

BAKLA PROTEİNİ: MİKRODALGA DESTEKLİ ÖZÜTLEME KOŞULLARININ OPTİMİZASYONU VE KARAKTERİSTİK ÖZELLİKLERİNİN PEYNİRALTI SUYU PROTEİNİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI

Mehmet Şükrü KARAKUŞ*

Harran Üniversitesi, Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi, Şanlıurfa, Türkiye

Geliş/Received: 24.11.2023; Kabul /Accepted: 20.09.2024; Online baskı /Published online: 25.09.2024

Karakuş, M. Ş. (2024). Bakla proteini: Mikrodalga destekli özütleme koşullarının optimizasyonu ve karakteristik özelliklerinin peyniraltı suyu proteini ile karşılaştırılması. *GIDA* (2024) 49 (5) 863-878 doi: 10.15237/gida.GD23134

Karakuş, M. Ş. (2024). Faba bean protein: Optimization of microwave-assisted extraction conditions and comparison of its characteristics with whey protein. GIDA (2024) 49 (5) 863-878 doi: 10.15237/gida.GD23134

ÖZ

Bu çalışmada bakla proteini konsantresinin (BP) mikrodalga destekli özütleme işlemi, yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Mikrodalga gücü (250-500 W) ve işlem süresi (10-60 dakika) bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve bu parametrelerin protein verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. En yüksek protein verimi (%47.74), 481.70 W mikrodalga gücünde ve 50.68 dakika işlem süresinde elde edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen BP'nin karakteristik özellikleri ticari peyniraltı suyu proteini (PSP) ile kıyaslanmıştır. Proteinlerin karakteristik bağ yapıları fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile doğrulanmış ve molekül ağırlıkları sodyum dodesil-sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-page) ile tespit edilmiştir. BP ve PSP'nin çözünürlük değerleri sırasıyla %80.23 ve %91.12 olarak belirlenmiştir ($P < 0.05$). BP'nin köpük oluşturma özellikleri, emülsifiye edici davranışları ve stabilite katsayısı PSP'den daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar bitkisel proteinlerin gıda sistemlerinde alternatif protein kaynağı olarak değerlendirileceğini göstermiştir.

Anahtar kelimeler: Bakla proteini konsantresi, peyniraltı suyu proteini, FTIR, moleküler ağırlık, emülsiyon

FABA BEAN PROTEIN: OPTIMIZATION OF MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION CONDITIONS AND COMPARISON OF ITS CHARACTERISTICS WITH WHEY PROTEIN

ABSTRACT

In this study, microwave-assisted extraction of faba bean protein (BP) concentrate was optimized through the response surface methodology. Microwave power (250-500 W) and processing time (10-60 min) were chosen as independent variables and the effect of these parameters on protein yield was investigated. The highest protein yield (47.74%) was achieved at 481.70 W microwave power and 50.68 min processing time. The characteristic properties of BP obtained under optimum conditions were compared with whey protein. The characteristic bonds of the proteins were confirmed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and molecular weights were determined by sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-page). The solubility values of BP and whey protein were found to be as 80.23% and 91.12%, respectively ($P < 0.05$). BP's foaming properties, emulsifying behavior, and stability coefficient resulted in superior to whey protein. The results showed plant proteins will be considered as alternative protein sources in food systems.

Keywords: Faba bean protein concentrate, whey protein, FTIR, molecular weight, emulsion

* Sorumlu yazar /Corresponding author

✉: sukrukarakus@harran.edu.tr

☎: (+90) 414 318 1060

Mehmet Şükrü Karakuş; ORCID no: 0000-0002-1805-8206

GİRİŞ

İnsan beslenmesinde ve gelişiminde önemli bir rol oynayan proteinler, bir makro besin maddesi olarak kabul edilmektedirler. Proteinler, sindirilebilirlik, biyoyararlanım, amino asit dizilimi, işleme ve saflık derecelerine göre değişim gösterebilmektedir (Kumar vd., 2022). Gıda sanayisinde kullanılan proteinler bitkisel ve hayvansal olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hayvansal proteinler kırmızı et, deniz ürünleri, yumurta, süt ve böcekler gibi kaynaklardan elde edilmektedir. Gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan hayvansal proteinler arasında jelatin, kazein ve peyniraltı suyu proteini bulunmaktadır. Süt endüstrisinin bir yan ürünü olan peyniraltı suyu proteini (PSP) (whey protein) sütteki toplam proteininin yaklaşık %20'sini (kazein hariç) oluşturmaktadır. Yüksek besin içeriği, iyileştirici yapısal özellikleri ve bol miktarda bulunmasından dolayı başta gıda sanayisi olmak üzere ilaç ve biyolojik materyallerin kullanımında yaygındır (Du vd., 2022). Ayrıca bitkisel proteinlerle karşılaştırıldığında PSP'nin jelleşme özelliği, emülsifiye edici davranışları ve köpük oluşturma gibi fonksiyonel özellikler açısından daha üstün olduğu bildirilmiştir (Kim vd., 2020). Buna karşın PSP'nin fiyatının yüksek olması, arzının sınırlı olması, yüksek enerji tüketimi, iklim değişikliği, sera gazı emülsiyonlarındaki yoğunluk, dünya nüfusundaki artış ve proteine ulaşmadaki zorluklar alternatif bitkisel proteinlere yönelimi popüler hale getirmiştir (Kumar vd., 2022). Başka bir ifadeyle geleneksel hayvansal protein kaynakları geniş arazi ve yoğun kaynak gerektirmektedir. İhtiyaç duyulan geniş alanlar nedeniyle ormansızlaşma ve arazi bozulması nedeniyle iklim üzerinde büyük bir değişiklik meydana gelebilmektedir. İklim değişikliğinin bir başka nedeni ise gübre kullanımına bağlı azot fosfor dengesinin (biyolojik çeşitlilik kaybı ve karbon döngüsünün bozulması) bozulmasıdır (Aiking, 2014). Öte yandan küresel sera gazı emisyonlarının yaklaşık %18'i hayvancılıktan kaynaklanmaktadır. Sera gazı emisyonlarının başlıcaları enterik fermantasyondan kaynaklanan metan (CH₄), suni gübreden kaynaklanan azot oksit (N₂O) ve tarımsal enerji kullanımından kaynaklanan karbondioksittir (CO₂) (Stehfest vd., 2009). Çevresel etkileri yüksek gıdaların (özellikle

hayvansal ürünlerin) alternatifleri ile değiştirilmesi gıda sistemlerinin çevresel etkilerini azaltabilmektedir (Springmann vd., 2018). Bu bağlamda, bitki bazlı proteinler geniş ürün yelpazesi, yetiştirme kolaylığı ve daha düşük üretim maliyeti nedeniyle umut verici bir çözümü temsil etmektedir. Bitkisel protein kaynakları arasında baklagiller (soya, fasulye, bezelye, bakla, nohut, börülce), tahıl proteinleri (pirinç, buğday, arpa ve mısır) ve yalancı tahıllar (amaranth, kinoa, chia ve karabuğday) bulunmaktadır.

Bakla (*Vicia faba L.*) yüksek oranda vitamin, mineral ve diyet lif içerdiğinden dolayı Avrupa, Asya ve Afrika başta olmak üzere birçok ülkede besin maddesi olarak tüketilmektedir (Multari vd., 2015). Ayrıca bu besin maddesi çeşitliliğe ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak yüksek oranda (%27-34) protein içermektedir (Vioque vd., 2012). Bakla proteinin (BP) bileşimi baklagil benzeri globulinlerden (11S), vicilin benzeri globulinlerden (7S) ve albüminlerden (2S), glutelinden ve poliaminlerden oluşmaktadır (El Fiel vd., 2002). BP'nin lif oranı yüksek, alerjenitesi ve doymuş yağ oranı diğer bitkisel proteinlere göre daha düşüktür. Buna karşın bu proteinin fonksiyonel özelliklerinin (çözünürlük, su tutma, yağ bağlama vb.) hayvansal proteinlerden daha düşük olduğu bildirilmiştir (Hughes vd., 2011). Dolayısıyla BP gibi bitkisel proteinlerin düşük fonksiyonel davranışları gıda ürünlerinde kullanımlarını sınırlamaktadır. Örneğin düşük çözünürlük, bunların içeceklere dahil edilmesini zorlaştırmaktadır. Başka bir ifadeyle kompakt, toplu ve esnek olmama eğilimleri, arayüzleri stabilize etme yeteneklerini sınırlandırmaktadır (McClements, 2007; Day vd., 2022). Bitkisel proteinlerin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin geliştirilerek gıda endüstrisinde kullanımı sağlanabilmektedir (Conde vd., 2005). Protein işlevselliği, proteinin tek başına veya diğer bileşenlerle kombinasyon halinde fiziksel, kimyasal ve/veya biyokimyasal işlemler uygulanarak geliştirilebilmektedir (Akharume vd., 2021). Isıtma, yüksek basınç uygulaması, mikrodalga ve ultrases uygulamaları ile proteinlerin işlevselliği iyileştirilebilmektedir (Balasubramaniam vd., 2015; Gharibzahedi ve Smith, 2020).

