



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR PROTEİNİ BİYOAKTİF PEPTİTLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ
HİDROJEL ÜRETİMİ**

BERİL FİDAN KORKMAZ YILDIRIM

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

**Şanlıurfa
2024**



**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR PROTEİNİ BİYOAKTİF PEPTİTLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ
HİDROJEL ÜRETİMİ**

BERİL FİDAN KORKMAZ YILDIRIM

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ
Tez Danışmanı: Prof. Dr. MEHMET KARAASLAN**

**Şanlıurfa
2024**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim ve aynı zamanda lisans tez döneminde danışmanım olan, tez süreci boyunca hiçbir zaman destek ve yardımını esirgemeyen, tez çalışmalarımda engin bilgileri ile bana danışmanlık yapan, Sayın hocam Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN' a, Yüksek Gıda Mühendisi Melike YÜCETEPE'ye, tez çalışmamı değerlendiren Doç. Dr. Bülent BAŞYİĞİT ve Dr. Öğr. Üyesi Hülya ARSLAN' a,

Çalışmalarımın ve tez yazımımın başlangıcından sonuna kadar desteğini esirgemeyen aileme ve arkadaşlarıma,

23112 no' lu proje kapsamında tez çalışmama maddi destek veren Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Komisyonu (HÜBAK)' na teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	3
2.1. Nar Meyvesi	3
2.2. Nar Çekirdeği	4
2.3. Biyoaktif Peptitler	6
2.4. Hidrojeller	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM	9
3.1. Gereçler	9
3.1.1. Nar Çekirdekleri	9
3.1.2. Keçi Boynuzu Gamı	9
3.2. Yöntem	10
3.2.1. Nar çekirdeğinden protein ekstraksiyonu	10
3.2.2. Biyoaktif peptit üretim optimizasyonu	10
3.2.3. Hidrojellerin hazırlanması	12
3.3. Analizler	14
3.3.1. Nar Çekirdeği Protein Analizleri	14
3.3.1.1. Özütleme Verimi	14
3.3.1.2. Kuru Madde	15
3.3.1.3. Protein Miktarı	15
3.3.2. Biyoaktif Peptit Analizleri	16
3.3.2.1. Hidrolizasyon Derecesi	16
3.3.2.1.1. Titrasyon yöntemi ile	16
3.3.2.1.2. OPA reaktifi ile	16
3.3.2.1.3. TCA yöntemi ile	17
3.3.3. Hidrojel Analizleri	17
3.3.3.1. Hidrojellerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi	17
3.3.3.2. Hidrojellerin Fonksiyonel Özellikleri	17
3.3.3.2.1. Su tutma kapasitesi	17
3.3.3.2.2. Şişme oranı	18
3.3.3.2.3. Hacim jel indeksi	18
3.3.3.2.4. Protein sızdırılabilirliği	19
3.3.3.3. Hidrojellerin Doku Profili Analizi	19
3.3.3.4. Hidrojellerin Reolojik Analizi	19
3.3.3.5. Hidrojellerin Gastrointestinal Salımın In Vitro Simülasyonu	19
3.3.3.6. Hidrojellerin Çevresel Stres Analizi	19
3.3.4. İstatistik analizler	20
4. BULGULAR	21
4.1. Nar Çekirdeği Proteinini	21
4.2. Biyoaktif peptit üretimi	23
4.3. Hidrojel analizleri	25
4.3.1. Hidrojellerde renk	25
4.3.2. Hidrojellerin su tutma kapasitesi	27
4.3.3. Hidrojellerin şişme oranı	28
4.3.4. Hidrojin protein sızdırılabilirliği	29
4.3.5. Hidrojellerin doku analizi	29
4.3.6. Hidrojellerin termal karakterleri	31

4.3.7. Hidrojellerin antioksidan ve protein salınımı	32
4.3.8. İn vitro ve gastrointestinal salınım davranışı	33
4.3.9. Hidrojellerin çevresel strese karşı davranışları	35
4.4. Biyoaktif Peptit ve Hidrojellerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri	39
4.5. FTIR analizi biyoaktif peptit ve hidrojeller	41
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR	45
7. ÖNERİLER	46
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	53

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NAR PROTEİNİ BİYOAKTİF PEPTİTLERİ İLE ZENGİNLEŞTİRİLMİŞ HİDROJEL ÜRETİMİ

BERİL FİDAN KORKMAZ YILDIRIM

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışman: Prof. Dr. MEHMET KARAASLAN

Yıl: 2024, Sayfa : 50

Bu tez çalışmasında nar çekirdeği proteininden elde edilen biyoaktif peptitlerin (NÇP) ve keçi boynuzu gamının fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş, biyolojik olarak aktif, mekanik olarak dirençli hidrojel üretiminde kullanım potansiyellerinin araştırılması amaçlanmıştır. Laboratuvar ölçekli bir soğuk presleme makinesi kullanılarak yağsız nar çekirdeği posası elde edilmiştir. Nar çekirdeklerinden protein ekstraksiyonu izoelektrik noktaya bağlı protein çöktürme yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Protein peletleri dondurarak kurutma işlemi uygulanarak kurutulmuş ve nar çekirdeği protein izolatları elde edilmiştir. Nar çekirdeği protein analizleri olarak özütlenme verimi, kuru madde ve protein miktarı analizleri yapılmıştır. Biyoaktif peptit üretimi için pepsin ve alkalaz enzimi kullanılarak faz ayrımı sağlanıp biyoaktif peptit elde edilmiştir. Üretilen biyoaktif peptitler ile keçi boynuzu gamı belirli konsantrasyonlarda karıştırılıp 5 farklı hidrojel üretimi gerçekleştirilmiştir. Farklı oranlardaki biyoaktif peptitler (%0, %1, %5, %7,5, %10) sabit orandaki keçi boynuzu gamı ile karıştırılarak farklı fizikokimyasal özellikteki hidrojeller elde edilmiştir. Biyoaktif peptit konsantrasyonu %0 olan örnekler kontrol denemesi olarak kabul edilmiştir. Üretilen hidrojellerde renk analizleri, fizikokimyasal analizler, tekstür analizi, FTIR spektrumları, SEM görüntüleri ve TGA analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre biyoaktif peptitler ve keçi boynuzu gamı interaksyonları belirlenmiş ve reolojik özellikleri bakımından %7,5 biyoaktif peptit içeren hidrojeller en gelişmiş özellikleri göstermiştir. Mekanik dayanım bakımından hidrojeller arasında farklılıklar tespit edilmiş ve %7,5 biyoaktif peptit içeren hidrojeller daha yüksek dayanımlar göstermiştir. Hidrojel örnekleri fonksiyonel özellikler bakımından varyasyonlar göstermiş ve gastrointestinal sistemdeki salınım özellikleri de ayrıca incelenmiştir.

ANAHTAR KELİMELE: Nar Çekirdeği, Nar Çekirdeği Proteini, Biyoaktif P

ABSTRACT

MASTER THESIS

PRODUCTION OF HYDROGEL ENRICHED WITH POMEGRANATE PROTEIN BIOACTIVE PEPTIDES

BERİL FİDAN KORKMAZ YILDIRIM

**HARRAN UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
FOOD ENGINEERING**

Thesis Supervisor: Prof. Dr. MEHMET KARAASLAN

Year: 2024, Page : 50

In this thesis, the functional properties of bioactive peptides (BAP) obtained from pomegranate seed protein and carob gum have been improved, and the potential for their use in the production of biologically active, mechanically resistant hydrogels has been investigated. A fat-free pomegranate seed pomace was obtained using a laboratory-scale cold pressing machine. Protein extraction from pomegranate seeds was carried out using the isoelectric point-based protein precipitation method. Protein pellets were dried by freeze-drying method, resulting in pomegranate seed protein isolates. Extraction yield, dry matter, and protein content analyses were performed as pomegranate seed protein analyses. Bioactive peptide production was achieved by phase separation using pepsin and alcalase enzymes, resulting in the acquisition of bioactive peptides. The produced bioactive peptides were mixed with carob gum at specific concentrations to produce 5 different hydrogels. Hydrogels with different ratios of bioactive peptides (%0, %1, %5, %7.5, %10) were obtained by mixing with a constant ratio of carob gum. Samples with a bioactive peptide concentration of %0 were considered as control trials. Color analyses, physicochemical analyses, texture analysis, FTIR spectra, SEM images and TGA analysis, were conducted on the produced hydrogels. According to the results obtained, interactions between bioactive peptides and carob gum were determined, and hydrogels containing %7.5 bioactive peptides exhibited the most advanced properties in terms of rheological characteristics. Differences were identified among the hydrogels in terms of mechanical strength, with hydrogels containing %7.5 bioactive peptides showing higher strengths. Hydrogel samples exhibited variations in functional properties, and the release characteristics in the gastrointestinal system were also examined.

KEYWORDS: Pomegranate Seed, Pomegranate Seed Protein, Bioact

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	Nar çekirdekleri	9
Şekil 3.2.	Keçiboynuzu gamı	10
Şekil 3.3.	Nar çekirdeğinden üretilmiş biyoaktif peptitler	11
Şekil 4.1.	Nar çekirdeği proteini	21
Şekil 4.2.	Hidrojel görüntüleri	26
Şekil 4.3.	Hidrojel görüntüleri	27
Şekil 4.4.	pH değişimine göre salınım davranışı	37
Şekil 4.5.	Hidrojelin farklı konsantrasyonlardaki tuz çözeltileri içerisindeki salınım görünütüsü	38
Şekil 4.6.	Hidrojel salınım davranışı için farklı sıcaklıklar	39
Şekil 4.7.	BP ve hidrojellerin SEM görüntüleri	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1. Biyoaktif peptit üretiminde uygulanan optimizasyon çalışmasının deneme tasarımı	12
Çizelge 3.2. Hidrojel üretimi	14
Çizelge 4.1. Nar çekirdeği proteinlerinin fiziko-kimyasal özellikleri Te.; Tespit edilemedi	22
Çizelge 4.2. Biyoaktif peptit hidrolizasyon derecesi	24
Çizelge 4.3. Biyoaktif peptit antioksidan sonuçları	24
Çizelge 4.4. Hidrojel renk değerleri	25
Çizelge 4.5. Hidrojellerin su tutma kapasitesi/Te.; Tespit Edilemedi	28
Çizelge 4.6. Hidrojel fizikokimyasal analizleri	29
Çizelge 4.7. Hidrojellerin tekstürel özellikleri	30
Çizelge 4.8. TGA	31
Çizelge 4.9. Hidrojel örneklerinin salınımı	32
Çizelge 4.10. Hidrojel örneklerinin in vitro salınımı (%)	34
Çizelge 4.11. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları	36
Çizelge 4.12. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları	36
Çizelge 4.12. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları	37
Çizelge 4.12. FTIR spektrumları	42

SİMGELER

%: Yüzde

&: Ve

C: Derece

g : Gram

L: Litre

M: Molar

α : Alpha

μ : Microliter

KISALTMALAR

NÇY : Nar çekirdeği yağı

1. GİRİŞ

Son yıllarda değişen tüketici talepleri, kişisel beslenme tercihleri (vegan/vejeterian), artan dünya nüfusu gibi birçok nedenle hayvansal kaynaklı proteinlerin yanı sıra daha az sağlık problemlerine ve olumsuz çevresel etkilere sahip olan bitkisel kaynaklı proteinler önem kazanmaya başlamıştır (Çetiner ve ark., 2018). İnsan vücudunun temel yapıtaşı olan proteinler hem yapısal hem de işlevsel olarak kritik öneme sahiptirler. Dolayısıyla sürekli olarak beslenme yoluyla insanlar tarafından alınmak durumundadırlar. Biyoaktif peptitler proteinlerin proteazlar tarafından kısmi sindirimleri sonucunda üretilen, spesifik biyolojik özelliklere sahip olan protein türevleridir.

Nar mineral madde, vitamin, polifenol içeriği ve antioksidan etkisi yüksek olan bir meyvedir. Nar meyvesinin yaklaşık %10'u çekirdekten oluşmaktadır. Nar çekirdekleri tanelerin ayıklanıp meyve suyunun ayrılması sonucunda ortaya çıkan bir atık üründür (Ergin, 2019). Gıda sanayisinde meyve posası veya atık olarak değerlendirilme potansiyeli yüksek ürünler, gıdaların besinsel içeriklerinin artırılması amacı ile yeni sağlıklı fonksiyonel ürün üretimi ve çevre kirliliğinin azaltılıp, atık değerlendirme açısından önemlidir (Ergin, 2019).

Yapılan çalışmalar nar çekirdeklerinin protein, yağ, besinsel lifler ve polifenoller açısından zengin olduğunu ortaya koymuştur (Okumuş, 2016). Nar çekirdekleri zengin besleyici içeriği, özel beslenme gruplarına uygun olması, atık olarak meyve-sebze işleme tesislerinde açığa çıkmasından dolayı fonksiyonel gıda bileşenlerinin üretimine uygun bir hammadde olarak değerlendirilmektedir. Bitkisel proteinler yağlı tohumlar, bakliyatlar gibi çeşitli doğal kaynaklardan izole edilebilmektedirler.

Doğal bitkisel protein kaynaklarından elde edilen izolatlar ya da konsantreleri, gösterdiği fonksiyonel özelliklere göre gıda uygulamalarında kullanılabilmektedir (Çetiner ve ark., 2018). Genellikle yağlı tohumlardan protein ekstraksiyonu yıkama, kurutma, kabuklarından ayırma, yağ ve istenmeyen bileşenleri çözgen yardımıyla uzaklaştırma ve daha sonra kurutup parçalanarak toz haline getirilmesi şeklinde gerçekleştirilir. Yağlı tohumlardan proteinler genellikle alkali ekstraksiyon yöntemi (pH 9,0-11,0) ile ayrıştırıldıktan sonra izoelektrik noktada çöktürülerek santrifüjleme ile elde edilir (Çetiner ve ark., 2018). Proteinlerin tekno-fonksiyonel özellikleri arasında su – yağ tutma, çözünürlük, jel oluşturma, köpük oluşturma gibi parametreler sayılabilmektedir.

Hidrojeller, su içerisinde çözünmeden şişebilme özelliğine sahip, çapraz bağlı, üç boyutlu ağ yapılı polimerlerdir (Ulusoy & Dikmen, 2020). Hidrojellerin üç boyutlu yapısı kimyasal bağlar, iyonik etkileşimler, hidrojen bağları, fiziksel etkileşimler, Van der Waals kuvvetleri, hidrofobik etkileşimler gibi kohezyon kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşir. Hidrofobik ve fiziksel etkileşimler jelin şişme davranışını etkilemekte ve fiziksel etkileşimlerle sentezlenen çapraz bağlı hidrojellerin dış çevre koşullarından önemli derecede etkilendikleri bilinmektedir.

Hidrojel sentezi; reaksiyonun başlatılması, çapraz bağlanma ve monomerlerin karıştırılarak çapraz bağlı ağ yapılı polimerik zincirlerinin oluşması yöntemine dayanarak gerçekleştirilebilir. Hidrojeller; birçok dış çevre koşullarındaki değişimlere (iyonik şiddet, elektromanyetik ısıma, pH ve sıcaklık gibi) hacimlerini artırıp azaltarak kontrollü bir şekilde tepki vermelerinden dolayı biyomedikal, farmasötik, biyoteknoloji ve tarımsal alanda, gıda sektöründe geniş kullanım alanları bulmuştur (Hasgül, 2013).

Fonksiyonel özelliği bakımından iyi bir hidrojel ağırlığının en az %20'si kadar su/sıvı çekebilmeli, suda çözünen maddeler için geçirgen olmalı, su ile etkileştiğinde yumuşak olmalı, mekanik olarak dirençli/dayanıklı ve biyolojik olarak aktif olmalıdır. Keçiboynuzu gamı sahip olduğu gelişmiş jel oluşturma yeteneği ve mekanik direnci sayesinde daha önceki çalışmalarda bitkisel temelli hidrojel sentezlenmesi amacıyla kullanılmıştır (Şener & Hakgüder Taze, 2022). Ancak keçiboynuzu gamı ile üretilen hidrojeller fonksiyonellik bakımından istenilen özellikleri sergileyememekte ve pH, sıcaklık, iyon şiddeti gibi dış etkenlere karşı göstermiş oldukları reaksiyonlar detaylı bir şekilde çalışılmamıştır.

