



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ MERCİMEĞİN BAZI
FONKSİYONEL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

NAZMIYE BİLİR

YÜKSEK LİSANS



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ADANA ALPARSLAN TÜRKER BİLİM VE TEKNOLOJİ
ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

FARKLI ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ MERCİMEĞİN BAZI
FONKSİYONEL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ
ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

NAZMİYE BİLİR
YÜKSEK LİSANS

DANIŞMAN
DR. ÖĞR. ÜYESİ LEVENT YURDAER AYDEMİR

ADANA 2021

Bu tezde yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik davranışa uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bu kuralların ve davranışların gerektirdiği şekilde bu çalışmaya özgün olmayan tüm bilgiler için atıf verdiğimi ve kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Nazmiye BİLİR

ÖZET

FARKLI ÖN İŞLEM UYGULAMALARININ MERCİMEĞİN BAZI FONKSİYONEL VE BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Nazmiye BİLİR

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr Öğr. Üyesi Levent Yurdaer AYDEMİR

Şubat 2021, 100 sayfa

Bu çalışmada farklı ön işlemler uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimek unlarından elde edilen farklı ekstraktların renk değerleri, toplam fenolik bileşen miktarları (TFEM), antioksidan aktiviteleri (serbest radikal süpürme aktivitesi – SRSA ve demir iyonlarını şelatlama aktivitesi – DİŞA), çözünür protein değerleri (ÇPİ), su ve yağ tutma kapasiteleri, emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve stabiliteleri, köpük oluşturma kapasiteleri ve stabiliteleri ile antidiyabetik aktiviteleri incelenmiştir. Ön işlem olarak haşlama, fırınlama, suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri uygulanmıştır. Yapılan ön işlemlerin ve liyofilizasyon sürecinin belirlenen özellikler üzerinde önemli etkilerinin olduğu görülmüştür. Su veya alkol içerisinde bekletilen mercimek örneklerinden içinde bulundukları sıvıya önemli miktarda toplam fenolik bileşen ve antioksidan madde geçişi olmuştur. Ön işlemler unların, su ekstraktlarının ve protein ekstraktlarının renklerini de etkilemişlerdir. Yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının TFEM değerleri kırmızı mercimeğe göre daha yüksek bulunmuştur ve değerler 47878 ± 267 ile 12974 ± 431 μg galli asit/g aralığında değişmiştir. Haşlama ve tuzlu suda bekletme işlemleri TFLM değerlerini önemli derecede arttırmıştır. Yeşil mercimek kontrol örneği SRSA değeri kırmızı mercimek ile kıyaslandığında oldukça yüksek bulunmuştur ancak haşlama ve tuzlu suda bekletme işlemleri bu değerleri oldukça düşürmüştür. Liyofilizasyon sonrası TFEM ve TFLM değerlerinde önemli düşüşler gözlenirse de bazı mercimek protein ekstraktlarında önemli artışlar olduğu görülmüştür. Özellikle haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimek protein ekstraktları tüm ekstraktlar arasında en yüksek SRSA değerlerine ulaşmıştır ve bu değerler sırasıyla $95,09 \pm 5,86$ ve $247,01 \pm 28,43$ μmol trolox/g olarak ölçülmüştür. Benzer şekilde haşlanmış ekstraktların çözünür protein değerleri diğer ekstraktların değerlerinden daha yüksek olmuştur. Ön işlem gören mercimek unları

protein ekstraktlarına kıyasla daha düşük emülsiyon kapasitesine sahip olmuşlardır. Haşlama işlemi unların ve protein ekstraktlarının emülsiyon stabilitelerini ise dikkate değer şekilde arttırmıştır ve 60 dakikalık inkübasyon sonrası kırmızı mercimek ununda $80,74 \pm 0,47$; yeşil mercimek ununda $70,81 \pm 1,15$; kırmızı mercimek protein ekstraktında $87,86 \pm 10,55$ ve yeşil mercimek protein ekstraktında $81,52 \pm 4,21$ oranında emülsiyon stabilitesi tespit edilmiştir. Tüm mercimek unu ve protein ekstraktlarında benzer köpük kapasiteleri tespit edilmiştir. ancak mercimek unlarının 30 ve 60 dakika inkübasyon sonrası birçoğunda herhangi bir köpük tespit edilemezken, protein ekstraktları önemli köpük stabilitelerine sahip olduklarını göstermişlerdir. Uygulanan farklı ön işlemler kırmızı mercimek protein ekstraktlarının protein stabilitelerini düşürürken; suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri ise yeşil mercimek protein ekstraktlarının köpük stabilitelerini anlamlı olmayan şekilde az miktarda arttırmışlardır. Genel olarak mercimeklerden üretilen su ve sıvı protein ekstraktları dikkate değer α amilaz inhibisyonu göstermemişler, kırmızı mercimek katı protein ekstraktları ise anlamlı inhibisyon değerleri ortaya koymuşlardır. Diğer yandan tüm ekstraktlar ölçülebilir α -glukozidaz inhibisyonu göstermişlerdir. Haşlama ön işlemi sonrası üretilen su ekstraktı ve sıvı protein ekstraktının α glukozidaz inhibisyon değerinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

Bu çalışma ile uygulanan farklı ön işlemlerle mercimek türüne de bağlı olarak istenilen fonksiyonel özelliklerin geliştirilebileceği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: mercimek, ön işlemler, protein ekstraktı, toplam fenolik bileşen, toplam flavonoid bileşen, antioksidan aktivite, antidiyabetik aktivite, emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi, köpük kapasitesi ve stabilitesi

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE EFFECTS OF DIFFERENT PRETREATMENT APPLICATIONS ON SOME FUNCTIONAL AND BIOACTIVE PROPERTIES OF LENTIL

Nazmiye BİLİR

M.Sc., Department of Food Engineering

Supervisor: Asst Prof. Levent yurdaer AYDEMİR

February 2021, 100 pages

In this study, color values, total phenolic component amounts, antioxidant activities (free radical scavenging activity and iron ions chelating activity), soluble protein values of different extracts obtained from red and green lentil flours with different pretreatments. Water and oil holding capacity, emulsion forming capacity and stability, foam forming capacity and stability and antidiabetic activities were investigated. As a pre-treatment, boiling, baking, soaking, soaking in salt water and germination processes were applied. It has been observed that the pretreatments and lyophilization process have important effects on the determined properties. Significant amount of total phenolic component and antioxidant has passed from the lentil samples kept in water or alcohol to the liquid they contain. The pretreatments also affected the colors of the flours, water extracts and protein extracts. Total phenolic content values of green lentil liquid protein extracts were found to be higher than red lentils and the values varied between 47878 ± 267 and 12974 ± 431 μg gallic acid / g. Boiling and soaking in salt water significantly increased the total flavonoid content values. The free radical scavenging activity value of the green lentil control sample was found to be quite high compared to the red lentil, but boiling and soaking in water with a key decreased this value considerably. Although significant decreases were observed in total phenolic content and total flavonoid content values after lyophilization, significant increases were observed in some lentil protein extracts. Especially boiled red and green lentil protein extracts reached the highest free radical scavenging activity values among all extracts and these values were measured as 95.09 ± 5.86 and 247.01 ± 28.43 μmol trolox / g, respectively. Similarly, soluble protein values of boiled extracts were higher than other extracts. The pre-treated lentil flours had lower emulsion capacity compared to protein extracts. Boiling process significantly increased the emulsion stability of flours and protein extracts. After 60 minutes of incubation, $80.74 \pm 0.47\%$ in red

lentil flour; $70.81 \pm 1.15\%$ in green lentil flour; Emulsion stability was determined as $87.86 \pm 10.55\%$ in red lentil protein extract and $81.52 \pm 4.21\%$ in green lentil protein extract. Similar foaming capacities were found in all lentil flour and protein extracts. However, while most of the lentil flours could not detect any foam after 30 and 60 minutes incubation, protein extracts showed that they had significant foam stability. While different pre-treatments applied reduce the protein stability of red lentil protein extracts; Water and liquid protein extracts produced from lentils did not show significant inhibition of alpha amylase, whereas red lentil solid protein extracts showed significant inhibition values. On the other hand, all extracts showed measurable alpha-glucosidase inhibition. It was observed that the alpha glucosidase inhibition value of the water extract and liquid protein extract produced after boiling pretreatment was higher.

With this study, it was seen that the desired functional properties can be developed depending on the lentil type with different pre-treatments.

Keywords: lentils, pretreatments, protein extract, total phenolic component, total flavonoid component, antioxidant activity, antidiabetic activity, emulsion capacity and stability, foam capacity and stability

Bu tezi rahmetli babam İsmail BİLİR’e ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca, tez konumun belirlenmesinde, deneysel çalışmanın yürütülmesinde fikirleri ile bana yol gösteren, manevi desteğini benden esirgemeyen danışmanım sayın Dr. Levent Yurdaer AYDEMİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez jürimde bulunan Dr. Öğr. Üyesi Burcu ÇABUK ve Doç. Dr. Hande DEMİR hocalarıma değerli bilgi ve görüşleri için teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını ve çalışmam boyunca manevi desteğini benden esirgemeyen sayın Arş. Gör. Sevgin DIBLAN hocama teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmam boyunca her zaman yanımda olan, manevi desteğini esirgemeyen sevgili arkadaşım Arş. Gör. Erva PARILDI'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında her konuda maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve her zaman yanımda olan nişanlım Taha Yasin ÇAMLI ve sevgili aileme çok teşekkür ederim.

Bu tez 19332001 projesi numarası ile Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Yüksek lisans projemizi destekleyerek uygun şekilde yürütülmesini sağlayan Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi BAP birimine ve çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
TABLolar LİSTESİ	xvi
KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal.....	17
3.2. Yöntem	17
3.3. Mercimek Örneklerine Uygulanan İşlemler	19
3.3.1. Mercimek Örneklerine Uygulanan Ön İşlemler	19
3.3.1.1. Çimlendirme İşlemi	19
3.3.1.2. Suda ve Tuzlu Suda Bekletme Yöntemi.....	20
3.3.1.3. Haşlama İşlemi	21
3.3.1.4. Fırınlama İşlemi	21
3.3.2. Mercimek Örneklerine Uygulanan Ekstraksiyon Yöntemleri.....	22
3.3.2.1. Su ile Ekstraksiyon Yöntemi	22
3.3.2.2. Alkol ile Ekstraksiyon Yöntemi.....	22
3.3.2.3. Mercimek Örneklerinden Protein Ekstraksiyonu Yöntemi	22
3.4. Analiz Yöntemleri.....	24
3.4.1. Örneklerde Toplam Fenolik Madde Tayini.....	24
3.4.2. Örneklerde Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	24

3.4.3. Örneklerde Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini	24
3.4.4. Örneklerde Demir İyonlarını Şelatlama Kapasitesi Tayini	24
3.4.5. Örneklerde Çözünür Protein Miktarı Tayini	25
3.4.6. Örneklerde Antidiyabetik Aktivite Tayini	25
3.4.7. Örneklerde Yağ ve Su Tutma Kapasitesi Tayini	26
3.4.8. Örneklerde Emülsiyon Oluşturma Kapasitesi ve Emülsiyon Stabilitesi Tayini	26
3.4.9. Örneklerde Köpük Oluşturma Kapasitesi ve Köpük Stabilitesi Tayini	27
3.4.10. Örneklerde Toplam Protein Tayini	28
3.4.11. Örneklerde Toplam Kuru Madde Tayini.....	28
3.4.12. Örneklerde renk tayini	30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Mercimek Örneklerinden Suyu Geçen Bileşenlerin Toplam Fenolik Madde ve Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri.....	31
4.2. Mercimek örneklerinden alkol çözültisine geçen bileşenlerin toplam fenolik madde ve serbest radikal süpürme aktiviteleri	33
4.3. Farklı ön işlemler uygulanmış mercimek örneklerinden üretilen un ve protein ekstraktların renk değerleri.....	36
4.4. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Kimyasal Analizleri.....	44
4.4.1. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Su ve Alkol Ekstraktlarının Kimyasal Analizleri	44
4.4.2. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinden Elde Edilen Protein Ekstraktlarının Kimyasal Analizleri.....	56
4.4.3. Kırmızı ve Yeşil Mercimek Örneklerinin Antidiyabetik Aktivite Analizleri	67
4.5. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri	71
4.5.1. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Su ve Yağ Tutma Kapasiteleri	71
4.5.2. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Emülsiyon ve Köpük Oluşturma Kapasiteleri ve Stabiliteleri.....	75
5. SONUÇLAR	84
6. ÖNERİLER	88
KAYNAKLAR.....	89

EKLER	96
Ek 1. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi	96
Ek 2. Kuersetin kalibrasyon eğrisi.....	96
Ek 3. ABTS kalibrasyon eğrisi	97
Ek 4. EDTA kalibrasyon eğrisi	97
Ek 5. BSA kalibrasyon eğrisi	98
Ek 6. Akarboz alfa glükosidaz inhibisyon grafiği	98
Ek 7. Akarboz alfa amilaz inhibisyon grafiği.....	99



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1. Fibröz ve globüler protein yapıları	3
Şekil 1.2. Denatürasyon.....	5
Şekil 1.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	7
Şekil 3.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklere uygulanan ön işlemler ve ekstraksiyon yöntemleri	17
Şekil 3.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin Fonksiyonel Özellikleri.....	18
Şekil 3.3. Kırmızı ve yeşil mercimeklere uygulanan kimyasal analizler	18
Şekil 3.4. Çimlendirilen kırmızı ve yeşil mercimek.....	19
Şekil 3.5. Çimlendirilen (7.gün) yeşil mercimek	20
Şekil 3.6.Suda bekletilen kırmızı ve yeşil mercimek	20
Şekil 3.7. Haşlanan kırmızı mercimek örneği.....	21
Şekil 3.8. Fırınlanan kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri	21
Şekil 3.9. Kırmızı ve yeşil mercimek	23
Şekil 3.10. Liyofilize kırmızı mercimek örnekleri.....	23
Şekil 3.11. Liyofilize yeşil mercimek örnekleri.....	23
Şekil 3.12. Kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri yağ tutma	26
Şekil 3.13. Emülsiyon oluşturma	27
Şekil 3.14. Haşlanmış kırmızı mercimek köpük oluşturma.....	27
Şekil 3.15. Haşlanmış yeşil mercimek köpür oluşturma	28
Şekil 3.16. Kırmızı ve yeşil mercimeklerde kuru madde tayini.....	29
Şekil 3.17. Kırmızı ve yeşil mercimek kurutulmuş.....	29
Şekil 4.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen toplam fenolik madde miktarı.....	32
Şekil 4.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen serbest radikalleri süpürme aktivitesi.....	32
Şekil 4.3. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin zamana bağlı alkole geçen toplam fenolik madde miktarı.....	35
Şekil 4.4. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin zaman bağımlı alkole geçen serbest radikalleri süpürme aktivitesi.....	35
Şekil 4.5. Mercimek unlarına ait renk değerleri.....	37
Şekil 4.6. Mercimek unlarından üretilen su ekstraktlarına ait renk değerleri.....	39

Şekil 4.7. Mercimek unlarından üretilen alkol ekstraktlarına ait renk değerleri	41
Şekil 4.8. Mercimek unlarından üretilen sıvı protein ekstraktlarına ait renk değerleri.....	42
Şekil 4.9. Mercimek unlarından üretilen katı protein ekstraktlarına ait renk değerleri.....	44
Şekil 4.10. Kırmızı ve yeşil mercimek kuru madde sonuçları.....	45
Şekil 4.11. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları toplam fenolik madde miktarı sonuçları.....	47
Şekil 4.12. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı sonuçları.....	47
Şekil 4.13. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi sonuçları.....	47
Şekil 4.14. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları demir iyonlarını şelatlama aktivitesi sonuçları.....	48
Şekil 4.15. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları çözünür protein içeriği.....	48
Şekil 4.16. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları toplam fenolik madde miktarı.....	52
Şekil 4.17. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları toplam flavonoid madde sonuçları .	52
Şekil 4.18. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi.....	52
Şekil 4.19. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları demir iyonları şelatlama aktivitesi	53
Şekil 4.20. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları çözünür protein içeriği	53
Şekil 4.21. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam fenolik madde miktarı.....	57
Şekil 4.22. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı.....	58
Şekil 4.23. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam serbest radikalleri süpürme aktivitesi.....	58
Şekil 4.24. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam protein miktarı	59
Şekil 4.25. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları çözünür protein içeriği.....	59
Şekil 4.26. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam fenolik madde miktarı.....	63
Şekil 4.27. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı.....	63
Şekil 4.28. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi.....	63

Şekil 4.29. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları demir iyonlarını şelatlama aktivitesi.....	64
Şekil 4.30. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları çözünür protein içeriği	64
Şekil 4.31. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam protein içeriği	64
Şekil 4.32. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon değerleri.....	69
Şekil 4.33. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon değerleri	70
Şekil 4.34. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının su ve yağ tutma kapasiteleri.....	72
Şekil 4.35. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasiteleri	74
Şekil 4.36. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri	76
Şekil 4.37. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon stabiliteeri	77
Şekil 4.38. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri	79
Şekil 4.39. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon stabiliteeri	79
Şekil 4.40. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük oluşturma kapasiteleri.....	81
Şekil 4.41. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük stabiliteeri.....	81
Şekil 4.42. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük oluşturma kapasiteleri	83
Şekil 4.43. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük stabiliteeri.....	83

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen bileşenlerin analiz sonuçları	31
Tablo 4.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı alkol çözeltilisine geçen bileşenlerin analiz sonuçları	34
Tablo 4.3. Mercimek unlarına ait renk değerleri	36
Tablo 4.4. Mercimek unlarından üretilen su ekstraktlarına ait renk değerleri	39
Tablo 4.5. Mercimek unlarından üretilen alkol ekstraktlarına ait renk değerleri	40
Tablo 4.6. Mercimek unlarından üretilen sıvı protein ekstraktlarına ait renk değerleri	42
Tablo 4.7. Mercimek unlarından üretilen katı protein ekstraktlarına ait renk değerleri	43
Tablo 4.8. Kırmızı ve yeşil mercimek kuru madde sonuçları	45
Tablo 4.9. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları analiz sonuçları	46
Tablo 4.10. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları analiz sonuçları	51
Tablo 4.11. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları analiz sonuçları	57
Tablo 4.12. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları analiz sonuçları	62
Tablo 4.13. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon değerleri	68
Tablo 4.14. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon değerleri	70
Tablo 4.15. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının su ve yağ tutma kapasiteleri	72
Tablo 4.16. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasiteleri	74
Tablo 4.17. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteeleri	76
Tablo 4.18. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteeleri	78
Tablo 4.19. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük oluşturma kapasiteleri ve köpük stabiliteeleri	80
Tablo 4.20. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük oluşturma kapasiteleri ve köpük stabiliteeleri	82

KISALTMALAR

Abs:absorbans

ÇPİ: çözünür protein içeriği

DİŞA: demir iyonlarını şelatlama aktivitesi

GAE: gallik asit eşleniği

SRSA: serbest radikal süpürme aktivitesi

TFEM:toplam fenolik madde miktarı

TFLM:flavonoid madde miktarı

TPİ: toplam protein içeriği

1. GİRİŞ

Proteinler, amino asitlerin peptit bağları ile birbirlerine bağlanması sonucu oluşan, metabolizmada bir çok farklı ve özelleşmiş işlevi olan ve hücre içerisinde ribozomlardan sentezlenen büyük organik bileşiklerdir. Proteinler yapılarında %50-55 karbon, %6-7 hidrojen, %12-19 azot ve %20-23 oksijen atomlarını içerirler. Çoğu protein ayrıca kükürt elementi içerirken, bazı proteinler ise fosfor, demir, bakır ve çinko elementlerini de içermektedir. Her protein kendine özgü bir yapıya sahiptir. Proteinlerin büyük bir kısmı 20 temel amino asitten oluşmuştur. Bitkiler bu amino asitlerin tamamını, insanlar ise ancak 12 tanesini sentezleyebilmektedirler. İnsanlar ve hayvanlar tarafından sentezlenemeyen ancak diğer besinlerden hazır olarak alınan bu amino asitlere esansiyel (zorunlu) amino asitler denir ve bu amino asitler; izolösin, lösin, valin, lizin, metiyonin, fenilalanin, treonin ve triptofandır. Proteinin yapısında yer alan amino asitlerin dizilişi, sayıları ve çeşitleri birbirinden farklıdır ve bu farklılıklar proteinlere farklı fonksiyonel özellik kazandırır (Saldamlı (2017)). Proteinler yapısal olarak dört farklı kısımdan oluşurlar. Bunlar primer, sekonder, tersiyer ve kuaterner yapılarıdır. Primer yapı; belirli sayı, şekil ve düzendeki amino asitlerin peptit bağları ile birbirlerine bağlanarak oluşturdukları düz zincirli yapıyı tanımlar (Tayar ve Çıbık (2013)). Zincir uzunluğu amino asitlerin sıralanışı, proteinlerin yapısını, fonksiyonlarını, fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini belirler. Primer yapı proteinin temel yapısını oluşturmasının yanında sekonder ve tersiyer yapının da alt tabakasını oluşturmuş olur (Saldamlı (2017)). Sekonder yapı; primer yapıdaki belirli bölgelerde bulunan amino asitlerin yan zincirleri arasında meydana gelen H-bağları sonucu oluşan ve genel olarak helikal veya katlanmış yapı olarak isimlendirilen protein yapısıdır. Tersiyer yapı ise, polipeptit zincirindeki hidrojen bağları, iyonik bağlar, hidrofobik etkileşimler van der Waals etkileşimleri veya polar etkileşimler gibi kovalent olmayan etkileşimler ya da disülfid bağları gibi kovalent etkileşimler sonucu ortaya çıkan, proteinin biyolojik olarak aktif katlanmış yapısıdır (Saldamlı (2017)). Tersiyer yapı tüm protein zincirinin üç boyutlu yapısını gösterir. Bazı proteinlerde ise iki ya da daha fazla polipeptit zinciri hidrofobik etkileşimler bir araya gelerek kuaterner yapıyı oluştururlar.

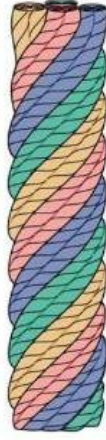
Proteinler hücre ölçeğinde DNA'daki genetik bilgi baz alınarak ribozomlardan sentezlenir. Protein sentezinin mekanizmasında öncelikle çekirdekteki DNA' nın anlamlı zincirinden mRNA sentezlenir. Bu olaya transkripsiyon denir. Daha sonra ribozomun alt birimine mRNA

bağlanır. Büyük alt birim ile küçük alt birim birleşerek ribozomu aktif hale getirirler. Ardından mRNA'daki kodonlar ribozom tarafından okunur ve bu olaya translasyon denir. mRNA' daki kodonlara göre, ATP ve enzimlerle aktifleştirilmiş olan tRNA' lar ait oldukları aminoasitleri ribozoma taşırlar. Protein sentezine başlama sinyali AUG kodu verir. Ribozoma gelen amino asitler peptit bağları ile birbirlerine bağlanırlar. Protein sentezini UAG, UGA ve UAA kodları durdururlar, çünkü kodlara karşılık gelen amino asitler hücre içerisinde bulunmazlar (Bozkurt (2012)).

Proteinler konfigürasyon tipine, kimyasal kompozisyonlarına ve işlevsel özelliklerine göre farklı şekillerde sınıflandırılmışlardır. Yapılarını oluşturan birleşimlere göre homoproteinler ve heteroproteinler olarak iki sınıfa ayrılabilirler. Homoproteinler sadece amino asitleri içerirken, heteroproteinlerin yapısında amino asitlerin yanı sıra amino asit yapısında olmayan prostetik gruplar da yer almaktadır. Heteroproteinlere örnek olarak nükleoproteinler, lipoproteinler, glikoproteinler, fosfoproteinler verilebilir (Tayar ve Çıbık (2013)). Konfigürasyon tipine göre fibröz ve globüler proteinler olarak da iki gruba ayrılabilirler (Şekil 1.1). Fibröz proteinler genel olarak suda çözünmezler ve bir eksen boyunca uzanmış ya da birbirlerine paralel olarak yerleşmiş olan polipeptit zincirlerden oluşan çubuk şeklindeki proteinlerdir. Fibröz proteinlere örnek olarak kollajenler; tendon ve kemiklerde bulunan üçlü heliks şeklindeki proteinler, keratinler; saç, deri ve tırnakta, elastin bağ dokuda ve trimiyosin; kasta bulunan proteinler verilebilir.

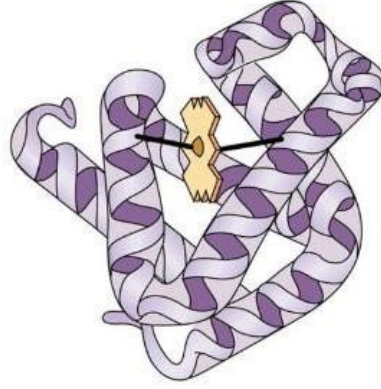
Globüler proteinlerin büyük kısmı ise sulu ortamlarda çözünebilirler. Genellikle tek zincirli ve iki veya daha fazla alt gruplardan da oluşabilen protein yapılarıdır. Globüler proteinlere antikorlar, enzimler, serum albumin, hemoglobin ve hormonlar örnek olarak verilebilirler.

FİBRÖZ PROTEİN



Filament
(four right-hand
twisted protofilaments)

GLOBÜLER PROTEİN



Myoglobin, a globular protein

Şekil 1.1. Fibröz ve globüler protein yapıları

Kimyasal kompozisyonlarına göre proteinler basit ve birleşik proteinler olarak ikiye ayrılabilirler. Basit proteinler; hidrolize uğradıklarında sadece α - amino asitleri ve türevlerini veren proteinlerdir. Basit proteinler de kendi içinde çözünebilen ve çözünemeyen proteinler olarak ikiye ayrılırlar. Çözünen basit proteinler genellikle globüler yapıdadırlar. Bunlara örnek olarak; albumin, globulin, glutelin, prolamin, histon vb. proteinler verilebilir.. Çözünemeyen basit proteinler ise fibröz ve skleroproteinlerdir. Bunlara da örnek olarak kollajen, keratin, fibrin, miyosin, elastin ve epidermin verilebilir. Birleşik protein; basit proteine zayıf veya kuvvetli bir şekilde bağlanmış protein olmayan bazı maddelerden oluşmuş protein yapısıdır. Protein olmayan kısım prostetik grup olarak adlandırılır ve proteine kuvvetli veya zayıf bağlanma gösterir. Prostetik grubun özelliklerine göre de protein adlandırılır. Bunlara örnek olarak fosfoproteinler (prostetik grubu fosforik asit olan), metalproteinler (prostetik grubu metal olan) vb. verilebilir(Saldamlı (2017); Tayar ve Çıbık (2013)).

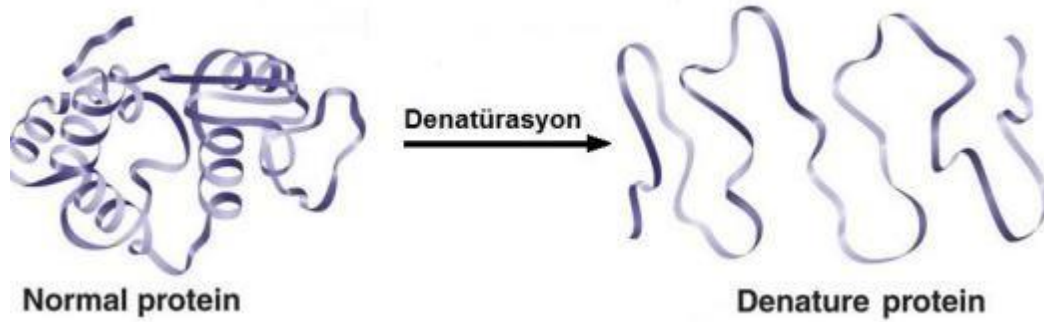
Proteinler fonksiyonel özelliklerine göre enzimler, yapısal proteinler, kontraktil proteinler (myosin, aktin gibi), hormonlar (insulin, büyüme hormonları), transfer proteinler (serum albumin, hemoglobin), antikorlar, depoproteinleri ve koruyucu proteinler olarak sınıflandırılabilirler (Saldamlı (2017); Tayar ve Çıbık (2013)).

Duyusal açıdan değerlendirildiğinde proteinler genellikle kokusuz ve tatsızdır. Fakat proteinlerin parçalanması sonucu oluşan ürünler ve bazı amino asitlerin tatları ise acıdır. Bunlar homojen ve kristal yapıdadır. Proteinler genellikle 5×10^3 ve 1×10^6 dalton arasında

değişen molekül ağırlıklarına sahiptirler. Birçok proteinin moleküler ağırlık değerlerinin 35.000 ve 70.000 daltona yakın olduğu bilinmektedir. Büyük boyutlarından dolayı proteinlerin difüzyon hızları son derece yavaştır ve çözelti içinde önemli miktarda bulanıklık oluşturabilirler. Proteinler de amino asitler gibi amfoteriktir, yani çözelti içerisinde hem asit hem de baz gibi davranabilirler. Sahip oldukları net yük, içinde bulundukları çözeltinin pH değerinden etkilenir çünkü proteinleri oluşturan amino asit artıklarının (residue) yan zincirlerinde iyonlaşabilen birçok grup bulunmaktadır. Bu gruplar asidik bölgede H^+ iyonunu bağlayarak genellikle pozitif yüklü, bazik bölgede ise H^+ iyonunu vererek negatif yüklü olurlar. Ancak her bir proteinin toplam yükünün 0 olduğu bir pH değeri bulunmaktadır ve bu noktaya izoelektrik nokta (pI) denir. pI değerinde proteinlerin birbirleri ile etkileşimleri artar ve çözünürlükleri azalır. Ancak asidik ya da bazik bölgelere doğru gidildikçe çözünürlüklerinde artış görülür. Çünkü asidik ve bazik bölgelerde sahip oldukları net pozitif ya da negatif yükler sebebiyle birbirlerini iterler. Ayrıca çevrelerinde bulunan su molekülleri ile de iyonik etkileşimler ya da H-bağları üzerinden bağ kurarlar. Böylece protein-protein etkileşimleri azalarak protein-çözgen (su) etkileşimleri artmış olur. Proteinler genellikle su, gliserol, dietilformamit, dimetilformamit veya formik asit gibi kuvvetli polar çözücülerde çözünmektedir. Protein yapısındaki hidrolik (polar) ve hidrofobik (apolar) gruplara bağlı olarak çözünürlük değişmektedir. Proteinlerin suda çözünürlüğü pH haricinde ortamda bulunan tuzun konsantrasyonuna da bağlı olarak değişmektedir. Amonyum sülfat gibi nötral tuzlar çözünürlük üzerinde iki farklı etki göstermektedir. Bunlardan ilki düşük konsantrasyonlarda elektrostatik protein- protein bağlama gücünü önleyerek çözünürlüğü artırma (salting in) ikincisi ise yüksek nötral tuz konsantrasyonlarında tuzdaki iyonların hidrasyon Emilimi nedeniyle protein çözünürlüğü azalmaktadır (salting out). Proteinlerin çözünürlüğünde çözücünün pH' ısı, iyonik kuvveti, sıcaklığı ve organik çözücünün varlığı gibi faktörler de etkilidir (MEB (2016)).

Proteinlerin primer yapıları korunarak bazı fiziksel veya kimyasal etkilerle sekonder, tersiyer ya da kuaterner yapılarında meydana gelen değişimlere denatürasyon denir ve denatürasyon sonucu proteinlerin çözünürlüklerinde ve aktivitelerinde azalma meydana gelir (Demiralp (2014)). Proteinler genellikle 50-60°C'nin üstündeki sıcaklıklarda, kuvvetli asidik ya da bazik bölgelerde, kuvvetli iyon şiddeti altında, yüksek basınçta veya deterjanların varlığında denatüre olabilmektedir. Aynı zamanda alkol, aseton ve eter gibi organik çözücüler içerisinde

veya üre, β -merkoptoetanol ve guanidin HCl gibi bileşikler varlığında da protein denatürasyonu gerçekleşebilmektedir(Demiralp (2014)).



Şekil 1.2. Denatürasyon

Protein denatürasyonu sonucunda; viskozite artar, çözünürlük ve su bağlama kapasitesi azalır, enzimler ve toksinler aktivitelerini kaybeder, rotasyon ve difüzyon stabilitesi değişir ve protein kristalizasyonu önlenir (MEB (2016)).

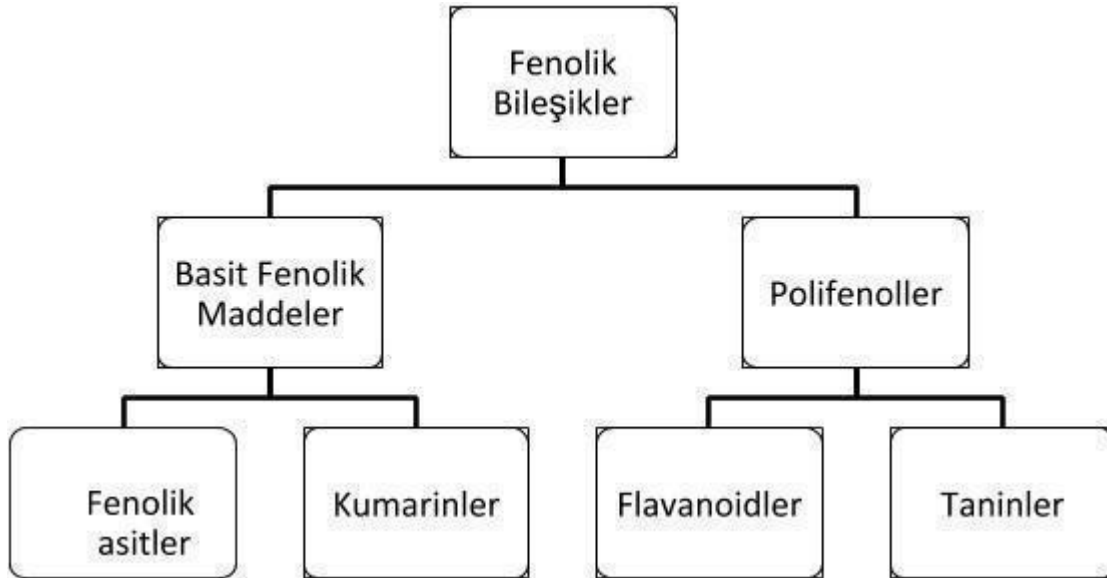
Proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde yapısında bulunan hidrofilik ve hidrofobik bileşenler etkilidir. Fonksiyonel özellikleri arasında su absorpsiyonu ve su tutma, çözünürlük, renk, jelleşme, viskozite ve doku, emülsiyon oluşturma, köpük oluşumu ve lezzet bileşenleri bağlama özellikleri sayılabilir.

Bitkilerin protein içerikleri bitkinin çeşidine ve bulundukları yere göre de değişiklik göstermektedir. Bitkisel kaynaklı proteinleri; tahıllar; arpa, buğday, mısır, yulaf, pirinç ve çavdar, yağlı tohumlar; ayçiçeği ve susam, baklagiller; soya, bezelye, fasulye, nohut ve mercimek, kabuklu yemişler; fındık, fıstık, badem ve ceviz vb. olarak sınıflandırabiliriz. Buğday, çavdar, arpa, fasulye, mercimek, bezelye, nohut, patates, önemli ölçüde protein içermektedir. Protein içeriği baklagillerde %27-41, mercimek %16-31, çavdarda %12, arpada %10, pirinçte %6-9, mısırdaki ise %8-11 oranlarında bulunmaktadır (Saldamlı (2017)). Bitkisel proteinlerin çoğu, esas olarak protein özellikleri emülsiyonlaştırma, yağ ve su emilimi, doku modifikasyonları, renk kontrolü ve çırpma özellikleri gibi kabul edilebilir fonksiyonel özelliklere sahip bir gıda maddesi sağlamak için işlemeyi gerektirir (Ovando ve diğerleri. (2016)).

Proteinlerin çeşitli kaynaklardan izole edilmesine ve bunların gıda bileşenleri olarak kullanılmasına önem verilmektedir. Birçok uygulamada fonksiyonel özellikler büyük önem

taşımaktadır. Fonksiyonel özellikler, işleme, depolama, hazırlama ve tüketim sırasında gıda sistemlerindeki proteinlerin davranışını etkileyen fiziksel ve kimyasal özellikler olarak tanımlanmıştır. Protein bileşenleri gıdaya nispeten küçük miktarlarda eklendiğinde bile, gıdaların bazı fiziksel özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir (deMan (1999)). Bu özelliklerin değişmesinde proteinlerin boyutları, şekilleri, amino asit kompozisyonları ve dizilimleri ile net yük ve elektrik yükü dağılımları etkilidir (Saldamlı (2017)). Proteinlerin viskozite özelliği disper yapıda yer alan molekül ve partiküllerin çapları ile ilişkilidir. Protein solüsyon içerisinde ne kadar fazla hacim kaplıyorsa diğer moleküllerle etkileşimi daha fazla olur ve akmaya karşı direnç gösterir. Viskozite üzerinde pH, sıcaklık ve konsantrasyon önemli faktörlerdir. Denatüre olmuş protein moleküllerinin bir ağ yapı oluşturarak ortamdaki suyu immobilize etmesi olayına ise jelleşme denir. Sıcaklık, protein konsantrasyonu, tuz konsantrasyonu, pH, kalsiyum konsantrasyonu ve serbest sülfidril grupları jel oluşumunu etkileyen önemli faktörlerdir. Proteinler ayrıca amfifilik moleküller olup hava-su veya yağ-su gibi ortamlarda ara yüzeylerde doğal bir şekilde hareket ederler. Proteinler ara yüzeyde yüksek viskoelastik özellik gösteren bir film oluşturabilirler. Bir protein ne kadar hidrofobik ise ara yüzey protein konsantrasyonu o kadar artar ve ara yüzey gerilimi düşerek stabil bir emülsiyon oluşur. pH, iyonik kuvvet, sıcaklık, yağ fazı miktarı ve özellikleri protein tipi emülsiyon stabilitesini etkileyen faktörlerdir. Proteinlerin emülsiyon edici özellikleri çırpılmış krema ve kahve beyazlatıcılarının üretiminde önemlidir (deMan (1999)). Köpük yapı sıvı veya yarı katı sürekli sistemlere gaz kabarcıklarının verilerek stabil bir dispersiyonun sağlanması olarak tanımlanır. Köpük oluşumunu ve stabilitesini etkileyen en önemli faktörler proteinin çözünürlük özelliği ve ortamın pH'ıdır. En yüksek köpürme özelliği gösteren proteinlere yumurta beyazı proteini, soya proteini, peynir altı suyu proteini ve kazein miselleri örnek verilebilir. Köpük yapısı kek, şekerleme, krema ürünleri, dondurma, hazır şantiler ve ekmek gibi ürünlerde istenilen tekstürün oluşumunu sağlar. Hamur, tahıl proteinlerinin yeterli miktarda su ile karıştırıldığında oluşan uzayabilen, viskoelastik protein ağına denir. Hamur oluşumunda gliadin ve gluten proteini görev alır. Hamur oluşturmada sıcaklık ve karıştırma hızı etkili faktörlerdir. Proteinler genellikle kokusuz olmalarına rağmen tat-koku bileşenlerini bağlayarak gıdaların duyuşal özelliklerini etkileyebilirler. Yağlı tohumlar ile peynir altı suyu protein konsantresi hoşla gitmeyen tat-koku içerdikleri için gıda endüstrisinde kullanım alanları kısıtlıdır. Proteinlerin tat-koku maddelerini bağlama prosesi üzerine sıcaklığın, pH'ın, tuz içeriği ve proteolizin etkileri vardır (Saldamlı (2017)).

