

## ULTRASES PROSESİNİN BİTKİSEL ATIK VE YAN ÜRÜNLERDEN PROTEİN ELDESİNDE KULLANIMI VE PROTEİNLERİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Sümeyye Gümüş<sup>1,2</sup>, Semanur Yıldız<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Sakarya

<sup>2</sup> Sakarya Üniversitesi, Sürdürülebilir Gıda İşleme Laboratuvarı (SUPROLAB), Sakarya

Geliş/ Received: 21.09.2023; Kabul/ Accepted: 02.01.2024; Online baskı/ Published online: 09.01.2024

Gümüş, S., Yıldız, S. (2024). Ultrases prosesinin bitkisel atık ve yan ürünlerden protein eldesinde kullanımı ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi. GIDA (2024) 49 (1) 68-87 doi: 10.15237/gida.GD23115

Gümüş, S., Yıldız, S. (2024). Use of ultrasound process to obtain protein from plant-based waste and by-products and its effect on functional properties of proteins. GIDA (2024) 49 (1) 68-87 doi: 10.15237/gida.GD23115

### ÖZ

Değişen çevresel ve yaşamsal koşullar, artan dünya nüfusu, sınırlı besin kaynakları ve çeşitlenen beslenme tercihleri sebebiyle gıda kaynaklarının etkin kullanımını ve sürdürülebilir gıda üretim sistemlerinin geliştirilmesini hedefleyen farklı stratejilerin araştırılması günümüzde dikkat çeken güncel araştırma konuları arasındadır. Bitkisel proteinler ise artan nüfusun beslenme ihtiyacını karşılayabilmek için alternatif bir kaynak olarak karşımıza çıkmakta olup bitkisel atık ve yan ürünlerin proteinlerinin değerlendirilerek döngüsel ekonomi politikası çerçevesinde yeniden ekonomiye kazandırılması beslenme kaynaklarının etkin kullanımı için önem arz etmektedir. Bitkisel protein üretimindeki geleneksel yaklaşımlara alternatif olarak yenilikçi ekstraksiyon stratejileri geliştirilmekte olup ultrases destekli protein ekstraksiyonu bu yöntemlerden birisidir. Ultrases prosesi lignoselülozik bileşenlerin olduğu bitkisel matriksten proteinlerin ekstraksiyonunda daha yüksek verim elde edilmesini sağlamanın yanı sıra aynı zamanda proteinlerin fonksiyonel özelliklerini geliştirme yönünde etki gösterme potansiyelinden dolayı dikkat çekmektedir. Bu derleme ise, bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein ekstraksiyonu ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerindeki olası etkileri konularındaki güncel gelişmeleri değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Ultrases destekli ekstraksiyon, bitkisel protein, bitkisel yan ürün, protein ekstraksiyonu, fonksiyonel özellikler, protein modifikasyonu, sürdürülebilirlik

## USE OF ULTRASOUND PROCESS TO OBTAIN PROTEIN FROM PLANT-BASED WASTE AND BY-PRODUCTS AND ITS EFFECT ON FUNCTIONAL PROPERTIES OF PROTEINS

### ABSTRACT

Investigation of different strategies for the effective use of food resources and the development of sustainable food production systems are among the current research topics due to the changing environmental and living conditions, increasing world population, limited food resources, and diversified nutritional preferences. Plant-based proteins emerge as an alternative source to meet the

\* Yazışmalardan sorumlu yazar/Corresponding Author

✉: semanury@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5853

☎: (+90) 264 295 5601

Sümeyye Gümüş; ORCID no: 0000-0002-1086-9231

Semanur Yıldız; ORCID no: 0000-0002-1845-7813

growing nutritional needs. The utilization of proteins from plant-based waste and by-products within the framework of a circular economy policy becomes important for the efficient use of food resources. Innovative extraction strategies, such as ultrasound-assisted extraction, are being developed in plant-based protein production. The ultrasound not only ensures higher efficiency in the extraction of proteins from plants containing lignocellulosic components but also enhance the functional properties of proteins. This review aims to evaluate the recent developments in ultrasound-assisted protein extraction from plant-based waste and by-products, as well as the potential effects on the functional properties of proteins.

**Keywords:** Ultrasound-assisted extraction, plant protein, plant by-product, protein extraction, functional properties, protein modification, sustainability

### GİRİŞ

Günümüz bilimsel araştırmalarının motivasyonu gıda, su ve doğal kaynakların sınırlılığı, açlık, iklim değişikliği, sanayi tabanlı uygulamaların çevresel etkileri, karbon ayak izi, sürdürülebilir üretim yöntemleri gibi konulara dayanmaktadır. Artan dünya nüfusu ve değişen yaşam koşulları sebebiyle gıda kaynaklarının ve ürünlerinin zenginleştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Dünya nüfusunun yılda %1.13 artış hızıyla 2050 yılında 9.6 milyar seviyelerine ulaşacağı tahmin edilirken (Tripathi vd., 2019) bir başka kaynak ise 2050 yılında 9.8 milyar popülasyonun beslenme ihtiyacını karşılayabilmek için mevcut gıda üretiminin iki katına çıkarılması gerektiğini ifade etmektedir (Van Dijk vd., 2021). Gıda endüstrisi, sınırlı gıda kaynaklarına alternatifler üretmek için hem tüketicilerin beslenme tercihlerini hem de çevresel etkiyi azaltan yaklaşımları göz önünde bulundurmaktadır. Artan bu farkındalık araştırmacıları ve beslenme uzmanlarını çevre dostu ve sürdürülebilir protein kaynakları arayışına teşvik etmiştir. Bu kapsamda özellikle insan yaşamının temel unsuru olan proteinin elde edilmesinde hayvansal kaynaklara alternatif olarak bitkisel kaynakların kullanılması popülerlik kazanmıştır (Lam vd., 2018). Hayvansal proteinler sınırlı arz ve yüksek fiyat, olumsuz çevresel etkiler, iklim değişikliği, biyoçeşitlilik kaybı ve insan hastalıklarıyla sıklıkla ilişkilendirilmekte buna karşılık bitkisel proteinler ise sürdürülebilirlik, ulaşılabilirlik ve çevreye olumsuz etkisinin daha az olması açısından son zamanlarda alternatif beslenme kaynağı olarak dikkat çekmektedir (Ochoa-Rivas vd., 2017; Kumar vd., 2021).

Sürdürülebilirlik kavramı çevre, gıda, tarım ve ekonomi gibi farklı alanlarda son zamanlarda karşımıza sıkça çıkmaktadır. Bu kavramlardan

herhangi birinin sürdürülebilir sayılabilmesi için kendini yenileyebiliyor olması veya mevcut durumunu devam ettirebilmesi gerekmektedir. Sürdürülebilirlik düşüncesinin kavramsallaşma süreci farklı kurum ve kuruluşlarca yapılan çalışmalarla zamanla ortaya çıkmıştır. Birleşmiş Milletler Dünya Çevre ve Kalkınma Komisyonu sürdürülebilirliği "*Bugünün gereksinimlerini, gelecek kuşakların da kendi gereksinimlerini karşılayabilme olanağından ödün vermeksizin karşılamak*" şeklinde tanımlamaktadır (Hermundsdottir ve Aspelund., 2021). Birleşmiş Milletler'in 2015 yılında yayınlanan "2030 BM Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri" bildirisi doğrultusunda yoksulluk ve açlığı sonlandırmak, çevresel sürdürülebilirliği sağlamak, nitelikli eğitime ulaşabilmek gibi 17 maddeden oluşan çevresel, toplumsal ve ekonomik açıdan sürdürülebilirlik kavramları ele alınmaktadır (United Nations, 2015). Gıda üretim sistemlerinin de sürdürülebilirlik stratejileri çerçevesinde geliştirilmesi ve uygun modifikasyonların yapılması önem arz etmektedir. Bu stratejiler kapsamında; gıda üretiminde verimlilik ve katma değer artırılması, insan ve ekosistem ilişkisinin güçlendirilerek doğal kaynakların korunması/arttırılması ve geçim kaynaklarının iyileştirilerek gıda alanında ekonomik büyümenin sağlanması hedeflenmektedir.

Sürdürülebilir gıda sistemi; doğal kaynaklar üzerinde olumsuz bir etki yapmadan, oluşan gıda atık ve yan ürünlerini değerlendirerek ve iklim krizini önlemeye çalışarak herkesin ihtiyaç duyduğu güvenli gıdaya ulaşmasını hedeflemektedir (McClements, 2020). Sürdürülebilirlik kavramının en önemli amacı gelecek nesillerin temel besin ihtiyaçlarının devamlılığını sağlayabilmektir. Gıda ürünleri elde

edilirken tarladan çatala ulaşıncaya kadar geçen süreçte birçok atık ve yan ürün açığa çıkmaktadır. Genel olarak gıda atıkları hammaddelerin gıdaya dönüştürülürken açığa çıkan organik kalıntılar; yan ürünler ise gıda işleme ve üretim sırasında açığa çıkan ve market değeri taşıyan sekonder ürünler olarak tanımlanmaktadır (Tiwari ve Khawas, 2021). Türkiye’de gıda sanayii atıklarının tüm imalat sanayileri atıklarının %5’ini oluşturduğu bilinmektedir (TÜİK, 2021). Mevcut kaynakların korunması ve sürdürülebilirliğin devam edebilmesi için gıda üretiminden tüketimine kadar geçen süreçte gıda kayıplarının azaltılması ve oluşan gıda atıklarının doğru bir şekilde değerlendirilmesi gerekmektedir (Özkan vd., 2022). Atık ve yan ürünlerden karbonhidrat, yağ, protein, biyoaktif bileşenler gibi katma değeri yüksek ürünler elde edilebilmektedir. Özellikle proteinler biyolojik aktiviteleri ve esansiyel aminoasit bileşenleri sayesinde önemli bir bileşen olarak görülmektedir.

