T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK PRES ACI BİBER TOHUMU YAĞI YAN ÜRÜNÜNDEN GERİ KAZANILAN HAM LİF, BİTKİSEL PROTEİN VE PROTEİN HİDROLİZATLARININ TEKNOLOJİK VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Esra AVCI

DOKTORA TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Doç. Dr. Salih KARASU

Temmuz, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SOĞUK PRES ACI BİBER TOHUMU YAĞI YAN ÜRÜNÜNDEN GERİ KAZANILAN HAM LİF, BİTKİSEL PROTEİN VE PROTEİN HİDROLİZATLARININ TEKNOLOJİK VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Esra AVCI tarafından hazırlanan tez çalışması 03.07.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Gıda Mühendisliği Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Salih KARASU
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Salih KARASU, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Enes DERTLİ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Kevser KARAMAN, Üye
Erciyes Üniversitesi _____

Dr. Öğr. Üyesi Azize ATİK, Üye
Afyon Kocatepe Üniversitesi _____

Danışmanım Doç. Dr. Salih KARASU sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "SOĞUK PRES ACI BİBER TOHUMU YAĞI YAN ÜRÜNÜNDEN GERİ KAZANILAN HAM LİF, BİTKİSEL PROTEİN VE PROTEİN HİDROLİZATLARININ TEKNOLOJİK VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Esra AVCI

İmza

Canım Aileme

TEŞEKKÜR

Bilim esas alınarak gıda endüstirisi yan ürünlerinin geri kazanılması ve yüksek katma değerli ürünlere dönüşmesini umduğum bu tezin yolculuğunda desteği, duası ve motivasyon kaynağı olan çok güzel insanlar var. Hepsine gönülden minnettarlığımı bu satırla dile getirmek isterim.

Lisansüstü süresi boyunca her türlü yanımda olan çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Salih KARASU başta olmak üzere kıymetli tecrübe ve desteğiyle saygıdeğer Prof. Dr. Osman SAĞDIÇ'a, tez izleme komitesinde yer alan ve yönlendirmeleri ile süreci tamamlama vesile olan kıymetli Prof. Dr. Enes DERTLİ ve Doç. Dr. Kevser KARAMAN'a,

Emek verdiğim pek çok çalışmada bana yol gösteren, destek olan, düştüğümde elimden tutup kaldıran sevgili arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Zeynep Hazal TEKİN ÇAKMAK'a,

Tez süresi boyunca bilgi birikimi ve tecrübesi ile bana eşlik eden, güler yüzünü hiç esirgemeyen Arş. Gör. Hatice BEKİROĞLU'na,

Çalışmalarım boyunca yardımlarından ötürü Dr. Öğr. Üyesi Fatih BOZKURT'a, Arş. Gör. Muhammet Özgölet'e, Arş. Gör. Duygu ÖZMEN'e ve YTÜ Gıda Mühendisliği bölümüne,

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, her daim yanımda olan sevgi ve güven ile bugünlere gelmemi sağlayan canım aileme,

Gönülden, samimi ve minnet dolu teşekkürlerimi sunuyorum.

Esra AVCI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR iv
SİMGE LİSTESİ vii
KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ x
ÖZET xi
ABSTRACT xiii
1 GİRİŞ 15
1.1 Literatür Özeti 18
1.1.1 Acı Biber Tohumu ve Yağı 18
1.1.2 Soğuk Pres Yağ Yan Ürünleri 20
1.1.3 Alternatif Protein ve Lif Kaynakları 24
1.1.4 Protein Hidrolizi 27
1.1.5 Hidrolizatların Teknolojik Ve Biyoaktif Özellikleri 30
1.2 Tezin Amacı 33
1.3 Hipotez 34
2 MATERYAL VE YÖNTEMLER 35
2.1 Materyal 35
2.2 Yöntemler 36
2.2.1 Yan Ürünün Karakterizasyonu 36
2.2.2 HPOB'nin Salata Sosunda Kullanımı 40
2.2.3 Salata Sosunun Analizleri 42
2.2.4 Protein ve Lif İzolasyonu 47
2.2.5 Proteinlerin Enzimatik Hidrolizi 50
2.2.6 % Hidroliz Derecesinin Belirlenmesi 50
2.2.7 Protein/Hidrolizat ve Lif Analizleri 51
2.2.8 HPOB Protein ve Lif İlaveli Salata Sosu 57
2.2.9 İstatistiksel Analiz 57
3 ARAŞTIRMA BULGULARI 59
3.1 Soğuk Pres Acı Biber Yağ Yan Ürün Karakterizasyonu 59
3.2 HPOB Salata Sosu Analizleri 62
3.2.1 Akış Davranış Reolojik Analizler 62

3.2.2 Dinamik Reolojik Analizler 66
3.2.3 3-ITT Reolojik Analizler 66
3.2.4 Emülsiyon Stabilitesi 67
3.2.5 Zeta (ζ) Potansiyeli, Parçacık Boyutu ve Optik Mikroskop Görüntüleri 69
3.2.6 Oksidatif Stabilite ve Uçucu Bileşimi 71
3.2.7 Duyusal Analiz 73
3.3 HPOB Protein ve Hidrolizat Analizleri 74
3.3.1 Ultrases Koşullarının HPOB Protein Ekstraksiyonu Üzerine Etkisi 74
3.3.2 HPOB Proteinin Hidroliz Derecesi 79
3.3.3 Çözünürlülük 81
3.3.4 Yağ Bağlama Kapasitesi 82
3.3.5 Su Tutma Kapasitesi 85
3.3.6 Emülsiyon Aktivite ve Stabilitesi 86
3.3.7 Zeta Potansiyeli 88
3.3.8 Köpükleştirici Etki 89
3.3.9 SDS-Page 91
3.3.10 Kimyasal Karakterizasyon 93
3.3.11 Antioksidan Aktivite 95
3.4 HPOB Ham Lif Analizleri 97
3.4.1 HPOB Ham Lif Karakterizasyonu 97
3.4.2 Termal Davranış 99
3.4.3 Kimyasal Karakterizasyon 100
3.5 HPOB Protein ve Lif İlaveli Salata Sosu Analizleri 101
3.5.1 Akış Davranış Reolojik Analiz 101
3.5.2 Dinamik Reolojik Analiz 103
3.5.3 3-ITT Reolojik Analiz 105
3.5.4 Emülsiyon Stabilitesi 107
3.5.5 Zeta Potansiyeli, Parçacık Boyutu ve Optik Mikroskop Görüntüleri 109
3.5.6 Oksidatif Stabilite 112
4 SONUÇ **113**
KAYNAKÇA **116**
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR **135**

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat Derece
K	Kıvam Katsayısı
G_e	Son Depolama Modülü
n	Akış Davranış İndeksi
Hz	Hertz
G_0	İlk Depolama Modülü
G''	Kayıp Modülü
G'	Depolama Modülü
μm	Mikrometre
d_{32}	Damlacık Boyutu
Pa	Pascal
R^2	Regresyon Katsayısı
γ	Kayma Hızı
ζ-potential	Zeta Potansiyel
τ	Kayma Gerilimi
ω	Açısal Hız
J	Joule
W	Watt
s	saniye
T_0	Başlangıç Sıcaklığı
V	Hacim
kV	Kilovat
N	Normalite

KISALTMA LİSTESİ

DF	Diyet Lifi
EAI	Emülsiyon Aktivitesi Indeksi
ESI	Emülsiyon Stabilite Indeksi
HPOB	Acı Biber Yağı Yan Ürünü
KK	Köpük Kapasitesi
KS	Köpük Stabilitesi
STK	Su Tutma Kapasitesi
YBK	Yağ Bağlama Kapasitesi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Ultrases destekli ekstraksiyonda kavitasyon olgusu (Siddiqui vd.,2023) 26
Şekil 1.2 Enzimatik hidroliz olayı (Wouters vd., 2016) 30
Şekil 2.1 HPOB (Acı biber yağı yan ürünü) 35
Şekil 2.2 Elde edilen salata sosu görselleri 41
Şekil 2.3 HPOB izoelektronik nokta belirleme 48
Şekil 2.4 HPOB protein ve ham lif üretimi 49
Şekil 2.5 Elde edilen protein ve protein hidrolizatları 50
Şekil 3.1 Reolojik grafikler 64
Şekil 3.2 Emülsiyon stabilite grafiği 68
Şekil 3.3 Optik mikroskop görüntüleri 70
Şekil 3.4 Farklı ultrases koşullardaki protein izolatları 75
Şekil 3.5 Maksimum çözünür protein grafiği 77
Şekil 3.6 Zamana bağlı hidroliz derecesi 79
Şekil 3.7 Yağ bağlama kapasitesi (YBK) 83
Şekil 3.8 Su tutma kapasitesi (STK) 85
Şekil 3.9 Protein ve hidrolizatların SDS PAGE görüntüleri 92
Şekil 3.10 Protein ve hidrolizatların FTIR spektrumları 93
Şekil 3.11 HPOB ham lifin termal davranışı 100
Şekil 3.12 HPOB ham lifin FTIR spektrumları 101
Şekil 3.13 Akış davranış grafiği 102
Şekil 3.14 Dinamik reolojik davranışı grafiği 105
Şekil 3.15 Tiksotropik davranış grafiği 106
Şekil 3.16 Emülsiyon stabilitesi grafiği 108
Şekil 3.17 Optik mikroskop görüntüleri 110

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 Soğuk pres yağ yan ürünleri ilgili literatür özeti 22
Tablo 2.1 Salata sosu formülasyonu 41
Tablo 2.2 Deneysel tasarım matrisi 47
Tablo 2.3 HPOB protein ve ham lif ilaveli salata sosu formülasyonu 57
Tablo 3.1 HPOB Karakterizasyonu 60
Tablo 3.2 HPOB yağ asit ve fenolik profili 61
Tablo 3.3 Reolojik parametreler 65
Tablo 3.4 ζ-potansiyel ve damlacık boyutu 70
Tablo 3.5 Oksidatif uçucu bileşen ve IP değeri 72
Tablo 3.6 Duyusal analiz 74
Tablo 3.7 Deneysel tasarım sonuçları 76
Tablo 3.8 Model parametreleri 78
Tablo 3.9 Çözünürlülük değerleri 82
Tablo 3.10 Emülsiyon aktivite (EAI) ve stabilite (ESI) indeksleri 87
Tablo 3.11 Zeta potansiyel değerleri 89
Tablo 3.12 Köpük kapasitesi (KK) ve stabilitesi (KS) 90
Tablo 3.13 Protein ve hidrolizatların ikincil yapıları 94
Tablo 3.14 Antioksidan kapasitesi 96
Tablo 3.15 HPOB ham lifin tekno-fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri 99
Tablo 3.16 Reolojik parametreleri 104
Tablo 3.17 Zeta potansiyel ve damlacık boyutu değerleri 111
Tablo 3.18 Oksidatif stabilite 112

ÖZET

Soğuk Pres Acı Biber Tohumu Yağı Yan Ürününden Geri Kazanılan Ham Lif, Bitkisel Protein ve Protein Hidrolizatlarının Teknolojik ve Biyoaktif Özelliklerinin İncelenmesi

Esra AVCI

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Salih KARASU

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, acı biber yağı yan ürününün (HPOB) karakterizasyonu yapılmış ve salata soslarında yağ ikamesi olarak kullanılabilirliği araştırılmıştır. HPOB (soğuk pres biber tohumu yağı yan ürünü), toplam fenolik içerik (TPC) ve DPPH (%) ile CUPRAC antioksidan kapasiteleri belirlenmiştir. Kapsaisin, dihidrokapsaisin ve toplam karotenoid içeriği gibi fizikokimyasal özellikleri açısından karakterize edilmiştir. Salata soslarına yağ ikamesi kullanım potansiyelini belirlemek için HPOB ilave edilerek geliştirilen emülsiyonlar, kesme dayanımı, katı benzeri özellikler ve geri kazanılabilirlik gibi özelliklerde iyileşme göstermiştir. HPOB içeren salata sosları, oksidatif stabiliteyi artırmak için etkili bir şekilde kullanılmıştır. Ayrıca, HPOB'nin salata soslarının duyusal özelliklerini ve kalite özelliklerini geliştirdiği görülmüştür. Bu çalışmanın ikinci aşamasında ise acı biber yağı yan ürününden protein ve lif izole edilmiştir. İzole edilen proteinler,

alkalaz, flavourzyme ve savinaz gibi farklı enzimlerle hidrolize edilmiştir. Enzimatik hidroliz sonucunda elde edilen hidrolizatların tekno fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri incelenmiştir. Protein hidroliz derecesi, kullanılan enzim türüne bağlı olarak önemli ölçüde farklılık göstermiştir. Hidroliz süresi arttıkça hidroliz derecesi de artmıştır. Savinaz ile muamele edilen hidrolizatlarda en yüksek hidroliz derecesi saptanmıştır. Hidrolizatların teknolojik özelliklerinin (yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon aktivite ve stabilite indeksi) düşük hidroliz derecesine sahip hidrolizatların daha üstün olduğu bulunmuştur. Hidrolizatların antioksidan kapasitesi, enzimatik hidroliz sonrasında önemli ölçüde artmıştır. Savinaz ile muamele edilen hidrolizatlarda yüksek antioksidan aktivite gözlemlenmiştir. Bu tez çalışması, HPOB'nin karakterizasyonunu, salata soslarında yağ ikamesi olarak kullanım potansiyelini ve HPOB'den geri kazanılan protein, protein hidrolizatları ve ham lifin teknolojik ve biyoaktif özelliklerini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Acı biber yağı yan ürünü, enzimatik hidroliz, yağ ikame, protein

ABSTRACT

Investigation of Technological and Bioactive Properties of Crude Fiber, Plant Protein and Protein Hydrolysates Recovered from Cold Press Hot Pepper Seed Oil By-Product

Esra AVCI

Department of Food Engineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Salih KARASU

In the first stage of this thesis, the characterization of the hot pepper oil by-product (HPOB) was made and its use as a fat substitute in salad dressings was investigated. HPOB (cold pressed pepper seed oil by-product), total phenolic content (TPC) and DPPH (%) and CUPRAC antioxidant capacities were determined. Capsaicin was characterized for its physicochemical properties such as dihydrocapsaicin and total carotenoid content. Emulsions developed by adding HPOB to determine the potential for use as a fat replacer in salad dressings showed improvements in properties such as shear strength, solid-like properties and recoverability. Salad dressings containing HPOB have been used effectively to increase oxidative stability. In addition, HPOB has been shown to improve the sensory properties and quality characteristics of salad dressings. In the second stage of this study, protein and fiber were isolated from the by-product of hot pepper oil. Isolated proteins were hydrolyzed with different enzymes such as alkalase, flavourzyme and savinase.

Techno-functional and bioactive properties of hydrolysates obtained as a result of enzymatic hydrolysis were investigated. The degree of protein hydrolysis differed significantly depending on the type of enzyme used. As the hydrolysis time increased, the degree of hydrolysis also increased. The highest degree of hydrolysis was detected in the hydrolysates treated with savinase. It has been found that the technological properties of hydrolysates (oil binding capacity, emulsion activity and stability index) are superior to hydrolysates with a low degree of hydrolysis. The antioxidant capacity of the hydrolysates increased significantly after enzymatic hydrolysis. High antioxidant activity was observed in hydrolysates treated with savinase. This thesis study reveals the characterization of HPOB, its use as a fat substitute in salad dressings, and the technological and bioactive properties of protein, protein hydrolysates and crude fiber recovered from HPOB.

Keywords: Hot pepper oil byproduct, enzymatic hydrolysis, oil replacer, protein

1
GİRİŞ

Gıda endüstrisi, dünya çapında yılda yaklaşık 190 milyon ton yan ürün üretmektedir. Bu yan ürünler arasında zarar görmüş hammaddeler, posalar, yapraklar, tohumlar, kabuklar, kepekler, yağlı tohum küspeleri vb. bulunur. Bu yan ürünlerin çoğu atık yönetimi, geri dönüşüm veya imha gerektirebilecek şekilde ortaya çıkmaktadır (Allotey vd., 2023; Comunian vd., 2021; Gençdağ vd., 2021).

Gıda endüstirisi yan ürünleri, fenolikler, diyet lifleri, alkaloidler, pigmentler ve önemli miktarda protein, karbonhidrat, lipit ve diğer biyoaktif bileşikler içermektedir. Elma, üzüm, narenciye, havuç ve domates gibi meyve ve sebze endüstrisinden kaynaklanan atıkların ve yan ürünlerin çoğu kolesterol düşürücü ve anti-aterosklerotik etkileri olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle, yan ürünlerin değerlendirilmesi ve yan ürünlerden değerli bileşiklerin geri kazanılması, küresel gıda sürdürülebilirliği, çevre ve ekonomi açısından önemli bir role sahiptir (Fernández vd., 2018; Socas-Rodríguez vd., 2021).

Son yıllarda, bitki kaynaklı yan ürünlerden protein geri kazanımı teknikleri, özellikle gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde çalışan bilim adamları arasında trend haline gelmiştir (Gençdağ vd., 2021). Bitki bazlı proteinler, hayvansal bazlı proteinlere göre avantajlara sahip olmaları nedeniyle tercih edilmektedir. Bu avantajlar arasında kolesterol içermemeleri, daha düşük doymuş yağ asitlerine sahip olmaları ve bol miktarda bulunmaları yer almaktadır (Zardo vd., 2019).

Bir kimyasal maddenin geri kazanım oranı, yan ürünün hücresel yapısına ve uygulanan ekstraksiyon teknolojisine bağlıdır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, tüm karmaşık biyopolimerleri çıkarmak için yetersizdir. Özellikle selüloz yapıları, çözücü moleküllerin giremediği ve molekülleri serbest bırakamadığı boşluklara sahiptir. Bu nedenle, geleneksel yöntemlerin verimliliği düşük olabilmektedir (Gharib-Bibalan, 2018). Son on yılda, proteinlerin sürdürülebilir ve verimli bir şekilde ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için birçok yeni teknik geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. fonksiyonel bitki proteinlerini elde etmek için ultrason, mikrodalga, darbeli elektrik alanı ve yüksek voltajlı elektrik deşarjı gibi teknikleri kullanmaktadır. Bu teknikler, proteinlerin daha etkili bir şekilde çıkarılmasına yardımcı olur ve ekstraksiyon verimini artırır (Zhang vd., 2019).

Ayrıca, bitki bazlı proteinlerde bulunan biyoaktif peptitlerin, fonksiyonel gıda gelişiminde sağlıklı ve faydalı olduğu bildirilmektedir. Bu peptitler, antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar ve kan basıncını düşürücü gibi çeşitli biyolojik etkilere sahip olabilir. Bu nedenle, bitki proteinlerinin ekstraksiyonu sırasında bu biyoaktif peptitlerin korunması ve elde edilmesi önemli bir hedef olmuştur (Udenigwe vd., 2017).

Yan ürünlerden geri kazanılan diyet liflerinin fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikleri, kullanılan ekstraksiyon yönteminin türüne bağlıdır (Nadar vd., 2018). Kimyasal, mekanik, termal, enzimatik gibi çeşitli yöntemlerle diyet lifi ekstraksiyonu gerçekleştirilebilir. Ancak bu yöntemler, uzun süreli ekstraksiyon süreleri ve yüksek sıcaklıklar gerektirdiği için ekstraksiyon verimini düşürebilir. Bu nedenle, yeni ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir (K. Kumar vd., 2021). Ultrason destekli ekstraksiyon azaltılmış zaman ve enerji tüketimi, düşük sıcaklıkta ekstraksiyon yapabilme ve ekstrakt kalitesini koruma gibi avantajlar sunar. Ultrason destekli ekstrakisyon bitki kaynaklı diyet liflerini çıkarmak için yüksek yoğunluklu ses dalgalarını kullanır. Akustik kavitasyon sırasında oluşan fiziksel kuvvetler, bitki dokusunda bozulmaya neden olur ve böylece solvent içindeki bileşenlerin daha kısa sürede çözünmesine yardımcı olmaktadır (Siddiqui vd., 2023).

Acı biber yağı, yüksek miktarda yağ içerdiği için kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Ayrıca, yağın antibakteriyel ve antifungal özellikleri olduğu bilinmektedir. Kapsaisin ve dihidrokapsaisin, acı biberin ana aktif bileşenleridir ve çeşitli farmakolojik etkilere sahiptirler. Ağrı kesici, anti-inflamatuar, antioksidan ve metabolizma hızlandırıcı gibi etkileri vardır. Bu nedenle, kapsaisin ve dihidrokapsaisin farmasötik ürünlerde ve ilaç geliştirmede potansiyel olarak kullanılmaktadır (Cvetković vd., 2022; Özyildiz vd., 2013). Sonuç olarak, acı biberin çeşitli bileşenleri ve yan ürünleri birçok endüstriyel uygulamada kullanılabilir potansiyele sahiptir. Gıda, ilaç, kozmetik ve biyoteknoloji gibi alanlarda kullanılarak ekonomik değeri artırılabilir. Bu yan ürünün çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanım potansiyeli vardır. Polisakkaritler, jel oluşturma özelliklerine sahip olduklarından gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılabilirler. Ayrıca, polisakkaritlerin antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri de bulunmaktadır (Baenas vd., 2019).

Salata sosları, bitkisel aroma vericileri (tatlı, tuz, sarımsak vb.) ve emülsifiye edici maddeler (kristal inhibitörleri, doku arttırıcılar ve dengeleyiciler) ile birlikte asidik bileşenlerden (maleik asit, asetik asit, sitrik asit vb.) oluşan ve son yıllarda popülerlik kazanan gıda ürünleridir (Mozafari vd., 2017; Sharma, 2021). Tüketiciler sağlıklı seçeneklere yöneldikleri için mi yağı azaltılmış sosları tercih etmektedir. Çünkü yüksek yağ tüketimi koroner kalp hastalığı, obezite ve diyabet gibi olumsuz sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, gıda üreticileri ve bilim insanları, düşük yağlı ve düşük kalorili gıdaların üretimi için araştırmalar yapmaktadır. Salata sosu formülasyonlarında, yağın azaltılması veya çıkarılması durumunda ortaya çıkan olumsuz nitelikleri azaltmak için birkaç yağ ikame maddesi kullanılmaktadır. Bu yağ ikame maddeleri, yağın fiziksel ve duyusal özelliklerini taklit ederek, düşük kalorili ve daha sağlıklı bir salata sosu elde etmeyi amaçlar (Klaochanpong vd., 2017; Tekin-Cakmak vd., 2021).

Yağ ikame maddeleri, belirli gıda ürünlerinde daha düşük kalori sağlayabilen ve yağın fiziksel ve duyusal özelliklerini taklit edebilen maddelerdir (Peng & Yao, 2017). Bu maddeler genellikle üç sınıfa ayrılır: lipit, protein ve karbonhidrat bazlı ikame maddeler. Farklı işlevsel ve niteliklere sahip olan bu bileşenler tek başına veya kombinasyon halinde kullanılabilir. Polisakkaritler, zamklar, karboksi-metilselüloz, pektinler, lif ve malto-dekstroz gibi maddeler yağ ikame edici, koyulaştırıcı ve az yağlı gıda sistemlerinde dengeleyici olarak kullanılır. Ancak, yağ analoglarının kullanılması doku ve duyusal özelliklerde kayba neden olabilir. Bu sebeple, soğuk preslenmiş yağ yan ürünleri, tam yağlı gıdalarla aynı kalite ve tat özelliklerini korurken, gıda ürünlerindeki yağ içeriğini azaltma potansiyeline sahiptir. Bu yan ürünler, doğal yağ yerine geçen maddeler ve fonksiyonel içerik bileşenleri olarak kullanılmaya başlanmıştır (Akcicek & Karasu, 2018; Aksoy vd., 2022; Tekin-Cakmak vd., 2021; Tekin & Karasu, 2020).

Bu çalışmada soğuk pres biber tohumu yağı yan ürününün atık değerlendirme potansiyelini ortaya konulması ve düşük yağlı salata soslarının kalite ve stabilitesini artırmak için yenilikçi bir bileşen olarak kullanılabilirliğini gösterilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca bu çalışma, sürdürülebilirlik açısından önemli olan yan ürünlerin değerlendirilmesine ve gıda endüstrisinde atık yönetiminin iyileştirilmesine katkı sağlayacaktır. Bu amaçla, HPOB'nin (soğuk pres biber tohumu yağı yan ürünü) ayrıntılı fizikokimyasal ve biyoaktif karakterizasyonu

yapılmıştır. Çalışmada HPOB'den protein, protein hidrolizat ve lif geri kazanılarak tekno fonkiyonel özellikleri incelenmiştir. Daha sonra hem HPOB'nin hem de HPOB'den geri kazanılan protein ve liflerin salata soslarındaki rolü ve etkisi değerlendirilmiştir. HPOB, protein ve lifi salata soslarının reolojik özellikleri, emülsiyon stabilitesi ve oksidatif stabilite üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma, HPOB, protein ve lifinin yağı azaltılmış salata soslarında potansiyel bir stabilizatör olarak kullanımını değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

1.1 Literatür Özeti

1.1.1 Acı Biber Tohumu ve Yağı

Biber (Capsicum annuum L.), Solanaceae familyasına ait bir bitkidir ve dünya genelinde ılıman iklim bölgelerinde yetiştirilir. Biberler genellikle çiğ olarak tüketilen dolmalık biberler, baharat olarak kullanılan acı biberler ve paprika olarak renklendirici olarak kullanılan çeşitli renklerde meyveler verir. Biberler, tatlı ve acı olmak üzere farklı çeşitliliklere sahiptir (Cvetković vd., 2022). Acı biber tohumlarının %43,6 toplam karbonhidrat, %28,3 protein, %18,4 yağ, %6,63 su ve %3,05 kül (kuru ağırlık bazında) içerdiğini bildirilmiştir (Chouaibi vd., 2019). Ayrıca C ve E vitaminleri, provitamin A, karotenoidler ve fenolik bileşikler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengin olup, tüketicilere sağlık faydaları sunar. Bu bileşiklerin içeriği, farklı faktörlere bağlı olarak değişir, bu nedenle numune alma, saklama koşulları ve işleme uygulamaları kontrol edilmelidir. Karotenoidler, biberlerin lezzet, renk ve antioksidan özellikleri açısından önemli bir rol oynar. Ayrıca, biberler fenolik bileşikler ve besin maddeleri içerir, bu da insan beslenmesine katkı sağlar (Pandey & Rizvi, 2009).

Fenolik asit türevleri ve flavonoidler, biber çeşitlerindeki temel fenolik bileşik gruplarını temsil eder. Bu bileşikler, biberin tadına, rengine ve aromasına katkıda bulunurken, oksidatif hasara karşı koruyucu etkiler gösterir ve biberin antioksidan kapasitesini artırır. Ayrıca, fenolik asitlerin ve flavonoidlerin alımı ile koroner bozukluklar, diyabet, kanser, osteoporoz ve nörodejeneratif hastalıklar riskinde azalma arasında bir ilişki olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Chouaibi vd., 2019; Jayaprakasha vd., 2012; Sung & Lee, 2016).

Biber çeşitlerinde flavonoidler arasında kuersetin, luteolin, mirisetin, kaempferol ve apigenin türevleri bulunur. Ayrıca p-kumarik, kafeik, sinapik ve ferulik asit glikozitleri de biber meyvelerinde karakteristik fenolik asit türevleridir. Bu bileşiklerin içeriği, çeşide, olgunluk aşamasına ve yetiştirme koşullarına bağlı olarak değişiklik gösterir.

Karotenoidler, biber meyvelerinde bulunan yağda çözünen bileşiklerdir ve izoprenoid yoluyla sentezlenir. Bu bileşikler çeşitli halka yapılarına sahip olan 40 karbonlu bir izopren omurgasını paylaşır. Olgunlaşmış biber meyveleri, genetik farklılıklar, olgunlaşma derecesi ve işleme koşullarına bağlı olarak karotenoid içeriği ve bileşimi bakımından değişebilir. Çoğunlukla Olgun biber meyvelerinde, toplam karotenoid içeriği 0,69 ila 30 mg/g kuru ağırlık veya 15 ila 320 mg/100g taze ağırlık arasında büyük değişkenlik göstermektedir. Kırmızı biber meyvelerinde kapsantin, kırmızı rengin temel kaynağı olup, toplam karotenoidlerin büyük bir kısmını (%40-60) oluşturur. Diğer karotenoidler arasında β-karoten (%5-%14), β-kriptoksantin, zeaksantin, lutein ve violaksantin bulunur (Arimboor vd., 2015; Baenas vd., 2019).

Biberlerde bulunan kapsaisinoidler, vanililaminin asit aminleri ve 8 ila 13 karbon içeren dal yağ asitlerinden oluşur (Kobata vd., 2013). Ana kapsaisinoidler kapsaisin (8-metilnontrans-6-enoik asidin vanilamidi) ve dihidrokapsaisindir (8-metilnonanoik asidin vanilamidi) ve genellikle toplam kapsaisinoidlerin büyük bir kısmını (%80) oluşturur. Diğer kapsaisinoid türevleri daha küçük miktarlarda bulunur. Kapsaisinoidlerin keskinliği, kimyasal yapılarına ve içerdikleri amid bağına bağlıdır. En keskin kapsaisinoidler kapsaisin ve dihidrokapsaisindir (Baenas vd., 2019; Dang vd., 2018).

Kapsaisinoidler, biberin plasentasındaki bezlerde sentezlenir ve meyve içinde beyaz kaburgada bulunan sinnamik asit yolunu takip eder. Kapsaisinoid içeriği, genotip ve olgunluk aşamasına bağlı olarak değişiklik gösterir (Topuz & Ozdemir, 2007). Acı biber çeşitlerinde kapsaisinoid konsantrasyonları tatlı bibere göre daha yüksektir. Güçlü biberlerde konsantrasyon daha da yüksek olabildiği çalışmalarda rapor edilmiştir (Orellana-Escobedo vd., 2013; Perucka & Materska, 2001; Topuz vd., 2011).

Karotenoidler, antioksidan özelliklere sahip olup kanser, kardiyovasküler hastalıklar, katarakt ve makula dejenerasyonu gibi dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkileri vardır. Özellikle A vitamini öncüleri olan α-karoten, β-karoten ve β-kriptoksantin, bilişsel işlevi iyileştirme ve bazı kanser türlerinin önlenmesine yardımcı olma potansiyeline sahiptir. Lutein ve zeaksantin gibi diğer karotenoidler ise göz sağlığı için önemlidir (Eggersdorfer & Wyss, 2018; Sharma vd., 2013).

Karotenoidlerin biyoyararlanımı, mide ve ince bağırsakta gerçekleşen miselleşme adımıyla belirlenir. Lipoproteinler, safra tuzları ve enzimlerle birlikte misellere dahil edilerek bağırsak hücrelerine taşınırlar. Lif gibi bazı bileşenlerin varlığı ve pankreatik lipaz gibi enzimlerin inhibisyonu, karotenoidlerin biyoerişilebilirliğini azaltabilirken, ksantofilin esterleşmesi biyoerişilebilirliği artırabilir. Kan plazmasına emildikten sonra, karotenoidler çeşitli dokulara dağılırlar (Fiedor & Burda, 2014). Sonuç olarak, biber meyveleri önemli bir karotenoid kaynağıdır ve sağlık açısından birçok fayda sağlayan antioksidan özelliklere sahip olan karotenoidler içerir.

Acı biberlerin içeriklerinin %16-25'i çoklu doymamış yağlardır, başlıca ana yağ asidi %70,6 linoleik asit, %10,9 oleik asit, %0,2 miristik asit, %16,3 palmitik asit ve %16,3 %2,2 stearik asitten oluşmuştur (Reddy & Sarojini, 1987). Tohumlardan yağ maksimum 40°C'yi geçmeden soğuk pres yöntemi ile ayrıldıkta sonra kalan kısım yan ürünler olarak genellikle atılırlar. Soğuk pres sonrası yan ürünün kimyasal bileşiminin incelendiği çalışmada % 8,49 nem, %4,82 kül, %18,76 protein ve %8,15 yağ olduğu bildirilmiştir (Yılmaz vd., 2015).

1.1.2 Soğuk Pres Yağ Yan Ürünleri

Soğuk sıkım yöntemiyle elde edilen yağlar, herhangi bir rafinasyon veya kimyasal işlem görmeden elde edilir. Bu sayede, soğuk sıkım yağ yan ürünleri, gıda endüstrisinde kullanılabilmektedir çünkü solventlere maruz kalmazlar. İşlenmeden önce bu yan ürünlerden nem alınır ve yağ üretimi sırasında ayrıştırılır. Elde edilen yan ürünler, protein ve polisakkarit açısından zengin bir yapıya sahiptir. Ancak, günümüzde soğuk sıkım yağ yan ürünleri, beslenme ve teknoloji açısından önemli olmalarına rağmen gıda endüstrisinde yeterince kullanılmamaktadır (Barreira vd., 2019; Laso vd., 2016).

Tohumlardan yağ ekstraksiyonu sonrasında elde edilen ana yan ürün, genellikle küspe olarak adlandırılan bir maddeye dönüşür. Küspe, yenilebilir ve yenilmeyen olmak üzere iki kategoriye ayrılır. Yenilebilir küspe (soya fasulyesi, yer fıstığı, kolza tohumu, ayçiçeği, hindistan cevizi, pamuk tohumu, aspir, keten tohumu gibi) yüksek besin değerine sahiptir ve işlenmiş bileşenler (protein konsantresi, izolat, hidrolizat) içerir. Bu bileşenler, hayvan ve insan beslenmesinde kullanılabilen bir substrat sağlar ve aynı zamanda biyoaktif bileşikler, sürfaktanlar, enzimler, antibiyotikler, vitaminler, pigmentler, tatlar ve amino asitler gibi besleyici ve antioksidan bileşiklerin kaynağıdır. Yağı alınmış yenilebilir küspeler, unlu mamuller, bebek ürünleri ve besin takviyeleri gibi ürünlerde kullanılabilmektedir (Ancuța & Sonia, 2020). Literatürde soğuk pres yağ yan ürünleri ile ilgili çalışmalar Tablo 1.1'de özetlenmiştir.

Tablo 1.1 Soğuk pres yağ yan ürünleri ilgili literatür özeti

Kaynak	Çalışma amacı	Sonuç	Referans
Badem yağı yan ürünü	Kurabiyede un olarak kullanımı ve dokusu, ağızda bıraktığı his ve lezzet üzerinde etkilerinin incelenmesi	Görünüm, tatlılık, sertlik, genel kalite ve satın alma yatkınlığında pozitif sonuçlar	(Barreira vd., 2019)
Ahududu yağı yan ürünü	Antioksidan ajan olarak kullanum potansiyeli	Kavurmanın etkisi ile % 40 artan oksidatif stabilite	(Mildner-Szkudlarz vd., 2019)
Chia tohumu, keten tohumu ve roka tohumu yağı yan ürünleri	Yan ürünlerden gamların geri kazanılması ile az yağlı vegan mayonezde yağ ikame, oksidatif ajan ve emülgatör potansiyeli	Vegan mayonezde artan kıvam ve oksidatif stabilite	(Hijazi vd., 2022)
Keten tohumu yağı yan ürünü	Az yağlı salata sosunda yağ ikame potansiyeli Esmer ekmekte kullanımı	Tüm salata sosu örneklerinde viskoelastik katı karakter, yüksek geri kazanım ve gıda emülsiyonlarında doğal bir yağ ikame maddesi ve stabilizatör %10-15 kullanımında esmer ekmekte olumlu duyusal sonuçlar	(Drozłowska vd., 2020; Tekin & Karasu, 2020) (Ogunronbi vd., 2011)
Badem yağı yan ürünü	Yan üründen fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyon geri kazanılması	27,0 kHz ve ekstraksiyon süresi 29,4 dk ile elde edilen yüksek antioksidan kapasiteye sahip antioksidan kaynağı	(Tungmunnithum vd., 2020)
Chia tohumu yağı yan ürünü	Düşük yağlı soslarda yağ ikamesi	Yüksek kıvam ve stabilite	(Akcicek & Karasu, 2018)
Avokado yağı yan ürünü	Gıda koruyucusu olarak değerlendirilmesi	Artırılmış antioksidan kapasite	(Permal vd., 2020)
Keten tohumu yağı yan ürünü	Kimyasal karakterizayon	Artan lif içeriği	(Budžaki vd., 2018)

Domates çekirdeği yağı yan ürünü	Ultrason destekli ekstraksiyon ile protein eldesi	Tekno-fonksiyonel bir protein elde edilerek çeşitli gıda ürünlerinde ideal bir ham madde olarak kullanım potansiyeli	(Özyurt vd., 2021)
Üzüm çekirdeği yağı yan ürünü	Antioksidan ajan olarak değerlendirilmesi	Artan oksidatif stabilite	(Lutterodt vd., 2011)
Hindistan cevizi yağı yan ürünü	Bitkisel bazlı süt üretimi ve az yağlı bitkisel dondurmada yağ ikamesi olarak değerlendirilmesi	Proteince zengin bitkisel süt eldesi, artan kıvam, viskoelastik katı, yüksek geri kazanımlı dondurma ve duyusal sonuçlarında yüksek genel kabul	(Kasapoglu vd., 2023)
Tengjiao yağı yan ürünü	Polisakarit ekstraksiyonu	16 dakika işlem süresi, 500W mikrodalga gücü ve 80 °C ekstraksiyon sıcaklığında %93,76 saflıkta ve yüksek antioksidan kapasiteli polisakkarit eldesi	(Xu vd., 2020)
Kabak çekirdeği yağı yan ürünü	Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin keten tohumu yağının yenilebilir film ile kaplanması	Artan oksidatif stabilite	(Hromiš vd., 2022)
Haşhaş tohumu yağı yan ürünü	Besinsel ve kimyasal karakterizasyonu ve yüksek protein ve lifli kek üretiminde kullanımı	Çoklu doymamış yağ asitlerinin baskın olduğu yüksek protein ve lif içerikli gıda formülasyonlarında kullanım potansiyeli	(Melo vd., 2022)
Kolza tohumu yağı yan ürünü Susam yağı yan ürünü	Protein eldesi	Soğuk preslenmiş kolza tohumu yan ürününden geri kazanılan kolza tohumu oleozini, oksidasyon önleyici özelliklere sahip uygun bir doğal emülgatör potansiyeli	(Östbring vd., 2020) (Yang vd., 2021)

1.1.3 Alternatif Protein ve Lif Kaynakları

Soğuk pres yağ yan ürünleri, yüksek protein içeriğine sahip ürünler olan protein izolatları, konsantreler ve hidrolizatlar elde etmek için kullanılır. Protein izolatları, alkali ve asit işlemleri ile izoelektrik çökeltme kullanılarak hazırlanır ve yüksek su tutma kapasitesi ile emülsifiye edici özelliklere sahiptir. Bu izolatlar, emülgatör olarak kullanılabileceği gibi fonksiyonel gıda ürünlerinde de uygulama alanı bulur (Teh vd., 2014).

Ultrasonikasyon, akustik dalgaların kullanımına dayanır ve yüksek yoğunluklu dalgalar üreterek proteinleri moleküler düzeyde değiştirir. Bu süreçte, kavitasyon fenomeni, dinamik ajitasyon, türbülans ve kayma gerilmesi gibi etkiler proteinlerin yapılarında ve işlevsel özelliklerinde değişikliklere neden olabilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, bitki bazlı proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin ultrasonikasyon ile önemli ölçüde geliştirilebileceğini göstermiştir. Bu çalışmalar, farklı protein kaynakları üzerinde yapılan çalışmalardan örnekler sunarak, ultrasonikasyonun protein işlevselliğini artırmak için kullanılabileceğini vurgulamaktadır (González-Centeno vd., 2014; Zhao vd., 2021).

Kolza tohumları, diğer bitkilerden elde edilen proteinlerle karşılaştırılabilir besin değerine sahip olup, büyük miktarda S-amino asit içerir. Napin ve turpgiller, kolza tohumundaki baskın protein gruplarıdır ve toplamda %85-90 oranında bulunurlar (Östbring vd., 2019). Soğuk pres kolza yağı küspesinden elde edilen proteinler, sıcak pres ve solvent ile ekstrakte edilen proteinlere göre daha yüksek geri kazanım verimine ve emülsiyon özelliklerine sahiptir. Isı uygulaması geri kazanım verimini artırırken, emülsiyonu stabilize etme yeteneğini azaltır (Ancuța & Sonia, 2020).

Soya fasulyesi ve yer fıstığı, hayvansal proteinlere eşdeğer olarak kabul edilebilecek, kolayca emilebilen ve sindirilebilen proteinler içerir. Miktarları genellikle %20-26 arasında değişir ve yetişkinler ve çocuklar için önerilen günlük protein ihtiyacını karşılar. Amino asit profilleri açısından, soya fasulyesi metiyonin eksikliği gösterirken, yer fıstığı arginin açısından zengindir. Keten tohumu proteinleri, soyadan elde edilenlere benzer özelliklere sahiptir ve aynı zamanda glutamik ve aspartik asit ile arginin açısından zengindirler. Keten tohumu

proteinleri ayrıca mantar önleyici özelliklere sahiptir. Kenevir küspesi ise histidin ve albümin içeren iki ana protein kaynağıdır. Yüksek miktarda esansiyel amino asitler, özellikle arginin, içerir ve yumurta ve soya proteinleri ile benzer özelliklere sahiptir (Ancuța & Sonia, 2020; Kajla vd., 2015; Teh vd., 2014).

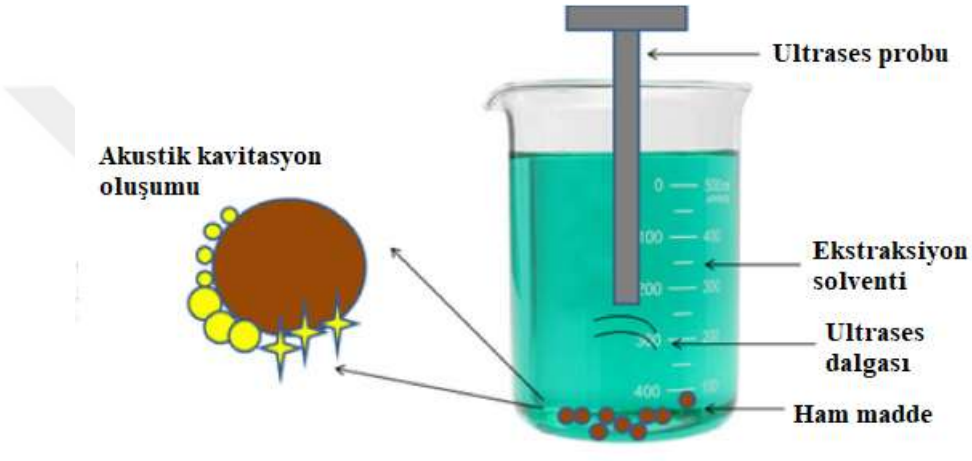
Diyet lifi (DF), ince bağırsakta sindirilemeyen ve emilemeyen bir grup karbonhidrat polimeri olan çözünmez ve çözünür bileşenlerin yanı sıra inülin ve dirençli nişastayı içeren bir besin maddesidir. DF'nin farklı fizikokimyasal özellikleri, yüksek su tutma ve şişme kapasitesi gibi çeşitli işlevlere ve etkilere sahiptir. Diyet lifi açısından zengin bir beslenme, koroner kalp hastalığı, kanser, obezite ve diyabet riskini azaltmak gibi birçok sağlık faydası sunar. Gıda endüstrisinde, DF kullanılarak besleyici özelliklerin yanı sıra organoleptik ve dokusal özelliklerin geliştirilmesi hedeflenir. Ayrıca, DF'nin kullanımı raf ömrünü uzatabilir ve oksidatif stabiliteyi artırabilir (Maphosa & Jideani, 2016; Zheng & Li, 2018). Bu nedenle DF'nin atıklardan geri kazanılması ve kullanılması, sürdürülebilir bir üretim ve sıfır atık hedefleri için önemli bir faktördür.