Mikrodalga işlemi, katı numunelerle temas halindeki polar çözücülerini (katı-sıvı) ısıtmak için mikrodalga enerjisinin termal etkilerini kullanan bir özütme işlemidir. Isınmanın neden olduğu sıcaklık ve basınç faktörlerindeki artış ile hücre duvarı tahrip olmaktadır. Bu şekilde hücre içindeki bileşenlerin çözücüye difüzyonu daha kolay olmaktadır (Kute vd., 2015). Kısa işlem süresi, düşük enerji gereksinimi, etkili hücre duvarı bozma yetisi ve kimyasal madde kullanımı gerektirmemesi bu işlemi avantajlı hale getirmektedir. Yapılan bilimsel çalışmalar mikrodalga uygulamasının proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirdiği yönündedir (Vagadia vd., 2018; Varghese ve Pare, 2019).

Bu çalışmanın amacı, mikrodalga destekli özütme tekniğinin bakladan protein kazanımı ve elde edilen bu proteinin karakteristik özellikleri üzerindeki etkisini araştırmak ve bunu peyniraltı suyu proteini ile karşılaştırmaktır. Ayrıca, mikrodalga gücü ve işlem süresi parametrelerinin bakla protein verimi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır.

MATERYAL VE METOT

Materyal

Bu çalışmada kullanılan kuru bakla Şanlıurfa ilinde yer alan yerel bir pazardan, peyniraltı suyu tozu protein konsantresi (Whey Protein, %70) ise Kalipso Kimya (İstanbul, Türkiye) firmasından temin edilmiştir. Analizlerde kullanılan kimyasallar analitik saflıkta olup Sigma (St. Louis, MO, ABD) ve Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından satın alınmıştır.

Bakla proteini üretimi

Alkali özütme

Mikrodalga özütme tekniğinin protein verimi üzerindeki etkisini ortaya koymak amacıyla alkali özütme yöntemi ile protein verimleri karşılaştırılmıştır. Bu bağlamda, bir öğütücü (DMS253, Demisan, Türkiye) yardımıyla toz haline getirilen bakla numunesinden 10 g alınarak üzerine 100 mL 0.12 M NaOH eklenmiş ve 37 °C'lik çalkalayıcıda 1 saat bekletilmiştir. Daha sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant toplanmıştır. Süpernatanttaki protein içeriği Lowry yöntemine göre belirlenmiştir

(Lowry vd., 1951). Lowry yöntemi, duyarlılık, doğrusallık ve geliştirilmiş metodolojisi nedeniyle, proteinden ve protein kökenli olmayan renk gelişimi arasında ayırım yapılmasını sağlayarak daha doğru bir kantitatif analiz sağlamasından dolayı tercih edilmiştir. Mevcut protein miktarı, sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılarak hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi ile hesaplanmıştır.

Bakla proteininin mikrodalga destekli özütme optimizasyonu

Bakla protein veriminde optimum koşulları belirlemek amacıyla Tepki-Yüzey Metodolojisi (RSM) kullanılmıştır. Merkezi tümleşik tasarımına göre 5 merkez nokta ve 8 eksenel nokta olmak üzere toplam 13 deneysel çalışma tasarlanmıştır. Bağımsız değişkenler mikrodalga gücü (250-500 W) ve işlem süresi (1-60 dakika) olarak seçilmiştir. Bağımlı değişken olarak protein verimi baz alınmıştır. Veriler, ikinci dereceden bir polinom modeli ve regresyon katsayıları elde etmek için çoklu regresyon sistemleri kullanılarak analiz edilmiştir (Çizelge 2). Deneysel tasarıma ilişkin veriler Çizelge 1'de sunulmuştur. Özütme, bir mikrodalga (SINEO II PLUS, Çin) sisteminde gerçekleştirilmiştir. Protein:distile su oranı 1:10 olacak şekilde, 250 mL'lik bir cam balon içerisinde hazırlanmıştır. Daha sonra, karışımların pH değeri 9.0'a ayarlanmıştır. Karışımlar, belirlenen optimizasyon şartlarında mikrodalga cihazı (mikrodalga gücü:250-500 W, özütme süresi: 10-60 dakika) haznesine yerleştirilmiştir. Süre sonunda karışımlar 4000 rpm'de 10 dakika (+4 °C) süreyle santrifüjlenmiştir (Nüve NF 1200R, Nüve, Türkiye). Süpernatant süzülerek toplanmış ve protein içeriği ölçüm testine tabi tutulmuştur. Protein içeriğini ölçmek için Lowry yöntemi kullanılmıştır (Lowry vd., 1951). Protein miktarı, sığır serum albümin (BSA) standardı kullanılarak hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi ile hesaplanmıştır.

Bakla proteini konsantrlerinin hazırlanması

Optimizasyon sonucuna göre en yüksek protein içeriğine sahip deneme noktasında seri mikrodalga destekli özütme işlemleri uygulanmıştır. Bu bağlamda optimum mikrodalga gücü ve özütme süresine göre protein solüsyonları (protein: distile su 1:10) hazırlanmış toplanan süpernatantların pH değeri 4.5'e ayarlandıktan sonra protein

çökeltmesine tabi tutulmuşlardır. Bir gece buzdolabında bekletilen solüsyonlar 4000 rpm'de 10 dakika (+4 °C) süreyle santrifüj edilmiş, süpernatant uzaklaştırılmış ve protein peleti püskürtmeli kurutucu kullanılarak toz hale getirilmiştir.

Püskürtmeli kurutma şartları

Santrifüjden elde edilen çökelti saf su ile solüsyon haline getirilmiş ve pH değeri 9.0'a ayarlanarak bir püskürtmeli kurutucu (Unopex B15, Bak-On, Mak. Muh. Ltd. Sti., İzmir, Turkey) yardımıyla toz forma dönüştürülmüştür (Besleme hızı: 8 mL/dakika, Hava girişi sıcaklığı: 140 °C). Elde edilen protein tozu konsantreleri analizlerde kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir (Başyigit vd., 2021).

Analizler

FTIR spektroskopisi

Optimum noktada elde edilen bakla proteini ve peyniraltı suyu protein konsantrelerinin karakteristik bantları FTIR cihazı (Shimadzu, Japonya) kullanılarak (dalga boyu: 500-4000 cm⁻¹, tarama süresi: 32 s ve çözünürlük: 4 cm⁻¹) belirlenmiştir (Lei vd., 2018).

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS)

Bakla ve peyniraltı suyu protein konsantreleri (10 mg/mL) tamponda (0.1 M Tris-HCl, 0.1 M NaCl ve %10'luk SDS) çözündürülmüştür (Ata vd., 2022). Hazırlanan örnekler yükleme tamponu (%5 Tris-HCl (pH 6.8), %4 gliserol, %0.8 SDS, %0.02 bromfenol mavisi ve %2 β-merkaptoetanol) ile 1:1 (v/v) oranında karıştırılmıştır. SDS-PAGE analizi, %12 ayırma jeli ve %5 istifleme jeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Laemmli, 1970). Numuneler, jel şeritlerine yerleştirilmeden önce 10 dakika, 95 °C'de su banyosunda tutulmuştur. Moleküler ağırlık belirteci olarak ise standart bir protein karışımı (11-190 kDa) kullanılmıştır.

Fizikokimyasal analizler

Protein içeriği

Bakla proteininin protein içeriği, organik elementer analiz cihazı (FlashSmart Elemental, ThermoFisher Scientific, ABD) ile belirlenmiştir. Cihaz koşulları; CHNS reaktör sıcaklığı: 950 °C,

GC fırın sıcaklığı 65 °C, helyum taşıyıcı gaz akış hızı: 140 mL/dakika, helyum referans akışı: 100 mL/dakika, oksijen akış hızı 250 mL/dakika, oksijen enjeksiyon süresi: 5 dakika, örnek gecikme süresi: 12 s olarak tanımlanmıştır. Protein içeriği 6.25 (Nx6.25) dönüşüm faktörü ile hesaplanmıştır (Başyigit vd., 2021).

