

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

PÜSKÜRTMELİ KURUTMA KOŞULLARININ FINDIK PROTEİNİ
İZOLATININ TEKNO-FONKSİYONEL VE REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE
ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS

Başak DERYA

MART-2026
GÜMÜŞHANE



T.C.

**GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**PÜSKÜRTMELİ KURUTMA KOŞULLARININ FINDIK PROTEİNİ
İZOLATININ TEKNO-FONKSİYONEL VE REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE
ETKİSİ**

**EFFECT OF SPRAY DRYING CONDITIONS ON THE TECHNO-
FUNCTIONAL AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF HAZELNUT
PROTEIN ISOLATE**

YÜKSEK LİSANS

Başak DERYA

**MART-2026
GÜMÜŞHANE**



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

**PÜSKÜRTMELİ KURUTMA KOŞULLARININ FINDIK PROTEİNİ
İZOLATININ TEKNO-FONKSİYONEL VE REOLOJİK ÖZELLİKLERİNE
ETKİSİ**

**EFFECT OF SPRAY DRYING CONDITIONS ON THE TECHNO-
FUNCTIONAL AND RHEOLOGICAL PROPERTIES OF HAZELNUT
PROTEIN ISOLATE**

YÜKSEK LİSANS

Başak DERYA

Danışman: Prof. Dr. Cemalettin BALTACI

**MART-2026
GÜMÜŞHANE**

KABUL VE ONAY

Prof. Dr. Cemalettin BALTACI danışmanlığında, **Başak DERYA** tarafından hazırlanan “**Püskürtmeli Kurutma Koşullarının Fındık Proteini İzolatının Tekno-Fonksiyonel ve Reolojik Özelliklerine Etkisi**” isimli bu çalışma, 11/03/2026 tarihinde yapılan lisansüstü tez savunma sınavı sonucunda **Oy Birliği** ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.....
Dr. Öğr. Üyesi Halil İbrahim ODABAŞ (Başkan)

.....
Prof.Dr. Cemalettin BALTACI (Danışman)

.....
Dr. Öğr. Üyesi Arda AKDOĞAN (Üye)

Lisansüstü tez savunma sınavında başarılı bulunarak kabul edilen bu tezin ciltlenmiş hali, ... /..... /..... tarihli ve / sayılı Enstitü Yönetim Kurulu toplantısında görüşülmüş ve tez yazım kılavuzuna uygun bulunarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Duygu ÖZDEŞ

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlamış olduğum “**Püskürtmeli Kurutma Koşullarının Fındık Proteini İzolatının Tekno-Fonksiyonel ve Reolojik Özelliklerine Etkisi**” isimli bu tezimin, tamamen kendi çalışmam olduğunu, her alıntıya kaynak gösterdiğimi, alıntı yaptığım tüm çalışmaları kaynakçada belirttiğimi ve Gümüşhane Üniversitesi’nin lisanslı kullanıcısı olduğu intihal yazılım programı ile Lisansüstü Eğitim Enstitüsü’nün belirlediği kıstaslara uygun olarak raporladığımı taahhüt ederim. Tezimin kâğıt ve elektronik kopyalarının Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü arşivinde saklanmasına izin verdiğimi onaylarım.

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği’nin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

11/03/2026

Başak DERYA

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Yüksek lisans tez çalışmamın her aşamasında emeğini, bilgisini, hoşgörüsünü, samimiyetini ve desteğini hiç esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Cemalettin BALTACI' ya tezime ve gelecekteki hayatıma sunduğu katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım. 25.E0106.07.02 kodlu bu proje GÜBAP2907 Lisansüstü Öğrenci Destek Programı çerçevesinde Gümüşhane Üniversitesi tarafından desteklenmiştir.

Laboratuvar ve uygulama çalışmalarında bana yardımcı olan, bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen Sayın Dr. Halil İbrahim ODABAŞ' a tezime sunduğu katkılardan dolayı teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Tez çalışması esnasında deneysel kısımlara yardımcı olan Gıda Mühendisliği Bölümü doktora öğrencisi Bill Jaures CHIMI' ye teşekkür ederim.

Çalışma kapsamında kullanılan materyallerin temini ve tez sürecinde destek sağlayan Sabırlar Fındık firmasına ve birlikte çalıştığım mesai arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini her zaman yanımda hissettiren, sabır ve anlayışlarıyla beni motive eden aileme sonsuz teşekkür ederim.

Başak DERYA
GÜMÜŞHANE-2026

ÖZET

Bu tez çalışmasında, yağsızlaştırılmış fındık küspesinden elde edilen fındık proteini izolatinin farklı kurutma yöntemleriyle toz forma dönüştürülmesi ve uygulanan kurutma proseslerinin izolatların tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, fındık küspesinden alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemi kullanılarak yüksek saflıkta protein izolatu elde edilmiştir. Elde edilen protein izolatu, dondurarak kurutma (FD) ve farklı giriş hava sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma (SD 140, SD 160, SD 180 ve SD 200) yöntemleriyle kurutulmuştur.

Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen protein izolatlarının pH'ya bağlı çözünürlük davranışı, pH 4 civarında minimum değerlere (%30–35) düşerken, alkali koşullarda (pH 10–12) belirgin şekilde artmış ve %70–82 aralığına ulaşmıştır. Su tutma kapasitesi 4.11–4.32 g/g, yağ tutma kapasitesi ise 1.92–2.89 g/g aralığında değişmiştir. Köpük kapasitesi %19.0–23.2, köpük stabilitesi %11.9–19.4 ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) 23.2–40.8 arasında belirlenmiştir. Püskürtmeli kurutma sıcaklığının artmasıyla birlikte özellikle SD 180 ve SD 200 örneklerinde emülsiyon stabilitesi ve viskozite değerlerinin arttığı gözlenmiştir. Protein sindirilebilirliği tüm örneklerde yüksek bulunmuş ve %77.7–78.9 aralığında değişmiştir. Renk analizleri, püskürtmeli kurutma uygulanan örneklerde L* değerlerinin FD örneklerine göre arttığını ($\approx 50 \rightarrow 62-66$) ve toplam renk farkının (ΔE) belirginleştiğini göstermiştir.

FTIR analizleri, kurutma yöntemlerine bağlı olarak proteinlerin ikincil yapı düzeyinde değişimler meydana geldiğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, kurutma yöntemi ve işlem şiddetinin fındık proteini izolatlarının fonksiyonel ve reolojik özelliklerini belirleyen kritik faktörler olduğu; yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutmanın emülsiyon ve reolojik özellikler açısından, dondurarak kurutmanın ise yapısal korunum açısından avantaj sağladığı belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bitkisel protein, Fındık proteini izolatu, Kurutma yöntemleri, Reolojik özellikler, Tekno-fonksiyonel özellikler

SUMMARY

In this thesis, hazelnut protein isolate obtained from defatted hazelnut meal was converted into powder form using different drying methods, and the effects of these processes on the techno-functional and rheological properties of the isolates were evaluated. Hazelnut protein isolate was produced by alkaline extraction followed by isoelectric precipitation and subsequently dried by freeze drying (FD) and spray drying at different inlet air temperatures (SD 140, SD 160, SD 180, and SD 200).

The pH-dependent solubility of the protein isolates exhibited a minimum around pH 4 (approximately 30–35%) and increased markedly under alkaline conditions (pH 10–12), reaching values between 70% and 82%. Water-holding capacity ranged from 4.11 to 4.32 g/g, while oil-holding capacity varied between 1.92 and 2.89 g/g. Foam capacity and foam stability were measured in the ranges of 19.0–23.2% and 11.9–19.4%, respectively, and the emulsion stability index (ESI) ranged from 23.2 to 40.8. Higher spray-drying temperatures resulted in improved emulsion stability and increased viscosity, particularly in the SD 180 and SD 200 samples. Protein digestibility remained high and similar for all samples, ranging from 77.7% to 78.9%. Color analysis showed higher L* values in spray-dried samples compared to freeze-dried samples (approximately 50 to 62–66), along with increased total color difference (ΔE). FTIR analysis revealed drying-induced modifications at the level of protein secondary structure.

Overall, the results indicate that drying method and processing intensity are key factors influencing the functional and rheological performance of hazelnut protein isolates.

Keywords: Plant protein, Hazelnut protein isolate, Drying methods, Rheological properties, Techno-functional properties

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	III
BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK BEYANI	IV
TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET.....	VI
SUMMARY	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XIII
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgiler	1
1.2. Fındık	3
1.3. Protein	5
1.4. Protein Elde Etme İzalasyon Teknikleri	6
1.4.1. Ekstraksiyon ve Çöktürmeye Dayalı Yöntemler.....	7
1.4.2. Enzim Destekli Protein İzolasyonu.....	8
1.4.3. Membran Teknolojileri	8
1.4.4. İleri Saflaştırma Teknikleri	8
1.5. Proteinlerde Kurutma Teknikler	9
1.6. Önceki Çalışmalar	10
1.7. Çalışmanın Amacı.....	13
1.8. Çalışmanın Kapsamı	13
2. MATERYAL VE METOT	15
2.1. Cihazlar	15
2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılmış Olan Kimyasallar.....	15
2.3. Çözeltilerin Hazırlanması.....	15

2.4. Materyal	16
2.5. Fındık Protein İzolatının Elde Edilmesi	16
2.6. Kurutma Yöntemleri	17
2.6.1. Püskürtmeli Kurutma (Spray Drying)	17
2.6.2. Dondurarak Kurutma (Freeze Drying)	18
2.7. Eleme ve Depolama	19
2.8. Nem ve Kuru Madde Tayini	19
2.9. Ham Protein Tayini	20
2.10. Toplam Kül Tayini	21
2.11. Renk Tayini	21
2.12. Protein Çözünürlüğünün Belirlenmesi	22
2.13. Su Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi	23
2.14. Yağ Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi	24
2.15. Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksi (ESI)	24
2.17. Dinamik Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi	26
2.18. Su Aktivitesinin (a_w) Belirlenmesi	26
2.19. İstatistiksel Analiz	27
3.BULGULAR VE TARTIŞMA	28
3.1. Farklı Kurutma Yöntemleriyle Elde Edilen Protein İzolatlarının Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	28
3.1.1. % Nem ve % Kuru Madde Sonuçlarının Değerlendirilmesi	28
3.1.2. Su Aktivitesi (a_w) Sonuçlarının Değerlendirilmesi	30
3.1.3. Protein İçeriği Sonuçlarının Değerlendirilmesi	33
3.1.4. Kül İçeriği Sonuçlarının Değerlendirilmesi	36
3.2. Protein İzolatlarının pH ve İşlem Kaynaklı Yapısal Değişimlere Bağlı Çözünürlük Davranışının Mekanizma Temelli Değerlendirilmesi	37
3.3. Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özellikleri	43
3.3.1. Su Tutma Kapasitesi	43
3.3.2. Yağ Tutma Kapasitesi	47

3.3.3. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi	49
3.3.4. Emülsiyon Stabilite İndeksi (ESİ).....	51
3.4. Protein İzolatlarının Sindirilebilirliği (%).....	53
3.5. Protein İzolatlarının Renk Değerleri	56
3.6. Protein İzolatlarının Reolojik (Viskozite ve Viskoelastik) Davranışları	59
3.7. Protein İzolatlarının FTIR Analiz Sonuçları	63
4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME	66
KAYNAKÇA.....	69
ÖZGEÇMİŞ	74

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Hazırlanan örneklerin kodları	16
Tablo 2. Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen protein izolatlarının bazı fizikokimyasal özellikleri	30
Tablo 3. Protein izolatlarının farklı pH değerlerinde çözünürlük oranları (%)	38
Tablo 4. Protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri	45
Tablo 5. Protein izolatlarının renk parametreleri (L^* , a^* , b^* ve ΔE)	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Örneklere ait %nem analiz sonuçlarının sütun grafiği.....	28
Şekil 2. Örneklere ait %kuru madde analiz sonuçlarının sütun grafiği.....	29
Şekil 3. Örneklere ait su aktivitesi (a_w) analiz sonuçlarının sütun grafiği.....	31
Şekil 4. Örneklere ait %protein analiz sonuçlarının sütun grafiği.....	33
Şekil 5. Örneklere ait %kül analiz sonuçlarının sütun grafiği.....	36
Şekil 6. Protein izolatlarının farklı pH değerlerindeki çözünürlük profilleri.....	39
Şekil 7. Protein izolatlarının su tutma kapasiteleri.....	46
Şekil 8. Protein izolatlarının su tutma kapasiteleri.....	48
Şekil 9. Protein izolatlarının köpük kapasiteleri ve stabiliteeleri	50
Şekil 10. Protein izolatlarının emülsiyon stabilite indeksi (ESI)	52
Şekil 11. Protein izolatlarının Sindirilebilirliği (%).....	53
Şekil 12. Protein izolatlarının renk değerleri	58
Şekil 13. Protein izolatlarının reolojik (Viskozite) değer grafiği.....	59
Şekil 14. Protein izolatlarının frekans taraması grafiği.....	62
Şekil 15. Örneklere ait FTIR grafiği	64

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
µg	: mikrogram
µL	: mikrolitre
°C	: Santigrat
Ca	: Kalsiyum
Cu	: Bakır
d	: yoğunluk
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
Fe	: Demir
g	: Gram
HCl	: Hidroklorik Asit
K	: Potasyum
K ₂ SO ₄	: Potasyum sülfat
UV	: Ultraviyole
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
nm	: nanometre
ml	: mililitre
mM	: milimolar
M	: Molar
Mn	: Manganez
Mg	: Magnezyum
Mg	: miligram
N	: normalite
Na	: Sodyum
NaCl	: Sodyum Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NH ₃	: Amonyak
P	: Fosfor
pH	: Hidrojen Potansiyeli
TSE	: Türk Standartlar Enstitüsü
Zn	:Çinko

1. GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

Günümüzde dünya nüfusundaki hızlı artış, iklim değişikliği, tarımsal üretimdeki verim baskısı, su ve arazi kaynaklarının kısıtlılığı ile birlikte küresel ölçekte gıda güvenliği ve sürdürülebilir beslenme konusu daha da kritik hale gelmiştir. Bu koşullar altında, özellikle temel besin öğelerinden biri olan proteinlerin yeterli, dengeli ve sürdürülebilir biçimde temin edilmesi önemli bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır. Proteinler; büyüme ve gelişme, hücre yenilenmesi, bağışıklık fonksiyonları ve metabolik süreçlerin devamlılığı için vazgeçilmez bileşikler olmasının yanı sıra, gıda sistemlerinde yapı oluşturma, emülsifikasyon, jelasyon, köpük oluşturma ve su/yağ bağlama gibi teknolojik fonksiyonel roller üstlenmektedir. Bu nedenle protein kaynaklarının yalnızca miktar açısından değil, besinsel değer ve fonksiyonellik açısından da değerlendirilmesi gerekmektedir.

Uzun yıllar boyunca protein gereksiniminin büyük bir bölümü hayvansal kaynaklardan karşılanmış; ancak son yıllarda hayvansal üretimin çevresel etkileri, maliyet artışları, antibiyotik kullanımı ve bazı kronik hastalıklarla ilişkili risk algıları, tüketici tercihlerinde bitkisel bazlı ürünlere yönelimi hızlandırmıştır (Çetiner ve Bilek, 2018). Buna paralel olarak vegan/vejetaryen beslenme modellerinin yaygınlaşması ve “bitki temelli protein” pazarının büyümesi, alternatif bitkisel protein kaynaklarına olan talebi belirgin şekilde artırmıştır. Bitkisel proteinler; daha düşük çevresel ayak izi, geniş kaynak çeşitliliği ve fonksiyonel gıda formülasyonlarında kullanım uygunluğu nedeniyle sürdürülebilir gıda üretimi açısından stratejik bileşenler olarak değerlendirilmektedir (Akharume, Aluko ve Adedjei, 2021). Yağlı tohumlar, baklagiller, tahıllar ve bazı meyve-tohum yan ürünleri bu bağlamda dikkat çeken protein kaynakları arasındadır.

Bu kaynaklardan biri olan fındık (*Corylus avellana L.*), kendine özgü aroması ve zengin besin bileşimi nedeniyle dünya genelinde yaygın tüketilen önemli bir sert kabuklu meyvedir (Akyol, 2023). Fındığın ortalama bileşimi genellikle yaklaşık %60–65 yağ, %11–18 protein ve %10–20 karbonhidrat olarak bildirilmektedir; ancak bu oranlar çeşit, yetiştirme koşulları, coğrafi köken ve uygulanan işleme adımlarına bağlı olarak anlamlı düzeyde değişebilmektedir (Köksal vd., 2005). Türkiye’de fındık, başta çikolata ve şekerleme sanayisi olmak üzere bisküvi, unlu mamuller, dondurma ve pastacılık sektörlerinde yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bunun yanında fındık yağı rafine edilerek

yemeklik yağ üretiminde değerlendirilmekte; yağ üretiminden sonra geriye kalan fındık küspesi ise çoğunlukla yem sanayisinde düşük katma değerli bir yan ürün olarak kullanılmaktadır.

Oysa yağ alımı sonrasında ortaya çıkan fındık küspesi, yüksek protein içeriği ile önemli bir potansiyele sahiptir. Literatürde fındık küspesinin proteince zengin (yaklaşık %40) ve selülozca görece düşük (yaklaşık %9) bir yapı sergilediği; dolayısıyla değerli bir bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilebileceği bildirilmektedir (Doğan ve Bircan, 2010). Gıda endüstrisinde işleme süreçleri sonucunda ortaya çıkan yan ürünlerin büyük kısmının imha edilmesi veya düşük katma değerli kullanım alanlarına yönlendirilmesi hem ekonomik kayıp hem de çevresel yük oluşturmaktadır. Buna karşın, bu yan ürünlerin besinsel açıdan zengin fraksiyonlarının geri kazanılması ve fonksiyonel içerik olarak değerlendirilmesi, döngüsel ekonomi yaklaşımı ve sürdürülebilir üretim hedefleri ile doğrudan ilişkilidir. Bu çerçevede fındık küspesinden protein izolatu elde edilmesi, hem bitkisel protein ihtiyacına katkı sağlayabilecek hem de endüstriyel yan ürünlerin katma değerli bileşenlere dönüştürülmesine örnek teşkil edebilecek bir yaklaşım sunmaktadır.

Protein izolasyonu sonrasında elde edilen konsantre/izolat fraksiyonlarının endüstriyel kullanımı açısından bir diğer kritik aşama, ürünün stabil ve taşınabilir bir forma dönüştürülmesidir. Protein izolatları piyasada çoğunlukla toz ürünler halinde bulunmakta; bu form, uzun raf ömrü, düşük su aktivitesi, kolay depolama ve taşıma, formülasyonlara dozlanabilirlik gibi avantajlar sağlamaktadır. Toz ürün elde etmede kurutma işlemi temel bir adımdır ve su aktivitesinin düşürülmesi yoluyla mikrobiyal büyümenin sınırlandırılması ve kimyasal bozunma reaksiyonlarının yavaşlatılması hedeflenir. Bununla birlikte kurutma işlemi yalnızca koruyucu bir işlem değil, aynı zamanda proteinlerin yapısal bütünlüğünü ve dolayısıyla fonksiyonel performansını belirleyebilen kritik bir proses parametresidir.

Bitkisel proteinlerin kurutulmasında endüstride en yaygın uygulanan yöntemlerden biri püskürtmeli kurutmadır. Püskürtmeli kurutma, kısa proses süresi ve sürekli üretime uygunluğu nedeniyle avantaj sağlasa da yüksek sıcaklık ve hızlı su uzaklaştırma koşulları proteinlerin denatürasyonu, agregasyonu veya çözünürlük kaybı gibi istenmeyen değişimlere yol açabilmektedir. Alternatif olarak dondurarak kurutma (liyofilizasyon), düşük sıcaklıkta işlem yapılması sayesinde ısıya duyarlı bileşenlerin korunması açısından öne çıkmakta; ancak enerji tüketimi ve proses süresi bakımından daha maliyetli olabilmektedir. Vakum konveksiyon kurutma ise düşük basınç koşulları nedeniyle daha düşük sıcaklıklarda kurutma imkânı sunarak bazı kalite kayıplarını azaltabilmekte, aynı zamanda endüstriyel ölçeklenebilirlik açısından da değerlendirilebilen bir yöntem olarak

görülmektedir. Bu yöntemlerin her biri, nihai toz ürünün partikül morfolojisi, akışkanlık, higroskopisite, çözünürlük, su/yağ tutma kapasitesi, emülsiyon stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve reolojik davranışları üzerinde farklı etkiler oluşturabilmektedir (Berghout vd., 2015). Dolayısıyla aynı protein kaynağından elde edilen izolatin farklı kurutma teknikleriyle işlenmesi, ürünün kullanım alanlarını ve performansını doğrudan etkileyen belirleyici bir faktördür.

Literatürde çeşitli bitkisel protein izolatlarının (baklagiller, tahıllar ve yağlı tohumlar gibi) kurutma yöntemlerine bağlı fonksiyonel değişimleri incelenmiş olsa da, fındık küspesinden elde edilen protein izolatlarının farklı kurutma prosesleriyle tozlaştırılması sonrası tekno-fonksiyonel ve reolojik özelliklerinin karşılaştırmalı biçimde değerlendirilmesine yönelik çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Bu durum, fındık küspesi gibi yüksek protein potansiyeli taşıyan bir yan ürünün gıda uygulamalarında daha etkin kullanılabilmesi için önemli bir araştırma boşluğu oluşturmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, fındık küspesinden elde edilen protein izolatinın farklı kurutma prosesleri (püskürtmeli kurutma, dondurarak kurutma ve vakum konveksiyon kurutma) ile toz hale getirilmesi ve elde edilen ürünlerin tekno-fonksiyonel (çözünürlük, su/yağ tutma kapasitesi, emülsifikasyon ve köpük özellikleri gibi) ve reolojik özelliklerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesidir. Bu kapsamda kurutma yönteminin, fındık proteini izolatinın yapısal/fiziksel özellikleri üzerinden fonksiyonel performansını nasıl şekillendirdiğinin ortaya konulması hedeflenmektedir. Elde edilecek bulguların; (i) fındık küspesinin katma değerli biçimde değerlendirilmesine, (ii) bitkisel protein bazlı ürün geliştirme çalışmalarına bilimsel temel oluşturmaya ve (iii) uygun kurutma prosesinin belirlenmesine katkı sağlaması beklenmektedir.

1.2. Fındık

İnsan yaşam fonksiyonlarının sürdürülebilmesi için yeterli ve dengeli beslenme temel bir gereklilik olup, sağlıklı beslenme alışkanlıkları yaşam kalitesinin artırılmasında önemli rol oynamaktadır (Savaş, 2024). Bu bağlamda, besin değeri yüksek yağlı tohumlar arasında yer alan fındık (*Corylus avellana L.*), insan beslenmesinde önemli bir gıda kaynağı olarak değerlendirilmektedir (Köksal vd., 2006; Savaş, 2024). Fındık, Betulaceae familyasına ait olup Avrupa ve Küçük Asya kökenli bir türdür ve günümüzde dünya genelinde yaygın olarak yetiştirilmektedir.

Dünyada ağaçta yetişen kabuklu yemişler arasında bademden sonra en fazla üretimi yapılan fındık, başta Türkiye olmak üzere İtalya, ABD, İspanya ve Azerbaycan gibi ülkelerde ekonomik olarak üretilmektedir (Savaş, 2024; Zhao vd., 2023). Türkiye, dünya

findık üretimi ve ihracatında ilk sırada yer almakta olup, üretim ağırlıklı olarak Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yoğunlaşmaktadır (Savaş, 2024). Fındık bitkisi, özellikle ılıman ve nemli iklim koşullarında yetiştirmeye uygun olup, yetiştirildiği bölge, iklim koşulları ve çeşit farklılıklarına bağlı olarak kalite ve bileşim özellikleri değişkenlik gösterebilmektedir (Zhao vd., 2023).

Fındık; kabuğundan ayrılarak ham olarak tüketilmesinin yanı sıra çikolata ve şekerleme sanayisi başta olmak üzere unlu mamuller, atıştırmalıklar, dondurma ve yağ sanayinde yaygın şekilde kullanılan önemli bir tarımsal hammaddedir (Özdemir vd., 2004; Mexis vd., 2009; Şahin vd., 2019; Scarpari vd., 2020). Geniş kullanım alanı, fındığın yalnızca bir tüketim ürünü değil, aynı zamanda gıda sanayinde katma değeri yüksek ürünlerin geliştirilmesinde stratejik bir hammadde olarak değerlendirilmesine olanak sağlamaktadır (Spataro vd., 2024).

Besinsel açıdan değerlendirildiğinde fındığın yüksek enerji içeriğine sahip olduğu ve 100 gramında yaklaşık 600–650 kcal enerji sağladığı bildirilmektedir (Savaş, 2024). Fındık yağının ağırlıklı olarak oleik ve linoleik asitten oluştuğu, kolesterol içermediği ve sağlıklı yağ asidi profiline sahip olduğu belirtilmektedir (Şimşek ve Aslantaş, 1999; Köksal vd., 2006). Ayrıca fındık; E vitamini başta olmak üzere çeşitli vitaminler ile Fe, Mg, Cu, Mn, K, P, Zn ve Ca gibi mineraller bakımından zengin bir bileşime sahiptir (Köksal vd., 2006; Savaş, 2024).

İç fındığın protein içeriğinin yaklaşık %10–24 aralığında değiştiği ve esansiyel ile esansiyel olmayan amino asitler bakımından zengin olduğu bildirilmektedir (Köksal vd., 2006; Şahin vd., 2019). Fındık proteinlerinin amino asit profili incelendiğinde özellikle glutamik asit, aspartik asit ve arjinin gibi amino asitlerin yüksek oranda bulunduğu rapor edilmiştir (Şahin vd., 2019; Savaş, 2024). Bu özellikleriyle fındık, bitkisel protein kaynakları arasında protein kalitesi ve biyoyararlanım açısından dikkat çeken bir hammadde olarak değerlendirilmektedir (Spataro vd., 2024).

Fındığın zengin besin bileşimi ve sağlığı teşvik edici özellikleri, onu yalnızca beslenme açısından değil, aynı zamanda fonksiyonel bileşenlerin elde edilmesi açısından da önemli bir gıda hammaddesi haline getirmektedir (Mexis ve Kontominas, 2009; Spataro vd., 2024). Özellikle fındık proteinlerinin izolat formunda değerlendirilmesi ve bu proteinlerin teknolojik ve reolojik özelliklerinin incelenmesi, bitkisel proteinlere olan ilginin artmasıyla birlikte günümüzde giderek önem kazanmaktadır.

1.3. Protein

Proteinler, amino asitlerin birleşmesiyle oluşan ve insan vücudunda büyüme, gelişme, doku onarımı, enzim ve hormon sentezi gibi yaşamsal fonksiyonlarda görev alan temel besin öğeleridir. Hücrelerin yapısal bütünlüğünün korunması, bağışıklık sisteminin işleyişi ve metabolik süreçlerin sürdürülebilmesi için yeterli protein alımı büyük önem taşımaktadır. Proteinler aynı zamanda enerji sağlayıcı bir besin ögesi olup, karbonhidrat ve yağ alımının yetersiz olduğu durumlarda vücutta enerji kaynağı olarak kullanılabilir (Ünsal, 2019). Bunun yanı sıra proteinler, gıda sistemlerinde yapı oluşturma, su ve yağ bağlama, emülsifikasyon, köpüklenme ve jelleşme gibi teknolojik fonksiyonel özellikler göstererek ürün kalitesini doğrudan etkilemektedir (Yavuz ve Özçelik, 2016).

Günümüzde artan dünya nüfusu, değişen beslenme alışkanlıkları ve çevresel kaygılar, protein kaynaklarının sürdürülebilirliği konusunu ön plana çıkarmıştır. Geleneksel olarak protein ihtiyacının büyük bölümü hayvansal kaynaklardan karşılanmakla birlikte, hayvansal protein üretiminin çevresel etkileri, yüksek maliyeti ve bazı sağlık riskleri nedeniyle bitkisel proteinlere olan ilgi giderek artmaktadır (Esmer vd., 2024; Çetiner ve Bilek, 2018). Ayrıca vegan ve vejetaryen beslenme modellerinin yaygınlaşması ile birlikte, bitkisel proteinlerin gıda formülasyonlarında kullanımına yönelik araştırmalar hız kazanmıştır (Esmer vd., 2024).

Bitkisel proteinler; tahıllar, baklagiller ve yağlı tohumlar gibi farklı bitkisel kaynaklardan elde edilmekte olup, genellikle depo proteinleri olarak tanımlanmaktadır. Bu proteinler, bitkinin fizyolojik gelişimi açısından önemli olmasının yanı sıra, insan beslenmesinde protein ihtiyacının karşılanmasında ve gıdaların fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesinde rol oynamaktadır (Çetiner ve Bilek, 2018). Bitkisel proteinlerin besleyici değeri; amino asit kompozisyonu, sindirilebilirliği ve biyoyararlanımı ile yakından ilişkilidir.

Gıda endüstrisinde bitkisel proteinler, protein konsantresi ve protein izolatu formunda değerlendirilmekte olup, özellikle protein izolatları yüksek protein içeriği sayesinde fonksiyonel bileşen olarak öne çıkmaktadır. Protein izolatlarının çözünürlük, emülsifikasyon, köpüklenme ve jelleşme gibi özellikleri; protein kaynağına, uygulanan ekstraksiyon yöntemine ve kullanılan kurutma koşullarına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Yavuz ve Özçelik, 2016). Bu durum, bitkisel proteinlerin teknolojik performansının iyileştirilmesi için proses koşullarının optimize edilmesini gerekli kılmaktadır.