Diyet lifi (DF), farklı yöntemlerle ekstrakte edilebilir. Geleneksel yöntemler arasında kuru/ıslak işleme, kimyasal, enzimatik gravimetrik ve mikrobiyal işlemler bulunur. Bunun yanı sıra, yeşil ve yenilikçi ekstraksiyon yöntemleri de kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında etanol, su, buhar, ultrasonik, hidrostatik basınç, mikrodalga ve darbeli elektrik alanı gibi teknikler bulunur. Kullanılan ekstraksiyon yöntemi, DF'nin bileşimini, özelliklerini ve davranışını etkiler (Wang vd., 2022). Örneğin, kimyasal veya enzimatik işlemler DF'nin yapısal özelliklerini değiştirmekte ve bileşimini etkilemektedir. Yeşil ve yenilikçi ekstraksiyon yöntemleri ise daha çevre dostudur. Bu farklı ekstraksiyon yöntemleri, DF'nin gıda ve insan vücudu üzerindeki etkilerini de değiştirebilmektedir. Örneğin, farklı yöntemlerle elde edilen DF'nin sindirim süreci, emilimi ve bağırsakta oluşturduğu etkileri farklılık göstermektedir (Gan vd., 2021).

Yan ürünlerden elde edilen DF, gıdalarda ve farmasötik ürünlerde fonksiyonel bir içerik, takviye veya katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Örneğin, hindistancevizi küspesinden elde edilen diyet lifinin yapısı ve özellikleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar, parçacık boyutunun azalmasının tutma, su tutma ve şişme kapasitelerinde artışa neden olduğunu göstermiştir. Selülaz hidrolizinin bazı özellikler üzerinde olumsuz etkisi olabilirken, karbonhidrat içeriğini artırarak diğer

özellikleri iyileştirdiği belirlenmiştir (Zheng & Li, 2018). Benzer diğer bir çalışmada ise greyfurt kabuğundan mikrodalga yöntemi ile elde edilen diyet lifin fonksiyonel özellikleri incelenmiş ve çözünür lifin artması ile birlikte su tutma, yağ baglama kapasitesini de iyileştirildiği rapor edilmiştir (Gan vd., 2020).

Ultrason işlemi, çözücünün numunenin daha derinlerine nüfuz etmesine izin veren akustik kavitasyon oluşturarak difüzyon hızını artırır. Bu süreçte hücre duvarlarının bozulması meydana gelir, bu da hücre içeriğinin kütle transferini arttırır ve diyet lifi ekstraksiyonunun verimini geleneksel yöntemlere göre artırdığı bildirilmiştir (Vinatoru vd., 2017).



Şekil 1.1 Ultrases destekli ekstraksiyonda kavitasyon olgusu (Siddiqui vd.,2023)

Yapılan bir çalışma, yağı alınmış hindistan cevizi unundan (DCF) elde edilen çözünür diyet lifinin (SDF) fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini inceler. Bu çalışmada, enzimatik-kimyasal ekstraksiyon (EC-SDF), kritik altı su ekstraksiyonu (SW-SDF) ve ultrasonik-kimyasal ekstraksiyon (UC-SDF) prosesleri kullanılmıştır. Üç ekstraksiyon yönteminin optimum koşulları belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, SW-SDF en yüksek verime sahip olmuştur (13,99 ± 0,12 g/100g). SW-SDF ve UC-SDF, EC-SDF ve DCF'ye kıyasla daha karmaşık ve gözenekli yapılar sergilemiştir. Ayrıca, daha küçük moleküler ağırlığa, daha güçlü jelleşme özelliğine, daha yüksek termal kararlılığa ve daha düşük kristalliğe sahiptirler. Özellikle SW-SDF, en yüksek su ve yağ tutma kapasitesine, glukoz adsorpsiyonuna, pankreatik lipaz inhibisyonuna, kolesterol adsorpsiyonuna ve nitrit iyonu adsorpsiyon kapasitesine sahiptir. Bu çalışma, yağı alınmış hindistancevizi ununun potansiyel bir fonksiyonel gıda ve ucuz bir doğal diyet lifi kaynağı olduğunu göstermektedir (Du vd., 2021).

Karp ve arkadaşları (2019) tarafından yapılan çalışma, keten tohumundan çözünür diyet lifinin (SDF) fizikokimyasal özellikleri üzerinde enzimatik (EN), enzimatik-ultrasonik (EN-US20 ve EN-US55) ve alkali (AL) ekstraksiyonun etkisini değerlendirmeyi amaçlamıştır. Araştırma sonuçlarına göre, keten tohumu diyet lifinin en yüksek ekstraksiyon verimi AL yöntemiyle elde edilmiştir (%17.65 ± 0.13). Ancak, AL ekstraksiyonu en yüksek protein içeriğiyle sonuçlanmıştır. EN ve EN-US20 yöntemleriyle elde edilen keten tohumu diyet lifinde benzer SDF miktarı, ancak en yüksek içeriğe sahip olmadığı (%61.13 ± 0.35 ve %61.53 ± 1.35 sırasıyla) görülmüştür. Farklı yöntemlerle ekstrakte edilen keten tohumu lifinin çeşitli reolojik özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bu da onu alerjik olmayan bitki bazlı bir stabilizatör olarak gıda işlemede uygulanabilir hale getirir. Ayrıca, keten tohumu çözünür diyet liflerinin düşük viskozitesi, gıda ürünlerinin reolojik özellikleri üzerinde fazla etkisi olmayan değerli bir bileşen olduğunu gösterilmiştir (Moczkowska vd., 2019).

Diyet liflerinin gıdalara eklenmesi, gıda ürünlerinin dokusal, reolojik, besleyici ve duyusal özelliklerini değiştirir. Çözünür ve çözünmez diyet lifleri özellikle ekmek, kek, makarna, erişte, kurabiye gibi çeşitli katı gıda ürünlerinin formülasyonlarında kullanılmaktadır (Ancuța & Sonia, 2020).

1.1.4 Protein Hidrolizi

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri yapısal konformasyonlarına bağlıdır ve bu yapısal değişiklikler işlevselliği etkilemektedir. Bu nedenle, protein modifikasyonu gıda endüstrisinde kullanımları geniştir. Kanoladan alkali yöntemiyle izole edilen proteinler, düşük teknolojik özelliklere ve çözünürlüğe sahip oldukları için gıda katkı maddesi olarak uygun olmadığı bildirilmiştir. Bu işlem sırasında geri dönüşümsüz bir denatürasyon meydana gelmesi nedeniyle, bu proteinlerin kimyasal veya enzimatik olarak iyileştirilmesi gerekmektedir (Tan vd., 2011).

Protein izolatlarının hidrolizinden elde edilen hidrolizatlar, protein yapısının modifiye edilmesiyle işlevsellik, çözünürlük, yüzey aktivitesi, hidrasyon ve jelleşme özelliklerinde iyileştirmeler sağlar. Bu süreç, biyolojik aktiviteye ve insan sağlığına olumlu etkisi olan biyoaktif peptitlerin oluşmasına yol açar. Bu hidrolizasyon değişiklikleri, kullanılan enzim türüne ve hidrolizasyon derecesine bağlı olarak farklılık gösterir (Ancuța & Sonia, 2020).

Protein hidrolizatları, proteinlerin enzimatik veya kimyasal hidroliz yöntemleriyle daha küçük peptitlere ve serbest amino asitlere parçalanmasıyla elde edilen ürünlerdir. Bu hidroliz yöntemleri, proteinlerin yapılarını değiştirmek veya parçalamak için kullanılır. Protein hidrolizatları, farklı kaynaklardan elde edilemektedir. Maş fasulyesi, buğday, soya fasulyesi, karides, balık, susam ve gıda atıkları gibi çeşitli kaynaklar kullanılarak üretilmektedir. Protein hidrolizatları, birçok endüstride geniş uygulama alanı bulur. İnsan beslenmesinde, protein hidrolizatları, gıdaların besleyici değerini artırmak ve sindirilebilirliklerini iyileştirmek için kullanılır. Aynı zamanda, protein hidrolizatları, kas onarımını desteklemek ve kas kütlesini artırmak amacıyla sporcu gıdalarında kullanılır (Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Farmasötik endüstrisinde, protein hidrolizatları, ilaçların formülasyonunda ve besin takviyelerinde kullanılmaktadır. Bu hidrolizatlar, ilaçların emilimini artırmakta etkinliklerini iyileştirmekte veya ilaçların taşıyıcı sistemlerinde değerlendirilmektedir. Gıda endüstrilerinde de protein hidrolizatlarının kullanımı yaygındır. Örneğin, içeceklerde, soslarda, atıştırmalıklarda ve hazır yemeklerde protein hidrolizatları kullanılmaktadır. Bu hidrolizatlar, ürünlere tat, tekstür ve besleyici değer katmak için kullanılmaktadır (Etemadian vd., 2021).

Protein hidrolizatları genellikle biyolojik, fiziksel veya kimyasal hidroliz yöntemleriyle elde edilir. Biyolojik hidrolizde, enzimler kullanılır ve bu yöntem genellikle daha seçici bir hidroliz sağlar. Fiziksel hidrolizde, proteinler mekanik kuvvetlere (örneğin, yüksek basınç veya ultrasonik dalgalara) maruz kalır. Kimyasal hidrolizde ise asitler veya bazlar kullanılmaktadır (Ashaolu, 2020).

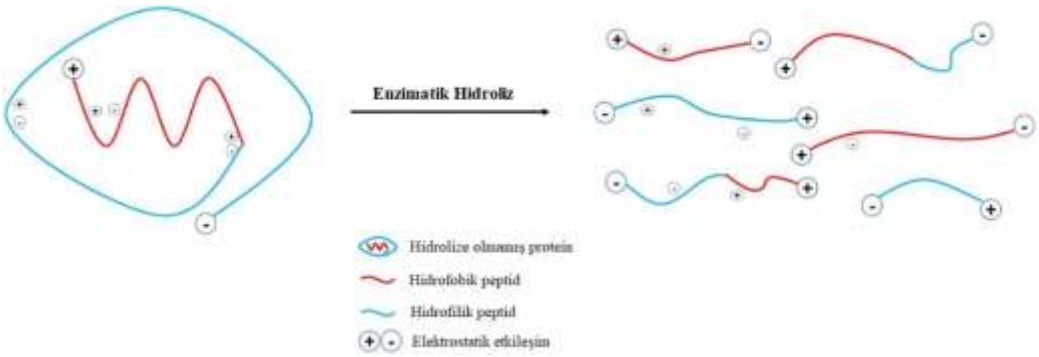
Kimyasal hidroliz, proteinlerin asitler ve bazlar kullanılarak hidrolize edildiği bir yöntemdir. Asit hidrolizi, proteinlerin termal uygulamaya tabi tutulduğu bir süreçtir. Peptid bağlarının ayrılma hızı önemlidir ve asit tipi seçimi etkilidir. Hidroklorik asit (HCl) genellikle tercih edilen bir asittir. Hidroliz sonunda kalıntı asit buharlaştırma ile uzaklaştırılır. Baz hidrolizi ise güçlü bazların kullanıldığı bir süreçtir ve sıcaklıkta gerçekleştirilir. Bu yöntem proteinleri amino asitlere ayrıştırmanın yanı sıra diğer makromoleküllerin parçalanmasında da kullanılır (Gao vd., 2006; Sun, 2011).

Kimyasal hidrolizin kullanımı hidrolizatların özelliklerini değiştirmektedir. Güçlü kimyasalların kullanımı, gıda ürünlerinin besin değerini azaltabilir ve ekolojik olarak kabul edilemez olabilir. Bu nedenle, güvenli ve hafif yöntemler olan enzimatik hidroliz gibi alternatifler tercih edilmektedir.

Biyolojik hidroliz yöntemleri arasında fermantasyon, enzimatik hidroliz ve gastrointestinal sindirim süreçleri bulunur. Fermantasyon, çevre dostu ve uygun maliyetli bir süreç olup yan ürünlerin besin kalitesini koruyabilmektedir. Enzimatik hidroliz, protein hidrolizatlarının hazırlanmasına yardımcı olurken besinsel ve fonksiyonel değerlerin korunmasını sağlar. Gastrointestinal sindirim süreci ise insan sindirim enzimleri tarafından gerçekleştirilir ve proteinlerin doğal olarak sindirilmesini sağlar (Ashaolu, 2020; Sun, 2011).

Enzimatik hidroliz, enzimler veya proteazlar kullanılarak gerçekleştirilen bir yöntemdir. Bu yöntemde proteinler, kimyasal veya fiziksel olarak şiddetli işlemler olmadan hidrolize edilir ve hidrolize edilen ürünlerin besinsel ve fonksiyonel değerleri korunur. Enzimatik hidroliz için pH, sıcaklık, enzim-substrat oranı ve kullanılan enzim türü gibi faktörler önemlidir. Bu yöntemler, proteinlerin yapısını ve özelliklerini değiştirebilir, bu nedenle hidroliz süresi ve koşulları, istenen sonuçlara bağlı olarak dikkatlice kontrol edilmelidir.

Proteazlar, proteinleri daha küçük peptitlere ve serbest amino asitlere dönüştüren enzimlerdir. Bu enzimler, optimum sıcaklık ve pH koşullarında çalışır ve protein molekülünü parçalayarak peptit bağlarını kırarlar. Proteoliz, atık üretimini azaltır, reaksiyon hızını artırır, daha yumuşak reaksiyon koşulları sağlar ve istenmeyen reaksiyonları engeller. Dezavantajları arasında enzim maliyeti, geri kazanım sorunları ve kötü tat veya acı tat oluşumu yer alır. Enzimatik hidroliz sırasında, ekzo-proteazlar, endo-peptidazlar tarafından kısmi sindirimden sonra farklı tipte peptidler üretir. Bu, protein substratının spesifik katalitik bölgelerine bağlıdır (Sun, 2011).



Şekil 1.2 Enzimatik hidroliz olayı (Wouters vd., 2016)

Alkalaz, *Bacillus licheniformis*, savinaz *Bacillus sp.* bakterisinden elde edilmiştir. Ana enzim bileşeni ise bir alkalin serin proteazı olan subtilisin A'dır. Subtilisin A'nın aktif bölgesinde serin, histidin ve aspartik asit kalıntılarından oluşan bir katalitik üçlü bulunur. Bu üçlü, enzimin proteolitik aktivitesini gerçekleştirmesini sağlar. Serin kalıntısı, substrat moleküllerindeki peptit bağlarını parçalayarak hidroliz reaksiyonunu gerçekleştirir. Histidin ve aspartik asit kalıntıları ise katalitik mekanizmada proton transferini ve stabilizasyonunu sağlar (Garcia-Mora vd., 2014; Polgár, 2005; Tacias-Pascacio vd., 2020).

Flavourzyme, *Aspergillus oryzae* kaynaklı ticari olarak üretilen bir enzimdir. Bu enzim, protein moleküllerinin içindeki ve uçlarındaki peptit bağlarını parçalayan bir karışımdır. Bu nedenle, hem ekzo-peptidaz hem de endo-peptidaz aktivitesine sahiptir. Ekzo-peptidazlar, proteinlerin uç kısımlarında bulunan peptit bağlarını hedef alırken, endo-peptidazlar, protein moleküllerinin içindeki peptit bağlarını parçalamaya yönelik etkinlik gösterir (Merz vd., 2016; Merz vd., 2015).

1.1.5 Hidrolizatların Teknolojik Ve Biyoaktif Özellikleri

Proteinlerin gıdalardaki işlevselliği genellikle çözünürlüklerine bağlıdır. Çözünmeyen proteinler, yüzey aktif (köpürme ve emülsifiye etme) ve jelleşme gibi doku tanımlayıcı fonksiyonel özellikleri destekleyemezler. Çünkü bu özellikler, proteinin uygun şekilde çözünmesini gerektirir. Bir proteinin çözünürlüğü, hidrofobik etkileşimlerle protein-protein etkileşimlerini destekleyen ve böylece çözünürlüğü azaltan faktörler ile protein-su etkileşimlerini destekleyen ve çözünürlüğü artıran iyonik etkileşimler arasındaki denge sonucunda belirlenir (Walstra., 2003). Dolayısıyla, çözünmeyen proteinlerin gıda uygulamaları genellikle sınırlıdır. Gıdalarda daha fazla işlevsellik sağlamak için çözünmeyen

proteinlerin çözünürlüğünün artırılması veya çözünmeyen proteinlerin kullanıldığı farklı stratejilerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bitki proteinleri ve tahıl proteinleri genellikle düşük çözünürlüğe sahiptir. Ancak, birçok araştırmacı bitki proteinlerinin çözünürlüğünün, bir dizi pH değerinde enzimatik hidroliz ile güçlü bir şekilde arttığını göstermiştir (Li vd., 2018; Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023). Enzimatik hidroliz, protein moleküllerini daha küçük peptit parçalara ayırdığı için bu işlem, hidrofobik etkileşimlerin azalmasına ve proteinin suyla etkileşimini artırarak çözünürlüğün artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, bitki proteinlerinin çözünürlüğünü artırmak ve işlevselliğini geliştirmek için enzimatik hidroliz gibi stratejiler kullanılmaktadır.

Proteinlerin su ve yağ tutma kapasitesi, gıda ürünlerinin tekstür özelliklerini belirlemek için son derece önemlidir. Su tutma kapasitesi, proteinlerin bağlayabileceği veya tutabileceği toplam su miktarının bir ölçüsü olarak tanımlanmaktadır. Üç boyutlu protein ağları, suyu fiziksel olarak hapsederler (Vioque vd., 2000; Bai vd., 2018; Biswas & Sit, 2020).

Kolza tohumu, soya, susam, arpa gibi bitkisel protein kaynakları üzerinde yapılan farklı çalışmalar, enzimatik hidrolizin su tutma kapasitesini artırdığını göstermiştir (Vioque vd., 2000; Ashaolu, 2020; Taha ve İbrahim 2002; Kanu vd., 2009; Demirhan ve Özbek 2013; Kotlar vd., 2013). Yulaf kepeği, yer fıstığı ve mısır gibi diğer protein kaynakları da enzimatik hidrolizin su tutma kapasitesini artırdığını bildirmiştir (Guan vd., 2007; Wouters vd., 2016). Birçok çalışma, protein hidrolizinin, muhtemelen polar iyonlaşabilen grupların daha yüksek mevcudiyeti nedeniyle su tutma kapasitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini göstermiştir. Ancak, hidroliz sonucu ortalama moleküler azalma, proteinin suyu fiziksel olarak tutma yeteneğini azaltabilir. Ayrıca, hidrofobik grupların daha yüksek mevcudiyeti, su tutma kapasitesini olumsuz etkilemektedir. Bu etkiler arasındaki denge, bir protein hidrolizatının genel su tutma kapasitesini belirlemektedir (Wouters vd., 2016).

Yağ tutma kapasitesi, protein tarafından tutulan yağ miktarını ifade eder. Toplam yağ tutma kapasitesi, protein ve yağ arasındaki hidrofobik etkileşimlerle bağlanan yağ ile protein matrisinde fiziksel olarak hapsolmuş yağın toplamıdır (Wouters vd., 2016).

Birçok araştırmacı, yağ tutma kapasitesinin hidrolizin sonucu olarak hidrofobik grupların artmasına bağlı olduğunu belirtmiştir. Ancak, bazı yazarlar, hidrolizin yağ tutma kapasitesinde başlangıçta bir artışa neden olduğunu, ancak daha kapsamlı hidroliz sonucunda yağ tutma kapasitesinin azaldığını gözlemlemiştir. Onlara göre, yağ tutma kapasitesi üzerinde hidrofobik bölgelerin artmasından daha büyük bir etkiye sahip olan polar iyonlaşabilen grupların serbest kalmasıyla ilgili kritik bir nokta bulunmaktadır (Chabanon vd., 2007; del Mar Yust vd., 2010; Taha & Ibrahim, 2002; Bao vd., 2017).

Köpükler, gaz kabarcıklarının sıvı veya katı bir sürekli fazla çevrili dispersiyonlarıdır. Gıda uygulamaları arasında bezeler, kekler, dondurmalar, köpürtülmüş sütlü içecekler, çırpılmış soslar ve muslar gibi birçok ürün için köpük oluşumu ve stabilitesi temel öneme sahiptir. Bu köpüklerin stabilizasyonunda genellikle proteinler gibi sürfaktanlar kullanılır. Proteinler, arayüzey gerilimini azaltarak, hizalayarak ve hava-su arayüzünde viskoelastik bir tabaka oluşturarak köpükleri stabilize edebilir (Liu vd., 2019; Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023)

Proteinlerin köpük stabilizasyonunda rol oynaması için gereken moleküler özellikler, emülsiyonların stabilizasyonunda gereken özelliklere benzerlik gösterir. Uygun amfifiliklik, esneklik, çözünürlük ve boyut gibi özelliklere sahip proteinler, kararlı köpüklerin oluşumunu sağlamak için önemlidir. Bu nedenle, enzimatik hidroliz genellikle köpük oluşumu özelliklerinin değiştirilmesi için kullanılan faydalı bir araçtır (Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023).

Çok sayıda protein, yapıları ve amfifilik özellikleri sayesinde emülsifiye edici (emülgatör) olarak faydalıdır. Süt, mayonez, soslar gibi su içinde yağ emülsiyonları veya margarin gibi yağ içinde su emülsiyonları gibi çeşitli gıdalar bu proteinler sayesinde oluşur. İdeal olarak, küçük emülgatör kaplı damlacıklar sürekli fazda homojen bir şekilde dağılır ve bir araya gelme ve ayrışmaya karşı dirençlidir (Damodaran, 2005).

Proteinler, arayüzey gerilimini azaltarak emülsiyonları stabilize eder ve böylece genel serbest enerjiyi düşürür. Proteinlerin hidrofobik ve hidrofilik özelliklerinin dengesi, emülgatör olarak etkinliklerini belirlemede önemlidir. Proteinler, su içinde iyi çözünebilmeli ve homojenleştirme sırasında hızlı bir şekilde yağ-su arayüzüne

göç ederek adsorbe olabilmelidir. Arayüzde yerleştikten sonra, proteinler yapısal olarak yeniden düzenlenebilir, böylece daha fazla hidrofilik bölge su fazına uzanırken daha fazla hidrofobik bölge yağ fazına uzanır (Chen vd., 2019; Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Emülsiyon stabilitesi, protein-protein etkileşimlerine bağlı olarak arayüzde güçlü bir viskoelastik tabaka oluşturmakla ilişkilidir. Aynı zamanda, elektrostatik itme, damlacık birleşmesi ve faz ayrışmasını önlemek için önemlidir. Genel olarak, çözünürlüğün yanı sıra, uygun bir hidrofobik ve hidrofilik bölge dengesi ve dağılımı gereklidir (McClements vd., 2019).

Proteinlerden türetilen hidrolizatlar, çeşitli biyoaktiviteler sergileyen antioksidan, antihipertansif, antikanser, antidiyabetik, antimikrobiyal, immünomodülatör ve kardiyometabolik özelliklere sahiptir. Kenevir tohumu, uzun bir tarih boyunca besleyici bir gıda olarak kullanılmıştır. Kenevir tohumu kekinden elde edilen biyoaktif hidrolizatlar, antihipertansif, antioksidan, antihipokolesterolemik, antiinflamatuar, nöroprotektif ve antikanserojenik aktiviteler gibi çeşitli biyoaktivitelere sahiptir (Zanoni vd., 2017; Samaei vd., 2021).

Han ve diğerleri (2021), yağlı tohumlardan (keten tohumu, kolza tohumu, ayçiçeği, susam ve soya fasulyesi) edilen biyoaktif peptidlerin in vitro antioksidan, antihipertansif ve antidiyabetik aktiviteler sergilediğini bildirmiştir. Öte yandan, sebze ve meyvelerden işlenme sonrası tohum ve çekirdekler (karpuz, nefes, şeftali, limon, portakal, üzüm, domates ve amaranth), güçlü biyoaktivitelere sahip peptitlerin mükemmel öncüleridir (Wen vd., 2020; Zanoni vd., 2017; Vásquez-Villanueva vd., 2019; Sánchez-López vd., 2021).

1.2 Tezin Amacı

Bu tez çalışmasının amacı, acı biber yağının soğuk pres yan ürünü ve yan ürününden izole edilen protein ve lifin karakterizasyonlarını belirlemek ve düşük yağlı soslarda yağ ikame potansiyellerini ortaya çıkarmaktır. Ayrıca geri kazanılan protein proteolitik aktiviteye sahip üç farklı proteaz (alkalaz, flavourzyme, savinaz) ile hidrolizi gerçekleştirilerek farklı enzimlerin proteini parçalanması üzerine etkisini belirlemeyi hedeflemektedir. Ardından, enzimatik hidroliz sonucu oluşan hidrolizatların fiziko-kimyasal özellikleri incelenmiştir. Hidroliz işleminin

teknolojik özelliklere (yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon aktivite ve stabilitesi) olan etkisi değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Acı biber, sunduğu besin değerleri ve biyoaktif bileşiklerin zenginliği nedeniyle birçok alanda kullanılmaktadır. Hem gıda, hem sağlık, hem de kozmetik sektörlerinde potansiyel bir bileşen olarak görülmektedir. Acı biberin içerdiği karbonhidrat, protein ve yağ oranları yanında, acı biber yağı da fenolikler, tokoller, fitosteroller ve aromatik bileşikler gibi biyoaktif bileşikler açısından zengindir. Soğuk sıkım işleminden sonra acı biber yağının yan ürünü, düşük yağlı emülsiyon üretiminde yağ ikame maddesi ve bir antioksidan ajan olarak kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu yan ürünün antibakteriyel, antioksidan ve anti-korozif özelliklere sahip olduğu da belirtilmiştir.

Atıktan geri kazanılan protein ve lifler, düşük yağlı soslarda yağın yerini alabilirler. Ayrıca, proteinlerin doğası gereği, enzimatik hidroliz sonucu elde edilen hidrolizatlar, antioksidan, antidiyabetik, antikanserojen vb. gibi biyoaktif özellikler gösterebilirler.

Enzimatik hidrolizle elde edilen bu hidrolizatlar, teknolojik ve fonksiyonel çeşitlilik sunabilirler, bu nedenle gıda, kozmetik, sağlık gibi pek çok sektörde kullanılabilirler. Acı biber ve ondan elde edilen yan ürünler, sürdürülebilir bir yaklaşımla daha geniş uygulamalar için bir fırsat sunmaktadır.

2
MATERYAL VE YÖNTEMLER

2.1 Materyal

Çalışma kapsamında kullanılan soğuk pres acı biber yağ yan ürünü (HPOB) Esenyurt, İstanbul'daki ONEVA Foods Company'den temin edilmiştir. Yan ürünler öğütüldükten sonra, analiz için ışık almayan kapalı polipropilen torbalarda 10 °C'de saklanmıştır. Salata sosu formülasyonlarında ayçiçek yağı, sirke ve tuz kullanılmış ve malzemeler yerel bir pazardan temin edilmiştir. Savinaz, alkalaz, flavourzyme, kapsaisin, dihidro-kapsaisin, sodyum hidroksit (NaOH), hidroklorik asit (HCl), ksantan gam (XG) ve yumurta sarısı tozu (EYP) ise Sigma-Aldrich (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) tarafından sağlanmıştır. Bu ürünler ise 25°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.1 HPOB (Acı biber yağı yan ürünü)

2.2 Yöntemler

2.2.1 Yan Ürünün Karakterizasyonu

2.2.1.1 Fizikokimyasal Analizler

HPOB numunesinin yağ içeriği AOAC 2003.05 (Aoac, 1990) standart yöntemi kullanılarak heksan ile Soxhlet yağ ekstraksiyonuyla analiz edildi. Yan ürünün yağ içeriği, hekzan kullanılarak bir Soxhlet ekstraksiyon sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu analiz için 500 ml'lik cam şişeler, iki saat boyunca 105 ± 2 ºC'de fırında sabit ağırlığa getirilmiştir. Ardından, öğütülmüş numuneler 10 gr tartılarak önce kaba filtre kağıdına daha sonra kaba filtre kağıdı kartuşuna yerleştirilmiştir. Kartuş, yağsız pamukla kaplanmıştır ve çözücünün numuneden taşmasını önlemek için kullanılmıştır. Kartuş, Soxhlet ekstraksiyon aparatına yerleştirilmiş ve 60 ºC'ye ayarlanmış ısıtma plakalarıyla solvent (heksan) eklenmiştir. Analiz 6 saatte tamamlanmıştır. Daha sonra çözücü damıtılarak uzaklaştırılmış ve şişeler 105 ºC'deki etüvde 1 saat inkübe edilerek kalan çözücü yağdan tamamen uzaklaştırılmıştır. Yağ içeriği aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$Yağ\ (\%) = ((M1 - M2)/m) * 100 \quad (2.1)$$

M1: Yağ+Cam şişe (sabit tartım)

M2: Cam şişe (sabit tartım)

m: Örnek miktarı

HPOB'nin nem, kül ve protein içerikleri için sırasıyla 934.01, 942.05 ve 990.03 standart AOAC yöntem numaraları kullanıldı. Numunelerin kuru madde içeriği, bir kurutma fırınında (FN 120, Nuve, Ankara, Türkiye) 105°C'de 4 saat kurutularak analiz edilmiştir. Kül içeriği numunelerin 550°C'de 6 saat yakılmasıyla belirlenmiştir.

Soğuk preslenmiş yan ürünün protein içeriği Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir. Yaklaşık 3 g numune tartılmış ve Kjeldahl şişesine yerleştirilmiştir. Daha sonra 25 mL konsantre H2SO4 ve 1 Kjeldahl tablet (potasyum sülfat (K_2SO_4), sodyum sülfat (Na_2SO_4), titanyum oksit (TiO_2) ve bakır sülfat (CuSO4) karışımı) eklenmiştir. Yakma işlemi, 2 saat boyunca 200-250 ℃ ve ardından 8 saat boyunca 350-400 ℃ sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Yakılan örneklerin rengi siyahtan şeffaf bir renge

dönüşmüştür. Numuneler soğuduktan sonra 5 ml %40 NaOH ve 3 ml %3 borik asit eklenmiş ve distilasyon başlatılmıştır (Behr Distillation Unit-S5, Almanya). 1 dakika damıtıldıktan sonra 0,1 N HCl ile titrasyon yapılmış ve harcanan HCl miktarı (ml) kaydedilmiştir. Yan ürünlerin toplam protein içeriği aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$Nitrojen\ (\%) = ((V1 - V0) * N * M)/m * 100 \quad (2.2)$$

$$Protein\ (\%) = Nitrojen\ (\%) * 6{,}25 \quad (2.3)$$

V1: HCl solüsyonunun harcanmış hacmi (ml)

V0: HCl solüsyonunun başlangıç hacmi (ml)

N: HCl solüsyonunun normalitesi (0.1)

M: Nitrojenin molar kütlesi (0.0014 g/100mol)

m: Numunenin kütlesi (g)

Ham lif tayini de standart yöntem kullanılarak gerçekleştirildi (Aoac, 1990).

2.2.1.2 Antioksidan Aktivite

HPOB'nin ekstraksiyonu için 1:10 (w:v) oranında metanol-su karışık solüsyonu kullanıldı. Karışımın metanol ve su oranı 8:2 olarak ayarlandı. Ekstraksiyon işlemi için T-25 Ultra-Turrax (Ika Labortechnik, Stauden, Almanya) kullanılarak 10.000 devir/dakika hızında 3 dakika süreyle homojenize edilmiştir. Bu işlem, karışımın daha iyi karışmasını ve HPOB'un ekstrakte olmasını sağlamak için yapıldı. Karışım, daha sonra 25°C'de 2,5 saat boyunca çalkalanmıştır. Ekstraksiyon prosedüründen sonra, çözelti Universal 320 santrifüj (Hettich, Almanya) adlı bir santrifüj cihazı kullanılarak 5 dakika boyunca 3311 g (yerçekimi) hızında santrifüj edildi. Bu işlem, çözeltiyi katı ve sıvı bileşenlere ayırmak ve HPOB'un süpernatant denilen üst tabakada kalmasını sağlamak için yapıldı. Son olarak, süpernatant 0,20 µm'lik bir filtreden (Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Almanya) geçirilmiştir. Bu filtre, çözeltideki katı partiküllerin ayrılmasını ve sadece çözeltinin geçmesini sağlamak için kullanılmıştır. Ekstrakt daha fazla analiz için -18°C'de saklandı. Bu düşük sıcaklık, ekstraktın stabilitesini korumasına ve analiz için daha ileri bir tarihte kullanılabilmesine olanak sağlar.

(Singleton & Joseph A. Rossi, 1965) yöntemine göre modifiye edilerek HPOB'nin metanol ekstraktlarının toplam fenolik içeriği (TPC) belirlenmiştir. Bu amaçla Folin-Ciocalteu'nun fenol ayıracı kullanıldı. Ölçüm için bir spektrofotometre (Agilent 8453E UV-VIS spektroskopi sistemi) kullanıldı ve ölçümler 760 nm'de gerçekleştirildi. Sonuçlar, gallik asit eşdeğeri (mgGAE/100g) olarak ifade edildi.

Metanol ekstraktlarının DPPH serbest radikal temizleme kapasitesi, Shimada ve Fujikawa tarafından geliştirilen bir yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntem, bir spektrofotometre olan Agilent 8453E UV-vis spektroskopi sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçümler, 517 nm dalga boyunda yapılmıştır. Antioksidan kapasite sonuçları, DPPH· radikalinin inhibisyon yüzdesi olarak ölçülmüştür. Ölçülen inhibisyon yüzdesi, DPPH· radikaline karşı antioksidanların ne kadar etkili olduğunu gösterir. Yüksek inhibisyon yüzdesi, daha güçlü bir antioksidan aktiviteyi ifade eder.

Metanol ekstraktının antioksidan kapasitesi CUPRAC yöntemi kullanılarak $CuCl_2$, Neocuproine (Nc) ve NH_4Ac çözeltisi hazırlanmıştır (Apak vd., 2006). Ekstrakt üzerine distile su eklenerek örnek inkübe edildi ve 450 nm'de absorbans ölçüldü. Antioksidan kapasite sonuçları mg Trolox/100 g olarak rapor edildi.

2.2.1.3 Toplam Karotenoid Analizi

Toplam karotenoid tahlili için daha önce (Lu vd., 2018) tarafından hafif bir modifikasyonla önerilen yöntem izlenmiştir. Karotenoidlerin ekstraksiyonu için ilk olarak 1 g HPOB, %0.1 BHT ve 0.5 g NaCl içeren 50 mL heksan/aseton/etanol çözeltisine çözündürüldü. Karışım 20 dakika boyunca karıştırıldı. 15 mL distile su eklenerek karışıma ilave edildi ve 15 dakika daha karıştırıldı. Karışımın organik fazı ayrıldı ve süzüldü. Spektroskopik ölçüm 450 nm'de yapıldı. Toplam karotenoid miktarı, aşağıdaki Denklem (2.4) kullanılarak hesaplandı:

$$Toplam\ karoteneid\ miktarı\ (\mu g/g) = \frac{A \times V \times 10^4}{E_{1cm}{}^{1\%} \times M} \qquad (2.4)$$

Burada: A = 450 nm'de ölçülen absorbanstır, V = ekstraksiyon hacmi (L), $E_{1cm}{}^{1\%}$ = β-karotenin hekzan içindeki molar absorpsiyon katsayısıdır, M = HPOB'nin ağırlığıdır.

2.2.1.4 Fenolik Bileşen Analizi

Spesifik fenolik bileşiklerin analizi için HPLC (yüksek performanslı sıvı kromatografisi) tekniği kullanıldı. Analizlerde, HPLC-DAD (Diyot Dizisi Dedektörü) özelliğine sahip bir HPLC sistemi (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonya) kullanıldı. Analize tabi tutulmadan önce TPC özleri, 0.45 µm'lik bir zar filtreden (Shimadzu Corp., Kyoto, Japonya) geçirildi. Bu filtrasyon adımı, numunelerin partiküllerden arındırılmasını sağlamak için yapıldı. Ayırma işlemleri, 250 mm uzunluğunda ve 5 µm partikül boyutuna sahip ters fazlı bir kolonda (Intersil® ODS C-18, GL Sciences, Tokyo, Japonya) gerçekleştirildi. Analizler, 40°C'de yapıldı. Mobil faz olarak, Solvent A (%0.1 (v/v) asetik asit ile damıtılmış su) ve Solvent B (%0.1 (v/v) asetik asit ile asetonitril) seçildi. Analiz, %10 B ile başlayan ve 2 dakika süren gradyan elüsyonu ile başladı. Daha sonra Solvent B'nin konsantrasyonu %27'ye kadar 27. dakikaya, %50'ye kadar 50. dakikaya, %60 dakikaya kadar %90'a ve ardından başlangıç koşullarına geri dönmek için %100'e kadar yükseltildi. Elüsyon hızı 1 ml/dk olarak seçildi.

Kromatogramlar, 254 nm ve 356 nm arasındaki değerleri ölçüldü. Fenolik bileşikler, elüsyon süreleri ve standart maddeler kullanılarak tanımlandı ve miktarları ölçüldü. Fenolik içerik değerleri mg/L olarak rapor edildi. Fenolik bileşiklerin analizi ve miktarlarının belirlenmesi için (Kayacan vd., 2020) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.

2.2.1.5 Kapsaisin ve Dihidrokapsaisin GC-MS Analizi

Kapsaisin ve dihidrokapsaisin'in GC-MS analizi için (Peña-Alvarez vd., 2012)tarafından uyarlanan bir yöntem kullanıldı. Bu yöntemde Restec Rtx-5MS erimiş silika kılcal kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm) kullanıldı. Analiz sürecinde öncelikle 1 dakika boyunca 40 °C'de ısıtma işlemi gerçekleştirildi. Daha sonra sıcaklık 300 °C'ye yükseltilerek 10 dakika boyunca 300 °C'de sabit tutuldu. Enjeksiyon işlemi için sıcaklık 260 °C, tespit ise 280 °C'de gerçekleştirildi. Helyum gazı, taşıyıcı gaz olarak kullanılarak akış hızı 1 mL/dk olarak ayarlandı. Numune, bölmesiz modda GC'ye enjekte edilirken, 3 dakikalık bir çözücü gecikmesiyle bir mikrolitre kullanıldı. Kütle spektrumları, m/z (kütle/yük oranı) 35 ila 650 arasında ve 70 eV iyonizasyon enerjisinde toplandı. Kapsaisin ve dihidrokapsaisin'in kimlikleri, NIST27 ve WILEY27 kütle spektrumu kitaplıklarında bulunan deneysel

kütle spektrumları ile karşılaştırılarak belirlendi ve ölçüldü. Ayrıca, standart kapsaisin ve dihidrokapsaisin çözeltilerinin kromatografik zirveleri elde edildi. Bu yöntem kullanılarak kapsaisin ve dihidrokapsaisin'in GC-MS analizi gerçekleştirildi ve bu bileşiklerin varlığı ve miktarları belirlendi.

2.2.1.6 Yağ Asit Bileşimi

Ekstrakte edilen yağ numunelerinin yağ asidi bileşimi, (Yalcin vd., 2011) tarafından açıklanan yönteme göre yağ asidi metil esteri (FAME) kullanılarak belirlenmiştir. İşlem aşağıdaki adımları içermiştir: Numuneler, 6 saat boyunca Soxhlet ekstraksiyon sistemi kullanılarak heksan ile yağ ekstraksiyon prosedürüne tabi tutulmuştur. Elde edilen yağ numuneleri yağ asidi metil esterlerine dönüştürmek için bir transesterifikasyon işlemine tabi tutulmuştur. GC (Gaz Kromatografisi) analizi için, Agilent 6890 modeli bir GC kullanılmıştır. Analizde HP-88 kolonu (100 × 0.25 mm i.d.) kullanılmıştır. Analiz için, numuneler FID (Flame Ionization Detection) dedektörü kullanılarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyon bloğu sıcaklığı 250°C'ye ayarlanmıştır. Fırın sıcaklığı, önce 103°C'de 1 dakika tutulmuş, ardından 6,5°C/dk hızla 170 °C'ye ve 12 dakika boyunca 2,5 °C/dk hızla 170 °C'den 230 °C'ye ısıtılmıştır. Son olarak, 230°C'de 5 dakika tutulmuştur. Helyum gazı, 2 mL/dk akış hızıyla taşıyıcı gaz olarak kullanılmıştır. Bölünme oranı (split ratio) ise 1/50 olarak belirlenmiştir. Bu yöntem kullanılarak yağ asidi bileşimi, GC analiziyle belirlenmiştir.

2.2.2 HPOB'nin Salata Sosunda Kullanımı

Tekin ve Karasu [9] tarafından özetlenen hazırlama yöntemi kullanılarak, salata sosu örnekleri oluşturuldu. İlk olarak, %0,35 oranında XG (ksantan gamı) suda 25°C'de dağıtıldı. Elde edilen dispersiyon, 80°C'ye ısıtılarak 20 dakika boyunca karıştırıldı. HPOB ve tuz eklenmesinin ardından karışım 25°C'ye soğutuldu. KG'nin tamamen hidratlanması için malzemeler manyetik karıştırıcıda 1000 rpm'de 6 saat boyunca karıştırıldı.