Proteinler bir canlının yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için önem arz etmektedir. Büyüme, gelişme, enzim faaliyetlerinin devamlılığı için vücutta kullanılan makro besinlerdir. Bu yaşamsal döngünün devamı için uygun kalitede ve miktarda protein tüketilmesi gerekmektedir (Burd vd., 2019). Tarımsal atıklardan ya da gıda sanayi yan ürünlerinden elde edilen proteinin kaliteli kabul edilebilmesi için esansiyel aminoasit içeriğinin zengin olması ve toksik maddelerden uzaklaştırılmış protein içeriğine sahip olması gerekmektedir (Kamal vd., 2021). Protein ekstraksiyon yöntemlerinde geleneksel olarak alkali ekstraksiyon/izoelektrik çökeltme, tuz varlığında ekstraksiyon/diyaliz, misel çöktürme gibi metotlar kullanılmaktadır. Ancak geleneksel ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan organik çözücüler, asitler ve bazlar çevreye zarar vermektedir. Bununla birlikte ekstraksiyon süresinin uzun olması ve düşük protein verimi elde edilmesi de dezavantajları olarak sayılmaktadır. Tarımsal atıklar ve gıda sanayi yan ürünlerinde selüloz, hemiselüloz, pektin, lignin gibi bileşenler bulunmaktadır. Bu lignoselülozik yapılar ekstraksiyon işlemi sırasında proteinlerin sıvı ortama geçmesini zorlaştırarak protein veriminin düşük kalmasına sebep olmaktadır

(Kumar vd., 2021). Geleneksel ekstraksiyonlarda bitki dokusundaki lignoselülozik yapının bozulması daha az gerçekleştiği için bitki matriksinden protein salınımı zorlaşmaktadır. Yüksek protein verimi elde edebilmek için solvent kullanımı, sıcaklık, ekstraksiyon süresi gibi birçok faktör göz önünde bulundurularak optimizasyon ve validasyon çalışmaları yapılmaktadır. Bu kapsamda, kısa sürede yüksek verim ve yüksek protein kalitesi sağlayabilmek için çevre dostu ve alternatif yöntemler önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yenilikçi yöntemler arasında ultrases, mikrodalga, vurgulu elektrik alanı, yüksek basınç ve enzim destekli ekstraksiyon prosesleri yer almaktadır (Sari vd., 2013; Kumar vd., 2021). Bu uygulamalarla hem kimyasal kullanımının azaltılması hem de termal etkilerden kaynaklanabilecek kalite kayıplarının elimine edilmesi hedeflenmektedir. Ultrases teknolojisi bu amaçla yaygın olarak kullanılan ve gıda bilimi ve teknolojisi alanında dikkat çeken proseslerden birisidir (Jahan vd., 2022).

Ultrases, insan işitme aralığının (20 Hz – ~20 kHz) üzerindeki frekanslardaki ses dalgalarıdır (Demirdöven ve Baysal, 2020; Bernardi vd., 2021). Ultrases prosesi gıda bilimi alanındaki uygulamalarında başvuru frekans ve güç yoğunluğuna bağlı olarak düşük yoğunluklu ve yüksek yoğunluklu olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Düşük yoğunluklu ultrases düşük genlik seviyelerinde ve yüksek frekanslarda (>1 MHz) uygulanmakta olup güç düzeyi tipik olarak 1 W/cm<sup>2</sup>’nin altında kalmaktadır. Yüksek yoğunluklu ultrases (10 – 1000 W/cm<sup>2</sup>) ise daha yüksek genliklerde ve düşük frekanslarda (20 – 100 kHz) uygulanmakta olup “power ultrasound” olarak adlandırılmakta ve materyalin yapısına ve fizikokimyasal özelliklerine etki etmektedir (Tiwari ve Mason, 2012). Ultrases prosesinin uygulama alanları arasında ekstraksiyon, ambalajlama, dondurma, kurutma, emülsiyon oluşturma, boyut küçültme ve homojenizasyon yer almaktadır (Bhargava vd., 2021; Barbosa-Canovas vd. 2022). Ultrases destekli ekstraksiyon ise geleneksel yöntemlere alternatif olarak geliştirilen ve gıda bilimi ve teknolojisi alanındaki çalışmalarda yaygın olarak kullanılan uygulamalarından birisi haline gelmiştir. Bu

teknolojiden çeşitli gıda matrikslerinden protein, yağ, fenolik bileşikler, vitaminler, mineral ve aroma maddeleri gibi bileşenleri elde etmek amacıyla faydalanılmaktadır (Görgüç vd., 2019; Kumar vd., 2021). Uygulanan ekstraksiyon yöntemleri hedeflenen bileşenin ekstraksiyon verimini ve geri kazanımını arttırmanın yanı sıra ürünün fizikokimyasal, fonksiyonel ve biyoaktif özelliklerini de etkileyebilmektedir. Bu derleme kapsamında ise bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein ekstraksiyonu sonucunda protein eldesi ve üretilen proteinlerin fonksiyonel özellikleri ele alınacaktır.

### **BİTKİSEL BİYOKÜTLEDEN PROTEİN ÜRETİMİ**

Bitkisel protein üretiminde kullanılabilir olan tarımsal atık ve gıda sanayi yan ürünleri arasında meyvelerin kabuk ve çekirdekleri, mayşe, yağ sanayi atıkları, tahılların kepek kısımları, yağı ayrılmış bitki tohumları gibi çeşitli bitki matriksleri yer almaktadır. Protein kaynağının özelliklerine ve içerdiği proteinin türüne bağlı olarak uygun ekstraksiyon yönteminin seçilmesi ve optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi önem arz etmektedir. Proteinlerin çözünürlüklerine göre sınıflandırması için Thomas Burr Osborne tarafından yapılan gruplandırma esas alınmaktadır. Bu sınıflandırmada proteinler çözünebildikleri çözücüye göre; albüminler (suda), gluteninler (alkalide), prolaminler (alkolde) ve globülinler (tuzda) olmak üzere dört tipe ayrılmaktadır (Osborne, 1908). Etkin bir protein ekstraksiyon işlemi için proteinlerin türü, yapısal özellikleri ve bulunduğu matriks önemli faktörler arasında yer almaktadır. Bitkisel proteinlerin geleneksel yollarla ekstraksiyonu için çoğunlukla alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme ve tuz ile ekstraksiyon/diyaliz yöntemleri kullanılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi sonucunda ekstraksiyon ürünleri protein saflığına bağlı olarak protein unu (<%60 protein), protein konsantratu (%60-90 protein) ve protein izolatu (>%90 protein) olarak adlandırılmaktadır (Soto-Sierra vd., 2018; Loveday, 2019). Ürün formülasyonlarının geliştirilebilmesi ve hedeflenen kalite özelliklerinde üretim yapılabilmesi için bitkisel proteinlerin türünü ve miktarını bilmek önem arz etmektedir. Ticari olarak üretilen bitkisel

proteinler yaygın olarak alkali ekstraksiyonla elde edilmektedir.

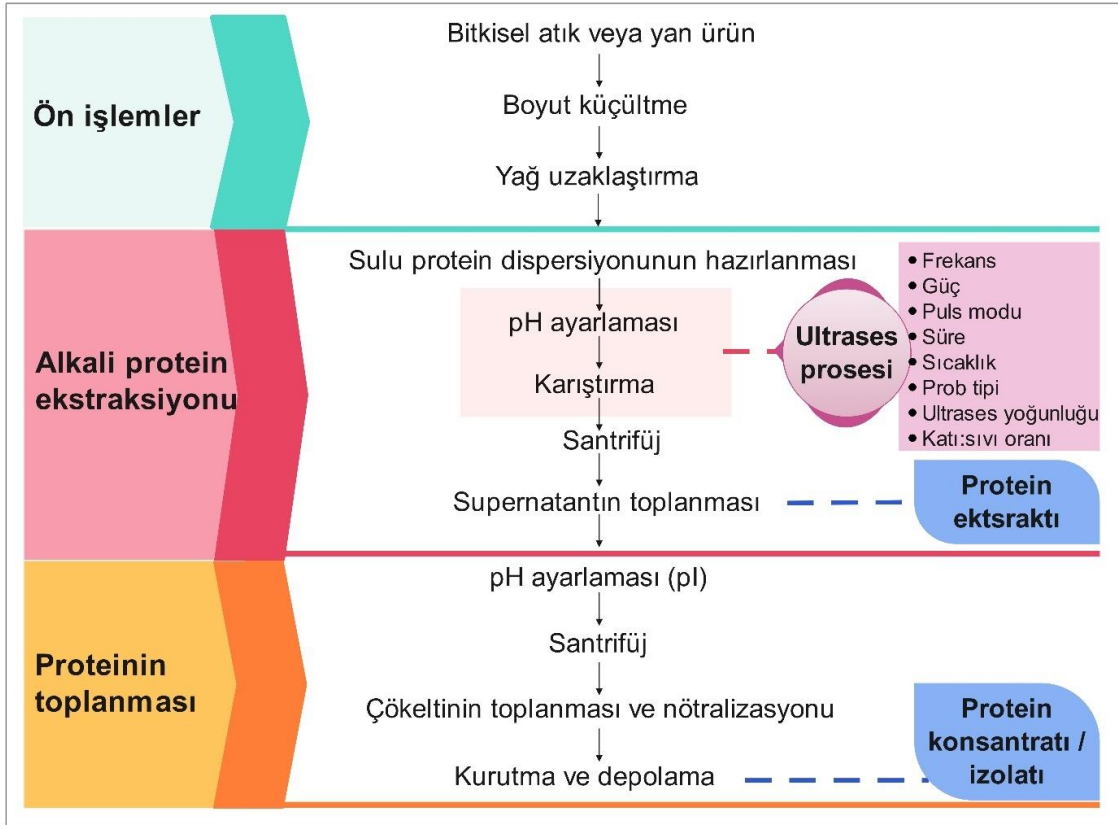
Alkali ekstraksiyon/izoelektrik çöktürme yöntemi bitkisel proteinlerde en yaygın kullanılan kimyasal ekstraksiyon çeşididir (Qiaoyun vd., 2017). Bu yöntemde alkali koşullarda proteinlerin çözünürlüğünden yararlanılmaktadır. Ayrıştırılmak istenen hammaddeden pH değeri 8-11 aralığında ayarlanmış alkali bir çözelti hazırlanmakta ve Şekil 1'de belirtilen aşamalar takip edilmektedir. Proteinler belirli bir sıcaklık ve sürede alkali koşullarda ekstrakte edilmekte, santrifüj ve filtrasyon yöntemleriyle ayrılmakta ve izoelektrik noktada çöktürülerek santrifüjle protein peletleri elde edilmektedir (Tanger vd., 2020). Kurutma işleminin ardından protein içeriğine bağlı olarak protein unu, protein konsantratu veya protein izolatu olarak toz formda üretim sağlanmaktadır. Her proteinin izoelektrik noktası değişkenlik göstereceği için matrikste bulunan proteinlere ait pI değerinin belirlenmesi etkin bir ekstraksiyon işlemi için önem arz etmektedir. Sodyum, potasyum ya da kalsiyum hidroksit gibi alkaliler ekstraksiyon işleminde yaygın olarak tercih edilmektedir. Oluşturulan alkali ortam sayesinde izoelektrik noktadan daha yüksek bir pH seviyesinde protein çözünürlüğü artmakta ve bu sayede proteinlerin alkali ortama kütle transferi gerçekleşmektedir (Sari vd., 2015). Yaptıkları bir çalışmada Cui vd. (2020), bezelye bitkisinde farklı pH'larda alkali ekstraksiyonla pH değerini 8.5'dan 10'a arttırdıklarında hem protein veriminin %81'e yükseldiğini hem de bazı fonksiyonel özelliklerinin (köpürme kapasitesi ve stabilitesi) geliştiğini gözlemlemişlerdir.