Çözünürlük

Proteinlerin çözünürlüğü daha önceki bir çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir (Xia vd., 2023). Bu bağlamda 0.25 gram protein örneği 100 mL distile su içerisinde çözündürülmüş ve pH değeri 9.00'a ayarlanmıştır. Bir saat karıştırıldıktan sonra, nihai çözelti 3000 rpm'de 30 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Süpernatanttaki protein içeriğini tespit etmek için Lowry metodu kullanılmıştır. Çözünürlük değeri Eşitlik 1 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlük (\%)} = \frac{\text{Süpernatanttaki protein miktarı}}{\text{Örnekteki protein miktarı}} * 100 \quad (1)$$

Su aktivitesi ve nem içeriği

Su aktivitesi değeri, bir su aktivitesi ölçer (Aqualab, ABD) kullanılarak tespit edilmiştir. Nem içeriği gravimetrik yöntemle belirlenmiştir (AOAC, 2005).

Renk

Renk parametrelerinin (L^* , a^* ve b^*) belirlenmesinde renk ölçer (Color Quest, Hunter Associates Laboratory, Inc., ABD) kullanılmıştır (Duangmal vd., 2008).

Fonksiyonel özellikler

Su tutma ve yağ bağlama kapasitesi

Proteinlerin su tutma kapasitesi (STK) ve yağ bağlama kapasitesi (YBK) referans bir çalışma baz alınarak tespit edilmiştir (Cho vd., 2004). Bu amaçla, santrifüj tüplerine tartılan 1 g protein tozu STK için 20 mL distile su, YBK için ise 20 mL mısır yağı ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında tutulan karışımlar, her 15 dakika bir 5 s süreyle vortekslenmiştir. Bir saatlik inkübasyon süresinden sonra protein çözeltileri 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj tüpü 30 dakika boyunca 45 °C'lik bir açıyla tutularak üst faz uzaklaştırılmış ve son ağırlık kaydedilmiştir.

STK ve YBK değerleri, son tartılan ağırlığın ilk tartılan ağırlığa bölünmesi ile hesaplanmıştır (Cho vd., 2004).

Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Köpük oluşturma kapasitesi için protein çözeltileri (%1, pH 7.0) distile su ile hazırlanmış ve protein tozlarının tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Çözündürme işleminden sonra 100 mL'lik dereceli silindire aktarılan karışımın ilk hacmi kaydedilmiştir. Ultra Turrax homojenizatör yardımıyla 12.000 rpm'de 1 dakika karıştırma sonunda oluşan hacim not edilmiştir. Köpük oluşturma stabilitesi için 10. ve 30. dakika hacimleri kaydedilmiştir. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesinin hesaplanmasında aşağıda verilen Eşitlik 2. ve 3. Kullanılmıştır (Li vd., 2021).

$$\text{Köpük oluşturma kapasitesi (\%)} = \frac{V_a - V_b}{V_b} * 100 \quad (2)$$

$$\text{Köpük oluşturma stabilitesi (\%)} = \frac{V_t}{V_a} * 100 \quad (3)$$

V_a = Homojenizasyon sonrası solüsyonun hacmi,
 V_b = Solüsyonun ilk hacmi, V_t = Homojenizasyon sonrası 10. ve 30. dakikadaki hacim

Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi

Protein tozları (%0.5 w/v) 100 mL (10 mM) potasyum fosfat tamponu (pH 7.0) ile karıştırıldıktan sonra bu karışıma 1:3 (v/v) oranında mısır yağı ilave edilmiştir. Emülsiyon hazırlamak için, bu karışım 12.000 rpm'de 1 dakika boyunca Ultra-Turrax kullanılarak (IKA-T18 Basic, Japonya) homojenize edilmiştir. Hazırlanan bu emülsiyonlar (50 µL) ile 5 mL %0.1 (w/v) sodyum dodesil sülfat bir cam tüp içerisinde karıştırılmıştır. Emülsiyon aktivitesini (EAI) tespit etmek için karışımın absorbansı bir UV-VIS spektrofotometre kullanılarak 500 nm dalga boyunda okunmuştur. Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) ölçümü 10. ve 30. dakika absorbans değerlerinin kaydedilmesiyle belirlenmiştir. EAI ve ESI değerleri aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır (Eşitlik 4 ve 5).

$$\text{Emülsiyon aktivitesi (m}^2/\text{g)} = \frac{2 * 2.303 * A_i * SF}{C * \varphi * \theta * 1000} \quad (4)$$

$$\text{Emülsiyon stabilitesi (dakika)} = \frac{A_i}{A_i - A_t} * t \quad (5)$$

A_i = Homojenizasyon işleminden sonra ölçülen absorbans değerleri; SF = Seyreltme faktörü; C = Protein konsantrasyonu (5 mg/mL); φ = Optik yol; θ = Yağ hacim fraksiyonu; A_t = Homojenizasyon işleminden 10 dakika sonra ölçülen absorbans değerleri (Lee vd., 2021).

Stabilite indeksi

Stabilite indeksi değeri için, 15 mL'lik santrifüj tüpüne taze hazırlanan emülsiyonlar (10 mL) eklenerek 4000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonrası emülsiyonların görüntüleri dikkate alınarak alt (emülsiyon) ve üst (krem) fazların hacimsel olarak kapladıkları oranlar stabilite indeksi değeri olarak yorumlanmıştır (Wang vd., 2016).

Stabilite katsayısı

Taze hazırlanan emülsiyondan 10 mL alınarak 2000 rpm'de 15 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme sonunda elde edilen süpernatantın 100 kat seyreltilmiş hali ile seyreltilmemiş (orijinal) hali UV-VIS spektrofotometre kullanılarak 750 nm'de okunmuştur. Absorbans değerleri aşağıda yer alan Eşitlik 6.'daki ilgili yerlere yerleştirilerek stabilite katsayısı hesaplanmıştır (Li vd., 2019).

$$\text{Stabilite katsayısı} = \frac{A_2}{A_1} \quad (6)$$

A_1 : Orijinal örneğe ait absorbans değeri; A_2 : Seyreltilmiş örneğe ait absorbans değeri

Santrifüj çökme oranı

On mL taze emülsiyon 2500 rpm'de 40 dakika süre ile santrifüjlendikten sonra süpernatant uzaklaştırılmış ve içerisinde tortu (çökelti) bulunan santrifüj tüplerinin ağız aşağı gelecek şekilde 30 dakika süreyle bekletilmiştir. Süre sonunda Eşitlik 7. kullanılarak santrifüj çökme oranı tespit edilmiştir (Li vd., 2019).

$$\text{Santrifüj çökme oranı} = \frac{m_2}{m_1} * 100 \quad (7)$$

m_1 : Başlangıç emülsiyon ağırlığı (10 mL); m_2 : tortu (çökelti) ağırlığı

İstatistiksel analizler

Çalışmalar 3 tekerrürlü olarak yürütülmüştür. SPSS paket programı (SPSS Inc., Şikago, IL, ABD) kullanılarak ortalamalar arasındaki

istatistiksel farklılıklar değerlendirilmiş ve t testi $P < 0.05$ istatistiki önem düzeyinde belirlenmiştir. Şekillerin çiziminde OriginPro 8 (Origin Lab Inc., Northampton, ABD) programı kullanılmıştır. Ayrıca bakla proteininin optimizasyonunda Design-Expert ((Stat Ease, Design Expert 7.0, ABD) programından yararlanılmıştır.