Bu bağlamda, yağlı tohumlar hem besinsel değerleri hem de fonksiyonel protein içeriği nedeniyle önemli bir bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Fındık gibi yağlı tohumlardan elde edilen proteinler, yüksek biyolojik potansiyelleri ve gıda sistemlerindeki işlevsel rolleri nedeniyle son yıllarda araştırmaların odağında yer almaktadır. Ancak bitkisel proteinlerin gıda endüstrisinde etkin bir şekilde kullanılabilmesi, bu proteinlerin uygun yöntemlerle saflaştırılması ve fonksiyonel özelliklerinin korunması ile doğrudan ilişkilidir.

Bitkisel proteinlerin fonksiyonel performansı; kullanılan hammadde kadar, uygulanan protein elde etme ve izolasyon yöntemlerine de bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Özellikle ekstraksiyon, çöktürme ve kurutma gibi işlem basamaklarında uygulanan yöntem ve parametreler, proteinlerin yapısal özelliklerini, çözünürlüklerini ve reolojik davranışlarını etkileyebilmektedir (Yavuz ve Özçelik, 2016). Bu nedenle, bitkisel proteinlerin izolat formunda değerlendirilmesi ve farklı izolasyon tekniklerinin protein özellikleri üzerindeki etkilerinin ortaya konulması büyük önem taşımaktadır.

1.4. Protein Elde Etme İzolasyon Teknikleri

Bitkisel proteinlerin gıda endüstrisinde etkin ve fonksiyonel bir şekilde kullanılabilmesi için, protein fraksiyonunun bitki matriksinden ayrılarak konsantre veya izolat formuna dönüştürülmesi gerekmektedir. Protein izolasyon tekniklerinin temel amacı; yüksek protein verimi sağlamak, protein saflığını artırmak ve proteinlerin yapısal ile fonksiyonel özelliklerini mümkün olduğunca korumaktır. Bu doğrultuda geliştirilen yöntemler, kullanılan hammadde türüne, hedeflenen protein saflığına ve elde edilmek istenen ürünün kullanım amacına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Kusumah vd., 2020; Lo vd., 2021).

Bitkisel proteinlerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan teknikler arasında ekstraksiyon-çöktürmeye dayalı yöntemler, tuzla çöktürme, enzim destekli ekstraksiyon ve membran teknolojileri yer almaktadır. Bununla birlikte, bu tekniklerin etkinliği yalnızca ekstraksiyon aşamasıyla sınırlı olmayıp, izolasyon sonrası uygulanan ayırma ve kurutma işlemleriyle birlikte değerlendirilmelidir. Özellikle kurutma işlemi, elde edilen protein ürününün fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikleri üzerinde belirleyici bir etkiye sahiptir (Kusumah vd., 2020). Bu nedenle protein izolasyon süreci, birbirini tamamlayan aşamalardan oluşan bütüncül bir yaklaşım çerçevesinde ele alınmalıdır.

1.4.1. Ekstraksiyon ve Çöktürmeye Dayalı Yöntemler

Ekstraksiyon ve çöktürmeye dayalı yöntemler, bitkisel protein izolasyonunda en yaygın kullanılan teknikler arasında yer almakta olup, özellikle alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme kombinasyonu endüstriyel ölçekte sıklıkla tercih edilmektedir. Bu yöntemde temel prensip, proteinlerin belirli pH koşullarında çözünürlüklerinin değiştirilmesi esasına dayanmaktadır.

Alkali ekstraksiyon aşamasında, bitkisel hammadde su ile süspanse edilmekte ve ortam pH'ı genellikle proteinlerin maksimum çözünürlük gösterdiği alkali değerlere (pH 8–10 aralığı) ayarlanmaktadır. Bu koşullarda proteinler çözünür hâle geçerken, lif, nişasta ve diğer çözünmeyen bileşenler ortamdan ayrılabilir. Alkali ekstraksiyon yöntemi, yüksek protein verimi sağlaması ve farklı bitkisel kaynaklara uygulanabilirliği nedeniyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Kusumah vd., 2020).

Fındık gibi yağlı tohumlarda uygulanan alkali ekstraksiyon işlemi, özellikle yağdan arındırılmış hammaddelerde protein çözünürlüğünü önemli ölçüde artırmaktadır. Tatar vd. (2015), yağsız fındık unu ve fındık küspesinden protein eldesinde pH 9,5 koşullarında maksimum protein çözünürlüğünün sağlandığını ve bu aşamanın protein konsantresi üretiminde kritik bir basamak olduğunu bildirmiştir.

Alkali ortamda çözünen proteinlerin izolasyonu amacıyla, ekstraktın pH'ı proteinlerin izoelektrik noktasına düşürülmektedir. İzoelektrik noktada proteinlerin net yükü sıfıra yaklaştığından çözünürlükleri azalmakta ve çökeltme gerçekleşmektedir. Oluşan protein çökelti santrifügasyon veya filtrasyon ile ayrılarak saflaştırılmaktadır (Lo vd., 2021).

Fındık proteinleri için izoelektrik çöktürmenin genellikle pH 4,0–4,5 aralığında gerçekleştiği bildirilmektedir. Tatar vd. (2015), bu pH aralığında elde edilen protein konsantrelerinin yüksek protein içeriğine (%90'ın üzerinde) sahip olduğunu ve fonksiyonel özellikler açısından gıda uygulamalarında kullanılabilir nitelikte olduğunu göstermiştir.

Alkali ekstraksiyon–izoelektrik çöktürme yöntemi; baklagiller, tahıllar ve yağlı tohumlar gibi birçok bitkisel protein kaynağında başarıyla uygulanmaktadır. Yöntemin basitliği, yüksek verim sağlaması ve endüstriyel ölçeklenebilirliği, bitkisel protein üretiminde tercih edilmesinin başlıca nedenleri arasında yer almaktadır (Kusumah vd., 2020).

Protein konsantreleri genellikle %40–70 protein içeriğine sahip ürünler iken, protein izolatları %90 ve üzeri protein içeriğiyle daha yüksek saflık düzeyini temsil etmektedir. Uygulanan ekstraksiyon ve saflaştırma basamaklarının sayısı ve etkinliği,

elde edilen ürünün konsantre veya izolat olarak sınıflandırılmasını belirlemektedir. Alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme kombinasyonu, uygun koşullar altında uygulandığında izolat düzeyine yakın protein ürünlerinin elde edilmesine olanak sağlamaktadır (Lo vd., 2021; Tatar vd., 2015).

Ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme işlemleri sonrasında elde edilen protein çökeltileri, toz ürün formuna dönüştürülerek stabil hâle getirilmektedir. Bu amaçla literatürde farklı kurutma teknikleri kullanılmakta olup, uygulanan kurutma yöntemi ve koşulları proteinlerin yapısal bütünlüğü ile tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerinde belirleyici rol oynamaktadır (Kusumah vd., 2020).

1.4.2. Enzim Destekli Protein İzolasyonu

Enzim destekli izolasyon yöntemlerinde, proteaz enzimleri kullanılarak proteinlerin hücre duvarı bileşenlerinden ayrılması veya daha küçük peptitlere parçalanması sağlanmaktadır. Bu yaklaşım, proteinlerin sindirilebilirliğini ve bazı fonksiyonel özelliklerini iyileştirebilmekte; ancak aşırı hidroliz durumunda proteinlerin jel oluşturma ve emülsifikasyon gibi özelliklerinde azalma görülebilmektedir. Bu nedenle enzim tipi ve hidroliz koşullarının dikkatle seçilmesi gerekmektedir (Lo vd., 2021).

1.4.3. Membran Teknolojileri

Son yıllarda protein izolasyonunda ultrafiltrasyon ve diyafiltrasyon gibi membran teknolojileri alternatif yöntemler olarak öne çıkmaktadır. Bu teknikler, proteinlerin molekül ağırlıklarına göre seçici biçimde ayrılmasına olanak tanıyarak daha kontrollü ve yüksek saflıkta protein izolatlarının elde edilmesini mümkün kılmaktadır. Membran teknolojilerinin protein yapısına daha az zarar verdiği bildirilmekle birlikte, yüksek ekipman maliyeti ve proses karmaşıklığı gibi sınırlamaları bulunmaktadır (Kusumah vd., 2020; Lo vd., 2021).

1.4.4. İleri Saflaştırma Teknikleri

Proteinlerin daha yüksek saflıkta elde edilmesi gereken durumlarda kromatografik ve elektroforetik yöntemler kullanılabilir. Kromatografik teknikler; molekül ağırlığı, net yük, hidrofobiklik ve özgül biyolojik etkileşimler gibi farklı ayırma prensiplerine dayanmaktadır. Elektroforetik yöntemler ise proteinlerin izoelektrik noktalarına veya molekül ağırlıklarına göre ayrılmasını sağlamaktadır. Bu teknikler genellikle laboratuvar ve araştırma ölçeğinde tercih edilmekte olup, ekonomik nedenlerle gıda endüstrisinde sınırlı uygulama alanına sahiptir (Ünlüsayın vd., 2009).

Genel olarak, protein izolasyonunda kullanılan yöntemin seçimi; elde edilen proteinin verimi, saflık derecesi ve fonksiyonel özellikleri üzerinde doğrudan etkili olmaktadır. İzolasyon sürecinin son aşamasında uygulanan kurutma işlemleri ise protein izolatlarının fiziksel, kimyasal ve reolojik özelliklerini belirleyen kritik bir basamak olarak öne çıkmaktadır.

1.5. Proteinlerde Kurutma Teknikler

Protein izolasyonu ve saflaştırma işlemlerinin ardından elde edilen protein ekstraktlarının kuru toz forma dönüştürülmesi, hem uzun süreli ve stabil depolamanın sağlanması hem de proteinlerin gıda endüstrisinde bileşen olarak kullanılabilmesi açısından kritik bir aşamadır. Bu amaçla uygulanan kurutma işlemleri, proteinlerin yalnızca nem içeriğini azaltmakla kalmamakta; aynı zamanda fizikokimyasal, fonksiyonel ve konformasyonel özelliklerini de doğrudan etkilemektedir (Joshi vd., 2011; Zhao vd., 2012).

Proteinlerin kurutulması sırasında maruz kaldıkları ısı, mekanik ve ozmotik stresler, protein yapısında kısmi denatürasyona ve geri dönüşümsüz agregasyonlara yol açabilmektedir. Bu durum özellikle protein çözünürlüğü başta olmak üzere emülsifikasyon, köpürme, jelasyon ve su/yağ bağlama kapasitesi gibi fonksiyonel özelliklerde önemli değişimlere neden olabilmektedir (Kinsella, 1982; Cepeda vd., 1998). Bu nedenle, protein izolasyonunda kullanılan kurutma tekniğinin seçimi, nihai ürün kalitesini belirleyen temel faktörlerden biri olarak değerlendirilmektedir.

Literatürde bitkisel protein izolatları ve konsantrelerinin kurutulmasında en yaygın kullanılan yöntemler arasında dondurarak kurutma (freeze drying), püskürtmeli kurutma (spray drying), vakumlu kurutma ve konvektif/kabin kurutma yer almaktadır (Mune Mune ve Sogi, 2015; Ghribi vd., 2015). Bu yöntemler arasında maliyet, işlem süresi, enerji gereksinimi ve ürün kalitesi açısından belirgin farklılıklar bulunmaktadır.

Dondurarak kurutma, protein çözeltilerinin düşük sıcaklıklarda dondurulması ve ardından süblimasyon yoluyla suyun uzaklaştırılması esasına dayanan bir yöntemdir. Bu teknik, protein yapısının büyük ölçüde korunmasını sağlaması nedeniyle laboratuvar ölçekli çalışmalarda ve biyofarmasötik uygulamalarda yaygın olarak tercih edilmektedir (Maltesen ve van de Weert, 2008). Zhao vd., (2012), dondurarak kurutulmuş pirinç protein izolatlarının daha yüksek su ve yağ bağlama kapasitesine ve daha açık renk özelliklerine sahip olduğunu bildirmiştir. Benzer şekilde, nohut protein konsantreleri üzerinde yapılan çalışmalarda da dondurarak kurutmanın fonksiyonel özellikler açısından

avantaj sağladığı belirtilmiştir (Ghribi vd., 2015). Bununla birlikte, yüksek maliyet ve uzun işlem süresi, bu yöntemin endüstriyel ölçekte kullanımını sınırlandırmaktadır.

Püskürtmeli kurutma ise protein çözeltilerinin atomize edilerek sıcak hava akımıyla çok kısa sürede kurutulması prensibine dayanmaktadır ve gıda endüstrisinde protein tozlarının ticari üretiminde en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir. Soya proteini, kazein ve gluten gibi birçok protein bileşeni endüstriyel olarak bu yöntemle üretilmektedir (Zhao vd., 2012). Püskürtmeli kurutma, düşük maliyet, sürekli üretim imkânı ve yüksek verim gibi avantajlara sahip olmakla birlikte, uygulanan giriş ve çıkış hava sıcaklıklarına bağlı olarak proteinlerde ısı denatürasyona yol açabilmektedir. Nitekim Paraman vd. (2008), ultrafiltrasyon ve püskürtmeli kurutma ile elde edilen pirinç protein konsantrelerinin, izoelektrik çöktürme sonrası dondurarak kurutulan örneklerle kıyasla daha yüksek çözünürlük ve emülsifikasyon özellikleri gösterdiğini bildirmiştir.

Baklagil proteinleri üzerine yapılan çalışmalarda da kurutma yönteminin fonksiyonel özellikler üzerinde belirleyici rol oynadığı ortaya konmuştur. Mercimek protein izolatlarında farklı kurutma yöntemlerinin çözünürlük ve jelasyon davranışını önemli ölçüde etkilediği; özellikle artan ısı yükün protein çözünürlüğünde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Joshi vd., 2011). Benzer şekilde, börülce ve bambara fasulyesi protein konsantreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, dondurarak kurutma, vakumlu kurutma ve konvektif kurutma yöntemleri arasında fonksiyonel özellikler açısından anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir (Mune Mune ve Sogi, 2015).

Sonuç olarak, protein izolasyonu sonrasında uygulanan kurutma yöntemi; proteinlerin yapısal bütünlüğü, fonksiyonel performansı ve potansiyel gıda uygulamalarındaki etkinliği üzerinde belirleyici bir etkiye sahiptir. Bu bağlamda, özellikle dondurarak kurutma ile farklı sıcaklıklarda uygulanan püskürtmeli kurutma yöntemlerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesi, bitkisel proteinlerin endüstriyel kullanım potansiyelinin ortaya konması açısından büyük önem taşımaktadır.

1.6. Önceki Çalışmalar

Bitkisel protein kaynakları ve bu proteinlerin izolasyonuna yönelik çalışmalar, son yıllarda artan bitkisel bazlı gıda tüketimi ve sürdürülebilir protein arayışları doğrultusunda önemli ölçüde ivme kazanmıştır. Özellikle tahıllar ve baklagiller başta olmak üzere farklı bitkisel hammaddelerden elde edilen protein izolat ve konsantrelerinin fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri çok sayıda araştırmaya konu olmuştur. Bu kapsamda gerçekleştirilen çalışmalar genel olarak aşağıdaki başlıklar altında toplanmaktadır:

- (i) Bitkisel proteinlerin alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemleriyle elde edilmesi,
- (ii) Elde edilen protein izolat ve konsantrelerinin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin belirlenmesi,
- (iii) Protein izolasyonu sonrasında uygulanan kurutma yöntemlerinin (dondurarak kurutma, püskürtmeli kurutma, vakumlu ve konvektif kurutma) protein özellikleri üzerindeki etkileri,
- (iv) Kurutma sıcaklığı ve işlem koşullarının proteinlerin çözünürlük, emülsifikasyon, köpürme ve jelasyon özellikleriyle ilişkisi,
- (v) Türkiye’de bitkisel proteinler ve özellikle fındık gibi yerel hammaddeler üzerine yürütülen çalışmalar ile mevcut literatür boşlukları.

Türkiye’de fındık proteinleri üzerine yapılan çalışmaların büyük bölümü, yağı alınmış fındık küspesi veya fındık unu gibi yan ürünlerin değerlendirilmesine odaklanmıştır. Bu çalışmalarda genellikle alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemleri kullanılarak protein konsantre veya izolatları elde edilmiştir. Öztöp (2014), fındık proteini konsantresinin çözünürlük, su ve yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon ve jel oluşturma özelliklerini incelemiş; çözünürlüğün izoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde minimuma indiğini ve konsantrelerin yüksek su ve yağ bağlama kapasitesine sahip olduğunu bildirmiştir.

Tatar vd. (2015) tarafından yürütülen çalışmada ise Türk Tombul fındığından elde edilen protein konsantrelerinin fonksiyonel ve reolojik özellikleri değerlendirilmiş; farklı fındık hammaddelerinden üretilen protein konsantrelerinin benzer fonksiyonel davranışlar sergileyebileceği ve gıda formülasyonlarında kullanılabilir alternatif bileşenler sunduğu ortaya konmuştur. Bu çalışmalar, fındık proteinlerinin fonksiyonel gıda bileşeni olarak değerlendirilmesine yönelik temel verileri sağlamıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar, protein izolasyon sürecinin yalnızca ekstraksiyon ve çöktürme aşamalarından ibaret olmadığını; özellikle kurutma işleminin, proteinlerin nihai fizikokimyasal ve teknolojik özellikleri üzerinde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Meram (2023), alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemiyle elde edilen fındık proteini izolatlarını farklı kurutma teknikleri ile kurutarak; püskürtmeli kurutma ve kırım pencereci kurutma yöntemlerinin proteinlerin çözünürlük, emülsifikasyon, köpürme, yüzey hidrofobisitesi ve akışkanlık özellikleri üzerinde farklı etkiler oluşturduğunu bildirmiştir. Bu sonuçlar, kurutma koşullarının fındık proteinlerinin fonksiyonel performansını yönlendirebileceğini ortaya koymaktadır.

Fındık dışındaki bitkisel protein kaynaklarında da benzer eğilimler literatürde geniş biçimde rapor edilmiştir. Zhao vd. (2012), pirinç posasından elde edilen protein izolatlarının dondurarak kurutma ve püskürtmeli kurutma sonrası fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini karşılaştırmış; kurutma yöntemine bağlı olarak çözünürlük, emülsifikasyon ve köpürme özelliklerinde anlamlı farklılıklar oluştuğunu göstermiştir. Benzer şekilde Joshi vd. (2011), mercimek protein izolatlarında farklı kurutma yöntemlerinin protein denatürasyonu ve çözünürlüğü üzerinde etkili olduğunu ve bu durumun fonksiyonel özelliklere doğrudan yansıdığını bildirmiştir.

Baklagil proteinleri üzerine yapılan çalışmalarda, alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme tekniğinin yaygın olarak kullanıldığı; bunu takiben uygulanan kurutma yöntemlerinin protein konsantrelerinin fonksiyonel özelliklerini belirgin şekilde etkilediği ifade edilmektedir. Ghribi vd. (2015), nohut protein konsantrelerinde dondurarak kurutma ve konvektif kurutma yöntemlerini karşılaştırmış; dondurarak kurutulan örneklerin daha yüksek su ve yağ bağlama kapasitesine sahip olduğunu, kurutma yönteminin termal ve renk özellikleri üzerinde de etkili olduğunu rapor etmiştir. Mune Mune ve Sogi (2015) ise börülce ve bambara fasulyesi protein konsantrelerinde farklı kurutma tekniklerinin çözünürlük, emülsifikasyon ve köpürme özelliklerini önemli ölçüde değiştirdiğini bildirmiştir.

Genel literatür, bitkisel proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin yalnızca hammadde türüne değil; aynı zamanda ekstraksiyon yöntemi, çöktürme koşulları ve özellikle kurutma tekniğine bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Bu durum, son yıllarda yayımlanan derleme çalışmalarında da vurgulanmış; protein izolasyonunda uygulanan tüm işlemlerin bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmesi gerektiği ifade edilmiştir (Boye vd., 2017).

Tüm bu çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde, fındık protein izolatlarının elde edilmesinde alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemlerinin yaygın olarak kullanıldığı; ancak izolatların dondurarak kurutma ve farklı sıcaklıklarda püskürtmeli kurutma gibi yöntemlerle kurutulmasının proteinlerin fizikokimyasal ve teknolojik özellikleri üzerindeki etkilerini karşılaştırmalı olarak ele alan çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Bu durum, yürütülen tez çalışmasının literatürdeki önemli bir boşluğu hedef aldığını ve elde edilecek bulguların bitkisel proteinlerin gıda endüstrisindeki kullanımına yönelik önemli katkılar sağlayacağını göstermektedir.

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu tez çalışmasının temel amacı, yağsızlaştırılmış fındık küspesinden alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemi kullanılarak yüksek saflıkta ($\geq$ %90 protein içeriğine sahip) fındık proteini izolatu elde etmek ve elde edilen protein izolatının farklı kurutma yöntemleriyle toz forma dönüştürülmesi sonucu oluşan ürünlerin tekno-fonksiyonel ve reolojik özelliklerini karşılaştırmalı olarak incelemektir. Bu kapsamda, protein izolasyonu sürecinin etkinliği ile farklı kurutma proseslerinin fındık proteini izolatlarının yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkilerinin bütüncül bir yaklaşımla değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Bu genel amaç doğrultusunda çalışmada;

- Yağsızlaştırılmış fındık küspesinden alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemi kullanılarak protein izolasyonu gerçekleştirilecek ve elde edilen protein izolatının protein içeriği belirlenerek izolat kalitesi değerlendirilecektir.
- Elde edilen fındık proteini izolatu, dondurarak kurutma (freeze-drying) ve farklı giriş hava sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma yöntemleri kullanılarak toz ürün haline getirilecektir.
- Farklı kurutma yöntemleri ve kurutma koşullarının, fındık proteini izolatu tozlarının su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi, emülsiyon oluşturma aktivitesi ve stabilitesi, köpük oluşturma ve köpük stabilitesi gibi tekno-fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkileri belirlenerek karşılaştırılacaktır.
- Kurutma proseslerinin protein izolatlarının reolojik davranışları üzerindeki etkileri incelenecek ve elde edilen veriler ışığında farklı kurutma tekniklerinin fındık proteini izolatlarının gıda uygulamalarındaki potansiyel kullanım alanları açısından uygunluğu değerlendirilecektir.

Bu çalışmayla birlikte, fındık küspesinin katma değeri yüksek bir protein kaynağı olarak değerlendirilmesi, farklı kurutma yöntemlerinin fındık proteini izolatlarının fonksiyonel performansı üzerindeki etkilerinin ortaya konulması ve fındık proteinlerinin gıda endüstrisinde kullanımına yönelik bilimsel altyapının güçlendirilmesi hedeflenmektedir.

1.8. Çalışmanın Kapsamı

Bu tez çalışması, yağsızlaştırılmış fındık küspesinden elde edilen fındık proteini izolatlarının farklı kurutma yöntemleri ile toz forma dönüştürülmesi ve uygulanan kurutma proseslerinin protein izolatlarının tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak değerlendirilmesini kapsamaktadır.

Çalışma kapsamında ilk aşamada, yağsızlaştırılmış fındık küspesi hammadde olarak kullanılarak alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemi ile fındık proteini izolatu elde edilmiştir. Elde edilen protein izolatının protein içeriği belirlenmiş ve izolat saflığı değerlendirilmiştir.

İkinci aşamada, elde edilen fındık proteini izolatu farklı kurutma yöntemleri kullanılarak toz ürün haline getirilmiştir. Bu amaçla dondurarak kurutma (freeze-drying) ve farklı giriş hava sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma (spray-drying) yöntemleri uygulanmıştır. Kurutma yöntemlerinin ve işlem koşullarının, protein izolatlarının fiziksel yapısı ve fonksiyonel performansı üzerindeki etkileri incelenmiştir.

Çalışmanın devamında, farklı kurutma yöntemleri ile elde edilen fındık proteini izolatu tozlarının tekno-fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Bu kapsamda protein izolatlarının çözünürlük özellikleri, su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi, emülsiyon oluşturma aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi gibi temel fonksiyonel parametreler analiz edilmiştir.

Ayrıca, farklı kurutma proseslerinin fındık proteini izolatlarının reolojik davranışları üzerindeki etkileri incelenmiş; viskozite, akış davranışı ve yapı özellikleri reolojik ölçümlerle değerlendirilmiştir. Elde edilen reolojik veriler kullanılarak kurutma yöntemlerinin protein yapısı üzerindeki etkileri yorumlanmıştır.

Son aşamada, elde edilen tüm analiz sonuçları istatistiksel yöntemler kullanılarak değerlendirilmiş; kurutma yöntemleri arasında anlamlı farklılıklar karşılaştırmalı olarak ortaya konmuştur. Çalışma bulguları doğrultusunda, fındık proteini izolatlarının gıda endüstrisindeki potansiyel kullanım alanları açısından en uygun kurutma yöntemleri tartışılmıştır.

Bu tez çalışması ile, fındık küspesinin katma değeri yüksek bir bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmesine katkı sağlanması, farklı kurutma tekniklerinin fındık proteini izolatlarının tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin bilimsel olarak ortaya konulması ve bitkisel protein bazlı ürün geliştirme çalışmalarına altyapı oluşturulması amaçlanmaktadır.

2. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada fındık proteini izolatu üretiminde kullanılan fındık küspesi, kontrol materyali olarak değerlendirilmiştir. Analizleri yapılncaya kadar örnekler uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

2.1. Cihazlar

Analiz yöntemlerinde kullanılan cihazlar aşağıda belirtilmiştir. Protein analizleri için analizleri için Şimşek laborteknik marka protein cihazı (Labor-Simsek, Ankara, Turkey) sistemi kullanılmıştır. Protein çözünürlüğü analizleri Shimadzu UV-1800 spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Kyoto, Japan) ile gerçekleştirilmiştir. pH ölçümleri Hanna marka pH metre (Hanna Instruments, Cluj-Napoca, Romania) kullanılarak yapılmıştır. Renk analizleri ise Chroma Meter CR-400 (Konica Minolta, Japan) marka renk ölçüm cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Santrifüj işlemleri NF1200 santrifüj cihazı (Nüve, Türkiye) kullanılarak yapılmıştır. Su aktivitesi cihazı Novasina Labstart-Aw Su Aktivitesi Ölçüm Cihazı (LabStart-aw-Novasina, Washington, DC 20037, USA) ile yapılmıştır. Kül analizleri Nüve EV-018 model kül fırını (Nüve, Ankara, Türkiye) ile yapılmıştır. Nem tayini OHAUS MB27 Nem Tayin Cihazı (OHAUS, New Jersey, NJ, USA) ile yapılmıştır. Ayrıca tüm analizlerde A sınıfı hacimli cam malzemeler ile kalibrasyonu yapılmış otomatik pipetler kullanılmıştır.

2.2. Deneysel Çalışmada Kullanılmış Olan Kimyasallar

Bu çalışmada kullanılan tüm çözücüler ve kimyasallar, aksi belirtilmedikçe analitik saflıkta temin edilmiştir. Sülfirik asit (reagent grade) Isolab (Türkiye) firmasından; sodyumhidroksit (reagent grade), HCl analitik saflıkta Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından satın alınmıştır.

2.3. Çözeltilerin Hazırlanması

Deneysel çalışmalarda TS ISO 3696 (1997) standardına uygun damıtık su veya bu standarda eşdeğer saflıkta su kullanılmıştır. Kullanılan tüm kimyasal reaktiflerin analitik saflıkta olmasına özen gösterilmiştir. Ayarlı çözeltiler, TS 545 standardına; belirteç (indikatör) çözeltileri ise TS 2104 (1975) standardına uygun olarak hazırlanmıştır (TS 545, 1967).

2.4. Materyal

Çalışmada kullanılan fındık küspesi, 2024 yılı mahsulü fındıklardan elde edilmiştir. Fındıklar, öğütüldükten sonra soğuk pres yöntemi ile yağları uzaklaştırılmıştır. Soğuk pres işlemi sonrası elde edilen ve yağı kısmen uzaklaştırılmış fındık küspesi ayrılarak biriktirilmiş ve bu çalışmada hammadde olarak kullanılmıştır.

Protein izolasyonu öncesinde, fındık küspeleri analiz sürecine kadar geçen süre boyunca mikrobiyal ve enzimatik bozulmaların önlenmesi amacıyla -18°C 'de dondurularak muhafaza edilmiştir. Çalışma öncesinde dondurulmuş küspeler çözündürülmüş ve posada kalan rezidüel yağın uzaklaştırılması amacıyla n-hekzan ile yağ giderme işlemi uygulanmıştır. Yağ giderme işleminin ardından örnekler kurutularak çözücü kalıntılarının tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır.

Elde edilen yağsız fındık küspesi, protein izolasyonu ve takip eden kurutma işlemlerinde kullanılmak üzere hazırlanmış ve analizlere kadar uygun koşullarda saklanmıştır.

Tablo 1. Hazırlanan örneklerin kodları

Numune No	Numune Kodu	Açıklama
1	FD (A)	Dondurarak kurutma -65°C ve 0.1 mbar koşullarında
2	SD 140 (B)	Püskürtmeli kurutma işlemi, 140°C giriş hava sıcaklıklarında gerçekleştirilmiş
3	SD 160 (C)	Püskürtmeli kurutma işlemi, 160°C giriş hava sıcaklıklarında gerçekleştirilmiş
4	SD 180 (D)	Püskürtmeli kurutma işlemi, 180°C giriş hava sıcaklıklarında gerçekleştirilmiş
5	SD 200 (E)	Püskürtmeli kurutma işlemi, 200°C giriş hava sıcaklıklarında gerçekleştirilmiş

2.5. Fındık Protein İzolatının Elde Edilmesi

Yağsız fındık posasından protein izolasyonu, Tatar vd. (2015) tarafından bildirilen alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme esasına dayalı yöntem esas alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntem, bitkisel protein izolasyonunda yaygın olarak kullanılmakta olup yüksek protein verimi sağlaması ve endüstriyel uygulanabilirliği nedeniyle tercih edilmektedir.