Bu tez çalışması kapsamında nar çekirdeği proteininden elde edilen biyoaktif peptitler keçiboynuzu gamı ile kombine edilerek hem mekanik özellikleri gelişmiş hem de fonksiyonel özelliklere sahip bir hidrojel üretimi amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra bu çalışma gıda sektörü atıklarından birisi olan meyve atıklarının değerlendirilmesi bakımından özgünlük göstermektedir. Alternatif protein kaynakları arasında sayılabilecek nar çekirdekleri fonksiyonel ve yapısal özellikte olan biyoaktif peptitlerin üretiminde kullanılmıştır. Farklı oranlarda nar biyoaktif peptitleri ile zenginleştirilmiş bitkisel hidrojeller fonksiyonel, biyolojik, tekstürel ve çevresel etkileşimlere karşı gösterdikleri reaksiyonlar bağlamında incelenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Son yıllarda narın insan sağlığı üzerine olan etkilerini konu alan çok sayıda bilimsel çalışma yürütülmüştür. Nar meyvesi hoş a giden tat-aroması ve iç erdiği önemli miktarda fonksiyonel bileş en sayesinde toplum ve bilimsel çevreler nezdinde ilgi görmeye devam etmektedir. Nar meyvesi, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra meyve suyu ve konsantresi üretimiyle beraber reç el, konserve ve dondurulmuş gıdaların eldesinde kullanılabilmektedir. Nar meyvesi aynı zamanda iç erdiği biyoaktif bileş enler nedeniyle fonksiyonel gıda olma niteliğindedir. Nutrasötiklerin, farmasötiklerin ve fonksiyonel gıdaların üretiminde nar meyvesi elde edilen öz ütler yaygın olarak kullanılmaktadır.

Nar meyvesinin iş lenmesi esnasında kabuk, meyve posası ve çekirdek gibi yüksek miktarda atık aç ığ a çı kmaktadır. Nar işleme atıklarının değ erlendirilmesine yönelik araşt ırmalar son yıllarda hız kazanmaktadır (Taşt an, 2018). Meyve işleme atıkları iç erdikleri protein, yağ, karbohidrat ve biyolojik olarak aktif bileş enler sayesinde ekonomik önem taşı maktadırlar (Öz & Süfer, 2012). Atıkların değ erlendirilmesi hem ekonomik açıdan hem de çevre bilinci nedeniyle önem taşı maktadır.

2.1. Nar Meyvesi

Nar ticari değ eri yüksek bir ürün olup günümüzde çok yaygın kullanım alanları olan değ erli bir meyve türüdür. Anadolu narın genetik çeş itliliğ inin yoğun olarak bulunduğ u bir coğ rafyadır. Bölgemizde Hicaz, Suruç, Zivzik narları yoğun olarak yetiştirilmekte ve gıda işleme tesislerinde hammadde olarak kullanılmaktadırlar. Nar meyvesi antioksidantlar, polifenolik maddeler ve C vitamini yönünden zengindir (Özden ve ark., 2017).

Narda bulunan biyoaktif bileş enlerin tümör oluşumu ve kalp-damar hastalıklarını önlemede rol oynadığı yapılan çalış malarla ortaya konulmuştur (Gündoğ du & Yılmaz, 2013). Bu etkileri sayesinde nar meyvesi fonksiyonel gıdalar grubunda yer almaktadır. Ülkemizdeki dikkat çeken nar çeş itlerinden bazıları; Hicaznar, Fellahyemez, Ekş ilik, Ernar, Katırbaş ılı, Ekş i Göknar, Lefan, Erdemli Aş ınar ve Silifke Aş ısı'dır (Taşt an, 2018). Yapılan bir çalış mada, üç farklı nar (Suruç, Hicaznar ve Suruç Karası) çeş idinin fitokimyasal iç erikleri ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Farklı nar çeş itlerinin antioksidatif ve pomolojik özellikleri karşılaşt ırılmış tır (Özden, 2017). Nar meyvesinin çeş ide bağı lı olarak farklı miktarlarda fenolik madde iç eriğ ine sahip olduğ u ve buna bağı lı olarak

antioksidan etkilerinin farklılıklar gösterdiği tespit edilmiştir.

Nar meyvesi, yenilebilir kısım, çekirdek ve meyve kabuğu olmak üzere birçok anatomik yapıdan oluşmaktadır. Yapılan bir çalışmada nar meyvesinin, nar çekirdeğinin, nar yağının, nar suyunun, nar sirkesinin, nar şarabının, nar ekşisinin antioksidan özellikleri derlenerek nar meyvesinin besinsel ve ticari değeri vurgulanmıştır (Okumuş, 2016).

Nar meyvesinin kabukları genellikle meyvenin tüketimi ve işlenmesi esnasında atık olarak açığa çıkar. Nar kabuğu antioksidan, antimikrobiyal, antihipertansif, antilipidemik ve antidiyabetik özellikler sayesinde sağlık açısından öneme sahiptir (Okumuş, 2016) ve bunun yanı sıra dikkate değer miktarda fenolik madde ve ham lif içerir. Yapılan bir çalışmada nar meyve kabuklarından elde edilen ekstraktların bazı bakteri suşlarına karşı in vitro antibakteriyel etkiye sahip olup olmadığı araştırılmıştır. Bitkinin *Streptococcus mitis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi bu çalışmada ilk kez belirlenmiştir (Tunç, 2013). Diğer bir çalışmada nar kabuğu özütü mung fasulyesi proteini ile gıda ürünlerinin paketlenmesi için biyofonksiyonel yenilebilir filmler geliştirmek amacıyla değerlendirilmiştir (Moghadam, 2020).

Nar suyu, nar meyvesinin preslenmesi ile elde edilen doğal bir meyve suyudur. Nar suyu sağlık açısından bir dizi fayda sunan besin maddeleri ve antioksidanlar içerir (Taştan, 2018). Yapılan çalışmalar narın antioksidan özelliğine, kalp sağlığını destekleme, bağışıklık sistemini güçlendirme, şeker seviyesini düzenleme, cilt sağlığını destekleme, hidrasyon sağlama etkilerine işaret etmiştir (Taştan, 2018). Nar bitkisinin farklı dokuları içerdikleri polifenolik maddelerden dolayı hayvan beslemede kullanım potansiyeli taşımaktadır ve ekonomik açıdan önem arz etmektedir. Türkiye'de bu yan ürünün antimikrobiyal ve antioksidan yem katkı maddesi olarak kullanım imkanlarının araştırılmasına yönelik araştırma geliştirme faaliyetlerinin önemi vurgulanmıştır (Sarıca, 2011). Yapılan başka bir çalışmada durultma ve pastörizasyon işlemlerinin nar suyunun toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesine etkisi incelenmiştir (Apaydın, 2008). Elde edilen sonuçlara göre nar suyunun antioksidan aktivitesinin büyük bir kısmının nar kabuğunda bulunduğu saptanmış ve yüksek antioksidan aktivite için narların mutlaka kabuklarıyla preslenmesi gerektiği tespit edilmiştir.

2.2. Nar Çekirdeği

Nar meyvesinin meyve suyuna ve konsantresine işlendikten sonra kalan

posası önemli miktarda meyve çekirdeği içermektedir. Nar suyu preslendikten sonra açığa çıkan posanın çok büyük bir kısmı nar çekirdeğinden oluşmaktadır. Nar çekirdeği tanin, antosiyanin ve polifenol gibi yüksek antioksidan özelliğe sahip olan bileşenler içerir. Daha önce yürütülen bir çalışmada nar çekirdeğinin kimyasal bileşimi araştırılmıştır (Özden ve ark., 2017). Araştırma bulgusu olarak; Hicaz çeşidi nar çekirdeğinde %50,93 kuru madde, %21,25 yağ, %37,10 protein ve %2,44 kül rapor edilmiştir. Bu verilere dayanarak nar çekirdeğinin yağ, protein ve kül bakımından önemli bir kaynak olduğu söylenebilmektedir. Yapılan aynı çalışmada yağ asitleri kompozisyonunun ise; %78,83 punisik asit, %6,83 oleik asit ve %5,81 linoleik asit olmak üzere üç farklı doymamış; %4,62 palmitik asit, %2,77 stearik asit ve %1,14 araşidik asit olmak üzere üç farklı doymuş yağ asitten müteşekkil olduğu tespit edilmiştir (Özgür ve ark., 2015).

Nar çekirdeği ile yapılan bir çalışmada, erkek sıçanlarda pentaklorofenolün antioksidan enzim etkinliklerinde azalmaya, lipid peroksidasyonuna (PCP) ve karaciğer hasarına yol açtığını belirlemişlerdir. Nar çekirdeği yağının ise PCP'nin etkilerini azaltarak koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir (Soyer-Sarıca ve ark., 2016).

Nar çekirdeği ve nar çekirdeğinden elde edilen yağın sağlık amaçlı kullanılabilirliği üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır ve bu yağın prostat kanseri, cilt kanserini önlemede, karaciğerde lipit düzeyini düşürmede önemli rol oynadığı tespit edilmiştir (Okumuş, 2016). Bir başka çalışmada nar çekirdekleri mikrodalgada ve sıcak hava yöntemleri kullanılarak kurutulup yağ elde edilmiş ve elde edilen yağın verimi kurutma yöntemine bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir (Özgür ve ark., 2015).

Nar suyu endüstrisinin yan ürünü olan açığa çıkan nar çekirdekleri besleyici ve tıbbi özelliklere sahip değerli yağ içerdiğinden, gıda uygulamalarında fonksiyonel bir madde olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Bu amaçla yürütülen bir çalışmada inovatif bir fonksiyonel içecek formülasyonuna eklenmek üzere stabil bir nar çekirdeği yağı-su emülsiyonu üretimi araştırılmıştır (Mohagheghi ve ark., 2011).

Nar çekirdeği yağının birçok kullanım alanı bulunmaktadır. Sağlık alanında da kullanılan bu yağ karbon tetra klorür (CCL4) ile kronik karaciğer hasarı oluşturan ratlarda nar çekirdeği yağı kullanılarak karaciğer dokusunda oluşabilecek lezyonlar üzerine koruyucu etkisi ve biyokimyasal değerleri araştırılıp, CCL4 ile nar çekirdeği yağı verilen deney gruplarında karaciğer dokusu üzerindeki hasarları iyileştirici etkisi

gözlenmemiştir (Ekebaş ve ark., 2020). Fakat başka bir çalışmada diyabetik yara iyileşmesinde gözlemlenen enflamasyon fazının geç başlayıp uzun süre devam etme durumunu normale çevirerek, enflamasyonu düzenleyici ve yarayı iyileştirici etkisi olduğu gözlenmiştir (Barnes, 1979).

Nar çekirdeğinin birçok kullanım alanı ile önemli miktarda protein içerdiği de bilinmektedir. Günümüzde meyve proteinleri vegan beslenme listelerinde hayvansal proteinlerin yerini alarak protein kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Nar çekirdeğinde bulunan proteinde doğal protein kaynağı olarak değerlendirilebilir. Mikroenkapsülasyon işlemi ile yağın stabilitesi sağlanırken, protein kaplaması yapılarak kapsüllerin besleyici değeri de arttırılmıştır (Yücepe, 2020).

2.3. Biyoaktif Peptitler

Biyoaktif peptitler proteinlerin spesifik olarak parçalanması sonucunda ortaya çıkan, vücut fonksiyonları ve sağlık üzerinde olumlu etkileri olan protein ürünleridir (Yalçın & Rakıcıoğlu, 2020). Kronik rahatsızlıkların önlenmesinde ve genel sağlık durumunun korunmasında biyoaktif peptitlerin kullanımına yönelik çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir (Yalçın & Rakıcıoğlu, 2020). Gıda ürünleri tüketimleri öncesinde çeşitli proseslerden geçmektedir. Gıda işleme teknolojisinde yaygın olarak kullanılan ısıtma işlemi ve fermantasyon gibi prosesler gıdalarda bulunan proteinlerin yapısını ve biyoaktif peptitlerin aktivitesini etkilemektedir. Gıda işleme adımlarının proteinler ve biyoaktif peptitler üzerine olan etkilerine dair çalışmalar bulunmaktadır (Ovchinnikov, 1979).

Biyoaktif peptitler fonksiyonel özellikleri sayesinde insan sağlığı açısından büyük öneme sahip yan ürünlerdir (Özdemir ve ark., 2021).Yapılan bir derleme kapsamında proteince zengin gıda atıklarından elde edilmiş olan biyoaktif peptitlerin fonksiyonel özellikleri ve insan gastrointestinal sisteminde sergiledikleri biyoyararlanım mekanizmaları üzerinde durulmuştur (Görgüç ve ark., 2020). Meyve çekirdeği proteinlerinin antioksidan-antimikrobiyal özellikte biyoaktif peptit üretiminde kullanılabileceğini vurgulanmıştır (Görgüç ve ark., 2020). Biyoaktif peptitler birçok alandaki pozitif etkilerine rağmen kimyasal olarak stabil olmayan, kısa in vivo yarı ömrü olan ve oral biyoyararlılığı düşük maddelerdir. Bu nedenle enkapsülasyon gibi işlemler vasıtasıyla biyoaktif peptitlerin fonksiyonelliği, biyoyararlılığı, stabilitesi gibi özellikleri geliştirilmeye çalışılmaktadır (Karlığa, 2020). Biyoaktif peptitlerin üretiminde *Spirulina platensis* algi kullanılarak en uygun üretim yönteminin tespit edilmeye çalışılmıştır. Çalışma kapsamında biyoaktif peptit

izolasyonu, saflaştırılması gerçekleştirilmiş ve elde edilen biyoaktif peptitin enkapsülasyon işleminde kullanılabilirliği araştırılmıştır (Karlığa, 2020).

Gıdalarda bulunan biyoaktif peptitler hakkında çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte ilk kez süt ürünlerinde keşfedilmiş ve bu oligomerlerin sağlık etkileri süt ürünlerinde yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Peynirlerde bulunan biyoaktif peptitler daha önce yapılan çalışmalarda tartışılmıştır (Akbal & Öner, 2021). Sığır sütü, kolostrum ve diğer süt türleri doğal biyoaktif peptitlerin en önemli doğal kaynağı olarak bilinmektedir (Özdemir ve ark., 2021). Biyoaktif peptitler süttten elde edilen kazein ve serum proteinlerinden de elde edilebilir. Süttten elde edilen biyoaktif peptitlerin insan sağlığını olumlu yönde etkilediğini gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur (Özdemir ve ark., 2021). Biyoaktif peptitlerin insanlarda sinir, gastrointestinal, kardiyovasküler ve immün sistemin gelişimine katkı sağladığı tespit edilmiştir (Özdemir ve ark., 2021).

Et kaynaklı biyoaktif peptitlerin biyolojik aktivitelerini konu alan çalışmalar da literatürde mevcuttur (Memiş & Kamiloğlu, 2021). Olgunlaştırma süreci boyunca et ürünlerindeki biyoaktif peptitlerin değişim ve dönüşümlerini inceleyen araştırmalar bulunmaktadır (Memiş & Kamiloğlu, 2021). Olgunlaştırma sürecinin et ürünlerinde biyoaktif peptit düzeyini etkilediği ve ürün bileşimi, starter kültür ve olgunlaştırma koşullarının bu durumu etkileyen değişkenler olduğu ilgili çalışmalarda belirtilmiştir (Memiş & Kamiloğlu, 2021).

2.4. Hidrojeller

Hidrojeller suda şişebilen çapraz-bağlı polimerik yapılardır. Birçok kullanım alanı bulunan hidrojeller, gıda sektöründe de kendine kullanım potansiyeli bulabilecek sistemler arasındadır. Yapılan bir çalışmada bezelye proteini ve spirulina bazlı hidrojeller üretilmiştir. Hidrojellerin işlevsel özellikleri ile gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirliği yanı sıra fonksiyonel gıda üretiminde kullanım potansiyeli araştırılmıştır (Kaynarca, 2024).

Meyve ve sebze işleme esnasında açığa çıkan atıkların değerlendirilmesi hem çevresel anlamda hem de ekonomik anlamda önem taşımaktadır. Bu amaçla vişne çekirdekleri de değerlendirilme potansiyeli yüksek bir gıda atığıdır. Vişne çekirdekleri pektin üretiminde başlangıç materyali olarak kullanılıp, soya proteini bazlı hidrojellerin üretiminde kullanılmıştır. Yapıları birbirinden farklı hidrojeller üretilip, morfolojik yapılarındaki farklılıklar taramalı elektron mikroskopundan

alınan görüntülerle karşılaştırılarak incelenmiştir (Ay & Başyigit, 2023).

Hidrojellerin biyolojik özellikleri ve biyouyumluluğu nedeni ile biyokütle kaynağı olarak kullanımını konu alan bir çalışmada, pamuk lifi hamuru, selüloz bazlı hidrojeller oluşturmak için tek bir çapraz bağlayıcı madde kullanılarak hidrojel malzemeleri olarak kullanılmıştır (Zainal ve ark., 2021).

Başka bir çalışmada ise polisakkaritle desteklenen hidrojellerin dayanıklılık özellikleri araştırılmıştır. Arap zımbı, sağlam ve dinamik özellikte hidrojel üretiminde önemli bir rol oynamıştır. Hidrojel örnekleri son derece esnek, yorulmaya dayanıklı, iyileştirilebilir ve çekme mukavemetini artırıcı performanslar sergilemiştir ve Arap zımbının hidrojel üretiminde kullanılabileceği tespit edilmiştir (Wu ve ark., 2018).