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Optimizasyon işlemi

BP üretiminde mikrodalga destekli özütleme işlemi uygulanmıştır. Mikrodalga destekli özütleme işlemlerinin deneysel tasarımında mikrodalga gücü ve proses süresi bağımsız değişkenler olarak değerlendirilmiştir. Çizelge 1, mikrodalga destekli özütlemenin deneysel tasarımını ve beş tanesi merkez nokta olmak üzere 13 deneme ile yürütülen protein verimi sonuçlarını göstermektedir. Protein verimi oranları %32.96-54.55 aralığında tespit edilmiştir. Regresyon modelleri için ikinci dereceden model katsayıları ve ANOVA sonuçları Çizelge 2'de verilmiştir. Optimum koşulların belirlenmesinde belirleme katsayısı (R^2), ayarlanmış R^2 , uyum eksikliği (lack of fit) ve P değerleri dikkate alınmıştır. Belirleme katsayısı (R^2) 0.97 ve

ayarlanmış R^2 değeri 0.94 olarak tespit edilmiş ve bu da modellerin uyumluluğu açısından önem arz etmektedir. Ayrıca uyum eksikliği değerinin anlamlı olmaması ($P > 0.05$) model belirlemede göz önünde bulundurulacak bir başka önemli parametredir. Mikrodalga gücünün ($P < 0.01$) ve proses süresinin ($P < 0.05$) protein verimi üzerinde etkileri önemli bulunmuştur. Mikrodalga gücü ve süresi arttıkça özütlerin protein veriminde de artış gözlenmiştir. Mikrodalga uygulaması, reaksiyona giren bileşikler üzerinde termal etkileşimlere neden olabilmektedir. Bu uygulama biyokütlenin bir elektromanyetik dalganın elektrik alan bileşeni ile etkileşimine yol açacaktır. Sonuçta, hücre duvarlarına basınç uygulayan suyun buharlaşmasına bağlı hücre yapısı bozulmaktadır (Kapoor vd., 2018). Böylelikle hücre duvarından hedeflenen bileşiklerin ortam çözücüsüne geçişi daha kolay olmaktadır. Literatür çalışmalarında bu durumun protein verimi üzerinde artış sağladığı bildirilmiştir (Görgüç vd., 2020). Yapılan optimizasyon işlemi sonunda 481.70 W mikrodalga gücü ve 50.68 proses süresinde protein veriminin %47.74 olabileceği tahmin edilmiştir.

Çizelge 1. Mikrodalga destekli özütleme koşullarına ait deneysel parametreler

Table 1. Experimental parameters of microwave-assisted extraction conditions

Parametreler <i>Parameters</i>	Bağımsız değişkenler <i>Independent variables</i>		Bağımlı değişken <i>Dependent variable</i>
	Mikrodalga gücü (W) <i>Microwave power (W)</i>	İşlem süresi (dakika) <i>Processing time (min)</i>	Protein verimi (%) <i>Protein yield (%)</i>
1	250.00	60.00	38.53
2	375.00	35.00	54.55
3	375.00	35.00	51.78
4	375.00	10.00	40.56
5	375.00	35.00	53.41
6	500.00	60.00	42.90
7	250.00	10.00	32.96
8	250.00	35.00	42.63
9	500.00	35.00	46.94
10	500.00	10.00	40.48
11	375.00	35.00	51.93
12	375.00	60.00	44.37
13	375.00	35.00	52.48
Optimum nokta <i>Optimum point</i>	481.70	50.68	47.74
Alkali özütleme <i>Alkaline extraction</i>			31.25

Çizelge 2. Mikrodalga destekli özütlenme koşullarına ait ANOVA sonuçları
Table 2. ANOVA results of microwave-assisted extraction conditions

Katsayı/Değer Coefficient/value	Verim (%) Yield (%)
β_0	52.24
<i>Kuadratik (Quadratic)</i>	
β_1 (Güç) (Power)	2.70**
β_2 (Süre) (Time)	1.97*
<i>Etkileşimli (Interaction)</i>	
β_{12} (Güç x süre) (Power x time)	-0.79
<i>İkinci derece (Second order)</i>	
β_{11} (Güç) ² (Power)	-5.97***
β_{22} (Süre) ² (Time)	-8.29***
<i>Regresyon katsayıları (Regression coefficients)</i>	
R ²	0.97
Ayarlanmış R ² (Adjusted R ²)	0.94
p-değeri (p-value)	<0.0001
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.13

Model: Protein verimi = $\beta_0 + \beta_1$ (Güç) + β_2 (Süre) + β_{12} (Güç × Süre) + β_{11} (Güç × Güç) + β_{22} (Süre × Süre). İstatistik önem dereceleri: *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001

Model: Protein yield = $\beta_0 + \beta_1$ (Güç) + β_2 (Süre) + β_{12} (Güç × Süre) + β_{11} (Güç × Güç) + β_{22} (Süre × Süre).

Statistical significance levels: *P < 0.05; **P < 0.01; ***P < 0.001

FTIR

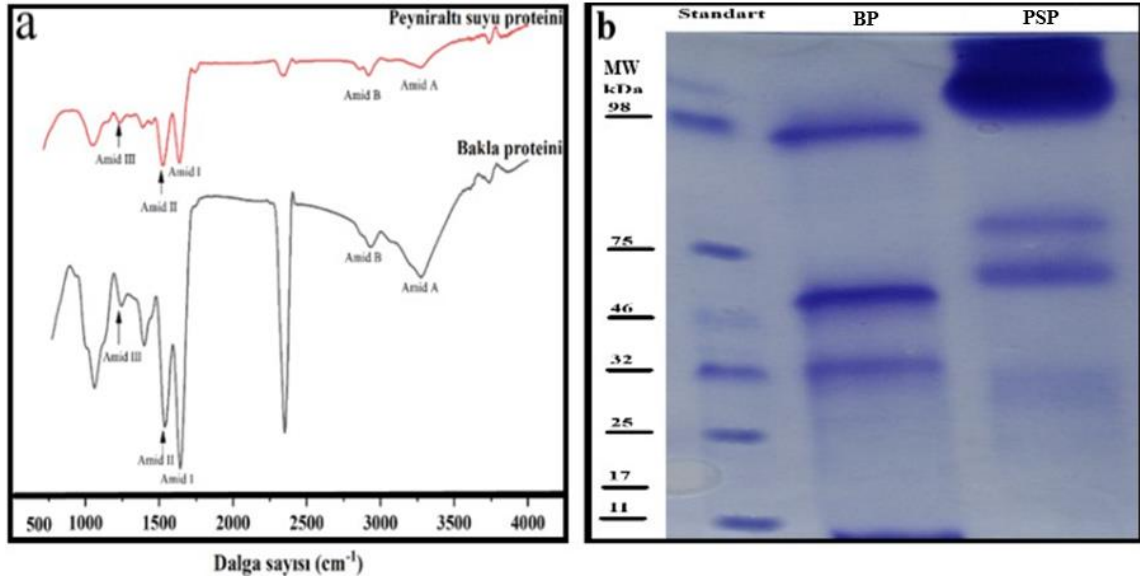
FTIR, maddelerin kimyasal bileşimini kızılötesi absorpsiyon modellerine göre analiz etmek için kullanılan bir tekniktir. Bitki ve hayvan proteinleri söz konusu olduğunda, FTIR bunların yapısal özellikleri ve fonksiyonel grupları hakkında bilgi sağlamaktadır. Bitki proteinleri tipik olarak amidler, karboniller ve hidroksiller gibi ortak fonksiyonel grupların varlığıyla ilgili spesifik absorpsiyon bantları sergilemektedir. Bu bantlar, proteinin ikincil yapısı hakkında bilgi vermektedir. Bakla ve peyniraltı suyu proteinlerine ait FTIR spektrumları Şekil 1a'da gösterilmiştir. BP ve PSP'ye özgü parmak izi bölgeleri amid III (1239-1233), amid II (1539-1523), amid I (1642-1637 cm⁻¹), amid B (2930-2925) ve amid A (3281-3276) olarak tespit edilmiştir. Belirlenen pik bölgeleri literatürde bildirilen dalga boyu aralıklarıyla da uyumludur (Quanhong ve Caili, 2005; Haris, 2013). Amid I ve amid II bantları proteinlere özgü ikincil yapılarının tayininde önemlidir. Bu bantlardan amid I bandı peptit bağlarının C=O gerilme titreşimlerini gösterirken amid II bandı N-H ve C-H germe titreşimleri sonucu meydana gelmektedir (Haris, 2013). Ayrıca amid III bandı C-N, amid A N-H, amid B ise =CH ve -NH₃ titreşimleri sonucu oluşmaktadır (Grdadolnik,

2003). Çalışmada elde edilen FTIR spektrumları proteinlerin yapısını doğrulamıştır.