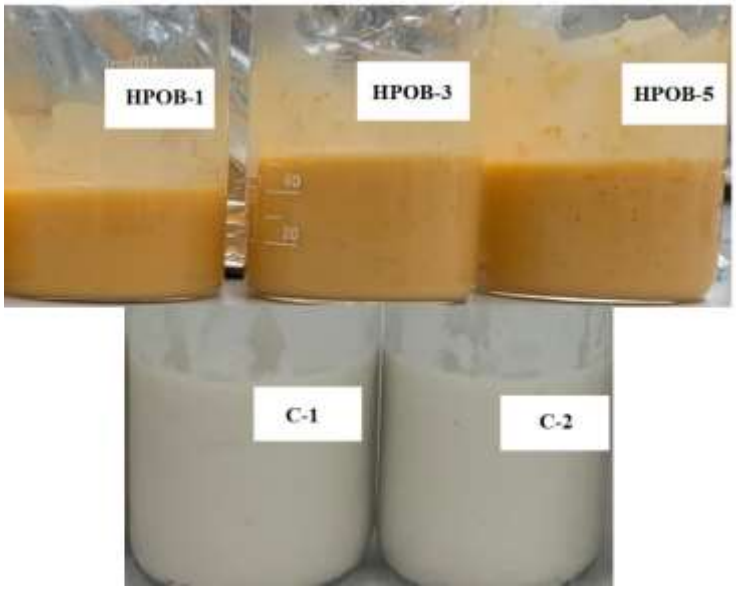
Homojenizasyon sağlamak için, 10.000 devirde 3 dakika boyunca ayçiçek yağı ve EYP (yumurta sarısı tozu) (%3) Ultra Turrax (Daihan, HG15D) kullanılarak karışıma eklenmiştir. Elde edilen salata sosu 65°C'de 10 dakika süreyle pastörize edildi. Daha sonra homojenizasyon işlemi gerçekleştirildi ve 25°C'ye kadar

soğutuldu. Aynı prosedürler, kontrol salata sosu örneği için de uygulandı. Kontrol numuneleri (C1 ve C2) ise sırasıyla %10 ve %30 oranında ayçiçek yağı ile formüle edildi. Tüm kontrol numuneleri %0,35 XG (ksantan gamı) ve %3 EYP (yumurta sarısı tozu) içermektedir. (Tablo 2.1).

Tablo 2.1 Salata sosu formülasyonu

	Su (%)	**Yağ (%)**	**HPOB (%)**	**Sirke (%)**	**EYP (%)**	**Tuz (%)**	**KG (%)**
C-1	58,65	30	-	7	3	1	0,35
C-2	78,65	10	-	7	3	1	0,35
HPOB-1	77,86	10	1	7	3	1	0,35
HPOB-3	75,65	10	3	7	3	1	0,35
HPOB-5	73,65	10	5	7	3	1	0,35

HPOB: Acı biber yağı yan ürünü. C1: %30 yağlı salata sosu (tam yağlı). C2: %10 yağlı salata sosu (az yağlı).



Şekil 2.2 Elde edilen salata sosu görselleri

2.2.3 Salata Sosunun Analizleri

2.2.3.1 Reolojik Analizleri

Salata soslarının reolojik analizleri, sıcaklık kontrollü bir reometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analizler, akış davranışı, dinamik reoloji, 3ITT reolojik özellikleri ve emülsiyon stabilitesi gibi faktörleri değerlendirmek için yapılmıştır.

Analizlerde, paralel bir plaka konfigürasyonu ve reometre probu kullanılmıştır. Numune plakası ile reometre probu arasında 0-100 kesme hızı (1/s) aralığında 0,5 mm'lik bir boşluk oluşturulmuştur. Analizler 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Analizlerin başlangıcında, numune plakasını desteklemek için 2 g numune yerleştirilmiştir. Daha sonra kayma hızına karşılık gelen kayma gerilimi değerleri belirlenmiştir. Bu değerler, salata soslarının akış davranışı ve reolojik özelliklerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Akış davranışı ve reolojik özellikler, salata soslarının karakterizasyonu için önemli bilgiler sağlar. Bu parametreler, salata soslarının viskozite, akış hızı ve deformasyon özellikleri gibi faktörlerini değerlendirmeye yardımcı olur. Power Law modeli, bir sıvının akış davranışını tanımlamak için kullanılan bir reolojik modeldir. Bu model, akış hızıyla kayma stresi arasındaki ilişkiyi ifade eder. Power Law modeli, genellikle salata sosları gibi yoğun sıvıların akış özelliklerini anlamak için kullanılır. Doğrusal olmayan regresyon yöntemi ise, belirli bir matematiksel modelin verilere en iyi uyum sağlayacak şekilde parametrelerini hesaplamak için kullanılan bir istatistiksel yöntemdir. Akış davranışı modellerinin parametrelerini hesaplamak için Power Law modeli kullanılmıştır.

Bu parametrelerin hesaplanması, salata soslarının akış özelliklerini anlamamıza ve ürün formülasyonunda optimize edilmiş reçeteler geliştirmemize yardımcı olur. Aynı zamanda, üretim süreçlerinin tasarımında ve ürün kalitesinin kontrolünde de önemli bir rol oynar.Ayrıca, emülsiyon stabilitesi de termal döngü testi ile değerlendirilmiştir. Bu analizler, salata soslarının reolojik özelliklerini ve akış davranışını anlamak ve ürün kalitesini belirlemek için kullanılan standart yöntemlerdir.

$$\tau = K \times \gamma^{n} \tag{2.5}$$

Denklem (2.5)'de τ, kayma gerilimini (Pa) temsil eder. K, kıvam indeksini (Pa·s^n) ifade eder. γ, kayma hızını (1/s) temsil eder. n ise akış davranış endeksini gösterir. Bu denklem, akış davranışını tanımlayan Power Law modelinin bir formülasyonudur. Kıvam indeksi, sıvının viskozitesini ve akış davranışını belirleyen bir parametredir. Kayma hızı, sıvının içindeki deformasyon oranını temsil eder. Akış davranış endeksi ise sıvının akış özelliklerini belirleyen bir parametredir. Denklem (2.5), bu parametreleri kullanarak kayma gerilimi (τ) ile kayma hızı (γ) arasındaki ilişkiyi ifade eder. Bu denklem, sıvının akış davranışını analiz etmek ve reolojik özelliklerini karakterize etmek için kullanılır.

Numuneler, paralel plakalar üzerinde dinamik bir reolojik özellikleri belirlenmiştir. Bu inceleme, lineer viskoelastik bölgeyi (LVR) değerlendirmeyi içerir. İlk olarak, %0,1 gerinim değeriyle amplitüd tarama testi gerçekleştirilerek LVR belirlenir. Bu test, numunenin davranışının doğrusal olduğu ve viskoelastik özelliklerinin incelenebileceği bir gerinim aralığını belirlemek için yapılır. Daha sonra, frekans taraması ölçümü gerçekleştirilir. Bu ölçüm, LVR'de 0,1 ila 64 (ω) açısal hızlar ve 0,1 ila 10 Hz arasında frekanslarla yapılır. Bu şekilde, numunenin frekansa bağlı olarak nasıl davrandığı incelenir. Dönme hızı ve frekansına ek olarak, depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G″) belirlenir. Depolama modülü, numunenin elastik özelliklerini temsil ederken, kayıp modülü, numunenin viskoz özelliklerini temsil eder. Bu modüller, numunenin reolojik özelliklerini karakterize etmek için önemli parametrelerdir. Sonuçlar Power Law modeli ve doğrusal olmayan regresyon yöntemleri kullanılarak değerlendirilmiştir (Akcicek vd., 2022).

$$G' = K'(\omega)^{n'} \tag{2.6}$$

$$G'' = K''(\omega)^{n''} \tag{2.7}$$

Denklem (2.6) ve (2.7)'de, G' (Pa) depolama modülünü, G″ (Pa) kayıp modülünü, ω açısal hız değerini (1/s) ve K', K″ ve tutarlılık indeksi değerlerini n' akış davranış indeksi değerlerini temsil eder.

Salata sosu numuneleri için 3-ITT (Tiksotropik Testi) reolojik özellikleri hesaplanmıştır. Bu testte, örneklerin belirli kesme hızlarında nasıl davrandığı değerlendirilir. İki farklı kesme hızı kullanılmıştır: 0,5 s^{-1} sabit bir kesme hızı ve

150 s^{-1} değişken bir kesme hızı. Değerler seçilirken, örneklerin lineer viskoelastik bölgesinde (LVR) olduğu ve 50 s-1'de durduğu dikkate alınmıştır. Bu şekilde, numunenin doğrusal davranışının değerlendirilebileceği bir kesme hızı aralığı belirlenmiştir. Salata sosu numuneleri, ilk zaman diliminde çok düşük bir kesme hızında (0,5 s-1) tabi tutulmuştur. İkinci zaman diliminde ise 40 s boyunca, 150/s kesme hızına maruz bırakılmıştır. Üçüncü zaman diliminde ise, ikinci zaman aralığındaki dinamik reolojik davranışın değerlendirilmesi için mütevazı bir kesme hızında yapılan ilk zaman aralığı bulunmaktadır. Bu şekilde, numunelerin farklı kesme hızlarında nasıl davrandığı ve reolojik özelliklerinin nasıl değiştiği değerlendirilmiştir.

$$[\frac{G' - G_e}{G_0 - G_e}]^{1-n} = (n-1)k \times t - 1 \quad (2.8)$$

Denklem (2.8)'te G' (Pa)'daki depolama modülünü temsil eder, k tiksotropik oran sabitidir, G0 üçüncü zaman aralığındaki bir ilk depolama modülü değeridir (Pa) ve Ge denge depolama modülüdür (ürün tamamen kendini toparlar) (Toker vd., 2015).

2.2.3.2 Emülsiyon Stabilitesinin Belirlenmesi

Termal döngü testi, su içindeki yağ emülsiyonlarının emülsiyon stabilitesini değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir (Tekin vd., 2020). Bu test, yüksek (23 ila 45 °C) ve düşük (5 ila 23 °C) sıcaklıklara maruz kalan emülsiyonların yapısal değişikliklerini tespit etmek ve üretim, dağıtım, depolama ve nakliyedeki sıcaklık farklılıklarını taklit etmek için kullanılır. Emülsiyon numuneleri belirli bir sıcaklık aralığında tekrarlayan termal döngülere tabi tutulmuştur. Döngülerde, emülsiyonlar farklı sıcaklıklara maruz kalır. Bu sıcaklık dalgalanmaları, gerçek kullanım koşullarını taklit etmeyi amaçlar. değeri ve açısal frekans belirli değerlere (örneğin, %0,5 gerinim ve 10 Hz frekans) ayarlanır. Soğutma ve ısıtma hızları 11 K/dakika olarak ayarlanır. Bu şekilde, emülsiyonun sıcaklık değişimlerine nasıl tepki verdiği ve emülsiyon stabilitesinin nasıl etkilendiği değerlendirilmiştir.

2.2.3.3 Zeta Potansiyel ve Damlacık Boyutunun Belirlenmesi

Salata sosu numuneleri (Nanosizer, Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere) cihaza yerleştirilerek, lazer ışığı kullanılarak parçacık boyutu ve dağılımı (ζ-) potansiyeli analiz edilmiştir. Bu cihaz, elektroforez ve dinamik ışık saçma ölçümü prensiplerine dayanır. Öncelikle, numuneler ultra saf su ile seyreltildi ve

ultrasonik bir su banyosunda homojenleştirildi. Bu adımlar, numunelerin daha iyi dağılmasını ve parçacıkların daha doğru bir şekilde ölçülmesini sağlar. Zeta potansiyeli değerleri her numune için iki kez ölçüm yapılarak ortalama değerler ile standart sapmaları belirlenmiştir. Zeta potansiyeli, yüklü parçacıkların elektroforetik hareketini ölçen bir ölçüttür. Bu ölçüm, parçacıkların yüzey yükünü ve dağılımını belirlemeye yardımcı olur.

Damlacık boyutu ölçümü ise dinamik ışık saçma prensibine dayanır. Bu ölçüm, parçacıkların ışığı nasıl saçtığını analiz ederek parçacık boyutunu hesaplar. Bu veriler, numunelerin sürekli fazındaki yağ parçacıklarının özelliklerini değerlendirmeye yardımcı olur.

2.2.3.4 Optik Mikroskop Görüntüleri

Termal döngü testinden önce ve sonra emülsiyonların morfolojisi, bir ışık mikroskobu (Olympus BX41, Tokyo, Japonya) kullanılarak incelenmiştir. Bu inceleme, emülsiyonların yapısal değişikliklerini gözlemlemek ve emülsiyon stabilitesini değerlendirmek amacıyla yapılmıştır. İlk olarak, bir mikroskopi camına bir damla salata sosu numunesi konulup bir lamel ile kapatıldı. Daha sonra, mikroskop altında numunenin çeşitli bölgeleri incelendi. 100x büyütme kullanılarak detaylı bir gözlem yapıldı. Gözlem sırasında, emülsiyonun damlacık boyutu, dağılımı ve homojenliği dikkate alınır. Ayrıca, emülsiyonun stabilitesi için kayma bölgeleri ve birleşme noktaları gözlemlenir. Bu şekilde, emülsiyonun yapısı ve stabilitesi hakkında bilgi edinilir. Mikroskobik inceleme, termal döngü testi öncesinde ve sonrasında emülsiyonların morfolojik değişikliklerini belirlemeye yardımcı olur. Bu değişiklikler, emülsiyonun sıcaklık stresine nasıl tepki verdiğini ve stabilitesini nasıl etkilediğini gösterir.

2.2.3.5 Oksidatif Stabilite Analizi

OXITEST cihazı (Velp Scientifica, Usmate, MB, İtalya) kullanılarak gıda numunesine kontrollü bir oksidasyon süreci uygulanması ile numunedeki lipidlerin oksidasyon derecesi ve stabilitesini ölçülmüştür.

Bu cihaz, hızlandırılmış oksidasyon testleri yapmak için kullanılır ve numunelerin redoks kararlılığını değerlendirmeye yardımcı olur. Test için, bir numune (20 g) OXITEST cihazının yuvasına yerleştirildi. Test sırasında 6 bar basınç ve 90 °C

sıcaklık kullanıldı. İndüksiyon periyodu numarası (IP), numunenin oksidasyon direncini gösteren bir değer olarak hesaplanmıştır.

Uçucu lipid peroksidasyon bileşiklerinin tespiti için, (Shi vd., 2020) yöntemi baz alınmıştır, ancak küçük değişiklikler yapılmıştır. Öncelikle, sıcak numuneler 20 mL'lik üst boşluk şişelere aktarıldı. Şişeler 60 °C'ye ısıtıldı ve 15 dakika süreyle bu sıcaklıkta bekletildi. Ardından, SPME (Solid Phase Microextraction) fiber kullanılarak (30/50 μm DVB/CAR/PDMS SPME fiber takımı, Supelco, Bellefonte, PA, ABD) şişenin üst boşluğuna 60 °C'de 30 dakika boyunca maruz bırakıldı. Bu süre boyunca SPME fiber, salata sosundan uçucu bileşikleri emerek adsorbe etti. Son olarak, SPME fiberi, 5 dakika süreyle 250 °C'de GC (Gaz Kromatografisi) enjeksiyon portuna yerleştirildi. Bu adımda, adsorbe edilen uçucu bileşikler GC analizi için enjeksiyon portuna aktarıldı ve analiz sürecine hazır hale getirilmiştir. GC-MS analizi için kullanılan çalışma koşulları şu şekildedir: Örnek öncesi ısıtma aşaması 40 °C'de 3 dakika, ardından sıcaklık 5 °C/dakika hızla 90 °C'ye ve 10 °C/dakika hızla 230 °C'ye yükseltildi. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı ve akış hızı 1 mL/dakika olarak ayarlandı. İyon kaynağı olarak EI (Elektron İmpaktı) kullanılarak iyon kaynağı sıcaklığı 200 °C'ye ayarlandı. Kütle spektrumları m/z 35 ila 650 arasında 70 eV iyonizasyon enerjisiyle toplandı. Deneysel kütle spektrumları, NIST27 ve WILEY27 kütle spektrum kitaplıklarındaki lipid peroksidasyon ürünlerinin kütle spektrumlarıyla karşılaştırılarak analiz edildi.

2.2.3.6 Duyusal Analiz

Salata sosu örneklerinin duyusal özellikleri, 10 yarı eğitimli panelist tarafından 5 noktalı bir hedonik teste dayalı olarak belirlenmiştir. Panelistler, akademisyenler ve öğrenciler de dahil olmak üzere seçildi ve duyusal nitelikler konusunda kısa bir eğitim aldılar. Duyusal özelliklerin değerlendirildiği parametreler şunlardır: görünüm, renk, tat, sürülebilirlik, doku ve genel kabul edilebilirlik. Örnekler rastgele üç basamaklı numaralarla etiketlendi ve panelistlere beyaz plastik kaplarda çay kaşığı ile sunulmuştur.

Hedonik değerlendirme, panelistlerin her bir örneği sıralamasını gerektiren bir ölçektir. Bu ölçekte 1 en düşük puanı (beğenilmeyen) ve 5 en yüksek puanı (beğenilen) temsil eder. Panelistler, örneklerin görünüm, renk, tat, sürülebilirlik,

doku ve genel kabul edilebilirlik açısından nasıl değerlendirildiğine karar verirler. Bu şekilde, her bir örneğin duyusal özellikleri belirlenmiştir.

2.2.4 Protein ve Lif İzolasyonu

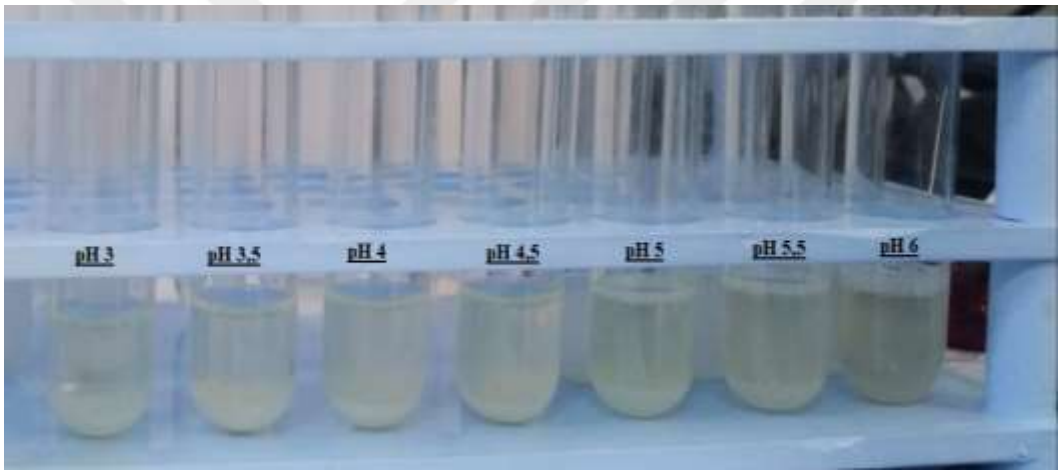
HPOB'den lif ve protein izolasyonu (Li vd., 2021; Twarogowska vd., 2020) yöntemlerinin modifikasyonu ile yapılmıştır. İlk olarak HPOB 1:15 oranında seyreltilmiş kontrol örnek pH 12'de 1 saat boyunca 60°C'de karıştırılmıştır.

Kontrol örneğin dışında yanıt yüzey metodu ve tüm faktöriyel merkezi komposite dizayn kullanılarak ultrases gücü (W) ve sürenin (dk) 1:15 seyreltilmiş örneklerinin protein (%) üzerine etkisi araştırılmış ve maksimum protein değerine göre optimum formülasyon belirlenmiştir. Ultrases işlemlerinde sıcaklık 60°C'de sabit tutulmuştur. Design expert software (Version 7 Stat-Easy Co., Minneapolis, MN, USA) programı kullanılarak 9 farklı deneysel nokta elde edilmiştir (Tablo 2.2). Çözünür protein içeriği Kjeldahl yöntemiyle belirlenmiştir. Protein örneği maksimum çözünür protein baz alınarak belirlenen optimum ultrases koşulunda üretilmiştir. Protein verimi ise başlangıç HPOB miktarından elde edilen HPOB protein miktarı çıkarılıp başlangıç HPOB'ya bölünmesi ile bulunmuştur. 100 ile çarpılıp % protein verim şeklinde ifade edilmiştir. HPOB'den protein velifin geri kazanımı Şekil 2.4'te verilmiştir.

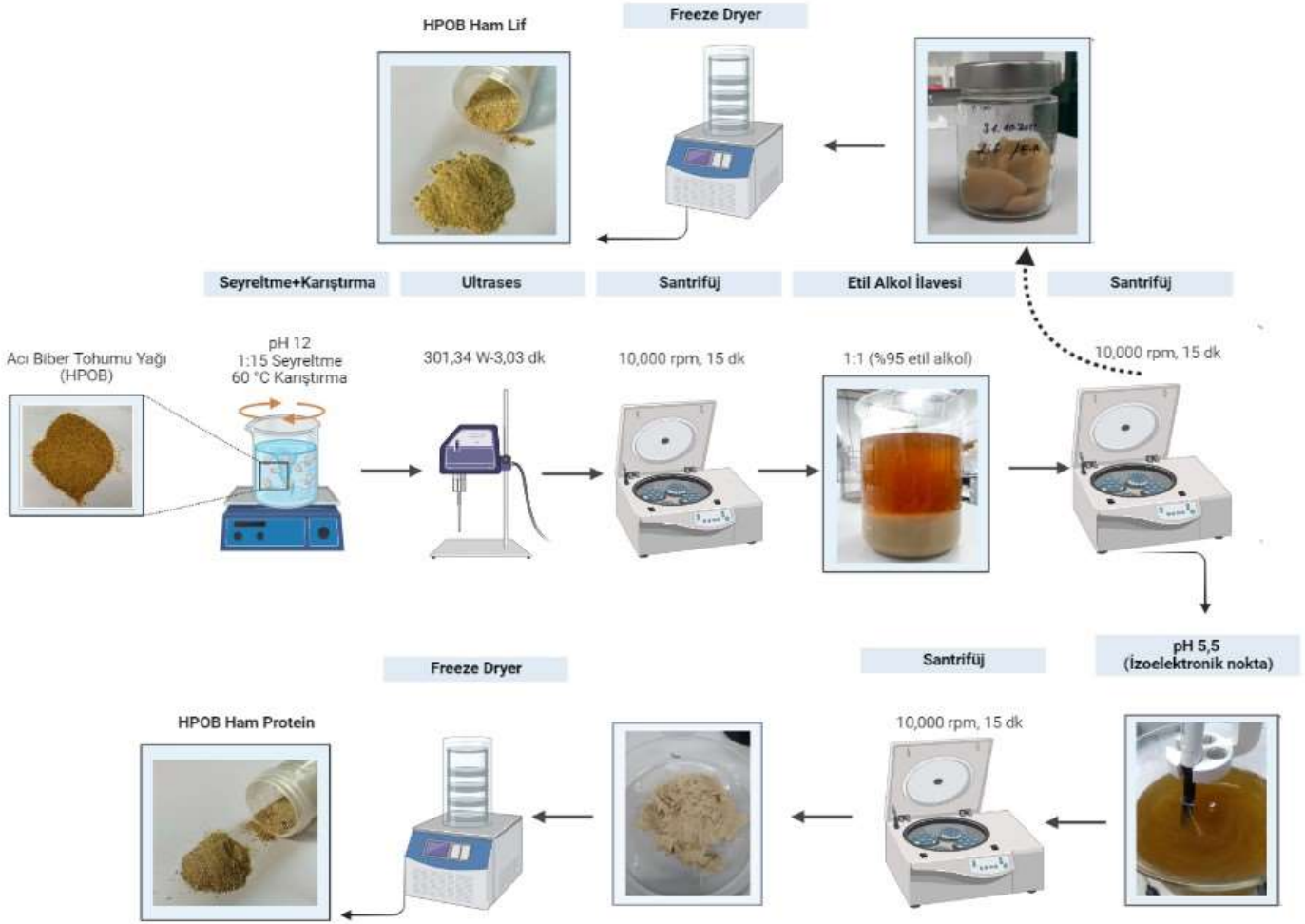
Tablo 2.2 Deneysel tasarım matrisi

Deneme	**Güç (W)**	**Süre (dk)**
Kontrol	0	60
1	300	3
2	300	5
3	300	7
4	400	3
5	400	5
6	400	7
7	500	3
8	500	5
9	500	7

Karışım daha sonra 25°C'de 10.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek çöken kısım uzaklaştırılmıştır. Elde edilen sıvı kısma 1:1 oranında %95 etanol eklenmiş ve tekrar 10.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek çökeltme işlemi uygulanmıştır. Bu işlem sonucunda ham lifler ayrıştırılmış ve liyofilize edilmek üzere muhafaza edilmiştir. Santrifüj sonrası geriye kalan sıvı kısımın zeta potansiyelinin 0 olduğu pH değeri belirlenmiştir (Şekil 2.3). Proteinlerin izoelektrik noktasının pH 5,5 olduğu tespit edildikten sonra, proteinler 10.000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek çökeltilmiştir. Proteinler ve lifler (Martin Christ GmbH, Beta 1-8 LSCplus, Almanya) dondurarak kurutma cihazı ile liyofilize edilmiştir. Liyofilizasyon, suyun donmuş örnekten doğrudan gaz fazına dönüşerek buharlaşmasını sağlayan bir kurutma işlemidir, böylece örneklerin uzun süreli muhafazası sağlanmıştır.



Şekil 2.3 HPOB izoelektronik nokta belirleme



Şekil 2.4 HPOB protein ve ham lif üretimi

2.2.5 Proteinlerin Enzimatik Hidrolizi

HPOB proteinin enzimatik hidrolizi için Flavorzyme (50°C, pH: 7), alkalaz (60°C, pH: 8) ve savinaz (50°C, pH: 9) enzimleri kullanılmıştır. İlk olarak protein örnekleri %5 (w/v) çözelti halinde çözündürüldü. Oluşan çözelti, kullanılacak enzime bağlı olarak uygun sıcaklık ve pH değerine ayarlanmıştır. Karışım, 1 saat boyunca oda koşullarında 250 rpm'de karıştırıldı. Proteinlerin tamamen hidrate olabilmesi için karışım, 4°C'de 12 saat boyunca buzdolabında bekletilmiştir. Enzim-substrat oranı 1/100 (w/w) olacak şekilde enzim eklenerek hidroliz reaksiyonu başlatılmıştır. Hidroliz işlemi, 240 dakika (dk) boyunca devam etti. Enzim inaktivasyonu için karışım, 95°C'de 10 dakika boyunca ısıtıldı. Karışım, 15.000 rpm'de 30 dakika süreyle 4°C'de santrifüj edilmiştir. Hidrolizat solüsyonları, -80°C'de 24 saat boyunca dondurulduktan sonra dondurarak kurutucuda toz haline getirildi. Elde edilen numuneler, desikatörde 4°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.5 Elde edilen protein ve protein hidrolizatları

2.2.6 % Hidroliz Derecesinin Belirlenmesi

Hidroliz derecesini ölçmek için pH-stat yöntemi kullanılmıştır. pH stat metodu, hidroliz anında proteinlerin parçalanmasından dolayı açığa çıkan hidrojen iyonlarının oluşumu nedeniyle değişen pH değerini sabitleştirmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde hidroliz derecesi, hidroliz reaksiyonu sırasında salınan protonların otomatik titrasyonu sırasında ortama eklenen baz miktarının ölçülmesi temeline dayanmaktadır. Bu nedenle titrasyon işlemi 10. dk, 20. dk, 30. dk, 40. dk, 50. dk, 60. dk, 90. dk, 120. dk, 180. dk, 210. dk ve 240. dk'larda gerçekleştirilmiş ve ortaya çıkan baz tüketimi kaydedilmiştir. Titrasyon, 0,1 N NaOH çözeltisi ile pH metre (Mettler Toledo, S210, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hidroliz derecesi, bir protein veya peptit içerisindeki peptit bağlarının ayrılma oranını ifade eder.

Hidroliz derecesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\%HD = hx100 / htot = BxNbx100 / \alpha xMpxhtot \quad (2.9)$$

HD: % Hidroliz derecesi

B: Baz miktarı

Nb: Baz normalitesi

α: -NH gruplarının ortalama ayrılma sabiti

Mp: Protein miktarı (g)

htot: Toplam peptid bağları (meqv/g protein)

2.2.7 Protein/Hidrolizat ve Lif Analizleri

2.2.7.1 Çözünürlülük

Hidrolizat, protein ve lif örneklerinin çözünürlüğü, (Klompong vd., 2007)'e göre bazı modifiyelerle yapılmıştır. Önce 200 mg örnek 5 mL distile su ile karıştırılarak 6 N NaOH ile pH 7'ye ayarlandı ve son hacim distile su ile 20 mL'ye tamamlandı. Çözelti oda sıcaklığında homojen bir çözelti haline gelene kadar karıştırıldı. Daha sonra 9000 g'de15 dakika santrifüj edildi. Liyofilize edilerek geri kalan protein miktarı tartıma alındı ve % çözünürlülüğü hesaplandı (Denklem 2.10).

$$\%Çözünürlülük = 100 * (Vb - Vs / Vb) \quad (2.10)$$

2.2.7.2 Yağ Bağlama Kapasitesi

Örneklerin yağ bağlama kapasitesini belirlemek için (Tomotake vd., 2002) belirttiği yöntem kullanılmıştır. Hidrolizat, protein ve lif numuneleri (50 mg), 1,5 mL'lik bir santrifüj tüpünde ayçiçek yağı ile karıştırılmıştır. Karışım 30 dakika süresince oda sıcaklığında bekletilirken 10 dakikada bir vorteks karıştırıcıda (Weightlab WN-V2800, Weighlab Instruments, Türkiye) 30 saniye karıştırılmıştır. Karışım daha sonra 5000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve ayrılmış olan yağın ağırlığı tartıma alınmıştır. Yağ adsorbe etme deneyleri, üç kopya halinde gerçekleştirilip yağ bağlama kapasitesi, örnekler tarafından emilen yağın ağırlığı olarak ifade edilmiştir.

Tüp duvarına yapışan yağ miktarı, boş bir tüp ile hesaplanıp toplam ağırlıktan çıkarılmıştır.

2.2.7.3 Su Tutma Kapasitesi

Örneklerin su tutma kapasitesini belirlemek için (Beuchat, 1977) belirttiği yöntem kullanılmıştır. Hidrolizat, protein ve lif numuneleri (50 mg), 1,5 mL'lik bir santrifüj tüpünde su ile karıştırılmıştır. Karışım 30 dakika süresince oda sıcaklığında bekletilirken 10 dakikada bir vorteks karıştırıcıda (Weightlab WN-V2800, Weighlab Instruments, Türkiye) 30 saniye karıştırılmıştır. Karışım daha sonra 5000 g'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve ayrılmış olan suyun ağırlığı tartıma alınmıştır. Su tutma deneyleri, üç kopya halinde gerçekleştirilip su tutma kapasitesi, örnekler tarafından emilen suyun ağırlığı olarak ifade edilmiştir. Boş bir tüp ile hesaplanıp toplam ağırlıktan çıkarılmıştır.

2.2.7.4 Emülsiyon Aktivite ve Stabilitesi

12 mg örnek, 1,2 ml su ve 400 µg yağ karıştırılmış ve bu karışım bir homojenleştirici (IKA Ultra Turrax T25, Schott Iberica, S.A., İspanya) kullanılarak 10000 rpm'de 90 saniye homojenleştirilmiştir. 0. ve 12. saatte (h) oluşan emülsiyonun tabanından 50 µl numune alınıp 5 ml %0,1 sodyum dodesil sülfat (SDS) solüsyonu ile karıştırılmıştır. Seyreltilmiş çözeltilerin absorbansı, bir UV görünür spektrofotometre cihazı (Shimadzu UV-1800 UV/VIS, Tokyo, Japonya) kullanılarak 500 nm'de ölçülmüştür. Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksi'nin (ESI) belirlenmesi için aşağıdaki formüller kullanılmıştır:

$$T = 2{,}303\ (A/l) \tag{2.11}$$

$$EAI = 2.T.(r/c.V) \tag{2.12}$$

T: Türbidite

A: 500 nm'de hidrolizatın absorbansı

l: küvetin optik yolu (m)

r: Dilüsyon faktörü

c: emülsiyon oluşumundan önce birim hacim başına düşen protein ağırlığı

V: hacim kesri

Emülsiyon stabilitesini ölçmek için hidrolize emülsiyonlar 4°C'de 12 saat süreyle depo edilmiş ve emülsiyon aktivitesi yukarıdaki formül kullanılarak ölçülmüştür. Hesaplama 0 ve 12 saat arasındaki fark, Emülsiyon Stabilite İndeksi'ni (ESI) temsil eder ve aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$ESI = (T.\Delta t/\Delta T) \quad (2.13)$$

ΔT: 12 saat boyunca bulanıklık değişimi

Δt: iki ölçüm arasındaki zaman aralığı

2.2.7.5 Zeta Potansiyel

Zeta-potansiyel ölçümleri, Zetasizer ZSP adlı cihaz (Malvern Instruments, Worcestershire, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu ölçümler, lif, protein ve hidrolizatların %0,2 (w/v) konsantrasyonda 0,1 M fosfat tamponu (PBS) içinde çözündürülerek yapılmıştır. Daha sonra, dispersiyonlar 0,22 µm'lik bir şırınga filtre kullanılarak süzülmüştür. Süzüntü, cam bir küvete alınmış ve ışık saçılmalarını önlemek için 100 kat seyreltilmiş PBS ile karıştırılmıştır. Ardından, zeta-potansiyel ölçümleri yapılmıştır.

Zeta-potansiyel, bir dispersiyonun yüzeyindeki yüklenme durumunu ve bu yüklenmenin dispersiyonun kararlılığı üzerindeki etkisini belirlemek için kullanılan bir parametredir. Zetasizer cihazı, lazer ışığı kullanarak parçacıkların hareketini izler ve bu hareketten zeta-potansiyel değerini hesaplar. Ölçümler, çözeltinin ışık saçılması özellikleri üzerinden gerçekleştirilir ve sonuçlar, dispersiyonun yüzey yüklenmesi ve stabilitesi hakkında bilgi sağlar.

2.2.7.6 Köpükleştirici Etki

KK (Köpükleşme Kapasitesi) değeri, (Sze-Tao & Sathe, 2000) açıklanan bir yöntemle belirlenmiştir. Köpük oluşumu için Ultra Turrax (Daihan, HG15D) kullanılmıştır. 20 mg/mL örnek içeren 20 mL solüsyonu alınmıştır. Bu solüsyon, 10.000 rpm'de 1 dakika boyunca homojenize edilmiştir.

KK değeri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır:

$$KK\ (\%) = (V1 - V2) \,/\, V2\ x\ 100 \quad (2.14)$$

Burada, V1 köpük oluşumundan sonraki hacmi ve V2 başlangıç hacmini temsil eder.

KS (Köpük Stabilitesi) değeri ise köpük oluşumundan 30 dk sonra toplam hacim (V3) ölçülerek değerlendirilmiştir. (Yuliana vd., 2014) tarafından önerilen aşağıdaki denklem kullanılarak KS hesaplanmıştır:

$$FS\% = (V3 - V2) / (V1 - V2)\, x\, 100 \quad (2.15)$$

Bu yöntemler köpük oluşumu ve stabilitesini değerlendirmek için kullanılan standart yöntemlerdir. KK, köpük oluşumu için başlangıç hacmi ve sonraki hacim arasındaki farkı yüzde olarak ifade ederken, KS köpük stabilitesini ölçmek için başlangıç hacmi ve 2 saat sonra ölçülen hacim arasındaki farkı yüzde olarak ifade eder.

2.2.7.7 SDS Page

SDS-PAGE (Sodyum Dodekil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi) analizi, (Laemmli, 1970) tarafından belirtilen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. HPOB protein ve hidrolizatları 10 mg/mL konsantrasyonda saf su içinde çözündürme işlemi yapılmıştır. Numune çözeltileri, numune tamponu ile 1:1 oranında karıştırılmıştır. Numune tamponu 0,5 M Tris-HCl (pH 6.8), gliserol, %10 SDS (w/v), %0,5 bromofenol mavisi, β-merkaptoetanol içermektedir. Karışım, 95 °C'de 3 dakika boyunca ısıtılmıştır. Elektroforez tankı, 25 mM Tris, %0,1 SDS, 192 mM glisinden oluşan elektrolit tamponu ile doldurulmuştur. %4 istifleme jeli (w/v) ve %7,5-30 gradyan poliakrilamid jeli (w/v) üzerine 10 µL örnek mikro şırınga ile yüklenmiştir. Jel, dikey bir elektroforez sisteminde (Mini-PROTEAN® System, Bio-Rad, Bio-Rad Laboratories, Inc, ABD) 20 mA sabit akımda çalışması gerçekletirilmiştir. Daha sonra jel, %0,25 (w/v) oranında Coomassie Brilliant Blue kullanılarak boyanmıştır. Boyama işleminden sonra, jel, su/metanol/asetik asit (6/3/1, v/v/v) karışımı ile boyanın giderilmesi için işlem görmüştür. Son olarak, jel bir jel görüntüleme sistemi (Biorad Gel Doc EZ, Bio-Rad Laboratories Inc, ABD) kullanılarak fotoğrafı çekilmiştir. Bu işlem, proteinlerin ayrılmasını ve görüntülenmesini sağlayan bir elektroforez yöntemidir. SDS-PAGE analizi, protein örneklerinin boyutlarını ve bant yoğunluklarını belirlemek için kullanılan yaygın bir tekniktir.

2.2.7.8 Kimyasal Karakterizasyon

Ham lif, protein ve hidrolizatların FTIR analizi her spektrum için 16 tarama yapılacak şekilde toplanmış olup, her tarama 4 cm^{-1} çözünürlükte yapılmıştır. Tüm spektrumlar 4000-650 cm^{-1} kızılötesi bölgede 3 tekrarlı olarak taranmıştır. FTIR (Bruker Tensor 27, Almanya) spektrometresi kullanılarak tüm ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her ölçümden önce hava ölçümü yapılarak zemin taraması alınmıştır. Numunelerin FTIR ölçümleri toz formunda olduğu için ATR aksesuarı üzerinde numunelerin sıkıştırılmasıyla elde edilmiştir. Cihaz kontrolü ve ölçüm taraması için OPUS versiyon 7.2 (Bruker, Almanya) yazılımı kullanılmıştır. Hidrolizatların ikincil yapısındaki değişiklikleri belirlemek için, Origin 2020b (Originlab Corporation, MA, ABD) yazılımı kullanılarak amid I (1600-1700 cm^{-1}) bölgesindeki tüm spektrumlara dekonvolüsyon işlemi uygulanmıştır.

Bu FTIR analizi, örneklerin moleküler yapısı ve kimyasal bağlar hakkında bilgi sağlamak için kullanılan bir spektroskopik tekniktir.

2.2.7.9 Termal Davranış

Ham lifinin termal davranışını incelemek için diferansiyel tarama kalorimetrisi (DSC) kullanılmıştır. Bu amaçla, TA Instruments, Inc. tarafından üretilen bir DSC Q20 cihazı kullanılmıştır. Analizde 5 mg ağırlığındaki lif numunesi bir alüminyum tava içerisinde tartılmıştır. Numune 20 mL/dak akış hızına sahip nitrojen gazı altında 10 °C/dak ısıtma hızında 20 ila 300°C arasında ısıtılmıştır. Referans olarak, boş bir alüminyum tava kullanılmıştır. Bu deney sayesinde, lif numunesinin termal davranışı ve ısıl geçişleri (örneğin, erime veya kristalleşme gibi) incelenebilir. DSC yöntemi, numune ve referans arasındaki ısı farkını ölçerek termal değişiklikleri belirler ve lifin termal özelliklerini analiz eder.

2.2.7.10 Antioksidan Aktivite

HPOB protein, hidrolizat ve lif örneklerinin antioksan aktivitelerini belirlemek için ABTS, FRAP ve DPPH yöntemleri kullanılmıştır.

ABTS radikal süpürme aktivitesini hesaplamak için ilk olarak 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM ABTS solüsyonu hazırlanmıştır. Solüsyon oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilerek ABTS+ radikalleri oluşturulmuştur. Analize başlamadan önce 1 mL ABTS+ radikal solüsyonu alınarak absorbans değeri 734 nm'de 0,700 ± 0,02 olarak seyreltilmiştir. Seyreltilen ABTS+ radikal solüsyonundan 2 mL mikro

küvete alınmıştır. Mikroküvete lif için 62,5 mg/ml, kontrol protein ve alkalaz için 83,33 mg/ml, savinaz ve flavourzyme için 250 mg/ml derişimlerde hazırlanan 100 µl hidrolizat solüsyonu eklenmiştir. Karanlıkta 6 dakika bekletilmiş ve ardından spektrofotometre (Shimadzu UV-1800 UV/VIS, Tokyo, Japonya) kullanılarak ölçümler alınmıştır. TE (Trolox Eşdeğeri) bir antioksidan standardıdır ve sonuçlar Trolox'e eşdeğer miktarlarda ifade edilmiştir.

DPPH analizi için her numune için 0,1 ml miktarında DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) solüsyonu kullanılmıştır. Numunelerin absorbansı, 60 dakikalık inkübasyon süresinden sonra 517 nm dalga boyunda bir spektrofotometre (Shimadzu UV-1800, Japonya) kullanılarak ölçülmüştür. Sonuçlar % inhibisyon olarak verilmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesini hesaplamak için aşağıdaki denklemi kullanılmıştır:

$$\%\ \text{İ}nhibisyon\ =\ [(Akontrol\ -\ A\text{ö}rnek)\ /\ Akontrol]\ x\ 100 \qquad (2.16)$$

Akontrol: Kontrol numunesinin absorbans değeri

Aörnek: Örnek numunesinin absorbans değeri

Denklem (2.16)'daki Akontrol, DPPH solüsyonunun absorbans değeridir. Bu değer kontrol numunesidir. Aörnek ise örnek numunesinin ölçülen absorbans değeridir. Denklem (2.16) kullanılarak numunelerin DPPH radikal süpürme aktivitesi % inhibisyon olarak hesaplanmıştır. Bu değer, DPPH radikallerini yakalama yeteneğini ve antioksidan aktiviteyi gösterir.

FRAP analizinde, lif için 62,5 mg/ml, kontrol protein ve alkalaz için 83,33mg/ml, savinaz ve flavourzyme için 250 mg/ml'lik konsantrasyonlar 1 mL PBS tamponu içinde çözündürüldü. Ardından, bu karışımdan 100 µL alınıp üzerine 900 µL PBS eklendi. Karışım, 2 mL taze FRAP reaktifi karışımıyla karıştırılarak 37 °C'de 15 dakika su banyosunda (Memmert WNB45, Schwabach, Almanya) inkübasyona bırakılmıştır. Sonra çözeltinin absorbansı 593 nm'de spektrofotometre yardımıyla (Shimadzu UV-1800 UV/VIS, Tokyo, Japonya) ölçüldü. Sonuçlar, mg TE/g olarak ifade edilmiştir.