Bu amaçla, yağsız fındık posası saf su ile 1:12 (ağırlık/hacim) oranında karıştırılarak süspansiyon hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonun pH değeri, proteinlerin çözünürlüğünü artırmak amacıyla 1 M NaOH çözeltisi kullanılarak pH 12'ye ayarlanmıştır. Süspansiyon, oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı yardımıyla 1 saat süreyle sürekli karıştırılmıştır.

Ekstraksiyon işleminin ardından, süspansiyon 3000 g'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek çözünmeyen fraksiyonlar ortamdaki uzaklaştırılmıştır. Elde edilen süpernatantın pH değeri, proteinlerin izoelektrik noktalarına yakın bir değere getirilerek çöktürülmesini sağlamak amacıyla 1 M HCl kullanılarak pH 4.5'e ayarlanmıştır. Protein çöktürme işlemi sonrasında süspansiyon tekrar 3000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj edilmiştir.

Elde edilen protein çökeltisi, çözünür tuz ve safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla üç kez saf su ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi sonrasında protein çökeltisinin pH değeri, 1 M NaOH kullanılarak pH 7.0'ye ayarlanmış ve protein süspansiyonu %10 (kuru madde, a/h) içerecek şekilde saf su ile seyreltilmiştir.

Hazırlanan fındık protein izolatu süspansiyonu, farklı kurutma yöntemleri kullanılarak toz hale getirilmiştir. Kurutma işlemlerinin ardından elde edilen protein izolatu örnekleri öğütülmüş, 0.125 mm gözenek çapına sahip elekten geçirilmiş ve analizler süresince 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.6. Kurutma Yöntemleri

Protein izolasyonu sonrası elde edilen fındık protein izolatu süspansiyonları, toz ürün elde edilmesi amacıyla farklı kurutma yöntemlerine tabi tutulmuştur. Kurutma işlemleri, izolatların fiziksel stabilitesini sağlamak ve depolamaya uygun hale getirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

Kurutma öncesinde, pH değeri 7'ye ayarlanmış ve yaklaşık %10 kuru madde içeren protein süspansiyonları homojen hale getirilmiştir. Hazırlanan süspansiyonlar, belirlenen koşullarda farklı kurutma yöntemleri uygulanarak kurutulmuş ve toz formuna dönüştürülmüştür. Kurutma işlemleri sonrasında elde edilen protein tozları öğütülmüş, 0,125 mm elekten geçirilmiş ve analizler yapıncaya kadar 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

2.6.1. Püskürtmeli Kurutma (Spray Drying)

Protein izolasyonu sonrası elde edilen fındık protein izolatu süspansiyonu, püskürtmeli kurutma yöntemi kullanılarak toz ürüne dönüştürülmüştür. Kurutma öncesinde protein süspansiyonunun pH değeri 7'ye ayarlanmış ve yaklaşık %10 kuru madde içerecek şekilde homojenize edilmiştir. Hazırlanan süspansiyon, laboratuvar tipi

bir püskürtmeli kurutucu kullanılarak farklı giriş hava sıcaklıklarında Sprey kurutucu SD 06 (Labplant, North Yorkshire, UK) kurutulmuştur. Bu kapsamda püskürtmeli kurutma işlemi, 140, 160, 180 ve 200 °C giriş hava sıcaklıklarında gerçekleştirilmiş ve her bir sıcaklık koşulu için elde edilen protein tozları ayrı ayrı toplanmıştır. Kurutma işlemi sonrasında elde edilen toz örnekler soğutularak analizlere kadar uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

Püskürtmeli kurutma, protein izolatlarının kısa sürede kurutulmasına olanak sağlaması ve endüstriyel ölçekte yaygın olarak uygulanabilmesi nedeniyle gıda endüstrisinde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Bununla birlikte, uygulanan yüksek sıcaklıklar proteinlerin moleküler yapısında kısmi denatürasyona neden olabilmekte ve bu durum proteinlerin çözünürlük, emülsifikasyon ve köpük oluşturma gibi fonksiyonel özelliklerini etkileyebilmektedir. Literatürde, püskürtmeli kurutma sıcaklığındaki artışın bitkisel protein izolatlarının fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinde önemli değişimlere yol açtığı bildirilmiştir (Zhao vd., 2012; Joshi vd., 2011).

Fındık protein izolatları üzerine yapılan çalışmalarda da püskürtmeli kurutma sıcaklığının, proteinlerin çözünürlük, köpük oluşturma kapasitesi ve yüzey hidrofobisitesi gibi özellikleri üzerinde belirleyici olduğu rapor edilmiştir (Meram, 2023). Bu nedenle, bu tez çalışmasında püskürtmeli kurutma işlemi farklı giriş hava sıcaklıklarında uygulanarak, sıcaklık değişiminin fındık protein izolatlarının tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

2.6.2. Dondurarak Kurutma (Freeze Drying)

Protein izolasyonu sonrasında elde edilen fındık protein izolatı süspansiyonu, dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi kullanılarak kurutulmuştur. Bu amaçla protein süspansiyonu öncelikle -65°C ve 0.1 mbar koşullarında bir dondurarak kurutma cihazında (Scientz-12N laboratuvar liyofilizatörü, Ningbo Scientz Biotechnology Co., Ltd., Ningbo, Çin) vakum uygulandı. Ürün 96 saat kurumaya bırakıldı. Kurutma işlemi sonunda elde edilen kuru protein örnekleri öğütülerek toz formuna getirilmiş ve analizlere kadar uygun koşullarda muhafaza edilmiştir.

Dondurarak kurutma, düşük sıcaklık ve düşük basınç koşullarında gerçekleştirilmesi nedeniyle proteinlerin yapısal bütünlüğünü büyük ölçüde koruyan bir kurutma yöntemidir. Bu yöntemde su, katı halden doğrudan buhar fazına geçerek uzaklaştırıldığından, proteinlerin termal hasara uğrama riski minimal düzeydedir. Bu nedenle dondurarak kurutma, özellikle ısıya duyarlı biyomoleküllerin kurutulmasında

tercih edilmektedir. Literatürde, dondurarak kurutulmuş bitkisel protein izolatlarının daha yüksek çözünürlük, emülsiyon stabilitesi ve köpük oluşturma kapasitesi sergilediği bildirilmiştir (Joshi vd., 2011; Zhao vd., 2012).

Ancak dondurarak kurutma yöntemi, uzun işlem süresi ve yüksek enerji gereksinimi nedeniyle endüstriyel uygulamalarda sınırlı kullanılmaktadır. Bu çalışmada dondurarak kurutma yöntemi, püskürtmeli ve vakum konveksiyon kurutma yöntemleri ile karşılaştırılarak, fındık protein izolatlarının tekno-fonksiyonel ve reolojik özellikleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla referans bir yöntem olarak değerlendirilmiştir.

2.7. Eleme ve Depolama

Kurutma işlemleri sonucunda elde edilen fındık protein izolatı tozları, partikül boyutunun standardizasyonunu sağlamak amacıyla 0.125 mm göz açıklığına sahip elekten geçirilmiştir. Bu işlem ile olası aglomeraların uzaklaştırılması ve analizlerde örnekler arasında karşılaştırılabilirliğin sağlanması hedeflenmiştir.

Elde edilen protein tozları, analizler gerçekleştirilinceye kadar nem ve oksidatif bozulmayı önlemek amacıyla hava almayan kaplar içerisinde 4 °C'de muhafaza edilmiştir. Tüm analizler, aynı koşullarda depolanan örnekler üzerinde yürütülmüştür.

2.8. Nem ve Kuru Madde Tayini

Protein tozu örneklerinin nem içerikleri, OHAUS MB27 Nem Tayin Cihazı (OHAUS, New Jersey, NJ, USA) kullanılarak gravimetrik esaslara dayalı olarak belirlenmiştir. Nem tayini öncesinde kullanılan metal kurutma kapları etüvde kurutulmuş ve desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutularak sabit ağırlığa getirilmiştir. Bu kaplara yaklaşık 0.5–0.6 g protein tozu örneği, cihazın hassas terazisi kullanılarak tartılmıştır. Tartımı yapılan örnekler nem tayin cihazına yerleştirilmiş ve analizler, ISO 712 standardında tanımlanan gravimetrik nem tayini prensipleri esas alınarak, üretici firma tarafından önerilen çalışma koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Nem miktarı, kurutma sırasında meydana gelen ağırlık kaybı esas alınarak cihaz tarafından otomatik olarak hesaplanmış ve sonuçlar yüzde (%) nem içeriği olarak ifade edilmiştir. Tüm analizler en az üç paralel olarak yapılmış ve elde edilen sonuçların ortalamaları değerlendirmeye alınmıştır.

Nem tayini sonuçları kullanılarak örneklerin yüzde (%) kuru madde içerikleri, aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\%Kuru\ Madde = 100 - \%Nem$$

(Eşitlik 1)

2.9. Ham Protein Tayini

Protein tozu örneklerinin ham protein içerikleri, Kjeldahl yöntemi ile toplam azotun tayini esasına göre belirlenmiştir. Yöntemde örnekteki organik azot, sindirim basamağında amonyum sülfata dönüştürülmekte; distilasyonla açığa çıkarılan amonyak borik asit içinde tutulmakta ve titrasyonla toplam azot miktarı hesaplanmaktadır. Elde edilen %N değeri, uygun dönüşüm faktörü kullanılarak % ham protein değerine çevrilmiştir (TS 1620 esas alınarak).

Yakma basamağı: Yaklaşık 0.200 g homojen protein tozu örneği Kjeldahl sindirim tüpüne tartılmıştır. Üzerine katalizör karışımı (örn. K₂SO₄ içeren katalizör) ilave edilmiş ve ardından derişik sülfürik asit (H₂SO₄) eklenmiştir. Tüpler yakma bloğunda/ünitesinde kademeli olarak ısıtılarak sindirim gerçekleştirilmiş; çözeltinin tamamen berrak/renksiz hâle gelmesi sindirimin tamamlandığı kriteri olarak kabul edilmiştir. Sindirim sonrası tüpler oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur.

Distilasyon basamağı: Soğutulan sindirim çözeltisi Kjeldahl distilasyon ünitesine alınmış ve ortama %40 (w/v) NaOH ilavesiyle ortam kuvvetli bazik hâle getirilerek amonyak (NH₃) açığa çıkarılmıştır. Distilasyon sırasında oluşan NH₃, içerisinde karışık indikatör bulunan borik asit (H₃BO₃) çözeltisi içine distile edilerek tutulmuştur.

Titrasyon ve hesaplama: Borik asit içinde toplanan amonyak, standart asit çözeltisi (örn. HCl veya H₂SO₄) ile titre edilmiş; aynı koşullarda şahit (blank) deneyi yürütülmüştür. Toplam azot yüzdesi aşağıdaki eşitlik ile hesaplanmıştır:

$$\%N = \frac{(V_s - V_b) \times N_{\text{asit}} \times 14.007}{m} \times 100$$

(Eşitlik 2)

Burada; V_s örnek titrasyon hacmi (mL), V_b blank titrasyon hacmi (mL), N_{asit} standart asidin normalitesi (N) ve m örnek kütlesidir (g).

Ham protein hesabı: Hesaplanan %N değeri, bitkisel kaynaklı proteinler için yaygın kullanılan 6.25 dönüşüm faktörü ile çarpılarak % ham protein hesaplanmış ve sonuçlar yüzde (%) olarak raporlanmıştır:

$$\%Ham\ Protein = \%N \times 6.25$$

(Eşitlik 3)

Tüm analizler en az üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde değerlendirilmiştir (TS 1620, 2011).

2.10. Toplam Kül Tayini

Protein tozu örneklerinin ham kül içerikleri, gravimetrik esaslara dayalı olarak yüksek sıcaklıkta yakma yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde numunedeki organik bileşenler uzaklaştırılarak geriye kalan inorganik kalıntı kül olarak tanımlanmaktadır. Analiz, gıdalarda kül tayini için yaygın olarak kullanılan ve 550 °C’de yakma esasına dayanan yöntem doğrultusunda gerçekleştirilmiştir.

Analiz öncesinde kullanılan krozelere, kül fırınında 550 °C’de en az 30 dakika süreyle ısıtma uygulanmış, ardından desikatörde oda sıcaklığına kadar soğutularak sabit ağırlığa getirilmiş ve hassas terazide tartılmıştır (m_1). Sabit tartıma getirilen krozelere yaklaşık 0.5 g homojenize edilmiş protein tozu örneği tartılmıştır (g).

Numuneler, ön yakma işlemi amacıyla infrared lamba veya ısıtıcı tabla yardımıyla karbonlaşma tamamlanıncaya kadar ısıtılmıştır. Ön yakma işlemi sonrasında krozelere, 550 °C $\pm$ 25 °C’ye ayarlanmış kül fırınında yakma işlemi uygulanmıştır. Numuneler, gri-beyaz renkli kül elde edilinceye kadar fırında tutulmuş; yakma süresi numunenin yapısına bağlı olarak değişkenlik göstermiştir. Yakma işlemi tamamlanan krozelere fırından çıkarıldıktan sonra desikatörde soğutma uygulanmış ve tekrar tartılmıştır (m_2). Ardışık iki tartım arasındaki fark 0.0005 g’dan küçük oluncaya kadar ısıtma, soğutma ve tartım işlemleri tekrarlanmıştır.

Ham kül miktarı, aşağıdaki eşitlik kullanılarak kütlece yüzde (%) olarak hesaplanmıştır:

$$\%K\ddot{u}l = \frac{(m_2 - m_1)}{m} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Burada;

m_1 krozenin kütlesi (g),

m numune kütlesi (g),

m_2 kül içeren krozenin kütlesini (g) ifade etmektedir.

Tüm analizler en az üç paralel olarak gerçekleştirilmiş, sonuçlar aritmetik ortalama alınarak % kül (g/100 g) cinsinden raporlanmıştır.

2.11. Renk Tayini

Numunelerin renk özellikleri, Konica Minolta CR-400 kolorimetre (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japonya) kullanılarak Hunter renk sistemi esasına göre belirlenmiştir. Renk ölçümleri öncesinde her bir numune, ölçüm sırasında hava boşluğu

oluşumunu engelleyecek şekilde cihazın örnek haznesine dikkatlice yerleştirilmiştir. Ölçümler, CIE L*, a* ve b* renk koordinatları temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

Analiz öncesinde kolorimetre, üretici firmanın talimatları doğrultusunda beyaz ve siyah standart plakalar kullanılarak kalibre edilmiştir. Kalibrasyon işlemi tamamlandıktan sonra numuneler ayrı ölçüm kaplarına alınmış, cihazın ölçüm başlığı numune yüzeyine tam temas edecek biçimde konumlandırılmış ve renk değerleri kaydedilmiştir.

Renk değerlendirmesi, Hunter renk sisteminde tanımlanan üç temel parametre üzerinden yapılmıştır. L* değeri numunenin parlaklık düzeyini ifade etmekte olup 0 (siyah) ile 100 (beyaz) arasında değişmektedir. a* parametresi kırmızı–yeşil eksenini temsil etmekte; pozitif değerler kırmızılığı, negatif değerler ise yeşilliği göstermektedir. b* parametresi ise sarı–mavi eksenini yansıtmakta olup pozitif değerler sarılığı, negatif değerler maviliği ifade etmektedir (Oğuz vd., 2023).

2.12. Protein Çözünürlüğünün Belirlenmesi

Protein çözünürlüğü, Bradford kolorimetrik yöntemi kullanılarak ve sığır serum albümini (BSA) standart olarak alınarak belirlenmiştir. Analizde, numunelerin çözünür protein fraksiyonları uygun bir ekstraksiyon tamponu ile elde edilmiş ve protein miktarı Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının proteinlerle kompleks oluşturmaya dayalı olarak ölçülmüştür (Bradford, 1976).

Çözünür protein ekstraksiyonu için numuneler tartılmış (katı/toz numuneler için yaklaşık 0.5 g), üzerine 1:10 (w/v) oranında ekstraksiyon tamponu eklenmiştir. Ekstraksiyon tamponu olarak 0.1 M NaCl veya alternatif olarak 0.01–0.1 M fosfat tamponu (pH 7.0–7.4) kullanılmış; gerekli görülen durumlarda 1 mM EDTA ilave edilmiştir. Numune matriksine bağlı olarak çözünürlük davranışını incelemek amacıyla tampon pH'ı ve iyonik gücü ayarlanabilmiştir. Numune–tampon karışımı vorteksle karıştırılmış ve ardından oda sıcaklığında veya 4 °C'de yaklaşık 30 dakika çalkalanarak ekstraksiyon sağlanmıştır. Ekstraksiyon sonrasında karışımlar 10.000 g'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve elde edilen süpernatant çözünür protein fraksiyonu olarak kullanılmıştır. Gerekli durumlarda süpernatant uygun oranlarda seyreltilmiştir.

Protein miktarının tayini için Bradford yöntemi uygulanmıştır. Ölçümler öncesinde 1.0 mg/mL derişimde hazırlanan BSA stok çözeltisinden yararlanılarak 0–100 µg/mL aralığında standart protein çözeltileri hazırlanmış ve standart eğri oluşturulmuştur. Ölçümde, her bir standart veya numuneden belirlenen hacimde (örneğin 100 µL) alınmış, üzerine 5.0 mL Bradford reaktifi ilave edilmiştir. Karışımlar vortekslenmiş ve oda sıcaklığında 5–10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans değerleri 595 nm dalga

boyunda UV-Vis spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Kör ölçüm, yalnızca ekstraksiyon tamponu ve Bradford reaktifi içerecek şekilde hazırlanmıştır. Mikro hacimli uygulamalarda ise 20 µL örnek + 1.0 mL Bradford reaktifi kullanılmıştır. Tüm ölçümlerde inkübasyon süresinin sabit tutulmasına dikkat edilmiştir.

Standart çözeltilerden elde edilen absorbans değerleri kullanılarak Abs₅₉₅ – protein miktarı ilişkisine dayalı kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve numunelerin çözünür protein miktarları bu eğri yardımıyla hesaplanmıştır. Hesaplamalarda uygulanan seyreltme faktörleri dikkate alınmış ve sonuçlar mg protein/mL ekstrakt veya mg protein/g numune cinsinden ifade edilmiştir. Toplam protein miktarının Kjeldahl, yöntemi protein çözünürlüğü aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{Protein Çözünürlüğü} = \frac{\text{Çözünür Protein}}{\text{Toplam Protein}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 5})$$

Tüm analizler en az üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir.

2.13. Su Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Protein izolatlarının su tutma kapasitesi (STK), proteinlerin fazla su ile temas ettirilmesi, santrifüjlenmesi ve santrifüj sonrası tutulan su miktarının gravimetrik olarak belirlenmesi esasına dayanan modifiye edilmiş santrifüj yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Peters vd., 2017). Bu amaçla, her bir protein örneğinden 0,5 g tartılarak santrifüj tüplerine alınmış ve üzerine 25 mL saf su ilave edilmiştir. Numunelerin su ile homojen şekilde temas etmesini sağlamak amacıyla tüpler, vorteks yardımıyla 5 dakikalık aralıklarla toplam 30 dakika süreyle karıştırılmıştır.

Karıştırma işleminin ardından numuneler 3000 × g’de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında serbest halde bulunan süpernatant dikkatlice uzaklaştırılmış, tüpler kısa süre ters çevrilerek fazla suyun akması sağlanmış ve pelet içeren tüpler yeniden tartılmıştır. Su tutma kapasitesi, santrifüj sonrası elde edilen peletin kütlesi ile başlangıçtaki örnek kütlesi arasındaki fark esas alınarak hesaplanmış ve sonuçlar g su / g protein cinsinden ifade edilmiştir (Peters vd., 2017). Tüm analizler her bir örnek için en az üç tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir.

2.14. Yağ Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Protein örneklerinin yağ tutma kapasitesi (YTK), proteinlerin yağ ile etkileşimi sonucu bağlanan yağ miktarının gravimetrik olarak belirlenmesi esasına dayanan ve literatürde yaygın olarak kullanılan yöntem doğrultusunda belirlenmiştir (Sathe vd, 2011; Peters vd., 2017). Bu amaçla, her bir protein tozu örneğinden 0.5 g tartılarak santrifüj tüplerine alınmış ve üzerine 10 mL bitkisel yağ ilave edilmiştir. Protein örneklerinin yağ içerisinde homojen şekilde dağılmasını sağlamak amacıyla karışımlar, vorteks cihazı kullanılarak yaklaşık 1 dakika süreyle karıştırılmıştır.

Hazırlanan süspansiyonlar, $3000 \times g$ 'de 20 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında bağlanmamış serbest yağ fazı dikkatlice uzaklaştırılmış ve tüplerde kalan yağ bağlı protein örnekleri tartılmıştır. Yağ tutma kapasitesi, santrifüj sonrası elde edilen örnek kütlesi ile başlangıçtaki örnek kütlesi arasındaki fark esas alınarak hesaplanmış ve sonuçlar g yağ / g protein cinsinden ifade edilmiştir (Sathe vd, 2011).

Yağ tutma kapasitesi analizleri her bir örnek için en az üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup, elde edilen veriler farklı kurutma yöntemlerinin protein izolatlarının lipofilik özellikleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

2.15. Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksi (ESI)

Protein izolatlarının emülsiyon oluşturma kapasitesi ve emülsiyonu zaman içinde stabilize edebilme yetenekleri, Emülsiyon Aktivite İndeksi (EAI) ve Emülsiyon Stabilite İndeksi (ESI) parametreleri kullanılarak turbidimetrik yöntem esasına göre belirlenmiştir (Pearce ve Kinsella, 1978; Saetae vd., 2011). Bu amaçla, protein çözeltileri %0,5 (w/v) derişimde hazırlanmış ve 50 mL protein çözeltisi 2 mL ayçiçek yağı ile karıştırılmıştır. Karışım, Ultra-Turrax homojenizatör kullanılarak 13.500 rpm'de 1 dakika süreyle homojenize edilerek emülsiyon elde edilmiştir.

Homojenizasyon işleminin hemen ardından emülsiyon sisteminden 100 μ L alınmış ve 7.5 mL %0.1 (w/v) sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi ile seyreltilmiştir. SDS ilavesi, emülsiyon damlacıkları arasındaki yeniden birleşmeyi (flokülasyon ve koalesans) önleyerek ölçüm sırasında emülsiyonun fiziksel stabilitesini sağlamaktadır (Pearce ve Kinsella, 1978). Literatürde yaygın olarak kullanılan 50 μ L + 5 mL SDS düzenine kıyasla, bu çalışmada 100 μ L + 7.5 mL SDS hacim oranı tercih edilmiştir. Bu modifikasyonun amacı, ölçüm sırasında absorbans değerlerinin spektrofotometrenin lineer çalışma aralığında kalmasını sağlamak ve yüksek bulanıklığa sahip protein emülsiyonlarında ölçüm tekrarlanabilirliğini artırmaktır (Saetae vd., 2011).

Seyreltilmiş örneklerin absorbensları, 500 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüş ve homojenizasyonu takiben elde edilen absorbens değeri A_0 (0. dakika) olarak kaydedilmiştir. Emülsiyon stabilitesinin belirlenmesi amacıyla, emülsiyon hazırlandıktan 10 dakika sonra aynı seyreltme ve ölçüm işlemi tekrarlanmış ve elde edilen absorbens değeri A_{10} olarak belirlenmiştir. EAI, emülsiyon oluşumu anındaki türbiditeye bağlı olarak proteinlerin yağ-su arayüzeyinde oluşturduğu yüzey alanının bir göstergesi olarak değerlendirilirken; ESI, A_0 ve A_{10} değerleri arasındaki değişime bağlı olarak emülsiyonun zamana karşı dayanımını ifade etmektedir (Pearce ve Kinsella, 1978).

EAI ve ESI hesaplamaları literatürde tanımlanan eşitlikler kullanılarak gerçekleştirilmiş; EAI değerleri m^2/g , ESI değerleri ise dakika cinsinden ifade edilmiştir. Tüm analizler her bir örnek için en az üç paralel olarak yürütülmüş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde raporlanmıştır.

2.16. Köpük Oluşturma Kapasitesi (KOK) ve Köpük Stabilitesinin (KS) Belirlenmesi

Protein izolatlarının köpük oluşturma kapasitesi (KOK) ve köpük stabilitesi (KS), protein çözeltilerinin hava–su arayüzeyinde köpük oluşturma ve oluşan köpüğü belirli bir süre koruyabilme yeteneklerini belirlemek amacıyla, Saetae ve arkadaşları (2011) tarafından önerilen yöntem esas alınarak belirlenmiştir. Bu kapsamda, 0.25 g protein izolatı örneği 100 mL saf su içerisinde disperse edilmiş ve proteinlerin tamamen çözünmesini sağlamak amacıyla örnekler oda sıcaklığında, manyetik karıştırıcı kullanılarak 1 saat süreyle karıştırılmıştır (Saetae vd., 2011).

Karıştırma işlemini takiben hazırlanan protein süspansiyonları, köpük oluşumunu sağlamak amacıyla bir homojenizatör kullanılarak 22.000 rpm hızda 2 dakika boyunca homojenize edilmiştir. Homojenizasyon sonrasında oluşan köpük sistemi, hacim ölçümünün doğru şekilde yapılabilmesi için dereceli bir mezüre dikkatlice aktarılmıştır. Homojenizasyon öncesi ve sonrası hacimler kaydedilerek köpük hacmindeki artış esas alınmış ve bu değer kullanılarak köpük oluşturma kapasitesi (KOK) hesaplanmıştır.

Köpük stabilitesi (KS) ise, homojenizasyon sonrasında elde edilen köpük hacminin belirli bir süre (örneğin 10, 30 veya 60 dakika) sonunda gösterdiği değişim dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Belirlenen süre sonunda ölçülen köpük hacmi ile başlangıç köpük hacmi karşılaştırılmış ve köpüğün zamana karşı dayanımı yüzde (%) olarak ifade edilmiştir (Saetae vd., 2011). Tüm analizler her bir örnek için en az üç paralel olarak gerçekleştirilmiş ve sonuçlar ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir.

2.17. Dinamik Reolojik Özelliklerin Belirlenmesi

Protein izolatu örneklerinin akış ve dinamik viskoelastik özellikleri, 35 mm çapında paralel plakalı ölçüm geometrisine sahip bir reometre (Anton Paar MCR 102, Avusturya) kullanılarak belirlenmiştir. Protein izolatu örneklerinin akış ve dinamik viskoelastik özellikleri, 35 mm çapında paralel plakalı ölçüm geometrisine sahip bir reometre (Anton Paar MCR 102, Avusturya) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler öncesinde protein örnekleri, 0.05 M fosfat tamponu (pH 7.0) içerisinde disperse edilerek %10 (w/v) derişimde süspansiyonlar hazırlanmış ve homojenizasyon sağlanmıştır (Tunick, 2011). Ölçümler sırasında numunelerin uygun şekilde plaka arasına yerleşmesi sağlanmış, ölçüm koşulları sabit tutularak tüm örnekler aynı protokol ile analiz edilmiştir.

Akış (steady shear) ölçümleri: Protein süspansiyonlarının akış davranışını belirlemek amacıyla, kayma hızı 0–100 s⁻¹ aralığında uygulanmış; kayma gerilimi–kayma hızı verileri kullanılarak akış eğrileri oluşturulmuştur. Elde edilen verilerden görünür viskozite hesaplanmış ve örneklerin akış davranışı Newtonian ve güç yasası (Power Law/Ostwald–de Waele) modeli gibi uygun reolojik modeller ile değerlendirilmiştir (Steffe, 1996). Model uyumu, eğri uydurma sonuçlarına göre belirlenmiş ve gerek görülen durumlarda akış davranış indeksi ve kıvam katsayısı gibi parametreler raporlanmıştır.

Dinamik ölçümler (osilasyon): Dinamik reolojik testler öncesinde her bir örnek için lineer viskoelastik bölge (LVR), genlik (gerilim/şekil değiştirme) taraması ile tespit edilmiştir. LVR içerisinde seçilen sabit bir gerilim/şekil değiştirme değeri altında, 0,1–100 Hz frekans aralığında frekans tarama testleri gerçekleştirilmiştir. Bu testlerden depolama modülü (G'), kayıp modülü (G'') ve tan δ (G''/G') değerleri hesaplanarak örneklerin elastik ve viskoz bileşenleri değerlendirilmiştir (Stieger, 2002).

Sıcaklık tarama (jelleşme davranışı): Protein süspansiyonlarının sıcaklığa bağlı yapı oluşumu/jelleşme davranışını incelemek amacıyla, numuneler 10 °C/dakika ısıtma hızında 10 °C'den 90 °C'ye kadar ısıtılarak sıcaklık tarama testine tabi tutulmuştur. Ölçüm sırasında numunenin kurumaya bağlı özellik değişimini önlemek amacıyla örnek yüzeyi ince bir tabaka hâlinde silikon yağı ile kaplanmıştır (Stieger, 2002). Sıcaklık tarama boyunca G', G'' ve tan δ 'daki değişimler izlenerek jelleşme başlangıcı ve sıcaklığa bağlı reolojik dönüşümler yorumlanmıştır.

2.18. Su Aktivitesinin (a_v) Belirlenmesi

Protein izolatu örneklerinin su aktivitesi (a_v) değerleri, Novasina LabStart-aw Su Aktivitesi Ölçüm Cihazı (LabStart-aw, Novasina, Washington, DC, USA) kullanılarak

belirlenmiştir. Ölçümler öncesinde cihaz, üretici firma tarafından önerilen prosedürler doğrultusunda uygun standart tuz çözeltileri kullanılarak kalibre edilmiştir.

Analiz için örnekler, ölçüm kaplarına homojen bir tabaka oluşturacak şekilde yerleştirilmiş ve cihazın ölçüm haznesine alınmıştır. Ölçümler oda sıcaklığında ($\approx 25^{\circ}\text{C}$) gerçekleştirilmiş ve her bir numune için denge su aktivitesi değerine ulaşıncaya kadar beklenmiştir. Cihaz tarafından denge koşullarında okunan su aktivitesi değerleri kaydedilmiş ve sonuçlar a_v birimi cinsinden ifade edilmiştir.