Fenolik bileşikler, aromatik halkaya bir ya da daha fazla hidroksil grubunun bağlandığı aromatik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler çoğunlukla şikimik asit, pentoz fosfat ve fenilpropanoid tarafından sentezlenen bitkilerde bulunan biyoaktif sekonder metabolitlerdir (Singh ve diğerleri (2017)). Fenolik bileşikler çok sayıda biyoaktif özelliğe sahiptir (Rosa ve diğerleri (2019) ve Singh ve diğerleri (2017)) ve önemli doğal antioksidan kaynaklarıdır. Kronik hastalıklara karşı sadece antioksidan aktiviteleriyle değil aynı zamanda enzim inhibisyonu, gen ekspresyonunun modifikasyonu, protein fosforilasyonu dahil olmak üzere birçok hücresel prosesi düzenleyerek de koruma sağlarlar. Ayrıca genel olarak kabul edilen kalite üzerinde de bir etkiye sahiptirler. Meyve ve sebzelerde, baklagillerde; renk, tat ve lezzet gibi önemli özelliklerini belirlemede önemli rol oynarlar. Bitkilerde 8000'den fazla fenolik bileşiğin izole edildiği ve tanımlandığı tahmin edilmektedir (Singh ve diğerleri (2017)). Fenolik bileşikler iki ana gruba ayrılırlar (Şekil 3.3.). Fenolik bileşikler; basit fenolik maddeler ve polifenoller olarak ikiye ayrılırlar. Basit fenolik maddeler; fenolik asit (hidroksisinamik ve hidroksibenzoik asit) ve kumarinler olarak kendi içlerinde ayrılırlar. Hidroksibenzoik asitler C6-C1 yapıya sahiptir ve gallik, vanilik, protokateşik, p-hidroksibenzoik asitleri içerir. Hidroksisinamik asitler C6-C3 yapıya sahip aromatik bileşiklerdir. Kafeik, s-kumarik, trans-ferulic, sinapik ve klorojenik asit içerir (Singh ve diğerleri (2017)).



Şekil 1.3. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

Polifenoller ise flavanoidler ve taninler olarak ikiye ayrılırlar (Ruxton (2008)). Flavonoidler en büyük fenolik grubudur. C₆-C₃-C₆ yapısı ile birleştirilen iki aromatik halkadan (A ve B) oluşan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. A halkası asetat yolundan türetilir ve B halkası shikimic asit yolundan türetilir. Antosiyanin (renkli) ve antoksanin (renksiz) bileşiklere ayrılır. Antoksaninler ayrıca flavonlara, flavanlara, flavonollere, izoflavonlara, ve bunların glikozitlerine ayrılırlar (Singh ve diğerleri (2017)). Flavanoller, flavan-3-ols, flavonlar ve antosiyanidinler, baklagil tohumlarında bulunan başlıca flavonoidlerdir (Singh ve diğerleri (2017)). Tanenler, polisakkaritler, alkaloidler ve proteinler içeren komplekslerde bulunan 500 ila 3000 dalton arasında değişen molekül ağırlığına sahip polifenollerdir. Bu bileşikler hidroliz edilebilir ve hidrolizleştirilemeyen tanenler (yoğunlaştırılmış tanenler) olarak sınıflandırılabilir. Fenolik asitler ve flavanoidler suda çözünür, yoğunlaşmış taninler ise suda çözünmezler (Singh ve diğerleri (2017)).

Gıda bileşeni olarak fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki işlevleri, tat ve koku oluşumundaki etkileri, renk oluşumuna etkileri, antimikrobiyal ve antioksidatif etkileri, enzim inhibisyonuna sebep olmaları, farklı gıdalarda saflık ve kontrol kriteri olmaları gibi birçok açıdan önemli etkileri vardır. Fenolik bileşikler proteinlerle kompleks oluşturarak tortu yapar ve bu özelliği meyve suyu endüstrisinde meyve suyunun durultulması sırasında kullanılmaktadır.

Gıdalardaki istenmeyen enzimatik esmerleşme, meyve ve sebzelerin işlenmesi sırasında fenolik maddelerin oksidasyonları çeşitli yöntemlerle önlenmeye çalışılmaktadır. Fenolik bileşikler endüstride patlayıcı madde, farmasötik, plastik, kâğıt, boya, ilaç, pestisit ve antioksidanların üretimi gibi birçok alanda kullanılmaktadır (MEB (2013)).

Proteinlerin antioksidan aktivitesi daha çok yapılarındaki amino asitlerin yan zincirlerinde bulunan grupların proton/elektron verebilme veya metal iyonlarını bağlayabilme yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Proteaz kullanılarak hidroliz ile elde edilen biyoaktif peptitler (2-100 aminoasit grubu) hidrolize edilmemiş proteine kıyasla daha yüksek antioksidan aktivite göstermektedir (Singh ve diğerleri (2017)). Örneğin; sistein, histidin, triptofan, lizin, arjinin, lösin, valin ve β -hidroksi triptofan gibi bazı aminoasitler ve bunların türevlerinin antioksidan özellikleri olduğu bildirilmektedir (Singh ve diğerleri (2017), Maestri ve diğerleri (2016)). Tirozin, fenilalanin, triptofan gibi aromatik amino asitlerin ve sistein gibi kükürt içeren amino asitlerin antioksidan aktivitelerinin serbest radikallere proton verme

özellikleri ile ilgili olduğu, aspartat ve glutamat gibi temel amino asitler ve lizin ve arjinin gibi asidik amino asitlerin antioksidan aktivitelerinin ise metal iyonları ile şelat oluşturmalarından kaynaklandığı aktarılmaktadır (Maestri ve diğerleri (2016)). Metaller, donör atoma sahip ligandlar ile tepkimesi sonucunda bir veya birden çok halkalı bileşikler meydana getirirler. Bu tepkimeler sonucunda oluşan koordinasyon bileşiğine “metal şelatlar” denir. Ortamda bulunan Fe^{3+} iyonu Fe^{2+} iyonuna indirgenirken H_2O_2 nin parçalanması sonucu OH radikali oluşur ve oluşan bu radikal diğer yapılara (protein, lipid, DNA, vb) zarar verebilir. Bu tip maddelere pro-oksidan denir. Pro-oksidanlar, reaktif oksijen türleri üreterek veya antioksidan sistemleri inhibe ederek oksidatif stresi indükleyen kimyasallardır. Proteinler veya biyoaktif peptitlerde bulunan bazı gruplar Fe iyonları ile şelatlar oluşturarak redoks tepkimeleri sonucu ortamda serbest radikal oluşumunu engellemiş olurlar (Torres-Fuentes ve diğerleri (2015), Piovesena ve diğerleri (2018)). Antioksidanlar, gıda sanayisinde; bitkisel ve hayvansal yağlar ve yağ içeren gıda maddelerinin üretimi, depolanması, taşınması ve pazarlanması sırasında, normal sıcaklıklarda atmosfer oksijeninin etkisini geciktirerek, gıdanın bozulması ve acılaşmasını belli bir süre engelleyen en etkili maddelerdir. Antioksidan özellikli peptitler, oksidatif stresle mücadeleye yardımcı oldukları için sağlık açısından yararlıdır. Bitkisel kaynaklı biyoaktif peptitler alanında, soya, mısır, patates, nohut, susam ve buğday tohumu proteinlerinin enzimatik hidrolizatlarının potansiyel antioksidan aktiviteleri olduğu gösterilmiştir (Torres-Fuentes ve diğerleri (2015), Piovesena ve diğerleri (2018)). Bitkisel proteinlerin antioksidan aktivitesini; hidrolizatlarının moleküler ağırlığı, konsantrasyonu, hidroliz derecesi ve amino asit bileşiminin etkilediği görülmüştür.

Diyabet bir metabolizma hastalığıdır. Kan şekerinin yükselmesine (kandaki glukoz seviyesi) diyabet adı verilir. Obezite insan ömrünü kısaltması ve ortaya çıkardığı yan etkilerle de yaşam kalitesini bozması nedeniyle bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Obezite metabolik sendroma yol açabilir. Bu sendrom da kardiyovasküler ve Tip II diyabet hastalık riskini artırır. Antidiyabetik aktivite karbonhidrat sindiriminde görev alan enzimleri inhibe ederek karbohidratların sindirilmesini olumsuz yönde etkilerler. Böylece yüksek yapılı karbonhidratlardan glikoz oluşumu engellenerek kan şekerinin yükselmesi kontrol altına alınabilir. Diyabeti tedavi etmek için α -Amilaz ve α -Glukosidaz gibi karbonhidratları hidrolize edici enzimlerin inhibisyonu yoluyla glikoz emilimini geciktirmektedir (Kumar ve diğerleri (2011)). İnsanda yaygın olarak α -Amilaz ve α -Glukosidaz karbonhidrat sindirim enzimi kullanılmaktadır(Kam ve diğerleri (2013)).

Tohumdaki embriyonun metabolik mekanizması aktif hale gelerek yeni bir bitki elde edilmesine çimlenme denir. Çimlenme 3 aşamada gerçekleşir. Birinci aşama; su alımı tohum kabuğundan suyun emilmesiyle olur. İkinci aşama lag fazı (gecikme fazı); Bu fazda su alımı durmakta veya yavaşlamaktadır. Fizyolojik olayların en aktif olduğu aşamadır ve bu aşamada çimlenme için gerekli olan yeni proteinler sentezlenmektedir. Depo maddelerinin çimlenme için dönüşümleri başlamıştır. Üçüncü aşama kökçüğün ortaya çıkması; Çimlenmenin gözle görülebilen ilk belirtisi olan embriyonik kökten gelişen ilk kök çıkar (Yıldız ve diğerleri). Bu durum hücrenin bölünmesinden sonra hücrenin büyümesi sonucudur. Daha sonra kökçüğün ucunda hücre bölünmesi gerçekleşir ve kökçük uzamaya başlar. Bu kısımda gerçek kök ve gövdenin alt kısmı oluşurken, embriyonik gövdeden gövdenin üst kısmı ile yaprak, çiçek ve meyve oluşur. İlk yapraklarının oluşmasıyla fotosenteze başlayan fide çok hızlı bir şekilde büyümeye başlar. Çimlenmeyi etkileyen çevresel faktörler; su, sıcaklık, oksijen ve ışık olarak sıralanmaktadır (Karakurt ve diğerleri (2009)).

Baklagiller, Leguminosae veya Fabaceae familyasına ait bitkilerinin tohumları ya da meyveleridir (Sarioğlu ve Velioğlu (2018)). Fasulye, bakla, nohut, mercimek, bezelye, börülce baklagiller grubundadır. Baklagiller dünyadaki 2 milyardan fazla insan için protein kaynağıdır. Besleyici değeri ve karbonhidrat oranı yüksek, yağ oranı ise düşüktür. Dünyada insan beslenmesindeki bitkisel proteinlerin %22'si, karbonhidratların %7'si; hayvan beslenmesinde ise proteinlerin %38'i karbonhidratların %5'i baklagillerden temin edilmektedir. Kuru fasulye Asya ve Amerika, nohut Asya, Afrika ve Amerika, mercimek; Amerika ve Asya, bakla Asya, Afrika ve Avrupa ülkelerinde, börülce Afrika ülkelerinde, bezelye ise Avrupa ve Amerika ülkelerinde üretimi yoğunluk göstermiştir. Dünyada en çok üretilen baklagil kuru fasulye olup ardından nohut, bezelye, börülce, mercimek ve bakla olarak devam etmektedir. Dünyada yaklaşık, 1,5 milyar hektar tarım alanlarının 78 milyon hektar alanında baklagil üretimi gerçekleştirilmektedir. Türkiye'de en çok yetiştirilen baklagiller nohut, kuru fasulye ve mercimektir. Baklagil üretimi Türkiye geneline yayılmasının yanı sıra Güneydoğu Anadolu, Orta Anadolu ve Marmara bölgesinin güneyinde yoğun olarak yapılmaktadır. Dünya mercimek ve nohut üretiminde Türkiye büyük üretici ülkelerindendir. Ülkemizde toplam 24,3 milyon hektar olan tarım alanının 882 bin hektar alanına baklagil yetiştirilmektedir(TMO (2019)).

Mercimek (Lens), baklagiller (Leguminosae) takımının kelebek çiçekliler (Papilionatae) familyasına bağlı beş önemli cinsten (Vicia L., Lathyrus L., Pisum L., Cicer L. ve Lens

Miller) birisidir. Mercimek; tek yıllık, çok dallı ve çalı formunda bir uzun gün bitkisidir. Gelişmiş yan kökleri ile birlikte kazık köklü bir bitkidir. Mercimekler büyüklüğüne, şekline ve rengine göre isimlendirilir. Bunlar kırmızı, yeşil, sarı ve kahverengi mercimeklerdir. Mercimek yaygın olarak yetiştirilen tüm baklagil bitkileri içerisinde ekstrem hava şartları en dayanıklı olan, protein içeriği ve özelliği sayesinde hem insan hemde hayvan diyetlerinde önemli bir yere sahiptir. Besin özellikleri açısından bakıldığında 100 g kuru mercimeğin çeşide bağlı olarak değişmekle beraber; 55-65 g' ı karbonhidrat, 15,9-31,4 g' ı protein, 1,5-4 g' ı lif, 42-165 mg' ı kalsiyum, 38-1360 mg arasında değişen potasyum içeriği yanında, demir açısından zengin, yüksek oranda folik asit ve 340 kilokalori enerji değerine sahip olduğu saptanmıştır (Şahin (2016)). Mercimek proteinleri esas olarak globulinler (~%49) ve albüminlerden (~%16,8) oluşur. Daha küçük proteinler olarak prolaminler ve glutelinler de mevcuttur (Avramenko ve diğerleri (2013)). Mercimek proteinleri; bitki türlerine, çeşitliliğe, olgunluğuna ve yetiştirilme koşullarına bağlı olarak değişmektedir. Mercimek tohumlarında bulunan proteinlerin çözünürlük özelliklerine göre; tuzlu su çözeltilerde çözünebilirler globülinler %70'ını, sulu çözeltilerde çözünebilirler albüminler %10- %20'sini ve seyreltik asit ve bazlar da çözünebilir proteinler ise glutelinler %10-20'sini oluşturur (Avramenko ve diğerleri (2013)). Mercimek dünyada en çok Hindistan ve Pakistan ile Batı Asya, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa ülkelerinde yetiştirilmektedir. Türkiye dünya mercimek üretiminde önemli payı vardır. Türkiye'deki üretimin ortalama yarısı Güneydoğu Anadolu bölgesinden sağlanır ve Ege bölgesi ile Marmara bölgesinde de üretim yapılır. Ülkemizde yaklaşık 400 bin ton yıllık üretim yapılmaktadır(Gülaç (2018)). Dünya çapında üretilen mercimek proteinlerin %70 'sını kırmızı mercimek, %25'ini yeşil ve %5'ini kahverengi ve diğer tiplerdeki mercimekler olduğunu bilinmektedir. Mercimek tohumları iyi bir protein, lif ve karbonhidrat kaynağıdır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Doğal olarak oluşan biyoaktif peptitler özellikle fonksiyonel gıdaların önemli bir bileşenidir. Peptitlerin fizyolojik ve sağlığı teşvik edici özellikleri, özellikle kardiyovasküler hastalıkların ve iltihaplanmanın önlenmesinde, kanser riskini azaltma ve kilo kontrolü gibi çeşitli etkiler gösterdiği gösterilmiştir (Rudolph ve diğerleri (2017), Carbonaro ve diğerleri (2015), Maestri ve diğerleri (2016)).

Serbest radikaller ve peroksitler gibi reaktif oksijen türleri (ROS) doğal olarak farklı metabolik işlemlerin bir yan ürünü olarak veya tütün dumanı, radyasyon gibi çevresel etkilere maruz kalmaların bir sonucu olarak üretilir. ROS üretimi ve detoksifikasyon fizyolojik sistemi arasındaki dengesizlik nedeniyle toksisite seviyelerine ulaşabilir ve yaşlanmaya katkıda bulunan hücre hasara yol açarlar. Bu nedenle organizmadaki oksidatif stresi önlemek için antioksidanların tanımlanması, karakterizasyonu ve uygulamasına ilgi artmaktadır. Bitkisel kaynaklı proteinler ROS detoksifikasyon sistemleri bakımından zengin oldukları için antioksidanların doğal kaynaklarıdır (Torres-Fuentes ve diğerleri (2015)).

Rudolph ve diğerleri (2017) yaptığı çalışmada, bitki proteinlerin enzimatik hidrolizatları, iyi bir ACE inhibe edici aktive gösterdiğini bildirmiştir. Bakır afinitesi ile saflaştırılmış nohuttan elde edilen peptit fraksiyonlarının ise antioksidan özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Torres-Fuentes ve diğerleri (2015)). Akillioğlu ve Karakaya (2009) enzimatik hidrolizden önce uygulanan ısı işlemlere bağlı olarak ACE inhibitör aktivitesinin değiştiğini bildirmiştir. Yüksek basınç, enzimatik proteolizi ve mercimek proteinlerinden anjiyotensin I dönüştürücü enzim inhine edici ve antioksidan aktivitelerin arttığını bildirmiştir. in vitro sindirim ile sindirilmemiş kontrol ile karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivite değerine ulaşılmıştır (Carcia-Mora ve diğerleri (2015)).

Kanada da yetiştirilen 20 mercimek çeşidinden elde edilen ekstraktların, fenolik profilleri, antioksidan ve α -glukozidaz aktivitesine bakmıştır. Mevcut çalışmada, kaempferol glikozitler, kateşin / epikateşin glikozitler ve prosiyanidinler dahil olmak üzere çoğunluğu flavonoidler olarak yirmi bir fenolik bileşik tanımlanmıştır. Tanımlanan fenolik bileşikler antioksidan aktivitelere önemli ölçüde katkıda bulunmuş, α -glukozidaz ve lipazın iyi inhibitörleri olduğu ve böylece kandaki glikoz seviyelerinin ve obezitenin kontrolüne önemli ölçüde katkısı

olduğu bildirilmiştir. A-glukozidaz ve lipaza karşı flavonoller inhibe edici aktivite gösterdiği flavonollerin olduğu belirlenmiştir (Zhang ve diğerleri (2015)).

Zhang ve diğerleri (2017)' de yaptığı çalışmada pişmiş yeşil mercimekteki toplam fenolik ve antioksidan aktivitesinin sindirim öncesi ve sindirim sonrası değişimlerini incelemiştir. Toplam fenolik ve antioksidan değerleri sırasıyla 6180µg Gallik Asit/g, 1530µg Kateşin/g ölçülmüştür. Antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP ve ORAC yöntemleri ile sırasıyla 9240 µmol troluks/g, 7190 µmol askorbik asit/g ve 3911 µmol troluks/g olarak bulunmuştur. Serbest bırakılan çözünür fenolik miktarı ve antioksidan aktivite mideden bağırsak sindirim aşamasına kadar kademeli olarak artmıştır. Antioksidan ve anti inflamatuvar aktiviteler, toplam ve bireysel fenolik içeriklerle pozitif korelasyon göstermiştir.

Alvesmagro ve Castro (2020)' de yaptığı çalışmada *Aspergillus oryzae* ile fermente edilmiş mercimekten elde edilen özütlerin antioksidan potansiyelini (ABTS, DPPH ve FRAP yöntemleri) ve toplam fenolik bileşik içeriğini (TPC) araştırmıştır; çözücü olarak su, metanol ve iyonik sıvılar (kolin asetat, kolin hidroksit ve kolin laktat) kullanılmıştır. Sonuçlar, fermentasyon sonrası elde edilen ekstraktların antioksidan özelliklerinin ve toplam fenolik madde içeriğinin fermente edilmemiş numunelere göre önemli ölçüde ($p \leq 0.05$) daha yüksek olduğunu göstermiştir.

Polat ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmada çimlendirilmiş mercimek özü ile zenginleştirilmiş krakerin besleyici, duysal ve dokusal özelliklerini incelemişlerdir. Çimlendirilen mercimek özü ilavesi toplam protein içeriğini arttırmıştır (%1,68 ila 2,43), krakerlerin toplam fenolik içeriği 0,78 ila 3,33 mg gallik asit / g ve antioksidan aktivite 0,34 ila 0,84 µmol troluks / mg olarak bildirilmiştir. Sonuçlar, çimlendirilmiş mercimek özü ile zenginleştirilmiş krakerlerin duysal özellikleri değiştirmeden fonksiyonel gıda olarak tüketilebileceğini göstermektedir.

Du ve diğerleri. (2013)' de yaptıkları çalışmada barbunya, lima fasulyesi, kırmızı barbunya, siyah fasulye, lacivert fasulye, küçük kırmızı fasulye, börülce, maş fasulyesi, mercimek ve nohuttan elde edilen bütün unların fizikokimyasal, fonksiyonel ve hamurlama özellikleri araştırılmıştır. Fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerde önemli farklılıklar olduğu bildirilmiştir ($P < 0.05$). Büyük çoğunlukla su absorblama endeksleri, suda çözünürlük endeksleri, yağ absorblama kapasiteleri, emülsiyon aktiviteleri ve emülsiyon stabiliteleri

sırasıyla 0,543 g/mL ile 0,816 g/mL, 4,09 g/g ile 6,13 g/g, 19,44 g/100 g ile 29,14,g/100g, 0,93g/g ile 1,38 g/g, %61,14-%92,20 ile %84,15-%96,90 arasında değişmektedir.

Oomah ve diğerleri (2011)' de yaptıkları çalışmada sarı bezelye, yeşil ve kırmızı mercimek örneklerini kabuk çıkarma işlemi ile gövdelere, kabuklara ve kalıntılara ayrılarak %70' lik aseton, %80' lik etanol, sıcak su (70-80 ° C) ve su ile ekstrakteler elde edilmiştir. Ekstraktelerde fenolik bileşikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek kırmızı mercimek kabuğunda (%70' lik aseton) elde edilmiştir. Maksimum fenolik bileşik konsantrasyonuna sahip kırmızı mercimek kabuğu, 260 mg (1040 µM) trolox eşdeğeri / g ile en güçlü antioksidan aktiviteyi sergilemiştir.

Chang ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmada mercimek protein izolatlarındaki çözücü konsantrasyondaki farklılıkların fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerindeki değişimleri bildirilmiştir. Çözücü konsantrasyonları artarken nem ve protein miktarlarında azalma görülmüş ancak kül oranının artış olduğu bildirilmiştir. Aseton ekstraktının ketonları %79,59 oranında arttırdığı belirlenmiş, etanol ve izopropanolün isetoplama uçucu bileşenlerini önemli ölçüde düşürdüğü belirtilmiştir.

Zhao ve diğerleri (2014)' de yaptığı çalışmada barbunya, börülce, mercimek, nohut, küçük kırmızı fasulye, kırmızı barbunya, siyah barbunya, lacivert fasulye ve maş fasulyesi ekstraktlarının antioksidan aktivitesini incelemiştir. Baklagil özütleri arasında fenolik içerik ve antioksidan aktivitede önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Mercimek özlerinin en yüksek toplam antioksidan aktiviteye ve DPPH süpürücü aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Mercimek, en yüksek fenolik içerik (47,6 mg / g), toplam antioksidan aktivite (720,68 U / g), DPPH süpürme aktivitesi (%38,5) ve toplam indirgeme gücü gösterirken, küçük kırmızı ve lacivert fasulyelerin en düşük aktiviteye sahip olduğunu belirlenmiştir. Ekstrakteler arasında, hidroksil radikalleri (OH) süpürme aktivitesi, siyah barbunya fasulyesi (%85,68) ve barbunya fasulyesi (%74,97) ekstraktlerinde daha yüksekti.

Amerika Birleşik Devletleri'nin serin kuzey bölgelerinde yetiştirilen 11 mercimek çeşidinin antioksidan aktiviteleri ve fenolik profillerini araştırmıştır (Xu ve Chang (2010)). Hücresel antioksidan aktiviteler (CAA) ve peroksil radikal temizleme kapasitesi (PRSC) floresans mikropilaka okuyucu ile değerlendirilmiştir. Morton mercimek çeşidi diğer mercimek örnekleri arasında en yüksek bireysel flavan-3-ols (kateşin ve epikateşin) ve toplam flavonoidler ve antioksidan aktivite (PRSC ve CAA) göstermiştir. Benzoik türlerden beş fenolik asit ve

bunların türevleri (gallik, protokatekuik, 2,3,4-trihidroksibenzoik, p-hidroksibenzoik asit ve protokatekualdehit) ve sinamik tipte dört fenolik asit (klorojenik, p-kumarik, m-kumarik, ve sinapik asit) tüm mercimek çeşitlerinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, farklı fenotip mercimeklerin, kimyasal ve hücrel antioksidan aktivitelerinin yanı sıra bireysel fenolik bileşiklerinde de önemli değişimlere sahip olduğunu belirlenmiştir. Kafeik asit, kateşin, epikateşin ve toplam flavonoidler önemli ölçüde ($p < 0.05$) peroksil radikal süpürme aktivitesi ile bağlantılı olduğunu göstermiştir (Xu ve Chang (2010)).

Fратиanni ve diğerleri (2014)'de yaptıkları çalışmada bezelye, mercimek ve nohut çeşitlerinin fenolik içerikleri ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışılan baklagiller arasında mercimek en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir. Nohut (Castelcivita ve Sassano) en düşük toplam polifenol içeriğine (sırasıyla 147,13 ve 183,78 g / g ham ürün) sahip olduğu saptanmıştır.

Han ve Baik (2008)' de yaptıkları çalışmada soya fasulyesi, nohut, mercimek, sarı ve yeşil bezelye örneklerinde toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Toplam fenolik madde miktarı en yüksek mercimekte elde edilmiş daha sonra sırasıyla sarı bezelye, soya fasulyesi, nohut ve yeşil bezelyede elde edilmiştir. Toplam antioksidan aktivite ABTS yöntemiyle edilen sonuçlarda en yüksek mercimekte ve en düşük yeşil bezelyede belirlenmiştir.

Angelis ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmada 41 bakla fasulyesi ve 15 çeşit mercimek örneklerin fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikler üzerine yapmıştır.

Ghumman ve diğerleri (2016)'da yaptıkları çalışmada çimlendirilmiş mercimeğin protein profili, fizikokimyasal, fonksiyonel özelliklerini incelemişlerdir. Çimlenme, protein içeriğini, köpük oluşturma kapasitesini, su absorpsiyon kapasitesini artırırken, köpük stabilitesini ve emülsifiye edici aktivite indeksini azaltmıştır.

Pathiratne ve diğerleri (2015)'te yaptıkları çalışmada mercimek unu örneklerinin fizikokimyasal özellikleri, mercimek tohumunun nemine ve yüzey sıcaklığına göre değiştiği belirlenmiştir. Protein denatürasyonu ve nişasta jelatinleşmesi, artan tohum nem seviyesi ve sıcaklığına bağlı olarak değiştiği bildirilmiştir.

Boye ve diğerleri (2010)'da yaptıkları çalışmada, sarı bezelye, nohut, kırmızı ve yeşil mercimekten proteinlerin ekstraksiyonu için izoelektrik noktada çöktürme (IEP) ve

ultrafiltrasyon (UF) olmak üzere iki yöntem kullanılmıştır. UF işlemi, IEP sürecine (%63,9-81,7, w / w) kıyasla biraz daha yüksek protein içerikli (%69,1-88,6, w / w) konsantreler üretilmiştir. Her iki işlem için protein bazında verimler %50,3 ile %69,1 (w / w) arasında değişmiştir. Su tutma kapasitesi IEP ile işlenmiş sarı bezelye için en yüksek değere sahip olduğu ve UF ile işlenmiş nohutta en düşük değer elde edilmiştir. Nohut protein ekstraktelerinde emülsiyon ve köpük oluşturma kapasitesi daha yüksek, ancak daha az köpük stabilitesine sahip olduğu saptanmıştır. Yeşil mercimekten elde edilen protein özlerinin en iyi jelleşme özelliklerine sahip olduğu görülmüştür. Sonuçlar, gıda uygulamaları için bakliyat protein özütlerinin teknolojik potansiyelini vurgulamıştır.



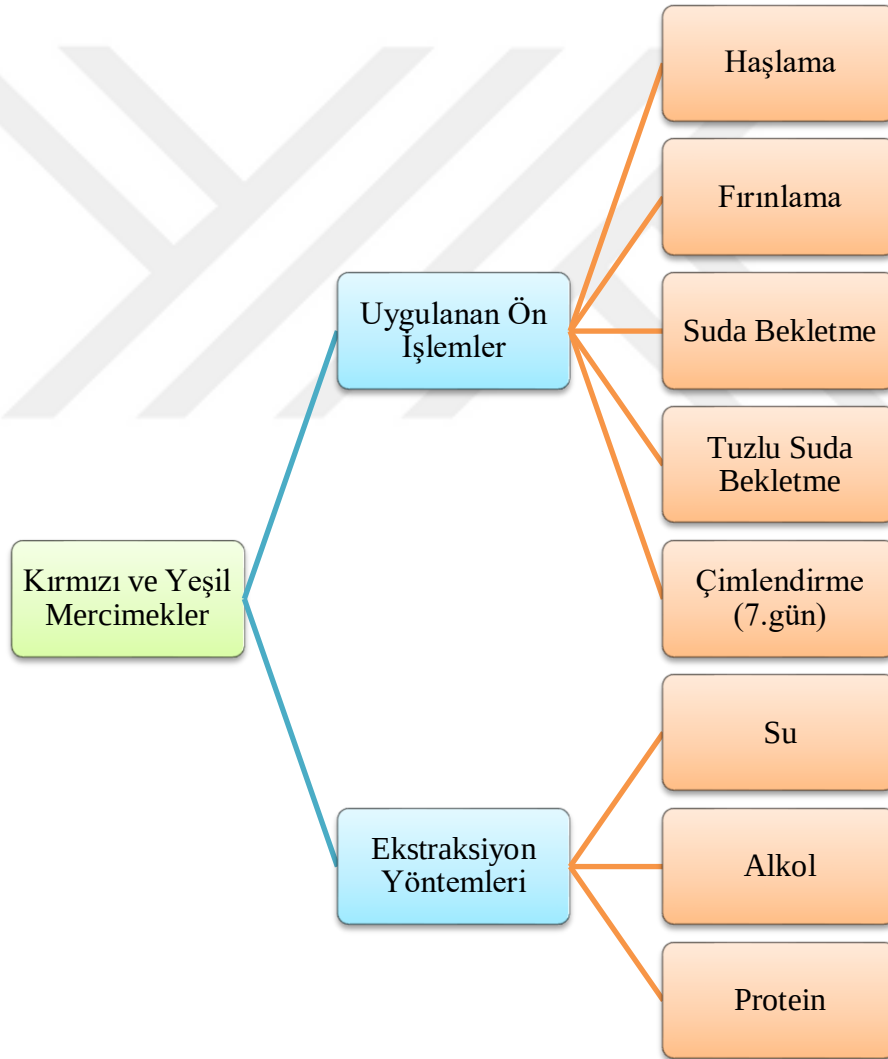
3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

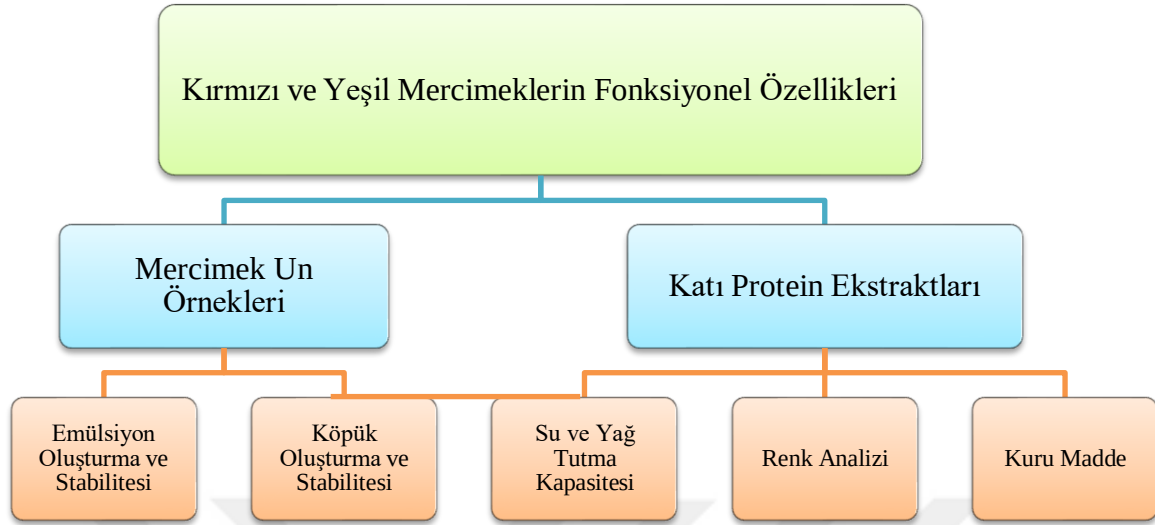
Çalışmada kullanılan kırmızı ve yeşil mercimekler yerel marketten temin edilmiştir (Aydınbey Bakliyat).

3.2. Yöntem

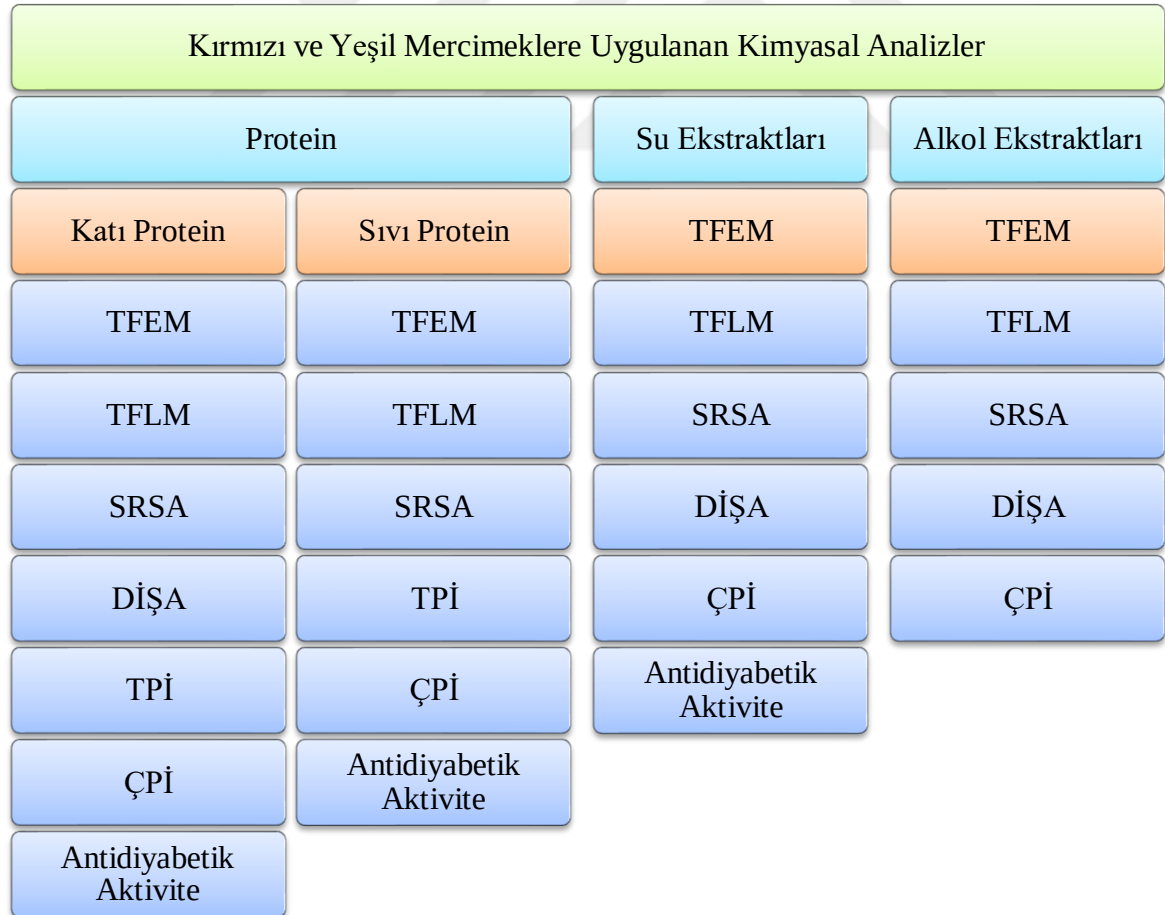
Uygulanan yöntemler Şekil 3.1., 3.2., ve 3.3'te şematize edilmiştir.



Şekil 3.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklere uygulanan ön işlemler ve ekstraksiyon yöntemleri



Şekil 3.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin Fonksiyonel Özellikleri



Şekil 3.3. Kırmızı ve yeşil mercimeklere uygulanan kimyasal analizler

3.3. Mercimek Örneklerine Uygulanan İşlemler

3.3.1. Mercimek Örneklerine Uygulanan Ön İşlemler

Temin edilen yeşil ve kırmızı mercimek örneklerine çimlendirme, suda bekletme, tuzlu suda bekletme, fırınlama ve haşlama işlemleri uygulanmıştır (Şekil 3.1.).

3.3.1.1. Çimlendirme İşlemi

Alüminyum folyo ile kaplanmış bir saklama kabı içerisine nemlendirilmiş filtre kağıdı yerleştirip üzerine saf su ile yıkanan 10 gram mercimek tohumları konulmuştur. Ardından üzerine nemlendirilmiş filtre kağıdı örtülüp saklama kabının kapağı kapatılmıştır. Çimlendirme +4°C ve ışıksız ortamda her iki günde bir sulanarak 7 gün boyunca gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Çimlendirilen kırmızı ve yeşil mercimek



Şekil 3.5. Çimlendirilen (7.gün) yeşil mercimek

3.3.1.2. Suda ve Tuzlu Suda Bekletme Yöntemi

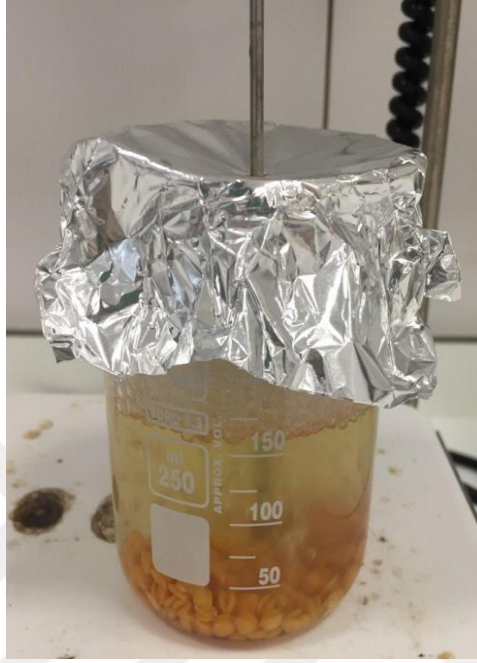
Örnekler 1 gece boyunca oda sıcaklığında saf su içerisinde bekletilmiştir (10g mercimek / 50 ml su, %5 NaCl),) (Şekil 3.6.).



Şekil 3.6.Suda bekletilen kırmızı ve yeşil mercimek

3.3.1.3. Haşlama İşlemi

Kaynamakta olan su içerisine mercimek örneği ilave edilerek 30 dakika haşlanmıştır (10g mercimek/150 ml su), (Şekil 3.7.).



Şekil 3.7. Haşlanan kırmızı mercimek örneği

3.3.1.4. Fırınlama İşlemi

İlk olarak 10 gram mercimek 2 dakika boyunca öğütücüde öğütülüp un haline getirilmiştir. Ardından mercimek unları 117°C’ de 30 dakika boyunca fırınlanmıştır (Şekil 3.8.).



Şekil 3.8. Fırınlanan kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri

3.3.2. Mercimek Örneklerine Uygulanan Ekstraksiyon Yöntemleri

3.3.2.1. Su ile Ekstraksiyon Yöntemi

Kontrol ve ön işlem uygulanmış mercimekler öncelikle 2 dakika blenderda (Waring Commercial Blender) (orta hız) homojenize edilmiş ve tülbentten (2 katlı) süzölmüştür. Süzölen kısmı +4°C 30 dakika 9000 rpm de santrifüjlenmiş (Hettich, Almanya) ve süpernatantı ayrılmıştır. Elde edilen supernatantlar analizlerde kullanılmıştır.

