



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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DNA KONJUGASYONUNUN BEZELYE PROTEİNİN
TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

TUBA BOZKURT

GIDA MÜHENDİSLİĞİ

**Şanlıurfa
2025**



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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DNA KONJUGASYONUNUN BEZELYE PROTEİNİN
TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

TUBA BOZKURT

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

**Şanlıurfa
2025**



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN danışmanlığında, Tuba BOZKURT'un hazırladığı “DNA Konjugasyonunun Bezelye Proteininin Teknofonksiyonel Özellikleri Üzerine Etkisi” konulu bu çalışma 08/07/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

☐ Oybirliğiyle / ☐ Oy çokluğu ile

İmza

Danışman	: Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN	
Üye	: Doç. Dr. Bülent BAŞYİĞİT	
Üye	: Doç. Dr. Meriç Şimşek ASLANOĞLU	

Bu tezin Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında yapıldığını ve enstitümüz kurallarına göre düzenlendiğini onaylarım.

Doç. Dr. Mustafa ULUKAVAK
Enstitü Müdürü

Bu çalışma: HÜBAP Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No : 23106

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

	T.C. HARRAN ÜNİVERSİTESİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS ORİJİNALLİK RAPORU VE BEYAN FORMU	Doküman No: FRM-0072
		Revizyon No: 03
		Yayın Tarihi: 10.09.2020
		Revizyon Tarihi: 30.01.2024
		Sayfa No: 1 / 1

ÖĞRENCİNİN	
Öğrenci No	225110014
Adı / Soyadı	Tuba BOZKURT
Anabilim Dalı/Programı	Gıda MÜHENDİSLİĞİ / Tezli Yüksek Lisans
Tez Konusu	DNA Konjugasyonunun Bezelye Proteinin Teknofonksiyonel Özellikleri Üzerine Etkisi

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tezi çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler ve d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 57 sayfalık kısmına ilişkin, 29/07/2025 tarihinde danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %10'dur. Ayrıca tez çalışması hiçbir blok kopyalama içermemektedir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç/dâhil
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesini ve Harran Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü tez çalışması Orijinallik Raporu alınması ve kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Etik ihlal tespiti halinde, Enstitü yönetim kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

29/07/2025
Hazırlayan Öğrencinin
İmzası

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 29/07/2025

Danışmanın Unvanı-Adı-Soyadı
(İmzası)

Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, bilgi ve birikimleriyle beni donatan, akademik kimliğimi şekillendiren ve yol gösteren, danışmanlığında çalışmaktan onur duyduğum Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Mehmet KARAASLAN'a gönülden teşekkür ederim.

Yüksek lisanseğitimim süresince değerli yorum ve yönlendirmeleriyle tez çalışmasının gelişimine katkıda bulunan, Saygıdeğer Hocalarım Prof. Dr. Hasan VARDİN'e, Doç. Dr. Bülent Başyigit'e ve Öğr. Gör. Dr. Mehmet Şükrü KARAKUŞ'a gönülden teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarında üretim ve analizlerde yardımcı olan, akademik kariyer yolunda birlikte yürüdüğümüz değerli çalışma arkadaşlarım Kamile BAYRAK AKAY, Gülbahar ALTUN ve Merve AKALAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmama 23106 proje numarası kapsamında maddi destek veren Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Proje Birimi'ne teşekkür ederim.

Sevgileri ve değerlerini ilmek ilmek işleyen, her türlü zorluğun altından birlikte kalktığımız canım annem, babam; her konuda maddi manevi desteklerini hissettiğim değerli abilerim ve beni her koşulda seven uzaklarda olsada yokluğunu hiçbir zaman hissetirmeyen kıymetli ablama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tuba BOZKURT

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	iv
SİMGELER	v
KISALTMALAR	vi
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	5
2.1. Bitkisel Proteinler	5
2.2. Domates yaprağı	6
2.2.1. DNA	6
2.2.1.1. DNA-Protein Konjugasyonu	8
2.3. Maillard reaksiyonu	8
2.3.1. Maillard reaksiyon mekanizması	9
2.3.1.1. Glikasyon	11
2.3.1.2. Glikasyon yöntemleri	12
2.3.1.2.1. Islak ısıtma ile glikasyon	13
2.3.1.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon	14
2.4. Dondurarak Kurutma (Liyolifizasyon) Tekniği	15
2.4.1. Kullanım alanları	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Gereç	17
3.2. Yöntem	17
3.2.1. Domates yaprağından DNA Ekstraksiyonu	18
3.2.2. Maillard Konjugatlarının Üretimi	20
3.2.2.1. Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile Maillard konjugatlarının üretimi	20
3.2.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile Maillard konjugatlarının üretimi	21
3.3. Analizler	22
3.3.1. DNA Analizleri	22
3.3.2. Protein tozu ve Maillard konjugatlarının analizleri	23
3.3.2.1. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	23
3.3.2.1.1. Su aktivitesi	23
3.3.2.1.2. Renk	23
3.3.2.1.3. Nem	23
3.3.2.2. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	24
3.3.2.2.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR)	24
3.3.2.2.2. Çözünürlük	24
3.3.2.2.3. Su tutma kapasitesi (STK)	24
3.3.2.2.4. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)	25
3.3.2.2.5. Protein ve Maillard Konjugatlarının Emülsiyon özellikleri	25
3.3.2.2.6. Köpük Oluşturma Kapasitesi ve Stabilitesi	26
3.3.2.2.7. Jelleşme özellikleri	27
3.3.2.2.8. Serbest amino gruplarının miktarı	27
3.3.2.2.9. Esmerleşme Yoğunluğu	28
3.3.2.2.10. SDS-Page (Jel Elektroforezi)	28
4. BULGULAR	29
4.1. Maillard Konjugatlarının Glikasyon Derecesi	29
4.2. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	30
4.3. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	31
4.3.1. Çözünürlük	31
4.3.2. Su tutma kapasitesi (STK)	32
4.3.3. Yağ bağlama kapasitesi (YBK)	32

4.3.4. Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi (KOK ve KS)	32
4.3.5. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi (EAI ve ESI)	33
4.3.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopu (FTIR) analizi	33
4.3.7. SDS Page (jel elektroforezi)	34
4.3.8. Jelleşme Özellikleri	35
4.3.9. Esmerleşme yoğunluğu	35
5. TARTIŞMA	37
5.1. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	38
5.2. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	38
6. SONUÇLAR	48
7. ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	57

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DNA KONJUGASYONUNUN BEZELYE PROTEİNİN TEKNOFONKSİYONEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİSİ

TUBA BOZKURT

HARRAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ

Tez Danışman: Prof. Dr. MEHMET KARAASLAN
Yıl: 2025, Sayfa : 57

Gıda sektöründe yüksek oranda açığa çıkan bitkisel kaynakların atıklarını değerlendirmek; kaynaklarımızı korumak, verimliliği artırmak, çevre ve insan sağlığına fayda sağlamak ve en önemlisi ülkemiz açısından ekonomik kalkınmaya olumlu katkılar sağlayabilmesi açısından çok değerlidir. Özellikle meyve ve sebze atıklarının gıda endüstrisine kazandırılması için çalışmalar yapılmaktadır. Dünya genelinde domates üretimi büyük miktarlarda tarımsal atık üretimine sebep olmaktadır. Örneğin Türkiye’de, cam altı domates atığı yaklaşık 10 milyon ton/yıl olarak raporlanmıştır. Bu miktar senede onlarca milyon ton tarımsal metabolik atık demektir; gıda teknolojisi, biyomalzeme ve kompost gibi değerli yan ürünler geliştirmek için büyük bir potansiyel sunar. Bu çalışmada, bitkisel kaynaklı bir protein olan bezelye proteininin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek amacıyla DNA ile konjugasyonu gerçekleştirilmiştir. Konjugasyon işlemi, Maillard tipi bağlanma prensibine dayalı olarak hem ıslak ısıtma (su banyosu) hemde mikrodalga (mW) destekli yöntemlerle uygulanmıştır. Elde edilen DNA-protein konjugatlarının çözünürlük, yağ bağlama ve su tutma kapasitesi, emülsiyon stabilitesi, jel oluşturma yeteneği, renk gibi temel teknofonksiyonel özellikleri değerlendirilmiştir. Çalışma bulgularına göre, DNA ile konjugasyon bezelye proteininin su ve yağ bağlamakapasitesini artırmış özellikle mikrodalga ile hazırlanan konjugatlarda çözünürlük ve emülsiyon stabilitesinde belirgin iyileşmeler sağlanmıştır. FTIR ve SDS-PAGE analizleriyle konjugasyonun yapısal etkileri desteklenmiş ve proteinlerin ikincil yapılarında belirgin değişiklikler gözlenmiştir. Renk analizleri ve OPA sonuçları Maillard reaksiyonunun gerçekleştiğini ve bağlanma derecesini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, DNA-protein konjugasyonu, bezelye proteininin işlevsel özelliklerini geliştirerek, özellikle gıda sanayisinde kullanılabilecek ve yenilikçi doğal katkı maddeleri geliştirilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yaklaşım, bitkisel proteinlerin biyoyararlılığını ve teknolojik performansını artırmada umut verici bir strateji sunmaktadır.

ANAHTAR KELİMELER: DNA, Bezelye proteini, Konjugasyon, Teknofonksiyonel Özellikler, Maillard Reaksiyonu

ABSTRACT

MASTER THESIS

EFFECT OF DNA CONJUGATION ON TECHNOFUNCTIONAL PROPERTIES OF PEA PROTEIN

TUBA BOZKURT

**HARRAN UNIVERSITY
INSTITUTE OF GRADUATE EDUCATION
FOOD ENGINEER**

**Thesis Supervisor: Prof. Dr. MEHMET KARAASLAN
Year: 2025, Page : 57**

Evaluating the waste of plant resources, which are released in large amounts in the food sector, is very valuable in terms of protecting our resources, increasing efficiency, providing benefits to the environment and human health, and most importantly, making positive contributions to the economic development of our country. In particular, studies are being carried out to recycle fruit and vegetable waste into the food industry. Tomato production worldwide causes a large audit agreement waste production. For example, it has been reported that approximately 10 million tons/year of tomatoes under glass are thrown away in Türkiye. This amount represents tens of millions of tons of administrative waste per year, offering great potential for the launch of valuable by-products such as food technology, biomaterials and compost. This software was used to conjugate leaf protein, a plant-derived protein, with DNA to determine its functional properties. The conjugation process was maintained by both heating (water bath) and microwave (mW) assisted based on Maillard type bonding. The files of the obtained DNA-protein conjugates were evaluated for their basic technofunctional properties such as oil binding and water retention capacity, emulsion stability, gel forming ability, color. According to the study findings, conjugation with DNA increased the water and oil binding capacity of pea protein, and significant improvements were achieved in solubility and emulsion stability, especially in conjugates prepared with microwave. The structural effects of conjugation were supported by FTIR and SDS-PAGE analyses, and significant changes were observed in the secondary structures of the proteins. Color analysis and OPA results revealed that the Maillard reaction occurred and the degree of binding. In conclusion, DNA-protein conjugation improves the functional properties of pea protein, allowing the development of innovative natural additives that can be used especially in the food industry. This approach offers a promising strategy to increase the bioavailability and technological performance of plant proteins.

KEYWORDS: DNA, Pea protein, Conjugation, Technofunctional Properties, Maillard Reaction

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	DNA-protein konjugasyonu	8
Şekil 2.2.	Serbest amino grubu ve karbonil grubu arasındaki kondenzasyon reaksiyonu	10
Şekil 2.3.	Amadori yeniden düzenlemesi	10
Şekil 2.4.	Strecker bozulması	11
Şekil 2.5.	Maillard reaksiyonlarının üçüncü basamağı (Çelebi, 2006)	11
Şekil 2.6.	Mikrodalga ısıtmanın temel mekanizması: A) dipolar dönme mekanizması, B) iyonik iletim mekanizması (Zhang vd., 2017)	14
Şekil 3.1.	Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması	18
Şekil 3.2.	Domates yaprağından DNA özütleme işlemi aşamaları	20
Şekil 3.3.	Islak ısıtma glikasyon yöntemiyle Maillard konjugatlarının üretimi	21
Şekil 3.4.	Mikrodalga destekli glikasyon yöntemiyle Maillard konjugatlarının üretim aşaması	22
Şekil 4.1.	Maillard konjugatlarının glikasyon dereceleri	30
Şekil 4.2.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi değerleri	32
Şekil 4.3.	BP ve Maillard konjugatlarının EAI, ESI10 VE ESI30 değerleri	33
Şekil 4.4.	DNA ve Maillard konjugatlarının FTIR spektrumları	34
Şekil 4.5.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının SDS Page görüntüleri	35
Şekil 4.6.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının jel görüntüleri	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1.	Maillard konjugatlarının glikasyon dereceleri	29
Çizelge 4.2.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri	31
Çizelge 4.3.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri	31
Çizelge 4.4.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının SDS görüntü açıklamaları	34
Çizelge 4.5.	Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının esmerleşme yoğunluğu değerleri	36

SİMGELER

%	Yüzde
&	Ve
C	Derece
g	Gram

KISALTMALAR

BP	Bezelye proteini
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GD	Glikasyon Derecesi
mW	Mikrodalga destekli glikasyon
PH	Asitlik derecesi
PVP	Polivinilpolipirrolidon
SB	Islak ısıtma yöntemi ile glikasyon (Su banyosu)
SDS	Sodyum Dodesil Sülfat
W	Watt

1. GİRİŞ

Son on yılda, gıda endüstrisi, tüketici eğilimlerinin sağlık, etik ve / veya dini tercihlere (örneğin, vejetaryen / vegan, alerjiler, genetik modifikasyon) dayalı diyet seçimlerine ve çevresel olarak daha sürdürülebilir seçeneklere doğru kayması nedeniyle hayvanlardan, buğdaydan ve soyadan elde edilenlerin yerini alacak protein bileşenleri aramaktadır (Karaca vd., 2011). Ülkemizde gıda endüstrisinde alternatif yollar aranmakla birlikte artık çeşitli meyve-sebzelerden, baklagillerden, hatta atıklardan bile protein elde edilmesi yoluna gidilmektedir.

Bezelye (*Pisum sativum* L.) proteini, düşük alerjenliği, yüksek besin değeri, mevcudiyeti ve düşük maliyeti nedeniyle büyük ilgi gören bir proteindir (Shevkani vd., 2015). Bezelye proteini, insan tüketiminde kullanılan baklagil familyasına ait bir protein kaynaklarından biridir. Bununla birlikte, diğer bitki proteinlerine benzer şekilde, bezelye proteininin bir gıda bileşeni olarak kullanılmasındaki zorluklar, işlevsellik ve lezzet / renk konularındaki sınırlamalar açısından mevcuttur. Kurutulmuş bir bezelyede %27 protein, %35 karbonhidrat ve az miktarda da lipit içermektedir. Buda diyetlerin proteince zenginleştirilmesinde iyi bir besinsel kaliteye sahip olduğunu ve bu yüzden kullanıldığını göstermektedir.