Tüm ölçümler üç paralel olarak yapılmış ve elde edilen sonuçlar ortalama değerler üzerinden değerlendirilmiştir. Su aktivitesi analizleri, farklı kurutma yöntemlerinin protein izolatlarının mikrobiyal stabilite ve depolama özellikleri üzerindeki etkilerinin yorumlanmasında kullanılmıştır.

2.19. İstatistiksel Analiz

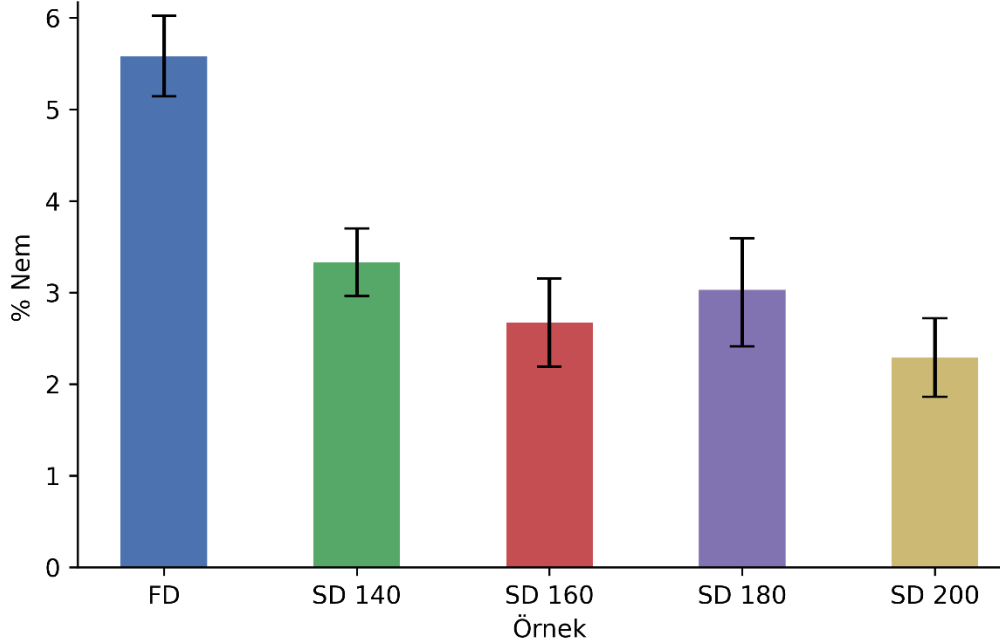
Kurutma denemeleri üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen protein izolatı örneklerinin karakterizasyonu amacıyla uygulanan tüm analizler üç paralel olarak yapılmış ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde ifade edilmiştir. Farklı kurutma yöntemlerinin ve işlem koşullarının protein izolatlarının fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla veriler tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Ortalamalar arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığının belirlenmesi için Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanmış ve değerlendirmelerde %95 güven aralığı ($p < 0,05$) esas alınmıştır. Tüm istatistiksel analizler XLSTAT istatistik yazılımı (Addinsoft, Paris, Fransa) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Addinsoft, 2023).

3.BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Farklı Kurutma Yöntemleriyle Elde Edilen Protein İzolatlarının Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

3.1.1. % Nem ve % Kuru Madde Sonuçlarının Değerlendirilmesi

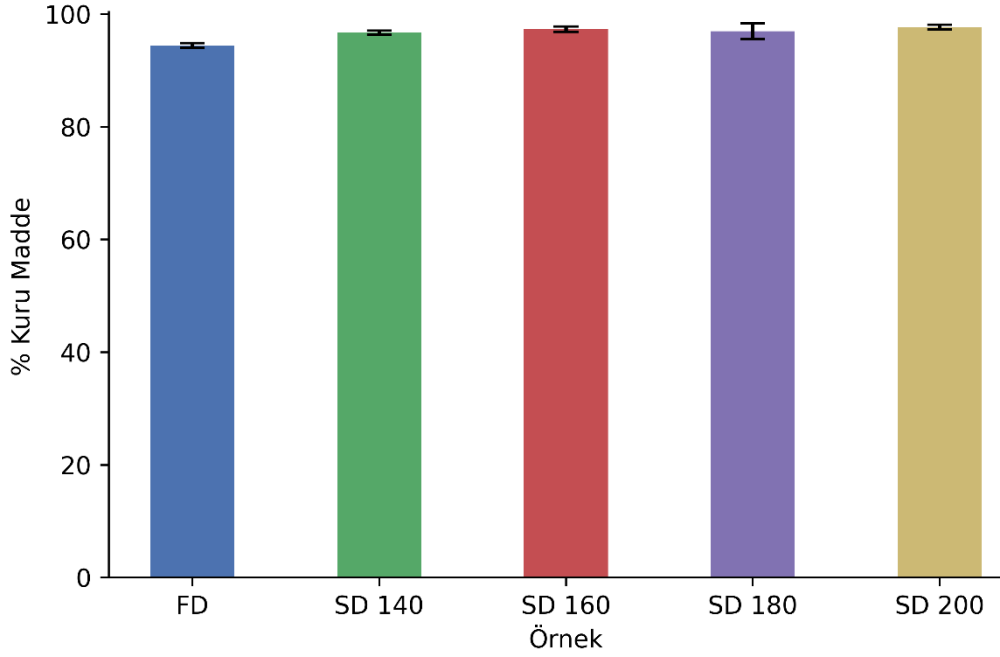
Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen fındık protein izolatlarına ait analiz sonuçları Tablo 2’de özetlenmiş, % nem ve % kuru maddeye ilişkin değişimler ise Şekil 1 ve Şekil 2’de grafiksel olarak sunulmuştur. Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen fındık protein izolatlarının nem içeriği ve kuru madde oranları, uygulanan kurutma tekniği ve işlem koşullarına bağlı olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir ($p < 0,05$). Nem ve kuru madde parametreleri, protein izolatlarının fiziksel stabilitesi, mikrobiyal güvenliği, depolama ömrü ve fonksiyonel özellikleri açısından temel kalite göstergeleri arasında yer almaktadır (Damodaran, 2017).



Şekil 1. Örneklere ait %nem analiz sonuçlarının sütun grafiği

Bu çalışmada, dondurarak kurutma (FD) yöntemiyle elde edilen protein izolatlarının nem içeriğinin (%5.58) püskürtmeli kurutma ile elde edilen örneklere kıyasla daha yüksek olduğu, buna karşılık kuru madde oranının (%94.42) daha düşük olduğu

belirlenmiştir. Dondurarak kurutma işlemi düşük sıcaklık ve vakum koşullarında gerçekleştirilmesine rağmen, protein matriksi içerisinde bağlı suyun korunması ve gözenekli yapının suyu tutma eğilimi göstermesi nedeniyle, nihai üründe nispeten daha yüksek artık nem içeriği gözlenebilmektedir. Bu durum, özellikle protein yapısında hidrofilik amino asitlerin ve polar grupların varlığıyla ilişkilendirilmektedir (Ratti, 2001).



Şekil 2. Örneklerle ait %kuru madde analiz sonuçlarının sütun grafiği

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen protein izolatlarında ise giriş hava sıcaklığının artmasıyla birlikte nem içeriğinde belirgin bir azalma ve buna paralel olarak kuru madde oranında artış gözlenmiştir. SD 140 örnekleri FD'ye kıyasla daha düşük nem içeriği (%3,33) sergilerken, SD 160, SD 180 ve SD 200 örneklerinde nem içeriğinin %3'ün altına düştüğü belirlenmiştir. Bu durum, püskürtmeli kurutma sırasında yüksek sıcaklıkta gerçekleşen hızlı su buharlaşması ve kısa temas süresinin, serbest ve bağlı suyun ortamdaki etkin bir şekilde uzaklaştırılmasını sağlaması ile açıklanabilir (Masters, 2002).

Özellikle SD 160–SD 200 örneklerinde kuru madde oranlarının %97'nin üzerine çıkması, bu sıcaklık aralığının fındık protein izolatlarının kurutulmasında teknolojik açıdan daha etkin olduğunu göstermektedir. Yüksek kuru madde içeriği, protein izolatlarının daha düşük su aktivitesine, dolayısıyla mikrobiyal bozulmaya karşı daha yüksek direnç göstermesine katkı sağlamaktadır. Nitekim yağlı tohum kaynaklı protein

izolatlarında düşük nem ve yüksek kuru madde içeriği, ürünün depolama stabilitesini ve raf ömrünü önemli ölçüde artırmaktadır (Alasalvar vd., 2010; Damodaran, 2017).

Tablo 2. Farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen protein izolatlarının bazı fizikokimyasal özellikleri

Örnek	% Nem	% Kuru Madde	Su Aktivitesi	% Protein	% Kül
FD	5.58 ± 0.44 ^a	94.42 ± 0.44 ^c	0.186 ± 0.02 ^a	82.63 ± 1.22 ^c	7.91 ± 0.08 ^b
SD 140	3.33 ± 0.37 ^b	96.67 ± 0.37 ^b	0.193 ± 0.00 ^a	86.56 ± 0.68 ^b	7.63 ± 0.42 ^b
SD 160	2.67 ± 0.48 ^c	97.33 ± 0.48 ^a	0.142 ± 0.00 ^c	91.34 ± 0.88 ^a	7.70 ± 0.22 ^b
SD 180	3.03 ± 1.39 ^{bc}	96.97 ± 1.39 ^{ab}	0.131 ± 0.00 ^c	87.87 ± 1.21 ^b	7.63 ± 0.11 ^b
SD 200	2.29 ± 0.43 ^c	97.71 ± 0.43 ^a	0.148 ± 0.01 ^b	90.15 ± 1.24 ^a	8.32 ± 0.20 ^a

Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar istatistiksel olarak farklıdır (Duncan. $p < 0.05$).

(ortalama ± standart sapma. $n = 3$)

Bununla birlikte, çok yüksek kurutma sıcaklıklarının protein yapısı üzerinde termal denatürasyon ve agregasyon gibi olumsuz etkiler oluşturabileceği de literatürde bildirilmektedir. Bu nedenle, SD 160 ve SD 180 örneklerinin, hem düşük nem ve yüksek kuru madde içeriği sağlaması hem de protein yapısının aşırı bozulmasını sınırlandırabilecek bir sıcaklık aralığını temsil etmesi bakımından, fındık protein izolatlarının üretimi için optimum kurutma koşulları olarak değerlendirilebileceği söylenebilir (Damodaran, 2017).

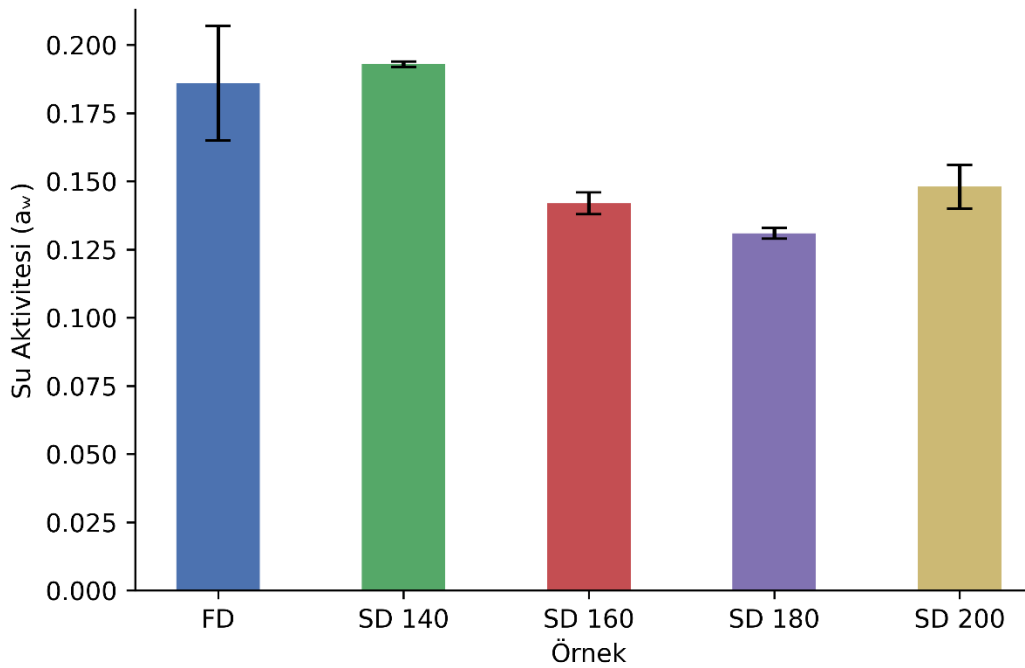
Sonuç olarak, elde edilen bulgular kurutma yönteminin ve özellikle püskürtmeli kurutmada uygulanan giriş hava sıcaklığının, fındık protein izolatlarının nem içeriği ve kuru madde oranı üzerinde belirleyici bir etkiye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Dondurarak kurutma yöntemi daha yüksek nem içeriği ile karakterize edilirken, püskürtmeli kurutma yöntemi özellikle orta-yüksek sıcaklıklarda daha düşük nem ve daha yüksek kuru madde içeriği sağlayarak ürün stabilitesini artırmaktadır.

3.1.2. Su Aktivitesi (a_w) Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada elde edilen fındık protein izolatlarına ait fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 2’de sunulmuş olup, su aktivitesi (a_w) değerleri Şekil 3’te grafiksel olarak gösterilmiştir. Su aktivitesi, bir gıda sisteminde serbest halde bulunan ve mikrobiyal gelişim ile kimyasal reaksiyonları doğrudan etkileyen su miktarını ifade

etmekte olup, ürünün mikrobiyal stabilitesi, raf ömrü ve depolama güvenliği açısından kritik bir parametredir (Fennema, 1996; Damodaran, 2017).

Elde edilen sonuçlara göre, dondurarak kurutulmuş (FD) fındık protein izolatı en yüksek su aktivitesi değerlerinden birini göstermiştir ($a_w \approx 0.186$). Dondurarak kurutma işlemi düşük sıcaklık ve vakum koşullarında gerçekleştirilmesine rağmen, protein matriksi içerisinde bağlı suyun korunması ve gözenekli yapı nedeniyle denge su aktivitesi değerlerinin tamamen düşürülememesi bu durumu açıklamaktadır (Ratti, 2001). Nitekim FD örneklerinin daha yüksek nem içeriğine sahip olması, su aktivitesi değerlerinin de görece yüksek bulunmasıyla uyumlu bir sonuç olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3. Örneklere ait su aktivitesi (a_w) analiz sonuçlarının sütun grafiği

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen örneklerde ise giriş hava sıcaklığının artmasıyla birlikte su aktivitesi değerlerinde belirgin bir azalma gözlenmiştir. Özellikle SD 160 ve SD 180 örneklerinde a_w değerlerinin 0.15'in altına düştüğü belirlenmiştir. Bu durum, yüksek sıcaklıklarda gerçekleşen spray kurutma işleminin, serbest suyun etkin biçimde uzaklaştırılmasını sağlaması ve ürün bünyesindeki suyun daha kararlı bir şekilde bağlanması ile ilişkilendirilmektedir (Masters, 2002). Düşük a_w değerleri, protein izolatlarının mikrobiyal gelişime karşı daha dirençli olduğunu ve uzun süreli depolama için daha uygun bir yapı sergilediğini göstermektedir.

Nem içeriği ile su aktivitesi arasındaki ilişki birlikte değerlendirildiğinde, her iki parametrenin doğrusal olmayan ancak paralel bir eğilim sergilediği görülmektedir. Nem içeriğinin azalması, genel olarak su aktivitesinde de düşüşe yol açmakla birlikte, a_w

değerleri yalnızca toplam su miktarına değil, aynı zamanda suyun matriks içerisindeki bağlanma durumuna da bağlıdır (Fennema, 1996). Bu nedenle, benzer nem içeriklerine sahip örneklerde dahi farklı su aktivitesi değerlerinin gözlenmesi mümkündür. Bu çalışmada SD 200 örneğinde nispeten düşük nem içeriğine rağmen SD 180'e kıyasla biraz daha yüksek a_w değerinin elde edilmesi, protein yapısında sıcaklığa bağlı oluşan yapısal değişimlerin su bağlanma özelliklerini etkilemesiyle açıklanabilir (Damodaran, 2017).

Bu çalışmada, fındık protein izolatlarının nem içeriği ile su aktivitesi (a_w) arasındaki ilişki, tüm tekerrür verileri ($n = 15$) dikkate alınarak incelenmiştir. Yapılan korelasyon analizleri sonucunda, nem içeriği ile su aktivitesi arasında pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir (Pearson $r = 0,56$, $p < 0,05$; Spearman $\rho = 0,60$, $p < 0,05$). Elde edilen bu bulgular, nem miktarındaki artışın genel olarak su aktivitesinde de artışa yol açtığını göstermektedir.

Bununla birlikte, korelasyon katsayılarının orta düzeyde olması, su aktivitesinin yalnızca toplam nem içeriğine bağlı olmadığını, aynı zamanda suyun protein matriksi içerisindeki bağlanma durumu ve dağılımı ile de yakından ilişkili olduğunu ortaya koymaktadır. Protein yapısındaki hidrofilik gruplar, iyonik etkileşimler ve sıcaklığa bağlı yapısal değişimler, suyun serbest veya bağlı formda bulunmasını etkileyerek benzer nem içeriklerinde farklı su aktivitesi değerlerinin elde edilmesine neden olabilmektedir. Bu durum, gıda sistemlerinde nem içeriği ile su aktivitesi arasındaki ilişkinin her zaman doğrusal olmayabileceğini bildiren literatür bulguları ile uyumludur.

Özellikle püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen fındık protein izolatlarında, giriş hava sıcaklığının artmasına bağlı olarak nem içeriğinin azalmasına rağmen bazı örneklerde su aktivitesi değerlerinin birbirine yakın bulunması, yüksek sıcaklıkların protein yapısında oluşturduğu denatürasyon ve agregasyon etkileriyle açıklanabilir. Bu yapısal değişimler, suyun protein matriksi içerisinde daha sıkı bağlanmasına veya yeniden dağılımına yol açarak su aktivitesinin beklenenden farklı davranış sergilemesine neden olabilmektedir.

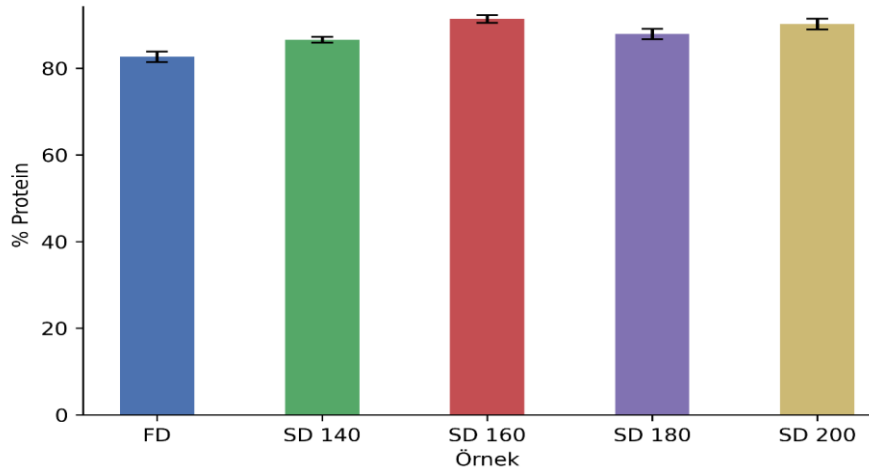
Nem içeriği ile su aktivitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmakla birlikte, su aktivitesinin yalnızca nem miktarına bağlı olarak değerlendirilmesinin yeterli olmadığı, protein izolatlarının yapısal özellikleri ve uygulanan kurutma koşullarının da bu parametre üzerinde belirleyici rol oynadığı görülmektedir. Bu nedenle, fındık protein izolatlarının depolama stabilitesi ve kalite değerlendirmesinde nem içeriği ve su aktivitesinin birlikte ele alınması, daha bütüncül ve güvenilir bir yaklaşım sunmaktadır.

Giriş hava sıcaklığının artması, püskürtmeli kurutma sırasında damlacık yüzeyinde daha hızlı su buharlaşmasına neden olmuş ve partikül oluşumu daha kısa sürede tamamlanmıştır. Bu durum, özellikle 180 ve 200 °C’de kurutulan örneklerde daha düşük nem içeriği ve su aktivitesi değerleri ile sonuçlanmıştır. Daha düşük a_w değerleri, yalnızca raf ömrü ve mikrobiyal stabilite açısından değil, aynı zamanda protein–protein etkileşimlerinin depolama sırasında sınırlandırılması bakımından da olumlu kabul edilmektedir.

Sonuç olarak, sprey kurutma yöntemi özellikle 160–180 °C giriş hava sıcaklıklarında, fındık protein izolatlarının hem düşük nem içeriği hem de düşük su aktivitesi sergilemesini sağlayarak ürün stabilitesini artırmıştır. Bu bulgular, nem ve su aktivitesinin birlikte değerlendirilmesinin, protein bazlı toz ürünlerin kalite ve raf ömrü açısından daha bütüncül bir yaklaşım sunduğunu ortaya koymaktadır.

3.1.3. Protein İçeriği Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada elde edilen fındık protein izolatlarına ait fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 2’de sunulmuş olup, farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen örneklerin % protein değerleri Şekil 4’te grafiksel olarak gösterilmiştir. Protein içeriği, izolatların besinsel değeri ve fonksiyonel özellikleri açısından temel bir kalite göstergesi olup, uygulanan kurutma yöntemi ve işlem koşullarından doğrudan etkilenebilmektedir (Damodaran, 2017).



Şekil 4. Örneklere ait %protein analiz sonuçlarının sütun grafiği

Elde edilen sonuçlara göre, dondurarak kurutulmuş (FD) fındık protein izolatı, püskürtmeli kurutma ile elde edilen örneklere kıyasla daha düşük protein içeriği (%82,63) sergilemiştir. Dondurarak kurutma işlemi, protein yapısını büyük ölçüde korumasına

rağmen, gözenekli yapı ve nispeten daha yüksek nem içeriği nedeniyle protein dışı bileşenlerin (bağlı su ve iz miktardaki diğer bileşenler) izolat bünyesinde daha fazla yer almasına yol açabilmektedir. Bu durum, protein oranının kütle bazında daha düşük bulunmasıyla ilişkilendirilebilir (Ratti, 2001).

Püskürtmeli kurutma sıcaklığının artışı protein içeriğinde kimyasal bir bozulmaya yol açmamış; ancak yüksek sıcaklıklarda ölçülen protein yüzdelerindeki görece artış, suyun daha etkin uzaklaştırılmasıyla ilişkili bir “konsantrasyon etkisi” olarak değerlendirilmiştir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklıkların proteinlerin moleküler dağılımını etkileyerek bazı fraksiyonların (özellikle globulin benzeri yapılar) kısmi agregasyonuna yol açabileceği düşünülmektedir.

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen örneklerde ise giriş hava sıcaklığının artmasıyla birlikte protein içeriğinde genel olarak artış eğilimi gözlenmiştir. Özellikle SD 160 örneğinde protein içeriğinin %91.34 ile en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir. Bu artış, püskürtmeli kurutma sırasında suyun hızlı bir şekilde uzaklaştırılması sonucu, protein fraksiyonunun toplam kuru madde içerisindeki oranının yükselmesiyle açıklanabilir. Benzer şekilde, bitkisel protein izolatlarında sprey kurutmanın, uygun sıcaklık aralıklarında uygulandığında protein saflığını artırdığı literatürde bildirilmektedir (Masters, 2002; Damodaran, 2017).

Bununla birlikte, SD 180 ve SD 200 örneklerinde protein içeriğinin SD 160’a kıyasla kısmen daha düşük bulunması, yüksek sıcaklıklarda protein yapısında meydana gelebilecek termal denatürasyon, agregasyon veya Maillard tipi reaksiyonlar ile ilişkilendirilebilir. Bu tür reaksiyonlar, Kjeldahl yöntemiyle belirlenen toplam azot içeriğini doğrudan etkilemese de, proteinlerin fonksiyonel ve yapısal özelliklerinde değişimlere yol açarak izolatın homojenliğini ve bileşim dağılımını etkileyebilmektedir (Damodaran, 2017).

Fındık proteinleri gibi yağlı tohum kaynaklı protein izolatlarında, kurutma koşullarının optimize edilmesi; hem yüksek protein içeriğinin korunması hem de fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesi açısından önem taşımaktadır (Alasalvar vd., 2010). Bu bağlamda, elde edilen bulgular SD 160 koşulunun, fındık protein izolatları için protein içeriği açısından daha avantajlı bir kurutma sıcaklığı olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak, farklı kurutma yöntemleri ve püskürtmeli kurutma giriş hava sıcaklıkları, fındık protein izolatlarının protein içeriği üzerinde belirgin etkilere sahiptir. Uygun sıcaklık aralığında gerçekleştirilen püskürtmeli kurutma işlemi, protein oranını artırarak izolatların besinsel değerini iyileştirmekte; ancak aşırı sıcaklık uygulamaları protein yapısı üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bu nedenle, protein içeriği

ve ürün kalitesinin birlikte değerlendirilmesi, optimum kurutma koşullarının belirlenmesi açısından önemlidir.

Korelasyon analizi sonuçları, fındık protein izolatlarında protein içeriği ile bazı fonksiyonel özellikler arasında orta düzeyde pozitif ilişkiler bulunduğunu göstermektedir. Özellikle % protein ile su tutma kapasitesi (STK) arasında pozitif yönlü bir ilişki saptanmıştır (Pearson $r = 0.47$; Spearman $\rho = 0.51$). Bu bulgu, protein içeriği arttıkça protein matriksi içerisinde su bağlayabilecek hidrofilik grupların ve fonksiyonel bölgelerin artmasına bağlı olarak STK'nın yükseldiğini düşündürmektedir. Proteinlerin üç boyutlu yapısı ve hidrofilik amino asit içeriği, su bağlama davranışında belirleyici rol oynamaktadır (Damodaran, 2017; Peters vd., 2017).

Protein içeriği ile emülsiyon stabilite indeksi (ESI) arasındaki ilişkinin de pozitif yönde olduğu görülmektedir (Pearson $r = 0.33$; Spearman $\rho = 0.41$). Bu durum, protein miktarındaki artışın yağ-su arayüzeyinde daha yoğun ve dayanıklı protein filmleri oluşmasına katkı sağlayarak emülsiyon stabilitesini artırabildiğini göstermektedir. Ancak korelasyonun orta düzeyde kalması, emülsiyon stabilitesinin yalnızca protein miktarına değil, aynı zamanda proteinlerin yüzey hidrofobisitesi, esnekliği ve denatürasyon düzeyi gibi yapısal özelliklerine de bağlı olduğunu ortaya koymaktadır (Pearce ve Kinsella, 1978; Damodaran, 2017).

Yağ tutma kapasitesi (YTK) ile köpük oluşturma kapasitesi (KOK) arasında belirlenen görece yüksek pozitif ilişki (Pearson $r = 0.53$), proteinlerin yüzeyde açığa çıkan hidrofobik bölgelerinin hem yağ bağlama hem de hava-su arayüzeyinde adsorpsiyonu destekleyen yapılar olduğunu düşündürmektedir. Bitkisel proteinlerde hidrofobik amino asitlerin yüzey hidrofobikliğini artırması, proteinlerin arayüzeylerde daha etkin davranmasına ve dolayısıyla yağ tutma ile köpük oluşumu gibi yüzey aktif özelliklerin iyileşmesine katkı sağlamaktadır. Bununla birlikte, korelasyonun orta düzeyde olması; pH, protein agregasyonu, moleküler esneklik ve partikül boyutu gibi ek yapısal faktörlerin de bu fonksiyonel özellikler üzerinde etkili olabileceğini göstermektedir (Wouters vd., 2016).

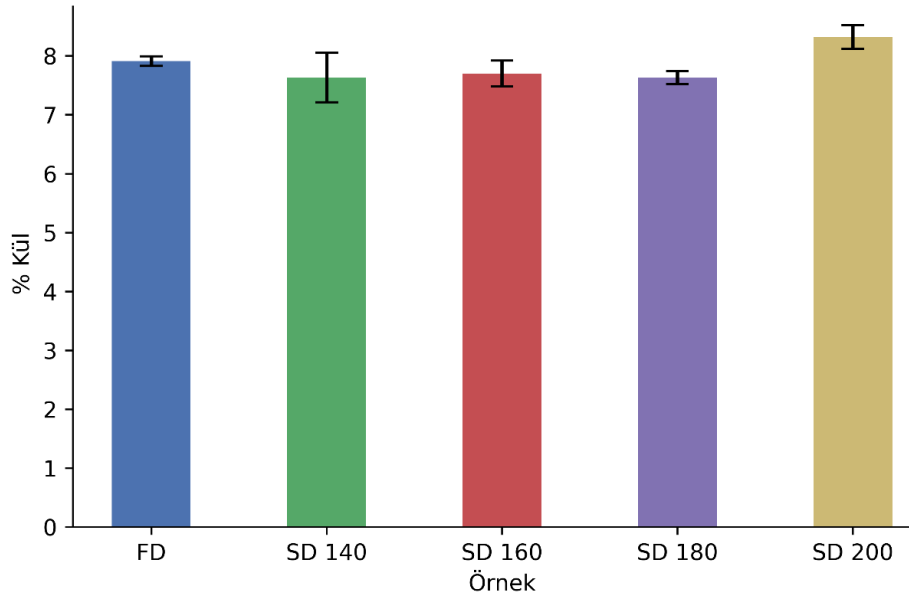
Buna karşılık, % protein ile KOK arasındaki ilişkinin zayıf olması, köpük oluşumunun protein miktarından ziyade proteinlerin arayüzeye difüzyon hızı ve moleküler esnekliği ile daha yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, STK ile ESI arasındaki ilişkinin zayıf bulunması, su bağlama ve emülsiyon stabilitesinin farklı yapısal mekanizmalar tarafından kontrol edildiğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, fındık protein izolatlarında protein içeriği arttıkça STK ve ESI gibi bazı fonksiyonel özelliklerin iyileştiği, ancak bu ilişkinin

doğrusal ve tek yönlü olmadığı görülmektedir. Bu sonuçlar, fonksiyonel performansın yalnızca protein miktarı ile değil, kurutma koşullarına bağlı olarak şekillenen protein yapısı ile birlikte değerlendirilmesi gerektiğini açıkça ortaya koymaktadır.

