimi etkisiz hale getirebilir, bu durum uygun bir baz eklenerek pH'nın optimum seviyeye ayarlanmasıyla önlenabilir (Aluko, 2018). Enzimatik hidrolizi etkileyen çeşitli faktörler arasında kullanılan enzimin türü, protein substratının doğası, enzim-substrat hacim oranı, işlem koşulları (pH, sıcaklık ve basınç) ve proteolitik inhibitörlerin varlığı veya yokluğu yer alır (Ahmadifard vd., 2016). Enzimatik hidroliz sonrasında proteinlerin yapısal özellikleri değişir ve gömülü hidrofobik özellikler gibi bazı gizli yapısal detaylar ortaya çıkar (Eckert vd., 2019). Ancak, daha küçük peptitlerde aşırı hidroliz, hidrofobik kalıntıların birikmesi nedeniyle peptitlerin acılaşmasına neden olabilir (Wei vd., 2018). Bununla birlikte, hidroliz derecesinin %10'dan az olduğu sınırlı hidrolizin protein fonksiyonelliğini artırabileceği ve hidroliz derecesinin %10'dan fazla olduğu aşırı hidrolizin acılığı önleyebileceği bildirilmiştir (Eckert vd., 2019).

Enzimatik çapraz bağlanma işleminin amacı, polipeptitleri daha güçlü yapılara dönüştürerek proteinlerin dokusal özelliklerini iyileştirmektir. Gıda proteinlerinin çapraz bağlanmasını teşvik etmek için kullanılan enzimlerden bazıları oksidatif enzimlerdir. TG (EC 2.3.2.13), ticari olarak mevcut olan tek gıda sınıfı çapraz bağlama enzimidir ve gıda proteinlerinin tekstür, viskozite, emülsiyon stabilitesi, jel oluşumu, köpüklenme ve hidrofobik özelliklerini artırdığı bildirilmiştir (Djoullah vd., 2018). Sun ve Arntfield (2011a), TG'nin işlenmemiş proteinden yapılan jellerle karşılaştırıldığında, BPI'nin jel gücünü 8 kat, SPI'nin jel gücünü ise 2 kat artırdığını rapor etmiştir; jel gücünün TG seviyesi arttıkça yükseldiği de gözlemlenmiştir.

Fermantasyon, faydalı mikroorganizmaların büyüme ve metabolizmasından yararlanılarak bir gıda maddesinin faydalı ürünlere dönüştürülmesi amacıyla kontrollü bir şekilde uygulanmasıdır (Shiferaw Terefe ve Augustin, 2019). Fermantasyon, geleneksel olarak gıda ürünlerinin besin profili, duyu özellikleri, raf ömrü ve sağlık faydalarını iyileştirmek için kullanılmaktadır. Bu süreç, sağlık açısından faydalı biyoaktif bileşiklerin (izoflavonlar, vitamin B1, B2, vitamin E ve C) biyoyararlanımını ve biyolojik

erişilebilirliğini artırırken, istenmeyen anti-besin öğelerini (fitatlar, saponinler, tanenler) azaltır (Frias vd., 2005; Xing vd., 2020). Bununla birlikte, fermantasyona yönelik yenilenen ilgi, geliştirilmiş bitkisel protein bileşenlerinin ve bitki bazlı protein ürünlerinin iyileştirilmesine olanak sağlamıştır. Fermantasyon, bezelye/lupin protein izolatlarının baklagil aromasını azaltmak (El Youssef vd., 2020), vegan peynirinin (tofu) tekstürünü artırmak (Li vd., 2017), sinerezisi azaltılmış vegan yoğurt geliştirmek (Yazıcı vd., 1997) ve bitki bazlı sütlerin besin değerini artırmak gibi birçok alanda uygulanmıştır. Bitki bazlı gıda fermantasyonunda genellikle laktik asit bakterileri, maya, mantar ve basillerin farklı türleri kullanılır (Tangyu vd., 2019).

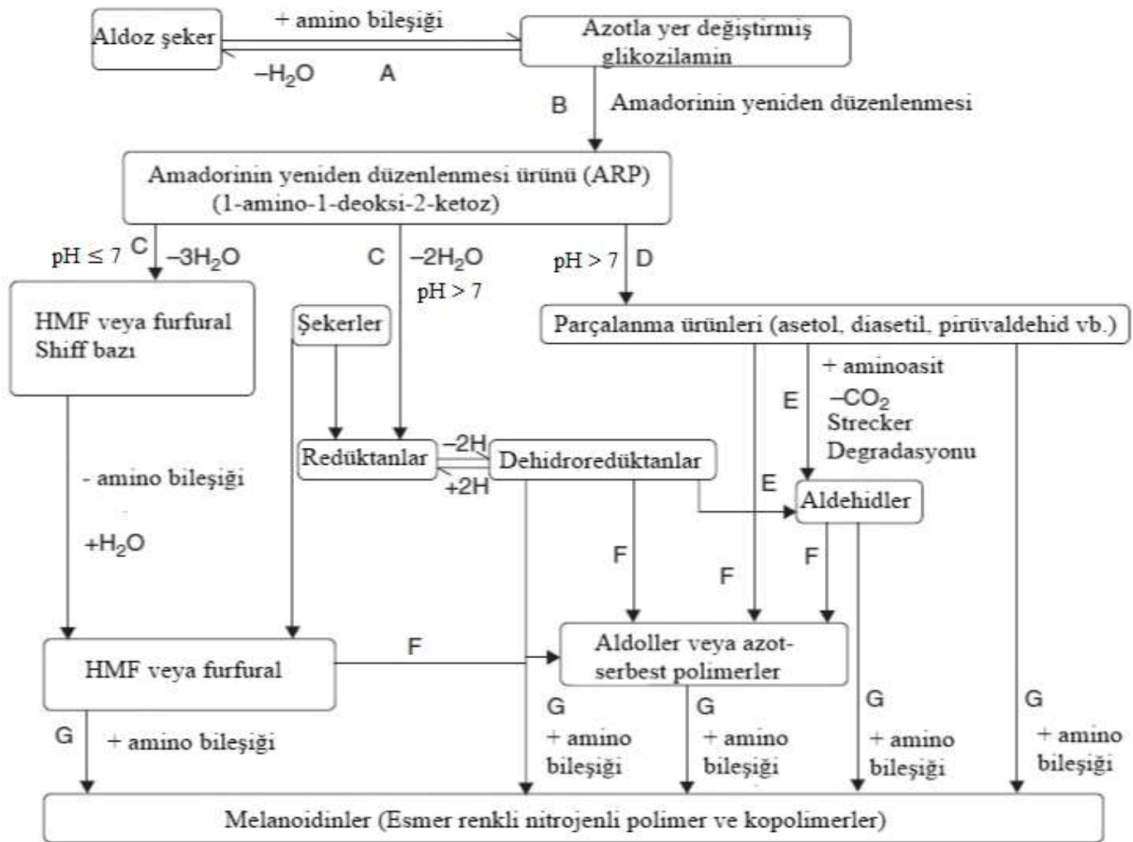
2.4. Maillard Reaksiyonu ve Önemi

Bitkisel proteinlerin besin değerleri önemli olsa da gıda ürünlerine görünüm, tat, renk, koku, tekstür ve hatta yapı kazandırmak için gıda formülasyonunda içerik olarak kullanımlarını kolaylaştıran fonksiyonellikleri de aynı derecede önemlidir (Akharume vd., 2021). Çözünürlük, şişme, jelleşme kapasitesi ve emülsifiye etme yeteneği gibi gıda proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesi, gıda bilimi ve gıda endüstrisindeki en büyük önceliklerden biridir. Proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirmek için fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler dahil olmak üzere çeşitli yöntemler vardır. Ancak kimyasal yöntemlerin çoğu toksik bileşenler içerdiğinden tercih edilmemektedir. Bu nedenle Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olarak da bilinen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonu, herhangi bir kimyasal katalizör kullanmadan proteinlerin indirgeyici şekerlerle konjugasyonu ile protein modifikasyonu açısından son 15 yılda popülerlik kazanmıştır (Namlı vd., 2021).

Gıdalar pişirilmeye başladığı dönemden itibaren, Maillard reaksiyonu gıdaların tadını ve görünüşünü geliştirmede önemli rol oynamıştır. Maillard reaksiyonunun özellikle kahve ve kakao tanelerinin kavrulması, ekmek ve keklerin fırında pişirilmesi, tahıl ürünlerinin kızartılması (toasting) ve etlerin pişirilmesi gibi geleneksel proseslerde aroma, tat ve renkle ilişkisinin anlaşılmasından bu yana, gıda endüstrisinin ilgi alanı içerisinde yer almıştır. Bunun dışında Maillard reaksiyonu sırasında gıdaların besin değeri açısından büyük önem taşıyan çok çeşitli reaksiyon ürünleri oluşmaktadır (Martins vd., 2001). Maillard reaksiyonunun ilk basamağı olan glikasyon, proteinlerin özelliklerini değiştirmek için

kullanılabilir. Glikasyon, proteinlerin serbest amino grupları ve indirgen şekerler arasında meydana gelen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının ilk adımındır. Glikasyon sadece proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda nihai ürünün görünümünü ve tadını da etkilediğinden gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Taş vd., 2021). Bu reaksiyon, gıda proteinleri için diğer kimyasal modifikasyon türlerinden daha üstündür ve gıda endüstrisinde protein modifikasyonu için umut verici bir uygulama teşkil etmektedir (Liu vd., 2012). Diğer kimyasal modifikasyon teknikleri ile karşılaştırıldığında, glikasyon ılımlı koşullar altında gerçekleşir ve herhangi bir yabancı kimyasal gerektirmez. Bazı çalışmalarda, gıda proteinlerinin glikasyonla farklı indirgeyici şekerler tarafından modifiye edilmesinden sonra çözünürlük, emülsifikasyon ve antioksidan aktivitesinin arttığı tespit edilmiştir (Liu vd., 2012; Taş vd., 2021).

2.4.1. Maillard reaksiyonunun kimyası



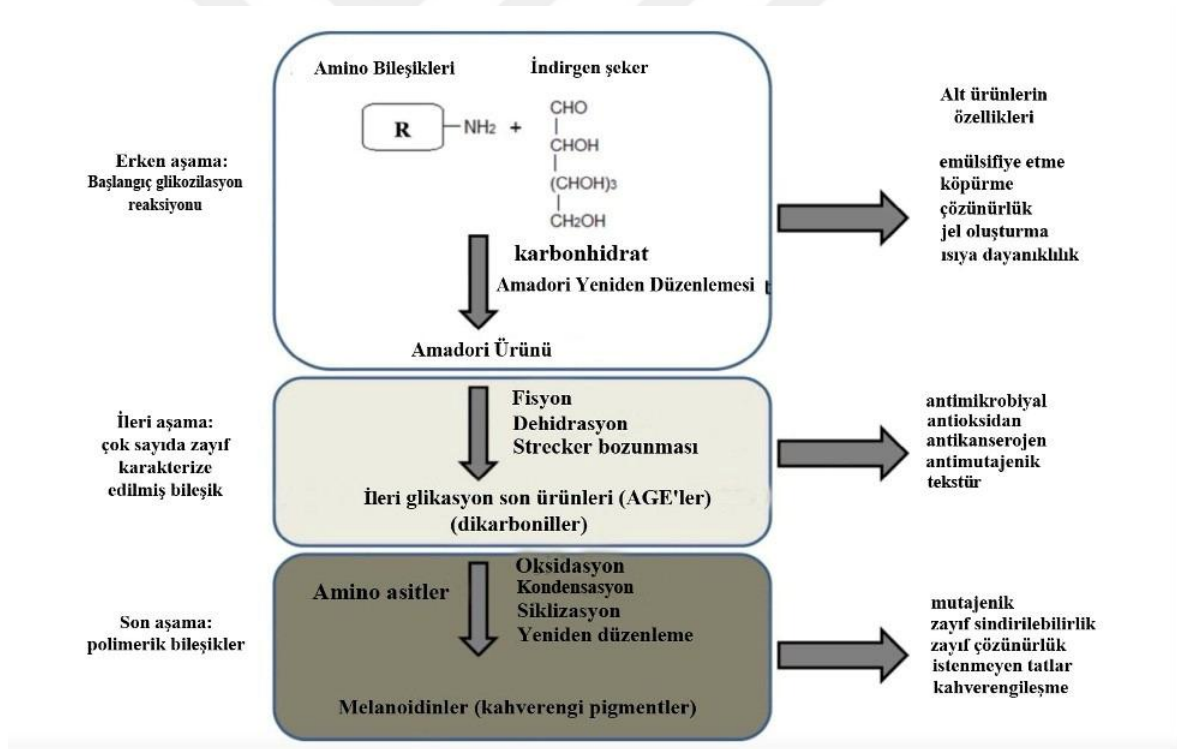
Şekil 2.9. Maillard reaksiyonunun şematik sunumu (Corzo-Martinez vd., 2012a)

Maillard reaksiyonu, amin grupları ve karbonil bileşikleri arasındaki kovalent bağ ile başlayan karmaşık bir reaksiyon grubunu ifade eder. Anlaşılabilirliği açısından, Maillard reaksiyonu erken, ileri ve son aşama olmak üzere üç aşamaya ayrılır (Şekil 2.9). Tüm bu aşamalar birbirleriyle ilişkili olup, aynı anda gerçekleşebilir ve reaksiyon koşullarından etkilenir (Silvan vd., 2011).

Maillard reaksiyonunun erken aşaması, başlangıç glikozilasyon reaksiyonu ile karakterize edilir. Bu aşamada, indirgen şekerin karbonil grubuyla, aynı zamanda serbest amino grubunun, bir amino asitten (veya proteinden) yoğunlaşma reaksiyonuna girerek bir bir molekül suyun yapıdan ayrılmasıyla N-glikozilamin oluşturduğu reaksiyondur. N-glikozilamin, geri dönüşümsüz bir yeniden düzenlemeye uğrayarak Amadori ürünü olan 1-amino-1-deoksi-2-ketozu oluşturur. Lysin kalıntısının ϵ -amino grubu, proteinlerdeki birincil aminlerin başlıca kaynağı olduğundan reaksiyona girme olasılığı en yüksek olan gruptur. Amino asidin amino terminal grupları da bir yoğunlaşma reaksiyonuna girebilir. Histidin kalıntısından gelen imidazol grupları, triptofan kalıntısından gelen indol ve arginin kalıntısından gelen guanidil ise daha az bir ölçüde reaksiyona girer. Fruktoz gibi ketozlarla, bir ketosilamin formu, yeniden düzenlenerek Heyns ürününü (2-amino-2-desoksi-aldoz) oluşturur. Reaksiyonun bu aşamasında herhangi bir renk değişikliği gözlenmez (Martins vd., 2001; Damodaran, 2007; Echavarría vd., 2012). Maillard reaksiyonunun erken aşamalarında, amino asitlerin kullanılabilirliğindeki azalma nedeniyle besin değeri düşebilir (De Oliveira vd., 2016).

İleri aşama, oksidasyon, parçalanma, enolizasyon, dehidratasyon, asit hidrolizi ve serbest radikal reaksiyonları ile değişikliğe uğrayabilen Amadori yeniden düzenleme ürünü veya Heyns ürününün bozunmasıyla başlar ve bunun sonucunda çok sayıda zayıf karakterize edilmiş bileşik ortaya çıkar. Amadori yeniden düzenleme ürününün bozunması pH, zaman ve sıcaklık gibi sistem koşullarına bağlıdır. Amadori yeniden düzenleme ürünü, pH 7'ye eşit veya daha düşük olduğunda, esas olarak furfural (pentozlar dahil olduğunda) veya hidroksimetilfurfural (heksozlar dahil olduğunda) oluşumuyla 1,2 enolizasyonuna maruz kalır. pH 7'nin üzerindeki değerlerde ise, Amadori bileşiğinin bozunması esas olarak 2,3 enolizasyonunu içerir ve 4-hidroksi-5-metil-2,3-dihidrofuran-3-on gibi indirgen bileşikler ve asetal, piruvaldehit ve diasetal dahil olmak üzere çeşitli fisyon ürünleri oluşur. Bu bileşikler oldukça reaktiftir ve yeni reaksiyonlara katılırlar (Martins vd., 2001; Echavarría vd., 2012).

Karbonil grupları serbest amino gruplarıyla yoğunlaşarak reaksiyon ürünlerine azot katılmasına neden olabilir. Dikarbonil bileşikleri amino asitlerle reaksiyona girerek aldehytler ve aminoketonlar oluşturur. Bu yol Strecker bozunumu olarak bilinir. İleri aşamanın ilerleyen safhalarında siklizasyon, dehidrasyon, retroaldolizasyon, yeniden düzenleme, izomerizasyon ve kondensasyon gibi diğer reaksiyonlar meydana gelir (Şekil 2.10). Son aşama, melanoidinler olarak bilinen kahverengi renkte azotlu polimerlerin ve co-polimerlerin oluşumuna yol açar (Martins vd., 2001). Erken aşamaların aksine, Maillard reaksiyonunun ileri ve son aşamaları yüksek derecede karmaşıklık içerir. Bu aşamalarda oluşan bileşiklerin kimyası iyi bilinmemekte ve mekanizmaları iyi anlaşılamamaktadır, ancak sonuçlar renk ve aromada değişikliklere neden olan ısıtma reaksiyonları açısından kolayca tanınmaktadır (Oliver vd., 2006a; Echavarría vd., 2012).



Şekil 2.10. Maillard reaksiyonunun aşamaları ve alt ürün özellikleri (De Oliveira vd., 2016)

Maillard reaksiyonu doğal olarak meydana gelir ve gıda ürünlerinin fiziksel, kimyasal, biyolojik ve organoleptik özellikleri üzerinde faydalı veya zararlı etkileri olabilir. Zararlı etkiler, Maillard reaksiyonunun derecesi kontrol edilmediğinde örneğin süt tozunun üretimi veya depolanması sırasında gözlemlenebilir. Bununla birlikte, kontrollü koşullar

altında, ısıtılma işlemine tabi tutulan belirli ürünlerin kimliği Maillard reaksiyonu tarafından desteklenir. Bu gelişme, et ürünleri, ekmekler, kahveler ve tahıllar (soya fasulyesi, yer fıstığı, arpa) gibi gerekli olan gıda ürünlerinde lezzet, aroma, tekstür ve renk gelişimi ile ilişkili olarak tüketiciler tarafından kabul görmesi açısından önemlidir (De Oliveira vd., 2016).

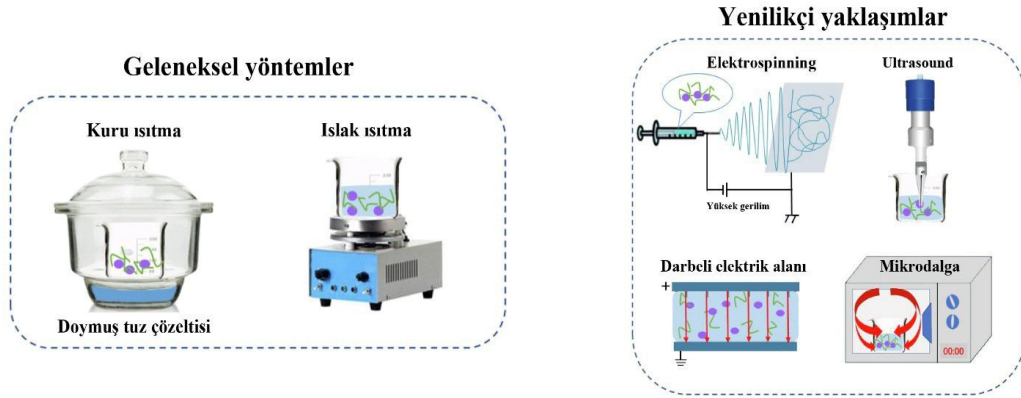
Kontrollü koşullar altında, protein yapısındaki değişikliklerin karbonhidratlarla birleşmesi, fonksiyonel özellikleri geliştirmek için kullanılan glikozile edilmiş proteinlerin ısıtılma kararlılık ve çözünürlük gibi özelliklerini artırır (Liu vd., 2012). Maillard reaksiyonunun ileri aşamaları sırasında, diyabet ve Alzheimer hastalığı gibi çeşitli hastalıklara da yol açabilir (Fenaille vd., 2004).

Konjugatların güvenli bir gıda bileşeni olarak kullanılabilmesi için, Maillard reaksiyonunun kontrollü bir şekilde yürütülmesi ve zararlı bileşiklerin oluştuğu ileri aşamalardan kaçınılması gerekmektedir (Kato, 2002; Oliver vd., 2006a). Maillard reaksiyonu yoluyla oluşan konjugatlar çeşitli glikoformlardan oluşur ve çok sayıda zayıf karakterize edilmiş ürünle kombinasyon halinde üretilir. Maillard reaksiyonundan elde edilen ürünlerin türleri ve miktarları, pH, sıcaklık, amin grubu ve karbonil grubunun kütle oranı, bağıl nem ve reaksiyona giren bileşenlerin karakteristik özellikleri gibi reaksiyon koşullarından etkilenir (Oliver vd., 2006a; Gu vd., 2009; Liu vd., 2012).

Bu tür reaksiyonlarla üretilen yüksek oranda glikatlanmış proteinler, kimyasal olarak modifiye edilmiş gıda proteinlerinden daha az güvenlik sorununa sahiptir (Pan ve Melton, 2007), bu nedenle Maillard reaksiyonu yoluyla glikatlanmış proteinler, emülsiyon ve jelleşmeyi iyileştirmek, lezzet, görünüm ve tekstürü değiştirmek için gıdalara fonksiyonel bileşenler olarak eklenebilir. Birçok çalışma antioksidan, antimikrobiyal, antihipertansif ve antijenisite özellikleri de dahil olmak üzere gelişmiş Maillard reaksiyon ürünleri ile ilişkili faydalı etkiler bildirmiştir (Rufian-Henares ve Morales, 2007; Gu vd., 2010; Guan vd., 2010; Laparra vd., 2011).

2.5. Maillard Konjugatlarını Hazırlama Metotları

Proteinler ve polisakkaritler arasında Maillard reaksiyonunu indüklemek için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Geleneksel olarak, kuru ve ıslak ısıtma yöntemleri kullanılmaktadır. Kuru ısıtma yöntemi, 1990 yılında ovalbümin-dextran konjugatlarını elde etmek için ilk kez uygulanmıştır. Sulu çözelti ortamında uygulanan ıslak ısıtma yöntemi, 2008 yılından bu yana tercih edilen yöntemlerden biridir (Kato vd., 1990; Zhu vd., 2008). Bu geleneksel yöntemlerin yanı sıra, elektrospinning, ultrasound, darbeli elektrik alanı ve mikrodalga gibi kuru veya ıslak ısıtma yöntemlerine dayalı bazı yenilikçi yöntemler de Maillard konjugatlarını elde etmek için başarıyla uygulanmaktadır (Şekil 2.11). Bu yenilikçi yöntemlerin endüstriyel uygulamalarda hala bazı sınırlamaları olmasına rağmen, yüksek reaksiyon verimi ve kısa reaksiyon süresi gibi avantajlara sahiptir. Hazırlama yönteminin türünden bağımsız olarak, reaksiyonun kapsamı esas olarak proteinlerin ve polisakkaritlerin temel özelliklerine, biyopolimerlerin kütle oranına, bağıl neme, reaksiyon sıcaklığına, süresine ve pH değerine bağlıdır (Kan vd., 2021).



Şekil 2.11. Maillard konjugatı hazırlamak için geleneksel ve yenilikçi yöntemler (Kan vd., 2021)

2.5.1. Kuru ısıtma

Geleneksel olarak, bir protein ve bir karbonhidrat arasındaki Maillard reaksiyonu kuru ısıtma yolu kullanılarak gerçekleştirilir. Kısaca, protein ve karbonhidrat belirli bir oranda karıştırılır ve suda çözülür, ardından karışım kurutularak (örneğin dondurarak

kurutma kullanılarak) toza dönüştürülür. Bu toz daha sonra Maillard reaksiyonunu kolaylaştırmak için belirli sürede (1-14 gün), kontrollü sıcaklıkta (çoğunlukla 40-80°C) ve bağıl nemde (çoğunlukla % 60-85) bir fırın veya desikatör içerisinde doymuş KI, KBr ya da NaCl çözeltisi kullanılarak inkübe edilir (Sedaghat Doost vd., 2019). Dondurularak kurutulmuş toz, nihai olarak konjugatların üretilmesi için belirli bir sıcaklıkta depolanır. Konjugatların oluşumu, dış koşullardan büyük ölçüde etkilenir ve bu koşullar arasında sıcaklık en önemli faktördür; bunu bağıl nem, reaksiyon süresi ve molar oran takip eder (Martinez-Alvarenga vd., 2014).

Kuru ısıtma yöntemi, basit bir prosedür olması nedeniyle yaygın olarak kullanılmakla birlikte, bazı önemli dezavantajlara sahiptir. Öncelikle, konjugasyon süresi oldukça uzun olup, birkaç gün ile haftalar arasında değişmektedir (Karbasi ve Madadlou, 2018). Bunun yanında, reaksiyonun ilerleme derecesi kontrol edilememekte ve bu durum yoğun esmerleşmeye yol açarak genellikle ara veya ileri Maillard reaksiyon ürünlerinden oluşan bir karışımın meydana gelmesine neden olmaktadır (Perusko vd., 2015). Ayrıca, yöntem maliyetli bir dondurma veya püskürterek kurutma aşaması gerektirdiği gibi, süreç boyunca nem ve sıcaklığın titizlikle kontrol edilmesini zorunlu kılmaktadır (Wang ve Xiong, 2016). Reaktanlar arasındaki düzensiz temas, reaksiyonun etkinliğini sınırlamakta ve sert veya sıkı yapılı proteinler, verimsiz bir konjugasyona sebep olmaktadır (Perusko vd., 2015). Tüm bu nedenlerden dolayı, kuru ısıtma işlemi endüstriyel ölçekte maliyetli olup, büyük ölçekli üretim için uygun değildir ve bu durum, protein-polisakkarit konjugatlarının ticari gıda bileşenleri olarak kullanımını zorlaştırmaktadır (Zhuo vd., 2013).

2.5.2. Islak ısıtma

Uzun olan ısıtma süresini azaltmak ve önceki dondurarak kurutma adımını ortadan kaldırmak için kuru ısıtmaya bir alternatif olarak ıslak ısıtma önerilmektedir. Islak ısıtma yolu ile gerçekleştirildiğinde Maillard reaksiyonu daha umut vericidir, çünkü çözeltideki protein ve karbonhidrat molekülleri arasındaki teması en üst düzeye çıkarır, böylece ısıtma süresini kısaltır. Islak ısıtma yönteminde, protein ve karbonhidrat karışımı suda çözülür ve karışım, konjugasyonu hızlandırmak için belirli bir sıcaklık ve zamanda ısıtılır (Sedaghat Doost vd., 2019). Bu yöntem, konjugasyon için gereken reaksiyon süresini önemli ölçüde kısaltarak birkaç saate düşürebilir. Ayrıca, ıslak ısıtma yöntemi, proteinlerin fonksiyonel

özelliklerini değiştirmek amacıyla yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Pirestani vd., 2017a). Bu yöntem, reaktanların daha homojen bir dağılımı ve nihai konjugatların kolayca ayrılabilmesi gibi avantajlara sahip daha basit bir süreç sunmaktadır (Zhang vd., 2019). Bu yöntemin dezavantajları, yüksek sıcaklık ve reaktan konsantrasyonları nedeniyle meydana gelen protein denatürasyonu ve kuru tozlara kıyasla daha yüksek nakliye maliyetleridir (Zhou vd., 2013). Sıvı ürünlerin depolanması ve taşınması katı ürünler kadar kolay değildir. Islak ısıtma yönteminde mikroorganizmaların neden olduğu kontaminasyonu önlemek için sodyum azid kullanılabilir, ancak gıda emülsiyonlarının üretiminde kullanılmasına izin verilmez. Bu nedenle, sıvı ürünlerin depolama süresini uzatmak ve taşıma maliyetini azaltmak zordur (Setiowati vd., 2020).

2.5.3. Yenilikçi yaklaşımlar

Kuru ve ıslak ısıtma, geleneksel olarak Maillard reaksiyonu ile protein konjugatlarının hazırlanmasında kullanılsa da, ultrasonikasyon, darbeli elektrik alanı, elektrospinning, ışınlama ve yüksek basınç gibi alternatif teknikler, bitkisel proteinlerin glikasyonunu teşvik etmek için giderek daha fazla tercih edilmektedir. Bazı teknikler, örneğin ışınlanmış elektromanyetik dalgalarla ısıtma veya ultrasonikasyonun indüklediği kavitasyon etkisi gibi ısıtma yoluyla glikasyonu teşvik eder. Diğerleri, elektrospinning ile moleküler hizalanma veya yüksek basıncın yol açtığı yapı değişiklikleri ile proteinler ve polisakkaritlerin etkileşimini kolaylaştırarak reaksiyonun teşvik edilmesini sağlamaktadır (Sedaghat Doost vd., 2019).

Bu yöntemlerin glikasyonu teşvik etme prensipleri farklı olsa da, hepsi geleneksel yöntemlere kıyasla reaksiyon süresi ve sıcaklığı azaltma avantajına sahiptir. Örneğin, ultrasound uygulaması, siyah fasulye proteini izolatları ile glikoz arasındaki konjugasyon sürecini önemli ölçüde hızlandırmaktadır. Klasik ıslak ısıtma yöntemiyle %20,49'luk bir glikasyon derecesine ulaşmak 5 saat sürerken, 150 W gücünde 2 saatlik bir ultrasonikasyon uygulamasıyla aynı değer elde edilebilmektedir (Jin vd., 2019).

Yenilikçi yaklaşımlar genellikle Maillard reaksiyonu verimliliğini artırmak amacıyla geleneksel ıslak ısıtma yöntemlerine dayalı olarak geliştirilir. Zhang vd. (2022), karpuz çekirdeği proteini-glikoz konjugatlarının glikasyon derecesinin, 60 dakikalık ıslak ısıtma

uygulaması ile %24,67'ye ulaştığını gözlemlemiştir. Ultrasound ve mikrodalga uygulaması ile aynı dereceye yalnızca 20 dakikada ulaşılmıştır.

Yenilikçi yöntemler, geleneksel termal uygulamalara kıyasla daha düşük sıcaklıklarda etkili sonuçlar sağlayabilir. Örneğin, yüksek yoğunluklu ultrasound kullanılarak hazırlanan soya fasülyesi proteini izolatu-lentinan konjugatlarının 80°C'deki glikasyon derecesi, 90°C'de gerçekleştirilen ıslak ısıtmaya kıyasla 1,91 kat artış göstermiştir (Wen vd., 2020). Ayrıca, iki yenilikçi yöntem, Maillard konjugatlarının üretimini iyileştirmek için birleştirilebilir. Ultrasound uygulaması ve yüksek basınçlı homojenizasyonun kombinasyonu, her bir uygulamaya kıyasla ksilo-oligosakkarit ve BPI karışımının en yüksek glikasyon derecesine sahip olmasını sağlamıştır (Zhao vd., 2022). Ultrasound-mikrodalga destekli Maillard reaksiyonları, benzersiz ve yoğun tatlar oluşturma potansiyeliyle dikkat çekmekte olup, bu özellikleri sayesinde gıda ürünleri ve içeceklerde pratik uygulamalar için ideal bir yöntem sunmaktadır (Habinshuti vd., 2021).

2.6. Maillard Konjugatlarının Potansiyel Uygulamaları ve Fonksiyonel Özellikleri

Maillard reaksiyon ürünleri arasında, reaksiyonun erken aşamasında meydana gelen bileşikler ve son aşamasında oluşan melanoidinler, birçok gıda ürününün tekstürü ve aroması üzerindeki olumlu etkileri nedeniyle büyük ilgi görmektedir ve bu nedenle günümüzde gıda endüstrisinde fonksiyonel gıda bileşenleri olarak kullanılmaktadır (Nooshkam vd., 2020). Maillard reaksiyonuyla oluşan protein-polisakkarit konjugatları, aktif bileşenlerin taşıyıcılarıdır ve gıda proteinlerinin tekno-fonksiyonel özelliklerini artıran ajanlar olarak görev yaparlar. Bunlara jel oluşturma özellikleri, emülgatörler, stabilizatörler, antioksidanlar ve antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra protein alerjenitesinin azaltılması da dahildir (De Oliveira vd., 2016).

Hem proteinler hem de polisakkaritler gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılır. Bu biyopolimerler arasındaki etkileşimler gıdaların yapısal ve işlevsel özelliklerini etkiler. Maillard reaksiyonu ile üretilen protein-polisakkarit konjugatları çözünürlük, emülsifiye edici özellik, termal kararlılık, köpürme kapasitesi ve jelleşme özelliği dahil olmak üzere işlevsel özelliklerde bazı farklılıklar gösterebilir (Zhang vd., 2019). Polisakkarit türleri, Maillard konjugatlarının oluşumunu ve işlevselliğini büyük ölçüde etkiler. Bu nedenle,

Maillard konjugatlarını hazırlarken polisakkaritlerin yapısal özelliklerine tam olarak dikkat edilmelidir. Moleküler ağırlık açısından, daha büyük moleküler boyutlara sahip polisakkaritler genellikle konjugasyon için daha uygundur çünkü sağladıkları güçlü sterik engel birleşmeyi önlemek ve konjugatların emülsifiye edici özelliklerini iyileştirmek için faydalıdır. Ancak, bu, daha büyük moleküler ağırlığa sahip polisakkaritlerin daha yüksek glikasyon derecesi göstereceği anlamına gelmez. Polisakkarit zincirlerinin uzunluğu da Maillard konjugatlarının işlevsel özelliklerini etkiler. Daha uzun zincirlere sahip polisakkaritler, konjugatların emülsifiye edici özelliklerini artırabilir ve Maillard reaksiyonunun ileri aşamasını önleyebilir. Ek olarak, negatif yüklü polisakkaritler emülgatörün yüzey yükünü değiştirebilir ve termostabilite üzerinde daha iyi bir etki gösterebilir, bu da Maillard konjugatlarının oluşumu için tercih edilebilir (Aoki vd., 1999; Setiowati vd., 2020).

Polisakkaritler, glikozidik bağlarla bir araya gelen 10'dan fazla monosakkaritten oluşan polimerlerdir (Wang vd., 2023). Bu bileşikler, toksik olmamaları, geniş bir erişilebilirliğe sahip olmaları, yeniden üretilibilmeleri ve sağlık açısından faydalı etkileri sayesinde, gıdaların tekstürünü, lezzetini, karakterini ve besin değerini iyileştirmek ve/veya değiştirmek için katkı maddesi olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bazı polisakkaritler, molekül zincirlerinde hem hidrofobik hem de hidrofilik gruplar bulundurur ve bu tür polisakkaritlere amfifilik polisakkaritler veya yüzey aktif polisakkaritler denir. Yüzey aktif polisakkaritler, yağ-su arayüzeyine adsorbe olma eğilimleri sayesinde yağ-su ve/veya su-yağ emülsiyonlarını stabilize edebilme yeteneğine sahiptir ve bu özellikleri, onları yüzey aktif olmayan polisakkaritlerden ayırır (Yang vd., 2020). Bu polisakkaritlere tipik bir örnek, GA'dır. *Acacia senegal* ve *Acacia seyal* türlerinin salgılarından elde edilen, yüksek çözünürlüğe ve düşük viskoziteye sahip hidrofilik bir polisakkarittir. Sadece kompleks polisakkarit bileşenleri içermekle kalmaz, aynı zamanda az miktarda protein de (%~1,0–2,5) içerir (Gashua vd., 2016). GA, oldukça dallanmış yapısından dolayı nispeten küçük bir hidrodinamik hacme sahip olmasına rağmen, gıda emülsiyonlarının geliştirilmesinde ve uçucu yağlar ile aroma bileşiklerinin enkapsülasyonunda etkili bir emülgatördür. GA'nın yüzey aktifliği iki ana faktöre bağlanmaktadır. Birincisi, protein açısından zengin bileşenlerin yağ-su arayüzeyine adsorbe olarak ince emülsiyon damlacıklarının oluşumunu sağlamasıdır. İkincisi ise karbonhidrat bloklarının, elektrostatik

ve sterik itme kuvvetleri sağlayarak yağ damlacıklarının flokülasyonunu ve birleşmesini engellemesidir (Yang vd., 2020).

SA, bir polisakkarit olarak, üstün kolloidal özellikleri, güçlü jel oluşturma kapasitesi ve geniş uygulama alanlarıyla gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Güçlü karıştırma ile hem sıcak hem de soğuk suda çözünbilme özelliğine sahiptir. İki değerlikli kalsiyum iyonunun varlığında herhangi bir ısıya ihtiyaç duymadan jel oluşturur. Moleküler yapısı ve etkili film oluşturma özellikleri sayesinde gıdalarda nem kaybını önlemek amacıyla yenilebilir film ve kapsülleme ajanı olarak tercih edilmektedir (Thakur vd., 2018).

2.6.1. Çözünürlük

Protein çözünürlüğü, protein molekülleri arasındaki elektrostatik etkileşimlerin neden olduğu itme kuvvetlerinin bir sonucu olarak gerçekleşir. Bu etkileşimler, proteinin iç kısımlarındaki apolar grupların iyonlaşmasına yol açar, polipeptit zincirinin açılarak doğal yapısını bozmasına ve böylece gömülü fonksiyonel grupların yüzeye çıkmasına neden olur (Bora, 2002). Proteinlerin çözünürlüğü viskozite, jelleşme, köpürme kapasitesi ve emülsiyon aktivitesi gibi gıda özellikleri üzerindeki doğrudan etkisi nedeniyle, yeni gıda formülasyonları ve ürünleri tasarlamak için temel bir işlevsel özellik olarak bilinir. Maillard reaksiyonu, doğal proteinin yük özelliklerini değiştirebilir ve proteinin izoelektrik noktasını daha düşük pH değerlerine kaydırabilir. Bu nedenle polisakkarit ilavesinden sonra çözünürlüğün daha geniş bir pH aralığında iyileştirildiği belirlenmiştir (Nooshkam vd., 2020). Maillard reaksiyonu, protein yüzeylerinde düzenlenmiş bir hidrofilik-hidrofobik dinamik denge oluşturur. Bu nedenle, protein-polisakkarit kovalent komplekslerinin çözünürlüğü, Maillard reaksiyonunun derecesi düzenlenerek kontrol edilebilir (Nooshkam ve Madadlou, 2016). Çözünürlük, viskozitenin yanı sıra emülsifiye etme, köpürme ve jelleşme özellikleri gibi gıdaların diğer tekno-fonksiyonel özelliklerini doğrudan etkiler. Bu nedenle çözünürlük, yeni formülasyonlar ve gıda ürünleri geliştirmek için kilit bir işlevsel özelliktir (Nooshkam vd., 2020).

Pirestani vd. (2017b) yaptıkları çalışmada kanola protein izolatı ve GA konsantrasyonlarını sırasıyla %2 (a/h) ve %1 (a/h) olarak belirlemiştir. Dispersiyonların pH

değeri 7'ye ayarlanmış ve iki biyopolimer çözelti 90°C'de 15 dakika ıslak ısıtma yöntemiyle ısıtılmıştır. Genel olarak, proteinlerin çözünürlüğü, net protein yükünün olmadığı ve bu nedenle proteinin agregat yapma eğiliminde olduğu izoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde önemli ölçüde azalır. Kanola protein izolatının en düşük çözünürlüğü pH 5.3'te gözlemlenmiştir. Kanola protein izolatı ve GA karışımının çözünürlüğü ise kanola protein izolatına göre daha yüksek bulunmuştur. Bu olgu yalnızca proteinle karşılaştırıldığında hidrofilik grupların miktarını artırmak için GA eklenmesine atfedilmiştir. Ancak, kanola protein izolatının çözünürlüğü, GA ile yapılan glikasyon reaksiyonu sonrasında, özellikle pH değeri protein izoelektrik noktasına yakın olduğunda önemli ölçüde artmıştır. Ayrıca, bu kovalent konjugatlar, glikasyonlu proteinin negatif net yükünün artması nedeniyle minimum çözünürlük değerinde bir değişiklik göstermiş ve izoelektrik nokta daha asidik bir alana kaymıştır. Yukarıda belirtilen sonuçlardan, GA ile glikasyona uğramış kanola protein izolatının, hidrofilik bir polisakkarit grubunun hidrofobik proteinin yüzeyine bağlanması ve polisakkarit -OH gruplarının hidrojen bağlama kapasitesindeki değişikliklerle protein-su etkileşimlerini iyileştirerek, geniş bir pH aralığında çözünürlüğü anlamlı bir şekilde artırabileceği anlaşılmaktadır.

Mu vd. (2011) SPI-akasya gamı konjugatlarının çözünürlüğünü değerlendirmiştir. SPI-akasya gamı sırasıyla 1:1 (a/a) oranında hazırlanarak, 80°C'de 0-48 saat boyunca ıslak ısıtma yöntemiyle ısıtılmıştır. SPI ve akasya gamı konjugatlarının çözünürlüğünün, aynı pH değerlerinde ısıtma işlem görmemiş SPI-akasya gamı karışımlarına ve yalnızca SPI'ye kıyasla önemli ölçüde daha yüksek olduğu belirlenmiştir. SPI ve akasya gamı konjugasyonu, özellikle pH değerleri 3 ve 5 arasında olduğunda çözünürlüğü önemli ölçüde artırmıştır. Ancak, çözünürlük eğrisi pH ile hızlı bir şekilde değişmemiştir, bu da SPI ve akasya gamı konjugatları için belirgin bir izoelektrik nokta olmadığını göstermiştir. Genel olarak, bir proteinin çözünürlüğü, proteinin net yükünün yaklaşık sıfır olduğu ve proteinin yük asimetrisinin neden olduğu elektrostatik etkileşimler nedeniyle proteinin agregatlaşma eğiliminde olduğu izoelektrik nokta civarındaki pH'da önemli ölçüde azalır. Kovalent protein-polisakkarit hibridi bir kez oluştuktan sonra pH veya tuz konsantrasyonundan bağımsız olarak ayrışmaz. Yukarıda bahsedilen tüm bu sonuçlar, SPI-akasya gamı konjugatlarının asit pH aralığında çözünürlüğü önemli ölçüde ($P < 0.05$) artırabildiğini göstermiştir.

Li vd. (2013), glikoz, laktoz, maltodekstrin ve dekstran ile pirinç proteini hidrolizatları kullanılarak sentezlenen Maillard reaksiyonu ürünlerinin fonksiyonel özelliklerini incelemiştir. Her bir sakkarit 1:1 (a/a) oranında pirinç proteini hidrolizati ile karıştırılarak 0-40 dakika aralığında 100°C'de ıslak ısıtma ile inkübe edilmiştir. Dekstran (100°C'de 20 dakika) ile hazırlanan Maillard reaksiyon ürünleri, fonksiyonellikte en büyük iyileşmeyi göstermiştir. Araştırmacılar, konjuge edilen pirinç proteinlerinin çözünürlüğünün, doğal pirinç proteinlerine kıyasla 3,5 kat arttığını bildirmiştir. Çalışmaları, Maillard konjugasyonunun neden olduğu çözünürlük artışının yüksek hidroforobik bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerini de geliştirebileceğini doğrulamıştır.