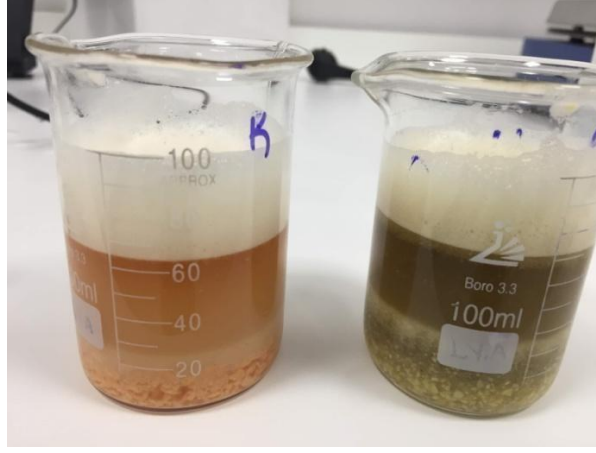
3.3.2.2. Alkol ile Ekstraksiyon Yöntemi

Su ekstraktelerinden elde edilen suda çözünmeyen kısımları (santrifüj sonrası elde edilen tortu) 30 ml alkol (etanol %99) içerisinde yarım saat oda sıcaklığında karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve tülbentten süzölmüştür. Süzölen kısım +4°C 30 dakika 9000 rpm de santrifüjlenmiş ve süpernatantı ayrılmıştır. Elde edilen supernatantlar analizlerde kullanılmıştır.

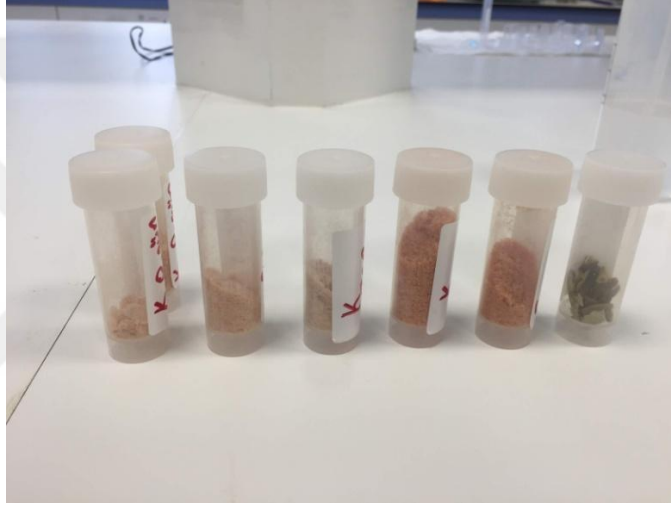
3.3.2.3. Mercimek Örneklerinden Protein Ekstraksiyonu Yöntemi

İzoelektrik noktada çöktürme işlemi uygulanarak protein ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Öncelikle kontrol ve ön işlemler sonrası su içerisinde homojenize edilen mercimek örneklerinin (2 dakika boyunca blenderda homojenize edilmiştir) pH'sı 9.5'e ayarlanmış (0.1 N NaOH ile) ve 30 dakika boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Ardından santrifüjlenerek (+4°C 30 dakika 9000 rpm) süpernatantı ayrılmış ve 0,1 N asetik asit ile pH' s 4.5' e ayarlanmıştır. pH' s 4.5' e ayarlanmasıyla çöken proteinler santrifüjlenerek (+4°C 30 dakika 9000 rpm) süpernatantlarından ayrılmıştır. Çöken proteinler 30 ml deiyonize su ile homojen hale getirilmiş ve pH' s 7' ye ayarlanmıştır (0.1 N NaOH ile).

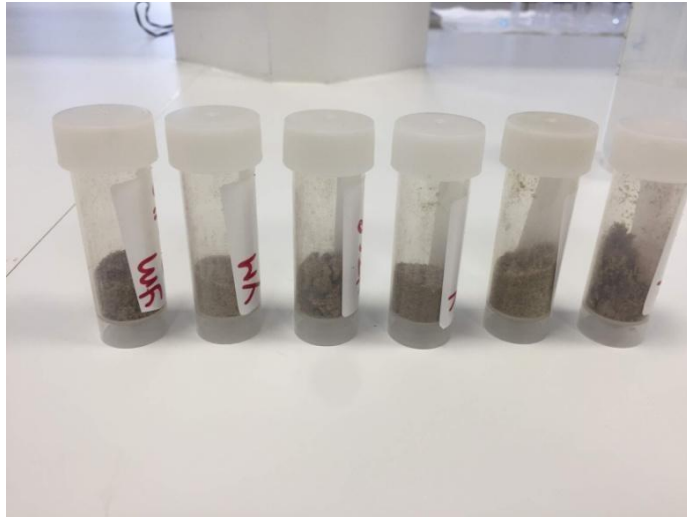
İzoelektrik noktada çöktürme işlemi ile iki protein ekstraktı hazırlanmıştır. Birincisi süspanse halde kullanılmış ikincisi ise liyofilize edilmiştir.



Şekil 3.9. Kırmızı ve yeşil mercimek



Şekil 3.10. Liyofilize kırmızı mercimek örnekleri



Şekil 3.11. Liyofilize yeşil mercimek örnekleri

3.4. Analiz Yöntemleri

3.4.1. Örneklerde Toplam Fenolik Madde Tayini

Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Singleton & Rossi, (1965)). 100 µl uygun oranda seyreltilmiş örnek 1000 µl Folin Ciocalteu reaktifi ile (1/10 oranında deiyonize su ile seyreltilmiş) karıştırılarak 3 dakika inkübe edilmiştir. Ardından 800 µl Na₂CO₃ (%7,5'luk (g/ml)) ilave edilip karıştırılmış ve 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Oluşan renk 765 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuçlar gallik asit eşleniği cinsinden ifade edilmiştir (Agilet Carry 60, ABD). Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.2. Örneklerde Toplam Flavonoid Madde Tayini

Örneklerin toplam flavonoid madde tayinleri spektrofotometrik olarak gerçekleştirilmiştir. 0.6 ml uygun oranda seyreltilmiş örnek üzerine 0.6 ml AlCl₃ (%2'lik (mg/ml)) eklenerek karıştırılmış ve 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Oluşan renk 420 nm de ölçülüp sonuçlar kuersetin eşleniği cinsinden ifade edilmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.3. Örneklerde Serbest Radikal Süpürme Aktivitesi Tayini

Örneklerin antioksidan aktivite ölçümleri troloks eşleniği antioksidan kapasite yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu yöntemde örneklerin ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sulfonik asit)) radikallerini nötralize etme aktiviteleri ölçülmüştür. Re ve diğerleri (1999) tarafından tanımlanan ABTS serbest radikallerini süpürme aktivitelerinin ölçülmesi 0.1 ml örnek çözeltisi ile 1.9 ml 7 mmol/L ABTS radikal çözeltisinin (2,5 mmol/L potasyum persülfat içerisinde hazırlanmış) verdiği reaksiyonun 6 dakika boyunca kinetik olarak 734 nm' deki absorbans değerinde meydana gelen değişimin ölçülmesi ile belirlenmiştir. ABTS radikal çözeltisinin başlangıç absorbans değeri 0.700 ± 0.020 olacak şekilde pH 7.4 75 mmol/L tuzlu fosfat tamponu (150 mmol/L NaCl içeren) kullanılarak ayarlanmıştır. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.4. Örneklerde Demir İyonlarını Şelatlama Kapasitesi Tayini

Örneklerin demir iyonlarını şelatlama kapasiteleri spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Arcan & Yemenicioglu, (2007)). 2 ml uygun oranda seyreltilmiş örnek çözeltisi 0.1 ml 1 mmol/L (FeCl₂)₄H₂O çözeltisi ile karıştırılarak 30 dakika inkübe edilmiştir. Ardından 0.1 ml 5

mmol/L ferrozin ilave edilerek karıştırılmış ve 10 dakika daha inkübasyona bırakılmıştır. Oluşan renk spektrofotometrik olarak 562 nm’ de ölçülmüş ve sonuçlar EDTA eşleniği cinsinden ifade edilmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.5. Örneklerde Çözünür Protein Miktarı Tayini

Örneklerin çözünür protein miktarı Lowry, Rosebrough, Farr, & Randal (1951) metoduna göre belirlenmiştir. 0.2 ml örneği 2.1 ml Lowry reaktifiyle (0.1 mol/L NaOH çözeltisi içinde 245 ml %2’lık Na_2CO_3 , 2.5 ml %1’lık CuSO_4 , 2.5 ml %1’lık Na-K tartarat) karıştırılmış ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra 0.2 ml Folin-Ciocalteu (1/10 oranında seyreltilmiş) karışıma eklenmiştir. Örnekler, 60 dakikalık karanlık koşulda inkübasyona bırakıldıktan sonra oluşan renk spektrofotometrik olarak 750 nm’ de ölçülmüş ve sonuçlar BSA (sığır serum albumi) cinsinden ifade edilmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.6. Örneklerde Antidiyabetik Aktivite Tayini

α -Glukozidaz inhibisyon deneyi Ayyash ve diğerleri (2018)’ te belirlenen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. 0.1 M sodyum fosfat tamponunda (pH 6.8) hazırlanmış olan 100 μL α -glukozidaz enzimi (0.1 unit/ml) 50 μL örnek ile 10 dakika boyunca 37°C’ de ön inkübasyona bırakılmıştır. Ardından substrat olarak 50 μL 10 μM (4-Nitrofenil β -D-Galaktopiranosit) ilave edilerek enzimatik reaksiyon başlatılmış ve 30 dakika boyunca 37°C’ de gerçekleşen reaksiyon 1 mL 0.1 M Na_2CO_3 ilave edilerek sonlandırılmıştır. Enzim aktivitesi oluşan p-nitrofenil’ in 400 nm’ de ölçülmesiyle belirlenmiştir. Örnek içermeyen çözelti kontrol, substrat içermeyen çözelti kör (her örnek için yapılmış) olarak kullanılmıştır. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

α -Amilaz inhibisyon deneyi Ayyash ve diğerleri (2018)’ te belirlenen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. 0.1 M sodyum fosfat tamponunda (pH 6.8) hazırlanmış olan 100 μL α -Amilaz enzimi (1 unit/ml) 100 μL örnek ile 5 dakika boyunca 37 °C’ de ön inkübasyondan sonra, reaksiyonu başlatmak için sodyum fosfat tamponu (pH 6.8) içinde hazırlanan 250 μL %1 (mg/ml)’ lik nişasta ilave edilmiştir. Reaksiyon, 37°C’ de 5 dakika süreyle gerçekleştirilmiş ve 200 μL DNS reaktifi (0.4 M NaOH içinde %1’lık 3,5-dinitrosalisilik asit ve %12’lık sodyum potasyum tartarat) ilave edilmiştir. Reaksiyon 95°C’ de 30 dakika ısıtılmış ve enzimin inaktivitesi ile sonlandırılmıştır. Ardından buz banyosunda 1 ml damıtılmış su ile

seyreltilmiştir. α -Amilaz aktivitesi, 540 nm de absorbans ölçülerek belirlenmiştir. Örnek içermeyen çözelti kontrol, substrat içermeyen çözelti kör (her örnek için yapılmış) ve enzim içermeyen çözelti enzim blankı (her örnek için yapılmış) olarak kullanılmıştır. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.7. Örneklerde Yağ ve Su Tutma Kapasitesi Tayini

Su ve yağ tutma kapasitelerini belirlemek için 50 mg mercimek unu tüp içerisinde tartılarak üzerine 1 ml damıtılmış su veya ticari ayçiçeği yağı eklenmiştir. 20 saniye boyunca vortekslendikten sonra 30 dakika boyunca su veya yağ absorpsiyonunun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası örnekler santrifüj edilerek (6000 rpm 30 dakika) absorblanmayan sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Ardından tüpler ters çevrilerek 30 dakika daha çeperlerinde kalan fazla sıvının uzaklaşması sağlanarak absorblanan su veya yağ içeriği tüplerin tartılması ile belirlenmiştir. Su ve yağ tutma kapasiteleri gram örnek başına emilen gram su veya gram yağ olarak ifade edilmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır (Aydemir ve Yemenicioğlu, (2013)).

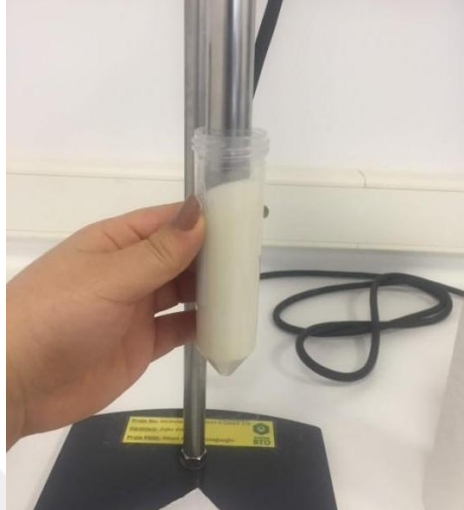


Şekil 3.12. Kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri yağ tutma

3.4.8. Örneklerde Emülsiyon Oluşturma Kapasitesi ve Emülsiyon Stabilitesi Tayini

Emülsiyon oluşturma kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi Aydemir ve Yemenicioğlu (2013)' te belirlenen yöntemle gerçekleştirilmiştir. Damıtılmış su içinde 20 mL örnek çözeltisi (5 mg/mL) hazırlanmış ve pH' sı 7.0' a ayarlanmıştır. Örnek üzerine oda sıcaklığında 6.5 mL ticari ayçiçeği yağı ilave edilmiştir. Karışım homojenizatörde 1.5 dakika boyunca 1500 rpm de homojenleştirme ile emülsifiye edilmiştir. Daha sonra 50 μ L emülsiyon örneği alınarak 2

mL SDS çözeltisi (5 mg/mL) ile karıştırılmıştır. Örneklerin absorbansı 500 nm’ de belirlenmiştir. Örneklerin emülsiyon stabilitesi, 30 ve 60. dakikalarda absorbansları ölçülerek belirlenmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.



Şekil 3.13. Emülsiyon oluşturma

3.4.9. Örneklerde Köpük Oluşturma Kapasitesi ve Köpük Stabilitesi Tayini

Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi Aydemir ve Yemenicioğlu (2013)’ te belirlenen yönteme göre gerçekleştirilmiştir. 20 mL örnek çözeltisi (5 mg/ mL) hazırlanmış ve pH’ sı 7.0’ a ayarlanmıştır. Daha sonra örnek çözeltisi, köpürmeyi sağlamak için 1500 rpm de homojenizatörde 1.5 dakika karıştırılmıştır. Köpürme kapasitesi, oluşturulan köpüğün hacmi (mL) ölçülerek bulunmuştur. Köpük stabilitesi, köpük oluşumunun 30. ve 60. dakikalarında köpük hacminin ölçülmesiyle belirlenmiştir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.



Şekil 3.14. Haşlanmış kırmızı mercimek köpük oluşturma



Şekil 3.15. Haşlanmış yeşil mercimek köpür oluşturma

3.4.10. Örneklerde Toplam Protein Tayini

Mercimek örneklerinde toplam azotlu bileşikler Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir. Bir gram mercimek tozu, bir ısı bloğunda bir bakır katalizör tableti (%1.5 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ +%2 Se) (Cu-Se, Sigma Aldrich) içeren 15 mL konsantre sülfürik asit (H_2SO_4) ile hidrolize edilmiştir. 420 ° C'ye kadar kademeli olarak artırılarak 2 saat boyunca yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Soğutulduktan sonra, nötrleştirme ve titrasyondan önce hidrolizat numunelerine H_2O ilave edilmiştir.. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

3.4.11. Örneklerde Toplam Kuru Madde Tayini

Örneklerin kuru madde miktarlarını tayin edebilmek için önceden sabit tartıma getirilen kuru madde kaplarının içerisine belirli miktar örnek tartılarak etüvde 105 °C' de 2.5 saat kurutulmuştur. Ardından örnekler 30 dakika desikatörde soğumaya bırakılmıştır. Örnekler tekrar tartılarak aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.

$$\% \text{kuru madde} = \left(\frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \right) * 100$$

m₁:kurutulmuş boş kurutma kabının ağırlığı (g)

m₂:içerisinde kuru olmayan örnek ve kabın ağırlığı (g)

m₃: kuru örnek ve kabın ağırlığı (g)



Şekil 3.16. Kırmızı ve yeşil mercimeklerde kuru madde tayini



Şekil 3.17. Kırmızı ve yeşil mercimek kurutulmuş

3.4.12. Örneklerde renk tayini

Örneklerin renk tayini kolorimetre (Konica Minolta CM-5, Japonya) cihazında yapılmıştır ve sonuçlar L^* , a^* , b^* , c^* ve h olacak şekilde verilmiştir. L^* değeri açıklık/ koyuluk (L^*0 : siyah, L^*100 : beyaz), a^* değeri kırmızı/ yeşil ($+a^*$: kırmızı, $-a^*$: yeşil), b^* değeri sarı/ mavi ($+b^*$: sarı, $-b^*$: mavi) renklerini belirtir. Örnekler 2 paralel olarak çalışılmıştır.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

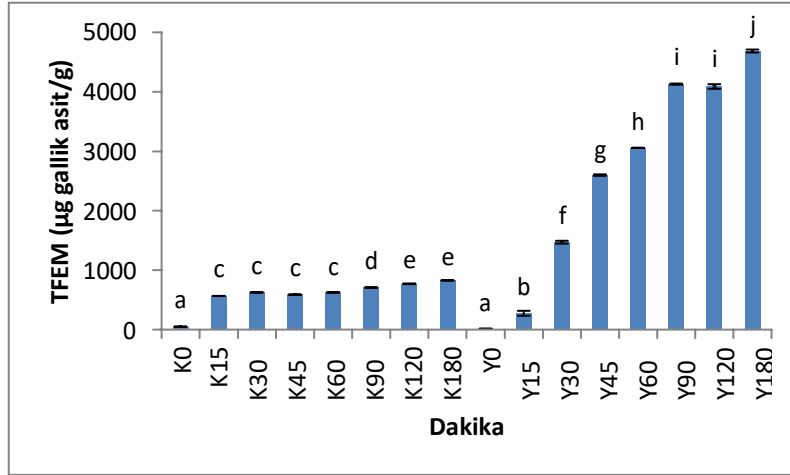
4.1. Mercimek Örneklerinden Suya Geçen Bileşenlerin Toplam Fenolik Madde ve Serbest Radikal Süpürme Aktiviteleri

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin su ve alkol içerisinde 180 dakika boyunca bekletilmeleri esnasında içinde bulundukları sıvıya mercimekten difüze olan bileşenlerin toplam fenolik madde miktarı (TFEM) ve serbest radikal süpürme aktivitesi (SRSA) Tablo 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

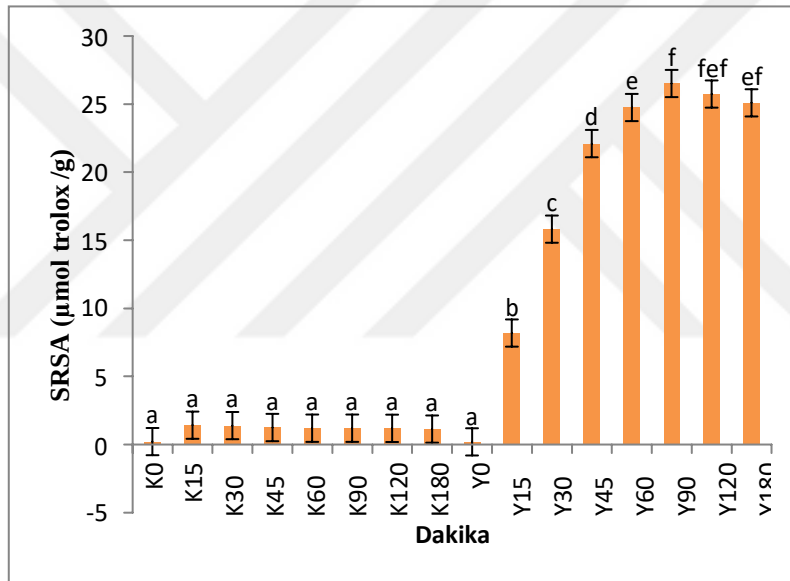
Tablo 4.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen bileşenlerin analiz sonuçları

Bekleme süresi (dakika)	TFEM (µg gallik asit/g)	SRSA (µmol trolox /g)
Kırmızı Mercimek		
0	48±3a*	0,22±0,10a
15	567±1c	1,43±0,01a
30	625±2c	1,40±0,03a
45	590±3c	1,26±0,01a
60	625±8c	1,21±0,00a
90	706±4d	1,21±0,01a
120	769±6de	1,20±0,00a
180	827±0e	1,14±0,01a
Yeşil Mercimek		
0	13±4a	0,20±0,22a
15	275±42b	8,19±1,21b
30	1471±23f	15,82±0,03c
45	2597±13g	22,11±0,07d
60	3057±0h	24,75±0,80e
90	4128±10i	26,52±0,09f
120	4090±38i	25,74±0,02ef
180	4687±24j	25,10±0,04ef

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.1. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen toplam fenolik madde miktarı



Şekil 4.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı suya geçen serbest radikalleri süpürme aktivitesi

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde zamana bağlı suya geçen toplam fenolik madde miktarının 13 ± 4 ile 4687 ± 24 µg gallik asit/g arasında olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1.). Zamana bağlı olarak suya geçen en yüksek TFEM yeşil mercimekte 180. dakikada elde edilmiştir. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin su ile birleştirildiği temas ettiği ilk anda suya geçen TFEMleri ise sırasıyla 48 ± 3 ve 13 ± 4 µg gallik asit/g olarak ölçülmüştür. Kırmızı mercimekten zamana bağlı suya geçen TFEMde ilk 15. dakikada anlamlı bir artış olurken, 15 ile 60. dakika arasında ise anlamlı bir artış olmadığı gözlenmiştir ($P<0,05$). 180 dakika sonunda ise kırmızı mercimekten suya geçen TFEM 827 ± 0 µg gallik asit/g olarak ölçülmüştür. Yeşil mercimek örneklerinde ise zamana bağlı suya geçen TFEMin kırmızı

mercimeğe göre çok daha fazla olduğu belirlenmiştir. Her 15 dakikada bir yapılan ölçümlerde belirlenen miktarlar anlamlı olarak artış göstermiştir ve 180 dakika sonunda ortamda 4687 ± 24 μg gallik asit/g eşleniğinde TFEM tespit edilmiştir. Her iki örnek kıyaslandığında yeşil mercimekten rehidrasyon esnasında yaklaşık 5,7 kat daha fazla fonksiyonel bileşenin kaybedildiği görülmüştür.

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde zamana bağlı suya geçen antioksidan kapasitesinin SRSA yöntemiyle yapılan analiz sonucuna göre değerlerin $0,22 \pm 0,10$ ile $26,52 \pm 0,09$ μM Trolox/g arasında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 4.2.). Kırmızı mercimekten bekleme suyuna geçen bileşenlerin SRSA değerleri oldukça düşük ve ihmal edilebilir seviyede olurken yeşil mercimekte ise 180 dakika sonunda yaklaşık 22 kat daha fazla olarak $25,10 \pm 0,04$ μmol trolox/g ölçülmüştür. Zamana bağlı SRSA değerleri kırmızı mercimekte anlamlı şekilde değişmemiştir ($P < 0,05$). Örneklerden suya geçen TFEM ile SRSA değerleri arasındaki ilişki incelendiğinde, yeşil mercimekten suya difüze olan suda çözünür fenolik bileşenlerin sahip oldukları serbest radikal süpürme kapasitelerinin kırmızı mercimek fenolik bileşenlerine göre yaklaşık 4 kat daha fazla olduğu görülmüştür.

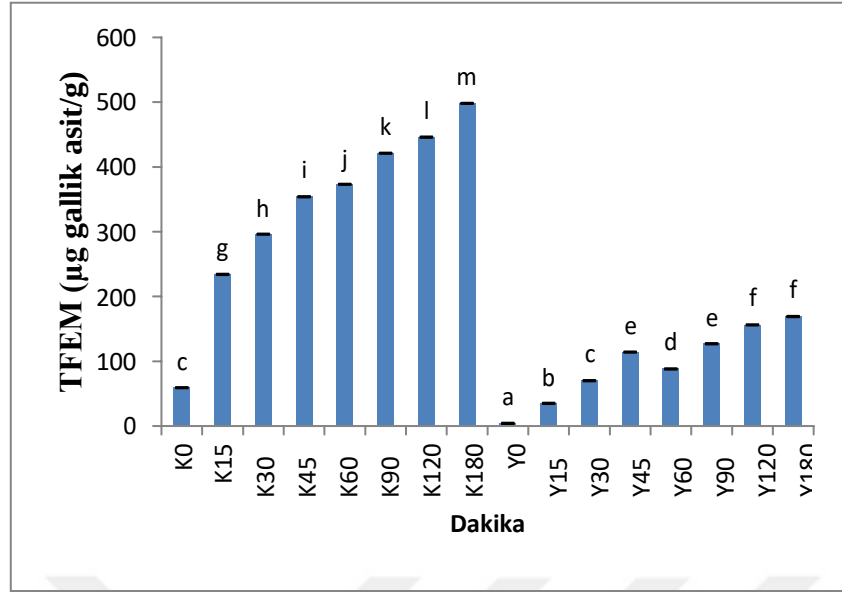
4.2. Mercimek örneklerinden alkol çözeltisine geçen bileşenlerin toplam fenolik madde ve serbest radikal süpürme aktiviteleri

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin zamana bağlı alkol çözeltisine geçen TFEM değer 4 ± 1 ile 498 ± 0 μg gallik asit/g arasında değişmiştir (Tablo 4.2.). Zaman bağlı anlamlı en yüksek alkol çözeltisine geçen TFEM 180. dakika kırmızı mercimekte ölçülmüştür (Şekil 4. 3.), ($P < 0,05$). 180 dakika sonunda kırmızı mercimekten alkol çözeltisine geçen TFEM, yeşil mercimeğe kıyasla yaklaşık 2,95 kat daha fazla ölçülmüştür. Buna karşılık yeşil mercimekten suya geçen TFEM değerinin kırmızı mercimekten yaklaşık 5,7 kat daha fazla olduğu ölçülmüştü. Çözgenler kıyaslandığında, her iki mercimek türünde de alkol çözeltisine daha az fenolik bileşenin difüze olduğu görülmüştür. Su ile kıyaslandığında kırmızı mercimekten 180 dakika sonunda %40, yeşil mercimekten ise %72 daha az fenolik bileşenin çözgen ortamına geçtiği hesaplanmıştır. Genel olarak değerlendirildiğinde kırmızı ve yeşil mercimekte zamana bağlı alkol çözeltisine geçen TFEM değerlerinde anlamlı şekilde artmıştır ($P < 0,05$).

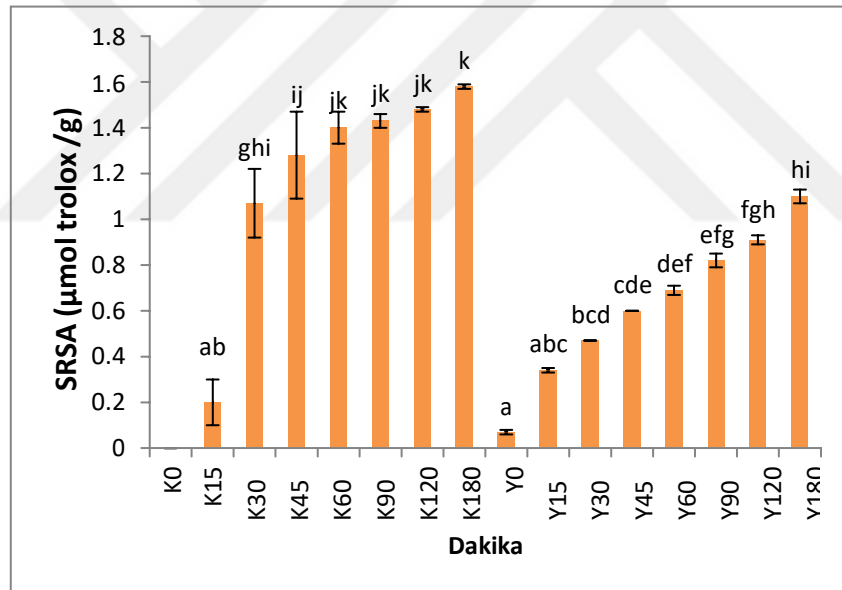
Tablo 4.2. Kırmızı ve yeşil mercimeklerden zamana bağlı alkol çözeltilisine geçen bileşenlerin analiz sonuçları

Bekleme süresi (dakika)	TFEM (µg gallik asit/g)	SRSA (µmol trolox /g)
Kırmızı Mercimek		
0.dakika	59±0c*	-
15. dakika	234±0g	0,20±0,01ab
30. dakika	296±1h	1,07±0,15ghi
45. dakika	354±1i	1,28±0,19ij
60. dakika	373±0j	1,40±0,07jk
90. dakika	421±3k	1,43±0,03jk
120. dakika	446±0l	1,48±0,01jk
180. dakika	498±0m	1,58±0,01k
Yeşil Mercimek		
0.dakika	4±1a	0,07±0,01a
15. dakika	35±8b	0,34±0,01abc
30. dakika	70±3c	0,47±0,00bcd
45. dakika	114±10e	0,60±0,00cde
60. dakika	88±6d	0,69±0,02def
90. dakika	127±5e	0,82±0,03efg
120. dakika	156±5f	0,91±0,02fgh
180. dakika	169±4f	1,10±0,03hi

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.3. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin zamana bağlı alkole geçen toplam fenolik madde miktarı



Şekil 4.4. Kırmızı ve yeşil mercimeklerin zaman bağlı alkole geçen serbest radikalleri süpürme aktivitesi

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde zamana bağlı alkol çözeltisine geçen bileşenlerin SRSA değerlerinin oldukça düşük olduğu belirlenmiştir ve bu değerler $0,07 \pm 0,01$ ile $1,58 \pm 0,01$ μM Trolox/g arasında değişmiştir (Şekil 4.4.). Anlamlı en yüksek aktivite 180. dakikada kırmızı mercimekte ölçülmüştür ($P < 0,05$). Kırmızı mercimekte 15-45. dakika arasında anlamlı bir artış olduğu görülmüş; 60-120. dakika arasındaki ise anlamlı bir değişim olmamış ve 180. Dakikada ise en yüksek aktivite ölçülmüştür. Yeşil mercimek örneğinde ise alkol çözeltisine geçen aktivite anlamlı bir şekilde zaman bağlı olarak artmıştır ($P < 0,05$).

Ancak her iki mercimek türün de alkollü çözeltiye geçen antioksidan maddelerin SRSA değerleri ihmal edilebilir düzeyde olmuştur. Değerlerin bu kadar düşük çıkmasında alkollü çözeltiye geçen TFEM değerlerinin de etkisi olduğu düşünülmektedir.

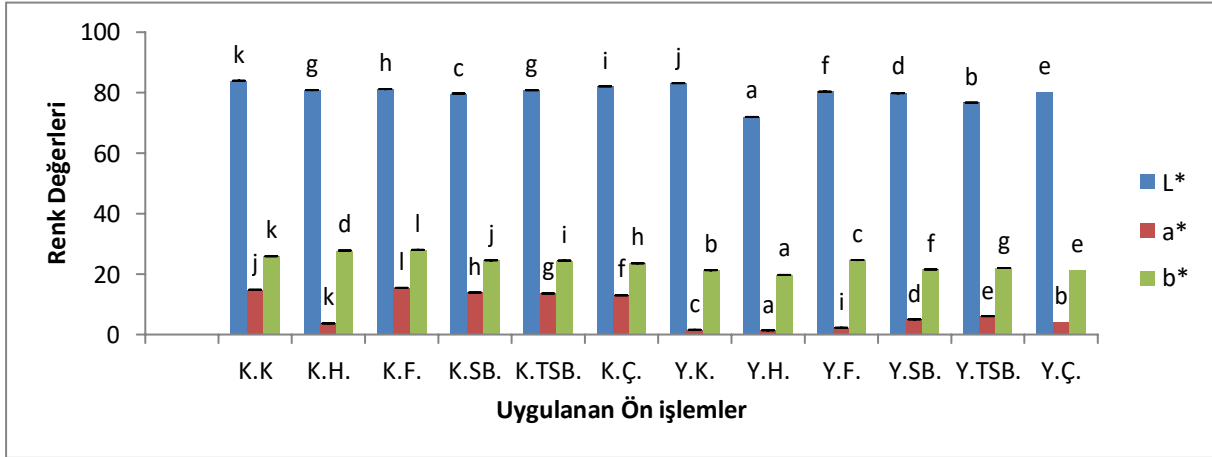
4.3. Farklı ön işlemler uygulanmış mercimek örneklerinden üretilen un ve protein ekstraktların renk değerleri

Farklı ön işlemler uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimeklerden elde edilen un, su ekstraktı, alkol ekstraktı, sıvı protein ekstraktı ve katı protein ekstraktlarının renk değerleri Tablo 4.3, 4.4., 4.5., 4.6., 4.7.'de verilmiştir. Renkler şu şekilde ifade edilmektedir: L* değeri açıklık/koyuluk (L*0: siyah, L*100: beyaz), a* değeri kırmızı/ yeşil (+a*: kırmızı, -a*: yeşil), b* değeri sarı/ mavi (+b*: sarı, -b*: mavi) renklerini belirtir.

Tablo 4.3. Mercimek unlarına ait renk değerleri

Uygulanan Ön İşlem	L*	a*	b*
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	83,93±0,00k*	14,80±0,00j	25,88±0,01k
Haşlama	80,82±0,01g	3,65±0,00k	27,76±0,00d
Fırınlama	81,22±0,01h	15,43±0,01l	28,02±0,00l
Suda Bekletme	79,74±0,01c	13,91±0,00h	24,59±0,01j
Tuzlu Suda Bekletme	80,83±0,01g	13,61±0,01g	24,48±0,01i
Çimlendirme	82,11±0,00i	12,97±0,01f	23,59±0,01h
Yeşil Mercimek			
Kontrol	83,13±0,00j	1,58±0,00c	21,31±0,01b
Haşlama	71,99±0,00a	1,43±0,01a	19,73±0,01a
Fırınlama	80,39±0,01f	2,22±0,01i	24,66±0,00c
Suda Bekletme	79,85±0,01d	5,05±0,01d	21,54±0,01f
Tuzlu Suda Bekletme	76,73±0,01b	6,09±0,01e	22,02±0,00g
Çimlendirme	80,09±0,00e	4,12±0,00b	21,17±0,00e

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.5. Mercimek unlarına ait renk değerleri

Ön işlemler sonrası kırmızı ve yeşil mercimek unlarında L* değerinin kontrol örneğe göre az fakat anlamlı derecede daha düşük olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.3.), (Şekil 4. 5.), ($P < 0,05$). Mercimek unlarında özellikle haşlama ve fırınlama gibi ısı işlemlerin unların renginin koyuluğunda anlamlı bir artışa yol açmadıkları görülmüştür. Fırınlama işlemi kırmızı ve yeşil mercimekte L* değerini kontrol örneğe göre sırasıyla $83,93 \pm 0,00$ 'dan $81,22 \pm 0,0$ 'a ve $83,13 \pm 0,00$ 'dan $80,39 \pm 0,01$ 'e düşürmüştür. Kırmızı mercimek unlarının hafif kırmızımsı, yeşil mercimek unlarının ise daha az kırmızımsı ve açık renkli bir renge sahip oldukları belirlenmiştir. Haşlanmış kırmızı mercimek ununun hafif kırmızı rengini kaybettiği görülmüştür. Diğer ön işlemlerin ise kırmızı renk üzerinde kontrole kıyasla önemli olmayan fakat anlamlı değişimlere yol açtığı tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Mercimek unlarının hepsinde sarılık değerleri (b*) birbirine yakın ölçülmüştür. Kontrol kırmızı mercimek örneğine göre haşlanan ve fırınlanan mercimeklerden üretilen unların daha sarı renkte buna karşılık çimlendirilen, suda ve tuzlu suda bekletilen mercimeklerden üretilen unların ise daha açık sarı renge sahip oldukları belirlenmiştir ($P < 0,05$). Yeşil mercimeklerde fırınlanan, suda ve tuzlu suda bekletilen mercimeklerden üretilen unların daha koyu sarı renge sahip oldukları ancak haşlanan ve çimlendirilen örneklerden üretilen unların daha açık sarı renge sahip oldukları saptanmıştır. Pathirate ve diğerleri (2015)' de yaptıkları çalışmada mercimek un örneğinin renk analizi sonuçlarını; L: 84,13, a: 3,9, ve b: 20,7 olarak bildirmiştir.

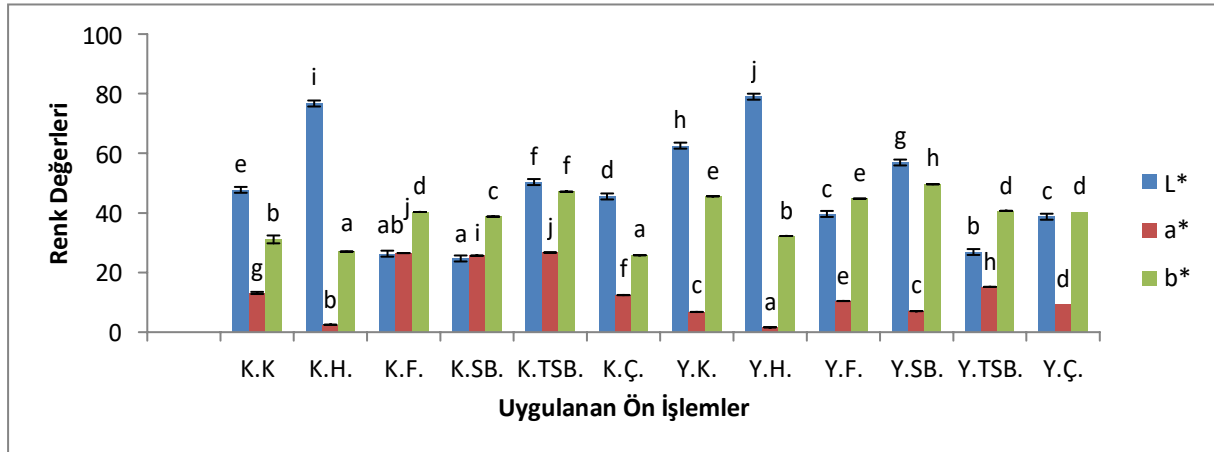
Ön işlem uygulanmış unlardan üretilen su ekstraktlarının L* değerlerinin unlarına kıyasla oldukça düşük olduğu görülmüştür (Tablo 4.4.), (Şekil 4. 6.). Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin L* değerleri 24,73 ile 79,01 arasında değişmiştir. Kırmızı mercimek örneklerinde haşlama işlemi su ekstraktının rengini kontrole göre daha da açık renkli yaparken, fırınlama ve suda bekletme işlemleri su ekstraktının renginin daha koyu olmasına sebep olmuştur.

Haşlama işleminin renkli bileşikler üzerine olumsuz etkisi olduğu ya da çözünürlüklerini düşürerek suya geçmelerini önlediği tahmin edilmektedir. Diğer bir açıdan fırınlama işlemi esnasında da mercimek örneklerinde koyu renkli suda çözünen bileşenlerin olduğu görülmektedir. Suda bekletme işleminin de su fazına daha fazla renkli bileşenin geçmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. Çünkü rehidrasyonla mercimek dokularının yumuşayarak ekstraksiyon verimini artırdığı bilinmektedir. Kontrol, haşlanmış, fırınlamış ve suda bekletilmiş yeşil mercimek unlarından üretilen su ekstraktlarının L^* değerlerinin kırmızı mercimek ekstraktlarından daha yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşılık tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri daha koyu renkli yeşil mercimek su ekstraktlarının üretilmesine sebep olmuşlardır. Benzer şekilde haşlama işlemi yeşil mercimek su ekstraktının renginde önemli şekilde daha açık bir renk oluşmasına sebep olurken, diğer işlemler önemli derecede su ekstraktının renginin koyulaşmasına sebep olmuşlardır ($P<0,05$). Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktlarının a^* değerleri 1,68 ile 26,75 arasında ve kırmızı olarak ölçülmüştür. Haşlama hariç tüm ön işlemler yeşil ve kırmızı mercimeklerden daha kırmızımsı su ekstraktları elde edilmesine yol açmışlardır. Kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri b^* değerleri 25,82 ile 49,62 arasında sarı renge sahip olmuştur. Benzer şekilde haşlama işlemi kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktlarının sarımsılığında azalmaya yol açmışlardır ($P<0,05$). Buna karşılık fırınlama ve tuzlu suda bekletme işlemleri kırmızı mercimeklerin, suda bekletme ise yeşil mercimek su ekstraktlarının sarımsılığını artırmışlardır ($P<0,05$). Çimlendirme işlemi tüm mercimek örneklerinin sarımsılığı azaltmıştır ($P<0,05$).