SDS-PAGE

SDS-PAGE, proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrılması ve analizi için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Proteinlerin moleküler ağırlığını belirlemek, protein saflığını değerlendirmek ve protein-protein etkileşimlerini analiz etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada BP ve PSP'nin SDS görüntüleri Şekil 1b'de sunulmuştur. Bakla proteininin alt birimleri 7S ve 11S globulinlerinin olduğu bildirilmiştir (Cai vd., 2002). BP'nin moleküler ağırlıkları 11-98 kDa arasında tespit edilmiş ve BP 46 kDa'da yoğun bir bant sergilemiştir. BP'de 11 kDa ve 25-32 kDa aralığındaki bantlar 11S fraksiyonun (baklagil) asidik ve bazik alt birimlerine karşılık gelmektedir (Kosińska vd., 2011). Moleküler ağırlığı 46 kDa'luk yoğun bant, vicilin benzeri (7S) fraksiyonun alt birimlerini ifade etmektedir (Alu'datt vd., 2017). PSP'nin moleküler ağırlıkları ise 32-98 kDa aralığında belirlenmiş ve 98 kDa yoğun bir bant görülmüştür. PSP'deki 32 kDa, 75 kDa ve 98 kDa moleküler ağırlığına sahip bantlar sırasıyla kazein, serum albümin ve immunoglobulini (BSA) temsil etmektedir. Buna karşın PSP'ye özgü α -

laktalbumin (14 kDa) ve β -laktoglobulin (21 kDa) tespit edilememiştir.



Şekil 1. Bakla ve peyniraltı suyu proteinlerinin FTIR spektrum (a), SDS-PAGE görüntüsü (b)
Figure 1. FTIR spectrum (a), SDS-PAGE pattern of faba bean and whey proteins (b)

Proteinlerin fizikokimyasal özellikleri

Protein konsantrasyonlarının fizikokimyasal özellikleri Çizelge 3'te sunulmuştur. BP ve PSP'nin nem miktarı ve su aktivitesi değerleri incelendiğinde BP'nin bu değerleri daha düşük bulunmuştur. Proteinlerin renk değerlerine bakıldığında ise PSP'nin L^* değerinin BP'den daha yüksek olduğu ve renginin daha parlak olduğu sonucuna varılmıştır. Buna karşın BP'nin a^* ve b^* değerlerinin ise PSP'den daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuç baklaların renginden sorumlu tanenlere (proantosiyanidinler) bağlanabilir (Sharan vd., 2021). BP ve PSP'nin protein verimi değerleri sırasıyla %67.13 ve %70.00 olarak tespit edilmiştir. Mikrodalga destekli enzimatik özütleme yöntemiyle susam kepeğinden proteininin elde edildiği çalışmada protein veriminde artış olduğu bildirilmiştir (Görgüç vd., 2019). Çözünürlük, fonksiyonel özellikleri ve uygulama potansiyelini yansıtabilen protein denatürasyon agregasyonunun önemli bir kriteridir. Yapılan çalışmada PSP'nin çözünürlük değeri (%91.12) BP'den (%80.23) daha yüksek bulunmuştur. Genel olarak, proteinlerin iyi emülsiyon, köpük, jelleşme özelliklerini sağlayabilmeleri için yüksek çözünürlüğe sahip

olmaları gerekmektedir. Proteinlerin çözünürlüğü, yüzey hidrofobik (protein-protein) ve hidrofilik (protein-çözücü) etkileşimi ile ilgili bir durumdur. Proteinler suda çözünebilen hidrofilik karakter sergilemektedirler (Pelegri ve Gasparetto, 2005). Benzer bulgular önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir. Bezelye proteinlerinin pH 8.5'da en yüksek çözünürlük değeri ~%87 olarak tespit edilmiştir (Gao vd., 2020). Yapılan başka bir çalışmada ise bakla protein izolatlarının çözünürlük değerleri (%43-90) ultrason destekli alkali işleme geliştirilmiştir (Alavi vd., 2021). Örneklerin carr indeksi ve hausner oranı Çizelge 3'te sunulmuştur. Düşük carr indeksi değerine (20-35) sahip tozların iyi akış özelliği sergilediği ve yüksek hausner oranına (>1.25) sahip tozların ise daha yapışkan özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. BP ve PSP'nin carr indeksi değerleri 44.12 ve 39.65, hausner oranları ise 1.37 ve 1.24 olarak belirlenmiştir. Carr indeksi ve hausner oranlarına göre protein tozlarının zayıf akışkan özellikte olduğu sonucuna varılmıştır. Tozların yapışkanlık ve akışkanlık özelliklerinin partikül şekli, yüzey, boyut, higroskopik ve gözenek yapısına göre belirlendiği bildirilmiştir (Sharma vd., 2012).

Çizelge 3. Protein konsantrlerinin fizikokimyasal özellikleri
Table 3. Physicochemical properties of protein concentrates

Analizler <i>Analyses</i>	Bakla proteini <i>Faba bean protein</i>	Peyniraltı suyu proteini <i>Whey protein</i>
Protein verimi (<i>Protein yield</i>) (%)	67.13±0.26 ^b	70.00±0.00 ^a
Çözünürlük (pH:9.0) (<i>Solubility</i>) (%)	80.23±0.19 ^b	91.12±0.05 ^a
Nem miktarı (<i>Moisture content</i>) (%)	4.12±0.08 ^b	6.02±0.11 ^a
Su aktivitesi (<i>Water activity</i>)	0.274±0.01 ^b	0.328±0.02 ^a
Renk (<i>Color</i>) L*	72.60±0.25 ^b	90.68±0.07 ^a
a*	2.40±0.14 ^a	0.80±0.01 ^b
b*	15.41±0.06 ^a	12.99±0.06 ^b
Carr indeksi (<i>Carr index</i>)	44.12±0.4 ^a	39.65±0.19 ^b
Hausner oranı (<i>Hausner ratio</i>)	1.37±0.09 ^a	1.24±0.12 ^b

Sonuçlar üç tekrarlı (n=3) ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda yer alan küçük harfler (a-b) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılığı temsil etmektedir ($P < 0.05$)

Results are given as mean ± standard deviation from triplicate (n=3). Lowercase letters (a-b) on the same line represent the statistical difference between the means ($P < 0.05$).

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri

Protein konsantrlerinin su tutma, yağ bağlama kapasiteleri, köpük oluşturma kapasiteleri ve

stabilite, emülsiyon aktiviteleri ve stabilite Çizelge 4’te verilmiştir.

Çizelge 4. Protein konsantrlerinin fonksiyonel özellikleri
Table 4. Functional properties of protein concentrates

Analizler <i>Analyses</i>	Bakla proteini <i>Faba bean protein</i>	Peyniraltı suyu proteini <i>Whey protein</i>
Su tutma kapasitesi (<i>Water holding capacity</i>) (%)	315.56±0.32	-
Yağ bağlama kapasitesi (<i>Oil binding capacity</i>) (%)	392.23±0.11 ^a	350.12±0.23 ^b
Köpük oluşturma kapasitesi (<i>Foaming capacity</i>) (%)	74.10±0.11 ^a	32.05±0.02 ^b
Köpük stabilitesi (10 dakika) (<i>Foaming stability</i>) (10 th min)	94.59±0.33 ^a	50.00±0.09 ^b
Köpük stabilitesi (30 dakika) (<i>Foaming stability</i>) (30 th min)	81.08±0.12 ^a	12.50±0.11 ^b
Emülsiyon aktivite indeksi (<i>Emulsifying activity index</i>) (m^2/g)	55.86±0.13 ^a	36.81±0.06 ^b
Emülsiyon stabilite indeksi (dakika) (<i>Emulsifying stability index</i>) (ESI10) (min)	38.09±0.19 ^a	22.45±0.21 ^b

Sonuçlar üç tekrarlı (n=3) ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir. Aynı satırda yer alan küçük harfler (a-b) ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılığı temsil etmektedir ($P < 0.05$)

Results are given as mean ± standard deviation from triplicate (n=3). Lowercase letters (a-b) on the same line represent the statistical difference between the means ($P < 0.05$).