Alavi vd. (2021) yaptığı çalışmada bakla proteini ve maltodekstrini 2:1 (a/a) oranında karıştırıp, karışımların pH'sını 7 ve 11'e ayarlayarak 90°C'de 30 dakika ıslak ısıtma yöntemiyle ısıtmıştır. Ayrıca, alkali pH'nın tek başına etkisini incelemek için pH kaydırma işlemi uygulamıştır. Bunun için bakla proteini ve bakla proteini-maltodekstrin dispersiyonları pH 11'e ayarlanmış ve oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bu pH değerinde tutulmuş, daha sonra pH'sı 7'ye ayarlanmıştır. Alkali pH'da ısıtma, daha yüksek yüzey hidroforobitesine sahip daha küçük agregatların oluşumuyla birlikte, işlenmemiş bakla proteinindeki orijinal büyük mikron boyutlu agregatları geri döndürülemez şekilde bozmuştur. Maltodekstrin varlığında, alkali pH'da ısıtma ile yüksek derecede glikasyona sahip bir bakla proteini-maltodekstrin konjugatı oluşmuştur. Alkali pH'da maltodekstrin varlığında ve yokluğunda ısıtma, protein çözünürlüğünü pH 3, 6 ve 7'de sırasıyla %43, %14 ve %35'ten %90'ın üzerine önemli ölçüde artırmıştır.

Jiménez-Castaño vd. (2005), yaptıkları bir çalışmada dekstran ile β -laktoglobulin proteinini (β -Lg) 2:1 oranında (a/a) kuru ısıtma ile 60°C'de konjuge etmiştir. β -Lg-dekstran konjugatının, kuru ısıtma yöntemiyle elde edilen proteine kıyasla 3-9 pH aralığında daha yüksek çözünürlüğe sahip olduğu belirlenmiştir. Konjugat, muhtemelen proteinin izoelektrik noktasının kayması nedeniyle doğal proteine kıyasla pH 4'te daha düşük çözünürlük özelliği göstermiştir. Şekerlerle protein glikasyonu, pozitif yükleri azaltırken negatif yüklerin artmasına yol açmış ve izoelektrik noktanın daha düşük pH değerlerine düşmesine neden olmuştur. Bu, proteinin minimum çözünürlüğünün (pH=5) neden daha düşük bir pH değerine kaydığını açıklamaktadır. Araştırmacının başka bir çalışmasında azalan izoelektrik noktasının bir sonucu olarak, dekstran ile glikasyondan sonra pH 5'te α -laktalbümin, β -Lg

ve sığır serum albüminin çözünürlüğünün de arttığı bildirilmiştir (Jiménez-Castaño vd., 2007). Benzer şekilde, peynir altı suyu proteini izolatının çözünürlüğü, maltodekstrin ile konjugasyon yapılarak artırılmıştır; bu durum, şekerin proteinin yüzeyine sağladığı daha fazla hidroksil grubunun etkisiyle gerçekleşmiş olup, izoelektrik noktanın pH 5'ten 4-4,5 aralığına kaymasına neden olmuştur (Martinez-Alvarenga vd., 2014).

Meng vd. (2019a), yaptıkları bir çalışmada SA-pirinç posası proteinini 1,88:1 (a/a) oranında hazırlayarak aralıklı mikrodalga ısıtma ile desteklenen ıslak ısıtma ile konjuge etmiştir. Mikrodalga radyasyonu altında SA'nın modifikasyonları ile çözünürlük, modifiye edilmemiş pirinç posası proteini ve pirinç tortusuyla karşılaştırıldığında artmıştır. Aynı Maillard reaksiyon koşulları altında, pH'sı 10'dan büyük olan pirinç posası izolatu-SA konjugatı en yüksek çözünürlüğü göstermiştir. Çözünürlüğü pH 6 ile pH 12 arasında %39,78'den %90,97'ye yükselirken, pH 2 ile pH 4 arasında %88,03'ten %39,19'a düşmüştür. Maillard reaksiyonuna maruz kalmış protein-polisakkarit karışımının çözünürlüğünün aynı pH'da ısı veya protein yoluyla işlenmemiş protein ve polisakkarit karışımının çözünürlüğünden daha yüksek bir seviyeye çıktığı bildirilmiştir.

Başka bir çalışmada, peynir altı suyu protein izolatu-akasya gamı konjugatlarının en yüksek çözünürlük seviyesinin (pH 2 ve 4-10'da) bir günlük ısıtma süresinde elde edildiği ve daha fazla ısıtma süresinin protein çözünürlüğünde önemli bir düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun muhtemelen protein denatürasyonunun toplam çözünürlük üzerindeki etkisinin bu kadar uzun ısıtma süreleri altında konjugasyon derecesinden daha fazla olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (Chen vd., 2019).

Bununla birlikte yumurta akı proteininin pektin (Al-Hakkak ve Al-Hakkak, 2010) ve domuz proteini izolatının dekstran ile konjugasyonu sonucunda çözünürlükte azalma gözlemlenmiştir. Bu azalmanın sebebi proteinler arasında meydana gelen ileri düzeyde çapraz bağlanmaya atfedilmiştir, bu da doğal örnek ile karşılaştırıldığında daha fazla protein çökmesine yol açmış dolayısıyla çözünürlüğü artırmak için belirli konjugasyon derecelerine ulaşılması gerektiği sonucuna varılmıştır (Álvarez vd., 2012). Ek olarak, disülfid bağları ve peptitlerin çapraz bağlanmasının, gıda proteinlerinin çözünürlüğünü düşürmede etkisi olduğu düşünülmektedir (Oliver vd., 2006a). Maillard reaksiyonu sırasındaki çözünürlük azalması, proteinin artan yüzey hidrofobikliğinden de kaynaklanabilir, bu da

hidrofobik-hidrofobik etkileşim eğiliminde bir artışa yol açarak protein agregatlarının oluşumuna neden olabilmektedir. Bu durum, uzun ısıtma sürelerinde meydana gelebilmektedir. Amino asit kalıntılarının (örneğin lizin), Maillard reaksiyonunun ileri aşamasında 3-deoksiglukozon, glioksal ve metilglioksal gibi bazı Maillard reaksiyon ürünleriyle reaksiyona girerek, gıda proteinlerinin çözünürlüğünü azaltabilecek moleküller arası veya moleküller arası çapraz bağlar oluşturması da dikkate alınmalıdır (Le vd., 2013).

Jiang vd.nin (2022) yaptığı çalışmada, BPİ ve inülin farklı ağırlık oranlarında (1:0,5, 1:1, 1:1,5, 1:2 ve 1:2,5) karıştırılmış, 80°C’de 15-35 dakika arasında değişen varyasyonlarla ultrasonik destekli ıslak ısıtma yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Çalışmada, en yüksek çözünürlük, 1:1 inülin konsantrasyonu, 400 W ultrasound gücü ve 25 dakika süreyle elde edilmiştir. Çözünürlükte 1,29 kat artış gözlenmiştir. Bu artış, inülin moleküllerinin protein yüzeyindeki hidrofobik bölgeleri kaplayarak su ile etkileşimleri artırması ve protein-polisakkarit bağlanma etkinliğini optimize etmesiyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, pH kaydırma işleminin proteinlerin yapısını gevşeterek bağlanma bölgelerinin daha erişilebilir hale gelmesini sağladığı belirtilmiştir. Ancak, inülin konsantrasyonu 1:2 oranına çıktığında çözünürlükte belirgin bir azalma meydana gelmiştir. Bu durum, çözeltinin viskozitesinin artarak protein-polisakkarit molekülleri arasındaki çarpışma sıklığını azaltmasıyla açıklanmıştır. Ek olarak, işlem süresinin 30 dakikayı aşması veya ultrasound gücünün 400 W’ın üzerine çıkması, aşırı protein açılımına ve agregasyona yol açarak çözünürlüğü %10-15 oranında düşürmüştür. Çalışma, düşük inülin oranlarında ve kontrollü işlem koşullarında çözünürlüğün artırılabilirliğini; ancak uzun süreli işlem ve yüksek ultrasound gücü gibi aşırı koşulların çözünürlük üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceğini ortaya koymuştur.

Zha vd. (2019a) BPİ ile GA konjugatlarını, 1:4 kütle oranında karıştırarak, 60°C ve %79 bağıl nem koşullarında, farklı sürelerde (0, 1, 3 ve 5 gün) kuru ısıtma yöntemiyle inkübe etmiştir. İşlem görmemiş GA ve BPİ’ye ait mikroskopik görüntülerde partiküllerin sırasıyla düzensiz çokgen ve küresele yakın morfolojik yapıya sahip olduğu görülmüştür. BPİ-GA karışımı mikrografındaki düzensiz poligonal ve düzensiz formlar arasındaki düzensiz yapı, iki biyopolimer arasında kovalent bir bağlantı olmadığını ortaya koymuştur. Bununla birlikte, 60°C’de 1 gün boyunca Maillard reaksiyonu yoluyla GA’nın proteinlerin yüzeyine kovalent bağlanmasının bir sonucu olarak, BPİ’nin mikro yapılarının kaybolmasıyla birlikte homojen olmayan bir ağ yapısı gözlemlenmiştir. 3 güne kadar süren inkübasyon süresinde

daha çok homojen olmayan yapının meydana gelmesiyle konjugatlar ve su molekülleri arasındaki etkileşim kolaylaşmış ve çözünürlük artmıştır. 5 günlük ısıtma süresinden sonra BPİ ile GA arasındaki aşırı konjugasyon, düzleştirilmiş bir yüzey morfolojisine sahip sıkıştırılmış örneklerin meydana gelmesi konjugat çözünürlüğünde azalmaya neden olmuştur. Bu durum en yüksek konjugasyon derecesinin, en yüksek oranda çözünürlüğe sahip konjuge proteinlerin üretilmesi için her zaman geçerli olmayacağı anlamına gelmektedir.

Korkmaz (2024) yaptığı çalışmada ayçiçek proteini ve GA ile ıslak ısıtma yöntemini kullanarak 1:1 (a/a) oranında 90°C'de 4 farklı sürede (0, 30, 60, 120 dakika) yaptığı konjugasyon işlemiyle ayçiçek proteininin pH 2-7 aralığındaki çözünürlüğünün arttığını gözlemlemiştir. Ayçiçeği proteini asidik pH değerlerinde daha düşük çözünürlüğe sahip olup; en düşük çözünürlük değerini (%9,42) pH 5'te göstermiştir. Proteinler izoelektrik noktasına yaklaştığında hidrofilik etkileşimler azalmakta ve proteinler nötr yüke sahip olmaktadır. Buna bağlı olarak proteinlerin çözünürlükleri azalmakta, protein- protein etkileşimleri artmakta ve protein agregasyonu oluşmaktadır. GA ile gerçekleştirilen konjugasyon bu pH değerinde ayçiçeği proteininin çözünürlüğünü %20,76-24,34 düzeyinde artmasını sağlamıştır.

Chen vd. (2024) GA ve kinoa proteini izolatını (4:1, a/a) 72°C'de, 46 dakika olan optimum sürede ultrasound destekli ıslak ısıtma ile konjuge etmiştir. pH 2 ve 5 aralığında kinoa-GA konjugatlarında çözünürlüğün arttığı görülmüştür. Araştırmacılar bu durumu GA'nın suda çözünürlüğünün daha fazla olmasına ve dolayısıyla proteinlere GA'nın fiziksel veya kimyasal olarak bağlanması sonucu proteinlerin çözünürlüklerinin artmasına atfetmişlerdir.

Seidi vd.nin (2023) gerçekleştirdiği bir çalışmada hidrolize kazein-GA oranı 1:1, 1:2 ve 2:1 (a/a) olacak şekilde, 80°C'de 6 saat ıslak ısıtma yöntemi kullanılarak Maillard reaksiyonuna maruz bırakılmıştır. pH 4 ve 7 aralığında kazein-GA konjugatlarında çözünürlük artmıştır. Bunun nedeni, GA'nın suda yüksek oranda çözünür olması ve bu nedenle kazeine fiziksel veya kimyasal olarak bağlandığında, toplam hidrofilik peptit gruplarının bir süspansiyonda artmasıdır. Dahası, kazeinin GA ile Maillard reaksiyonu

yoluyla konjugasyonu, kazein moleküllerinin kendi kendine birleşmesini ve çözünürlük kaybını engellemiştir. Benzer sonuçlar Jiménez-Castaño vd. (2005) tarafından da verilmiştir.

Boonlao vd.nin (2023) yaptığı çalışmada, SPI, kuru ısıtma (60°C, 0–9 gün) ve ıslak ısıtma (90°C, 0–120 dakika) kullanılarak 1:2, 1:1 ve 2:1 (a/a) protein-polisakkarit oranlarında hazırlanarak maltodekstrin ile konjuge edilmiştir. Protein çözünürlüğü, 1 gün boyunca kuru ısıtmayla indüklenmiş konjugatlar için önemli ölçüde artmış, ardından reaksiyon süresi uzadıkça kademeli olarak azalmıştır. Uzatılmış inkübasyon süresi ile termal işlem sırasında meydana gelen konjugasyonun aşırı reaksiyonu çözünürlüğün azalmasına neden olmuştur (Zha vd., 2019a). Inkübasyon süresinin uzaması ile Maillard reaksiyonunun son aşama ürünlerinin (melanoidinler) birikiminde artış gözlenmiştir. Ayrıca, konjugat çözünürlüğündeki azalma, proteinlerin yapısal değişiklikleri ve yüzey hidrofobikliğinin artışı ile açıklanmaktadır. Bu durum, hidrofobik-hidrofobik etkileşimlerin artmasına yol açmış ve proteinlerin agregasyonunu kolaylaştırmıştır (Nooshkam ve Varidi, 2020). Buna karşılık, ıslak ısıtma yöntemiyle elde edilen tüm konjugatların protein çözünürlüğünde artış gözlemlenmiştir. Glikasyon işlemi, konjuge proteinde daha fazla hidrofilik grup (-OH) oluşmasına neden olarak yüzey hidrofobikliğini azaltmış ve dolayısıyla çözünürlüğü artırmıştır. Du vd. (2013), Maillard reaksiyonunun erken aşamasında proteinlerin hidrofilik polisakkaritlerle konjugasyonunun protein hidrasyonunu teşvik ettiğini doğrulamıştır. Islak ısıtma ile 90°C'de protein çözünürlüğünün artması muhtemelen proteinlerin katlanmasının açılması, peptit bağlarının kırılması ve hidrofilik amino asit kalıntılarının açığa çıkmasıyla ilişkilidir (Li vd., 2014a). Sonuç olarak, Maillard konjugasyonu, Maillard reaksiyonu aşamasını kontrol ederek protein çözünürlüğünü iyileştirmektedir (Boonlao vd., 2023).

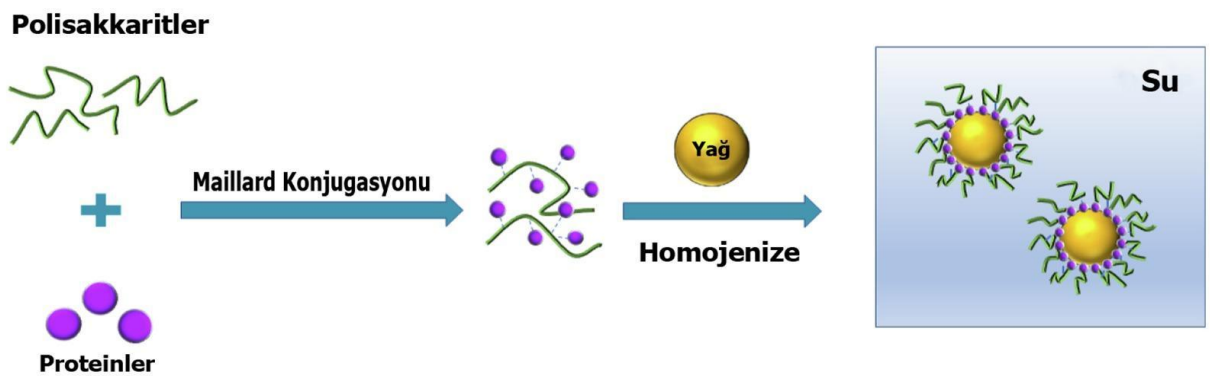
Yukarıda belirtilen çalışmalarda, çözünürlüğün artışı şu şekilde açıklanabilir: Hidrofilik polisakkaritlerin proteine bağlanması, hidrofilik grupların sayısını ve konjugatın hidrojen bağı oluşturma kapasitesini artırarak protein ile su arasındaki etkileşimi güçlendirebilir. Ayrıca glikasyon, proteinin yük özelliklerini değiştirerek konjugatın negatif yüklerini artırabilir. Bu durum, proteinin izoelektrik noktasını daha düşük bir pH değerine kaydırarak, geniş bir pH aralığında çözünürlüğü iyileştirebilir (Jiménez-Castaño vd., 2005). Polisakkarit eklenmesi, proteinin yapısını değiştirerek sülfhidril gruplarının miktarını azaltır. Bu durum, protein molekülleri arasındaki etkileşimleri zayıflatarak agregasyonu önler ve çözünürlüğü artırır (Tang, 2017). Maillard reaksiyonu, protein yüzeyinde düzenlenmiş bir

hidrofilik-hidrofobik denge oluşturarak, protein-polisakkarit kovalent komplekslerinin çözünürlüğünü kontrol etmeyi sağlar (Álvarez vd., 2012).

Çözünürlüğün artmasında veya azalmasında gözlemlenen tutarsızlıklar, proteinlerin biyokimyasal karmaşıklığına ve reaksiyona giren polisakkaritlerin özelliklerine bağlanabilir. Artan çözünürlüğün, sınırlı glikasyon derecesine bağlı olduğu düşünülmektedir. Hidrofilik şeker kalıntılarının proteine sınırlı bağlanması, proteinin kendi kendine birleşme eğilimini azaltabilir. Bununla birlikte, disülfid köprülerinin ve peptitler arası çapraz bağlanmaların oluşumu da çözünürlüğün azalmasına neden olabilecek faktörler arasında yer almaktadır (Oliver vd., 2006b).

2.6.2. Emülsiyon oluşumu ve stabilitesi

Proteinlerin polisakkaritlerle glikasyonu, birçok proteinin emülsifiye edici özelliklerini artırmada umut verici bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Polisakkarit kısmı, yağ damlacıkları arasında güçlü bir sterik itme sağlar ve protein, bu damlacıkların yüzeyine bağlanır (Şekil 2.12) (Feng vd., 2016; Nooshkam ve Varidi, 2020). Konjugasyon sonrası proteinlerin emülsiyon oluşturma kabiliyetindeki iyileşmenin, esas olarak artan protein çözünürlüğü, daha etkili konsantrasyon ve sulu fazdaki belirgin hareketlilikten kaynaklandığı açıklanmıştır.



Şekil 2.12. Protein-polisakkarit konjugatı ile stabilize edilen emülsiyonların şematik gösterimi (Kan vd., 2021)

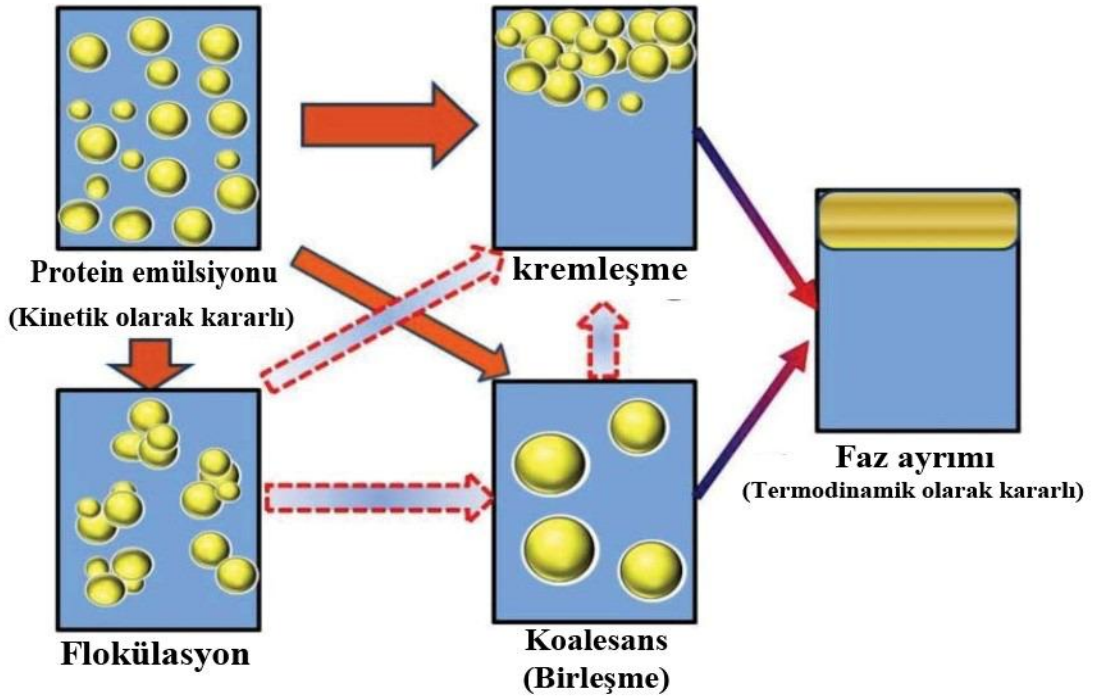
Emülsifiye etme performansı, proteinlerin emülsifiye etme özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli bir parametredir ve genellikle emülsifiye etme kapasitesi (EC)

ve emülsifiye etme aktivite indeksi (EAI) değerleri ile ölçülür. EC, birim protein başına emülsifiye edilebilen yağ miktarını ölçer (McClements, 2007). Emülsiyona katılan yağ hacmi ne kadar büyük olursa, proteinin EC'si de o kadar yüksek olur. EAI ise proteinlerin emülsifiye etme yeteneğini veya verimliliğini değerlendiren daha yaygın kullanılan bir parametredir. Genel olarak EAI, seyreltik bir emülsiyonun bulanıklık ölçümlerinden belirlenir ve belirli miktarda protein tarafından stabilize edilen emülsiyonlardaki damlacıkların toplam arayüzey alanı olarak tanımlanır (Cameron vd., 1991; Pearce ve Kinsella, 1978). Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) ise, emülsiyona belirli bir zamanda yapı değişikliklerine direnme gücü veren proteinin yeteneğini temsil eder (Burger ve Zhang, 2019).

Son yıllarda, damlacık boyutu analizi, proteinlerin emülsifiye etme performansını değerlendirmek için EAI'ye kıyasla daha çok tercih edilen ve daha hassas bir teknik haline gelmiştir. Bu yöntemi kullanırken, seyreltik bir emülsiyondaki tüm damlacıkların birbirinden ayrı olması gerektiğine dikkat edilmelidir. Bunu sağlamak için, damlacık boyutu ölçümleri genellikle sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığında gerçekleştirilir. Protein ile stabilize edilen bir emülsiyonun damlacık boyutu ne kadar küçükse, proteinin emülsifiye etme yeteneği o kadar yüksek kabul edilir (Tang, 2017).

Proteinle stabilize edilen bir emülsiyonun kararsızlığında, üç farklı süreç olan kremleşme, flokülasyon ve koalesans eş zamanlı olarak rol oynayabilir (Tang, 2017). Flokülasyon, iki veya daha fazla yağ damlacığının bireysel bütünlüklerini değiştirmeden birleşmesi olarak tanımlanır ve bu süreç, damlacıklar arasındaki çekim kuvvetleriyle desteklenir. Bir emülsiyonda damlacıkların flokülasyon eğilimi, esas olarak damlacıklar arasında etkili olan çekici ve itici kuvvetlerin dengesine bağlıdır: eğer çekici kuvvetler baskınsa, damlacıklar birleşme eğiliminde olur; ancak itici kuvvetler baskınsa, damlacıklar agregasyona karşı stabil kalır. Gıda emülsiyonlarındaki başlıca çekici etkileşimler van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimlerdir. Buna karşılık, başlıca itici etkileşimler elektrostatik ve sterik kuvvetlerdir (McClements, 2005). Proteinle stabilize edilmiş emülsiyonlarda, bireysel yağ damlacıklarının adsorbe olmuş yüzey filmleri arasındaki hidrofobik etkileşimler gibi ek kuvvetler de önemli hale gelebilir ve bu etkileşimler, yağ damlacıklarının flokülasyonunu teşvik etmede baskın rol oynayabilir (Damodaran, 2005).

Koalesans, iki veya daha fazla damlacığın birleşerek daha büyük tek bir damlacık oluşturmasıdır (Şekil 2.13). Kremleşme ise damlacıkların çevreleyen sıvıdan daha düşük yoğunluğa sahip olmaları nedeniyle yerçekimi etkisiyle yukarıya doğru ayrılmasıdır (McClements, 2005). Genellikle, emülsiyonlardaki yağ damlacıklarının flokülasyonu, damlacıkların koalesansını teşvik eder ve hem flokülasyon hem de koalesans, kremleşme sürecini hızlandırır (Tang, 2017).



Şekil 2.13. Proteinle stabilize edilen emülsiyonlarda gerçekleşen temel kararsızlık mekanizmalarının şematik diyagramı (Tang, 2017)

Emülsifiye edici özellik, Maillard konjugatlarının en çok çalışılan fonksiyonel özelliğidir (Zhang vd., 2019). Genel olarak, protein-polisakkarit konjugatlarının daha iyi emülsifiye edici özellikler sergilemesi beklenir. Geliştirilmiş emülsifiye edici özellikler birkaç faktörle açıklanabilir. İlk olarak, protein ile hidrofilik polisakkarit arasındaki konjugasyon, proteinin çözünürlüğünü artırarak, sulu çözeltideki protein konsantrasyonunu ve hareketliliğini iyileştirebilir. İkinci olarak, kovalent çapraz bağlanma, proteinin hidrofobik ve hidrofilik gruplarını moleküler yüzeylere maruz bırakabilir. Bu konformasyonel değişiklik, proteinlere daha esnek bir yapı kazandırarak, doğal proteinlere kıyasla yağ-su arayüzüne daha hızlı göç etmelerini, adsorbe olmalarını ve arayüzey filminde yeniden düzenlenmelerini sağlar (O'Mahony vd., 2017).

Wooster ve Augustin (2006), doğal β -Lg ve β -Lg-dextran konjugatı hazırlayarak su-yağ emülsiyonlarının arayüz kalınlığı ve stabilitesini incelemiştir. Düşük moleküler ağırlıklı (18.5 kDa) ve yüksek moleküler ağırlıklı (440 kDa) dekstranlar, %76 bağıl nemde 60°C'de 150 saat boyunca β -Lg ile glike edilmiştir. Elde edilen konjugatlar, doğal β -Lg'ye kıyasla daha yüksek arayüz kalınlıklarına sahip olmuştur. Bu durum, özellikle düşük moleküler ağırlıklı dekstranın, sterik engelleme etkisi ile kalsiyum kaynaklı flokülasyona karşı emülsiyon stabilitesini artırabileceğini göstermiştir.

Başka bir çalışmada, O'Regan ve Mulvihill (2010), sodyum kazeinat-maltodekstrin ile stabilize edilmiş yağ-su emülsiyonlarının termal ve donma-çözülme stabilitelerini incelemiştir. Konjugasyon %79 bağıl nem ve 60°C sıcaklıkta 4 gün süreyle kuru ısıtma uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Konjugatlar (ham ve anyon değişim kromatografisi ile saflaştırılmış) kazeinatla stabilize edilen emülsiyonlara kıyasla daha iyi depolama ve donma-çözme stabiliteleri göstermiştir. Bu iyileşme, konjuge edilmemiş maltodekstrinin sürekli fazdaki kalınlaştırıcı etkisi ve konjugatların arayüzde, maltodekstrin kısmının su fazına doğru çıkıntı yaparak hacimli biyopolimerik filmler oluşturma yeteneği ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum, daha fazla sterik stabilizasyon sağlayarak damlacık birleşmesini engellemiştir. Ayrıca, saflaştırılmış konjugatlar ile stabilize edilen emülsiyonlar, ham konjugatlar, kazeinat ve kazeinat-maltodekstrin karışımı ile stabilize edilenlere göre daha iyi ısı stabilitesi göstermiştir. Bu geliştirilmiş termal stabilite, emülsiyonun sulu fazında konjuge edilmemiş maltodekstrin konsantrasyonlarının düşük olmasıyla açıklanmıştır. Emülsiyonun ısıtılması sırasında Maillard reaksiyonu ürünlerinin oluşumu azalmış ve damlacıklar arasındaki agregasyon ve yağ küreciklerinin boyutları küçülmüştür. Ayrıca, saflaştırılmış konjugat, damlacık yüzeylerinde daha iyi sterik itme sağlamış ve ilgili emülsiyonların termal stabilitesini artırmıştır.

Dondurulmuş gıdalarda protein-polisakkarit konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların mükemmel stabilitesinin, su-yağ arayüzlerinde moleküllerin ve çoklu katmanların adsorpsiyonuna ve yağ damlacıkları arasındaki güçlü sterik itmeye bağlı olduğu öne sürülmüştür. Ancak, uzun süreli ısıtma, hidrofobik grupların açığa çıkmasına yol açabilir, bu da protein etkileşimlerini artırarak agregasyon ve çökelmeye neden olabilir (yani, kremleşme indeksini artırabilir) veya Maillard reaksiyon ürünlerinin bozulmasına ve

bunun sonucunda emülsiyonun fonksiyonel özelliklerinde azalmaya yol açabilir (Zhang vd., 2019).

Hashemi vd. (2018) çalışmalarında, yumurta beyazı lizozimi ile GA'yı ağırlıkça 1:1, 1:2 ve 1:4 oranlarında karıştırmıştır. Isıtma işlemi, %79 bağıl nem ortamında 60°C sıcaklıkta ve 10 gün süreyle kuru ısıtma yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Elde edilen konjugatların EAI ve ESI değerlerinde doğal lizozime kıyasla belirgin artış gözlenmiştir. Konjugatın EAI değeri doğal lizozime kıyasla 18 kat artış göstermiştir. Bu artış, GA'nın hidrofilik kısmının emülsiyonun sulu fazına yönelerek emülsiyon etrafında kalın bir sterik stabilizasyon tabakasının oluşumunu hızlandırması ve yağ damlacıklarının birleşmesini (koalesans) önlemesiyle açıklanabilir. Ayrıca, konjugatın ESI değeri de doğal lizozime göre yaklaşık 3 kat artış göstermiştir. Lizozimin emülsiyon stabilizasyonundaki rolü, emülsiyon oluşumu sırasında hidrofobik bölgelerinin yağ damlacıklarının yüzeyine tutunmasıyla ilişkilendirilmektedir.

Korkmaz (2024) ayçiçeği proteinini, GA ile kütlece 1:1 oranında karıştırarak 120 dakika ıslak ısıtma ile yaptığı konjugasyon işlemi ile ayçiçeği proteininin emülsiyon kapasitesinin %17,11-31.00 aralığında önemli düzeyde artmasını sağlamış ve işlem süresi arttıkça emülsiyon kapasitesinin artış eğilimi gösterdiğini saptamıştır. GA ilavesi ve 30 dakika süreli konjugasyon işlemi ayçiçeği proteininin emülsiyon stabilitesi üzerine önemli bir etkiye neden olmamıştır. Ancak konjugasyon işlem süresinin artması (60-120 dakika) ayçiçeği proteininin emülsiyon stabilitesinin azalmasıyla sonuçlanmıştır.

Polisakkaritin yapısı ve moleküler ağırlığı da konjugatların özelliklerini etkileyen önemli faktörlerdendir. Teorik olarak, yüksek moleküler ağırlığa sahip polisakkaritler artan sterik stabilizasyon sağlayabilirken, dallanmış yapıya sahip polisakkaritler daha fazla sterik engel sağlayarak yağ damlacıklarının birleşmesini önleyebilir. Bu özellikler, konjugatların emülsifiye edici yeteneklerini artırabilir (Xue vd., 2013). Ayrıca polisakkarit zincir uzunluğu da emülsiyon özelliklerini etkileyebilir. İki mol galaktomannan ile konjuge edilmiş lizozimin, bir mol galaktomannan ile konjuge edilmiş lizozime kıyasla daha iyi emülsifiye edici özellikler gösterdiği bildirilmiştir. Araştırma sonuçları, konjugatların emülsifiye edici özelliklerinin, polisakkarit zincir uzunluğunun artmasıyla birlikte iyileştiğini ortaya koymuştur (Shu vd.,1996).

Protein-polisakkarit konjugatlarının hidrofobik ve hidrofilik karakterleri arasındaki denge, konjugatların emülsifiye edici özelliklerini artırmak için kritik öneme sahiptir. Emülsifikasyon sırasında, protein moleküllerinin hidrofobik kalıntıları yağ damlacıklarına bağlanırken, sakkaritler yağ damlacığının etrafındaki su moleküllerini çeker. Bu etkileşim, yağ damlacıklarının birleşmesini engelleyerek emülsiyonun etrafında kalın ve stabil bir koruyucu tabakanın oluşumunu destekler (Oliver vd., 2006a).

Pirestani vd. (2017b) kanola protein izolatı ve GA konsantrasyonlarını sırasıyla %2 (a/h) ve %1 (a/h) olarak belirleyerek, çözeltileri 90°C'de 15 dakika ıslak ısıtma yöntemiyle konjuge etmiştir. Çalışma sonucunda, elde edilen konjugat, kanola protein izolatına kıyasla sırasıyla EAI'de %104 ve ESI'de %122 artış göstermiştir. Bu iyileşmenin temelinde, GA'nın proteine kovalent bağlanması yer almaktadır. Bu bağlanma, sterik engelleme yoluyla yağ damlacıklarının birleşmesini önlerken, aynı zamanda damlacıkların etrafında makromoleküler bir stabilizasyon filmi oluşturarak emülsifiye edici özellikleri geliştirmektedir. Bu mekanizma, sürekli fazın reolojisini değiştirmektense filmin oluşumunu desteklemektedir (Akhtar ve Dickinson, 2007; Dickinson, 2003; Diftis ve Kiosseoglou, 2006; Guo ve Xiong, 2013; Qi vd., 2010). Araştırmacıların bulguları, Maillard reaksiyonunun bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmedeki önemini vurgulamıştır. Özellikle protein çözünürlüğündeki artış, proteinin su/yağ arayüzüne hızlı bir şekilde taşınması ve orada tutunarak yağ damlacıklarının etrafında stabil bir film oluşturmasını sağlamaktadır. Bu durum, emülsifiye edici özelliklerin önemli ölçüde iyileşmesine katkıda bulunmaktadır (Diftis ve Kiosseoglou, 2003). Ayrıca, çözünürlük dışında, protein konformasyonu ve emülsiyon oluşumunu engelleyebilecek protein olmayan bileşenlerin varlığı gibi diğer faktörlerin de emülsifiye edici özellikler üzerinde etkili olduğu belirtilmelidir (Aluko ve McIntosh, 2001).

Mu vd. (2011) SPI-akasya gamı konjugatlarının emülsiyon özelliklerini değerlendirmiştir. SPI-akasya gamı sırasıyla 1:1 (a/a) oranında hazırlanarak, 80°C'de 0-48 saat boyunca ıslak ısıtmayla ısıtılmıştır. Uzun süreli reaksiyon sonucunda, SPI ve akasya gamı konjugasyonunun EAI değerinde kademeli ve anlamlı bir artışa neden olmuş ve en yüksek değere 16 saat sonra ulaşılmıştır. Elde edilen konjugatların EAI değerleri ile

çözünürlüğü arasında uyumlu sonuçlar bulunmuştur. Proteinlerin çözünürlüğü ile emülsifikasyon kapasitesi arasında pozitif bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir.

Wen vd.nin (2020) yaptığı çalışmada SPI ve lentinan kullanılarak iki farklı yöntem kullanılmıştır. İlk yöntemde SPI (%1, a/h) ve lentinan (%1, a/h) karıştırılmış ve çözelti 2 saat boyunca 90°C’de geleneksel ıslak ısıtmaya tabi tutulmuştur. İkinci yöntemde SPI ve lentinan farklı oranlarda (4:1, 2:1, 1:1, 1:2 ve 1:4 a/a) karıştırılmıştır. Ardından çözeltiler 20, 40 ve 60 dakika boyunca farklı sıcaklık (50-90°C) ve güçlerde (100-300 W) ultrasonik destekli ıslak ısıtmaya tabi tutulmuştur. Araştırma bulguları, ultrasound destekli ıslak ısıtma yöntemiyle elde edilen SPI-lentinan konjugatlarının, geleneksel ıslak ısıtma yöntemiyle elde edilenlere kıyasla daha yüksek EAI ve ESI değerleri sergilediğini göstermiştir. 40 dakika süreyle ultrasound uygulanan konjugatların EAI değeri, geleneksel ıslak ısıtmaya kıyasla sırasıyla %180,52 ve %88,28 oranında artış göstermiştir. Konjugatların ESI değerleri de EAI değerleriyle uyumlu olarak artmıştır. Sonuçlar, ultrasoundun protein moleküllerinin gerilimini artırarak şekere bağlanma potansiyelini desteklediğini ve yüzey gerilimini azalttığını ortaya koymaktadır. Bu etkiler, Maillard reaksiyonu sırasında emülsiyon özelliklerinin iyileşmesini sağlamıştır (Li vd., 2014a).

Genel olarak, protein-polisakkarit konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlar, asidik koşullar, yüksek iyonik kuvvet ve yüksek sıcaklık gibi zorlu koşullarda yalnızca proteinler ile stabilize edilen emülsiyonlara kıyasla daha yüksek stabiliteye sahiptir. Bu nedenle, glikasyon yoluyla modifiye edilmiş proteinler, denatürasyona duyarlı diğer emülgatörlere kıyasla, gıda sistemlerinde güçlü emülgatörler olarak kullanılabilir. Ayrıca, protein-polisakkarit konjugatlarının yağ damlacıklarının etrafında kohezif, geçirgen olmayan ve kalın bir arayüz tabakası oluşturabilme yeteneği, onları biyolojik olarak aktif bileşiklerin oksidanlar, proteolitik enzimler ve gastrointestinal sistemdeki (özellikle midede) asidik pH gibi bozucu faktörlere karşı korunmasını sağlayacak yeni taşıma sistemlerinin üretimi için mükemmel adaylar haline getirir (Nooshkam vd., 2020).

2.6.3. Viskozite ve viskoelastik davranış

Viskozite, bir akışkanın akmaya karşı gösterdiği iç direnç olarak tanımlanır (Franco ve Partal, 2004). Hiller ve Lorenzen (2010), protein çözeltilerinin viskozitesinin glikasyon

ile önemli ölçüde etkilendiğini bildirmiştir. Çalışmalarında süt proteinlerinin glikoz, laktoz, dekstran ve pektin ile konjugasyonu sonucunda, protein çözeltisinin viskozitesinde sırasıyla %164, %1066, %915 ve %3426 oranında artış gözlenmiştir. Bu artışın temel nedeni, glikasyon sonrası proteinlerin molar kütlelerinde meydana gelen artışın yanı sıra, oluşan protein-sakkarit konjugatlarının geliştirilmiş sterik engelleme etkisi ve su tutma kapasitesidir.

Oliver vd. (2006b), kazeinatın riboz, fruktoz, glikoz, laktoz, inülin ve inülin-fruktoz karışımı ile glikasyonunu, çeşitli bağıl nem seviyelerinde (%50, %67 ve %80), 60°C’de 120 saat boyunca Maillard reaksiyonunun kuru ısıtma yöntemiyle gerçekleştirmiştir. Tüm indirgen şekerlerin konjugasyonunun, modifiye edilmemiş kazeinata kıyasla viskozitede 10 ila 28 katlık belirgin bir artışa neden olduğu gözlemlenmiş ve bu artış sırasıyla riboz > glikoz > fruktoz > laktoz olarak belirlenmiştir. İnulin, konjugasyon sürecinde düşük kimyasal reaktivitesi ve sterik engellemesi nedeniyle protein viskozitesini önemli ölçüde artırmamıştır. Ancak, inülinin şeker-protein sistemine (1:1:0,2 oranında kazeinat:inülin:fruktoz) dahil edilmesi, jel oluşumunu engellemiş ve modifiye edilmemiş kazeinata kıyasla 15 katlık bir viskozite artışı sağlamıştır. Buna karşılık, bu artış kazeinat-fruktoz konjugatından 1,5 kat daha düşük bulunmuş ve uygulanan koşullar altında jel oluşturmuştur. Bu durum, oligosakkaritlerin varlığının, konjugasyon reaksiyonunu değiştirerek kazeinatın aşırı ısınmasını ve polimerizasyonunu önlemesiyle açıklanabilir. Başka bir çalışmada, araştırmacılar benzer bir sonucu fruktoz ve fruktoz-inülin karışımı kullanılarak üretilen kazeinat bazlı konjugatların viskozite ölçümlerinde de bildirmiştir (Oliver vd., 2006c).

Martinez-Alvarenga vd. (2014), kuru ısıtma yöntemi ile peynir altı suyu protein izolatını maltodekstrin ile konjuge ederek düşük, orta ve yüksek glikasyon derecelerine sahip konjugatları sınıflandırmıştır. Tüm çözeltilerin Newtonyen olmayan bir davranış sergilediğini ve Bingham plastik bir davranışa sahip olduğunu bildirmiştir. Bingham plastik modeli sıvının belirli bir stres değeri altında katı gibi davranması, bu stres aşıldığında ise akışkan gibi hareket etmesi anlamına gelir (Franco ve Partal, 2004). Glikasyon derecesi arttıkça çözeltide kalınlaştırıcı bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu etki, protein molekülünün artan hidrodinamik hacmi ile açıklanmıştır. Akma gerilmesi ise glikasyon derecesi arttıkça azalmış ve daha düşük streslerin akışı başlatmak için yeterli olduğu tespit

edilmiştir. Bu durum, glikasyon seviyesinin artmasıyla protein-protein arasındaki moleküller arası etkileşimlerin azaldığını göstermektedir.

Başka bir araştırmada, sığır serum albümini-aljinat çözeltisi (1:2 a/a) 0, 3, 16 ve 24 saat boyunca 60°C’de inkübe edilmiştir. Maillard reaksiyonuna dayalı kuru ısıtma yöntemiyle hazırlanan sığır serum albümini-aljinat çözeltilerinin viskozitesinin, ısıtılmamış protein-polisakkarit çözeltilerine kıyasla iki kat arttığı belirlenmiştir. Bu viskozite artışının, fonksiyonel gıdalarda farklı kontrollü salım hızlarının tasarlanmasında önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir. Özellikle, yüklü biyoaktif bileşiklerin etrafında oluşan dış difüzyon tabakasının viskozitesi, şişme-difüzyon kontrollü salım mekanizmalarını belirlemektedir. Daha yüksek viskozitenin, biyoaktif bileşiklerin salım hızını yavaşlattığı sonucuna varılmıştır (Khoder vd., 2019).