### **ULTRASES DESTEKLİ EKSTRAKSİYON TEKNOLOJİSİ**

Geleneksel yöntemlerle protein ekstraksiyonunda protein ekstraksiyon verimi düşük kalabilmektedir. Bu durumun temel nedeni bitki dokusunda bulunan karbonhidratların kompleks bir matris oluşturması ve proteinlerin bu yapı içerisinde gömülü kalmasıyla ilişkilendirilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021). Bitki hücre dokusunun yapısal bileşenleri olan selüloz, hemiselüloz, pektin ve lignin gibi bileşenler bitkisel proteinlerin ekstraksiyonunda bariyer

görevi görmektedir (Görgüç vd., 2019). Bitkisel dokuların parçalanarak daha etkin ve yüksek verimde ekstraksiyon gerçekleştirilebilmek için enzim, elektrik alanı ve ultrases gibi uygulamalardan faydalanılmaktadır. Bu derleme

kapsamında ultrases prosesi değerlendirmeye alınmış olup geleneksel alkali protein ekstraksiyonu / izoelektrik çöktürme yöntemine entegrasyonu Şekil 1’de verilmiştir.



Şekil 1. Geleneksel alkali protein ekstraksiyonunun akım şeması ve ultrases prosesinin ekstraksiyon sürecine entegrasyonunun şematik gösterimi (Jahan vd., 2022 çalışmasından modifiye edilmiştir)

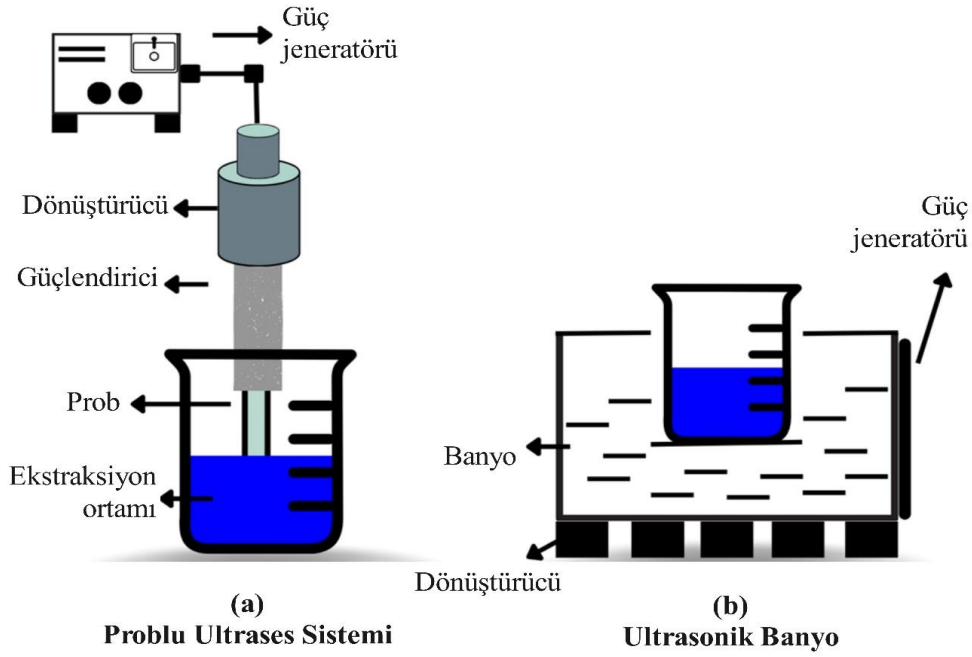
### Ultrases prosesinin temelleri

Ultrases teknolojisi, geleneksel gıda işleme yöntemlerinde uygulanan sıcaklığın ürün üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için geliştirilmiş ısı olmayan teknolojilerden birisidir. Ultrases destekli ekstraksiyon (USDE) ise daha yüksek verimde ekstraksiyon yapabilmeye olanak tanıyan yenilikçi yaklaşımlardandır. USDE hem düşük ekstraksiyon sıcaklıklarında çalışabilmeye olanak sağlaması hem de daha az çözücü ve enerji kullanılması sebebiyle basit, uygulanabilir, etkili ve çevre dostu bir yöntem olarak kabul edilmektedir.

USDE için ultrasonik banyo ve prob tipi ultrases sistemi kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilebilmektedir (Şekil 2). Ultrasonik banyolar kolay uygulanabilirliği, ekonomik açıdan uygun olması ve çok sayıda numunenin aynı anda işleme alınabilmesi gibi avantajlar sunarken düşük güç seviyesi ve değiştirilemeyen ultrases genliği gibi proses koşulları banyo tipi cihazların uygulama alanını kısıtlamaktadır. Probu ultrases sistemleri ise jeneratör, güçlendirici, dönüştürücü ve prob olmak üzere dört ana bileşen yardımıyla ses dalgalarını ortama yaymaktadır (Jahan vd., 2022). Ekstraksiyon uygulamalarında genellikle probu ultrasonik sistemler tercih edilmekte olup

bu sistemler farklı güç seviyelerinde çalışabilmeleri ve daha etkili kavitasyon sağlayabilmeleri sebebiyle verim açısından daha avantajlı olmaktadır. Bu yöntemde, ultrases prob ucu ekstraksiyon kabına daldırılmakta ve bitkisel

dokular uygun süre ve ultrases yoğunluklarında ekstraksiyona tabii tutulmaktadır (Chemat vd., 2017; Kumar vd., 2021; Kamal vd., 2023; Karabulut vd., 2023).

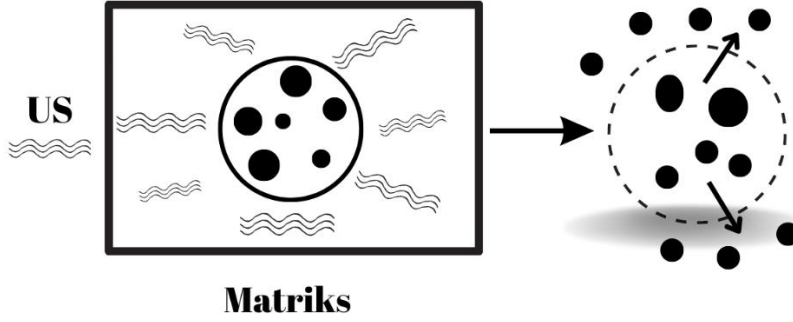


Şekil 2. Protein ekstraksiyonu için problu ultrases sistemi (a) ve ultrasonik banyonun (b) şematik gösterimi

Ses dalgaları herhangi bir ortamda moleküller arası itici dalgalarla iletilmektedir. Sıvı akışında çok kısa süre içerisinde oluşan basınç kaymasıyla moleküller arası sıkışıklık ya da boşluk oluşturarak kabarcıklar meydana gelmekte ve bu kabarcıklar kavitasyon baloncukları olarak adlandırılmaktadır (Tiwari ve Mason, 2012). Oluşan kabarcıklar bir süre sonra boyut küçültmek için çökerek patlamaktadır. Kavitasyon kabarcıklarının oluşumu, büyümesi ve çökmesi fiziksel ve kimyasal değişim göstererek ortaya büyük bir enerji çıkartmaktadır (Yao vd., 2020). Ortaya çıkan bu enerji ultrases sisteminde mekanik titreşimin oluşmasına sebep olarak prosesin bitkisel dokulara etki ederek ekstraksiyon amacıyla uygulanmasını mümkün kılmaktadır (Kumar vd.,

2021). Akustik kavitasyon olarak adlandırılan bu etki ultrases destekli ekstraksiyon proseslerinin temel mekanizması olarak adlandırılmaktadır.

Ultrases destekli protein ekstraksiyonunda; ses dalgaları sayesinde bitkisel matrikste hücre duvarının yapısı bozularak tahrip edilmektedir. Daha sonra ekstraksiyon solventi, oluşan duvar boşluklarından hücreye nüfuz ederek hücre içindeki hedef bileşenlere daha kolay ulaşmakta ve çözücüye geçmelerini sağlamaktadır (Rahman vd., 2020). Akustik ses dalgalarının dokulardaki proteinlerin ekstraksiyon ortamına salınmaları sırasındaki etkileri temsili olarak Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3. Ultrases dalgalarının ürün matriksine etkisinin ve protein ekstraksiyonunun şematik gösterimi

Ultrases destekli ekstraksiyonun etkinliği frekans, güç yoğunluğu, ekipman çeşidi, sıcaklık, süre, katı-sıvı oranı ve çözücü özellikleri gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir (Panda ve Manickam, 2019). Ultrases sisteminde farklı parametreler protein verimini ve fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir. Ultrases sisteminde dağılan ultrasonik enerjiyi ifade etmek için ultrases gücü (W), ultrases yoğunluğu (W/cm<sup>2</sup>) ve akustik enerji yoğunluğu (W/ml), kavramları kullanılmaktadır. Ekstraksiyon verimi de birçok çalışmada ultrases yoğunluğunun artmasıyla birlikte önce kademeli olarak en yüksek seviyeye yükselme ve ardından azalma veya sabit kalma eğilimlerini takip etmektedir. Elde edilen protein miktarının artırılması uygulanan ultrases gücüyle önemli düzeyde ilişkilendirilmektedir (Ly vd., 2018). Ultrases gücünün hesaplanması kalorimetrik olarak yapılmakta olup ultrases gücü, yoğunluğu ve akustik enerji yoğunluğu sırasıyla Eşitlik 1, Eşitlik 2 ve Eşitlik 3 ile hesaplanmaktadır (Tiwari ve Mason, 2012):

$$\text{Ultrases gücü (W)} = m * C_p \frac{dT}{dt} \quad (1)$$

$$\text{Ultrases yoğunluğu (W/cm}^2\text{)} = \frac{\Delta P}{\pi D^2} \quad (2)$$

$$\text{Akustik enerji yoğunluğu (W/ml)} = \frac{W}{V} \quad (3)$$

Bu eşitliklerde m: kütle, P: ultrases gücü, C<sub>p</sub>: özgül ısı, dT/dt: sonikasyon sırasındaki lineer sıcaklık değişimi, D: prob çapı, V: örnek hacmi terimlerini ifade etmektedir.