Hidrojellerin çapraz bağ yoğunluğuna göre viskozitesi ve fotopolimerizasyon kinetiği incelenmiştir (Khoushabi ve ark., 2015). Hidrojellerin denge su içeriği ve hacimsel şişme oranı değerlendirilmiş ve hidrojellerin sıkıştırma yüklemesi altındaki statik ve dinamik mekanik özellikleri incelenmiştir (Khoushabi ve ark., 2015). Hidrojellerin başka bir kullanım alanı olan sağlık alanında da doku iyileştirilmesi ve kontrollü ilaç salınımına yönelik araştırmalar devam etmektedir (Ulusoy & Dikmen, 2020). Hidrojeller yüksek su tutma kapasiteleri, dış etkenlere (pH, sıcaklık, ışık, elektrik ve manyetik alan vb.) duyarlı olma, biyouyumluluk ve biyobozunurluk gibi başlıca avantajlarından ötürü günümüzde pek çok alanda kullanılmaktadır (Yurttadur, 2023).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Nar Çekirdekleri

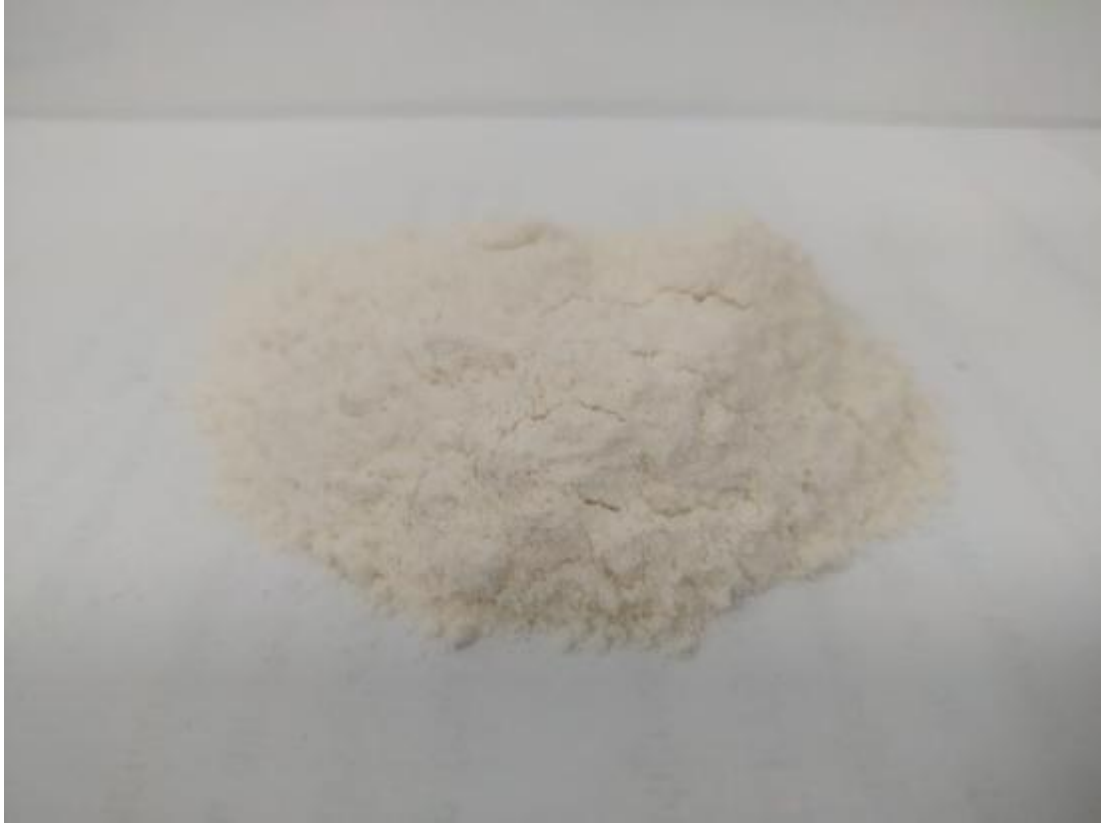
Bu tez çalışmasında Harran Üniversitesi Şanlıurfa Teknokent bünyesinde yer alan organik meyve sebze işleme tesisinde Hicaz narların işlenmesi sırasında açığa çıkan nar çekirdekleri (Şekil 3.1.) protein ve biyoaktif peptit kaynağı olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Nar çekirdekleri

3.1.2. Keçi Boynuzu Gamı

Sigma firmasından temin edilmiştir. (Şekil 3.2.)



Şekil 3.2. Keçiyoynuzu gamı

3.2. Yöntem

3.2.1. Nar çekirdeğinden protein ekstraksiyonu

Laboratuvar ölçekli bir soğuk presleme makinesi kullanılarak çekirdeklerden yağ molekülleri uzaklaştırılarak yağsız nar çekirdeği posası elde edilmiştir. Nar çekirdeği posasından protein izolasyonu amacıyla alkali ekstraksiyon ve izoelektrik noktaya bağlı protein çöktürme yöntemi kullanılmıştır. Proteinler, çözeltinin pH değeri ayarlanarak çöktürülmüştür. Yağı uzaklaştırılmış olan nar çekirdekleri destile su ile optimum pH noktasına getirilerek alkali ekstraksiyonu için 30-180 dk. oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Alkali ekstrakt kullanılarak izoelektrik çökeltme işlemi için pH değeri 4-5 aralığına kaydırılmıştır. Çöken protein peletleri dondurarak kurutma işlemi ile dehidre edilerek nar çekirdeği protein izolatu elde edilmiştir (Başyigit ve ark., 2022).

3.2.2. Biyoaktif peptit üretim optimizasyonu



Şekil 3.3. Nar çekirdeğinden üretilmiş biyoaktif peptitler

Nar çekirdeklerinden biyoaktif peptit üretimi için pepsin ve alkalaz enzimleri kullanılmıştır. Kullanılacak enzim oranlarının belirlenmesi amacı ile nar çekirdeği protein tozu guruplarının maksimum seviyede antioksidan aktivite gösterecekleri koşullar yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak tasarlanan 1 faktör 3 düzey toplam 7 deneme noktası Tablo 1’de verilmiştir.

Nar çekirdeklerinden biyoaktif peptit üretimi için pepsin ve alkalaz enzimleri kullanılmıştır. Kullanılacak enzim oranlarının belirlenmesi amacı ile nar çekirdeği protein tozu guruplarının maksimum seviyede antioksidan aktivite gösterecekleri koşullar yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak tasarlanan 1 faktör 3 düzey toplam 7 deneme noktası Tablo 1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Biyoaktif peptit üretiminde uygulanan optimizasyon çalışmasının deneme tasarımı

Deneme	Enzim karışım oranları (g/100g protein)	
	Alkalaz	Pepsin
1	1	-
2	0,25	0,75
3	-	1
4	1	-
5	0,75	0,25
6	0,50	0,50
7	-	1

Protein ekstraksiyonu sonucu elde edilen nar çekirdeği proteinlerinin ağırlıkça %5'lik çözeltileri 0,01 M fosfat tamponlu salin içinde hazırlanarak 30 dakika süresince karıştırılmıştır. Çözelti içerisine ilk önce 1/100 enzim/substrat oranında pepsin enzimi eklenip 37 °C sıcaklık ve pH 2 koşullarında 3 saat süresince hidrolize edilmiştir. Hidroliz işlemi bitiminde ikinci aşama olarak 1,0 M NaOH çözeltisi ile çözeltinin pH'ı 8,0'a ayarlanmıştır ve bu çözeltiliye 1/100 enzim/substrat oranında alkalaz enzimi eklenip çözelti 37 °C'de 3 saat süresince hidrolize edilmiştir. Daha sonra 90 °C sıcaklıkta 10 dakika süresince ısı işlem uygulanarak enzimlerin inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve hidrolizin durdurulması sağlanmıştır. İşlem sonucunda elde edilen hidrolizat solüsyonu 8000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek faz ayrımı sağlanmıştır. Enzimatik olarak hidrolize edilmiş protein solüsyonları santrifüj tip ultrafiltrasyon tüpleri (Amicon Ultra-15 Centrifugal Filters) yardımıyla molekül ağırlığına göre 10 kDa olacak şekilde ayrıştırılmıştır.

3.2.3. Hidrojellerin hazırlanması

5 farklı konsantrasyonla hidrojel üretimi gerçekleştirilip elde edilen örnekler kendi aralarında kıyaslanmıştır. Hazırlanan solüsyonlar 5 saat boyunca sürekli çalkalama altında, ortam sıcaklığında damıtılmış su ile yavaş yavaş çözülerek elde edilmiştir.

Malzemeler;

Nar çekirdeği posasından biyoaktif peptit (NPBP)

Keçiboynuzu zankı (KZ)

KZ miktarı sabit tutularak farklı konsantrasyonlarda NPBP ile karıştırılmıştır.

Hazırlanacak solüsyonların son % bileşimleri;

%0 NPBP, %3 KZ kontrol grubu,

% 1 NPBP, %3 KZ 2. deneme,

%5 NPBP, %3 KZ 3. deneme

%7,5 NPBP, %3 KZ 4. deneme

%10 NPBP, %3 KZ 5. Deneme

Hidrojeller, biyoaktif peptitlerin (%0, %1, %5, %7,5, %10) ve %3 w/v oranındaki polisakkarit (keçiboynuzu zankı) çözeltilerinin oda sıcaklığında 5 saat boyunca sürekli karıştırılmasıyla titizlikle hazırlanmıştır. Bu çözeltiler, tam hidrasyon sağlamak amacıyla gece boyunca 4 °C'de bekletilmiştir. Polisakkarit çözeltileri, damıtılmış su ile 1/1 oranında (v/v) peptit stok çözeltisi ile birleştirilmiştir. Böylece, farklı konsantrasyonlarda keçiboynuzu zankı (%3 w/v) ve biyoaktif peptit (%0, %1, %5, %7,5, %10 w/v) içeren karışımlar elde edilmiştir. Bu karışımların pH değeri 6.0'a ayarlanmış ve 200 rpm hızında çalkalayıcıda karıştırılmıştır. Ardından, bu karışımlar 30 dakika süreyle 90 °C sıcaklığa maruz bırakılmış ve sonrasında buz banyosunda oda sıcaklığına soğutulmuştur. Elde edilen hidrojeller, sonraki analizler için 4 °C'de saklanmıştır.

Çizelge 3.2. Hidrojel üretimi



3.3. Analizler

3.3.1. Nar Çekirdeği Protein Analizleri

3.3.1.1. Özütleme Verimi

Nar çekirdeklerinden izole edilen proteinler başlangıçta kullanılan örnek miktarı ile oranlanarak özütleme verimi hesaplanmıştır. Özütleme verimi Eşitlik 3.1.1'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{ÖV (\%)} = \frac{\text{TPM}}{\text{TÖM}} \times 100 \quad (3.1.1)$$

Bu denklikte;

ÖV: Özütleme Verimi(%)

TÖM: Başlangıçta Tartılmış Olan Protein Miktarı(g)

TPM: Ekstraksiyon Sonunda Tartılmış Olan Protein Miktarı (g) olarak verilmiştir.

3.3.1.2. Kuru Madde

Protein tozlarının kuru madde miktarının belirlenebilmesi için örnekler etüvde sabit tartıma gelinceye kadar 105 °C sıcaklıkta bekletilmiştir. İşlem sonunda örnekler desikatöre alınarak soğutulmuş ve ardından son tartımları alınmıştır (AOAC, 1990). Tespit edilen tartım sonuçları % kuru madde cinsinden, aşağıdaki formülle (3.1.2) hesaplanmıştır.

$$\text{Kuru Madde (\%)} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100 \quad (3.1. 2)$$

Bu denklikte;

m_0 : Tartım kabının darası(g)

m_1 : Kurutmadan önce tartım kabının darası + örnek miktarı (g)

m_2 : Kurutmadan sonra tartım kabının darası + örnek miktarı (g)

3.3.1.3. Protein Miktarı

Toplam protein miktarı Kjeldahl yöntemine göre tespit edilmiştir. Örneklerdeki ham azot miktarı aşağıdaki formüle (3.1.3) göre hesaplanmıştır. Belirlenen azot miktarı ve 6,25 azot çevrim faktörü kullanılarak toplam protein miktarı hesaplanmıştır.

$$\text{Azot (\%)} = \frac{V_1 - V_0}{V} \times N \times 0,014m \times 100 \quad (3.1. 3)$$

$$\text{Protein (\%)} = \text{Azot (\%)} \times 6,25$$

Bu denklikte;

v_1 : Titrasyonda harcanan H₂SO₄ veya HCl çözeltisi(mL)

v_0 : Kör deneme titrasyonunda harcanan H₂SO₄ veya HCl çözeltisi(mL)

N : Titrasyonda kullanılan H₂SO₄ veya HCl çözeltisinin normalitesi(0.1 N)

0,014: Azotun mili ekivalen ağırlığı

m: Alınan örneğin miktarı(g)

3.3.2. Biyoaktif Peptit Analizleri

3.3.2.1. Hidrolizasyon Derecesi

Nar çekirdeği proteinlerinden elde edilen biyoaktif peptitlerin hidrolizasyon derecesini belirlemek amacıyla bu proteinlerden elde edilen hidrolizat süspansiyonları; 0,44 M TCA ile 1/1 oranında karıştırılıp, 4 °C'de 10 dakika inkübe edilmiştir. Süre bitiminden sonra karışım 8000 g devirde 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ardından çözünen proteinlerin hidrolizasyon derecesi Bradford (1976) yöntemine göre standart protein olarak baz alınan sığır serum albümin proteini kullanılarak hesaplanmıştır. Hidrolizasyon derecesi (3.1. 4) 'de verilen denkleme göre tespit edilmiştir.

Hidrolizasyon Derecesi (%) = $\frac{\text{TCA İçerisinde Çözünen Azot Miktarı}}{\text{Toplam Azot Miktarı}} \times 100$ (3.1. 4)

3.3.2.1.1. Titrasyon yöntemi ile

1,5 gr toz bioaktif peptid örneği tartılmıştır. Örneğin üzerine 50 mL saf su eklenerek 10-15 dk süresince çözdürülmüştür. Karışımın pH'sı 7,0'ye ayarlanıp (0,1N NaOH) 10 ml %38'lik (v/v) formaldehit eklenip karıştırılmıştır. 5 dk oda sıcaklığında bekletilip 0,1N NaOH ile pH 8,5'e gelene kadar titrasyon işlemine devam edilmiştir. Sarf edilen 0,1N NaOH miktarı hesaplamalar için kullanılmıştır.

$$\% \text{ Serbest Amino Grupları} = [(A \cdot B \cdot 0.014007) / C] \cdot 100$$

$$\text{DH} (\%) = (\% \text{ Serbest Amino Grupları} / \% \text{ Toplam Azot}) \cdot 100$$

Bu denklikte;

A: Sarf edilen NaOH miktarı (mL),

B: titrasyon için kullanılan solüsyon konsantrasyonu (0,1 M NaOH),

C: örnek miktarı (g), (Noman, A. ve ark., 2018).

3.3.2.1.2. OPA reaktifi ile

OPA reaktifi hazırlanışı: 25 mL 100 mM sodyum tetraborat çözeltisi, 2,5 mL %20'lik (w/v) SDS, 40 mg OPA (1 mL), 100 µL β-merkaptotanol eklenerek son

hacim 50 mL'ye tamamlanmıştır. 10 µL örnek alınarak üzerine 3,4 mL OPA reaktifi eklenmiştir. Karışım 35oC'de 2 dk süresince bekletilmiş ve absorbens değerleri 340 nm'de okunmuştur (Morais, A. Silvestere ve ark., 2013).

$$DH (\%) = (ABS * 1.934 * d) / c$$

Bu denklikte;

ABS: örneklerin absorbensı,

d: dilüsyon faktörü,

c: protein örneğinin konsantrasyonu (g/L)

3.3.2.1.3. TCA yöntemi ile

1 ml peptit hidrolizatı 1 ml 0,44 M TCA ile karıştırılmıştır. Daha sonra 9000 rpm'de 4 derecede 10 dk santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. TCA da çözünen protein miktarını tespit etmek için Bradford yöntemi kullanılmıştır (Mohammadi ve ark., 2022).

$$DH (\%) = (TCA'da \text{ çözünen protein miktarı} / \text{örneğin toplam protein miktarı (hidrolize olmamış)}) * 100$$

3.3.3. Hidrojel Analizleri

3.3.3.1. Hidrojellerin Taramalı Elektron Mikroskobu ile Görüntülenmesi

Dondurularak kurutulmuş hidrojel numunelerinin mikro yapısı ve morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu kullanılarak izlenmiştir.