Maillard reaksiyonu, amino asit/peptit çözeltilerinin reolojik özelliklerini modifiye etmek için de kullanılmıştır. Nooshkam ve Madadlou (2016), peynir altı suyu proteini izolatu ve peynir altı suyu proteini hidrolizatını laktoz ve laktuloz ile mikrodalga yöntemiyle 600 W’da, pH 6’da 1 dakika boyunca konjuge etmiştir. Peynir altı suyu proteini izolatu/peynir altı suyu proteini hidrolizatı-laktoz/laktuloz konjuge çözeltileri, konjuge olmayan muadillerine kıyasla daha düşük akış indeksi ve daha yüksek kıvam katsayısı değerleri göstermiştir. Bu durum, yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerin oluşması sonucu viskozitede artışa yol açan akış direnci ile açıklanmıştır.

Bir diğer araştırmada, Sun vd. (2018), β -glukanın L-fenilalanin, L-glutamik asit amino asitleri ve soya peptiti, kollajen peptit I ve II peptitleri ile glikasyonunu incelemiştir. Karışımlar, (5,5:1 a/a) %75 bağıl nemde 60°C’de 7 gün boyunca kuru ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen β -glukan-amino asit konjugat çözeltisi, kayma incelmesi davranışı (Newtonyen olmayan sıvı) sergilemiş ve viskozitesi artmıştır. Bu artış, polimerin rastgele sarmal yapılarının bozulması, moleküllerin çözülmesi ve akış yönüne doğru hizalanması ile açıklanmıştır. Buna karşılık, β -glukan-peptit konjugatlarında viskozite azalmış ve kayma hızında Newtonyen sıvı davranışı gözlemlenmiştir.

Ayrıca, Al-Hakkak ve Al-Hakkak (2010), Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarında çözünmez ve parçalanmış bileşiklerin oluşabileceğini ve bunun sonucunda sistem viskozitesinde azalma görülebileceğini belirtmiştir.

2.6.4. Köpük oluşumu ve stabilitesi

Köpük oluşumu ve stabilitesi, süt, et, mayonez, dondurma, donmuş tatlılar, kekler, ekmekler, kremalar gibi birçok gıda ürününün kalitesini belirleyen önemli özelliklerdir. Köpük sistemleri, ürünün karışım kolaylığını, yapısını ve duyu kalitesini olumlu yönde etkileyerek nihai ürünün performansına katkıda bulunur. Bununla birlikte, köpük sistemleri termodinamik olarak kararsızdır ve kinetik stabilitesi, sistemde bulunan yüzey aktif bileşenlerin özelliklerine bağlıdır (Corzo-Martínez vd., 2012b). Adsorbe edilmiş protein tabakası, köpüğün oluşumu ve stabilitesi için kritik öneme sahiptir. İyi adsorbe edilen bir tabaka oluşturmak için, proteinlerin hava-su arayüzüne hızla yayılması ve kararlı bir şekilde adsorbe olması gerekir. Ancak, bazı hidrofobik bitki proteinlerinin, hidrofilik alanlarının olmaması nedeniyle arayüzde iyi bir stabilite sürdürmesi zordur (Li ve de Vries, 2018). Bu durumda hidrofilik polisakkaritlerle proteinlerin Maillard reaksiyonu yoluyla kombinasyonu köpürme özelliklerini iyileştirmek için etkili bir yöntem olabilir (Gharbi ve Labbafi, 2019).

Glikasyonun köpürme özellikleri üzerindeki etkisi, emülsifiye edici özelliklerde olduğu gibi, karbonhidrat ya da polisakkaritin türü ve boyutuna, reaksiyon süresine ve protein-polisakkarit oranına bağlıdır (Medrano vd., 2009; Corzo-Martinez vd., 2010).

Dickinson ve Izgi (1996), uzun süreli kuru ısıtma yöntemiyle oluşturulan polisakkarit-protein konjugatlarının köpük oluşumunu incelemişlerdir. Albümin, lizozim ve kazein ile dekstran %40-%79 bağıl nemde, 60°C'de ve 3 haftalık reaksiyon süresiyle konjuge edilmiştir. Sonuçlar, lizozim-dekstran konjugatlarının köpürme özelliklerini artırdığını, albümin-dekstran konjugatlarının yalnızca sınırlı bir iyileşme sağladığını, kazein-dekstran konjugatlarının ise olumsuz bir etki gösterdiğini ortaya koymuştur. Konjugasyonun etkilerinin polisakkaritin molar kütlesi arttıkça daha belirgin hale geldiği bulunmuştur. Araştırmacılar, kuru ısıtma tekniğinde protein fonksiyonelliğini artırmak için ideal bir reaksiyon süresi olduğunu ve bu sürenin protein türüne bağlı olarak değiştiğini

belirtmişlerdir. Bununla birlikte, Maillard reaksiyonunun ileri aşamalarına ulaşılması durumunda fonksiyonel özelliklerin azalabileceği vurgulanmıştır.

Martinez-Alvarenga vd. (2014), yaptıkları çalışmada peynir altı suyu proteini izolatu ve maltodekstrini 1:1 (a/a) ve 1:2 (a/a) oranında hazırlayarak 50-60°C'de, 24-48 saat kuru ısıtma ile ısıtmıştır. Maltodekstrin ile glikasyondan sonra peynir altı suyu proteini izolatının KK ve KS değerlerinde bir artış olduğu bildirilmiştir. Başka bir çalışmada da benzer şekilde, peynir altı suyu proteini izolatu ve peynir altı suyu protein hidrolizatının KK ve KS değerleri, laktoz ve laktuloz glikasyonu ile iyileştirilmiştir. Glikasyonun proteinlerin lipofilik ve hidrofilik dengesini değiştirebileceği ve köpük oluşumu sırasında hava kabarcıklarını yakalama ve köpük yapısında uzun süre tutma yeteneği artırılmış konjugatlar oluşturabileceği bildirilmiştir. Konjugatların, glikasyona uğramamış proteinlere kıyasla hapsedilen hava kabarcıklarının etrafında viskoelastik, kalın ve yoğun bir tabaka oluşturabildiği ve bu sayede köpüğün çökmesini önleyebildiği belirtilmiştir (Nooshkam ve Madadlou, 2016).

Sheng vd. (2020) yaptıkları araştırmada ağırlık oranları 4:1 olan pullulan ve ovalbümin karışımlarını 60°C'de %79 bağıl nemde kuru ısıtma ile inkübe etmiştir. Konjugatın köpüklerdeki drenajı önemli ölçüde geciktirdiği bildirilmiştir. Mikroskopik görüntülerde konjuge ovalbuminde KS'nin en iyi korunduğu açıkça gözlemlenmiştir. Konjuge ovalbüminde KS'nin %50,5 olduğunu ve bunun doğal proteinden 7,1 kat daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Konjugat köpükler, çırpıldıktan hemen sonra daha küçük ve homojen kabarcık boyutlarına sahipken, doğal protein ve ısıtılmış protein, homojen olmayan kabarcık boyutları sergilemiştir. Doğal protein köpüklerde hava kabarcıklarının küresel şekillerinin 30 dakika içinde korunamadığı; buna karşın ısıtılmış protein köpüklerinde çokyüzlü yapıların 60 dakikada, konjugatla stabilize edilmiş köpüklerde ise küresel morfolojinin 120 dakikalık depolama boyunca korunduğu açıkça gözlemlenmiştir. Bu durum, pullulan-ovalbümin konjugatının çözelti viskozitesini artırma, daha hacimli bir polimerik tabaka oluşturma ve hava/su arayüzü arasındaki sterik itmeyi engelleme özelliklerine bağlanmıştır.

Hussain vd.nin (2024) yaptıkları çalışmada, SPİ ve şeftali gamı, 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 ve 2:3 (a/a) kütle oranlarında hazırlanarak, 90°C sıcaklıkta 1, 3 ve 5 saat ıslak ısıtma yöntemiyle

Maillard reaksiyonunu indüklemek için işleme tabi tutulmuştur. Elde edilen SPI-şeftali gamı konjugatlarında, doğal SPI'ye kıyasla belirgin iyileştirilmiş köpük özellikleri gözlemlenmiştir. Şeftali gamının SPI'ye olan kütle oranının artmasıyla birlikte hem KK hem de KS değerleri anlamlı bir şekilde yükselmiştir. Wen vd. (2020) proteinlerin rastgele sarmal yapıya bağlı çözünürlüklerinin ve konformasyonlarındaki değişimlerinin, köpük özelliklerindeki artışı sağladığını ifade etmiştir. Bu çalışma kapsamında SPI-şeftali gamı konjugatlarının çözünürlüğüyle uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. KK ve KS'deki iyileşmenin bir diğer önemli nedeni, ısı ile gerçekleştirilen protein glikasyonudur. Bu süreç, proteinlerin rastgele yapı içeriklerini artırarak konjugatların köpük özelliklerini geliştirmiştir. Ayrıca, protein ile polisakkarit arasındaki glikasyon, proteinin viskozitesini ve çözünürlüğünü artırarak KK ve KS değerlerinin iyileştirilmesine katkı sağlamıştır.

Amirataşani vd.nin (2024) araştırmasında, mürdümük proteini izolatu-ksantan gam ile 20:1 kütle oranında hazırlanarak, 80°C'de 1-24 saat aralığında ıslak ısıtma yöntemiyle Maillard reaksiyonu indüklenmiştir. Çalışmada, konjugatların KK ve KS değerlerinde, saf mürdümük proteini izolatuına kıyasla konjugasyon süresinin uzamasıyla belirgin artışlar gözlemlenmiştir. Proteinlerin hava ve su arasındaki yüzeyde açılma ve adsorbe olma özelliklerinin, KK değerini artırdığı düşünülmektedir. Proteinlerin bu özellikleri, hava kabarcıklarının çevresinde stabil filmler oluşturarak kabarcıkların birleşmesini ve protein agregatlarının oluşmasını engellemektedir. Çözünürlük, proteinlerin yüzey özelliklerini ve dolayısıyla emülsifiye etme ile köpük oluşturma kapasitelerini etkileyen kritik bir faktördür. Proteinlerin yüksek çözünürlüğü sayesinde, üstün yüzeysel özelliklere sahip oldukları görülmektedir (Rezaei vd., 2022; Hamdani vd., 2018). Bu durum, konjugatların daha yüksek KK ve KS değerlerine sahip olmasını açıklar. Bununla birlikte, Maillard reaksiyonu süresinin uzamasıyla çözünürlükte bir azalma olduğu ve bu durumun KK değerinde düşüşe yol açtığı belirtilmiştir.

Korkmaz (2024), ayçiçeği proteini ve GA'yı 1:1 (a/a) oranında ıslak ısıtma yöntemiyle 90°C'de farklı sürelerde (0, 30, 60 ve 120 dakika) konjuge etmiştir. Çalışma sonucunda, konjugasyon süresinin artmasıyla ayçiçeği proteininin KK değerinin arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış, proteinlerin çözünürlüğünün artması sonucu daha geniş bir arayüzey alanı oluşmasına ve proteinlerin hidrofobik bölgelerinin yüzeye yönelenerek köpürme kapasitesini artırmasına atfedilmiştir. Ancak, GA ilavesinin KK değerine etkisi

istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0.05$). Buna karşılık, KS değerinde konjugasyon işlemiyle birlikte azalma meydana gelmiştir. Bu durum, proteinlerin yapı değişiklikleri sonucu stabil film oluşturma yeteneklerinin azalmasıyla açıklanabilir. Konjugasyon sürecinde proteinlerin yapısında meydana gelen modifikasyonlar, hava kabarcıkları çevresinde stabil film oluşturma ve kabarcıkların birleşmesini önleme kapasitelerini olumsuz yönde etkileyebilir.

Li vd. (2019) yaptıkları araştırmada %2 glikoz (a/h) ve %3 SPI (a/h) arasındaki Maillard reaksiyonunu 60°C'de, 0-6 saat aralığında ıslak ısıtma ile gerçekleştirmiştir. KK, işlem süresi boyunca artış göstererek 5. saatte en yüksek seviyesine ulaşmış, daha sonra ise azalmaya başlamıştır. KS'de de benzer bir eğilim gözlemlenmiştir. KK'deki artışın, Maillard reaksiyonu sırasında protein yapısının açılması, hidrofobik grupların ortaya çıkması ve esnekliğin artmasıyla ilişkili olabileceği ifade edilmiştir. SPI'nin açılmış peptit zinciri, hidrofobik kalıntılar arasındaki etkileşimi doğal halinden daha güçlü hale getirebilir ve böylece KS'yi artırabilir. Bu araştırmada, proteinlerin yapısı değişmiş ve bu nedenle KS iyileşmiştir.

Liu vd. (2012), kuru ısıtma yöntemiyle farklı reaksiyon sürelerinde (1, 4 ve 7 gün) elde edilen yer fıstığı proteini izolatu-dekstran konjugatlarının KK ve KS değerlerini karşılaştırmıştır. 4 ve 7 gün boyunca elde edilen konjugatlar, hem KK hem de KS açısından, doğal yer fıstığı proteini izolatu ve 1 günlük konjugatlara göre daha yüksek performans göstermiştir. Reaksiyon süresi arttıkça, protein moleküllerine daha fazla polisakkarit zinciri bağlanmış, bu da konjugatların hidrofilitesini artırmıştır. Bu nedenle, 4 ve 7 gün boyunca elde edilen konjugatlar, su içinde kolayca çözünerek hava-su arayüzüne hızla taşınmış ve doğal yer fıstığı proteini izolatu veya 1 günlük konjugatlara göre daha kararlı köpükler oluşturmuştur. Ayrıca, yağ-su arayüzünde kalın bir sterik tabaka oluşturarak emülsiyonu stabilize eden konjugatlar gibi, geliştirilmiş köpürme özelliklerine sahip konjugatlar da hava-su arayüzünde kalın ve viskoelastik bir tabaka oluşturarak, oluşan köpüklerin agregasyonunu etkili bir şekilde önleyebilmiştir (Dunlap ve Côté, 2005).

Shen ve Li (2021) yaptıkları çalışmada guar gamı-BPI konjugatlarını, karışımın kütle oranı 1:20 ve 1:40 (a/a) olacak şekilde 60°C'de 24 saat ıslak ısıtma metoduyla inkübe ederek hazırlamıştır. Araştırmada, 1:40 oranındaki konjugat, 1:20 oranındaki konjugata kıyasla

daha iyi KK ve KS göstermiştir. Ancak, her iki konjugatın köpürme özellikleri, modifiye edilmemiş BPİ ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular, yüksek moleküler ağırlıklı polisakkaritlerin proteine bağlanmasının köpürme özelliklerini iyileştirmediğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, proteinlerin aşırı modifikasyonunun KS’de bozulmaya ve kararsızlığa neden olabileceği belirtilmiştir. Bu durum, net yük yoğunluğunun artışı, köpük lamellerinde protein-protein etkileşimlerinin azalması ve hava-su arayüzeyinde elastik film oluşumunun engellenmesi ile açıklanmaktadır (Arogundade vd., 2013; Mirmoghtadaie vd., 2009).

2.6.5. Termal stabilite

Gıda işlemede ısı işlem kaçınılmazdır. Örneğin, pastörizasyon normalde gıda ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için kullanılır. Ancak, ısı işlem protein denatürasyonuna veya agregasyonuna neden olarak çözünürlüğü ve besin değerini azaltabilir ve bu da protein içeren ürünler için oldukça istenmeyen bir durumdur (Setiowati vd., 2020).

Gıda sektöründe, proteinlere zarar verebilecek ve besin değeri azalmasıyla konjugasyonda çökme ve yapı kaybına yol açabilecek yüksek sıcaklıklara karşı protein direncini belirlemek için genellikle termal stabilite dikkate alınır. Isıl işleme karşı protein direncini belirlemek için termal stabilite analizi kullanılır (De Oliveira vd., 2016). Diferansiyel taramalı kalorimetri, denatürasyon sıcaklığını (T_d) ve entalpi değişimlerini (ΔH) hesaplayarak proteinlerin termal davranışını belirlemek için kullanılır. T_d , proteinlerin termal stabilitesini tanımlamak için kullanılırken, ΔH , denatürasyon işlemi sırasında kovalent olmayan etkileşimlerin üstesinden gelmek için gereken enerjiyi ölçer. Genel olarak, daha yüksek T_d ve daha düşük ΔH , konjugatların daha iyi termal stabilitesine işaret eder (Choi vd., 2006). Doğal SPI ile karşılaştırıldığında, ultrasonik destekli ıslak ısıtma ile elde edilen SPI-lentinan konjugatı, daha yüksek bir T_d ve daha düşük bir entalpi göstermiştir. İyileştirilmiş termal stabilite, konjuge edilmiş polisakkaritlerin sağladığı hidrofiliklik ve sterik etkileşimlerin, termal olarak indüklenen adsorbe edilmemiş proteinlerin agregasyonunu önlemesi veya yavaşlatmasıyla açıklanabilir (Wen vd., 2020).

Termal stabilite, damlacık boyutundaki değişimlerle de değerlendirilebilir. İyi termal stabiliteye sahip emülsiyonlar, ısıtma sonrasında başlangıçtaki damlacık boyutlarını

koruyabilir. Sadece peynir altı suyu proteini izolatu ile stabilize edilen emülsiyonların, 85 °C’de 30 dakika ısıtıldıktan sonra damlacık çaplarının önemli ölçüde arttığı ve şiddetli krema oluşumu ile faz ayrılmasının meydana geldiği bulunmuştur. Buna karşılık, peynir altı suyu proteini izolatu-badem gamı ve peynir altı suyu proteini izolatu-keten tohumu müsilağı konjugatlarıyla stabilize edilen emülsiyonlarda, ısıtma sonrası damlacık çapında anlamlı bir değişim ve görünümde belirgin bir farklılık gözlenmemiştir (Sedaghat Doost vd., 2020).

Alvarez vd.nin (2012) yaptığı çalışmada izole edilmiş domuz kanı proteinlerinin dekstran ile yapılan konjugatları, ısıl işleminden sonra agregasyon ve çökelmeye karşı daha iyi bir direnç göstermiştir. Dekstran, protein agregasyonunu engelleyerek proteinler arası etkileşimleri önlemiş ve bunun sonucunda proteinlerin doğal yapısının korunmasını sağlamıştır. Bu iyileşme, protein-protein etkileşimlerini (örneğin, hidrofobik-hidrofobik) engelleyerek ve ısıtma işlemi sırasında proteinin doğal yapısını koruyarak elde edilmiştir. Ayrıca, polisakkarit kısmı, kalabalıklaşma etkisiyle (crowding effect), protein çözeltisinin kullanılabilirliğini azaltarak proteinin kompakt ve kararlı bir yapı benimsemesini sağlamıştır, bu da çökelmenin önlenmesine yardımcı olmuştur.

Anyonik polisakkaritlerin, konjuge proteinlerin termal stabilitesini hem sterik hem de elektrostatik itmeler yoluyla artırarak Maillard reaksiyonu sırasında katlanmamış protein moleküllerinin agregasyonunu önleyebileceği bildirilmiştir (Liu vd., 2019). Bu etki, özellikle protein-polisakkarit ile stabilize edilmiş yağ-su emülsiyonlarında daha belirgin hale gelir. Konjugatın yüksek termal stabilitesi, bu tür emülsiyonların donma-çözülme stabilitesini artırabilir ve dondurulmuş gıda ürünlerinde etkili bir emülgatör olarak kullanım alanını genişletebilir (Zhang vd., 2019).

Literatürde tutarsız sonuçlar da bildirilmiştir. Hiller ve Lorenzen’in (2010) süt proteinlerinin glikoz, laktoz, dekstran ve pektin ile glikasyonu üzerine yaptığı bir çalışmada, Maillard reaksiyonuna glikoz ve laktozun katılması durumunda proteinlerin ısıl stabilitesinin sırasıyla %11–92 ve %2–89 oranında azaldığı rapor edilmiştir. Buna karşılık, dekstran (maksimum %529) ve pektin (maksimum %173) süt proteinlerinin ısıl stabilitesini önemli ölçüde artırmıştır. Araştırmacılar, dallı zincirli (dekstran) veya yüklü (pektin) sakkaritlerle protein konjugasyonunun, ısının tetiklediği protein agregasyonunu sterik veya elektrostatik

olarak engelleyebileceğini; buna karşın glikasyon sırasında proteinin açılmasına neden olan şekerlerin, proteinlerin termal denatürasyona duyarlılığını artırabileceğini öne sürmüştür.

Buna karşılık, Chevalier vd. (2001), β -Lg'yi glikoz, arabinoz, riboz, rhamnoz ve laktoz ile farklı sıcaklıklarda (25°C-90°C) 1 saat boyunca ısıtmıştır. β -Lg'nin glikoz, arabinoz, riboz, rhamnoz ve laktoz ile glikasyonu sonrası, kontrol grubu β -Lg'ye (ısıtılmamış ve ısıtılmış protein) kıyasla termal stabilitesinde artış olduğunu bildirmiştir. Ayrıca, laktoz ile glikasyona uğrayan kazeinomakropeptitin önemli yapısal değişiklikler (örneğin, agregasyon ve polimerizasyon) geçirmemesi nedeniyle ısıl stabilitesinin etkilenmediği de literatürde belirtilmiştir (Moreno vd., 2002).

Konjuge peynir altı suyu proteinlerinin iyileştirilmiş termal stabilitesinin, glikasyon derecesine, karbonhidrat zincir uzunluğuna ve proteindeki konjugasyon bölgelerine bağlı olduğu bildirilmiştir. Yüksek moleküler ağırlıklı karbonhidratlar, monosakkaritlere kıyasla daha yüksek sterik itme kuvveti sağladığından proteinlerin termal stabilitesini önemli ölçüde artırmaktadır (O'Mahony vd., 2017). Maillard konjugasyonu sonucunda proteinlerin artan termal stabilitesi, şeker bağlanması nedeniyle Maillard reaksiyon ürünlerinin artan hidrofilikliğine ve dolayısıyla su tutma kapasitesine de bağlanmıştır (Wang vd., 2018).

Bununla birlikte, yer fıstığı protein izolatu ile glukomannan (Li vd., 2014a) ve yer fıstığı protein izolatu ile dekstran/GA (Li vd., 2014b) arasında yapılan konjugasyon işlemi sırasında yüzey hidrofobikliğinde artış gözlemlenmiştir. Araştırmacılar bu durumu, açığa çıkan hidrofobik gruplar arasında hidrofobik etkileşimlerin oluşabileceğini ve protein agregatları meydana getirerek konjuge proteinin termal kararlılığını düşürebileceğini öne sürmüşlerdir.

Liu vd. (2020) siyah pirinç glutelinini arabinoz, SA, laktoz ve maltodekstrin ile konjuge ederek fonksiyonel özelliklerini araştırmıştır. Siyah pirinç glutelininin konjugasyonu, siyah pirinç glutelini-arabinoz 1:2 (a/a), 1:3 SA (a/a), 1:1 maltodekstrin (a/a), ve 1:1 laktoz (a/a) oranlarında hazırlanarak Maillard reaksiyonu ile 90°C 'de 105 dakika inkübe edilmiştir. Konjugasyon işleminden sonra Td, siyah pirinç glutelini-laktoz için 124,28°C ile en yüksek değere ulaşmıştır. Karbonhidratlarla konjugasyon sonrası, siyah pirinç glutelininin Td değerinin önemli ölçüde artmış olması karbonhidrat zincirlerinin

eklenmesinin termal stabiliteyi veya üçüncül konformasyon stabilitesini artırdığını göstermektedir. Bu bulgu, konjugasyonun genellikle proteinlerin yüzey hidrofilikliğini ve net yükünü artırarak üçüncül konformasyonlarının stabilitesini iyileştirdiği gözlemiyle uyumludur (Tang vd., 2011). Ayrıca, daha büyük bir ΔH değeri, denatürasyonun gerçekleşmesi için daha fazla enerji harcandığını gösterir (Pirestani vd., 2018). Td, proteinlerin tersiyer yapısındaki hidrojen bağının kırılmasını en iyi şekilde yansıtır (Tang ve Sun, 2011). Bu çalışmada Td'nin önemli ölçüde artması üçüncül konformasyonel stabilitede kayda değer bir artış olduğunu işaret etmektedir.

Liu vd. (2012) yaptıkları çalışmada yer fıstığı protein izolatu ve dekstranı 1:1 (a/a) oranında hazırlayarak, 60°C ve %79 bağıl nemde 1,4 ve 7 gün süreyle kuru ısıtma ile konjuge etmiştir. Yer fıstığının protein yapısını oluşturan iki ana fraksiyon arachin ve conarachinin denatürasyon sıcaklıkları, dekstran ile konjugasyondan sonra sırasıyla 101,5°C ve 89,6°C'den 107,3°C ve 96,8°C'ye yükselmiştir. Dikkate değer bir diğer bulgu ise reaksiyon süresinin (1, 4 veya 7 gün) konjugasyonun neden olduğu denatürasyon sıcaklığı değişimleri üzerinde önemli bir etkisinin olmamasıdır. Yer fıstığı protein izolatlarının dekstran ile konjugasyonu, ekzotermik reaksiyonlar nedeniyle hidrofobik etkileşimlerin agregatlara dönüşebileceğini ve bunun da entalpiyi azaltılabileceğini ortaya koymuştur.

Kim ve Shin (2016), sığır serumu albümininin fucoidan ile konjugasyonunun termal stabilitesini kuru ısıtma yöntemiyle incelemişlerdir. Sonuç olarak, sığır serumu albümini-fucoidan konjugatlarında, doğal sığır serumu albüminine kıyasla denatürasyon sıcaklığında 20°C'den fazla artış ve entalpi değişiminde azalma gözlemlenmiştir. Araştırmacılar konjuge edilmiş proteinin denatürasyon sıcaklığındaki bu belirgin artışın, kovalent olarak çapraz bağlanmış polisakkarit zincirleri ile yakından ilişkili olduğunu, bununla birlikte entalpi değişiminin azalmasının nedeninin, proteinin konjugasyonunun ekzotermik bir reaksiyon olmasından kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Konjugasyon sonrası termal stabilite artışının, doğal proteinlerin denatürasyon sıcaklıklarının yükselmesi ile kendini gösterdiğini ve proteinlerin denatürasyon sıcaklıklarının üzerinde fonksiyonelliklerini sürdürmelerine olanak sağladığını belirtmişlerdir. Protein konjugasyonu termal kaynaklı agregasyonu engelleyebilmekte ve termal denatürasyon sıcaklığını artırabilmektedir.

Benzer şekilde, Boostani vd. (2017), SPI'yi dekstran ile kuru ısıtma yöntemiyle 60°C, %79 bağıl nemde 8 gün boyunca ısıtmıştır. Konjugasyondan sonra glisinin ve β -konglisinin fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklıklarının sırasıyla 88,9°C ve 73,8°C'den 97,1°C ve 80,5°C'ye çıktığı rapor edilmiştir.

Bununla birlikte, polisakkaritin moleküler ağırlığı arttıkça konjuge proteinin denatürasyon sıcaklığındaki artış derecesinin önce arttığı, ardından azaldığı görülmüştür (Xu vd., 2010). Ancak, ovalbumin-karboksimetil selüloz konjugatlarında polisakkarit moleküler ağırlığının artmasıyla birlikte denatürasyon sıcaklığının sürekli arttığı da bildirilmiştir (Geng vd., 2014).

2.6.6. Jelleşme

Protein jel oluşumu, birçok gıdanın doku, kalite ve duyu özelliklerini belirlemede önemli bir rol oynamaktadır (Foegeding ve Davis, 2011). Jel, kovalent ve kovalent olmayan bağlarla birbirine bağlanmış parçacıkların veya moleküllerin sürekli üç boyutlu bir ağı olarak tanımlanır. Bu ağ, büyük miktarda çözücüyü ve diğer küçük molekülleri hapsedebilir, böylece büyük miktarda sürekli olarak sıvı fazı koruyabilir. Gıda sistemlerinde çözücü sudur. Jel, katı ve sıvı arasındaki bir ara fazdır (Baier ve McClements, 2005; Damodaran, 2007).

Protein jelleşmesi, genellikle proteinlerin denatürasyon sıcaklıklarının üzerinde bir sıcaklıkta denatürasyona uğramasıyla gerçekleşir. Soğutma sonrasında ise üç boyutlu, iyi tanımlanmış bir jel ağı oluşur. Jelleşme özelliğinin değerlendirilmesinde en yaygın kullanılan yöntem, en düşük jelleşme konsantrasyonu (LGC) ölçümüdür. Bu yöntemde, protein dispersiyonları belirli bir süre tüplerde ısıtılır, ardından soğutularak tüp ters çevrilerek protein konsantrasyonu belirlenir. Genel olarak, LGC ne kadar düşükse, jelleşme yeteneği o kadar iyi kabul edilir (Gao vd., 2024b). Bu süreç, protein konsantrasyonu, sıcaklık, pH, iyonik güç ve ısıtma süresi gibi çeşitli faktörlerden etkilenir. Ayrıca, proteinlerin açılma durumu ve buna bağlı olarak jelleşme davranışı, kovalent polisakkaritlerle bağlanması yoluyla değiştirilebilir (Sun vd., 2011).

Cabodevila vd. (1994), SPI ile ksiloz veya glukono- δ -lakton çözeltisini kullanarak 121°C'de 60 dakika ısı ile indüklenen jeller hazırlamışlardır. Maillard reaksiyonu ile elde edilen jeller, daha fazla kovalent çapraz bağa sahip olduklarından, glukono- δ -lakton jellerine kıyasla daha düşük sinerez oranına, daha yüksek kırılma kuvvetine ve elastikiyete sahip olmuştur. Benzer sonuçlar Armstrong vd. (1994) tarafından da rapor edilmiştir. Bu çalışmada, sığır serum albümini ile ksiloz veya glukono- δ -lakton arasında hazırlanan jeller incelenmiş ve şekerlerin varlığında jel oluşumu için gereken protein konsantrasyonunun azalabileceği gözlemlenmiştir.

Arogundade vd.nin (2021) yaptıkları çalışmada tatlı patates proteini ve dekstran 1:1 (a/a) oranında hazırlanarak 1, 3, 5 ve 7 gün boyunca kuru ısıtma ile 60°C'de inkübe edilmiştir. Tatlı patates proteini-dekstran konjugatlarından elde edilen jeller, modifiye edilmemiş tatlı patates proteinine kıyasla önemli ölçüde artmış, sertlik ve esneklik göstermiştir.

Matsudomi vd. (2002) tarafından yapılan bir başka çalışmada, galaktomannan ile kurutulmuş yumurta beyazı 1:4 (a/a) oranında hazırlanarak 72 saat boyunca kuru ısıtma ile 60°C'de inkübe edilmiştir. Maillard reaksiyonu sonucunda, konjugatların kontrol jellere kıyasla daha yüksek su tutma kapasitesine ve jel dayanıklılığına sahip şeffaf bir jel elde edilmiştir. Ayrıca konjugat 90 °C'de ısıtıldığında ve geniş bir pH ile iyonik kuvvet aralığında neredeyse tamamen çözünürken, kontrol proteini benzer koşullarda çökelmiştir.

Zhao vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada glikoz ve maltoz, SPI dispersiyonlarına eklenerek %2, %4, %8 ve %16 (a/h) şeker konsantrasyonları elde edilmiştir. Dispersiyonlar 200 W ultrasonik güçte 20 dakika boyunca ultrasonik işlemle muamele edilmiştir. Daha sonra, dispersiyonlar 95°C'de 15 dakika süreyle ıslak ısıtma yöntemiyle işlenmiştir. Aynı karışım dispersiyonlarına, ultrasonik ön işlem uygulanmaksızın yalnızca 95°C'de 15 dakika ıslak ısıtma işlemi de uygulanmıştır. Çalışmada, SPI-şeker konjugatlarının jel özelliklerinin glikasyon sonucu azaldığı, ancak ultrasonik ön işlemlerin bu özellikleri iyileştirdiği belirtilmiştir.

Globüler proteinlerin (lizozim, sığır serum albümini ve soya) çözeltilerinin düşük moleküler ağırlıklı indirgen şekerler (ör. laktoz, riboz veya ksiloz) varlığında ısıtılmasının,

indirgen şekerlerin bulunmadığı koşullarda ısıtılan benzer örneklerden daha yüksek kırılma/kopma dayanımına sahip jellerin oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir. İndirgeyici şekerlerin varlığında gerçekleşen jelleşme süreci, daha düşük protein konsantrasyonlarında ve daha kısa sürelerde gerçekleşmektedir (Oliver vd., 2006a).

Spotti vd.nin (2013a, 2013b) çalışmalarında peynir altı suyu proteini izolatu, 60°C’de birkaç gün boyunca dekstran ile glikasyon işlemi uygulanarak peynir altı suyu proteini izolatu-dekstran konjugatları hazırlanmıştır. Konjugatlar, peynir altı suyu proteini izolatu-dekstran karışımları ve yalnızca peynir altı suyu proteini izolatu ile karşılaştırıldığında, mekanik olarak daha esnek jeller oluşturduğu ve bu jellerin kırılma gerilimi açısından herhangi bir olumsuzluk sergilemediği rapor edilmiştir. Ayrıca, bu jellerin sertliği de azalmıştır (Spotti vd., 2014). Araştırmacılar, dekstranın peynir altı suyu proteinine bağlanmasının protein yapısında derin değişikliklere neden olmadığını ve bu durumun, üçüncül yapının ısı stabilitesini artırarak jel oluşumu için daha yüksek sıcaklık ve süre gerektirdiğini öne sürmüşlerdir. Dekstran ile kuru ısıtma ile elde edilen glikasyon sonucunda peynir altı suyu proteini izolatının jel sertliğindeki azalmanın daha önce de rapor edildiği belirtilmiştir (Spotti vd., 2019; Sun vd., 2011).

Bununla birlikte, Maillard reaksiyonunun, protein ve indirgen şeker içeren bazı gıda ürünlerinde, örneğin yüksek proteinli beslenme barlarında, depolama süresi boyunca yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin oluşumuna yol açarak sert bir dokuya neden olduğu ve bu durumun tüketici kabul edilebilirliğinde sorunlara yol açabileceği belirtilmiştir. Bu durum, özellikle orta nemli gıdalarda (su aktivitesi: 0.6–0.8) Maillard reaksiyonunun hızlı ilerlemesiyle ilişkilidir (Zhou vd., 2013; Meng vd., 2019b).

Korkmaz (2024) yaptığı çalışmada 1:1 (a/a) oranında ayçiçeği proteini ve GA kullanarak ıslak ısıtma yöntemiyle 90°C’de 4 farklı sürede (0, 30, 60, 120 dakika) gerçekleştirdiği konjugasyon sonucunda, ayçiçeği proteininin en düşük jelleşme konsantrasyonunun GA ilavesi ve konjugasyon işlemiyle %18’e yükseldiğini, ayçiçeği proteini-GA ve ayçiçeği proteini konjugatlarının daha yüksek konsantrasyonlarda jel yapısı oluşturabildiğini saptamıştır. Deng vd. (2019) proteinlerin jelleşme davranışının moleküller arası disülfid bağları, hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlerden etkilenebileceğini vurgulamıştır. Shen vd. (2022) tarafından yapılan bir başka çalışma ise, BPI’nin GA ile

konjugasyonu sonucunda, en düşük jelleşme konsantrasyonunun %11'den %13'e yükseldiğini göstermiştir. Bu artışın, GA'nın suda düşük viskozite oluşturmamasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Gao vd. (2024b) ise konjugasyon işleminin, polisakkaritlerin protein yüzeyindeki hidrofobik bağlanma bölgelerindeki etkileşimi engellemesiyle oluşan sterik etki sonucunda en düşük jelleşme konsantrasyonunu düşürdüğünü öne sürmüştür.

Shen ve Li (2021) yaptıkları çalışmada guar gam-BPI konjugatlarını, karışımın kütle oranı 1:20 ve 1:40 olacak şekilde sırasıyla 60°C'de 24 saat ıslak ısıtma metoduyla inkübe ederek hazırlamıştır. Genel olarak, modifiye edilmiş BPI'nin tümünün jelleşme özellikleri, modifiye edilmemiş BPI'ye kıyasla daha düşük LGC değerleriyle anlamlı derecede iyileşmiştir. 1:20 oranındaki guar gam-BPI konjugatı, guar gam-BPI karışımına (1:20) kıyasla önemli ölçüde daha düşük LGC değeri sergilemiştir. Ayrıca her ikisi de 1:40 oranındaki konjugattan ve karışımdan daha iyi jelleşme özellikleri göstermiştir. Bunun nedeni, daha yüksek miktarda hidrokolloid ilavesinin proteinin jel kalınlaştırma işlevini iyileştirmesi (Saha ve Bhattacharya, 2010) ve konjugasyon yoluyla proteinin açılarak daha stabil bir jel ağı oluşumunda protein hidrofobik etkileşimini artırması ve jel oluşumu için gerekli protein miktarını azaltmasıdır (O'Kane vd., 2005).

Wang vd.nin (2018) yaptıkları çalışmada, kolza tohumu proteini izolatu ile dekstran 1:1 (a/a) oranında karıştırılarak sırasıyla 1, 2 ve 3 saat boyunca 90°C'de ıslak ısıtma yöntemiyle Maillard reaksiyonuna maruz bırakılmıştır. Kolza tohumu proteini izolatının LGC değeri, glikasyon işlemiyle %15'ten %12'ye önemli ölçüde azalmıştır. Bunun nedeni, ısıtma ile açılan proteinlerin hidrofobik etkileşimler yoluyla bağlanması, bu sayede daha güçlü jel ağları oluşturmaları ve jel oluşumu için gerekli protein miktarını azaltması olabilir. Bununla birlikte, yüksek düzeyde glikasyon uygulanmış kolza tohumu proteini izolatu, LGC'nin %15'ten %17'ye yükselmesine neden olmuştur. Araştırmacılar kolza tohumu proteinlerinin dekstran ile yalnızca orta derecede konjugasyonunun jelleşme özelliklerini iyileştirebileceğini, ancak aşırı konjugasyonun jelleşme özelliklerini azalttığını bildirmiştir. Bunun nedeni, polisakkarit kaplamalı konjuge protein molekülleri arasında ek statik alan yaratılmasıdır ve bu durumun protein hidrofobik etkileşimlerini engellemesidir (Liu vd., 2012).

3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada konjugasyonu gerçekleştirilen bitkisel protein, soğuk pres yağ ekstraksiyon atığından izole edilen fındık proteindir. Tombul varyetesinden beyazlatılmış iç fındık (*Corylus avellana*) örnekleri Yavuzkan Hazel Gıda (Giresun) bölgesinden temin edilmiştir. Beyazlatılmış fındıklardan yağ çıkarma işlemi Uğurluoğlu Bitkisel Yağ Gıda Koz. İth. İhr. Ltd. Şti.'nde (Konya) gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Fındık küspesinin bileşimi %97,33 kuru madde, %24,66 protein, %2,85 kül, %45,25 yağ olarak belirlenmiştir. GA ve SA Sigma Aldrich'ten (St. Louis, ABD) temin edilmiştir.



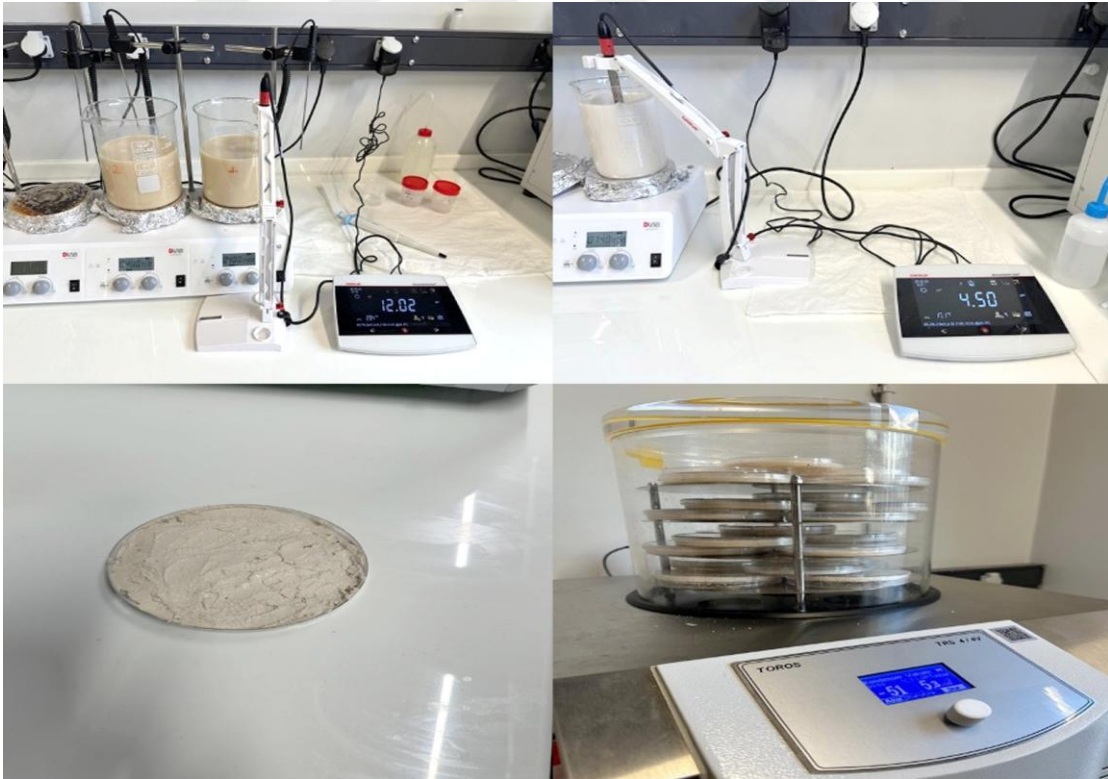
Şekil 3.1. Soğuk sıkım işlemiyle fındıklardan yağın uzaklaştırılması

3.2. Yöntem

3.2.1. Fındık posasından protein izolasyonu ve karakterizasyonu

Fındık proteinin ekstraksiyonu Tatar vd. (2015) tarafından önerilen yöntemin kısmi modifikasyonu ile gerçekleştirilmiştir. Soğuk presten pellet olarak elde edilen fındık küspesi

blender (Waring, 8011S, ABD) vasıtasıyla öğütülerek toz forma dönüştürülmüştür. Toz formdaki küspe oda sıcaklığında 1:12 (a/a) oranında saf su ile karıştırılıp homojenizatörde (Ultra turrax, Ika T 18, Almanya) 9000 rpm hızında 3 dakika süre ile homojenize edilmiştir. Homojenize süspansiyonun pH değeri 5 M NaOH kullanılarak ve manyetik karıştırıcıda karıştırılarak 12'ye ayarlanmıştır. Çözünen proteinleri çözünmeyen kısımlardan ayırmak için süspansiyon 9000 rpm hızında 4°C'de 15 dakika süreyle santrifüj (Hermle, Z 326 K, Almanya) edilmiştir. İşlem sonunda altta kalan kısım uzaklaştırılarak ekstraksiyon işlemi 3 kez tekrar edilmiştir. Supernatant bir beher içerisinde toplanarak izoelektrik pH'da (pH 4,5) proteinlerin çökmesi sağlanmış, çöken kısım aynı koşullarda santrifüj edilerek supernatant kısmı toplanmıştır. Supernatant bir liyofilizatör (Teknosem, Toros TRS-4/4V, Türkiye) yardımıyla -55 °C'de, 4 gün boyunca dondurularak kurutulmuş ve protein izolatu tozları elde edilmiştir (Şekil 3.2). Elde edilen tozların kuru madde içeriği, nem miktarı, toplam yağ, ham protein ve kül analizleri AOAC (2000) tarafından önerilen yöntemler esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Toplam kuru maddeden ham protein, toplam yağ ve kül miktarları çıkarılarak toplam karbonhidrat içeriği tespit edilmiştir (Çizelge 3.1).