Ekstraksiyon işlemi sırasında sonoreaktördeki sıcaklık diğer bir önemli faktördür. Yüksek

sıcaklıklar çözücü ve protein yapısı arasında olumsuz etkileşim göstererek proteinlerin yapısını etkileyebilmektedir. Qiu vd. (2023) yaptıkları çalışmada ultrases destekli ekstraksiyonla çay kalıntısından protein elde etmişlerdir. Bu çalışmaya göre sıcaklık parametresinin artırılmasıyla protein verimi önce artmış daha sonra düşmüştür. Ekstraksiyon sıcaklığı 25 °C'den 45 °C'ye çıkartıldığında protein veriminin arttığı ve 45 °C'de optimum düzeye ulaştığı görülmüştür. Sıcaklık seviyesinin daha yüksek değerlere çıkartılmasının verimin düşmesine ve protein yapısının zarar görmesine sebep olacağı bildirilmiştir (Qiu vd., 2023). Sıcaklık düzeyinin proteinlerde herhangi bir bozulma olmadan en yüksek ekstraksiyon verimine ulaşabilmesi için optimize edilmesi gerekmektedir (Färcaş vd., 2022). Ultrases uygulama süresi güç yoğunluğu, sıcaklık ve frekans gibi diğer parametrelerle ilişkilendirilmektedir. Ekstraksiyon süresinin uzaması bir yandan verim artışını sağlarken öte yandan ekstrakte edilmek istenen bileşenin uzun süre ultrasese maruz kalması yapısının bozulmasına sebep olabilmektedir. Bira tahılı atıklarından ultrases sistemiyle farklı sürelerde elde edilen proteinlerin incelendiği bir çalışmada sonikasyon süresinin uzamasıyla protein içeriğinin önce arttığı sonra azaldığı görülmüş olup en verimli protein ekstraksiyonuna ise 10 dakikalık işlem sonucunda ulaşıldığı gözlemlenmiştir (Li vd., 2021). Ultrases teknolojisinin bitki temelli bir kaynaktan protein eldesi için kullanımı ilk olarak soya fasulyesinde denenmiş olup daha sonra farklı bitkilerde de uygulanmıştır (Rahman ve Lamsal, 2021). Ekstraksiyon çalışmalarında tahıllardan kalan kepek kısımları, bezelye, soya fasulyesi,

kolza tohumu, bitkisel yağdan kalan posalar ya da meyve sebze ürünleri ve atıkları kullanılmaktadır. Yapılan çalışmaların ultrases destekli protein ekstraksiyonunu desteklediği görülmektedir (Kamal vd., 2021).

### SWOT analizi

SWOT analizi; bir çalışmanın, projenin, kişi ya da kurumların üzerinde etkisi bulunan iç ve dış faktörleri değerlendiren bir analiz olup ele alınan konuya ilişkin güçlü yönler, zayıf yönler, fırsatlar ve tehditler belirlenmektedir (Namugenyi vd., 2019). Güçlü ve zayıf yönleri değerlendirerek gerekli iyileştirmeler ve düzenlemeler yapılmakta, belirlenen fırsatlar sayesinde yeni stratejiler geliştirilmekte ve tehditler kapsamında ise karşılaşılabilecek olası olumsuzluklar değerlendirilerek önüne geçilebilmektedir. Bitkisel ürünlerde özellikle son dönemlerde uygulanmakta olan ultrases sisteminin SWOT analizi Şekil 4'te gösterilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021; Kamal vd., 2023).

Ultrases destekli ekstraksiyon, gıda işleme süreçlerinde eski ve yeni proseslere entegrasyonu açısından umut vadeden bir teknoloji olarak kabul edilmektedir. Bu ekstraksiyon işleminin geleneksel ve yenilikçi metotlarla kombine edilmesiyle daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir. Ultrases

prosesinin Şekil 4'teki güçlü yönleri ele alındığında geleneksel yöntemlere göre daha yüksek ekstraksiyon verimlerine daha kısa sürede ulaşılabilir olması güçlü yönü olarak karşımıza çıkmaktadır. Bunun yanında daha az kimyasal kullanımına ihtiyaç duyulması ve çevre dostu özellik göstermesi ise bu teknolojinin bir diğer güçlü yanıdır. Ultrases işleminin zayıf yönleri incelendiğinde ise; ses dalgalarından etkilenmemek için bazı ekstra koruyucu ekipman gerekliliği ve yatırım maliyeti gerektirmesi göze çarpmaktadır. Öte yandan, uygulama esnasında uygun olmayan proses koşullarının yapı bozulmalarına sebep olarak protein denatürasyonuna yol açabileceği uygulama amacına bağlı olarak bir dezavantaj olarak değerlendirilmektedir. Farklı tür gıda matrikslerine uygulanabilir olması, proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerini geliştirebilme potansiyeli, kolay ölçeklenebilir olması ve çevre dostu proses geliştirilme potansiyeli bu teknolojinin önemli fırsatları arasında yer almaktadır. Son olarak, uzun süre kullanımda prob ucunun deformasyonundan dolayı ekipman kaynaklı problem oluşabilmesi ve ses dalgalarının oksidasyon reaksiyonlarında rol alacak serbest radikallerin oluşmasına sebebiyet verebilmesi olası tehdit unsurları arasında sayılmaktadır.



Şekil 4. Ultrases destekli protein ekstraksiyonu için SWOT analizi



### **Bitkisel atıklar ve yan ürünlerden ultrases prosesiyle protein eldesi**

Bitkisel protein ekstraksiyon aşamasındaki faktörlerin yanı sıra ekstraksiyon öncesinde uygulanan ön işlemler de atık ve yan ürünlerden protein eldesinde önem arz etmektedir. Örneğin; Dabbour vd. (2018) ayçiçeği küspesinde geleneksel ekstraksiyonda ise protein verimi %30-50 arasında olduğunu ve bu oranın kabuk ayırma ve yağ uzaklaştırma işlemlerinin uygulanmasına göre %66'ya kadar arttığını bildirmişlerdir. Ultrases prosesi ise protein ekstraksiyonuyla eş zamanlı olarak uygulanabildiği gibi ekstraksiyondan önce ön işlem olarak da uygulanabilmektedir (Wang vd., 2020; Karabulut vd., 2023). Bu kapsamda yapılan güncel bir çalışmada tarımsal bir atık olan bezelye kabuğuna ön işlem olarak uygulanan ultrasonikasyonun bitki dokusundan protein salınımını kolaylaştırarak protein ekstraksiyon sürecine katkı sunduğu ortaya konulmuştur (Karabulut vd., 2023). Ultrases prosesi bitkisel yağ üretiminden kalan posa, tahıllardan açığa çıkan kepekli kısımlar ve meyve-sebze sanayinden kalan kabuk, mayşe, çekirdek gibi yan ürünlere protein ekstraksiyonu amacıyla uygulandığında da protein verimini önemli düzeyde arttırılabilmektedir. Bu kapsamda yapılan çalışmalar Çizelge 1'de verilmektedir. Örneğin; alkali ekstraksiyon ile ultrases destekli alkali ekstraksiyonun verimlilik açısından etkinliklerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada yağ alınmış pirinç kepeğinden geleneksel ekstraksiyonla 60 dakika sonunda %77 oranında protein verimi sağlanırken, aynı oranda verim ultrases prosesiyle 5 dakika gibi bir sürede elde edildiği bildirilmiştir. Aynı zamanda ultrasonik güç artırıldığında kaviteasyonun etkisiyle protein veriminin anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir (Chittapalo ve Noomhorm, 2009). Kolza küspesine ultrases destekli ekstraksiyon uygulanan bir çalışmada ise proses parametreleri pH 11.71 ve %40 güç olarak belirlenmiş olup proses sonucunda geleneksel yöntemle elde edilen protein miktarından %43.3 daha fazla verim elde edildiği görülmüştür (Yagoub vd., 2017). Benzer şekilde bira endüstrisi tahıl atığından USDE (250 W, 20 dk, %60 döngü) ile protein ekstraksiyonunda verim %45.71'den %86.16 düzeyine yükselmiştir (Li vd., 2021). Naik vd.

(2022) acı kavun tohumu küspesinden geleneksel ekstraksiyonla %15.03 protein verimi elde ederken optimum USDE koşullarında (375 W, 17.5 dk ve pH 10.5) %31.05 düzeyinde protein verimi sağlanmış olup bu durum, ultrases dalgaları sayesinde çözücünün hücre matrisine daha fazla nüfuz etmesi ve kütle aktarımını arttırmasıyla ilişkilendirilmiştir. Yağ alınmış yer fıstığı posası için uygulanan başka bir çalışmada ise USDE işleminin geleneksel ekstraksiyona kıyasla protein verimini %19 oranında arttığı görülmüş olup optimum sonikasyon koşullarında (pH 6.8, 30W/g, 15 dk ve 50°C) %87.7 protein verimi elde edilmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyonun parçacık boyutunu önemli ölçüde küçülttüğü ve 1 saat süren alkali ekstraksiyona göre zamandan 45 dk kazandırdığı görülmüştür (Nguyen ve Le, 2019). Golly vd. (2020) ise ceviz posasına geleneksel alkali ekstraksiyonu 50°C sıcaklıkta ve 60 dk işlem süresince uygulayarak %62.34 oranında protein verimi elde ettikleri çalışmalarında USDE işleminin 46.6°C sıcaklıkta 80 W güç seviyesinde ve 45 dakika süresince uygulanmasıyla protein veriminin %91.23 seviyesine yükseldiğini göstermişlerdir. Benzer bir çalışmada geleneksel ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyonun fıstık unu proteini üzerinde karşılaştırılması yapılmıştır. Bu çalışmaya göre ise ultrases prosesinin protein verimini %136 oranında arttırdığı görülerek bir önceki çalışmayı destekler nitelikte bir sonuç elde edildiği görülmüştür (Ochoa-Rivas vd., 2017). Özyurt vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada domates salçası yapımından atık olarak ayrılan domates çekirdeği USDE ile protein üretiminde kullanılmış ve protein ekstraksiyonu için optimum koşullar 210 W güç, 35 °C ve 60 dakika olarak belirlenmiş ve %35.75 protein verimi elde edilmiştir. Meyve kabuklarında bulunan değerli bileşenler ağırlıklı olarak lif, likopen ve fenolik bileşenler olduğu için meyve çekirdeğinin protein açısından daha değerli olduğu için protein kaynağı olarak değerlendirilebileceği düşünülmüştür (Mellinas vd., 2022).