3.1.4. Kül İçeriği Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Bu çalışmada elde edilen fındık protein izolatlarına ait fizikokimyasal analiz sonuçları Tablo 2’de sunulmuş olup, farklı kurutma yöntemleriyle elde edilen örneklerin % kül değerleri Şekil 5’te grafiksel olarak gösterilmiştir. Kül içeriği, protein izolatlarının mineral madde düzeyini yansıtmakta olup, hammaddenin doğal mineral bileşimi, ekstraksiyon basamakları ve uygulanan kurutma koşullarından etkilenebilmektedir (Fennema, 1996; Alasalvar vd., 2010).



Şekil 5. Örnekler için %kül analiz sonuçlarının sütun grafiği

Elde edilen sonuçlara göre, dondurarak kurutulmuş (FD) fındık protein izolatının kül içeriği yaklaşık %7.9 düzeyinde belirlenmiş ve püskürtmeli kurutma ile elde edilen örneklerle karşılaştırılabilir değerler sergilemiştir. Dondurarak kurutma işlemi sırasında mineral bileşenlerde kimyasal bir kayıp beklenmemekle birlikte, gözenekli yapı ve nispeten daha yüksek nem içeriği nedeniyle kül oranı kütle esasına göre sınırlı değişim gösterebilmektedir. Bu durum, FD örneklerinin kül içeriklerinin sprey kurutma örneklerine yakın bulunmasıyla uyumludur (Ratti, 2001).

Püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde edilen örneklerde ise giriş hava sıcaklığının kül içeriği üzerinde sınırlı fakat dikkat çekici bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. SD 140, SD 160 ve SD 180 örneklerinin kül içerikleri birbirine yakın değerler göstermiştir

(%7.6–7.7). Bu bulgu, püskürtmeli kurutma sırasında mineral maddelerin uçucu olmaması nedeniyle, giriş hava sıcaklığındaki artışın kül içeriğini doğrudan değiştirmedini göstermektedir. Literatürde de bitkisel protein izolatlarında kül içeriğinin kurutma sıcaklığından ziyade ekstraksiyon ve yıkama basamaklarına daha duyarlı olduğu bildirilmektedir (Damodaran, 2017).

Buna karşılık, SD 200 örneğinde kül içeriğinin (%8.32) diğer örneklerle kıyasla daha yüksek bulunması, yüksek sıcaklıklarda uygulanan püskürtmeli kurutma işlemi sırasında protein dışı organik bileşenlerin daha fazla uzaklaştırılması sonucu mineral fraksiyonun göreceli olarak yoğunlaşmasıyla açıklanabilir. Bu durum, kül içeriğinin mutlak mineral miktarından ziyade kuru madde içerisindeki oransal dağılımı yansıttığını ortaya koymaktadır (Fennema, 1996).

Fındık gibi yağlı tohum kaynaklı protein izolatlarında kül içeriği, besinsel açıdan önemli minerallerin varlığına işaret etmekle birlikte, fonksiyonel özellikler üzerinde dolaylı etkilere de sahip olabilmektedir. Yüksek mineral içeriği, proteinlerin iyonik yük dağılımını etkileyerek çözünürlük, su tutma kapasitesi ve emülsiyon davranışı gibi özellikleri modüle edebilmektedir (Damodaran, 2017). Bu çalışmada kül içeriğindeki değişimlerin sınırlı olması, farklı kurutma yöntemlerinin mineral bileşim üzerinde koruyucu bir etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Fındık protein izolatlarının kül içerikleri kurutma yöntemlerine bağlı olarak büyük farklılıklar göstermemekle birlikte, yüksek giriş hava sıcaklığında gerçekleştirilen püskürtmeli kurutma işlemi kül oranının göreceli olarak artmasına neden olabilmektedir. Bu bulgular, kül içeriğinin protein izolatlarının kalite değerlendirilmesinde destekleyici bir parametre olarak ele alınması gerektiğini ortaya koymaktadır.

3.2. Protein İzolatlarının pH ve İşlem Kaynaklı Yapısal Değişimlere Bağlı Çözünürlük Davranışının Mekanizma Temelli Değerlendirilmesi

Tablo 3 ve Şekil 6 birlikte değerlendirildiğinde, protein izolatlarının çözünürlüğünün pH değişimine belirgin şekilde duyarlı olduğu ve bu davranışın büyük ölçüde proteinlerin izoelektrik noktasına yakın pH aralıklarında net yüzey yüklerinin değişimi ile ilişkili olduğu görülmektedir. Fındık proteinlerinin literatürde bildirilen izoelektrik noktası yaklaşık pH 4.3–4.8 aralığında yer almakta olup, bu çalışmada pH 4 civarında gözlenen çözünürlük minimumu bu izoelektrik bölgeye yaklaşmanın doğal bir sonucu olarak değerlendirilebilir. Bu pH aralığında proteinlerin net yükü sıfıra yaklaşmakta, elektrostatik itme zayıflamakta ve protein–protein etkileşimleri hidrofobik çekim ve van der Waals kuvvetleri aracılığıyla artmaktadır. Bunun sonucunda agregasyon

ve çökelme eğilimi yükselmekte ve çözünürlük belirgin şekilde düşmektedir (Damodaran, 2017; Kinsella, 1976). Verilerde pH 4 civarında tüm örneklerde gözlenen düşüş, bu mekanizmanın etkinliğini açıkça ortaya koymaktadır.

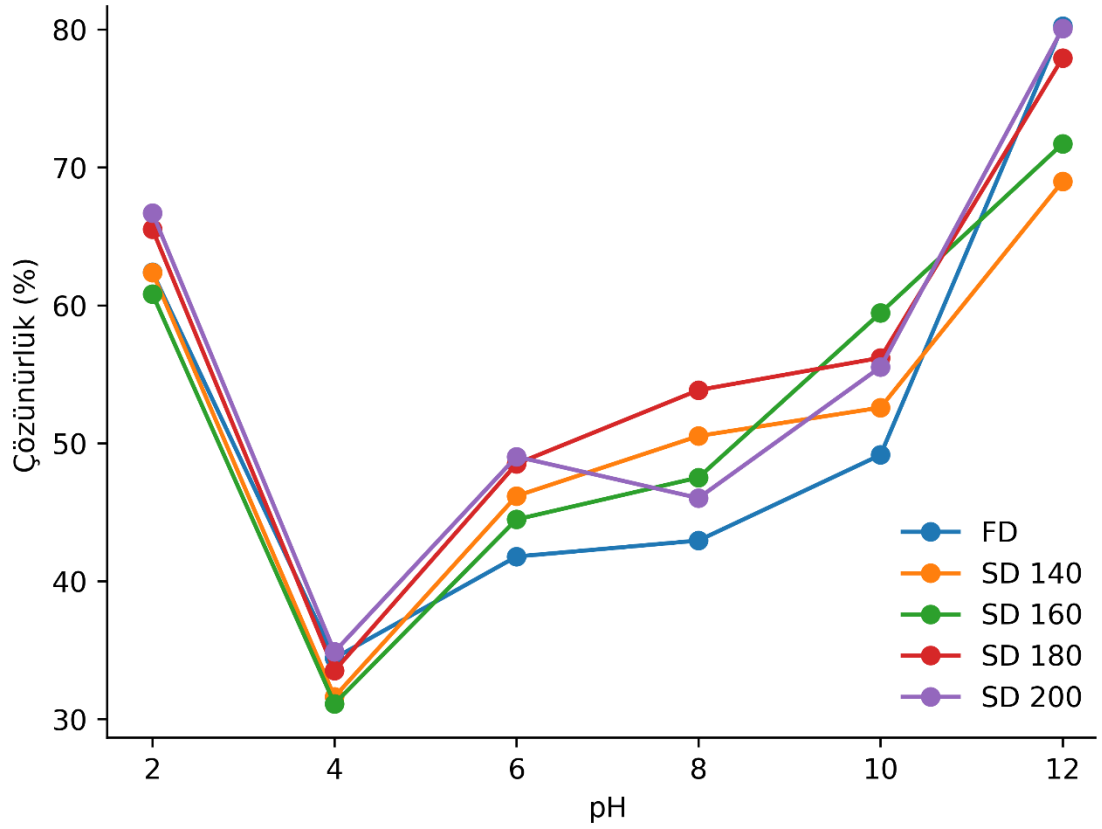
Tablo 3. Protein izolatlarının farklı pH değerlerinde çözünürlük oranları (%)

Örnek	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8	pH 10	pH 12
FD	62.41 ± 1.10 ^b	34.42 ± 0.97 ^a	41.79 ± 1.13 ^c	42.95 ± 0.21 ^c	49.16 ± 0.66 ^d	80.26 ± 1.15 ^a
SD 140	62.39 ± 1.15 ^b	31.62 ± 0.63 ^c	46.18 ± 1.16 ^b	50.53 ± 0.32 ^b	52.59 ± 0.93 ^c	68.99 ± 1.64 ^c
SD 160	60.82 ± 0.95 ^c	31.12 ± 0.46 ^c	44.48 ± 0.79 ^{bc}	47.52 ± 0.23 ^{bc}	59.46 ± 0.26 ^a	71.72 ± 1.09 ^b
SD 180	65.52 ± 1.39 ^a	33.51 ± 0.12 ^b	48.51 ± 0.32 ^a	53.86 ± 1.08 ^a	56.20 ± 1.12 ^b	77.94 ± 1.05 ^a
SD 200	66.70 ± 1.87 ^a	34.88 ± 0.11 ^a	49.03 ± 1.02 ^a	46.03 ± 0.21 ^c	55.53 ± 1.17 ^b	80.07 ± 1.47 ^a

Veriler ortalama ± standart sapma (n = 3) olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı üst simge harflerle gösterilen ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır (p < 0.05).

Buna karşılık pH değeri izoelektrik noktadan uzaklaştıkça proteinler yeniden net yük kazanmaktadır. Asidik koşullarda (pH 2) proteinlerin pozitif yüklenmesi, alkali koşullarda ise (pH 6–12) negatif yüklenmesi protein–protein yaklaşmasını sınırlamakta ve elektrostatik itmenin artmasına yol açmaktadır. Bu durum, proteinlerin su ile etkileşimini kolaylaştırarak hidrasyon kabuğunun güçlenmesini sağlamakta ve çözünürlüğün yeniden artmasına neden olmaktadır (Morr vd., 1985). Şekil 6’te pH 6’dan itibaren gözlenen toparlanma ve özellikle pH 10–12 aralığında belirgin yükselme, izoelektrik noktadan uzaklaşmaya bağlı olarak artan net yüklenmenin çözünürlüğü yönlendirdiğini göstermektedir.

Örnek bazında değerlendirildiğinde FD izolatu pH 4 civarında belirgin minimum sergilemiş ve pH yükseldikçe çözünürlükte düzenli bir artış göstermiştir. Bu durum, FD örneğinde çözünürlüğün büyük ölçüde pH kaynaklı yüklenme mekanizması tarafından kontrol edildiğini düşündürmektedir. SD 140 ve SD 160 örneklerinde ise pH 6–10 aralığında FD’ye kıyasla daha yüksek çözünürlük değerleri gözlenmiş, bu da kurutma işleminin protein yapısında kısmi konformasyonel değişimlere yol açarak su ile etkileşebilen polar grupların erişilebilirliğini artırmış olabileceğini göstermektedir. Özellikle SD 160 örneğinin pH 10’da yüksek çözünürlük sergilemesi, alkali ortamda net negatif yüklenmenin ve buna bağlı hidrasyon artışının bu örnekte daha belirgin olduğunu düşündürmektedir.



Şekil 6. Protein izolatlarının farklı pH değerlerindeki çözünürlük profilleri.

SD 180 ve SD 200 örnekleri geniş pH aralığında yüksek çözünürlük profilleri sergileyerek işlem şiddetinin protein yüzey özelliklerini değiştirebildiğini ortaya koymuştur. pH 12’de gözlenen yüksek çözünürlük değerleri, izoelektrik noktadan uzaklaşmaya bağlı olarak artan elektrostatik itme ve su bağlama kapasitesi ile uyumludur. Bununla birlikte, tüm örneklerde pH 4 civarında çözünürlükteki düşüşün devam etmesi, işlem geçmişi ne olursa olsun izoelektrik bölgenin çözünürlüğü sınırlayan temel faktör olmaya devam ettiğini göstermektedir (Tang ve Ma, 2009).

Verilerde pH 2’de gözlenen görece yüksek çözünürlük değerleri, proteinlerin izoelektrik noktalarından uzaklaştıkça net yüzey yüklerinin artmasıyla açıklanabilir. Fındık proteinlerinin izoelektrik noktası yaklaşık pH 4.3–4.8 aralığında yer almakta olup, bu noktadan daha düşük pH koşullarında proteinler belirgin şekilde pozitif yük kazanmaktadır. Bu güçlü aynı işaretli yüklenme, protein molekülleri arasındaki elektrostatik itmenin artmasına neden olarak protein–protein yaklaşmasını sınırlandırmakta ve agregasyon eğilimini baskılamaktadır. Bu durum, özellikle izoelektrik bölgeye yakın pH değerlerinde gözlenen çökeltme eğilimine kıyasla daha yüksek çözünürlük ile sonuçlanmaktadır (Kinsella, 1976; Damodaran, 2017).

Bununla birlikte, çok asidik ortamın yalnızca yüklenme üzerinden değil, protein yapısı üzerinde de etkili olabileceği dikkate alınmalıdır. Düşük pH koşulları, proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında kısmi açılmalara yol açarak daha önce molekül iç kısmında bulunan hidrofilik ve polar grupların su ile etkileşime girmesini kolaylaştırabilir. Bu yapısal gevşeme, protein-su etkileşimlerini artırarak çözünürlüğü destekleyebilir. Ancak bu etki protein tipine ve matrise bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bu çalışmada pH 2’de yüksek, pH 4 civarında ise en düşük çözünürlük değerlerinin gözlenmesi, izoelektrik noktadan uzaklaşmaya bağlı güçlü pozitif yüklenmenin agregasyonu baskıladığını; izoelektrik bölgeye yaklaşıldığında ise bu etkinin zayıflayarak protein-protein etkileşimlerinin yeniden baskın hale geldiğini göstermektedir.

Püskürtmeli kurutma sıcaklığı arttıkça, proteinlerin izoelektrik bölgeye yakın pH’larda çözünürlüğü belirgin şekilde iyileşmemiş; hatta yüksek sıcaklıklarda hafif bir düşüş eğilimi gözlenmiştir. Bu durum, ısı kaynaklı kısmi denatürasyon ve hidrofobik bölgelerin açığa çıkmasıyla protein-protein etkileşimlerinin artmasına bağlanmaktadır. Buna karşılık, alkali pH koşullarında (pH 10–12) artan net negatif yük, yüksek sıcaklık etkisini büyük ölçüde maskeleyerek çözünürlüğün yeniden yükselmesini sağlamıştır. Kurutma işlemi sırasında uygulanan sıcaklık ve işlem şiddeti, proteinlerin yapısal bütünlüğünü değiştirerek çözünürlük davranışını doğrudan etkileyen önemli bir faktör olarak ortaya çıkmaktadır. Isıl işlem sonucunda proteinlerin tersiyer yapılarında kısmi denatürasyon meydana gelebilir ve bu durum protein zincirlerinin açılmasına yol açabilir. Bu açılma sayesinde daha önce molekülün iç kısmında yer alan hidrofilik ve yüklü gruplar su fazı ile etkileşime girebilir hale gelir ve bu durum özellikle izoelektrik noktadan uzak pH koşullarında çözünürlüğün artmasına katkı sağlayabilir (Damodaran, 2017). Bununla birlikte, aynı yapısal açılma süreci protein yüzeyinde hidrofobik bölgelerin de açığa çıkmasına neden olabilir. Eğer ortamda elektrostatik itme yeterince güçlü değilse, örneğin izoelektrik noktaya yakın pH değerlerinde olduğu gibi, bu hidrofobik bölgeler protein-protein etkileşimlerini artırarak yeniden agregasyonu tetikleyebilir ve çözünürlüğün sınırlanmasına yol açabilir (Tang ve Ma, 2009).

Bu bağlamda, kurutma sıcaklığının çözünürlük üzerindeki etkisi doğrusal değildir ve pH koşullarına bağlı olarak farklı yönlerde ortaya çıkabilmektedir. Nitekim çalışmada pH 4 civarında gözlenen çözünürlük minimumunun işlem şiddeti artmasına rağmen korunması, izoelektrik bölgeye yakın koşullarda pH kaynaklı yüklenme etkisinin, işlemle oluşabilecek yapısal açılmalara rağmen baskınlığını sürdürdüğünü göstermektedir. Bu durum, çözünürlük davranışının yalnızca denatürasyon derecesi ile değil, aynı zamanda

protein yüzey özellikleri ile ortamın elektrostatik koşulları arasındaki denge tarafından belirlendiğini ortaya koymaktadır.

Isıl işlem ve kurutma gibi prosesler sırasında proteinlerin konformasyonel yapısında meydana gelen değişimler yalnızca hidrofobik etkileşimleri değil, aynı zamanda kovalent bağlanma temelli agregasyon mekanizmalarını da tetikleyebilir. Pek çok protein sisteminde ısı stres altında tersiyer yapının kısmen açılmasıyla daha önce yapının içinde gömülü olan sülfhidril ($-SH$) grupları açığa çıkabilmekte ve ortam koşullarına bağlı olarak bu gruplar oksitlenerek yeni disülfid köprülerinin ($-S-S-$) oluşumuna ya da mevcut disülfid bağlarının yeniden düzenlenmesine yol açabilmektedir (Damodaran, 2017). Disülfid aracılı bu yeniden yapılanma, proteinler arasında çapraz bağlanmayı artırarak daha büyük ve daha stabil agregatların oluşmasını destekler.

Bu tür çapraz bağlanma temelli agregatlar, yalnızca elektrostatik çekim/itme dengesine bağlı “gevşek” agregasyonlara kıyasla daha kalıcı olma eğilimindedir. Bu nedenle özellikle izoelektrik noktaya yakın pH koşullarında—elektrostatik itmenin zaten zayıfladığı bir bölgede—disülfid bağlarıyla güçlenen protein-protein ağ yapılarının oluşması çözünürlüğü daha belirgin biçimde azaltabilir. Çalışmada pH 4 civarında gözlenen güçlü çözünürlük minimumunun birçok örnekte korunması, hidrofobik etkileşimlerin yanı sıra disülfid aracılı çapraz bağlanmaların da bu düşük çözünürlük davranışına katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu mekanizma, yalnızca pH yükseltilerek (izoelektrik noktadan uzaklaştırılarak) tamamen tersine çevrilmesi zor olabileceğinden, bazı örneklerde alkali pH’a geçildiğinde dahi çözünürlük artışının beklenenden daha sınırlı kalmasına neden olabilir. Bu açıdan SH/SS dengesindeki değişimler, işlem geçmişinin çözünürlük profiline kalıcı iz bırakabilen temel mekanizmalarından biri olarak değerlendirilebilir.

Kurutma işleminin yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirildiği durumlarda, proteinlerin matriste bulunan indirgen şekerler veya reaktif karbonil bileşikleri ile etkileşime girerek Maillard reaksiyonuna katılma olasılığı da göz önünde bulundurulmalıdır. Bu reaksiyonun erken evrelerinde proteinlerin karbonhidratlarla kovalent olarak bağlanması, protein yüzeyinde hidrofilikliğin artmasına ve su ile etkileşim kapasitesinin güçlenmesine yol açabilir. Bu durum bazı sistemlerde çözünürlüğü artırıcı bir etki gösterebilmektedir. Buna karşın, reaksiyonun ileri aşamalarında oluşan yüksek molekül ağırlıklı ürünler ve çapraz bağlanmalar protein agregasyonunu teşvik ederek çözünürlüğü azaltıcı yönde etki edebilir (Martins vd., 2000).

Bu çalışmada özellikle alkali pH koşullarında gözlenen çözünürlük artışının temel olarak net yüklenme ve hidratasyon mekanizmaları ile açıklanabileceği düşünülmekle

birlikte, işlem şiddetinin yüksek olduğu bazı örneklerde Maillard reaksiyonunun erken evrelerinin protein yüzey hidrofiliğini artırarak bu etkiyi desteklemiş olabileceği de göz ardı edilmemelidir. Ancak bu katkının doğrudan ortaya konabilmesi için yalnızca çözünürlük verileri yeterli değildir. Bu nedenle, Maillard reaksiyonunun olası rolünü doğrulamak amacıyla kahverengileşme indeksi, furosin oluşumu veya serbest amino grup miktarı (örneğin OPA yöntemi ile) gibi ilave analizlerin yapılması, mekanizmanın daha net anlaşılmasına katkı sağlayacaktır (Martins vd., 2000).

Tablo 3'te aynı pH değerlerinde Duncan çoklu karşılaştırma testi sonucunda gözlenen istatistiksel ayrışmalar ($p < 0.05$), protein izolatlarının çözünürlük davranışının yalnızca ortam pH'ına bağlı olmadığını, aynı pH koşullarında dahi örnekler arasında farklı yapısal ve fonksiyonel mekanizmaların baskın hale gelebildiğini göstermektedir. Başka bir ifadeyle, aynı pH ortamında farklı örneklerin farklı çözünürlük seviyeleri sergilemesi, proteinlerin işlem geçmişine bağlı olarak değişen yapısal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Bu farklılıklar; protein fraksiyon kompozisyonu (örneğin globulin/albumin oranı), denatürasyon derecesi, hidrofobik yüzeylerin erişilebilirliği, sülfhidril/disülfid (SH/SS) dengesi ve buna bağlı çapraz bağlanma potansiyeli ile matriste bulunan mineral, şeker veya lipid gibi bileşenlerin etkilerinin birleşimi sonucu ortaya çıkabilmektedir.

Dolayısıyla, Tablo 3'te belirli bir pH değerinde “en yüksek” ya da “en düşük” çözünürlüğe sahip örneğin pH değıştikçe yer değıştirmesi beklenen bir durumdur ve bu, çözünürlüğün tek başına pH tarafından değil, proteinlerin yapısal modifikasyon derecesi tarafından da yönlendirildiğini göstermektedir. Bu bağlamda Şekil 6, yalnızca belirli bir pH noktasındaki farkları değil, örneklerin tüm pH aralığı boyunca sergiledikleri çözünürlük profillerini ortaya koyarak hangi izolatın hangi pH bölgesinde daha avantajlı olduğunu görsel olarak değerlendirme imkânı sunmaktadır. Bu durum, protein izolatlarının fonksiyonel kullanım alanlarının belirlenmesinde pH ile birlikte işlem geçmişinin de dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

Çözünürlük, proteinlerin emülsiyon oluşturma kapasitesi, köpük stabilitesi, içecek sistemlerinde sedimentasyonun önlenmesi ve genel dispersiyon stabilitesi açısından kritik bir fonksiyonel özelliktir (Damodaran, 2017). Bu nedenle, Tablo 3 ve Şekil 6 birlikte değerlendirildiğinde elde edilen çözünürlük profilleri yalnızca yapısal bir gözlem değil, aynı zamanda uygulamaya yönelik önemli çıkarımlar sunmaktadır. Şekil 6'te özellikle alkali pH koşullarına doğru çözünürlüğün artması, bu pH aralığında çalışan veya alkali işleme maruz kalan sistemlerde bazı izolatların daha avantajlı olabileceğini göstermektedir. Özellikle pH 10–12 aralığında yüksek çözünürlük sergileyen izolatlar,

yüksek dispersiyon stabilitesi gerektiren içecek sistemleri, protein bazlı emülsiyonlar veya termal işlem sonrası yeniden çözündürülmesi gereken ürünlerde daha uygun performans gösterebilir.

Buna karşılık pH 4 civarında gözlenen belirgin çözünürlük düşüşü, izoelektrik bölgeye yakın sistemlerde proteinlerin agregasyon eğiliminin arttığını ve bu nedenle asidik ürünlerde (örneğin fermente içecekler veya pH 4–5 aralığında formüle edilen sistemler) çözünürlük sorunlarının ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Bu tür uygulamalarda, çözünürlüğü iyileştirmek amacıyla iyonik güç düzenlemesi, stabilizatör kullanımı, kontrollü ısı işlem veya hedef pH'ın izoelektrik bölgeden uzaklaştırılması gibi formülasyon stratejilerinin gerekli olabileceği anlaşılmaktadır. Dolayısıyla, protein izolatlarının endüstriyel kullanımında yalnızca hedef ürünün pH değeri değil, aynı zamanda izolatın çözünürlük profilinin tüm pH aralığında değerlendirilmesi önem taşımaktadır. Bu bağlamda Tablo 3, belirli pH koşullarındaki nicel farkları ortaya koyarken; Şekil 6, izolatların farklı pH ortamlarında sergiledikleri davranışın bütüncül bir profilini sunarak uygun izolat seçimi ve proses tasarımı açısından tamamlayıcı bir araç niteliği taşımaktadır.

3.3. Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özellikleri

3.3.1. Su Tutma Kapasitesi

Su tutma kapasitesi bakımından örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$) ve sonuçlar Tablo 4 ile Şekil 7'de verilmiştir. FD ve SD örneklerinin su tutma kapasitesi (STK; g su/g protein) sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, ölçülen STK'nin yalnızca protein miktarına değil; proteinlerin su ile etkileşime girme kapasitesine, açığa çıkan hidrofilik ve hidrofobik yüzey dengesine, agregasyon derecesine ve işlemle şekillenen mikroyapıya bağlı olarak değiştiği görülmektedir. Bu çalışmada kullanılan yöntem, santrifüj sonrası sedimente tutunan su miktarının belirlenmesine dayanan klasik yaklaşımla uyumludur ve STK'nin tüp ağırlıklarından hesaplanmasına dayanmaktadır (Beuchat, 1977). Elde edilen sonuçlara göre SD grupları genel olarak FD'ye kıyasla daha yüksek ve daha istikrarlı STK değerleri sergilemiştir. Bu durum, işlem koşullarının protein yapısında meydana getirdiği kısmi konformasyonel değişimlerin su ile etkileşebilen polar grupların erişilebilirliğini artırmış olabileceğini düşündürmektedir (Damodaran, 2017).

Yüksek püskürtmeli kurutma sıcaklıkları, protein zincirlerinde sınırlı açılmalara neden olarak su ile etkileşime girebilecek polar grupların kısmen açığa çıkmasını

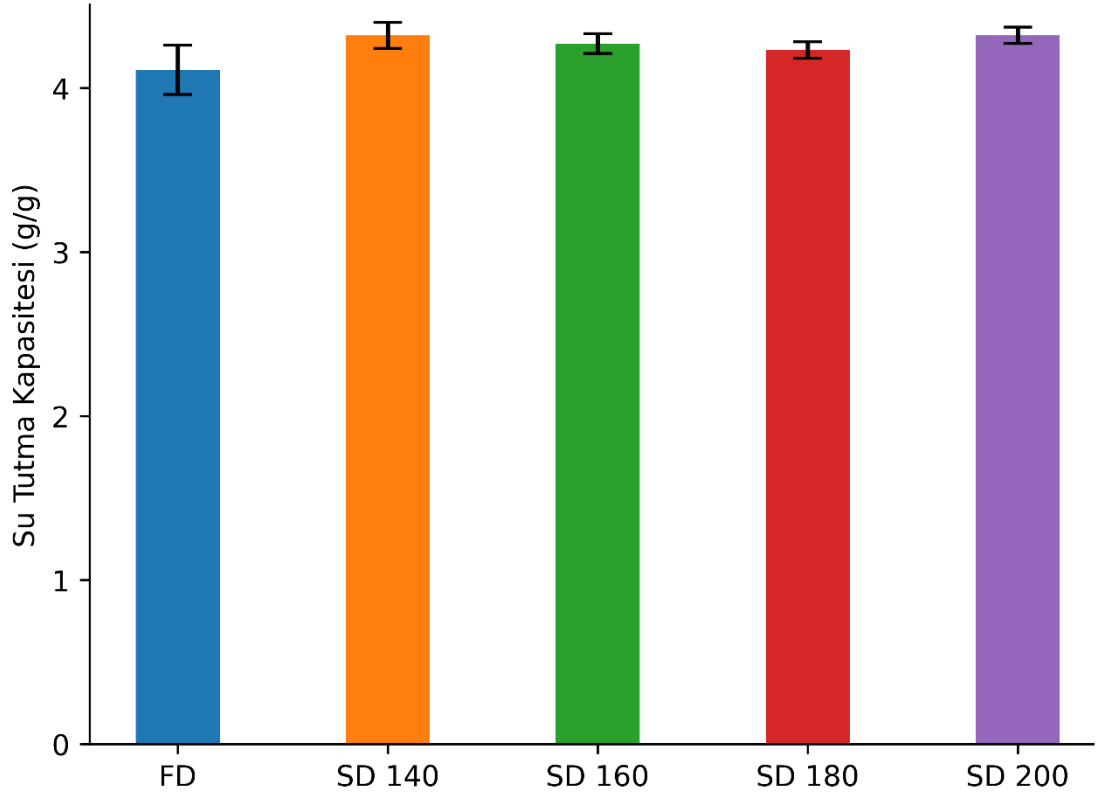
sağlamıştır. Bu etki, STK değerlerinde hafif artışlara yol açmıştır. Ancak aşırı sıcaklıklarda proteinlerin daha kompakt agregatlar oluşturması, su bağlanmasını sınırlayabileceğinden, sıcaklık-STK ilişkisi doğrusal bir artış göstermemiştir. Kurutma veya benzeri işlemler sırasında meydana gelen kısmi denatürasyon, protein zincirlerinin açılmasına ve daha önce molekül iç kısmında bulunan hidrofilik grupların su fazına maruz kalmasına yol açabilmektedir. Bu yapısal açılma, protein-su etkileşimlerini güçlendirerek STK'nin artmasına katkı sağlayabilir.