Bezelye protein ve karbonhidrat bakımından zengindir, yağ oranı düşüktür ve bir dizi önemli vitamin ve mineral içerir (Boye vd., 2010). Proteinler yüksek düzeyde lizin içerir, ancak metiyonin ve triptofanda sınırlayıcı olma eğilimindedir. Buna göre, bezelye proteini genellikle tahıl taneleri ile birlikte tüketilir, çünkü tahıl proteinleri genellikle lizinde eksiktir ancak daha yüksek seviyelerde kükürt aminoasitleri (metiyonin, sistein) içerir (Mertens vd., 2012). Baklagil proteinleri öncelikle tuzda çözünür globulin proteinlerini içerir; suda çözünür albümin proteinleri, proteinlerin ikinci ana sınıfını temsil eder. Globulin proteinleri iki ana tiptedir: baklagiller (11S, 300-400 kDa) ve vicilin (7S, 150-180 kDa), her ikisi de farklı amino asit profilleri, boyutları ve yapıları nedeniyle benzersiz fonksiyonel özellikler sergiler.

Tüm canlı hücreler, deoksiribonükleik asit moleküllerine sahiptirler. DNA (Deoksiribonükleik asit), yaşamın temel yapı taşı olup genetik bilgi taşıyıcısı olmakla görevli bir polimerdir. DNA'nın yapı taşı; bir baz (sitozin veya guanin, adenin veya timin), bir deoksiriboz şekeri ve bir fosfat grubundan oluşan nükleotidlerdir (Okay vd., 2011). Bu nükleotidler, değişen fosfat ve şeker kalıntıları arasında bulunan kovalent bağlar ile tek bir zincir halinde bağlanırlar. Watson-Crick çift sarmal yapısı açıklandığından beri DNA'nın yapısı geniş çapta araştırılmaktadır. DNA molekülü;

bazılar arasında hidrojen bağlarıyla bir çift sarmal oluşturmak amacıyla birbirlerinin çevresinde dolaşmaktadır (Lodhi vd., 1994).

DNA, farklı alanlarda kapsamlı bir şekilde incelenmektedir. DNA analizleri, doğal gen değişimi, adli tıp analizleri, toprak biyolojik ıslahı, genetiği değiştirilmiş organizmalar, ekzobiyoloji, paleontoloji ve moleküler biyoloji gibi alanlarda çalışmak amacıyla merkez konumuna gelmiştir (Poté vd., 2005). Yüksek verimle yüksek özellikli genomik DNA eldesi, bitki moleküler biyolojisi alanındaki sınırlamalardan biridir (Lavanya ve Arun, 2019). Bitkinin genomik DNA kalitesi, çiçekler, yapraklar, gövdeler, kökler gibi doku türlerine, bitkinin yaşına, taşıma-depolama yöntemlerine (Hale vd., 2020) ve DNA ekstraksiyon protokolüne bağlı olarak etkilenebilmektedir. Farklı bitki çeşitleri, DNA izolasyonu esnasında nükleik asitler ile bağlanan ve ayrıca ekstrakte edilen DNA'nın özelliklerinde etki bırakan, değişen seviyelerde polisakkaritler, polifenoller ve diğer ikincil metabolitlere sahiptir (Aboul-Maaty ve Oraby, 2019). Bitkilerden DNA ekstraksiyonu eldesinde, prosedürde DNA ile birlikte çökelen fenolik bileşikler, polisakkaritler ve diğer ikincil metabolitler daha az miktarda içerdiği için genç dokular tercih sebebidir. Bitki türlerinin çoğunda olduğu gibi domates dokuları da yüksek oranda tanenler ve diğer fenolik bileşikler içermektedir. Bitki dokularından DNA ekstraksiyonu yapmak için farklı metotlar mevcuttur, ayrıca polisakkaritleri uzaklaştırmak için verimli ve ucuz bir yol sağladıklarından dolayı CTAB tabanlı prosedürler bulunmaktadır. Moleküler biyoloji çalışmaları için en önemli adım saf ve yüksek kaliteli DNA'nın ekstraksiyonudur (Miskoska-Milevska vd., 2011). Konsantrasyonun ve saflığın belirlenmesi de diğer önemli bir konudur. Kaliteli DNA, 1.8 ile 2.0 arasında A260/280 oranına sahip ve genellikle yüksek moleküler ağırlıklı polisakkaritler ve fenolik bileşikler gibi kontaminasyon maddelerini içermemesiyle tanımlanmaktadır (Abdel-Latif ve Osman, 2017). Saf bir halde ekstrakte edilen DNA, farklı çalışmalarda ve farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Birçok moleküler biyoloji tekniği ve araştırmasının başlangıç materyali genomik DNA'dır. Genomik DNA ekstraksiyonu için değişik türde metotlar geliştirilmektedir (Ganiyu vd., 2017). Metotların bazıları, kontaminant içermeyen yüksek moleküler ağırlıklı DNA elde etmek için uzun süreli inkübasyona, çoklu çökeltilmelere veya ticari olarak temin edilebilen kitlere dayanmaktadır (Abdel-Latif ve Osman, 2017). Ancak bu metotların çoğu ya az miktarlarda ya da kaliteli olmayan DNA üretmektedir. Setiltrimetilamonyum bromür DNA ekstraksiyon yöntemi, genellikle yüksek miktarlarda polisakkarit, fenolik bileşik gibi inhibitör maddeleri uzaklaştırmada, bitki materyalleri için tercih edilen yöntem olduğundan mevcut çalışmada domates yapraklarından DNA ekstraksiyonu için CTAB protokolünün kullanılması

hedeflenmektedir (Lodhi vd., 1994).

Maillard reaksiyonu, gıdalarda bulunan serbest aminoasitlerin, proteinlerin ve peptitlerin serbest amino grupları ile indirgen şekerler arasında gerçekleşen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonudur. Maillard reaksiyonu adını Fransız bilim adamı Luis Camilla Maillard'dan almıştır. Bu bilim adamı aminoasitler ve karbonhidratların reaksiyonları üzerine araştırmalar yapmış, günümüze kadar pek çok çalışmada bu reaksiyonlar kullanılmıştır. Maillard reaksiyonu üzerinde; reaksiyona giren ürünlerin türü, miktarı, ortamın sıcaklığı, su aktivitesi ve pH'ı gibi faktörler etkili olabilmektedir. Bu reaksiyonlar son üründe renk, tat, doku gibi duyuşsal özellikler ve protein çözünürlüğü, emülsifikasyon ve antioksidan aktivite gibi kimyasal özellikler açısından geliştirebilmektedir. Ancak gıdanın besin değeri, işleme depolama sırasında lezzetinde ve rengindeki değişiklikler ve lizin gibi esansiyel aminoasitlerin kaybı gibi kontrol edilemeyen değişiklikler nedeniyle her zaman tercih edilememektedir. Ayrıca akrilamid ve hidroksimetilfurfural (HMF) gibi toksik bileşiklerin oluşumunun da önüne geçmek için Maillard reaksiyonları kontrol altında tutularak gerçekleştirilmektedir (Ertuğrul vd., 2021).