Tablo 4.4. Mercimek unlarından üretilen su ekstraktlarına ait renk değerleri

Uygulanan Ön İşlem	L*	a*	b*
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	47,74±0,05e*	13,21±0,03g	31,13±0,01b
Haşlama	76,71±1,86i	2,50±0,34b	27,04±1,32a
Fırlama	26,37±0,01ab	26,59±0,03j	40,36±0,04d
Suda Bekletme	24,73±0,01a	25,72±0,00i	38,82±0,02c
Tuzlu Suda Bekletme	50,40±0,03f	26,75±0,01j	47,16±0,01f
Çimlendirme	45,56±0,04d	12,50±0,00f	25,82±0,04a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	62,61±0,16h	6,85±0,04c	45,64±0,01e
Haşlama	79,01±0,09j	1,68±0,02a	32,31±0,04b
Fırlama	39,71±0,06c	10,51±0,03e	44,82±0,01e
Suda Bekletme	56,91±0,03g	7,07±0,01c	49,62±0,00h
Tuzlu Suda Bekletme	26,89±0,05b	15,20±0,01h	40,69±0,06d
Çimlendirme	38,77±0,04c	9,37±0,02d	40,40±0,02d

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).

**Şekil 4.6.** Mercimek unlarından üretilen su ekstraktlarına ait renk değerleri

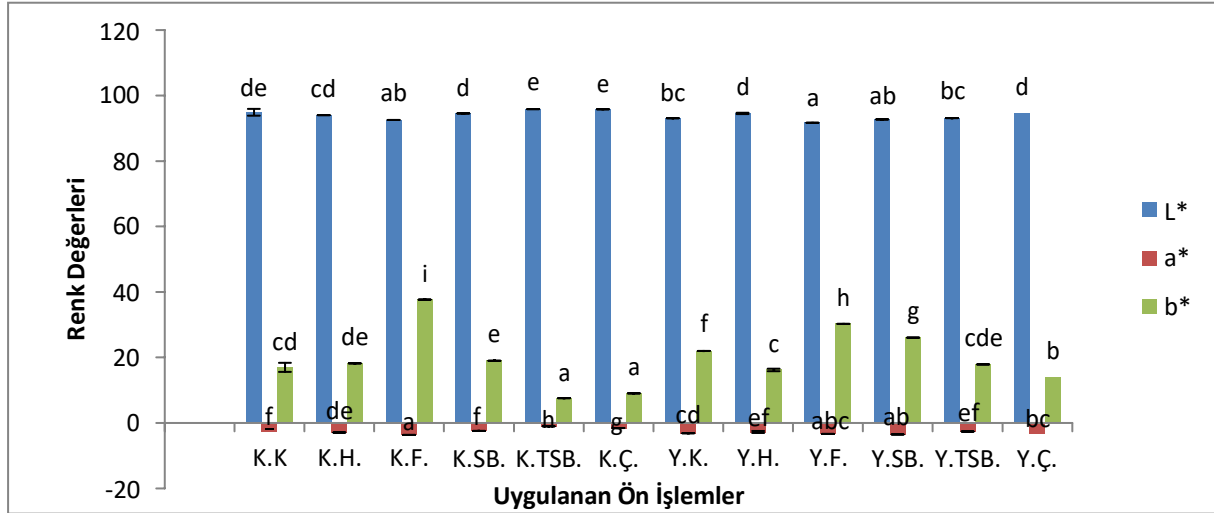
Ön işlem uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimek unlarından elde edilen alkol ekstraktlarının L* değerleri 91,68±0,21 ile 95,84±0,01 arasında ölçülmüştür ve ön işlemler ekstraktların anlamlı bir şekilde farklı ve berrak bir renge sahip olmasına sebep olmuştur (Tablo 4.5.), (Şekil 4. 7.), (P<0,05). Bu durum alkolde çözünen mercimek bileşenlerinin daha az veya

renksiz olduklarını düşündürmektedir. Mercimek unlarının alkol ekstraktlarının a^* değerleri -3,62±0,01 ile -1,03±0,01 arasında, b^* değerleri de 7,63±0,01 ile 30,31±0,39 arasında değişmiştir. Alkol ekstraktlarında kırmızımsı renk tamamen kaybolmuştur. Su ekstraktlarına kıyasla sarımsı renkte de önemli azalmalar belirlenmiştir. Kontrol kırmızı mercimek örneğine göre haşlanan, fırınlanan ve suda bekletilen mercimek unlarının alkol ekstraktlarının daha sarı, tuzlu suda bekletilen ve çimlendirilen mercimek unlarının alkol ekstraktlarının ise daha açık sarı renge sahip oldukları saptanmıştır ($P<0,05$). Kontrol yeşil mercimek örneğine göre de haşlanan, tuzlu suda bekletilen ve çimlendirilen mercimek unlarının alkol ekstraktları daha açık sarı renge sahip olurken fırınlanan ve suda bekletilen mercimek unlarının alkol ekstraktlarının daha sarı renge sahip oldukları görülmüştür ($P<0,05$).

Tablo 4.5. Mercimek unlarından üretilen alkol ekstraktlarına ait renk değerleri

Uygulanan Ön İşlem	L^*	a^*	b^*
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	94,90±0,00de*	-2,48±0,00f	17,01±0,01cd
Haşlama	94,03±1,04cd	-2,88±0,00de	18,24±1,39de
Fırınlama	92,56±0,00ab	-3,62±0,01a	37,71±0,03i
Suda Bekletme	94,56±0,00d	-2,40±0,01f	19,03±0,01e
Tuzlu Suda Bekletme	95,84±0,01e	-1,03±0,01h	7,63±0,01a
Çimlendirme	95,79±0,00e	-1,56±0,01g	9,04±0,01a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	93,06±0,01bc	-3,14±0,00cd	21,99±0,01f
Haşlama	94,54±0,01d	-2,72±0,01ef	16,22±0,01c
Fırınlama	91,68±0,21a	-3,33±0,30abc	30,31±0,39h
Suda Bekletme	92,70±0,01ab	-3,51±0,00ab	26,06±0,01g
Tuzlu Suda Bekletme	93,10±0,01bc	-2,60±0,00ef	17,86±0,00cde
Çimlendirme	94,53±0,01d	-3,25±0,00bc	13,92±0,00b

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



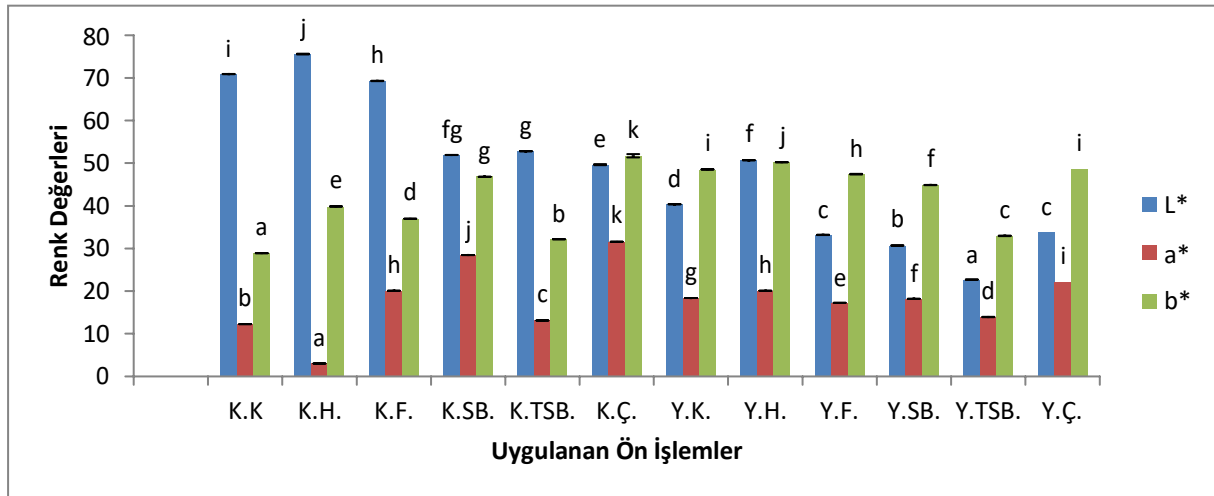
Şekil 4.7. Mercimek unlarından üretilen alkol ekstraktlarına ait renk değerleri

Çalışmada mercimek unlarından izoelektrik noktada çöktürme ile üretilen ekstraktlar hem sıvı formda hem de liyofilizasyonla kurutularak katı toz formda kullanılmışlardır. Sıvı ekstrakt formundaki mercimek örneklerine ait renk değerleri incelendiğinde kırmızı mercimek ekstraktlarının genel olarak yeşil mercimek ekstraktlarından daha yüksek L* değerlerine sahip oldukları görülmektedir (Tablo 4.6.), (Şekil 4. 8.), ($P<0,05$). Haşlama ön işlemi her iki mercimeğe ait sıvı protein ekstraktının renginde bir miktar açılmaya yol açsa da diğer tüm ön işlemler ekstrakt renginde koyulaşmaya sebep olmuşlardır. Suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri sonucu fırınlama işlemine kıyasla daha koyu renkte sıvı protein ekstraktları elde edilmiştir ($P<0,05$). Her iki mercimek türünün sıvı protein ekstrakt rengi kırmızımsı ve diğer ekstraktlara göre daha sarımsı renkte olmuşlardır ($P<0,05$). Haşlama işlemi kırmızı mercimeğin kırmızımsı renginin kaybolmasına yol açarken benzer etki yeşil mercimekte görülmemiştir. Haşlama haricindeki tüm ön işlemler kırmızı mercimek sıvı protein ekstraktının renginin daha kırmızı olmasını sağlamıştır ($P<0,05$). Uygulanan tüm ön işlemler kırmızı mercimeğin sarı renginde belirgin artışlara yol açmışlardır; özellikle suda bekletme ve çimlendirme bu sarı rengin artışına önemli katkılar sağlamışlardır ($P<0,05$). Diğer yandan, ön işlemler yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının sarı renginde önemli artışlara yol açmamışlar, kontrol örneğe yakın sarı renklere sahip olmuşlardır. Sadece tuzlu suda bekletme işlemi diğer ön işlemlere göre yeşil mercimek ekstraktının sarı renginde belirgin bir azalmaya sebep olmuştur.

Tablo 4.6. Mercimek unlarından üretilen sıvı protein ekstraktlarına ait renk değerleri

Uygulanan Ön İşlem	L*	a*	b*
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	70,89±0,18i*	12,24±0,18b	28,92±0,01a
Haşlama	75,61±0,04j	3,07±0,00a	39,85±0,02e
Fırınlama	69,29±0,09h	20,09±0,00h	37,00±0,02d
Suda Bekletme	51,93±0,04fg	28,48±0,01j	46,84±0,02g
Tuzlu Suda Bekletme	52,83±0,01g	13,15±0,01c	32,16±0,01b
Çimlendirme	49,66±0,01e	31,59±0,01k	51,77±0,06k
Yeşil Mercimek			
Kontrol	40,37±0,14d	18,38±0,03g	48,54±0,38i
Haşlama	50,72±0,01f	20,11±0,01h	50,22±0,04j
Fırınlama	33,19±0,03c	17,26±0,01e	47,42±0,04h
Suda Bekletme	30,68±0,06b	18,20±0,00f	44,92±0,08f
Tuzlu Suda Bekletme	22,70±0,08a	13,92±0,04d	32,96±0,01c
Çimlendirme	33,97±0,06c	22,21±0,04i	48,58±0,07i

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).

**Şekil 4.8.** Mercimek unlarından üretilen sıvı protein ekstraktlarına ait renk değerleri

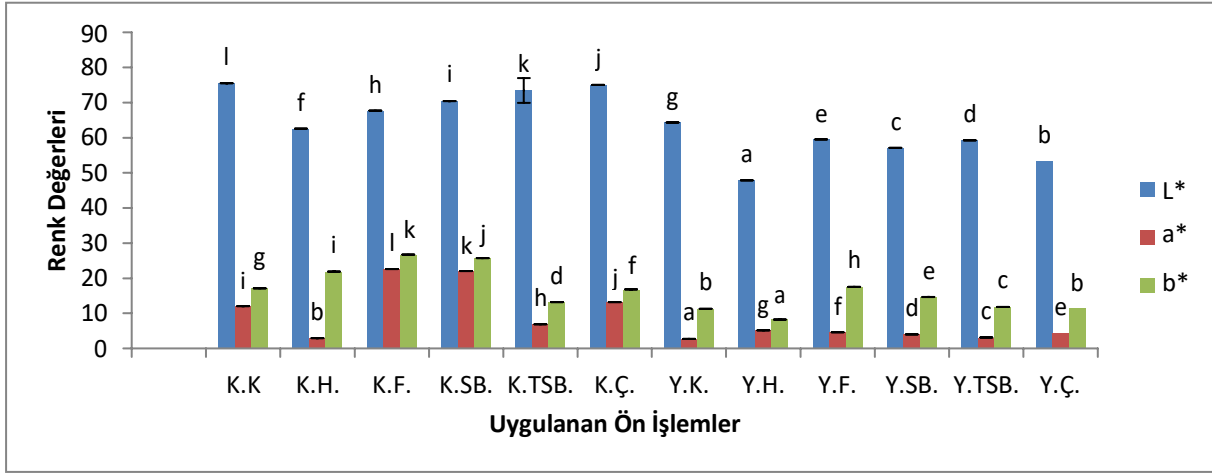
Ön işlem görmüş kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinden izoelektrik noktada çöktürme yöntemi ile üretilen protein ekstraktları liyofilize edilerek elde edilen toz liyofilizatların sulu çözeltilerinin (10mg/100ml) renk değerleri incelendiğinde ilk olarak renklerin liyofilizasyon

öncesi ekstraktlara kıyasla daha berrak oldukları görülmüştür (Tablo 4.7.), (Şekil 4.9.). Renkteki en belirgin berraklaşmayı diğer ekstraktlarda olduğu gibi haşlama ön işlemi sağlamıştır. Kırmızı mercimekte diğer ön işlemler renkte önemli bir berraklaşma ya da koyulaşmaya yol açmazken, yeşil mercimek liyofilize protein ekstraktlarının rengi kontrol örneği ekstraktına göre daha koyu olmuştur ($P<0,05$). Kırmızı ve yeşil mercimek protein ekstraktlarında kırmızı renk önemli derecede kaybolmuştur ve sadece fırınlama ve suda bekletme işlemleri liyofilize mercimek protein ekstraktlarında kırmızılığın artışına yol açmıştır ($P<0,05$).

Tablo 4.7. Mercimek unlarından üretilen katı protein ekstraktlarına ait renk değerleri

Uygulanan Ön İşlem	L*	a*	b*
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	75,53±0,011*	12,06±0,01i	17,15±0,01g
Haşlama	62,59±0,02f	2,94±0,04b	21,88±0,05i
Fırınlama	67,70±0,00h	22,61±0,01l	26,75±0,01k
Suda Bekletme	70,46±0,01i	22,06±0,00k	25,75±0,02j
Tuzlu Suda Bekletme	73,43±0,01k	6,92±0,00h	13,22±0,01d
Çimlendirme (7. Gün)	75,04±3,54j	13,18±0,01j	16,81±0,00f
Yeşil Mercimek			
Kontrol	64,36±0,00g	2,77±0,00a	11,34±0,01b
Haşlama	47,88±0,00a	5,20±0,01g	8,27±0,00a
Fırınlama	59,51±0,00e	4,62±0,01f	17,53±0,01h
Suda Bekletme	57,12±0,00c	4,02±0,00d	14,65±0,01e
Tuzlu Suda Bekletme	59,25±0,00d	3,14±0,00c	11,84±0,01c
Çimlendirme (7. Gün)	53,52±0,00b	4,38±0,00e	11,36±0,00b

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



Şekil 4.9. Mercimek unlarından üretilen katı protein ekstraktlarına ait renk değerleri

Kontrol kırmızı ve yeşil mercimek örneklerine göre L* değeri uygulanan ön işlemler örneklerin daha bulanık olduğu belirlenmiştir. Kontrol kırmızı mercimek örneğine göre a* değeri fırınlanan, suda bekletilen ve çimlendirilen örneklerin daha kırmızımsı renge sahip olduğu belirlenmiş ve haşlanan, tuzlu suda bekletilen örneklerin daha açık kırmızı renge sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol yeşil mercimek örneklerine göre a* değeri uygulanan ön işlemlerde daha kırmızı renge sahip olmalarını sağlamıştır. Kontrol kırmızı mercimek örneğine göre b* değeri haşlanan, fırınlanan ve suda bekletilen örneklerin daha sarımsı renge sahip, tuzlu suda bekletilen ve çimlendirilen örneklerin ise daha açık sarı renge sahip olduğu belirlenmiştir. Kontrol yeşil mercimek örneğine göre b* değeri fırınlanan, suda ve tuzlu suda bekletilen örneklerin daha sarımsı renge sahip olduğu ve haşlanan, çimlendirilen örneklerin daha açık sarı renge sahip olduğu saptanmıştır ($P<0,05$). Kırmızı mercimek ekstraktlarının sarımsı rengi yeşil mercimek ekstraktlarına göre daha fazla olmuştur.

.4.4. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Kimyasal Analizleri

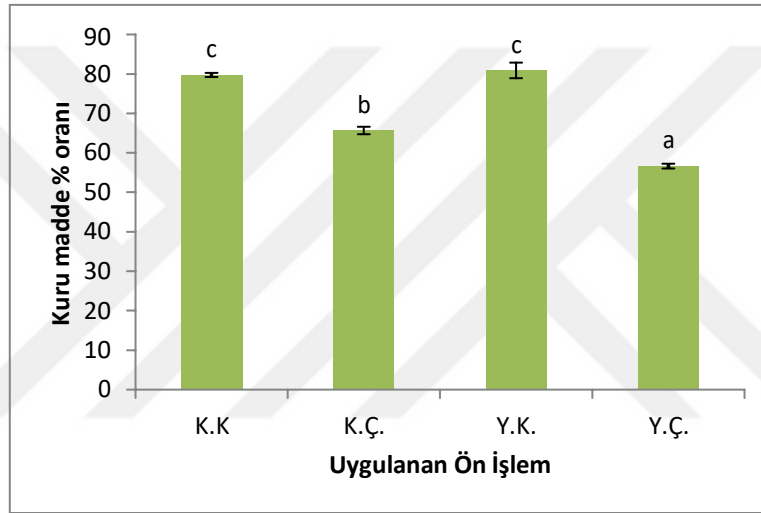
4.4.1. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Su ve Alkol Ekstraktlarının Kimyasal Analizleri

Kırmızı ve yeşil mercimek ile 7 gün çimlendirilmiş mercimek örneklerine ait kuru madde miktarları Tablo 4.8.'de verilmiştir. Çimlenme sonrası kırmızı mercimek örneğinin kuru madde miktarı $65,67 \pm 0,95$ 'e, yeşil mercimek örneğinin ise $56,65 \pm 0,61$ 'e kadar anlamlı şekilde düşmüştür (Şekil 4. 10.) , ($P<0,05$).

Tablo 4.8. Kırmızı ve yeşil mercimek kuru madde sonuçları

Uygulanan ön işlem	Kuru Madde (%)
Kırmızı Mercimek	
Kontrol	79,74±0,52c*
Çimlendirme	65,67±0,95b
Yeşil Mercimek	
Kontrol	80,91±1,98c
Çimlendirme	56,65±0,61a

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.10. Kırmızı ve yeşil mercimek kuru madde sonuçları

Ön işlem görmüş kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinden üretilen suda çözünür bileşenler içeren ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı (TFEM), (Şekil 4. 11), toplam flavonoid madde miktarı (TFLM), (Şekil 4.12.), serbest radikal süpürme aktivitesi (SRSA), (Şekil 4. 13.), demir iyonlarını şelatlama aktivitesi (DİŞA), (Şekil 4. 14.) ve çözünür protein içeriği (ÇPİ), (Şekil 4. 15.) değerleri belirlenmiştir (Tablo 4.9.).

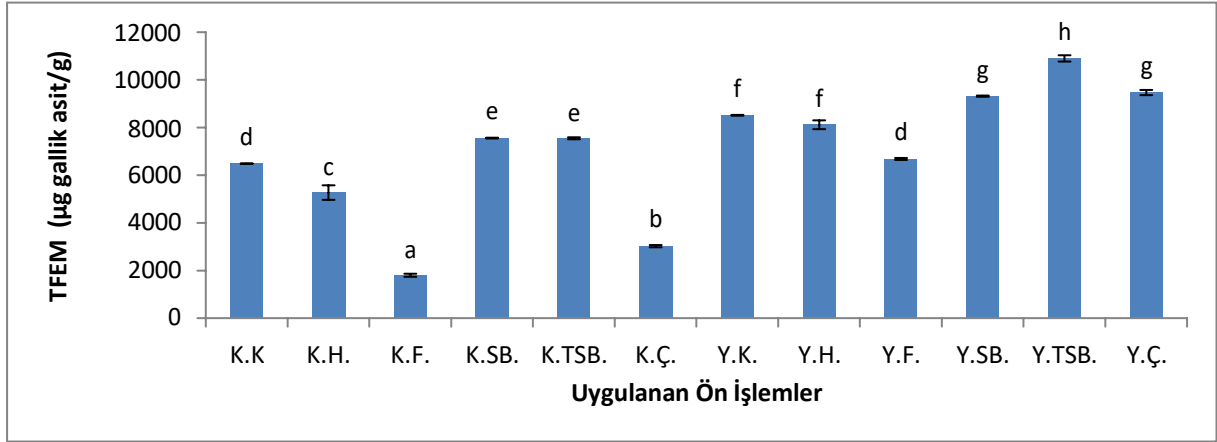
Genel olarak yeşil mercimek örnekleri su ekstraktlarının TFEM, TFLM ve SRSA değerlerinin kırmızı mercimek örnekleri su ekstraktlarından daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ön işlem görmüş yeşil mercimek su ekstraktlarının TFEM değerleri 6681±41 ile 10901±130 µg gallik asit/g arasında değişirken, ön işlem görmüş kırmızı mercimek su ekstraktlarının TFEM değerleri 1798±65 ile 7556±17 µg gallik asit/g arasında değişmiştir. Haşlama ve fırınlama gibi ısı işlemler her iki mercimek türünde de TFEM değerlerini anlamlı şekilde azaltmıştır (P<0,05). Bu durum açıkça göstermektedir ki ısıl işlemle birlikte suda çözünür fenolik

bileşenler çözünürlüklerini kaybetmişlerdir ya da ısı etkisi ile yapıda bozulmalar meydana gelmiştir. Bu sebeple su fazına ekstrakte olamamıştır. Isıya hassas fenolik bileşiklerin bu tip proseslerde yapılarını ve aktivitelerini kaybettiklerini ya da fenolik bileşenler, karbonhidratlar veya proteinlerle kompleksler oluşturarak çözünürlüklerini kaybettiklerini göstermişlerdir. Suda ve tuzlu suda bekletme işlemleri TFEM değerlerini kırmızı mercimek için yaklaşık %17 ve 16, yeşil mercimek için ise yaklaşık %9 ve 28 artırmıştır. Suda bekletme esnasında mercimek dokuları rehidre olarak yumuşamışlardır ve ekstraksiyon işleminde dokularda bulunan fenolik bileşenler su fazına daha kolay geçmişlerdir. Düşük tuz konsantrasyonu da sağladığı iyonik yük artışı ile hücre membranının daha kolay parçalanmasını ve fenoliklerle proteinlerin daha iyi ekstrakte olmalarını sağlamıştır ($P<0,05$). Çimlendirme işlemi kırmızı mercimek TFEM değerini %55 azaltırken, yeşil mercimekte %11 artış sağlamıştır.

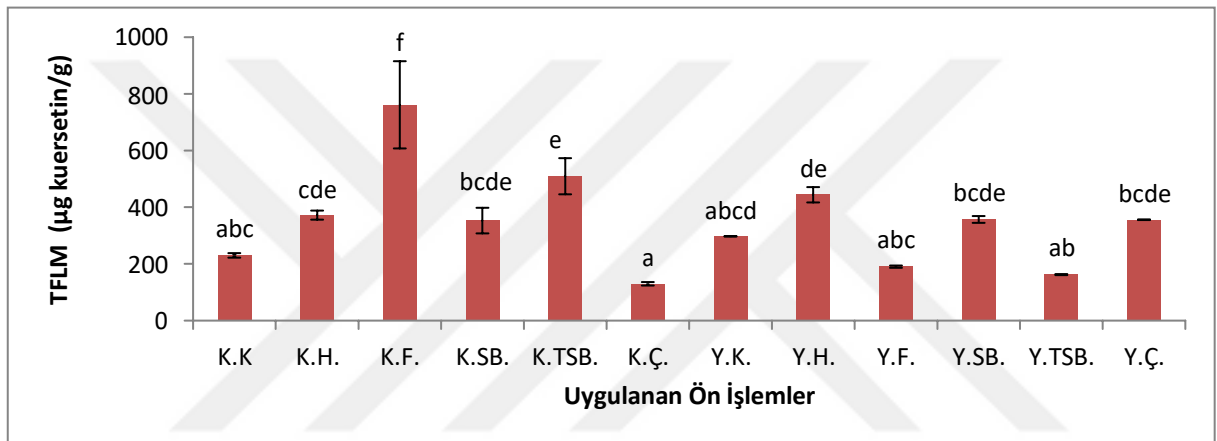
Tablo 4.9. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları analiz sonuçları

Uygulanan Ön İşlem	TFEM (μg gallik asit/g)	TFLM (μg kuersetin/g)	SRSA (μmol trolox /g)	DİŞA (μg EDTA/g)	ÇPİ (mg BSA /g)
Kırmızı Mercimek					
Kontrol	6484 $\pm$ 10d*	230 $\pm$ 8abc	17,59 $\pm$ 0,20ab	1024 $\pm$ 1c	116 $\pm$ 1ab
Haşlama	5266 $\pm$ 306c	372 $\pm$ 16cde	48,33 $\pm$ 5,86ef	4936 $\pm$ 17f	144 $\pm$ 12b
Fırlama	1798 $\pm$ 65a	761 $\pm$ 154f	10,05 $\pm$ 1,12a	762 $\pm$ 1b	121 $\pm$ 1ab
Suda Bekletme	7556 $\pm$ 17e	353 $\pm$ 45bcde	20,95 $\pm$ 0,35ab	1667 $\pm$ 5d	148 $\pm$ 4b
Tuzlu Suda Bekletme	7549 $\pm$ 41e	509 $\pm$ 64e	20,28 $\pm$ 0,41ab	2109 $\pm$ 64e	232 $\pm$ 28c
Çimlendirme	3019 $\pm$ 47b	130 $\pm$ 6a	10,83 $\pm$ 1,08a	702 $\pm$ 33b	103 $\pm$ 16ab
Yeşil Mercimek					
Kontrol	8514 $\pm$ 17f	297 $\pm$ 1abcd	34,73 $\pm$ 0,68cd	703 $\pm$ 3b	123 $\pm$ 9ab
Haşlama	8116 $\pm$ 185f	444 $\pm$ 27de	61,20 $\pm$ 8,47g	5186 $\pm$ 2g	118 $\pm$ 20ab
Fırlama	6681 $\pm$ 41d	190 $\pm$ 4abc	23,97 $\pm$ 2,74bc	537 $\pm$ 21a	78 $\pm$ 4a
Suda Bekletme	9319 $\pm$ 24g	357 $\pm$ 12bcde	35,34 $\pm$ 0,49cd	752 $\pm$ 11b	113 $\pm$ 7ab
Tuzlu Suda Bekletme	10901 $\pm$ 130h	162 $\pm$ 2ab	36,97 $\pm$ 1,33de	1061 $\pm$ 64c	207 $\pm$ 23c
Çimlendirme	9463 $\pm$ 111g	356 $\pm$ 1bcde	49,39 $\pm$ 3,71f	647 $\pm$ 15ab	121 $\pm$ 9ab

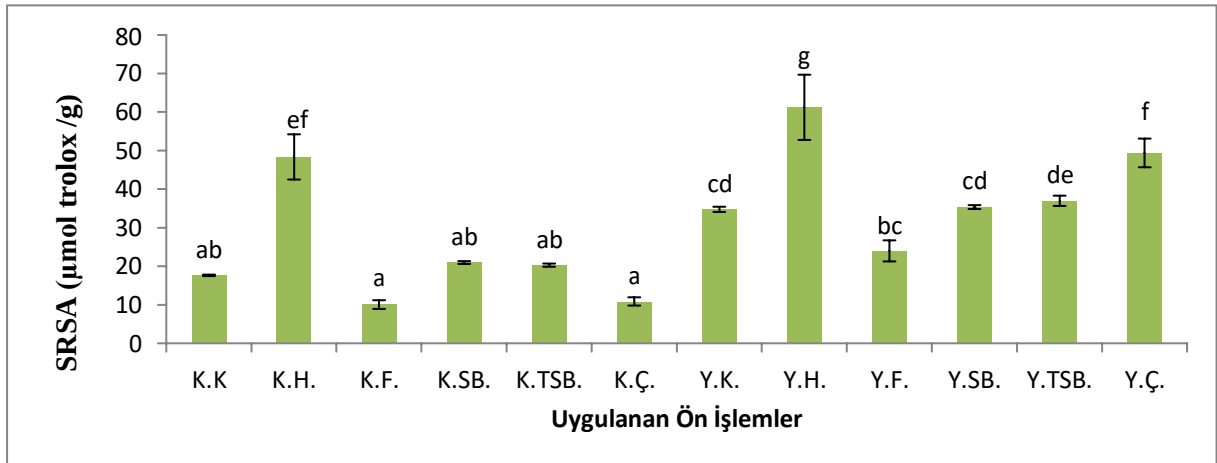
*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



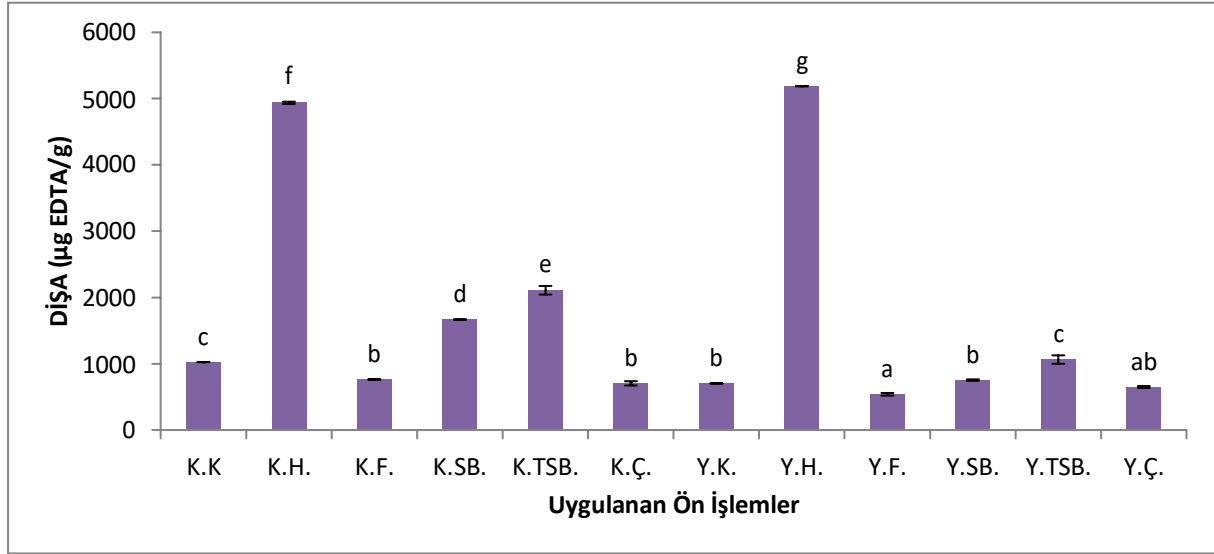
Şekil 4.11. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları toplam fenolik madde miktarı sonuçları



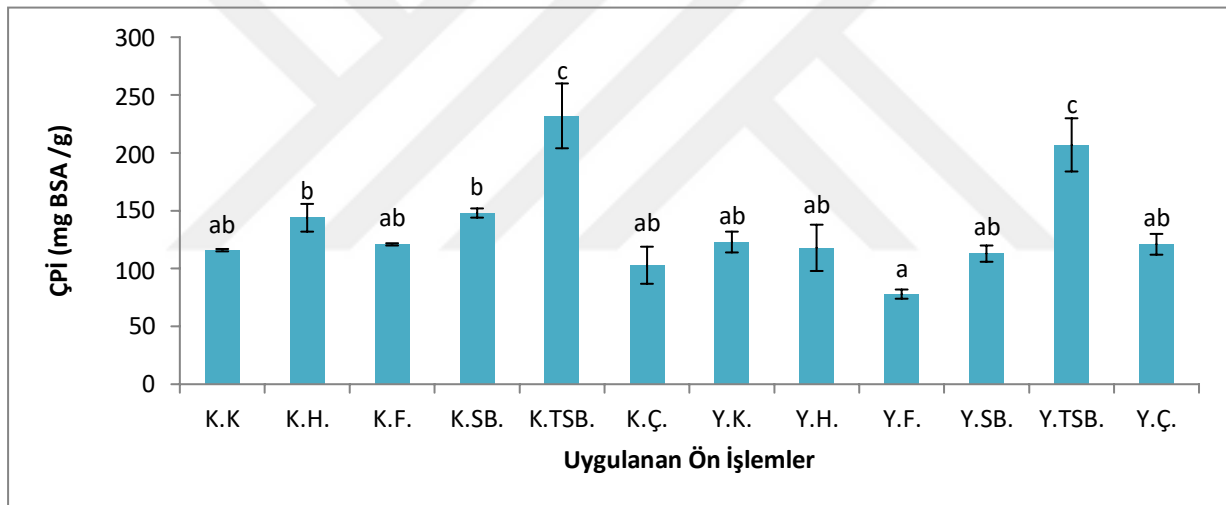
Şekil 4.12. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı sonuçları



Şekil 4.13. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi sonuçları



Şekil 4.14. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları demir iyonlarını şelatlama aktivitesi sonuçları



Şekil 4.15. Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları çözünür protein içeriği

Genellikle çimlenme esnasında gerçekleşen fenolik biyosentezi ve hücre duvarına bağlı olan fenolik bileşenlerin serbest hale geçebilmeleri sebepleri ile tohumun toplam fenolik madde içeriğinde bir artış gözlenir (Randhir, Lin ve Shatty, (2004)- Polat ve diğerleri (2020)). Polat ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmalarında, çimlenmiş mercimek tohumlarının TFEM değerinin çimlenme öncesinde 2690 µg gallik asit /g iken 5 günlük çimlenme sonucunda 16200 µg gallik asit/g'a kadar yükseldiğini bildirmişlerdir. Buna karşılık literatürdeki bazı çalışmalar çimlenme esnasında bazı bakla, fasulye ve nohut türlerinin toplam fenolik madde içeriğinde azalmalar meydana geldiğini de rapor etmişlerdir (Hayta ve İşçimen (2017); Wu ve diğerleri (2012), Polat vd (2020)). Genel olarak bakıldığında mercimek türlerinin TFEM

değerleri literatürde yayınlanan değerlerden daha yüksek bulunmuştur. Bu durumun kullanılan mercimek türündeki ya da uygulanan ekstraksiyon yöntemindeki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir. Alves magro (2020) de mercimeklerle ilgili yaptığı çalışmada su ekstrakte örneklerinde TFEM değerini 850 µg gallik asit/g olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde Aydemir (2008) yüksek lisans tezinde kırmızı ve yeşil mercimek TFEM değerlerinin 3193 ile 4312 µg gallik asit/g arasında değiştiğini ve ortalama TFEM değerlerinin ise 4032 µg gallik asit/g olduğunu rapor etmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde yeşil mercimek TFEM değerlerinin kırmızı mercimekten daha yüksek olduğunu belirlemiştir. Zhao ve diğerleri (2014)' de yaptıkları çalışmada mercimek örneği TFEM değerini 470 µg gallik asit/g bularak bizim yaptığımız çalışmaya göre oldukça düşük bir sonuç elde edilmiştir. Oomah ve diğerleri (2011)' de yaptıkları çalışmada kırmızı ve yeşil mercimekleri su ile ekstrakte edilerek TFEM değerlerini sırasıyla 15880 µg kateşin/g ve 15330 µg kateşin/g, sıcak su ile ekstrakte ederek ise sırasıyla 20830 µg kateşin/g ve 19310 µg kateşin/g olarak belirlemiştir. İfade edilen standart madde farklı olsa da bizim çalışmamızdan farklı olarak kırmızı mercimek örneklerinden daha fazla TFEM ekstrakte etmiştir. Xu ve diğerleri (2007)'de ise yaptıkları çalışmada 11 mercimek çeşidinin TFEM değerinin 4860-9600 µg gallik asit/g arasında olduğunu bildirmiştir.

Su ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı (TFLM) değerleri kırmızı mercimek örneklerinde 130 ± 6 ile 761 ± 154 µg kuersetin/g arasında, yeşil mercimek örneklerinde ise 162 ± 2 ile 444 ± 27 kuersetin/g arasında değişmiştir. Çimlendirme işlemi hariç diğer tüm işlemler kırmızı mercimek su ekstraktlarında TFLM değerlerini anlamlı şekilde artırmışlardır ($P < 0,05$). Çimlendirme işlemi %45'lik bir azalmaya sebep olmuştur ki bu sonuç TFEM değerindeki azalma ile uyumludur İlginç şekilde en büyük artış fırınlama işleminden sonra görülmüştür. Yeşil mercimek örneklerinde ise fırınlama ve tuzlu suda bekletme işlemi TFLM değerlerini anlamlı şekilde azaltırken diğer ön işlemler ise anlamlı şekilde artırmışlardır ($P < 0,05$). Kırmızı mercimekteki benzer şekilde haşlama işlemi yeşil mercimekteki TFLM'yi anlamlı şekilde artırmıştır ($P < 0,05$). Fenolik madde miktarındaki artışa benzer şekilde çimlendirme işlemi yeşil mercimeklerde TFLM'yi yaklaşık %20 artırmıştır. Aydemir (2008) yaptığı çalışmada kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin suda çözünür TFLM miktarlarını 422-721 µg epikateşin/g, ortalama ise 555 µg epikateşin/g olarak belirlemiştir. Buna karşılık, Xu ve Chang (2010)' da yaptıkları çalışmalarında 11 çeşit mercimeğin TFLM miktarının 2840-6870 µg epikateşin/g aralığında olduğunu rapor etmişlerdir. Literatürde

yapılan çalışmalarda flavonoid madde içeriği epikateşin eşleniği olarak ifade edildiğinden bizim çalışmamızın sonuçları ile kıyaslanması mümkün olmamıştır.

Su ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri bileşenlerin serbest radikal süpürme aktiviteleri (SRSA) ve demir iyonlarını şelatlama aktiviteleri (DİŞA) ile ölçülmüştür. Yapılan denemelerde, ön işlem uygulanmış yeşil mercimek su ekstraktlarının SRSA değerlerinin kırmızı mercimekten daha yüksek olduğu ve değerlerin yeşil mercimek için $23,97 \pm 2,74$ ile $61,20 \pm 8,47$ $\mu\text{mol trolox/g}$, kırmızı mercimek için de $10,05 \pm 1,12$ ile $48,33 \pm 5,86$ $\mu\text{mol trolox/g}$ aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Kırmızı mercimeğe uygulanan fırınlama ve çimlendirme işlemleri TFEM değerlerindeki benzer şekilde SRSA'da anlamlı ve dikkate değer bir azalmaya (sırasıyla %43 ve 38) yol açarken, haşlama ön işlemi ise dikkate değer bir artışa (%275) yol açmıştır ($P < 0,05$). Su ve tuzlu suda bekletme işlemleri ise kırmızı mercimekte benzer değerlerde SRSA artışlarının oluşmasına katkıda bulunmuşlardır. Yeşil mercimek örneklerinde haşlama işlemi SRSA değerini %76 arttırırken çimlendirme işlemi %42 artış sağlamıştır. Su ve tuzlu suda bekletme işlemleri daha kısıtlı ve benzer artışlar sağlarken, fırınlama işlemi yeşil mercimek su ekstraktının SRSA değerini %31 azaltmıştır ($P < 0,05$). Alves magro ve diğerleri (2020) de yaptıkları çalışmada mercimeklerin SRSA değerlerini $4,16$ $\mu\text{mol Trolox/g}$ olarak bulmuştur ve bu değer bizim çalışmamızda elde ettiğimiz değerlerden oldukça düşüktür. Aydemir (2008) ise yaptığı çalışmada kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin SRSA değerlerinin $33,51$ - $36,85$ $\mu\text{mol trolox/g}$ aralığında değiştiğini ve ortalamasının $35,07$ $\mu\text{g trolox/g}$ olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlar birbirleri ile tutarlıdır. Polat ve diğerleri (2020)' de yaptıkları ise çalışmada çimlendirilmiş mercimek örneklerinin SRSA değerlerinin $0,90$ ile $1,28$ $\mu\text{mol trolox/g}$ aralığında olduğunu tespit etmişlerdir.