Çizelge 1. Bitkisel atıklar ve yan ürünlerden ultrases destekli ekstaksiyonla protein eldesi

Protein kaynağı	Proses koşulları	Protein verimi	Kaynak
Pirinç kepeği (yağı alınmış)	100 20 kHz 5 dk 26.62±2 °C pH 11 Katı/sıvı: 1:5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %77.30</li> <li>• USDE: %76.09</li> </ul>	Chittapalo ve Noomhorn (2009)
Kolza küspesi	%40 güç 28 kHz 41 dk 16 °C pH: 10.5-11.5-12.5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %9.36</li> <li>• USDE: %13.41</li> </ul>	Yagoub vd. (2017)
Ayçiçeği küspesi	220 W 15 dk 45 °C pH:9.0	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %30-50</li> <li>• USDE: %54.26</li> </ul>	Dabbour vd. (2018)
Susam kepeği	836 W 35 kHz 98 dk 43 °C Katı/sıvı: 1:10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %24.5</li> <li>• USDE: %39.8 - %58.5</li> </ul>	Görgüç vd. (2019)
Yer fıstığı küspesi (yağı alınmış)	30 W 20 kHz 15 dk 50 °C Katı/sıvı: 1:20	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %68.7</li> <li>• USDE: %87.7</li> </ul>	Nguyen ve Le (2019)
Ceviz küspesi	80 W 45 dk 46.6 °C pH: 9.5 Katı/sıvı: 1:20	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AE: %62.34</li> <li>• USDE: %91.23</li> </ul>	Golly vd. (2020)
Domates çekirdeği	210 W 24kHz 60 dk 35 °C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• %35.75</li> </ul>	Özyurt vd. (2021)
Acı kavun tohumu küspesi	300 W, 375 W, 450 W 0-20 dk 14±1 °C pH 3-7.5-10.5 Katı/sıvı: 1:10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• %31.05</li> </ul>	Naik vd. (2022)

AE: Alkali ekstraksiyon, USDE: Ultrases destekli alkali ekstraksiyon

### ULTRASES EKSTRAKSİYONUNUN PROTEİNLERİN FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

Fonksiyonel özellikler proteinlerin gıdalardaki davranışını veya performansını ifade etmekte olup gıdada bulunan diğer bileşenlerle etkileşimini yansıtmaktadır. Proteinlerin fonksiyonel

özellikleri boyut, şekil, yük dağılımı, amino asit bileşimi ve dizilimi gibi fiziksel, kimyasal ve yapısal özelliklerle ilişkilendirilmektedir. Fonksiyonellik proteinin kaynağına, bileşimine, üretim yöntemine, sıcaklığa, pH'a, iyonik kuvvet ve tuzların varlığı gibi ortam özelliklerine bağlı olarak değişmekte olup uygun stratejilerle

modifiye edilebilmektedir (Akharume vd., 2021). Üretim aşamalarından birisi olan ekstraksiyon ise proteinlerin fonksiyonelliğini önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Protein ekstraksiyonu için seçilen yöntem, sıcaklık, süre, solvent çeşidi, cihaz özellikleri gibi parametreler proteinin mikro yapısını etkilemektedir (Jahan vd., 2022). Ultrases ile protein ekstraksiyonu, uygulanan koşullara bağlı olarak proteinin konformasyonel yapısının değişmesine ve dolayısıyla da fonksiyonel özelliklerinin modifikasyonuna neden olabilmektedir (Ampofo ve Ngadi, 2022). Bir proteinin fonksiyonel özellikleri çözünürlük, emülsiyon oluşturma, köpük oluşturma, jelleşme ve su/yağ bağlama olarak sınıflandırılmaktadır. Bitkisel atıklardan elde edilecek proteinin çeşitli

fonksiyonel özellikler açısından geliştirilmesi farklı gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılma potansiyelini arttırmak adına önem arz etmektedir. Pirinç kepeği, susam kepeği, ayçiçeği küspesi, kolza küspesi, ceviz küspesi, domates çekirdeği ve domates/karpuz/elma kabuğu gibi birçok bitkisel atık ultrases prosesinde protein ekstraksiyonuyla değerlendirilen kaynaklar arasında yer almakta olup ultrases ile protein ekstraksiyonunun çözünürlük, emülsiyon oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi, su/yağ bağlama ve jelleşme gibi fonksiyonel özellikler üzerine etkisinin farklı matrislerde incelendiği güncel çalışmalar Çizelge 2’de verilmektedir.

Çizelge 2. Ultrases destekli ekstraksiyonun bitkisel atık ve yan ürünlerden elde edilen proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisi

Fonksiyonel özellik	Protein kaynağı	Proses koşulları	Temel bulgular	Kaynak
Çözünürlük	Ayçiçeği küspesi	pH 9, 220W	%74.59	Dabbour vd. (2018)
	Soğuk preslenmiş domates tohumu	pH >10, 210W	> %20	Özyurt vd. (2021)
Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi	Bira endüstrisi atığı	250W, 20dk	EAI: 40.44±1.68 m <sup>2</sup> /g ES: %84.40±0.59	Li vd. (2021)
	Kaktüs bitkisi tohumu	150W-600W	EAI: 41.58±1.19 m <sup>2</sup> /g ESI: 67.70±3.01 dk	Li vd. (2023)
Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi	Ayçiçeği küspesi	pH 5-3, 220W	KK: %41.27 KS: %30.75	Dabbour vd. (2018)
	Pirinç kepeği	pH 9.5, 100W, 200W, 300W	KK: %41.3 KS: %88.6	Sun vd. (2021)
Jelleşme	Acı kavun tohumu küspesi	0-20 dk 300W, 375W, 450W	2.5-12.5 w/v	Naik vd., (2022)
Su ve yağ bağlama kapasitesi	Bira endüstrisi atığı	250W, 20dk	SBK:4.51±0.23 g/g YBK:3.10±0.10 g/g	Li vd. (2021)

EAI: emülsiyon aktivite indeksi, ES: emülsiyon stabilitesi, ESI: emülsiyon stabilite indeksi, KK: köpük kapasitesi, KS: köpük stabilitesi, SBK: su bağlama kapasitesi, YBK: yağ bağlama kapasitesi

### Çözünürlük

Yeni protein bileşenlerinin geliştirilmesi süreçlerinde proteinlerin çözünürlüğü su bağlama kapasitesi, emülsiyon ve köpük oluşturma aktiviteleri gibi diğer fonksiyonel özellikleri direkt olarak etkilediği için ayrı bir önem arz etmektedir (Lam vd., 2018). Çözünürlük, bir protein molekülünün belirli bir çözelti içerisinde karakteristik bir çözünme yeteneğine sahip olmasını ifade etmektedir. Proteinlerin çözünürlüğü, içerisinde bulunan hidrofilik ve hidrofobik aminoasit bileşimi, pH, iyonik kuvvet ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir. Hidrofobik aminoasit bileşimi fazla olan proteinler çökelti oluşturma ve toplanma eğiliminde olmalarından dolayı daha az çözünmektedirler. Proteinin uygun çözünme ortamının belirlenmesi, çevresel koşulların ayarlanması, ekstraksiyon yöntemi ve parametrelerinin seçilmesi çözünürlük özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir (Alsalman vd., 2020; Jahan vd., 2022; Lu vd., 2020). Yüksek yoğunluklu ultrases prosenin çeşitli kaynaklardan elde edilen proteinlerin fonksiyonelliğini modifiye ettiği yönündeki çalışmalar hız kazanmıştır. Ultrases prosenin proteinlerin çözünürlüğü üzerine etkisi genel olarak; (i) akustik kaviteasyonun hidrojen bağlarını ve hidrofobik etkileşimleri kırarak aminoasit kalıntılarının hidrofilik gruplarını açığa çıkarması, (ii) proteinlerin partikül boyutunu küçülterek su ile temas edecek olan yüzey alanını arttırmaları, (iii) büyük protein agregatlarını daha küçük agregatlara dönüştürmeleri ile ilişkilendirilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021; Tang vd., 2021; Gao vd., 2022). Kaviteasyon, hidrojen ve hidrofobik bağları kırarak protein molekül ağırlığının azalmasına ve protein ile su molekülleri arasındaki etkileşimin artmasına neden olmaktadır (Resendiz-Vazquez, vd., 2017).

Bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin çözünürlük özelliğine ait bazı örnekler Çizelge 2'de gösterilmektedir. Dabbour vd. (2018) ayçiçeği kuspesinden ultrases destekli ekstraksiyonla protein elde ettikleri çalışmalarında optimum USDE koşullarını 45°C sıcaklık, 220 W güç 15 dakika süre olarak belirlenmiştir. Bu

çalışmadan elde edilen sonuçlara göre, pH 5'te protein çözünürlüğünün %0.39'la en düşük olduğunu pH 9'da ise çözünürlüğün %74.59 değeriyle en yüksek sonucu verdiği tespit edilmiştir. pH değeri proteinin izoelektrik noktasına yaklaştıkça proteinlerin çözünürlüğü azaldığı için pH 6.5 değerinin üzerindeyken protein çözünürlüğünün %70'ten büyük olduğu ifade edilmiştir. Bir başka çalışmada ise, soğuk preslenmiş domates çekirdeği atıklarından ultrases destekli ekstraksiyon (210 W, 60 dk) ile üretilen protein izolatının çözünürlüğünün izoelektrik noktada (pH 4) en düşük (%5.26) pH 10'un üzerinde ise %20'den daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ultrases yoğunluğu ve katı/sıvı oranı arttıkça verimliliğin arttığı ve ortaya çıkan hidrofobik grupların etkisiyle proteinlerin çözünürlük değerlerinin yükseldiği görülmüştür (Özyurt vd., 2021). Gao vd. (2022) çalışmalarında ultrases prosenin bitkisel proteinlerin çözünürlüğü artırma mekanizmalarını kapsamlı bir şekilde çalışmış ve artan protein çözünürlüğünü proteinlerin sekonder ve tersiyerler yapılarında değişim olması, ekstraksiyon sırasında ortama geçen diyet lifi gibi diğer bileşenlerin proteinlerle etkileşimi ve eş zamanlı çözünürlük sağlama, çözünmeyen partikülleri çözünebilir küçük formdaki agregat durumuna getirmesi ile açıklamışlardır. Çözünebilir agregat ve protein-diyet lifi kompleksinin oluşumunda hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerin etkin olduğunu göstermişlerdir (Gao vd., 2022).