2.2.8 HPOB Protein ve Lif İlaveli Salata Sosu

2.2.8.1 Salata Sosu Hazırlanışı

Salata sosu Bölüm 2.2.2'deki gibi hazırlanmıştır. Formülasyon ise Tablo 2.3'te gösterildiği şekildedir.

Tablo 2.3 HPOB protein ve ham lif ilaveli salata sosu formülasyonu

	Su (%)	Yağ (%)	HPOB Protein (%)	HPOB ham lif (%)	Sirke (%)	EYP (%)	Tuz (%)	KG (%)
K1	58,65	30	-		7	3	1	0,35
K2	78,65	10	-		7	3	1	0,35
1P1L	76,65	10	1	1	7	3	1	0,35
1P2L	75,65	10	1	2	7	3	1	0,35
1P3L	74,65	10	1	3	7	3	1	0,35
2P1L	75,65	10	2	1	7	3	1	0,35
2P2L	74,65	10	2	2	7	3	1	0,35
2P3L	73,65	10	2	3	7	3	1	0,35

2.2.8.2 Salata Sosu Analizleri

Salata sosu reolojik analizleri Bölüm 2.2.3.1, emülsiyon stabilitesi Bölüm 2.2.3.2, zeta potansiyel ve damlacık boyutu ölçümleri Bölüm 2.2.3.3, optik görüntüleri Bölüm 2.2.3.4 ve oksitest analizi Bölüm 2.2.3.5'te açıklandığı gibi gerçekleştirilmiştir.

2.2.9 İstatistiksel Analiz

Verilerinizin istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi için JMP 9 (SAS, NC, ABD) program kullanılmıştır. İlgili değişkenler için aritmetik ortalama ve standart

sapmalar hesaplanmıştır. Değişkenler arasında anlamlı bir fark olup olmadığını belirlemek için tek yönlü varyans analizi ve Tukey testi kullanılmıştır. Analiz sonuçlarına göre, $p<0,05$ anlamlılık düzeyinde (genellikle 0.05 anlamlılık düzeyi kabul edilir), değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu tespit edilmiştir.

3
ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1 Soğuk Pres Acı Biber Yağ Yan Ürün Karakterizasyonu

Acı biber yağ yan ürünün karakterizasyonu Tablo 3.1'de gösterilmiştir. HPOB'nin bileşimine bakıldığında %6,69 nem, %20,2 protein, %11,2 yağ, %31,9 ham lif, %3,83 kül ve %57,7 karbonhidrat oluşturmaktadır. Bu sonuçlar, HPOB'nin yüksek protein ve lif içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. Öte yandan, HPOB'nin yağ içeriği düşüktür. Ayrıca başka bir çalışmada, yağsız biber soğuk sıkım yan ürünün bileşimi %8,89 nem, %19,3 protein, %2,86 yağ ve %6,28 kül olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, düşük yağ miktarının soğuk preslemeye bağlı olabileceği ifade edilmektedir (Yılmaz vd., 2017). Benzer bir çalışmada yağı alınmış kırmızıbiber tohumu ununun bileşimi %10,7 nem, %26,0 protein, %4,10 kül ve %55,1 karbonhidrat olarak rapor edilmiştir. Ham lif miktarı ise %34,9 olarak belirlenmiştir (Azabou vd., 2017; Firatligil-Durmus & Evranuz, 2010). Acı biberin çeşidi, olgunlaşma aşaması ve yetiştirme koşulları gibi faktörlerin bileşim üzerinde etkili olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle, literatürde incelenen acı biberler arasında küçük farklılıkların olabileceği vurgulanmaktadır.

Tablo 3.1 HPOB Karakterizasyonu

HPOB	
Nem (%)	6,69±0,03
Protein (%)	20,25±0,18
Yağ (%)	11,24±0,13
Karbonhidrat (%)	57,72±0,04
Ham Lif (%)	31,91±0,28
Kül (%)	3,83±0,07
TPC (mg GA/100 g)	317,5±19,17
I_{DPPH} (%)	81,87±0,01
CUPRAC (mg Trolox/100 g)	6952,8±170,01
Capsaicin (µg/g)	175,8±1,65
Dihidrocapsaisin (µg /g)	71,00±1,46
Total carotenoids (µg/g)	106,3±2,31

HPOB'nin TPC, IDPPH (%) ve CUPRAC değerleri sırasıyla 317,4 mg GAE/100 g, %81,8 ve 6952,8 mg Trolox/100 g olarak belirlenmiştir. Kapsaisin (CAP), dihidrokapsaisin (DHC) ve toplam karotenoid içeriği sırasıyla 175,8 mg/100 g, 71,0 mg/100 g ve 106,3 ug/g olduğu görülmüştür. HPOB ile ilgili CAP ve DHC miktarını gösteren çalışmalar sınırlıdır. Yang ve Mandal (Yang vd., 2010) tarafından yapılan bir çalışmada acı biber tohumu yağının CAP ve DHC miktarları sırasıyla 0,16 mg/mL ve 0,07 mg/mL olmuştur. Ayrıca Chouaibi ve Rezig (Chouaibi vd., 2019), soğuk presleme yoluyla ekstrakte edilen kırmızıbiber tohumu yağlarının TPC, toplam karotenoidler, CAP ve DHC içeriklerinin 8,27 mg/100 g, 4,39 mg/100 g, 3,45 mg/kg ve sırasıyla 2,81 mg/kg olduğunu bildirmişlerdir.

CUPRAC yöntemiyle elde edilen acı biber tozunun antioksidan potansiyeli 3626 mg Trolox/100 g ve acı biber tozunun TPC'si 1682 mg GAE/g belirtilmiştir (Della Valle vd., 2020). Çok çeşitli acı biber çeşitlerinin varlığı, biyoaktif bileşiklerin miktarlarında kompozisyon farklılıklarına yol açmaktadır. HPOB, 4-hidroksibenzoik asit ve m-kumarik asit dışında tüm standart fenolik bileşikleri içermektedir. Bu çalışmada mirisetin (87,61 µg/g kuru ağırlık) ve gallik asit (66,02 µg/g kuru ağırlık), HPOB'da bol miktarda bulunan bireysel fenolik bileşenler olarak tanımlanmıştır. HPOB yağ asit bileşeni incelendiğinde C18:2 (78,29) açısından zengin olduğu görülmüştür.

Tablo 3.2 HPOB yağ asit ve fenolik profili

Yağ Asit Kompozisyonu (%)	
C12:0	0,01±0,00
C16:0	13,51±0,36
C18:0	2,54±0,03
C18:1	6,87±0,06
C18:2	73,29±0,41
C18:3	2,75±0,03
C20:0	0,05±,003
Fenolik Bileşen	**µg/g kuru ağırlık**
Gallic acid	66,02±0,72
Protocatechuic acid	15,05±0,35
Catechin	16,73±0,51
4-Hydroxy-benzoic acid	nd
Syringic acid	3,85±0,50
Ellagic acid	41,85±0,61
m-Coumaric acid	nd
o-Coumaric acid	8,03±0,37
Chrysin	1,60±0,03
Caffeic acid	17,19±0,32
p-Coumaric acid	5,88±0,02
Ferulic acid	6,56±0,04
Myricetin	87,61±0,43
Quercetin	48,09±0,52
Kaempferol	30,57±0,15
Chlorogenic acid	36,87±0,62
Rutin	29,52±0,18
Sinapic acid	3,30±0,02

3.2 HPOB Salata Sosu Analizleri

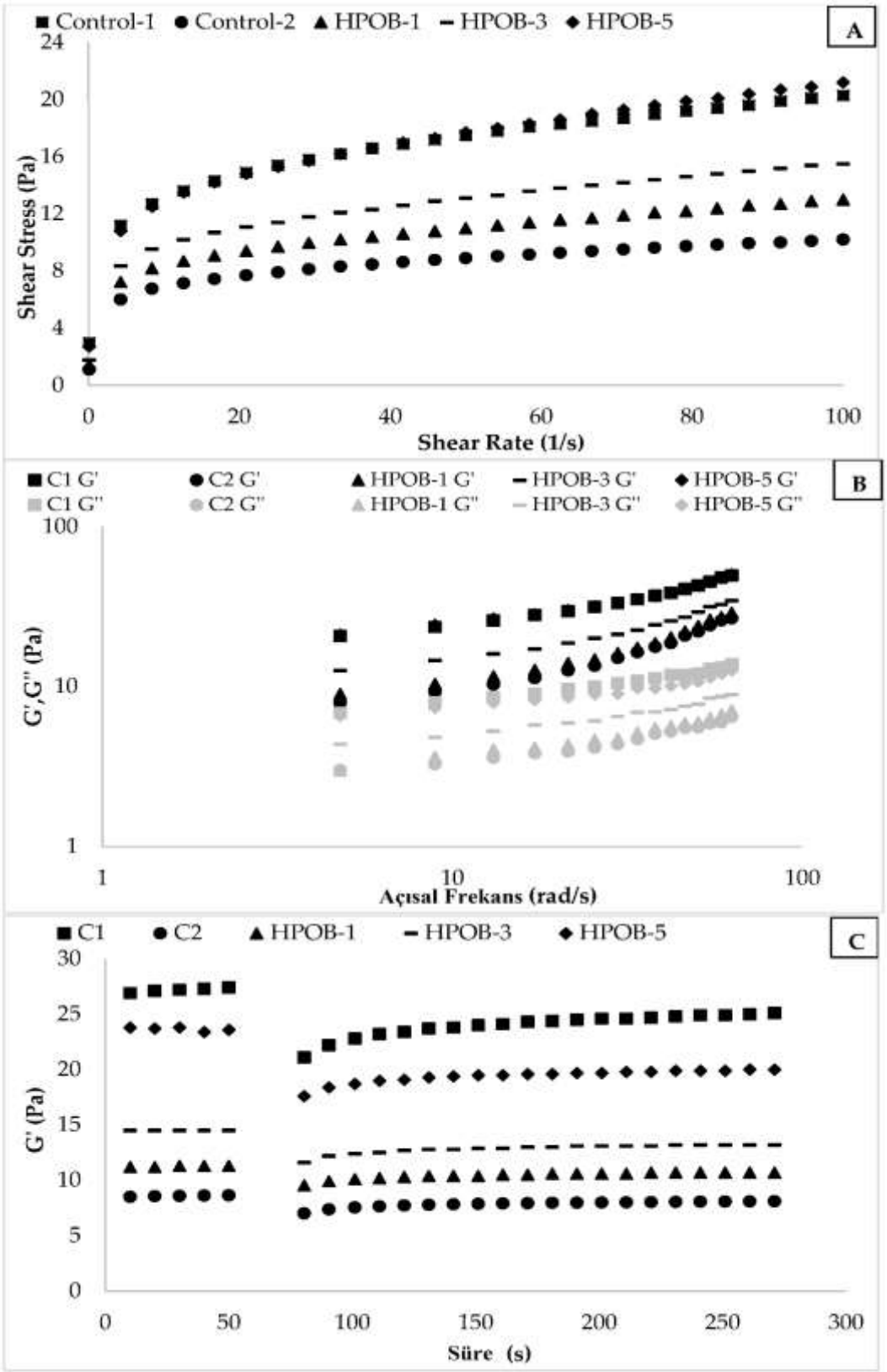
3.2.1 Akış Davranış Reolojik Analizler

Şekil 3.1A, numunelerin sürekli kesme reolojik özelliklerini göstermektedir. Bu grafikte, salata sosu numunelerinin viskozite değerleri artan kayma hızıyla birlikte azalmaktadır. Bu durum, artan kayma hızıyla birlikte kayma gerilimi eğrisinin azalan eğimine karşılık gelir. Bu akış modeli, salata sosları gibi emülsiyonların ortak bir reolojik özelliğidir. Emülsiyonlarda, moleküller arasındaki zayıf bağlar ve uygulanan kesme kuvveti, bileşenler arasındaki zayıflamış teması ve viskozitenin artan kesme hızıyla azalmasına neden olabilir (Bortnowska vd., 2014). Bu nedenle, salata sosu numunelerinin viskozitesi artan kesme hızıyla azalmaktadır. Ayrıca, tüm numunelerin, salata sosu benzeri emülsiyonların spesifik bir reolojik özelliği olan Newton olmayan akış davranışı sergilediği belirtilmiştir (Fernandez vd., 2012; Y. Kumar vd., 2021). Newton olmayan akış, viskozitenin akış hızına bağlı olarak değiştiği bir akış modelidir. Bu durum, salata sosu numunelerinin viskozitesinin kesme hızına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Sürekli kayma reolojik analiz verileri, salata sosu numunelerinin akış davranışı özelliklerini değerlendirmek için Power Law modeline uygulanmıştır. Tablo 3.3'te salata sosu örneklerinin Power Law model özellikleri gösterilmektedir. R^2 değerleri 0,97'den büyük olduğu için, Power Law modelinin numunelerin sürekli kayma reolojik özelliklerini etkili bir şekilde modellediği sonucuna varılmıştır. Numunelerin K değerleri, ürün bileşimlerine bağlı olarak farklılık göstermiştir. Bu değerler, 4,10 $Pa.s^n$ ile 7,79 $Pa.s^n$ arasında değişmektedir. Düşük yağlı kontrol numunesi (C2) 4,10 $Pa.s^n$ K değerine sahipken, yüksek yağlı kontrol numunesi (C1) 7,79 Pa.sn K değerine sahiptir. HPOB ile zenginleştirilmiş düşük yağlı numunelerin K değerleri ise %1'den %5'e kadar artarak 4,82 $Pa.s^n$ ile 7,25 $Pa.s^n$ arasında bulunmuştur. HPOB (%5) ilavesiyle, az yağlı salata sosu numunesinin K değeri, yüksek yağlı salata sosu numunesinin K değerine benzerlik göstermiştir.

HPOB'nin eklenmesiyle, az yağlı kontrol numunesinin K değeri önemli ölçüde artmıştır. Bu bulgu, yağ içeriğindeki azalmanın neden olduğu zayıflamış yapının, HPOB eklenmesiyle telafi edilebileceğini göstermektedir. HPOB yapısındaki protein ve liflerin su tutma özelliği, ayrıca protein ile polisakkarit arasındaki etkileşimler, sürekli fazın hareketliliğini azaltmış ve numunelerin istenilen kıvam

düzeyine ulaşmasına yardımcı olmuş olabilir. Örneklerin n değerleri, 0,200 ile 0,231 arasında değişmektedir. Tüm numunelerin n değeri 1'den küçüktür, bu da numunelerin Newton olmayan akış davranışı sergilediğini gösterir. Salata sosu numuneleri için n değerinin 0'a yakın olması, yani güçlü psödoplastik akış özelliğine sahip olması beklenir. Bu nedenle, salata sosu örneklerinin çoğunun n değerinin n 0,25'ten küçük olduğu söylenebilir, yani istenilen değerlere yakındır (Ma & Boye, 2013; Sikora vd., 2008). Tablo 3.3'te gösterildiği gibi, k ve n değerleri arasında negatif bir ilişki bulunmuştur. Daha önce bahsedilen n değerindeki düşüş, psödoplastik akış davranışındaki artış ve sıkı bir yapının oluşturulmasıyla açıklanabilir. Bu çalışmada, HPOB ilavesinin, yağ içeriği azaltılmış numunelerin K değerlerini büyük ölçüde artırdığı görülmüştür.



Şekil 3.1 Reolojik grafikler

Salata sosu gibi emülsiyonların reolojik özelliklerini etkileyen önemli faktörlerden biri yağ oranıdır. Bu veriler, yağ oranının salata sosu numunelerinin akış özelliklerini etkilediğini ve HPOB ilavesinin düşük yağlı numunenin K değerini artırdığını göstermektedir. Yağ, Y/S (yağ/su) emülsiyonlarının tutarlılığını korumada önemli bir rol oynamaktadır. Yağ miktarının azaltılmasıyla kalori azaltımı sağlanabilir. Ancak, sürekli fazın hareketliliği kontrol edilerek ve HPOB'nin lif ve proteinin su tutma özelliği sayesinde kıvam yeniden sağlanabilmektedir. Bu şekilde, düşük yağlı salata sosu numunelerine istenilen kıvam ve tutarlılık verilebilir.

Tablo 3.3 Reolojik parametreler

	C-1	**C-2**	**HPOB-1**	**HPOB-3**	**HPOB-5**
Steady Shear Reolojik Parametreleri					
K (Pa.s^n)	7,79±0,21^a	4,10±0,07^e	4,82±0,15^d	5,79±0,06^b	7,45±0,17^a
n	0,208	0,200	0,214	0,221	0,231
R^2	0,993	0,982	0,987	0,991	0,995
Dinamik Reolojik Parametreleri					
K' (Pa.s^n)	10,47±0,06^a	2,21±0,08^e	2,72±0,15^d	5,18±0,12^b	10,47±0,02^a
n'	0,359	0,589	0,553	0,440	0,359
R^2	0,978	0,978	0,972	0,974	0,978
K'' (Pa.s^n)	4,40±0,03^b	1,71±0,04^f	1,81±0,02^e	2,74±0,03^c	4,76±0,05^a
n''	0,263	0,300	0,311	0,269	0,209
R^2	0,991	0,967	0,972	0,972	0,946
3-ITT Reolojik Parametreleri					
G_0'	19,80±0,05^a	6,39±0,01^e	8,99±0,11^d	10,69±0,02^c	15,73±0,07^b
G_e'	25,81±0,07^a	8,24±0,02^e	10,91±0,01^d	13,44±0,03^c	20,31±0,05^b
G_e'/G_0'	1,303±0,02^a	1,290±0,01^b	1,213±0,06^d	1,257±0,03^c	1,291±0,06^b
k×1000	60,61±0,11^a	53,52±0,21^c	43,02±0,08^e	52,73±0,09^d	57,39±0,22^b
R^2	0,997	0,998	0,994	0,995	0,997

HPOB: Acı biber yağı yan ürünü. C1: %30 yağlı salata sosu (tam yağlı). C2: %10 salata sosu (az yağlı). Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

3.2.2 Dinamik Reolojik Analizler

Şekil 3.1B, salata sosu örneklerinin dinamik reolojik davranışını temsil etmektedir. Tüm numunelerin G' (elastik modül) değerleri, tüm frekans aralıklarında G" (kayıp modül) değerlerinden daha yüksekti. Ayrıca, G' ve G" değerleri, açısal hız arttıkça azalan bir oranda artmıştır; yani açısal frekansın eğimi düşmüştür. Bu, viskoz katıların tipik bir hareket davranışı örneğidir. Salata sosları viskoelastik katı karaktere sahip olduğu için, tüm salata sosu numunelerinin beklenen özelliklere sahip olduğu görülmüştür.

Tablo 3.3, Power Law modeli kullanılarak elde edilen K' (elastik modül), K" (kayop modül), n' ve n" değerlerini göstermektedir. R^2 değerlerinin nispeten yüksek olması ($R^2 > 0,97$), modelin numunelerin dinamik reolojik davranışını etkili bir şekilde tanımlayabildiğini gösterir. Salata sosu örneklerinin K' ve K" değerleri bileşime bağlı olarak farklılık göstermiştir ve sırasıyla 2,21–10,47 $Pa.s^n$ ve 1,71–4,76 $Pa.s^n$ olarak tahmin edilmiştir. Tüm örneklerde, K' değeri K" değerinden büyüktür, bu da viskoz katı davranışının gözlendiğini gösterir. Ayrıca, C-1 numunesi (%30 yağ) ve HPOB-5 numunesi (%10 yağ ve %5 HPOB), aynı K" değerine (10,47 $Pa.s^n$) sahiptir. Bu durumda, C-1 ve HPOB-5 numunelerinin aynı viskoelastik katı davranışa sahip olduğu ve %5 HPOB ile %20 yağ içeriği elde edildiği söylenebilir. n' ve n" değerleri, numunelerin viskoelastik katı karakterinin başka bir göstergesidir. Bu değerler 0'a yaklaştıkça, numunelerin katı karakterinin daha baskın olduğunu gösterir. HPOB ile zenginleştirme, K" değerini önemli ölçüde artırmış ve n" değerini düşürmüştür. Bu nedenle, salata sosu benzeri emülsiyonlar için istenen viskoelastik katı karakter, HPOB'nin daha düşük yağ içeriğinde kullanılarak artırılabilmektedir.

3.2.3 3-ITT Reolojik Analizler

3-ITT testi, ani bir kuvvet veya deformasyonun gıdanın reolojik özellikleri üzerindeki etkisini gösteren çok önemli bir testtir. Bu test, günlük yaşamda gıda üzerindeki sallama ve bastırma gibi hareketlerin etkisini taklit edebilir (Toker vd., 2015). Şekil 3.1C'de, salata sosu örneklerinin G (depolama modulusu) değerinin zaman içindeki değişimi gösterilmektedir. Ani bir deformasyonun ardından numunenin geri kazanım derecesi de Şekil 3.1C'de gösterilmekte ve uygulanan kesme hızına bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Her numunenin kendini

yenileme kapasitesi, deformasyon değeri yükseldikçe azalmaktadır. Daha yüksek kesme hızına maruz kalan numuneler daha fazla yapısal deformasyona uğradığı için ürünün G' değerinde önemli bir düşüş gözlenmiş ve tekrar başlangıç G' değerine ulaşmak imkansız hale gelmiştir. Yapısal geri kazanımla ilgili parametrelerin doğru bir şekilde elde edilmesi önemlidir. Tablo 3.3, 3-ITT testinden elde edilen verilerin ikinci dereceden yapısal kinetik modelle modellendiğini ve elde edilen G0' (başlangıç depolama modulusu), Ge' (geri kazanılan depolama modulusu) ve k değerlerini göstermektedir. Tablo 3.3'te her bir G0' ve Ge' değeri farklı olduğu için, ürünlerin geri kazanım derecesinin karşılaştırılması bu iki değerin oranına (Ge'/G0') dayanmaktadır (Alvarez & Canet, 2013). Tablo 3.3'te, Ge'/G0' değerleri 1,213 ile 1,303 arasında değişmektedir. Hem yağ içeriğinin hem de HPOB miktarının Ge'/G0' değerleri üzerinde etkisi olduğu görülmüştür ($p < 0.05$). Ge'/G0' değerleri, ürünün geri kazanım derecesi hakkında bilgi verirken, yağ miktarının artmasıyla artması beklenen bir sonuç olduğu söylenebilir. HPOB'nin eklenmesi bu etkiyi artırmıştır.

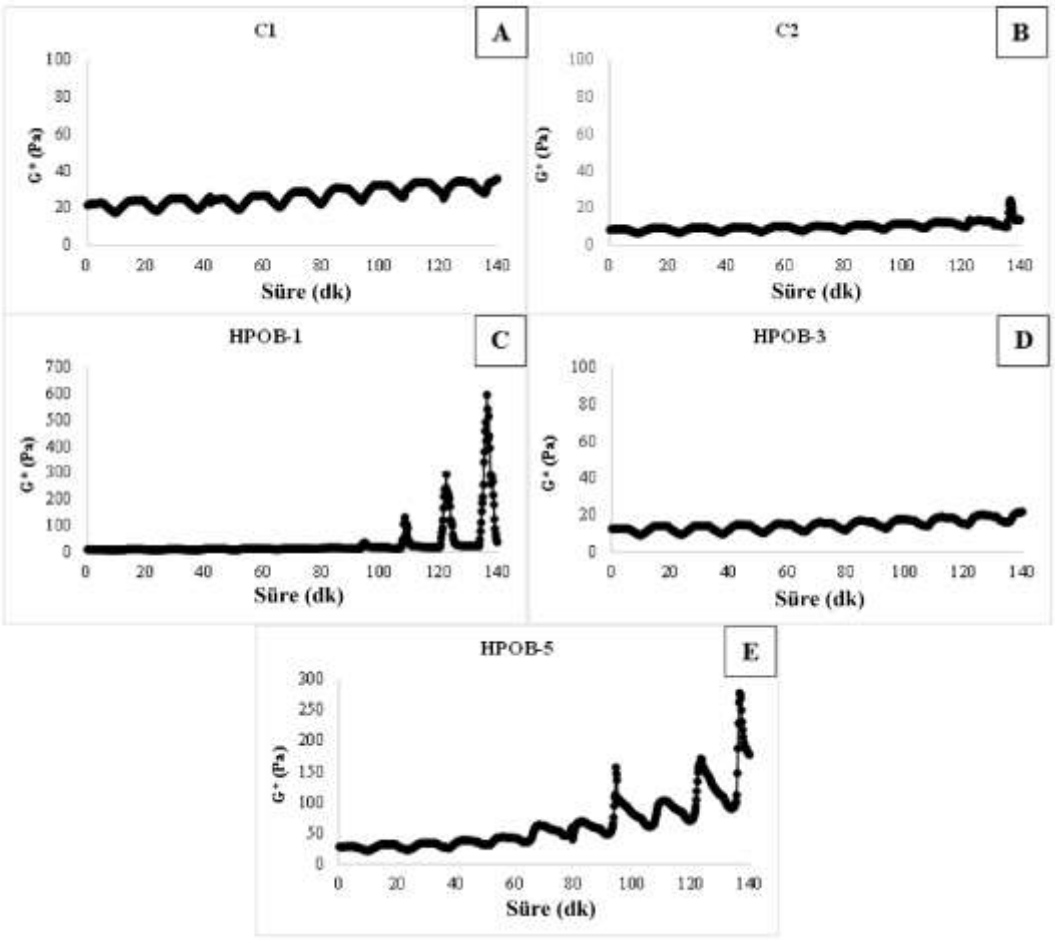
3-ITT testinden elde edilen bir diğer parametre olan k değeri, ani deformasyondan sonra ürünün geri kazanım oranını gösterir. Bu değer ürünün yapısıyla ilgilidir. Eğer üründe kalıcı bir deformasyon görülmezse, ürünün toparlanma hızı daha yüksek olacaktır ve G' değeri daha hızlı bir şekilde başlangıç değerine ulaşacaktır. Salata sosları için elde edilen k değerleri, ürün tipi ve uygulanan kesme hızı değerinden önemli ölçüde etkilenmiştir ($p < 0.05$). k×1000 değeri 43,02 ile 60,61 arasında değişmektedir. Tablo 3.3'te gösterildiği gibi, az yağlı salata soslarında HPOB miktarı arttıkça k değeri de artmıştır. Bu sonuçlar, 3-ITT testinin az yağlı salata soslarının HPOB zenginleştirmesi ile üretilebileceğini göstermektedir.

3.2.4 Emülsiyon Stabilitesi

O/W emülsiyonlarının stabilitesi, salata sosları gibi ürünlerde önemli bir kalite kriteridir. Emülsiyon stabilitesi zayıf olan salata sosları, depolama sürecinde faz ayrımı yaşayabilir, yani yağ ve su ayrışabilir (Tekin vd., 2020).

Termal döngü testi, bir emülsiyonun kararlılığını değerlendirmek için G* (kompleks modulusu) değerlerindeki değişiklikleri kullanır. G* değerlerindeki daha büyük değişiklikler, termal döngülerin emülsiyonun kararlılığını etkilediğini gösterir. Salata sosu örnekleri için yapılan yüksek sıcaklık (25-45°C) döngü

deneyleri, G* değerlerinde değişikliklere neden olmuştur, bu da emülsiyonun stabilitesi hakkında bilgi verir. Şekil 3.2A ve 2B'de, yüksek sıcaklık termal döngü deneylerinin G* değerlerindeki değişiklikleri göstermektedir. Yüksek sıcaklık termal döngü deneylerinde, Şekil 2'de görüldüğü gibi, sıcaklık yükseldikçe G* değeri azalır. Bu, emülsiyonun kararsızlaştığını ve yapısının bozulduğunu gösterir. Yüksek sıcaklığa maruz kalan emülsiyon molekülleri arasındaki etkileşimler zayıflar ve stabilite azalır. Bu durum, emülsiyonun daha az dayanıklı hale gelmesine ve faz ayrımının oluşma riskinin artmasına neden olur.



Şekil 3.2 Emülsiyon stabilite grafiği

Şekil 3.2A'da, düşük yağlı kontrol numunesi 1'de üçüncü döngüden sonra G* değerinde önemli bir değişiklik görülmesi, düşük yağlı kontrol emülsiyonunun stabilitesini düşürdüğünü göstermektedir. Bu durumda, yağ fazı hacim fraksiyonunun artırılması genellikle emülsiyon stabilitesini iyileştirir çünkü yağ damlacığı dolgu yüzdesi kremalaşma/çökelme oranlarını düşürür ve emülsiyonun yapısını korur (Ma vd., 2013).

Şekil 3.2D'de görüldüğü gibi, HPOB-3 numunesi G* değerinde çok az değişiklik göstererek mükemmel bir emülsiyon stabilitesi sergilemiştir. Ancak, HPOB-5 numunesinde 25 ile 45 °C arasında önemli bir G* değeri artışı görülmüştür. Bu artış, su fazında XG'nin çözünürlüğünde ve viskozitesindeki değişikliklerle birlikte yayılmış fazdaki viskozitedeki bir değişiklik gibi çeşitli faktörlere bağlı olarak açıklanabilir (Şekil 3.2E). Bu faktörlerin bir sonucu olarak bazı istikrarsızlık süreçleri meydana gelmiştir. Her numune, 10 ısı döngüsünden sonra faz ayrımını gözlemlemek için incelenmiştir. Sadece düşük yağlı kontrol ve HPOB-1 numuneleri, termal döngü testi ve görsel analizden elde edilen emülsiyon stabilitesi testi sonuçları arasında bir korelasyon gösteren faz ayrımı sergilemiştir. Bu da emülsiyonun stabilitesini etkileyen faktörlerin birbirleriyle bağlantılı olduğunu göstermektedir.

3.2.5 Zeta (ζ) Potansiyeli, Parçacık Boyutu ve Optik Mikroskop Görüntüleri

Salata soslarının Zeta (ζ) potansiyeli, uzun süre stabil olabileceklerinin önemli bir göstergesidir. ζ potansiyel değeri sıfırdan uzaklaştıkça, sistem negatif veya pozitif bir yük elde eder ve bu, numunenin genişletilmiş stabilitesini gösterir (Cano-Sarmiento vd., 2018). Tablo 3.4'te belirtilen C1, C2, HPOB-1, HPOB-3 ve HPOB-5 örneklerinin ζ potansiyel değerleri -40,17 ± 1,50 mV ile -30,33 ± 2,19 mV arasında değişmektedir. Bu sonuç, tüm numunelerin yüksek ζ potansiyel değerleri gösterdiğini gösterir. Negatif yük, yağ damlacıklarının etrafındaki negatif yüklerin hidrofobik bağlarla polisakkaritlere bağlanmasından kaynaklanır. Bu nedenle, soğuk sıkım acı biber tohumu yağı ve yan ürünlerini içeren salata sosu örneklerinin ζ potansiyel değerlerinin -29,33 ila -35,67 mV aralığında olması, bu formülasyonların uzun süre stabil kalabileceğini göstermektedir.

Parçacık boyutu (d32), salata sosu numunelerinin emülsiyon stabilitesini belirlemede kritik bir faktördür. C1, C2, HPOB-1, HPOB-3 ve HPOB-5 örneklerinin parçacık boyutları (d32) sırasıyla 3,44 ± 0,16 µm, 3,94 ± 0,24 µm, 2,04 ± 0,48 µm, 2,82 ± 0,13 µm ve 2,63 ± 0,35 µm olarak belirlenmiştir. Tablo 3.4'te görüldüğü gibi, yüksek mutlak değerlere sahip ζ potansiyeline sahip numunelerin parçacık boyutları daha düşüktür. ζ potansiyelindeki azalma, mobil faz aktivitesinde bir azalmaya ve yağ molekülleri etrafında daha kolay emülgatör ve

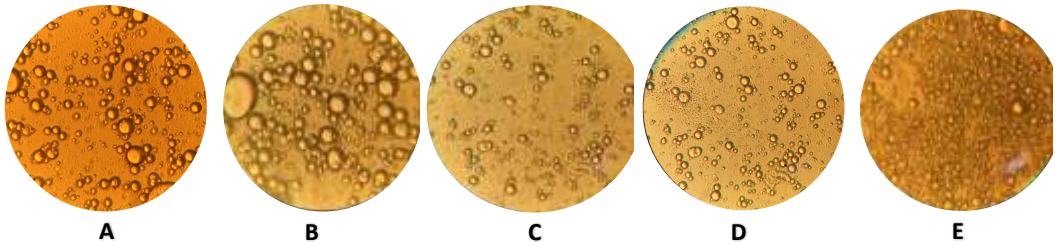
protein lokalizasyonuna bağlanmaya işaret etmektedir. Araştırmacılar, negatif yüklü polisakkaritlerin partikül çapını etkileyen başka bir önemli etken olduğunu belirtmiştir. Soğuk preslenmiş yağ yan ürünleri, düşük yağlı ürünlerin reolojik özelliklerini iyileştirmek için dengeleyici bir madde olarak kullanılabilir.

Tablo 3.4 ζ-potansiyel ve damlacık boyutu

	C-1	C-2	HPOB-1	HPOB-3	HPOB-5
ζ-potensiyel (mV)	-40,17±1,50^{d}	-38,97±2,17^{cd}	-29,33±0,68^{a}	-32,20±0,59^{b}	-35,67±0,55^{c}
***d*$_{32}$ (µm)**	3,44±0,16^{e}	4,94±0,24^{a}	4,83±0,15^{b}	4,44±0,08^{c}	4,22±0,13^{d}
PdI	0,95±0,04^{a}	0,85±0,22^{b}	0,87±0,17^{b}	0,92±0,15^{a}	0,93±0,26^{a}

HPOB: Acı biber yağı yan ürünü. C1: %30 yağlı salata sosu (tam yağlı). C2: %10 salata sosu (az yağlı). Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

Şekil 3.3, salata sosu örneklerinin ışık mikroskobu görüntülerini göstermektedir. HPOB içeren numuneler, daha az yağ içermelerine rağmen daha düşük damlacık boyutlarına sahiptir. Bu sonuçlar, emülsiyon stabilitesi analizi ve ζ potansiyeli ölçümleriyle uyumludur. HPOB, sulu fazdaki hareketliliği azaltarak yağ damlacıklarının bir araya gelmesini engellemiş olabilir. Emülsiyon stabilitesi, ζ potansiyeli ölçümleri ve ışık mikroskobu verileri, HPOB'nin yağı azaltılmış salata sosunda emülsiyon stabilitesini iyileştirebileceğini göstermiştir.



Şekil 3.3 Optik mikroskop görüntüleri

A: %30 yağlı salata sosu (tam yağlı). B: %10 salata sosu (az yağlı), C,D,E: sırasıyla %1, %2 ve %3 acı biber yağı yan ürün ilaveli soslar

3.2.6 Oksidatif Stabilite ve Uçucu Bileşimi

HPOB içeren az yağlı salata sosu numuneleri (%1-3 ve %5) ile tam yağlı ve az yağlı kontrol numuneleri (C1 ve C2), oksidasyon stabilitesi için OXITEST Cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin oksidatif stabilitesini değerlendirmek için indüksiyon periyodu (IP) değerleri kullanılmıştır. Tablo 3.5, acı biber çekirdeği yağının IP değerinin 7,03 saat olduğunu göstermektedir. Ayrıca, salata sosu örneklerinin IP değerleri 90 °C'de 2,58 ile 8,33 saat arasında değişmiştir (Tablo 3.5). HPOB içeren salata sosu örneklerinin IP değerleri (6,33 saat ile 8,33 saat arasında), kontrol örneklerinin IP değerlerinden (2,58 saat ile 3,20 saat arasında) daha yüksektir ve bu da HPOB'nin salata sosu örneklerinin oksidatif stabilitesini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. Oksidasyon nedeniyle oluşan uçucu bileşenler, yağı azaltılmış kontrol örneği (C2) içinde en yüksek seviyededir. Yağ/su emülsiyonlarındaki yağ oranı, oksidasyon stabilitesini etkileyen kritik bir faktördür. Yağ fraksiyonu yüzdesi düştükçe, oksidasyon kararlılığı azalır (Berton-Carabin vd., 2014). HPOB içeren numunelerde, yağlı kontrol numunesi (C1) ve yağı azaltılmış kontrol numunesi (C2) ile karşılaştırıldığında daha az oksidatif uçucu bileşen oluşmuştur. Özellikle, orta ve kısa zincirli aldehitler gibi oksidasyon belirteçleri, HPOB içeren numunelerde önemli ölçüde azalmıştır. Hekzanal, nonanal ve 1-okten-3-ol gibi oksidatif uçucu bileşenlerin oluşumu ile IP değerleri arasında uyum vardır. Her iki sonuç da HPOB içeren salata sosu örneklerinin, yağ azalmasına rağmen kontrol numunelerinden daha yüksek oksidatif stabiliteye sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum, HPOB'nin içerdiği kapsaisin, fenolik bileşikler ve proteinlerle açıklanabilir. HPOB, fenolik bileşiklerin yağ-su arayüzünde lokalizasyonunu sağlayarak salata soslarının oksidatif stabilitesinde artışa neden olmuştur.

Tablo 3.5 Oksidatif uçucu bileşen ve IP değeri

OVC and IP değeri	Örnek									
	C1		C2		HPOB1		HPOB3		HPOB5	
IP değeri (h)	3,20±0,04[d]		2,58±0,05[e]		6,33±0,03[c]		7,18±0,12[b]		8:33±0,06[a]	
	Depolama (gün) Pik alan (TIC birim·10^{-6})									
	0.	7.	0.	7.	0.	7.	0.	7.	0.	7.
Aldehydes										
Pentanal	nd	0,33		0,34		nd		nd	0,21	nd
Hexanal		**2,77**		**6,42**		**1,52**		**0,85**		**0,75**
2-Heptenal		0,45		0,43		nd		nd		nd
Octanal		0,60		0,82		nd		0,28		1,57
2-Octenal	0,61	0,26		nd				0,38		nd
Nonanal		0,78		1,17	0,29	0,86		0,74	0,27	0,69
2-Nonenal		nd		nd		0,72		nd		nd
2-Decenal		nd		nd		0,81		nd		nd
Decanal		0,17		nd		nd		nd		nd
2,4-Decadienal		nd		nd		nd		**0,47**		nd
Alcohol		nd								
1-Pentanol		nd		0,31		nd		nd		nd
1-Heptanol		nd		0,24		0,32		0,55		0,65
1-Octene-3-ol		0,99		1,52	0,26	0,88	0,31	0,71		0,64
1-Penten-3-ol		nd		nd		nd		nd		nd
Ketone										
2-Heptanone		nd		0,27		0,35		nd		nd
3-Heptanone-5-methyle		nd		0,23		nd		nd		0,99
Hydrocarbons										
Pentane		nd		nd		nd		nd		0,38
Heptane		nd		nd		nd		nd		nd
Octane		nd		nd		1,98		nd		nd
1-3-Hexadiene		nd		0,48		nd		nd		nd
Furan										
2-Pentylfuran		1,41		1,51		0,91		0,83		0,89
2-Ethylfuran		nd		0,13		nd		nd		nd
Acids										
Hexanoic acid		nd		nd		nd		nd		nd
Propanoic acid		nd		nd		0,38		nd		nd

HPOB: Acı biber yağ yan ürünü. C1: %30 yağlı salata sosu. C2: %10 salata sosu (az yağlı salata sosu numunesi). Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

(Della Valle vd., 2020)'e göre, derin kızartma sırasında termal oksidasyonu önlemek için soya fasulyesi yağı yerine kırmızı biber tohumu yağı kullanılabilir ve termal asitlenme ayrıca antioksidanlar olarak kapsaisin veya tokoferol eklenerek durdurulmuştur. (Lee vd., 2008), acı biber tohumu yağının kapsaisin ve alfa-tokoferol gibi antioksidanlar içermesi nedeniyle antioksidan etkisi olduğunu bildirmişlerdir. Bu nedenle, kapsaisin domuz yağındaki lipid oksidasyonunu inhibe ettiği halde soya fasulyesi yağında inhibe etmediği belirtilmiştir. Ayrıca, proteinlerin yağ/su emülsiyonlarında oksidasyonu geciktirici özelliklere sahip olduğu bilinmektedir.

Proteinler, serbest radikalleri ve karbonil grupları içeren uçucu oksidatif bileşikleri temizleme yeteneklerine sahiptir (Berton-Carabin vd., 2014). HPOB'deki yüksek protein içeriği, bu mekanizmaların her ikisiyle etkili bir şekilde azaltılmış oksidasyona katkıda bulunabilir. Sonuç olarak, bu çalışmanın sonuçları, HPOB'nin reolojik özellikleri iyileştirmenin yanı sıra yağı azaltılmış salata sosu numunelerinin termal-oksidatif stabilitesini artırabileceğini göstermektedir.

3.2.7 Duyusal Analiz

Tablo 3.6'da görünen sonuçlara göre, Görünüm, Tat, Renk, Yayılabilirlik, Doku ve Genel Kabul Edilebilirlik gibi duyusal kalite kriterlerinin puanları incelenmiştir. Tat kriteri dışındaki tüm kalite kriterlerinde en yüksek puan HPOB 5 numunesinden elde edilmişken, en düşük puan C2 örneğine aittir. Görünüm ve renk kalitesi kriterlerinde, HPOB içeren numunelerin duyusal puanları tam yağlı ve düşük yağlı kontrol numunelerinden (C1 ve C2) önemli ölçüde daha yüksektir. Bu yüksek puanların sebebi, HPOB içeren numunelerin turuncu renklerinin karotenoid içeriğinden kaynaklanabilir ve tüketiciler tarafından olumlu bir şekilde algılanmıştır.

Lezzet kalite kriterinde en yüksek puan HPOB 3 numunesinden elde edilmiştir. Bunun nedeni, %3'ten fazla HPOB eklenmesinin aşırı acı bir tat oluşturması ve tüketicilerin bu acı tadı olumsuz olarak değerlendirmesidir. Yayılabilirlik ve Doku kalite kriterleri, reolojik analiz sonuçlarıyla paralel bir eğilim göstermektedir. Bu kalite kriterlerinin puanları, HPOB içeren numunelerde kontrol numunelerine göre daha yüksektir. HPOB'deki protein ve karbonhidrat içeriği, salata sosu örneklerinin doku ve kıvam özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir.

C2 numunesinin tekstür ve yayılabilirlik kalite puanlarının düşmesi, yağ içeriğinin azalmasıyla birlikte kıvam değerlerinin düşmesinden kaynaklanabilir ve bu durum duyusal kaliteyi olumsuz etkilemiştir. Duyusal analiz sonuçları, yağ azaltmanın duyusal puanlarda düşüşe neden olabileceğini, ancak HPOB eklemenin bu düşüşü telafi edebileceğini göstermiştir.