Kırmızı mercimek örneklerine ait su ekstraktlarının demir iyonlarını şelatlama aktivitelerinin (DİŞA) genel olarak yeşil mercimek örneklerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir ve değerler kırmızı mercimek ekstraktlarında 702 ± 33 ile 4936 ± 17 $\mu\text{g EDTA/g}$ arasında, yeşil mercimek örneklerinde ise 537 ± 21 ile 5186 ± 2 $\mu\text{g EDTA/g}$ arasında değişmiştir. Fırınlama ve çimlendirme işlemleri kırmızı mercimek DİŞA değerlerini sırasıyla %26 ve %31 azaltırken; suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve haşlama işlemleri sırasıyla %63, %206 ve %482 arttırmıştır ($P < 0,05$). Kırmızı mercimek haşlandığından toplam fenolik bileşen içeriğinde bir miktar azalsa da flavonoid madde içeriğinde ve çözünür protein içeriğinde önemli artışlar görülmüştür. Buradan kaynaklanan artışların haşlanmış kırmızı mercimek estraktındaki

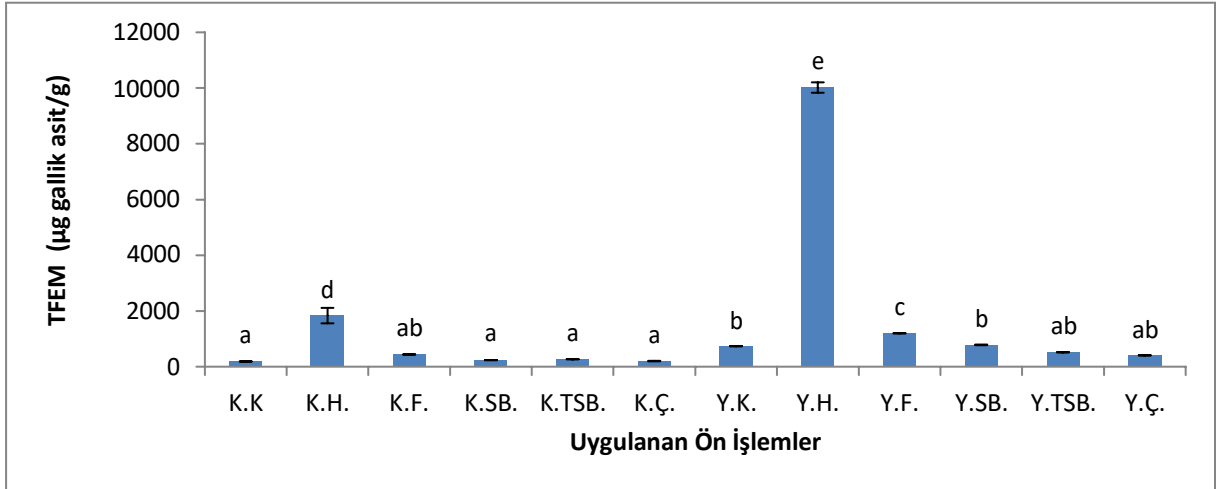
antioksidan aktivite artışlarını desteklediği düşünülmektedir. Buna karşılık fırınlama işlemi kırmızı mercimek örneklerinin toplam fenolik bileşen içeriğini önemli derecede düşürse de flavonoid madde içeriğini önemli miktarda arttırmış aynı zamanda çözünür protein içeriğinde de sınırlı bir artışa yol açmıştır. Flavonoid madde içeriğindeki önemli artışa rağmen haşlanmış kırmızı mercimekten üretilen su ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinde önemli azalmalar tespit edilmiştir. Her ikisi de ısıtma işlemi olsa da uygulama sıcaklığı ve uygulama biçimindeki farklılıklar, kırmızı mercimek fenolik bileşenlerinin ve antioksidan maddelerinin suda çözünürlüklerini ve antioksidan aktivitelerini farklı şekilde etkilemişlerdir. Literatürde kırmızı mercimek su ekstraktlarının DİŞA değerlerini bildiren herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Uygulanan farklı ön işlemler mercimek örneklerinden ekstrakte edilebilir protein miktarı üzerinde de önemli etkilere yol açmışlardır. Kırmızı mercimek çözünür protein içeriğinde (ÇPİ) çimlendirme işlemi hariç diğer ön işlemler belirgin artışlar sağlamışlardır. Ancak çimlendirme işleminde gözlenen ÇPİ azalışı ise istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P<0,05$). En yüksek artış ise tuzlu suda bekletme sonrası görülmüştür ($P<0,05$). Benzer şekilde tuzlu suda bekletme işlemi yeşil mercimek ÇPİ'sinde en yüksek artışa sebep olurken (%68), fırınlama işlemi dikkate değer bir azalışa sebep olmuştur (%37) ($P<0,05$).

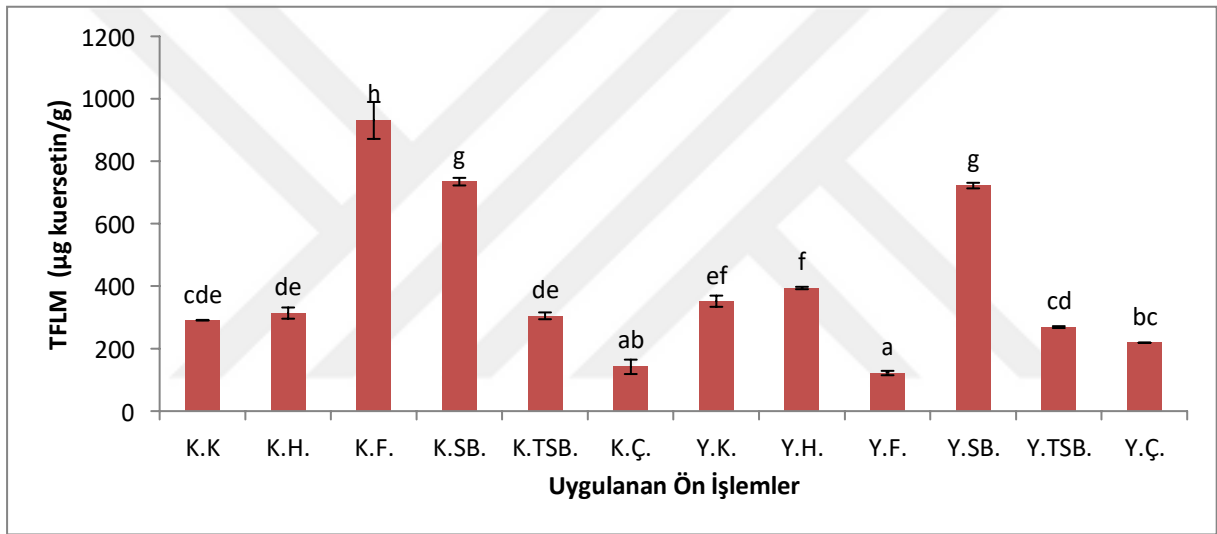
Tablo 4.10. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları analiz sonuçları

Uygulanan Ön İşlem	TFEM (μg gallik asit/g)	TFLM (μg kuersetin/g)	SRSA(μmol trolox /g)	DİŞA(μg EDTA/g örnek)	ÇPİ(mg BSA /g)
Kırmızı Mercimek					
Kontrol	186 $\pm$ 3a*	291 $\pm$ 1cde	0,90 $\pm$ 0,05a	67 $\pm$ 0cd	12 $\pm$ 0bc
Haşlama	1830 $\pm$ 278d	314 $\pm$ 18de	1,32 $\pm$ 0,03ab	343 $\pm$ 1g	10 $\pm$ 2abc
Fırınlama	437 $\pm$ 10ab	931 $\pm$ 59h	1,60 $\pm$ 0,00ab	74 $\pm$ 0d	8 $\pm$ 1abc
Suda Bekletme	234 $\pm$ 5a	735 $\pm$ 12g	1,21 $\pm$ 0,13ab	73 $\pm$ 0cd	6 $\pm$ 0ab
Tuzlu Suda Bekletme	264 $\pm$ 1a	305 $\pm$ 11de	0,84 $\pm$ 0,03a	34 $\pm$ 1a	4 $\pm$ 0a
Çimlendirme	200 $\pm$ 10a	142 $\pm$ 23ab	1,24 $\pm$ 0,12ab	107 $\pm$ 3e	25 $\pm$ 6d
Yeşil Mercimek					
Kontrol	735 $\pm$ 6b	352 $\pm$ 18ef	0,84 $\pm$ 0,05a	56 $\pm$ 1bc	15 $\pm$ 1c
Haşlama	10017 $\pm$ 186e	394 $\pm$ 4f	6,91 $\pm$ 1,76d	137 $\pm$ 15f	10 $\pm$ 1abc
Fırınlama	1198 $\pm$ 7c	122 $\pm$ 7a	0,52 $\pm$ 0,08cd	74 $\pm$ 0d	10 $\pm$ 1abc
Suda Bekletme	781 $\pm$ 12b	722 $\pm$ 9g	6,43 $\pm$ 1,67cd	69 $\pm$ 0cd	8 $\pm$ 0abc
Tuzlu Suda Bekletme	521 $\pm$ 1ab	269 $\pm$ 3cd	3,82 $\pm$ 0,14bc	43 $\pm$ 1ab	5 $\pm$ 0ab
Çimlendirme	406 $\pm$ 3ab	219 $\pm$ 0bc	2,34 $\pm$ 0,14ab	109 $\pm$ 0e	10 $\pm$ 1abc

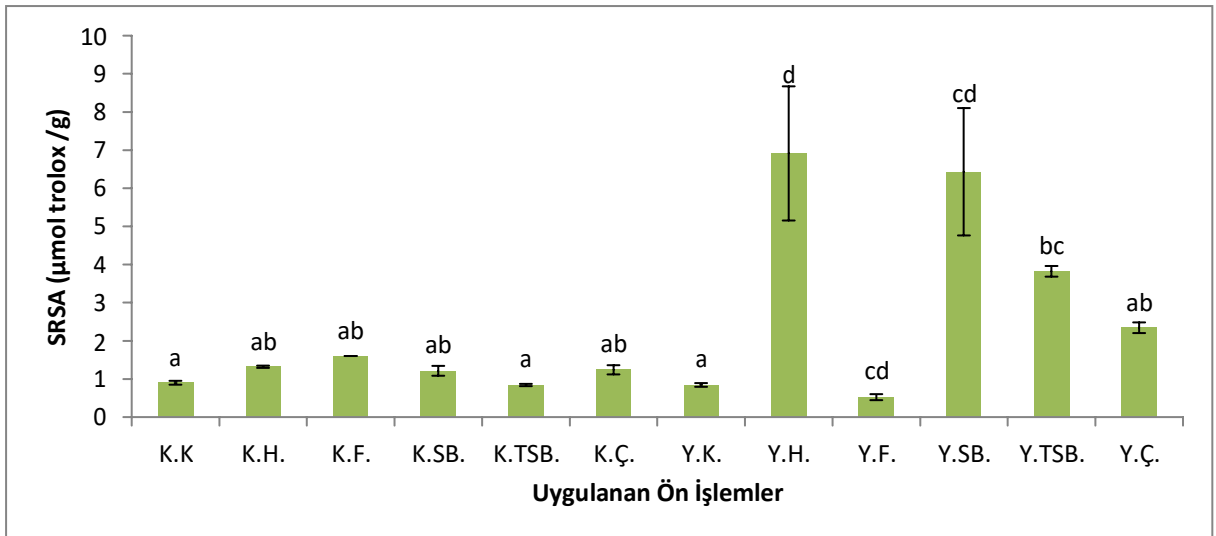
*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



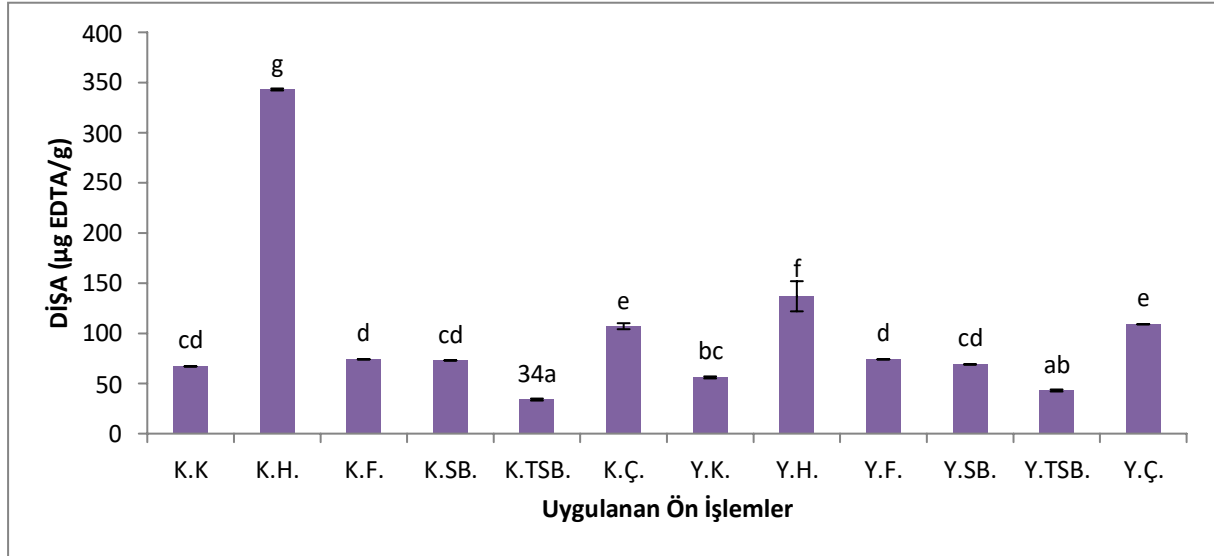
Şekil 4.16. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları toplam fenolik madde miktarı



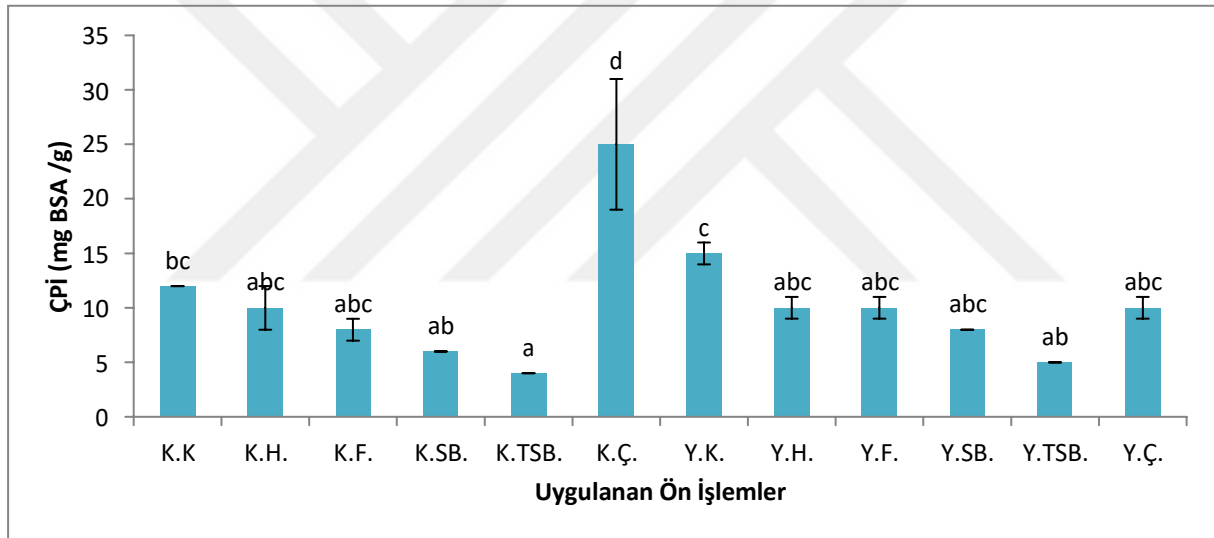
Şekil 4.17. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları toplam flavonoid madde sonuçları



Şekil 4.18. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi



Şekil 4.19. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları demir iyonları şelatlama aktivitesi



Şekil 4.20. Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları çözünür protein içeriği

Alkol ile ekstrakte edilen kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde TFEM değerleri 186 ± 3 ile 10017 ± 186 µg gallik asit/g arasında değişmiştir (Tablo 4.10.), (Şekil 4. 16.). Yeşil mercimek örneklerinin kırmızı mercimek ile kıyaslandığında dikkate değer miktarda alkolde çözünen fenolik bileşen içerdiği görülmüştür. Haşlama işlemi yeşil mercimek alkol ekstraktının TFEM değerini yaklaşık 13,6 kat arttırmıştır. Fırınlama işlemi de anlamlı bir artış sağlarken (%63) suda bekletme işleminde görülen hafif artış istatistiksel olarak anlamsız olarak hesaplanmıştır ($P < 0,05$). Tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri ise alkolde çözünen yeşil mercimek fenoliklerinde azalmaya sebep olmuştur. Kırmızı mercimeğin alkolde çözünen TFEM değeri yeşil mercimeğin 4'te 1' kadardır ve uygulanan tüm ön işlemler kırmızı mercimeğin alkolde

çözünen fenolik bileşen miktarını artırmıştır. Yine en büyük ve anlamlı artış haşlama işleminden sonra gerçekleşmiştir (yaklaşık 10 kat) ($P<0,05$). Haşlama işlemini fırınlama takip etmiştir. Suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemlerinin TFEM değerinin artışına yaptıkları katkı ise sınırlı olmuştur. Sonuçlar göstermiştir ki haşlama ve fırınlama gibi ısıl işlemler suda çözünür fenolik bileşen miktarını azaltırken alkolde çözünür fenolik bileşen miktarını önemli derecede arttırmıştır. Ancak haşlama işlemi TFEM’de gösterdiği yüksek artışı TFLM değerlerinde göstermemiştir. Alkolde çözünen flavonoidler açısından değerlendirildiğinde en büyük artışı kırmızı mercimek için 142 ± 23 ile 931 ± 59 μg kuersetin/g arasında, yeşil mercimek için de 122 ± 7 ile 722 ± 9 μg kuersetin/g arasında değişmiştir (Şekil 4. 17.). Fırınlama işlemi yeşil mercimek TFLM değerini %65 azaltmıştır ki bu durumda göstermiştir ki yeşil mercimek kırmızı mercimeğe kıyasla daha fazla ısıya dayanıksız alkolde çözünür flavonoid bileşen içermektedir. Ancak kırmızı mercimek açısından değerlendirildiğinde, fırınlama işleminin alkole ekstrakte edilebilir flavonoid miktarında yaklaşık 3,2 kat artış sağladığı görülmüştür. Bu sonuçlara göre uygulanan ön işlemlerin farklı mercimek türlerinde farklı etkilere yol açabildiği düşünülmektedir. Ön işlemler arasında en dikkate değer artışı suda bekletme ön işlemi sağlamıştır. Kırmızı mercimek için yaklaşık 2,5 kat, yeşil mercimek için de yaklaşık 2,1 kat artış olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan rehidrasyonla yumuşayan dokulardan doku içi bileşenlerin çok daha kolay ve yüksek verimde ekstrakte edilebildiği görülmüştür. Çimlendirme işlemi de her iki mercimek türünde alkolde çözünür TFLM değerlerini anlamlı şekilde azaltmıştır ($P<0,05$). Yapılan literatür incelemesinde Kanada’da yetiştirilen 20 çeşit mercimek örneklerinin %0,1 HCL içeren %70 metanolde hazırlanan TFEM değerlerinin gallik asit cinsinden ortalama 4560 ile 8340 μg GAE/ g olduğu TFLM değerlerinin de kateşin cinsinden ortalama 600 ile 1980 μg CAE/ g olduğu bildirilmiştir (Zhang ve diğerleri (2014)). Zhang ve diğerleri (2018)’ de çözücü olarak aseton kullanıp yaptıkları çalışmada 5, 10, 15 dakika ısıl işlem uygulayarak elde ettiği ekstraktların TFEM değerlerini sırasıyla 1630, 1790 ve 1730 μg gallik asit/g bulmuştur. Bu çalışmaya kıyasla etanol ile ekstrakte edilmiş haşlanan kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin TFEM değerleri bizim çalışmamızda daha yüksek bulunmuştur. Xu ve diğerleri (2008)’ de yaptıkları çalışmada suda bekletilen, haşlanan ve işlem görmemiş mercimeklerin TFEM değerlerini sırasıyla 4560 μg gallik asit/g, 3240 μg gallik asit/g ve 7340 μg gallik asit/g bulmuştur. Yapılan çalışmada uygulanan ön işlemler TFEM değerlerinde azalışa neden olmuştur. Alves magro (2020)’ de yaptığı çalışmada da üretilen ekstraktın TFEM değerinin 1900 μg gallik asit/g olduğunu bildirmiştir. Yaptığımız çalışmaya göre daha yüksek sonuçlar

elde edilmiştir. Sun ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmada TFEM 1400 – 20100 µg gallik asit /g arasında olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde Oomah ve diğerleri (2011)' de yaptıkları çalışmada kırmızı ve yeşil mercimekleri %70' lik aseton ekstraktlarında elde ettiği TFEM değerleri kırmızı ve yeşil mercimekler için sırasıyla 12620 µg kateşin/g ve 10310 µg kateşin/g, %80'lik etanol ile elde ettikleri sonuçlar ise sırasıyla 5190 µg kateşin/g ve 5040 µg kateşin/g olarak verilmiştir. Amarowicz ve diğerleri (2009)' da yaptıkları çalışmada %80'lik aseton mercimek ekstraktlarında TFEM değerini 58000 µg kateşin/g olarak bulmuştur. Toplam fenolik bileşiklerdeki farklılıkların ekotip, yetiştirildikleri coğrafi bölge ve farklı ekstraksiyon koşullarından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir (Fратиanni ve diğerleri (2014)). Fratianni ve diğerleri (2014)'de yaptıkları çalışmada mercimek örneklerinin TFEM 1594-1098 µg gallik asit/g arasında çıktığını, Han ve baik (2008)' de yaptıkları çalışmada Pardina ve Crimson mercimek çeşitlerinin TFEM sırasıyla 1200 µg gallik asit/g, 1180 µg gallik asit/g olarak, Amarowicz ve diğerleri (2004)'de ise %80' lik etanol ekstraktında TFEM değerlerinin kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde sırasıyla 58 mg kateşin /g, 67 mg kateşin /g olarak elde edildiğini bildirmişlerdir.

Mercimek örneklerinden elde edilen alkol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri oldukça düşük bulunmuştur. Kırmızı mercimek alkol ekstraktı SRSA'sı $1,60 \pm 0,00$ ile $0,84 \pm 0,03$ arasında değişirken, yeşil mercimekte değerler $6,91 \pm 1,76$ ile $0,52 \pm 0,08$ µmol trolox /g arasında değişmiştir (Şekil 4. 18.). Su ekstraktları ile kıyaslandığında SRSA değerleri oldukça düşüktür Bu sonucun elde edilmesinde en büyük etkini ekstrakte edilebilir fenolik bileşen miktarındaki düşüş olduğu düşünülmektedir. Ayrıca SRSA analiz yönteminde kullanılan ABTS radikal çözeltisi su içerisinde hazırlanan bir çözeltidir ve alkolde çözünen bileşenlerin antioksidan aktivite tayini çok uygun olmayabilir. SRSA aktivitesi düşük olmasına rağmen tuzlu suda bekletme haricindeki diğer işlemler kırmızı mercimek alkol ekstraktının SRSA'nın istatistiksel olarak anlamsız şekilde arttırmışlarıdır ($P < 0,05$). Yeşil mercimek alkol ekstraktları arasında da fırınlama işlemli SRSA'yı anlamlı şekilde azaltırken diğer tüm ön işlemler anlamlı şekilde arttırmıştır ($P < 0,05$). Benzer şekilde DİŞA sonuçları da su ekstraktları DİŞA sonuçları ile kıyaslandığında oldukça düşüktür. Genel olarak kırmızı mercimek alkol ekstraktları daha yüksek DİŞA değerlerine sahip olmuşlardır. Özellikle haşlama ön işlemi hem kırmızı hem de yeşil mercimeğin alkolde çözünen antioksidan maddelerinde anlamlı artışlara sebep olmuştur (Şekil 4. 19.), ($P < 0,05$). Haşlama işlemini çimlendirme işlemi takip etmiştir. Diğer ön işlemler de hafif artış ve azalışlara yol açsalar da

bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı değildir ($P<0,05$). Literatür incelendiğinde bazı çalışmalara erişilmiştir. Alves magro ve diğerleri (2020) de yaptıkları çalışmada ekstraktın antioksidan aktivitesini $7,05 \mu\text{mol trolox/g}$ olarak bulmuştur. Bizim çalışmamız ile kıyaslandığında daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Han ve Baik (2008)'de ise Pardina ve Crimson mercimek çeşitlerinde SRSA değerlerini sırasıyla $2,6\mu\text{M Trolox/g}$ ve $2,1 \mu\text{M Trolox/g}$ olarak tespit etmiştir. Bizim çalışmamızla benzer şekilde Amarowicz ve diğerleri (2014)' de kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri SRSA değerlerini sırası ile $0,68 \mu\text{mol trolox/g}$ ve $0,75 \mu\text{mol trolox/g}$ olarak saptanmıştır.

Alkol ekstraktlarının suda çözünür protein değerleri beklendiği gibi düşük çıkmıştır. ÇPI değerleri 4 ± 0 ile $25\pm6 \text{ mg BSA/g}$ arasında değişmiştir (Şekil 4. 20.).

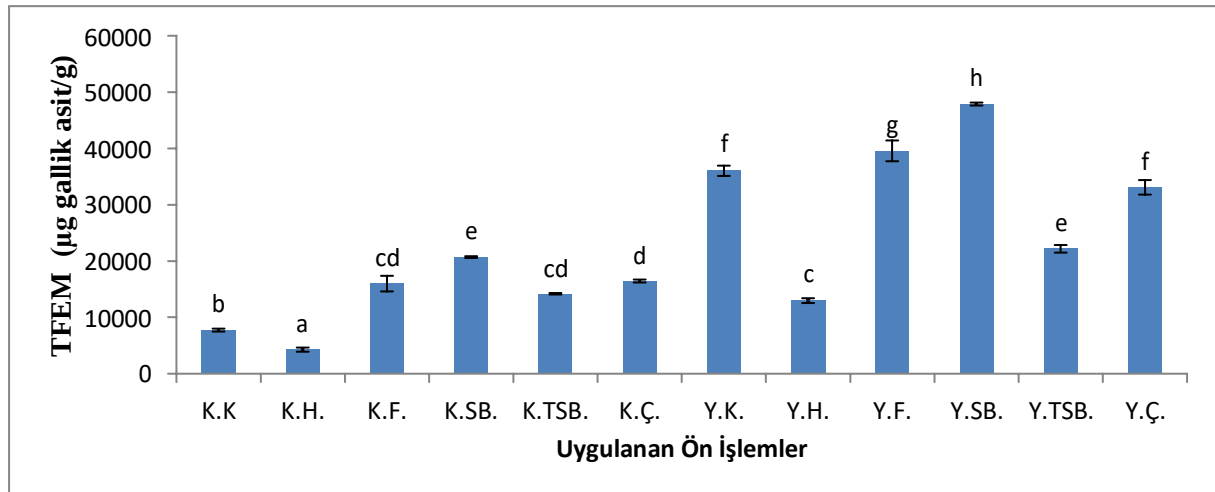
4.4.2. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinden Elde Edilen Protein Ekstraktlarının Kimyasal Analizleri

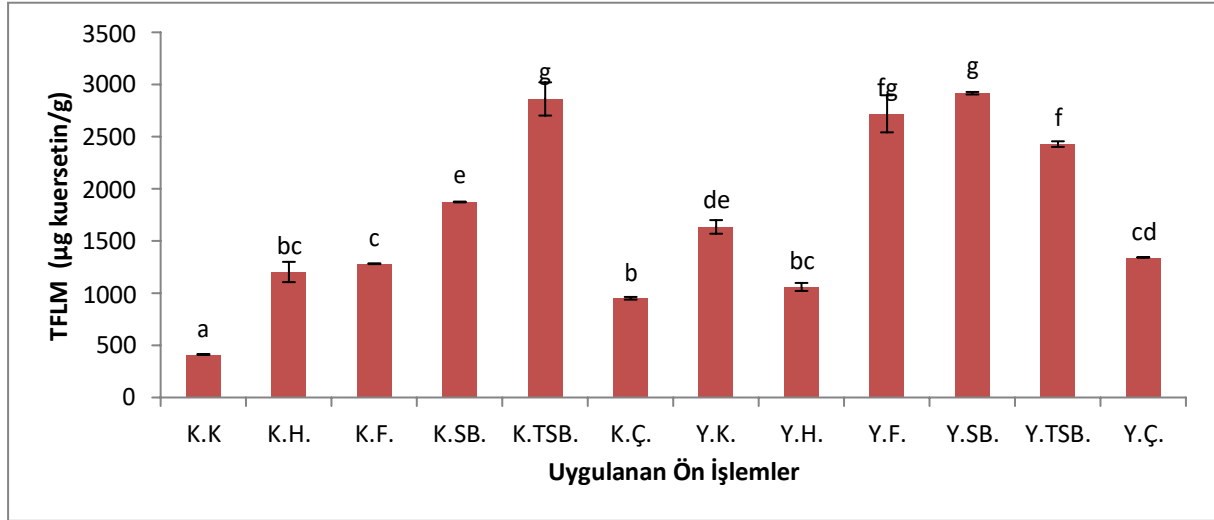
Ön işlem görmüş mercimek proteinlerinden izoelektrik noktada çöktürme ile üretilen protein ekstraktına ait toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, serbest radikal süpürme aktivitesi, toplam protein içeriği (TPI) ve çözünür protein içeriği analizleri liyofilizasyon öncesi sıvı formdaki ve liyofilizasyon sonrası katı formdaki ekstraktlarda gerçekleştirilmiştir (Tablo 4.11 ve 4.12).

Tablo 4.11. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları analiz sonuçları

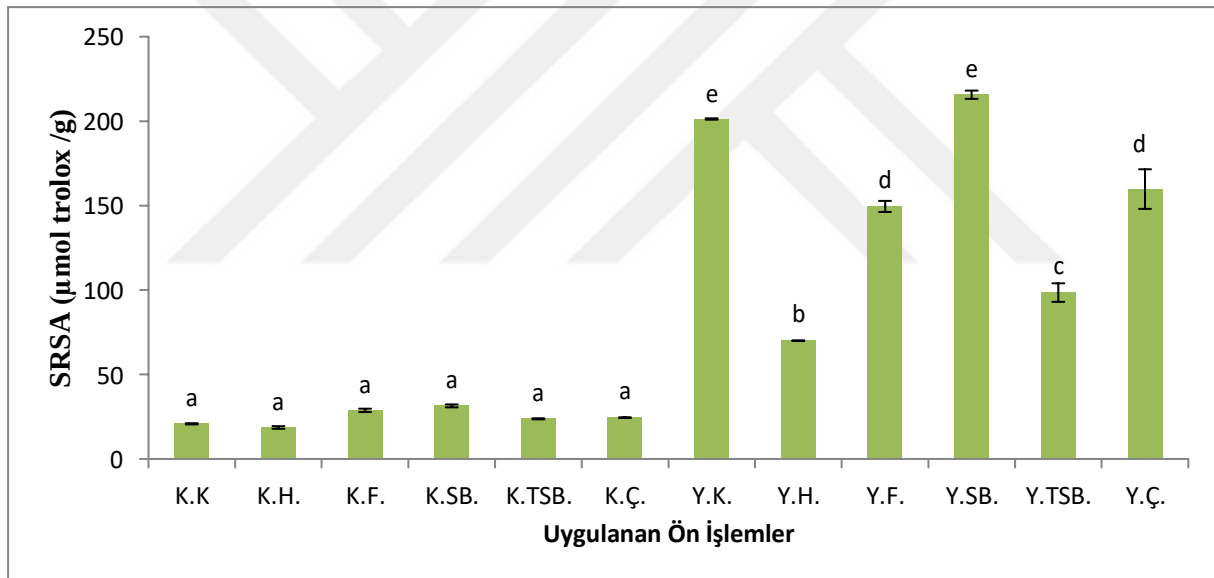
Uygulanan Ön İşlem	TFEM (μg gallik asit/g)	TFLM (μg kuersetin/g)	SRSA(μmol trolox /g)	TPİ (g protein/100 g örnek)	ÇPİ(mg BSA /g)
Kırmızı Mercimek					
Kontrol	7756 $\pm$ 257b*	411 $\pm$ 5a	20,81 $\pm$ 0,35a	2,89 $\pm$ 0,03b	305 $\pm$ 11b
Haşlama	4289 $\pm$ 360a	1203 $\pm$ 97bc	18,57 $\pm$ 0,81a	1,47 $\pm$ 0,01a	112 $\pm$ 1a
Fırlama	16013 $\pm$ 1378cd	1281 $\pm$ 4c	28,80 $\pm$ 0,96a	7,15 $\pm$ 0,05e	435 $\pm$ 4cd
Suda Bekletme	20727 $\pm$ 147e	1873 $\pm$ 4e	31,44 $\pm$ 0,86a	10,18 $\pm$ 0,11f	482 $\pm$ 6e
Tuzlu Suda Bekletme	14196 $\pm$ 126cd	2862 $\pm$ 159g	23,79 $\pm$ 0,30a	6,08 $\pm$ 0,01d	404 $\pm$ 19cd
Çimlendirme	16457 $\pm$ 257d	951 $\pm$ 13b	24,48 $\pm$ 0,05a	7,09 $\pm$ 0,36e	330 $\pm$ 12b
Yeşil Mercimek					
Kontrol	36048 $\pm$ 906f	1635 $\pm$ 65de	201,30 $\pm$ 0,38e	6,41 $\pm$ 0,08d	451 $\pm$ 12de
Haşlama	12974 $\pm$ 431c	1060 $\pm$ 38bc	70,03 $\pm$ 0,15b	1,44 $\pm$ 0,01a	108 $\pm$ 6a
Fırlama	39557 $\pm$ 1852g	2718 $\pm$ 178fg	149,51 $\pm$ 3,28d	10,11 $\pm$ 0,01f	490 $\pm$ 28e
Suda Bekletme	47878 $\pm$ 267h	2917 $\pm$ 12g	215,61 $\pm$ 2,47e	11,62 $\pm$ 0,23g	580 $\pm$ 3f
Tuzlu Suda Bekletme	22194 $\pm$ 669e	2428 $\pm$ 27f	98,47 $\pm$ 5,48c	6,15 $\pm$ 0,05d	450 $\pm$ 7de
Çimlendirme	33082 $\pm$ 1292f	1342 $\pm$ 1cd	159,74 $\pm$ 11,72d	4,99 $\pm$ 0,6c	395 $\pm$ 8c

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).

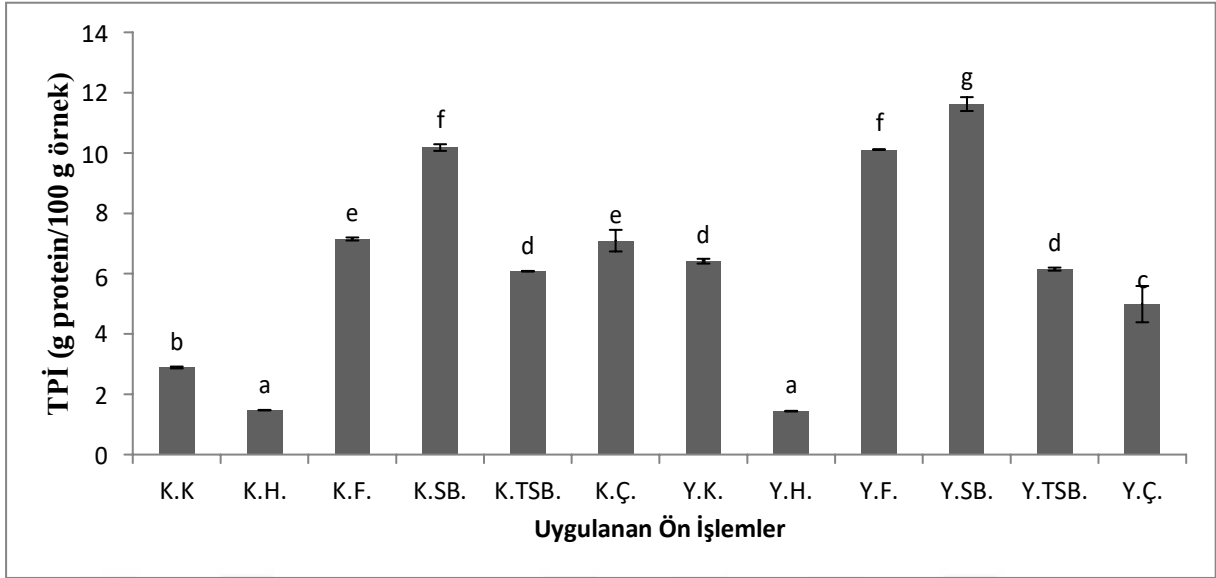
**Şekil 4.21.** Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam fenolik madde miktarı



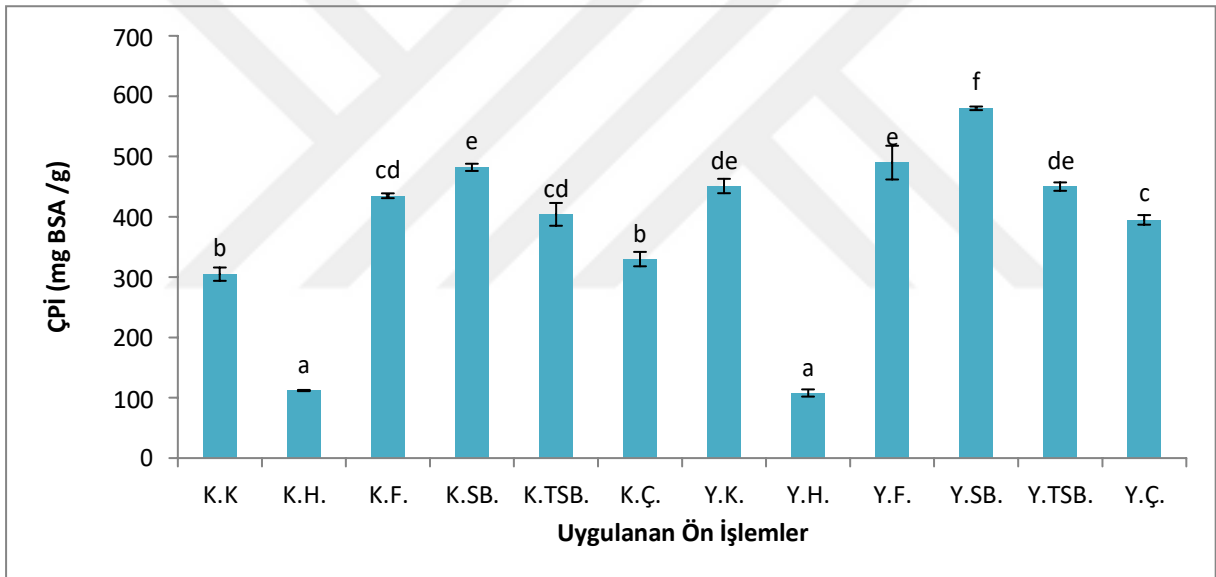
Şekil 4.22. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı



Şekil 4.23. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam serbest radikalleri süpürme aktivitesi



Şekil 4.24. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları toplam protein miktarı



Şekil 4.25. Kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları çözünür protein içeriği

Analiz sonuçları kuru mercimek ağırlığı cinsinden verilmiştir. Yapılan tüm analizlerde yeşil mercimek protien ekstraktlarına ait sonuçlar kırmızı mercimekten daha yüksek bulunmuştur ($P<0,05$). Kontrol yeşil mercimek TFEM (Şekil 4.21.), TFLM (Şekil 4. 22.), SRSA (Şekil 4. 23.), TPİ (Şekil 4. 24.) ve ÇPİ (Şekil 4. 25.) değerleri kırmızı mercimek örneğinden sırasıyla 4,6 kat, 4,0 kat, 9,7 kat, 2,2 kat ve 1,5 kat daha fazla ölçülmüştür (Tablo 4.11.).