Maillard reaksiyonu 4 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada şeker ve aminoasitlerin reaksiyona girmesi sonucu yapıdan suyun uzaklaşmasıyla Schiff bazı olarak bilinen glikosilamin oluşur. İkinci aşamada substrat bir aldoz ise Amadori ürünleri, substrat bir ketoz ise Heyns ürünleri gibi daha kararlı ürünler ortaya çıkar. Bu aşamada mevcut amino gruplarının sayısında azalma, lezzette ve renkte hafif değişimler görülür. Üçüncü aşamada, Amadori ve Heyns ürünleri dehidrasyon, oksidasyon, dekarboksilasyon gibi bir dizi reaksiyon gerçekleşir. Son aşamada ardışık polimerizasyon reaksiyonları sonrası ürünlerde önemli renk değişiklikleri gözlemlenebilir. Bu değişiklikler, yüksek molekül ağırlıklı melanoidinler olarak bilinen kahverengi renk pigmentlerinin oluşumuna yol açar.

Islak ısıtma (wet heating) özellikle gıda teknolojisi, biyoteknoloji ve protein modifikasyonu gibi alanlarda yaygın kullanılan bir ısıtma işlemidir. Protein, karbonhidrat ve diğer biyomoleküllerin su içeren bir ortamda belirli sıcaklıklarda ısıtılması işlemidir. Bu teknik, özellikle Maillard reaksiyonu gibi ısıya bağlı kimyasal modifikasyonların gerçekleştirilmesinde kullanılır. Genellikle 60-100°C arasında yapılır. Numuneler su banyosu, otoklav veya ısı kontrollü reaktör gibi sistemlerde ısıtılır. Numuneler su içeren veya nemli ortamlarda tutulur. Islak ısıtma protein fonksiyonelliğini değiştirme, Maillard reaksiyonu başlatma, proteinleri yapısal modifikasyona uğratma gibi nedenlerden dolayı uygulanan bir yöntemdir.

Mikrodalga kaynaklarının sanayide ve evde kullanımı son yıllarda çarpıcı bir şekilde artmaktadır. Bir materyalin mikrodalga ile ısıtılması, uygulanan elektrik alan şiddetinin bir sonucu olarak iyonik bileşenlerin hareketi ya da moleküllerin polarizasyon-depolarizasyon mekanizması ile gerçekleşmektedir. Hacimsel ısıtma, mikrodalga ile ısıtmanın en önemli özelliğidir. Mikrodalga materyalin içine penetrasyonu ile sağlanan kısa başlangıç süresi ve iç ısınma, randımanı arttırmakta ve proses süresini kısaltmaktadır. Sağlanan bu özellikler mikrodalgayı ilgi çekici bir ısı enerjisi kaynağı yapmaktadır.

Mikrodalga elektromanyetik enerjinin ısıya dönüştürülmesi, mikrodalga ısıtmanın ısıya dönüştürülmesinin temel çalışma prensibini açıklar. Mikrodalga tarafından üretilen ısı, proteinleri glikasyon etmek için kullanılabilir. Mikrodalga (MW) ısıtma ile maddelerin en önemli özelliği, ısı transfer yolunu azaltan polarizasyon nedeniyle daha yüksek ısıtma hızıdır (Siddiquey vd., 2011). Böylece, işlem süresi önemli ölçüde azalır ve maliyet de düşer. Ayrıca protein-şeker karışımlarının uzun süre aşırı ısınmasından kaynaklanan sorunlar mikrodalga ısıtma ile aşılabilmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Bitkisel Proteinler

Dünya üzerinde insan nüfusu sürekli artış sergilemektedir. Bu durum kaynakların daha verimli kullanılması gerektiğini belirtmekte ve insanları alternatif gıda kaynakları arayışına yöneltmektedir. İnsanların beslenme alışkanlıklarının değişmesi, artan nüfus, diyetle alınması gereken protein ihtiyacının yenilenebilir enerji kaynaklarından sağlanmasına yönelik araştırmaların yapılması gerektiği belirlenmiştir. Bu bağlamda bitkisel proteinlerin çevre dostu, sürdürülebilir kökenli olması, hayvansal kökenli proteinlerin çeşitli sağlık sorunlarına (kardiyovasküler, hipertansiyon vb.) yol açması nedeniyle alternatif protein kaynağı olarak görülmesine katkı sağlamıştır (Wen vd., 2019). Başlıca bitkisel protein kaynakları; mısır, pirinç, mercimek, nohut, susam, keten tohumu, barbunya, bezelye gibi yağlı tohumlardır. Ayrıca, tarım kaynaklı bitkisel atıklar ve endüstriyel yan ürünler, düşük maliyetli ürünlerden bitkisel proteinlerin izole edilmesi gıda atıklarının azaltılmasında etkili olabilir (Sá vd., 2020). Tarımsal ve endüstriyel işleme atıklarının fonksiyonel protein kaynağı olarak araştırıldığı çalışmalar literatürde bulunmaktadır. Özellikle susam kepeği (Görgüç vd., 2019), buğday kepeği, pirinç kepeği (Chandi ve Sogi, 2007) gibi bitkisel protein kaynakları literatür çalışmalarına konu olmuştur.

Protein kaynağı olarak kullanılan bitkisel materyallerin içerdikleri esansiyel aminoasit miktarının hayvansal kaynaklı proteinlere göre daha düşük olması ve alerjen maddelerin özüte geçmesi (Breiteneder ve Radauer, 2004) gibi dezavantajları bulunmaktadır. Ancak Bezelye (*Pisum sativum*), protein (%20-25), yağ (%1,5-2,0), nişasta (%24-49) şeklinde karbonhidratlar ve %10-15 çözünmeyen lif ve %2-9 çözünür lif dahil olmak üzere toplam diyet lifi (%60-65) dahil olmak üzere ana bileşenleri içerdiğinden bitkisel kaynaklı proteinler içerisinde en çok tercih edilen proteinler arasında yer almaktadır. Literatürde bezelye proteiniyle ilgili çeşitli çalışmalar yapılmış, makalelere konu olmuştur. Bezelye proteininin gıda ile ilgili ürünlerdeki farklı uygulamaları, biyoaktif bileşenler, ekstrüde gıdalar ve yenilebilir filmler için kapsüllemeyi içerir. Genellikle tahıl unları, yağlar ve hayvansal proteinler için bir ikame olarak kullanılırlar. Bu bağlamda yürütülen bu tez çalışmasında bitkisel protein kaynağı olarak protein açısından zengin bezelye proteini kullanılarak farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) DNA-protein konjugatı elde edilerek bu konjugasyonun bezelye proteini üzerine teknofonksiyonel özellikleri araştırılmıştır.

2.2. Domates yaprağı

Sebzelerin insan beslenmesindeki önemi çok büyüktür. Sebzeler içerisinde, özellikle A, B, C vitaminleri ve fenolik madde içeriği bakımından zengin olmasından dolayı birçok kanser türüne karşı etkili olduğu bilinen domates üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmaktadır (Weibel vd., 2000; Asami vd., 2003; Toor vd., 2006; Özer ve Uzun, 2013). Domates, dünya genelinde yaygın olarak tüketilen ve birçok mutfakta yer alan bir sebzedir. Ancak domatesin kendisi gibi yaprakları da çeşitli faydalar sunmaktadır. Domates yaprağı, *Solanum lycopersicum* bitkisinin yeşil yapraklarıdır. İçeriğindeki flavanoidler, vitaminler, alkaloidler, mineraller, gibi bileşenler sayesinde iltihap önleyici, antioksidan etkiler ve sindirim sağlığı için çeşitli katkılar sağlar.