Şekil 3.2. Soğuk sıkım atığı fındık küspesinden protein izolasyonu aşamaları

Çizelge 3.1. Fındık küspesi protein izolatına ait genel kompozisyon

	Kuru Madde (%)	Protein (%)	Yağ (%)	Karbonhidrat (%)	Mineral Madde (%)
Fındık Küspesi Protein İzolatı	97,05±0,02	80,05±0,07	10,15±0,03	5,85±0,12	1,60±0,01

3.2.2. Maillard konjugatlarının hazırlanması

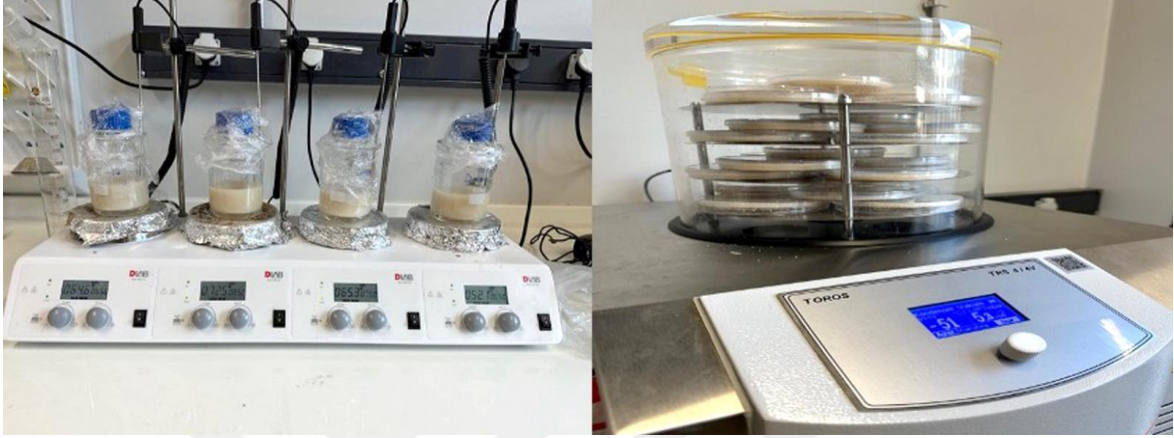
Gam arabik-fındık protein izolatı (GA-FPI) ve sodyum aljinat-fındık protein izolatı (SA-FPI) işlem koşullarının optimizasyonuna yönelik araştırma faaliyetleri yürütülmüştür. Literatür verileri dikkate alınarak, her bir karbonhidrat ile yürütülen çalışmalarda konjugasyon parametrelerinden sıcaklık (60-90°C), süre (3-12 saat) ve protein izolatı oranı (%25-%75) bağımsız değişken olarak kullanılarak, merkezi yanıt yüzey metodolojisi ile deneme planı hazırlanmıştır (n=20) (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Her iki karbonhidrat türü/ fındık protein izolatı konjugasyonu için kullanılan deneme planı

Örnek No	A:Sıcaklık	B:Süre (saat)	C:Oran (%)
1	75	7,5	50
2	90	7,5	50
3	75	7,5	50
4	60	7,5	50
5	85	10	35
6	75	7,5	50
7	85	5	65
8	65	10	35
9	65	5	35
10	75	7,5	50
11	85	10	65
12	65	10	65
13	75	12	50
14	75	7,5	50
15	65	5	65
16	85	5	35
17	75	7,5	25
18	75	7,5	50
19	75	3	50
20	75	7,5	75

Protein ve sakkaritler pH 7’de fosfat tamponu içinde çözündürüldükten sonra karışımdaki FPI oranı %6 olacak şekilde Çizelge 3.2’de belirlenen oranlarda 300 rpm hızda oda sıcaklığında gece boyunca hidrasyon için karıştırılmıştır. Deneme planına göre ısıtma

süreleri sonunda örnekler hızla soğutularak -18°C’de depolanmıştır. Dondurulan konjugatlar liyofilize edilerek toz haline getirilmiştir (Şekil 3.3). Liyofilize konjugat tozları analizler için 4°C’de muhafaza edilmiştir. Kontrol örneği olarak glikasyon uygulanmamış FPI dikkate alınmıştır.



Şekil 3.3. Islak ısıtma yöntemiyle gerçekleştirilen konjugasyon işlemi ve elde edilen tozların liyofilizasyonu

3.2.3. Optimizasyon işleminde uygulanan analizler

3.2.3.1. Protein çözünürlüğü

Konjugatların suda çözünürlükleri Klompong vd. (2007) tarafından önerilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 200 mg protein izolatı, 100 mL’lik bir beher içerisine tartılmış ve üzerine 20 mL saf su ilave edilerek oda sıcaklığında 1 saat süreyle karıştırılmıştır. Protein süspansiyonları santrifüj tüplerine aktarılarak 7500 rpm hızında 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üstte kalan fazdan 1 mL alınarak üzerine 1 mL Biuret çözeltisi ilave edilmiş, karışımın absorbansı UV-spektrofotometrede (Jasco, V-730, Japonya) 500 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Santrifüj sonrası üstte kalan fazın protein miktarı sığır serum albümini standart eğrisinden yararlanılarak hesaplanmış ve konjugatların suda çözünürlükleri Eşitlik 3.1 yardımıyla belirlenmiştir.

$$\text{Çözünürlük (\%)} = \frac{\text{Süpernatant protein miktarı}}{\text{Toplam protein miktarı}} \times 100 \quad (3.1)$$

3.2.3.2. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

Konjugatların emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi Pearce ve Kinsella (1978) tarafından geliştirilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. 300 mg konjugat 30 mL saf su ile karıştırılmış ve daha sonra bu karışımın üzerine 10 mL ayçiçeği yağı ilave edilmiştir. Karışım 20.000 rpm hızında 1 dakika homojenize edilmiştir. Emülsiyon oluştuktan hemen sonra ve 10 dakika sonra 50 µL emülsiyon örneği bir tüp içerisine alınarak üzerine 5 mL %0,1'lik SDS çözeltisi ilave edilmiştir. Bu karışımın 500 nm dalga boyundaki absorbansı, spektrofotometrede ölçülerek emülsiyon aktivitesi Eşitlik 3.2 ve stabilitesi Eşitlik 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Emülsiyon Aktivitesi (EA)} = \frac{2 \times 2,303 \times A_0}{0,25 \times \text{örnek miktarı (g)}} \quad (3.2)$$

$$\text{Emülsiyon Stabilitesi (ES)} = \frac{A_{10} \times \Delta t}{\Delta A} \quad (3.3)$$

Bu eşitliklerdeki A0 emülsiyon oluştuktan hemen sonraki absorbans değerini, A10 emülsiyon oluştuktan 10 dakika sonraki absorbans değerini, Δt 10 dakika ve ΔA başlangıç ve 10 dakika sonraki absorbans değeri arasındaki farkı ifade etmektedir.

3.2.3.3. Glikasyon derecesinin belirlenmesi

Maillard konjugatının glikasyon derecesi, O-phthaldialdehyde (OPA) kolorimetri yöntemi (Church vd., 1983) ile belirlenmiştir. OPA reaktifi (50 mL), 1,0 mL OPA çözeltisi (40 mg/mL, metanol içinde çözülmüş), 25 mL 0,1 M sodyum tetraborat tamponu, 2,5 mL %20 (a/a) SDS, 0,1 mL β-merkaptotanol ve deiyonize su ile iyice karıştırılarak taze olarak hazırlanmıştır. Konjugat çözeltisine (200 µL, protein konsantrasyon 2,0 mg/mL), 4,0 mL OPA reaktifi eklenip karışım 35°C'de 2 dakika inkübe edildikten sonra 340 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Deiyonize su kontrol olarak kullanılmıştır. Maillard konjugatlarının glikasyon derecesi Eşitlik 3.4'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Glikasyon Derecesi (GD) (\%)} = \frac{A_0 - A_T}{A_0} \quad (3.4)$$

A_0 glikasyondan önce, A_T glikasyondan sonra numunenin absorbansını ifade etmektedir.

3.2.3.4. HMF içeriği

Konjugatların Hidroksimetilfurfural (HMF) içeriğinin belirlenmesinde Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) (Agilent, 1260, ABD) kullanılmıştır (Oral vd., 2014). 0,2 g konjugat tozu üzerine 1 mL Carez 1 ve 1 mL Carez 2 ilave edilerek son hacim 10 mL'e tamamlanmıştır. 1 dakika vorteksleme işleminin ardından karışım 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Supernatant 0,22 μ m filtreden geçirilerek viallere konulmuş ardından HPLC'ye enjekte edilmiştir (Şekil 3.4).

HPLC koşulları:

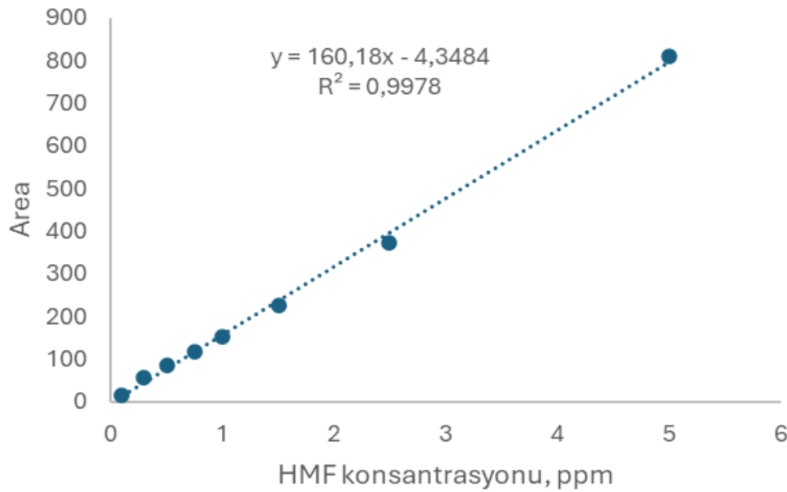
Hareketli faz: %1 asetronitril-su karışımı (5:95)

Akış hızı: 1 ml/dk

Süre: 20 dk

Kolon sıcaklığı: 25°C

Dalga boyu: 284 nm



Şekil 3.4. HPLC cihazında HMF bileşenine ait kalibrasyon eğrisi

3.2.3.5. Optimizasyon işlemi

Her bir karbonhidrat ile ayrı yürütülen çalışmada konjugasyon parametrelerinden sıcaklık, süre ve protein izolatu oranı bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Design Expert 13.0 (deneme sürümü) programında merkezi yanıt yüzey yöntemi kullanılarak hazırlanan deneme planı (n=20) Çizelge 4.1’de sunulmuştur. Bağımsız değişkenlerin her bir yanıt üzerindeki etkisi varyans analizi (ANOVA) kullanılarak belirlenmiştir. Anlamlılık değeri (p) 0.05’ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Bağımsız değişkenler ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra kuadratik ve interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir (Eşitlik 3.5).

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_3 X_3 + b_{11} X_1 X_1 + b_{22} X_2 X_2 + b_{33} X_3 X_3 + b_{12} X_1 X_2 + b_{13} X_1 X_3 + b_{23} X_2 X_3 \quad (3.5)$$

b_0 regresyon sabiti, b_1 , b_2 , b_3 lineer, b_{11} , b_{22} , b_{33} kuadratik, b_{12} , b_{13} , b_{23} etkileşim katsayıları ve X_1 , X_2 , X_3 bağımsız değişkenlerdir.

3.2.4. Karakterizasyon işlemi için uygulanan yöntemler

3.2.4.1. Viskozite ve jel kuvveti analizleri

Konjugatların $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta akış özellikleri 2° konik açılı ve 35 mm çaplı, konik-düzlem geometriye sahip (Thermo Scientific, Haake Mars 40, ABD) reometre cihazı ile belirlenmiştir. Bu amaçla %4 konjugat içerecek şekilde saf su ile süspansiyonlar hazırlanıp analizler gerçekleştirilmiştir. Süspansiyonlar $0-100 \text{ s}^{-1}$ arası değişen kayma hızında 300 saniye boyunca ölçüme tabi tutulmuştur. Süspansiyonların akış özelliği verileri Ostwald-de-Waele modeli ile uyumlanmış ve kayma gerilimine karşı kayma hızı grafiklerinden Eşitlik 3.6 yardımıyla viskozite, kıvam indeksi ve akış davranış özellikleri belirlenmiştir.

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad (3.6)$$

τ kayma gerilimi (Pa), K kıvam indeksini (Pa.s^n), $\dot{\gamma}$ kayma hızını (s^{-1}), n ise akış davranış indeksini ifade etmektedir.

Konjugatların viskoelastik özelliklerini belirlemek amacıyla dinamik reolojik testler gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, $25 \pm 0,1^\circ\text{C}$ sıcaklıkta yapılmış ve bu amaçla %4 konjugat içerecek şekilde saf su ile süspansiyon hazırlanmıştır. Çözeltinin lineer viskoelastik bölgesini belirlemek için 0,01-10 Pa aralığında ve 0,681 rad/s sabit frekansta stres tarama analizi uygulanmıştır. Ardından, belirlenen lineer viskoelastik bölgede 0,681-46,42 rad/s aralığında frekans tarama analizi gerçekleştirilmiştir.

Konjugatların jel oluşturma özellikleri, reometre cihazında sıcaklık tarama analizi ile belirlenmiştir. Bu amaçla, %4 konsantrasyonda hazırlanan konjugat süspansiyonu, 2° konik açılı ve 35 mm çapındaki konik-düzlem geometri kullanılarak, lineer viskoelastik bölgede sabit frekansta incelenmiştir. Örnekler, 25°C 'den 90°C 'ye kadar, $5^\circ\text{C}/\text{dakika}$ artış hızında ısıtılmış ve sabit basınç ile frekansta sıcaklık değişimine bağlı olarak proteinlerin depolama (G') ve kayıp (G'') modülleri kaydedilmiştir.

3.2.4.2. Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri

Renk parametreleri (L^* , a^* ve b^*) kolorimetrik yöntem ve kolorimetre (CR400, Konica Minolta, Kyoto, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Burada L^* aydınlığı, a^* yeşili ($-a^*$) veya kırmızıyı ($+a^*$) ve b^* maviyi ($-b^*$) veya sarıyı ($+b^*$) temsil etmektedir. Konjugatın toplam renk farkı değeri (ΔE), kontrol FPI'ye göre renk farkı Eşitlik 3.7 dikkate alınarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3.7)$$

Konjugatların esmerleşme indeksi Eşitlik 3.8 ve 3.9 kullanılarak hesaplanmıştır (Martinez-Alvarenga vd., 2014).

$$X = \frac{a+1,75L}{5,645.l + a-3,012b} \quad (3.8)$$

$$BI = \frac{100 (X-0,31)}{0,172} \quad (3.9)$$

BI esmerleşme indeksi ve x değeri boyutsuz sayıdır.

3.2.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi

FPI'nin ve optimum noktada elde edilen konjugatların FTIR (Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi) spektraları ATR-FTIR spektrometresi (Bruker, Alpha II, Ettlingen, Almanya) kullanılarak belirlenmiştir. Aynı zamanda α -helix, β -sheet, β -turn and ve random coil (rastgele sarmal) yapıları FTIR spektrometresi ile detaylı incelenmiştir. Proteinin ikincil yapısı, amid I bölgesindeki ($1600-1700 \text{ cm}^{-1}$) karakteristik absorpsiyon bandı kullanılarak ölçülmüştür.

Fourier ters evrişim yöntemiyle elde edilen Fourier evrişim eğrisi, ikinci türev analizini yapmak için kullanılmış ve amid I bandının ters evrişim eğrisi Gauss eğrisine uyarlanmıştır. Amid I'in ikinci türevlerinin bandı genellikle her bir ikincil yapının tepe noktalarının konumunu yansıtır ve ikincil yapı, her bir alt tepe noktasının konumu aracılığıyla hesaplanmıştır (Zhang vd., 2023).

3.2.4.4. Serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların belirlenmesi

Konjugasyon işleminin sülfidril (-SH) grupları üzerine etkilerinin belirlenmesi Ellman (1959) tarafından esas alınan yöntemle gerçekleştirilmiştir. Serbest -SH gruplarının belirlenmesi için 0,086 M Tris- (hidroksimetil) aminometan 0,09 M glisin ve 4 mM etilendiamin-tetra asetik asit disodyum tuzu ile pH 8 olacak şekilde tampon (A) çözeltisi hazırlanmıştır. Konjugatlar, %0,2 protein içerecek şekilde tampon (A) çözeltisi ile karıştırılarak 4°C'de 20.000 g santrifüj gücünde 15 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Üstte kalan fazdan 3 mL alınmış ve üzerine tampon (A) içerisinde çözündürülen 4 mg Ellman ajanından (5',5-dithiobis 2-nitrobenzoik asit, DTNB) 0,03 mL ilave edilmiştir. Karışım 20

°C'de karanlık ortamda 15 dakika bekletildikten sonra spektrofotometrede 412 nm dalga boyunda absorbans okunarak serbest –SH grupları belirlenmiştir (Hu vd., 2013). Toplam –SH gruplarının belirlenmesi amacıyla tampon (A) çözeltisine 8 M üre ve %0,5 (a/h) SDS ilave edilmiş ve yukarıda bahsedilen işlemler uygulanmıştır (Arzeni vd., 2012).

3.2.4.5. Zeta potansiyelinin tespiti

Proteinlerin emülsiyon oluşturma özellikleri üzerine çok etkili olan zeta potansiyeli ölçümleri amacıyla %4 konjugat içerecek şekilde hazırlanan süspansiyonlar 1:100 oranında ultra saf su ile seyreltilerek, 25°C'de Zetasizer Nano ZSP cihazı (Malvern Instruments, Malvern, Worcestershire, Birleşik Krallık) ile zeta potansiyeli ölçümlerine tabi tutulmuştur.

3.2.4.6. Yüzey hidrofobisite analizi

Protein süspansiyonlarının yüzey hidrofobisitesi Kato ve Nakai (1980) tarafından önerilen yöntem esas alınarak, Arzeni vd. (2012)'nin kullandığı yöntemle gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla kontrol ve konjuge protein örnekleri konsantrasyonları 0,4 mg/mL olacak şekilde pH 7'deki 0,1 M fosfat tamponu ile hazırlanmış, 1 saat manyetik karıştırıcıda çözündürülmüş ve 1.000 g'de 10 dakika santrifüj uygulanmıştır. Daha sonra her örneğin ayrı ayrı 0,025-0,2 mg/mL konsantrasyon aralığında protein süspansiyonları hazırlanmıştır. 0,0024 g/mL konsantrasyonundaki 1-anilino-8-naphthalene-sulfonate (ANS) (fosfat tamponunda çözündürülmüş) çözeltisinden 40 µL farklı konsantrasyonlarda hazırlanan protein süspansiyonlarının ve saf suyun (kör için) üzerine eklenmiş, oda sıcaklığında 15 dakika karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Son olarak kuvars küvetlere yerleştirilen süspansiyonların bir spektrofotometre yardımıyla 25°C'de 390 ve 468 nm dalga boylarında floresan yoğunlukları belirlenmiştir. Yüzey hidrofobisitesi, protein konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak floresan yoğunluğu grafiğinin başlangıçtaki eğimi olarak belirlenmiştir. Çözeltilerin yüzey hidrofobisite indeksi değerleri, dilüsyonların protein konsantrasyonuna karşı relatif floresan yoğunluğunun (RFI) ilk eğiminden hesaplanmıştır. RFI, Eşitlik 3.10 ile tanımlanmıştır (Segat vd., 2014).

$$RFI = \frac{F - F_0}{F_0} \quad (3.10)$$

F, protein-ANS konjugatının floresan okumasıdır ve F₀, proteinsiz ANS çözeltisinin okumasıdır.

3.2.4.7. İstatiksel analizler

Ekstrakte edilen FPI'nin GA ve SA ile konjugasyonundan elde edilen tozlar en az 3 tekrarlı olacak şekilde analiz edilmiştir. Örneklere ait tüm sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Kontrol örneği ile optimum noktada üretilen konjugatlar arasındaki farkın belirlenmesinde ikili karşılaştırma testi (t testi) uygulanmıştır. İstatistik analizlerin gerçekleştirilmesinde SPSS sürüm 21.0 (SPSS Institute Inc., Cary, NC, ABD) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatının Konjugasyonuna Ait Bulgular ve Tartışmalar

4.1.1. Glikasyon derecesi

Glikasyon derecesi, Maillard reaksiyonu boyunca oluşan glikasyon ürünlerinin karakterizasyonunda kullanılan ve glikasyon düzeyini yansıtan önemli bir parametredir. Bu derece, proteinlerdeki aktif amino gruplarının reaksiyona katılımıyla ilgili değişimleri ifade eder ve Maillard reaksiyonunda reaksiyona giren amino gruplarının miktarını belirlemeye olanak tanır (Zhao vd., 2016; Zhang vd., 2022). Yapılan analizlerde, SA-FPI konjugatlarının toz formundaki glikasyon derecesinin %8,11 ile %25,52 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Bağımsız değişkenlerin glikasyon derecesi üzerine etkilerinin belirlenmesinde kuadratik model önemli bulunmuştur. Konjugatların glikasyon derecesi üzerinde konjugasyon süresi ve protein:sakkarit oranının istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca sıcaklık ve oran değişkenlerinin interaksiyon etkileri de glikasyon derecesini etkileyen parametre olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.1. SA-FPİ konjugat tozlarına ait sonuçlar

Örnek	Glikasyon Derecesi (%)	Çözünürlük (%)	Emülsiyon Aktivitesi (m ² /g)	Emülsiyon Stabilitesi (%)	HMF (mg/kg)
K	1,36±0,26	15,23±1,36	7,11±1,22	80,65±1,03	1,13±0,19
1	21,00±0,48	37,16±2,40	37,17±0,65	146,49±1,85	5,17±0,09
2	11,06±0,13	40,19±0,45	33,27±0,13	112,09±4,14	5,52±0,05
3	8,11±1,13	43,15±1,98	21,24±2,97	66,26±2,38	5,34±0,14
4	12,35±0,23	39,80±0,45	27,71±0,02	120,49±2,25	5,26±0,31
5	19,53±2,68	32,31±0,36	23,80±0,44	149,95±4,92	3,84±0,11
6	13,16±1,19	32,03±0,80	36,08±1,41	119,10±3,37	4,35±0,09
7	12,26±0,78	66,75±2,18	28,26±2,77	180,02±2,58	6,06±0,17
8	22,62±0,73	31,80±0,72	35,13±0,29	99,34±9,94	3,93±0,02
9	16,78±0,27	57,55±2,78	30,61±0,71	92,02±1,03	3,73±0,19
10	18,60±0,6	34,46±1,19	21,48±0,53	106,83±3,95	4,59±0,11
11	9,06±1,49	41,08±1,14	27,62±3,49	127,99±2,84	5,98±0,12
12	9,19±1,11	49,65±2,41	33,75±3,57	95,70±2,50	5,95±0,22
13	15,21±1,9	34,75±0,30	31,23±9,34	153,38±5,99	4,71±0,20
14	18,26±1,04	34,17±0,11	23,29±0,81	121,39±5,77	4,73±0,06
15	8,19±1,23	47,37±4,20	29,65±1,07	113,39±4,40	6,01±0,16
16	13,34±0,01	38,13±0,85	23,77±0,59	138,50±12,24	3,96±0,05
17	25,52±0,07	31,67±2,94	24,24±6,39	83,78±7,63	3,21±0,08
18	14,66±0,66	36,66±1,61	20,29±0,04	223,74±24,75	4,56±0,08
19	17,56±1,11	58,54±4,97	20,05±0,09	331,03±23,88	4,79±0,06
20	16,98±1,18	34,91±1,13	31,18±0,02	186,54±0,12	3,01±0,06

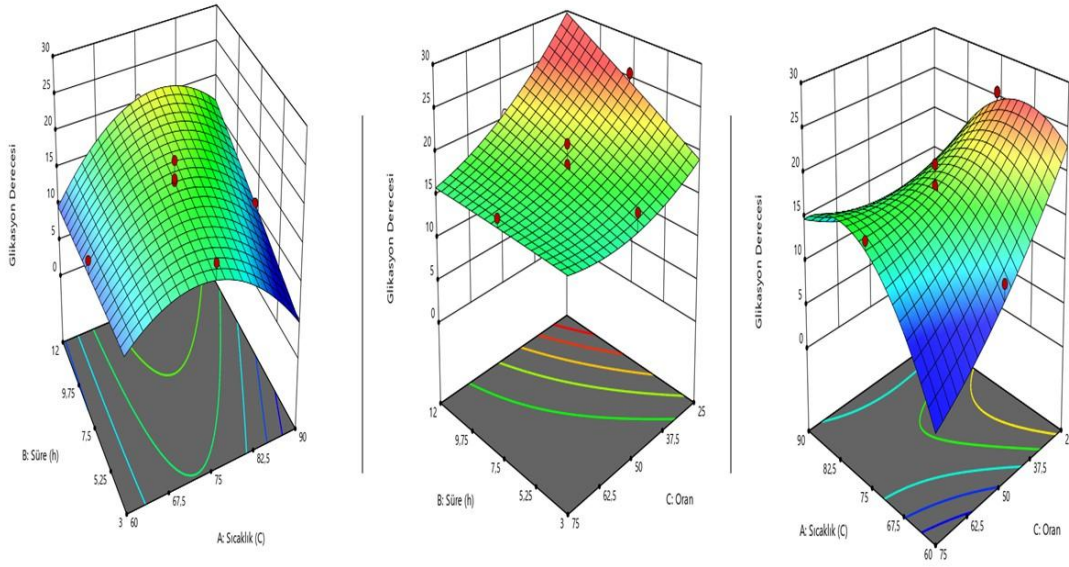
K: Kontrol, HMF: Hidroksimetilfurfural, ±: Standart sapma

Çizelge 4.2. SA-FPI konjugat tozlarına ait model sonuçları

	Glikasyon Derecesi		Çözünürlük		Emülsiyon Aktivitesi		Emülsiyon Stabilitesi		HMF	
	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P
Model	Kuadratik		Kuadratik		Kuadratik		Lineer		Lineer	
X ₁	0,3582	0,789	138,73	0,0158	46,58	0,0022	1981,04	0,0227	0,4085	0,1727
X ₂	35,19	0,0214	253,76	0,0028	0,2553	0,7689	174,85	0,465	0,0027	0,9083
X ₃	89,3	0,0015	71,46	0,044	49,7	0,0018	4695,91	0,0013	9,75	< 0,001
X ₁ X ₂	10,5	0,1675	15,85	0,35	1,94	0,4245				
X ₁ X ₃	38,05	0,0178	0,2795	0,899	1,6	0,4673				
X ₂ X ₃	6,6	0,2652	94,26	0,0379	18,28	0,0287				
X ₁ ²	101,06	0,001	16,25	0,3441	24,27	0,0147				
X ₂ ²	0,0194	0,9503	273,43	0,0022	144,37	<0,001				
X ₃ ²	7,64	0,233	3,05	0,676	65,35	0,0007				
Kalıntı	47,41		164,83		28,02		312,01			
Model	26,89	0,387	144,66	0,248	22,82	0,0651	441,97	0,0029	0,2254	0,3304
Uygunsuzluğu										
Saf Hata	20,52		20,17		5,2		26,08		0,1459	
R ²	0,8618		0,8381		0,9196		0,5785		0,76	
Düz. R ²	0,7374		0,6925		0,8473		0,4995		0,7151	
Tahmin. R ²	0,2789		0,1792		0,3983		0,2613		0,6	
Yeterli	9,1726		8,9483		9,1087		8,65		14,1925	
Tahminleme										

SS: Kareler toplamı, p: Anlamlılık değeri, X₁: Sıcaklık, X₂: Süre, X₃: Protein izolatı oranı, R²: Belirlilik katsayısı, Adj R²: Düzeltilmiş belirlilik katsayısı, HMF: Hidroksimetilfurfural

Konjugasyon işleminde FPI oranının artışı, glikasyon derecesini düşürücü bir etki göstermiştir (Şekil 4.1). Sıcaklık ve reaktan oranı interaksyonu birlikte incelendiğinde, en düşük glikasyon derecesinin yüksek FPI oranı ve düşük sıcaklık koşullarında elde edildiği tespit edilmiştir (p<0.05). Konjugasyon işlem süresinin artması, özellikle düşük FPI oranı içeren koşullarda glikasyon derecesini artırmıştır. Ancak ikili interaksyon dikkate alındığında, en yüksek glikasyon derecesinin, düşük FPI oranı ve uzun süreli işlem koşullarında ortaya çıktığı gözlemlenmiştir.

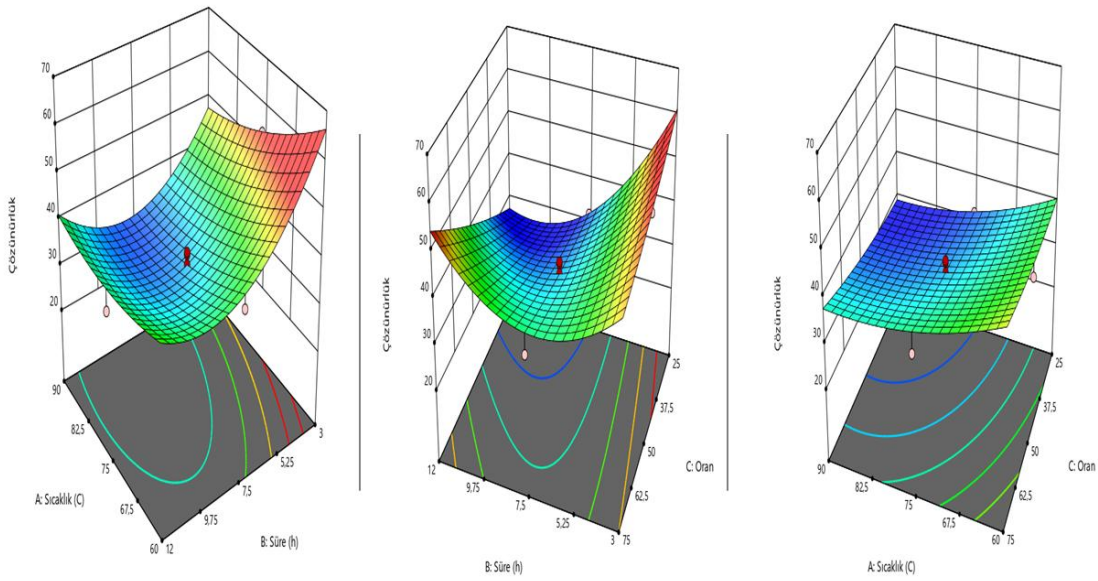


Şekil 4.1. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPİ konjugatlarının glikasyon derecesi üzerine etkisi

Süre ve sıcaklık etkileşimi incelendiğinde ise, en yüksek glikasyon derecesinin yüksek sıcaklık ve uzun konjugasyon süresi koşullarında elde edildiği tespit edilmiştir. Konjugasyon reaksiyonunun ilerlemesiyle birlikte proteinlerin primer amin grubu ile karbonhidratın terminal indirgeyici karbonil grubu arasında kovalent bağ oluşumu meydana gelmektedir (Martinez-Alvarenga vd., 2014). Reaksiyon ilerledikçe fındık proteinlerin yapısının kısmi açılması sonucu iç ϵ -amino gruplarının SA moleküllerinin indirgeyici gruplarıyla reaksiyona girmesine neden olmuştur. Literatürde benzer sonuçlar peynir altı suyu protein izolatı-GA (Chen vd., 2019) ve spirulina proteini-maltodekstrin konjugatlarında da (Zhang vd., 2023) rapor edilmiştir. FPİ oranının azalması dolayısıyla SA miktarının konjugasyonda artması, aljinatın daha fazla karbonil grup bağlamasına ve proteinlerle konjugasyonun oluşmasını kolaylaştırmasına yol açmaktadır. Reaktan oranının glikasyon derecesi üzerine etkisine benzer bir sonuç ise acı badem gamı (BG)-SPİ konjugatlarında tespit edilmiştir. BG: SPİ oranı 1:1 iken %18,72 olan glikasyon derecesi, BG: SPİ oranı 3:1'e çıktığında %25,17 değerine ulaşmıştır (Ghaedi ve Hosseini, 2021). Ayrıca, BPİ-ksantan gam konjugasyonunun incelendiği bir başka çalışmada ise ksantan gam miktarının artmasıyla glikasyon derecesi %10,29'dan %19,05'e artış göstermiştir (Choi vd., 2023).

4.1.2. Çözünürlük

İşlem koşullarının çözünürlük değerleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde kuadratik model önemli bulunmuştur. FPI'nin çözünürlüğü %15,23 olarak belirlenmiş olup, SA-FPI konjugat tozlarının çözünürlük değerleri ise %31,67 ile %66,75 arasında değişim göstermiştir (Çizelge 4.1). Çözünürlük değerleri üzerine işlem koşullarından sıcaklık, oran ve sürenin etkisi (Çizelge 4.2) önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.2. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının çözünürlük değeri üzerine etkisi

Sıcaklığın konjugatların çözünürlüğü üzerindeki etkisi negatif yönde olmuştur. Sıcaklık arttıkça konjugatların çözünürlük değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Benzer etki reaksiyon süresinde de gözlemlenmiştir. Isıtma süresinin artması FPI oranının düşük olduğu koşullarda çözünürlükte azalmaya neden olurken, FPI oranının yüksek olduğu koşullarda önemli bir değişime yol açmamıştır. En yüksek çözünürlük, düşük reaktan oranı ve düşük konjugasyon süresi koşullarında elde edilmiştir. Süre ve sıcaklık etkileşimi incelendiğinde ise en yüksek çözünürlük değeri, düşük sıcaklık ve kısa süre koşullarında gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bununla birlikte, konjugasyon süresinin uzaması sıcaklık değişiminden bağımsız olarak çözünürlük özelliğini etkilememiştir (Şekil 4.2). Maillard reaksiyonu sırasında çözünürlükte meydana gelen azalma, proteinlerin artan yüzey hidrofobikliğinden kaynaklanabilir. Bu durum hidrofobik-hidrofobik etkileşimlerin

artmasına yol açarak protein agregatlarının oluşumuna neden olabilmektedir. Özellikle uzun ısıtma sürelerinde bu etki daha belirgin hale gelebilmektedir. Amino asit kalıntılarının (örneğin lizin), Maillard reaksiyonunun ileri aşamasında 3-deoksiglukozon, glioksal ve metilglioksal gibi bazı Maillard reaksiyon ürünleriyle reaksiyona girmesi gıda proteinlerinin çözünürlüğünü azaltabilecek moleküller arası veya moleküller arası çapraz bağlar oluşturmaya da dikkate alınmalıdır (Le vd., 2013).

Literatürde benzer sonuçlar farklı konjugasyon çalışmalarında tespit edilmiştir. Zhao vd.nin (2022) yaptığı çalışmada BPİ ve ksilo-oligosakkaritler farklı ağırlık oranlarında (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 2:1) ultrasonik destekli ıslak ısıtma yöntemiyle 15-35 dakika arasında, 50-90°C aralığında konjuge edilmiştir. Çalışmada, 70°C'de 20 dakika süreyle BPİ ve ksilo-oligosakkarit (1:3 oranında) kullanıldığında, çözünürlük %80-98 aralığında maksimum bir artış göstermiştir. Bu artış, ksilo-oligosakkaritlerin protein yüzeyindeki hidrofobik bölgeleri kaplayarak su ile etkileşimleri artırması ve protein-polisakkarit bağlanma etkinliğini optimize etmesiyle ilişkilendirilmiştir. Düşük sıcaklık ve kısa süreler, protein stabilitesini koruyarak bağlanma mekanizmalarını desteklemiştir. Ancak sıcaklık 70°C'nin üzerine çıktığında ve işlem süresi 45 dakikaya uzadığında, çözünürlükte %20-30 oranında bir azalma gözlenmiştir. Bu azalma, yüksek sıcaklık ve uzun sürelerin protein stabilitesini bozması, denatürasyona ve agregasyona neden olması ile açıklanmıştır. Yüksek sıcaklık, proteinlerin hidrofobik bölgelerinin açılmasını artırmış, bu da protein-protein etkileşimlerini ve denatürasyon ile agregasyonu tetikleyerek çözünürlüğü olumsuz etkilemiştir. Ayrıca, BPİ ve ksilo-oligosakkarit oranı 1:3'ün üzerine çıktığında, çözünürlükte belirgin bir düşüş meydana gelmiştir. Bu durum, ksilo-oligosakkaritlerin yüksek konsantrasyonlarda sistemde sterik engelleme yaratarak protein difüzyonunu ve hareketliliğini sınırlamasıyla açıklanmıştır. Dolayısıyla, düşük reaktan oranlarında ksilo-oligosakkaritlerin hidrofobik bölgeleri kaplayarak çözünürlüğü artırdığı; ancak yüksek oranlarda bu etkilerin yerini engelleyici mekanizmalara bıraktığı görülmüştür. Bu bulgular, düşük sıcaklık ve kısa sürelerin protein stabilitesini koruyarak çözünürlüğü artırdığını; ancak yüksek sıcaklık ve uzun sürelerin çözünürlük üzerinde olumsuz etkilere neden olabileceğini göstermektedir.

Benzer şekilde, Cheng vd. (2018) Maillard reaksiyonu ile pirinç proteini-dekstran konjugatlarının yapısını ve işlevsel özelliklerini incelemiştir. Pirinç proteini ve dekstranı farklı kütle oranlarında (25:1, 20:1, 15:1, 10:1, 5:1, 2:1 ve 1:1), 80-100°C aralığında ve 10-

30 dakika arasında ıslak ısıtma yöntemiyle konjuge etmiştir. Maillard reaksiyonu ile elde edilen dekstran-pirinç proteini konjugatlarının çözünürlüğünün doğal pirinç proteinine kıyasla 7,5 kat arttığı, artışın reaksiyon sıcaklığına ve reaktan oranlarına bağlı olduğunu bildirmiştir. 95°C'ye kadar artan sıcaklık, proteinin çözünürlüğünü artırırken; 100°C'ye gelindiğinde, esas olarak moleküller arası protein-protein etkileşimleri, özellikle de hidrofobik etkileşimlerle proteinin agregatlaşması çözünürlüğü azaltmıştır. Protein miktarındaki artış, glikasyon derecesinde ve ardından pirinç proteini çözünürlüğünde azalmaya yol açmıştır.

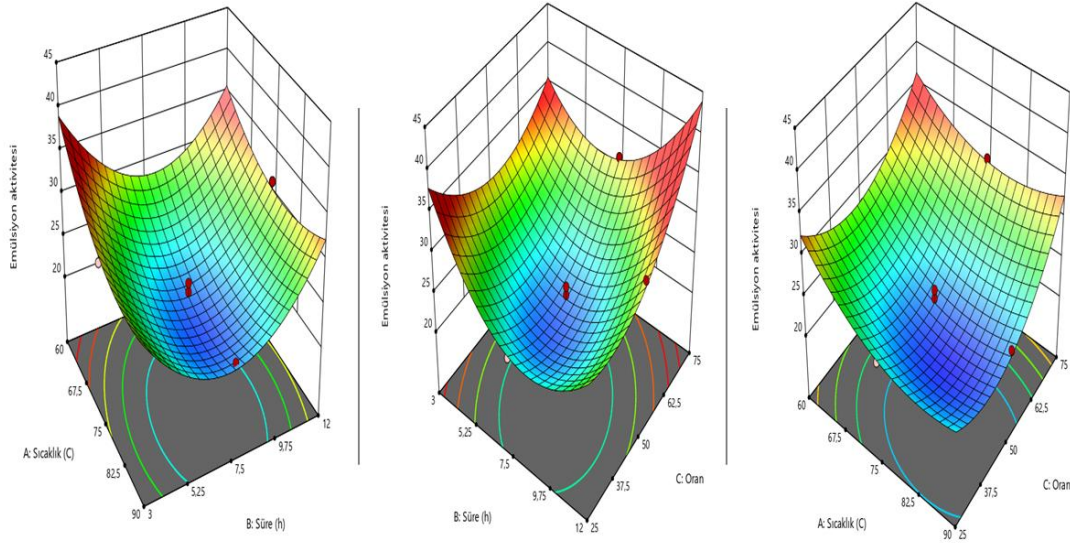
Bu bağlamda Wang vd. (2018) soya fasulyesi protein izolatının ksiloz veya fruktoz ile şeker-protein oranı 1:4 (a:a) oranında ve 10 saat boyunca 80°C'de ıslak ısıtma yoluyla konjuge edilmesiyle, çözünürlüğün 6 saate kadar önemli ölçüde arttığını belirtmiştir. Reaksiyon süresi 10. saate ulaştığında çözünürlüğün azaldığı gözlemlenmiştir. Uzun süreli ısıtma periyodunda azalan çözünürlüğün, Maillard'ın son aşamaya ilerlemesine ve çözünmeyen bileşik oluşumuna neden olabileceği ifade edilmiştir.

Hussain vd. (2024) yaptıkları çalışmada, SPI ve şeftali gamı konjugatlarını 1:1, 1:2, 1:3, 2:1 ve 2:3 (a/a) kütle oranlarında hazırlayarak, 90°C sıcaklıkta, ıslak ısıtma yöntemiyle 1, 3 ve 5 saat boyunca konjuge etmiştir. Şeftali gamının SPI'ye olan kütle oranı arttıkça çözünürlükte artan bir eğilim gözlemlenmiştir. Uygulamalar arasında en yüksek çözünürlük oranı %52,2 ile SPI - şeftali gamı (1:3) grubunda, en düşük çözünürlük oranı ise SPI-şeftali gamı (1:1) grubunda kaydedilmiştir.