Mercimek sıvı ekstraktlarının toplam ve suda çözünür protein incelendiğinde yeşil mercimek ekstraktlarının protein içeriklerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Kırmızı mercimek TPİ değerleri $1,47\pm0,01$ ile $10,18\pm0,11$ g protein/100 g örnek arasında değişiyorken, yeşil

mercimek TPİ değerleri $1,44\pm0,01$ ile $11,62\pm0,23$ g protein/100 g örnek arasında değişmiştir (Şekil 4. 24.). Haşlama işlemi sonucunda önemli miktarda protein kaybolurken, fırınlama ve suda bekletme ön işlemleri kırmızı ve yeşil mercimekte daha çok proteinin su fazına ekstrakte edilmesini sağlamışlardır. Suda bekletme işlemi kırmızı mercimekteki 3.5 kat daha fazla proteinin ekstrakte edilmesini sağlarken yeşil mercimekte bu oran 1.8 kat olarak hesaplanmıştır. Kontrol yeşil mercimekten kırmızı mercimeğe kıyasla ekstrakte edilebilen protein miktarı yaklaşık 2,2 kat daha fazla iken, uygulanan suda bekletme ($10,18\pm0,11$ ve $11,62\pm0,23$) ve tuzlu suda bekletme ($11,62\pm0,23$ ve $6,15\pm0,05$) ön işlemleri ile mercimek türlerinden bağımsız yaklaşık aynı miktarlarda protein su fazına ekstrakte edilmiştir. Çimlendirme işlemi kırmızı mercimekten protein ekstraksiyon verimini önemli derecede arttırırken yeşil mercimek de önemli derecede azalmaya yol açmıştır ($P<0,05$). Sıvı protein ekstraktlarında bulunan ÇPİ değerleri de uygulanan ön işlemler sonucu farklılıklar göstermiştir (Şekil 4. 25.). Artan TPİ değerlerine benzer şekilde fırınlama, suda bekletme ve tuzlu suda bekletme işlemleri kırmızı mercimek ekstraktlarında anlamlı ÇPİ artışları sağlarken haşlama ön işlemi anlamlı azalışa yol açmıştır ($P<0,05$). Çimlendirme işlemi ise hafif bir artış sağlamıştır. Yeşil mercimek sıvı protein ekstraktları da TPİ değerlerine benzer şekilde uygulanan farklı ön işlemler sonucunda değişen ÇPİ değerlerine sahip olmuşlardır. Haşlama ve çimlendirme işlemleri ÇPİ değerlerinde anlamlı azalmalara sebep olurken, fırınlama işlemi kısmi, suda bekletme işlemi ise anlamlı bir artış sağlamışlardır ($P<0,05$). Tuzlu suda bekletme işlemi ise ÇPİ değerinin değişmesi üzerine bir etkisi olmamıştır. TPİ ve ÇPİ değerlerinin ekstraktların TFEM ve SRSA değerleri üzerine olumlu katkılarının olduğu da bilinmektedir (Tablo 4. 11).

TFEM değerleri kırmızı mercimek sıvı protein ekstraktları için 4289 ± 360 ile 20727 ± 147 µg gallik asit/g arasında değişmiştir. Haşlama ön işlemi anlamlı şekilde TFEM değerini %45 azaltırken, diğer tüm ön işlemler anlamlı şekilde artışlar sağlamışlardır ($P<0,05$), (Şekil 4. 21.). En yüksek artış suda bekletme işlemi ile sağlanırken (%267), onu sırasıyla çimlendirme (%212), fırınlama (%206) ve tuzlu suda bekletme (%183) işlemleri takip etmiştir. Benzer şekilde haşlama ön işlemi yeşil mercimek sıvı protein ekstraktının TFEM değerini %65 azaltmıştır ancak bu değerde bile TFEM değeri haşlanmış kırmızı mercimeğin yaklaşık 3 katı kadar olmuştur. Fırınlama ve suda bekletme işlemleri anlamlı artışlar sağlarken), haşlama, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının TFEM değerlerinde anlamlı azalışlara yol açmışlardır ($P<0,05$). Tüm örnekler arasında suda

bekletme işleminin ekstrakte edilebilir TFEM değerlerindeki en büyük artışları sağladıkları görülmüştür.

Uygulanan tüm ön işlemler kırmızı mercimek sıvı protein ekstraktlarının TFLM değerlerini anlamlı şekilde arttırmışlardır (Şekil 4. 22.). TFLM değerleri kırmızı mercimek için 411 ± 5 ile 2862 ± 159 μg kuersetin/g arasında değişmektedir (Tablo 4.11.). Haşlama işlemi TFEM de büyük bir azalmaya yol açarken TFLM’de yaklaşık %300 artış sağlamıştır ($P < 0,05$). Bu sonuçlarda göstermiştir ki haşlama esnasında ısı etkisi ile önemli bir fenolik bileşen grubu zarar görebiliyorken, daha çok flavonoid bileşenini suya ekstrakte edilebilmesini sağlamıştır. Benzer bir yaklaşım fırınlama işleminde de tespit edilmiştir. Fırınlama esnasında oluşan yeni fenolik bileşenler ortamın TFEM değerini 2,1 kat artırırken, TFLM değerini 3,1 kat arttırmıştır. Isı etkisinin daha çok flavonoidin dokulardan suya ekstrakte olmasına katkı sağladığı açıkça görülmüştür. TFLM değerlerindeki en büyük artışı tuzlu suda bekletme işlemi sağlamıştır ($P < 0,05$). Yeşil mercimek örneklerinde de TFEM sonuçlarına benzer sonuçlar elde edilmiştir ve değerler 1060 ± 38 ile 2917 ± 12 μg kuersetin/g arasında değişmiştir. Yeşil mercimek sıvı protein ekstraktı TFLM değerleri haşlama ön işlemi ile %35 azalma gösterirken, çimlendirme işleminin azalmaya etkisi %18 olmuştur ($P < 0,05$). Fırınlama ve suda bekletme işlemleri ise TFEMdeki sonuçlarla uyumlu şekilde TFLM’de de artışlar sağlamıştır ancak tuzlu suda bekletme işlemi yeşil mercimek sıvı protein ekstraktının TFEM’inin azaltırken TFLM’sini 1,5 kat arttırmıştır ($P < 0,05$).

Sıvı protein ekstraktları analiz yönteminin prensibinden kaynaklı deney esnasında bulanıklık oluşturmaları sebebiyle DİŞA değerleri ölçülememiştir. Antioksidan aktivite olarak sadece SRSA değerleri elde edilmiştir ve bu değerler kırmızı mercimek ekstraktları için $18,57 \pm 0,81$ ile $31,44 \pm 0,86$ μM Trolox/g arasında, yeşil mercimek için de $70,03 \pm 0,15$ ile $215,61 \pm 2,47$ μM Trolox/g arasında değişmiştir (Tablo 4.11.), (Şekil 4. 23.). Kırmızı ve yeşil mercimek protein ekstraktları birlikte değerlendirildiğinde ön işlemlerin kırmızı mercimek ekstraktı SRSA’sında yol açtığı artış ve azalışlar anlamlı bulunmamıştır ($P < 0,05$). Elde edilen sonuçlara göre haşlama işlemi hariç diğer tüm ön işlemler artışa yol açmışlardır. Yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının SRSA’ları ile uygulanan ön işlemlere göre anlamlı değişimlere sahip olmuşlardır ($P < 0,05$). Uygulanan tüm ön işlemler yeşil mercimek SRSA’larını azaltmıştır ve en büyük azalış haşlanmış ve tuzlu suda bekletilmiş mercimek örneklerinde sırasıyla %65 ve %51 oranlarında görülmüştür. Çimlendirme %20, fırınlama %26 kadar anlamlı şekilde

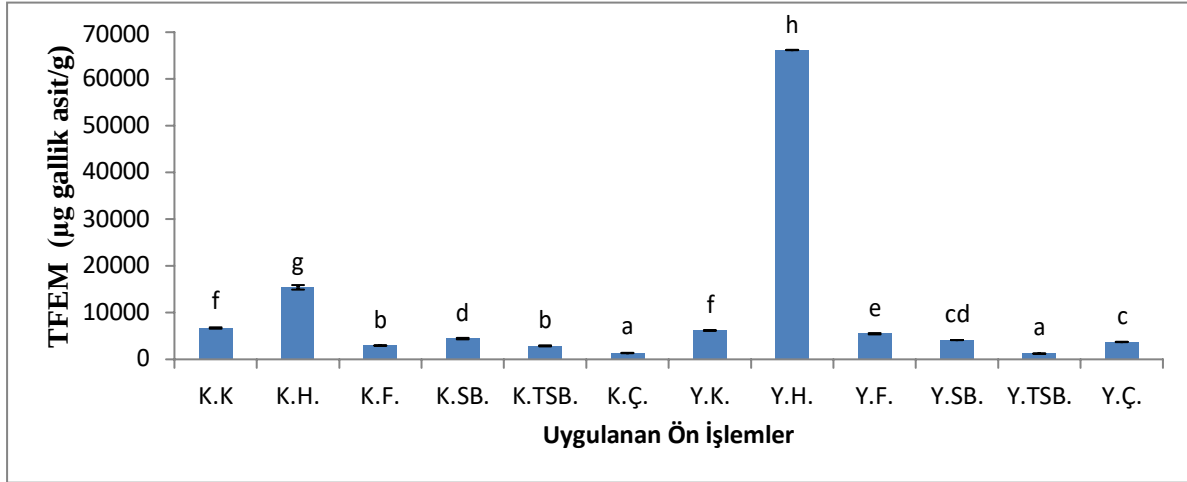
azaltırken, suda bekletme yeşil mercimek sıvı protein ekstraktını %7 oranında ama istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış sağlamıştır ($P<0,05$).

Yapılan literatür incelemesinde mercimeklerin sıvı protein ekstraktları ile ilgili yapılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

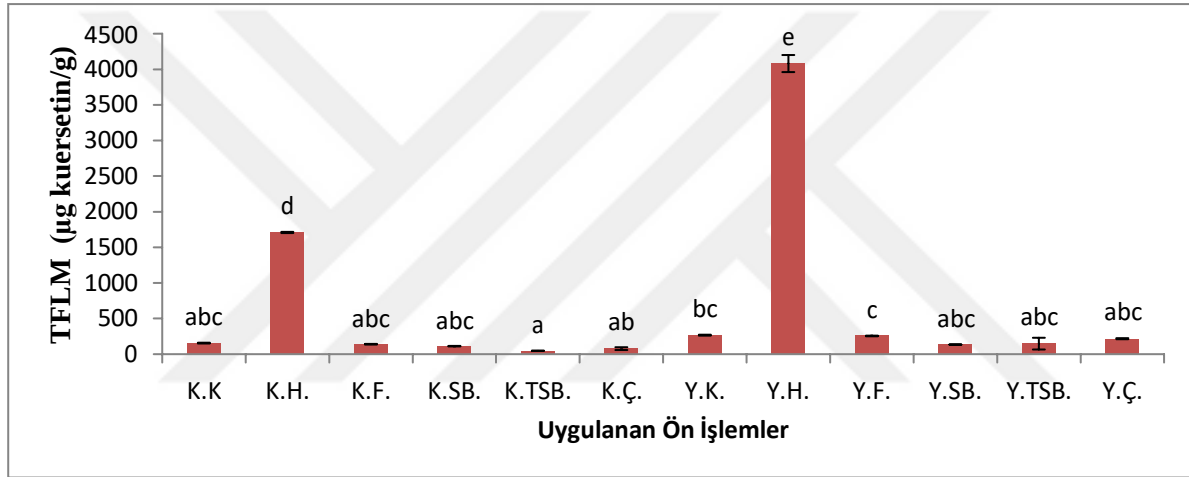
Tablo 4.12. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları analiz sonuçları

Uygulanan Ön İşlem	TFEM (μg gallik asit/g)	TFLM (μg kuersetin/g)	SRSA(μmol trolox /g)	DiŞA(μg EDTA/g örnek)	Toplam Protein İçeriği (%)	ÇPI(mg BSA /g)
Kırmızı Mercimek						
Kontrol	6717 $\pm$ 139f*	155 $\pm$ 6abc	21,20 $\pm$ 0,32a	15516 $\pm$ 366g	40,85 $\pm$ 1,78a	183 $\pm$ 7d
Haşlama	15411 $\pm$ 479g	1708 $\pm$ 9d	95,09 $\pm$ 5,86b	2573 $\pm$ 42d	50,51 $\pm$ 0,71abc	312 $\pm$ 12e
Fırınlama	2944 $\pm$ 44b	139 $\pm$ 5abc	14,33 $\pm$ 1,57a	1667 $\pm$ 10c	84,35 $\pm$ 13,67d	57 $\pm$ 4ab
Suda Bekletme	4441 $\pm$ 164d	112 $\pm$ 4abc	12,16 $\pm$ 1,55a	1056 $\pm$ 1ab	82,54 $\pm$ 3,15d	329 $\pm$ 5e
Tuzlu Suda Bekletme	2881 $\pm$ 117b	49 $\pm$ 2a	8,12 $\pm$ 0,48a	823 $\pm$ 5a	76,05 $\pm$ 0,02cd	33 $\pm$ 1a
Çimlendirme	1337 $\pm$ 46a	79 $\pm$ 19ab	11,65 $\pm$ 1,14a	1660 $\pm$ 7c	51,81 $\pm$ 0,06abc	72 $\pm$ 1abc
Yeşil Mercimek						
Kontrol	6182 $\pm$ 90f	268 $\pm$ 6bc	28,41 $\pm$ 0,63a	14901 $\pm$ 226f	51,87 $\pm$ 4,65abc	95 $\pm$ 13bc
Haşlama	66206 $\pm$ 42h	4082 $\pm$ 120e	247,01 $\pm$ 28,43c	4825 $\pm$ 23e	42,70 $\pm$ 1,48ab	594 $\pm$ 18f
Fırınlama	5481 $\pm$ 138e	257 $\pm$ 4c	26,43 $\pm$ 0,07a	1495 $\pm$ 4bc	80,47 $\pm$ 2,18d	120 $\pm$ 41c
Suda Bekletme	4103 $\pm$ 21cd	135 $\pm$ 0abc	22,81 $\pm$ 2,32a	1604 $\pm$ 3c	74,72 $\pm$ 1,90cd	72 $\pm$ 1abc
Tuzlu Suda Bekletme	1232 $\pm$ 59a	147 $\pm$ 83abc	11,08 $\pm$ 0,23a	1178 $\pm$ 7abc	58,65 $\pm$ 4,06abcd	47 $\pm$ 2ab
Çimlendirme	3728 $\pm$ 40c	218 $\pm$ 8abc	24,25 $\pm$ 0,87a	1659 $\pm$ 15c	67,46 $\pm$ 16,97bcd	80 $\pm$ 13abc

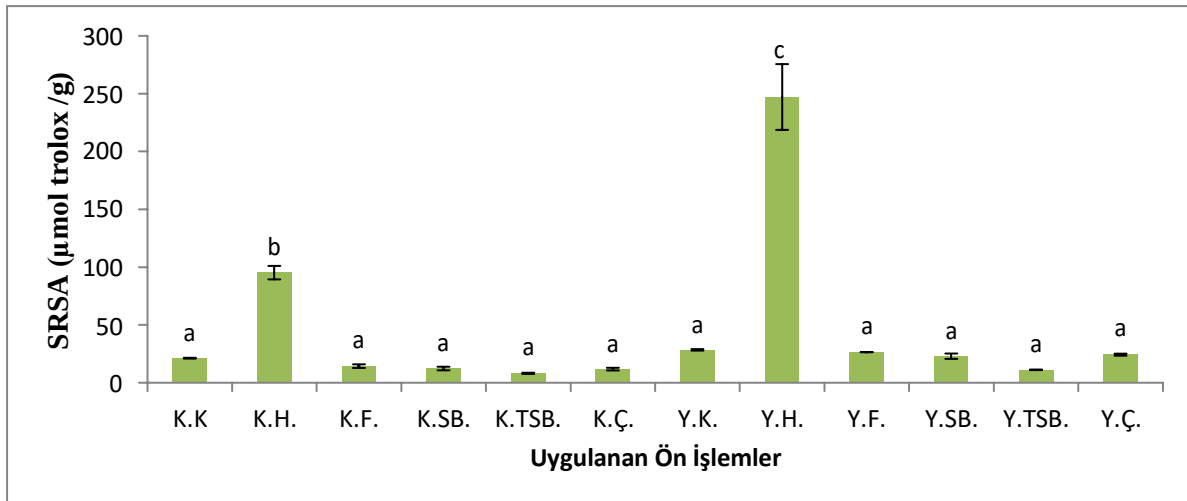
*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



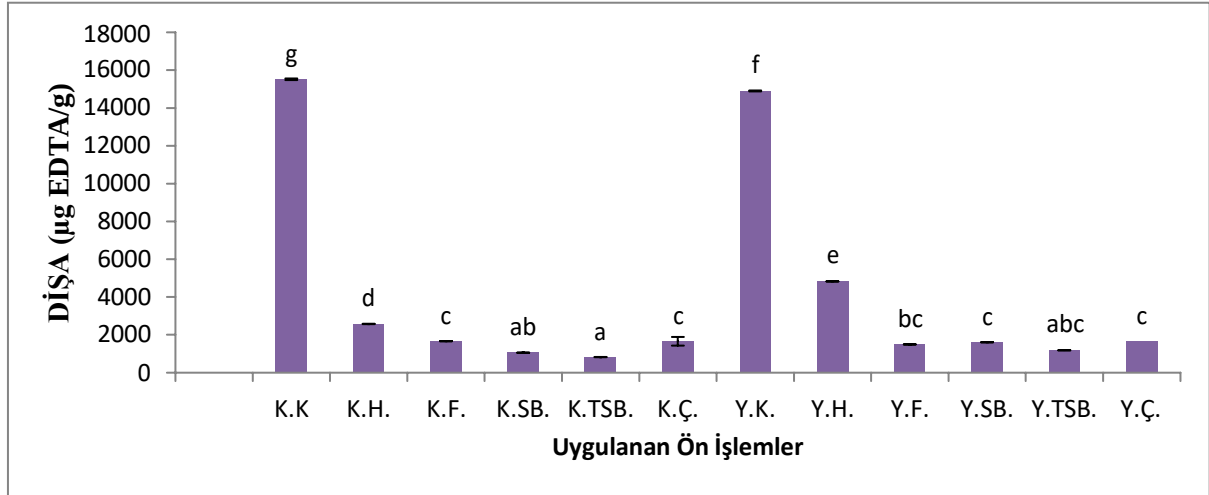
Şekil 4.26. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam fenolik madde miktarı



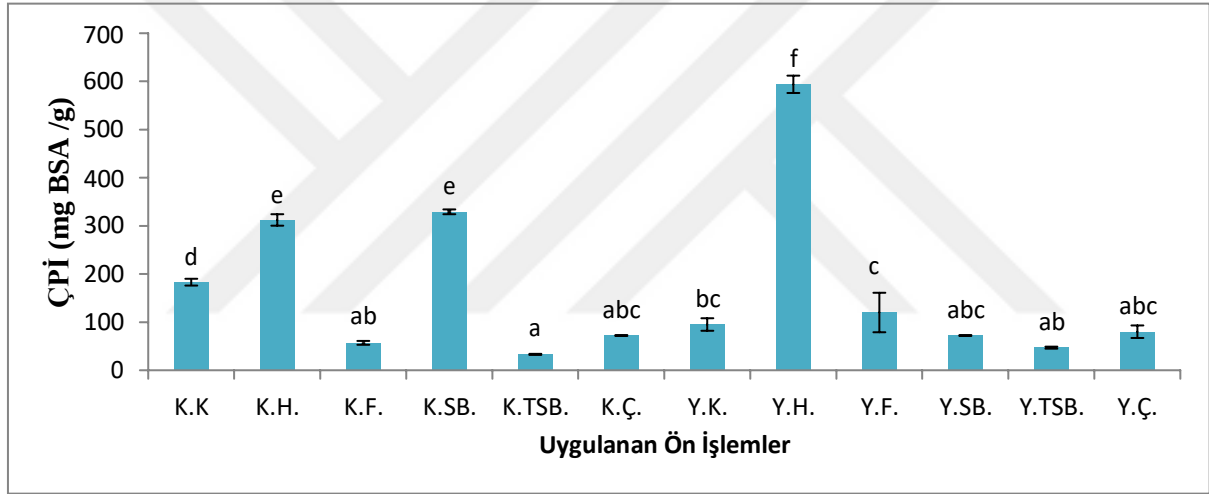
Şekil 4.27. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam flavonoid madde miktarı



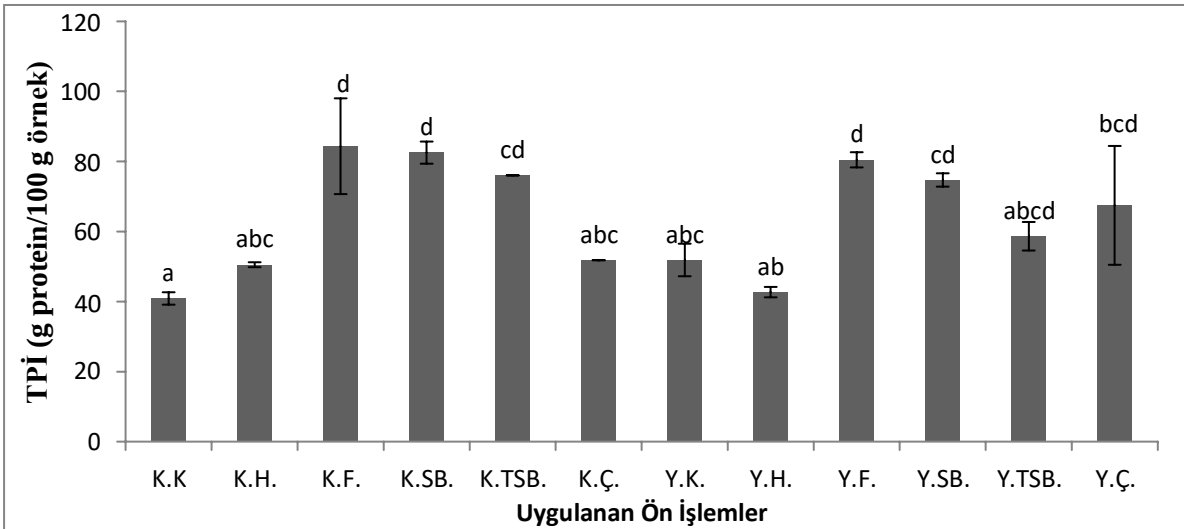
Şekil 4.28. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları serbest radikalleri süpürme aktivitesi



Şekil 4.29. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları demir iyonlarını şelatlama aktivitesi



Şekil 4.30. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları çözünür protein içeriği



Şekil 4.31. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktları toplam protein içeriği

Liyofilizasyon işlemi örneklerin analiz değerlerinde önemli değişimlere yol açmıştır. Liyofilize ekstraktların TPİ değerleri kırmızı ve yeşil mercimek kontrol örneklerinde sırasıyla $40,85 \pm 1,78$ ve $51,87 \pm 4,65$ olarak bulunmuştur ve bu değerlerle mercimek örneklerinin protein konsantrı seviyesinde olduğu görülmüştür (Tablo 4. 12.), (Şekil 4. 31.). Çimlendirme işlemi her iki mercimek türünün protein miktarlarını %20 civarında arttırmıştır. Ancak en belirgin artışlar, fırınlama ve suda bekletme işlemlerinden sonra görülmüştür. Fırınlanmış kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinden üretilen katı protein ekstraktlarının TPİ değerleri sırasıyla $84,35 \pm 13,67$ ve $80,47 \pm 2,18$ olarak belirlenmiştir ve bu protein içerikleri ile bu protein ekstraktlarının izolat seviyesinde oldukları görülmüştür. Suda bekletme ön işlemi de benzer şekilde kırmızı mercimek protein ekstraktının izolat seviyesinde olmasını sağlarken, yeşil mercimek için $74,72 \pm 1,90$ protein içeriğiyle izolat seviyesine yakın bir değer elde edilmesini sağlamıştır. Genel olarak bakıldığında ön işlemler kırmızı mercimek katı protein ekstraktlarının TPİ değerlerini istatistiksel olarak anlamlı ya da anlamsız şekilde arttırırken, yeşil mercimek için haşlama ön işlemi hariç değerleri anlamlı şekilde arttırmıştır ($P < 0,05$). Haşlama ön işlemi anlamsız fakat %18lik TPİ azalmasına yol açarken, tuzlu suda bekletme işlemi anlamsız fakat %13'lük TPİ artışı sağlamıştır ($P < 0,05$). TPİ değerleri ile ÇPİ değerlerinde herhangi bir ilişki kurulamamıştır. Kırmızı mercimek katı protein ekstraktları arasında fırınlama (%206 TPİ artış) ve tuzlu suda bekletme (%186 TPİ artış) işlemleri sonucunda ekstrakte edilen proteinler liyofilizasyon esnasında önemli çözünürlük kaybına uğramışlardır. Kontrol örneğe kıyasla ÇPİ değerleri sırasıyla yaklaşık %69 ve %82 azalmıştır. Benzer şekilde çimlendirme işlemi TPİ içeriğini %27 arttırırken (istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış), ÇPİ değeri anlamlı şekilde %61 azalmıştır ($P < 0,05$). Bu sonuçlar açık şekilde liyofilizasyon işleminin protein çözünürlüğünü olumsuz etkilediğini göstermektedir. Yeşil mercimek katı protein ekstraktları incelendiğinde, haşlama ve fırınlama işlemleri sonrası elde edilen katı protein ekstraktlarının ÇPİ değerleri kontrole göre artış gösterirken, diğer ön işlemler sonrasında ÇPİ değerleri azalış göstermiştir. Özellikle haşlama işlemi çözünür protein miktarını 6,25 kat arttırmıştır. İlginç olan ise haşlanmış yeşil mercimek katı protein ekstraktının TPİ değerinin kontrolden %18 daha düşük olmasıdır. Yine ilginç şekilde suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri daha yüksek TPİ'ye sahip ekstraktlar elde edilmesini sağlarken, aynı ekstraktların ÇPİ değerleri kontrolden daha düşük olmuştur. Özellikle ekstraktların ÇPİ değerlerinin çözünür fenolik bileşen ve antioksidan aktivite üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Katı protein ekstraktlarının TFEM değerleri sıvı protein ekstraktlarının değerleri ile kıyaslandığında önemli derecede azalmalar olduğu görülmüştür. Kırmızı mercimek TFEM değerleri 1337 ± 46 ile 15411 ± 479 μg gallik asit/g arasında değişirken, yeşil mercimek TFEM değerleri 1232 ± 59 ile 66206 ± 42 μg gallik asit/g arasında değişmiştir (Tablo 4.12.), (Şekil 4. 26.). Dikkate değer şekilde haşlama işlemi TFEM değerlerini kırmızı mercimekte 2,3 kat artırırken, yeşil mercimekte 10,7 kat arttırmıştır. Bu artışta yüksek protein çözünürlüğünün de katkısı olduğu düşünülmektedir. Haşlama dışındaki diğer ön işlemler kırmızı mercimek TFEM değerini anlamlı derecede azaltmıştır ($P < 0,05$). En büyük azalış çimlendirilmiş örnekte tespit edilmiştir. Benzer bir durum yeşil mercimek TFLM değerleri için de geçerlidir ancak en büyük azalış tuzlu suda bekletme işlemi sonrası belirlenmiştir (Şekil 4. 27.), ($P < 0,05$). Haşlama ön işlemi kırmızı ve yeşil mercimeklerin katı protein ekstraktlarının TFLM değerlerini de sırasıyla 11 ve 15 kat arttırmıştır. Onun dışında uygulanan tüm ön işlemler istatistiksel olarak anlamsız azalmalara sebep olmuştur. Fenolik bileşen sonuçları ile ilişkili biçimde ölçülen katı protein ekstraktlarının SRSA değerleri incelendiğinde haşlama ön işleminin önemli artışlar sağladığı görülmüştür. Kırmızı mercimek örneklerinde SRSA değerleri $8,12 \pm 0,48$ ile $95,09 \pm 5,86$ μmol trolox /g arasında değişirken, yeşil mercimek örneklerinde $11,08 \pm 0,23$ ile $247,01 \pm 28,43$ μmol trolox /g arasında değişmiştir (Tablo 4.12.), (Şekil 4. 28.). Haşlama haricinde diğer tüm ön işlemler mercimek protein ekstraktının SRSA'sında azalmaya sebep olmuşlardır. Her iki mercimek türünde de en büyük azalmaya tuzlu suda bekletme işlemi sebep olmuştur. Mercimek örneklerine ön işlem uygulanması üretilen katı protein ekstraktlarının DİŞA değerlerini büyük ölçüde olumsuz etkilemiştir (Şekil 4. 29.). Kontrol kırmızı ve yeşil mercimeklerin DİŞA değerleri sırası ile 15516 ± 366 ve 14901 ± 22 μg EDTA/g örnek olarak tespit edilmiştir. Ön İşlemler sonrası kırmızı mercimek DİŞA'ları %83 ile 95 arasında, yeşil mercimek DİŞA'ları ise %68 ile 92 arasında azalmışlardır. En büyük azalma tuzlu suda bekletme işlemi sonrasında görülmüştür. Sonuçlar incelendiğinde uygulanan ön işlemlerin demir şelatlayan antioksidanların yapılarını bozduğu ve aktivitelerinde önemli kayıplara yol açtığı tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde Boye ve diğerleri. (2010)'da kırmızı ve yeşil mercimek TFEM değerlerini sırasıyla 5900 μg gallik asit/g ve 4690 μg gallik asit/g olarak ölçtükleri görülmüştür. Bu değerler bizim sonuçlarımız ile kısmen uyumludur. Aydemir (2008) ise kırmızı ve yeşil mercimek çeşitlerinin serbest radikalleri süpürme aktivitelerini 110-185 μmol Trolox/g arasında belirlemiştir ve ortalama 138 μmol Trolox/g olarak hesaplamıştır. Yine aynı çalışmada liyofilize edilmiş katı mercimek protein ekstraktlarının demir iyonlarını şelatlama kapasiteleri 12,7- 45,8 mmol EDTA/kg

arasında değişmiştir. Xu ve diğerleri (2020)' de yaptıkları çalışmalarında kontrol ve 5 gün çimlendirilmiş mercimek izolatlarının toplam protein miktarlarını sırasıyla 82,26 g/100g ve 82,96 g/100g olarak belirlemişlerdir. Chang ve diğerleri. (2019)' da ise mercimek kontrol örneği, ve örnekten %98' lik aseton, etanol ve izopropanol çözgenleri ile elde ettikleri ekstraktlarının toplam protein miktarlarını sırasıyla %75,34, %77,18, %77,35 ve %77,26 olarak tespit etmişlerdir. Barbanaa ve Boye (2011)' de kırmızı ve yeşil mercimek protein izolatlarının toplam protein içeriklerini sırasıyla %78,2 ve 79,1 olarak rapor etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda toplam protein içerikleri daha yüksek olduğu görülmektedir. Aydemir ve Yemencioğlu (2013)' de ise kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin toplam protein içerikleri 0,87 ile 0,95 g/g, ortalama protein içeriği 0,93 g/g olduğunu ve suda çözünür protein içeriğinin de 560 ile 740 mg BSA/g arasında, ortalama 650 mg BSA/g olduğunu yayınlamışlardır. Benzer şekilde de, Boye ve ark. (2010)'da kırmızı ve yeşil mercimeklerin toplam protein içeriklerini sırasıyla %78,2 ve %79,1 olduğunu rapor etmişlerdir.

4.4.3. Kırmızı ve Yeşil Mercimek Örneklerinin Antidiyabetik Aktivite Analizleri

Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları, sıvı protein ekstraktları ve katı protein ekstraktlarının antidiyabetik aktivitelerini belirlemek için ekstraktların α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerini inhibe etme oranları ölçülmüştür. A-amilaz ve α -glukozidaz enzimleri, sindirim sisteminde nişasta gibi polimerik karbonhidratların sindirilmesinde görev alırlar ve ürün olarak serbest formda glikoz üretirler. Üretilen bu glikoz dolaşım sistemine karışarak kan şekerinin yükselmesine ve fazlası ise depolanarak kilo artışına sebep olmaktadır. Ayrıca tip 2 diyabet hastalığının kontrolünde de kan şekeri olarak adlandırılan kanda glikoz seviyesinin çok artmaması veya kontrollü şekilde artması önemlidir. Yapılan α -amilaz ve α -glukozidaz inhibisyon deneylerinde örnekler arasında önemli değişimler genel olarak tespit edilememiştir ($P<0,05$). Mercimek su ekstraktları arasında sadece haşlanmış ve tuzlu suda bekletilmiş kırmızı mercimekler ile haşlanmış, fırınlanmış ve tuzlu suda bekletilmiş yeşil mercimek örnekleri α -amilaz inhibisyonu göstermişlerdir (Tablo 4.13.), (Şekil 4. 32.). Yeşil mercimek su ekstraktlarının inhibisyon değerleri $\%3,43\pm0,20$ ile $\%8,24\pm1,42$ arasında değiştiğinden dikkate değer bir inhibisyon aktivitesine sahip olduklarından söz edilememektedir. Ancak, haşlanmış ve tuzlu suda bekletilmiş kırmızı mercimek su ekstraktları sırasıyla $\%36,69\pm13,22$ ve $\%20,01\pm2,27$ enzim inhibisyonu sağlamışlardır. Kontrol kırmızı mercimek örneğinin enzim inhibisyonuna sebep olmadığından haşlama ve tuzlu suda bekletme işlemleri su ekstraktlarına inhibisyon özelliği kazandırmışlardır. Mercimeklerden üretilen birçok sıvı

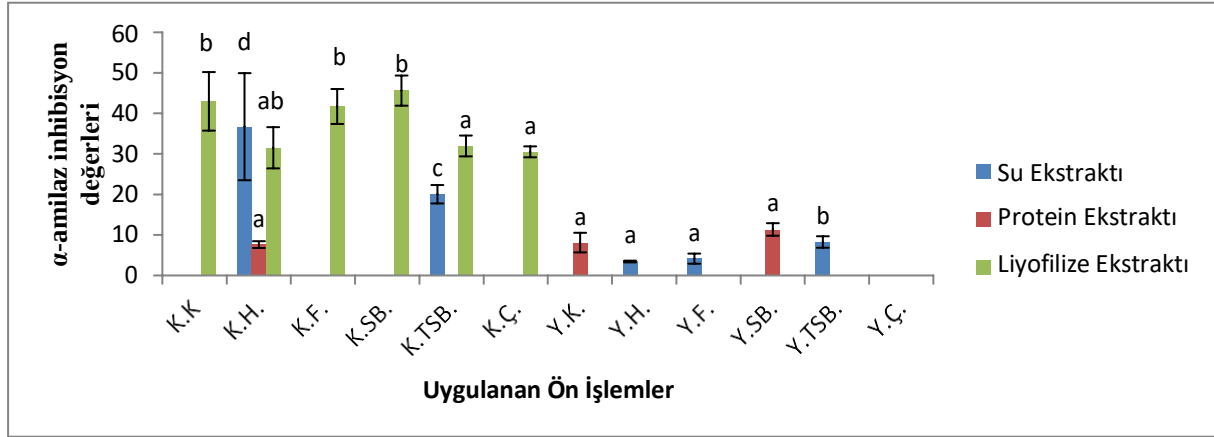
protein ekstraktı α amilaz inhibisyonu göstermemişlerdir sadece haşlanmış kırmızı mercimek ile kontrol ve suda bekletilmiş yeşil mercimek örneklerinde sınırlı bir enzim inhibisyonu tespit edilmiştir. Protein ekstraktları liyofilize edildiklerinde ise kırmızı mercimek örnekleri dikkat değer α amilaz inhibisyonlarına sebep olurlarken, yeşil mercimek proteinleri hiçbir inhibisyon göstermemişlerdir. Kontrol, fırınlanmış ve suda bekletilmiş kırmızı mercimek katı protein ekstraktları yaklaşık %40 civarında enzim inhibisyonuna yol açarken, diğer işlemlerde inhibisyon değerleri %30'a kadar düşmüştür ($P<0,05$). Literatürde bu alanda çok fazla çalışmaya erişilememiştir. Erişilen çalışmalarda ise Tan ve diğerleri (2016) siyah fasulye ve siyah soya örneklerinde sırasıyla α -amilaz inhibisyonunu 2,69 mg/ml ve 2,25 mg/ml olarak bildirilmiştir. Ercan ve El (2016)'da ise nohut örneğinde α -amilaz inhibisyon aktivitesini 167 μ g/ml olarak bildirmişlerdir.

Tablo 4.13. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon değerleri

Uygulanan Ön İşlem	Su Ekstraktı	Protein Ekstraktı	Liyofilize Ekstraktı
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	-	-	42,96 $\pm$ 7,22b
Haşlama	36,69 $\pm$ 13,22d*	7,61 $\pm$ 0,84 a	31,51 $\pm$ 5,08ab
Fırınlama	-	-	41,70 $\pm$ 4,30b
Suda Bekletme	-	-	45,61 $\pm$ 3,71b
Tuzlu Suda Bekletme	20,01 $\pm$ 2,27c	-	31,93 $\pm$ 2,75a
Çimlendirme	-	-	30,51 $\pm$ 1,34a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	-	8,07 $\pm$ 2,43a	-
Haşlama	3,43 $\pm$ 0,20a	-	-
Fırınlama	4,13 $\pm$ 1,24a	-	-
Suda Bekletme	-	11,31 $\pm$ 1,56a	-
Tuzlu Suda Bekletme	8,24 $\pm$ 1,42b	-	-
Çimlendirme	-	-	-

* Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).

Su ekstraktlarının konsantrasyonu kuru madde üzerinden 10mg (g/g) , protein ekstraktı inhibisyon değerleri %inh/mg protein olarak verilmiştir.