3.3.3.2. Hidrojellerin Fonksiyonel Özellikleri

3.3.3.2.1. Su tutma kapasitesi

Kütlesi 2 g olan hidrojeller, 20 dakikalık bir süre boyunca 3000×g'da santrifüjlemeye tabi tutulmuş ve su tutma yeteneklerinin incelenmiştir. Santrifüj işleminin ardından hidrojellerden ayrılan su titizlikle uzaklaştırılmıştır. Su tutma kapasitesi değerlerinin (%) belirlenmesi, hidrojellerin başlangıç ağırlığı ile santrifüjleme sonrası ağırlıklarının karşılaştırılmasıyla elde edilmiştir. Aşağıdaki

formül (3.1. 5) ile hesaplanmıştır.

$$\text{Su Tutma Kapasitesi (\%)} = \frac{m_1 \times 100}{m_2} \quad (3.1. 5)$$

Bu denklikte;

m_1 = hidrojel numunelerinin başlangıç kütlesi

m_2 = son santrifüj işleminden sonra hidrojel numunelerinin kütlesi

3.3.3.2.2. Şişme oranı

Hidrojelin merkezinden 10 mm'lik bir kübik segmentler eksize edilerek ağırlıkları ölçülmüştür. Bu kübik numune 30 dk süresince 50 °C'lik su banyosuna tabi tutulmuştur. Bu zaman aralığının tamamlanmasının ardından fazla nemi gidermek için filtre kâğıdından geçirilmiş ve elde edilen ağırlık belirlenmiştir. Şişme oranı aşağıdaki denklem (3.1. 6) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Şişme oranı (\%)} = \frac{w_1 - w_2}{w_2} \times 100 \quad (3.1. 6)$$

Bu denklikte;

w_1 = hidrojel numunelerinin ilk ağırlığı,

w_2 = hidrojel numunelerinin son ağırlığı

3.3.3.2.3. Hacim jel indeksi

Jel numunesi bir ölçüm silindire yerleştirilip, jellerin hacimleri aşağıdaki denklem (3.1. 7) ile ölçülmüştür.

$$\text{Hacim jel indeksi (\%)} = \frac{v_1}{v_2} \times 100 \quad (3.1. 7)$$

Bu denklikte;

v_1 = formüle edilmiş hidrojel numunelerinin hacmi,

v_2 = hidrojel numunelerinin toplam hacmi.

3.3.3.2.4. Protein sızdırılabilirliği

2 gram hidrojel, 0,05 M konsantrasyona ve pH 7,0'a sahip 8 ml'lik bir sodyum fosfat tampon çözeltisine daldırılmıştır. Hidrojeller daha sonra 30 dakikada bir periyodik manuel sallanma ile 2 saat oda sıcaklığında tutulmuştur. Daha sonra, numuneler 10 dakika boyunca $3000 \times g$ 'de santrifüjleme işlemine tabi tutulmuşlardır. Hidrojelden salınan süpernatanttaki çözünür protein konsantrasyonu, Bradford yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (Delimustafaoğlu & Baldemir Kılıç, 2023).

3.3.3.3. Hidrojellerin Doku Profili Analizi

Hidrojelin dokusal özellikleri, silindirik bir prob ucu (P/0,5) ile donatılmış bir TA-XT plus doku analizörü kullanılarak test edilmiştir. Analiz, HDP/90 platformu kullanılarak 5 °C'te yapıp, her numune için sertlik, yapışkanlık, esneklik, yumuşaklık ve çiğnenebilirlik değerleri belirlenmiştir.

3.3.3.4. Hidrojellerin Reolojik Analizi

Hidrojel numunelerinin viskoelastik yapılarını değerlendirmek için bir reometre ile dinamik reoloji analizi yapılmıştır. Tüm reolojik analizler için 0,5 mm boşluk ve 20 mm çapa sahip paralel plaka geometrisi kullanılmıştır. Depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G'') hidrojel numuneleri salınım testi yapılarak analiz 20°C ile 60°C'den 5°C/dk artışla sabit lineer (1,00 Hz) bir alanda sıcaklık kontrolü sağlanarak gerçekleştirilmiştir.

3.3.3.5. Hidrojellerin Gastrointestinal Salınım In Vitro Simülasyonu

Antioksidan aktivitenin ve proteinin kontrollü salınım paterni gastrointestinal sistemi (oral, gastrik ve intestinal fazlar) simüle eden in vitro simülasyon koşulları kullanılarak değerlendirilmiştir. Fizyolojik koşulları sağlamak için üç tip simüle edilmiş sıvı hazırlanmıştır. Bunlar; simüle edilmiş tükürük sıvısı, simüle edilmiş mide sıvısı ve simüle edilmiş bağırsak sıvısı kullanılarak örneklerin sindirim ortamındaki davranışları çalışılmıştır (Kamiloğlu, 2019).

3.3.3.6. Hidrojellerin Çevresel Stres Analizi

Hidrojelin salınım davranışı, pH 3 (asidik), pH 7 (nötr) ve pH 11 (bazik) olmak üzere üç farklı pH değerinde değerlendirilmiştir. Hidrojel numuneleri, farklı pH seviyelerinde hazırlanan çözeltilere yerleştirilmiş ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir. 7 saat süresince, her saat başı 1 ml numune ekstrakte edilmiştir. Alınan

numunenin yerine her seferinde 1 mL çözelti ilave edilmiştir. Hidrojelin iyonik direncini belirlemek için 0,5 M, 1 M ve 1,5 M konsantrasyonlarına sahip tuz çözeltileri kullanılmıştır (Önder & Uçar, 2021). Farklı tuz konsantrasyonlarına sahip çözeltilerde bırakılan hidrojellerin antioksidan ve protein salınımı, oda sıcaklığında 7 saat boyunca incelenmiştir. Her saat başında 1 mL numune alınmıştır. Hidrojelin sıcaklığa karşı davranışını incelemek için, numuneler çözelti içinde 25, 50 ve 75 ° C'de bırakılmıştır (Su, 2021). Her saat başı bir mL örnek alınmış ve 7 saat boyunca antioksidan ve protein salınım davranışı izlenmiştir. Alınan örneklerin antioksidan aktivite salınımı için DPPH yöntemi (Ergin, 2019) protein salınımını belirlemek için ise Bradford yöntemi kullanılmıştır (Delimustafaoğlu & Baldemir Kılıç, 2023).

3.3.4. İstatistik analizler

Tez çalışması kapsamında yapılan tüm denemeler bağımsız olarak üç kez gerçekleştirilmiştir. Ortalama değerler, standart sapmalar ve karşılık gelen grafikler OriginPro 2021b kullanılarak elde edilmiştir. Optimizasyon prosedürü için Design Expert 7.0 yazılımı kullanılmıştır. Ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar %95 güven düzeyinde ($p \leq 0,05$) hem tek yönlü varyans analizi hem de çoklu karşılaştırma testi kullanılarak belirlenmiştir. Veri kümeleri SPSS yazılımı kullanılarak oluşturulmuştur (Başyigit ve ark., 2023a).

4. BULGULAR

4.1. Nar Çekirdeği Proteini

Nar çekirdeği proteinlerinin üretimi için yağsız nar çekirdeği posası kullanılmıştır. Protein özütleme işlemi için alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemi tercih edilmiştir. Proteinlerin kurutulmasında dondurarak kurutma yöntemi uygulanmıştır (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Nar çekirdeği proteini

Nar proteinlerinin fizikokimyasal özelliklerini gösteren veriler çizelge 4.1' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre alkali ekstraksiyonu ile izole edilen nar proteini örnekleri %72,50 oranında protein içerdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Nar çekirdeği proteinlerinin fiziko-kimyasal özellikleri Te.; Tespit edilemedi

Fizikokimyasal özellikler	Değerler
Verim (%)	52,13±1,02
Toplam protein miktarı (%)	72,5±0,01
Çözünürlük (%)	81,97±0,97
Nem (%)	1,85±0,02
Su aktivitesi (a_w)	0,5±0,00
Kül (%)	2,21±0,09
Renk (L^* , a^* , b^*)	58,12±0,10 5,61±0,07 21,98±0,99
Islanabilirlik (sn)	315,37±2,70
Carr indeks	50,26±1,08
Hausner oranı	1,49±0,01
Su tutma kapasitesi (g/g protein)	Te.
Yağ bağlama kapasitesi (g/g protein)	2,56±0,01
Emülsiyon oluşturma kapasitesi (m^2/g)	8,45±0,02
Emülsiyon stabilitesi (10.dk)	52,65±1,12
Emülsiyon Stabilitesi (30.dk)	153,94±2,07
Köpük kapasitesi (%)	49,02±1,84
Köpük stabilitesi (%) (10. dk)	86,14±2,01
Köpük stabilitesi (%) (30. dk)	82,37±1,86

Protein ekstraksiyonu verimi %52,13 olarak tespit edilmiştir. Çözünürlük yeteneği proteinlerin fonksiyonel özelliklerini arttıran bir özellik olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, proteinlerin yüksek çözünürlük değerine sahip olması arzu edilir. Ayrıca, proteinler alkali ve izoelektrik noktadan uzak noktalarda daha iyi çözünürlük özelliği göstermektedirler. Nar proteini örneklerinin çözünürlük değerleri %81,97 olarak bulunmuştur. Kurutulmuş örneklerin su aktivitesi 0,25 olarak belirlenmiştir. Düşük su aktivitesi, kurutma işlemi boyunca serbest suyun istenilen seviyede buharlaştırıldığı anlamına gelmektedir. Ayrıca, bu sonuç proteinin

nem içeriği (% 1,85) ile desteklenmiştir.

Renk gıda ürünlerinde önemli kalite kriterlerinden birisidir. Besinsel liflerin neden olduğu olası renk değişiklikleri, gıdalardaki potansiyel uygulamaları sınırlamaktadır. Renk gıda bileşimi, pigmentlerin varlığı gibi birçok faktörden, özellikle de kurutma sürecinden etkilenmektedir. Nar çekirdeği proteini örneklerinde L^* değeri $58,12 \pm 0,10$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.1). Kırmızı-yeşil değerlerini veren kızarıklık (a^*) değeri NÇP' de $5,61 \pm 0,07$ olarak bulunmuştur. Bu kızarıklık değeri, lifin yapısal bütünlüğünden, pigment içeriğinden ve dağılımdan etkilenmektedir (Fernández-López ve ark., 2009). Sarı-mavi renk yoğunluğunu ifade eden b^* değeri NÇP' de $21,98 \pm 0,99$ olarak tespit edilmiştir.

Su tutma kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesi, proteinlerin su ve yağ moleküllerini tutma kabiliyetini göstermektedir. Ayrıca, proteinlerin emülsifikasyon kapasitesini değerlendirmek için önemli parametrelerdir (Ren ve ark., 2019). NÇP'nin yağ tutma kapasitesi $2,56 \pm 0,01$ olarak tespit edilmiştir. Proteinler yüksek çözünürlük, yüksek yüzey yükü ve mükemmel hidrofilik-hidrofobik aminoasit dengesi varlığında yüksek köpük kapasitesi göstermektedirler (Sathe, 2002). Çizelge 4.1'de nar çekirdeği proteininin pH değişimine göre %KSOK, %KS10 ve %KS30 değerleri yer almaktadır (KS; köpük stabilitesi). pH değerinin 2,0 olduğu noktada köpük oluşum kapasitesinin %49,02, 10. dk'da köpük stabilitesinin %86,14 ve 30. dakikada köpük stabilitesinin %82,37 olduğu tespit edilmiştir. pH 4'te ise köpük oluşumu gözlemlenmemiştir. Bunun nedeninin pH değer aralığının proteinlerin izoelektrik noktası olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Hausner oranı ve Carr indeks değeri, toz numunelerin yapışkanlığı ve akış davranışları hakkında bilgi verir. Carr indeksi ve Hausner oranı arttıkça akışkanlık azalmaktadır (Demirkıran ve ark., 2022). Nar proteininin Hausner oranı ve Carr indeks değeri sırasıyla 1,49 ve 50,26 olarak ölçülmüştür. 1,49'luk Hausner oranı, kabul edilebilir akış karakteristiğinin bir göstergesidir. Islanabilirlik değeri, toz ürünlerin suyu emme kabiliyeti hakkında bilgi verir. Nar proteininin ıslanabilirlik değeri 315,37 sn olarak belirlenmiştir. Yüksek ıslanabilirlik değeri örneklerin gösterdiği mükemmel su tutma kapasitesine bağlanabilir.

4.2. Biyoaktif peptit üretimi

Biyoaktif peptitler, alkalaz enzimi kullanılarak nar tohumu proteininden elde edilmiştir. Biyoaktif peptitlerin üretiminde, yapılan bir çalışmaya dayanan bir

yöntem kullanılmıştır (Gündoğan, 2019). Özellikle, nar tohumu proteininin bir fosfat tampon çözeltisinde (10 mM, pH 7) çözündüğü 1/20 (w/w) enzim-substrat oranı kullanılmıştır. Nar proteinleri 3 saat süresince, 50° C sıcaklıkta ve pH 8,0'de alkalaz enzim kullanılarak hidrolize edilmişlerdir. Hidrolizasyon işleminin tamamlanmasının ardından numunelerin enzimatik inaktivasyonu gerçekleştirilmiş ve hidrolize protein çözeltileri, Amicon Ultra-15 Santrifüj Filtreleri kullanılarak ultrafiltrasyon yoluyla, 10 kDa boyutundan küçük olacak şekilde ayrıştırılmışlardır. Elde edilen biyoaktif peptit çözeltileri bir kurutucu vasıtasıyla toz haline dönüştürülmüştür.

Çizelge 4.2. Biyoaktif peptit hidrolizasyon derecesi

	Titration Yöntemi (%)	TCA-Bradford Yöntemi	OPA Reaktif Yöntemi
DH(%)	9,72±0,01	14,95±0,75	3,42±0,17

Hidrolizatlar genel olarak enzimatik veya asit hidrolizasyon yöntemleriyle üretilir ve farklı zincir uzunluklarına sahip serbest amino asitlerden ve oligopeptit zincirlerinden oluşur. Proteinin hidroliz derecesi, kırılan peptit bağlarının sayısını ve mevcut peptitlerin ortalama boyutunu tanımlar. Kırılan peptit bağlarının sayısı hidroliz derecesi olarak tanımlanır. Gıda hidrolizatlarının hidroliz derecesini belirlemek için farklı yöntemler kullanılabilir. Alkalaz enzimi ile hidrolize edilen nar biyoaktif peptitlerinin hidroliz dereceleri üç farklı yöntemle belirlenmiş olup sonuçlar çizelge 4.2'de verilmiştir. Nar çekirdeği biyoaktif peptitlerinin hidroliz dereceleri titrasyon yönteminde %9,72, TCA-Bradford yönteminde %14,95 ve OPA reaktif yönteminde %3,42 olarak belirlenmiştir. Biyoaktif peptitlerin hidroliz dereceleri, alkalaz enzimi, substrat, amino asit bileşimi ve enzimolize bağlıdır.

Çizelge 4.3. Biyoaktif peptit antioksidan sonuçları

	DPPH (mmol TEAC/g)	ABTS (mmol TEAC/g)	FRAP (mmol TEAC/g)	CUPRAC (mmol TEAC/g)
Peptit	18,70±0,65	63,74±0,51	0,79±0,01	2,83±0,00

Serbest radikaller insan vücudunda oksidatif zararlar vererek kanser, alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklar gibi rahatsızlıklara neden olurlar. Antioksidanlar serbest

radikallerin neden olduğu hasarı önler ve serbest radikal temizleyicileri olarak işlev görürler. Antioksidanların oksidatif etkileri farklı mekanizmalarla ortaya çıkar. Bu çalışmada nar biyoaktif peptitlerinin antioksidan kapasitesi 4 farklı yöntemle belirlenmiştir. Serbest radikal süpürme etkisi DPPH ve ABTS analizleriyle, serbest radikallerin aktivitesini azaltıcı etkisi FRAP ve CUPRAC analizleri ile değerlendirilmiştir. Farklı antioksidan aktivite tayin yöntemiyle elde edilen sonuçlar çizelge 4.3'te mmol TEAC/g cinsinden sunulmuştur. Nar biyoaktif peptitleri için DPPH, ABTS, FRAP ve CUPRAC analizlerinin sonuçları sırasıyla 18,70 mmol TEAC/g, 63,74 mmol TEAC/g, 0,79 mmol TEAC/g ve 2,83 mmol TEAC/g olarak bulgulanmıştır. Daha önceki bir çalışmada alkalaz ve α -kimotripsin enzimlerinin deve sütü kazein proteinlerinin antioksidan aktivite değerlerinde varyasyonlar oluşturduğu bildirilmiştir (Akbal & Öner, 2021).