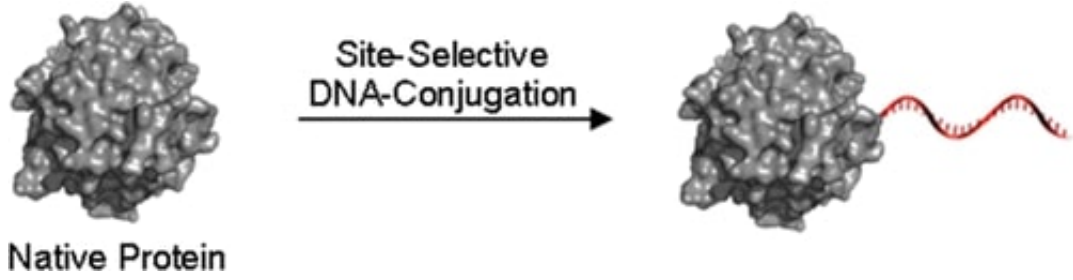
Örtüaltı yetiştiriciliği yapan alanlardan her yıl çok miktarda biyokütle artığı çıkmaktadır. Bu atıklar; sera etrafına, dere kenarlarına, deniz kıyısına, çöp alanlarına bırakılmakta ve kuruduktan sonra ya yakılarak imha edilmekte yada parçalanarak sera toprağına karıştırılmaktadır. Bu şekilde ortaya çıkan atıklar; çevre, hava ve görüntü kirliliğine neden olmaktadır. Bu bitkisel atıkların hem ekonomik kazançlar getirmesi adına hem de çevre kirliliğini önlemesi adına doğru şekilde değerlendirme yöntemlerinin bulunması gerekmektedir. Bu sebeple; seralardan her yıl elde edilen önemli derecede büyük miktarlardaki bitkisel biyokütle atıklarının değerlendirilerek ülke ekonomisine kazandırılması gerekmektedir (Ayrancı, 2007). Bu sebeple de bir çok çalışma yapılmaktadır.

2.2.1. DNA

DNA bilinen tüm canlı organizmalarda genetik bilgiyi taşır. Tamamlayıcı DNA dizilerinin kesin olarak tanınması ve hibridizasyonu bu işlev için çok önemlidir. DNA, farklı alanlarda kapsamlı bir şekilde incelenmektedir. DNA analizleri, adli tıp analizleri, genetiği değiştirilmiş organizmalar, paleontoloji, toprak biyolojik ıslahı ve moleküler biyoloji gibi alanlarda çokça araştırılan bir konu haline gelmiştir (Poté vd., 2005). Yüksek verimle, yüksek özellikli DNA elde edilebilmesi, bitki moleküler biyolojisi alanındaki sınırlamalardan biridir (Lavanya ve Arun, 2019). Bitkinin DNA kalitesi çeşitli protokollere (DNA kalitesi, çiçek, yaprak, kök, gövde gibi doku türleri) (Hale vd., 2020) bağlı olarak etkilenebilmektedir. Farklı bitki çeşitleri, DNA izolasyonu esnasında nükleik asitler ile bağlanan ve ayrıca ekstrakte edilen DNA'nın özelliklerinde etki bırakan, değişen seviyelerde polisakkaritler, polifenoller ve diğer ikincil metabolitlere sahiptir (Aboul-Maaty ve Oraby, 2019). Bitkilerden DNA eldesinde genellikle genç, küçük yapraklar tercih

edilir. Çünkü DNA ekstraksiyonu eldesinde fenolik bileşikler, polisakkaritler ve diğer ikincil metabolitler DNA ile birlikte çökmektedir. Çoğu bitki türü gibi domates yaprakları da yüksek oranda fenolik bileşikler ve tanenler içermektedir. Bitki dokularından DNA ekstraksiyonu yapmak için farklı metotlar mevcuttur, ayrıca polisakkaritleri uzaklaştırmak için verimli ve ucuz bir yol sağladıklarından CTAB tabanlı prosedürler uygulanmaktadır. Saf ve yüksek kaliteli DNA ekstraksiyonu moleküler biyoloji çalışmaları için en önemli adımdır (Miskoska-Milevska vd., 2011). Konsantrasyonun ve saflığın belirlenmesi bir diğer önemli adımdır. Kaliteli DNA A260/280 oranına sahip 1.8 ila 2.0 arasında; genellikle yüksek moleküler ağırlıklı polisakkaritler ve fenolik bileşikler gibi kontaminasyon maddelerini bulundurmamasıyla tanımlanmaktadır (Abdel-Latif ve Osman, 2017). Ekstraksiyon işlemi sonrasında saf bir halde elde edilen DNA, farklı çalışmalarda ve farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Genomik DNA bir çok moleküler biyoloji tekniği ve araştırmasının başlangıç materyalidir. Farklı metotlar bu genomik DNA'lar için geliştirilmektedir (Ganiyu vd., 2017). Metotların bazıları, kontaminant içermeyen yüksek moleküler ağırlıklı DNA elde etmek için uzun süreli inkübasyona, çoklu çökeltmelere veya ticari olarak temin edilebilen kitlelere dayanmaktadır (Abdel-Latif ve Osman, 2017). Ancak bu metotlar saf olmayan DNA yada çok az miktarlarda kaliteli DNA üretilmesine neden olmaktadır. Setiltrimetilamonyum bromür DNA ekstraksiyon yöntemi genellikle yüksek miktarlarda polisakkarit, fenolik bileşik gibi inhibitörlerin uzaklaştırılmasını sağlamakta ve bu yüzden bu çalışmada CTAB protokolü kullanılmaktadır (Lodhi vd., 1994). CTAB yöntemi özellikle bitki dokularından DNA izolasyonu için yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. CTAB (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide) hücrelerde deterjan görevi görerek hücre zarlarını parçalar, polisakkaritleri çöktürerek saf bir DNA eldesine yardımcı olur. Özellikle domates yaprağı gibi yüksek polisakkarit ve fenolik bileşik içeren örneklerde tercih edilmektedir. Bu nedenler dolayısıyla domates yaprakları meyvesinden farklı olarak fenolik bileşik ve antioksidan kapasiteye sahip olabilmektedir. Bu özellikleri sebebiyle gıda katkısı, fonksiyonel gıdalar ve kozmetik ürünler gibi alanlarda kullanım potansiyeli araştırılmaktadır. Ayrıca domates yaprağından elde edilen antioksidanlar, gıda raf ömrünü uzatmak için biyoaktif filmlere katıldığı bazı çalışmalar mevcuttur (Walia vd., 2014). Bu çalışmanın amacı, saf ve kaliteli DNA ekstraktıyla, elde edilen DNA'ların bitkisel protein (bezelye protein) ile farklı formülasyonlarda hazırlanarak mikrodalga ve ıslak konjugasyon (maillard) yöntemleri kullanılarak konjugatlar oluşturulmasını sağlamak, bu farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) hazırlanan DNA- protein konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri üzerine yapısını incelemek hedeflenmiştir.

2.2.1.1. DNA-Protein Konjugasyonu



Şekil 2.1. DNA-protein konjugasyonu

DNA'nın proteinlere konjugasyonu, akademide ve endüstride, proteinlere tanımlama için etiketler veya diğer DNA ipliklerine hibridizasyon için kulplar sağlamak için giderek daha fazla kullanılmaktadır. DNA-protein konjugatları, DNA'nın programlanabilirliği ile proteinlerin çeşitli işlevlerini birleştirdikleri için giderek daha fazla kullanılmaktadır. Konjugasyonu sağlamak için hem DNA hem de proteinin erişilebilir fonksiyonel grupları olmalıdır. DNA'nın görece inert yapısı (Fredriksson, 2002) katılabileceği kimyasal tepkimeleri sınırlar ancak otomatik katı faz DNA sentezi hem dizi üzerinde kontrol sağlar hem de DNA-protein konjugasyonu için gerekli olan çok çeşitli fonksiyonel grupların eklenmesine olanak tanır (Meyer, 2014).