### Emülsiyon aktivitesi

Emülsiyon, yağ ve su fazı gibi birbiri içerisinde çözünmeyen iki farklı sıvı karışımı olarak ifade edilmektedir. Proteinler ise amfifilik doğaları gereğince (hem hidrofilik hem de hidrofobik yapıları sayesinde) emülsiyondaki yağ-su ara yüzeyinde adsorbe olarak ve yağ damlacıklarını kaplamakta ve dağılımlarını stabilize ederek emülsifikasyonu sağlayabilmektedirler (Aryee vd., 2018). Proteinlerin emülsiyon oluşturma ve stabilize etme özelliklerini ölçmek için emülsiyon aktivite indeksi (EAİ) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) olmak üzere iki parametre kullanılmaktadır (Day vd., 2022). EAİ birim protein başına emülsifiye edilebilecek yağ

miktarının bir ölçüsüdür. Emülsiyon stabilite indeksi (ESİ) ise, bir proteinin birim zaman içerisinde emülsiyon aktivitesini koruma yeteneğidir. EAI ve ESİ aşağıdaki formüller ile hesaplanmaktadır (Pearce ve Kinsella, 1978).

$$EAI \left( \frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times SF}{C \times \Phi \times \theta \times 10000} \quad (4)$$

$$ESİ \text{ (min)} = \frac{A_0}{A_0 - A_t} \times \Delta t \quad (5)$$

Burada SF: seyreltme faktörünü, C: Başlangıç protein konsantrasyonunu (g/mL),  $\Phi$ : ışık yolunu (1 cm),  $\theta$ : emülsiyon oluşturmada kullanılan yağın fraksiyonunu,  $A_0$ : t= 0 anındaki absorbansı ve  $A_t$  ise t süre sonundaki absorbansı ifade etmektedir.

Bir proteinin emülsiyon oluşturma aktivitesi ve stabilize etme yeteneği emülsiyon kapasitesi olarak adlandırılmaktadır. Emülsiyon kapasitesi protein yapısı, bileşimi, iyonik güç, pH, protein konsantrasyonu ve proses koşullarından olumlu ya da olumsuz şekilde etkilenmektedir. Bitkisel atık ve yan ürünlerden ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin emülsiyon oluşturma aktivitesi ve stabilitesine ait bazı örnekler Çizelge 2'de gösterilmektedir. Bira endüstrisinin tahıl atığı için uygulanan USDE işleminin (220 W, %60 genlik ve 20 dk) proteinin emülsifiye edici özelliklerini arttırdığı gözlenmiştir. Emülsiyon aktivitesi, geleneksel ekstraksiyon uygulanmış tahıl atığında  $38.69 \pm 0.45$  m<sup>2</sup>/g değerindeyken USDE uygulanmış tahıl atığında bu değer  $40.44 \pm 1.68$  m<sup>2</sup>/g değerinde bulunmuştur. Emülsiyon stabilitesi ise aynı şartlarda ekstraksiyon yapıldığında geleneksel ekstraksiyon uygulanan tahıl atığının değeri  $\%65.55 \pm 1.01$  düzeyindeyken USDE uygulamasından sonra  $\%29$ 'a yakın bir artışla  $\%84.40 \pm 0.59$  değerine ulaşmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyonun incelenen tahıl atığının hem emülsiyon aktivitesinde hem de emülsiyon stabilitesinde olumlu bir artış sağladığı gözlemlenmiştir (Li vd., 2021). Kaktüs bitkisinin tohumundan ultrases ekstraksiyonuyla elde edilen proteinlerin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini inceleyen başka bir çalışmada ise ultrases yoğunluğundaki artışın emülsiyon aktivitesini ve stabilitesini arttırdığı görülmüştür. Kontrol grubunda sırasıyla EAI ve ESİ değeri sırasıyla  $20.32 \pm 1.1$  m<sup>2</sup>/g ve

$30.35 \pm 5.21$  dk olarak belirlenirken gücün 150 W düzeyinden 600 W düzeyine artırılmasıyla EAI değerinin  $26.37 \pm 2.31$ 'den  $41.58 \pm 1.19$  m<sup>2</sup>/g seviyesine; ESİ değerinin ise yaklaşık 41 dk'dan 68 dk'ya yükseldiği belirlenmiştir (Li vd., 2023). Emülsifikasyon içecek, dondurma, sos ve çırpılmış ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir özellik olup ultrases prosesiyle emülsifikasyon özelliği iyileştirilmiş protein üretimi bitkisel proteinlerin farklı ürün kategorilerinde kullanım olanaklarını artırma potansiyeli taşımaktadır.

### Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi

Proteinlerin köpük oluşturma özellikleri gıda endüstrisinde fırın ürünleri, kremler, alkollü-alkolsüz içecek çeşitlerinde önemli bir etkiye sahiptir. Köpürme özellikleri proteinin yapısı, hidrofobiklik, pH ve iyonik güç ve çözünürlük gibi parametrelere bağlıdır (Sheng vd., 2018). Köpük oluşturma kapasitesi (KK), hava ya da gaz varlığında mekanik bir etki sonucu proteinin film oluşturma yeteneğini göstermektedir. Köpük stabilitesi (KS) zaman içerisinde oluşan köpük miktarının korunma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Bu özelliklerin belirlenmesi için protein solüsyonu bir homojenizatör yardımıyla mekanik olarak karıştırılmakta ve homojenizasyonla oluşan köpük seviyesi ve stabilitesi belirlenmektedir. Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi sırasıyla Eşitlik 6 ve Eşitlik 7 ile hesaplanmaktadır (Karabulut ve Yemiş, 2022).

$$KK(\%) = \frac{V_0 - V}{V} \times 100 \quad (6)$$

$$KS(\%) = \frac{(V_t - V)}{(V_0 - V)} \times 100 \quad (7)$$

Bu eşitliklerde  $V_0$  homojenizasyonun hemen sonrasındaki protein solüsyonunun hacmini,  $V_t$  t süre sonundaki protein solüsyonunun hacmini ve  $V$  ise başlangıçta hazırlanan protein solüsyonunun hacmini ifade etmektedir.

Bitkisel proteinlerin köpük oluşturma özellikleri protein kaynağına, çeşidine, yetiştirilme koşullarına, ekstraksiyon prosesi ve ekstraksiyon sonrasındaki uygulamalara bağlı olarak değişmektedir (Amagliani vd., 2021). Bitkisel atıklardan US ile elde edilen proteinlerin KK ve

KS özellikleriyle ilgili yapılan güncel çalışmalar Çizelge 2'de gösterilmektedir. Pirinç kepeğinden ultrases ekstraksiyonu ile protein elde edilen bir çalışmada KK değeri 200 W ve 20 dakikalık bir ultrases işlemiyle en yüksek seviyesine (%41.3) ulaşırken KS değeri ise 100 W ve 20 dk çalışma koşullarında %88.6 olarak en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Kontrol grubunda ise KK ve KS değerleri sırasıyla %32.5 ve %65.5 olarak bulunmuş olup ultrases destekli ekstraksiyonunun protein izolatının köpürme özellikleri üzerinde olumlu yönde etkilediği gözlemlenmiştir (Sun vd., 2021). Ayçiçeği küspesinden ultrases destekli ekstraksiyonla elde edilen proteinlerin farklı pH (3, 5, 7, 9, 11) seviyelerindeki köpürme özellikleri %19.52 – %41.27 arasında değişmekte olup minimum EA pH 5 değerinde ve maksimum EA ise pH 3 değerinde elde edilmiştir. KS ise pH farklılığından önemli düzeyde etkilenecek 0.41 – 30.75 aralığında değişim göstermiştir. pH 5 seviyesinde KS maksimum iken pH değeri yükseldikçe köpük stabilitesinin azaldığı görülmüştür. Bu durum, izoelektrik noktaya en yakın olan pH değerinde hava-su arayüzüne proteinlerin adsorpsiyonu ve viskoelastikliği ile açıklanmış olup aynı zamanda izoelektrik noktaya yakın olan pH seviyelerindeki düşük yüzey yükü ile ilişkilendirilmiştir (Dabbour vd., 2018). Ultrases dalgalarının protein izolatlarının köpük oluşturma aktivitesi üzerine etkisi sonikasyon sonrasında protein yapısının kısmi olarak açılması hidrofobik bölgelerin açığa çıkması ve oluşan hava-su ara yüzüne proteinlerin adsorbe olmalarıyla ilişkilendirilmekte olup bu şekilde daha viskoelastik filmlerin oluşmasıyla da köpük stabilitesinin geliştiği bildirilmektedir (Xiong vd., 2018)

### Jelleşme

Proteinlerin jel oluşturma özelliği gıdaların dokusal özelliklerinde belirleyici rol oynadığı için gıda endüstrisi için önem arz etmektedir. Proteinlerin jelleşmesi proteinin açılması, ayrışması, birleşmesi ve toplanmasının bir sonucu olarak üç boyutlu, çapraz bağlı bir protein ağına oluşmasıyla gerçekleşmektedir (Bangar vd., 2022). Isı kaynaklı jelleşmede, öncelikle ısıtılmış bir çözücü içerisindeki çözülmüş proteinlerin üç boyutlu yapısının bozulması başlamakta ve

ardından katlanmış yapısı açılan proteinlerin belli bir konsantrasyona ulaştığında büyük yapılar halinde kümeleşmesi meydana gelmektedir (Jahan vd., 2022). Ultrases dalgaları proteinlerin jelleşme özelliğini modifiye edebilmekte; ancak, modifikasyonun seviyesi frekans, güç, ultrases modu, işlem süresi ve ekstraksiyon ortam özelliklerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Proteinlerin ses dalgalarına maruz kalmasıyla katmanlarının açılması ve sıcaklık varlığında denatürasyona kadar varan yapısal değişikliklerin olması söz konusudur. Akustik kavitasyon baloncuklarının çökmesi sonucu bölgesel olarak açığa çıkan yüksek sıcaklıklar da konformasyonel değişikliklere sebep olmaktadır. Bu sebeple, proteinlerin ikincil ve üçüncül yapılarındaki değişiklik jelleşme özelliklerinin değişmesinin ana mekanizması olarak açıklanmaktadır (Bangar vd., 2022). Ultrases dalgalarının etkisi protein katmanlarının açılması ve protein yapısında gömülü olarak bulunan hidrofobik bölgelerin ve fonksiyonel grupların açığa çıkmasıyla moleküler düzeyde yeni hidrofobik ve elektrostatik interaksiyonların görülmesine ve en sonunda üç boyutlu jel ağ yapısının oluşmasıyla ilişkilendirilmiştir (Resendiz-Vazquez vd., 2017). Ultrases prosesi akustik kavitasyon etkisiyle daha iyi hidrodinamik özelliğe sahip sıkı ve yoğun jel oluşumu sağlamaktadır (Téllez-Morales, 2020). Örneğin, 20 kHz frekansta 200 – 600 W güç aralığında 20 dakika süreyle uygulanan ultrases işlemiyle erik çekirdeği protein izolatlarının jel gücünün ultrases uygulanmayan kontrol örneklerle kıyasla %5 – 28 düzeyinde arttığı rapor edilmiştir (Xue vd., 2018). Jel gücündeki değişim protein çözünürlüğünün artması ve partikül boyutunun azalmasıyla ilişkilendirilmekte olup bu durumda daha iyi dayanıklılığa sahip yoğun ve homojen jel ağlarının oluşması söz konusu olabilmektedir. Ultrases işleminin etkisiyle proteinin hidrofobik kısımları açığa çıktığı için jel oluşturma sırasında uygulanan ısıl işlemlerle birlikte protein-protein agregatlarının oluşumu kolaylaşmakta ve daha fazla dayanıklılığa sahip jel ağları oluşabilmektedir (Rahman ve Lamsal, 2021). Bir diğer ifadeyle, çözünürlüğü yüksek daha küçük protein parçacıklarının içindeki hidrofobik etkileşimlerin ve disülfid bağlarının artması jelleşme kuvvetini

iyileştirebilmektedir (Gharibzahedi ve Smith, 2020). Naik vd. (2021) darbeleri ultrasle destekli ekstraksiyon ile acı kavun tohumu küspesinden protein elde ederek fonksiyonel özelliklerini geleneksel ekstraksiyonla karşılaştırmıştır. Darbeleri ultrasle destekli ekstraksiyonda minimum 2.5 w/v konsantrasyonunda güçlü jel oluşumu başlarken geleneksel ekstraksiyonda ise minimum 7.5 w/v konsantrasyonda jel oluşumu başladığı gözlemlendiği için ultrasle dalgalarının protein parçacıklarını etkileyerek jel oluşumunu olumlu yönde etkilediğini ve acı kavun tohumu küspesi protein izolatının jelleştirici madde olarak kullanıma uygun olduğunu bildirmişlerdir.