Tablo 3.6 Duyusal analiz

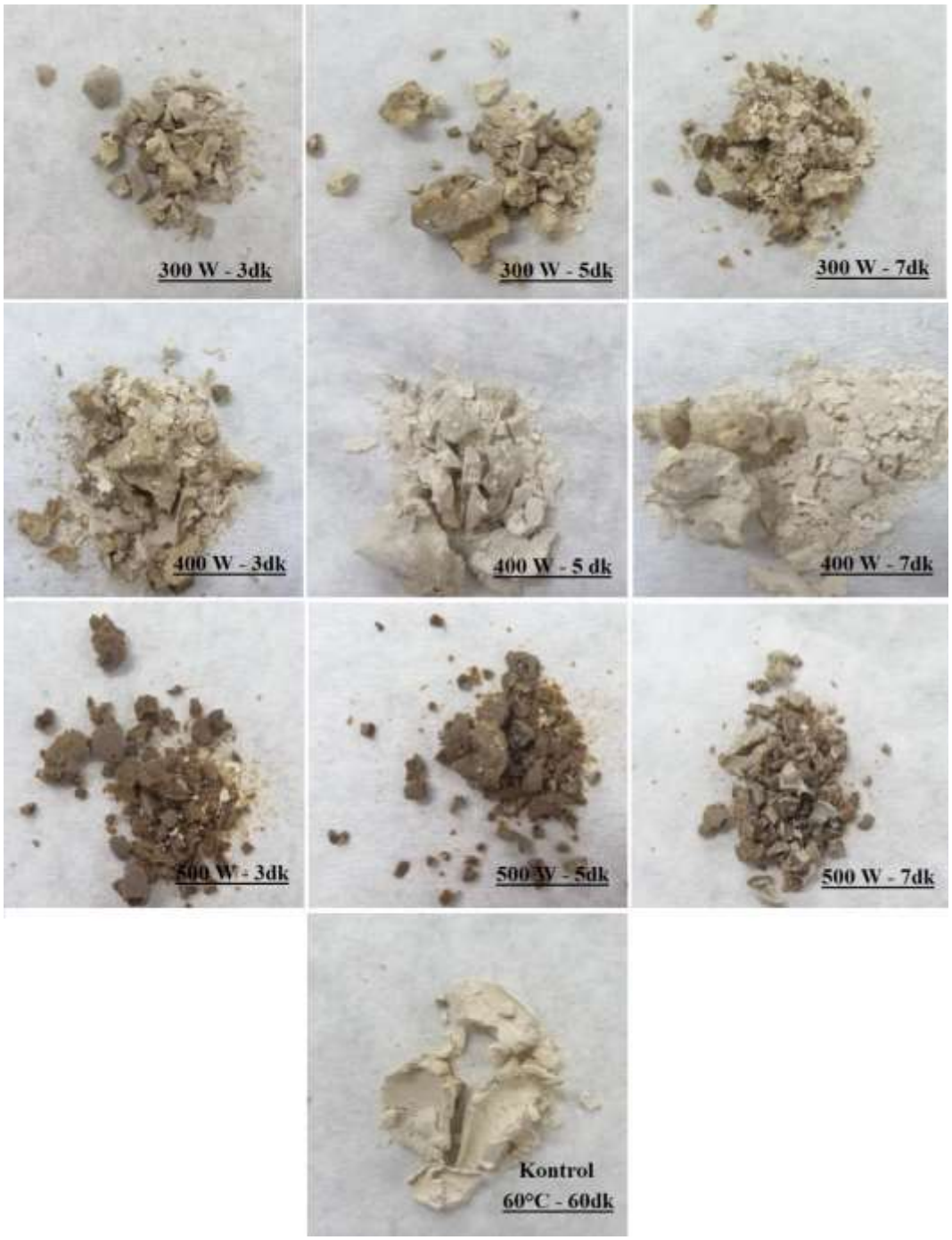
Ö	Görünüm	Tat	Renk	Yayılabilirlik	Tekstür	Genel Kabul
C1	4,06±0,15^{bc}	4,20±0,13^{b}	3,93±0,16^{bc}	4,26±0,17^{ab}	4,05±0,10^{b}	4,20±0,10^{ab}
C2	3,85±0,16^{c}	3,96±0,12^{bc}	3,81±0,19^{c}	3,40±0,13^{c}	3,26±0,18^{c}	3,86±0,12^{b}
HPOB1	4,33±0,11^{b}	4,36±0,09^{ab}	4,28±0,10^{b}	4,36±0,16^{a}	4,20±0,15^{ab}	4,33±0,15^{a}
HPOB3	4,53±0,15^{ab}	4,54±0,11^{a}	4,53±0,08^{ab}	4,40±0,18^{a}	4,32±0,16^{ab}	4,46±0,08^{a}
HPOB5	4,70±0,10^{a}	4,30±0,14^{ab}	4,78±0,16^{a}	4,53±0,09^{a}	4,46±0,12^{a}	4,65±0,18^{a}

HPOB: Acı biber yağ yan ürünü. C1: %30 yağlı salata sosu. C2: %10 salata sosu (az yağlı salata sosu numunesi). Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

3.3 HPOB Protein ve Hidrolizat Analizleri

3.3.1 Ultrases Koşullarının HPOB Protein Ekstraksiyonu Üzerine Etkisi

Bu deneme çalışmasında, farklı ultrases güç ve sürelerinin çözünür protein miktarları üzerindeki etkisi incelenmiştir. Tablo 3.7'de çözünür protein içerikleri % 75,60 ile 96,25 arasında protein verimleri ise %18,53 ile 30,15 arasında değişmiştir. Verilere göre, ultrases gücünün artmasıyla çözünür protein miktarının arttığı ve kontrol örneğiyle (ısıl işlem uygulanan örnek) karşılaştırıldığında ultrasesin protein çözünürlüğünü artırmada anlamlı bir etkisi olduğu görülmüştür. Ancak, ultrases gücünün ve süresinin artmasıyla birlikte çözünür protein içeriğinde bir azalma meydana gelmiştir. Şekil 3.4, bu değişimi grafiksel olarak göstermektedir.



Şekil 3.4 Farklı ultrases koşullardaki protein izolatları

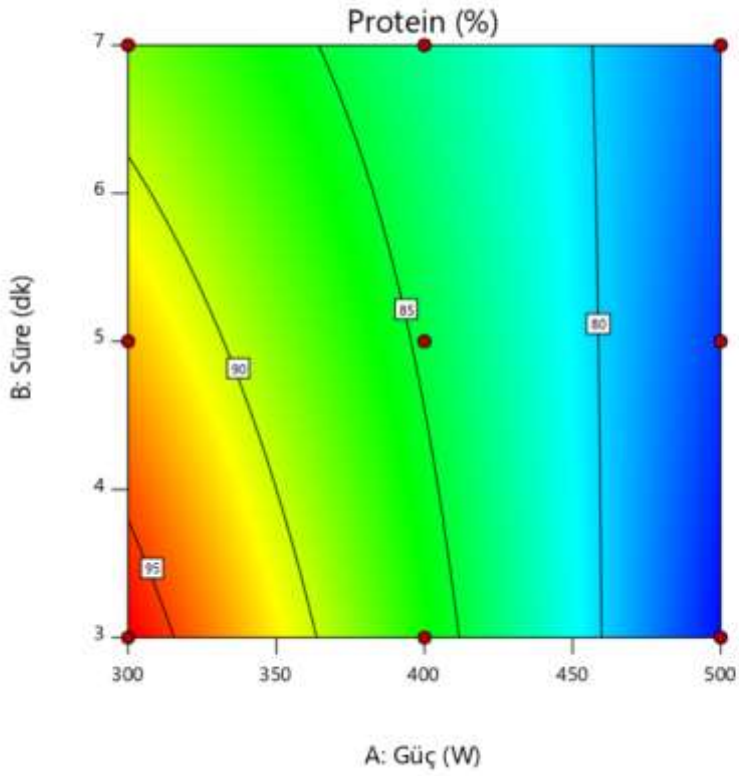
Ultrases uygulamasında gücün ve sürenin artması, proteinlerin yapılarında bozulmalara neden olabilir. Bu bozulmalar, proteinlerin açılmasına veya denatürasyonuna yol açar (Wang vd., 2020). Denatüre olan proteinler, normal üç boyutlu yapılarını kaybeder ve daha az çözünür hale gelir. Ayrıca, proteinlerin açılması veya denatürasyonu, proteinler arasında agregasyona (birleşme) neden olabilir. Bu da çözünür protein miktarında azalmaya ve çözünürlükte azalmaya yol açabilir (Belwal vd., 2018; M. Kumar vd., 2021; Zhang vd., 2019).

Tablo 3.7 Deneysel tasarım sonuçları

Deneme	Güç (W)	Süre (dk)	Protein (%)	Verim (%)
Kontrol	0	60	75,60±0,39^{c}	20,35±1,33^{c}
1	300	3	96,25±0,45^{a}	28,12±0,14^{a}
2	300	5	92,75±1,11^{a}	30,15±0,25^{a}
3	300	7	87,85±0,87^{b}	22,06±0,17^{bc}
4	400	3	85,75±0,63^{b}	22,34±0,28^{bc}
5	400	5	86,63±0,28^{b}	26,86±0,87^{ab}
6	400	7	83,13±0,44^{b}	22,83±1,21^{bc}
7	500	3	76,13±1,33^{c}	20,66±1,27^{c}
8	500	5	75,60±1,12^{c}	18,53±0,99^{c}
9	500	7	77,70±1,08^{c}	19,34±1,42^{c}

Ultrason destekli ekstraksiyon, birçok uygulamada ekstraksiyon verimliliğini artırma potansiyeline sahiptir. Ultrason enerjisi, dalga hareketi ve kavitasyon etkisi gibi mekanik etkiler yoluyla hücre duvarlarının bozulmasını sağlayarak içerik maddelerinin çıkarılmasını kolaylaştırır. Bunun sonucunda, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı düşürülebilir. Ekstraksiyon verimi 300 ve 400 W güçlerinde süre arttıkça (3 ve 5 dk) arttığı sonrasında (7 dk) azaldığı görülmüştür. 300 W ile 500 W gücünde 3 - 5 dk ultrases uygulaması kontrol örneğine göre ekstraksiyon süresini azalttığı görülmüştür. 500 W güçteki uygulanan ultrases işlemlerinde ise ekstraksiyon veriminin kontrol örnek ile anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Yağı alınmış yer fıstığı protein tozu ile kütle transferi gerçekleştirilen bir sistemde, 250 W -20 dk ultrason destekli ekstraksiyon, protein tozu ve alkali solüsyon arasındaki temas alanını artırdığı rapor edilmiştir (Sun vd., 2020).



Şekil 3.5 Maksimum çözünür protein grafiği

Maksimum çözünür protein miktarı 300 W - 3 dk uygulamasında saptanmıştır. Bu noktadan sonra, daha yüksek güç ve sürelerin uygulanmasıyla protein çözünürlüğünün azaldığı görülmüştür (Şekil 3.5). Ultrasonik ekstraksiyon sürecinde, zaman ve güç (genellikle ultrasonik enerji yoğunluğu olarak ifade edilir) kavitasyon oluşumunu etkileyen önemli faktörlerdir.

Zaman, ekstraksiyon süresini ifade eder ve ultrasonik işlem süresi arttıkça daha fazla kavitasyon oluşumu gerçekleşebilir. Ancak, uzun süreli ultrasonik işlem, kavitasyonun şiddetini azaltabilir veya engelleyebilir. Bu durum, işlem sırasında ultrasonik transduserin ısınmasına ve ses enerjisinin kaybedilmesine neden olabilir. Bu yüzden, optimum ekstraksiyon verimliliği için uygun bir süre belirlenmelidir. Güç, ultrasonik enerji yoğunluğunu temsil eder. Daha yüksek güç seviyeleri, daha yoğun kavitasyon oluşumuna yol açar. Ancak, aşırı yüksek güç seviyeleri, örneğin yoğun kavitasyon nedeniyle sıcaklık artışı gibi yan etkilere neden olabilir. Bu da ekstraksiyon sürecini etkileyebilir. Dolayısıyla, uygun güç seviyelerinin belirlenmesi önemlidir. Optimum ultrasonik ekstraksiyon koşullarını belirlemek için farklı süreler, güç seviyeleri ve işlem parametreleri test edilerek en iyi ekstraksiyon verimliliği elde edilmeye çalışılır. Bu şekilde, kavitasyonun etkin bir

şekilde kullanıldığı ve ekstraksiyon süresinin kavitasyon itici gücünü engellemediği uygun işlem koşulları belirlenebilir (Li vd., 2021).

Susam kepeğinden proteinin geri kazanıldığı bir çalışmada standart alkali ekstraksiyona kıyasla VU (ultrason ön işlemli vakum) ve VUE (enzimatik ultrason ön işlemli vakum) ile sırasıyla %31.0 ve %41.6 arttığı rapor edilmiştir (Görgüç vd., 2020).

Ultrases gücü ve süresinin protein miktarı üzerindeki etkisi 2FI (2 faktör 2 seviye) modeli kullanılarak modellenmiştir. Model sonuçlarına göre, R^2 ve Adj. R^2 değerleri 0,99 ve 0,98 olması ultrases koşullarının protein miktarı üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu ve 2FI modelinin bu etkiyi başarılı bir şekilde açıkladığını göstermiştir. Tablo 3.8'de yer alan p-value değerleri, güç ve sürenin lineer etkileri ve 2FI etkilerinin anlamlı olduğunu göstermektedir.

Optimize edilmiş deney koşullarına göre, HPOB için maksimum çözünür protein miktarını elde etmek için önerilen güç değeri 301,34 W ve süre değeri 3,03 dakikadır. Desirability değeri 1.00 olarak tespit edilmiştir. Bu bulgular, ultrases işleminin protein çözünürlülüğü üzerinde kritik bir parametre olduğunu ve uygun koşulların belirlenmesinin ürünün istenen özelliklere sahip olmasını sağladığını göstermektedir.

Tablo 3.8 Model parametreleri

ANOVA - 2FI model

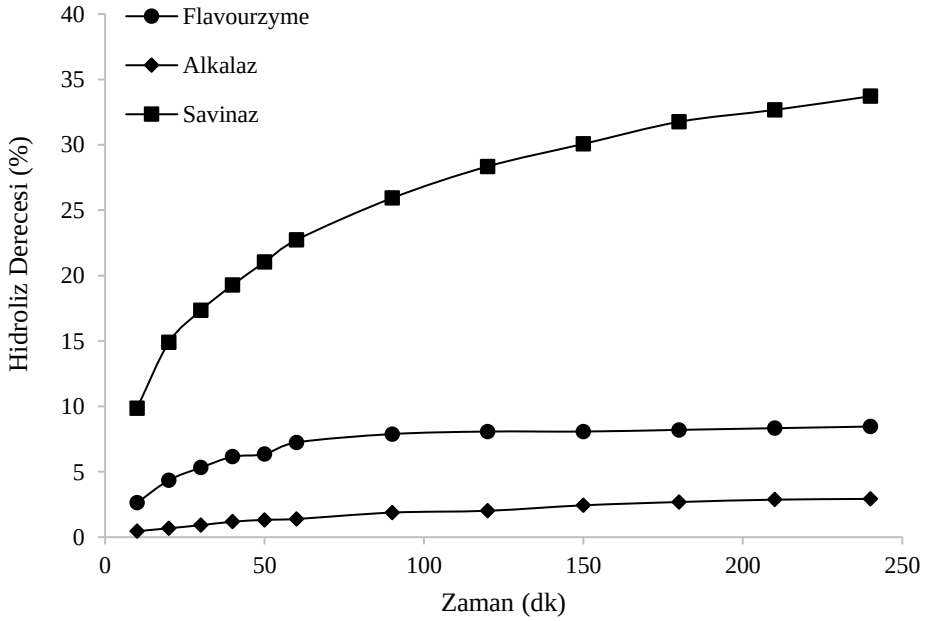
Response 1: Protein

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	414,61	3	138,20	113,06	< 0.0001	significant
A-Güç	374,86	1	374,86	306,64	< 0.0001	
B-Süre	14,88	1	14,88	12,18	0,0175	
AB	24,88	1	24,88	20,35	0,0063	
Residual	6,11	5	1,22			
Cor Total	420,73	8				

3.3.2 HPOB Proteinin Hidroliz Derecesi

Bu çalışmada, HPOB protein örnekleri üç farklı ticari enzimle (Flavourzyme, alkalaz ve savinaz) muamele edilmiştir. Şekil 3.6'da gösterilen sonuçlara göre, farklı enzimlerin kullanımıyla HPOB proteinlerinin hidroliz dereceleri değişmektedir. Alkalaz ile muamele edilen HPOB protein örneğinin hidroliz derecesi %0,46 ile %2,93 arasında değişmektedir. Flavourzyme uygulanmış HPOB protein örneğinde ise hidroliz derecesi %2,63 ile %8,46 arasında değişmektedir. En yüksek hidroliz dereceleri ise savinaz enzimi ile muamele edilen örnekte gözlenmektedir. 240 dakika hidroliz sonucunda savinaz ile muamele edilen örneğin hidroliz derecesi %33,71 olarak saptanmıştır.

Enzimlerin aktivite süresi arttıkça, hidrolizatların hidroliz dereceleri de artmaktadır. Özellikle savinaz ile muamele edilen örnekte ilk bir saat boyunca hızlı bir hidroliz gerçekleşmiştir, ancak sonrasında hidroliz süreci daha yavaşlamıştır. Alkalaz ve flavourzyme ile hidroliz edilen örneklerde ise savinaz ile muamele edilen örneğe kıyasla daha yavaş bir hidroliz gözlenmiştir.



Şekil 3.6 Zamana bağlı hidroliz derecesi

Hidroliz işleminde kullanılan enzimlerin spesifikliği ve aktivitesi, hidrolizatların derecesi ve kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Enzimler, proteinlerin ve peptidlerin hidrolizi için kullanılır ve farklı ph, zaman ve sıcaklık aralıklarında

çalışmaktadır (Ashaolu, 2020). Bu nedenle, hidroliz işlemi için uygun enzimlerin seçilmesi ve kullanılması önemlidir.

Benzer çalışmalar incelendiğinde mor pirinç kepeği proteini, flavourzyme, alkalaz ve nötraz enzimleri kullanılarak hidrolize edildiğinde, hidroliz derecesi %7,4 ile %14,0 arasında değişmiştir. Çalışma bulgularına göre flavourzyme enziminin alkalaz ve nötraz enzimlerine kıyasla daha etkili olduğu ortaya çıkmıştır (Thamnarathip vd., 2016).

Diğer bir çalışmada acı bakla proteinin farklı enzimler ile 2 saatlik hidrolizi sonucu % 9,05 ve % 6,90 hidroliz dereceleri ile en yüksek alkalaz ve flavourzme olduğu görülürken en düşük % 2,38 hidroliz derecesine Proteaz N-01 sahip olduğu bildirilmiştir (Schlegel vd., 2019). Sonuçlar literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur ((García Arteaga vd., 2020).

Flavourzyme, *Aspergillus oryzae* kaynaklı ticari olarak üretilen hem ekzo-peptidaz hem de endo-peptidaz aktivitesine sahip bir enzimdir. Alkalaz ve savinaz enzimi sırasıyla *Bacillus licheniformis* ve *Bacillus sp.* bakterisinden elde edilmiştir. Alkalaz ile savinaz enziminin ana enzim bileşeni bir alkalin serin proteazı olan subtilisin A'dır. Flavourzyme enzimin alkalazdan daha yüksek hidroliz derecesi ile sonuçlanması beklenen bir durum iken savinazın alkalazdan yüksek olması alkalaz enziminin çapraz bağlı agregatlardan oluşmasından kaynaklanmaktadır (Fadimu vd., 2021; Garcia-Mora vd., 2014; Sivri vd., 1999; Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023).

Hidroliz derecesi, bir proteinin enzimler tarafından parçalanma veya ayrışma derecesini ifade eder. Yüksek hidroliz dereceleri, daha küçük peptitlerin ve serbest amino asitlerin oluştuğu anlamına gelir (Ma vd., 2014). Bu peptitlerin moleküler kütleleri genellikle daha düşüktür ve hidrofobiklikleri ile yüklü gruplarının miktarı da değişkenlik göstermektedir. Bu yapısal özellikler, protein hidrolizatının işlevselliğini etkilemektedir. Daha küçük peptitler, daha iyi sindirilebilirlik, emilim ve biyoyararlanım sağlarken hidrofobik peptitler, emülsiyon stabilizasyonu, köpük oluşturma veya yağ tutma gibi işlevsel özellikler sergilemektedir. Ayrıca, yüklü grupların miktarı antimikrobiyal, antioksidan veya emülsifikasyon gibi belirli işlevlerin varlığını etkilemektedir (Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Bu nedenle, protein hidrolizatlarının işlevsel özelliklerini belirlemek için moleküler kütle, hidrofobiklik ve yüklü grupların miktarı gibi peptitlerin yapısal özellikleri

dikkate alınmaktadır. Hidroliz derecesi, bu yapısal özelliklerin bir göstergesi olabilmekte, ancak direk bir bağlantı kurulması önerilmemektedir (Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023).

3.3.3 Çözünürlülük

Protein ve hidrolizatların çözünürlüğünün hidroliz işlemiyle nasıl etkilendiği Tablo 3.9'da gösterilmiştir. Sonuçlar, hidrolizatların çözünürlüğünü önemli ölçüde artırdığını göstermiştir ($p<0,05$). Savinaz ile hidroliz edilen örnekte en yüksek protein çözünürlüğü (%95,94) elde edilirken, işlem görmemiş HPOB protein örneğinde en düşük çözünürlük saptanmıştır.

Enzimatik hidroliz, protein moleküllerinin daha küçük peptit bileşenlerine ayrılmasını sağlayarak hidrolizatların üretilmesine olanak tanır. Hidrolizatlar, daha küçük molekül ağırlığına ve boyuta sahip olup, daha yüksek çözünürlüğe sahip olabilmektedir. Hidroliz işlemi, hidrofilik grupların ve amino asitlerin salınmasına katkıda bulunur, böylece hidrofobiklik azalır ve suda çözünürlük artar (Lam vd., 2018).

Yüzey aktif (köpürme ve emülsifiye edici) özelliklere ve jelleşme özelliklerine sahip proteinler genellikle çözünür proteinlerdir. Çözünmeyen proteinlerin gıdalarda kullanım potansiyelleri sınırlıdır. Proteinler, hidrofobik ve iyonik etkileşimler gibi çeşitli kuvvetler aracılığıyla çözünürlüklerini belirleyen etkileşimlere sahiptir. Hidrofobik etkileşimler, proteinin hidrofobik (suda çözünmeyen) bölgelerinin bir araya gelerek çözünmez agregatlara veya çökelti oluşturmasına neden olmaktadır. Bu etkileşimler, proteinin çözünürlüğünü azaltır. Diğer yandan, iyonik etkileşimler proteinin su ile etkileşimini sağlayarak çözünürlüğü artırabilir. Su molekülleri, proteinin yüzeyindeki yüklenmiş gruplarla etkileşime girer ve proteinin çözünmesini sağlar (Belitz vd., 2008; Walstra, 2003; Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Yapılan bir çalışmada işlenmemiş bezelye proteini izolatı yaklaşık %2 oranında çözünürlülüğe sahipken farklı enzimler ile hidrolize edildiğinde esperaz, savinaz ve alkalaz hidrolizatları sırasıyla %78, %68 ve %64 oranında protein çözünürlülüğü göstermiştir.

Alkalaz ve savinaz gibi serin endopeptidazlarının protein çözünürlülüğü üzerinde olumlu etkilerini rapor etmişlerdir (García Arteaga vd., 2020).

Ultrason destekli biber proteinin tekno-fonksiyonel özelliklerinin incelendiği çalışmada pH'a bağlı çözünürlülüğü pH 1,0-,.0 aralığında azaldığı ve pH 4,0-12,0 aralığında arttığı görülmüştür. İzoelektronik noktaya yakın olan pH 4,0 ile 5,0 arasında ise %10 ile 20 arasında değişen çözünürlülük gözlenmiştir (Li vd., 2018). Araştıma bulgular ile kıyaslandığında izole protein olan HPOB proteinin izoelektronik noktasındaki (pH 5,5) %13,33 çözünürlülük oranı ile uyumludur (Li vd., 2018; Vogelsang-O'Dwyer vd., 2023).

Enzimatik hidrolizin proteinlerin çözünürlüğünü artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir (Tablo 3.9). Hidroliz işlemi, protein yapılarının parçalanması ve peptit bileşenlerinin oluşmasıyla birlikte hidrofobik özelliklerin azalmasına ve çözünürlüğün artmasına yol açmıştır. Sonuçlar incelendiğinde ise hidrolizatların, proteinlerden daha iyi çözünebilen ve daha işlevsel bileşikler olma potansiyelini ortaya koymuştur (Alahmad vd., 2023; Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Tablo 3.9 Çözünürlülük değerleri

	Çözünürlülük (%)
HPOB protein	$13,33 \pm 0,30^{d}$
Alkalaz	$66,66 \pm 1,40^{c}$
Savinaz	$95,94 \pm 0,16^{a}$
Flavourzyme	$90,84 \pm 0,83^{b}$

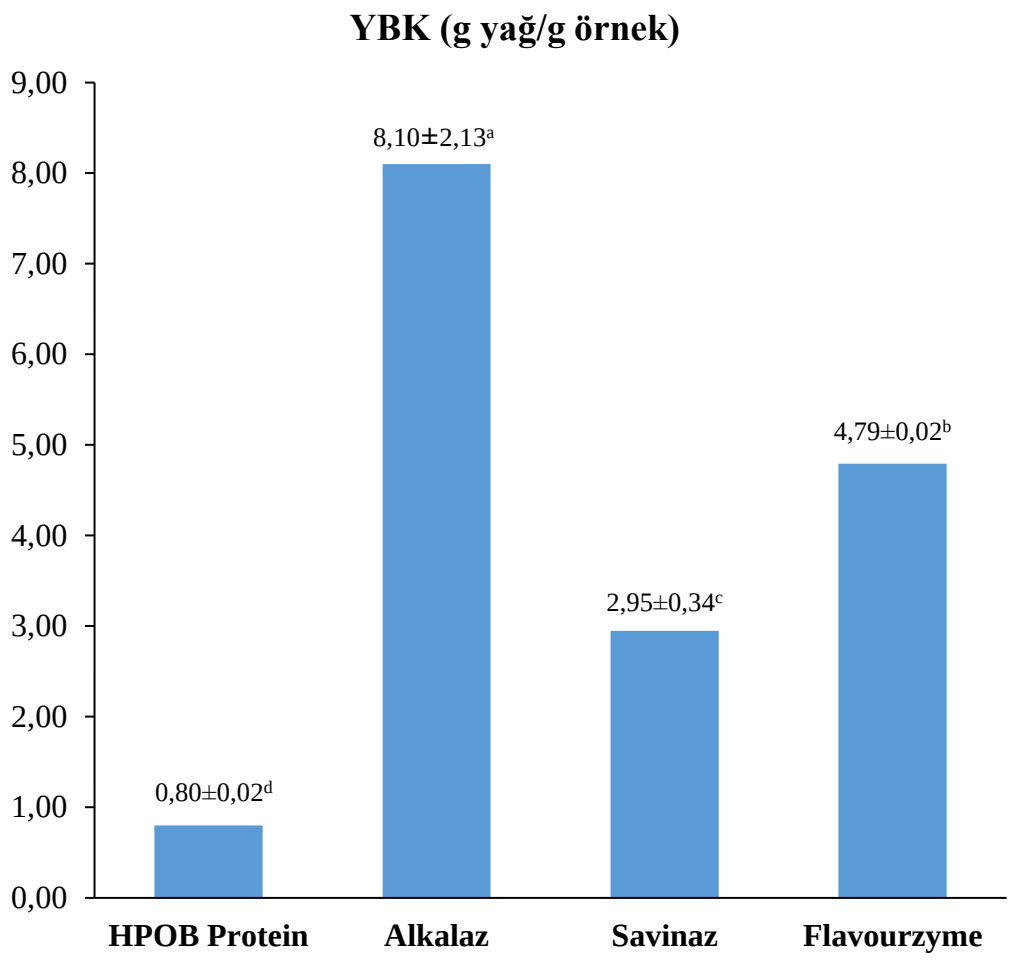
Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

3.3.4 Yağ Bağlama Kapasitesi

Protein ve hidrolizat örneklerinin yağ bağlama kapasitesi (YBK) değerleri, 0,80 ile 8,10 (g yağ/g örnek) arasında değişmektedir (Şekil 3.7). En yüksek YBK değeri, alkalaz ile muamele edilen hidrolizatlarda bulunurken, en düşük değer herhangi bir işlem uygulanmamış kontrol örneğinde saptanmıştır.

Bu sonuçlar, hidroliz işleminin yağ bağlama kapasitesini etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Hidrolizatların yağa bağlanma afinitesi, hidroliz derecesi ve amino asit kompozisyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Hidroliz derecesi arttıkça, esnekliklerini kaybederek daha fazla iyonlaşabilir gruplar ortaya çıkmaktadır. Bu durum, yağ bağlama kapasitesinde azalmaya yol açmaktadır. Hidroliz işlemiyle birlikte protein yapısı açıldığından, proteinlerin tersiyer yapısında bulunan polar olmayan ve/veya yüklü yan zincirler ortaya çıkar. Bu durum hidrofobiklikte artışa neden olur. Aynı zamanda kısmi hidroliz sonucu oluşan hidrofobik grupların sayısı da artarak yağ molekülleri ile etkileşim kurmaktadır (Haque, 1993; Kristinsson & Rasco, 2000; Price vd., 1987).



Şekil 3.7 Yağ bağlama kapasitesi (YBK)

Bu bulgular, hidroliz işleminin yağ bağlama kapasitesini etkilediğini ve hidrolizatların yağa bağlanma özelliklerinin protein hidroliz derecesi ve bileşimine bağlı olduğunu göstermektedir (Şekil 3.7).

Hidrolizatların YBK değerleri, belirli bir hidroliz derecesine kadar artış gösterir ve daha sonra azalır. Bu durum, hidroliz işleminin protein yapısının açılması ve hidrofobik grupların ortaya çıkması nedeniyle gerçekleşir. Başlangıçta hidrofobik grupların artması, yağ molekülleriyle etkileşimi kolaylaştırır ve yağ bağlama kapasitesini artırır. Ancak hidroliz işlemi devam ettikçe, proteinlerin aşırı hidrolizi nedeniyle esnekliklerini kaybederler ve daha fazla iyonlaşabilir gruplar ortaya çıkar. Bu durum, hidrofobik etkileşimleri azaltır ve yağa bağlama kapasitesinde azalmaya yol açar (Bao vd., 2017).

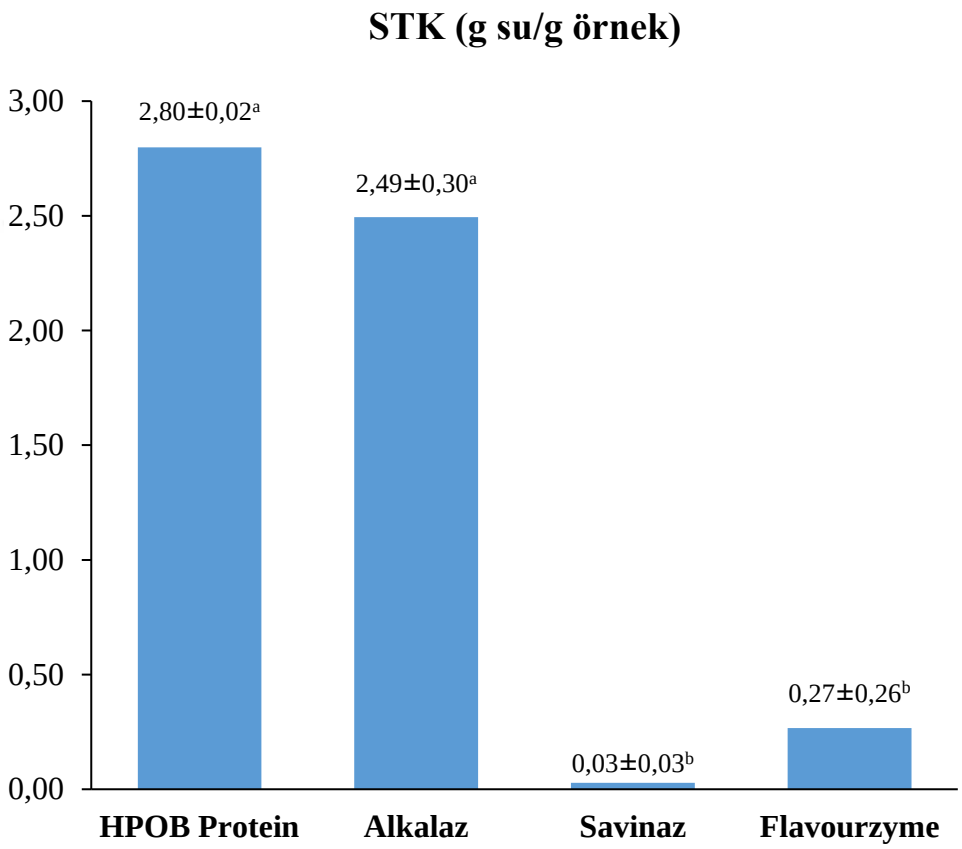
Kanola proteinin yağ baglama kapasitesinin incelendiği çalışmada ultrason süresi arttıkça 2,84 ile 3,26 g yağ/g örnek arasında değişkenlik gösterirken bezelye proteininin yağ baglama kapasitesi ultrason ön işlemli alkali ekstraksiyonunda 6,2 g yağ/ g örnek olarak rapor edilmiştir (Flores-Jiménez vd., 2019; Wang vd., 2020).

Ayrıca çoğu yazar hidroliz derecesinin artması ile yağ baglama kapasitesini ilk olarak artıracağını daha ileri hidroliz derecesinde ise azaltacağını bildirmiştir. Artan hidroliz derecesinde polar iyonlaşabilen grupların serbest kalması proteinin çözünürlüğü artırarak hidrofobik bölgelerin etkisini azaltmaktadır. Dolayısıyla yüksek hidroliz düşük yağ baglama kapasitesi sergileyeceğini vurgulamışlardır (Chabanon vd., 2007; del Mar Yust vd., 2010; Taha & Ibrahim, 2002). Kolza tohumunun hidrolize albüminler ve globulinleri sırasıyla düşük ve yüksek YBK'ne sahip olması bu durumu açıkça ifade etmektedir (Chabanon vd., 2007).

Sonuç olarak, hidrolizatların yağa bağlama afinitesi, protein yapısının açılması, hidrofobik grupların sayısı, hidroliz derecesi ve diğer faktörlerden etkilenir. Bu faktörlerin kombinasyonu, hidrolizatların yağa bağlanma özelliklerini belirlemektedir.

3.3.5 Su Tutma Kapasitesi

Protein ve hidrolizat örneklerinin su tutma kapasitesi (STK) değerleri, 2,80 ile 0,03 (g su/g örnek) arasında değişmektedir (Şekil 3.8). En yüksek STK değeri, HPOB protein ve alkalaz ile muamele edilen hidrolizatta bulunurken, en düşük değerleri hidroliz derecesi yüksek olan savinaz ve flavourzyme hidrolizat örneğinde saptanmıştır.



Şekil 3.8 Su tutma kapasitesi (STK)

Protein molekülünün su tutma yeteneği molekülün boyutu, şekli, hidrofilik ve hidrofobik etkileşimleri gibi bir dizi faktörden etkilenmektedir. Proteinin boyutu ve şekli, su moleküllerinin proteinin yüzeyine bağlanma ve etkileşime girmesi için önemlidir. Daha büyük proteinler daha büyük bir yüzey alanına sahip olacağından genellikle daha fazla su molekülünü bağlama kapasitesine sahiptir. Hidrofilik (suda çözünen) amino asit kalıntıları, su molekülleriyle etkileşime girme ve suyu tutma kapasitesini artırma eğilimindedir.

Öte yandan, hidrofobik (suda çözünmeyen) amino asit kalıntıları, su moleküllerinin proteinin yüzeyine bağlanmasını engelleyebilmekte ve su tutma yeteneğini azaltabilmektedir (Bai vd., 2018; Biswas & Sit, 2020).

Enzimatik hidroliz sürecinde polar amino asitlerin su ile temasa geçmesi ve iyonlaşabilir grupların açığa çıkması, proteinin su tutma kapasitesinin artmasına yol açmaktadır. Bu süreçte protein molekülü parçalandıkça hidrofilik bölgeler daha fazla ortaya çıkar ve su molekülleriyle etkileşime girer, bu da suyu tutma kapasitesini artırmaktadır (Vioque vd., 2000; Zuniga-Salcedo vd., 2019). Ancak analiz sırasında uygulanan santrifüj işlemi, su çözeltisinde bulunan peptitleri ve diğer çözünür bileşikleri uzaklaştırabilmektedir. Bu durumda, suda çözünür hale gelen peptitlerin bir kısmı analiz sırasında ortamdan uzaklaşır ve su tutma kapasitesine olan katkıları azalabilmektedir. Guan ve arkadaşları (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, su tutma kapasitesinin hidroliz sırasında azalmasına dikkat çekilmiştir. Bu durum, hidroliz sonucunda oluşan suda çözünür peptitlerin analiz sırasında uzaklaşması ve örnek kaybıyla ilişkilendirilmiştir (Guan vd., 2007).

Benzer diğer çalışmada acı biber protein izolatının su tutma kapasitesinin 2,78 g su/g örnek olarak bulunmuştur (Li vd., 2018). Çalışma sonuçları artan hidrolizasyon derecesi ile proteinlerin su tutma kapasitelerinin azaldığı görülen çalışmalar ile uyumludur (Drago & González, 2000; Kamani vd., 2021; Mir vd., 2019; Zuniga-Salcedo vd., 2019).

3.3.6 Emülsiyon Aktivite ve Stabilitesi

Emülsiyon aktivitesi (EA) ve emülsiyon stabilitesi (ES), protein ve hidrolizatların emülsifiye edici özelliklerini gösteren önemli parametrelerdir.

Örneklerin emülsiyon aktivitesi değerleri, farklı enzimlerle muamele edilen hidrolizatlarda değişkenlik gösterir. En yüksek EA değerleri alkalaz ile muamele edilen hidrolizatlarda bulunurken, en düşük değer savinaz hidrolizatında tespit edilir. Bu durum, enzim spesifikliği ve hidrolizatın bileşimine bağlı olarak farklı emülsifiye edici özelliklerin ortaya çıkabileceğini gösterir.

Emülsiyon stabilitesi ise protein ve hidrolizatların emülsiyonların istikrarını koruma yeteneklerini yansıtır.

Bu parametre, örneklere bağlı olarak değişkenlik gösterir ve 42,51 ile 221,62 arasında değerlere sahip olduğu görülmüştür (Tablo 3.10).

Alkalaz hidrolizatının EA ve ES sonuçları arasında pozitif bir korelasyon görülürken, savinaz hidrolizatının düşük EA değerine rağmen yüksek stabiliteye sahip olduğu saptanmıştır.

Proteinlerin emülsifiye edici özellikleri, birçok faktörden etkilenebilir. Bunlar arasında enzim spesifikliği, moleküler ağırlık dağılımı, hidrofobik özellikler, yüzey aktif madde içeriği ve hidroliz derecesi gibi faktörler yer alır. Bu faktörler, proteinlerin yüzey özelliklerini ve emülsiyon oluşturma ve stabilizasyon yeteneklerini etkileyerek emülsiyon aktivitesi ve stabilitesini belirler (Chen vd., 2019; Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016).

Proteinler, emülsiyon oluşumu sırasında önemli bir rol oynarlar ve emülgatör olarak kullanılırlar. Emülsiyonlar, iki ayrı faz olan yağ ve suyu bir arada tutan karışımlardır. Emülsiyonlar, örneğin salata sosları, mayonez, süt gibi birçok gıda ürününde yaygın olarak kullanılır. Proteinlerin emülsiyon oluşumundaki rolü, hidrofobik ve hidrofilik taraflarını kullanarak arayüzey gerilimini düşürmektir. proteinlerin emülsiyon oluşumu sırasında hidrofobik ve hidrofilik taraflarını kullanarak arayüzey gerilimini düşürmeleri, emülsiyon bazlı gıdalar için önemli bir özelliktir. Proteinler, yağ ve su fazlarının kararlı bir şekilde bir arada kalmasını sağlar ve ürünün tekstürü, kıvamı ve stabilitesini etkilemektedir (Bai vd., 2018).

Tablo 3.10 Emülsiyon aktivite (EAI) ve stabilite (ESI) indeksleri

	EAI(m^2/g)	**ESI(sa)**
HPOB protein	$13,23\pm1,52^{b}$	$51,96\pm0,43^{c}$
Alkalaz	$19,56\pm0,04^{a}$	$221,62\pm5,03^{a}$
Savinaz	$9,18\pm0,13^{c}$	$123,72\pm1,76^{b}$
Flavourzyme	$13,33\pm0,17^{b}$	$42,51\pm0,31^{c}$

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

Mısır (Zheng vd., 2015), acı bakla (Lqari vd., 2005; Schlegel vd., 2019), pirinç kepeği (Bandyopadhyay vd., 2008) ve kabak (Popović vd., 2013) gibi çeşitli kaynaklardan elde edilen proteinlerin hidrolizi sonucunda emülsiyon aktivitesi indeksinde artış görüldüğü belirtilmiştir. Bu artış, protein hidrolizinin hidrofobik ve hidrofilik bölgelerin yapısal değişikliklere uğramasına ve emülsiyon stabilitesini artıracak etkili bileşenlerin açığa çıkmasına neden olduğu düşünülmektedir.

Literatürde proteinlerin hidrolizasyonu sonucunda moleküler yapılarının ve boyutlarının değişmesiyle ilişkilendirilerek hidroliz derecesi ile emülsifiye etme kapasitesi arasında negatif korelasyonlar belirtilmiştir (Achouri vd., 1998; Klost & Drusch, 2019).

Benzer çalışmada daha yüksek moleküler ağırlığa ve daha büyük hidrodinamik çapa sahip proteinlerin emülsifiye etme kapasitesini artırabileceği belirtilmiştir. Bunun nedeni, daha büyük protein moleküllerinin emülsiyon oluşumunda daha fazla etkileşime girebileceği ve arayüzey stabilizasyonuna daha fazla katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Peng vd., 2016).

Mevcut çalışmaya paralel olan diğer bir çalışmada yüksek moleküler ağırlıklı agregatların emülsifiye etme kapasitesini azalttığı ancak daha kararlı emülsiyonlar oluşturduğu bildirilmiştir. Bu durumda, yüksek moleküler ağırlıklı agregatlar, emülsiyon stabilitesini artırabilirken, emülsifiye etme kapasitesini azaltmaktadır (Barac vd., 2012).