Şekil 4.32. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -amilaz inhibisyon değerleri

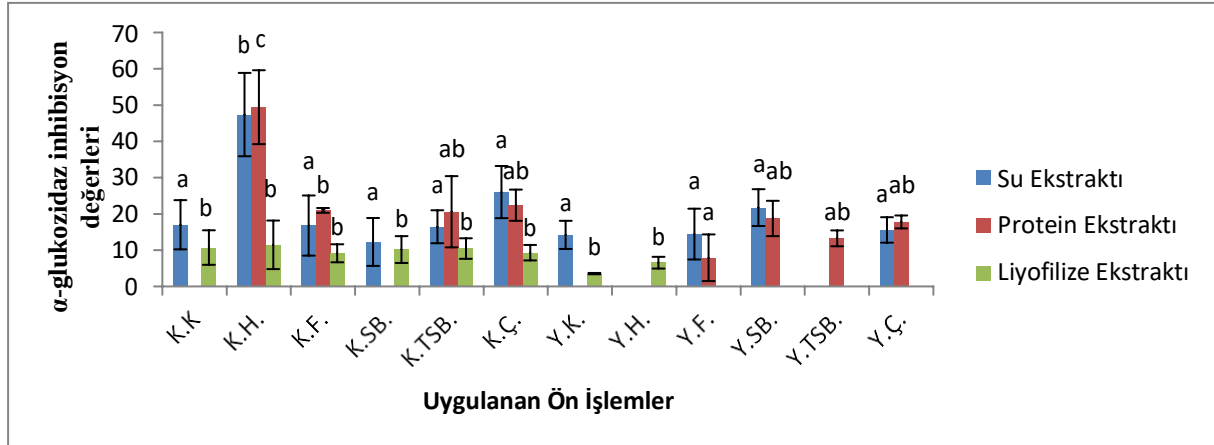
α -amilaz inhibisyon testinden farklı olarak daha fazla mercimek ekstraktı daha yüksek α -glukozidaz enzim inhibisyonu göstermişlerdir (Tablo 4.14.), (Şekil 4. 33.). Tüm kırmızı mercimek su ekstraktları ve katı protein ekstraktları enzim inhibisyonuna yol açarken sıvı protein ekstraktlarından sadece kontrol ve suda bekletilmiş kırmızı mercimek örnekleri herhangi bir inhibisyon göstermemişler. Yeşil mercimek katı protein ekstraktları neredeyse hiç inhibisyon göstermezken, sıvı protein ekstraktları arasından kontrol ve haşlanmış örnekler ile su ekstraktları arasından haşlanmış ve tuzlu suda bekletilmiş örneklerde de herhangi bir inhibisyon tespit edilememiştir. Haşlama işlemi kırmızı mercimek su ekstraktlarında α -glukozidaz inhibisyon değerini yaklaşık 3 kat arttırırken diğer işlemler anlamlı değişikliklere yol açmamışlardır ($P<0,05$). Yeşil mercimek su ekstraktlarında ise uygulanan ön işlemler, anlamlı artış ya da azalışlar sağlamamışlardır ($P<0,05$). Haşlama ön işlemi su ekstraktlarındaki aktivitesine benzer şekilde kırmızı mercimek sıvı protein ekstraktları arasında en yüksek inhibisyonu gösterirken liyofilizasyon sonrası kırmızı mercimek katı protein ekstraktları arasında anlamlı fark yaratan α -glukozidaz inhibisyonları gözlenmemiştir ve değerler $9,14\pm2,48$ ile $11,42\pm6,69$ arasında değişmiştir. Yeşil mercimek katı protein ekstraktlarında ise dikkate değer α -glukozidaz inhibisyonları tespit edilmemiştir. Yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının inhibisyon değerleri $7,91\pm6,43$ ile $18,74\pm4,87$ arasında değişirken, yeşil mercimek su ekstraktlarının inhibisyon değerleri $14,19\pm3,88$ ile $21,72\pm5,07$ arasında değişmiştir. Literatür çalışmalarında Tan ve diğerleri (2011)' da siyah fasulye ve siyah soya ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon aktivitesi sonuçlarını sırasıyla $64,15 \mu\text{g/ml}$ ve $13,83 \mu\text{g/ml}$ olarak tespit etmişlerdir. Ercan ve El (2016)' da ise nohut ekstraktının α -glukozidaz inhibisyon aktivitesini $2885 \mu\text{g/ml}$ olarak bildirmiştir. Zhang ve diğerleri (2015)'de yaptıkları çalışmalarında da 20 çeşit mercimek örneğinin α -glukozidaz inhibisyon aktivitelerinin 23 ile $42,15 \text{ mg/ml}$ arasında değiştiğini belirlemişlerdir.

Tablo 4.14. Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon değerleri

Uygulanan Ön İşlem	Su Ekstraktı	Protein Ekstraktı	Liyofilize Ekstraktı
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	16,97±6,78a*	-	10,69±4,76b
Haşlama	47,34±11,47b	49,38±10,20c	11,42±6,69b
Fırlama	16,75±8,30a	20,96±0,65b	9,14±2,48b
Suda Bekletme	12,24±6,60a	-	10,13±3,70b
Tuzlu Suda Bekletme	16,42±4,55a	20,56±9,81ab	10,40±2,82b
Çimlendirme	25,98±7,19a	22,36±4,29b	9,25±2,13b
Yeşil Mercimek			
Kontrol	14,19±3,88a	-	3,49±0,20a
Haşlama	-	-	6,53±1,62b
Fırlama	14,43±7,00a	7,91±6,43a	-
Suda Bekletme	21,72±5,07a	18,74±4,87ab	-
Tuzlu Suda Bekletme	-	13,22±2,20ab	-
Çimlendirme	15,52±3,51a	17,74±1,79ab	-

* Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).

Su ekstraktlarının konsantrasyonu kuru madde üzerinden 10mg (g/g) , protein ekstraktı inhibisyon değerleri %inh/mg protein olarak verilmiştir.

**Şekil 4.33.** Yeşil ve kırmızı mercimek ekstraktlarının α -glukozidaz inhibisyon değerleri

4.5. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Fonksiyonel Özellikleri

Endüstriyel uygulamalar açısından protein ekstraktlarının su tutma, yağ tutma, emülsiyon oluşturma ve köpük oluşturma gibi fonksiyonel özellikleri oldukça önemlidir. Bu amaçla ön işlem görmüş mercimek unlarının ve katı protein ekstraktlarının fonksiyonel özellikleri incelenmiştir.

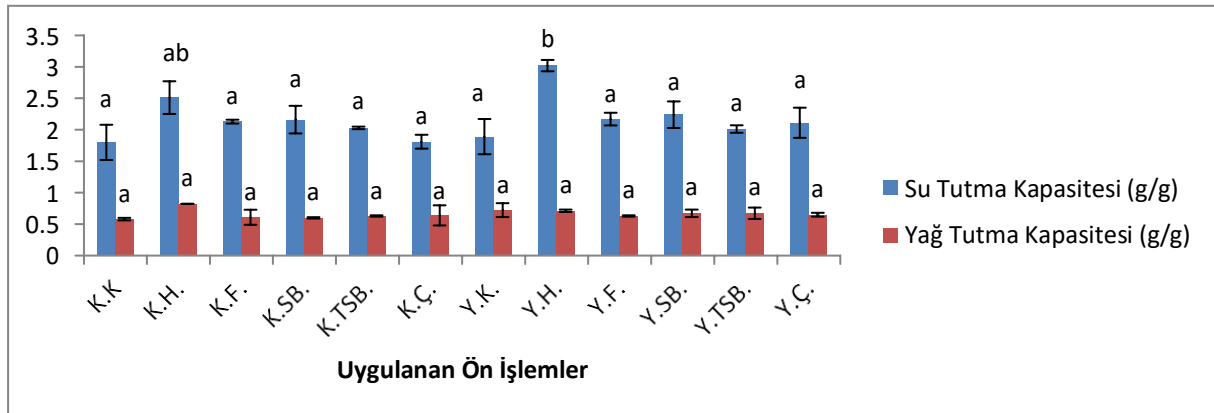
4.5.1. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Su ve Yağ Tutma Kapasiteleri

Mercimek unlarının su tutma ve yağ tutma kapasiteleri incelendiğinde genel olarak ön işlemlerin bu özellikler üzerinde anlamlı etkiler yaratmadığı görülmüştür ($P<0,05$), (Tablo 4.15), (Şekil 4. 34.). Uygulanan ön işlemler kırmızı mercimek unlarının su ve yağ tutma kapasiteleri anlamlı şekilde etkilenmemişlerdir ve bu değerler sırasıyla $1,80\pm0,28$ g/g ile $2,51\pm0,26$ g/g ve $0,58\pm0,02$ g/g ile $0,82\pm0,00$ g/g arasında değişmişlerdir. Genel olarak yeşil mercimek ununun su tutma kapasitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir ve değerler $1,89\pm0,28$ g/g ile $3,02\pm0,09$ g/g arasında değişmiştir. Yeşil mercimek unlarında sadece haşlama işlemi su tutma kapasitesini anlamlı şekilde arttırmıştır ($P<0,05$). Kırmızı mercimek unlarında olduğu gibi yağ tutma kapasiteleri düşük bulunmuştur ve değerler arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmemiştir ($P<0,05$).

Tablo 4.15. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının su ve yağ tutma kapasiteleri

Uygulanan Ön İşlem	Su Tutma Kapasitesi (g/g)	Yağ Tutma Kapasitesi (g/g)
Kırmızı Mercimek		
Kontrol	1,80±0,28a*	0,58±0,02a
Haşlama	2,51±0,26ab	0,82±0,00a
Fırınlama	2,13±0,03a	0,61±0,12a
Suda Bekletme	2,16±0,22a	0,60±0,01a
Tuzlu Suda Bekletme	2,03±0,02a	0,63±0,01a
Çimlendirme	1,81±0,11a	0,64±0,16a
Yeşil Mercimek		
Kontrol	1,89±0,28a	0,72±0,11a
Haşlama	3,02±0,09b	0,71±0,02a
Fırınlama	2,17±0,10a	0,63±0,01a
Suda Bekletme	2,24±0,21a	0,67±0,06a
Tuzlu Suda Bekletme	2,01±0,06a	0,67±0,09a
Çimlendirme	2,11±0,24a	0,65±0,03a

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).

**Şekil 4.34.** Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının su ve yağ tutma kapasiteleri

Du ve ark (2013) de yaptıkları çalışmalarında mercimek ununun su tutma kapasitesini 1,33 g/g olarak bildirmişlerdir. Angelis ve diğerleri (2020) ise 15 çeşit mercimeğin su tutma kapasitesinin ortalama 1,056 g su/g un olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer şekilde Ghumman ve diğerleri (2016)' 3 çeşit mercimek örneğinin su tutma kapasitesini ortalama 1,43 g/g olarak tespit etmişlerdir. 96 saat çimlendirilmiş örneklerde ise ortalama su tutma bizim çalışmamıza

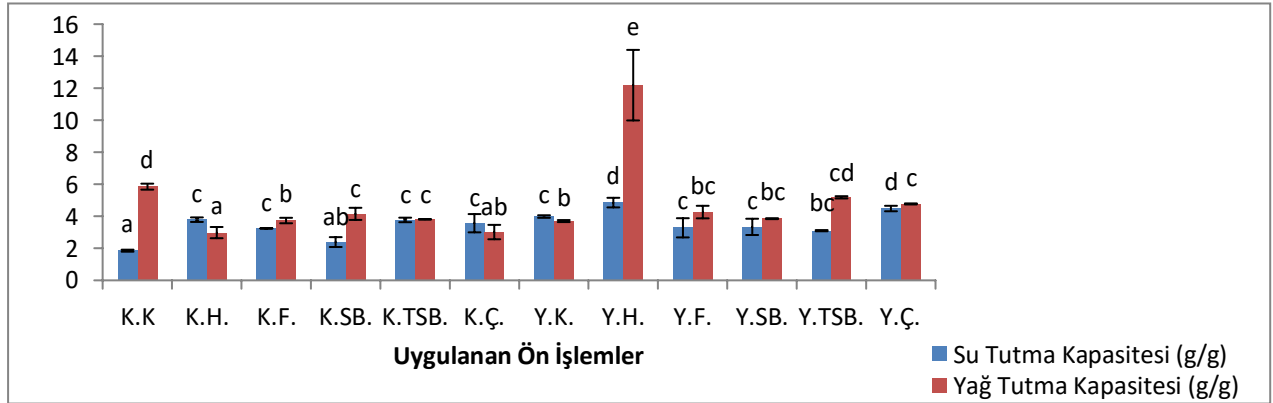
benzer şekilde yükselerek 2,4 g/g olarak ölçülmüştür. Pathiratne ve diğerleri (2015)' de ise diğer araştırmacılardan farklı olarak mercimek ununun su tutma kapasitesi 0,875 ml/g olarak bildirmişlerdir. Benzer şekilde Ma ve diğerleri. (2011)'de ön işlem uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinin su tutma kapasiteleri ölçerek işlem görmemiş kırmızı ve yeşil mercimek için 0,68 ml/g ve 0,87 ml/g, kavrulmuş kırmızı ve yeşil mercimek (80 ° C'de 1 dakika) için 0,82 ml/g ve 0,78 ml/g, haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimek (2 ° C 1 saat sonra 90° C'da 20 dakika) için 1,53 ml/g ve 1,73 ml/g olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz su tutma kapasitesi değerleri literatürdeki değerlerden daha yüksek olmuştur. Du ve diğerleri (2013)' de mercimek ununun yağ tutma kapasitesini bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde 0,93 g/g olarak bildirmiştir. Angelis ve diğerleri (2020) de ise 15 çeşit mercimeğin yağ tutma kapasitelerinin ortalama 0,75 g yağ/g un olarak, Pathiratne ve diğerleri (2015)' de mercimek ununun yağ tutma kapasitesinin 0,790 ml/g olarak tespit etmişlerdir. Ma ve diğerleri (2011)'de ön işlem uygulanmış mercimek unlarının yağ tutma kapasitelerini inceledikleri çalışmalarında işlem görmemiş kırmızı ve yeşil mercimek için %180 ve %175, kavrulmuş kırmızı ve yeşil mercimek (80° C'de 1 dakika) için %175 ve %165, haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimek (2 ° C 1 saat sonra 90° C'da 20 dakika) için %240 ve %280 olduğunu belirlemişlerdir.

Mercimek unları ile kıyaslandığında katı protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasitelerinin önemli derecede artmış olduğu görülmektedir (Tablo 4.16). Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein örnekleri için su tutma kapasiteleri sırasıyla 1,85±0,86 g/g ile 3,78±0,14 g/g arasında ve 3,09±0,04 g/g ile 4,85±0,30 g/g arasında değişmiştir. Ön işlemler mercimek katı proteinlerinin su tutma kapasitelerinde anlamlı artışlara sebep olmuşlardır (P<0,05). Genel olarak yeşil mercimek protein ekstraktlarında su tutma kapasitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Özellikle haşlama ve çimlendirme işlemleri yeşil mercimek protein ekstraktlarının su tutma kapasitelerini anlamlı şekilde arttırmışlardır (P<0,05). Literatür incelendiğinde kırmızı ve yeşil mercimek protein izolatlarının su tutma kapasitelerinin 1,08 ile 1,47 g/g arasında değiştiği ve ortalama kapasitenin 1,04 g/g olduğu görülmüştür (Aydemir ve Yemencioğlu (2013)). Bizim yaptığımız çalışmada ise daha yüksek su tutma kapasitesi elde edilmiştir. Boye ve diğerleri. (2010)'da yaptıkları çalışmalarında kırmızı ve yeşil mercimeklerin su tutma kapasitelerini sırasıyla 3,7 ml/g ve 3,9 ml/g olarak bildirmişlerdir.

Tablo 4.16. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasiteleri

Uygulanan Ön İşlem	Su Tutma Kapasitesi (g/g)	Yağ Tutma Kapasitesi (g/g)
Kırmızı Mercimek		
Kontrol	1,85±0,06a*	5,84±0,19d
Haşlama	3,78±0,14c	2,97±0,35a
Fırınlama	3,24±0,01c	3,73±0,17b
Suda Bekletme	2,38±0,31ab	4,14±0,38c
Tuzlu Suda Bekletme	3,77±0,14c	3,8±0,02b
Çimlendirme	3,56±0,57c	3,00±0,45ab
Yeşil Mercimek		
Kontrol	3,98±0,08c	3,70±0,06b
Haşlama	4,85±0,30d	12,19±2,20e
Fırınlama	3,28±0,60c	4,26±0,39bc
Suda Bekletme	3,33±0,51c	3,84±0,03bc
Tuzlu Suda Bekletme	3,09±0,04bc	5,18±0,07cd
Çimlendirme	4,48±0,17d	4,77±0,16c

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.35. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının su ve yağ tutma kapasiteleri

Kırmızı ve yeşil mercimek örneklerine ait katı proteinlerin yağ tutma kapasiteleri önemli artışlar göstererek kırmızı mercimek için 2,97±0,35 g/g ile 5,84±0,19 g/g arasında, yeşil mercimek için de 3,70±0,06 g/g ile 12,19±2,20 g/g arasında değişmiştir (Tablo 4.16.), (Şekil 4. 35.). Ön işlemler kırmızı mercimek protein ekstraktının yağ tutma kapasitesini düşürerek

olumsuz etkilemişlerdir ancak yeşil mercimek protein ekstraktlarının yağ tutma kapasiteleri uygulanan ön işlemlerle birlikte anlamlı şekilde artmışlardır ($P<0,05$). Özellikle haşlama işlemi, yeşil mercimek protein ekstraktının yağ tutma kapasitesini 3,3 kat arttırmıştır. Aydemir (2008) yaptığı çalışmada mercimek proteinlerinin yağ tutma kapasitelerinin 3,2 ile 4,7 g/g arasında değiştiğini bildirmiştir. Yaptığımız çalışmada ise daha yüksek yağ tutma kapasitesi değerlerine ulaşılmıştır. Boye ve diğerleri (2010)'da yaptıkları çalışmalarında da kırmızı yeşil mercimek örneklerinin yağ tutma kapasitelerini sırasıyla %120 ve %132 olarak bildirmişlerdir.

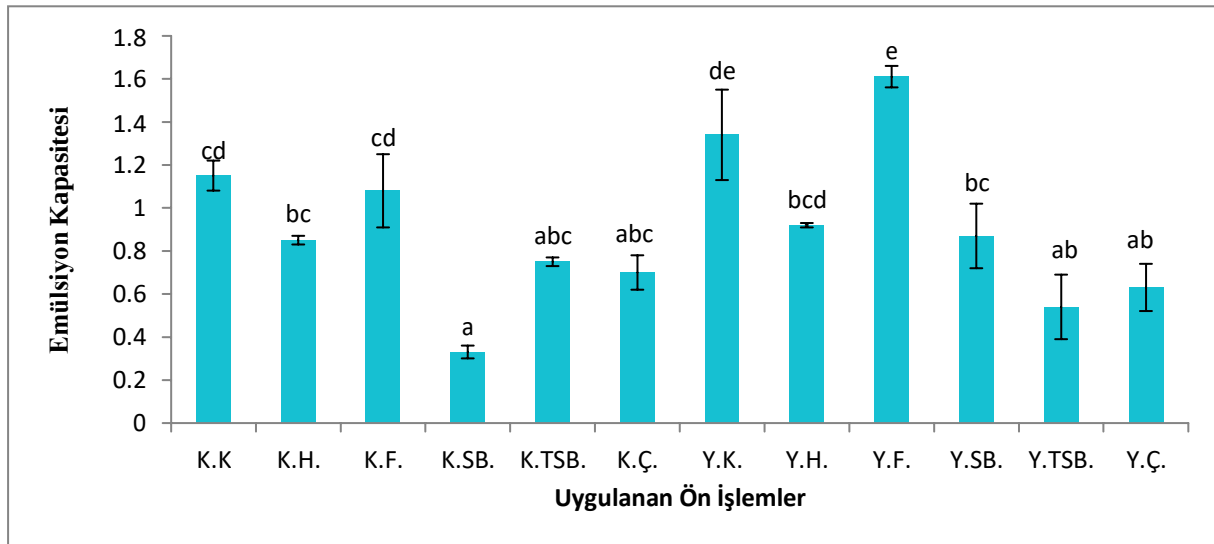
4.5.2. Ön İşlem Görmüş Mercimek Örneklerinin Emülsiyon ve Köpük Oluşturma Kapasiteleri ve Stabiliteleri

Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının sahip oldukları emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteleri spektrofotometrik olarak oluşan emülsiyonun bulanıklığının ölçülmesi ile belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 4.17'te verilmiştir. Mercimek örnekleri arasında uygulanan işlemlerin mercimek unlarının emülsiyon kapasitelerini önemli derecede olumsuz şekilde etkilediği görülmüştür (Şekil 4. 36.). Kırmızı mercimek kontrol ununun emülsiyon kapasitesi $1,15\pm0,07$ 'den uygulanan ön işlemler ile $0,33\pm0,03$ 'e kadar düşmüştür. Sadece fırınlama ön işlemi kontrol mercimek ununa yakın bir emülsiyon kapasitesine sahip olmuştur. Yeşil mercimek unlarında ise fırınlama işlemi en yüksek emülsiyon kapasitesine sahip olurken onu kontrol unu ve diğer ön işlem uygulanmış takip etmişlerdir ve kapasite değerleri $1,61\pm0,05$ ile $0,54\pm0,15$ arasında değişmiştir. Ancak emülsiyonların stabiliteleri kıyaslandığında daha düşük emülsiyon kapasitesine sahip olan haşlanmış mercimek unlarının en yüksek emülsiyon stabilitesine sahip oldukları görülmüştür ve kırmızı mercimek için 60 dakika sonunda bu değer $\%80,74\pm0,47$ iken yeşil mercimek için $\%70,81\pm1,15$ olarak tespit edilmiştir (Şekil 4. 37.), ($P<0,05$). Suda bekletme ve tuzlu suda bekletme işlemleri uygulanmış mercimek unları da göreve daha yüksek stabiliteye sahip olurken en düşük emülsiyon stabilitesine her iki mercimek türünde de fırınlanmış unlar sahip olmuşlardır ve fırınlanmış kırmızı mercimek ununda stabilite değerleri 30 ve 60 dakika sonra $\%44,60\pm4,95$ ve $\%26,47\pm7,16$, fırınlanmış yeşil mercimek ununda ise $\%25,30\pm6,31$ ve $\%19,90\pm0,95$ olarak hesaplanmıştır ($P<0,05$).

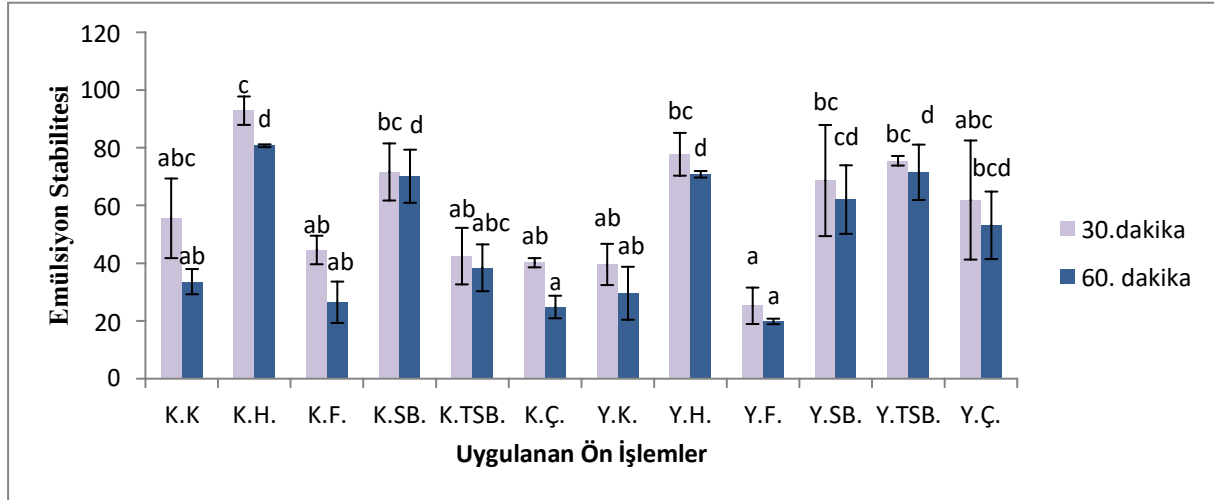
Tablo 4.17. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteeleri

Uygulanan Ön İşlem	Emülsiyon Kapasitesi (abs)	Emülsiyon Stabilitesi (%)	
		30. Dakika	60. dakika
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	1,15±0,07cd*	55,58±13,79abc	33,61±4,36ab
Haşlama	0,85±0,02bc	92,89±4,90c	80,74±0,47d
Fırınlama	1,08±0,17cd	44,60±4,95ab	26,47±7,16ab
Suda Bekletme	0,33±0,03a	71,67±9,87bc	70,18±9,20d
Tuzlu Suda Bekletme	0,75±0,02abc	42,47±9,81ab	38,44±8,11abc
Çimlendirme	0,70±0,08abc	40,19±1,60ab	24,84±3,90a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	1,34±0,21de	39,59±7,14ab	29,62±9,17ab
Haşlama	0,92±0,01bcd	77,79±7,41bc	70,81±1,15d
Fırınlama	1,61±0,05e	25,30±6,31a	19,90±0,95a
Suda Bekletme	0,87±0,15bc	68,67±19,24bc	62,10±11,88cd
Tuzlu Suda Bekletme	0,54±0,15ab	75,50±1,65bc	71,50±0,96d
Çimlendirme	0,63±0,11ab	61,93±20,62abc	53,19±11,69bcd

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.36. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri



Şekil 4.37. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının emülsiyon stabiliteyi

Ghumman ve diğerleri (2016)'da yaptıkları çalışmada 3 mercimek çeşidinin kontrol örnekle ve 96 saat çimlendirilmiş örnekle emülsiyon kapasitelerini incelemişler ve ortalama 54,56 g/g, 43,13 g/g olarak bildirmişlerdir. Ma ve diğerleri (2011)'de yaptıkları çalışmalarında ise emülsiyon oluşturma kapasitesini işlenmemiş kırmızı ve yeşil mercimek için 23m²/g ve 13m²/g, kavrulmuş kırmızı ve yeşil mercimek için (80°C'de 1 dakika) 17 m²/g ve 14 m²/g, haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimek için de (90°C'da 20 dakika) 19 m²/g ve 23 m²/g olarak belirlemişlerdir.

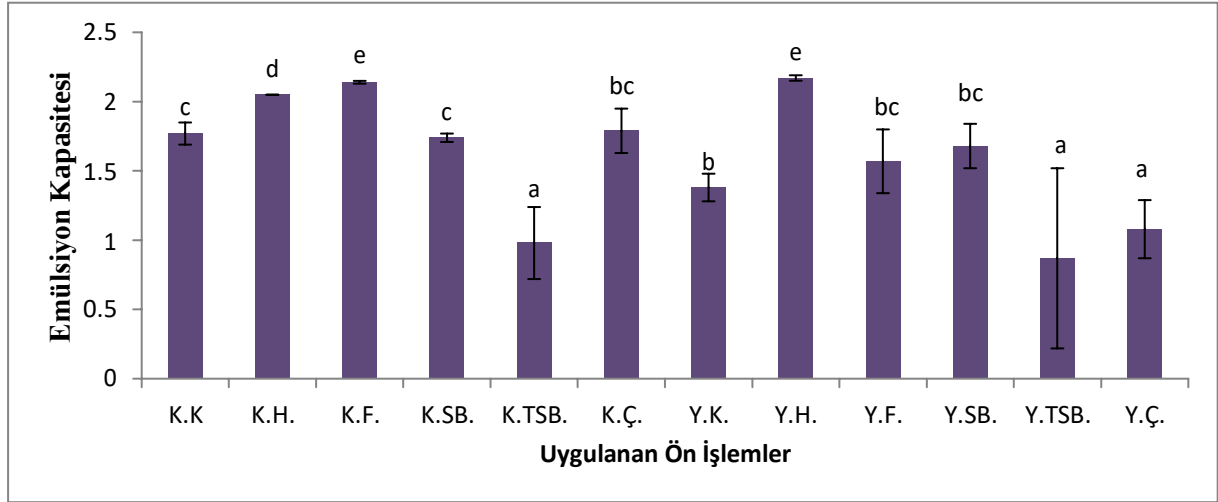
Ön işlem görmüş unlardan üretilen katı protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteyi ise Tablo 4.18'da verilmiştir. Un örneklerine kıyasla protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri daha yüksek bulunmuştur ve kırmızı mercimek protein ekstraktları için bu değerler 2,14±0,01 ile 0,98±0,26 arasında değişirken yeşil mercimek katı protein ekstraktları için 2,17±0,02 ile 0,87±0,65 arasında değişmiştir (Şekil 4. 38.). Bazı ön işlemler mercimek proteinlerinin emülsiyon kapasitelerini arttırırken bazıları azaltmıştır. Haşlama ve fırınlama ön işlemleri her iki mercimek türünde de emülsiyon kapasitesini arttırırken, tuzlu suda bekletme işlemi kapasiteyi önemli derecede düşürmüştür (P<0,05). 30 ve 60 dakikalık inkübasyon sonrasında un örneklerinde olduğu gibi en yüksek emülsiyon stabilitesi haşlanmış mercimek katı protein ekstraktlarında tespit edilmiştir. Kontrol kırmızı mercimek protein ekstraktının emülsiyon stabilitesi 60 dakika sonunda %69,50±2,29 olurken, yeşil mercimek kontrol protein ekstraktının stabilitesi 17,32±4,04'e kadar düşmüştür. Genel olarak ön işlemler emülsiyon stabilitesini kırmızı yeşil mercimek ya hiç etkilememişlerdir ya da olumlu yönde arttırmışlardır ancak fırınlama, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri kırmızı mercimek proteinlerinin emülsiyon stabiliteyi önemli

düşüşlere yol açmışlardır. Fırınlanmış ve haşlanmış yeşil mercimek örnekleri haricinde diğer yeşil mercimek protein ekstraktları 30 dakika sonra bile emülsiyon kapasitelerinin yarısından fazlasını kaybederken bu durum kırmızı mercimek örnekleri için en az yarısını koruyabilme şeklinde görülmüştür (Şekil 4. 39.). Genel olarak kırmızı mercimek protein ekstraktları daha yüksek emülsiyon kapasitelerine ve stabilitelerine sahip olmuşlardır.

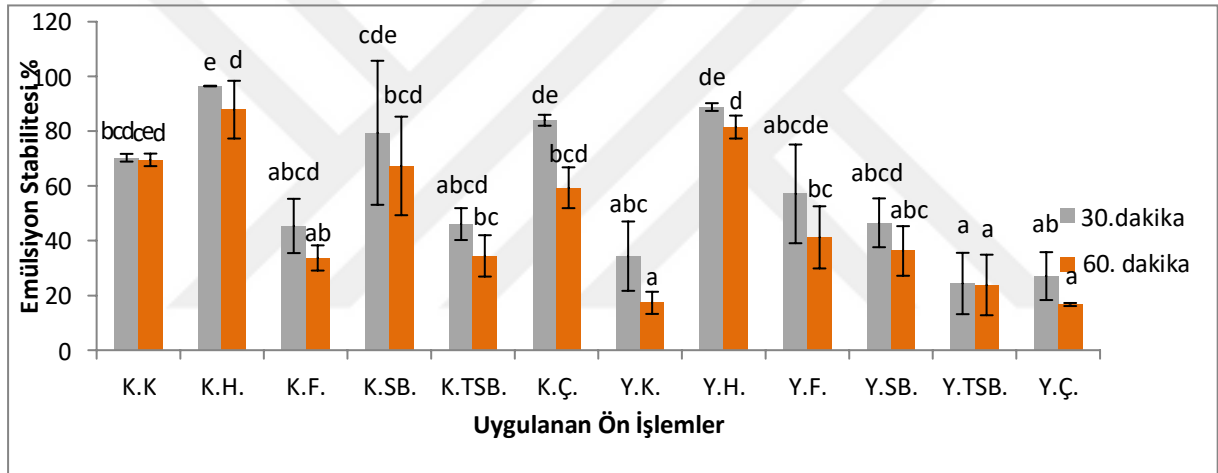
Tablo 4.18. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri ve emülsiyon stabiliteleri

Uygulanan Ön İşlem	Emülsiyon Kapasitesi (abs)	Emülsiyon Stabilitesi (%)	
		30. Dakika	60. dakika
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	1,77±0,08c*	70,26±1,41bcde	69,50±2,29cd
Haşlama	2,05±0,00d	96,50±0,14e	87,86±10,55d
Fırınlama	2,14±0,01e	45,34±9,93 abcd	33,66±4,60ab
Suda Bekletme	1,74±0,03c	79,38±26,32cde	67,27±18,02bcd
Tuzlu Suda Bekletme	0,98±0,26a	46,03±5,84abcd	34,41±7,55bc
Çimlendirme	1,79±0,16bc	83,97±2,01de	59,29±7,45bcd
Yeşil Mercimek			
Kontrol	1,38±0,10b	34,36±12,65abc	17,32±4,04a
Haşlama	2,17±0,02e	88,83±1,41de	81,52±4,209d
Fırınlama	1,57±0,23bc	57,10±18,04abcde	41,23±11,34bc
Suda Bekletme	1,68±0,16bc	46,53±8,91abcd	36,26±9,05abc
Tuzlu Suda Bekletme	0,87±0,65a	24,37±11,19a	23,85±11,06a
Çimlendirme	1,08±0,21a	27,08±8,74ab	16,68±0,55a

* Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.38. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon oluşturma kapasiteleri



Şekil 4.39. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının emülsiyon stabiliteyi

Boye ve diğerleri (2010)'da yaptıkları çalışmalarında kırmızı ve yeşil mercimek protein ekstraktlarının emülsiyon kapasitelerini sırasıyla 5 m²/g ve 4,9 m²/g olarak tespit etmişlerdir. Aydemir (2008) yüksek lisans tezinde yaptığı çalışmada kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde emülsiyonların absorbans değeri 0,65 ile 0,72 arasında olduğu bildirilmiştir. Emülsiyon oluşumundan 30. dakika ve 60. dakikada stabiliteyi sırasıyla %38,2- %61 ve %26,6-35,1 arasında olduğunu bildirmiştir.

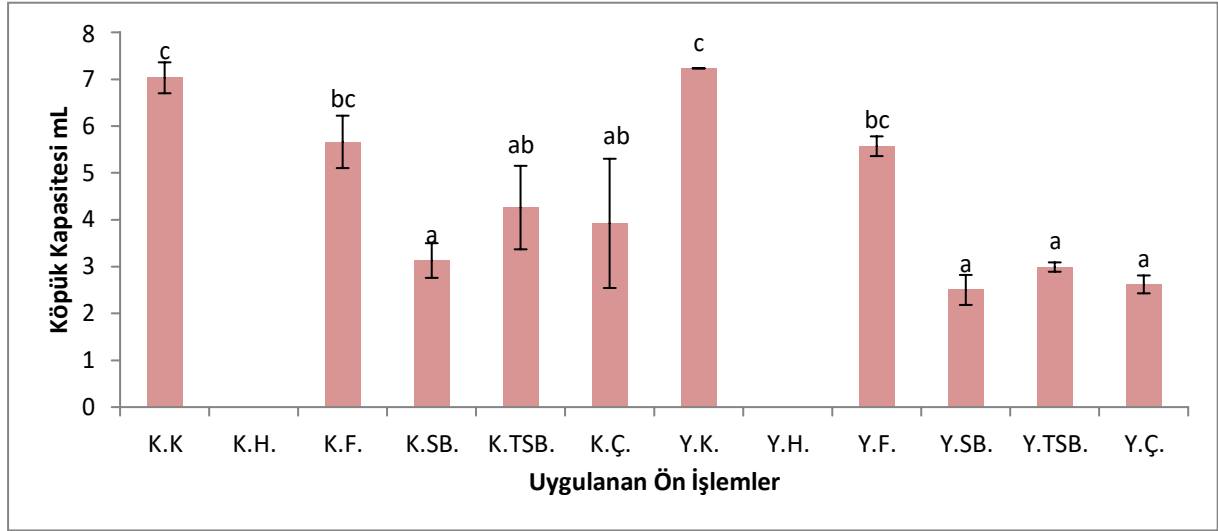
Kırmızı ve yeşil mercimek unlarına ait köpük oluşturma kapasiteleri ve stabiliteyi değerleri Tablo 4.19.'de verilmiştir. Haşlama ön işlemi uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimek türlerinde köpük oluşumu tespit edilememiştir. En yüksek köpük oluşumu kontrol mercimek unlarında görülürken ön işlemler sonucunda unların köpük oluşum kapasitelerinin azaldığı görülmüştür ve değerler kırmızı mercimek unları için 3,13±0,37 ml ile 7,03±0,33 ml arasında;

yeşil mercimek unları için de $2,50\pm0,32$ ile $7,23\pm0,0$ ml arasında değişmiştir (Şekil 4. 40.) , ($P<0,05$). Düşük köpük kapasitesine sahip unların stabiliteleri de genel olarak oldukça düşük olmuştur ve 30 dakika sonra haşlanmış ve suda bekletilmiş kırmızı mercimek unları ile haşlanmış, suda bekletilmiş, tuzlu suda bekletilmiş ve çimlendirilmiş yeşil mercimek unları sahip oldukları tüm köpüğü kaybetmişlerdir. 60 dakika sonunda sadece kontrol mercimek örnekleri ile çimlendirilmiş kırmızı ve fırınlanmış yeşil mercimek unları yüksek köpük stabilitesine sahip olmuşlardır (Şekil 4. 41.). Kontrol kırmızı ve yeşil mercimek unları 60 dakika sonunda sahip oldukları köpüklerin sırasıyla $72,88\pm5,91$ ve $60,80\pm0,49$ 'unu korumuşlardır.

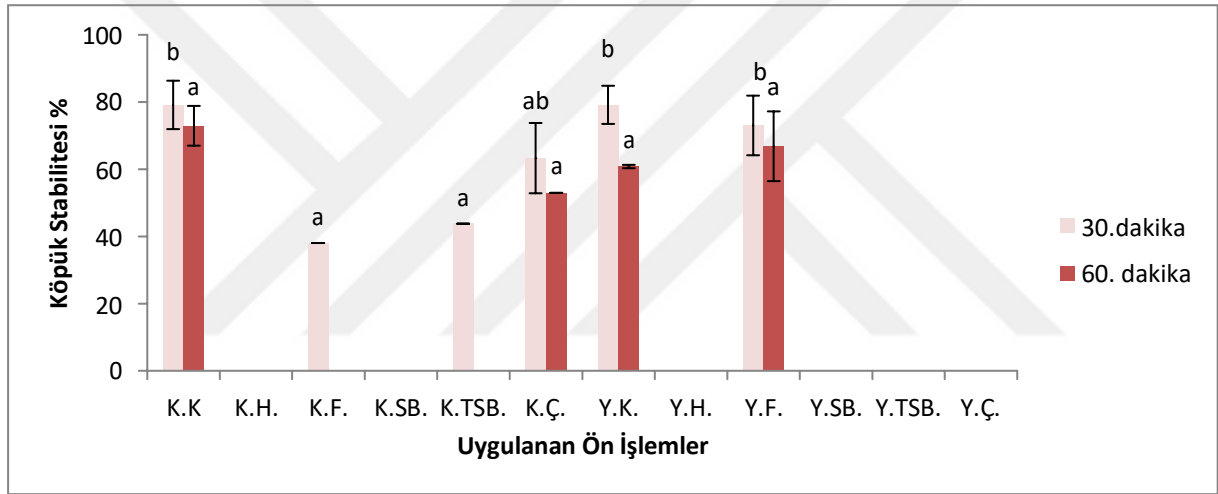
Tablo 4.19. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük oluşturma kapasiteleri ve köpük stabiliteleri

Uygulanan Ön İşlem	Köpük Kapasitesi (mL)	Köpük Stabilitesi (%)	
		30. Dakika	60. dakika
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	7,03±0,33c*	79,10±7,21b	72,88±5,91a
Haşlama	-	-	-
Fırınlama	5,66±0,56bc	38,02±0,00a	-
Suda Bekletme	3,13±0,37a	-	-
Tuzlu Suda Bekletme	4,26±0,89ab	43,77±0,00a	-
Çimlendirme	3,92±1,38ab	63,29±10,46ab	52,97±0,00a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	7,23±0,0c	79,14±5,68b	60,80±0,49a
Haşlama	-	-	-
Fırınlama	5,57±0,21bc	73,02±8,86b	66,84±10,38a
Suda Bekletme	2,50±0,32a	-	-
Tuzlu Suda Bekletme	2,99±0,10a	-	-
Çimlendirme	2,62±0,19a	-	-

*Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir ($P<0,05$).



Şekil 4.40. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük oluşturma kapasiteleri



Şekil 4.41. Kırmızı ve yeşil mercimek unlarının köpük stabiliteği

Ghumman ve diğerleri (2016)' da yaptıkları çalışmalarında 3 mercimek çeşidinin köpük kapasitesi değerlerini kontrol ve 96 saat çimlendirilmiş mercimek örneklerinde sırasıyla ortalama 16,86 g/100g ve 22,2 g/100g olarak bildirmişlerdir. Bu köpüklerin kararlılıkları ise sırası ile 73,33 g/100g ve 54,76 g/100g olarak bulunmuştur. Ma ve diğerleri (2011)'de köpük oluşturma kapasitesini işlem görmemiş kırmızı ve yeşil mercimek için %6,7 ve %10,2; kavrulmuş kırmızı ve yeşil mercimek için (80°C'de 1 dakika) %5,7 ve %6,7; haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimek için de (90° C'de 20 dakika) %4,2 ve %6,3 olarak tespit etmişlerdir.