Su tutma (STK) ve yağ bağlama kapasiteleri (YBK), proteinlerin su/yağ tutma özelliğini ve protein su/yağ etkileşimlerini belirlemektedir. Bunlar proteinlerin çözünürlük, emülsifiye etme

ve jelleşme gibi fonksiyonel özellikleri etkileyebilmektedir (Shen ve Li, 2021). Bu çalışmada BP’nin STK değeri %315.56, PSP’nin bu değeri ise çözüldüğünden dolayı tespit

edilememiştir. Bu durum peyniraltı suyu proteinin yüksek çözünürlüğüne atfedilmiştir (Day vd., 2022). Ayrıca, mikrodalga uygulaması ile protein denatürasyonuna bağlı yüksek sayıda hidrofilik amino asidin etkilenmesi sonucunda STK değeri iyileştirilmektedir (Ochova-Rivas vd., 2017). Bu çalışmada elde edilen STK değerleri Das vd., (2023) tarafından bildirilen değerlerle tutarlıdır (Das vd., 2023). Mikrodalga uygulaması ile soya protein izolatlarının STK değerleri %383.94'ten %582.96'ya yükseltilmiştir (Das vd., 2023). YBK değerleri ise %392.23 (BP) ve %350.12 (PSP) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4). BP'nin YBK değeri PSP'den daha yüksek bulunmuştur. Bakla proteini için benzer sonuçlar önceki çalışmada da bildirilmiştir (de Paiva Gouvêa vd., 2023). Diğer yandan peyniraltı suyu proteini üzerine yapılan bir çalışmada ise STK değeri belirlenememiş buna karşın YBK değeri %159 olarak rapor edilmiştir (Aydemir ve Yemenicioğlu, 2013). Yapılan başka bir çalışmada ise bezelye ve ticari peyniraltı suyu proteinleri karşılaştırılmış ve STK değerleri %250 (bezelye) ve %0.00 (peyniraltı suyu), YBK değerleri ise %370 (bezelye) ve %190 (peyniraltı suyu) olarak bildirilmiştir (Stone vd., 2015; Lam vd., 2017). Bakla proteinleri suda çözünür albüminler ve tuzda çözünür globülinler içerdiğinden dolayı STK değişiklik gösterebilmektedir. Bunlara karşın YBK değerindeki değişiklikler ise proteinlerin hidrofobikliğine bağlanmıştır (Day vd., 2022).

Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin karakterizasyonunda önem arz eden kriterlerdir. Proteinler köpürme özelliklerinden dolayı birçok uygulamada yüzey aktif maddeler olarak işlev görmektedirler (Cano-Medina vd., 2011). BP ve PSP örneklerine ait köpük oluşturma kapasite (KOK) ve stabilite (KOS) değerleri Çizelge 4'te sunulmuştur. BP'nin PSP'den daha yüksek KOK ve KOS değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Proteinlerin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi değerlerinin belirlenmesinde çözünürlük, yüzey yükü, yüzey hidrofobikliği ve moleküler esneklik gibi faktörlerin etkili olduğu bildirilmiştir (Damodaran, 2006). Köpük kapasitesi ve stabilitesinde önemli bir kriter olan yüzey yükünün etkisi, pH, iyonik ortam ve

moleküller arası protein etkileşimlerine bağlanmıştır (Gochev vd., 2014). Öte yandan, mikrodalga uygulaması ile proteinlerin açılması ve yeniden düzenlenmesine bağlı olarak, hava-su arayüzlerinde absorpsiyon yeteneklerindeki artıştan dolayı köpük oluşturma özellikleri iyileştirilebilmektedir (Phuangjit vd., 2024). Literatürde de benzer sonuçlar bildirilmiştir. Bakla proteini üzerine yapılan bir çalışmada köpük kapasitesi ve stabilitesi değerleri sırasıyla %67 ve %89 olarak rapor edilmiştir (Martínez-Velasco vd., 2018). Yapılan başka bir çalışmada ise mikrodalga işlemine tabi tutulan soya protein izolatlarının köpük oluşturma kapasiteleri %26.67'den %36'ya çıkarılmıştır. (Das vd., 2023). Ayrıca herhangi bir işlem uygulanmayan peyniraltı suyu proteinin köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi sırasıyla %60 ve %70 olarak tespit edilmiştir (Zhao vd., 2022).

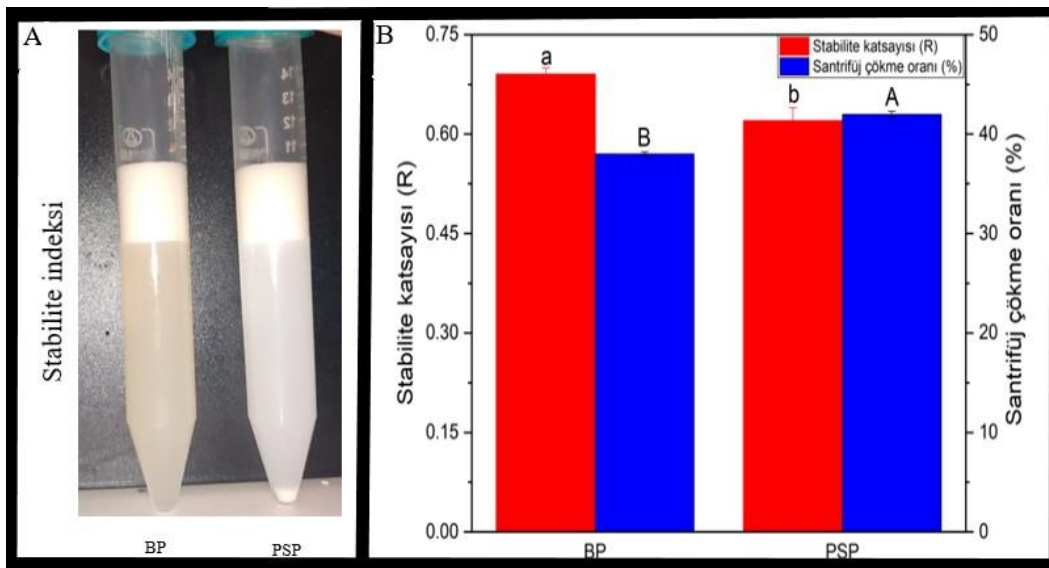
Emülsiyon aktivitesi (EAI) ve stabilitesi (ESI), gıda proteinlerinin emülsifiye edici özelliklerini değerlendirmek için kullanılan iki önemli parametredir (Boye vd., 2010). Yapılan çalışmada BP ve PSP'nin EAI değerleri 55.86 ve 36.81 m²/g, ESI değerleri ise 38.09 ve 22.45 dakika olarak belirlenmiştir (Çizelge 4). BP konsantrasyonunun EAI ve ESI değerleri PSP'den daha yüksek bulunmuştur. Bakla üzerine yapılan bir çalışma EAI ve ESI değerleri sırasıyla %44.29 ve 69.39 dakika olarak bildirilmiştir (Karaca vd., 2011). Bitki globulin proteinleri doğal olarak yüksek moleküler ağırlıklı trimerler (7S vicilinler) veya heksamerler (11S baklagiller) halinde olduğundan dolayı emülsiyon özellikleri değişebilmektedir (Boye vd., 2010). Ayrıca, bir emülsiyonun oluşma mekanizmasının birleşme, topaklanma ve Ostwald olgunlaşması arayüzünün özelliklerinden (yük, kalınlık, geçirgenlik ve sterik bariyer) kaynaklanabileceği ifade edilmiştir (Day vd., 2022).

Proteinlerin Stabilite indeksi, stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı

Bakla ve peyniraltı suyu proteinleri kullanılarak oluşturulan emülsiyonlara ait stabilite indeksleri Şekil 2A'da sunulmuştur. Bu değerlerin yorumlanmasında emülsiyonların santrifüjleme sonrası görüntülerinden yararlanılmıştır. Her iki

örnekte de yukarıdan aşağıya doğru krem ve emülsiyon olmak üzere iki farklı faz belirlenmiştir (Şekil 2A). BP ve PSP'de yağ fazı ayrımı gözlemlenmemiştir. Bu durumun proteinlerin yüzey aktif madde özelliğinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Diğer yandan emülsiyonların kararlılığını belirleyen ve aralarında negatif bir ilişki bulunan stabilite katsayısı (R) ve santrifüj çökme oranı (CPR) değerleri Şekil 2B'de verilmiştir. BP'nin R değeri (0.69) PSP'den (0.62) daha yüksek bulunmuştur. Buna karşın PSP'nin CPR değerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

CPR değeri düşük, R değeri yüksek olduğunda emülsiyonlar daha kararludur. Ek olarak R değeri 1'e yaklaştıkça emülsiyonların kararlılığı daha yüksek olmaktadır. Kolza proteini üzerine yapılan çalışmada R ve CPR değerleri sırasıyla 0.40 ve %43 olarak tespit edilmiştir (Li vd., 2019). Ultrases destekli özütleme ile elde edilen nohut proteinlerinin R ve CPR değerleri sırasıyla 0.68 ve %14.60 olarak bildirilmiştir (Akalan vd., 2023). Vişne çekirdeği protein izolatları (SCPI) üzerine yapılan çalışmada R ve CPR değerleri sırasıyla 0.60 ve %59.17 olarak bildirilmiştir (Akalan vd., 2024).