4.3. Hidrojel analizleri

4.3.1. Hidrojellerde renk

Hidrojel numunelerinin renk değerleri colormeter (Color Quest, Hunter Associates Laboratory, Inc., Reston, VA 22,090, ABD'de bulunan) kullanılarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.4. Hidrojel renk değerleri

Örnekler	L^*	a^*	b^*
LBG toz	90,56±0,00 ^a	0,12±0,00 ^e	10,77±0,00 ^c
BP toz	44,19±0,014 ^c	6,82±0,02 ^d	10,81±0,09 ^b
LBG hidrojel	51,15±1,96 ^b	0,40±0,13 ^{ab}	4,74±0,14 ^c
LBG- %1 BP	37,97±0,19 ^d	2,97±0,00 ^c	7,87±0,04 ^d
LBG- %5 BP	29,13±0,18 ^e	3,98±0,01 ^b	5,96±0,03 ^e
LBG- %7,5BP	28,09±0,08 ^e	3,79±0,13 ^e	5,47±0,08 ^a
LBG- %10 BP	27,61±0,07 ^e	4,22±0,06 ^a	4,66±0,19 ^a

Renk, tüketicinin karar verme mekanizmasını etkileyen önemli kalite parametrelerinden birisidir. Hidrojellerin renk parametreleri arasında farklılıklar tespit edilmiştir ($p < 0.05$) (Tablo 5). Biyoaktif peptit oranı arttıkça L^* değeri de artmıştır. Bu durum nar proteininin koyu rengine bağlanabilir. Öte yandan, biyoaktif

peptit oranındaki artış b^* değerinde bir düşüşe neden olmuştur. Bu durum hidrojel üretimi sırasında protein ve polisakkaritler arasındaki yüksek sıcaklıkta meydana gelen Maillard reaksiyonları ile açıklanabilir.



Şekil 4.2. Hidrojel görüntüleri



Şekil 4.3. Hidrojel görüntüleri

Hidrojellerin görselleri şekil 4.2 ve şekil 4.2' de sunulmuştur. Görseller, tüm hidrojellerde benzer sıkı bir yapının baskın olduğunu göstermiştir. Yapılan gözlemler, peptit miktarının hidrojellerin rengini etkilediğini tespit etmiştir. Peptit konsantrasyonu arttıkça, görüntülerde görüldüğü gibi renk koyulaşmıştır. Peptitin morfolojik yapısı örneklerde nispeten tekdüze boyut ve şekle sahip rastgele katmanlardan oluşan karmaşık bir yapı sergilemiştir. Enzim hidrolizi ile elde edilen peptitlerdeki benzer yapılar, literatür çalışmaları ile de desteklenmiştir. Hidrojellerin mikro yapılarına gelince, peptit içermeyen hidrojin (sadece %10 KBZ) büyük ve bağlı yapılara sahip olduğu görülmüştür. Peptit içeren hidrojellerin mikro yapısı, peptitlerin mikro yapısına benzerlik göstermiştir. Bununla birlikte, ekli ve büyük parçalara sahip görüntüler KBZ'den elde edilmiştir. Peptit oranı arttıkça, daha kompakt ve sert yapılara sahip hidrojeller oluşmuştur. %7,5 peptit içeren hidrojel örneğinde, daha küçük, yoğun ve kompakt mikro yapıların mevcut olduğu gözlenmiştir. FTIR sonuçları göz önüne alındığında, bu durumun hidrojen bağı sayılarının ve elektrostatik etkileşimlerin fazlalığına bağlandığı anlaşılmaktadır (Ay & Başyigit, 2023).

4.3.2. Hidrojellerin su tutma kapasitesi

Çizelge 4.5. Hidrojellerin su tutma kapasitesi/Te.; Tespit Edilemedi

Örnekler	Su tutma kapasitesi
LBG (%0)	Te.
LBG- %1 BP	Te.
LBG- %5 BP	Te.
LBG- %7,5BP	Te.
LBG- %10 BP	Te.

Protein bazlı hidrojel sistemlerine karbonhidrat ilavesi, hidrojel yapısında su tutma kapasitesinin gelişmesine neden olabilir (Ay & Başıyigit, 2023a). Keçiyoynuzu zankı ilaveli hidrojellerin içerisinde polimerlerin daha kararlı ağ yapıları oluşturdukları tespit edilmiştir ve buna göre keçiyoynuzu zankı düşük olan hidrojellerin yapısal olarak daha düşük sertliğe ve kompaktlığa sahip olduğu görülmüştür. Hidrojel yapılarının su tutma kapasiteleri tespit edilememiştir, bunun nedeni de elde edilen hidrojel yapılarının su tutma kapasitelerinin yüksek olmasıdır (Çizelge 4.5.).

4.3.3. Hidrojellerin şişme oranı

Nar biyoaktif peptit içeren hidrojellerin şişme özellikleri incelenmiş ve çizelge 4.6' da sunulmuştur. Hidrojeller, şişme özellikleri sayesinde suyu emme yeteneklerini göstermiştir. Sadece keçiyoynuzu zankı ile elde edilen hidrojin şişme oranı %5,35 olarak bulunmuştur. Nar biyoaktif peptit ilavesi hidrojellerin şişme oranını önemli ölçüde arttırmıştır ($p < 0,05$). En yüksek şişme oranı %7,5 nar biyoaktif peptit (%13,04) içeren hidrojelde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Hidrojel fizikokimyasal analizleri

Örnekler	Şişme oranı (%)	Protein Sızdırılabilirliği (%)
LBG (%0)	5,35±0,2 ^a	-
LBG- %1 BP	10,58±0,78 ^b	0,69±0,03 ^c
LBG- %5 BP	11,89±0,37 ^{ab}	2,41±0,17 ^b
LBG- %7,5BP	13,04±0,08 ^a	3,01±0,11 ^{ab}
LBG- %10 BP	12,95±0,58 ^a	3,44±0,11 ^a

Önceki bir çalışmada görüldüğü gibi tek başına protein kullanılarak oluşturulan hidrojellere göre protein ve karbonhidrat yapılarını bir arada bulunduran hidrojellerin daha yüksek şişme oranı gösterdikleri görülmüştür (Ay & Başıyigit, 2023a). Bunun nedeni de yapısında protein ve karbonhidrat bulunduran hidrojellerin ağ yapıları arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerinin mekanik olarak dirençli jellerin oluşmasına olanak sağlamasıdır. Sonuç olarak kompozit jel yapılarının üstün şişme özelliği gösterdiği tespit edilmiştir.

4.3.4. Hidrojin protein sızdırılabilirliği

Hidrojellerin protein sızdırılabilirliği sodyum fosfat tamponuna yerleştirilerek belirlenmiş ve sonuçlar çizelge 4.6' da sunulmuştur. Protein sızıntısı hidrojeller için istenmeyen bir durumdur. %1, 5, %7,5 ve %10 nar biyoaktif peptitleri içeren hidrojellerin protein sızdırma değerleri sırasıyla %0,69, %2,41, %3,01 ve %3,44 olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, nar biyoaktif peptit oranının yükselmesiyle protein sızma değerlerinin arttığını göstermiştir.

4.3.5. Hidrojellerin doku analizi

Biyoaktif peptitlerin ve hidrojellerin dokusal özelliklerini bulmak için, bir TA-XT artı doku analizörü (Stable Micro Systems Ltd., Godalming, Surrey, İngiltere) kullanılmıştır. Dokusal analizi yapmak için HDP/90 platformu ile birlikte silindirik bir prob ucu (P/0.5) kullanılmıştır (Urganci & Isik, 2021).

Çizelge 4.7. Hidrojellerin tekstürel özellikleri

Örnekler	Sertlik	Yapışkanlık	Esneklik	Yumuşaklık	Çiğnenebilirlik
LBG	2008,18±64,13 ^b	-115,63±2,95 ^b	0,60±0,00 ^b	11,52,08±7,07 ^a	579,09±9,19 ^a
LBG- %1 BP	2067±75±103,39 ^{ab}	-126,78±0,70 ^{ab}	0,62±0,00 ^{ab}	1230,64±2,83 ^c	688,72±4,10 ^c
LBG- %5 BP	2116,65±72,00 ^{ab}	-159,28±8,01 ^{ab}	0,53±0,00 ^{ab}	1257,42±9,06 ^c	709,31±1,41 ^c
LBG- %7,5BP	2440,96±97,73 ^{ab}	-137,25±8,06 ^a	0,63±0,00 ^a	1461,89±6,36 ^b	870,11±6,36 ^b
LBG- %10 BP	2286,96±26,68 ^a	-139,03±6,67 ^a	0,60±0,00 ^a	1389,35±7,07 ^a	770,32±5,11 ^a

Hidrojellerin doku profilleri gıda ve farmasötik uygulamalarda kullanım potansiyellerini göstermektedir. Keçiboynuzu zambkı ve nar biyoaktif peptit bazlı doğal hidrojellerin sertlik, yapışkanlık, esneklik, yumuşaklık ve çiğnenebilirlik değerleri çizelge 4.7’de sunulmuştur. Nar biyoaktif peptit ilavesi sertlik değerini arttırmıştır. Keçiboynuzu zambkının tek başına sertlik değeri 2008,18 iken, %7,5 nar biyoaktif peptit ilavesi ile 2440,96 sertlik değeri göstermiştir.

Bununla birlikte, %10 nar biyoaktif peptit ilavesi hidrojelinde sertlik değerini nispeten azaltmıştır. Sertliği daha yüksek olan (%7,5 nar biyoaktif peptit içeren) jelin morfolojik yapılarının daha düzenli olduğu SEM görüntüleri ile desteklenmiştir. Daha yüksek sertliğe sahip jellerin daha düzenli bir mikro yapıya sahip olduğu daha önceki araştırmalarda da vurgulanmıştır (Korkut ve ark., 2024).

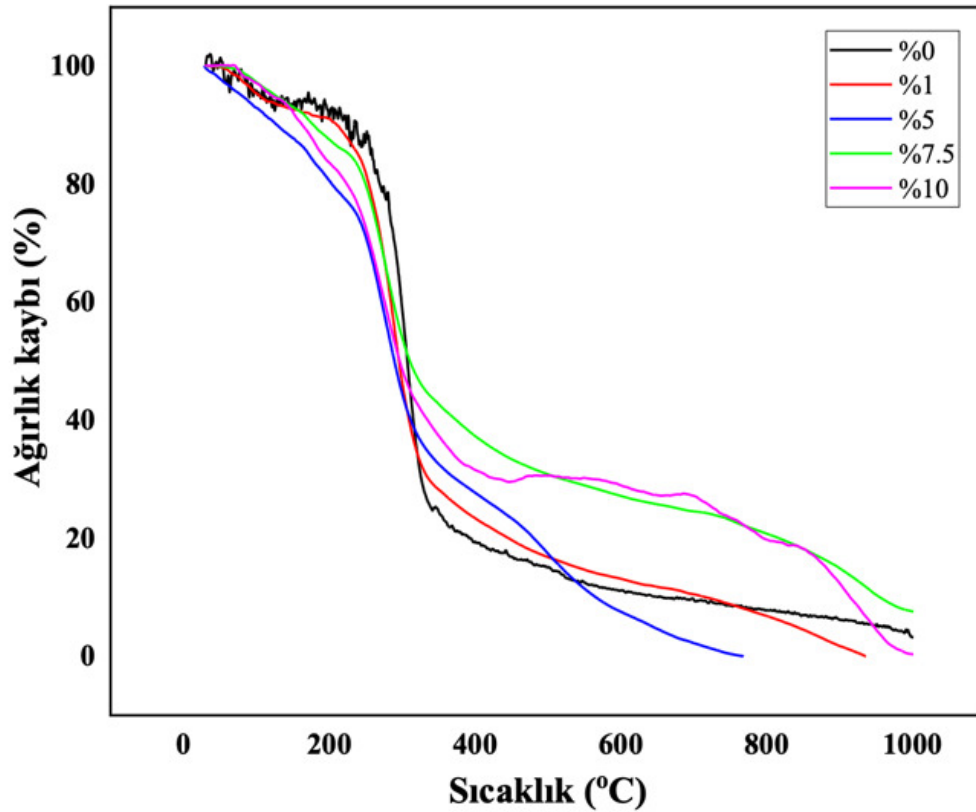
Keçiboynuzu zambkı bazlı hidrojellere nar biyoaktif peptit ilavesi jel yapısının esnekliğini ve çiğnenebilirliğini iyileştirmiştir. Bu özellikler en iyi % 7,5 nar biyoaktif peptit ilavesiyle elde edilmiştir (Çizelge 4.7.). Bu karakteristik dokusal davranışlar nar biyoaktif peptitlerini içeren jellerin üstün yapısal bütünlüğe sahip olduğunu göstermiştir. %7,5 nar biyoaktif peptit içeren hidrojelinde sert ağ yapısı hidroksil grupları tarafından oluşturulan daha güçlü hidrojen bağlarının varlığı ile

ilişkilendirilebilir.

4.3.6. Hidrojellerin termal karakterleri

Termal değerlendirmeler Termogravimetrik Analizör (DTG-60H, Shimadzu) kullanılarak yapılmıştır. Dondurularak kurutulmuş toz numuneleri (biyoaktif peptit ve hidrojeller) (3-5 mg) dikkatli bir şekilde platin kaplara yerleştirilerek azot atmosferi altında analize tabi tutulmuştur. Sıcaklık 10 K / dk oranında 30 ila 1000 ° C aralığında artmıştır.

Çizelge 4.8. TGA



Peptit hidrojellerin termal bozunma davranışları TGA eğrileri ile incelenmiştir. Çizelge 4.8’de, hidrojel numunelerinin TGA eğrileri sunulmuştur. Tüm hidrojeller için termal bozunma 3 adımdan oluşmaktadır.

İlk aşamada, numune ağırlığının yaklaşık %11’i kaybedilmiştir. Bu olay, serbest ve bağlı suyun desorpsiyonuna bağlanmıştır (Öz & Süfer, 2012).

İkinci aşama yaklaşık 210 °C’de başlamıştır ve 390 °C’de sona ermiştir. Bu

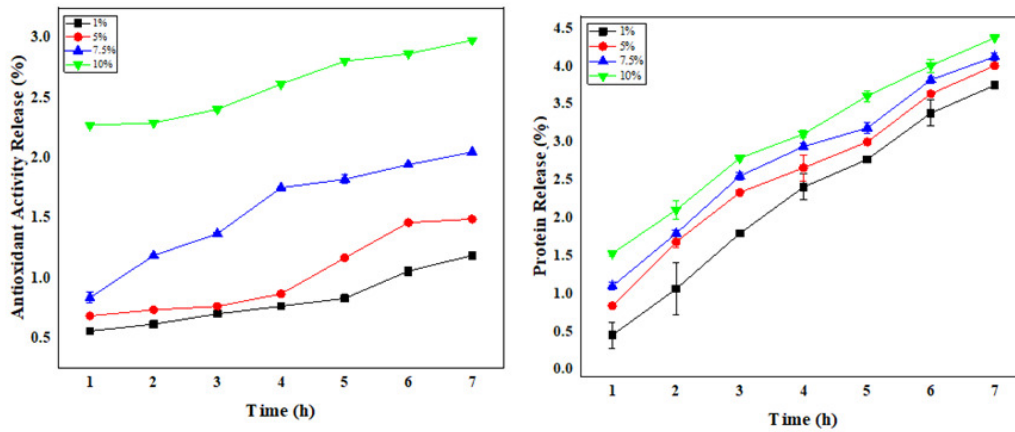
sıcaklık aralığında %80 (%0 peptit içeren hidrojel), %75 (%1 peptit içeren hidrojel), %72 (%5 peptit içeren hidrojel), %65 (%10 peptit içeren hidrojel) ve %59 (%7,5 peptit içeren hidrojel) hidrojel ağırlık kayıpları meydana gelmiştir. Numuneler için bu sıcaklıkta meydana gelen olaylar moleküler zincirin termal ayrışması ile ilişkilendirilmiştir (Kamiloglu, 2019).

Üçüncü ve son termal aşamada, hidrojellerde yaklaşık % 15-20 oranında ağırlık kaybı meydana gelmiştir. Termal olaylar 1000 °C'ye kadar devamlılık göstermiştir. %7,5 peptit içeren hidrojelde az miktarda kütle kalıntısı tespit edilmiştir. Bu, daha fazla hidrojen bağı ile ilişkilendirilmiş ve FTIR spektrumları tarafından da doğrulanmıştır.