4.1.3. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

İşlem koşullarının emülsiyon aktivitesi değeri üzerine etkilerinin belirlenmesinde kuadratik model önemli bulunmuştur (Çizelge 4.2). Kontrol FPI'nin 7,11 m²/g olan emülsiyon aktivitesi değeri 20,05-37,17 m²/g değerlerine yükselmiştir (Çizelge 4.1). Konjugasyon sonrası proteinlerin emülsiyon oluşturma kabiliyetindeki iyileşmenin, esas olarak artan protein çözünürlüğü ve sulu fazdaki belirgin hareketlilikten kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, glikasyonun neden olduğu protein yapı değişiklikleri (örneğin, proteinlerin yapısının açılması ve ardından hidrofilik ve hidrofobik grupların açığa çıkması), glikasyona uğratılmamış proteinlere kıyasla yağ-su arayüzüne daha hızlı göç ve adsorpsiyon

sağlayan daha esnek yapılar oluşturmaktadır (O'Mahony vd., 2017). İşlem koşullarından sıcaklık ve reaktan oranının etkisi emülsiyon aktivitesi değeri üzerine önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). FPI oranı arttıkça uzun süreli ısıtma işleminde emülsiyon aktivitesi değerlerinde artış gözlemlenmiştir. En yüksek emülsiyon aktivitesi değerleri yüksek FPI oranı-uzun konjugasyon süresi ve yüksek FPI oranı-düşük konjugasyon sıcaklık koşullarında tespit edilmiştir (Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının emülsiyon aktivitesi üzerine etkisi

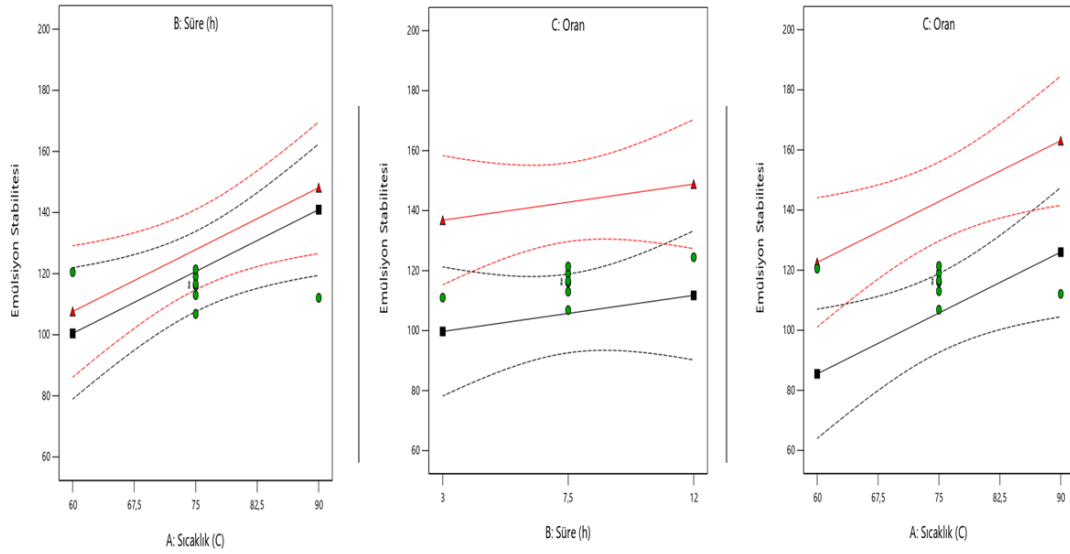
Konjugat hazırlamada kullanılan başlangıç protein:polisakkarit oranı, emülsifikasyon kapasitesini etkileyebilir. Örneğin, aşırı miktarda oligosakkarit kullanılması daha fazla oranda proteine bağlanmaya neden olur ve sterik stabilizasyona yol açarak emülsifiye edici özellikleri artırmaktadır (Nakamura ve Kato, 2000). Çünkü, polisakkarit ve oligosakkaritin yapısı ve moleküler ağırlığı, konjugatların özelliklerini ve konjugasyonu etkilemektedir (Matemu vd., 2009). Teorik olarak, daha yüksek moleküler ağırlığa sahip sakkaritler sterik stabilizasyon sağlayabilirken, dallanmış sakkaritler daha fazla sterik engel sağlayarak yağ damlacıklarının birleşmesini önleyebilir ve bu da konjugatların emülsifiye edici özelliklerini iyileştirebilir. Ayrıca bazı polisakkaritlerin protein kısımları konjugatın emülsifikasyon performansını iyileştirmeye yardımcı olabilir. Kuru ısıtma yöntemiyle hazırlanan SPI-maltodekstrin ve SPI-akasya gamı konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

üzerine yapılan karşılaştırmalı bir çalışmada, SPI'nin emülsifiye edici özelliklerinin her iki polisakkaritte konjugasyonla belirgin şekilde iyileştiği gözlemlenmiştir. SPI-akasya gamı konjugatının EAI ve ESI değerleri sırasıyla SPI-maltodekstrin konjugatına kıyasla %24,2 ve %56,6 oranında artmıştır. Akasya gamının oldukça dallanmış yapısı ve karbonhidrat zincirinde bulunan az sayıda protein kalıntısından ötürü emülsiyon özelliklerinin daha fazla geliştiği belirtilmiştir. Bu kalıntılar yağ yüzeyine yapışabilir ve bir emülsiyon stabilizatörü görevi görebildiği ifade edilmiştir (Xue vd., 2013).

Niu vd. (2011), buğday tohumu proteini ve çeşitli karbonhidratlarla (glukoz, ksiloz, laktoz, dekstran ve maltodekstrin) hazırlanan konjugatların emülsiyon özelliklerini değerlendirmiştir. Buğday tohumu proteini ve belirtilen sakkaritler (%2, a/h) ıslak ısıtma yöntemiyle 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40 ve 50 dakika boyunca ısıtılmıştır. Elde edilen konjugatların 20 dakika boyunca 90°C'de ısıtılması sonucunda dekstran, diğer karbonhidratlara kıyasla en iyi emülsifiye edici özellikleri gösterdiği belirlenmiştir. Dekstran ile hazırlanan konjugatların emülsiyon stabilitesi %55'e, çözünürlüğü ise %84'e ulaşmıştır.

Li vd. (2019) yaptıkları çalışmada glukoz (2 g/100 mL) ve SPI (3 g/100 mL) arasındaki Maillard reaksiyonunu 60°C'de sırasıyla 0, 2, 3, 4, 5 ve 6 saat ıslak ısıtma yöntemi kullanarak incelemiştir. İşlem görmemiş SPI ile karşılaştırıldığında SPI-glukoz konjugatlarının EAI değerlerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. Bu artışın iki açıdan analiz edilebileceği ifade edilmiştir. Birincisi, SPI'nin ikincil yapısının değişmesi ve esnekliğinin artmasıdır; bu durum, protein emülsiyonunun yağ-su arayüzünde genişlemesini ve yeniden dağılımını teşvik ederek proteinlerin emülsifiye etme aktivitesini iyileştirmiştir. İkincisi ise Maillard reaksiyonunun protein yapısını değiştirerek hidrofobik grupları ortaya çıkarması ve proteinlerin hidrofobikliğini artırmasıdır.

Bu çalışmada ise konjugatlara ait emülsiyon stabilitesi değerleri üzerine lineer model anlamlı bulunmasına rağmen düşük R^2 ve önemli model uygunsuzluğu değerinin çıkması, modelin tahminleme gücünü azaltmıştır. Emülsiyon aktivitesinde olduğu gibi oran ve sıcaklığın etkisi stabilite üzerinde önemli bulunmuştur (Şekil 4.4). Emülsiyon stabilitesi değerleri konjugasyon işlemiyle %66,26-%331,03 arasında belirlenmiştir.

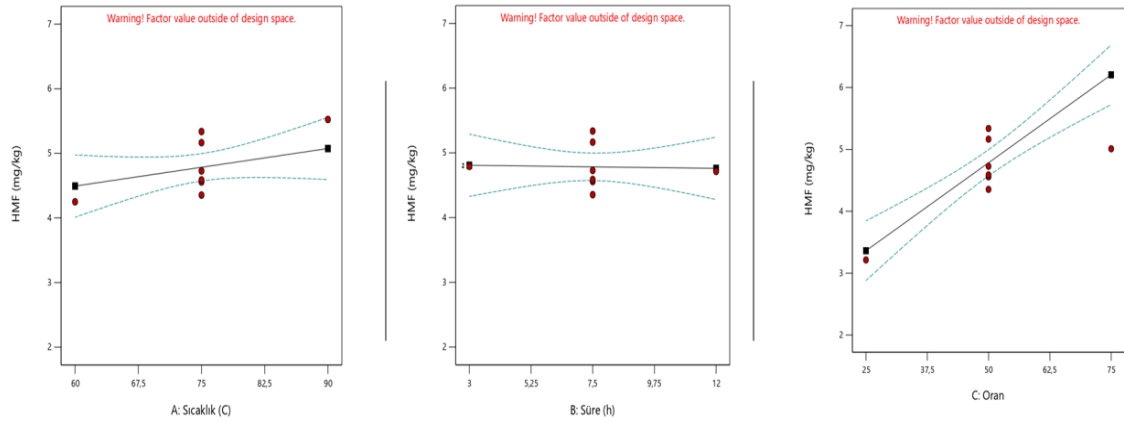


Şekil 4.4. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının emülsiyon stabilitesi üzerine etkisi

Yukarıda bahsedilen çalışmada Li vd. (2019), emülsiyon stabilite değerinin önce arttığını, ardından önemli ölçüde azaldığını ve maksimum seviyesine 5. saatte ulaştığını belirtmiştir. Sonuçlar, Maillard reaksiyonunun proteinin emülsiyon stabilitesini anlamlı şekilde iyileştirebileceğini göstermiştir. Bu artışın, glikoz moleküllerinin SPI'nin peptit zincirine kovalent bağ ile bağlanması sonucunda proteinin sterik engelinin artması ve yüzey proteinlerinin polimerizasyonunun zorlaşmasından kaynaklanabileceği belirlenmiştir (Zang vd., 2017). Ayrıca, glikoz ilavesinin protein çözeltisinin viskozitesini artırarak emülsiyon stabilitesi üzerinde etkili olabileceği ifade edilmiştir. Kato vd. (1985), protein moleküllerinin esnekliğinin ne kadar yüksekse emülsifiye etme özelliklerinin o kadar iyi olduğunu belirtmiştir. Ancak, reaksiyon süresinin uzamasının proteinlerin yeniden birleşmesine yol açarak EAI ve emülsiyon stabilitesi değerlerini azaltabileceği belirtilmiştir. Boonlao vd. (2023) SPI'nin maltodekstrin ile kısa süreli (30-60 dakika) konjugasyonunda emülsiyon stabilitesinde artış gözlemlemesine rağmen, konjugasyon süresinin artmasının (90-120 dakika) emülsiyon stabilitesini azalttığını tespit etmiştir. Uzun işlem sürelerinin, proteinlerin agregasyonuna neden olarak emülsifikasyon özelliklerini azaltabileceğini bildirmiştir.

4.1.4. HMF miktarı

HMF, ısıtıl işlem sırasında şekerler ile amino asitler arasındaki reaksiyon sonucu oluşan bir bileşiktir ve birçok üründe aşırı ısı uygulamasını önlemek amacıyla miktarı sınırlandırılmaktadır (Tosi vd., 2022). HMF, proses koşullarının optimizasyonunu sağlamak için kullanılabilecek önemli bir kalite parametresi olarak değerlendirilirken (Toker vd., 2013), özellikle bal gibi gıdalarda yapılan taşıması belirlemek amacıyla da kullanılmaktadır (Pasias vd., 2017). Aynı zamanda gıda güvenliği açısından izlenmesi gereken kritik bir bileşik olarak öne çıkmaktadır (Gaspar ve Lucena, 2009). Bu nedenle, HMF hem kalite hem de gıda güvenliği parametresi olarak incelenmesi gereken önemli bir kimyasal indikatör olarak karşımıza çıkmaktadır. Çalışmada, SA-FPI konjugatlarının HMF içerikleri 3,01-6,06 mg/kg arasında tespit edilmiştir. Bu değerler, literatürde kek ve ekmek (Petisca vd., 2014), soya sosu (Wu vd., 2017) ve cips (Fang vd., 2011), bisküvi (Svecova ve Mach, 2017) gibi gıdalarda tespit edilen aralıklar arasında yer almaktadır. Sıcaklık ve FPI oranının artması, HMF miktarında artışa yol açsa da (Şekil 4.5), konjugat bileşenlerinden sadece protein oranının HMF değeri üzerindeki etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.001$).



Şekil 4.5. Glikasyon işlem koşullarının SA-FPI konjugatlarının HMF değeri üzerine etkisi

Çizelge 4.3'te SA-FPI konjugat tozlarına ait glikasyon derecesi, çözünürlük, emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi ve HMF değerlerine ait tahminleme katsayıları verilmiştir.

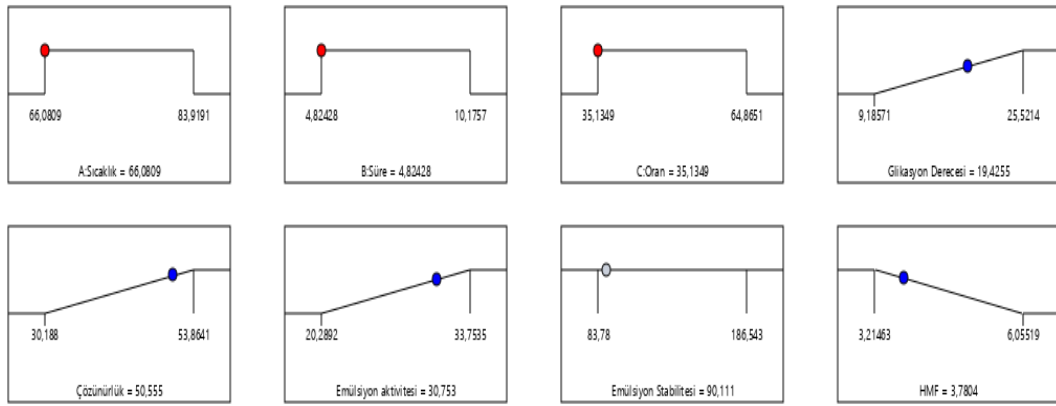
Çizelge 4.3. SA-FPİ konjugat tozlarına ait tahminleme katsayıları

Faktör	Glikasyon Derecesi	Çözünürlük	Emülsiyon Aktivitesi	Emülsiyon Stabilitesi	HMF
B ₀	18,17	34,44	21,63	124,28	4,78
X ₁	0,162	-3,19	-1,85	12,04	0,173
X ₂	1,61	-4,31	-0,1367	3,58	-0,0142
X ₃	-2,56	2,29	1,91	18,54	0,8451
X ₁ X ₂	1,15	1,41	0,4928		
X ₁ X ₃	2,18	0,1869	0,4472		
X ₂ X ₃	-0,9086	3,43	1,51		
X ₁₂	-2,65	1,06	1,3		
X ₂₂	-0,0367	4,36	3,17		
X ₃₂	0,7282	0,4604	2,13		

X₁: Sıcaklık, X₂: Süre (saat), X₃: Oran (%), HMF: Hidroksimetilfurfural

4.1.5. Sodyum aljinat-fındık protein izolatu konjugasyonunun işlem koşullarının optimizasyonu

Çoklu kritere göre optimizasyon işlemi istenirlik fonksiyonu (desirability) vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıtı göre istekler minimum ve maksimum olarak tercih edilmiştir. Glikasyon derecesi, çözünürlük, emülsiyon aktivitesi için maksimum; HMF için minimum değerler hedef belirlendikten sonra optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu hedefler doğrultusunda SA-FPİ konjugasyonu için optimum proses koşulları Şekil 4.6'da verilmiştir. Bu koşullar için istenirlik değerleri 0,761 olarak belirlenmiştir.



Desirability = 0,761
Solution 1 out of 59

Factor Coding: Actual

All Responses

● Design Points

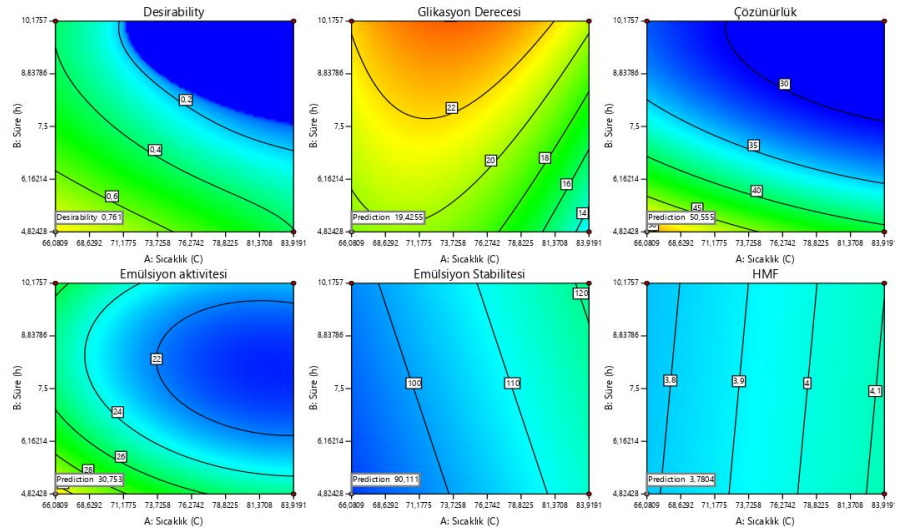
0,000 1,000

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 35,1349



Şekil 4.6. SA-FPI konjugatlarının optimum koşulları

Çizelge 4.4'te optimum noktadaki teorik değerler ile optimum noktada üretimleri gerçekleştiren deneysel değerler verilmiş, bu değerler arasındaki sapma değerleri yüzde olarak hesaplanmıştır. Değerler arasındaki sapma değerleri -5,82 ile +5,93 arasında değişim göstermektedir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda deneysel ve teorik verilerin yakın olduğu gözlemlenmektedir.

Çizelge 4.4. SA-FPİ konjugasyonuna ait optimum noktadaki tahmini değerler ve deneysel veriler

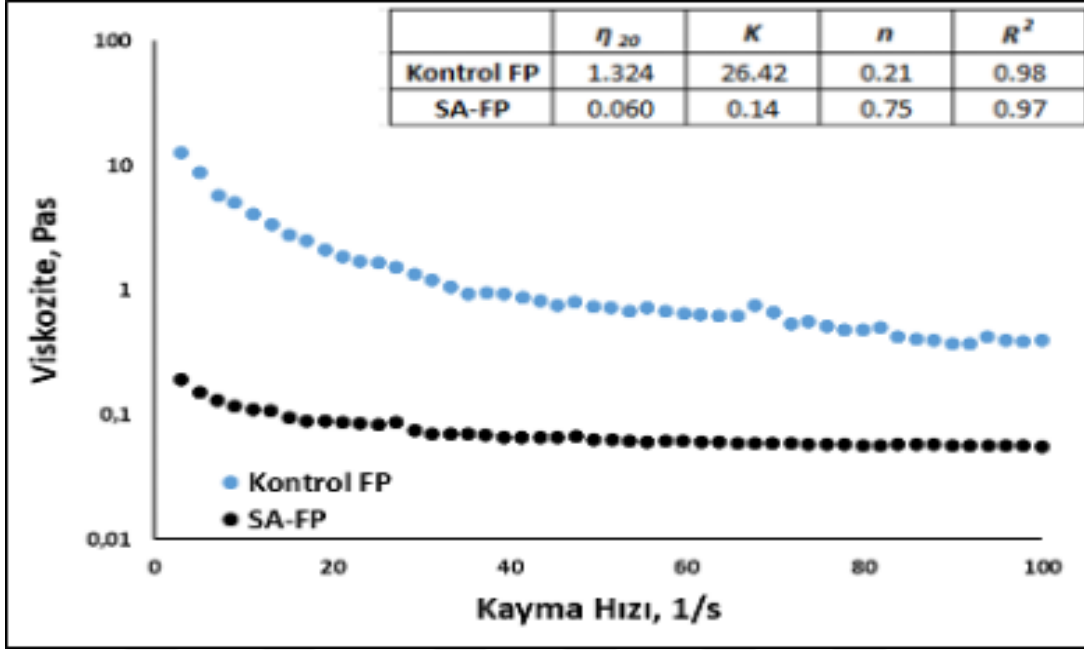
Örnek	A Sıcaklık (°C)	B Süre (h)	C Oran (%)	Glikasyon Derecesi	Çözünürlük	Emülsiyon Aktivitesi	Emülsiyon Stabilitesi	HMF
Teorik	66,08	4,83	35,13	19,42	50,55	30,75	90,11	3,78
Deneysel	66,08	4,83	35,13	20,16	52,12	31,55	95,45	3,56
Sapma (%)				+3,81	+3,11	+2,60	+5,93	-5,82

HMF: Hidroksimetilfurfural

4.2. Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karakterizasyon Analizleri

4.2.1. Viskozite ve jel kuvveti analizleri

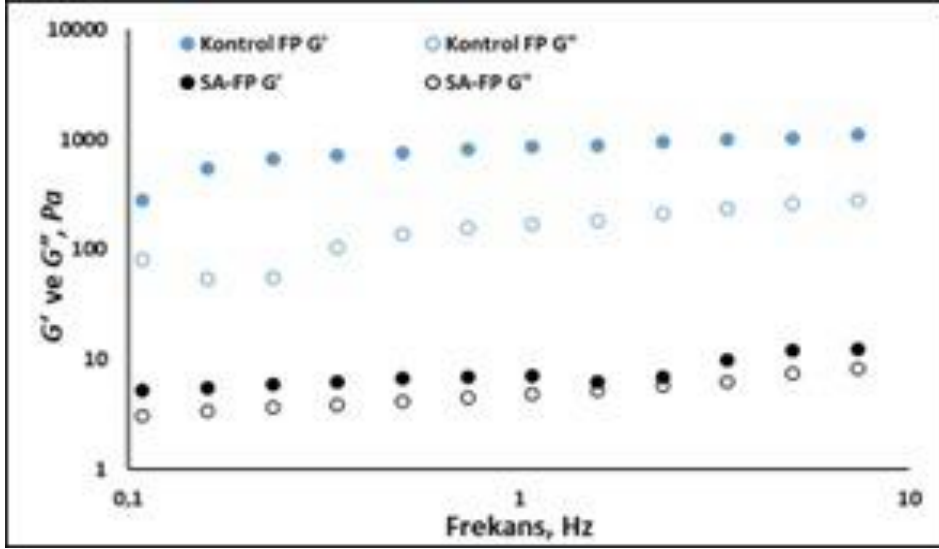
Kontrol FPİ'nin karşılaştırmalı olarak SA-FPİ optimum konjugasyonlarına ait viskozite kayma hızı parametrelerini içeren akış davranış grafiği ve model parametreleri Şekil 4.7'de sunulmuştur. Örneklerin kayma hızına bağlı viskozitelerinin düşmesi pseudoplastik karakterde olduklarını göstermektedir. Görünür viskozitedeki değişim, proteinin moleküller arası kuvvetlerindeki değişimi göstermektedir (Sun vd., 2024). Kontrol FPİ'ye kıyasla, konjuge FPİ'lerin görünür viskozitelerinin (η_{20}), konsistens katsayılarının (K) azaldığı ve bu sonuçlarla uyumlu olarak pseudoplastik karakterlerinin azaldığı n değerlerindeki artış ile tespit edilmiştir. Bu değerlerdeki düşüşler, SA'nın oluşturduğu konjugasyonların FPİ ağının bir araya gelme ve yeniden düzenlenme özelliklerini azaltmasına bağlanabilir (Zhang vd., 2017). Proteinlerin polisakkaritlerle reaksiyona girme özellikleri, protein konformasyonu yanında polisakkaritlerin iyonik özellikleri ile ilişkilidir (Wang vd., 2018). Bu çalışma ile uyumlu olarak SPİ ile GA konjugasyonunun sulu fazda üretildiği bir çalışmada viskozitenin glikasyon ile azaldığı tespit edilmiştir (Sun vd., 2024). Bitkisel ve hayvansal kaynaklı farklı proteinler ile zincir uzunlukları ve moleküler ağırlıkları değişen şeker çeşitleri kullanılarak yapılan glikasyon çalışmalarında, viskoz karakterlerin arttığını gösteren bulgulara da rastlanmaktadır. Ancak bu çalışmada, çözünürlük, emülsiyon özellikleri ve hidrofobik karakterde artış gözlemlenen optimum konjugatların akış özelliklerinde düşüş tespit edilmiştir.



η_{20} : Görünür viskozite, K : Konsistens katsayısı, n : Akış davranış indisi, R^2 : Belirlilik katsayısı

Şekil 4.7. SA-FPİ konjugatlarına ait akış davranış grafiği

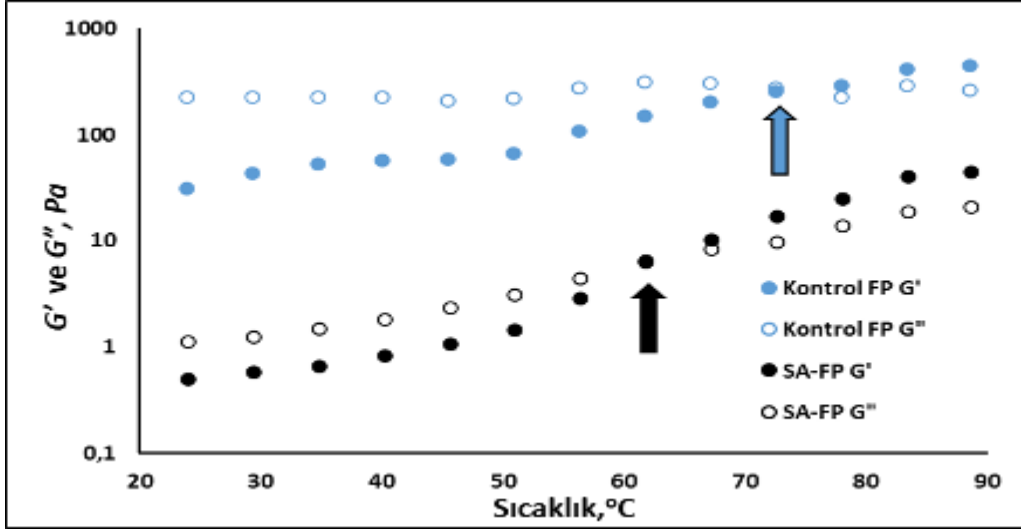
Kontrol FPİ'nin karşılaştırmalı olarak SA-FPİ ile optimum konjugasyonlarına ait frekans tarama grafiği Şekil 4.8'de sunulmuştur. Frekans tarama testi, seyreltik, konsantre ve jel sistemleri de dahil olmak üzere çözeltilerin reolojik sistemlerinin kategorize edilmesini sağlar. Örneklerin G' (elastik) ve G'' (viskoz) değerleri frekans artışına bağlı olarak önemli bir değişiklik göstermemiştir. Yüksek frekansta $G' = G''$ gözlenmemiş olması hiçbir numunenin yüksek deformasyon oranları altında bile jel-çözelti geçişine uğramadığı anlamına gelmektedir (Shi vd., 2023). Eğimin sıfıra yakın olması ve tüm frekans aralıklarında G' değerlerinin G'' den daha yüksek olması elastik karakterin viskoz karaktere daha baskın olduğunu ve jel benzeri bir yapıda olduğunu ortaya koymuştur. Konjugatlarda kontrole göre, modül değerlerinin düştüğü ancak elastik karakterin devam ettiği tespit edilmiştir.



G': Elastik yapı, G'': Viskoz yapı

Şekil 4.8. SA-FPI konjugatlarına ait frekans tarama grafiği

Kontrol FPI'nin karşılaştırmalı olarak SA-FPI ile optimum konjugasyonlarına ait sıcaklık tarama testleri Şekil 4.9'da sunulmuştur. Bu sonuçlar üretilen konjugatların eklendikleri gıda sistemlerinin sahip olduğu sıcaklıktaki davranışlarını yorumlamak açısından önemlidir. G' ve G'' değerlerinin sıcaklık artışı ile değişimlerinde görüldüğü gibi kontrol FPI 73°C'ye kadar viskoz özellik gösterirken sonraki sıcaklıklarda elastik özelliğe geçiş olmuştur. SA-FPI konjugatında ise kontrole kıyasla daha düşük modül değerleri tespit edilmiş ve sıcaklığa karşı duyarlı bir değişim ile 62°C'ye kadar viskoz karakterin hakim olduğu, bu sıcaklıktan sonra ise elastik özelliklerin baskın hale geldiği gözlemlenmiştir. Termal geçiş sıcaklığı (jelleşme=crossover) sonucu proteinlerin agregasyona uğraması ile daha fazla elastik veya katı benzeri özellikler sergilediği ifade edilmiştir (Ma vd., 2023). Bu özelliğin konjugatlarda daha düşük sıcaklarda gözlemlenmesi (<62°C) yüksek sıcaklıklarda çalışılmayan gıda sistemlerinde avantaj sağlayacaktır.



G': Elastik yapı, G'': Viskoz yapı

Şekil 4.9. SA-FPİ konjugatlarına ait sıcaklık tarama grafiği

4.2.2. Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri

Çizelge 4.5'te SA-FPİ konjugatları ve kontrol protein izolatlarına ait renk profil değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.5. SA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait renk değişimleri

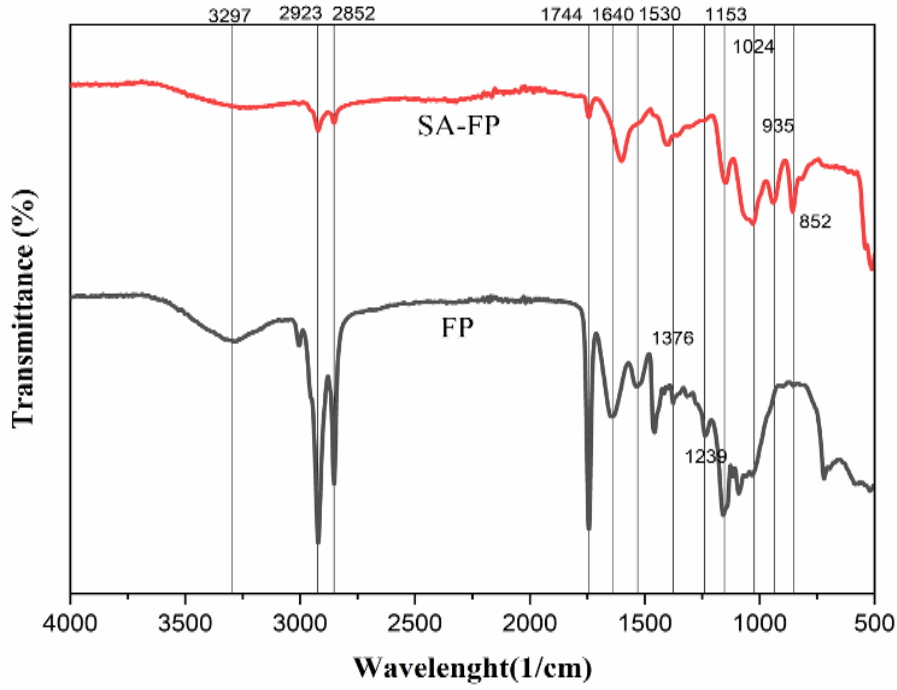
Örnek	L*	a*	b*	ΔE	BI
FPİ	71,81±0,30 ^b	3,39±0,09 ^a	25,37±0,23 ^a	-	45,55±0,70 ^a
SA-FPİ	87,34±1,14 ^a	0,69±0,11 ^b	11,79±0,61 ^b	20,24±0,87	14,60±0,87 ^b

L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık, ΔE : Toplam renk değişimi, BI: Esmerleşme indeksi, $\pm$: Standart sapma

Kontrol FPİ ile karşılaştırıldığında, SA-FPİ örneklerinde L* değeri artış gösterirken, a* ve b* değerlerinde azalma meydana gelmiştir. Kontrole kıyasla a* değerindeki azalmanın karotenoidler gibi pigmentlerin ısıl işlemin etkisiyle yıkıma uğraması ve bileşimde kullanılan SA'nın FPİ'ye göre açık renkte olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Bu durum örneklerin esmerleşme indeksi değerine de yansımıştır. Kontrol FPİ'ye göre SA-FPİ konjugatlarının esmerleşme indeksi değeri daha düşük bulunmuştur.

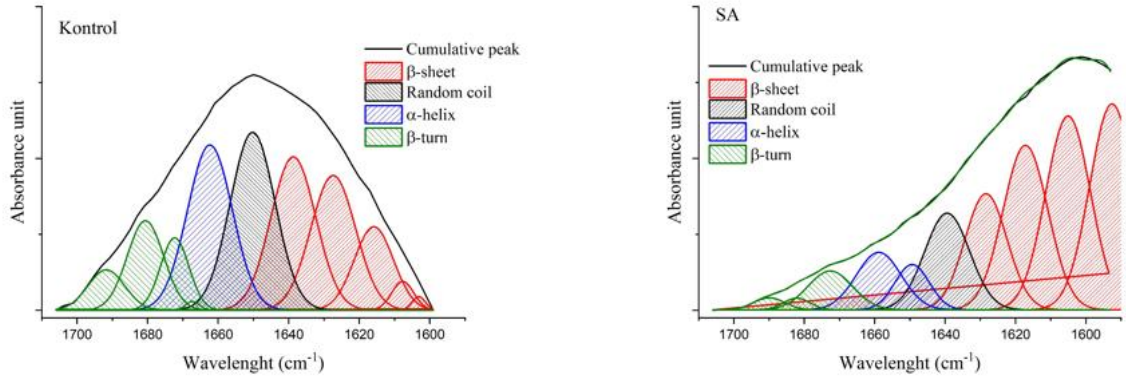
4.2.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi

Hidrojen bağlarıyla ilgili en önemli piklerden biri olan O-H gerilme titreşiminin absorpsiyon pikleri $3000-3500\text{ cm}^{-1}$ arasında meydana gelmektedir. 3297 cm^{-1} 'de ortaya çıkan pik konjugasyonla beraber şiddetinde azalma meydana gelmiştir. (Şekil 4.10). Doğal FPI'de C=O gerilmesine karşılık gelen 1639 cm^{-1} amid I bandı, N-H bükülmesinden kaynaklanan 1530 cm^{-1} amid II grubu, C-N gerilmesi ve N-H deformasyonuna karşılık gelen 1376 ve 1239 cm^{-1} amid III bandı dahil olmak üzere üç tipik IR absorpsiyon piki sergilemiştir. SA-FPI konjugatlarında bu bağlarda kayma ve azalmalar meydana gelmiştir. Benzer azalmalar, SPI-karragenan ve BPI-inulin konjugatlarında da gözlemlenmiştir. SPI ve BPI'ye kıyasla konjugatlarda amid I ve II bantlarının modifiye olduğu ve şiddetlerinde bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir (Mao vd., 2018; Jiang vd., 2022). SA-FPI konjugatları $1153-1024\text{ cm}^{-1}$ 'de doğal FPI'den tamamen farklı karakteristik absorpsiyon pikleri göstermiştir. Bu pikler C-C ve C-O gerilmesi ve C-H bükülme grupları ile ilişkilidir. Bu piklerin şiddeti konjugasyonla beraber artış göstermiştir. Benzer şekilde 935 ve 852 cm^{-1} 'deki pikler FPI tozlarında gözlemlenmemiş olup, konjugasyonla beraber SA-FPI örneklerinde tespit edilmiştir. Bu pikler karbonhidratların karakteristik absorpsiyon pikleri olarak bilinen C-O ile C-C germe titreşimlerine ve C-H bükülmesine atfedilmiştir.



Transmittance: Geçirgenlik, Wavelength: Dalga boyu

Şekil 4.10. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait FTIR Spektrumu



Absorbance unit: Absorbans birimi, Wavelength: Dalga boyu, Cumulative peak: Kümülatif pik, α -heliks: α -sarmal, β -sheet: β -levha, β -turn: β -dönüş, Random coil: Rastgele sarmal

Şekil 4.11. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait sekonder yapı değişimi

Çizelge 4.6. Kontrol ve optimum noktada üretilen SA-FPİ konjugatlarına ait sekonder yapı değişimi

Örnek	α -heliks	β -sheet	β -turn	Random coil
SA	18,85	43,24	17,62	20,29
SA-FPİ	11,50	69,65	6,79	12,05

α -heliks: α -sarmal, β -sheet: β -levha, β -turn: β -dönüş, Random coil: Rastgele sarmal

Kontrol FPİ ve SA-FPİ konjugatlarına ait ikincil yapısal özellikleri üzerine konjugasyon uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla, amid I bandı Fourier self-deconvolution ile ayrıca analiz edilmiş ve ilgili pik alanları Şekil 4.11’de ve hesaplanan pik alanları da Çizelge 4.6’da verilmiştir. Proteinlerin ikincil yapısı, sırasıyla 1650–1658 cm^{-1} , 1610–1640 cm^{-1} , 1660–1700 cm^{-1} ve 1640–1650 cm^{-1} dalga boyları arasında değişen α -sarmal, β -sheet, β -turn ve random coil pikleri ile değerlendirilebilmektedir (Wang vd., 2011). Genel olarak -CO ve -NH grupları, α -sarmal yapıları oluşturmak için molekül içi hidrojen bağları oluştururken, polipeptit zincirleri, β -sheet yapılarını stabilize etmek için zincirler arası hidrojen bağları oluşturmaktadır. β -turn yapıları zayıf hidrojen bağlı yapılardan oluşurken, katlanmamış konformasyon rastgele sarmallara karşılık gelir ve protein esnekliği ile ilişkilidir (Li vd., 2020). Kontrol örneği SA-FPİ konjugatlarına kıyasla yüksek α -sarmal, β -turn ve rastgele sarmal içeriği sergilerken, β -sheet değeri düşük bulunmuştur. Bu yapısal değişiklikler Maillard reaksiyonunun oluşumuyla reaksiyon sırasında SA ile amino asitler arasında kovalent bağların oluşmasına atfedilebilir. Reaksiyon koşulları ve protein-polisakkarit oranı yapısal değişimleri etkileyebilen faktörler arasındadır (Shen ve Li, 2021). β -sheet değerindeki artış ile α -sarmal değerindeki azalış, düzensiz yapı değişimini ve hidrofobik grupların açığa çıkmasını göstermektedir. Yüzey hidrofobisite ve emülsiyon özelliklerinin gelişmesi bu sonuçlarla desteklenebilmektedir (Hu vd., 2013). Konjugasyon uygulaması ile artan β -sheet, azalan α -sarmal ve β -turn içeriği BPİ-ksantan gam konjugatlarında da tespit edilmiştir (Choi vd., 2023).

4.2.4. Serbest ve toplam sülfidril (-SH) gruplarının belirlenmesi

Serbest -SH grubu, Ellsman reaktifi ile reaksiyona girmek için erişilebilir olan proteinin yüzeyinde bulunan grubu ifade etmektedir. Toplam serbest -SH grupları ise yüzey serbest -SH gruplarını ve protein molekülleri içindeki gömülü serbest -SH gruplarını içermektedir. -SH gruplarının oksidasyonu yoluyla disülfid bağlarının oluşumu ($2\text{SH} \rightarrow \text{S-S}$ reaksiyonu) jel oluşumu sırasında protein ağının oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Proteinler doğal hallerindeyken, çoğu -SH grubu, zor erişilebilir protein bölgelerinin içinde gizlenmektedir (Shen vd., 2017).

Çizelge 4.7. FPI ve SA-FPI örneklerine ait serbest ve toplam sülfidril (-SH) gruplarının miktarı

Örnek	Serbest -SH $\mu\text{mol/g}$	Toplam -SH $\mu\text{mol/g}$
FPI	$3,85 \pm 0,11^b$	$6,84 \pm 0,63^b$
SA-FPI	$8,13 \pm 0,52^a$	$9,11 \pm 0,31^a$

Konjugasyon işlemiyle beraber -SH içeriklerinin ısıtma işlemiyle beraber arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Bu durum, ısıtma yöntemiyle önceden hazırlanmış tüm yumurta akı proteini-monosakkarit (glukoz, D-galaktoz ve D-ksiloz) konjugatlarının serbest -SH içeriğindeki artış sonuçlarıyla uyumludur (Ai vd., 2021). -SH içeriğindeki artış, konjugasyonla beraber proteinlerin uzamsal (spatial) yapısının değişmesiyle, gömülü -SH gruplarının açığa çıkmasına bağlanmaktadır.

4.2.5. Yüzey hidrofobisite

Protein yüzey hidrofobikliği, polar sulu ortam ile temas halinde olan protein molekülünün yüzeyindeki hidrofobik grupların sayısının bir indekssidir ve proteinin fonksiyonel özellikleri ile yakından ilişkilidir (Hu vd., 2013). Proteinin makromoleküler yapısı nedeniyle toplam hidrofobisite değerinden ziyade yüzey hidrofobisitesi protein fonksiyonelliği üzerine daha etkilidir (Zhao vd., 2021). FPI örneği ile karşılaştırıldığında SA-FPI konjugatlarının yüzey hidrofobisitesi değerleri daha yüksektir (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. FPI ve SA-FPI örneklerine ait yüzey hidrofobisite değeri

Örnek	Yüzey Hidrofobisite
FPI	$4935 \pm 26,2^b$
SA-FPI	$7218 \pm 19,3^a$

Benzer sonuç SPI-laktoz konjugasyonunda gözlemlenmiştir. Proteinlerin yüzey hidrofobisite değeri, yalnızca 1 saatlik kısa bir inkübasyon süresi sonrasında bile önemli ölçüde artarak 1906'dan 3527'ye yükselmiştir. Inkübasyon süresinin 4 saate çıkarılmasıyla bu değer kademeli olarak artmaya devam ederek maksimum 3975'e ulaşmıştır. Zhao vd. (2016) soya fasulyesi protein izolatının glukoza ve maltoza ile uzun süreli konjugasyonu sonucunda yüzey hidrofobikliğinin arttığını rapor etmiştir. Başka bir çalışmada ise yüksek

şiddetli ultrasound işlemi ile ısıtmanın yapılması iç hidrofobik amino yan grubunun açığa çıkmasıyla birlikte protein yapısının açılmasına, BPI-glikoz konjugatlarının hidrofobikliğinin artmasına neden olmuştur (Gao vd., 2024a).

4.2.6. Zeta potansiyeli

Zeta potansiyeli, kolloidal parçacıkların ve polimerlerin çözeltilerdeki yüzeysel elektriksel özelliklerini tanımlamak için kullanılır (Jiang vd., 2022). Kolloidal sistemlerin kararlılığı, büyük ölçüde asılı ve bitişik parçacıklar arasındaki elektrostatik itmeye bağlı bulunmaktadır. Zeta potansiyeli analizi, dağılımları ve kümeleşmeleri saptanan emülsiyonların veya kolloidal sistemlerin kararlılığını belirlemek için sıklıkla kullanılmaktadır (Sarıcaoğlu vd., 2018). Zeta potansiyeli ne kadar yüksek olursa, partiküller birbirini iter ve kolloidal sistem flokülasyon, agregasyon ve Ostwald olgunlaşması gibi destabilizasyon süreçlerine karşı daha stabil kalır. Kolloidal sistemlerde agregasyonu önlemek, fiziksel olarak kararlılığı korumak ve damlacıklar arasında yeterli elektrostatik itme için ± 30 mV zeta potansiyel değeri gereklidir (Yin vd., 2009).