Tablo 4. Protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri

Örnek	Su Tutma Kapasitesi (g/g)	Yağ Tutma Kapasitesi (g/g)	Köpük Kapasitesi (%)	Köpük Stabilitesi (%)	Emülsiyon stabilite indeksi (ESI)	Sindirilebilirlik (%)
FD	4.11 ± 0.15 ^a	1.92 ± 0.04 ^b	19.50 ± 0.50 ^c	16.72 ± 0.61 ^a	32.22 ± 4.64 ^b	78.89 ± 3.59 ^a
SD 140	4.32 ± 0.08 ^a	2.20 ± 0.07 ^a	19.37 ± 0.44 ^c	11.90 ± 0.38 ^c	23.18 ± 1.02 ^c	77.14 ± 2.07 ^a
SD 160	4.27 ± 0.06 ^a	2.24 ± 0.04 ^a	19.58 ± 0.38 ^c	16.52 ± 0.48 ^a	35.13 ± 11.59 ^b	77.43 ± 2.34 ^a
SD 180	4.23 ± 0.05 ^a	2.41 ± 0.07 ^a	20.30 ± 0.65 ^b	16.75 ± 0.46 ^a	38.29 ± 12.40 ^{ab}	77.98 ± 2.07 ^a
SD 200	4.32 ± 0.05 ^a	2.89 ± 1.14 ^a	23.17 ± 1.04 ^a	19.35 ± 0.26 ^b	40.80 ± 2.00 ^a	78.99 ± 3.59 ^a

Veriler ortalama ± standart sapma (n = 3) olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı üst simge harflerle gösterilen ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır (p < 0.05).

Bununla birlikte, denatürasyon derecesinin artması hidrofobik bölgelerin de açığa çıkmasına neden olabilmekte ve bu durum protein–protein etkileşimlerini artırarak daha kompakt agregatların oluşumuna yol açabilir. Böyle bir durumda su tutma kapasitesi azalabilmektedir (Tang ve Ma, 2009). Literatürde farklı işlem koşullarının STK üzerindeki etkilerinin yönünün değişebildiği ve bunun proteinlerin yeniden düzenlenme biçimiyle ilişkili olduğu bildirilmiştir (Wu vd., 2009).



Şekil 7. Protein izolatlarının su tutma kapasiteleri

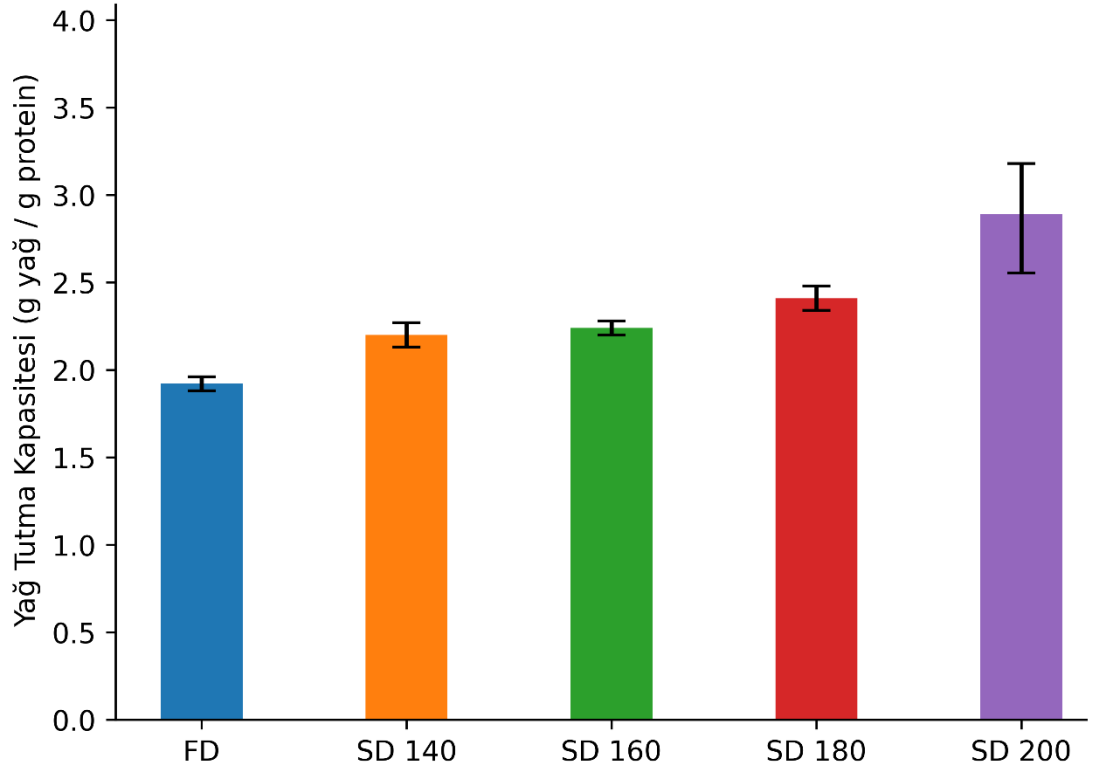
Söz konusu çalışmada SD örneklerinde STK'nin yüksek kalması, işlem şiddetinin suyu dışlayan yoğun bir agregasyon yapısı oluşturmadığını; aksine, hidrofilik grupların erişilebilirliğini artıran bir yapısal yeniden düzenlenmeye yol açmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum aynı zamanda protein matrisinin gözenekli yapısının korunmuş veya geliştirilmiş olabileceğine işaret etmektedir. Proteinlerin yalnızca kimyasal bileşimleri değil, aynı zamanda fiziksel organizasyonları da su tutma davranışını belirlemektedir. Daha açık ve gevşek ağ yapıları suyun fiziksel olarak tutulmasını kolaylaştırırken, daha kompakt yapılar suyun tutulmasını sınırlandırabilir (Kinsella, 1976).

SD 140 ve SD 200 örnekleri en yüksek STK değerlerini sergileyerek üst grupta yer alırken, SD 160 ve SD 180 örnekleri bu gruba yakın ancak ara grupta konumlanmıştır; FD örneği ise daha düşük su tutma kapasitesi ile alt grupta yer almıştır. Bu durum, işlem uygulanmış örneklerde protein yapısında meydana gelen kısmi konformasyonel değişimlerin su bağlama kapasitesini artırdığını göstermektedir. Duncan testinde gözlenen bu ayrışma, STK'nin yalnızca protein miktarına bağlı olmadığını, aynı zamanda işlem geçmişine bağlı olarak değişen yapısal özelliklerin de belirleyici olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle SD 140 ve SD 200 örneklerinde daha yüksek STK değerlerinin gözlenmesi, bu örneklerde hidrofilik grupların erişilebilirliğinin artmış olabileceğini veya protein matrisinin suyu fiziksel olarak tutmaya daha elverişli bir yapıya sahip olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık FD örneğinin daha düşük STK göstermesi, daha kompakt bir protein yapısına sahip olabileceğini ve su ile etkileşime giren yüzey alanının sınırlı kalmış olabileceğini işaret etmektedir. Bu bulgular, işlem şiddetinin proteinlerin fonksiyonel özelliklerini modifiye ederek su tutma kapasitesini iyileştirebileceğini ortaya koymaktadır.

3.3.2. Yağ Tutma Kapasitesi

Yağ tutma kapasitesi, proteinlerin hidrofobik amino asit yan zincirleri aracılığıyla lipidlerle etkileşime girme yeteneğini yansıtan temel bir fonksiyonel özelliktir ve protein molekülünün yüzeyinde erişilebilir hidrofobik bölgelerin miktarı ile yakından ilişkilidir. Bu çalışmada yağ tutma kapasitesinin, uygulanan kurutma yöntemine ve işlem sıcaklığına bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı şekilde değiştiği görülmektedir (Tablo 4; Şekil 8). Duncan çoklu karşılaştırma testine göre SD 180 ve özellikle SD 200 örnekleri daha yüksek yağ tutma kapasitesi sergileyerek üst grupta yer alırken, FD örneği en düşük değerlerle alt grupta konumlanmıştır ($p < 0.05$).

FD örneğinde gözlenen düşük yağ tutma kapasitesi, dondurarak kurutma işleminin proteinlerin doğal ve daha kompakt konformasyonunu büyük ölçüde koruması ile açıklanabilir. Bu durumda hidrofobik amino asit yan zincirlerinin önemli bir kısmı protein iç yapısında gömülü kalmakta ve yağ fazı ile etkileşime girebilen yüzey alanı sınırlı olmaktadır. Benzer şekilde, yer fıstığı protein konsantreleri üzerinde yapılan çalışmalarda, daha az modifiye edilmiş proteinlerin yağ bağlama kapasitesinin, işlemle yeniden yapılandırılmış proteinlere kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Wu vd., 2009).



Şekil 8. Protein izolatlarının su tutma kapasiteleri

Artan giriş hava sıcaklığı, proteinlerin hidrofobik bölgelerinin yüzeyde daha erişilebilir hale gelmesine neden olmuş ve bu durum özellikle SD 180 ve SD 200 örneklerinde yağ tutma kapasitesini belirgin şekilde artırmıştır. YTK'daki bu artış, proteinlerin yağ fazı ile daha güçlü hidrofobik etkileşimler kurabilmesiyle açıklanmakta olup, bu özellik et ürünleri ve emülsiyon bazlı sistemler açısından teknolojik avantaj sağlamaktadır. Püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örneklerinde ise artan işlem sıcaklığına bağlı olarak protein zincirlerinin kısmen açılması ve hidrofobik bölgelerin yüzeye taşınması, protein-lipit etkileşimlerini güçlendirerek yağ tutma kapasitesinin artmasına yol açmıştır (Tablo 4; Şekil 8). Wu vd. (2009), proteinlerin ısıl veya kimyasal işlemlerle yeniden düzenlenmesi sonucunda hidrofobik yüzey alanının artmasının, yağ bağlama kapasitesini belirgin şekilde iyileştirdiğini rapor etmiştir. Bu mekanizma, SD 180 ve SD 200 örneklerinde gözlenen yüksek OHC değerlerini açıklamaktadır.

Bununla birlikte, SD 200 örneğinde standart sapmanın görece yüksek olması, yağ tutma kapasitesinin örnek içinde heterojen bir yapıdan veya proteinlerin farklı denatürasyon ve yeniden agregasyon derecelerine sahip fraksiyonlarından kaynaklanabileceğine işaret etmektedir. Literatürde, yüksek işlem şiddetlerinde hidrofobik etkileşimlerin artmasına karşın aşırı agregasyonun protein yapısında düzensizliğe yol açabileceği ve bu durumun fonksiyonel özelliklerde varyasyonu

artırabileceği belirtilmektedir (Wu vd., 2009; Zayas, 1997). Bu durum, Şekil 8’de SD 200 örneği için gözlenen geniş hata çubukları ile uyumludur.

Tablo 4 ve Şekil 8 birlikte değerlendirildiğinde, yağ tutma kapasitesinin pH veya protein miktarından ziyade proteinlerin işlem geçmişine bağlı olarak değişen yapısal özellikleri tarafından kontrol edildiği anlaşılmaktadır. Püskürtmeli kurutma ile elde edilen ve özellikle yüksek sıcaklıklarda işlenen izolatlar, artan hidrofobik yüzey erişilebilirliği sayesinde yağ fazı ile daha güçlü etkileşimler kurabilmekte ve bu da yağ tutma kapasitesinin artmasına neden olmaktadır. Bu nedenle SD 180 ve SD 200 örnekleri, et ürünleri, emülsiyonlu soslar ve yağ bağlama kapasitesinin kritik olduğu gıda sistemleri için daha uygun adaylar olarak öne çıkmaktadır.

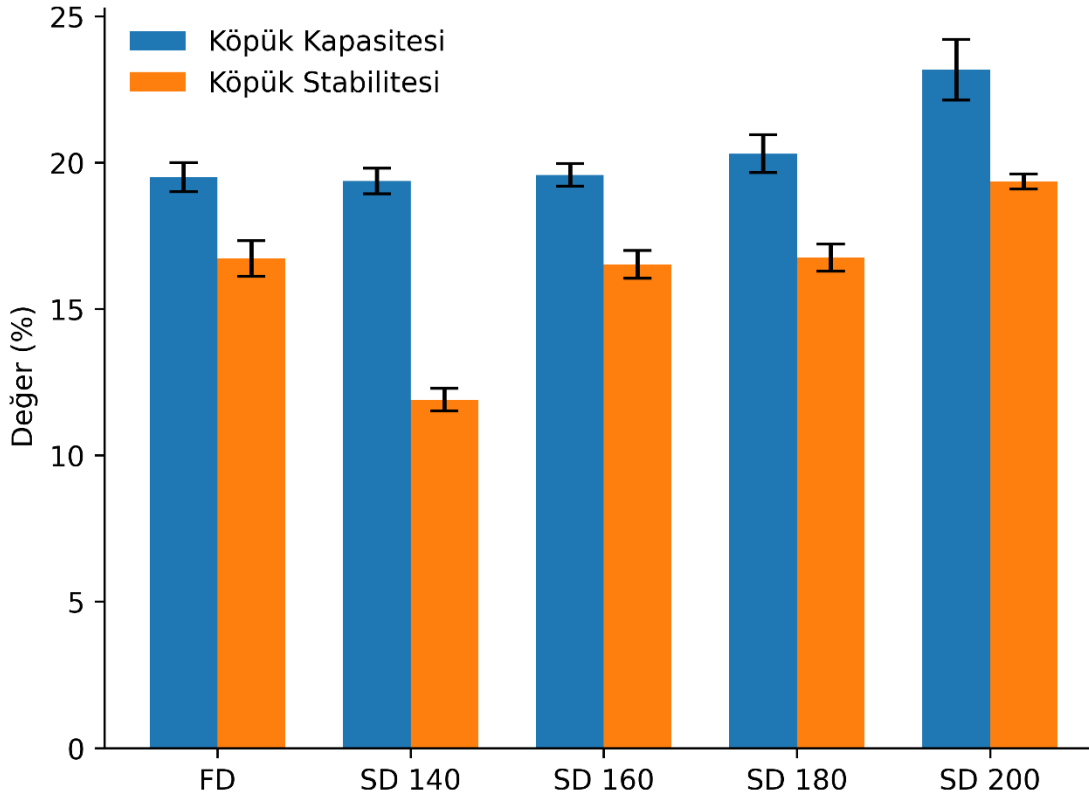
3.3.3. Köpük Kapasitesi ve Stabilitesi

Köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi, proteinlerin hava–su ara yüzeyinde fonksiyonel performansını belirleyen iki temel parametre olup, özellikle köpüklü içecekler, aerasyon gerektiren ürünler ve bazı fırıncılık uygulamalarında kritik öneme sahiptir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, köpük özelliklerinin kurutma yöntemi ve işlem sıcaklığına bağlı olarak anlamlı şekilde değiştiğini göstermektedir (Tablo 4; Şekil 9). Köpük kapasitesi, proteinlerin hava–su ara yüzeyine hızlı adsorpsiyon yeteneği ve ara yüzey gerilimini düşürme kabiliyeti ile ilişkiliyken; köpük stabilitesi, ara yüzeyde oluşan protein filminin elastikiyeti, kohezyonu ve drenaja karşı direnci ile ilişkilidir (Kinsella, 1976; Damodaran, 2017).

Şekil 9’da görüldüğü üzere SD 200 örneği, hem köpük kapasitesi hem de köpük stabilitesi açısından en yüksek değerlere sahip olup, Duncan çoklu karşılaştırma testine göre üst grupta yer almaktadır ($p < 0.05$). Bu durum, yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutmanın protein yapısında kısmi denatürasyona yol açarak hidrofobik bölgelerin yüzeye taşınmasını ve proteinlerin hava–su ara yüzeyine daha etkin şekilde tutunmasını sağladığını düşündürmektedir. Literatürde, bitkisel proteinlerde artan yüzey hidrofobikliğinin köpük kapasitesini artırdığı, çünkü bu bölgelerin hava fazı ile etkileşimi kolaylaştırdığı bildirilmektedir (Damodaran, 2017).

Buna karşılık FD ve SD 140 örneklerinin daha düşük köpük kapasitesi sergilemesi, bu örneklerde proteinlerin daha kompakt veya daha az modifiye edilmiş konformasyonlarını koruduğunu düşündürmektedir. Bu tür yapılar, hava–su ara yüzeyine adsorbe olabilse dahi ara yüzeyde yeterince hızlı yayılma ve yeniden düzenlenme gösteremeyebilir. Benzer şekilde, Wu vd. (2009) tarafından yer fıstığı proteinleri üzerinde yapılan çalışmada, daha az işlem görmüş protein fraksiyonlarının köpük oluşturma

kapasitesinin, yapısal olarak yeniden düzenlenmiş proteinlere kıyasla daha düşük olduğu rapor edilmiştir (Wu vd., 2009).



Şekil 9. Protein izolatlarının köpük kapasiteleri ve stabilitesi

Köpük stabilitesi sonuçları, köpük kapasitesi ile her zaman paralel bir eğilim göstermemektedir (Şekil 9). Örneğin SD 140 örneği, düşük köpük stabilitesi ile dikkat çekmektedir. Bu durum, ara yüzeyde oluşan protein filminin mekanik olarak zayıf ve drenaja karşı daha az dirençli olduğunu düşündürmektedir. Köpük stabilitesinin yalnızca protein miktarına değil, protein-protein etkileşimleriyle oluşan ara yüzey ağının dayanıklılığına bağlı olduğu bilinmektedir (Kinsella, 1976). Yetersiz denatürasyon veya sınırlı yeniden düzenlenme, stabil fakat elastik olmayan ara yüzey filmlerine yol açabilir.

SD 160 ve SD 180 örneklerinin ara grupta yer alması, köpük kapasitesi ile köpük stabilitesi arasında bir denge oluştuğunu göstermektedir. Bu örneklerde proteinlerin ara yüzeyde yeterli adsorpsiyon gösterdiği, ancak aşırı agregasyonun oluşmadığı bir yapı söz konusu olabilir. Wu vd. (2009), orta şiddette uygulanan işlemlerin proteinlerde hem yeterli yüzey aktivitesi hem de uygun film dayanıklılığı sağlayarak daha dengeli köpük özellikleri oluşturabileceğini bildirmiştir. Bu durum, SD 160 ve SD 180 örneklerinin köpük özellikleri ile uyumludur.

Uygulama açısından değerlendirildiğinde, yüksek köpük kapasitesi ve stabilitesi sergileyen SD 200 örneği; köpüklü içecekler, bitkisel bazlı cappuccino köpükleri, aerasyon gerektiren tatlılar ve bazı fırıncılık ürünleri için daha uygun bir aday olarak öne çıkmaktadır. Buna karşılık FD ve SD 140 örnekleri, köpük stabilitesinin kritik olmadığı veya köpüğün hızlı sönmesinin tercih edildiği sistemlerde (örneğin bazı emülsiyonlu içecekler veya protein takviyeleri) daha uygun olabilir. Bu bulgular, protein izolatlarının yalnızca besinsel değil, aynı zamanda hedef ürünün fonksiyonel gereksinimlerine göre seçilmesi gerektiğini göstermektedir.

Köpük kapasitesi, püskürtmeli kurutma sıcaklığından sınırlı düzeyde etkilenmiştir. Bunun temel nedeni, köpük oluşumunun proteinlerin hızlı adsorpsiyon kabiliyetine bağlı olması ve bu özelliğin aşırı denatürasyondan olumsuz etkilenebilmesidir. Orta düzey sıcaklıklarda (140–160 °C) proteinlerin yüzey aktifliği büyük ölçüde korunmuştur. Köpük stabilitesi açısından, daha yüksek kurutma sıcaklıklarında elde edilen örneklerin daha kararlı köpük yapıları oluşturduğu gözlenmiştir. Bu durum, proteinlerin hava–su arayüzeyinde daha viskoelastik ve dayanıklı film tabakaları oluşturabilmesiyle ilişkilendirilmiştir.

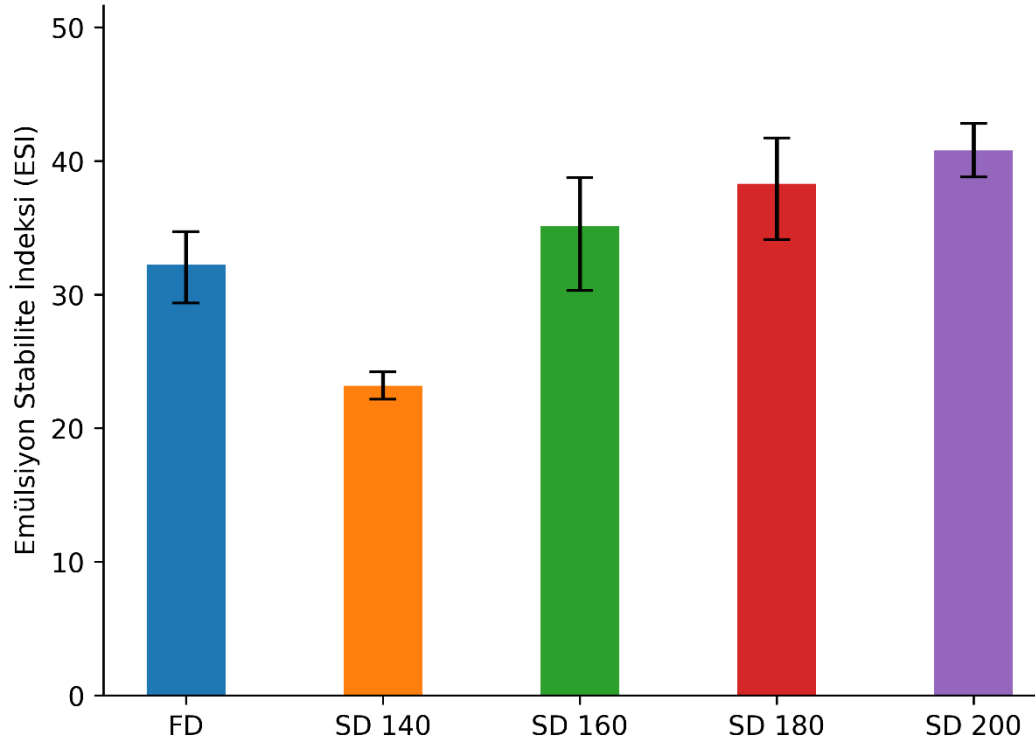
Sonuç olarak, Tablo 4 ve Şekil 9 birlikte değerlendirildiğinde, köpük kapasitesi ve stabilitesinin proteinlerin işlem geçmişine son derece duyarlı olduğu ve bu özelliklerin pH, denatürasyon derecesi, yüzey hidrofobikliği ve protein–protein etkileşimleri arasındaki denge tarafından kontrol edildiği anlaşılmaktadır. Bu mekanizma temelli yaklaşım, farklı kurutma koşulları altında elde edilen protein izolatlarının hangi uygulamalarda daha avantajlı olabileceğinin öngörülmesine olanak sağlamaktadır.

3.3.4. Emülsiyon Stabilite İndeksi (ESI)

Emülsiyon stabilite indeksi (ESI), proteinlerin yağ–su ara yüzeyinde oluşturduğu filmin zamanla koalesans, flokülasyon ve krema oluşumuna karşı direncini yansıtan kritik bir fonksiyonel parametredir. Bu çalışmada ESI değerlerinin örnekler arasında anlamlı farklılıklar gösterdiği ve bu farklılıkların kurutma yöntemi ile işlem şiddetine bağlı yapısal değişimlerle ilişkili olduğu görülmektedir (Tablo 4; Şekil 10). Duncan çoklu karşılaştırma testine göre SD 200 ve SD 180 örnekleri daha yüksek ESI değerleri sergileyerek üst grupta yer alırken, SD 140 örneği en düşük stabiliteyi göstermiştir ($p < 0.05$).

FD örneğinde orta düzeyde ESI değerlerinin gözlenmesi, dondurarak kurutmanın proteinlerin doğal konformasyonunu büyük ölçüde koruması ile açıklanabilir. Bu tür yapılarda proteinler ara yüzeye adsorbe olabilmekle birlikte, ara yüzeyde yeterince kalın

ve elastik bir film oluşturma kapasitesi sınırlı kalabilmektedir. Buna karşılık püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örneklerinde, özellikle yüksek sıcaklıklarda (SD 180 ve SD 200), protein zincirlerinin kısmi denatürasyona uğraması ara yüzey aktivitesini artırmakta; hidrofobik bölgelerin yağ fazına, hidrofilik bölgelerin ise su fazına yönelmesiyle daha stabil bir ara yüzey filmi oluşmaktadır (Damodaran, 2017).



Şekil 10. Protein izolatlarının emülsiyon stabilite indeksi (ESI)

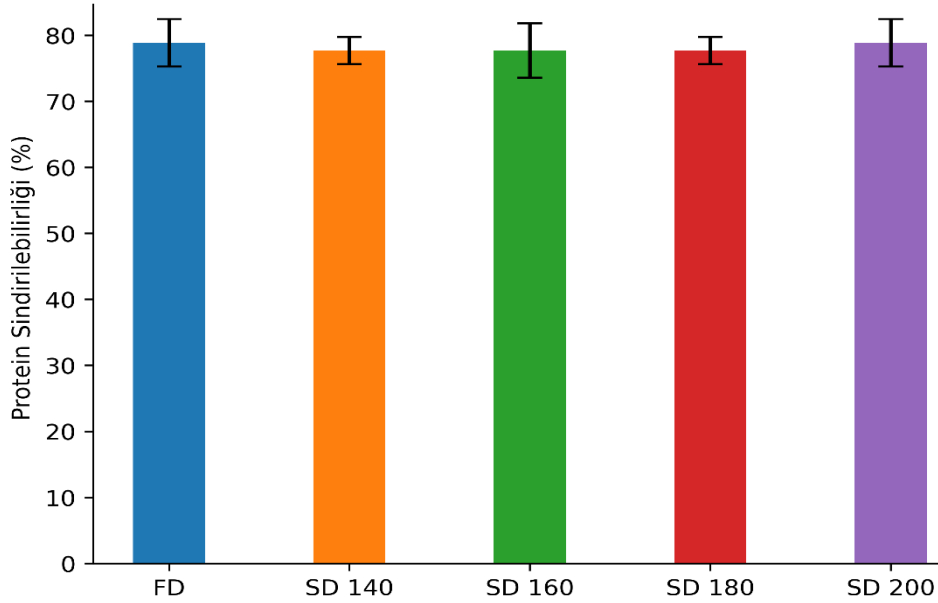
Literatürde, emülsiyon stabilitesinin yalnızca ara yüzeye adsorpsiyon hızına değil, aynı zamanda ara yüzeyde protein-protein etkileşimleriyle oluşan ağ yapısının mekanik dayanıklılığına bağlı olduğu vurgulanmaktadır (Kinsella, 1976). Wu vd. (2009), bitkisel proteinlerde işleme indüklenen kısmi denatürasyonun emülsiyon stabilitesini artırabildiğini; ancak aşırı agregasyonun ara yüzey filmini heterojenleştirerek stabiliteyi sınırlayabileceğini bildirmiştir. Bu bağlamda SD 200 örneğinde yüksek ESI değerleri ile birlikte nispeten yüksek varyasyonun gözlenmesi, güçlü ara yüzey etkileşimlerinin yanında yapısal heterojenliğin de söz konusu olabileceğini düşündürmektedir.

Püskürtmeli kurutma sıcaklığındaki artışın en belirgin etkilerinden biri emülsiyon stabilitesi üzerinde görülmüştür. Yüksek sıcaklıklarda kurutulan örnekler, yağ-su arayüzeyinde daha güçlü protein tabakaları oluşturarak koalesans ve krema oluşumunu geciktirmiştir. Bu durum, proteinlerin hem yüzey aktifliğinin hem de arayüzey viskoelastik özelliklerinin iyileştiğini göstermektedir. Uygulama açısından

değerlendirildiğinde, yüksek ESI değerleri sergileyen SD 180 ve SD 200 örnekleri; emülsiyonlu soslar, bitkisel sütler, içecek emülsiyonları ve yağ fazının uzun süre stabil tutulmasının gerekli olduğu sistemler için daha uygun adaylar olarak öne çıkmaktadır. Buna karşılık SD 140 örneğinin düşük ESI değeri, bu izolatin uzun süreli emülsiyon stabilitesinin kritik olmadığı veya ilave stabilizatörlerle desteklenen sistemlerde kullanılmasının daha uygun olabileceğini düşündürmektedir.

3.4. Protein İzolatlarının Sindirilebilirliği (%)

Protein sindirilebilirliği, proteinlerin gastrointestinal enzimlere (özellikle pepsin ve pankreatik proteazlar) karşı duyarlılığını yansıtan ve besinsel kalite açısından temel bir parametredir. Bu çalışmada protein izolatlarının sindirilebilirlik değerlerinin yaklaşık %77–79 aralığında olduğu ve örnekler arasında Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı görülmektedir ($p > 0.05$) (Tablo 4; Şekil 11). Bu durum, uygulanan farklı kurutma yöntemleri ve işlem sıcaklıklarına rağmen proteinlerin temel besinsel fonksiyonunun büyük ölçüde korunduğunu göstermektedir.