4.3.7. Hidrojellerin antioksidan ve protein salınımı

Hidrojel örneklerinin antioksidan aktivite ve in vitro salınım dinamikleri daha önce yayınlanan bir metot üzerinde bazı modifikasyonlar yapılarak değerlendirilmiştir (Yücel & Karatoprak, 2020). Bu prosedürde hidrojel sistemleri oda sıcaklığında 0,2 M sodyum fosfat tamponuna (pH 7,0) daldırılmıştır. Daha sonra 1 mL salınım çözeltisi, 7 saat süresince her 60 dakika aralıklarla bir pipet kullanılarak alınmıştır. Çekilen hacme göre ek sodyum fosfat tamponu geri eklenmiştir.

Çizelge 4.9. Hidrojel örneklerinin salınımı



PBS'de (0,2 M, pH 7,0) peptit yüklü hidrojellerin antioksidan aktivite ve protein salınım davranışı araştırılmıştır. Analiz, 7 saat boyunca oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Grafikler, hidrojellerin antioksidan aktivitesine ve protein salınımına göre zamanın bir fonksiyonu olarak hazırlanmış ve elde edilen veriler

çizelge 4.9’de verilmiştir.

Hem antioksidan aktivitede hem de protein salınımında zamana bağlı artan değerler gözlenmiştir. Bu değerlerin hidrojellerin yapısındaki peptit konsantrasyonu miktarları ile doğrudan ilişkili olduğu tespit edilmiştir. 7 saatin sonunda, %10 peptit içeren hidrojel numunesinde maksimum oranda salınım meydana gelmiştir. %10 peptit içeren hidrojel numunesi, yaklaşık %3 antioksidan aktivite salınımı ve %4,5 protein salınımı sergilemiştir. Analiz edilen tüm hidrojel örneklerinin salınım davranışı kabul edilebilir seviyede bulunmuştur. Bu fenomen, hidrojellerin yüksek polisakkarit içeriği ve kompakt yapısı ile ilişkilendirilmiştir.

Literatürde kafeik asit ve bazı ilaçlarla benzer çalışmalar yapılmıştır ve bu çalışmaların sonuçları %5'in oldukça üzerinde olduğu görülmüştür (Yücel & Karatoprak, 2020). Sonuçların değerlendirildiğinde, tez çalışması kapsamında üretilen hidrojellerin tıbbi ve farmasötik uygulamalarda biyoaktif bileşen taşıyıcısı olarak kullanım potansiyeline sahip oldukları ortaya konulmuştur. Biyoaktif peptit içeren hidrojeller biyoaktif bileşen salınımı açısından önceki çalışmalara göre daha üstün davranışlar sergilemiştir.

4.3.8. İn vitro ve gastrointestinal salınım davranışı

Oral faz simülasyonu için, üç gramlık hidrojeller 4,8 ml’lik bir SSF (simüle edilmiş tükürük sıvısı) çözeltisine daldırılmıştır. Daha sonra, α -amilaz (75 U / mL’lik bir enzim aktivitesi ile) ve 25 μ L kalsiyum klorür çözeltisi (0,3 M) kombinasyonu eklenmiştir. Karışımın pH’ı 1 M sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak 7,0’a ayarlanmış ve toplam hacim damıtılmış su kullanılarak 9 mL’ye getirilmiştir. Karışım daha sonra bir su banyosunda 37 ° C’de 2 dk boyunca karıştırmaya tabi tutulmuştur.

Gastrik faz simülasyonu için, oral bolusun 4,5 mL’si (tükürük tarafından sindirilen hidrojel) 4,095 mL SGF (simüle edilmiş mide sıvısı) ile karıştırılmıştır. Sindirim işlemi, pepsin (2000 U / mL), 2,25 μ L 0,3 M kalsiyum klorür çözeltisi, pH’ı 3,0’a ayarlamak için 1 M hidroklorik asit çözeltisi ve 402,75 μ L damıtılmış su eklenerek başlatılmıştır. Karışım bir su banyosunda 37 ° C’de 2 saat süresince karıştırılmıştır.

Bağırsak fazı simülasyonu için, 4,5 mL kimüs (mide sıvısı tarafından sindirilen hidrojel) içeren bir cam şişe 4,1625 mL SIF (simüle edilmiş bağırsak

sıvısı) ile karıştırılmıştır. Karışım, enzimler (pankreatin), 45 mg safra tuzları, 10 µL 0,3 M kalsiyum klorür çözeltisi, pH'ı 7,0'a ayarlamak için 1 M sodyum hidroksit çözeltisi ve 328,50 µL damıtılmış su ile desteklenmiştir. Sindirim işlemi, bir su banyosunda 37 ° C'de 2 saat karıştırılarak sürdürülmüştür. Tüm aşamalardan alınan örnekler kurutulmuştur. Antioksidan aktivite için DPPH yöntemi (Ergin, 2019) ve protein miktarını belirlemek için Bradford yöntemi kullanılmıştır.

Çizelge 4.10. Hidrojel örneklerinin in vitro salınımı (%)

Örne kler	Ağız		Mide		Bağırsak	
	Bradford	DPP H	Bradford	DPP H	Bradford	DPP H
LBG	-	-	-	-	-	-
LBG- %1 BP	0,52± 0,01	0,49±0,00	5,56± 0,01	5,42±0,02	24,37 ±0,02	24,12±0,02
LBG- %5 BP	1,24± 0,00	1,16±0,00	6,82± 0,02	6,13±0,00	26,51 ±0,00	25,84±0,01
LBG- %7,5B P	1,53± 0,00	1,34±0,00	8,65± 0,01	7,93±0,01	30,65 ±0,01	29,69±0,02
LBG- %10 BP	2,01± 0,01	1,93±0,01	10,95 ±0,00	9,91±0,00	32,98 ±0,02	31,85±0,02

Farklı konsantrasyonlardaki peptitlerle oluşturulan hidrojellerin ağız, mide ve bağırsaklarda salınım davranışı araştırılmıştır. Simüle edilmiş gastrointestinal sindirime maruz kalan hidrojel örneklerinin protein ve antioksidan salınımı değerleri çizelge 4.10'da verilmiştir.

Peptitler, kaynak, miktar ve amino asit bileşimi ile yüksek oranda ilişkili antioksidan kapasitelere sahiptir (Yüksel & İnanç, 2022). Bu nedenle, hidrojin peptit içeriği antioksidan aktivitesine katkıda bulunduğundan, yüksek peptit içeriğine

sahip hidrojinin sindirim sırasında yüksek salınım yapması beklenmiştir. Oral fazda, tm hidrojinler 2 dakikalık tedaviden sonra çok az salınım davranışını göstermiştir. En yüksek peptit oranına (%10) sahip hidrojin, diğerk hidrojinlerden daha yüksek salınım sergilemiştir ancak mide ve bağırsak evresine göre, salınımın çok düşük bir oran olduğu görülmüştür (% 2,01 protein, % 1,93 antioksidan aktivite salınımı).

Mide fazında 2 saatlik sindirim işleminin sonunda hidrojinlerin salınım davranışında bir artış tespit edilmiştir. Bu aşamada %10 peptitli hidrojin en yüksek salınım davranışını sergilemiştir (%10,95 protein, %9,91 antioksidan aktivite salınımı). Kurkumin yüklü hidrojin örneklerinde de benzer değerler görülmüştür (Ay & Başığit, 2023).

Bağırsak fazında 2 saatlik sindirimden sonra, numunelerin salınım oranları artmaya devam etmiştir. %1 peptit içeren hidrojin numunesi, dönem sonunda en az salınım davranışını sergilemiştir (%24,37 protein, %2412 antioksidan aktivite salınımı). %10 peptit içeren hidrojin numunesi en fazla salınımın meydana geldiği örnek olarak öne çıkmıştır (%32,98 protein, %31,85 antioksidan aktivite salınımı). %5 ve %7,5 peptit içeren hidrojin numuneleri sindirim süresi boyunca diğerk hidrojinlere oranla daha ortalama salınım değerleri göstermişlerdir (izelge 4.10.). Daha yavaş salınım hızı, daha yüksek biyoerişilebilirliği ve biyoyararlanımı gösterdiği tespit edilmiştir (Yüzer, 2023).

Çalışmamızdaki tüm değerler göz önüne alındığında NBP ve KBZ biyomateryalleri ile üretilen hidrojin sistemlerinin; biyoaktif maddeler için yüksek verimli, kontrol edilebilir taşıyıcıları olarak kullanılabilecekleri fikri ortaya çıkmıştır.

4.3.9. Hidrojinlerin evresel strese karşı davranışları

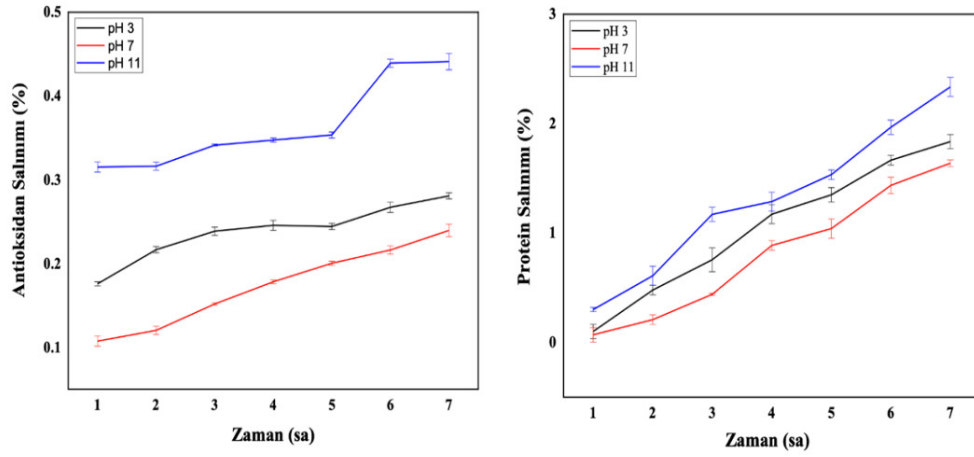
Elde edilen veriler, %7,5 biyoaktif peptit içeren hidrojinlerin tekstürel ve salınım özellikleri bakımından ne çıktığını göstermektedir. Bu nedenle, %7,5 biyoaktif peptit içeren hidrojin örnekleri çeşitli çevresel streslere maruz bırakılmıştır. Örneklerin antioksidan ve protein salınım özellikleri; farklı pH değerleri, iyonik stres (farklı konsantrasyonlardaki tuz çözeltileri) ve sıcaklık koşulları altında izlenmiştir. Elde edilen veriler grafiklerde gösterilmektedir.

%7,5 peptit içeren hidrojin, diğerk hidrojinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerine, dokusuna ve termal davranışına göre en iyi örnek olarak seçilmiştir. Bu hidrojinin farklı pH, tuz konsantrasyonu ve sıcaklıkta salınımları grafiklerde

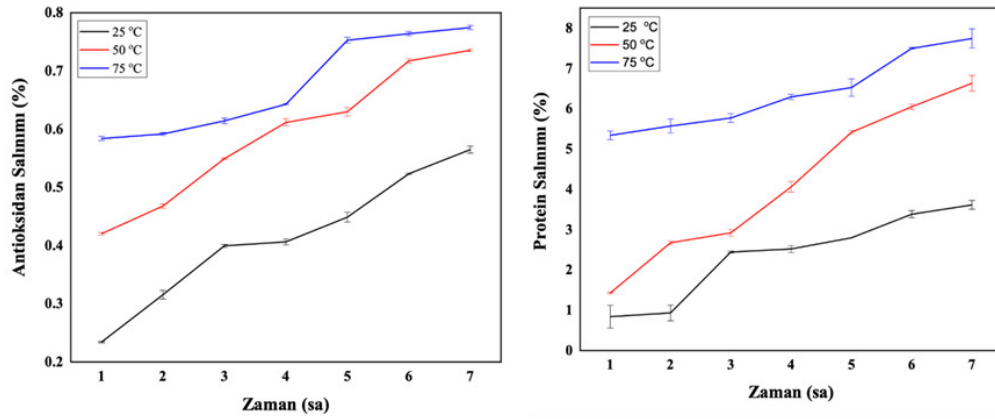
vurgulanmıştır.

Hidrojellerin antioksidan aktivitesi ve protein salınım profili 7 saat boyunca takip edilmiştir.

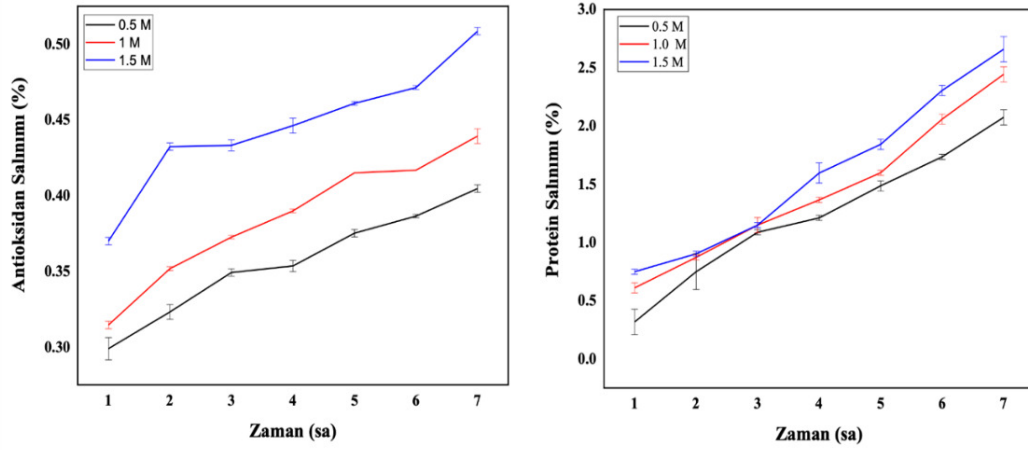
Çizelge 4.11. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları



Çizelge 4.12. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları

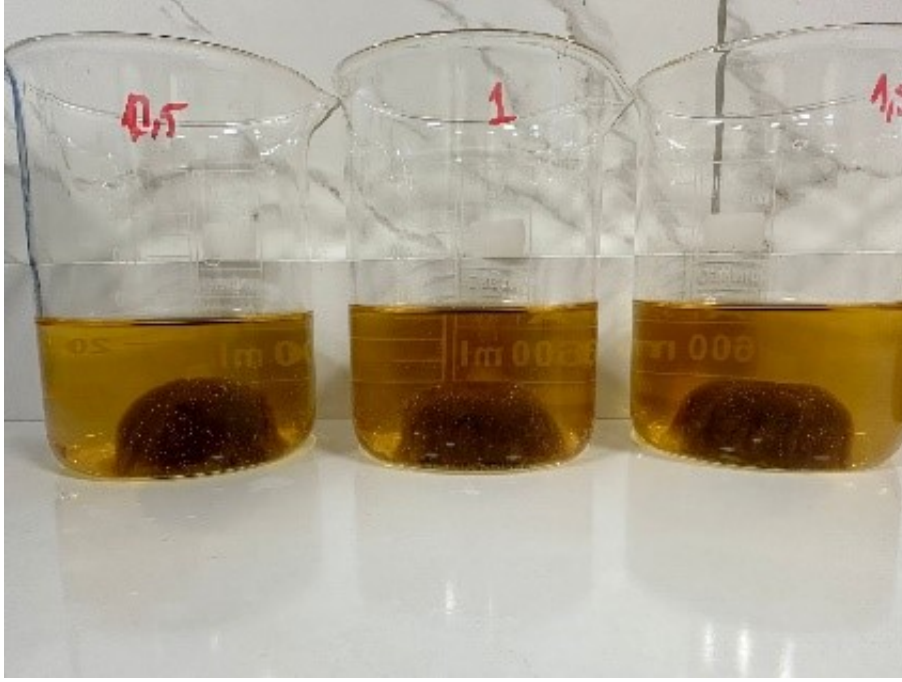


Çizelge 4.12. Hidrojellerin çevresel streslere bağlı antioksidan ve protein salınımları



Şekil 4.4. pH değişimine göre salınım davranışı

Hidrojel numuneleri, pH 3 (asidik), pH 7 (nötr) ve pH 11 (bazik) olmak üzere üç farklı pH değerine sahip çözeltilere yerleştirilmiştir (Şekil 4.4.). Hidrojelin salınım davranışı, çözeltilerden her saat başı numune alınarak araştırılmıştır. Burada en yüksek salınım pH 11'de, en düşük salınım ise pH 7'de gözlenmiştir. İzoelektrik noktadan uzaklaştıkça protein çözünürlüğünün arttığı ve dolayısıyla salınım davranışının da arttığı düşünülmektedir. Ancak protein salınımının, antioksidan aktivite salınımından daha fazla artış gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Hidrojelin farklı konsantrasyonlardaki tuz çözeltileri içerisindeki salınım görüntüsü

Farklı pH'larda gözlenen salım davranışı, farklı konsantrasyonlardaki (0,5 M, 1,0 M, 1,5 M) tuz çözeltilerinde de tespit edilmiştir (Şekil 4.5.). En yüksek antioksidan ve protein salınımının, tuz konsantrasyonu en yüksek olan çözeltide (1,5 M) olduğu görülmüştür. Ancak, protein salınımının antioksidan salınımından daha yüksek olduğu bulunmuştur. En düşük salınımın 0,5 M konsantrasyonlu tuz çözeltisinde olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, antioksidan özelliğin tuz konsantrasyonu artışı ile ilişkilendirilmiştir.