Çizelge 4.9. FPI ve SA-FPI örneklerine ait zeta potansiyeli değeri

Örnek	Zeta Potansiyeli (mV)
FPI	-35,33 $\pm$ 1,11
SA-FPI	-50,67 $\pm$ 0,76

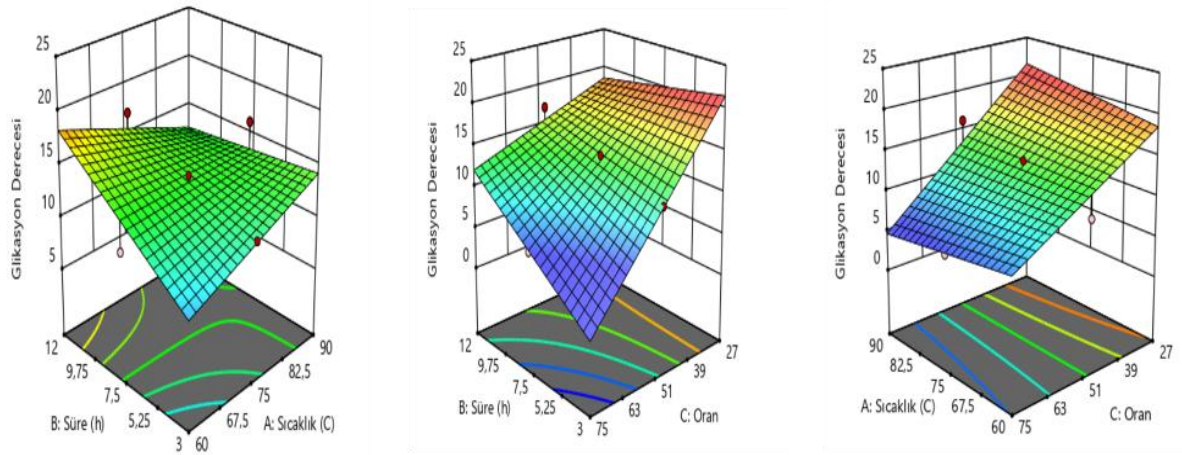
Konjugatların ζ -potential (zeta potansiyel) değerleri SA konsantrasyonunun artmasından dolayı negatif yönde artış göstermiştir (Çizelge 4.9). Bunun nedeni, pozitif yüklü amino asitlerin, özellikle lisinin, negatif yüklü SA ile konjuge olması ve daha negatif yüklü konjugatların oluşmasına yol açmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Wang vd., 2018).

4.3. Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugasyonuna Ait Bulgular ve Tartışmalar

4.3.1. Glikasyon derecesi

Maillard reaksiyonunun glikasyon derecesi serbest amino asit içeriğindeki değişimlerden yola çıkılarak tespit edilmektedir. GA-FPI konjugat tozlarına ait glikasyon derecesi %6,44-20,42 arasında belirlenmiştir (Çizelge 4.10). Konjugasyon proses koşullarından konjugasyon süresi ve reaktan oranı bağımsız değişkenleri glikasyon derecesi üzerine etkili bulunmuştur ($p<0.05$). Düşük sıcaklık koşullarında sürenin artması glikasyon derecesinin artmasına neden olmuştur. Kısa konjugasyon sürelerinde, yüksek sıcaklık koşullarında glikasyon değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Ancak, sıcaklık yüksek olduğunda sürenin glikasyon derecesi üzerinde bir etkisi bulunmamıştır. GA oranının artması glikasyon derecesinin artmasına neden olmuştur (Şekil 4.12). Yüksek sıcaklık ve yüksek GA konsantrasyonlarında glikasyon derecesi en yüksek bulunmuştur. GA oranının artması daha fazla indirgeyici ve karbonil grubunun proteinlerdeki serbest amino grubu ile reaksiyona girebileceğini göstermektedir.

Maş fasulyesi-maltodekstrin konjugasyonunun işlem koşullarının çalışıldığı bir araştırmada reaktan oranının 1:1'den 1:2'ye çıkması ile glikasyon derecesinde artış gözlemlenmiştir (Aziznia vd., 2024). Benzer şekilde, Zhou vd. (2013) SPI ile dekstran konjugasyonunda oranın 2:1'den 1:1 değişmesiyle glikasyon derecesinin arttığını tespit etmişlerdir. Chen vd. (2019) peynir altı suyu protein izolatı-GA konjugatlarında en yüksek glikasyon derecesini 1:4 oranında belirlemişlerdir. Dolayısıyla, reaktan türüne bağlı olarak protein karbonhidrat oranlarının glikasyon derecesi üzerindeki etkilerinde farklılık gösterdiği belirtilebilir.



Şekil 4.12. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPİ konjugatlarının glikasyon derecesi üzerine etkisi

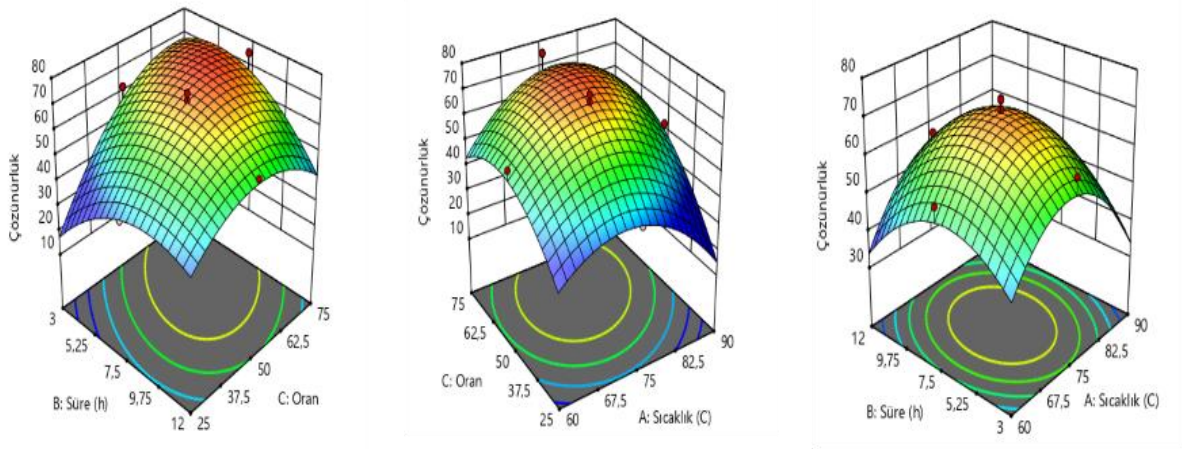
Çizelge 4.10. GA-FPİ konjugat tozlarına ait sonuçlar

Örnek	Glikasyon Derecesi (%)	Çözünürlük (%)	Emülsiyon Aktivitesi (m ² /g)	Emülsiyon Stabilitesi (%)	HMF (mg/kg)
K	1,36±0,26	15,23±1,36	7,11±1,22	80,65±1,03	1,13±0,19
1	13,13±1,68	73,42±2,98	22,72±0,38	69,07±1,51	5,76±0,01
2	16,12±0,13	49,89±3,72	20,94±0,34	45,23±1,45	5,60±0,06
3	10,84±0,78	73,59±6,86	26,85±1,47	63,48±2,19	5,63±0,09
4	10,36±3,28	55,85±2,72	21,66±0,28	100,88±2,02	5,59±0,02
5	16,04±1,80	46,43±2,10	19,88±0,22	62,56±0,78	4,04±0,09
6	8,29±1,01	70,87±5,45	22,76±0,18	91,54±0,96	5,27±0,27
7	6,48±0,83	61,54±11,16	21,81±0,12	32,74±0,74	6,46±0,05
8	19,2±4,67	51,31±1,98	19,21±0,78	78,41±2,63	4,39±0,01
9	18,04±1,69	43,16±1,19	21,23±0,67	116,56±1,87	4,40±0,05
10	9,75±2,47	49,69±0,52	27,85±0,22	59,24±2,96	5,60±0,19
11	8,76±0,99	56,77±0,98	19,61±0,02	35,57±1,91	6,38±0,01
12	14,43±1,22	48,56±0,84	23,23±1,02	75,43±1,85	6,18±0,14
13	13,89±3,71	56,95±3,06	20,37±0,32	63,83±1,62	5,27±0,14
14	13,2±0,83	65,65±4,22	27,76±1,55	32,91±5,06	5,60±0,03
15	7,52±1,96	61,17±2,63	27,27±1,22	48,71±0,52	6,10±0,01
16	18,60±3,35	37,24±1,14	17,17±0,11	94,33±1,93	4,68±0,05
17	20,42±1,19	42,06±0,80	20,14±0,88	93,87±1,67	3,85±0,01
18	13,31±2,70	67,54±3,29	21,53±0,73	134,46±3,68	5,45±0,01
19	10,30±1,92	61,96±2,61	24,74±0,91	95,43±1,80	5,06±0,02
20	6,44±0,99	83,82±2,36	23,28±0,92	89,30±5,63	6,60±0,01

K: Kontrol, HMF: Hidroksimetilfurfural, ±: Standart sapma

4.3.2. Çözünürlük

GA-FPİ konjugasyonu için çözünürlük değeri işlem koşullarına bağlı olarak %37,24-83,82 arasında tespit edilmiştir. Çözünürlük üzerine konjugasyonda protein oranının yanı sıra protein oranı-süre etkileşimi ve tüm bağımsız değişkenlerin üssel etkileri önemli bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.13. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPI konjugatlarının çözünürlük değerleri üzerine etkisi

Konjugasyonda bağımsız değişkenlerin üssel değerlerinin önemli bulunması işlem koşullarının uç noktalarından ziyade merkez noktalarında çözünürlük değerlerinin anlamlı olduğunu göstermektedir (Şekil 4.13). Bu noktada ise optimizasyonun önemi ön plana çıkmaktadır. FPI oranının süre ve sıcaklık ile etkilerinin incelendiği grafiklerde, yüksek çözünürlük FPI oranının yüksek olduğu koşullarda belirlenmiştir. Çözünürlük, tüm sıcaklık değerlerinde 7,5 saate kadar artış göstermiş, ancak sürenin daha fazla uzaması çözünürlükte azalmaya neden olmuştur. Uzun süreli ısıtma periyodunda azalan çözünürlüğün, Maillard'ın son aşamaya ilerlemesine ve çözünmeyen yüksek molekül ağırlığına sahip bileşik oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir.

Du vd. (2013) yaptıkları çalışmada 60°C'de ve %79 bağıl nemde 24 saat kuru ısıtma yoluyla pirinç posası glutelini ve κ -karragenanı 1:2 (a/a) oranında kullanarak oluşturulan Maillard tipi konjugatları incelemişlerdir. Konjuge edilen pirinç posası glutelininin çözünürlüğü, 12 saatlik kuru ısıtmada %14,13'ten %62,49'a artmıştır. Ancak 24 saatlik ısıtmada %61,57 olan çözünürlük, 96 saate kadar olan sürede %30,16'ya düşmüştür. Maillard reaksiyonunun erken aşamalarında, hidrofilik polisakkaritlerin konjugasyonu proteinin hidrasyonunu artırmıştır. Aynı zamanda hidrofobik etkiler nedeniyle protein etkileşimleri engellenmiş ve çözünürlük iyileştirilmiştir. İlerleyen süreçlerde azalmanın temel nedeni, 24 saati aşan kuru ısıtma işlemi sırasında protein moleküllerinin çapraz

bağlanması ve ara ürün olan Amadori bileşiklerinin bazı geri dönüşü olmayan bozulma reaksiyonlarına uğraması olabildiği ifade edilmiştir.

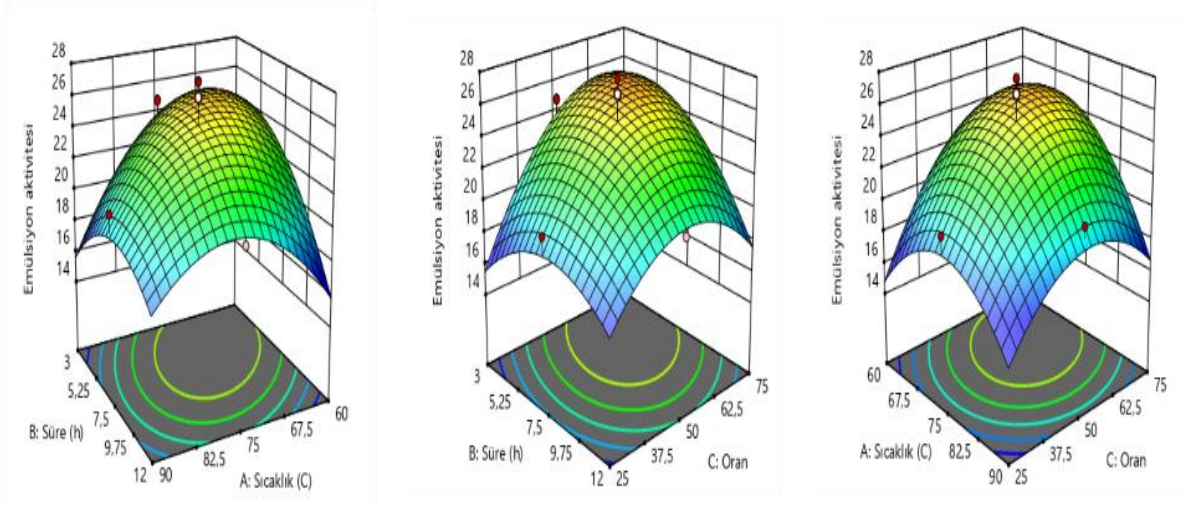
Çizelge 4.11. GA-FPI konjugat tozlarına ait model sonuçları

Model	Glikasyon Derecesi		Çözünürlük		Emülsiyon Aktivitesi		Emülsiyon Stabilesi		HMF	
	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P	SS	P
	Kuadratik		Kuadratik		Kuadratik		Kuadratik		Lineer	
X ₁	0,0263	0,9239	4,97	0,6425	12,15	0,0974	1182,51	<0,0001	0,1426	0,0475
X ₂	21,16	0,0161	5,24	0,6336	10,73	0,1165	722,1	0,0003	0,0248	0,443
X ₃	253,7	<0,0001	806,96	0,0001	30,83	0,0155	2296,02	0,0019	9,46	<0,0001
X ₁ X ₂	8,28	0,1075	9,82	0,5162	6,78	0,202	92,14	<0,0001		
X ₁ X ₃	2,35	0,3735	46,94	0,172	3,01	0,3843	137,78	0,1661		
X ₂ X ₃	14,62	0,0388	150,67	0,0249	4,71	0,2815	485,08	0,0977		
X ₁ ²			667	0,0002	29,44	0,0174	1428,72	0,0065		
X ₂ ²			345,44	0,0026	13,97	0,0783	125,99	0,0002		
X ₃ ²			397,85	0,0016	23,8	0,0284	433,39	0,1113		
Kalıntı	36		216,83		36,33		412,92		0,6413	
Model	32,84	0,272	162,79	0,1257	10,9	0,8129	315,65	0,1111	0,4988	0,3177
Uygunsuzluğu										
Saf Hata	3,16		54,04		25,43		97,28		0,1425	
R ²	0,8929		0,9106		0,7743		0,9417		0,9375	
Adj R ²	0,8435		0,8302		0,5713		0,8893		0,9258	
Tahminleme	0,5876		0,4567		0,2532		0,5838		0,9014	
R ²										
Yeterli	14,9056		9,8687		6,1333		14,7242		31,2667	
Tahminleme										

SS: Kareler toplamı, p: Anlamlılık değeri, X1: Sıcaklık, X2: Süre, X3: Protein izolatu oranı, R²: Belirlilik katsayısı, Adj R²: Düzeltilmiş belirlilik katsayısı, HMF: Hidroksimetilfurfural

4.3.3. Emülsiyon aktivitesi ve stabilesi

Emülsifiye edici özellik, Maillard konjugatlarının en çok çalışılan fonksiyonel özelliğidir (Zhang vd., 2019). Protein ve hidrofilik polisakkarit arasındaki konjugasyon, proteinin çözünürlüğünü iyileştirerek sulu çözeltideki proteinin etkili konsantrasyonunu ve hareketliliğini arttırabilir. Konformasyon değişikliği aynı zamanda proteinler için daha esnek bir yapı sağlayarak doğal proteinlerden daha hızlı yağ-su arayüzüne göç etmelerini, adsorbe etmelerini ve arayüzey filminde yeniden düzenlemelerini sağlar. Kontrol FPI'nin 7,11 olan emülsiyon aktivitesi değeri 17,17-27,85 m²/g değerlerine yükselmiştir. Emülsiyon aktivitesinin modellenmesinde kuadratik model önemli bulunmuştur (Çizelge 4.11). İşlem koşullarından protein oranının yanı sıra protein oranı ve sıcaklığın üssel değerleri de önemli bulunmuştur.



Şekil 4.14. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPI konjugatlarının emülsiyon aktivitesi değerleri üzerine etkisi

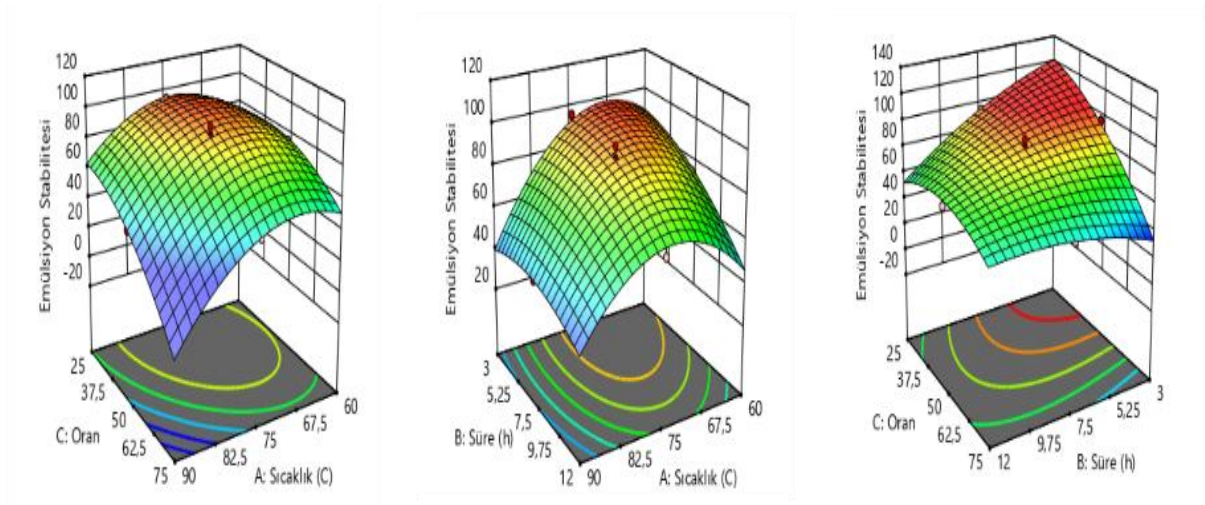
Konjugasyonda bağımsız değişkenlerin üssel değerlerinin önemli bulunması, işlem koşullarının uç noktalarından ziyade merkez noktalarında emülsiyon aktivitesi değerlerinin yüksek olduğunu göstermektedir (Şekil 4.14). Tüm bağımsız değişkenlerin orta seviyeleri maksimum emülsiyon aktivitesi için yüksek bulunmuştur.

Peynir altı suyu protein izolatu ve peynir altı suyu protein hidrolizatının laktoz ve laktuloz ile konjugasyonu sonrasında emülsifikasyon indeksinin iyileştiği ve bu durumun glikasyonun sağladığı dengeli hidrofilik-hidrofobik yapıdan kaynaklandığı bildirilmiştir (Nooshkam ve Madadlou, 2016). Maillard reaksiyonu ile gerçekleştirilen kuru ısıtma yöntemi kullanılarak SPI'nin glikoz ile glikasyonunun, proteinin emülsifiye etme kapasitesini artırdığı rapor edilmiştir (Tian vd., 2011). Başka bir çalışmada ise fruktoz ve ksiloz ile yapılan ıslak ısıtma işlemi sırasında SPI'nin emülsifiye edici aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (Wang vd., 2018). Bu durum, farklı ısıtma yöntemleri ve şeker türlerinin yanı sıra reaksiyon koşullarının da bir proteine çeşitli fonksiyonel özellikler kazandırabileceğini göstermektedir. Amiratashani vd. (2024) mürdümük proteininin ksantan gam ile konjugasyonunda işlem süresinin 12 saate kadar artmasıyla birlikte örneklerin emülsiyon kapasitelerinde artış gözlemlenmiştir. Konjugasyon işlemi ile örneklerin çözünürlüklerinin artması sonucu proteinlerin su/yağ arayüzeyinde difüzyonunun artmasının emülsiyon kapasitesinin artışı sağlayabileceğini belirtmiştir. GA'nın emülsifiye damlacıklar arasında daha güçlü bir elektrostatik itme kuvveti yaratarak proteinlerin su/yağ arayüzeyinde

kalmasını sağlaması da emülsiyon kapasitesine katkıda bulunabilmektedir (Chen vd., 2024). Miralles vd. (2007), 15 güne kadar farklı reaksiyon sürelerinde β -Lg-kitosan konjugatlarının (1:4 kütle oranı), (40°C, %79 bağıl nem) oluşumunu incelemiştir. Emülsifiye etme kapasitesinin 2 güne kadar inkübasyon süresiyle arttığını, sonra azaldığını gözlemlemiştir. Sürenin artması Maillard reaksiyon ürünlerinin bozulmasına ve bunun sonucunda emülsifiye edici özelliklerin azalmasına yol açmıştır.

Nooshkam ve Varidi (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, peynir altı suyu proteini izolatu (%0,6, a/h), gellan gam (%0,1, 0,2 ve 0,3, a/h) ile 90°C'de, 30, 60 ve 90 dakika boyunca ıslak ısıtma yöntemiyle konjuge edilmiştir. Gellan gam konsantrasyonu ve inkübasyon süresi arttıkça konjugatların EAI değerinin önemli ölçüde arttığını göstermiştir. Çalışmamızda ise GA konsantrasyonundaki artış %50 seviyelerine kadar EAI değerini artırmış, ancak sonrasında düşüşe yol açmıştır. Sakkarit içeriğinin belirli bir oranın üzerinde olması durumunda flokülasyon meydana gelebilmektedir. Bu nedenle konjugatların emülsifiye edici özellikleri açısından protein ve sakkaritin uygun oranının belirlenmesi çok önemlidir (Barbosa vd., 2019; Cai ve Ikeda 2016; Liu vd., 2020).

Konjugatlara ait ES'nin belirlenmesinde kuadratik model anlamlı bulunmuştur. İşlem koşullarından tüm bağımsız değişkenler GA-FPI konjugatlarının ES değerleri üzerine anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$).



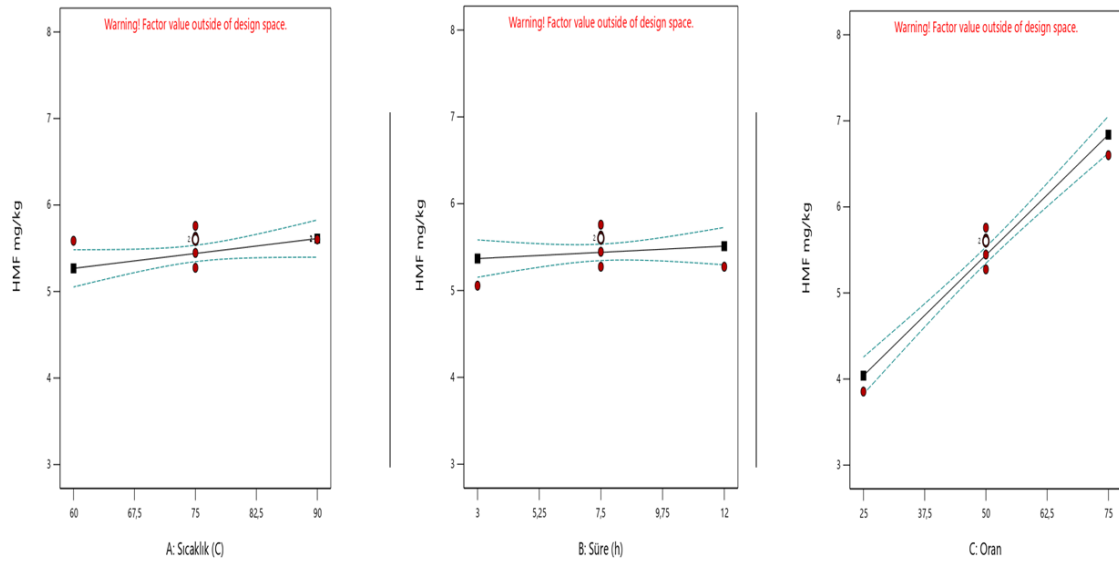
Şekil 4.15. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPI konjugatlarının emülsiyon stabilitesi değerleri üzerine etkisi

İşlem koşullarından en yüksek ES; düşük FPİ oranı, düşük sıcaklık ve kısa süre koşullarında gözlemlenmiştir. Düşük FPİ oranı koşullarında işlem süresinin artması ES değerini azaltırken, yüksek oran koşullarında ise sürenin artması etki göstermemiştir. Konjugasyon sıcaklığının 75°C'ye kadar artması, stabilite değerini artırsa da 75°C'den yüksek konjugasyon sıcaklıklarında azalma meydana gelmiştir (Şekil 4.15).

Hussain vd.nin (2024) yaptıkları çalışmada SPI ve şeftali gamı 1:1. 1:2. 1:3. 2:1 ve 2:3 (a/a) kütle oranlarında hazırlanarak 90°C sıcaklıkta su banyosunda 1, 3 ve 5 saat boyunca konjugasyona tabi tutulmuştur. SPI-şeftali gamı konjugatlarının emülsifiye edici özelliklerinde, doğal SPI ile karşılaştırıldığında önemli bir iyileşme gözlemlenmiştir. Sonuçlar kütle oranının emülsifiye edici özellikler üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermiştir. Maksimum EAI ve ESI değerleri 1:3 kütle oranında SPI-şeftali gamı konjugatlarında kaydedilmiştir. SPI'ye kıyasla şeftali gamı konsantrasyonunun artmasıyla birlikte konjugatların emülsifiye edici özelliklerinde bir artış eğilimi gözlenmiştir. Bu durum protein ve polisakkarit arasında oluşan kovalent bağların yağ damlacıkları etrafında makromoleküler bir stabilizasyon katmanı oluşturmasıyla açıklanabilir. Bu katman, sterik itmeleri artırarak emülsiyonun stabilitesini sağlamaktadır.

4.3.4. HMF miktarı

GA-FPI konjugat tozlarına ait HMF miktarları 3,85-6,60 mg/kg düzeyinde belirlenmiştir. HMF değeri üzerine işlem koşullarından sıcaklık ve FPI oranı etkili bulunmuştur ($p<0.05$). Model olarak lineer model HMF değerinin modelinde önemli çıkmıştır. Sıcaklık ve FPI oranının artması HMF oluşumunu arttırmıştır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Glikasyon işlem koşullarının GA-FPI konjugatlarının HMF değerleri üzerine etkisi

4.3.5. Gam arabik-fındık protein izolatu konjugasyonunun işlem koşullarının optimizasyonu

Çoklu kriterlere göre optimizasyon işlemi istenirlik fonksiyonu vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt göre istekler minimum ve maksimum olarak tercih edilmiştir. Glikasyon derecesi, çözünürlük, EA, ES için maksimum, HMF için minimum hedef belirlendikten sonra optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu hedefler doğrultusunda GA-FPI konjugasyonu için optimum proses koşulları Şekil 4.17’de verilmiştir. Bu koşullar için istenirlik değerleri 0.730 olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.12’de ise GA-FPI konjugat tozlarına ait tahminleme katsayıları belirtilmiştir.

Çizelge 4.12. GA-FPI konjugat tozlarına ait tahminleme katsayıları

Faktör	Glikasyon Derecesi	Çözünürlük	Emülsiyon Aktivitesi	Emülsiyon Stabilitesi	HMF
B ₀	13,34	70,03	25,13	88,76	5,44
X ₁	0,0439	-0,6032	-0,9433	-9,31	0,1022
X ₂	1,24	-0,6194	-0,8862	-7,27	0,0426
X ₃	-4,31	7,69	1,5	-12,97	0,8323
X ₁ X ₂	-1,02	1,11	0,9203	3,39	
X ₁ X ₃	-0,5423	2,42	-0,6131	-4,15	
X ₂ X ₃	1,35	-4,34	-0,7672	7,79	
X ₁₂		-6,8	-1,43	-9,96	
X ₂₂		-4,9	-0,9846	-2,96	
X ₃₂		-5,25	-1,29	-5,48	

X₁: Sıcaklık, X₂: Süre (saat), X₃: Oran (%), HMF: Hidroksimetilfurfural

Factor Coding: Actual

All Responses

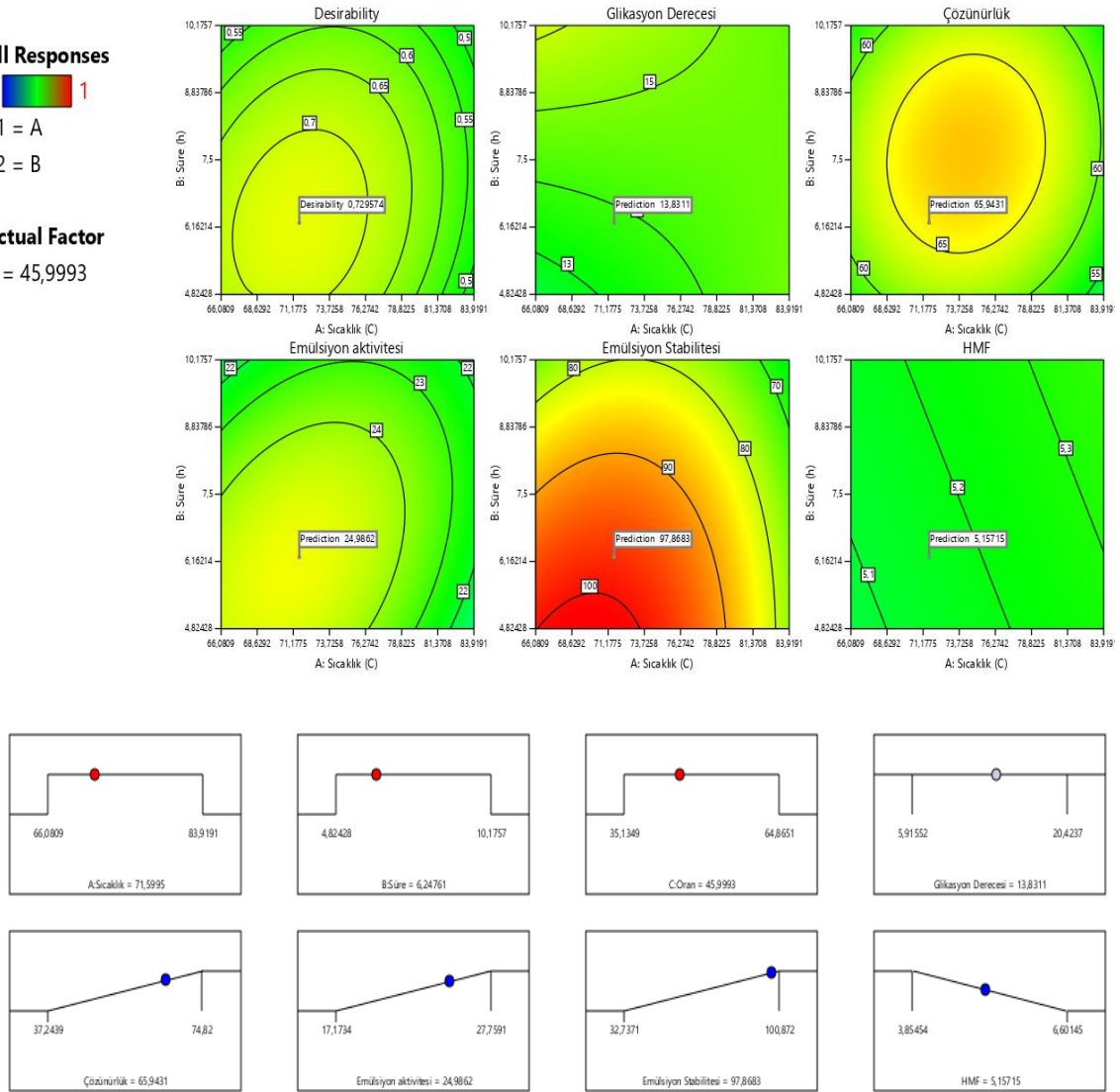
0 1

X1 = A

X2 = B

Actual Factor

C = 45,9993



Desirability = 0,730

Solution 1 out of 1

Şekil 4.17. GA-FPI konjugatlarının optimum koşulları

Çizelge 4.13'te optimum noktadaki teorik değerler ile optimum noktada üretimleri gerçekleştiren deneysel değerler verilmiş, bu değerler arasındaki sapma değerleri yüzde olarak verilmiştir. Değerler arasındaki sapma değerleri -9,96 ile +9,32 arasında değişim göstermektedir.

Çizelge 4.13. GA-FPI konjugatlarının optimum noktadaki tahmini değerleri ve deneysel verilere ait ortalamalar

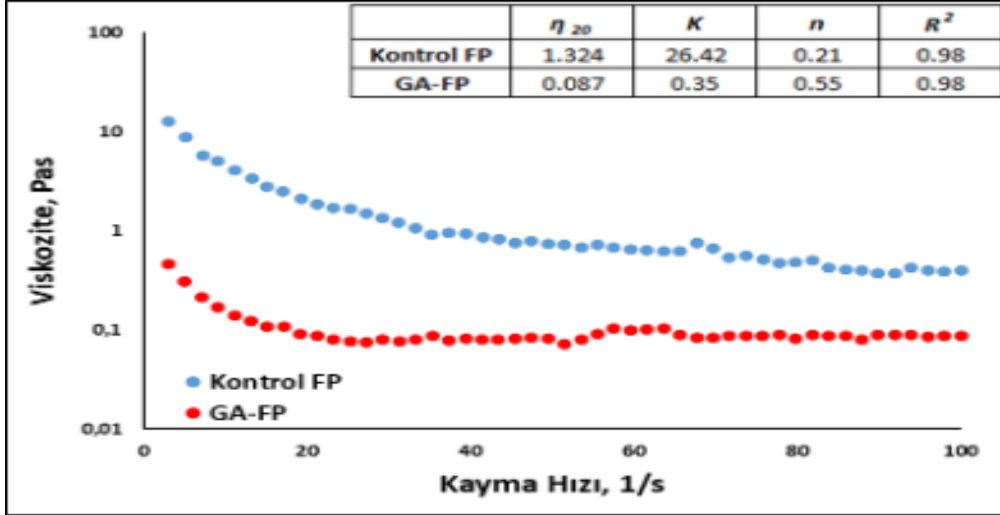
Örnek	A Sıcaklık (°C)	B Süre (h)	C Oran (%)	Glikasyon Derecesi	Çözünürlük	Emülsiyon Aktivitesi	Emülsiyon Stabilitesi	HMF
Teorik	71,59	6,25	46,00	13,83	65,94	24,98	97,86	5,15
Deneysel	71,59	6,25	46,00	15,12	59,82	22,49	104,40	4,86
Sapma (%)				+9,32	-6,12	-9,96	+6,68	-5,63

HMF: Hidroksimetilfurfural

4.4. Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karakterizasyon Analizleri

4.4.1. Viskozite ve jel kuvveti analizleri

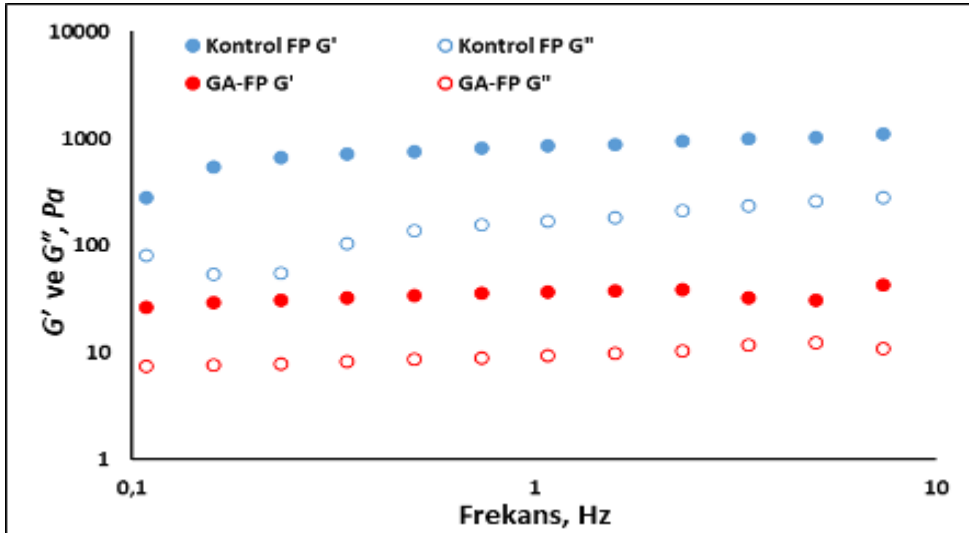
Kontrol FPI'nin karşılaştırmalı olarak GA-FPI optimum konjugasyonlarına ait viskozite kayma hızı parametrelerini içeren akış davranış grafiği ve model parametreleri Şekil 4.18'de sunulmuştur. Örneklerin kayma hızına bağlı viskozitelerinin düşmesi pseudoplastik karakterde olduklarını göstermektedir. Görünür viskozitedeki değişim, proteinin moleküller arası kuvvetlerindeki değişimi göstermektedir (Sun vd., 2024). Kontrol FPI'ye kıyasla, konjuge FPI'nin görünür viskozitelerinin (η_{20}), konsistens katsayılarının (K) azaldığı ve bu sonuçlarla uyumlu olarak pseudoplastik karakterlerinin azaldığı n değerlerindeki artış ile tespit edilmiştir. Parametrelerdeki düşüşlerin GA ile yapılan konjugasyonlarda daha az olduğu görülmüştür. Diğer bir ifade ile GA konjugasyonlarının SA konjugasyonlarına göre viskozite ve konsistens özellikleri daha yüksek bulunmuştur.



η_{20} : Görünür viskozite, K : Konsistens katsayısı, n : Akış davranış indisi, R^2 : Belirlilik katsayısı

Şekil 4.18. GA-FPI konjugatlarına ait akış davranış grafiği

Kontrol FPI'nin karşılaştırmalı olarak GA-FPI ile optimum konjugasyonlarına ait frekans tarama testleri Şekil 4.19'da sunulmuştur. En fazla modül değerlerinde düşüş ve yüksek $\tan \delta$ (G''/G') değeri SA-FPI konjugatında belirlenmiş olup elastik özelliğin GA-FPI'de daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu sonuç akış davranış grafiğindeki viskozite sonuçları ile uyumludur.

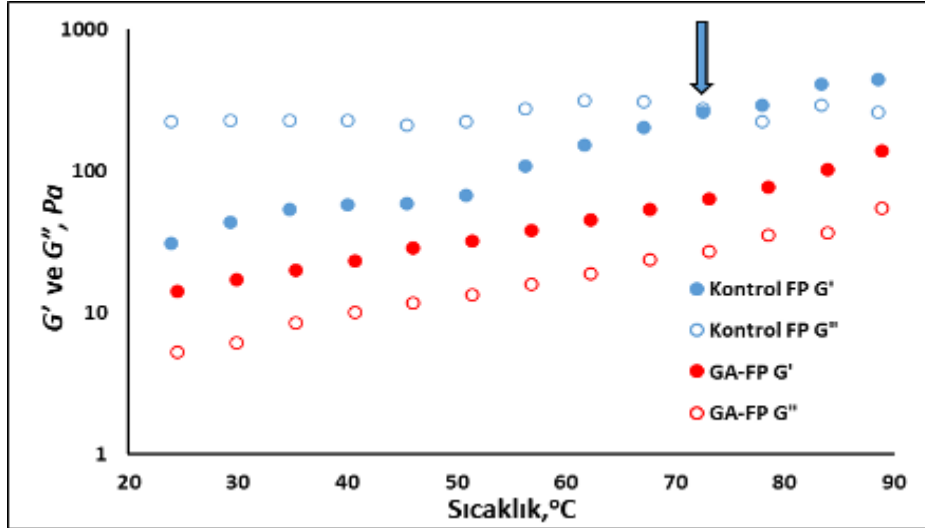


G' : Elastik yapı, G'' : Viskoz yapı

Şekil 4.19. GA-FPI konjugatlarına ait frekans tarama grafiği

Diğer taraftan GA-FPI konjugatı tüm sıcaklık artışı boyunca çakışma noktası (crossover) olmadan elastik özelliğin hakim olduğu bir sıcaklığa bağlı modül değişimi

sergilemiştir. Bu sonuç, GA-FPİ glikasyon ürünlerinin elastik karakterinin sıcaklıktan bağımsız olması nedeniyle, daha geniş gıda uygulamalarında kullanım potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 4.20).



G': Elastik yapı, G'': Viskoz yapı

Şekil 4.20. SA-FPİ, GA-FPİ konjugatlarına ait sıcaklık tarama grafikleri

4.4.2. Renk ve esmerleşme indeksi (BI) ölçümleri

Kontrol FPİ'ye kıyasla GA-FPİ örneklerinde L* değeri artış gösterirken, a* ve b* değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. Kontrole kıyasla a* değerindeki bileşimde kullanılan GA'nın renksiz olmasından ötürü kaynaklanabileceğinden düşünülmektedir. Bu durum örneklerin esmerleşme indeksi değerine de yansımıştır. Kontrol FPİ'ye göre GA-FPİ konjugatlarının esmerleşme indeksi değeri düşük bulunmuştur (Çizelge 4.14).

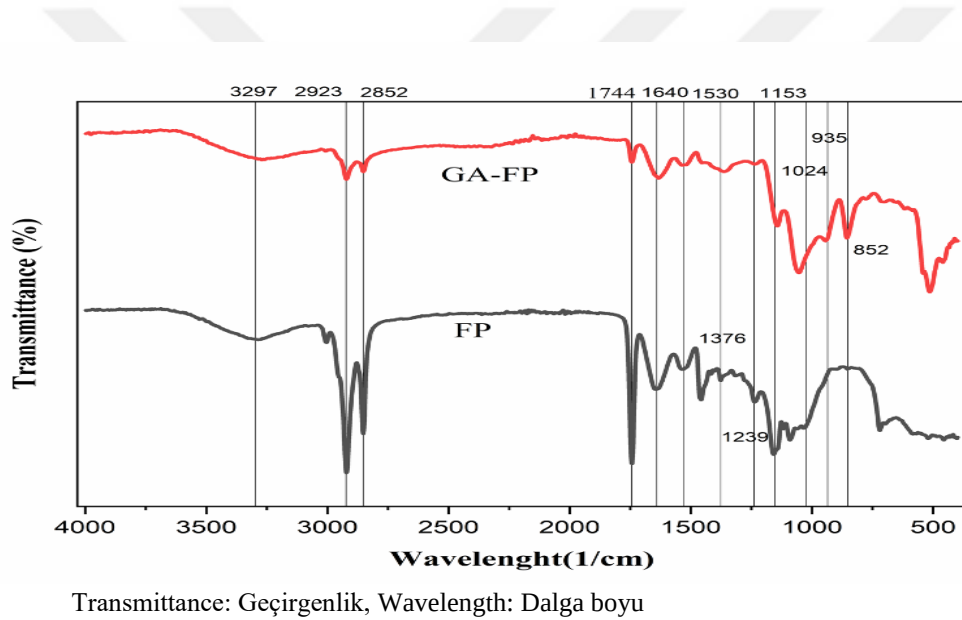
Çizelge 4.14. GA-FPİ konjugatına ve FPİ'ye ait renk değişimleri

ÖRNEK	L*	a*	b*	ΔE	BI
FPİ	71,81±0,30 ^b	3,39±0,09 ^a	25,37±0,23 ^a	-	45,55±0,70 ^a
GA-FPİ	86,59±0,37 ^a	0,92±0,03 ^b	14,06±0,31 ^b	18,69±0,34	17,8±0,47 ^b

L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık, ΔE: Toplam renk değişimi, BI: Esmerleşme indeksi, ±: Standart sapma

4.4.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi (FTIR) ve ikincil yapı değişiminin belirlenmesi

Doğal FPI'de C=O gerilmesine karşılık gelen 1639 cm^{-1} amid I bandı, N-H bükülmesinden kaynaklanan 1530 cm^{-1} amid II grubu ve C-N gerilmesi ve N-H deformasyonuna karşılık gelen 1396 ve 1239 cm^{-1} amid III bandı dahil olmak üzere üç tipik IR absorpsiyon piki sergilemiştir. FPI-GA konjugasyonunda bu bağlarda az bir kayma ve pik şiddetinde azalmalar meydana gelmiştir. Benzer şekilde GA-FPI konjugatları 1153 ve 1024 cm^{-1} 'de doğal FPI'den tamamen farklı karakteristik absorpsiyon pikleri göstermiştir (Şekil 4.21). Bu piklere C-C ve C-O gerilmesi ve C-H bükülmesi katkıda bulunmuştur.