Şekil 11. Protein izolatlarının Sindirilebilirliği (%)

Dondurarak kurutulan FD örneğinde sindirilebilirliğin yüksek seviyede korunması, bu yöntemin proteinlerin doğal konformasyonunu ve enzimatik sindirime açık peptit bağlarını büyük ölçüde muhafaza etmesi ile açıklanabilir. Dondurarak kurutma sırasında düşük sıcaklık ve basınç koşulları, proteinlerde ileri düzey denatürasyon veya kovalent çapraz bağlanmaları sınırlamakta ve bu durum proteaz erişilebilirliğini olumsuz yönde

etkilememektedir (Damodaran, 2017). Benzer şekilde püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örneklerinde de sindirilebilirliğin FD ile karşılaştırılabilir düzeylerde kalması, 140–200 °C giriş hava sıcaklıklarının proteinlerde sindirimi ciddi biçimde sınırlayan yapısal hasarlara yol açmadığını düşündürmektedir.

Literatürde, bitkisel proteinlerde ısıl işlemin sindirilebilirlik üzerindeki etkisinin çoğu zaman iki yönlü olduğu bildirilmektedir. Orta düzey ısıl işlem, proteinlerin kısmen denatüre olmasına ve proteazların erişebileceği bölgelerin açığa çıkmasına neden olarak sindirilebilirliği artırabilirken; aşırı ısıl işlem Maillard reaksiyonları, disülfid aracılı çapraz bağlanmalar ve agregasyon yoluyla sindirilebilirliği azaltabilmektedir (Damodaran, 2017). Bu çalışmada SD 180 ve SD 200 örneklerinde sindirilebilirliğin FD'ye benzer düzeylerde kalması, olası kısmi denatürasyonun proteaz erişimini artırdığı, ancak ileri düzey çapraz bağlanmaların veya sindirimi engelleyici yapısal değişimlerin baskın hale gelmediğini göstermektedir.

Wu vd. (2009), yer fıstığı protein konsantreleri üzerinde yaptıkları çalışmada, farklı ekstraksiyon ve işlem yöntemlerinin proteinlerin fonksiyonel özelliklerini belirgin şekilde etkileyebildiğini, ancak sindirilebilirliğin çoğu durumda daha sınırlı değişim gösterdiğini bildirmiştir. Bu bulgu, sizin çalışmanızda sindirilebilirliğin örnekler arasında görece sabit kalması ile uyumludur ve sindirilebilirliğin fonksiyonel özelliklere kıyasla işlem koşullarına daha dirençli bir parametre olabileceğini düşündürmektedir.

Uygulama açısından değerlendirildiğinde, tüm izolatların benzer ve yüksek sindirilebilirlik düzeyleri sergilemesi, bu proteinlerin besinsel açıdan karşılaştırılabilir kalitede olduğunu göstermektedir. Bu durum, özellikle bitkisel bazlı protein içecekleri, sporcu beslenme ürünleri ve fonksiyonel gıdalar gibi hem teknolojik fonksiyonellik hem de besinsel kalite gerektiren uygulamalarda önemli bir avantaj sağlamaktadır. Diğer bir ifadeyle, püskürtmeli kurutma ile fonksiyonel özellikleri iyileştirilen (örneğin köpük ve emülsiyon stabilitesi artan) SD 180 ve SD 200 örnekleri, sindirilebilirlik açısından bir dezavantaj oluşturmada teknolojik performans sunabilmektedir.

Sonuç olarak, Tablo 4 ve Şekil 11 birlikte değerlendirildiğinde, protein izolatlarının sindirilebilirliğinin uygulanan kurutma yöntemlerinden büyük ölçüde bağımsız olduğu ve yaklaşık %78 civarında korunduğu görülmektedir. Bu bulgu, fonksiyonel özelliklerin optimize edilmesi amacıyla seçilen işlem koşullarının, proteinlerin besinsel kalitesini olumsuz yönde etkilemeden uygulanabileceğini ortaya koymaktadır. Böylece, yüksek fonksiyonel performans ile yüksek sindirilebilirliğin aynı izolatlarda bir arada sağlanabileceği gösterilmiştir.

pH'a bağlı çözünürlük profilleri, proteinlerin net yüzey yükü ve izoelektrik nokta çevresindeki davranışları ile doğrudan ilişkilidir. Alkali pH koşullarında artan elektrostatik itme ve hidrasyon, özellikle SD 180 ve SD 200 örneklerinde yüksek çözünürlükle sonuçlanmakta; bu durum içecek sistemleri ve homojen dispersiyon gerektiren ürünler için avantaj sağlamaktadır. Buna karşılık pI'ye yakın pH aralıklarında çözünürlüğün düşmesi, bu izolatların asidik sistemlerde sınırlı performans gösterebileceğini düşündürmektedir (Damodaran, 2017; Kinsella, 1976).

Su tutma kapasitesi, proteinlerin hidrofilik gruplarının erişilebilirliği ve matris içinde suyu fiziksel olarak bağlayabilme yeteneği ile ilişkilidir. Tüm örneklerde yüksek ve birbirine yakın su tutma kapasitesi değerlerinin gözlenmesi, bu izolatların jel yapılar, et analogları ve nem tutmanın kritik olduğu ürünlerde kullanılabilirliğini desteklemektedir. Yağ tutma kapasitesinde ise püskürtmeli kurutma sıcaklığının artmasıyla birlikte belirgin bir artış eğilimi görülmüş; bu durum, hidrofobik bölgelerin yüzeye taşınması ve protein–lipit etkileşimlerinin güçlenmesiyle açıklanmıştır. Özellikle SD 180 ve SD 200 örnekleri, yağ fazı içeren ürünlerde daha yüksek bağlama kapasitesi ile öne çıkmaktadır (Wu vd., 2009; Damodaran, 2017).

Köpük özellikleri değerlendirildiğinde, köpük kapasitesi ile köpük stabilitesinin her zaman paralel davranmadığı açıkça görülmektedir. SD 200 örneğinin hem yüksek köpük kapasitesi hem de yüksek stabilite sergilemesi, bu izolatın hava–su ara yüzeyinde hızlı adsorpsiyon ve dayanıklı ara yüzey filmi oluşturma yeteneğine sahip olduğunu göstermektedir. Buna karşılık daha düşük işlem sıcaklıklarında elde edilen örneklerde köpük stabilitesinin sınırlı kalması, ara yüzeyde oluşan protein ağıının mekanik olarak zayıf olabileceğini düşündürmektedir. Bu farklılıklar, köpüklü içecekler, aerasyon gerektiren tatlılar ve fırıncılık ürünleri için uygun izolat seçiminde belirleyici rol oynamaktadır (Kinsella, 1976).

Emülsiyon stabilite indeksi sonuçları, izolatların yağ–su ara yüzeyinde uzun süreli stabilite sağlayabilme potansiyelini ortaya koymaktadır. SD 180 ve SD 200 örneklerinde yüksek ESI değerlerinin gözlenmesi, bu izolatların emülsiyonlu içecekler, soslar ve yağ fazının stabil tutulmasının kritik olduğu sistemler için daha uygun olduğunu göstermektedir. Bu durum, kısmi denatürasyon ile artan ara yüzey aktivitesi ve protein–protein etkileşimleri sayesinde daha dayanıklı ara yüzey filmlerinin oluşmasıyla ilişkilidir (Damodaran, 2017).

Sindirilebilirlik açısından ise tüm izolatların benzer ve yüksek değerler sergilemesi, fonksiyonel özelliklerde gözlenen farklılıkların besinsel kaliteyi olumsuz yönde etkilemediğini göstermektedir. Bu bulgu, özellikle yüksek fonksiyonel performans

gerektiren uygulamalarda (örneğin emülsiyon veya köpük bazlı ürünler) SD 180 ve SD 200 örneklerinin tercih edilmesinin, sindirilebilirlik açısından bir dezavantaj oluşturmadığını ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, fonksiyonel özellikler için oluşturulan bu uygulama–mekanizma matrisi, protein izolatlarının hedef gıda sistemine göre rasyonel biçimde seçilmesi gerektiğini göstermektedir. FD örneği daha sınırlı yapısal modifikasyon nedeniyle genel amaçlı veya besinsel odaklı uygulamalar için uygunken; SD 140 ve SD 160 örnekleri dengeli fonksiyonel özellikleri ile orta düzey performans gerektiren sistemlerde tercih edilebilir. Buna karşılık SD 180 ve SD 200 örnekleri, yüksek çözünürlük, güçlü köpük ve emülsiyon stabilitesi ile ileri fonksiyonellik gerektiren gıda uygulamaları için en uygun adaylar olarak öne çıkmaktadır. Bu bütüncül yaklaşım, bitkisel protein izolatlarının yalnızca tekil parametreler üzerinden değil, fonksiyonel–mekanistik etkileşimler temelinde değerlendirilmesinin önemini vurgulamaktadır.

3.5. Protein İzolatlarının Renk Değerleri

Tablo 5 ve Şekil 12 birlikte değerlendirildiğinde, protein izolatlarının renk parametrelerinin (L^* , a^* , b^* ve ΔE) uygulanan kurutma yöntemine ve işlem şiddetine son derece duyarlı olduğu açıkça görülmektedir. Dondurarak kurutulan FD örneği, düşük L^* ve çok düşük ΔE değerleri ile daha koyu ve referans renge yakın bir görünüm sergilerken; püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örnekleri belirgin şekilde daha açık renk (yüksek L^*) ve daha yüksek toplam renk farkı (ΔE) ile karakterize edilmiştir. Duncan çoklu karşılaştırma testine göre FD örneğinin tüm renk parametreleri açısından SD örneklerinden istatistiksel olarak anlamlı biçimde ayrışması ($p < 0.05$), kurutma yönteminin renk oluşumunda baskın bir belirleyici olduğunu göstermektedir.

Püskürtmeli kurutma örneklerinde (SD 140–SD 200) gözlenen yüksek L^* değerleri, hızlı nem uzaklaştırma ve partikül yüzeyinde daha homojen ışık yansıtıcı yapı oluşumu ile ilişkilendirilebilir. Bu durum, spreyci kurutma sırasında oluşan küresel partikül morfolojisinin ışık saçılımını artırmasıyla açıklanmaktadır. Buna karşılık FD örneğinde daha kompakt ve düzensiz yapılar, ışığın daha fazla absorbe edilmesine yol açarak daha düşük L^* değerleri ile sonuçlanmış olabilir (Damodaran, 2017).

a^* ve b^* değerleri incelendiğinde, SD örneklerinde sarılık bileşeninin (b^*) FD'ye kıyasla belirgin biçimde arttığı, a^* değerlerinde ise daha sınırlı fakat istatistiksel olarak anlamlı değişimler olduğu görülmektedir (Tablo 5). Bu eğilim, özellikle spreyci kurutma sırasında protein–karbonhidrat etkileşimlerinin artması ve Maillard reaksiyonlarının erken evre ürünlerinin oluşmasıyla ilişkilendirilebilir. Literatürde, Maillard

reaksiyonlarının erken evrelerinde sarımsı tonların baskın hâle geldiği, ilerleyen evrelerde ise daha koyu kahverengi pigmentlerin oluştuğu bildirilmektedir (Martins vd., 2000). Bu çalışmada SD örneklerinde b^* değerlerinin artması, ileri düzey esmerleşmeden ziyade erken/orta evre Maillard ürünlerinin baskın olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 5. Protein izolatlarının renk parametreleri (L^* , a^* , b^* ve ΔE)

Örnek	L^*	a^*	b^*	ΔE
FD	48.58 ± 1.35^c	6.17 ± 0.23^a	7.71 ± 0.45^c	2.34 ± 0.15^c
SD 140	65.33 ± 0.69^a	6.06 ± 0.05^a	10.42 ± 0.10^a	15.40 ± 0.69^a
SD 160	64.58 ± 0.66^a	5.89 ± 0.01^b	10.29 ± 0.15^{ab}	14.64 ± 0.67^{ab}
SD 180	64.62 ± 0.60^a	5.77 ± 0.02^b	10.46 ± 0.11^a	14.70 ± 0.61^{ab}
SD 200	63.48 ± 1.48^b	5.85 ± 0.07^b	10.41 ± 0.21^a	13.92 ± 0.93^b

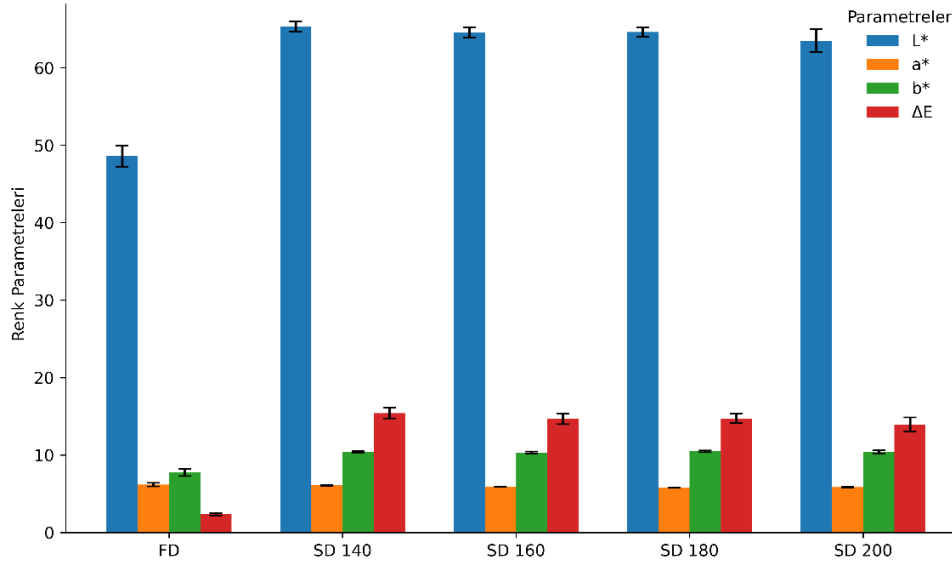
Değerler ortalama $\pm$ standart sapma ($n = 3$) olarak verilmiştir. Aynı sütunda farklı harflerle gösterilen ortalamalar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre istatistiksel olarak farklıdır ($p < 0.05$).

ΔE değerlerinin FD örneğinde çok düşük, SD örneklerinde ise belirgin biçimde yüksek olması, kurutma yöntemine bağlı renk değişiminin tüketici algısı açısından görsel olarak fark edilebilir düzeyde olduğunu göstermektedir. Genel kabul gören sınıflandırmalara göre $\Delta E > 3$ değerleri çıplak gözle algılanabilir renk farkına işaret etmektedir. Bu bağlamda SD örneklerinde gözlenen ΔE değerleri, ürün renginin FD'ye kıyasla belirgin biçimde değiştiğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, SD 140–SD 200 örnekleri arasında ΔE değerlerinin birbirine görece yakın olması, işlem sıcaklığı arttıkça renk değişiminin doğrusal olarak artmadığını, bunun yerine belirli bir eşik sonrası daha dengeli bir renk profili oluştuğunu düşündürmektedir.

Giriş hava sıcaklığının artmasıyla birlikte L^* değerlerinin yükselmesi, püskürtmeli kurutma sırasında daha açık renkli ve homojen partiküllerin oluştuğunu göstermektedir. Buna karşın ΔE değerlerindeki artış, yüksek sıcaklıklarda sınırlı Maillard reaksiyonları ve pigment yoğunlaşması ile ilişkilendirilmektedir.

Renk değişimleri, çalışmada değerlendirilen fonksiyonel özelliklerle birlikte ele alındığında daha anlamlı bir çerçeve sunmaktadır. SD 180 ve SD 200 örnekleri, daha açık renk ve yüksek ΔE değerlerine sahip olmakla birlikte, aynı zamanda daha yüksek çözünürlük, köpük kapasitesi, köpük stabilitesi ve emülsiyon stabilite indeksi sergilemiştir (Tablo 4; Şekil 7–10). Bu durum, işlem şiddetinin protein yapısında kısmi denatürasyon ve yüzey özelliklerinde yeniden düzenlenme yaratarak hem fonksiyonel performans hem de renk özelliklerini eş zamanlı olarak etkilediğini göstermektedir.

Erken evre Maillard ürünlerinin veya hafif oksidatif değişimlerin, protein yüzey hidrofiliğini artırarak bazı fonksiyonel özellikleri destekleyebileceği literatürde de vurgulanmaktadır (Martins vd., 2000; Damodaran, 2017).



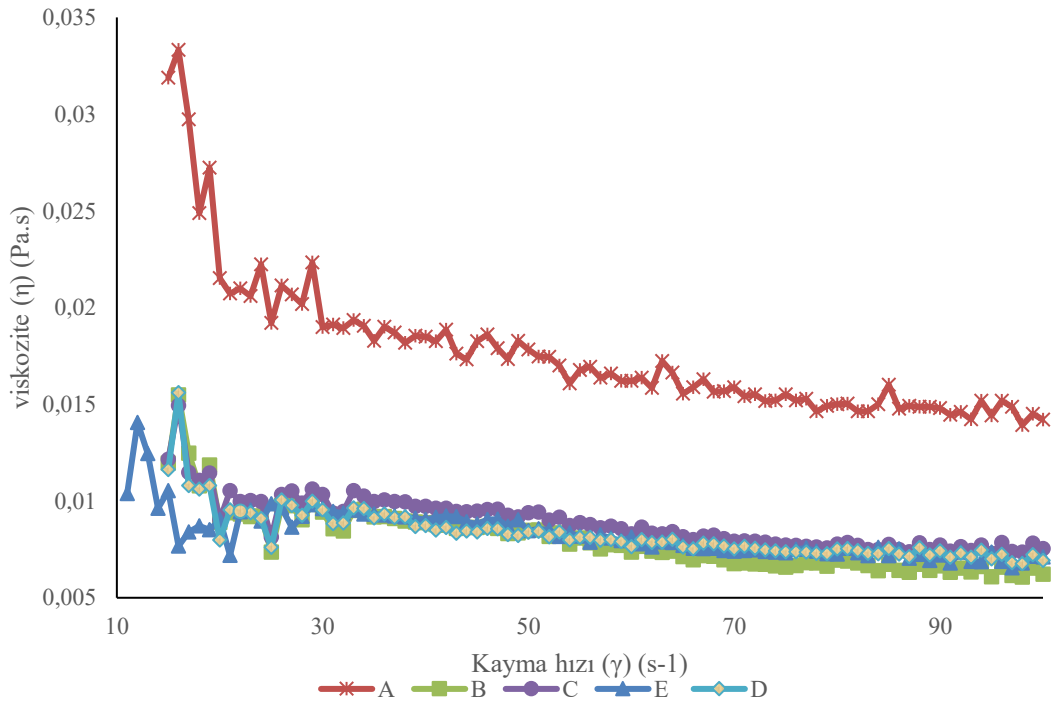
Şekil 12. Protein izolatlarının renk değerleri

Buna karşılık FD örneği, renk açısından daha doğal ve referans renge yakın bir profil sergilemesine rağmen, fonksiyonel özellikler bakımından (özellikle köpük ve emülsiyon stabilitesi) SD 180 ve SD 200 örneklerine kıyasla daha sınırlı performans göstermiştir. Bu durum, renk stabilitesi ile fonksiyonel performans arasında her zaman pozitif bir korelasyon bulunmadığını; aksine işlem kaynaklı yapısal değişimlerin bu iki özelliği farklı yönlerde etkileyebileceğini ortaya koymaktadır. Dolayısıyla, izolat seçimi yapılırken yalnızca renk veya yalnızca fonksiyonel özellikler değil, hedef ürünün görsel ve teknolojik gereksinimleri birlikte değerlendirilmelidir.

Sonuç olarak, Tablo 5 ve Şekil 12, kurutma şiddetinin protein izolatlarının renk özelliklerini belirgin biçimde etkilediğini ve bu etkinin Maillard reaksiyonları, fiziksel yapı değişimleri ve yüzey özelliklerindeki yeniden düzenlenmelerle yakından ilişkili olduğunu göstermektedir. Renk değişimleri, özellikle spreysel kurutma ile elde edilen izolatlarda fonksiyonel özelliklerdeki iyileşme ile paralel bir profil sergilemiş; bu da SD 180 ve SD 200 örneklerinin, hem teknolojik fonksiyonellik hem de kabul edilebilir renk özellikleri açısından birçok gıda uygulaması için dengeli ve avantajlı adaylar olduğunu ortaya koymuştur.

3.6. Protein İzolatlarının Reolojik (Viskozite ve Viskoelastik) Davranışları

Şekil 13 ve Şekil 14 birlikte değerlendirildiğinde, dondurarak kurutma (FD) ve püskürtmeli kurutma (SD 140, SD 160, SD 180 ve SD 200) işlemlerinin protein izolatlarının viskozite ve viskoelastik özellikleri üzerinde belirgin ve sistematik etkiler oluşturduğu görülmektedir. Tüm örneklerde kayma hızının artmasıyla görünür viskozitenin azalması, protein izolatlarının non-Newtonian ve psödoplastik (shear-thinning) akış davranışı sergilediğini ortaya koymaktadır (Şekil 13). Bu davranış, protein süspansiyonlarında kayma kuvveti altında moleküller arası zayıf bağların (hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobik kümelenmeler) kısmen çözülmesi ve protein zincirlerinin akış yönünde hizalanmasıyla ilişkilidir (Rao, 2014).



Şekil 13. Protein izolatlarının reolojik (Viskozite) değer grafiği

FD (dondurarak kurutulmuş) ve püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD 140, SD 160, SD 180 ve SD 200 protein izolatlarının reolojik davranışları, kayma hızı ve frekans taraması testleriyle değerlendirildiğinde tüm örneklerin non-Newtonian, psödoplastik (shear-thinning) akış karakteri sergilediği görülmektedir. Kayma hızının artmasıyla görünür viskozitenin azalması, protein sistemlerinde uygulanan deformasyon altında moleküller arası zayıf bağların (hidrojen bağları, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobik kümelenmeler) kısmen çözülmesi ve protein zincirlerinin akış yönünde hizalanmasıyla açıklanmaktadır. Bu davranış, bitkisel protein izolatları ve protein süspansiyonları için literatürde iyi tanımlanmış bir özelliktir (Damodaran, 2017; Rao, 2014).

Örnekler arasında FD izolatının, tüm kayma hızı aralığında en yüksek görünür viskoziteyi göstermesi dikkat çekicidir. Dondurarak kurutma işleminin düşük sıcaklık ve vakum koşullarında gerçekleştirilmesi, proteinlerin doğal konformasyonunu büyük ölçüde korumasına ve daha yoğun/organize bir üç boyutlu ağ yapısının muhafaza edilmesine olanak tanımaktadır. Bu durum, düşük kayma hızlarında yüksek akış direnci ve dolayısıyla yüksek viskozite ile sonuçlanmaktadır. Ancak FD örneğinde kayma hızının artmasıyla viskozitenin daha keskin bir düşüş göstermesi, bu ağ yapısının mekanik gerilime daha duyarlı olduğunu ve uygulama sırasında kolayca yeniden düzenlenebildiğini düşündürmektedir. Benzer davranışlar, yapısal bütünlüğü yüksek fakat zayıf bağlarla tutulan protein ağlarında da rapor edilmiştir (Rao, 2014).

Püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örnekleri (SD 140–SD 200) ise genel olarak birbirine daha yakın viskozite değerleri sergilemiş ve kayma hızına karşı daha düzenli ve sınırlı bir viskozite azalması göstermiştir. Bu durum, püskürtmeli kurutma sırasında uygulanan ısıl işlemin proteinlerde kısmi denatürasyona yol açarak daha kompakt ve akışa karşı daha az dirençli yapılar oluşturmasıyla ilişkilendirilebilir. Özellikle SD 160 örneğinin, SD 140, SD 180 ve SD 200’e kıyasla nispeten daha yüksek viskozite değerleri göstermesi, orta şiddetteki kurutma sıcaklıklarının protein–protein etkileşimlerini tamamen zayıflatmadan, akış sırasında belirli bir yapısal bütünlüğün korunmasına olanak tanıdığını düşündürmektedir. Bu tür “denge noktası” etkileri, literatürde orta düzey ısıl işlemlerin reolojik özellikler üzerinde optimize edici bir rol oynayabildiği şeklinde yorumlanmaktadır (Tang ve Ma, 2009).

FD örneğinin tüm kayma hızı aralığında en yüksek görünür viskoziteyi göstermesi, dondurarak kurutma işleminin proteinlerin doğal konformasyonunu büyük ölçüde koruması ve daha yoğun bir üç boyutlu ağ yapısının muhafaza edilmesiyle açıklanabilir. Bu tür yapılar, özellikle düşük kayma hızlarında akışa karşı yüksek direnç göstererek yüksek viskozite değerleri ile sonuçlanmaktadır. Ancak kayma hızının artmasıyla FD örneğinde viskozitenin daha belirgin bir şekilde azalması, bu ağ yapısının mekanik gerilime karşı duyarlı olduğunu ve akış sırasında kolaylıkla yeniden düzenlenebildiğini düşündürmektedir. Benzer şekilde, doğal yapısını büyük ölçüde koruyan protein sistemlerinde yüksek başlangıç viskozitesi ile birlikte belirgin shear-thinning davranışı literatürde de rapor edilmiştir (Rao, 2014; Damodaran, 2017).

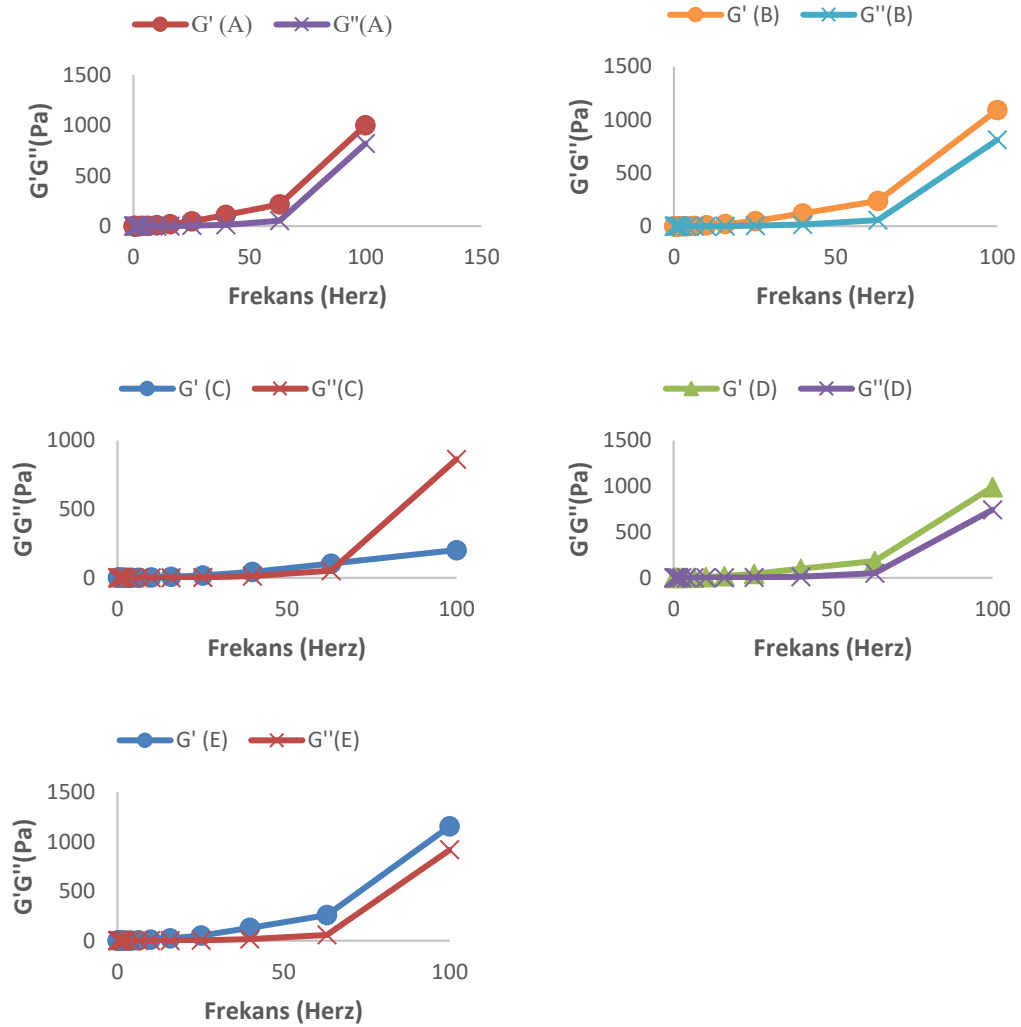
Püskürtmeli kurutma ile elde edilen SD örnekleri, FD’ye kıyasla daha düşük fakat birbirine yakın viskozite değerleri sergilemiştir (Şekil 13). Bu durum, püskürtmeli kurutma sırasında uygulanan ısıl işlemin proteinlerde kısmi denatürasyona yol açarak daha kompakt, daha az dallanmış ve akışa karşı daha düşük direnç gösteren yapılar

oluşturmasıyla ilişkilendirilebilir. Özellikle SD 160 örneğinin, diğer SD örneklerine kıyasla nispeten daha yüksek viskozite değerleri göstermesi, orta şiddette uygulanan kurutma sıcaklıklarının protein–protein etkileşimlerini tamamen zayıflatmadan belirli bir yapısal bütünlüğün korunmasına olanak tanıdığını düşündürmektedir. Bu tür bir “denge noktası”, protein sistemlerinde reolojik özelliklerin optimize edilebildiği koşulları işaret etmektedir (Tang ve Ma, 2009).

Frekans taraması (frequency sweep) sonuçları değerlendirildiğinde, tüm örneklerde frekans artışıyla birlikte hem depolama modülü (G') hem de kayıp modülü (G'') değerlerinin arttığı görülmektedir. Bu durum, protein izolatlarının zamana/ölçeğe bağlı bir mekanik yanıt verdiğini ve daha yüksek frekanslarda yapısal elemanların deformasyona karşı daha etkin şekilde direnç gösterdiğini ortaya koymaktadır. Çoğu örnekte (SD 160 hariç), orta ve yüksek frekans aralığında $G' > G''$ olması, elastik bileşenin viskoz bileşene baskın olduğunu ve sistemlerin sıvıdan ziyade zayıf jel-benzeri bir davranış sergilediğini göstermektedir. Bu tür reolojik profiller, protein içeren içecek bazları, soslar ve yarı akışkan gıda sistemleri için arzu edilen bir özelliktir (Damodaran, 2017).

Yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutulan örneklerin süspansiyonlarında daha yüksek viskozite ve daha belirgin elastik davranış ($G' > G''$) gözlenmiştir. Bu sonuç, kısmi denatürasyon ve protein–protein etkileşimlerinin artmasıyla daha yapılandırılmış bir ağ oluştuğunu göstermektedir. Bu özellik, özellikle ekstrüzyon ve yarı katı gıda sistemleri için önemlidir.

Bu bağlamda FD örneği, tüm frekans aralığında en yüksek G' ve G'' değerlerini sergileyerek en güçlü viskoelastik yapıya sahip izolat olarak öne çıkmaktadır. Buna karşılık SD 140, SD 180 ve SD 200 örnekleri, birbirine yakın modül büyüklükleriyle daha homojen ve işlem koşullarına bağlı olarak stabilize olmuş yapılar sunmaktadır. SD 160 örneğinde gözlenen görece düşük modül değerleri ise bu sistemin diğerlerine kıyasla daha zayıf bir ağ yapısına ve sınırlı elastik karaktere sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu farklılıklar, kurutma şiddetinin protein zincirlerinin açılma derecesi, hidrofobik yüzey erişilebilirliği ve yeniden agregasyon potansiyeli üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir (Damodaran, 2017; Tang ve Ma, 2009).



Şekil 14. Protein izolatlarının frekans taraması grafiği

Şekil 14'te sunulan frekans taraması sonuçları, örneklerin viskoelastik davranışları hakkında daha ayrıntılı bilgi sağlamaktadır. Tüm örneklerde frekans artışıyla birlikte hem depolama modülü (G') hem de kayıp modülü (G'') değerlerinin artması, protein izolatlarının zamana ve deformasyon hızına bağlı mekanik yanıt verdiğini göstermektedir. Birçok örnekte orta ve yüksek frekans aralığında G' değerlerinin G'' değerlerinden büyük olması, elastik bileşenin viskoz bileşene baskın olduğunu ve sistemlerin zayıf jel-benzeri bir karakter sergilediğini ortaya koymaktadır (Şekil 14). Bu tür bir davranış, protein bazlı yarı akışkan gıda sistemleri için arzu edilen bir özelliktir (Damodaran, 2017).

FD örneğinin tüm frekans aralığında en yüksek G' ve G'' değerlerini göstermesi, bu izolatin en güçlü viskoelastik yapıya sahip olduğunu ve daha yoğun bir protein ağı oluşturduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık SD 140, SD 180 ve SD 200 örnekleri,

daha düşük fakat birbirine yakın modül değerleriyle daha homojen ve işlem koşullarıyla stabilize olmuş yapılar sunmaktadır. SD 160 örneğinde gözlenen görece daha düşük modül değerleri ise bu sistemin diğer örneklerle kıyasla daha zayıf bir ağ yapısına ve sınırlı elastik karaktere sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu farklılıklar, kurutma şiddetinin protein zincirlerinin açılma derecesi, hidrofobik yüzey erişilebilirliği ve yeniden agregasyon potansiyeli üzerinde belirleyici olduğunu göstermektedir (Tang ve Ma, 2009; Damodaran, 2017).

Uygulama açısından değerlendirildiğinde, yüksek viskozite ve güçlü viskoelastik yapı sergileyen FD örneği, kıvam artırıcı olarak veya jel-benzeri yapıların arzu edildiği ürünlerde (örneğin soslar, püreler ve bazı et analogları) daha uygun bir aday olarak öne çıkmaktadır. Buna karşılık SD örnekleri, daha düşük fakat kontrollü viskozite profilleri sayesinde içecek bazları, emülsiyon sistemleri ve pompalanabilir gıda ürünleri için daha avantajlı olabilir. Bu sonuçlar, kurutma yönteminin ve işlem şiddetinin protein izolatlarının reolojik performansını doğrudan şekillendirdiğini ve hedef ürün uygulamasına göre izolat seçiminin kritik önem taşıdığını açıkça ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, Şekil 13 ve Şekil 14 birlikte ele alındığında, protein izolatlarının reolojik davranışlarının yalnızca protein konsantrasyonuna değil, aynı zamanda işlem geçmişine ve yapısal organizasyonuna güçlü biçimde bağlı olduğu görülmektedir. Bu mekanizma temelli değerlendirme, protein izolatlarının farklı gıda uygulamalarında rasyonel ve öngörülebilir biçimde kullanılmasına yönelik önemli bir çerçeve sunmaktadır.

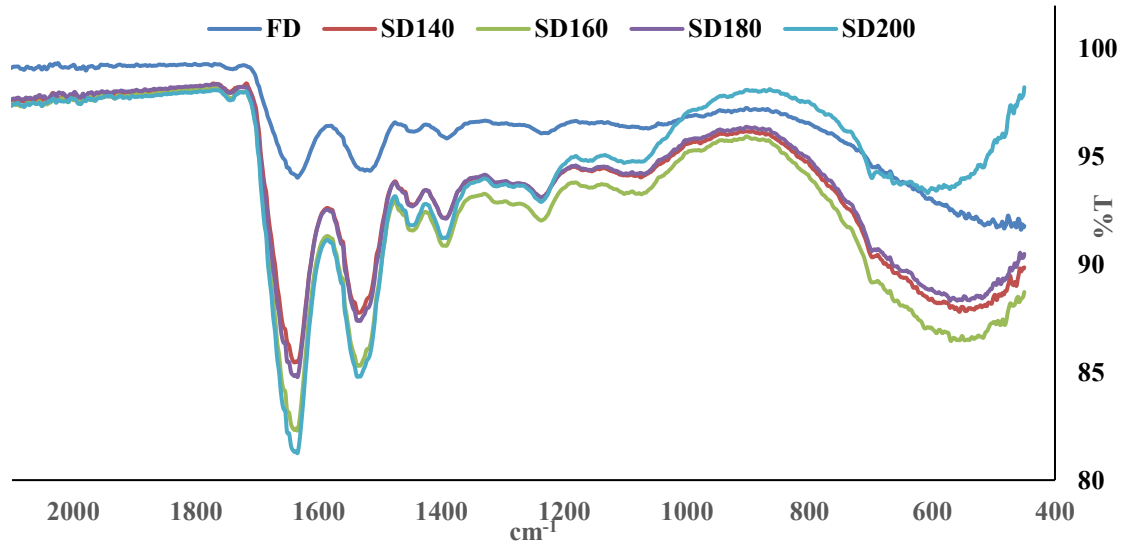
3.7. Protein İzolatlarının FTIR Analiz Sonuçları

Verilen FTIR spektrumları ($400\text{--}2000\text{ cm}^{-1}$), dondurarak kurutulan (FD) ve farklı giriş hava sıcaklıklarında püskürtmeli kurutulan (SD 140, SD 160, SD 180 ve SD 200) fındık proteini izolatlarının temel fonksiyonel gruplarını ve kurutma koşullarına bağlı yapısal değişimleri ortaya koymaktadır (Şekil 15). Tüm örneklerde proteinlere özgü karakteristik bantların korunmuş olması, uygulanan kurutma işlemlerinin proteinlerin kimyasal omurgasını bozmadığını, ancak ikincil ve üçüncül yapı düzeyinde farklılıklara yol açtığını göstermektedir.

Spektrumlarda yaklaşık $1650\text{--}1630\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen güçlü bantlar, proteinlerin Amid I bandına karşılık gelmektedir ve esas olarak C=O gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır. Bu bant, proteinlerin ikincil yapısına (α -heliks, β -tabaka ve düzensiz yapılar) duyarlı olması nedeniyle özellikle önemlidir. FD örneğinde Amid I bandının daha keskin ve daha yüksek geçirgenlikte olması, dondurarak kurutma

işlemi sırasında proteinlerin doğal konformasyonunun daha iyi korunduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık püskürtmeli kurutma uygulanan örneklerde (özellikle SD 180 ve SD 200) Amid I bandında hafif genişleme ve şiddet değişimleri gözlenmesi, artan kurutma sıcaklığına bağlı olarak kısmi denatürasyon ve ikincil yapı yeniden düzenlenmesi ile ilişkilendirilebilir (Barth, 2007; Damodaran, 2017).

Yaklaşık $1540\text{--}1520\text{ cm}^{-1}$ bölgesinde yer alan Amid II bantları (N–H bükülmesi ve C–N gerilmesi), tüm örneklerde benzer konumda bulunmakla birlikte püskürtmeli kurutulan örneklerde bant yoğunluğunun FD'ye kıyasla hafifçe azaldığı görülmektedir. Bu durum, ısı işlem sırasında hidrojen bağlarının yeniden düzenlenmesi ve protein–protein etkileşimlerinin artması ile açıklanabilir. Özellikle yüksek sıcaklıkta kurutulan SD 180 ve SD 200 örneklerinde bu etkinin daha belirgin olması, reolojik ve fonksiyonel analizlerde gözlenen viskozite ve emülsiyon stabilitesi artışlarıyla uyumludur (Damodaran, 2017).



Şekil 15. Örneklere ait FTIR grafiği

$1450\text{--}1400\text{ cm}^{-1}$ aralığında gözlenen bantlar, $-\text{CH}_2$ ve $-\text{CH}_3$ gruplarının bükülme titreşimlerine karşılık gelmekte olup proteinlerin yan zincirlerine ve hidrofobik gruplarına işaret etmektedir. Bu bölgede püskürtmeli kurutulan örneklerde bant yoğunluğunun nispeten artması, kurutma sıcaklığının artmasıyla birlikte hidrofobik bölgelerin protein yüzeyinde daha erişilebilir hale geldiğini düşündürmektedir. Bu yapı değişimi, özellikle yağ tutma kapasitesi ve emülsiyon stabilite indeksi sonuçlarında gözlenen artışları destekleyen bir bulgudur (Tang ve Ma, 2009).

Spektrumlarda 1200–1000 cm^{-1} aralığında yer alan bantlar, C–O ve C–N gerilme titreşimleri ile ilişkilidir ve protein–karbonhidrat etkileşimlerine veya polisakkarit kalıntılarına işaret edebilir. Püskürtmeli kurutma sıcaklığı arttıkça bu bölgede gözlenen bant şiddetindeki hafif artışlar, özellikle yüksek sıcaklıklarda erken evre Maillard reaksiyonlarının veya protein–karbonhidrat konjugasyonlarının gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, renk parametrelerinde (L^* ve ΔE) gözlenen değişimlerle birlikte değerlendirildiğinde, termal işlemin hem yapısal hem de görsel özellikleri etkilediğini göstermektedir (Martins vd., 2000).

Daha düşük dalga sayılarında (900–600 cm^{-1}), proteinlerin iskelet titreşimleri ve aromatik yan zincirlere ait titreşimler gözlenmektedir. Bu bölgede örnekler arasındaki farklılıkların sınırlı olması, protein omurgasının büyük ölçüde korunduğunu; gözlenen değişimlerin esas olarak ikincil yapı ve moleküller arası etkileşim düzeyinde gerçekleştiğini ortaya koymaktadır.

Genel olarak FTIR sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, dondurarak kurutma işleminin protein izolatlarının doğal konformasyonunu daha iyi koruduğu; püskürtmeli kurutma işleminin ise sıcaklığa bağlı olarak kısmi denatürasyon, hidrojen bağlarının yeniden düzenlenmesi ve hidrofobik grupların açığa çıkması gibi yapısal değişimlere yol açtığı söylenebilir. Bu yapısal dönüşümler, çalışmada rapor edilen çözünürlük, su/yağ tutma kapasitesi, köpük ve emülsiyon stabilitesi gibi fonksiyonel özelliklerdeki değişimlerle doğrudan ilişkilidir. Dolayısıyla FTIR analizi, kurutma koşullarının protein izolatlarının fonksiyonel performansını belirleyen temel moleküler mekanizmaları destekleyici nitelikte kanıtlar sunmaktadır.

4. SONUÇ VE DEĞERLENDİRME

Bu tez çalışmasında, yağsızlaştırılmış fındık küspesinden alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemiyle elde edilen fındık proteini izolatının, farklı kurutma yöntemleri (dondurarak kurutma ve farklı giriş hava sıcaklıklarında püskürtmeli kurutma) sonrasında sergilediği fizikokimyasal, tekno-fonksiyonel, reolojik ve yapısal özellikler kapsamlı biçimde değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular, kurutma yönteminin ve işlem şiddetinin fındık proteini izolatlarının yapısal organizasyonu üzerinden fonksiyonel performansını belirgin biçimde yönlendirdiğini ortaya koymuştur.

Protein çözünürlüğüne ilişkin sonuçlar, tüm örneklerde çözünürlüğün pH'a duyarlı olduğunu ve izoelektrik bölgeye yaklaşıldığında minimum değerlere ulaşıldığını göstermiştir. Alkali pH koşullarında ise çözünürlüğün belirgin biçimde arttığı ve bu artışın özellikle yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutulan örneklerde daha baskın olduğu belirlenmiştir. Bu durum, artan pH ile proteinlerin net negatif yük kazanması, elektrostatik itmenin güçlenmesi ve protein-su etkileşimlerinin artmasıyla açıklanabilir. Kurutma sıcaklığındaki artışın yol açtığı kısmi denatürasyonun, hidrofilik grupların suya erişilebilirliğini artırarak alkali pH koşullarında çözünürlüğü desteklediği anlaşılmaktadır.

Su ve yağ tutma kapasitesi sonuçları, kurutma yöntemine bağlı anlamlı farklılıkların varlığını ortaya koymuştur. Püskürtmeli kurutma uygulanan örneklerin genel olarak daha yüksek su ve yağ tutma kapasitesi sergilemesi, kurutma sırasında protein zincirlerinde meydana gelen yapısal açılma ve hidrofobik/polar grupların yüzeyde daha erişilebilir hâle gelmesiyle ilişkilendirilmektedir. Özellikle yüksek sıcaklıkta kurutulan örneklerde yağ tutma kapasitesindeki artış, bu izolatların yağ içeriği yüksek gıda sistemlerinde potansiyel kullanımını desteklemektedir.

Köpük kapasitesi ve köpük stabilitesi sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, kurutma yönteminin hava-su arayüzeyinde proteinlerin davranışını belirgin biçimde etkilediği görülmüştür. Dondurarak kurutulan örnekler daha dengeli köpük stabilitesi sergilerken, yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutulan örneklerde köpük kapasitesinin arttığı ancak stabilitenin bazı durumlarda sınırlı kaldığı belirlenmiştir. Bu durum, yüzey aktifliği ile interfasiyel film dayanımı arasındaki dengenin kurutma koşullarına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir.

Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) sonuçları, özellikle SD 180 ve SD 200 örneklerinde belirgin biçimde yüksek değerler göstermiştir. Bu bulgu, yüksek sıcaklıkta

uygulanan püskürtmeli kurutmanın proteinlerin yağ-su arayüzeyinde daha etkili adsorpsiyon göstermesini ve daha dayanıklı interfasiyel tabakalar oluşturmalarını sağladığını düşündürmektedir. Bu yönüyle, yüksek sıcaklıkta kurutulan fındık proteini izolatlarının emülsiyon bazlı ürünler için daha uygun adaylar olduğu söylenebilir.

Protein sindirilebilirliği açısından değerlendirildiğinde, tüm örneklerin benzer ve yüksek sindirilebilirlik değerleri sergilediği, kurutma yöntemlerinin besinsel kalite üzerinde olumsuz bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu sonuç, uygulanan kurutma koşullarının proteinlerin enzimatik erişilebilirliğini önemli ölçüde kısıtlamadığını ve fındık proteini izolatlarının besinsel açıdan uygun bir bitkisel protein kaynağı olduğunu göstermektedir.

FTIR analizleri, kurutma yöntemlerine bağlı olarak proteinlerin kimyasal omurgasının korunduğunu, ancak ikincil yapı ve moleküller arası etkileşimler düzeyinde farklılıklar oluştuğunu ortaya koymuştur. Püskürtmeli kurutma sıcaklığının artmasıyla birlikte Amid I ve Amid II bantlarında gözlenen değişimler, kısmi denatürasyon, hidrojen bağlarının yeniden düzenlenmesi ve hidrofobik etkileşimlerin artması ile ilişkilendirilmiştir. Bu yapısal değişimlerin, çalışmada rapor edilen fonksiyonel ve reolojik farklılıkların moleküler temelini oluşturduğu düşünülmektedir.

Reolojik analiz sonuçları, kurutma yönteminin protein izolatlarının akış davranışı ve viskozite özellikleri üzerinde belirgin etkiler oluşturduğunu göstermiştir. Yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutulan örneklerde viskozite değerlerindeki artış, protein-protein etkileşimlerinin güçlenmesi ve daha yoğun bir yapısal ağ oluşumu ile açıklanabilir. Bu sonuçlar, fındık proteini izolatlarının farklı tekstür gereksinimi olan gıda ürünlerinde kullanım potansiyeline işaret etmektedir.

Genel olarak bu tez çalışması, fındık küspesinin düşük katma değerli bir yan ürün olmaktan çıkarılarak, fonksiyonel ve besinsel açıdan değerli bir bitkisel protein kaynağına dönüştürülebileceğini açık biçimde ortaya koymuştur. Kurutma yönteminin seçimi, hedeflenen fonksiyonel özelliklere bağlı olarak kritik öneme sahiptir. Dondurarak kurutma, yapısal bütünlüğün korunması ve dengeli fonksiyonel özellikler açısından avantaj sağlarken; yüksek sıcaklıkta püskürtmeli kurutma, özellikle çözünürlük, yağ tutma kapasitesi, emülsiyon stabilitesi ve viskozite açısından üstün performans sergilemiştir.

Bu sonuçlar, püskürtmeli kurutma sıcaklığının yalnızca bir kurutma parametresi değil, aynı zamanda protein izolatlarının fonksiyonel, reolojik ve görsel özelliklerini şekillendiren temel bir proses değişkeni olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle 180–200 °C aralığı, emülsiyon stabilitesi ve reolojik yapı açısından avantaj sağlarken; daha düşük

sıcaklıklar protein yapısının korunması ve dengeli fonksiyonel performans açısından öne çıkmaktadır.

Gelecekteki Çalışmalar İçin Öneriler

Bu çalışma kapsamında elde edilen bulgular doğrultusunda, gelecekte yapılacak araştırmalara yönelik olarak aşağıdaki öneriler sunulabilir:

- Fındık proteini izolatlarının farklı gıda matrislerinde (içecekler, emülsiyon bazlı ürünler, et analogları ve fırıncılık ürünleri) performanslarının değerlendirilmesi, endüstriyel uygulanabilirliği açısından önemlidir.
- Kurutma işlemi sırasında meydana gelebilecek Maillard reaksiyonlarının düzeyinin, furosin veya serbest amino grup analizleri gibi ileri tekniklerle nicel olarak belirlenmesi, renk ve fonksiyonel özellikler arasındaki ilişkinin daha net ortaya konmasını sağlayabilir.
- Proteinlerin ikincil yapı değişimlerinin daha ayrıntılı incelenmesi amacıyla FTIR bant dekonvolüsyonu veya CD (Circular Dichroism) gibi ileri spektroskopik yöntemlerin kullanılması önerilmektedir.
- Fındık proteini izolatlarının duyuşal özellikler, raf ömrü ve depolama stabilitesi üzerindeki etkilerinin incelenmesi, ticari ürün geliştirme çalışmaları için yol gösterici olacaktır.

Sonuç olarak, bu tez çalışması; fındık küspesinin sürdürülebilir, fonksiyonel ve yüksek katma değerli bir bitkisel protein kaynağı olarak değerlendirilmesine bilimsel bir temel sunmakta ve bitkisel protein bazlı ürün geliştirme çalışmalarına önemli katkılar sağlamaktadır.

KAYNAKÇA

- Addinsoft. (2023). *XLSTAT statistical and data analysis solution*. Addinsoft.
<https://www.xlstat.com>
- Akharume, F. U., Aluko, R. E. ve Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224.
- Akyol, C. (2023). Fındık (*Corylus avellana*) bitkisinin tüketimi; Türkiye’de kullanım alanlarına yönelik bir araştırma. *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 10(2), 406-420.
- Alasalvar, C., Shahidi, F., Amaral, J. S. ve Oliveira, B. P. P. (2010). Compositional characteristics and health effects of hazelnut (*Corylus avellana* L.). *Food Chemistry*, 121(3), 700-709. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.12.081>
- Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9), 1073-1101.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.06.004>
- Berghout, J. A. M., Boom, R. M. ve van der Goot, A. J. (2015). Understanding the differences in gelling properties between lupin protein isolate and soy protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 43, 465-472.
- Beuchat, L. R. (1977). Functional and electrophoretic characteristics of succinylated peanut flour protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25(2), 258-261.
<http://dx.doi.org/10.1021/jf60210a044>
- Boye, J. I., Zare, F. ve Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43, 414-431.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248-254. [http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](http://dx.doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Cepeda, E., Villaran, M. C. ve Aranguiz, N. (1998). Functional properties of faba bean (*Vicia faba*) protein flour dried by spray drying and freeze drying. *Journal of Food Engineering*, 36(3), 303-310.
- Çetiner, M. ve Bilek, S. E. (2018). Bitkisel protein kaynakları. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 33(2), 111-126.

- Damodaran, S. (2017). Amino acids, peptides, and proteins. S. Damodaran, K. L. Parkin ve O. R. Fennema (Der.), *Fennema's food chemistry* içinde (5. Baskı, ss. 235-356). CRC Press. <http://dx.doi.org/10.1201/9781315372914>
- Damodaran, S., Parkin, K. L. ve Fennema, O. R. (Der.). (2007). *Fennema's food chemistry*. CRC Press.
- Doğan, G. ve Bircan, R. (2010). Balık yemlerinde alternatif bitkisel protein kaynağı olarak fındık küspesi kullanımı. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1(2), 49-57.
- Esmer, B., Hepsağ, F. ve Hayoğlu, İ. (2024). Bitkisel proteinler ve et alternatifi olarak kullanımı. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(4), 1913-1932.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2023). FAOSTAT Statistical Database. <https://www.fao.org/faostat>
- Ghribi, A. M., Gafsi, I. M., Blecker, C., Danthine, S., Attia, H. ve Besbes, S. (2015). Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 165, 179-188.
- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F. ve Kasapis, S. (2011). Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods. *Food Chemistry*, 129, 1513-1522.
- Kinsella, J. E. ve Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: A survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7(3), 219-280. <http://dx.doi.org/10.1080/10408397609527208>
- Kinsella, J., 1982. Relationship between structure and functional properties of food proteins. *Food proteins* 1, 51-103.
- Köksal, A. İ., Artik, N., Şimşek, A. ve Güneş, N. (2006). Nutrient composition of hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties cultivated in Turkey. *Food Chemistry*, 99(3), 509-515.
- Kusumah, S. H., Andoyo, R. ve Rialita, T. (2020). Protein isolation techniques of beans using different methods: A review. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 443(1), 012053.
- Lo, B., Kasapis, S. ve Farahnaky, A. (2021). Lupin protein: Isolation and techno-functional properties, a review. *Food Hydrocolloids*, 112, 106318.
- Maltesen, M. J. ve van de Weert, M. (2008). Drying methods for protein pharmaceuticals. *Drug Discovery Today: Technologies*, 5(2-3), 81-88.

- Martins, S. I., Jongen, W. M. ve van Boekel, M. A. (2000). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 11(9-10), 364-373. [http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244\(01\)00022-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0924-2244(01)00022-X)
- Masters, K. (2002). *Spray drying handbook* (5. Baskı). Longman Scientific and Technical.
- Meram, A. (2023). *Farklı kurutma yöntemlerinin fındık proteini izolatlarının fizikokimyasal ve teknolojik özellikleri üzerine etkisi (Yüksek lisans tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Türkiye)*.
- Mexis, S. F. ve Kontominas, M. G. (2009). Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). *Radiation Physics and Chemistry*, 78(6), 407-413.
- Morr, C. V., German, B., Kinsella, J. E., Regenstein, J. M., Buren, J. V., Kilara, A. ve Mangino, M. E. (1985). A collaborative study to develop a standardized food protein solubility procedure. *Journal of Food Science*, 50(6), 1715-1718. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.1985.tb10572.x>
- Mune, M. A. M. ve Sogi, D. S. (2015). Functional properties of protein concentrates of cowpea and bambara bean involving different drying techniques. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2304-2313.
- Nordic Committee on Food Analysis. (2005). *Ash, gravimetric determination in foods (NMKL No. 173)*.
- Oğuz, M., Akar, B. ve Baltacı, C. (2023). Physicochemical analysis of pomegranate sours produced by traditional method in Türkiye and the investigation of antioxidant properties. *Hittite Journal of Science and Engineering*, 10(2), 125-134.
- Ozdemir, F. ve Akinci, I. (2004). Physical and nutritional properties of four major commercial Turkish hazelnut varieties. *Journal of Food Engineering*, 63(3), 341-347.
- Öztop, K. (2014). *Fındık proteini konsantresinin fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi (Yüksek lisans tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Mersin)*.
- Paraman, I., Hettiarachchy, N. S. ve Schaefer, C. (2008). Preparation of rice endosperm protein isolate by alkali extraction. *Cereal Chemistry*, 85(1), 76-81.
- Pearce, K. N. ve Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(3), 716-723. <http://dx.doi.org/10.1021/jf60218a041>

- Peters, J. P. C. M., Vergeldt, F. J., Boom, R. M. ve van der Goot, A. J. (2017). Water-binding capacity of protein-rich particles and their pellets. *Food Hydrocolloids*, 65, 144-156. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.033>
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of Food Engineering*, 49(4), 311-319. [http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774\(00\)00228-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0260-8774(00)00228-4)
- Saetae, D., Kleekayai, T., Jayasena, V. ve Suntornsuk, W. (2011). Functional properties of protein isolate obtained from physic nut (*Jatropha curcas* L.) seed cake. *Food Science and Biotechnology*, 20(1), 29-37. <http://dx.doi.org/10.1007/s10068-011-0005-x>
- Savaş, A. (2024). Fındık meyvesinin besinsel içeriği üzerine kısa bir perspektif. *Gıda Bilimi ve Mühendisliği Araştırmaları*, 3(1), 100-103.
- Scarpari, M., Vitale, S., Di Giambattista, G., Luongo, L., De Gregorio, T., Schreiber, G. ve Voglmayr, H. (2020). *Didymella corylicola* sp. nov., a new fungus associated with hazelnut fruit development in Italy. *Mycological Progress*, 19(4), 317-328.
- Spataro, F., Rosso, F., Genova, G. ve Caligiani, A. (2024). Farklı menşeli fındıklarda çürüklük kusuru belirteçlerinin tespiti için yeni bir araç olarak hedeflenmemiş UHPLC-HRMS. *Mikrokimyasal Dergi*, 197, 109743.
- Steffe, J. F. (1996). *Rheological methods in food process engineering*. Freeman Press.
- Stieger, M. (2002). The rheology handbook: For users of rotational and oscillatory rheometers. *Applied Rheology*, 12(5), 232.
- Şahin, S. (2019). Farklı illerden temin edilen fındık zarının bileşimi ve antioksidan etkinliğinin araştırılması. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 9(1), 27-35.
- Şimşek, A. ve Aslantaş, R. (1999). Fındığın bileşimi ve insan beslenmesi açısından önemi. *Gıda*, 24(3).
- Tang, C. H. ve Ma, C. Y. (2009). Heat-induced modifications in the functional and structural properties of vicilin-rich protein isolate from kidney (*Phaseolus vulgaris* L.) bean. *Food Chemistry*, 115(3), 859-866. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.104>
- Tatar, F., Tunç, M. T. ve Kahyaoğlu, T. (2015). Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) protein concentrates: Functional and rheological properties. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1024-1031.
- Tunick, M. H. (2011). Small-strain dynamic rheology of food protein networks. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(5), 1481-1486. <http://dx.doi.org/10.1021/jf1016237>

- Türk Standartları Enstitüsü. (2011). *Makarna (TS 1620)*. Ankara.
- Ünlüsayın, M., Erdilal, R. ve Çağatay, T. (2009). Balık proteinlerinin saflaştırılmasında kullanılan güncel yöntemler. *Balıkçılık Bilimleri Dergisi*, 3(4), 298.
- Ünsal, A. (2019). Beslenmenin önemi ve temel besin öğeleri. *Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2(3), 1-10.
- Wouters, A. G. B., Rombouts, I., Fierens, E., Brijs, K. ve Delcour, J. A. (2016). Relevance of the functional properties of enzymatic plant protein hydrolysates in food systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15, 786-800.
- Wu, H., Wang, Q., Ma, T. ve Ren, J. (2009). Comparative studies on the functional properties of various protein concentrate preparations of peanut protein. *Food Research International*, 42, 343-348.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2008.12.006>
- Yavuz, M. ve Özçelik, B. (2016). Bitkisel protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4), 424-430.
- Zhao, J., Wang, X., Lin, H. ve Lin, Z. (2023). Hazelnut and its by-products: A comprehensive review of nutrition, phytochemical profile, extraction, bioactivities and applications. *Food Chemistry*, 413, 135576.
- Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., Chen, X. D., Huang, S., Ruan, X., ... Sun, W. (2012). Effects of spray drying and freeze drying on the properties of protein isolate from rice dreg protein. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1759-1769.

ÖZGEÇMİŞ

Lisans eğitimini 2021 yılında Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde tamamladı. Mezuniyetinin ardından 2022 yılında fındık sektöründe faaliyet gösteren özel bir şirkette mikrobiyoloji laboratuvar sorumlusu olarak çalışmaya başladı ve halen aynı firmada görev yapmaktadır. 2023 yılında Gümüşhane Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başlamıştır.