### Su ve yağ bağlama

Proteinlerin su bağlama kapasitesi (SBK) ve yağ bağlama kapasitesi (YBK) proteinlerin sırasıyla birim başına ne kadar su ve yağ tutabileceklerinin bir ölçütüdür. Bu özellikler farklı gıda ürünlerinde sululuk, pişirilebilirlik, tekstür, sineresis ve hidrasyon gibi özellikleri etkilemektedir. SBK ve YBK'nın belirlenmesi için protein kütlesinin damıtılmış su veya bitkisel yağ içinde dağıtılması, kuvvetli bir şekilde karıştırılması, karışımın santrifüjlenmesi ve fazla su ve yağın ayrılması aşamaları takip edilmektedir. Santrifüjlemeden önce ve sonra numunenin kütlesindeki fark, proteinin ne kadar su veya yağ tutabileceğini belirlemek için kullanılmakta ve sonuçlar g su/g protein veya g yağ/g protein olarak ifade edilmektedir (Ma vd., 2022). Ultrasle prosesinin artan güç ve uygulama süresiyle proteinlerin SBK değerini azalttığı yönünde bulgular elde edilmiştir. Örneğin; USDE işleminin bira tahıl atığının proteinleri için 150 – 300 W güç ile 5 – 25 dk arasında değişen uygulama koşullarında güç seviyesi arttıkça ve uygulama süresi uzadıkça proteinlerin su bağlama özelliklerinde azalmalar görüldüğü rapor edilmiş olup bu bulgu ultrasle birlikte proteinin polipeptit katlarının açılarak hidrofobik bölgelerinin açığa çıkması ve hidrofilik etkileşimlerin azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Li vd., 2021). Bir başka çalışmada ise, ayçiçek proteininin SBK seviyesi 1.40 – 1.52 g su/ g protein olarak bildirilirken (Malik ve Saini, 2017), ayçiçeği küspesinden ultrasle elde edilen proteinlerin SBK değerinin daha düşük olduğu gözlemlenmiştir (0.985 g su/g protein) (Dabbour

vd., 2018) (Çizelge 2). Bu durum ultrasle proteinlerin partikül boyutunun küçülmesi, çözünürlüğünün artması ve SBK testi sırasında daha kolay çözünmesi ve dolayısıyla da daha düşük SBK değerlerinin belirlenmesiyle açıklanmıştır (Dabbour vd., 2018). Su bağlama bir proteinin suyu emme ve tutma yeteneğini göstermektedir. SBK protein yapısı, yük dağılımı, hidrofilik ve hidrofobik bölgelerin varlığı gibi faktörlere bağlı olarak değişmektedir. Yüksek su bağlama kapasitesine sahip proteinler nemi tutarak gıda ürünlerinde sululuk ve hidrasyona katkıda bulunabilmektedir. Yağ bağlama ise bir proteinin yağı emme ve tutma yeteneği olup benzer şekilde protein yapısından ve açıkta kalan hidrofobik bölgelerin varlığından etkilenmektedir (Feyzi vd., 2015; Yılmaz ve Hüriyet, 2017). SBK özelliğinin aksine ultrasle küçülen partikül boyutları proteinlerin yüzey alanının artmasından dolayı yağ fazı ile etkileşime girme olasılığını yükseltmekte ve böylece proteinlerin yağ bağlama özellikleri gelişebilmektedir (Liu vd., 2019). Bira endüstrisinin tahıl atığı proteinlerinin yağ bağlama kapasitesi geleneksel ekstraksiyonla 2.85 g/g seviyesindeyken USDE işlemleriyle 3.10 g/g seviyesine yükselmiş olup bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Li vd., 2021). Yağ bağlama özelliğinde lipitler ve proteinler etkileşime girdiği için hidrofobik özelliği daha yoğun olan proteinlerin YBK daha yüksek olmaktadır. Hedeflenen ürün grubuna ve amaca uygun olacak şekilde optimal USDE koşullarının belirlenmesi gerekmektedir.

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu derleme, ultrasle teknolojiyle bitkisel atık ve yan ürünlerden protein elde edilmesi ve ultrasle destekli ekstraksiyonla proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin modifikasyonu üzerine yapılan güncel çalışmaları kapsamaktadır. Protein içeriği yüksek olan tarımsal ve endüstriyel atık ve yan ürünlerin değerlendirilerek döngüsel ekonomi çerçevesinde yeniden ekonomiye kazandırılması hayvansal proteinlere alternatif protein geliştirme ve yeni gıda katkı maddeleri üretme stratejilerine önemli düzeyde katkı sunacak niteliktedir. Bu kaynaklardaki lignoselülozik matriks yapısı dokuda bulunan proteinlerin ekstrakte edilebilirliğini sınırlayabildiği için ultrasle gibi bitki

dokusuna etki edebilecek yeni yöntemlerle daha kısa sürede daha yüksek verimde protein eldesi söz konusu olabilmektedir. Uygun optimizasyon ve validasyon çalışmalarıyla yüksek yoğunluklu ultrases prosesinin ekstraksiyon süreçlerine entegrasyonunun yapılması eş zamanlı olarak çözünürlük, emülsiyon oluşturma, köpük oluşturma, su/yağ bağlama, jelleşme gibi fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesine ve farklı gıda sistemleri için yeni protein bazlı gıda katkı maddelerinin üretilmesine yön verebilecektir.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu makalede yazarların, başka kişiler veya kurumlar ile çıkar çatışması bulunmamaktadır.

### YAZAR KATKILARI

Tüm yazarlar makalenin yazımına katkıda bulunmuş, son halini okuyarak onaylamıştır.

### KAYNAKÇA

- 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.
- Alsaman, F.B., Tulbek, M., Nickerson, M., Ramaswamy, H.S. (2020). Evaluation and optimization of functional and antinutritional properties of aquafaba. *Legume Science*, 2(2): e30.
- Amagliani, L., Silva, J. V., Saffon, M., Dombrowski, J. (2021). On the foaming properties of plant proteins: Current status and future opportunities. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 261-272.
- Ampofo, J., Ngadi, M. (2022). Ultrasound-assisted processing: Science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955.
- Aryee, A.N.A., Agyei, D., Udenigwe, C.C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In: *Proteins in Food Processing*, Rickey Y. Yada (ed.), 2<sup>nd</sup> edition. Woodhead Publishing, pp. 27-45.
- Bangar, S.P., Esua, O.J., Sharma, N., Thirumdas, R. (2022). Ultrasound-assisted modification of

gelation properties of proteins: A review. *Journal of Texture Studies*, 53(6), 763-774.

Barbosa-Cánovas, G.V., Donsi, F., Yildiz, S., Candoğan, K., Pokhrel, P.R., Guadarrama-Lezama, A.Y. (2022). Nonthermal processing technologies for stabilization and enhancement of bioactive compounds in foods. *Food Engineering Reviews*, 1-37.

Bernardi, S., Lupatini-Menegotto, A.L., Kalschne, D.L., Moraes Flores, É.L., Bittencourt, P.R.S., Colla, E., Canan, C. (2021). Ultrasound: A suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76, 1-11.

Bhargava, N., Mor, R.S., Kumar, K., Sharanagat, V.S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105293.

Burd, N.A., McKenna, C.F., Salvador, A.F., Paulussen, K.J., Moore, D.R. (2019). Dietary protein quantity, quality, and exercise are key to healthy living: a muscle-centric perspective across the lifespan. *Frontiers in Nutrition*, 83.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.

Chittapalo, T., Noomhorm, A. (2009). Ultrasonic assisted alkali extraction of protein from defatted rice bran and properties of the protein concentrates. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(9), 1843-1849.

Cui, L., Bandillo, N., Wang, Y., Ohm, J. B., Chen, B., Rao, J. (2020). Functionality and structure of yellow pea protein isolate as affected by cultivars and extraction pH. *Food Hydrocolloids*, 108, 106008.