3.3.7 Zeta Potansiyeli

Zeta potansiyeli, protein ve hidrolizat örneklerindeki yüzey yüklerinin dağılımına bağlı olarak değişkenlik gösterir. Partikül yüzeyindeki katyon ve anyonların dağılımı, zeta potansiyelini belirler. Enzimatik hidroliz sürecinde peptid sayısının artması ve iyonlaşabilir amino asitlerin serbest hale geçmesi, zeta potansiyelindeki değişimi etkilemektedir. İyonlaşabilir amino asitler, proton alışverişi yapabilen veya verebilen özelliklere sahiptir. Bu nedenle, hidroliz sürecinde iyonlaşabilir amino asitlerin ortaya çıkması, zeta potansiyelinde değişikliğe yol açmaktadır (Mahmoud vd., 1992; Song vd., 2013).

Protein kontrol örneği, alkalaz, flavourzyme ve savinaz hidrolizatları için ölçülen zeta potansiyel değerleri 0,13 ile -10,52 mV arasında değişmiştir (Tablo 3.11). Hidroliz derecesi yüksek olan savinaz hidrolizatlarının diğer örneklere kıyasla daha düşük zeta potansiyeline sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 3.11 Zeta potansiyel değerleri

	Zeta Potansiyel (mV)
HPOB protein	-9,85±0,41[a]
Alkalaz	-10,31±0,52[a]
Savinaz	0,13±0,44[b]
Flavourzyme	-10,52±0,21[a]

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

Sonuçlar incelendiğinde pH 9'da işlem gören savinaz hidrolizatının zeta potansiyel değerinin düşük olması benzer çalışmada pH değeri ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmada yumurta akı proteinin pH değeri 6,5 civarında iken, enzimatik hidroliz sırasında pH değeri 7,0 olarak tutulmuştur. Bu pH değişikliği, hidrolizat numunelerinin pH değerinin izoelektrik noktadan uzaklaşmasına neden olmasına atfedilmiştir (Lyu vd., 2023).

3.3.8 Köpükleştirici Etki

HPOB protein ve hidrolizatlarına ait köpük kapasitesi (KK) ve köpük stabilitesi (KS) sonuçları Tablo 3.12'de verilmiştir. Köpük kapasitesi % 9,18 ile % 19,56 arasında değişerek en yüksek değer alkalaz, en düşük değer ise savinaz hidrolizatına ait olduğu görülmüştür. Köpük stabilitesi değerleri incelendiğinde %42,51 ile % 221,51 arasında değişmiştir. Alkalaz hidrolizatı köpük kapasitesi ile pozitif korelasyon göstermiştir. Savinaz hidrolizatının köpük kapasitesi düşük olmasına rağmen alkalazdan sonra en yüksek köpük stabilitesine sahip olduğu gözlenmiştir.

Tablo 3.12 Köpük kapasitesi (KK) ve stabilitesi (KS)

	KK(%)	KS(%)
HPOB protein	13,23±1,52[b]	51,96±0,43[c]
Alkalaz	19,56±0,04[a]	221,62±5,03[a]
Savinaz	9,18±0,13[c]	123,72±1,76[b]
Flavourzyme	13,33±0,17[b]	42,51±0,31[c]

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

Köpükler, sürekli bir sıvı veya sulu faz ile dağılmış bir gaz veya hava fazından oluşan iki fazlı koloidal sistemlerdir. Köpüklerin oluşumu genellikle yüzey aktif maddelerin (emülgatörlerin) varlığıyla gerçekleşir. Köpük oluşumunda, yüzey aktif maddeler, hidrofobik gruplarını gaz fazına doğru yönlendirerek köpük kabarcıklarının sıvı içinde stabil bir şekilde dağılmasını sağlar. Bu hidrofobik gruplar, gaz kabarcıklarının yüzey gerilimini düşürerek köpük stabilitesini artırır (Panyam & Kilara, 1996).

Bitki proteinlerinin kompakt yapıları veya düşük çözünürlükleri nedeniyle sınırlı köpürme özelliklerine sahip olduğu bilinmektedir (Day, 2013). Nohut protein izolatının alkalaz ile hidrolizi sonucu köpük kapastiesini önemli ölçüde iyileştirdiği bildirilmiştir (Yust vd., 2010). Ancak bazı durumlarda hidroliz işleminin köpük kapasitesini iyileştirmediği görülmüştür (Jamdar vd., 2010; Yin vd., 2008). Köpürme, hidroliz ve köpürme koşullarının yanı sıra, numunenin ön işleme koşullarına, protein bileşimine, enzim seçimine, hidroliz derecesine, pH, ve konsantrasyon gibi faktörlere bağlıdır.

Peptitlerin hidrofobikliği, moleküler yapılarındaki hidrofobik amino asitlerin miktarına bağlıdır. Hidroliz sonucunda ortaya çıkan peptitlerin hidrofobik amino asitler içermesi, köpürme kapasitesini etkilemektedir. Hidrofobik amino asitlerin varlığı, köpük stabilizasyonunda önemlidir çünkü hidrofobik gruplar, köpük kabarcıklarının sıvı içinde stabil kalmasını sağlamaktadır. Ancak, hidroliz derecesi ile köpürme kapasitesi arasında her zaman anlamlı bir ilişki olmamaktadır.

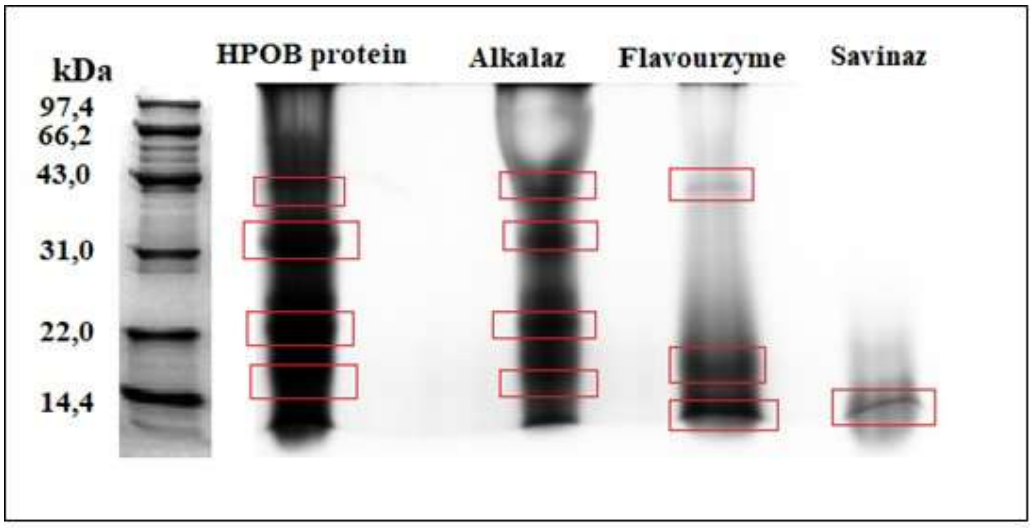
Bununla ilgili yapılan bir çalışmada çözünürlülüğün hidroliz derecesi ile ilişkili olmasına rağmen köpük kapasitesi ile anlamlı bir korelasyon görülmemiştir (Lam vd., 2018). Bu sonuçlar mevcut çalışma ile uyumludur.

Yapılan diğer bir çalışmada bezelye protein izolatlarının alkalaz, papain ve esperase ile hidroliz edildiğinde hidroliz süresi arttıkça köpük kapasitesinin azaldığı bromelain, tripsin ve kimotripsin ile hidrolize edildiğinde arttığı görülmüştür. En yüksek köpük kapasitesi 120 dk tripsin hidrolizatında görülürken en yüksek köpük stabilitesi 120 dk papain hidrolizatında tespit edilmiştir (García Arteaga vd., 2020).

Hidrolizin köpürme stabilitesi üzerindeki etkisi, farklı protein hidrolizatları için farklılık gösterebilmektedir. Düşük hidroliz derecesine sahip hidrolizatlar genellikle yüksek hidroliz derecesine sahip hidrolizatlardan daha iyi köpürme stabiliteye sahiptir. Bunun nedeni, daha büyük peptitlerin, daha küçük peptitlere göre gaz kabarcıkları etrafında daha yoğun bir şekilde etkileşime girmesi ve daha güçlü bir elastik film oluşturmasıdır (Wouters, Rombouts, Fierens, vd., 2016). Hidroliz sonucunda proteinin iç kısmından hidrofobik grupların ortaya çıkması, protein-protein etkileşimlerini arayüzde artırmaktador. Bu da hidrolizin köpürme stabilitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği anlamına gelmektedir. Ancak, hidroliz sonucunda iyonik gruplardaki artışın arayüz stabilitesi üzerinde negatif veya pozitif bir etkiye sahip olabileceği gösterilmiştir. Elektrostatik çekim, bazı durumlarda hidrolizin köpürmeyi olumsuz etkileyebileceği ve diğer durumlarda ise olumlu etkileyebileceği anlamına gelir. Bu durum, hidrolizin özellikle köpük stabilitesi üzerindeki etkisinin kompleks olduğunu göstermektedir (Wouters, Rombouts, Legein, vd., 2016).

3.3.9 SDS-Page

HPOB protein hidrolizatlarına ait SDS-Page görüntüsü Şekil 3.9'da sunulmuştur. HPOB protein izolatına ait en yoğun bantlar 14,4 kDa ile 43 kDa arasında saptanmıştır. Enzimatik işlem, proteinin çoğunun hidrolizine neden olarak bantların kısmen veya tamamen kaybolmasına ve daha düşük moleküler ağırlığında yeni bantların ortaya çıkmasına yol açmıştır. En sağ taraftaki şerit, ham acı biber proteinine aittir. 39-52 kDa aralığındaki alt birimler, proteinin glutelin fraksiyonunu temsil etmektedir (Li vd., 2018; Marcone vd., 2002).



Şekil 3.9 Protein ve hidrolizatların SDS PAGE görüntüleri

Alkalaz ve flavourzyme ile muamele edilen hidrolizatta, yüksek moleküler ağırlıklı bantların çoğunun kaybolduğu ve düşük moleküler ağırlığa sahip proteinlerin büyük bir kısmının hidroliz ile parçalandığı gözlenmiştir. Bununla birlikte, bantların tamamen kaybolmadığı belirlenmiştir.

Savinaz enzimi ile muamele edilen numunelerde ise yüksek moleküler ağırlıklı bantların tüm fraksiyonlarının kaybolduğu görülmüştür. Jelin alt kısmında sadece bir küçük ve zayıf görünür protein bandının var olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, Savinaz enziminin hidrolizde daha kapsamlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir, yani yüksek moleküler ağırlığa sahip proteinlerin daha fazla parçalandığı ve daha az tanınabilir bantların oluştuğu anlamına gelir.

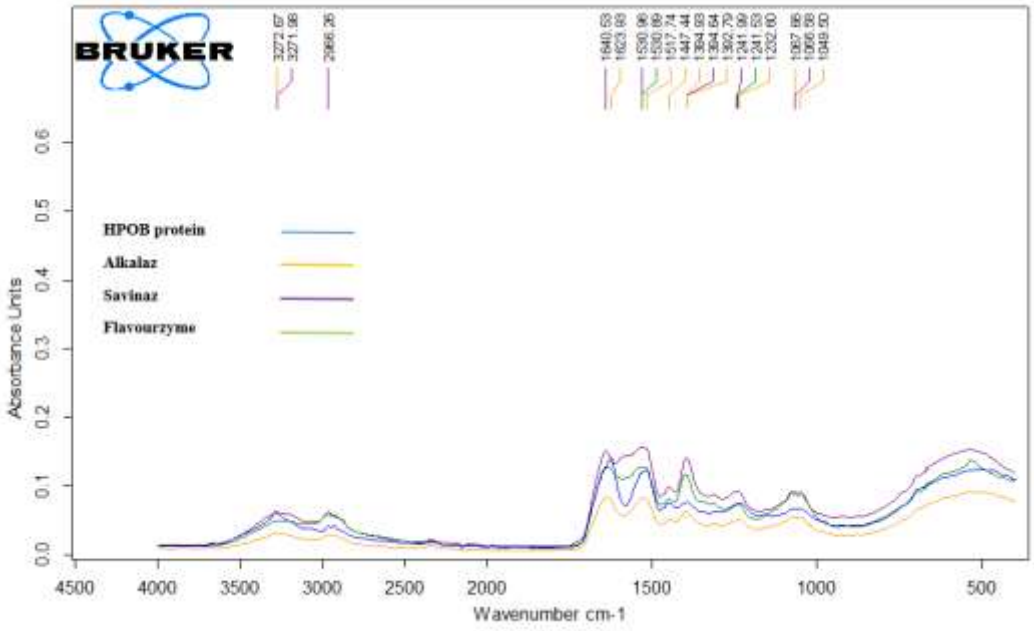
Hidroliz derecesi arttıkça, elde edilen peptidlerin boyutunun azaldığı ve peptid boyutunun kullanılan enzim türüne bağlı olarak değiştiği gözlemlenmiştir. Savinaz ile muamele edilen örneklerde en düşük peptid boyutları bulunmuştur (<14,4 kDa). Bununla birlikte, kısmen daha düşük hidroliz derecesine sahip olan alkalaz ve flavourzyme ile muamele edilen örneklerde daha yüksek moleküler ağırlığa sahip peptidler elde edilmiştir. Bu sonuçlar, enzim türünün hidroliz sonucunda elde edilen peptidlerin boyutunu etkilediğini ve hidroliz derecesi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Savinaz, daha küçük peptid boyutlarına neden olurken, alkalaz ve flavourzyme ile elde edilen örneklerde daha büyük peptidler bulunmuştur. Bu farklılıklar, enzimlerin farklı hidrolitik aktivitelerine ve substrat spesifikliklerine bağlı olarak açıklanabilir.

Elde edilen SDS-Page sonuçlarının literatürle uyumlu olduğunu belirtmek önemlidir. Yapılan hidroliz çalışmasında, buğday gluteni ticari alkalaz, savinaz, flavourzyme ve subtilisin enzimleri kullanılarak hidrolize edilmiştir. Sonuçlar, hidroliz derecesinin artmasıyla birlikte daha küçük polipeptidlerin büyük miktarda oluştuğunu göstermektedir (Bozkurt vd., 2021).

Bu bulgular, hidrolizin proteinleri parçalayarak daha küçük peptidlere dönüştürdüğünü ve hidroliz derecesinin bu dönüşümün yoğunluğunu etkilediğini doğrulamaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarla tutarlı olan bu sonuçlar, hidroliz yöntemlerinin proteinlerin polipeptid bileşimini değiştirerek daha küçük peptidlerin oluşumuna yol açtığını göstermiştir (Barac vd., 2012; Guan vd., 2007) .

3.3.10 Kimyasal Karakterizasyon

HPOB protein ve hidrolizatlarına ait FTIR sonuçları Şekil 3.10'da verilmiştir. HPOB protein örneğinde 1640 cm^{-1} ve 1530 cm^{-1} dalga sayıları arasında iki ayrı keskin pik olduğu görülmüştür. Ancak enzimlerle yapılan hidroliz işlemi sonucunda bu piklerin yayıldığı ve birleştiği gözlemlenmiştir. Bu durum, enzimatik hidroliz sürecinde proteinlerin ikincil yapılarının değiştiğini göstermektedir (X. Liu vd., 2020).



Şekil 3.10 Protein ve hidrolizatların FTIR spektrumları

HPOB protein örneğinde 1394 cm^{-1} dalga sayısı band alanının düşük iken hidroliz işlemi sonucunda ise serbest COO- gruplarının parçalanma nedeniyle ortaya çıktığı vet pik alanının arttığı gözlemlenmiştir. Hidroliz derecesi yüksek olan savinaz ve flavourzyme hidrolizatlarında en büyük artışın olduğu belirtilmektedir.

Bu sonuçlar, daha önce yapılan benzer çalışmalarla uyumlu olduğunu ifade etmektedir (Bozkurt vd., 2021).

Amid I ve Amid II bölgelerindeki dalga sayıları, proteinin ikincil yapılarını temsil eder (Aboul-Enein vd., 2014). Hidroliz süreci, bu ikincil yapıların değişmesine ve proteinlerin parçalanmasına yol açabilir. Serbest COO- gruplarıyla ilişkili dalga sayılarındaki değişiklikler de hidroliz işlemi sonucunda ortaya çıkabilir (Aboul-Enein vd., 2014).

1640-1620 cm-1 ve 1695-1690 cm-1 bölgelerindeki bantlar, proteinin β-yapılarını gösterir. 1654 ve 1658 cm-1 arasındaki bantlar ise proteinin α-heliks yapısını ifade eder. Ayrıca, 1670, 1683, 1688 ve 1694 cm-1 civarında görünen bantlar ise proteinin β-döngü yapısını temsil eder. Bu bantlar, α-heliks ve β-döngü yapısının karakteristik titreşimlerini gösterir (Yang vd., 2015).

Tablo 3.13 Protein ve hidrolizatların ikincil yapıları

	α Heliks (%)	**β tabaka (%)**	**β döngü (%)**	**Rastgele sarım (%)**
HPOB protein	4,50	51,00	37,5	7,00
Alkalaz	16,49	37,89	28,77	16,84
Savinaz	11,68	33,83	36,53	17,96
Flavourzyme	32,54	32,54	35,83	11,52

HPOB protein ve hidrolizastların % ikincil yapı içerikleri Tablo 3.13'te sunulmuştur. HPOB protein numunesinin ikincil yapısı % 4,50 α-heliks, %51,00 β-tabaka, %37,50 β-döngü ve %7,00 rastgele sargıdan oluşmuştur. Hidrolizatların α-heliks içerikleri %11,68 ile %32,54 arasında değişmektedir.

Hidroliz işleminden sonra alkalaz, savinaz ve flavourzyme ile muamele edilen numunelerde α-heliks ile ilişkili 1654 cm^{-1} bantların içeriğinin önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Bu durum yapının kararlı halinin arttığını göstermektedir. Özellikle flavourzyme hidrolizatında α-heliks içeriği, HPOB proteinine göre yaklaşık 8 kat artmıştır. Ayrıca, hidrolizatların β-tabaka içerikleri %32,54 ile %37,89 arasında değişmektedir ve her hidrolizat örneği için HPOB proteinine kıyasla daha düşük bulunmuştur. Genel olarak, tüm hidrolizatlarda β-döngü içeriği, HPOB proteinine göre daha düşük bulunmuştur. Tüm hidrolizatlarda, rastgele sarım yapılarını ifade eden 1640 ile 1650 cm^{-1} arasındaki bantların arttığı gözlenmiştir. Rastgele sarım daha yumuşak ve daha esnek protein yapılarını ifade etmektedir (Jiang vd., 2019).

Bu bilgiler, hidrolizatların protein yapılarında değişikliklere neden olduğunu ve bu değişikliklerin α-heliks, β-tabaka ve rastgele sarım gibi farklı yapısal öğelerin içeriklerinde değişikliklere yol açtığını göstermektedir. Proteinlerin α-heliks ve β-tabaka yapıları kararlı yapıyı sergilemektedir (Misra vd., 2015; Wu vd., 2017). Endopeptidaz aktivite gösteren savinaz ve alkalaz proteazlarına kıyasla hem endopeptidaz hem ekzopeptidaz aktivite gösteren flavourzyme kararlığı daha da artırmıştır.

3.3.11 Antioksidan Aktivite

HPOB protein ve hidrolizatlarının ABTS değerleri 2,40 ile 23,74 mg TE/g arasında değişmektedir (Tablo 3.14). En yüksek ABTS değeri, hidroliz derecesi en yüksek olan savinaz hidrolizatlarında bulunurken, en düşük ABTS değeri hidroliz derecesi en düşük olan alkalaz hidrolizatlarında saptanmıştır. Ayrıca, hidroliz derecesi yüksek olan savinaz ve flavourzyme hidrolizatlarının FRAP ve DPPH analizlerinde yüksek değerlere sahip olduğu belirtilmektedir. Bu sonuçlar arasında pozitif bir korelasyon olduğunu göstermektedir. FRAP değerleri Trolox Eşdeğeri (TE) olarak ifade edilirken, ABTS değerleri mg TE/g olarak verilmiştir. Hidroliz işlemi sonucunda elde edilen örneklerden savinaz ve flavourzyme hidrolizatları hidrolize edilmeyen HPOB proteinin ABTS radikal yakalama aktivitesini sırasıyla 9,89 ve 6,95 kat artırdığı görülmüştür. DPPH sonuçlarına bakıldığında ise hidrolize işleminin antioksidan aktivitesini alkalaz, savinaz ve flavourzyme ile sırasıyla 6,57, 19,46 ve 26,13 kat artırdığı tespit edilmiştir.

Hidroliz işlemleri FRAP değerlerini de sırasıyla 1,79, 6,30 ve 8,98 kat artırmıştır. Sonuçlar, hidroliz derecesi ve kullanılan enzimler arasında farklılıklar göstermektedir.

Tablo 3.14 Antioksidan kapasitesi

	ABTS (mg TE/g)	**DPPH (% inh)**	**FRAP (mg TE/g)**
HPOB Protein	2,40±0,03^{c}	2,69±0,54^{d}	4,71±0,07^{d}
Alkalaz	3,72±0,15^{c}	17,66±0,81^{c}	8,43±0,30^{c}
Savinaz	23,74±0,75^{a}	52,35±0,06^{b}	29,67±0,46^{b}
Flavourzyme	16,68±0,89^{b}	70,30±0,06^{a}	42,31±0,18^{a}

Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

Literatürde benzer çalışmaların antioksidan sonuçlarına bakıldığında dolmalık biberden (Capsicum *annuum* L. var. *annuum*) izole edilen proteinler alkalaz ve flavourzyme ile hidrolize edilerek antioksidan etkileri incelenmiştir. Flavourzyme hidrolizatı maksimum %41,89 ile alkalazdan çok daha yüksek DPPH değeri sergilemiştir. ABTS değerleri ise alkalaz hidrolizastının hidroliz derecesi arttıkça %87,84'e flavourzyme ise %10 hidroliz derecesinde %97'e ulaşmıştır. Çalışma biber proteininin antioksidan yeteneği hidroliz ile önemli ölçüde iyileştirdiğini vurgulamıştır (Li vd., 2018).

Diğer bir çalışmada ise Riceberry kepeğinden elde edilen protein hidrolizatlarında alkalaz (9,69 mg GAE) ve nötraz (9,06 mg GAE), hidrolize olmamış protein (9,95 mg GAE) kıyasla ABTS radikal yakalama aktivitesini iyileştiremediği görülürken flavourzyme hidrolizatında olumlu etkisi görülmüştür (Thamnarathip vd., 2016).

3.4 HPOB Ham Lif Analizleri

3.4.1 HPOB Ham Lif Karakterizasyonu

Soğuk pres acı biber yağı işleme yan ürününden geri kazanılan diyet lifin yeni bir lif kaynağı olarak tekno-fonksiyonel özellikleri Tablo 3.15'te sunulmuştur.

HPOB ham lifi %80,84 saflık oranına sahip olduğu belirlenmiştir. Literatürde incelendiğinde mısır lifi %34,01 ile %75,56 saflık arasında değiştiği görülmüştür. Ham lifi seviyeleri %70'in üzerinde olan fraksiyonlar, hemiselüloz ve selüloz ekstraksiyonu için uygun malzemeler olarak değerlendirilmiştir (Bazán-Colque vd., 2023).

Liflerin su emme, çözünürlük ve yağ tutma kapasitesi, nihai endüstriyel uygulamasını tanımlayan önemli özelliklerdir. Tablo 3.15 incelendiğinde HPOB ham lifi çözünürlülüğü %70,24 olarak tespit edilmiştir. Su tutma kapasitesi 3,70 g su/g örnek, yağ tutma kapasitesi ise 0,99 g yağ/g örnek değerindedir. Bezelye lifinin su tutma kapasitesine bakıldığında 2,7–2,9 g/g, yağ tutma kapasitesi ise yağ tutma kapasitesinin 0,5-0,7 g/g arasında değişmesi ile mevcut çalışma ile uyumluluk göstermiştir (Webb vd., 2023). Çalışmalarda çeşitli yan ürünlerden geri kazanılan liflerin su tutma kapasitesinin 2,1 ila 49,7 (g su / g katı madde), yağ tutma kapasitesinin 0,9 ile 56 g/g arasında değiştiği bildirilmiştir (Sharma vd., 2016). Yulaftan elde edilen diyet lifinin su tutma kapasitesinin incelendiği benzer diğer çalışmadada STK değeri 1,10 ile 1,46 g/g, YTK 0,96 ile 1,46 g/g arasında değişkenlik gösterdiği rapor edilmiştir (Ibrahim vd., 2022). Diyet lifi genellikle yüksek su tutma kapasitesine sahiptir. Lifin polar bileşenlerinin suyla birleşmesi, lifin yüksek su şişme kapasitesinden sorumlu olabilir. Bu nedenle, bol miktarda SDF (çözünür diyet lifi) varlığı, lifin suyu emme ve şişme yeteneğini artırır (Zheng & Li, 2018). Bu özellik, birçok gıda ürününde pişirme verimini artırmada, kalori azaltmada, stabiliteyi artırmada, buz kristali oluşumunu kontrol ederek çözülme işleminde ürünün kalitesinin muhafaza etmede önemli bir rol oynar (Pathania & Kaur, 2022). Ayrıca diyet liflerinin yağ tutma kapasitesi, bağırsak lümeninde yağ emerek serum kolesterol seviyesini düşürme yeteneğiyle ilişkilidir. Yüksek oranda diyet lifi içeren lifler, gıda emülsiyonlarını stabilize etmek ve bağırsak sisteminde yağ sindirimini ve emilimini azaltmak için kullanılabilir. Diyet liflerinin kütle

yoğunluğu, yüzey özellikleri ve hidrofobikliği de yağ tutma kapasitesine katkıda bulunur (Cui vd., 2019).

Zeta potansiyel değeri -12,17 mV olan HPOB ham lif literatür ile karşılaştırıldığında nispeten daha düşük bulunmuştur (Gu vd., 2020; J. Liu vd., 2020; Niu vd., 2018; Ullah vd., 2018). Zeta potansiyeli (ζ), parçacıkların sulu ortamda bulundukları arayüzdeki elektriksel potansiyeli ölçen bir yöntemdir. Bu potansiyel, süspansiyonun stabilitesini tahmin etmek için kullanılmaktadır. Zeta potansiyelinin azalması, polimer matrisin bozunması ve hemiselülozların çözünmesine bağlı olarak yüzeydeki anyonik yükte (hidroksil grupları) artışıyla ilişkilidir. Ayrıca, sıcaklık artışının zeta potansiyelini artırdığı bildirilmiştir. (Ullah vd., 2018). Ancak, bu çalışmada sıcaklık literatüre göre düşük tutulmuştur.

Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesine bakıldığında ise sırasıyla 39,77 m^2/g ile 227,36 sa olarak bulunmuştur. Emülsiyon aktivitesi, bir molekülün karışmayan iki sıvıyı çözme veya dağıtma yeteneğini ifade eder. Emülsiyon stabilitesi ise bir emülsiyonun korunma yeteneği ve kırılmaya karşı direncidir (Wang vd., 2015). Ek olarak emülsifiye edici aktivite, ince bağırsakta safra asitlerinin adsorpsiyonunu geciktirme yeteneğiyle ilgilidir. Bu, karaciğerde kolesterolün parçalanmasına ve kandaki seviyelerinin daha da düşmesine neden olmaktadır (Lan vd., 2012). Çalışma sonuçları literatür ile uyumluluk göstermektedir. Farklı işlemlere tabi tutulan mor etli patates diyet liflerinin emülsifiye edici aktivitesi (EA) ve emülsiyon stabilitesinin (ES) değerlendirildiği çalışmada EA değerleri 16,8 ile 44,8 mL/100mL arasında, ES değerleri ise 14,5 ile 39,6 mL/100mL arasında değişmiştir (Xie vd., 2017). Turunçgil meyvelerinin atıklarından elde edilen lif örneklerinin emülsifiye edici aktivite (EA) değerleri %29,06 ile %40,68 arasında değişen orta dereceli bir emülgatör olduğunu göstermiştir. Aynı örneklerde emülsiyon stabilitesi ise %72,12 ile %96,30 arasında değişmiştir (Abirami vd., 2014).

Köpük stabilitesi, gıda ürünleri için çözünür diyet lifinin önemli bir işlevsel özelliğidir HPOB ham lifin köpük kapasitesi ve stabilitesi incelendiğinde ise sırasıyla %12,5 ve %84 olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada geleneksel bir Çin bitkisi olan *Angelica keiskei*nden elde edilen diyet lifin başlangıç köpük hacmi 19,1 mL olarak 1 saat sonunda % 94,7 oranda stabil kaldığı bildirilmiştir (Xie vd., 2016).

HPOB ham lifinin antioksidan aktiviteleri ABTS, DPPH ve FRAP yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir. Sırasıyla bu değerler 1,01 mg TE/g, %15,74 inhibisyon ve 2,64 mg TE/g şeklindedir (Tablo 3.15). Sonuçlar litaratür ile uyumludur (Gan vd., 2021; Ibrahim vd., 2022). Bununla ilgili yapılan benzer bir araştırmada mor patates diyet lifinin antioksidan özellikleri incelenmiştir. ABTS değerleri 0,67 ile 0,89 mg Troloks/g arasında, DPPH değerleri 2,15 ile 2,65 mg Troloks/g arasında, FRAP değerleri ise 1,96 ile 3,39 mg Troloks/g arasında değiştiği rapor edilmiştir. FRAP, ABTS ve DPPH gibi reaksiyon sistemleri, mor etli patates diyet lifindeki antioksidan bileşenlerin hidrofilik olduğunu ve yüksek basınçlı homojenleştirme işleminin bu bileşenleri artırabileceğini göstermektedir (Xie vd., 2017).

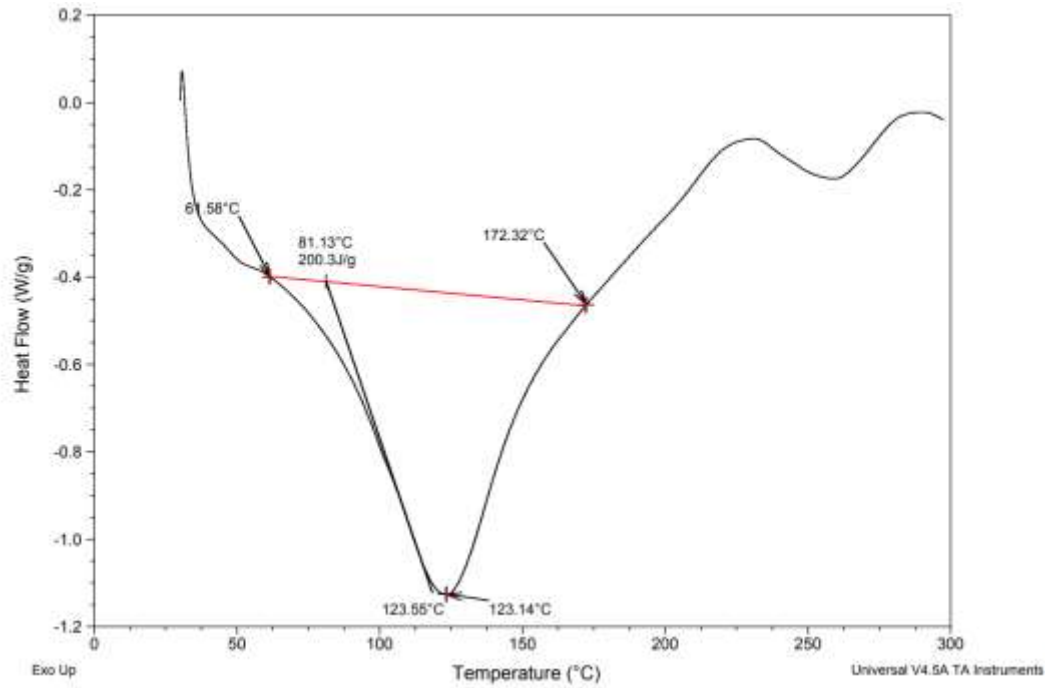
Tablo 3.15 HPOB ham lifin tekno-fonksiyonel ve biyoaktif özellikleri

Saflık %	80,84±0,08
Çözünürlülük %	70,24±3,07
Zeta potansiyel (mV)	-12,17±0,61
Yağ bağlama kapasitesi (g yağ/g örnek)	0,99±0,14
Su tutma kapasitesi (g su/g örnek)	3,70±0,17
Emülsiyon aktivitesi (m^2/g)	39,77±1,35
Emülsiyon stabilitesi (sa)	227,36±19,42
KK (%)	12,50±0,00
KS (%)	84,00±0,00
Antioksidan Aktivite	
ABTS (mg TE/g)	1,01±0,07
DPPH (% inh)	15,74±0,14
FRAP (mg TE/g)	2,46±0,04

3.4.2 Termal Davranış

DSC (Diferansiyel Taramalı Kalorimetri), örneklerdeki geçişlerle ilişkili sıcaklık ve entalpi gibi belirli termodinamik bilgileri sağlamak için kullanılan bir tekniktir. Şekil 3.11'deki DSC termogramlarında, HPOB ham lifin endotermik bir pikle birlikte tepe sıcaklığı gözlenmiştir (123,55 °C).

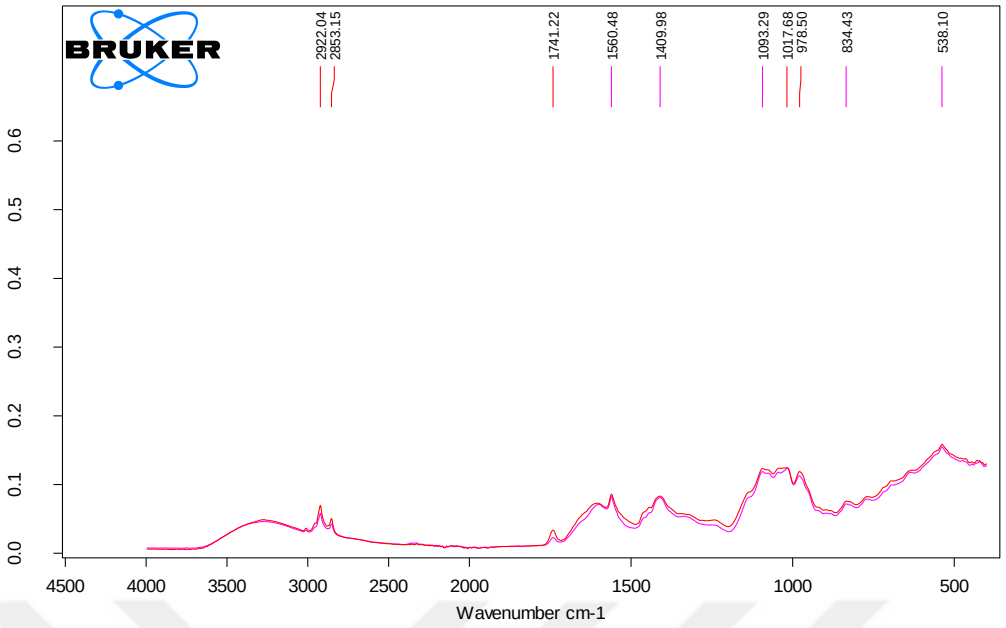
Bu pik, HPOB ham lifinin kısa zincirli çözünür ham lifi olduğunu gösteren çalışmalar tarafından desteklenmektedir (Wang vd., 2015). Bu sonuç, soya fasulyesi atığından ve portakal kabuğundan elde edilen ham lifi sonuçlarıyla uyumlu bir şekilde bulunmuştur (Chen vd., 2014; Wang vd., 2015).



Şekil 3.11 HPOB ham lifin termal davranışı

3.4.3 Kimyasal Karakterizasyon

HPOB ham lifine ait FTIR sonuçları Şekil 3.12'de verilmiştir. HPOB ham lif örneğinde 2853,15 cm^{-1} ve 2922,04 cm^{-1} dalga sayıları arasında iki ayrı keskin pik olduğu görülmüştür. 2900-2800 cm^{-1} arasındaki sinyaller C-H gerilmelerini temsil eder (Sain & Panthapulakkal, 2006; Yan vd., 2015). 1741 cm^{-1}'deki belirgin bant ise tek bağlı ham lif spektrumunda hemiselülozun asetil grubunun çift bağ ve uranik ester gruplarının CO gerilmelerine veya lignin ve/veya hemiselülozun ferulik ve p-kumarik asitlerindeki karboksilik grubun ester bağına atandığını göstermektedir (Nagalakshmaiah vd., 2016). 1093-1017 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon tepe noktaları ise piranoz tek bağ halka iskeletinin C-O esneme ve C-H tek bağ titreşimlerine bağlanır (Alemdar & Sain, 2008; Qadir & Wani, 2022; Salahi vd., 2022). Bu bilgiler, literatürdeki benzer çalışmalara dayanarak verilmiştir ve elde edilen örneklerin spektrumlarını açıklamak için kullanılmıştır.



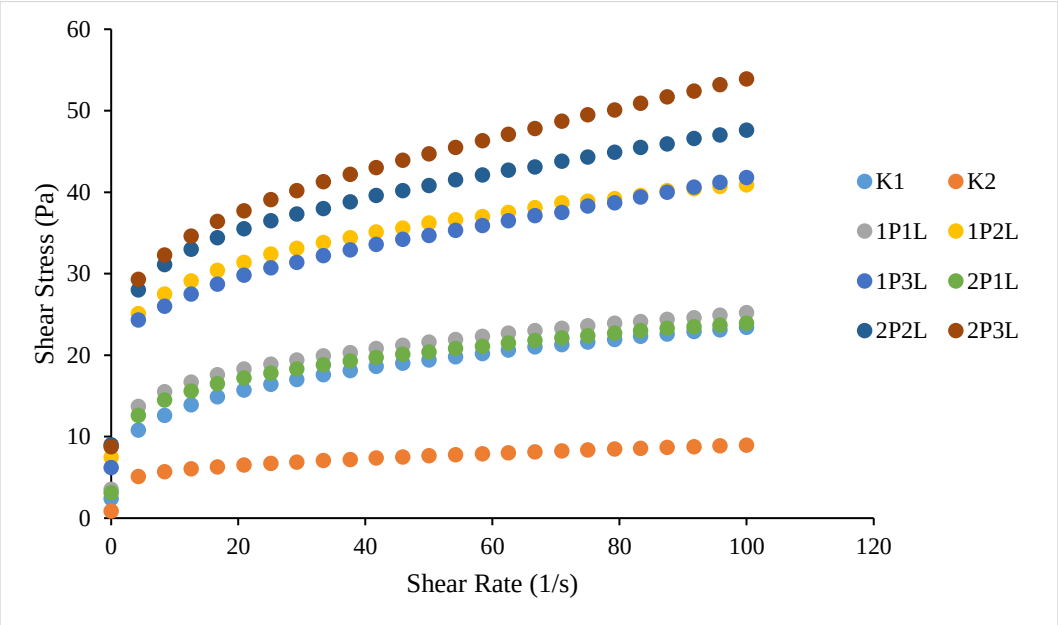
Şekil 3.12 HPOB ham lifin FTIR spektrumları

3.5 HPOB Protein ve Lif İlaveli Salata Sosu Analizleri

3.5.1 Akış Davranış Reolojik Analiz

Şekil 3.13'te, salata sosu numunelerinin sürekli kesme reolojik özellikleri gösterilmektedir. Grafikte, numunelerin stress değerleri, kayma hızının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Bu, kayma hızının artmasıyla kayma gerilimi eğrisinin eğiminin azaldığına işaret eder. Tüm numunelerin, salata sosu benzeri emülsiyonların spesifik bir reolojik özelliği olan Newton olmayan akışlardan psödoplastik davranışı sergilemiştir.

Tablo 3.16'daki Power Law modeli sonuçları, salata sosu numunelerinin akış davranışı özelliklerini değerlendirmek için kullanılmıştır. R^2 değerlerinin 0,97'den büyük olması, Power Law modelinin numunelerin sürekli kayma reolojik özelliklerini etkili bir şekilde modellediğini göstermektedir. Numunelerin K değerleri, ürün bileşimlerine bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Bu değerler, 3,64 Pa.sn ile 22,32 Pa.s^n arasında değişmektedir. Düşük yağlı kontrol numunesi (K2) 3,64 Pa.s^n K değerine sahipken, yüksek yağlı kontrol numunesi (K1) 6,82 Pa.s^n K değerine sahiptir.



Şekil 3.13 Akış davranış grafiği

HPOB protein ve lif ile zenginleştirilmiş düşük yağlı numunelerin K değerleri ise 9,26 Pa.s^n ile 22,32 Pa.s^n arasında değişmektedir. Düşük yağlı tüm numuneler, kontrol numunelerinden daha yüksek K değerlerine sahiptir. HPOB protein ve ham lifinin eklenmesiyle, az yağlı kontrol numunesinin K değeri önemli ölçüde artmıştır. Bu bulgu, yağ içeriğindeki azalmanın neden olduğu zayıflamış yapının, HPOB protein ve ham lifin eklenmesiyle telafi edilebileceğini göstermektedir. 1P2L ve 2P2L örneklerinin akış davranış indekslerinin diğer örneklere kıyasla daha küçük olması daha yüksek kesme inceltici davranış sergilediğini göstermektedir.

Ekzopolisakkarit (EPS) ile peynir altı suyu protein izolatının (WPI) etkileşimi incelendiği düşük yağlı mayonez çalışmasında %1, 2 ve 3 EPS ile %10 WPI konsantrasyonlarındaki örneklerin tam ve az yağlı kontrol örneğine göre daha yüksek kıvam sağladığı görülmüş ve bunu protein-polisakarit agregaları veya partiküllerinin etkileşimine bağlamışlardır (Yalmanci vd., 2023).

Benzer diğer bir çalışmada peynir altı suyu proteini-pektin kompleksi ile farklı yağ içeriklerinde yapılan mayonez örneklerinin tutarlılık katsayısının (K) yağ ikame oranının artmasıyla önemli ölçüde azaldığı gözlemlenmiştir. Protein-polisakkarit kompleksli mayonezler, tam yağlı örneklere kıyasla daha güçlü kesme-inceltme davranışı sergilemektedir (daha küçük n değerleri).

Bunun sebebi, mekanik enerji tarafından yönlendirilen mikro parçacıklı protein agregalarının parçalanması ve daha sonra daha küçük olanlara yeniden agregasyonun gerçekleşmesine bağlamışlardır. Az yağlı ve yağsız mayonezlerde pektin ağının varlığı, büyük protein agregasyonunun oluşumunu engellediği için daha düşük n değerlerine yol açtığını vurgulamışlardır (Sun vd., 2018).