DNA'nın proteinlere konjuge edilmesi için kullanılan stratejiler tipik olarak yüksek reaksiyon hızları gerektirir, çünkü bunlar genellikle düşük konsantrasyonlarda gerçekleştirilir. Bu nedenle reaktif gruplar hızlı ve seçici kimyasal reaksiyona olanak sağlamalıdır. Ayrıca, protein fonksiyonunu korumak için reaksiyonun biyolojik olarak uyumlu olması gerekir, bu da genellikle 4 ile 37 °C arasındaki sıcaklıklarda nötr sulu koşullar anlamına gelir. Reaktanlar, sulu ortamda veya proteinlerde bulunan fonksiyonel gruplar tarafından parçalanmadan önce konjugasyona katılacak kadar kararlı olmalıdır. Hemen hemen tüm DNA-protein konjugatlarında ortak olan, korunan protein fonksiyonu ve aktivitesinin önemidir. Spesifik olmayan etiketleme, proteinin aktif bölgesine yakın veya bu bölgede modifikasyona neden olabilir ve böylece konjugatı inaktive edebilir.

2.3. Maillard reaksiyonu

Karbonil ve amino grupları arasındaki Maillard veya enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonu, ısı ile işleme tabi tutulan gıdalarda yaygın bir reaksiyondur (Nooshkam ve Varidi, 2020). Adını 1912'de Fransız kimyager Louis Camille

Maillard'dan alan LC Maillard, gıdaların ısıtılması sırasında glisin – glikoz arasında gerçekleşen reaksiyonla melanoidin denen koyu renkli pigmentlerin oluştuğunu gözlemleyen ilk bilim adamı olmuştur (Maillard, 1912). Daha sonra Hodge Maillard reaksiyonu alanındaki çalışmaların devam etmesine yardımcı olmuştur. İsveç'te 1979'da Maillard'ın önemi ve sağlık üzerine etkileri konu edilerek il Maillard sempozyumu düzenlenmiştir (Gerard, 2006).

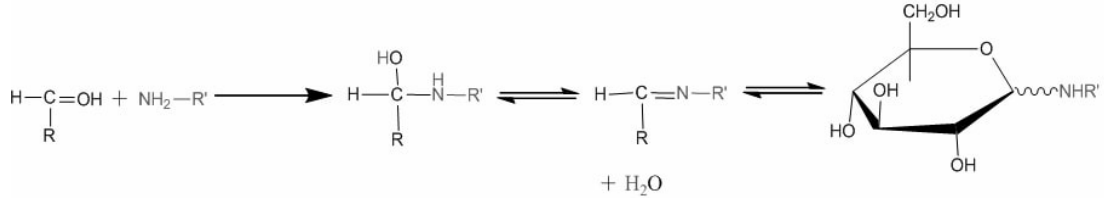
Maillard reaksiyonu, birçok endüstriyel ve evsel işlemin arzu edilen bir sonucudur ve bazı pişmiş gıdaların çekici tadı ve kahverengi renginden sorumludur. Maillard reaksiyonu, gıda işleme ve depolama sırasında enzimatik olmayan bir termal reaksiyon olarak da tanımlanabilir. Gıdaların lezzetine, rengine, sağlık yararlarına ve güvenliğine büyük ölçüde katkıda bulunduğu birçok çalışmada yerini almış ve bir dizi kimyasal reaksiyonun geliştirilmesiyle kısaca başlangıç, ara ve son aşamalara ayrılabilirdi yine birçok çalışmada yerini almıştır. Gıda bileşenlerinin termal reaksiyonu sırasında, şeker, protein ve aminoasitler genellikle ana substratlardır ve gıdalarda bir arada bulunan polifenoller de bir modülatör olarak Maillard reaksiyonuna katılabilir. Flavan-3-oller, hidroksisinnamik asitler, flavonoidler ve tanenler dahil olmak üzere polifenoller, amino asitlerin / şekerlerin konjuge edilmesi, α -dikarbonillerin yakalanması, Amadori yeniden düzenleme ürünlerinin (ARP'ler) yakalanması dahil olmak üzere Maillard reaksiyonu süreci boyunca çeşitli etkiler göstermiştir. Bu etkiler, işlenmiş gıdaların tadını, tadını ve rengini önemli ölçüde etkilemiş ve ayrıca tehlikeli ürünlerin seviyesini azaltmıştır (Han, Z. vd., 2022).

Maillard reaksiyonu; çay, kahve, bira gibi gıdalarda tat, aroma, renk gibi karakterlerin oluşumu, son ürün kalitelerinin gelişimi gibi özelliklerini kontrollü seviyelerde gerçekleştirildiğinde arttırdığını göstermiş; proteinlerin çözünürlüğünü, emülsiyon özelliklerini de geliştirdiği için bir çok çalışmada yer almasına katkıda bulunmuştur (Zhou vd., 2017). Maillard reaksiyonu kontrol altında gerçekleştirilmezse kötü tat oluşumu, besinsel protein kaybı ve toksik bileşik üretimine neden olur. Özellikle HMF (5-hidroksimetilfurfural) ve akrilamid gibi toksik bileşikler Maillard reaksiyonu sırasında ortaya çıkmaktadır. Bu yüzden meyve suyu, UHT sütler, pekmez, bal, bebek mamaları gibi ısıl işlem gören bu gıdaların içeriğinde toksik bileşik oluşmamasına dikkat edilmelidir (Nooshkam vd., 2019).

2.3.1. Maillard reaksiyon mekanizması

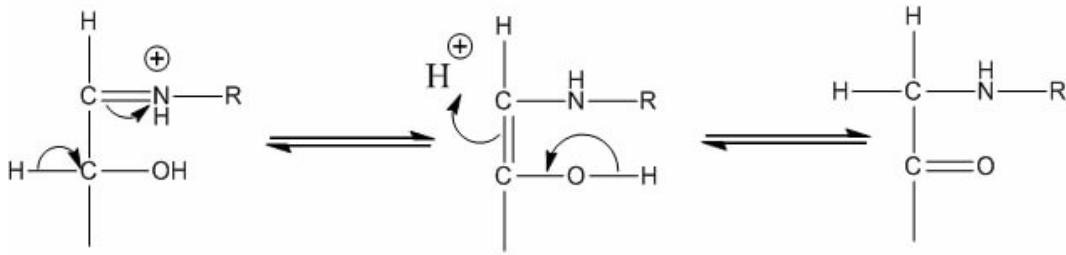
Maillard reaksiyonları komplike yapıda olmasına rağmen üç aşamada

seyretmektedir. Şeker-aminoasit kondenzasyon reaksiyonu (Şekil 2.2) sonucu suyun uzaklaşmasıyla Schiff bazı oluşur ve bu da reaksiyonun ilk basamağını oluşturur. asit- baz katalizli ve dönüşümlü olan bu reaksiyondan sonra Schiff bazı aldozilamine döner.



Şekil 2.2. Serbest amino grubu ve karbonil grubu arasındaki kondenzasyon reaksiyonu

Aldozilamin bu aşamada aldozlar için Amadori düzenleme reaksiyonları ile ketozamine (1-amino-1- dezoksiketoz) izomerize olur (Şekil 2.3). Ketozlar için ise Heyns yeniden düzenleme reaksiyonları sonucunda 2- amino-2-deoksialdoz oluşur.