Şekil 2. Proteinlerin Stabilite indeksi, stabilite katsayısı ve santrifüj çökme oranı

Figure 2. Stability index, stability coefficient, and centrifugal precipitation rate of proteins

Sonuçlar üç tekrarlı (n=3) ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Küçük harfler (a-b) stabilite katsayılarının, büyük harfler (A-B) santrifüj çökme oranlarının ortalamaları arasındaki istatistiksel farklılığı temsil etmektedir ($P < 0.05$).

Results are given as mean \pm standard deviation from triplicate (n=3). Lowercase letters (a-b) represent the statistical difference between the averages of stability coefficients and uppercase letters (A-B) represent the averages of centrifugal precipitation rates ($P < 0.05$).

SONUÇ VE ÖNERİLER

Gıda sistemlerinde emülsiyon ve köpük oluşturmada hayvansal proteinlerin önemi yadsınamayacak düzeydedir. Buna karşın protein talebindeki küresel artışa bağlı olarak, gıda endüstrisinde bitkisel proteinlerin önemi gün geçtikçe popüler hale gelmektedir. Birçok çalışma, bu bitki bazlı proteinlerin hayvansal proteinlerle kıyaslandığında daha düşük işlevselliğe sahip olduğunu belirtmiştir. Bu bağlamda, bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerini ortaya koymak, farklı işleme teknolojileriyle işlevselliğini

arttırmak mümkündür. Hayvansal ve bitkisel kaynaklardan elde edilen proteinlerin teknolojik işlevselliğinin karşılaştırılması nadir görülen standartlaştırılmış analitik yöntemlerin kullanımına dayanmaktadır. Bu çalışma gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan peyniraltı suyu proteini ile bitkisel kaynaklı bakla proteininin fizikokimyasal, fonksiyonel ve karakteristik özelliklerini karşılaştırmak amacıyla yapılmıştır. Çalışma sonuçları bakla proteininin peyniraltı suyuna kıyasla, köpük oluşturma ve emülsiyonlarda daha kararlı bir yapı sergilediğini

göstermiştir. Bu bağlamda yenilikçi gıda işleme teknikleriyle bitkisel proteinlerin fizikokimyasal yapıları geliştirilerek alternatif protein kaynakları çeşitlendirilebilir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazar bu çalışmada, kişiler/kurumlar arasında bir çıkar çatışmasını bulunmadığını beyan eder.

KAYNAKLAR

Aiking, H. (2014). Protein production: planet, profit, plus people?. *The American journal of clinical nutrition*, 100: 483S-489S, doi.org/10.3945/ajcn.113.071209.

Akalan, M., Karakuş, M. Ş., Başığit, B., Karaaslan, A., Karaaslan, M. (2023). Nohut proteini: Ultrases destekli özütlemenin optimizasyonu ve tekno-fonksiyonel davranışları. *Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 12(4): 1296-1304, doi.org/10.28948/ngumuh.1296312.

Akalan, M., Başığit, B., Yücepete, M., Karakuş, M. Ş., Bayrak Akay, K., Karaaslan, A., Karaaslan, M. (2024). Sour cherry seed proteins devoted to covalently bonded carbohydrate moieties: efficacy of transaction and carbohydrate type on amino acid distribution and emulsifier behavior. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-15, doi.org/10.1007/s11694-023-02347-z.

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, doi.org/10.1111/1541-4337.12688.

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: 106335, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106335.

Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Ereifej, K., Gammoh, S., Kubow, S., Tawalbeh, D. (2017). Preparation of mayonnaise from extracted plant protein isolates of chickpea, broad bean and lupin flour: chemical, physiochemical, nutritional and therapeutic properties. *Journal of*

Food Science and Technology, 54(6): 1395-1405, doi.org/10.1007/s13197-017-2551-6.

AOAC, C. (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Official Methods: Gaithersburg, MD, USA.

Ata, O., Kumcuoglu, S., Tavman, S. (2022). Effects of sonication on the extraction of pepsin-soluble collagens from lamb feet and product characterization. *LWT-Food Science and Technology*, 159: 113253, doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113253.

Aydemir, L. Y., Yemenicioğlu, A. (2013). Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives. *LWT-Food Science and Technology*, 50(2): 686-694, doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.023.

Balasubramaniam, V. M., Martínez-Monteağudo, S. I., Gupta, R. (2015). Principles and Application of High Pressure-Based Technologies in the Food Industry. *Annual Review of Food Science and Technology*, 6(1): 435-462, doi.org/10.1146/annurev-food-022814-015539.

Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., Rajamohamed, S. H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2): 537-546, doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021.

Boye, J., Zare, F., Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2): 414-431, doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003.

Başığit, B., Yücepete, M., Karaaslan, A., Karaaslan, M. (2021). High efficiency microencapsulation of extra virgin olive oil (EVOO) with novel carrier agents: Fruit proteins. *Materials Today Communications*, 28: 102618, doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102618.

Cai, R., McCurdy, A., Baik, B.-K. (2002). Textural Property of 6 Legume Curds in Relation to their Protein Constituents. *Journal of Food Science*, 67(5):

- 1725-1730, doi.org/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08713.x.
- Cano-Medina, A., Jiménez-Islas, H., Dendooven, L., Herrera, R. P., González-Alatorre, G., Escamilla-Silva, E. M. (2011). Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44(3): 684-692, doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.015.
- Cho, S. M., Kwak, K. S., Park, D. C., Gu, Y. S., Ji, C. I., Jang, D. H., Lee, Y. B., Kim, S. B. (2004). Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage. *Food Hydrocolloids*, 18(4): 573-579, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2003.10.001.
- Conde, J. M., del Mar Yust Escobar, M., Pedroche Jiménez, J. J., Rodríguez, F. M., Rodríguez Patino, J. M. (2005). Effect of Enzymatic Treatment of Extracted Sunflower Proteins on Solubility, Amino Acid Composition, and Surface Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(20): 8038-8045, doi.org/10.1021/jf051026i.
- Damodaran, S. (2006). Protein Stabilization of Emulsions and Foams. *Journal of Food Science*, 70(3): R54-R66, doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07150.x.
- Das, D., Panesar, P. S., Saini, C. S. (2023). Ultrasonic extraction of soy protein isolate: Characterization and comparison with microwave and enzymatic extraction methods. *Journal of Food Science*, 88(7): 2758-2779, doi.org/10.1111/1750-3841.16654.
- Day, L., Cakebread, J. A., Loveday, S. M. (2022). Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119: 428-442, doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.020.
- de Paiva Gouvêa, L., Caldeira, R., de Lima Azevedo, T., Galdeano, M. C., Felberg, I., Lima, J. R., Grassi Mellinger, C. (2023). Physical and techno-functional properties of a common bean protein concentrate compared to commercial legume ingredients for the plant-based market. *Food Hydrocolloids*, 137: 108351, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108351.
- Du, Q., Zhou, L., Lyu, F., Liu, J., Ding, Y. (2022). The complex of whey protein and pectin: Interactions, functional properties and applications in food colloidal systems – A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 210: 112253, doi.org/10.1016/j.colsurfb.2021.112253.
- Duangmal, K., Saicheua, B., Sueeprasan, S. (2008). Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. *LWT-Food Science and Technology*, 41(8): 1437-1445, doi.org/10.1016/j.lwt.2007.08.014.
- El Fiel, H. E. A., El Tinay, A. H., Elsheikh, E. A. E. (2002). Effect of nutritional status of faba bean (*Vicia faba* L.) on protein solubility profiles. *Food Chemistry*, 76(2): 219-223, doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00314-9.
- Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Cui, L., Ohm, J.-B., Chen, B., Rao, J. (2020). Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea protein isolate. *Food Research International*, 131: 109045, doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109045.
- Gharibzahedi, S. M. T., Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98: 107-116, doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.002.
- Gochev, G., Retzlaff, I., Exerowa, D., Miller, R. (2014). Electrostatic stabilization of foam films from β -lactoglobulin solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 460: 272-279, doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.12.037.
- Görgüç, A., Bircan, C., Yılmaz, F. M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283: 637-645, doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.077.
- Görgüç, A., Özer, P., Yılmaz, F. M. (2020). Microwave-assisted enzymatic extraction of plant protein with antioxidant compounds from the food waste sesame bran: Comparative optimization study and identification of metabolomics using LC/Q-TOF/MS. *Journal of*