Şekil 4.21. GA-FPI konjugatlarına ve FPI tozlarına ait FTIR Spektrum

Kontrol FPI'ye ve GA-FPI konjugatlarına ait ikincil yapısal özellikleri üzerine konjugasyon uygulamasının etkisini belirlemek amacıyla, amid I bandı Fourier self-deconvolution ile ayrıca analiz edilmiş ve ilgili pik alanları Şekil 4.22'de ve hesaplanan pik alanları da Çizelge 4.15'de verilmiştir. Proteinlerin ikincil yapısı, sırasıyla $1650\text{--}1658\text{ cm}^{-1}$, $1610\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$, $1660\text{--}1700\text{ cm}^{-1}$ ve $1640\text{--}1650\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasında değişen α -sarmal, β -sheet, β -turn ve rastgele sarmal pikleri ile değerlendirilebilmektedir. Genel olarak -CO ve NH- grupları, α -sarmal yapıları oluşturmak için molekül içi hidrojen bağları oluştururken, polipeptit zincirleri, β -sheet yapılarını stabilize etmek için zincirler arası hidrojen bağları oluşturmaktadır. β -turn yapıları zayıf hidrojen bağlı yapılardan oluşurken,

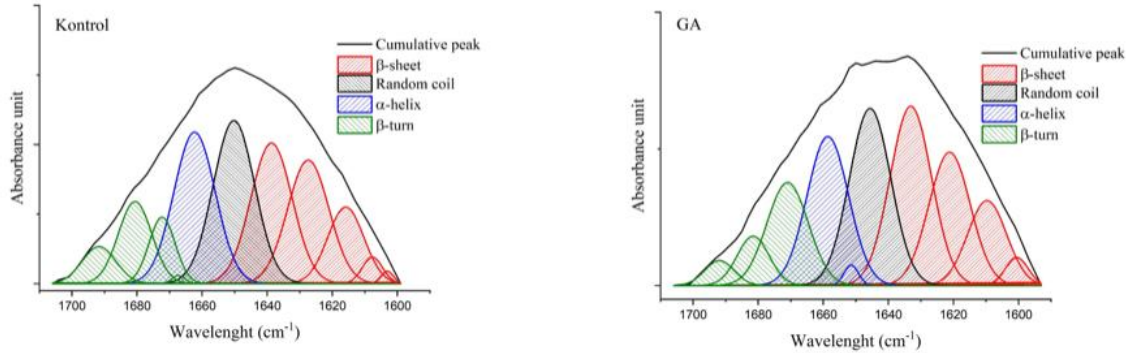
katlanmamış konformasyon rastgele sarmallara karşılık gelir ve protein esnekliği ile ilişkilidir (Li vd., 2020).

Kontrol örneği GA-FPI konjugatlarına kıyasla yüksek α -sarmal ve rastgele sarmal içeriği sergilerken, β -sheet ve değeri düşük bulunmuştur. Bu yapısal değişiklikler Maillard reaksiyonunun oluşumuyla reaksiyon sırasında GA ile amino asitler arasında kovalent bağların oluşmasına atfedilebilir. β -sheet değerindeki artış ile α -sarmal değerindeki azalış düzensiz yapı değişikliğini ve hidrofobik grubun açığa çıktığının göstergesidir.

Çizelge 4.15. GA-FPI konjugatına ve FPI'ye ait sekonder yapı dağılımı

Örnek	α -heliks	β -sheet	β -turn	Random coil
FPI	18,85	43,24	17,62	20,29
GA-FPI	17,36	45,29	17,68	19,67

α -heliks: α -sarmal, β -sheet: β -levha, β -turn: β -dönüş, Random coil: Rastgele sarmal



Absorbance unit: Absorbans birimi, Wavelength: Dalga boyu, Cumulative peak: Kümülatif pik, α -heliks: α -sarmal, β -sheet: β -levha, β -turn: β -dönüş, Random coil: Rastgele sarmal

Şekil 4.22. GA-FPI konjugatlarına ve FPI tozlarına ait sekonder yapı dağılım grafikleri

4.4.4. Serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların belirlenmesi

Sülfidril (-SH) grupları, zayıf ikincil bağların konformasyonuna katılarak proteinlerin üçüncül yapısının stabilitesini korumaktadır (Hou ve Chang, 2004). Serbest –SH grupları, protein yüzeyinde bulunurken, toplam –SH grupları hem yüzeydeki serbest –SH gruplarını hem de molekül içinde gizli halde bulunan –SH gruplarını içermektedir. Disülfid bağları (–S–S–), protein yapısının korunmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Maillard reaksiyonu, –SH grupları ile –S–S– bağları arasındaki değişim reaksiyonunu etkilemektedir (Žilić vd., 2012). Konjugasyon işlemiyle beraber -SH içeriklerinin ısı ile işlemle beraber arttığı belirlenmiştir (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.16. GA-FPI konjugatına ve FPI'ye ait serbest ve toplam sülfidril (-SH) grupların miktarı

Örnek	Serbest -SH μmol/g	Toplam -SH μmol/g
FPI	3,85±0,11	6,84±0,63
GA-FPI	6,80±0,42	7,82±0,25

4.4.5. Yüzey hidrofobisite

Yüzey hidrofobisitesi bir protein molekülünün yüzeyinde açığa çıkan hidrofobik grupların sayısı olarak kabul edilir ve proteinlerin konformasyonel değişimlerini yansıtabilir. Yüzey hidrofobisitesindeki değişiklikler protein stabilitesini, konformasyonunu, etkileşimlerini ve çözünürlüğünü etkileyerek sonuçta genel işlevselliğini etkileyebilir (Qu vd., 2018). Kontrol FPI'ye kıyasla GA-FPI konjugatlarının yüzey hidrofobisite değerlerinde artış gözlemlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. FPI ve GA-FPI örneklerine ait yüzey hidrofobisite değeri

Örnek	Yüzey Hidrofobisite (mV)
FPI	4935±262 ^b
GA-FPI	9381±843 ^a

Benzer sonuçlar yer fıstığı proteini izolatu-glukomannan konjugatlarında gözlemlenmiştir. Konjugasyonla artan yüzey hidrofobisitesinin muhtemelen agregat ayrışması veya proteinlerin yapısının açılması nedeniyle gerçekleştiği belirtilmiştir (Li vd., 2014a).

4.4.6. Zeta potansiyeli

Zeta potansiyelinin mutlak değeri, çözeltinin stabilitesini yansıtmaktadır. Mutlak değer ne kadar yüksek olursa, parçacıklar arasındaki karşılıklı itme kuvveti o kadar büyük olur ve birbirleriyle çarpışma, bir araya gelme olasılıkları o kadar düşük olur (Zhang vd.,

2021). Losso vd.ne (2005) göre zeta potansiyeli değerleri -11 ila -20 mV arasında olan emülsiyonlar kısa vadeli stabiliteye sahipken daha yüksek zeta potansiyeli değerlerine sahip emülsiyonlar fiziksel olarak daha güçlüdür ve uzun vadeli kararlılığa sahiptir. Konjugatları zeta potansiyelinin -20 mV'den yüksek olması üstün emülsiyon stabilize edici aktivitelerini doğrulamaktadır. Optimum SA-FPI konjugatlarının aksine konjugasyonla beraber GA-FPI konjugatlarının negatif zeta değerlerinde FPI'ye kıyasla azalma meydana gelmiştir (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18. GA-FPI konjugatına ve FPI'ye ait zeta potansiyeli değerleri

Örnek	Zeta Potansiyeli (mV)
FPI	-35,33±1,11
GA-FPI	-29,30±0,85

4.5. Optimum Koşullarda Üretilen Sodyum Aljinat-Fındık Protein İzolatı ve Gam Arabik-Fındık Protein İzolatı Konjugatlarının Karşılaştırılması

FPI, SA-FPI ve GA-FPI'nin optimizasyonu ve sonrasında gerçekleştirilen karakterizasyon analizlerinde bulunan analiz sonuçları Çizelge 4.19'da yer almaktadır.

Çizelge 4.19. FPI, SA-FPI ve GA-FPI konjugatlarının karakterizasyon analiz sonuçları

	FPI	SA-FPI	GA-FPI
Glikasyon derecesi	%1,36	%20,16	%15,12
Çözünürlük	%15,23	%52,12	%59,82
Emülsiyon aktivitesi	7,11 m ² /g	31,55 m ² /g	22,49 m ² /g
Emülsiyon stabilitesi	%80,65	%95,45	%104,4
HMF	1,13 mg/kg	3,56 mg/kg	4,86 mg/kg
L*	71,81±0,30	87,34±1,14	86,59±0,37
a*	3,39±0,09	0,69±0,11	0,92±0,03
b*	25,37±0,23	11,79±0,61	14,06±0,31
ΔE	-	20,24±0,87	18,69±0,34
BI	45,55±0,70	14,60±0,87	17,8±0,47
α-heliks	%18,85	%11,50	%17,36
β-sheet	%43,24	%69,65	%45,29
β-turn	%17,62	%6,79	%17,68
Random coil	%20,29	%12,05	%19,67
Serbest –SH	3,85±0,11 μmol/g	8,13±0,52 μmol/g	6,80±0,42 μmol/g
Toplam –SH	6,84±0,63 μmol/g	9,11±0,31 μmol/g	7,82±0,25 μmol/g
Yüzey Hidrofobisite	4935±262 mV	7218±193 mV	9381±843 mV
Zeta Potansiyeli	-35,33±1.11 mV	-50,67±0.76 mV	-29,30±0.85 mV
η ₂₀	1,324	0,060	0,087
K	26,42	0,14	0,35
n	0,21	0,75	0,55
R ²	0,98	0,97	0,98
Frekans tarama	G'>G'' jel benzeri yapı, elastik	G'>G'' jel benzeri yapı, elastik	G'>G'' jel benzeri yapı, elastik
Sıcaklık tarama	73°C'ye kadar viskoz özellik, sonrasında elastik	62°C'ye kadar viskoz özellik, sonrasında elastik	G'>G'' jel benzeri yapı, elastik

HMF: Hidroksimetilfurfural, ±: Standart sapma, L*: Parlaklık, a*: Kırmızılık, b*: Sarılık, ΔE: Toplam renk değişimi, BI: Esmerleşme indeksi, α-heliks: α-sarmal, β-sheet: β-levha, β-turn: β-dönüş, Random coil: Rastgele sarmal, η₂₀: Görünür viskozite, K: Konsistens katsayısı, n: Akış davranış indisi, R²: Belirlilik katsayısı,

SA-FPI konjugatı, GA-FPI konjugatına kıyasla daha ileri düzeyde glikasyona uğradığı tespit edilmiştir. FPI'nin çözünürlüğüne (%15,23) kıyasla SA-FPI (%52,12) ve GA-FPI (%59,82) konjugatlarının çözünürlüğü önemli ölçüde artmıştır. FPI'nin emülsiyon aktivitesi ile konjugasyonla geliştirilmiş SA-FPI, en yüksek emülsiyon aktivitesine (31,55 m²/g) sahip olduğu belirlenmiştir. FPI'nin emülsiyon stabilitesi ise (%80,65) konjugasyonla beraber artmış, SA-FPI konjugatlarında %95,45 ve GA-FPI konjugatlarında ise %104,4 değerlerine ulaşmıştır. Konjugasyonla beraber FPI'ye kıyasla HMF içeriğinde artış tespit edilmiştir. FPI en düşük parlaklık (L*=71,81) ve en yüksek kırmızılık (a*=3,39) ve sarılık (b*=25,37) değerlerine sahiptir.

SA-FPI ve GA-FPI konjugatlarında L*(87,34-86,59) değeri artmış, a*(0,69-0,92) ve b*(11,79-14,06) değerleri ise azalmıştır. Esmerleşme indeksi açısından FPI (45,55) en

yüksek değere sahipken, SA-FPI (14,60) ve GA-FPI (17,80) konjugatlarında esmerleşme seviyesi düşmüştür. FPI, amid I ve amid II bantlarında belirgin absorpsiyon piki göstermektedir. SA-FPI ve GA-FPI konjugasyonları sonrası, amid I ve amid II bantlarında kaymalar gözlemlenmiş ve pik şiddetlerinde azalmalar meydana gelmiştir. SA-FPI, β -sheet (%69,65) içeriğini önemli ölçüde artırarak daha stabil bir yapı oluşturmuştur. GA-FPI konjugatlarında (%45,29), FPI'ye göre (%43,24) β -sheet oranını artırmış ancak SA-FPI kadar etkili olmamıştır. α -heliks değerinde (%18,85) konjugasyon işlemiyle üretilen SA-FPI (%11,50) ve GA-FPI konjugatlarında (%17,36) azalma meydana gelmiştir. β -sheet değerindeki artış ile α -sarmal değerindeki azalış düzensiz yapı değişikliğini ve hidrofobik grubun açığa çıktığını göstermiştir. B-turn ve random coil değerlerinde sırasıyla FPI (%17,62-%20,29) ve GA-FPI konjugatlarında (%17,68-%19,67) belirgin bir değişiklik gözlenmemiş olup; SA-FPI konjugatlarında (%6,79-%12,05) önemli düzeyde azalma gözlemlenmiştir. FPI'nin serbest (3,85 $\mu\text{mol/g}$) ve toplam -SH (6,84 $\mu\text{mol/g}$) değerlerinin düşük olması, protein yapısının doğal olarak daha kapalı olduğunu göstermektedir. SA-FPI ve GA-FPI konjugatlarında serbest (8,13-6,80 $\mu\text{mol/g}$) ve toplam -SH (9,11-7,82 $\mu\text{mol/g}$) içeriği artmıştır. Bu, proteinlerin daha açık bir yapı kazandığını ve fonksiyonel grupların daha fazla erişilebilir hale geldiğini göstermektedir. FPI en düşük yüzey hidrofobisite değerine (4935 ± 262 mV) sahiptir. GA-FPI (9381 ± 843 mV) ve SA-FPI (7218 ± 193) konjugatlarında yüzey hidrofobisite değerleri önemli ölçüde artmıştır. FPI'nin zeta potansiyeli -35,33 mV olup, nispeten düşük stabiliteye işaret etmektedir. SA-FPI konjugatları daha negatif zeta potansiyeline (-50,67 mV) sahip olup, bu durum daha kararlı bir emülsiyon yapısı oluşturduklarını göstermektedir. GA-FPI konjugatlarının negatif zeta potansiyeli değerleri (-29,30 mV) FPI'ye kıyasla azalmıştır, bu da GA'nın SA'ya göre yük yoğunluğunu azalttığını göstermektedir. FPI, 73°C'ye kadar viskoz bir yapı sergilemekte, sonrasında elastik özellik göstermektedir. SA-FPI, 62°C'ye kadar viskoz özellik göstermekte, daha düşük sıcaklıklarda elastik yapıya geçiş yapmaktadır. Bu durum, düşük sıcaklıklarda çalışılan gıdalarda stabilite sağlaması açısından avantajlıdır. GA-FPI, sıcaklık artışı boyunca elastik yapısını koruyarak sıcaklığa bağlı daha stabil bir karakter sergilemiştir. Bu durum ise geniş sıcaklık aralığında kullanım avantajı sağlamaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bitkisel proteinler, sürdürülebilirlik, sağlıklı yaşam ve artan dünya nüfusunun protein ihtiyacını karşılamak için önemli bir alternatif olarak öne çıkmaktadır. Hayvansal protein kaynaklarının üretimi, yüksek karbon ayak izi ve çevresel etkileri nedeniyle giderek sorgulanmakta, bitkisel protein kaynakları daha çevre dostu ve ekonomik bir çözüm olarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, gıda endüstrisinde bitkisel proteinlerin kullanımı, bireyler için güvenli alternatifler sunmakta ve tüketicilerin artan sağlıklı beslenme taleplerine yanıt vermektedir. Bu çalışmada, soğuk pres yöntemiyle yağı ayrılan küspeden fındık izolasyonu gerçekleştirilmiş, elde edilen izolatların ise polisakkaritlerle konjugasyon işlemlerine odaklanılmıştır.

Çalışma, atık bir ürün olan fındık küspesinin değerlendirilmesini sağlayarak, bu kaynaktan elde edilen proteinlerin konjugasyonla tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Konjugatlar ıslak ısıtma yöntemi ile elde edilmiş; konjugatların kimyasal ve fiziksel özellikleri incelenmiştir. Merkezi yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak FPI ile polisakkaritlerin (GA ve SA) konjugasyon işlem koşulları optimize edilmiştir. Optimum nokta belirlendikten sonra konjugatların viskozite, zeta potansiyeli, renk ölçümleri, sülfidril grupları, yüzey hidrofobisiteleri ve FTIR analizleri gerçekleştirilmiş ve ürünler detaylı olarak karakterize edilmiştir.

GA-FPI ve SA-FPI ile yapılan konjugasyon işlemleri sonucunda optimum koşullar şu şekilde belirlenmiştir: GA-FPI için optimum koşullar: Sıcaklık 66,08°C, süre 4,83 saat, protein/polisakkarit oranı %35,13. SA-FPI için optimum koşullar: Sıcaklık 62°C, süre 5,12 saat, protein/polisakkarit oranı %40. Optimum koşullarda gerçekleştirilen konjugasyon işlemi sonucunda en yüksek glikasyon derecesi (%20,16), emülsiyon aktivitesi (31,55 m²/g), L* değeri (87,34±1,14), serbest -SH (8,13±0,52 µmol/g), toplam -SH (9,11±0,31 µmol/g), negatif yönde zeta potansiyeli (-50,67±0.76 mV) SA-FPI konjugatlarında gözlemlenmiştir.

GA-FPI konjugatlarında ise en yüksek çözünürlük (%59,82), emülsiyon stabilitesi (%104,4), HMF (4,86 mg/kg), yüzey hidrofobisitesi (9381 ± 843 mV) değerlerine ulaşılmıştır. FPI'de de en yüksek a^* ($3,39 \pm 0,09$), b^* ($25,37 \pm 0,23$), BI ($45,55 \pm 0,70$) değerleri tespit edilmiştir.

FTIR analizleri, konjugasyon işleminin proteinlerin sekonder yapısını değiştirdiğini ve SA-FPI konjugatlarında β -sheet yapılarının (%69,65) belirgin derecede artış gösterdiğini ortaya koymuştur. α -heliks değerleri ise konjugasyon sonrası FPI'ye kıyasla her iki konjugatta azalmıştır. Reolojik analizler, konjugatların viskozite ve jel davranış özelliklerinde anlamlı değişimler göstermiştir. Her iki konjugatta da pseudoplastik karakter gözlenmiştir. SA-FPI konjugatlarında kontrol protein izolatına kıyasla daha düşük viskozite ve kıvam indeksleri bulunmuş, ancak GA konjugasyonlarında bu değerler daha yüksek kalmıştır. Frekans tarama analizlerinde, SA-FPI ve GA-FPI konjugatlarının elastik özelliklerinin viskoz özelliklere göre daha baskın olduğu ve yüksek frekansta bile jel-çözelti geçişinin gözlenmediği tespit edilmiştir. Sıcaklık tarama testlerinde, SA-FPI konjugatlarının viskoz özelliklerinin 62°C 'ye kadar sürdüğü, sonrasında elastik özellik sergilediği, GA-FPI konjugatlarının ise tüm sıcaklık aralığında elastik karakterini koruduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, her iki konjugatın da farklı sıcaklık ve uygulama alanlarına uygun olduğunu göstermektedir.