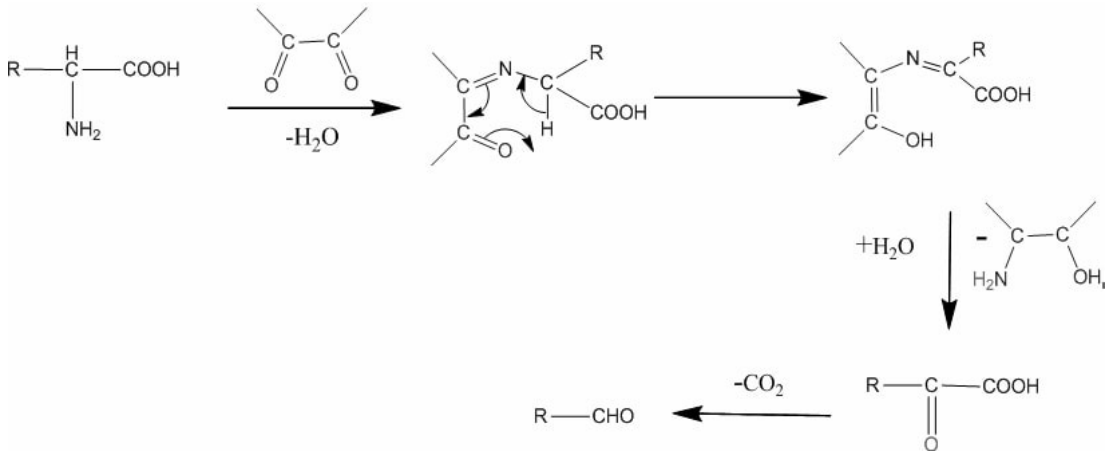


Şekil 2.3. Amadori yeniden düzenlemesi

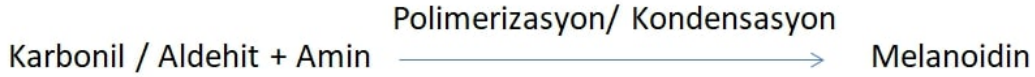
Renk değişimlerinin başladığı ikinci basamakta, birbirinden farklı başlıca üç yol bulunmaktadır. Maillard ara ürünlerinin oluştuğu birinci yolda 1-amino-1-deoksiketoz başka bir aldoz ile reaksiyona girer. Böylelikle daha az stabil olan diketozamine dönüşür. Diketozamin monofruktozamine ve 3-deoksiosüloz gibi birçok bileşiğe parçalanır. İkinci basamağın ikinci yolu olan Amadori ürünleri enolizasyonu ile gerçekleşir. Burada pH:7'den düşük ise pentoz şekerler furfurala dönüşür, heksoz şekerleri de hidroksimetilfurfurala dönüşmesi ile devam eder. pH:7'den yüksek yüksek ise oldukça reaktif ürünlere enolize olur (Çelebi, 2006).

İkinci basamağın son yolu ise Strecker bozulmasıdır. Amino grupları-karbonil grupları arasında kondanse olduğu ve CO₂ oluşumu ile karakterize olabilen bu basamak, aynı zamanda aroma oluşum başlangıcıdır. Aldehit ve aldehit türevleri aromanın kaynağıdır (Coca vd., 2004). Son basamakta ise önceki basamakta oluşan bileşiklerin aminlerle birleşerek kondanse olması, aminlerin ve aldehitlerin

polimerize olarak melanoidin denen heterosiklik yapıda koyu renkli bileşiklerin oluşmasıdır (Şekil 2.5). Reaksiyon dizileri sonucunda aromatik moleküller üretilir. Bu diziler oldukça komplike yapıda olup furanlar, dihidrofuranlar, hidroksimetilfurfural (HMF), dimetilpirazin veya piruvaldehit gibi kimyasal türlere benzerler (Edwards, 2000; Çelebi, 2006). Ayrıca melanoidinlere ilaveten, ileri glikasyon ürünleri olan akrilamidler, aldehytler, ketonlar gibi çeşitli bileşikler oluşur. Bu bileşikler gıdanın yapısında fiziksel ve kimyasal değişikliklere neden olur (Andriot vd., 2004).



Şekil 2.4. Strecker bozulması



Şekil 2.5. Maillard reaksiyonlarının üçüncü basamağı (Çelebi, 2006)

2.3.1.1. Glikasyon

Protein glikasyonu, lizin, triptofan, histidin gibi amino grupları ile indirgeyici karbonhidratlar arasında gerçekleşen reaksiyon maillard reaksiyonunun ilk aşamasıdır. Protein – DNA konjugasyonu, DNA molekülü ile proteinin amino grubu arasındaki reaksiyonla başlar, Schiff bazının üretilmesiyle sonlanır. Bu reaksiyonlar, Maillard reaksiyonunun başlangıç aşaması olarak adlandırılır ve glikasyon reaksiyonları olarak bilinir (Cui vd., 2021). Maillard reaksiyonu daha önce de belirtildiği gibi kontrolsüz şartlarda gerçekleşirse istenmeyen tat oluşumu, besin kaybı ve HMF gibi toksik bileşiklerin oluşumuna neden olmaktadır. Ayrıca kontrolsüz ısıtma işlemi, akrilamid gibi kanserojen madde oluşumuna da sebep olur (Shapla vd., 2018). Bu gibi olumsuz durumların önüne geçmek için reaksiyonun kontrol altında tutulması gerekir ve bunu yapabilmenin tek yolu reaksiyonu erken

aşamada kontrollü durdurabilmektir.

Gıda proteinleri; köpürme, jelleşme, çözünürlük, emülsifikasyon özellikleri gibi teknofonksiyonel özelliklerin geliştirilmesi, son zamanlarda önem arz etmektedir (Liu vd., 2012). Hidroliz, asitlendirme, esterleştirme, asetilasyon gibi fiziksel, kimyasal ve enzimatik yöntemler de proteinlerin teknofonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Spotti vd., 2013). Ancak bazı yöntemler; toksik bileşenler içermesi, alerjenite gibi özelliklerini etkilediğinden tercih edilmemektedir.

Protein – DNA konjugasyonunun Maillard reaksiyonu ara ürünlerini oluşturmada antioksidan aktivitesini (Chen ve Kitts, 2008), emülsifikasyon özelliklerini (Wang vd., 2018), çözünürlüğünü arttırdığı bildirilmiştir. Bu nedenle DNA molekülü ile protein arasında gerçekleşen Amadori ve Heyns bileşiklerinin oluşmasına yol açan glikasyon reaksiyonu Maillard reaksiyonundan daha fazla popülerlik kazanmıştır (Taniguchi vd., 2015). Amadori bileşiklerinin proteinler ile daha fazla çapraz bağlanması, zararlı ileri glikasyon ürünlerinin (AGE) oluşumuna neden olduğundan dolayı, glikasyon reaksiyonunun da kontrol altında gerçekleştirilmesi gerekmektedir (Poulsen vd., 2013). Glikasyon reaksiyonunun hızı ve kapsamı ortamın pH'ına, işlem süresine, sıcaklığa bağlı olarak değişebilmektedir (Ge Pan ve Melton, 2007).