- Food Processing and Preservation*, 44(1): e14304, doi.org/10.1111/jfpp.14304.
- Grdadolnik, J. (2003). Saturation effects in FTIR spectroscopy: intensity of amide I and amide II bands in protein spectra. *Acta chimica slovenica*, 50(4): 777-788.
- Haris, P. I. (2013). Probing protein-protein interaction in biomembranes using Fourier transform infrared spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1828(10): 2265-2271, doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.04.008.
- Hughes, G. J., Ryan, D. J., Mukherjea, R., Schasteen, C. S. (2011). Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Scores (PDCAAS) for Soy Protein Isolates and Concentrate: Criteria for Evaluation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(23): 12707-12712, doi.org/10.1021/jf203220v.
- Kapoore, R., Butler, T., Pandhal, J., Vaidyanathan, S. (2018). Microwave-Assisted Extraction for Microalgae: From Biofuels to Biorefinery. *Biology*, 7(1): 18, doi.org/10.3390/biology7010018.
- Karaca, A. C., Low, N., Nickerson, M. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44(9): 2742-2750, doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012.
- Kim, W., Wang, Y., Selomulya, C. (2020). Dairy and plant proteins as natural food emulsifiers. *Trends in Food Science & Technology*, 105: 261-272, doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.012.
- Kosińska, A., Karamać, M., Penkacik, K., Urbalewicz, A., Amarowicz, R. (2011). Interactions between tannins and proteins isolated from broad bean seeds (*Vicia faba* Major) yield soluble and non-soluble complexes. *European Food Research and Technology*, 233(2): 213-222, doi.org/10.1007/s00217-011-1506-9.
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Reetu, Punia, S., Dhakane-Lad, J., Singh, S., Dhumal, S., Chandra Pradhan, P., Bhushan, B., Anitha, T., Alajil, O., Alhariri, A., Amarowicz, R., Kennedy, J. F. (2022). Functional characterization of plant-based protein to determine its quality for food applications. *Food Hydrocolloids*, 123: 106986, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106986.
- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Dhumal, S., Changan, S., Senapathy, M., Berwal, M. K., Sampathrajan, V., Sayed, A. A. S., Chandran, D., Pandiselvam, R., Rais, N., Mahato, D. K., Udikeri, S. S., Satankar, V., Anitha, T., Reetu, Radha, ... Kennedy, J. F. (2022). Plant-based proteins and their multifaceted industrial applications. *LWT-Food Science and Technology*, 154: 112620, doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112620.
- Kute, A., Mohapatra, D., Babu, B., Sawant, B. P. (2015). Optimization of microwave assisted extraction of pectin from orange peel using response surface methodology. *Journal of Food Research and Technology*, 3(2): 62-70.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259): 680-685, doi.org/10.1038/227680a0.
- Lam, A. C. Y., Warkentin, T. D., Tyler, R. T., Nickerson, M. T. (2017). Physicochemical and Functional Properties of Protein Isolates Obtained from Several Pea Cultivars. *Cereal Chemistry*, 94(1): 89-97, doi.org/10.1094/CCHEM-04-16-0097-FI.
- Lee, H. W., Lu, Y., Zhang, Y., Fu, C., Huang, D. (2021). Physicochemical and functional properties of red lentil protein isolates from three origins at different pH. *Food Chemistry*, 358: 129749, doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129749.
- Lei, M., Jiang, F.-C., Cai, J., Hu, S., Zhou, R., Liu, G., Wang, Y.-H., Wang, H.-B., He, J.-R., Xiong, X.-G. (2018). Facile microencapsulation of olive oil in porous starch granules: Fabrication, characterization, and oxidative stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 111: 755-761, doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.051.
- Li, Q., Wang, Z., Dai, C., Wang, Y., Chen, W., Ju, X., Yuan, J., He, R. (2019). Physical stability and microstructure of rapeseed protein isolate/gum Arabic stabilized emulsions at alkaline pH. *Food*

- Hydrocolloids*, 88: 50-57, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.09.020.
- Li, X., Shi, J., Scanlon, M., Xue, S. J., Lu, J. (2021). Effects of pretreatments on physicochemical and structural properties of proteins isolated from canola seeds after oil extraction by supercritical-CO₂ process. *LWT-Food Science and Technology*, 137: 110415, doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110415.
- Lowry, Oliver H., Rosebrough, Nira J., Farr, A. L., & Randall, Rose J. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193(1): 265-275, doi.org/10.1016/S0021-9258(19)52451-6.
- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodríguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44: 97-105, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.02.007.
- Mcclements, D. J. (2007). Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47(7): 611-649, doi.org/10.1080/10408390701289292.
- Multari, S., Stewart, D., Russell, W. R. (2015). Potential of Fava Bean as Future Protein Supply to Partially Replace Meat Intake in the Human Diet. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(5): 511-522, doi.org/10.1111/1541-4337.12146.
- Pelegrine, D. H. G., Gasparetto, C. A. (2005). Whey proteins solubility as function of temperature and pH. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1): 77-80, doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.013.
- Phuangjit, U., Klinkesorn, U., Tan, C. P., & Katekhong, W. (2024). Enhancing silkworm protein yield, extraction efficiency, structure, functionality, and antioxidant activity using ultrasound-, microwave-, and freeze-thaw-assisted methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(1): 383-390, doi.org/10.1002/jsfa.12929.
- Quanhong, L., Caili, F. (2005). Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry*, 92(4): 701-706, doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.042.
- Sharan, S., Zanghelini, G., Zotzel, J., Bonerz, D., Aschoff, J., Saint-Eve, A., Maillard, M. N. (2021). Fava bean (*Vicia faba* L.) for food applications: From seed to ingredient processing and its effect on functional properties, antinutritional factors, flavor, and color. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1): 401-428, doi.org/10.1111/1541-4337.12687.
- Sharma, A., Jana, A. H., Chavan, R. S. (2012). Functionality of Milk Powders and Milk-Based Powders for End Use Applications—A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(5): 518-528, doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00199.x.
- Shen, Y., Li, Y. (2021). Acylation modification and/or guar gum conjugation enhanced functional properties of pea protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 117: 106686, doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106686.
- Springmann, M., Clark, M., Mason-D'Croz, D., Wiebe, K., Bodirsky, B. L., Lassaletta, L., ... & Willett, W. (2018). Options for keeping the food system within environmental limits. *Nature*, 562(7728): 519-525, doi.org/10.1038/s41586-018-0594-0.
- Stehfest, E., Bouwman, L., Van Vuuren, D. P., Den Elzen, M. G., Eickhout, B., & Kabat, P. (2009). Climate benefits of changing diet. *Climatic change*, 95(1): 83-102, doi.org/10.1007/s10584-008-9534-6.
- Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D., Nickerson, M. T. (2015). Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*, 76: 31-38, doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.017.
- Vagadia, B., Vanga, S., Singh, A., Garipey, Y., Raghavan, V. (2018). Comparison of Conventional and Microwave Treatment on Soymilk for Inactivation of Trypsin Inhibitors

and In Vitro Protein Digestibility. *Foods*, 7(1): 6, doi.org/10.3390/foods7010006.

Varghese, T., Pare, A. (2019). Effect of microwave assisted extraction on yield and protein characteristics of soymilk. *Journal of Food Engineering*, 262: 92-99, doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.05.020.

Vioque, J., Alaiz, M., Girón-Calle, J. (2012). Nutritional and functional properties of Vicia faba protein isolates and related fractions. *Food Chemistry*, 132(1): 67-72, doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.033.

Wang, W., Du, G., Li, C., Zhang, H., Long, Y., Ni, Y. (2016). Preparation of cellulose nanocrystals

from asparagus (*Asparagus officinalis* L.) and their applications to palm oil/water Pickering emulsion. *Carbohydrate Polymers*, 151: 1-8, doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.05.052.

Zhao, X., Fan, X., Shao, X., Cheng, M., Wang, C., Jiang, H., Zhang, X., & Yuan, C. (2022). Modifying the physicochemical properties, solubility and foaming capacity of milk proteins by ultrasound-assisted alkaline pH-shifting treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 88: 106089, doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106089.