Bu çalışma, gıda endüstrisinde fonksiyonel protein bileşenleri üretiminde kullanılabilecek yeni bir yöntem sunmaktadır. Elde edilen protein-polisakkarit konjugatlarının, emülsifiye edici ve stabilite artırıcı özellikleri, süt ürünleri, içecekler ve emülsiyon bazlı ürünlerde uygulanabilir potansiyele sahiptir. Gelecek çalışmalar için, farklı polisakkarit türlerinin (pektin, karragenan gibi) fındık proteini ile konjugasyonunda fonksiyonel özellikler üzerindeki etkileri araştırılabilir. Yenilikçi teknolojilerden ultrasound, ohmik ısıtma vb. teknolojilerin desteğiyle konjugasyon süresinin kısaltılmasına yönelik çalışmalar önem arz etmektedir. Konjugatların raf ömrü ve depolama stabilitesi üzerine ileri çalışmalar yapılmalıdır. Gıda üretim süreçlerinde bu konjugatlar, doğal stabilizatörler ve emülgatörler olarak kullanılabilir. Üretim süreçlerinin ölçeklendirilmesi ve maliyet etkinliği üzerine araştırmalar yapılmalıdır. Çalışmanın sonuçları, gıda bilimi ve teknolojisi alanında daha fazla araştırmaya öncülük edebilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aachary, A. A., Thiyam-Hollander, U., & Eskin, M. N. (2014). Canola/rapeseed proteins and peptides. In Z. Ustunol (Ed.), *Applied Food Protein Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/9781118860588.ch10>
- Ahmadifard, N., Murueta, J. H. C., Abedian-Kenari, A., Motamedzadegan, A., & Jamali, H. (2016). Comparison of the effect of three commercial enzymes for enzymatic hydrolysis of two substrates (rice bran protein concentrate and soybean protein) with SDS-PAGE. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1279–1284. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-2087-6>
- Ai, M., Xiao, N., & Jiang, A. (2021). Molecular structural modification of duck egg white protein conjugates with monosaccharides for improving emulsifying capacity. *Food Hydrocolloids*, 111, Article 106271. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106271>
- Akharume, F. U., Xiong, Y. L., & Adedeji, A. (2019). Effects of transglutaminase in product formulation on the physico-textural properties of protein-rich extruded snacks. In *2019 ASABE Annual International Meeting* (p. 1). American Society of Agricultural and Biological Engineers. <https://doi.org/10.13031/aim.201900306>
- Akharume, F. U., Aluko, R. E., & Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198–224. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688>
- Akhtar, M., & Dickinson, E. (2007). Whey protein–maltodextrin conjugates as emulsifying agents: An alternative to gum Arabic. *Food Hydrocolloids*, 21, 607–616.
- Akhtar, M., & Ding, R. (2017). Covalently cross-linked proteins & polysaccharides: Formation, characterisation and potential applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 28, 31–36. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2017.01.002>
- Akılhoğlu, H. G., & Gökmen, V. (2016). Kinetic evaluation of the inhibition of protein glycation during heating. *Food Chemistry*, 196, 1117–1124. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.066>
- Alavi, F., Chen, L., Wang, Z., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106335>
- Al-Hakkak, J., & Al-Hakkak, F. (2010). Functional egg white-pectin conjugates prepared by controlled Maillard reaction. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.040>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Allegrini, A., Salvaneschi, P., Schirone, B., Cianfaglione, K., & Michele, A. D. (2022). Multipurpose plant species and circular economy: *Corylus avellana* L. as a study case. *Frontiers in Bioscience (Landmark edition)*, 27(1), 11. <http://doi.org/10.31083/j.fbl2701011>
- Alleoni, A. C. C. (2006). Albumen protein and functional properties of gelation and foaming. *Scientia Agricola*, 63(3), 291–298. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162006000300013>
- Aluko, R. E. (2018). Food protein-derived peptides: Production, isolation, and purification. In R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in food processing* (2nd ed., pp. 389–412). Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing.
- Aluko, R. E., & McIntosh, T. (2001). Polypeptide profile and functional properties of defatted meals and protein isolates of canola seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 391–396.
- Álvarez, C., García, V., Rendueles, M., & Díaz, M. (2012). Functional properties of isolated porcine blood proteins modified by Maillard's reaction. *Food Hydrocolloids*, 28(2), 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.01.001>
- Amiratashani, F., Yarmand, M. S., Kiani, H., Askari, G., Naeini, K. K., & Parandi, E. (2024). Comprehensive structural and functional characterization of a new protein-polysaccharide conjugate between grass pea protein (*Lathyrus sativus*) and xanthan gum produced by wet heating. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127283>
- Aoki, T., Hiidome, Y., Kitahata, K., Sugimoto, Y., İbrahim, H. R., & Kato, Y. (1999). Improvement of heat stability and emulsifying activity of ovalbumin by conjugation with glucuronic acid through the Maillard reaction. *Food Research International*, 32(2), 129–133. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(99\)00039-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(99)00039-3)
- Armstrong, H. J., Hill, S. E., Schrooyen, P., & Mitchell, J. R. (1994). A comparison of the viscoelastic properties of conventional and Maillard protein gels. *Journal of Texture Studies*, 25(3), 285–298.
- Arogundade, L. A., Eromosele, C. O., Eromosele, I. C., Ademuyiwa, O., Etafo, N. O., & Adesokan, A. O. (2013). Effect of glycosylation via Maillard reaction and acylation on African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa*) protein functionality. *Food Science and Biotechnology*, 22(4), 951–960. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0169-7>
- Arogundade, L. A., Mu, T. H., Zhang, M., Chen, J. W., Sun, H. N., & Zhang, D. (2021). Improving sweet potato protein gel properties through ϵ -(γ -glutamyl)-lysine isopeptide cross-link catalyzed by transglutaminase. *Food Bioscience*, 39, 100828. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100828>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Aryee, A. N. A., Agyei, D., & Udenigwe, C. C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in food processing* (2nd ed., pp. 27–45). Duxford, United Kingdom: Woodhead Publishing.
- Arzeni, C., Martínez, K., Zema, P., Arias, A., Pérez, O. E., & Pilosof, A. M. R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 463–472. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.09.018>
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2000). Official methods of analysis (17th ed.). AOAC International.
- Atalar, İ. (2019). Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk. *LWT - Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.013>
- Atalar, İ., Kurt, A., Gül, O., & Yazıcı, F. (2021). Improved physicochemical, rheological and bioactive properties of ice cream: Enrichment with high pressure homogenized hazelnut milk. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2021.100358>
- Atalar, İ., Gül, O., Kurt, A., & Sarıcaoğlu, F. T. (2024). Effect of cold-pressed hazelnut cake incorporation on the quality characteristic of meat emulsion system and its potential application for frankfurter-type beef sausages. *Food Science and Technology International*. <https://doi.org/10.1177/10820132231153710>
- Attri, P., Kumar, N., Park, J. H., Yadav, D. K., Choi, S., Uhm, H. S., ... Lee, W. (2015). Influence of reactive species on the modification of biomolecules generated from the soft plasma. *Scientific Reports*, 5(1), 8221. <https://doi.org/10.1038/srep08221>
- Aydar, E. F., Tütüncü, S., & Özçelik, B. (2020). Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. *Journal of Functional Foods*, 70, 103975. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2020.103975>
- Aziznia, S., Askari, G., Emamdjomeh, Z., & Salami, M. (2024). Effect of ultrasonic assisted grafting on the structural and functional properties of mung bean protein isolate conjugated with maltodextrin through Maillard reaction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254(P1), 127616. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127616>
- Baier, S. K., & McClements, D. J. (2005). Influence of cosolvent systems on the gelation mechanism of globular protein: Thermodynamic, kinetic, and structural aspects of globular protein gelation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 4, 43–54.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Barbosa, J. M., Ushikubo, F. Y., de Figueiredo Furtado, G., & Cunha, R. L. (2019). Oil-in-water emulsions stabilized by Maillard conjugates of sodium caseinate-locust bean gum. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 40(5), 634–645. <https://doi.org/10.1080/01932691.2018.1473942>
- Başıyigit, B., Yüçetepe, M., Akyar, G., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2022). Enhancing thermal and emulsifying resilience of pomegranate fruit protein with gum Arabic conjugation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 215, 112516.
- Bener, M., Şen, F. B., Önem, A. N., Bekdeşer, B., Çelik, S. E., Lalikoğlu, M., & Apak, R. (2022). Microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from by-products of Turkish hazelnut (*Corylus avellana* L.) using natural deep eutectic solvents: Modeling, optimization and phenolic characterization. *Food Chemistry*, 385, 132633. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132633>
- Boonlao, N., Ruktanonchai, U. R., & Anal, A. K. (2023). Glycation of soy protein isolate with maltodextrin through Maillard reaction via dry and wet treatments and comparison of their techno-functional properties. *Polymer Bulletin*, 80(8), 8603–8626. <https://doi.org/10.1007/s00289-022-04473-y>
- Boostani, S., Aminlari, M., Moosavi-Nasab, M., Niakosari, M., & Mesbahi, G. (2017). Fabrication and characterization of soy protein isolate-grafted dextran biopolymer: A novel ingredient in spray-dried soy beverage formulation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 297–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.019>
- Bora, P. S. (2002). Functional properties of native and succinylated lentil (*Lens culinaris*) globulins. *Food Chemistry*, 77, 171–176.
- Buchert, J., Ercili Cura, D., Ma, H., Gasparetti, C., Monogioudi, E., Faccio, G., ... Selinheimo, E. (2010). Crosslinking food proteins for improved functionality. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 113–138. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100841>
- Bučko, S., Katona, J., Popović, L., Petrović, L., & Milinković, J. (2016). Influence of enzymatic hydrolysis on solubility, interfacial and emulsifying properties of pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 60, 271–278. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.04.005>
- Burger, T. G., & Zhang, Y. (2019). Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>
- Bursa, K., Said Toker, O., Palabıyık, İ., Yaman, M., Kian-Pour, N., Konar, N., & Kılıçlı, M. (2021). Valorization of hazelnut cake in compound chocolate: The effect of formulation on rheological and physical properties. *LWT-Food Science and Technology*, 139, Article 110609. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110609>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Branden, C., & Tooze, J. (2012). *Introduction to protein structure*. Garland Science.
- Cabodevila, O., Hill, S. E., Armstrong, H. J., De Sousa, I., & Mitchell, J. R. (1994). Gelation enhancement of soy protein isolate using the Maillard reaction and high temperatures. *Journal of Food Science*, 59(4), 872–875.
- Cai, B., & Ikeda, S. (2016). Effects of the conjugation of whey proteins with gellan polysaccharides on surfactant-induced competitive displacement from the air-water interface. *Journal of Dairy Science*, 99(7), 6026–6035. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10688>
- Cameron, D. R., Weber, M. E., Idziak, E. S., Neufeld, R. J., & Cooper, D. G. (1991). Determination of interfacial areas in emulsions using turbidimetric and droplet size data: Correction of the formula for emulsifying activity index. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 655–659.
- Chen, F. L., Wei, Y. M., & Zhang, B. (2011). Chemical cross-linking and molecular aggregation of soybean protein during extrusion cooking at low and high moisture content. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 957–962. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.008>
- Chen, H., Zhao, M., Sun, W., & Cui, C. (2019). Time effect on structural and functional properties of whey protein isolate–gum acacia conjugates prepared via Maillard reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(5), 2116–2125. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9735>
- Chen, K., Zhang, M., Wang, D., Mujumdar, A. S., & Deng, D. (2024). Development of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) protein isolate-gum arabic conjugates via ultrasound-assisted wet heating for spice essential oils emulsification: Effects on water solubility, bioactivity, and sensory stimulation. *Food Chemistry*, 431, 137001. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137001>
- Chen, L., Ullah, N., Li, C., Hackman, R. M., Li, Z., Xu, X., ... Feng, X. (2017). Incorporated glucosamine adversely affects the emulsifying properties of whey protein isolate polymerized by transglutaminase. *Journal of Dairy Science*, 100(5), 3413–3423. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12071>
- Chen, W., Lv, R., Wang, W., Ma, X., Muhammad, A. I., Guo, M., & Liu, D. (2019). Time effect on structural and functional properties of whey protein isolate-gum acacia conjugates prepared via Maillard reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4801–4807. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9735>
- Cheng, Y. H., Tang, W. J., Xu, Z., Wen, L., & Chen, M. L. (2018). Structure and functional properties of rice protein–dextran conjugates prepared by the Maillard reaction. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 372–380. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13594>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Chevalier, F., Chobert, J. M., Popineau, Y., Nicolas, M. G., & Haertlé, T. (2001). Improvement of functional properties of β -lactoglobulin glycosylated through the Maillard reaction is related to the nature of the sugar. *International Dairy Journal*, 11(3), 145–152.
- Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre, A. K., & Parker, M. E. (2019). Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogues. *Food Structure*, 19, 100102. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2018.11.002>
- Choi, H. W., Ham, S. H., Hahn, J., & Choi, Y. J. (2023). Developing plant-based mayonnaise using pea protein-xanthan gum conjugates: A Maillard reaction approach. *LWT*, 185, 115137. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115137>
- Choi, S. M., Mine, Y., & Ma, C. Y. (2006). Characterization of heat-induced aggregates of globulin from common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). *International Journal of Biological Macromolecules*, 39(4–5), 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2006.03.025>
- Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H., & Catignani, G. L. (1983). Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 66(6), 1219–1227. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(83\)81926-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(83)81926-2)
- Corzo-Martinez, M., Moreno, F. J., Olano, A., & Villamiel, M. (2010). Role of pyridoxamine in the formation of the Amadori/Heyns compounds and aggregates during the glycation of β -lactoglobulin with galactose and tagatose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 500–506.
- Corzo-Martinez, M., Corzo, N., Villamiel, M., & del Castillo, M. D. (2012a). Browning reactions. In B. K. Simpson (Ed.), *Food biochemistry and food processing* (2nd ed., pp. 56–84). John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781118308035.ch4>
- Corzo-Martinez, M. C., Sanchez, C. C., Moreno, F. J., Patino, J. M. R., & Villamiel, M. (2012b). Interfacial and foaming properties of bovine β -lactoglobulin: Galactose Maillard conjugates. *Food Hydrocolloids*, 27(1), 438–447. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.11.007>
- Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. *Journal of Food Science*, 70(3), R54–R66. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07150.x>
- Damodaran, S. (2007). Amino acids, peptides, and proteins. In S. Damodaran, K. L. Parkin, & O. R. Fennema (Eds.), *Fennema's food chemistry* (4th ed., pp. 247–329). CRC Press.
- Damodaran, S. (2008). Amino acids, peptides and proteins. (Vol. 4). CRC Press.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Damodaran, S. (2017). Amino acids, peptides, and proteins. In S. Damodaran & K. L. Parkin (Eds.), *Fennema's Food Chemistry* (5th ed., pp. 235–357). CRC Press.
- Davis, P., & Williams, S. (1998). Protein modification by thermal processing. *Allergy*, 53, 102–105. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.1998.tb04975.x>
- Davis, P. J., Smales, C. M., & James, D. C. (2001). How can thermal processing modify the antigenicity of proteins? *Allergy*, 56(s67), 56–60. <https://doi.org/10.1034/j.1398-9995.2001.00918.x>
- Day, L. (2013). Proteins from land plants – Potential resources for human nutrition and food security. *Trends in Food Science & Technology*, 32(1), 25–42. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.05.005>
- De Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. R., de Oliveira, E. B., Zuniga, A. D. G., & 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. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755669>
- Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X., & Li, S. (2019). Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. *Food Chemistry*, 283, 539–548.
- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Dickinson, E., & Izgi, E. (1996). Foam stabilization by protein-polysaccharide complexes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 113, 191–201.
- Diftis, N., & Kiosseoglou, V. (2003). Improvement of emulsifying properties of soybean protein isolate by conjugation with carboxymethyl cellulose. *Food Chemistry*, 81, 1–6.
- Diftis, N., & Kiosseoglou, V. (2006). Stability against heat-induced aggregation of emulsions prepared with a dry-heated soy protein isolate-dextran mixture. *Food Hydrocolloids*, 20, 787–792.
- Djoullah, A., Husson, F., & Saurel, R. (2018). Gelation behaviors of denatured pea albumin and globulin fractions during transglutaminase treatment. *Food Hydrocolloids*, 77, 636–645. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.11.005>
- Du, Y., Shi, S., Jiang, Y., Xiong, H., Woo, M. W., Zhao, Q., & Sun, W. (2013). Physicochemical properties and emulsion stabilization of rice dreg glutelin conjugated with κ -carrageenan through Maillard reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(1), 125–133. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5739>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Dunlap, C. A., & Côte, G. L. (2005). β -Lactoglobulin-dextran conjugates: Effect of polysaccharide size on emulsion stability. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(2), 419–423. <https://doi.org/10.1021/jf049180c>
- Echavarría, A. P., Pagán, J., & Ibarz, A. (2012). Melanoidins formed by Maillard reaction in food and their biological activity. *Food Engineering Reviews*, 4(4), 203–223. <https://doi.org/10.1007/s12393-012-9057-9>
- Eckert, E., Han, J., Swallow, K., Tian, Z., Jarpa-Parra, M., & Chen, L. (2019). Effects of enzymatic hydrolysis and ultrafiltration on physicochemical and functional properties of faba bean protein. *Cereal Chemistry*, 96(4), 725–741. <https://doi.org/10.1002/cche.10169>
- El Youssef, C., Bonnarne, P., Fraud, S., Péron, A.-C., Helinck, S., & Landaud, S. (2020). Sensory improvement of pea protein-based products using microbial co-cultures of lactic acid bacteria and yeasts. *Foods*, 9(3), 349. <https://doi.org/10.3390/foods9030349>
- Ellman, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 82(1), 70–77. [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)
- Fang, G. Z., Lv, Y. Y., Sheng, W., Liu, B., Wang, X. X., & Wang, S. (2011). Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of 5-hydroxymethyl-2-furfural in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(10), 3367–3373. <https://doi.org/10.1007/s00216-011-5430-4>
- Farkas, D. F. (2016). A short history of research and development efforts leading to the commercialization of high-pressure processing of food. In V. Balasubramaniam, G. Barbosa-Cánovas, & H. Lelieveld (Eds.), *High pressure processing of food* (pp. 17–35). *Food Engineering Series*. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_2
- Fenaille, F., Morgan, F., Parisod, V., Tabet, J. C., & Guy, P. A. (2004). Solid-state glycation of β -lactoglobulin by lactose and galactose: Localization of the modified amino acids using mass spectrometric techniques. *Journal of Mass Spectrometry*, 39(1), 16–28. <https://doi.org/10.1002/jms.562>
- Feng, J., Wu, S., Wang, H., & Liu, S. (2016). Improved bioavailability of curcumin in ovalbumin-dextran nanogels prepared by Maillard reaction. *Journal of Functional Foods*, 27, 55–68.
- Foegeding, E. A., & Davis, J. P. (2011). Food protein functionality: A comprehensive approach. *Food Hydrocolloids*, 25(8), 1853–1864. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.008>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2022). Crops and livestock products. *FAOSTAT*. Retrieved February 17, 2022, <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
- Food and Drug Administration (FDA). (2021). FDA grants citizen petition on acacia (gum Arabic) as a dietary fiber. *FDA Constituent Updates*. <https://www.fda.gov/food/cfsan-constituent-updates/fda-grants-citizen-petition-acacia-gum-arabic-dietary-fiber>
- Franco, J. M., & Partal, P. (2004). The Newtonian fluid. In *Rheology* (Vol. I, pp. 1–22). Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS).
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry*, 92(2), 211–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.06.049>
- Fuso, A., Risso, D., Rosso, G., Rosso, F., Manini, F., Manera, I., & Caligiani, A. (2021). Potential valorization of hazelnut shells through extraction, purification, and structural characterization of prebiotic compounds: A critical review. *Foods*, 10(6), Article 1197. <https://doi.org/10.3390/foods10061197>
- Gao, K., Xu, Y., Rao, J., & Chen, B. (2024a). Maillard reaction between high-intensity ultrasound pre-treated pea protein isolate and glucose: Impact of reaction time and pH on the conjugation process and the properties of conjugates. *Food Chemistry*, 434(September 2023), 137486. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137486>
- Gao, K., Zha, F., Rao, J., & Chen, B. (2024b). Nonenzymatic glycation as a tunable technique to modify plant proteins: A comprehensive review on reaction process, mechanism, conjugate structure, and functionality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 23(1), 1–24.
- Gashua, I. B., Williams, P. A., & Baldwin, T. C. (2016). Molecular characteristics, association, and interfacial properties of gum Arabic harvested from both *Acacia senegal* and *Acacia seyal*. *Food Hydrocolloids*, 61, 514–522. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.005>
- Gaspar, E. M. S. M., & Lucena, A. F. F. (2009). Improved HPLC methodology for food control: Furfurals and patulin as markers of quality. *Food Chemistry*, 114(4), 1576–1582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.097>
- Geng, X. P., Cui, B. Y., Li, W. P., Jin, Y., An, B., Zhou, T., Ye, L., He, H. S., Liang, L., Wang, Y. J., & Li, B. (2014). Preparation and characterization of ovalbumin and carboxymethyl cellulose conjugates via glycosylation. *Food Hydrocolloids*, 37, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.10.027>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Ghaedi, N., & Hosseini, E. (2021). Physical and oxidative stability of emulsions treated with bitter almond gum–soy protein isolate Maillard conjugates. *LWT*, 152, 112352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112352>
- Gharbi, N., & Labbafi, M. (2019). Influence of treatment-induced modification of egg white proteins on foaming properties. *Food Hydrocolloids*, 90, 72–81. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.060>
- Gharibzadeh, S. M. T., & Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.005>
- Gu, F., Kim, J. M., Hayat, K., Xia, S., Feng, B. & Zhang, X. (2009). Characteristics and antioxidant activity of ultrafiltrated Maillard reaction products from a casein–glucose model system. *Food Chemistry*, 117, 48–54.
- Gu, F., Kim, J. M., Abbas, S., Zhang, X., Xia, S., & Chen, Z. (2010). Structure and antioxidant activity of high molecular weight Maillard reaction products from casein–glucose. *Food Chemistry*, 120(2), 505–511.
- Guan, Y. G., Lin, H., Han, Z., Wang, J., Yu, S. J., Zeng, X. A., Liu, Y. Y., Xu, C. H., & Sun, W. W. (2010). Effects of pulsed electric field treatment on a bovine serum albumin–dextran model system, a means of promoting the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 123(2), 275–280.
- Guiné, R. P. F., & Correia, P. M. R. (2020). Hazelnut: A valuable resource. *International Journal of Food Engineering*, 6(2), 67–71. <https://doi.org/10.18178/ijfe.6.2.67-72>
- Guo, X., & Xiong, Y. L. (2013). Characteristics and functional properties of buckwheat protein-sugar Schiff base complexes. *LWT – Food Science and Technology*, 51, 397–404.
- Gül, O., Sarıcaoğlu, F. T., Beşir, A., Atalar, İ., & Yazıcı, F. (2018). Effect of ultrasound treatment on the properties of nano-emulsion films obtained from hazelnut meal protein and clove essential oil. *Ultrasonics Sonochemistry*, 41, 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.10.011>
- Gül, O., Atalar, İ., Mortaş, M., & Sarıcaoğlu, F. T. (2022). Potential use of high pressure homogenized hazelnut beverage for a functional yoghurt-like product. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220191172>
- Gül, O., Gül, L. B., Baskıncı, T., Parlak, M. E., & Sarıcaoğlu, F. T. (2023). Influence of pH and ionic strength on the bulk and interfacial rheology and technofunctional properties of hazelnut meal protein isolate. *Food Research International*, 169, Article 112906.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Habinshuti, I., Mu, T.-H., & Zhang, M. (2021). Structural, antioxidant, aroma, and sensory characteristics of Maillard reaction products from sweet potato protein hydrolysates as influenced by different ultrasound-assisted enzymatic treatments. *Food Chemistry*, 361, 130090. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130090>
- Hamada, J. S., & Swanson, B. (1994). Deamidation of food proteins to improve functionality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34(3), 283–292. <https://doi.org/10.1080/10408399409527664>
- Hamdani, A. M., Wani, I. A., Bhat, N. A., & Siddiqi, R. A. (2018). Effect of guar gum conjugation on functional, antioxidant, and antimicrobial activity of egg white lysozyme. *Food Chemistry*, 240, 1201–1209. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.108>
- Hashemi, M. M., Aminlari, M., Forouzan, M. M., Moghimi, E., Tavana, M., Shekarforoush, S., & Mohammadifar, M. A. (2018). Production and application of lysozyme-gum Arabic conjugate in mayonnaise as a natural preservative and emulsifier. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 68(1), 33–43. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0011>
- Herrera, R., Hemming, J., Smeds, A., Gordobil, O., Willför, S., & Labidi, J. (2020). Recovery of bioactive compounds from hazelnuts and walnuts shells: Quantitative-qualitative analysis and chromatographic purification. *Biomolecules*, 10(10), Article 1363. <https://doi.org/10.3390/biom10101363>
- Hiller, B., & Lorenzen, P. C. (2010). Functional properties of milk proteins as affected by Maillard reaction-induced oligomerisation. *Food Research International*, 43(4), 1155–1166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.006>
- Hou, H. J., & Chang, K. C. (2004). Structural characteristics of purified β -conglycinin from soybeans stored under four conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7931–7937. <https://doi.org/10.1021/jf049430p>
- Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C. Y., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., & Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 647–655. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.001>
- Hussain, A., Hussain, M., Ashraf, W., Karim, A., Aqeel, S. M., Khan, A., Hussain, A., Khan, S., & Lianfu, Z. (2024). Preparation, characterization, and functional evaluation of soy protein isolate-peach gum conjugates prepared by wet heating Maillard reaction. *Food Research International*, 192, Article 114681. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114681>
- İsmail, I., Hwang, Y.-H., & Joo, S.-T. (2020). Meat analog as future food: A review. *Journal of Animal Science and Technology*, 62(2), 111–120. <https://doi.org/10.5187/jast.2020.62.2.111>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., ... Zhang, M. (2014). Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Research International*, 62, 595–601. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.022>
- Jiang, W., Wang, Y., Ma, C., McClements, D. J., Liu, F., & Liu, X. (2022). Pea protein isolate-inulin conjugates prepared by pH-shift treatment and ultrasonic-enhanced glycosylation: Structural and functional properties. *Food Chemistry*, 384, Article 132511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132511>
- Jiménez-Castaño, L., López-Fandiño, R., Olano, A., & Villamiel, M. (2005). Study on β -lactoglobulin glycosylation with dextran: Effect on solubility and heat stability. *Food Chemistry*, 93(4), 689–695. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.09.050>
- Jiménez-Castaño, L., Villamiel, M., & López-Fandiño, R. (2007). Glycosylation of individual whey proteins by Maillard reaction using dextran of different molecular mass. *Food Hydrocolloids*, 21(3), 433–443.
- Jin, H., Zhao, Q., Feng, H., Wang, Y., Wang, J., Liu, Y., & Xu, J. (2019). Changes on the structural and physicochemical properties of conjugates prepared by the Maillard reaction of black bean protein isolates and glucose with ultrasound pretreatment. *Polymers*, 11(5), Article 848.
- Kan, X., Chen, G., Zhou, W., & Zeng, X. (2021). Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: Source, preparation and functional properties. In *Food Research International* (Vol. 150). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110740>
- Karbasi, M., & Madadlou, A. (2018). Interface-related attributes of the Maillard reaction-born glycoproteins. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(10), 1595–1603. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1270894>
- Kato, A., & Nakai, S. (1980). Hydrophobicity determined by a fluorescence probe method and its correlation with surface properties of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, 624(1), 13–20. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(80\)90220-2](https://doi.org/10.1016/0005-2795(80)90220-2)
- Kato, A., Komatsu, K., Fujimoto, K., & Kobayashi, K. (1985). Relationship between surface functional properties and flexibility of proteins detected by the protease susceptibility. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 33(5), 931–934. <https://doi.org/10.1021/jf00065a025>
- Kato, A., Sasaki, Y., Furuta, R., & Kobayashi, K. (1990). Functional protein-polysaccharide conjugate prepared by controlled dry-heating of ovalbumin-dextran mixtures. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(1), 107–112. <https://doi.org/10.1271/bbb1961.54.107>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Kato, A. (2002). Industrial applications of Maillard-type protein–polysaccharide conjugates. *Food Science and Technology Research*, 8(3), 193–199. <https://doi.org/10.3136/fstr.8.193>
- Khoder, M., Gbormoi, H. K., Ryan, A., Karam, A., & Alany, R. G. (2019). Potential use of the Maillard reaction for pharmaceutical applications: Gastric and intestinal controlled release alginate-albumin beads. *Pharmaceutics*, 11(2), Article 83.
- Kim, D. Y., & Shin, W. S. (2016). Functional improvements in bovine serum albumin-fucoidan conjugate through the Maillard reaction. *Food Chemistry*, 190, 974–981. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.046>
- Kim, J. H. J., Varankovich, N. V., & Nickerson, M. T. (2016). The effect of pH on the gelling behaviour of canola and soy protein isolates. *Food Research International*, 81, 31–38. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.12.029>
- Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: A survey. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 7(3), 219–280. <https://doi.org/10.1080/10408397609527208>
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*, 102(4), 1317–1327. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.07.016>
- Korkmaz, F. (2024). Ayçiçeği proteini-arabik gam konjugatlarının bazı tekno-fonksiyonel özellikleri. *GIDA*, 49(2), 385–396. <https://doi.org/10.15237/gida.GD24022>
- Król, K., & Gantner, M. (2020). Morphological traits and chemical composition of hazelnut from different geographical origins: A review. *Agriculture*, 10(9), Article 375. <https://doi.org/10.3390/agriculture10090375>
- Król, K., Gantner, M., Piotrowska, A., & Hallmann, E. (2020). Effect of climate and roasting on polyphenols and tocopherols in the kernels and skin of six hazelnut cultivars (*Corylus avellana* L.). *Agriculture*, 10(2), Article 36. <https://doi.org/10.3390/agriculture10020036>
- Lam, R. S. H., & Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975–984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>
- Laparra, J. M., Corzo-Martínez, M., Villamiel, M., Moreno, F. J., & Sanz, Y. (2011). Maillard-type glycoconjugates from dairy proteins inhibit adhesion of *Escherichia coli* to mucin. *Food Chemistry*, 129, 1435–1443.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Le, T. T., Holland, J. W., Bhandari, B., Alewood, P. F., & Deeth, H. C. (2013). Direct evidence for the role of Maillard reaction products in protein cross-linking in milk powder during storage. *International Dairy Journal*, 31(2), 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.02.013>
- Li, C., Huang, X., Peng, Q., Shan, Y., & Xue, F. (2014a). Physicochemical properties of peanut protein isolate–glucomannan conjugates prepared by ultrasonic treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(5), 1722–1727. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.03.018>
- Li, C., Xue, H., Chen, Z., Ding, Q., & Wang, X. (2014b). Comparative studies on the physicochemical properties of peanut protein isolate–polysaccharide conjugates prepared by ultrasonic treatment or classical heating. *Food Research International*, 57, 1–7.
- Li, C., Rui, X., Zhang, Y., Cai, F., Chen, X., & Jiang, M. (2017). Production of tofu by lactic acid bacteria isolated from naturally fermented soy whey and evaluation of its quality. *LWT - Food Science and Technology*, 82, 227–234. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.054>
- Li, R., Cui, Q., Wang, G., Liu, J., Chen, S., Wang, X., & Jiang, L. (2019). Relationship between surface functional properties and flexibility of soy protein isolate-glucose conjugates. *Food Hydrocolloids*, 95, 349–357.
- Li, X., Lin, C., & O'Connor, P. B. (2010). Glutamine deamidation: Differentiation of glutamic acid and gamma-glutamic acid in peptides by electron capture dissociation. *Analytical Chemistry*, 82(9), 3606–3615. <https://doi.org/10.1021/ac9028467>
- Li, X., & de Vries, R. (2018). Interfacial stabilization using complexes of plant proteins and polysaccharides. *Current Opinion in Food Science*, 21, 51–56. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.05.012>
- Li, Y., Zhong, F., Ji, W., Yokoyama, W., Shoemaker, C. F., Zhu, S., & Xia, W. (2013). Functional properties of Maillard reaction products of rice protein hydrolysates with mono-, oligo-, and polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.04.013>
- Liu, G., Li, W., Qin, X., & Zhong, Q. (2020). Pickering emulsions stabilized by amphiphilic anisotropic nanofibrils of glycosylated whey proteins. *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105503. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105503>
- Liu, J., Ru, Q., & Ding, Y. (2012). Glycation: A promising method for food protein modification- Physicochemical properties and structure, a review. *Food Research International*, 49(1), 170–183. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.07.034>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Liu, J., Fang, C., Xu, X., Su, Q., Zhao, P., & Ding, Y. (2019). Physico-chemical and functional properties of silver carp myosin glycated with konjac oligo-glucomannan: Effects of deacetylation. *Food Chemistry*, 291, 223–230.
- Liu, P., Li, Y., Gao, L., Zhou, X., Ma, P., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102979>
- Liu, Y., Zhao, G. L., Zhao, M. M., Ren, J. Y., & Yang, B. (2012). Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction. *Food Chemistry*, 131(3), 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.09.074>
- Liu, Y., Wang, D., Wang, J., Yang, Y., Zhang, L., Li, J., et al. (2020). Functional properties and structural characteristics of phosphorylated pea protein isolate. *International Journal of Food Science and Technology*, 55(5), 2002–2010.
- Locatelli, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Cereti, E., Garino, C., D’Andrea, M., & Arlorio, M. (2011). Chemotype and genotype chemometrical evaluation applied to authentication and traceability of “Tonda Gentile Trilobata” hazelnuts from Piedmont (Italy). *Food Chemistry*, 129(4), 1865–1873. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.134>
- Locatelli, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Bordiga, M., & Arlorio, M. (2015). Impact of roasting on identification of hazelnut (*Corylus avellana* L.) origin: A chemometric approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(32), 7294–7303. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b03201>
- Losso, J. N., Khachatryan, A., Ogawa, M., Godber, J. S., & Shih, F. (2005). Random centroid optimization of phosphatidylglycerol-stabilized lutein-enriched oil-in-water emulsions at acidic pH. *Food Chemistry*, 92(4), 737–744. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.033>
- Ma, Y., Shan, A., & Chi, Y. (2023). Changes in structural, rheological, and gel properties of egg white protein induced by preheating in the dry state. *International Journal of Biological Macromolecules*, 248, 125851. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125851>
- Mak, A., Smillie, L. B., & Stewart, G. (1980). A comparison of the amino acid sequences of rabbit skeletal muscle and tropomyosins. *Journal of Biological Chemistry*, 255, 3647–3655.
- Mao, L., Pan, Q., Hou, Z., Yuan, F., & Gao, Y. (2018). Development of soy protein isolate-carrageenan conjugates through Maillard reaction for the microencapsulation of *Bifidobacterium longum*. *Food Hydrocolloids*, 84(February), 489–497. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.037>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Martinez-Alvarenga, M. S., Martinez-Rodriguez, E. Y., Garcia-Amezquita, L. E., Olivas, G. I., Zamudio-Flores, P. B., Acosta-Muniz, C. H., & Sepulveda, D. R. (2014). Effect of Maillard reaction conditions on the degree of glycation and functional properties of whey protein isolate–maltodextrin conjugates. *Food Hydrocolloids*, 38, 110–118.
- Martins, S. I. F. S., Van Boekel, M. A. J. S., & Van Jongen, W. M. F. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science & Technology*, 11(6), 364–373. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00022-X)
- Matemu, A., Kayahara, H., Murasawa, H., & Nakamura, S. (2009). Importance of size and charge of carbohydrate chains in the preparation of functional glycoproteins with excellent emulsifying properties from tofu whey. *Food Chemistry*, 114(4), 1328–1334. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.011>
- Matsudomi, N., Nakano, K., Soma, A., & Ochi, A. (2002). Improvement of gel properties of dried egg white by modification with galactomannan through the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4113–4118.
- Matthews, B. W. (2001). Hydrophobic interactions in proteins. *eLS*. <https://doi.org/10.1038/npg.els.0002975>
- McClements, D. J. (2005). *Food emulsions: Principles, practice, and techniques*. CRC Press.
- McClements, D. J. (2007). Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 611–649. <https://doi.org/10.1080/10408390701289292>
- McClements, D. J., Newman, E., & McClements, I. F. (2019). Plant-based milks: A review of the science underpinning their design, fabrication, and performance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(6), 2047–2067. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12505>
- Medrano, A., Abirached, C., Panizzolo, L., & Moyna, P. (2009). The effect of glycation on foam and structural properties of β -lactoglobulin. *Food Chemistry*, 113(1), 127–133.
- Meng, X., Li, T., Song, T., Chen, C., Venkitasamy, C., Pan, Z., & Zhang, H. (2019a). Solubility, structural properties, and immunomodulatory activities of rice dreg protein modified with sodium alginate under microwave heating. *Food Science & Nutrition*, 7, 2556–2564. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1105>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Meng, X., Ji, J., Qi, X., & Nie, X. (2019b). Effect of anticaking agents on hardening and Maillard-induced protein aggregation in high-protein nutrition bars formulated with whey protein concentrate. *LWT*, 108, 261–267.
- Messens, W., Van Camp, J., & Huyghebaert, A. (1997). The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends in Food Science & Technology*, 8(4), 107–112. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(97\)01015-7](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(97)01015-7)
- Miller, A., & Gerrard, J. (2005). The Maillard reaction and food protein crosslinking. *Progress in Food Biopolymer Research*, 1, 69-86.
- Miralles, B., Rodríguez, A. M., Santiago, A., Lagemaa, J., & Heras, A. (2007). The occurrence of a Maillard-type protein-polysaccharide reaction between β -lactoglobulin and chitosan. *Food Chemistry*, 100(4), 1071–1075. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.11.036>
- Mirmoghtadaie, L., Kadivar, M., & Shahedi, M. (2009). Effects of succinylation and deamidation on functional properties of oat protein isolate. *Food Chemistry*, 114(1), 127–131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.025>
- Moreno, F. J., López-Fandiño, R., & Olano, A. (2002). Characterization and functional properties of lactosyl caseinomacropeptide conjugates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(18), 5179–5184.
- Mu, L., Zhao, H., Zhao, M., Cui, C., & Liu, L. (2011). Physicochemical properties of soy protein isolates-acacia gum conjugates. *Czech Journal of Food Sciences*, 29(2), 129–136. <https://doi.org/10.17221/339/2009-CJFS>
- Murray, B. S. (2007). Stabilization of bubbles and foams. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 12(4–5), 232–241. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2007.07.009>
- Nakamura, S., & Kato, A. (2000). Multi-functional biopolymer prepared by covalent attachment of galactomannan to egg-white proteins through naturally occurring Maillard reaction. *Nahrung*, 44(3), 201–206.
- Namlı, S., Şümnü, S. G., & Öztop, M. H. (2021). Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose. *Food Bioscience*, 40, 100897. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100897>
- Nawaz, M. A., Singh, T. K., Stockmann, R., Jegasothy, H., & Buckow, R. (2021). Quality attributes of ultra-high temperature-treated model beverages prepared with faba bean protein concentrates. *Foods*, 10(6), 1244. <https://doi.org/10.3390/foods10061244>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Nawaz, A., & Khalifa, I. (2022). Bioactive phytochemicals from hazelnut (*Corylus*) oil-processing by-products. In M. F. R. Hassanien (Ed.), *Bioactive phytochemicals from vegetable oil and oilseed processing by-products* (pp. 1–22). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-63961-7_26-1
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids*, 118, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Niu, L.-Y., Jiang, S.-T., Pan, L.-J., & Zhai, Y.-S. (2011). Characteristics and functional properties of wheat germ protein glycated with saccharides through Maillard reaction. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(10), 2197–2203.
- Nooshkam, M., & Madadlou, A. (2016). Microwave-assisted isomerisation of lactose to lactulose and Maillard conjugation of lactulose and lactose with whey proteins and peptides. *Food Chemistry*, 200, 1–9.
- Nooshkam, M., & Varidi, M. (2020). Whey protein isolate-low acyl gellan gum Maillard-based conjugates with tailored technological functionality and antioxidant activity. *International Dairy Journal*, 109, 104783. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104783>
- Nooshkam, M., Varidi, M., & Verma, D. K. (2020). Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131, 109003. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003>
- Nooshkam, M., Varidi, M., & Bashash, F. (2023). Behavior of protein-polysaccharide conjugate-stabilized food emulsions under various destabilization conditions. *Food Chemistry: X*, 18, 100725. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100725>
- O’Kane, F. E., Vereijken, J. M., Gruppen, H., & Van Boekel, M. A. J. S. (2005). Gelation behavior of protein isolates extracted from 5 cultivars of *Pisum sativum* L. *Journal of Food Science*, 70(2), C132–C137. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07073.x>
- Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. (2006a). Creating proteins with novel functionality via the Maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4), 337–350. <https://doi.org/10.1080/10408690590957250>
- Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. (2006b). Functional properties of caseinate glycoconjugates prepared by controlled heating in the ‘dry’ state. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(5), 732–740.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. (2006c). Glycation of caseinate by fructose and fructo-oligosaccharides during controlled heat treatment in the 'dry' state. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(5), 722–731.
- O'Mahony, J. A., Drapala, K. P., Mulcahy, E. M., & Mulvihill, D. M. (2017). Controlled glycation of milk proteins and peptides: Functional properties. *International Dairy Journal*, 67, 16–34. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.09.012>
- Oral, R. A., Mortaş, M., Doğan, M., Sarıoğlu, K., & Yazıcı, F. (2014). New approaches to determination of HMF. *Food Chemistry*, 143, 367–370. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.07.135>
- O'Regan, J., & Mulvihill, D. M. (2010). Heat stability and freeze–thaw stability of oil-in-water emulsions stabilised by sodium caseinate–maltodextrin conjugates. *Food Chemistry*, 119(1), 182–190.
- O'Sullivan, J. J., Park, M., Beevers, J., Greenwood, R. W., & Norton, I. T. (2017). Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation: A review. *Food Hydrocolloids*, 71, 299–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.037>
- Pan, G. G., & Melton, L. D. (2007). Nonenzymatic browning of lactose and caseinate during dry heating at different relative humidities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10036–10042.
- Pan, K.-M., Baldwin, M., Nguyen, J., Gasset, M., Serban, A., Groth, D., Mehlhorn, I., & Hecht, M. H. (1993). Conversion of α -helices into β -sheets features in the formation of the crappie prion proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90, 10962–10966.
- Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in Food Science & Technology*, 7(4), 120–125. [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(96\)10012-1](https://doi.org/10.1016/0924-2244(96)10012-1)
- Pasias, I. N., Kiriakou, I. K., & Proestos, C. (2017). HMF and diastase activity in honeys: A fully validated approach and a chemometric analysis for identification of honey freshness and adulteration. *Food Chemistry*, 229, 425–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.02.084>
- Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26, 716–723.
- Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y., & Hua, Y. (2016). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids*, 52, 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.06.025>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Perusko, M., Al-Hanish, A., Cirkovic Velickovic, T., & Stanic-Vucinic, D. (2015). Macromolecular crowding conditions enhance glycation and oxidation of whey proteins in ultrasound-induced Maillard reaction. *Food Chemistry*, 177, 248–257. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.042>
- Petersson, E. V., Arif, U., Schulzova, V., Krtkova, V., Hajslova, J., Meijer, J., Andersson, H. C., Jonsson, L., & Sitbon, F. (2013). Glycoalkaloid and calystegine levels in table potato cultivars subjected to wounding, light, and heat treatments. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61, 5893–5902.
- Petisca, C., Henriques, A. R., Perez-Palacios, T., Pinho, O., & Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2014). Assessment of hydroxymethylfurfural and furfural in commercial bakery products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 33(1), 20–25. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2013.10.004>
- Phillips, L. G. (2013). *Structure-function properties of food proteins*. Cambridge, MA: Academic Press.
- Pilolli, R., Nitride, C., Gillard, N., Huet, A.-C., Van Poucke, C., De Loose, M., Tranquet, O., Larré, C., Adel-Patient, K., Bernard, H., et al. (2020). Critical review on proteotypic peptide marker tracing for six allergenic ingredients in incurred foods by mass spectrometry. *Food Research International*, 128, 108747. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108747>
- Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., & Desobry, S. (2017a). Preparation of chemically modified canola protein isolate with gum Arabic by means of Maillard reaction under wet-heating conditions. *Carbohydrate Polymers*, 155, 201–207. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.09.040>
- Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., & Jasniewski, J. (2017b). Effect of glycosylation with gum Arabic by Maillard reaction in a liquid system on the emulsifying properties of canola protein isolate. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1620–1627. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.10.039>
- Pirestani, S., Nasirpour, A., Keramat, J., Desobry, S., & Jasniewski, J. (2018). Structural properties of canola protein isolate–gum Arabic Maillard conjugate in an aqueous model system. *Food Hydrocolloids*, 79, 228–234. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.045>
- Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 93–104. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.010>
- Poore, J., & Nemecek, T. (2018). Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. *Science*, 360(6392), 987–992. <https://doi.org/10.1126/science.aag0216>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Qi, J., Liao, J., Yin, S., Zhang, Z. J., & Yang, X. (2010). Formation of acid-precipitated soy protein–dextran conjugates by Maillard reaction in liquid systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 2573–2580. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02301.x>
- Qu, W., Zhang, X., Han, X., Wang, Z., He, R., & Ma, H. (2018). Structure and functional characteristics of rapeseed protein isolate-dextran conjugates. *Food Hydrocolloids*, 82, 329–337.
- Rao, M. A., Damodaran, S., Kinsella, J. E., & Cooley, H. J. (1986). Flow properties of 7S and 11S soy protein fractions. In M. Le Maguer & P. Jelen (Eds.), *Food engineering and process applications* (pp. 39–48). Elsevier Applied Science.
- Rezaei, M., Nouri, L., Daneshi, M., Nafchi, A. M., & Nahidi, F. (2022). Effect of salt concentration and drying temperature on functional properties of sesame (*Sesamum indicum* L.) meal protein isolate. *Journal of Food Measurement and Characterization*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01439-4>
- Rufian-Henares, J. A., & Morales, F. J. (2007). Functional properties of melanoidins: In vitro antioxidant, antimicrobial, and antihypertensive activities. *Food Research International*, 40(8), 995–1002. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.05.002>
- Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: A critical review. *Journal of Food Science & Technology*, 47(6), 587–597. <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0162-6>
- Saldamlı, İ., & Temiz, A. (1998). *Gıda kimyası* (4. bölüm). Hacettepe Üniversitesi Yayınları.
- Sarıcaoğlu, F. T., Gül, O., Beşir, A., & Atalar, İ. (2018). Effect of high-pressure homogenization (HPH) on functional and rheological properties of hazelnut meal proteins obtained from hazelnut oil industry by-products. *Journal of Food Engineering*, 233, 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.04.003>
- Sedaghat Doost, A., Nikbakht Nasrabadi, M., Wu, J., A'yun, Q., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.011>
- Sedaghat Doost, A., Nikbakht Nasrabadi, M., Goli, S. A. H., Van Troys, M., Dubruel, P., De Neve, N., & 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, Article 108779. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108779>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Segat, A., Misra, N. N., Fabbro, A., Buchini, F., Lippe, G., Cullen, P. J., & Innocente, N. (2014). Effects of ozone processing on chemical, structural and functional properties of whey protein isolate. *Food Research International*, 66, 365–372. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.002>
- Seidi, P., Nasirpour, A., Keramat, J., & Saeidy, S. (2023). Functional and structural properties of gum arabic complexes with casein and hydrolyzed casein achieved by Maillard reaction. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 44(4), 639–650. <https://doi.org/10.1080/01932691.2021.1958686>
- Setiowati, A. D., Wijaya, W., & Van der Meeren, P. (2020). Whey protein-polysaccharide conjugates obtained via dry heat treatment to improve the heat stability of whey protein stabilized emulsions. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 150–161. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.011>
- Sharif, H. R., Williams, P. A., Sharif, M. K., Abbas, S., Majeed, H., Masamba, K. G., ... Zhong, F. (2018). Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants—A review. *Food Hydrocolloids*, 76, 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.002>
- Shelp, B. J., Bozzo, G. G., Trobacher, C. P., Chiu, G., & Bajwa, V. S. (2012). Strategies and tools for studying the metabolism and function of gamma-aminobutyrate in plants. I. Pathway structure. *Botany-Botanique*, 90(7), 651–668. <https://doi.org/10.1139/b2012-044>
- Shen, X., Zhao, C., & Guo, M. (2017). Effects of high intensity ultrasound on acid-induced gelation properties of whey protein gel. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 7–15. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.002>
- Shen, Y., & Li, Y. (2021). Acylation modification and/or guar gum conjugation enhanced functional properties of pea protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 117, 106686. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106686>
- Shen, Y., Hong, S., Singh, G., Koppel, K., & Li, Y. (2022). Improving functional properties of pea protein through “green” modifications using enzymes and polysaccharides. *Food Chemistry*, 385, 132687. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132687>
- Sheng, L., Tang, G., Wang, Q., Zou, J., Ma, M., & Huang, X. (2020). Molecular characteristics and foaming properties of ovalbumin-pullulan conjugates through the Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 100, 105384. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105384>
- Shi, Z., Xu, W., Geng, M., Chen, Z., & Meng, Z. (2023). Oil body-based one-step multiple phases and hybrid emulsion gels stabilized by sunflower wax and CMC: Application and optimization in 3D printing. *Food Hydrocolloids*, 136(Part A), 108262. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108262>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Shiferaw Terefe, N., & Augustin, M. A. (2019). Fermentation for tailoring the technological and health-related functionality of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1–27. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1666250>
- Shu, Y., Sahara, S., Nakamura, S., & Kato, A. (1996). Effects of the length of polysaccharide chains on the functional properties of the Maillard-type lysozyme-polysaccharide conjugate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(9), 2544–2548. <https://doi.org/10.1021/jf950796z>
- Silvan, J. M., Assar, S. H., Srey, C., del Castillo, M. D., & Ames, J. M. (2011). Control of the Maillard reaction by ferulic acid. *Food Chemistry*, 128, 208–213. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.008>
- Simjian, L. G. (1959). Method of treating food articles by application of sound energy. *Google Patents*. <https://patents.google.com/>
- Solá, R., Rodriguez-Martinez, J., & Griebenow, K. (2007). Modulation of protein biophysical properties by chemical glycosylation: Biochemical insights and biomedical implications. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64(16), 2133–2152. <https://doi.org/10.1007/s00018-007-6551-y>
- Speroni, F., Jung, S., & De Lamballerie, M. (2010). Effects of calcium and pressure treatment on thermal gelation of soybean protein. *Journal of Food Science*, 75(1), E30–E38. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01390.x>
- Spotti, M. J., Perduca, M. J., Piagentini, A., Santiago, L. G., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R. (2013a). Gel mechanical properties of milk whey protein–dextran conjugates obtained by Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 31(1), 26–32.
- Spotti, M. J., Perduca, M. J., Piagentini, A., Santiago, L. G., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R. (2013b). Does dextran molecular weight affect the mechanical properties of whey protein/dextran conjugate gels? *Food Hydrocolloids*, 32(1), 204–210.
- Spotti, M. J., Martinez, M. J., Pilosof, A. M., Candiotti, M., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R. (2014). Rheological properties of whey protein and dextran conjugates at different reaction times. *Food Hydrocolloids*, 38, 76–84.
- Spotti, M. J., Loyeau, P. A., Marangón, A., Noir, H., Rubiolo, A. C., & Carrara, C. R. (2019). Influence of Maillard reaction extent on acid induced gels of whey proteins and dextrans. *Food Hydrocolloids*, 91, 224–231.
- Sun, F., Xu, J., Wang, Z., Cheng, T., Wang, D., Liu, J., Guo, Z., & Wang, Z. (2024). Effect of glycosylation on soy protein isolate–sodium carboxymethyl cellulose conjugates heat-induced gels and their applications as carriers of riboflavin. *Food Hydrocolloids*, 153, 110072. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110072>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Sun, T., Xu, H., Zhang, H., Ding, H., Cui, S., Xie, J., ... Hua, X. (2018). Maillard reaction of oat β -glucan and the rheological property of its amino acid/peptide conjugates. *Food Hydrocolloids*, 76, 30–34. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.01.009>
- Sun, W. W., Yu, S. J., Yang, X. Q., Wang, J. M., Zhang, J. B., Zhang, Y., & Zheng, E. L. (2011). Study on the rheological properties of heat-induced whey protein isolate–dextran conjugate gel. *Food Research International*, 44(10), 3259–3263.
- Sun, X. D., & Arntfield, S. D. (2011a). Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate catalyzed by microbial transglutaminase cross-linking. *Food Hydrocolloids*, 25(1), 25–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.05.002>
- Sun, X. D., & Arntfield, S. D. (2011b). Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate induced by heat treatment: Effect of heating and cooling rate. *Food Chemistry*, 124(3), 1011–1016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.063>
- Sun-Waterhouse, D., Zhao, M., & Waterhouse, G. I. (2014). Protein modification during ingredient preparation and food processing: Approaches to improve food processability and nutrition. *Food and Bioprocess Technology*, 7(7), 1853–1893. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1326-6>
- Svecova, B., & Mach, M. (2017). Content of 5-hydroxymethyl-2-furfural in biscuits for kids. *Interdisciplinary Toxicology*, 10(2), 66–69. <https://doi.org/10.1515/intox-2017-0011>
- Tangyu, M., Muller, J., Bolten, C. J., & Wittmann, C. (2019). Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(23), 9263–9275. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-10175-9>
- Tang, C.H., & Sun, X., (2011). A comparative study of physicochemical and conformational properties in three vicilins from Phaseolus legumes: implications for the structure-function relationship. *Food Hydrocolloids* 25, 315–324.
- Tang, C.-H., Sun, X., Foegeding, E.A., (2011). Modulation of physicochemical and conformational properties of kidney bean vicilin (phaseolin) by glycation with glucose: implications for structure-function relationships of legume vicilins. *J. Agric. Food Chem.* 59, 10114–10123.
- Tang, C.-H. (2017). Emulsifying properties of soy proteins: A critical review with emphasis on the role of conformational flexibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(12), 2636–2679. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067594>
- Taş, O., Ertuğrul, U., Öztop, M. H., & Mazi, B. G. (2021). Glycation of soy protein isolate with two ketoses: D-allulose and fructose. *International Journal of Food Science & Technology*, 56(11), 5461–5470. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15218>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Tatar, F., Tunç, M. T., & Kahyaoğlu, T. (2015). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) protein concentrates: Functional and rheological properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1024–1031. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1140-2>
- Thakur, S., Sharma, B., Verma, A., Chaudhary, J., Tamulevicius, S., & Thakur, V. K. (2018). Recent progress in sodium alginate-based sustainable hydrogels for environmental applications. *Journal of Cleaner Production*, 198, 143–159. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.06.259>
- Tian, S., Chen, J. I. E., & Small, D. M. (2011). Enhancement of solubility and emulsifying properties of soy protein isolates by glucose conjugation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 35(1), 80–95.
- Tirgar, M., Silcock, P., Carne, A., & Birch, E. J. (2017). Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. *Food Chemistry*, 215, 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.002>
- Toker, O. S., Doğan, M., Ersöz, N. B., & Yılmaz, M. T. (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*, 50, 137–144. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.030>
- Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., & Lucero, H. (2002). Honey thermal treatment effects on hydroxymethylfurfural content. *Food Chemistry*, 77(1), 71–74. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00334-5](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00334-5)
- Totosaus, A., Montejano, J. G., Salazar, J. A., & Guerrero, I. A. (2002). Review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science & Technology*, 37(6), 589–601. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2002.00623.x>
- Vanga, S. K., & Raghavan, V. (2018). How well do plant-based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? *Journal of Food Science and Technology*, 55(1), 10–20. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2915-y>
- Venkataratnam, H., Sarangapani, C., Cahill, O., & Ryan, C. B. (2019). Effect of cold plasma treatment on the antigenicity of peanut allergen Ara h 1. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 368–375. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.02.001>
- Wang, C., Jiang, L., Wei, D., Li, Y., Sui, X., Wang, Z., & Li, D. (2011). Effect of secondary structure determined by FTIR spectra on surface hydrophobicity of soybean protein isolate. *Procedia Engineering*, 15, 4819–4827. <https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.08.900>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Wang, L. H., Sun, X., Huang, G. Q., & 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. doi: 10.1007/s11694-018-9889-y.
- Wang, W., Shen, M., Liu, S., Jiang, L., Song, Q., & Xie, J. (2018). Gel properties and interactions of Mesona blumes polysaccharide-soy protein isolates mixed gel: The effect of salt addition. *Carbohydrate Polymers*, 200, 552–560. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.08.041>
- Wang, X., & Xiong, Y. L. (2016). Oxidative polyaldehyde production: A novel approach to the conjugation of dextran with soy peptides for improved emulsifying properties. *Journal of Food Science and Technology*, 53(8), 3215–3224. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2296-7>
- Wang, Z., Zhang, C., Zhang, T., Ju, X., & He, R. (2018). Effects of acylation and glycation treatments on physicochemical and gelation properties of rapeseed protein isolate. *RSC Advances*, 8(70), 40395–40406. <https://doi.org/10.1039/C8RA08048G>
- Wang, Z., Zhou, X., Sheng, L., Zhang, D., Zheng, X., Pan, Y., ... Li, N. (2023). Effect of ultrasonic degradation on the structural feature, physicochemical property and bioactivity of plant and microbial polysaccharides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 243, Article 123924. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123924>
- Wei, C.-K., Thakur, K., Liu, D.-H., Zhang, J.-G., & Wei, Z.-J. (2018). Enzymatic hydrolysis of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) protein and sensory characterization of Maillard reaction products. *Food Chemistry*, 263, 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.120>
- Wen, C., Zhang, J., Qin, W., Gu, J., Zhang, H., Duan, Y., & 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, Article 127374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127374>
- Whitford, D. (2013). *Proteins: Structure and function*. John Wiley & Sons.
- Wierenga, P. A., & Gruppen, H. (2010). New views on foams from protein solutions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 15(5), 365–373. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2010.05.017>
- Wooster, T. J., & 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. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2006.08.051>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2016). Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.* 15(4), 786–800. DOI: 10.1111/1541-4337.12209.
- Wu, J.-H., Feng, T.-T., Liang, X., Yu, C.-P., Dong, L., Du, M., & Xu, X.-B. (2017). Determination of HMF in vinegar and soy sauce using two-step ultrasonic assisted liquid–liquid micro-extraction coupled with capillary electrophoresis-ultraviolet detection. *Food Analytical Methods*, 11(2), 479–485. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-1018-8>
- Xing, Q., Dekker, S., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., Smid, E. J., & Schutyser, M. A. I. (2020). Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid-state fermentation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, Article 102269. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102269>
- Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., & Chen, Y. (2018). Effect of high-intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International*, 109, 260–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.044>
- Xu, C. H., Yang, X. Q., Yu, S. J., Qi, J. R., Guo, R., Sun, W. W., Yao, Y. J. & Zhao, M. M. (2010). The effect of glycosylation with dextran chains of differing lengths on the thermal aggregation of b-conglycinin and glycinin. *Food Research International* 43 (9), 2270–6. doi: 10.1016/j.foodres.2010.07.011.
- Xu, J., Han, D., Chen, Z., Li, M., & 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. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3032-5>
- Xue, F., Li, C., Zhu, X., Wang, L., & Pan, S. (2013). Comparative studies on the physicochemical properties of soy protein isolate-maltodextrin and soy protein isolate-gum acacia conjugates prepared through Maillard reaction. *Food Research International*, 51(2), 490–495. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.01.012>
- Yang, J., & Powers, J. R. (2016). Effects of high pressure on food proteins. In V. Balasubramaniam, G. Barbosa-Cánovas, & H. Lelieveld (Eds.), *High pressure processing of food* (pp. 423–448). *Food Engineering Series*. New York, NY: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3234-4_18
- Yang, X., Li, A., Li, X., Sun, L., & Guo, Y. (2020). An overview of classifications and properties of food polysaccharides and their links to applications in improving food textures. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 1–15. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.020>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Yao, J., Zhou, Y., Chen, X., Ma, F., Li, P., & Chen, C. (2018). Effect of sodium alginate with three molecular weight forms on the water-holding capacity of chicken breast myosin gel. *Food Chemistry*, 239, 1134–1142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.027>
- Yazıcı, F., Alvarez, V. B., & Hansen, P. M. T. (1997). Fermentation and properties of calcium-fortified soy milk yogurt. *Journal of Food Science*, 62(3), 457–461. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb04406.x>
- Zang, Y., Zhao, Y., Luo, S., Zhong, X., Mu, D., Jiang, S., & Zheng, Z. (2017). Effect of ultrasonic treatment and glycosylation modification on characteristics and structure of wheat gluten. *Food Science*, 38(5), 122–128. <https://doi.org/10.7506/spkx1002-6630-201705020>
- Zha, F., Dong, S., Rao, J., & Chen, B. (2019a). The structural modification of pea protein concentrate with gum Arabic by controlled Maillard reaction enhances its functional properties and flavor attributes. *Food Hydrocolloids*, 92, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.046>
- Zha, F., Dong, S., Rao, J., & Chen, B. (2019b). Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improve physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.151>
- Zhang, A., Yu, J., Wang, G., Wang, X., & Zhang, L. (2019). Improving the emulsion freeze-thaw stability of soy protein hydrolysate-dextran conjugates. *LWT*, 116, 108506. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108506>
- Zhang, J., Wen, C., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2022). Structure and functional properties of watermelon seed protein-glucose conjugates prepared by different methods. *LWT*, 155, Article 113004. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113004>
- Zhang, Q., Li, L., Lan, Q., Li, M., Wu, D., Chen, H., Liu, Y., Lin, D., Qin, W., Zhang, Z., Liu, J., & Yang, W. (2019). Protein glycosylation: A promising way to modify the functional properties and extend the application in food system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(15), 2506–2533. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1507995>
- Zhang, S., Gong, Y., Khanal, S., Lu, Y., & Lucey, J. A. (2017). Properties of acid gels made from sodium caseinate-maltodextrin conjugates prepared by a wet heating method. *Journal of Dairy Science*, 100(11), 8744–8753. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12602>
- Zhang, Y., Zhao, W., Lin, Z., Tang, Z., & Lin, B. (2023). Carboxymethyl chitosan/sodium alginate hydrogel films with good biocompatibility and reproducibility by in situ ultra-fast crosslinking for efficient preservation of strawberries. *Carbohydrate Polymers*, 316, Article 121073. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.121073>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Zhang, Z., Wang, B., & Adhikari, B. (2022). Maillard reaction between pea protein isolate and maltodextrin via wet-heating route for emulsion stabilisation. *Future Foods*, 6(September), 100193. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100193>
- Zhang, Z., Holden, G., Wang, B., & Adhikari, B. (2023). Maillard reaction-based conjugation of Spirulina protein with maltodextrin using wet-heating route and characterisation of conjugates. *Food Chemistry*, 406, 134931. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134931>
- Zhao, C. B., Zhou, L. Y., Liu, J. Y., Zhang, Y., Chen, Y., & Wu, F. (2016). Effect of ultrasonic pretreatment on physicochemical characteristics and rheological properties of soy protein/sugar Maillard reaction products. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2342–2351.
- Zhao, C., Yin, H., Yan, J., Niu, X., Qi, B., & Liu, J. (2021). Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 112(May 2020), 106278. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106278>
- Zhao, J., Wang, X., Lin, H., & Lin, Z. (2023). Hazelnut and its by-products: A comprehensive review of nutrition, phytochemical profile, extraction, bioactivities, and applications. *Food Chemistry*, 413, Article 135576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135576>
- Zhao, S., Huang, Y., McClements, D. J., Liu, X., Wang, P., & Liu, F. (2022). Improving pea protein functionality by combining high-pressure homogenization with an ultrasound-assisted Maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 126, 107441. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107441>
- Zhou, F., Zhao, M., Su, G., & Cui, C. (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(13), 3312–3320. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5760>
- Zhou, P., Guo, M., Liu, D., Liu, X., & Labuza, T. P. (2013). Maillard-reaction-induced modification and aggregation of proteins and hardening of texture in protein bar model systems. *Journal of Food Science*, 78(3), C437–C444.
- Zhu, D., Damodaran, S., & 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. <https://doi.org/10.1021/jf800909w>
- Zhu, Z., Zhu, W., Yi, J., Liu, N., Cao, Y., Lu, J., & McClements, D. J. (2018). Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate. *Food Research International*, 106, 853–861. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.060>

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Zhuo, X.-Y., Qi, J.-R., Yin, S.-W., Yang, X.-Q., Zhu, J.-H., & Huang, L.-X. (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. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5760>
- Žilić, S., Akıllıoğlu, G., Serpen, A., Barać, M., & Gökmen, V. (2012). Effects of isolation, enzymatic hydrolysis, heating, hydration, and Maillard reaction on the antioxidant capacity of cereal and legume proteins. *Food Research International*, 49(1), 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.031>
- Zink, J., Wyrobnik, T., Prinz, T., & Schmid, M. (2016). Physical, chemical and biochemical modifications of protein-based films and coatings: An extensive review. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(9), 1376. <https://doi.org/10.3390/ijms17091376>