Şekil 4.6. Hidrojel salınım davranışı için farklı sıcaklıklar

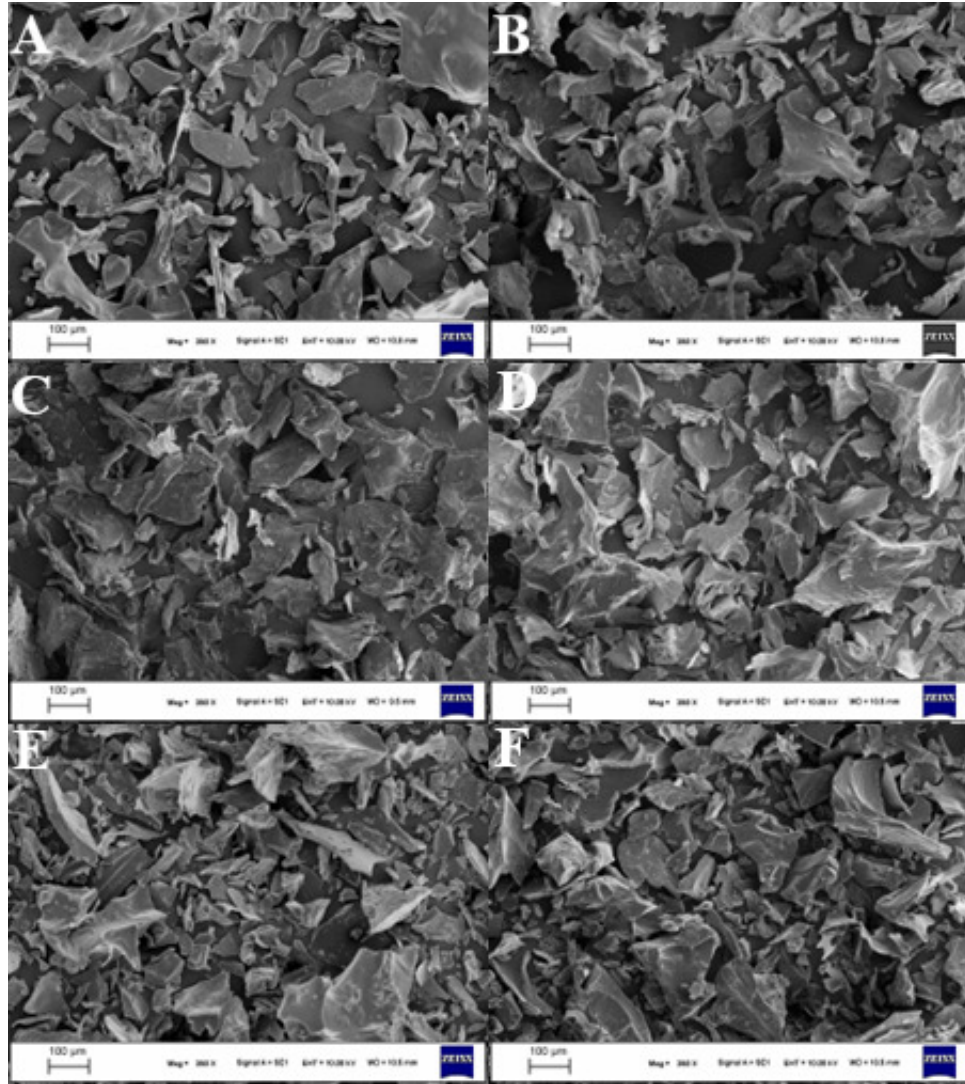
Hidrojel numunelerinin sıcaklığa karşı salınım davranışı 25, 50 ve 75 °C'de incelenmiştir (Şekil 4.6.). Sıcaklığa karşı salınım davranışında, tuz ve pH özelliklerine göre daha yüksek protein salınımı olduğu tespit edilmiştir. 75 °C'de 7 saatte %8 oranında protein salınımı gerçekleşmiştir. Ancak, antioksidan aktivite salınım davranışı için aynı şeyi söylemek mümkün değildir. Protein salınımı 75 °C'de %8 civarındayken, antioksidan aktivite salınımı sadece %0,8 olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivitenin sıcaklıktan doğrudan etkilenecek etkinliğini kaybettiği bilinmektedir (Meral, 2016).

Sonuçlar göz önüne alındığında, peptit hidrojellerin yalnızca tıbbi ve farmasötik alanlarda biyoaktif bileşen taşıyıcı olarak değil, aynı zamanda gıda endüstrisinde, özellikle gıda işleme süreçlerinde de önemli bir potansiyele sahip olduğu anlaşılmaktadır.

4.4. Biyoaktif Peptit ve Hidrojellerin Taramalı Elektron Mikroskobu Görüntüleri

Biyoaktif peptit ve hidrojel örneklerinin morfolojisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) (ZEISS Sigma 300 Alan Emisyonu SEM, Oberkochen, Almanya) (Mohammed & Abdullah, 2018) kullanılarak incelenmiştir. Görüntülemeye önce, dondurularak kurutulmuş numuneler, altın-paladyum ile vakum destekli bir kaplama

işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen görüntüler 2,00 kx ve 5,00 kx büyütme düzeylerinde yakalanmıştır



Şekil 4.7. BP ve hidrojellerin SEM görüntüleri

(A: Nar BP, B: %0 NBP-H, C: %1 NBP-H, D: %5 NBP-H, E: %7.5 NBP-H, F: %10 NBP-H)

Bu bölümün amacı biyoaktif peptitlerin ve hidrojellerin yapısal özelliklerini ve morfolojik yapısını incelemektir. Hidrojel örneklerinin SEM görüntüleri Şekil 13’ te sunulmuştur. Görseller, tüm hidrojellerde benzer sıkı bir yapının baskın olduğunu göstermiştir. Peptit miktarı hidrojellerin rengini belirlemiştir. Peptit konsantrasyonu arttıkça renk koyulaşmıştır. Biyoaktif peptitlerin ve hidrojellerin SEM görüntüleri Şekil 13’ te verilmiştir.

Peptitin morfolojik yapısı, (Şekil 13. A) nispeten tekdüze boyut ve şekle sahip ayrıca rastgele katmanlardan oluşan karmaşık bir yapı sergilemiştir. Enzim hidrolizi ile elde edilen peptitlerdeki benzer yapılar literatür çalışmaları ile de desteklenmiştir.

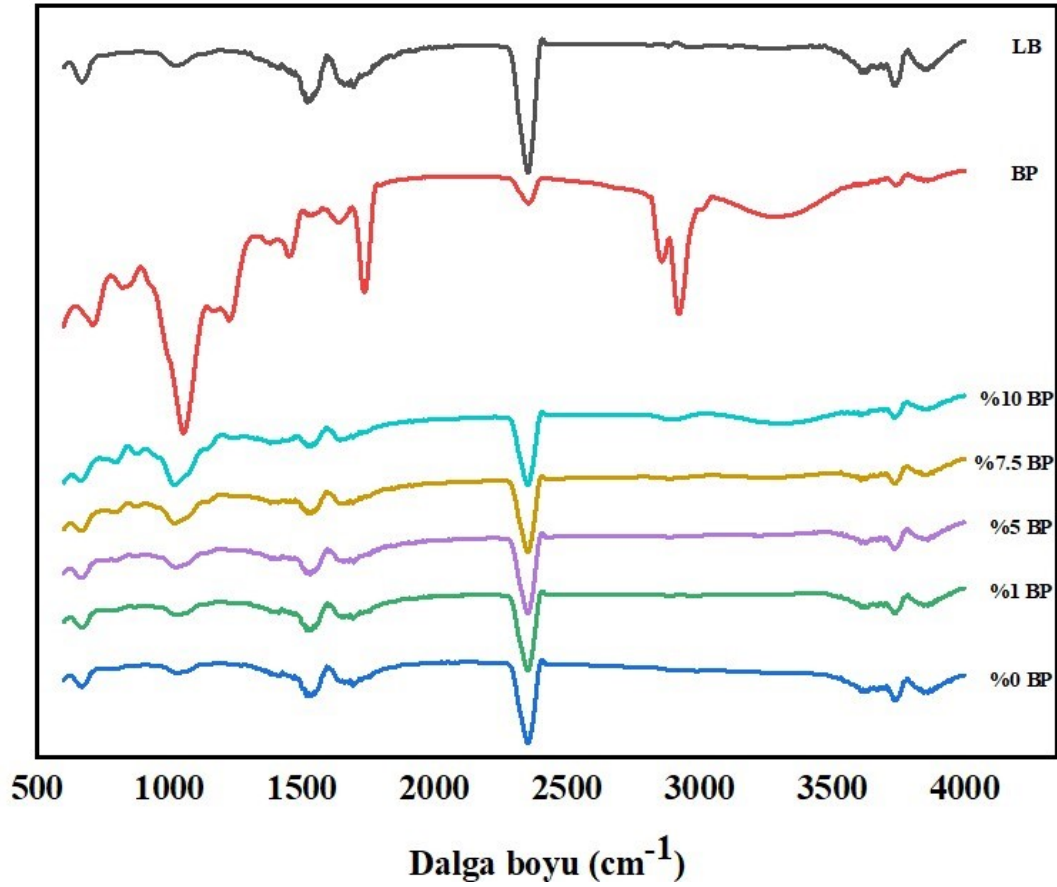
Hidrojellerin mikro yapıları ise, peptit içermeyen hidrojin (sadece %10 LBG) büyük ve bağlı yapılara sahip olduğu görülmüştür. Peptit oranı arttıkça daha kompakt ve sert yapılara sahip hidrojeller oluşmuştur. %7.5 peptit içeren hidrojel örneğinde daha küçük, yoğun ve kompakt mikro yapıların mevcut olduğu gözlenmiştir.

Elde edilen görüntüler ve FTIR sonuçları göz önüne alındığında gözlemlenen bu durumun yapı içerisinde daha fazla sayıda hidrojen bağına sahip olması ve elektrostatik etkileşimlerin fazlalığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca, bu fenomen, jellerin fonksiyonel özellikleri ve mekanik davranışı ile doğrulanmıştır.

4.5. FTIR analizi biyoaktif peptit ve hidrojeller

Dondurularak kurutulmuş biyoaktif peptit ve hidrojel örneklerinde bulunan fonksiyonel grupları aydınlatmak için, bir IRTracer-100 (Kyoto, Japonya merkezli Shimadzu Corporation) cihazı kullanılarak FTIR spektroskopisi analizi yapılmıştır. Ölçümler, 500-4000 cm^{-1} spektral aralığını kapsayan 1 cm^{-1} 'lik yüksek bir çözünürlükle gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4.12. FTIR spektrumları



Polisakkarit ve peptit arasındaki olası moleküller içi/moleküller arası etkileşimleri belirlemek için hidrojel örneklerinden elde edilen FTIR spektrumları incelenmiştir. Keçiyoynuzu zamkı, nar çekirdeği biyoaktif peptiti ve dondurularak kurutulmuş hidrojel sistemlerinin FTIR spektrumları çizelge 4.12’de sunulmuştur. Keçiyoynuzu zamkı FTIR spektrumlarında, 2935 cm^{-1} ’de (CH, CH₂ ve CH₃) C-H gerilmesinin karakteristik pikleri tespit edilmiştir. Ayrıca karbonhidrat bölgesi olarak adlandırılan 1300-750 cm^{-1} dalga boylarında, 1140 cm^{-1} (O-H bükme), 1027 cm^{-1} (C-O-H germe) (Singh ve ark., 2022) , 875 cm^{-1} (β bağlı D-mannopiranoz birimleri) ve 820 cm^{-1} (α bağlı d-galaktopiranoz) keçiyoynuzu sakızına ait olan zirve noktaları gözlenmiştir.

Daha önceki çalışmalara göre spektrumlarda amid I (1700-1600 cm^{-1}), amid II (1600-1500 cm^{-1}) ve amid III (1300-1200 cm^{-1}) bantları olan ayırt edici peptit özellikleri tespit edilmiştir. Amid I bantları C=O gerilme ile ilişkilidir, amid II ve amid III bantları C-N gerilme/N-H eğilme titreşimine karşılık gelir (Orta kızılötesi bölgede Fourier dönüşüm spektroskopisi ile gıda proteinlerinin ikincil yapısı). Bu bantlar peptit spektrumunda 1652 cm^{-1} (amid I), 1511 cm^{-1} (amid II) ve 1249 cm^{-1}

(amid III) dalga boylarında tespit edilmiştir.

Hidrojellerin FTIR spektrumlarında, peptit içermeyen hidrojelde (%0) LBG'nin tüm spesifik pikleri tespit edilmiştir. Peptit içeren hidrojellerde keçi boynuzunun spesifik pikleri de gözlenmiştir. Peptit konsantrasyonu arttıkça piklerin derinliği artış göstermiştir. Bununla birlikte, hidrojeldaki peptit oranının artmasıyla FTIR spektrumlarında önemli değişiklikler meydana gelmiştir. Peptit oranı arttıkça özellikle amid I bantlarında kaymalar gözlenmiştir. Amid I bandı en düşük konsantrasyondan en yükseğe doğru sırasıyla 1653 cm⁻¹ (%0), 1655 cm⁻¹ (%1), 1660 cm⁻¹ (%5), 1667 cm⁻¹ (%7,5) ve 1664 cm⁻¹ (%10) dalga boylarında bulunmuştur. En yüksek dalga boyu kayması %7,5 peptit konsantrasyonuna sahip hidrojelde gözlenmiştir. Bu varyasyonlar, hidrojel sistemleri içindeki moleküller arası hidrojen bağlarının miktarının artmasıyla açıklanabilir. Bu fenomen, LBG ile karboksil peptit grubu arasında oluşan hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşimlere bağlanabilir.

Hidrojen bağlarının ve elektrostatik etkileşimlerin bolluğu, fonksiyonel ve mekanik özellikleri açısından hidrojel sistemlerine belirgin faydalar sağlar (Başyigit ve ark., 2023b). Bu sonuçlar, çalışmamızda gözlemlenen sonuçlarla örtüşmektedir.

5. TARTIŞMA

Nar meyvesi, taze meyve olarak tüketilmesinin yanı sıra; gıda sanayiinde meyve suyu, nar ekşisi ve nar şarabı gibi birçok gıdanın üretiminde kullanılabilen bir üründür. Sadece gıda sanayiinde değil kozmetik ve ilaç sanayiinde kullanım alanları mevcuttur. Nar meyvesinin işlenmesi sırasında atık olarak kabuk ve çekirdek gibi değerlendirme potansiyeli olan ürünler açığa çıkmaktadır. Oluşan atıkların değerlendirilmesi hem çevre kirliliğinin azaltılması hem de ekonomik faydalar sağlayarak kaynakların korunmasında fayda sağlama potansiyelindedir.

Narın meyve kısımlarının kullanılması yanı sıra son çalışmalarda nar çekirdeği yağı soğuk pres yöntemi ile elde edilerek çeşitli sektörlerde kullanılmaya başlanmıştır. Ayrıca nar çekirdeğinin sadece yağ değil önemli miktarda protein içerdiği de bilinmektedir.

Yapmış olduğumuz bu tez çalışması sonucunda gıda işleme esnasında atık olarak ortaya çıkan nar çekirdeğinin sahip olduğu proteinler biyoaktif peptit üretiminde kullanılmıştır. Elde edilen biyoaktif peptitler gıda endüstrisinde kıvam arttırıcı olarak kullanılmakta olan keçiyoynuzu gamı ile birleştirilip gelişmiş yapısal ve fonksiyonel özelliklere sahip hidrojel sentezlenmesi amaçlanmıştır.