3.5.2 Dinamik Reolojik Analiz

Şekil 3.14, salata sosu örneklerinin dinamik reolojik davranışını göstermektedir. Tüm numunelerin G' (elastik modül) değerleri, tüm frekans aralıklarında G" (kayıp modül) değerlerinden daha yüksektir. Bu, salata soslarının viskoelastik katı karaktere sahip olduğunu gösterir ve tüm numunelerin beklenen özelliklere sahip olduğunu gösterir.

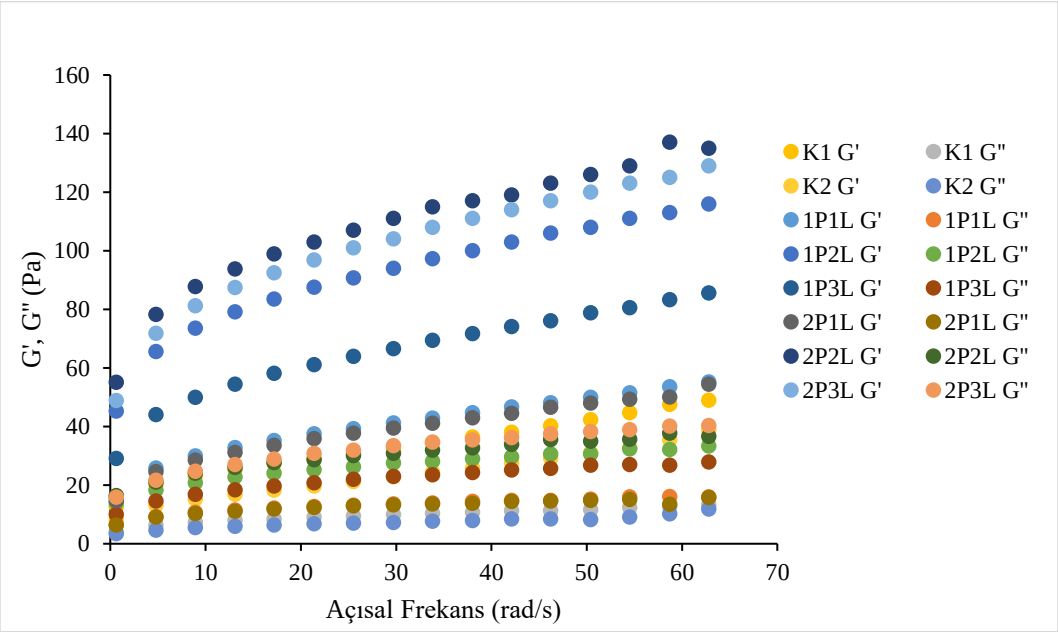
Tablo 3.16 Power Law modeli kullanılarak elde edilen K' (elastik modül), K" (kayıp modül), n' ve n" değerlerini göstermektedir. R^2 değerlerinin nispeten yüksek olması ($R^2 > 0,94$), modelin numunelerin dinamik reolojik davranışını etkili bir şekilde tanımlayabildiğini gösterir. Salata sosu örneklerinin K' ve K" değerleri bileşime bağlı olarak farklılık gösterir ve sırasıyla 4,95-55,18 $Pa.s^n$ ve 2,72–15,42 $Pa.s^n$ oarasında değişmiştir. Tüm numunelerde, K' değeri K" değerinden daha büyüktür, bu da viskoelastik katı davranışının gözlendiğini gösterir. Ayrıca, 2P2L örneği K2 numunesinin (%10 yağ) K' değerini (4,95 $Pa.s^n$) 11 kat artırmıştır. n' ve n" değerleri, numunelerin viskoelastik katı karakterinin başka bir göstergesidir. Bu değerler 0'a yaklaştıkça, numunelerin katı karakterinin daha baskın olduğunu gösterir. HPOB protein ve lif ile zenginleştirme, K değerlerini önemli ölçüde artırırken n değerini düşürmektedir. Bu nedenle, HPOB protein ve ham lif kullanılarak daha düşük yağ içeriğine sahip salata sosu benzeri emülsiyonlar için istenen viskoelastik katı karakter elde edilebilmektedir.

Tablo 3.16 Reolojik parametreleri

	K1	K2	1P1L	1P2L	1P3L	2P1L	2P2L	2P3L
Akış Davranış Reolojik Parametreleri								
K (Pas^n)	6,82±0,75^{e}	3,64±0,10^{f}	9,75±0,46^{d}	19,36±0,08^{b}	16,50±0,64^{c}	9,26±0,07^{de}	22,32±1,71^{a}	20,34±0,01^{ab}
n	0,23±0,04^{a}	0,19±0,00^{ab}	0,20±0,01^{ab}	0,16±0,00^{b}	0,20±0,01^{ab}	0,21±0,00^{ab}	0,17±0,01^{b}	0,21±0,00^{ab}
R^2	0,992	0,993	0,989	0,977	0,983	0,990	0,970	0,980
Dinamik Reolojik Parametreleri								
K' (Pas^n)	10,16±0,22^{f}	4,95±0,22^{g}	15,50±0,00^{e}	45,42±0,64^{c}	28,56±0,13^{d}	14,23±0,32^{e}	55,18±0,56^{a}	49,89±0,14^{b}
n'	0,36±0,01^{b}	0,47±0,01^{a}	0,30±0,00^{c}	0,22±00^{e}	0,26±0,00^{d}	0,31±0,01^{c}	0,21±0,00^{e}	0,22±0,00^{e}
R^2	0,977	0,983	0,994	0,997	0,993	0,992	0,990	0,996
K'' (Pas^n)	3,89±0,02^{e}	2,72±0,07^{f}	6,69±0,04^{d}	13,40±0,08^{b}	9,92±0,06^{c}	6,62±0,23^{d}	15,42±0,39^{a}	15,13±0,21^{a}
n''	0,28±0,00^{b}	0,32±0,01^{a}	0,21±0,00^{e}	0,22±0,00^{de}	0,24±0,01^{c}	0,19±0,00^{f}	0,20±0,00^{ef}	0,23±0,00^{cd}
R^2	0,995	0,942	0,998	0,995	0,996	0,979	0,968	0,993
3-ITT Reolojik Parametreleri								
G_0'	16,23±0,34^{e}	6,19±0,98^{f}	19,22±0,06^{d}	34,15±0,38^{b}	28,36±0,88^{c}	20,21±0,10^{d}	45,34±0,69^{a}	46,17±0,43^{a}
G_e'	22,11±0,50^{f}	8,07±1,17^{g}	25,54±0,12^{e}	50,90±0,92^{c}	41,76±1,55^{d}	26,57±0,59^{e}	65,97±0,06^{b}	69,30±0,22^{a}
G_e'/ G_0'	1,36±0,00^{bc}	1,31±0,02^{e}	1,33±0,00^{c}	1,49±0,04^{a}	1,47±0,01^{a}	1,32±0,04^{d}	1,46±0,02^{ab}	1,50±0,02^{a}
k×1000	31,64±3,48^{ab}	34,17±1,66^{a}	27,42±0,60^{bc}	21,23±0,32^{d}	22,20±0,28^{cd}	27,94±0,20^{bc}	20,83±1,32^{d}	20,86±0,20^{d}
R^2	0,996	0,998	0,997	0,998	0,995	0,996	0,997	0,998

K1: %30 yağlı salata sosu. K2: %10 salata sosu (az yağlı salata sosu numunesi). Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$). P:protein, L:lif

Yapılan bir çalışmada peynir altı suyu protein izolatı (WPI) ve arabik gam (GA) ikili komplekslerinin, WPI'nin amino grupları ile GA'nın karboksil grupları arasındaki elektrostatik etkileşim nedeniyle ticari mayonez ürünlerine göre daha güçlü jel benzeri davranış sergilediği ve G' değerleri, tüm frekans aralığında her zaman G" değerinden daha yüksek olduğu görülmüştür. WPI-GA kompleksleri daha yüksek GA içeriğine ve koaservat verimine sahip olması proteinlerin polisakkaritlerle birleşmesine fibrilizasyonun katkıda bulunduğunu düşündürmüştür. Katı benzeri bir özelliğe sahip mayonez analogları hazırlamak için protein-polisakkarit kompleksi kullanımının yapıyı iyileştirdiği gösterilmiştir (Sun vd., 2021).



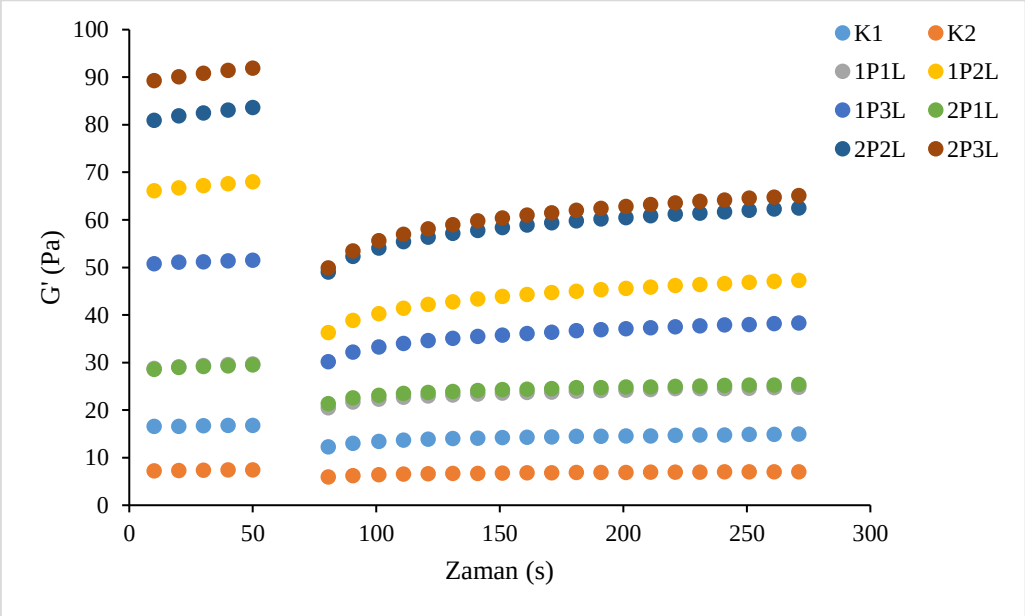
Şekil 3.14 Dinamik reolojik davranışı grafiği

3.5.3 3-ITT Reolojik Analiz

Şekil 3.15, salata sosu örneklerinin G' (depolama modulusu) değerinin zaman içindeki değişimini göstermektedir. Numunenin uygulanan kesme hızına bağlı olarak ani deformasyon sonrası geri kazanma derecesi de Şekil 3.15'te görülmektedir. Yapısal geri kazanımla ilgili parametreler Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 3.16'da, 3-ITT testinden elde edilen verilerin ikinci dereceden yapısal kinetik modelle modellendiği ve G0' (başlangıç depolama modulusu), Ge' (geri kazanılan depolama modulusu) ve k değerlerini gösterdiği belirtilmiştir. Her bir G0' ve Ge' değeri farklı olduğundan, geri kazanma derecesinin karşılaştırılması Ge'/G0' oranına dayanmaktadır. Tablo 3.16'da, Ge'/G0' değerleri 1,31 ile 1,50 arasında değişmektedir. Hem yağ içeriğinin hem de HPOB protein ve lif miktarının Ge'/G0' değerleri üzerinde etkisi olduğu gözlenmiştir. Ge'/G0' değerleri, ürünün geri kazanım derecesi hakkında bilgi verirken, yağ miktarının artmasıyla birlikte artması beklenen bir sonuç olduğu söylenebilir. HPOB protein ve lifinin eklenmesi bu etkiyi artırmıştır.

3-ITT testinden elde edilen bir diğer parametre olan k değeri, ani deformasyondan sonra ürünün geri kazanma oranını gösterir. Bu değer ürünün yapısıyla ilgilidir. Eğer üründe kalıcı bir deformasyon görülmezse, ürünün toparlanma hızı daha yüksek olacaktır ve G' değeri daha hızlı bir şekilde başlangıç değerine ulaşacaktır. Salata sosları için elde edilen k değerleri, ürün tipi ve uygulanan kesme hızı değerinden önemli ölçüde etkilenmiştir. k×1000 değeri 20,83 ile 34,17 arasında değişmektedir. Bu sonuçlar, 3-ITT testinin az yağlı salata soslarının HPOB'den elde edilen protein ve liflerin zenginleştirmesi ile üretilebileceğini göstermektedir.



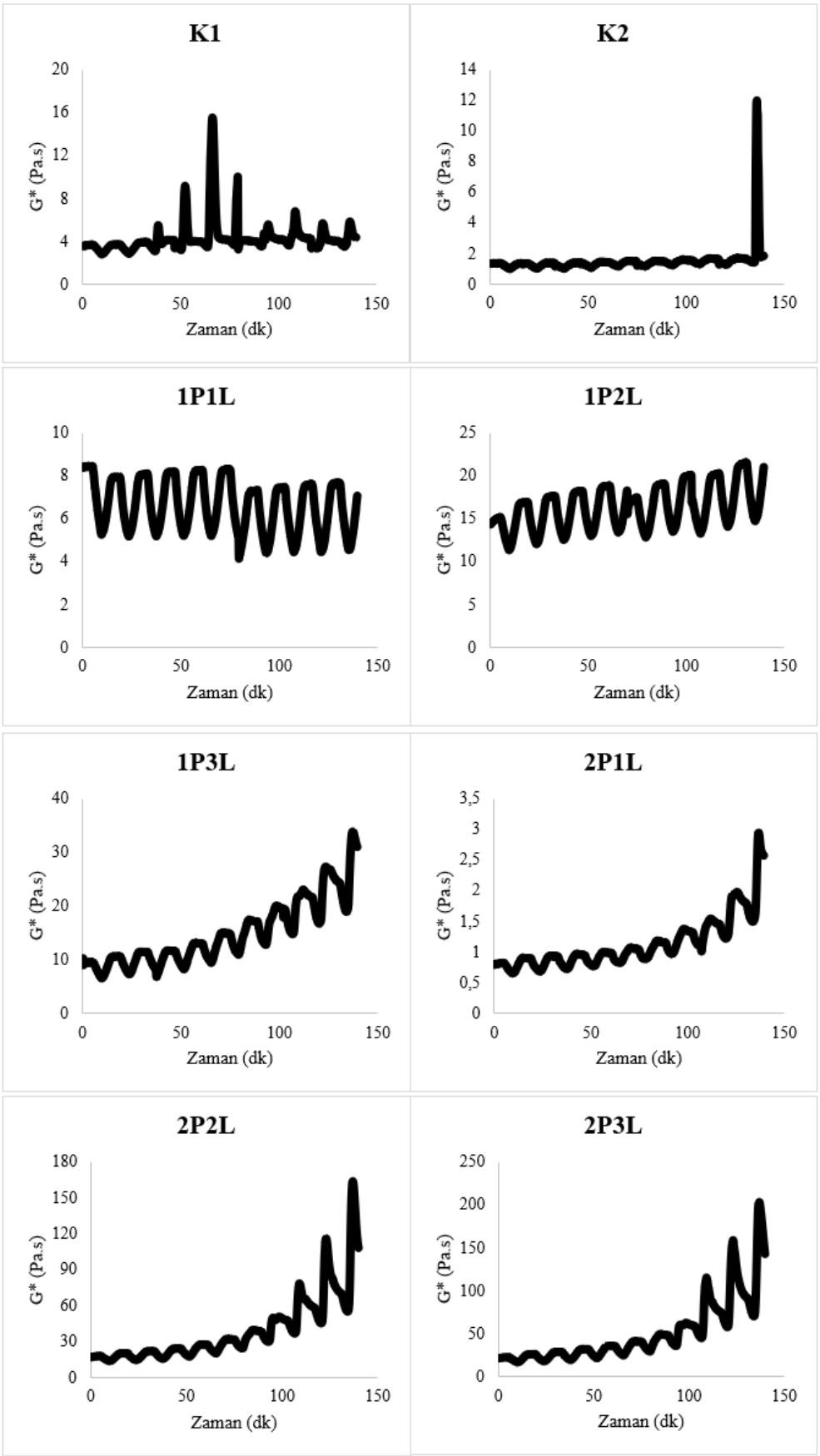
Şekil 3.15 Tiksotropik davranış grafiği

3.5.4 Emülsiyon Stabilitesi

Termal döngü testi, emülsiyonların kararlılığını değerlendirmek için G* (kompleks modulus) değerlerindeki değişiklikleri kullanır. Daha büyük G* değeri değişiklikleri, termal döngülerin emülsiyonun kararlılığını etkilediğini gösterir. Salata sosu örnekleri için yapılan yüksek sıcaklık (25-45 °C) termal döngü deneyleri, G* değerlerinde değişikliklere neden olmuştur, bu da emülsiyonun stabilitesi hakkında bilgi verir. Her numune, 10 termal döngüsünden sonra faz ayrımının oluşumunu gözlemlemek için incelenmiştir. Şekil 3.16, yüksek sıcaklık termal döngü deneylerinin G* değerlerindeki değişiklikleri göstermektedir. Sıcaklık yükseldikçe, G* değeri azalır. Bu, emülsiyonun kararsızlaştığını ve yapısının bozulduğunu gösterir. Yüksek sıcaklığa maruz kalan emülsiyon molekülleri arasındaki etkileşimler zayıflar ve stabilite azalır. Bu durum, emülsiyonun daha az dayanıklı hale gelmesine ve faz ayrımının oluşma riskinin artmasına neden olur (Tekin vd., 2020). Şekil 3.16, yüksek yağlı kontrol numunesi üçüncü döngüden sonra G* değerinde önemli bir değişiklik gösterdiği için, yüksek yağlı kontrol emülsiyonunun stabilitesinin düşük olduğunu göstermektedir.

1P1L ve 1P2L numuneleri G* değerinde çok az değişiklik göstererek yüksek emülsiyon stabilitesi sergilemiştir. Ancak, 2P2L ve 2P3L numunelerinde 25 ile 45 °C arasında önemli bir G* değeri artışı görülmüştür. Bu artış, su fazında protein ve lif miktarındaki değişikliklere bağlı olarak çözünürlük ve viskozitedeki değişikliklerle açıklanabilir. Bu faktörlerin bir sonucu olarak, bazı istikrarsızlık süreçleri meydana gelmiştir.

Protein ve polisakkarit kompleksinin az yağlı mayonezde yağ ikamesi olarak kullanıldığı bir çalışmada %60'a kadar yağ ikamesi ilavesinin damlacıkların birleşmesini ve topaklanmasını önleyebileceği ve böylece mayonezlerin stabilitesini artırabileceği bildirilmiştir (Sun vd., 2018).



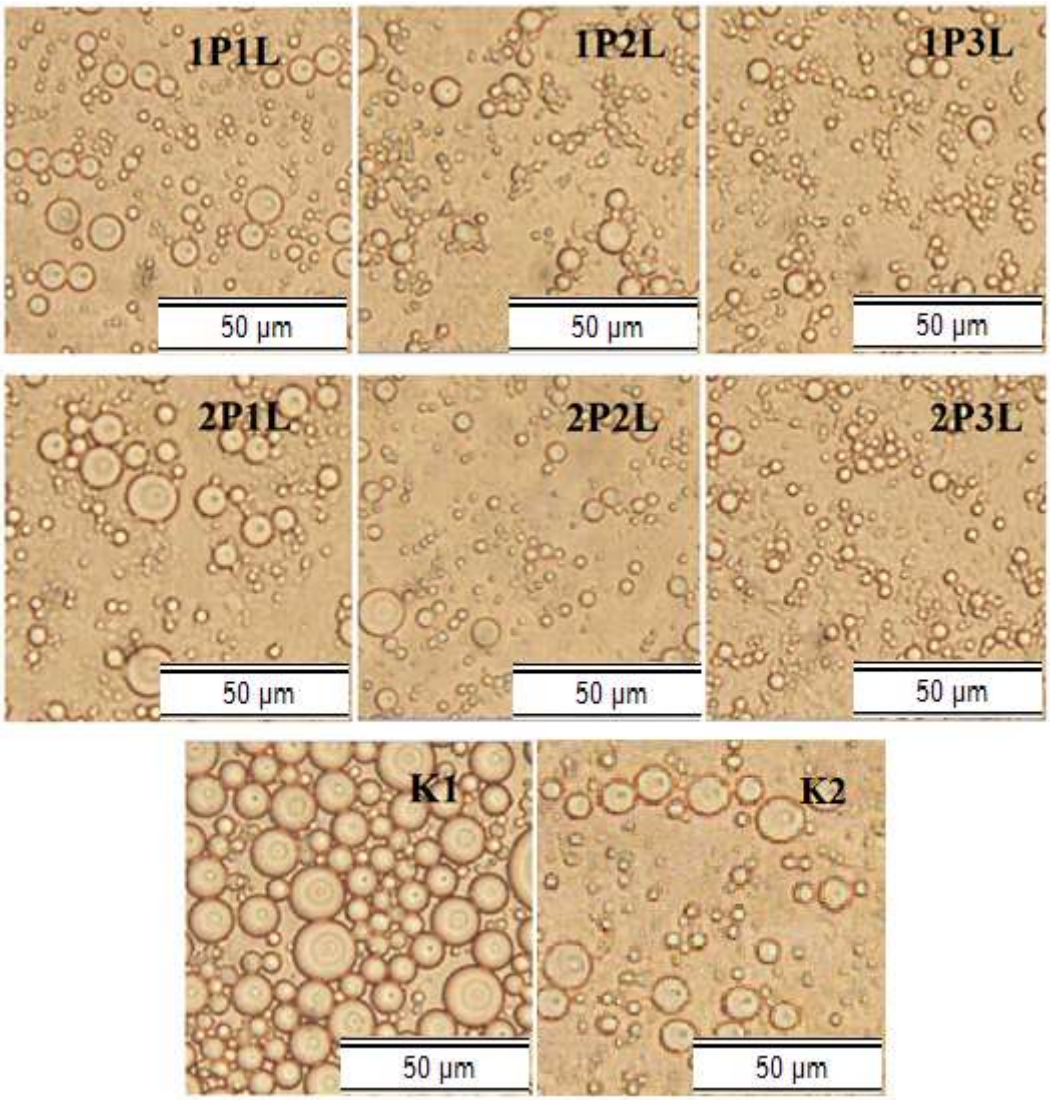
Şekil 3.16 Emülsiyon stabilitesi grafiği

3.5.5 Zeta Potansiyeli, Parçacık Boyutu ve Optik Mikroskop Görüntüleri

Salata soslarının Zeta (ζ) potansiyeli, uzun süre stabil olabilme yeteneklerinin önemli bir göstergesidir. ζ potansiyel değeri sıfırdan uzaklaştıkça, sistem negatif veya pozitif bir yük elde eder ve bu, numunenin genişletilmiş stabilitesini gösterir. Tablo 3.17'de belirtilen K1 ve K2 örneklerinin ζ potansiyel değerleri -39,78 mV ile -36,52 mV arasında değişmektedir. Bu sonuç, tüm numunelerin yüksek ζ potansiyel değerlerine sahip olduğunu gösterir. Negatif yük, yağ damlacıklarının etrafındaki negatif yüklerin hidrofobik bağlarla polisakkaritlere bağlanmasından kaynaklanır. Bu nedenle, protein ve lif ilaveli salata sosu örneklerinin ζ potansiyel değerleri, formülasyonların uzun süre stabil kalabilme yeteneğini göstermektedir.

Parçacık boyutu (d32), salata sosu numunelerinin emülsiyon stabilitesini belirlemede kritik bir faktördür. K1 ve K2 örneklerinin parçacık boyutları (d32) sırasıyla 3,65 μm ve 4,59 μm'dir. Protein ve lif ilaveli soslarda ise parçacık boyutları (d32) 0,59 μm ile 3,16 μm arasında değişmiştir. Araştırmacılar, negatif yüklü polisakkaritlerin partikül çapını etkileyen başka bir önemli etken olduğunu belirtmiştir (Tekin vd., 2021). HPOB'den geri kazanılan protein ve ham lif düşük yağlı ürünlerin reolojik özelliklerini iyileştirmek için dengeleyici bir madde olarak kullanılabilir.

Şekil 31.7, salata sosu örneklerinin ışık mikroskobu görüntülerini göstermektedir. HPOB protein ve lif içeren numuneler, daha az yağ içermelerine rağmen daha küçük damlacık boyutlarına sahiptir. Bu sonuçlar, emülsiyon stabilitesi analizi ve ζ potansiyeli ölçümleriyle uyumludur. Özellikle 1P2L örneği diğer örneklere kıyasla protein ve lifin etkileşimi, sulu fazdaki hareketliliği azaltarak yağ damlacıklarının bir araya gelmesini engellemiştir. Sonuçlar optik görüntüler, emülsiyon stabillite sonuçları ile uyumludur. Emülsiyon stabilitesi, ζ potansiyeli ölçümleri ve ışık mikroskobu verileri, HPOB'den elde edilen protein ve lifin yağı azaltılmış salata sosunda emülsiyon stabilitesini iyileştirebileceğini göstermiştir.



Şekil 3.17 Optik mikroskop görüntüleri

Tablo 3.17 Zeta potansiyel ve damlacık boyutu değerleri

	K-1	K-2	1P1L	1P2L	1P3L	2P1L	2P2L	2P3L
ζ-potensiyel (mV)	-39,78±0,12^{b}	-36,52±0,15^{cd}	-45,53±0,25^{a}	-34,70±0,26^{d}	-38,10±0,10^{bc}	-46,70±0,44^{a}	-36,33±0,68^{cd}	-37,20±0,92^{cd}
d_{32} (µm)	3,65±0,22^{ab}	4,59±0,18^{a}	3,16±0,47^{abc}	0,91±0,15^{bc}	1,95±0,42^{abc}	2,43±0,91^{abc}	1,51±0,88^{bc}	0,59±0,07^{c}
PdI	0,95±0,04^{a}	0,88±0,12^{ab}	0,60±0,06^{abc}	0,20±0,09^{c}	0,37±0,15^{bc}	0,15±0,07^{c}	0,58±0,42^{abc}	0,88±0,12^{ab}

K1: %30 yağlı salata sosu. K2: %10 salata sosu (az yağlı salata sosu numunesi). P:Protein ve L:lif. Aynı satırdaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

3.5.6 Oksidatif Stabilite

Az yağlı salata sosu numuneleri ile tam yağlı ve az yağlı kontrol numuneleri (K1 ve K2), oksidasyon stabilitesi için OXITEST Cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Örneklerin oksidatif stabilitesini değerlendirmek için indüksiyon periyodu (IP) değerleri kullanılmıştır. Tablo 4'te, salata sosu örneklerinin IP değerleri 90 °C'de 2,51 ile 7,04 saat arasında değişmektedir. HPOB protein ve lif içeren salata sosu örneklerinin IP değerleri (5,11 saat ile 7,04 saat arasında), kontrol örneklerinin IP değerlerinden (2,51 saat ile 3,33 saat arasında) daha yüksektir ve bu, HPOB'den elde edilen protein ve lifin salata sosu örneklerinin oksidatif stabilitesini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir.

Tablo 3.18 Oksidatif stabilite

	IP (Sa)
K1	03:33±0,06^{e}
K2	02:51±0,04^{f}
1P1L	05:57±0,04^{c}
1P2L	06:14±0,05^{b}
1P3L	05:11±0,^{10d}
2P1L	05:15±0,07^{d}
2P2L	06:25±0,11^{b}
2P3L	07:04±0,03^{a}

K1: %30 yağlı salata sosu. K2: %10 salata sosu (az yağlı salata sosu numunesi). P:protein ve L:lif. Aynı sütundaki farklı küçük harfler, örnekler arasındaki anlamlılığı gösterir ($p < 0.05$).

4
SONUÇ

Bu çalışmada, soğuk sıkım acı biber yağ üretimi sırasında elde edilen yan ürünün ve bu yan üründen geri kazanılan protein ve ham lif bileşenlerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir. Özellikle, bu yan ürünün, protein ve lifin düşük yağlı salata soslarında kullanımı üzerine odaklanılmıştır. HPOB yüksek fenolik bileşikler, kapsaisin, dihidrokapsaisin, lif ve protein içeren bir yan üründür.

Araştırmada, yağı azaltılmış salata soslarının reolojik özellikleri, emülsiyon stabilitesi ve oksidatif stabilite geliştirme potansiyeli incelenmiştir. HPOB, protein ve lifinin salata soslarına eklenmesi, psödoplastik, viskoelastik katı ve geri kazanılabilir karakterlerini iyileştirmiştir. Bu da düşük yağlı salata soslarının kalitesini artırmıştır.

Termal döngü testi, zeta potansiyeli ve partikül boyutu dağılımı gibi analizler, HPOB ile zenginleştirilmiş numunelerin emülsiyon stabilitesini ve mikroyapısal özelliklerini artırabileceğini göstermiştir. Bunun yanı sıra, HPOB, protein ve lifi ile zenginleştirilmiş örneklerin oksidatif stabilitesi artmış ve uçucu oksidatif bileşenlerin miktarı azalmıştır. Bu da HPOB'nin salata soslarının raf ömrünü uzatabileceğini ve oksidatif bozulmanın etkilerini azaltabileceğini göstermektedir.

Sonuç olarak, bu araştırma, düşük yağlı salata soslarının reolojik özelliklerini iyileştirmek ve oksidatif stabilitesini artırmak için HPOB ve geri kazanılan protein ve lifinin kullanılabileceğini göstermektedir. Özellikle %3 oranında HPOB ilavesiyle mükemmel emülsiyon stabilitesine sahip düşük yağlı salata sosları üretilebileceği belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları, soğuk sıkım yağ üreticilerinin yan ürünleri daha değerli bir şekilde kullanım potansiyelini ortaya koymuştur.

Acı biber tohumu yağı yan ürün ve yan ürününden protein ve lifin geri kazanımı ile salata soslarında doğal antioksidan, stabilizatör ve kıvam verici ajan olarak kullanım potansiyeli ortaya konulmuştur. %1 protein ve % 2 ham lif ilave edilen salata sosu örneği yüksek işlevsellik sergilemiştir.

Çalışmanın diğer kısmında ise HPOB'den geri kazanılan lifin tekno-fonksiyonel karakterizasyonu yapılmıştır. Ayrıca HPOB'den geri kazanılan proteinin 3 farklı proteaz ile enzimatik hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Enzimatik hidroliz sonucu elde edilen hidrolizatların teknolojik ve biyoaktif özellikleri üzerine yapılan çalışmalarda, HPOB'nin hidroliz derecesinin farklı enzim türlerine bağlı olarak önemli ölçüde değiştiği görülmüştür. Enzim aktivite süresinin artmasıyla birlikte, hidrolizatların hidroliz derecelerinin de arttığı gözlenmiştir. En yüksek hidroliz derecesi savinaz ile işlenen hidrolizatlarda saptanmışken, en düşük değer alkalaz hidrolizatlarında bulunmuştur. SDS Page sonuçları, hidrolizatların hidroliz derecesi arttıkça bant sayısının ve yoğunluğunun azaldığını ve savinaz hidrolizatlarında en düşük moleküler ağırlıklı peptid fraksiyonlarının oluştuğunu göstermiştir. Düşük hidroliz derecesine sahip hidrolizatların, yüksek hidroliz derecesine sahip olanlara göre üstün teknolojik özelliklere (yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon aktivite ve stabilite indeksi) sahip olduğu belirlenmiştir. Protein hidrolizatlarının genel olarak yağ bağlama kapasitesinin belirli bir hidroliz derecesine kadar arttığı ve daha sonra azaldığı saptanmıştır. Emülsiyon stabilite indeksi de benzer bir korelasyon göstermiştir. Enzimatik hidroliz sonrasında, proteinlerin ikincil yapılarında farklılıklar ortaya çıkmıştır. HPOB hidrolizatlarında β-tabaka içeriği azalmış, α-heliks içeriği ise protein izolatına göre artmıştır. Rastgele sarım içeriği ise hidrolizatların hidroliz derecesi arttıkça artmıştır. Tüm hidrolizatlar ABTS radikal süpürücü aktivitesi sergilemiştir. Hidrolizatların FRAP aktivitesi, enzimatik hidroliz ile önemli ölçüde artmıştır. En yüksek FRAP aktivitesi, nispeten daha yüksek hidroliz derecesine sahip savinaz ve flavourzyme hidrolizatlarında gözlenmiştir.

Bu araştırma alanında, yeni yan ürünlerin ve bu yan ürünlerden elde edilen nihai ürünlerin güvenliğini doğrulamak için yeni stratejilerin uygulanması gerekmektedir. Araştırmamız ayrıca, geri dönüşüm ve çeşitli gıda endüstrilerinde yeniden kullanım için yeni yeşil yöntemler tanımlamaktadır. Bu yeşil yaklaşım, çevrenin ve insanların korunmasını sağlamanın yanı sıra, malzemelerin tedarik zincirinde yeniden kullanımına olanak tanıyarak maliyetleri düşürme, ekonomik büyümeyi destekleme ve atık bertarafından kaynaklanan riskleri azaltma gibi avantajlar da sağlamaktadır.

Küspe, yağın tohumlardan çıkarılmasından sonra elde edilen bir yan üründür. İzole edilebilen ve gıdalarda kullanılabilen yüksek miktarda biyoaktif bileşik içerir, bu nedenle hem hayvan hem de insan beslenmesinde kullanılmaktadır. Bu kalıntılar düşük maliyetli katma değerli ürünlerin üretiminde bir substrat görevi görebilir, örneğin yakıt, yüzey aktif maddeler, enzimler, antibiyotikler, vitaminler, doğal pigmentler, aroma bileşenleri gibi ürünlerin yanı sıra diyet lifleri, amino asitler gibi sağlığı teşvik eden bileşenlerin üretiminde de kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Bu yan ürünlerden geri kazanılan biyoaktif bileşenler, fonksiyonel bileşenlerin üretiminde kullanılabilecek temel bileşenler olarak hizmet eder, bu da etkili atık kullanımını ve sıfır atık ve döngüsel ekonomi kavramlarının başarıyla gerçekleştirilmesini sağlamaktadır.

Döngüsel ekonomi anlayışında, atıkların değerlendirilmesi gerekmektedir. Aynı zamanda malzemelerin tedarik zincirinde yeniden kullanılmasına izin verdiği, gıdalara daha fazla değer kattığı, maliyetleri düşürdüğü, ekonomik büyümeye olanak sağladığı ve çevreye yönelik riskleri azalttığı için büyük bir fırsattır.

KAYNAKÇA

Abirami, A., Nagarani, G., & Siddhuraju, P. (2014). Measurement of functional properties and health promoting aspects-glucose retardation index of peel, pulp and peel fiber from Citrus hystrix and Citrus maxima. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *4*(1), 16-26. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2014.06.001

Aboul-Enein, Y., Bunaciu, A., & Fleschin, S. (2014). Evaluation of the protein secondary structures using Fourier transform infrared spectroscopy. *Gazi University Journal of Science*, *27*(1), 637-644.

Achouri, A., Zhang, W., & Shiying, X. (1998). Enzymatic hydrolysis of soy protein isolate and effect of succinylation on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *Food Research International*, *31*(9), 617-623.

Akcicek, A., & Karasu, S. (2018). Utilization of cold pressed chia seed oil waste in a low-fat salad dressing as natural fat replacer [https://doi.org/10.1111/jfpe.12694]. *Journal of Food Process Engineering*, *41*(5), e12694. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpe.12694

Akcicek, A., Yildirim, R. M., Tekin-Cakmak, Z. H., & Karasu, S. (2022). Low-Fat Salad Dressing as a Potential Probiotic Food Carrier Enriched by Cold-Pressed Tomato Seed Oil By-Product: Rheological Properties, Emulsion Stability, and Oxidative Stability. *ACS omega*.

Aksoy, F. S., Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S., & Aksoy, A. S. (2022). Oxidative stability of the salad dressing enriched by microencapsulated phenolic extracts from cold-pressed grape and pomegranate seed oil by-products evaluated using OXITEST. *Food Science and Technology*, *42*.

Alahmad, K., Noman, A., Xia, W., Jiang, Q., & Xu, Y. (2023). Influence of the Enzymatic Hydrolysis Using Flavourzyme Enzyme on Functional, Secondary Structure, and Antioxidant Characteristics of Protein Hydrolysates Produced from Bighead Carp (Hypophthalmichthys nobilis). *Molecules*, *28*(2).

Alemdar, A., & Sain, M. (2008). Isolation and characterization of nanofibers from agricultural residues–Wheat straw and soy hulls. *Bioresource technology*, *99*(6), 1664-1671.

Allotey, D. K., Kwofie, E. M., Adewale, P., Lam, E., & Ngadi, M. (2023). Life cycle sustainability assessment outlook of plant-based protein processing and product formulations. *Sustainable Production and Consumption*, *36*, 108-125. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.spc.2022.12.021

Alvarez, M. D., & Canet, W. (2013). Time-independent and time-dependent rheological characterization of vegetable-based infant purees. *Journal of Food Engineering*, *114*(4), 449-464.

Ancuța, P., & Sonia, A. (2020). Oil Press-Cakes and Meals Valorization through Circular Economy Approaches: A Review. *Applied Sciences*, *10*(21).

Aoac, M. (1990). Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. *AOAC: Official Methods of Analysis*, *1*, 69-90.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Esin Karademir, S., & Erçağ, E. (2006). The cupric ion reducing antioxidant capacity and polyphenolic content of some herbal teas. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *57*(5-6), 292-304. https://doi.org/10.1080/09637480600798132

Arimboor, R., Natarajan, R. B., Menon, K. R., Chandrasekhar, L. P., & Moorkoth, V. (2015). Red pepper (Capsicum annuum) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability—a review. *Journal of food science and technology*, *52*(3), 1258-1271. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1260-7

Ashaolu, T. J. (2020). Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: a review [https://doi.org/10.1111/ijfs.14380]. *International Journal of Food Science & Technology*, *55*(2), 421-428. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.14380

Azabou, S., Taheur, F. B., Jridi, M., Bouaziz, M., & Nasri, M. (2017). Discarded seeds from red pepper (Capsicum annum) processing industry as a sustainable source of high added-value compounds and edible oil. *Environmental Science and Pollution Research*, *24*, 22196-22203.

Baenas, N., Belović, M., Ilic, N., Moreno, D. A., & García-Viguera, C. (2019). Industrial use of pepper (Capsicum annum L.) derived products: Technological benefits and biological advantages. *Food chemistry*, *274*, 872-885. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.047

Bai, T., Stone, A. K., & Nickerson, M. T. (2018). Effect of tempering moisture and infrared heating temperature on the functionality of Desi chickpea and hull-less barley flours [https://doi.org/10.1002/cche.10054]. *Cereal Chemistry*, *95*(4), 508-517. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/cche.10054

Bandyopadhyay, K., Misra, G., & Ghosh, S. (2008). Preparation and characterisation of protein hydrolysates from Indian defatted rice bran meal. *Journal of Oleo Science*, *57*(1), 47-52.

Bao, Z.-j., Zhao, Y., Wang, X.-y., & Chi, Y.-J. (2017). Effects of degree of hydrolysis (DH) on the functional properties of egg yolk hydrolysate with alcalase. *Journal of food science and technology*, *54*, 669-678.

Barac, M., Cabrilo, S., Stanojevic, S., Pesic, M., Pavlicevic, M., Zlatkovic, B., & Jankovic, M. (2012). Functional properties of protein hydrolysates from pea (Pisum sativum, L) seeds. *International Journal of Food Science & Technology*, *47*(7), 1457-1467.

Barreira, J. C. M., Nunes, M. A., da Silva, B. V., Pimentel, F. B., Costa, A. S. G., Alvarez-Ortí, M., Pardo, J. E., & Oliveira, M. B. P. P. (2019). Almond cold-pressed oil by-product as ingredient for cookies with potential health benefits: Chemical and sensory evaluation. *Food Science and Human Wellness*, *8*(3), 292-298. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.002

Bazán-Colque, R. J., Ramirez Ascheri, J. L., Ruiz-Barreto, F. I., & Ramirez Ascheri, D. P. (2023). Investigation of the effect of particle size of corn

fiber, as potential raw material, on techno-functional and physicochemical properties. *Journal of Cereal Science*, *112*, 103708. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103708

Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2008). *Food chemistry*. Springer Science & Business Media.

Belwal, T., Ezzat, S. M., Rastrelli, L., Bhatt, I. D., Daglia, M., Baldi, A., Devkota, H. P., Orhan, I. E., Patra, J. K., & Das, G. (2018). A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *100*, 82-102.

Berton-Carabin, C. C., Ropers, M. H., & Genot, C. (2014). Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Involvement of the interfacial layer. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *13*(5), 945-977.

Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of agricultural and food chemistry*, *25*(2), 258-261.

Biswas, B., & Sit, N. (2020). Effect of ultrasonication on functional properties of tamarind seed protein isolates. *Journal of food science and technology*, *57*, 2070-2078.

Bortnowska, G., Balejko, J., Schube, V., Tokarczyk, G., Krzemińska, N., & Mojka, K. (2014). Stability and physicochemical properties of model salad dressings prepared with pregelatinized potato starch. *Carbohydrate Polymers*, *111*, 624-632.

Bozkurt, F., Bekiroglu, H., Dogan, K., Karasu, S., & Sagdic, O. (2021). Technological and bioactive properties of wheat glutenin hydrolysates prepared with various commercial proteases. *Lwt*, *149*, 111787. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111787

Budžaki, S., Strelec, I., Krnić, M., Alilović, K., Tišma, M., & Zelić, B. (2018). Proximate analysis of cold-press oil cakes after biological treatment with Trametes versicolor and Humicola grisea [https://doi.org/10.1002/elsc.201800033]. *Engineering in Life Sciences*, *18*(12), 924-931. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/elsc.201800033

Cano-Sarmiento, C., Téllez-Medina, D. I., Viveros-Contreras, R., Cornejo-Mazón, M., Figueroa-Hernández, C. Y., García-Armenta, E., Alamilla-Beltrán, L., García, H. S., & Gutiérrez-López, G. F. (2018). Zeta potential of food matrices. *Food Engineering Reviews*, *10*, 113-138.

Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S., & Marc, I. (2007). Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates. *Process Biochemistry*, *42*(10), 1419-1428.

Chen, W., Liang, G., Li, X., He, Z., Zeng, M., Gao, D., Qin, F., Goff, H. D., & Chen, J. (2019). Impact of soy proteins, hydrolysates and monoglycerides at the oil/water interface in emulsions on interfacial properties and emulsion stability. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *177*, 550-558.

Chen, Y., Ye, R., Yin, L., & Zhang, N. (2014). Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and in vivo evaluation. *Journal of Food Engineering*, *120*, 1-8.