Dabbour, M., He, R., Ma, H., Musa, A. (2018). Optimization of ultrasound assisted extraction of protein from sunflower meal and its physicochemical and functional



- properties. *Journal of Food Process Engineering*, 41(5), e12799.
- 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.
- Demirdöven, A. Baysal, T. (2020). Ultrases. *Gıda Mübendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler*, Baysal, T. ve İçier, F. (eds.), Nobel Akademik Yayıncılık Eğitim Danışmanlık Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2. Baskı, s. 197-218.
- Fărcaș, A.C., Socaci, S.A., Nemeș, S.A., Salanță, L.C., Chiș, M.S., Pop, C.R., Borșa, A., Diaconeasa, Z., Vodnar, D.C. (2022). Cereal Waste Valorization through Conventional and Current Extraction Techniques—An Up-to-Date Overview. *Foods*, 11(16), 2454.
- Feyzi, S., Varidi, M., Zare, F., Varidi, M.J. (2015). Fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed protein isolate: extraction optimization, amino acid composition, thermo and functional properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(15), 3165-3176.
- Gao, K., Rao, J., Chen, B. (2022). Unraveling the mechanism by which high intensity ultrasound improves the solubility of commercial pea protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 131, 107823.
- 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.
- Golly, M.K., Ma, H., Yuqing, D., Dandan, L., Quaisie, J., Tuli, J.A., Mintah, B.K., Dzah, C.S. Agordoh, P.D. (2020). Effect of multi-frequency countercurrent ultrasound treatment on extraction optimization, functional and structural properties of protein isolates from walnut (*Juglans regia* L.) meal. *Journal of Food Biochemistry*, 44(6), e13210.
- 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.
- Hermundsdottir, F., Aspelund, A. (2021). Sustainability innovations and firm competitiveness: A review. *Journal of Cleaner Production*, 280, 124715.
- Jahan, K., Ashfaq, A., Younis, K., Yousuf, O., Islam, R.U. (2022). A review of the effects of ultrasound-assisted extraction factors on plant protein yield and functional properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2875-2883.
- Kamal, H., Ali, A., Manickam, S., Le, C.F. (2023). Impact of cavitation on the structure and functional quality of extracted protein from food sources—An overview. *Food Chemistry*, 407, 135071.
- Kamal, H., Le, C.F., Salter, A.M., Ali, A. (2021). Extraction of protein from food waste: An overview of current status and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(3), 2455-2475.
- Karabulut, G., Yemiş, O. (2022). Modification of hemp seed protein isolate (*Cannabis sativa* L.) by high-intensity ultrasound treatment. Part 1: Functional properties. *Food Chemistry*, 375, 131843.
- Karabulut, G., Yıldız, S., Karaca, A.C., Yemiş, O. (2023). Ultrasound and enzyme-pretreated extraction for the valorization of pea pod proteins. *Journal of Food Process Engineering*, e14452.
- Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., ... Kennedy, J.F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, 115, 106595.
- Lam, A.C.Y., Can Karaca, A., Tyler, R.T., Nickerson, M.T. (2018). Pea protein isolates: Structure, extraction, and functionality. *Food Reviews International*, 34(2), 126-147.
- Li, X., Qi, B., Zhang, S., Li, Y. (2023). Effects of ultrasonic treatment on the structural and functional properties of cactus (*Opuntia ficus-indica*) seed protein. *Ultrasonics Sonochemistry*, 106465.
- Li, W., Yang, H., Coldea, T. E., Zhao, H. (2021). Modification of structural and functional

- characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. *LWT*, 139, 110582
- Liu, Y., Ma, X. Y., Liu, L. N., Xie, Y. P., Ke, Y. J., Cai, Z. J., Wu, G.J. (2019). Ultrasonic-assisted extraction and functional properties of wampee seed protein. *Food Science and Technology*, 39, 324-331.
- Loveday, S.M. (2019). Food proteins: technological, nutritional, and sustainability attributes of traditional and emerging proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10, 311-339.
- Lu, Z.X., He, J.F., Zhang, Y.C., Bing, D.J. (2020). Composition, physicochemical properties of pea protein and its application in functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2593-2605.
- Ly, H.L., Tran, T.M.C., Tran, T.T.T., Ton, N.M.N., Le, V.V.M. (2018). Application of ultrasound to protein extraction from defatted rice bran. *International Food Research Journal*, 25(2), 695-701.
- Ma, K.K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A.A., McClements, D.J., Kinchla, A.J. (2022). Functional performance of plant proteins. *Foods*, 11(4), 594.
- Malik, M.A., Saini, C.S. (2017). Gamma irradiation of alkali extracted protein isolate from dephenolized sunflower meal. *LWT*, 84, 204-211.
- McClements, D.J. (2020). Future foods: Is it possible to design a healthier and more sustainable food supply?. *Nutrition Bulletin*, 45(3), 341-354.
- Mellinas, C., Solaberrieta, I., Pelegrín, C.J., Jiménez, A., Garrigós, M.C. (2022). Valorization of Agro-Industrial Wastes by Ultrasound-Assisted Extraction as a Source of Proteins, Antioxidants and Cutin: A Cascade Approach. *Antioxidants*, 11(9), 1739.
- Naik, M., Natarajan, V., Modupalli, N., Thangaraj, S., Rawson, A. (2022). Pulsed ultrasound assisted extraction of protein from defatted Bitter melon seeds (*Momordica charantia* L.) meal: Kinetics and quality measurements. *LWT*, 155, 112997.
- Namugenyi, C., Nimmagadda, S.L., Reiners, T. (2019). Design of a SWOT analysis model and its evaluation in diverse digital business ecosystem contexts. *Procedia Computer Science*, 159, 1145-1154.
- Nguyen, T.H., Le, V.V.M. (2019). Effects of technological parameters of ultrasonic treatment on the protein extraction yield from defatted peanut meal. *International Food Research Journal*, 26(3), 1079-1085.
- Ochoa-Rivas, A., Nava-Valdez, Y., Serna-Saldívar, S.O., Chuck-Hernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolates. *Food and Bioprocess Technology*, 10, 543-555.
- Osborne TB. (1908). Our present knowledge of plant proteins. *Science* 28:417-427
- Özkan, G., Subaşı, B.G., Beştepe, S.K., Güven, E.Ç. (2022). Sürdürülebilir Gıda ve Tarımsal Atık Yönetimi. *Çevre İklim ve Sürdürülebilirlik*, 23(2), 145-160.
- Özyurt, V.H., Tetik, I., Ötleş, S. (2021). Influence of process conditions on ultrasound-assisted protein extraction from cold pressed tomato seed waste. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(12), e16079.
- Panda, D., Manickam, S. (2019). Cavitation technology—The future of greener extraction method: A review on the extraction of natural products and process intensification mechanism and perspectives. *Applied Sciences*, 9(4), 766.
- Pearce, K.N., Kinsella, J.E. (1978). Emulsifying properties of proteins: evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723.
- Qiaoyun, C., Xinghong, N.I., Liang, Z., Zheng, T., Jin, L., Kang, S., Xuan, C., Xinghui, L. (2017). Optimization of protein extraction and decoloration conditions for tea residues. *Horticultural Plant Journal*, 3(4), 172-176.
- Qiu, M., Wang, N., Pend, J., Li, Y., Li, L., Xie, X. (2023). Ultrasound-assisted reverse micelle extraction and characterization of tea protein

- from tea residue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 103(8), 4068-4076.
- Rahman, M.M., Byanju, B., Grewell, D., Lamsal, B.P. (2020). High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure. *Ultrasonics Sonochemistry*, 64, 105019.
- Rahman, M.M., Lamsal, B.P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1457-1480.
- Resendiz-Vazquez, J.A., Ulloa, J.A., Urías-Silvas, J.E., Bautista-Rosales, P.U., Ramírez-Ramírez, J.C., Rosas-Ulloa, P., González-Torres, L. (2017). Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed protein isolate. *Ultrasonic Sonochemistry*. 37, 436-444.
- Sari, Y.W., Bruins, M.E., Sanders, J.P. (2013). Enzyme assisted protein extraction from rapeseed, soybean, and microalgae meals. *Industrial Crops and Products*, 43, 78-83.
- Sari, Y.W., Mulder, W.J., Sanders, J.P., Bruins, M.E. (2015). Towards plant protein refinery: review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance. *Biotechnology Journal*, 10(8), 1138-1157.
- Sheng, L., Wang, Y., Chen, J., Zou, J., Wang, Q., Ma, M. (2018). Influence of high-intensity ultrasound on foaming and structural properties of egg white. *Food Research International*, 108, 604-610.
- Soto-Sierra, L., Stoykova, P., Nikolov, Z. L. (2018). Extraction and fractionation of microalgae-based protein products. *Algal Research*, 36, 175-192.
- Sun, L.H., Yu, F., Wang, Y.Y., Lv, S.W., He, L.Y. (2021). Effects of ultrasound extraction on the physicochemical and emulsifying properties of rice bran protein. *International Journal of Food Engineering*, 17(5), 327-335.
- Tang, S.Q., Du, Q.H., Fu, Z. (2021). Ultrasonic treatment on physicochemical properties of water-soluble protein from *Moringa oleifera* seed. *Ultrasonics Sonochemistry*, 71, 105357.
- Tanger, C., Engel, J., Kulozik, U. (2020). Influence of extraction conditions on the conformational alteration of pea protein extracted from pea flour. *Food Hydrocolloids*, 107, 105949.
- Téllez-Morales, J. A., Hernández-Santo, B., Rodríguez-Miranda, J. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104787.
- Tiwari, A., Khawas, R. (2021). Food waste and agro by-products: A step towards food sustainability. In: *Innovation in the food sector through the valorization of food and agro-food by-products*, Ana Novo de Barros and Irene Gouvinhas (eds), IntechOpen. DOI: 10.5772/intechopen.96177
- Tiwari, B.K., Mason, T.J. (2012). Ultrasound processing of fluid foods. In: *Novel thermal and non-thermal technologies for fluid foods*, Academic Press, pp. 135-165.
- Tripathi, A.D., Mishra, R., Maurya, K.K., Singh, R.B., Wilson, D.W. (2019). Estimates for world population and global food availability for global health. In: *The role of functional food security in global health*, Academic Press, pp. 3-24.
- TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu), (2021). Atık İstatistikleri, 2020. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Atik%20İstatistikleri-2020-37198>. (Erişim tarihi: 27.03.2023).
- United Nations (2015). United Nations - The Millennium Development Goals Report. [https://www.un.org/millenniumgoals/2015\\_MDG\\_Report/pdf/MDG%202015%20rev%20\(July%201\).pdf](https://www.un.org/millenniumgoals/2015_MDG_Report/pdf/MDG%202015%20rev%20(July%201).pdf). Erişim Tarihi: 01.08.2023
- Van Dijk, M., Morley, T., Rau, M. L., Saghai, Y. (2021). A meta-analysis of projected global food demand and population at risk of hunger for the period 2010–2050. *Nature Food*, 2(7), 494-501.
- Wang, F., Zhang, Y., Xu, L., Ma, H. (2020). An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities. *LWT*, 127, 109348.

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.

Xue, F., Zhu, C., Liu, F., Wang, S., Liu, H., Li, C. (2018). Effects of high-intensity ultrasound treatment on functional properties of plum (*Pruni domesticae* semen) seed protein isolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(15), 5690-5699.

Yagoub, A.A., Ma, M., Zhou, C. (2017). Ultrasonic-assisted extraction of protein from rapeseed (*Brassica napus* L.) meal: Optimization

of extraction conditions and structural characteristics of the protein. *International Food Research Journal*, 24(2), 621.

Yao, Y., Pan, Y., Liu, S. (2020). Power ultrasound and its applications: A state-of-the-art review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 62, 104722.

Yılmaz, E., Hürriyet, Z. (2017). Physico-chemical and functional properties of extracted capia pepperseed (*Capsicum annum* L.) proteins. *Waste and Biomass Valorization*, 8, 871-881.