6. SONUÇLAR

Bu çalışmada, meyve işleme yan ürünlerinden elde edilen nar çekirdeği proteininden biyoaktif peptit üretilmiştir. Biyoaktif peptitler, hidrojel yapımında farklı konsantrasyonlarda değerlendirilmiştir. Peptitler eklenerek doğal antioksidan özelliğe sahip hidrojeller üretilmiştir. Peptitlerin farklı oranlarda eklenmesi, hidrojellerin şişme ve sızdırabilirlik gibi tekno-fonksiyonel özelliklerini ve dokusal davranışlarını etkilemiştir. Analiz sonucunda belirlenen optimum noktadaki hidrojel numunesi (%7,5 peptit içeren hidrojel) çevresel streslere (sıcaklık, pH, iyonik) maruz bırakılmış ve olumlu sonuçlar kaydedilmiştir. İn vitro sindirim koşullarına salım davranışı sonuçlarının da istenilen düzeyde olduğu belirlenmiştir.,

7. ÖNERİLER

Bu sonuçlar göz önüne alındığında, nar çekirdeği biyoaktif peptitleri ve keçi boynuzu zatkından üretilen hidrojellerin sindirim sistemindeki biyoaktif bileşenleri ve aktif maddeleri (ilaçları) taşımak için kullanılabileceği sonucu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, bu hidrojel sistemlerinin doku onarıcı, biyoaktif madde/ilaç taşıma özelliklerinin açıkça gösterilebilmesi için in vivo çalışmalara da ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Akbal, S., & Öner, Z. (2021). Süt Ve Süt Ürünlerinden Elde Edilen Peptitlerin Patojen Mikroorganizmalar Üzerine Antimikrobiyal Etkisi. Kırklareli Üniversitesi Mühendislik Ve Fen Bilimleri Dergisi, 7(2), 305-322. <https://doi.org/10.34186/Klujes.931840>
- Apaydın, E. (2008). Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Nar Suyu Konsantresi Üretim Ve Depolama Sürecinde Antioksidan Aktivitedeki Değişimler Elif Apaydın Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Ankara 2008 Her Hakkı Saklıdır.
- Ay, B., & Başığit, B. (2023a). Vişne Çekirdeği Atığından Üretilen Pektinin Soya Bazlı Bitkisel Protein İle Hidrojel Oluşturma Potansiyeli: Fenolik Madde Salınımı Üzerine Hidrojel Doğasının Etkisi. Gıda, 48(4), 831-845. <https://doi.org/10.15237/Gida.Gd23068>
- Ay, B., & Başığit, B. (2023b). Vişne Çekirdeği Atığından Üretilen Pektinin Soya Bazlı Bitkisel Protein İle Hidrojel Oluşturma Potansiyeli: Fenolik Madde Salınımı Üzerine Hidrojel Doğasının Etkisi. Gıda, 48(4), 831-845. <https://doi.org/10.15237/Gida.Gd23068>
- Barnes, S. Y. (1979). Ambulatory Nursing: Your Safety First. Nursing, 9(4), 87-90. <https://doi.org/10.1097/00152193-197904000-00015>
- Başığit, B., Altun, G., Yücepe, M., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2023a). Locust Bean Gum Provides Excellent Mechanical And Release Attributes To Soy Protein-Based Natural Hydrogels. International Journal Of Biological Macromolecules, 231, 123352. <https://doi.org/10.1016/J.Ijbiomac.2023.123352>
- Başığit, B., Altun, G., Yücepe, M., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2023b). Locust Bean Gum Provides Excellent Mechanical And Release Attributes To Soy Protein-Based Natural Hydrogels. International Journal Of Biological Macromolecules, 231, 123352. <https://doi.org/10.1016/J.Ijbiomac.2023.123352>
- Başığit, B., Yücepe, M., Akyar, G., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2022). Enhancing Thermal And Emulsifying Resilience Of Pomegranate Fruit Protein With Gum Arabic Conjugation. Colloids And Surfaces B: Biointerfaces, 215, 112516. <https://doi.org/10.1016/J.Colsurfb.2022.112516>
- Çetiner, M., Bilek, S. E., Üniversitesi, E., Fakültesi, M., & Bölümü, G. M. (2018). Bitkisel Protein Kaynakları. İçinde Çukurova Tarım Gıda Bil. Der. Çukurova J. Agric. Food Sci (C. 33, Sayı 2).
- Delimustafaoğlu, F. G., & Baldemir Kılıç, A. (2023). Geçmişte Ve Günümüzde Lycium Barbarum L.'Un Kullanım Alanları. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi Ve Folklorik Tıp Dergisi, 13(1), 14-18. <https://doi.org/10.31020/Mutftd.1175125>
- Demirkıran, E., Başığit, B., Altun, G., Yücepe, M., Sağlam, H., & Karaaslan, M.

- (2022). Facile Construction Of Fruit Protein Based Natural Hydrogel Via Intra/Inter Molecular Cross-Linking. Food Hydrocolloids, 133. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107899>
- Ekebaş, G., Atasever, A., Şentürk, M., Yaman Gram, D., & Eren, M. (2020). Ratlarda Karbon Tetraklorür İle Oluşturulan Akut Karaciğer Hasarı Üzerine Nar Çekirdeği Yağının Etkisi Ve Kaspaz Aktivitesi İle Hepatik Apoptozisin Belirlenmesi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. <https://doi.org/10.32707/ercivet.774340>
- Ergin, S. Ö. (2019). Antioxidant Properties Of Pomegranate Fruit (Punica Granatum L.) And Different Pomegranate Products. İçinde Akademik Gıda (C. 17, Sayı 2, Ss. 243-251). Sidas Medya A.S. <https://doi.org/10.24323/Akademik-Gıda.613590>
- Fernández-López, J., Sendra-Nadal, E., Navarro, C., Sayas, E., Viuda-Martos, M., & Alvarez, J. A. P. (2009). Storage Stability Of A High Dietary Fibre Powder From Orange By-Products. International Journal Of Food Science & Technology, 44(4), 748-756.
- Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2020a). Gıda Atıklarından Biyoaktif Peptitlerin Geri Kazanımı Ve Biyoyararlanım Özellikleri. Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 8(4), 855-863. <https://doi.org/10.24925/Turjaf.V8i4.855-863.2989>
- Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2020b). Gıda Atıklarından Biyoaktif Peptitlerin Geri Kazanımı Ve Biyoyararlanım Özellikleri. Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology, 8(4), 855-863. <https://doi.org/10.24925/Turjaf.V8i4.855-863.2989>
- Gündoğan, R. (2019). 558252.
- Gündoğdu, M., & Yılmaz, H. (2013). Bazı Standart Nar (Punica Granatum L.) Çeşitleri Ve Genotiplerine Ait Meyvelerin C Vitamini, Şeker Ve Besin Elementleri İçeriklerinin Belirlenmesi. İçinde Yyu J Agr Sci) (C. 2013, Sayı 3).
- Kamiloglu, S. (2019). Taze Ve Dondurulmuş Elmalarda Ve Elma Posasında Polifenol Biyoerişilebilirliğinin Değerlendirilmesi. Gıda, 44(3), 409-418. <https://doi.org/10.15237/Gıda.Gd19026>
- Kamiloglu, S. (2019). Changes İn Green Bean Phenolics, Flavonoids And Antioxidant Capacity During Industrial Freezing Process And İn Vitro Gastrointestinal Digestion. Akademik Gıda, 17(2), 176-184. <https://doi.org/10.24323/Akademik-Gıda.613559>
- Karlığa, E. S. (2020). Ağustos, 2020 İstanbul Teknik Üniversitesi « Fen Bilimleri Enstitüsü Spirulina Platensis'ten Elde Edilen Biyoaktif Peptitlerin Enkapsülasyonu Ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi.
- Kaynarca, G. B. (2024). Bezelye Proteini Ve Spirulina İlavesinin İkili Hidrojel

- Formlarının Reolojik Özellikleri Üzerine Etkisi. *Gıda*, 49(5), 903-919.
<https://doi.org/10.15237/Gida.Gd24079>
- Khoushabi, A., Schmocker, A., Pioletti, D. P., Moser, C., Schizas, C., Månson, J. A., & Bourban, P. E. (2015). Photo-Polymerization, Swelling And Mechanical Properties Of Cellulose Fibre Reinforced Poly(Ethylene Glycol) Hydrogels. *Composites Science And Technology*, 119, 93-99.
<https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2015.10.002>
- Korkut, O., Fen, A. Ü., Enstitüsü, B., Sökmen, Ö., & Çankaya, N. (2024). 2-Akrilamido-2-Metil-1-Propansülfonik Asit (Amps) İçerikli Hidrojellerin Metal Tutma Davranışlarının İncelenmesi. *İçinde Oku Journal Of The Institute Of Science And Technology (C. 7, Sayı 3)*. <https://orcid.org>
- Memiş, H., & Kamiloğlu, A. (2021). Derleme Makalesi Et Ve Et Ürünlerinde Biyoaktif Peptitler: Olgunlaştırma Sürecinin Biyoaktif Peptit Varlığına Etkisi Habibe Memiş * , Aybike Kamiloğlu.
- Meral, R. (2016). Farklı Isıl İşlem Uygulamalarının Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi. *Journal Of The Institute Of Natural & Applied Sciences*, 21(1), 55-67.
- Moghadam, M., Salami, M., Mohammadian, M., Khodadadi, M., & Emam-Djomeh, Z. (2020). Development Of Antioxidant Edible Films Based On Mung Bean Protein Enriched With Pomegranate Peel. *Food Hydrocolloids*, 104, 105735.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105735>
- Mohagheghi, M., Rezaei, K., Labbafi, M., & Ebrahimzadeh Mousavi, S. M. (2011). Pomegranate Seed Oil As A Functional Ingredient İn Beverages. *European Journal Of Lipid Science And Technology*, 113(6), 730-736.
<https://doi.org/10.1002/Ejlt.201000334>
- Mohammadi, M., Soltanzadeh, M., Ebrahimi, A. R., & Hamishehkar, H. (2022). Spirulina Platensis Protein Hydrolysates: Techno-Functional, Nutritional And Antioxidant Properties. *Algal Research*, 65, 102739.
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102739>
- Mohammed, A., & Abdullah, A. (T.Y.). Scanning Electron Microscopy (Sem): A Review.
- Morais, A. H., Silvestre, P. C. M., Silva, V. D. M., Silva, M. R., Silva, A. C. S., & Silveira, J. N. (2013). 1-16. *American Journal Of Food Technology*, 8, 1-16.
- Noman, A., Xu, Y., Al-Bukhaiti, W. Q., Abed, S. M., Ali, A. H., Ramadhan, A. H., & Xia, W. (2018). Influence Of Enzymatic Hydrolysis Conditions On The Degree Of Hydrolysis And Functional Properties Of Protein Hydrolysate Obtained From Chinese Sturgeon (Acipenser Sinensis) By Using Papain Enzyme. *Process Biochemistry*, 67, 19-28.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.01.009>
- Okumuş, G. (2016). Nar (Punica Granatum L.) Kabuk Ve Çekirdeklerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi.
- Okumuş, G. (2016). Nar (Punica Granatum L.) Kabuk Ve Çekirdeklerinin

Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi.

- Ovchinnikov, N. M. (1979). [Centenary Of The Discovery Of The Causative Agent Of Gonorrhea]. *Vestnik Dermatologii I Venerologii*, 1, 3-7.
- Önder, S., & Uçar, Ö. (2021). Tuz Stresinin Fasulye (*Phaseolus Vulgaris* L.) Üzerindeki Etkileri Ve Tuza Toleransı Artırmak İçin Yapılan Uygulamalar Dr. Özge Uçar (Orcid: 0000-0002-4650-4998).
- Öz, A. T., & Süfer, Ö. (2012). Meyve Ve Sebzelere Hasat Sonrası Kalite Üzerine Yenilebilir Film Ve Kaplamaların Etkisi. [Http://Www.Academicfoodjournal.Com](http://www.academicfoodjournal.com)
- Özdemir, S., Edebalı, E., & Özdemir, C. (2021). Süt Ve Süt Ürünlerinde Bulunan Biyoaktif Peptitler Ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(1), 268-280. <https://doi.org/10.21597/jist.698331>
- Özden, A. N., Ak, B. E., & Özden, M. (2017). Farklı Nar (*Punica Granatum* L.) Çeşitlerinin Pomolojik, Fitokimyasal Özellikleri Ve Antioksidan Kapasiteleri (C. 21, Sayı 2).
- Özgür Ahu, E. T. Ö. S. (2015). Nar __Ekirde__ İ Ya __N__ N __Kart__ Lmas__ Amac__ Yla Farkl__ Kurutma Y__ Ntemlerinin Uygulanmas__ __Zerine Bir Ara__ T__ Rma[#408645]-445541.
- Ren, X., Dai, P., Perveen, A., Tang, Q., Zhao, L., Jia, X., Li, Y., & Li, C. (2019). Effects Of Chronic Glyphosate Exposure To Pregnant Mice On Hepatic Lipid Metabolism In Offspring. *Environmental Pollution*, 254. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.07.074>
- Sarıca, Ş. (2011). Nar Suyu Yan Ürünlerinin Hayvan Beslemede Kullanım Olanakları Şenay Sarıca Using Possibilities Of Pomegranate Juice By-Products In Animal Nutrition (C. 28, Sayı 2).
- Sathe, S. (2002). Dry Bean Protein Functionality. *Critical Reviews In Biotechnology*, 22, 175-223. <https://doi.org/10.1080/07388550290789487>
- Singh, M., Raorane, C. J., Alka, Shastri, D., Raj, V., Kim, S. C., & Tuteja, M. (2022). Recent Progress On Modified Gum Katira Polysaccharides And Their Various Potential Applications. *İçinde Polymers* (C. 14, Sayı 17). Mdp1. <https://doi.org/10.3390/polym14173648>
- Su, E. (2021). October 2021 Development Of Supramolecular Hydrogels With Adjustable Viscoelastic, Mechanical And Self-Recovering Properties.
- Şener, Ö., & Hakküder Taze, B. (2022). Fonksiyonel Bir Gıda Bileşeni Olarak Keçiyoynuzu: Özellikleri Ve Gıda Uygulamaları. *Uşak Üniversitesi Fen Ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 6(1), 45-66. <https://doi.org/10.47137/usufedbid.1130043>
- Taştan, Ö. (2018). Nar Ürünleri Ve Üretimi. <https://www.researchgate.net/publication/330161492>

- Tunç, K., Konca, T., Hoş, A., Üniversitesi, S., Edebiyat Fakültesi, F., Bölümü, B., Yazar, S., & Author, C. (2013). Der. 17. Cilt, 2. Sayı, S. 167-172. İçinde Sau J. Sci (C. 17, Sayı 2).
- Ulusoy, A., & Dikmen, N. (2020a). Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 29(2), 129-137. <https://doi.org/10.17827/Aktd.603432>
- Ulusoy, A., & Dikmen, N. (2020b). Hidrojellerin Tıpta Uygulamaları. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 29(2), 129-137. <https://doi.org/10.17827/Aktd.603432>
- Urganci, U., & Isik, F. (2021). Quality Characteristics Of Biscuits Fortified With Pomegranate Peel. Akademik Gıda, 19(1), 10-20. <https://doi.org/10.24323/Akademik-Gida.927462>
- Wu, D., Xu, J., Chen, Y., Yi, M., & Wang, Q. (2018). Gum Arabic: A Promising Candidate For The Construction Of Physical Hydrogels Exhibiting Highly Stretchable, Self-Healing And Tensility Reinforcing Performances. Carbohydrate Polymers, 181, 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.076>
- Yalçın, E., & Rakıcıoğlu, N. (2020a). Biyoaktif Besin Peptitleri Ve Sağlık Üzerine Etkileri. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. <https://doi.org/10.33631/Duzcesbed.559968>
- Yalçın, E., & Rakıcıoğlu, N. (2020b). Biyoaktif Besin Peptitleri Ve Sağlık Üzerine Etkileri. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. <https://doi.org/10.33631/Duzcesbed.559968>
- Yurttadur, M. (2023). Konya Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Akrilamid Sepiyolit Esaslı Hidrojel Kompozitler Ve Özellikleri Temmuz-2023 Konya Her Hakkı Saklıdır.
- Yücel, Ç., & Şeker Karatoprak, G. (2020). Kafeik Asit İçeren Kitozan Kaplı Lipozomların Geliştirilmesi Ve Antioksidan Etkinliğinin İncelenmesi. Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi. <https://doi.org/10.33631/Duzcesbed.706868>
- Yücestepe, M. (2020). Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi Nar Çekirdeğinden Protein Tozu Üretimi Ve Nar Çekirdeği Yağının Mikroenkapsülasyonunda Kullanımı Melike Yücestepe Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Şanlıurfa 2020.
- Yüksel, D., & İnanç, A. L. (2022). Geleneksel Yöntem Ve Direkt Fermantasyon İle Üretilen Maraş Tarhanalarında Biyoaktif Peptitlerin Belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım Ve Doğa Dergisi, 25(2), 357-366. <https://doi.org/10.18016/Ksutarimdog.2022.25.2.357-366>
- Yüzer, M. O. (2023). Soya Proteini İzolatı-Fruktoz Glikasyon Konjugatlarının Yapısı Ve Bazı Teknofonksiyonel Özellikleri Üzerine Ultrason İşleminin Etkisi. Gıda, 48(6), 1351-1365. <https://doi.org/10.15237/Gida.Gd23079>
- Zainal, S. H., Mohd, N. H., Suhaili, N., Anuar, F. H., Lazim, A. M., & Othaman, R. (2021). Preparation Of Cellulose-Based Hydrogel: A Review. İçinde Journal