Chouaibi, M., Rezig, L., Hamdi, S., & Ferrari, G. (2019). Chemical characteristics and compositions of red pepper seed oils extracted by different methods. *Industrial Crops and Products*, *128*, 363-370. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.11.030

Comunian, T. A., Silva, M. P., & Souza, C. J. F. (2021). The use of food by-products as a novel for functional foods: Their use as ingredients and for the encapsulation process. *Trends in food science & technology*, *108*, 269-280. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.003

Cui, J., Lian, Y., Zhao, C., Du, H., Han, Y., Gao, W., Xiao, H., & Zheng, J. (2019). Dietary fibers from fruits and vegetables and their health benefits via modulation of gut microbiota. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *18*(5), 1514-1532.

Cvetković, T., Ranilović, J., & Jokić, S. (2022). Quality of Pepper Seed By-Products: A Review. *Foods*, *11*(5).

Damodaran, S. (2005). Protein stabilization of emulsions and foams. Journal of food science, 70(3), R54-R66.

Dang, Y. M., Hong, Y. S., Lee, C. M., Khan, N., Park, S., Jeong, S.-W., & Kim, K. S. (2018). Determination of Capsaicinoids in Red Pepper Products from South Korea by High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Analytical Letters*, *51*(9), 1291-1303. https://doi.org/10.1080/00032719.2017.1376679

Day, L. (2013). Proteins from land plants–potential resources for human nutrition and food security. *Trends in food science & technology*, *32*(1), 25-42.

Demirhan, E., & Özbek, B. (2013). Influence of enzymatic hydrolysis on the functional properties of sesame cake protein. Chemical Engineering Communications, 200(5), 655-666.

del Mar Yust, M., Pedroche, J., del Carmen Millán-Linares, M., Alcaide-Hidalgo, J. M., & Millán, F. (2010). Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. *Food chemistry*, *122*(4), 1212-1217.

Della Valle, A., Dimmito, M. P., Zengin, G., Pieretti, S., Mollica, A., Locatelli, M., Cichelli, A., Novellino, E., Ak, G., & Yerlikaya, S. (2020). Exploring the nutraceutical potential of dried pepper Capsicum annuum L. on market from Altino in Abruzzo region. *Antioxidants*, *9*(5), 400.

Drago, S. R., & González, R. J. (2000). Foaming properties of enzymatically hydrolysed wheat gluten. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *1*(4), 269-273. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1466-8564(00)00034-5

Drozłowska, E., Łopusiewicz, Ł., Mężyńska, M., & Bartkowiak, A. (2020). Valorization of Flaxseed Oil Cake Residual from Cold-Press Oil Production

as a Material for Preparation of Spray-Dried Functional Powders for Food Applications as Emulsion Stabilizers. *Biomolecules*, *10*(1).

Du, X., Wang, L., Huang, X., Jing, H., Ye, X., Gao, W., Bai, X., & Wang, H. (2021). Effects of different extraction methods on structure and properties of soluble dietary fiber from defatted coconut flour. *Lwt*, *143*, 111031. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111031

Eggersdorfer, M., & Wyss, A. (2018). Carotenoids in human nutrition and health. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *652*, 18-26. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.abb.2018.06.001

Etemadian, Y., Ghaemi, V., Shaviklo, A. R., Pourashouri, P., Sadeghi Mahoonak, A. R., & Rafipour, F. (2021). Development of animal/ plant-based protein hydrolysate and its application in food, feed and nutraceutical industries: State of the art. *Journal of Cleaner Production*, *278*, 123219. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.123219

Fadimu, G. J., Gill, H., Farahnaky, A., & Truong, T. (2021). Investigating the Impact of Ultrasound Pretreatment on the Physicochemical, Structural, and Antioxidant Properties of Lupin Protein Hydrolysates. *Food and Bioprocess Technology*, *14*(11), 2004-2019. https://doi.org/10.1007/s11947-021-02700-4

Fernández, M. d. l. Á., Espino, M., Gomez, F. J. V., & Silva, M. F. (2018). Novel approaches mediated by tailor-made green solvents for the extraction of phenolic compounds from agro-food industrial by-products. *Food chemistry*, *239*, 671-678. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.150

Fernandez, V. E., Palazolo, G. G., Bosisio, N. A., Martínez, L. M., & Wagner, J. R. (2012). Rheological properties and stability of low-in-fat dressings prepared with high-pressure homogenized yeast. *Journal of Food Engineering*, *111*(1), 57-65.

Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients*, *6*(2), 466-488.

Firatligil-Durmus, E., & Evranuz, O. (2010). Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (Capsicum frutescens). *LWT-Food Science and Technology*, *43*(2), 226-231.

Flores-Jiménez, N. T., Ulloa, J. A., Silvas, J. E. U., Ramírez, J. C. R., Ulloa, P. R., Rosales, P. U. B., Carrillo, Y. S., & Leyva, R. G. (2019). Effect of high-intensity ultrasound on the compositional, physicochemical, biochemical, functional and structural properties of canola (Brassica napus L.) protein isolate. *Food Research International*, *121*, 947-956. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.025

Gan, J., Huang, Z., Yu, Q., Peng, G., Chen, Y., Xie, J., Nie, S., & Xie, M. (2020). Microwave assisted extraction with three modifications on structural and functional properties of soluble dietary fibers from grapefruit peel. *Food Hydrocolloids*, *101*, 105549. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105549

Gan, J., Xie, L., Peng, G., Xie, J., Chen, Y., & Yu, Q. (2021). Systematic review on modification methods of dietary fiber. *Food Hydrocolloids*, *119*, 106872. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106872

Gao, M.-T., Hirata, M., Toorisaka, E., & Hano, T. (2006). Acid-hydrolysis of fish wastes for lactic acid fermentation. *Bioresource technology*, *97*(18), 2414-2420. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.10.002

Garcia-Mora, P., Penas, E., Frias, J., & Martínez-Villaluenga, C. (2014). Savinase, the most suitable enzyme for releasing peptides from lentil (Lens culinaris var. Castellana) protein concentrates with multifunctional properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, *62*(18), 4166-4174.

García Arteaga, V., Apéstegui Guardia, M., Muranyi, I., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2020). Effect of enzymatic hydrolysis on molecular weight distribution, techno-functional properties and sensory perception of pea protein isolates. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *65*, 102449. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102449

Gençdağ, E., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2021). Recent Advances in the Recovery Techniques of Plant-Based Proteins from Agro-Industrial By-Products. *Food reviews international*, *37*(4), 447-468. https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1709203

Gharib-Bibalan, S. (2018). High Value-added Products Recovery from Sugar Processing By-products and Residuals by Green Technologies: Opportunities, Challenges, and Prospects. *Food Engineering Reviews*, *10*(2), 95-111. https://doi.org/10.1007/s12393-018-9174-1

González-Centeno, M. R., Knoerzer, K., Sabarez, H., Simal, S., Rosselló, C., & Femenia, A. (2014). Effect of acoustic frequency and power density on the aqueous ultrasonic-assisted extraction of grape pomace (Vitis vinifera L.) – A response surface approach. *Ultrasonics Sonochemistry*, *21*(6), 2176-2184. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2014.01.021

Görgüç, A., Özer, P., & Yılmaz, F. M. (2020). Simultaneous effect of vacuum and ultrasound assisted enzymatic extraction on the recovery of plant protein and bioactive compounds from sesame bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, *87*, 103424. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103424

Gu, M., Fang, H., Gao, Y., Su, T., Niu, Y., & Yu, L. (2020). Characterization of enzymatic modified soluble dietary fiber from tomato peels with high release of lycopene. *Food Hydrocolloids*, *99*, 105321. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105321

Guan, X., Yao, H., Chen, Z., Shan, L., & Zhang, M. (2007). Some functional properties of oat bran protein concentrate modified by trypsin. *Food chemistry*, *101*(1), 163-170. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.01.011

Haque, Z. U. (1993). Influence of milk peptides in determining the functionality of milk proteins: a review. *Journal of dairy science*, *76*(1), 311-320.

Hijazi, T., Karasu, S., Tekin-Çakmak, Z. H., & Bozkurt, F. (2022). Extraction of Natural Gum from Cold-Pressed Chia Seed, Flaxseed, and Rocket Seed Oil By-Product and Application in Low Fat Vegan Mayonnaise. *Foods*, *11*(3).

Hromiš, N., Lazić, V., Popović, S., Šuput, D., Bulut, S., Kravić, S., & Romanić, R. (2022). The possible application of edible pumpkin oil cake film as pouches for flaxseed oil protection. *Food chemistry*, *371*, 131197. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131197

Ibrahim, M. S., Dr Ishtiaq, H., Asad, M. J., Maryum, A., Nadeem, M., Mumtaz, A., Ahmad, M., & Hafeez, A. (2022). Characterization of Dietary fiber Extracted from different Oats (Avena sativa. L) cultivars with respect to Physicochemical, Functional and Phytochemicals : Characterization of Dietary Fiber. *Food Science & Applied Microbiology Reports*, *1*(1), 07-18. https://finessepublishing.com/index.php/fsamr/article/view/20

Jamdar, S. N., Rajalakshmi, V., Pednekar, M. D., Juan, F., Yardi, V., & Sharma, A. (2010). Influence of degree of hydrolysis on functional properties, antioxidant activity and ACE inhibitory activity of peanut protein hydrolysate. *Food chemistry*, *121*(1), 178-184.

Jayaprakasha, G. K., Bae, H., Crosby, K., Jifon, J. L., & Patil, B. S. (2012). Bioactive Compounds in Peppers and Their Antioxidant Potential. In *Hispanic Foods: Chemistry and Bioactive Compounds* (Vol. 1109, pp. 43-56). American Chemical Society. https://doi.org/doi:10.1021/bk-2012-1109.ch004

Jiang, Y., Zhao, Y., Zhu, Y., Qin, S., Deng, Y., & Zhao, Y. (2019). Effect of dietary fiber-rich fractions on texture, thermal, water distribution, and gluten properties of frozen dough during storage. *Food chemistry*, *297*, 124902.

Kajla, P., Sharma, A., & Sood, D. R. (2015). Flaxseed—a potential functional food source. *Journal of food science and technology*, *52*(4), 1857-1871. https://doi.org/10.1007/s13197-014-1293-y

Kamani, M. H., Semwal, J., & Meera, M. S. (2021). Functional modification of protein extracted from black gram by-product: Effect of ultrasonication and micronization techniques. *Lwt*, *144*, 111193. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111193

Kanu, P. J., Zhu, K., Kanu, J. B., & Zhou, H. (2009). Effects of enzymatic hydrolysis with alcalase on the functional properties of protein hydrolysate from defatted sesame flour. Journal of Food Science and Technology (Mysore), 46(3), 196-201.

Kasapoglu, M. Z., Sagdic, O., Avci, E., Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S., & Turker, R. S. (2023). The Potential Use of Cold-Pressed Coconut Oil By-Product as an Alternative Source in the Production of Plant-Based Drink and Plant-Based Low-Fat Ice Cream: The Rheological, Thermal, and Sensory Properties of Plant-Based Ice Cream. *Foods*, *12*(3).

Kayacan, S., Karasu, S., Akman, P. K., Goktas, H., Doymaz, I., & Sagdic, O. (2020). Effect of different drying methods on total bioactive compounds, phenolic profile, in vitro bioaccessibility of phenolic and HMF formation of persimmon. *Lwt*, *118*, 108830.

Klaochanpong, N., Puncha-arnon, S., Uttapap, D., Puttanlek, C., & Rungsardthong, V. (2017). Octenyl succinylation of granular and debranched waxy starches and their application in low-fat salad dressing. *Food Hydrocolloids*, *66*, 296-306. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.039

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2007). Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (Selaroides leptolepis) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food chemistry*, *102*(4), 1317-1327.

Klost, M., & Drusch, S. (2019). Functionalisation of pea protein by tryptic hydrolysis–Characterisation of interfacial and functional properties. *Food Hydrocolloids*, *86*, 134-140.

Kobata, K., Sugawara, M., Mimura, M., Yazawa, S., & Watanabe, T. (2013). Potent Production of Capsaicinoids and Capsinoids by Capsicum Peppers. *Journal of agricultural and food chemistry*, *61*(46), 11127-11132. https://doi.org/10.1021/jf403553w

Kotlar, C. E., Ponce, A. G., & Roura, S. I. (2013). Improvement of functional and antimicrobial properties of brewery byproduct hydrolysed enzymatically. LWT-Food Science and Technology, 50(2), 378-385.

Kristinsson, H. G., & Rasco, B. A. (2000). Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties. *Critical reviews in food science and nutrition*, *40*(1), 43-81.

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*, 105325. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325

Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., Belwal, T., Dahuja, A., Joshi, S., Berwal, M. K., Satankar, V., Bhoite, A. G., Amarowicz, R., Kaur, C., & Kennedy, J. F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, *115*, 106595. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106595

Kumar, Y., Roy, S., Devra, A., Dhiman, A., & Prabhakar, P. K. (2021). Ultrasonication of mayonnaise formulated with xanthan and guar gums: Rheological modeling, effects on optical properties and emulsion stability. *Lwt*, *149*, 111632.

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *nature*, *227*(5259), 680-685.

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.

Lan, G., Chen, H., Chen, S., & Tian, J. (2012). Chemical composition and physicochemical properties of dietary fiber from Polygonatum odoratum as affected by different processing methods. *Food Research International*, *49*(1), 406-410.

Laso, J., Margallo, M., Celaya, J., Fullana, P., Bala, A., Gazulla, C., Irabien, A., & Aldaco, R. (2016). Waste management under a life cycle approach as a tool for a circular economy in the canned anchovy industry. *Waste Management & Research*, *34*(8), 724-733. https://doi.org/10.1177/0734242X16652957

Lee, C.-H., Han, K.-H., Kim, A.-Y., Lee, S.-K., Hong, G.-E., Pyun, C.-W., Choi, K.-D., & Yang, C.-Y. (2008). Effect of hot pepper seed oil, capsaicin, and alpha-tocopherol on thermal oxidative stability in lard and soy bean oil. *Food Science of Animal Resources*, *28*(5), 660-666.

Li, M., Wen, X., Peng, Y., Wang, Y., Wang, K., & Ni, Y. (2018). Functional properties of protein isolates from bell pepper (Capsicum annuum L. var. annuum) seeds. *Lwt*, *97*, 802-810. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.069

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. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110582

Liu, C., Damodaran, S., & Heinonen, M. (2019). Effects of microbial transglutaminase treatment on physiochemical properties and emulsifying functionality of faba bean protein isolate. Lwt, 99, 396-403.

Liu, J., Wang, Z., Wang, Z., Hao, Y., Wang, Y., Yang, Z., Li, W., & Wang, J. (2020). Physicochemical and functional properties of soluble dietary fiber from different colored quinoa varieties (Chenopodium quinoa Willd). *Journal of Cereal Science*, *95*, 103045. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103045

Liu, X., Wang, K., Externbrink, M., Niemeyer, J., Giese, M., & Hu, X.-Y. (2020). Control of secondary structure and morphology of peptide–guanidiniocarbonylpyrrole conjugates by variation of the chain length. *Chinese Chemical Letters*, *31*(5), 1239-1242.

Lqari, H., Pedroche, J., Girón-Calle, J., Vioque, J., & Millán, F. (2005). Production of Lupinus angustifolius protein hydrolysates with improved functional properties.

Lu, S., Zhang, Y., Zhu, K., Yang, W., Ye, J., Chai, L., Xu, Q., & Deng, X. (2018). The citrus transcription factor CsMADS6 modulates carotenoid metabolism by directly regulating carotenogenic genes. *Plant Physiology*, *176*(4), 2657-2676.

Lutterodt, H., Slavin, M., Whent, M., Turner, E., & Yu, L. (2011). Fatty acid composition, oxidative stability, antioxidant and antiproliferative properties of selected cold-pressed grape seed oils and flours. *Food chemistry*, *128*(2), 391-399. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.03.040

Lyu, S., Chen, M., Wang, Y., Zhang, D., Zhao, S., Liu, J., Pan, F., & Zhang, T. (2023). Foaming properties of egg white proteins improved by enzymatic hydrolysis: The changes in structure and physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*, *141*, 108681. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108681

Ma, S., Yu, S.-j., Zheng, X.-l., Wang, X.-x., Bao, Q.-d., & Guo, X.-m. (2013). Extraction, characterization and spontaneous emulsifying properties of pectin from sugar beet pulp. *Carbohydrate Polymers*, *98*(1), 750-753.

Ma, Y.-S., Wang, L.-T., Sun, X.-H., Zhang, J.-Q., Wang, J.-F., & Li, Y. (2014). Study on hydrolysis conditions of flavourzyme in soybean polypeptide alcalase hydrolysate and soybean polypeptide refining process. *Advance Journal of Food Science and Technology*, *6*(9), 1027-1032.

Ma, Z., & Boye, J. I. (2013). Advances in the design and production of reduced-fat and reduced-cholesterol salad dressing and mayonnaise: a review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*, 648-670.

Mahmoud, M. I., Malone, W. T., & Cordle, C. T. (1992). Enzymatic hydrolysis of casein: effect of degree of hydrolysis on antigenicity and physical properties. *Journal of food science*, *57*(5), 1223-1229.

Maphosa, Y., & Jideani, V. A. (2016). Dietary fiber extraction for human nutrition—A review. *Food reviews international*, *32*(1), 98-115. https://doi.org/10.1080/87559129.2015.1057840

Marcone, M. R., Kakuda, Y., Jahaniaval, F., Yada, R. Y., & Montevirgen, L. S. (2002). Characterization of the proteins of Pili nut (Canarium ovatum, Engl.). *Plant Foods for Human Nutrition*, *57*, 107-120.

Melo, D., Álvarez-Ortí, M., Nunes, M. A., Espírito Santo, L., Machado, S., Pardo, J. E., & Oliveira, M. B. P. P. (2022). Nutritional and Chemical Characterization of Poppy Seeds, Cold-Pressed Oil, and Cake: Poppy Cake as a High-Fibre and High-Protein Ingredient for Novel Food Production. *Foods*, *11*(19).

McClements, D. J., Bai, L., & Chung, C. (2017). Recent advances in the utilization of natural emulsifiers to form and stabilize emulsions. Annual Review of Food Science and Technology, 8, 205-236.

Merz, M., Claaßen, W., Appel, D., Berends, P., Rabe, S., Blank, I., Stressler, T., & Fischer, L. (2016). Characterization of commercially available peptidases in respect of the production of protein hydrolysates with defined compositions using a three-step methodology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, *127*, 1-10.

Merz, M., Eisele, T., Berends, P., Appel, D., Rabe, S., Blank, I., Stressler, T., & Fischer, L. (2015). Flavourzyme, an enzyme preparation with industrial relevance: automated nine-step purification and partial characterization of eight enzymes. *Journal of agricultural and food chemistry*, *63*(23), 5682-5693.

Mildner-Szkudlarz, S., Różańska, M., Siger, A., Kowalczewski, P. Ł., & Rudzińska, M. (2019). Changes in chemical composition and oxidative stability of cold-pressed oils obtained from by-product roasted berry seeds. *Lwt*, *111*, 541-547. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.080

Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2019). Structural modification of quinoa seed protein isolates (QPIs) by variable time sonification for improving its physicochemical and functional characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, *58*, 104700.

Misra, N. N., Kaur, S., Tiwari, B. K., Kaur, A., Singh, N., & Cullen, P. J. (2015). Atmospheric pressure cold plasma (ACP) treatment of wheat flour. *Food Hydrocolloids*, *44*, 115-121.

Moczkowska, M., Karp, S., Niu, Y., & Kurek, M. A. (2019). Enzymatic, enzymatic-ultrasonic and alkaline extraction of soluble dietary fibre from flaxseed – A physicochemical approach. *Food Hydrocolloids*, *90*, 105-112. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.12.018

Mozafari, H. R., Hosseini, E., Hojjatoleslamy, M., Mohebbi, G. H., & Jannati, N. (2017). Optimization low-fat and low cholesterol mayonnaise production by central composite design. *Journal of food science and technology*, *54*(3), 591-600. https://doi.org/10.1007/s13197-016-2436-0

Nadar, S. S., Rao, P., & Rathod, V. K. (2018). Enzyme assisted extraction of biomolecules as an approach to novel extraction technology: A review. *Food Research International*, *108*, 309-330. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.03.006

Nagalakshmaiah, M., kissi, N. E., Mortha, G., & Dufresne, A. (2016). Structural investigation of cellulose nanocrystals extracted from chili leftover and their reinforcement in cariflex-IR rubber latex. *Carbohydrate Polymers*, *136*, 945-954. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.096

Niu, Y., Li, N., Xia, Q., Hou, Y., & Xu, G. (2018). Comparisons of three modifications on structural, rheological and functional properties of soluble dietary fibers from tomato peels. *Lwt*, *88*, 56-63. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.003

Ogunronbi, O., Jooste, P. J., Abu, J. O., & Van Der Merwe, B. (2011). CHEMICAL COMPOSITION, STORAGE STABILITY AND EFFECT OF COLD-PRESSED FLAXSEED OIL CAKE INCLUSION ON BREAD QUALITY [https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2009.00452.x]. *Journal of Food Processing and Preservation*, *35*(1), 64-79. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.2009.00452.x

Orellana-Escobedo, L., Garcia-Amezquita, L. E., Olivas, G. I., Ornelas-Paz, J. J., & Sepulveda, D. R. (2013). Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (Capsicum spp.) cultivated in the State of Chihuahua. *CyTA - Journal of Food*, *11*(2), 179-184. https://doi.org/10.1080/19476337.2012.716082

Östbring, K., Nilsson, K., Ahlström, C., Fridolfsson, A., & Rayner, M. (2020). Emulsifying and Anti-Oxidative Properties of Proteins Extracted from Industrially Cold-Pressed Rapeseed Press-Cake. *Foods*, *9*(5).

Östbring, K., Tullberg, C., Burri, S., Malmqvist, E., & Rayner, M. (2019). Protein Recovery from Rapeseed Press Cake: Varietal and Processing Condition Effects on Yield, Emulsifying Capacity and Antioxidant Activity of the Protein Rich Extract. *Foods*, *8*(12).

Özyildiz, F., Karagönlü, S., Basal, G., Uzel, A., & Bayraktar, O. (2013). Micro-encapsulation of ozonated red pepper seed oil with antimicrobial activity and application to nonwoven fabric. *Letters in Applied Microbiology*, *56*(3), 168-179. https://doi.org/10.1111/lam.12028

Özyurt, V. H., Tetik, I., & Ötleş, S. (2021). Influence of process conditions on ultrasound-assisted protein extraction from cold pressed tomato seed waste [https://doi.org/10.1111/jfpp.16079]. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(12), e16079. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.16079

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2*, 897484. https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498

Panyam, D., & Kilara, A. (1996). Enhancing the functionality of food proteins by enzymatic modification. *Trends in food science & technology*, *7*(4), 120-125.

Pathania, S., & Kaur, N. (2022). Utilization of fruits and vegetable by-products for isolation of dietary fibres and its potential application as functional ingredients. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *27*, 100295. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100295

Peña-Alvarez, A., Alvarado, L. A., & Vera-Avila, L. E. (2012). Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in hot peppers by ultrasound assisted extraction followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Instrumentation science & technology*, *40*(5), 429-440.

Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y., & Hua, Y. (2016). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids*, *52*, 301-310.

Peng, X., & Yao, Y. (2017). Carbohydrates as Fat Replacers. *Annual Review of Food Science and Technology*, *8*(1), 331-351. https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-030034

Permal, R., Leong Chang, W., Seale, B., Hamid, N., & Kam, R. (2020). Converting industrial organic waste from the cold-pressed avocado oil production line into a potential food preservative. *Food chemistry*, *306*, 125635. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125635

Perucka, I., & Materska, M. (2001). Phenylalanine ammonia-lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh pepper fruits Capsicum annum L. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *2*(3), 189-192. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1466-8564(01)00022-4

Polgár, L. (2005). The catalytic triad of serine peptidases. *Cellular and molecular life sciences CMLS*, *62*, 2161-2172.

Popović, L., Peričin, D., Vaštag, Ž., Popović, S., Krimer, V., & Torbica, A. (2013). Antioxidative and functional properties of pumpkin oil cake globulin hydrolysates. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *90*, 1157-1165.

Price, K. R., Johnson, I. T., Fenwick, G. R., & Malinow, M. R. (1987). The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, *26*(1), 27-135.

Qadir, N., & Wani, I. A. (2022). Physicochemical and functional characterization of dietary fibres from four Indian temperate rice cultivars. *Bioactive*

Carbohydrates and Dietary Fibre, *28*, 100336. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2022.100336

Reddy, B. S., & Sarojini, G. (1987). Chemical and nutritional evaluation of chili (Capsicum annum) seed oil [https://doi.org/10.1007/BF02636991]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *64*(10), 1419-1422. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/BF02636991

Sain, M., & Panthapulakkal, S. (2006). Bioprocess preparation of wheat straw fibers and their characterization. *Industrial Crops and Products*, *23*(1), 1-8.

Samaei, S. P., Martini, S., Tagliazucchi, D., Gianotti, A., & Babini, E. (2021). Antioxidant and Angiotensin I-Converting Enzyme (ACE) Inhibitory Peptides Obtained from Alcalase Protein Hydrolysate Fractions of Hemp (Cannabis sativa L.) Bran. Journal of agricultural and food chemistry, 69(32), 9220-9228. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01487

Sánchez-López, F., Robles-Olvera, V. J., Hidalgo-Morales, M., & Tsopmo, A. (2021). Angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity of Amaranthus hypochondriacus seed protein hydrolysates produced with lactic bacteria and their peptidomic profiles. Food chemistry, 363, 130320.

Salahi, M., Razavi, S. M. A., & Hasanvand, E. (2022). Physicochemical, rheological and functional properties of a novel gum from Eremurus luteus root. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *27*, 100296. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100296

Schlegel, K., Sontheimer, K., Hickisch, A., Wani, A. A., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2019). Enzymatic hydrolysis of lupin protein isolates—Changes in the molecular weight distribution, technofunctional characteristics, and sensory attributes [https://doi.org/10.1002/fsn3.1139]. *Food Science & Nutrition*, *7*(8), 2747-2759. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.1139

Sharma, S. (2021). High fat diet and its effects on cognitive health: alterations of neuronal and vascular components of brain. *Physiology & Behavior*, *240*, 113528. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2021.113528

Sharma, S. K., Bansal, S., Mangal, M., Dixit, A. K., Gupta, R. K., & Mangal, A. K. (2016). Utilization of Food Processing By-products as Dietary, Functional, and Novel Fiber: A Review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *56*(10), 1647-1661. https://doi.org/10.1080/10408398.2013.794327

Sharma, S. K., Vij, A. S., & Sharma, M. (2013). Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *European Journal of Pharmacology*, *720*(1), 55-62. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.10.053

Shi, L., Bucknall, M. P., Young, T. L., Zhang, M., Hu, L., Bing, J., Lee, D. S., Kim, J., Wu, T., & Takamure, N. (2020). Gas chromatography–mass spectrometry analyses of encapsulated stable perovskite solar cells. *Science*, *368*(6497), eaba2412.

Siddiqui, H., Sultan, Z., Yousuf, O., Malik, M., & Younis, K. (2023). A review of the health benefits, functional properties, and ultrasound-assisted dietary fiber extraction. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, *30*, 100356. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2023.100356

Sikora, M., Badrie, N., Deisingh, A. K., & Kowalski, S. (2008). Sauces and dressings: a review of properties and applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, *48*(1), 50-77.

Singleton, V. L., & Joseph A. Rossi, Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144

Sivri, D., Sapirstein, H. D., Köksel, H., & Bushuk, W. (1999). Effects of wheat bug (Eurygaster maura) protease on glutenin proteins. *Cereal Chemistry*, *76*(5), 816-820.

Socas-Rodríguez, B., Álvarez-Rivera, G., Valdés, A., Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2021). Food by-products and food wastes: are they safe enough for their valorization? *Trends in food science & technology*, *114*, 133-147. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.05.002

Song, X., Zhou, C., Fu, F., Chen, Z., & Wu, Q. (2013). Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate. *Industrial Crops and Products*, *43*, 538-544.

Sun, C., Liu, R., Liang, B., Wu, T., Sui, W., & Zhang, M. (2018). Microparticulated whey protein-pectin complex: A texture-controllable gel for low-fat mayonnaise. Food Research International, 108, 151-160. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.036

Sun, C., Wang, C., Xiong, Z., & Fang, Y. (2021). Properties of binary complexes of whey protein fibril and gum arabic and their functions of stabilizing emulsions and simulating mayonnaise. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 68, 102609. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102609

Sun, X., Zhang, W., Zhang, L., Tian, S., & Chen, F. (2020). Molecular and emulsifying properties of arachin and conarachin of peanut protein isolate from ultrasound-assisted extraction. *Lwt*, *132*, 109790. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109790

Sun, X. D. (2011). Enzymatic hydrolysis of soy proteins and the hydrolysates utilisation [https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02785.x]. *International Journal of Food Science & Technology*, *46*(12), 2447-2459. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02785.x

Sung, J., & Lee, J. (2016). Capsicoside G, a furostanol saponin from pepper (Capsicum annuum L.) seeds, suppresses adipogenesis through activation of AMP-activated protein kinase in 3T3-L1 cells. *Journal of Functional Foods*, *20*, 148-158. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.10.024

Sze-Tao, K. W. C., & Sathe, S. K. (2000). Functional properties and in vitro digestibility of almond (Prunus dulcis L.) protein isolate. *Food chemistry*, *69*(2), 153-160.

Tacias-Pascacio, V. G., Morellon-Sterling, R., Siar, E.-H., Tavano, O., Berenguer-Murcia, A., & Fernandez-Lafuente, R. (2020). Use of Alcalase in the

production of bioactive peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *165*, 2143-2196.

Taha, F. S., & Ibrahim, M. A. (2002). Effect of degree of hydrolysis on the functional properties of some oilseed proteins. *Grasas y Aceites*, *53*(3), 273-281.

Teh, S.-S., Bekhit, A. E.-D., Carne, A., & Birch, J. (2014). Effect of the defatting process, acid and alkali extraction on the physicochemical and functional properties of hemp, flax and canola seed cake protein isolates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *8*(2), 92-104. https://doi.org/10.1007/s11694-013-9168-x

Tekin-Cakmak, Z. H., Karasu, S., Kayacan-Cakmakoglu, S., & Akman, P. K. (2021). Investigation of potential use of by-products from cold-press industry as natural fat replacers and functional ingredients in a low-fat salad dressing [https://doi.org/10.1111/jfpp.15388]. *Journal of Food Processing and Preservation*, *45*(8), e15388. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.15388

Tekin, Z. H., Avci, E., Karasu, S., & Toker, O. S. (2020). Rapid determination of emulsion stability by rheology-based thermal loop test. *Lwt*, *122*, 109037.

Tekin, Z. H., & Karasu, S. (2020). Cold-pressed flaxseed oil by-product as a new source of fat replacers in low-fat salad dressing formulation: Steady, dynamic and 3-ITT rheological properties [https://doi.org/10.1111/jfpp.14650]. *Journal of Food Processing and Preservation*, *44*(9), e14650. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jfpp.14650

Thamnarathip, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Nitisinprasert, S., Tadakittisarn, S., & Vardhanabhuti, B. (2016). Extraction and characterisation of Riceberry bran protein hydrolysate using enzymatic hydrolysis [https://doi.org/10.1111/ijfs.13008]. *International Journal of Food Science & Technology*, *51*(1), 194-202. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.13008

Toker, O. S., Karasu, S., Yilmaz, M. T., & Karaman, S. (2015). Three interval thixotropy test (3ITT) in food applications: A novel technique to determine structural regeneration of mayonnaise under different shear conditions. *Food Research International*, *70*, 125-133.

Tomotake, H., Shimaoka, I., Kayashita, J., Nakajoh, M., & Kato, N. (2002). Physicochemical and functional properties of buckwheat protein product. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(7), 2125-2129.

Topuz, A., Dincer, C., Özdemir, K. S., Feng, H., & Kushad, M. (2011). Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (Cv., Jalapeno). *Food chemistry*, *129*(3), 860-865. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.035

Topuz, A., & Ozdemir, F. (2007). Assessment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (Capsicum annuum L.) grown in Turkey. *Journal of Food Composition and Analysis*, *20*(7), 596-602. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfca.2007.03.007

Tungmunnithum, D., Elamrani, A., Abid, M., Drouet, S., Kiani, R., Garros, L., Kabra, A., Addi, M., & Hano, C. (2020). A Quick, Green and Simple Ultrasound-Assisted Extraction for the Valorization of Antioxidant Phenolic Acids from Moroccan Almond Cold-Pressed Oil Residues. *Applied Sciences*, *10*(9).

Twarogowska, A., Van Poucke, C., & Van Droogenbroeck, B. (2020). Upcycling of Belgian endive (Cichorium intybus var. foliosum) by-products. Chemical composition and functional properties of dietary fibre root powders. *Food chemistry*, *332*, 127444. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127444

Udenigwe, C. C., Okolie, C. L., Qian, H., Ohanenye, I. C., Agyei, D., & Aluko, R. E. (2017). Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase as a sustainable and promising plant source of bioactive peptides for food applications. *Trends in food science & technology*, *69*, 74-82. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.001

Ullah, I., Yin, T., Xiong, S., Huang, Q., Zia ud, D., Zhang, J., & Javaid, A. B. (2018). Effects of thermal pre-treatment on physicochemical properties of nano-sized okara (soybean residue) insoluble dietary fiber prepared by wet media milling. *Journal of Food Engineering*, *237*, 18-26. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.05.017

Vinatoru, M., Mason, T. J., & Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *97*, 159-178. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.09.002

Vásquez-Villanueva, R., Orellana, J. M. a., Marina, M. L., & García, M. C. n. (2019). Isolation and characterization of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides from peach seed hydrolysates: In vivo assessment of antihypertensive activity. Journal of agricultural and food chemistry, 67(37), 10313-10320.

Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., & Millán, F. (2000). Partially hydrolyzed rapeseed protein isolates with improved functional properties [https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y]. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *77*(4), 447-450. https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11746-000-0072-y

Vogelsang-O'Dwyer, M., Sahin, A. W., Bot, F., O'Mahony, J. A., Bez, J., Arendt, E. K., & Zannini, E. (2023). Enzymatic hydrolysis of lentil protein concentrate for modification of physicochemical and techno-functional properties. *European Food Research and Technology*, *249*(3), 573-586. https://doi.org/10.1007/s00217-022-04152-2

Walstra, P. (2003). Physical chemistry of foods. Marcel Decker. *Inc., New York*.

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.

Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Fan, R., & Gao, Y. (2015). Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber from orange peel

assisted by steam explosion and dilute acid soaking. *Food chemistry*, *185*, 90-98. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.112

Wang, S., Fang, Y., Xu, Y., Zhu, B., Piao, J., Zhu, L., Yao, L., Liu, K., Wang, S., Zhang, Q., Qin, L., & Wu, J. (2022). The effects of different extraction methods on physicochemical, functional and physiological properties of soluble and insoluble dietary fiber from Rubus chingiiHu. fruits. *Journal of Functional Foods*, *93*, 105081. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105081

Webb, D., Dogan, H., Li, Y., & Alavi, S. (2023). Use of legume flours and fiber for tailoring structure and texture of pea protein-based extruded meat alternatives [https://doi.org/10.1111/1750-3841.16397]. *Journal of food science*, *88*(1), 57-71. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.16397

Wen, C., Zhang, J., Feng, Y., Duan, Y., Ma, H., & Zhang, H. (2020). Purification and identification of novel antioxidant peptides from watermelon seed protein hydrolysates and their cytoprotective effects on H2O2-induced oxidative stress. Food chemistry, 327, 127059.

Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2016). Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems [https://doi.org/10.1111/1541-4337.12209]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *15*(4), 786-800. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12209

Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Legein, M., Fierens, E., Brijs, K., Blecker, C., & Delcour, J. A. (2016). Air–water interfacial properties of enzymatic wheat gluten hydrolyzates determine their foaming behavior. *Food Hydrocolloids*, *55*, 155-162.

Wu, X., Liu, Y., Liu, A., & Wang, W. (2017). Improved thermal-stability and mechanical properties of type I collagen by crosslinking with casein, keratin and soy protein isolate using transglutaminase. *International Journal of Biological Macromolecules*, *98*, 292-301.

Xie, F., Li, M., Lan, X., Zhang, W., Gong, S., Wu, J., & Wang, Z. (2017). Modification of dietary fibers from purple-fleshed potatoes (Heimeiren) with high hydrostatic pressure and high pressure homogenization processing: A comparative study. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *42*, 157-164. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.05.012

Xie, F., Wang, Y., Wu, J., & Wang, Z. (2016). Functional Properties and Morphological Characters of Soluble Dietary Fibers in Different Edible Parts of Angelica Keiskei [https://doi.org/10.1111/1750-3841.13399]. *Journal of food science*, *81*(9), C2189-C2198. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1750-3841.13399

Xu, D., Wang, C., Zhuo, Z., Ye, M., & Pu, B. (2020). Extraction, purification and antioxidant activity of polysaccharide from cold pressed oil cake of 'Tengjiao' seed. *International Journal of Biological Macromolecules*, *163*, 508-518. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.207

Yalcin, H., Ozturk, I., Tulukcu, E., & Sagdic, O. (2011). Effect of γ-irradiation on bioactivity, fatty acid compositions and volatile compounds of clary sage seed (Salvia sclarea L.). *Journal of food science*, *76*(7), C1056-C1061.

Yalmanci, D., Dertli, E., Tekin-Cakmak, Z. H., & Karasu, S. (2023). The stabilisation of low-fat mayonnaise by whey protein isolate-microbial exopolysaccharides (Weissella confusa W-16 strain) complex [https://doi.org/10.1111/ijfs.16287]. *International Journal of Food Science & Technology*, *58*(3), 1307-1316. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.16287

Yan, X., Ye, R., & Chen, Y. (2015). Blasting extrusion processing: The increase of soluble dietary fiber content and extraction of soluble-fiber polysaccharides from wheat bran. *Food chemistry*, *180*, 106-115.

Yang, C.-Y., Mandal, P. K., Han, K.-H., Fukushima, M., Choi, K., Kim, C.-J., & Lee, C.-H. (2010). Capsaicin and tocopherol in red pepper seed oil enhances the thermal oxidative stability during frying. *Journal of food science and technology*, *47*, 162-165.

Yang, H., Yang, S., Kong, J., Dong, A., & Yu, S. (2015). Obtaining information about protein secondary structures in aqueous solution using Fourier transform IR spectroscopy. *Nature protocols*, *10*(3), 382-396.

Yang, K., Xu, T.-R., Fu, Y.-H., Cai, M., Xia, Q.-L., Guan, R.-F., Zou, X.-G., & Sun, P.-L. (2021). Effects of ultrasonic pre-treatment on physicochemical properties of proteins extracted from cold-pressed sesame cake. *Food Research International*, *139*, 109907. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109907

Yılmaz, E., Hüriyet, Z., Arifoğlu, N., & Emir, D. D. (2017). Functional properties of the capia pepper seed defatted press cakes. *Waste and biomass valorization*, *8*, 783-791.

Yılmaz, E., Sevgi Arsunar, E., Aydeniz, B., & Güneşer, O. (2015). Cold pressed capia pepperseed (Capsicum Annuum L.) oils: Composition, aroma, and sensory properties [https://doi.org/10.1002/ejlt.201400276]. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *117*(7), 1016-1026. https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ejlt.201400276

Yin, S.-W., Tang, C.-H., Cao, J.-S., Hu, E.-K., Wen, Q.-B., & Yang, X.-Q. (2008). Effects of limited enzymatic hydrolysis with trypsin on the functional properties of hemp (Cannabis sativa L.) protein isolate. *Food chemistry*, *106*(3), 1004-1013.

Yuliana, M., Truong, C. T., Huynh, L. H., Ho, Q. P., & Ju, Y.-H. (2014). Isolation and characterization of protein isolated from defatted cashew nut shell: Influence of pH and NaCl on solubility and functional properties. *LWT-Food Science and Technology*, *55*(2), 621-626.

Yust, M. d. M., Pedroche, J., Millán-Linares, M. d. C., Alcaide-Hidalgo, J. M., & Millán, F. (2010). Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. *Food chemistry*, *122*(4), 1212-1217. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.03.121

Zanoni, C., Aiello, G., Arnoldi, A., & Lammi, C. (2017). Hempseed peptides exert hypocholesterolemic effects with a statin-like mechanism. Journal of agricultural and food chemistry, 65(40), 8829-8838.

Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., & Sarkis, J. (2019). Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Sunflower Seed Cake Using Response Surface Methodology. *Waste and biomass valorization*, *10*(1), 33-44. https://doi.org/10.1007/s12649-017-0038-3

Zhang, Y., Wang, B., Zhang, W., Xu, W., & Hu, Z. (2019). Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction. *Journal of Cereal Science*, *87*, 318-324. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.04.018

Zhao, Y., Wen, C., Feng, Y., Zhang, J., He, Y., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2021). Effects of ultrasound-assisted extraction on the structural, functional and antioxidant properties of Dolichos lablab L. Protein. *Process Biochemistry*, *101*, 274-284. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.11.027

Zheng, X.-q., Wang, J.-t., Liu, X.-l., Sun, Y., Zheng, Y.-j., Wang, X.-j., & Liu, Y. (2015). Effect of hydrolysis time on the physicochemical and functional properties of corn glutelin by Protamex hydrolysis. *Food chemistry*, *172*, 407-415.

Zheng, Y., & Li, Y. (2018). Physicochemical and functional properties of coconut (Cocos nucifera L) cake dietary fibres: Effects of cellulase hydrolysis, acid treatment and particle size distribution. *Food chemistry*, *257*, 135-142. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.012

Zuniga-Salcedo, M. R., Ulloa, J. A., Bautista-Rosales, P. U., Rosas-Ulloa, P., Ramírez-Ramíez, J. C., Silva-Carrillo, Y., Gutiérrez-Leyva, R., & Hernández, C. (2019). Effect of ultrasound treatment on physicochemical, functional and nutritional properties of a safflower (Carthamus tinctorius L.) protein isolate. *Italian Journal of Food Science*, *31*(3).

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Zeynep Hazal Tekin-Cakmak, Esra Avci, Muhammed Ozgolet, Salih Karasu. The Improvement of Rheological Properties, Emulsion and Oxidative Stability of Low Fat Salad Dressing by Cold Pressed Hot Pepper Seed Oil By-product. International Conference on Raw Material to Processed Foods 3-4 June 2021.

Makaleler

1. Avci, E.; Tekin-Cakmak, Z.H.; Ozgolet, M.; Karasu, S.; Kasapoglu, M.Z.; Ramadan, M.F.; Sagdic, O. Capsaicin Rich Low-Fat Salad Dressing: Improvement of Rheological and Sensory Properties and Emulsion and Oxidative Stability. Foods 2023, 12, 1529. https://doi.org/10.3390/foods12071529