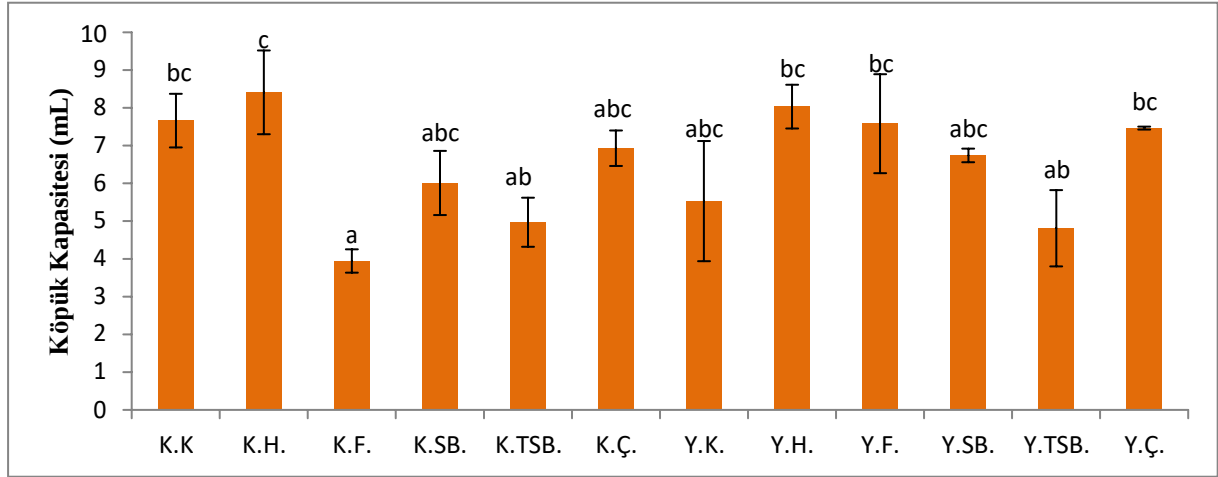
Özellikle ön işlem görmüş mercimek unlarından üretilen katı protein ekstraktlarının köpük oluşturma kapasiteleri unlara kıyasla daha yüksek olmuştur ve değerler kırmızı mercimek protein ekstraktları için 3,94±0,31 ml ile 8,41±1,11 ml arasında; yeşil mercimek protein ekstraktları için de 4,81±1,01 ml ile 8,03±0,58 ml arasında değişmiştir (Şekil 4. 42.). Tüm

protein ekstraktları 60 dakikalık inkübasyon sonrasında sahip oldukları köpüklerin önemli kısmını koruyabilmişlerdir. Stabilité açısından kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinde anlamlı farklar oluşmamıştır ve değerler %55,46±6,81 ile %76,82±2,78 arasında değişmiştir (Şekil 4. 43.), (P<0,05). Bu sonuçlar genel olarak mercimek protein ekstraktlarının iyi köpük kapasitelerine ve stabilitelerine sahip olduğunu göstermektedir.

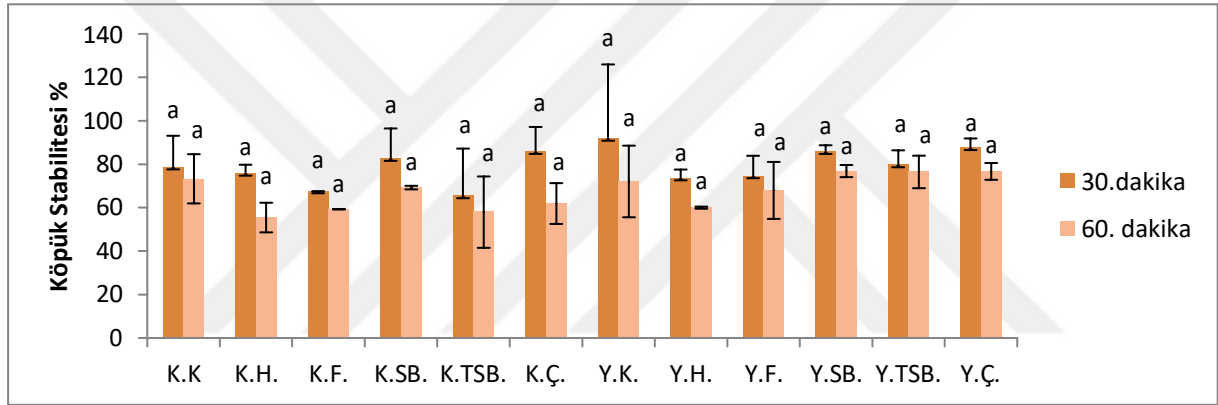
Tablo 4.20. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük oluşturma kapasiteleri ve köpük stabiliteleri

Uygulanan Ön İşlem	Köpük Kapasitesi (mL)	Köpük Stabilitesi (%)	
		30. Dakika	60. dakika
Kırmızı Mercimek			
Kontrol	7,66±0,71bc*	78,57±14,49a	73,24±11,35a
Haşlama	8,41±1,11c	75,75±4,04a	55,46±6,81a
Fırınlama	3,94±0,31a	67,58±0,00a	59,20±0,00a
Suda Bekletme	6,01±0,85abc	82,52±13,92a	69,21±0,84a
Tuzlu Suda Bekletme	4,97±0,65ab	65,37±21,84a	57,94±16,43a
Çimlendirme	6,93±0,47abc	85,71±11,42a	61,86±9,40a
Yeşil Mercimek			
Kontrol	5,53±1,59abc	91,77±34,16a	72,02±16,49a
Haşlama	8,03±0,58bc	73,58±3,98a	59,97±0,505a
Fırınlama	7,58±1,31bc	74,49±9,73a	67,93±13,11a
Suda Bekletme	6,74±0,18abc	85,70±3,01a	76,82±2,78a
Tuzlu Suda Bekletme	4,81±1,01ab	79,64±6,75a	76,44±7,49a
Çimlendirme	7,46±0,04bc	87,51±4,35a	76,71±3,87a

* Aynı sütundaki farklı harfler değerlerin birbirinden anlamlı derecede farklı olduğunu gösterir (P<0,05).



Şekil 4.42. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük oluşturma kapasiteleri



Şekil 4.43. Kırmızı ve yeşil mercimek katı protein ekstraktlarının köpük stabiliteleri

Boye ve diğerleri (2010)'da yaptıkları çalışmada kırmızı ve yeşil mercimek protein izolatlarının köpük aktivitesi %104 olarak bildirmiştir. Aydemir (2008) mercimek proteinlerinin köpük oluşturma kapasitelerini kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri için ortalama sırasıyla 11,62 ve 12,9 olarak bildirmiştir. 30 dakikalık inkübasyon sonrasında köpük stabiliteleri kırmızı ve yeşil mercimek protein ekstraktları için ortalama olarak sırasıyla %94,2 ve %93,8 olarak hesaplanmıştır. 60. dakika sonrasında ise stabilite değerleri ortalama %88,27 ve %63,5 olmuşlardır.

5. SONUÇLAR

Su içerisinde 180 dakika süren rehidrasyon esnasında önemli miktarda fenolik bileşen ortama difüze olmuştur. Yeşil mercimekten fenolik bileşen difüzyonu kırmızı mercimeğe göre daha fazla miktarda gerçekleşmiştir. Kırmızı mercimekten difüze olan fenolik bileşenlerin sahip oldukları antioksidan aktivite oldukça düşükken, yeşil mercimekten difüze olan fenolik bileşenler dikkate değer antioksidan aktiviteye sahip olmuşlardır. Alkol içerisinde bekletme esnasında alkole geçen fenolik bileşen miktarı ve sahip oldukları antioksidan aktiviteler daha düşük olarak ölçülmüştür.

Su ekstraktları un örneklerine göre daha koyu bir renge sahip olmuşlardır. Uygulanan ön işlemler su ekstraktlarının, sıvı protein ekstraktlarının ve katı protein ekstraktlarının renk değerlerinde önemli değişimlere yol açmışlardır. Alkol ekstraktları ise uygulanan ön işlemlerden bağımsız un ve su ekstraktı örneklerine kıyasla en açık renge sahip olan ekstraktlar olmuşlardır.

Kırmızı ve yeşil mercimek su ekstraktları dikkate değer fenolik ve flavonoid içerik ile antioksidan aktiviteye sahip olmuşlardır. Yeşil mercimek su ekstraktları daha çok toplam fenolik bileşen serbest radikal süpürme aktivitesi göstermişlerdir. Uygulanan ön işlemler su ekstraktlarının çözünür fenolik, flavonoid ve protein içerikleri ile antioksidan aktivitelerini önemli şekilde etkilemişlerdir. Özellikle suda bekletme ve tuzlu suda bekletme işlemleri fenolik ekstraksiyonunu önemli şekilde arttırmışlardır. Ancak bu artış ekstraktların SRSA ve DİŞA değerlerine aynı oranda yansımamıştır. Ön işlemler arasında en yüksek SRSA ve DİŞA artışını haşlama işlemi sağlamıştır.

Kırmızı ve yeşil mercimek alkol ekstraktları ise genel olarak su ekstraktlarına kıyasla daha düşük fenolik bileşen ve antioksidan aktiviteye sahip olmuşlardır. Ancak haşlama ön işlemi alkol ekstraktlarının ölçülen tüm parametrelerinde kontrol ekstraktlara göre çok büyük artışlar sağlamıştır. Beklendiği üzere tüm alkol ekstraktlarının çözünür protein içerikleri çok düşük bulunmuştur.

Mercimek unlarından İzoelektrik noktada çöktürme ile elde edilen protein ekstraktları hem sıvı hem de liyofilize edilerek katı forma getirilmiş ve analizler gerçekleştirilmiştir. Sıvı protein ekstraktları yüksek fenolik içerik ve antioksidan aktiviteye sahip olmuşlardır. Yeşil

mercimeklerden üretilen sıvı protein ekstraktları, kırmızı mercimeklerden üretilen ekstraktlara kıyasla çok daha yüksek değerlerde fenolik içerik ve antioksidan aktivite göstermişlerdir. Özellikle fırınlama ve suda bekletme ön işlemleri yeşil mercimek ekstraktlarının ölçülen değerlerini önemli miktarda arttırmıştır. Haşlama işlemi ise kırmızı ve yeşil mercimek sıvı protein ekstraktlarının analiz edilen parametreleri üzerinde olumsuz etkiye sahip olmuştur.

Mercimek protein ekstraktları liyofilize edildikten sonra sahip olduğu değerler liyofilizasyonla birlikte önemli derecede farklılaşmıştır. Öncelikle liyofilizasyon işlemi protein çözünürlüğünü olumsuz etkilemiştir. Benzer şekilde çözünür fenolik bileşen miktarında da büyük azalmalar tespit edilmiştir. Ancak haşlama işlemine tabii tutulmuş örneklerden ekstrakte edilen proteinler liyofilize edildikten sonra toplam fenolik madde, flavonoid madde ve serbest radikal süpürme aktiviteleri çok önemli değerlerde artış göstermiştir. Fırınlama ve suda bekletme işlemleri sonucu üretilen ekstraktların protein içerikleri diğer ekstraktlara göre çok daha yüksek olmuştur ve protein izolatu seviyesinde sonuçlar elde edilmiştir. Kontrol kırmızı ve yeşil mercimek örneklerinden üretilen katı protein ekstraktları en yüksek demir iyonlarını şelatlama aktivitelerini göstermişlerdir ve uygulana ön işlemler ise ekstraktların aktivitelerinde önemli kayıplara yol açmışlardır.

Kırmızı ve yeşil mercimek örnekleri dikkate değer su ve yağ tutma kapasitelerine sahip olmamışlardır. Uygulanan ön işlemler su tutma kapasitesini bir miktar arttırsa da bu artışlar çoğu zaman istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yağ tutma kapasiteleri ise oldukça düşük olmuştur. Un örneklerine göre katı protein ekstraktları daha yüksek su tutma ve yağ tutma kapasitelerine sahip olmuşlardır. Genel olarak bakıldığında yeşil mercimek protein ekstraktları kırmızı mercimekten daha yüksek su tutma kapasitesi göstermişlerdir. Yağ tutma kapasitesi ön işlem uygulanan mercimek protein ekstraktlarında daha düşük olurken özellikle haşlama işlemi yeşil mercimek protein ekstraktının kapasitesinde dikkate değer bir artışa katkıda bulunmuştur.

Mercimek unlarının emülsiyon kapasiteleri uygulanan ön işlemler ile birlikte azalma eğilimi göstermiştir. Sadece fırınlanmış yeşil mercimek ununun emülsiyon kapasitesinde artış tespit edilmiştir. Düşük emülsiyon kapasitesine rağmen en yüksek emülsiyon stabilitesi haşlanmış kırmızı ve mercimek unlarında ölçülmüştür. Kontrol mercimek unlarının genel olarak emülsiyon stabilitesi düşük olmuştur. Sadece fırınlanmış mercimek unlarının emülsiyon stabilitesi kontrol unların stabilitelerinden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Katı protein

ekstraktlarının emülsiyon kapasiteleri unlara kıyasla yüksek olmuştur. Haşlama ve fırınlama ısı işlemleri mercimek proteinlerinin emülsiyon kapasitelerini önemli şekilde arttırmışlardır. Protein ekstraktlarının 60 dakika sonrasında belirlenen emülsiyon stabiliteilerinin unlara kıyasla çok daha yüksek olduğu görülmüştür. Özellikle haşlanmış mercimek protein ekstraktları en yüksek emülsiyon stabilitesine ulaşmıştır.

Haşlama uygulanmış kırmızı ve yeşil mercimek unları hariç diğer unların köpük kapasiteleri ön işlemler sonrasında önemli şekilde azalmıştır. Mercimek unlarından üretilen köpüklerin stabiliteilerinin ise oldukça düşük olduğu görülmüştür. 30 dakika bekletme sonrasında kırmızı mercimek unları arasında kontrol, fırınlanmış, tuzlu suda bekletilmiş ve çimlendirilmiş unların; yeşil mercimek unları arasından da kontrol ve fırınlanmış unların stabiliteilerinin bir kısmını korudukları belirlenmiştir. 60 dakika sonrasında kontrol unlarından elde edilen köpükler haricinde çimlendirilmiş kırmızı mercimek ununun ve fırınlanmış yeşil mercimek ununun oluşturdukları köpüklerin bir kısmı varlıklarını devam ettirebilmişlerdir. Katı protein ekstraktlarında ise durum daha farklı olmuştur. Genel olarak üretilen ekstraktların köpük kapasiteleri unlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Özellikle haşlama işleminin köpük kapasitesini önemli miktarda arttırdığı görülmüştür. Kırmızı mercimek protein ekstraktlarının köpükleri arasında 60 dakikalık inkübasyon sonrası en yüksek stabiliteye kontrol örneği sahip olurken, suda bekletme, tuzlu suda bekletme ve çimlendirme işlemleri uygulanmış yeşil mercimek protein ekstraktlarının köpük stabiliteileri kontrol örneğinin sahip olduğu stabiliteden daha yüksek bulunmuştur.

Üretilen örneklerin antidiyabetik aktiviteleri akarbozun gösterdiği inhibisyon değeri ile kıyaslanarak verilmiştir. Elde edilen su, sıvı protein ve katı protein ekstraktlarının α amilaz inhibisyon değerleri incelendiğinde en yüksek inhibisyonu kırmızı mercimek katı protein ekstraktlarının verildiği görülmüştür. Yeşil mercimek katı protein ekstraktlarında ve kırmızı mercimek sıvı protein ekstraktlarında inhibisyon hiç tespit edilememiştir. Ancak ekstraktların hepsi α glukozidaz inhibisyon aktivitesi göstermişlerdir. Haşlanmış kırmızı ve yeşil mercimekten üretilen su ve sıvı protein ekstraktları yüksek enzim inhibisyonu göstermişlerdir. Liyofilizasyon sonrası ise sahip oldukları inhibisyon önemli şekilde azalmıştır.

Yapılan bu çalışma ile kırmızı ve yeşil mercimeğe uygulanan farklı ön işlemlerin üretilen un, sıvı ekstraktlar ve protein ekstraktlarının sahip olabileceği antioksidan aktivite, antidiyabetik aktivite ve çeşitli fonksiyonel özellikleri üzerine anlamlı değişikliklere yol açabileceği

görülmüştür. Bu değişikliklerin mercimeğin türüne de bağlı olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışma ile amaca uygun olarak seçilen ön işlem ile istenilen fonksiyonun iyileştirilebileceği ortaya koyulmuştur.



6. ÖNERİLER

Çalışmada farklı ön işlemlerin mercimek unlarının bazı biyoaktif ve fonksiyonel özellikleri üzerine olan etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre bazı ön işlem uygulamalarının bazı özellikler üzerinde önemli değişikliklere sebep olabildiği görülmüştür. Bu değişikliklerin mercimek tipine bağlı olarak da değişebildiği tespit edilmiştir. Çalışmanın bundan sonraki aşamalarında;

- Benzer ön işlem uygulamaları tescilli mercimek çeşitlerinde ayrı ayrı denenerek çeşide bağlı değişimler belirlenebilir.
- Bu değişikliklere yol açan ön işlemlerin işlem parametreleri (uygulanan sıcaklık, uygulama süresi, katı/sıvı oranları, vb gibi) denenerek bu değişkenlere bağlı istatistiksel modellemeler üretilebilir.
- Antioksidan ve antidiyabetik aktivite analizlerine ek olarak antihipertansif, antidiyabetik vb. ilave biyoaktif özellikler belirlenebilir.
- İncelenen fonksiyonel özelliklere ilaveten jel oluşturma, viskozite, çözünürlük gibi diğer özellikler de araştırılabilir.
- Biyoaktif özelliklere katkıda bulunan protein ekstraktlarının amino asit içerikleri belirlenerek bu içeriklerle biyoaktif özellikler arasında ilişki kurulabilir. Aynı şekilde fonksiyonel özellikler ile de benzer ilişkiler kurulabilir.
- Su, sıvı protein ve katı protein ekstraktlarının sahip oldukları renk değerleri de göz önüne alındığında ekstraktların fenolik bileşen analizleri yapılabilir.
- İyi biyoaktif ya da fonksiyonel özellik gösteren örnekler kullanılarak gıda uygulamaları gerçekleştirilebilir ve bu özelliklerin gerçek gıda ortamlarında nasıl gösterildiği belirlenebilir.
- Örnekler *in vitro* sindirime uğratarak sahip oldukları biyoaktif özellikler incelenebilir.
- Deney hayvanları üzerinde çeşitli çalışmalar uygulanarak biyoaktif özelliklerin nasıl etki gösterdiği araştırılabilir.

KAYNAKLAR

Akıllıoğlu, H. G., Karakaya, S. (2009). “Effects of heat treatment and in vitro digestion on the Angiotensin converting enzyme inhibitory activity of some legume species”, *Eur Food Res Technol* (2009) 229:915–921

Alves Magro, A.E., Castro, R.J.S. (2020). “Effects of solid-state fermentation and extraction solvents on the antioxidant properties of lentils”, *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 28 (2020) 101753

Amarowicz, R. , Troszynska, A. , Barylko-Pikielna, N. , Shahidi, F. (2004). “Polyphenolics extracts from legume seeds: correlations between total antioxidant activity, total phenolics content, tannins content and astringency”, *Journal of Food Lipids* 11 (2004) 278–286

Amarowicz, R. , Estrella, I. , Hernandez, T. , Duenas, M. , Troszynska, A. , Kosinka, A. , Pegg, R. B. (2009). “Antioxidant Activity of a Red Lentil Extract and Its Fractions”, *Int. J. Mol. Sci.* 2009, 10, 5513-5527

Angelis, D. , Pasqualone, A. , Costantini, M. , Ricciardi, L. , Lotti, C. , Pavan, S. , Summo, C. (2020). “Data on the proximate composition, bioactive compounds, physicochemical and functional properties of a collection of faba beans (*Vicia faba* L.) and lentils (*Lens culinaris* Medik.)”, *Data in Brief* 34 (2020) 106660

Arcan, I., & Yemenicioglu, A. (2007). Antioxidant activity of protein extracts from heat-treated or thermally processed chickpeas and white beans. *Food Chemistry*, 103(2), 301e312.

Avramenko, N. A. , How, N. H. , Nickerson, M.T. (2013). “The effects of limited enzymatic hydrolysis on the physicochemical and emulsifying properties of a lentil protein isolate” , *Food Research International* 51 (2013) 162–169

Aydemir, L. (2008). “Characterization of antioxidant activity and protein functionality in some legume cultivars grown in turkey”, *İzmir Institute of Technology in Partial Fulfilment*

of the Requirements for the Degree of Master Of Science in Biotechnology and Bioengineering

Aydemir, L.Y., Yemeniciuglu, A. (2013). "Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives", LWT-Food Science and Technology, 686-694

Ayyash, M. , Al-Nuaimi, A. K. , Al-Mahadin, S. , Liu, S. Q. (2018). "In vitro investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α - amylase and α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: A comparative study with fermented bovine milk.", Food Chemistry 239: 588-597

Barbana, C. , Boye, J. I. (2011). "Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties of lentil protein hydrolysates: Determination of the kinetics of inhibition", Food Chemistry 127 (2011) 94–101

Boye, J. I., Roufik, S., Pesta, N. ,Barbana, C. (2010). "Angiotensin I-converting enzyme inhibitory properties and SDS-PAGE of red lentil protein hydrolysates" , LWT – Food Science and Technology 43 (2010) 987–991

Bozkurt, O. (2012). "Genel Biyoloji", Pegem Akademi, Ankara

Carbonaro, M., Maselli, P., Nucara, A. (2015). "Structural aspects of legume proteins and nutraceutical properties", Food Research International 76 (2015) 19–30

Chang, C. Stone, A.K., Green, R., Nickerson, M.T. (2019). "Reduction of off-flavours and the impact on the functionalities of lentil protein isolate by acetone, ethanol, and isopropanol treatments", Food Chemistry 277 (2019) 84–95

Çetiner, M. , Ersus Bilek, S. (2018). "Bitkisel Protein Kaynakları", Çukurova J. Agric. Food Sci. 33(2): 111-126, 2018

Du, S., Jiang, H., Yu, X., Jane, J., (2013). “Physicochemical and functional properties of whole legume flour”, Food Science and Technology (2013) 1-6

Ercan, P. , El, S. N. (2016). “Inhibitory effects of chickpea and *Tribulus terrestris* on lipase, α -amylase and α -glucosidase”, Food Chemistry (2016),

Fратиanni, F. , Cardinale, F., Cozzolino, A. , Granese, T. , Albanese, D. , Matteo, M. , Zaccardelli, M. , Coppola, R. , Nazzaro, F. (2014). “Polyphenol composition and antioxidant activity of different grass pea (*Lathyrus sativus*), lentils (*Lens culinaris*), and chickpea (*Cicer arietinum*) ecotypes of the Campania region (Southern Italy)” , Journal Of Functional Foods 7 (2014)551–557.

Garcia-Mora, P., Peñas, E., Frias, J., Gomez, R., Martinez-Villaluenga, C., (2015). “High-pressure improves enzymatic proteolysis and the release of peptides with angiotensin I converting enzyme inhibitory and antioxidant activities from lentil proteins” , Food Chem. 15;171:224-32

Ghumman, A. , Kaur, A. , Singh, N. (2016). “Impact of germination on flour, protein and starch characteristics of lentil (*Lens culinari*) and horsegram (*Macrotyloma uniflorum* L.) lines”, LWT - Food Science and Technology 65 (2016) 137e144

Gülaç, Z. N. (2018). “Ürün Raporu Mercimek 2017”, Tepge Yayın No: 306 ISBN: 978-605-2207-18-5

Han, H. , Baik, B. (2008). “Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing”, International Journal of Food Science and Technology 2008, 43, 1971–1978

Kam A., Li.K. M., Razmovski-Naumovski V., Nammi S., Shi J., Chan K., Li G.Q., (2013). A Comparative Study on the Inhibitory Effects of Different Parts and Chemical Constituents of Pomegranate on α Amylase and α -Glucosidase, Phytotherapy Research, 27, 1614-1620

Karakurt, H. , Aslantaş, R. , Eşitken, A. (2010). “Tohum Çimlenmesi ve Bitki Büyümesi Üzerinde Etkili Olan Çevresel Faktörler ve Bazı Ön Uygulamalar”, U. Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi, 2010, Cilt 24, Sayı 2, 115-128

Kumar S., Narwal S., Kumar V., Prakash O., (2011). Alpha glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes, Pharmacogn Rev. 2011 Jan-Jun; 5(9): 19–29.doi: 10.4103/0973-7847.79096

Ma, Z. , Boye, J. I. , Simpson, B. K. , Prasher, S. O. , Monpetit, D. , Malcolmson, L. (2011). “Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours”, Food Research International 44 (2011) 2534–2544

Maestri, E., Marmioli, M., Marmioli, N. (2016). “Bioactive peptides in plant-derived foodstuffs” , Journal of Proteomics 147 (2016) 140–155

MEB, (2013). “Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri”, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Gıda Teknolojisi, Ankara

MEB, (2016). “Proteinler”, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Gıda Teknolojisi, Ankara

Ommah, B.D., Caspar, F., Malcolmson, L.J., Bellido, A.S., (2011). “Phenolics and antioxidant activity of lentil and pea hulls”, Food Research International 44 (2011) 436–441

Ovando, C. A. , Carvalho, J. C. , Pereira, G. V. M. , Jacques, P. , Soccol, T. V. (2018) “Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from *Spirulina*: A review”, Food Reviews International, 34:1, 34-51,

Patthiratne, S. M. , Shand, P. J. , Pickard, M. , Wanasundara, J. P.D. (2015). “Generating functional property variation in lentil (*Lens culinaris*) flour by seed micronization: Effects of seed moisture level and surface temperature”, Food Research International 76 (2015) 122–131

Polat, H., Capar, T.D., İnanir, C., Ekici, L., Yalcin, H. (2020). “Formulation of functional crackers enriched with germinated lentil extract: A Response Surface Methodology Box-Behnken Design”, *Food Science and Technology* 123 (2020) 109065

Piovesana, S. , Capriotti, A. L. , Cavaliere, C. , Barbera, G. L. , Montone, C. M. , Chiozzi, R.Z., Lagana, A. (2018). “Recent trends and analytical challenges in plant bioactive peptide separation, identification and validation”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 410:3425–3444

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C. 1999. “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay”, *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237.

Rosa, L.A. , Moreno-Escamilla, J.O. , Rodriga-Garcia, J. , Alvarez-Parilla, E. (2019). “Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables”, 2019, Pages 253-271, Pages 253-271

Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. 1951 Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275

Rudolph, S.,Lunow, D., Kaiser, S., Henle, T. (2017). “Identification and quantification of ACE-inhibiting peptides in enzymatic hydrolysates of plant proteins”, *Food Chemistry* 224 19–25

Ruxton, C.H.S. (2008). “Black tea and health”, *British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 33, 91–101

Saldamlı, İ. (2017). *Gıda Kimyası. Saldamlı 2017 Üniversitesi Yayınları*, Ankara

Sarioğlu, G. , Velioğlu, Y. S. (2018). “ Baklagillerin Bileşimi”, *Akademik Gıda* 16(4) 483-496

Sing, B. , Singh, J.P. , Kaur, A. , Singh, N. (2017). “Phenolic composition and antioxidant potential of grain legume seeds: A review”, *Food Research International* 101 1–16

Singleton, V. L., Rossi, J. A. 1965. “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents”, American Journal of Enology and Viticulture, 16, 144–158.

Sun, Y. , Deng, Z. , Liu, R. , Zhang, H. , Zhu, H. , Jiang, L. , Tsao, R. (2020). “A comprehensive profiling of free, conjugated and bound phenolics and lipophilic antioxidants in red and green lentil processing by-products”, Food Chemistry 325 (2020) 126925

Şahin, G. (2016). “2016 Uluslararası Bakliyat Yılı Hasebiyle Türkiye’de Mercimek (*Lens culinaris* Medik) Yetiştiriciliği” , Atatürk Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Dergisi, Aralık 2016 20(4): 1665-1696

Tan, Y. , Chang, S. K. C. , Zhang, Y. (2016). “Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera”, Food Chemistry (2016)

Tayyar, M. , Çıbık, R. (2013). “Gıda Kimyası”, Dora Yayınları, Bursa

TMO, (2019). “2018 Yılı Bakliyat Sektör Raporu”, Toprak Mahsulleri Ofisi Genel Müdürlüğü, Ankara

Torres-Fuentes, C., Contreras, M.M., Recio, I., Alaiz, M., Vioque, J. (2015). “Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates” , Food Chemistry 180 194–202

Xu, B. , Chang, S. K. C. (2008). “Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes”, Food Chemistry 110 (2008) 1–13

Xu, B., Chang, S. K. C. (2010). “Phenolic Substance Characterization and Chemical and Cell-Based Antioxidant Activities of 11 Lentils Grown in the Northern United States”, J. Agric. Food Chem. 2010, 58, 1509–1517

Xu, M. ,Jin, Z. , Gu, Z. , Rao, J. Chen, B. (2020). “Changes in odor characteristics of pulse protein isolates from germinated chickpea, lentil, and yellow pea: Role of lipoxygenase and free radicals”, Food Chemistry 314 (2020) 126184

Yıldız, M. , Cenkci, S. , Terzi, H. , Konuk, M. ,07(01) . “Tuzluluk, sıcaklık ve ışığın tohum çimlenmesi üzerine etkileri”, Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi 7(1) 225-243

Zhang, B., Deng, Z., Ramdath, D.D., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., Liu, Q., Tsao, R. (2015). “Phenolic profiles of 20 Canadian lentil cultivars and their contribution to antioxidant activity and inhibitory effects on α -glucosidase and pancreatic lipase”, Food Chemistry 172 (2015) 862–872

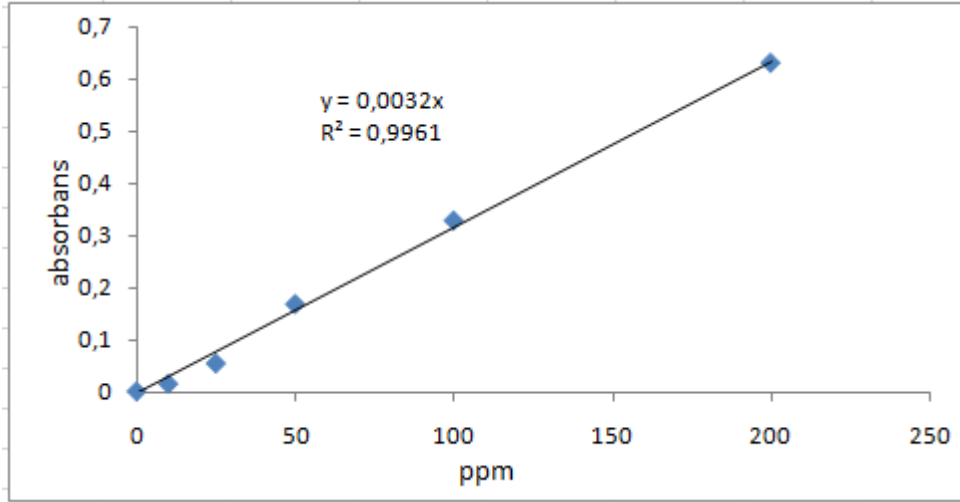
Zhang, B., Deng, Z., Tang, Y., Chen, P.X., Liu, R., R. D.D., Liu, Q., Hernandez, M., Tsao, R. (2017). “Reprint of “Bioaccessibility, in vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of phenolics in cooked green lentil (*Lens culinaris*)”, Journal of Functional Foods (2017)

Zhang, Y. , Chang, S.K.C. (2019). “Comparative studies on ACE inhibition, degree of hydrolysis, antioxidant property and phenolic acid composition of hydrolysates derived from simulated *in vitro* gastrointestinal proteolysis of three thermally treated legumes”, Food Chemistry 281 (2019) 154–162

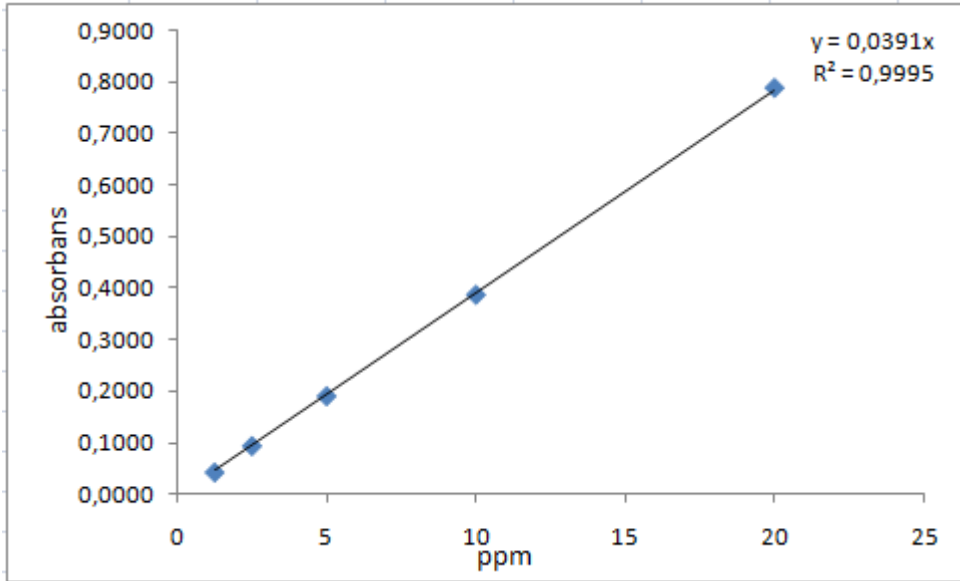
Zhao, Y., Du, S., Wang, H., Cai, M. (2014). “In vitro antioxidant activity of extracts from common legumes”, Food Chemistry 152 (2014) 462–466

EKLER

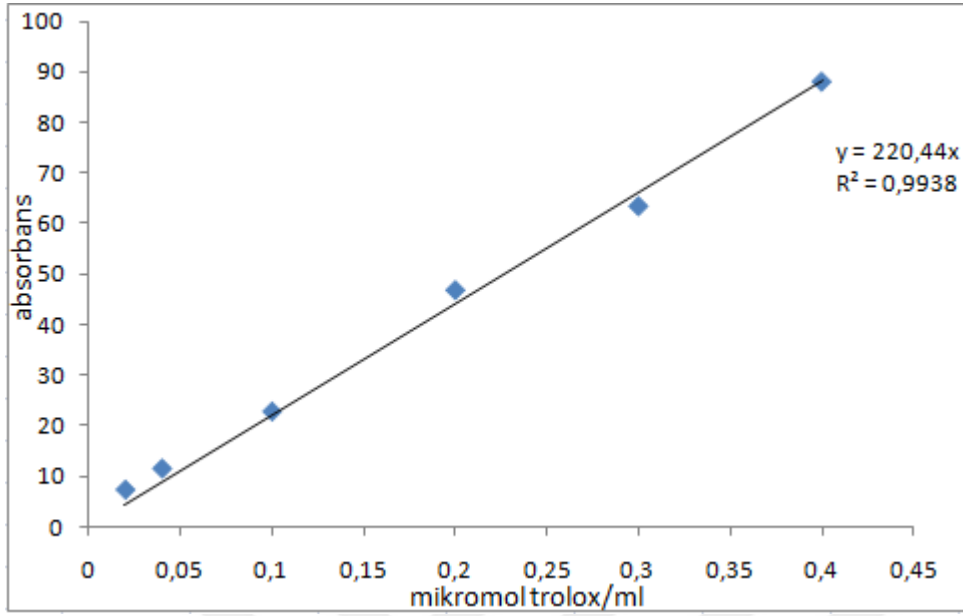
Ek 1. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi



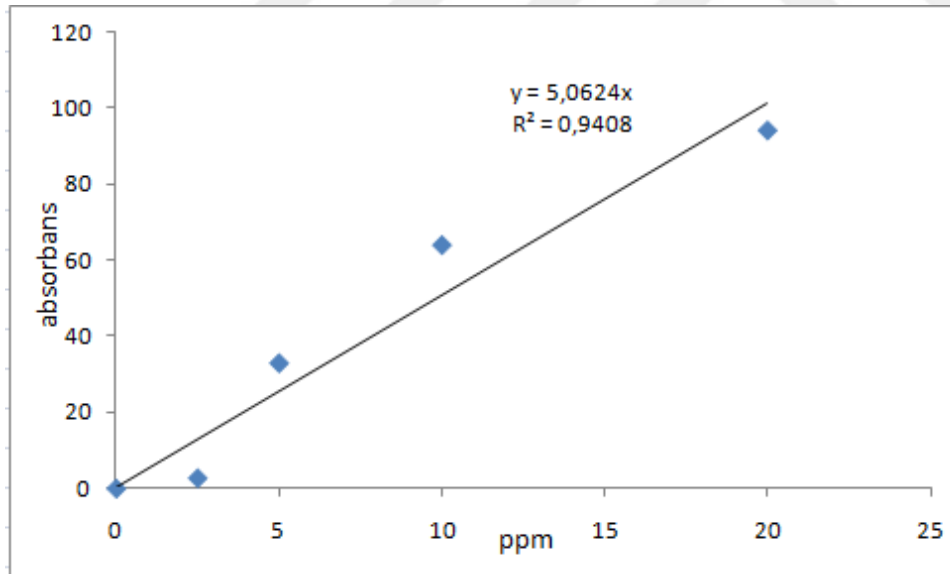
Ek 2. Kuersetin kalibrasyon eğrisi



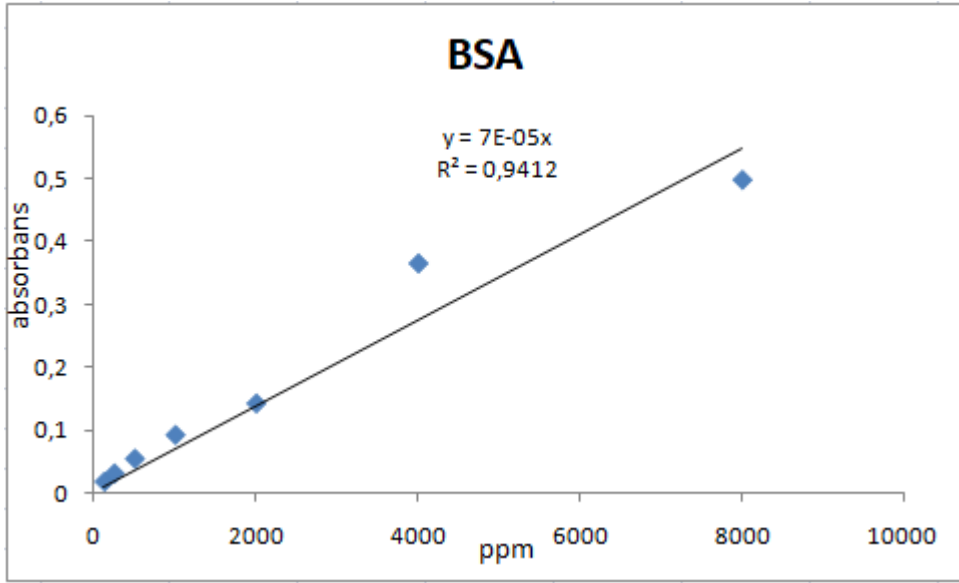
Ek 3. ABTS kalibrasyon eğrisi



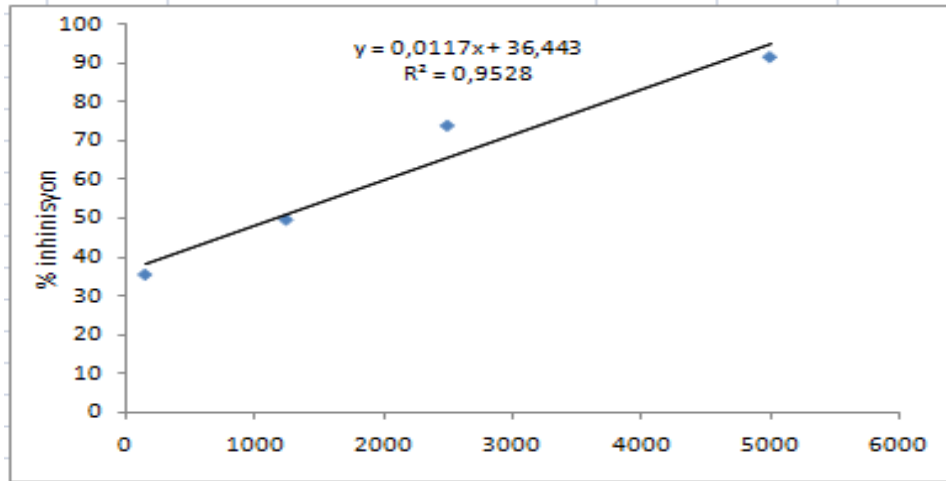
Ek 4. EDTA kalibrasyon eğrisi



Ek 5. BSA kalibrasyon eğrisi



Ek 6. Akarboz alfa glükosidaz inhibisyon grafiği



Ek 7. Akarboz alfa amilaz inhibisyon grafiği