2.3.1.2. Glikasyon yöntemleri

Glikasyon Maillard reaksiyonun ilk basamağıdır. Proteinlerin çeşitli yapılarıdaki özelliklerini değiştirebilir. Glikasyon enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonlarının ilk adımı olarak proteinlerin serbest amino grupları ve indirgen şekerleri arasında gerçekleşir. Glikasyon proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirdiği için gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ancak sadece fonksiyonel özelliklerini değil, ürünün görünümünü ve tadını da etkiler (Taş vd., 2021). Bu reaksiyon diğer kimyasal modifikasyon türlerinden daha üstündür. Bu yüzden protein modifikasyonu için gıda endüstrisinde umut verici bir uygulama teşkil etmektedir (Liu vd., 2012). Diğer modifikasyon tekniklerine göre glikasyon, ılımlı koşullar altında gerçekleşir ve herhangi bir yabancı kimyasal gerektirmez. Bazı çalışmalar gıda proteinlerinin glikasyon ile farklı indirgeyici şekerler tarafından modifiye edilmesiyle emülsifikasyon, çözünürlük ve antioksidan aktivite gibi özelliklerini arttırdığı gözlemlenmiştir (Liu vd., 2012; Taş vd., 2021).

Proteinlerin glikasyonunda çeşitli yöntemler mevcuttur. Bunlar geleneksel ve

yenilikçi yöntemler olarak adlandırılır. Geleneksel yöntemler; kuru ve ıslak ısıtma olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Yenilikçi yöntemler ise ultrases (Chen vd., 2016), mikrodalga (Meng vd., 2019), ultasonikasyon (Li vd., 2014) gibi teknolojilerdir. Geleneksel yöntemler baz alındığında kuru ısıtma ve ıslak ısıtma yöntemleri benzer adımlar içerirler ancak numunelerinin hazırlanması birbirinden farklıdır. Örneğin kuru ısıtmada hazırlanacak konjugat karışımı glikasyon öncesinde liyofilize edilirken, ıslak ısıtmada liyofilize edilmeden doğrudan glikasyona tabi tutulurlar (Sedaghat Doost vd., 2019). Bu yüzden kuru ısıtma yönteminde numunelerin kuruma düzeyine erişmesi uzun sürmektedir. Ayrıca DNA-protein karışımında eşit olmayan dağılım ve faz ayrılması gibi durumlar görülebilir. Bu yüzden kuru ısıtma ile glikasyon yöntemi pek tercih edilmemekte, endüstride uygulamaya uygun görülmemektedir (Zhu vd., 2008). Bu nedenle bu çalışmada ıslak ısıtma yöntemi ile glikasyon işlemi gerçekleştirilecektir.

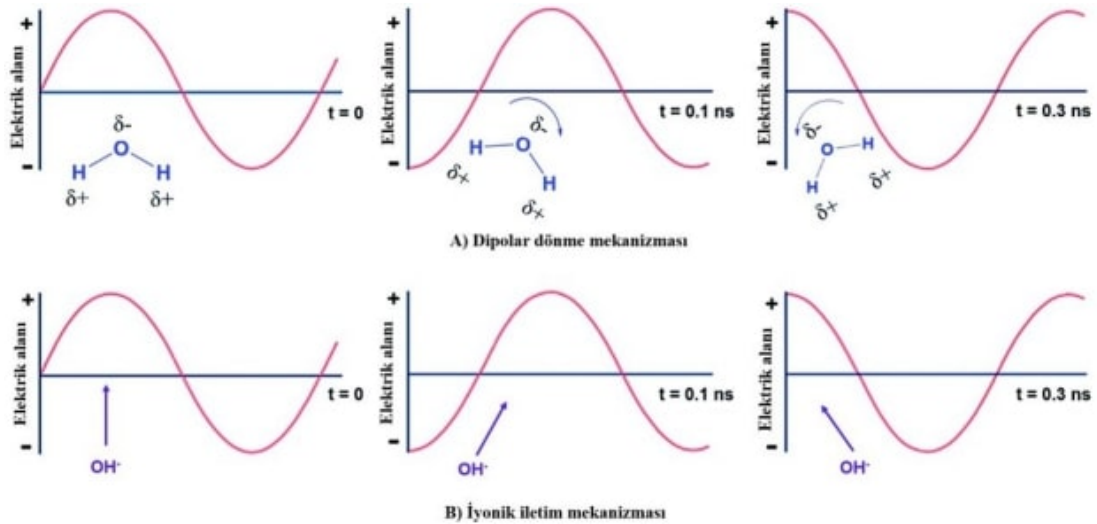
Mikrodalga ile ısıtma yöntemi; enerji tasarrufu sağlayarak, kimyasal sentezlerde saflığı ve verimi arttıran bir yöntemdir. Ayrıca gıdaya hacimsel ısıtma sağladığı gibi konveksiyon, iletim ve radyasyon yoluyla da ısı transferini sağlayan geleneksel metotlardan farklıdır (Sumnu ve Şahin, 2005). Bu nedenle, gıda sanayinde ve bilim dünyasında yaygınlaşarak popülerlik kazanmıştır. Bu çalışmada bu yüzden ıslak ısıtma ile ve mikrodalga ile ısıtma yöntemiyle glikasyon yöntemleri uygulanarak sonuçlar formülasyonları bakımından karşılaştırılmıştır.

2.3.1.2.1. Islak ısıtma ile glikasyon

Islak ısıtma ile glikasyon, bir tampon çözeltide, DNA-protein karışımını belirli pH değerinde hazırlanıp belirlenen sıcaklıkta ve sürede ısıtılarak gerçekleştirilen bir işlemdir. Islak ısıtma sulu ortamda yapılan proteinler ile DNA arasındaki etkileşimi maksimum seviyeye çıkaran bir yöntemdir. Proteinler ile DNA arasında, pH değeri ayarlanmış sulu çözelti içerisinde belirli oranda karıştırılır ve kontrollü sıcaklık altında konjugatların oluşumu sağlanır. Islak glikasyon yönteminde sıcaklık 60-95 °C olacak biçimde çalışmalarda belirlenmiştir (O'Mahony vd., 2017). Islak ısıtma kuru ısıtma yöntemine göre hem daha kısa sürede hemde daha kısa süre zarfında gerçekleştirilmesi bakımından daha avantajlıdır. Böylelikle konjugasyonu daha başarılı bir şekilde gerçekleştirerek protein çözünürlüğü stabilitesi sağlar (McGuffey vd., 2005). Ayrıca yenilikçi bir yöntem olan mikrodalga gibi zaman ve maliyet tasarrufu sağlayarak uygulanabilmesi yönünden avantaj sağlamaktadır (Wang vd., 2018).

2.3.1.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon

Mikrodalga, iyonlaştırıcı enerjinin etkisiyle gıdaların işlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Mikrodalga ısıtması, DNA-protein konjugatlarının hazırlanmasında alternatif bir yöntemdir (Doost vd., 2019). Mikrodalga ısıtması; protein moleküllerinde bazı kovalent olmayan bağları parçalayabilir ve bu protein yapısının açılmasını kolaylaştırabilir. Diğer taraftan mikrodalga DNA'ların yeniden düzenlenerek etkileşimlerinin artmasını sağlayabilir. Böylelikle verimli bir Maillard reaksiyonu gerçekleşmiş olur. Aynı zamanda reaksiyonu hızlandırmada ve fonksiyonel özellikleri iyileştirmek için mikrodalga kullanımı avantaj sağlamaktadır (Kan vd., 2021). Mikrodalga eşit olmayan sıcaklık dağılımı yada aşırı ısınma sorununa neden olan seçici ısıtmayı da beraberinde getirmektedir. Seçici ısıtma ile polar moleküller tarafından seçici olarak emilimin sağlanması ile oluşur (Chizoba Ekezie vd., 2017). Güç, zaman ve sıcaklık gibi koşulların optimize edilmesiyle eşit olmayan ısıtma probleminin üstesinden gelinebilir.



Şekil 2.6. Mikrodalga ısıtmanın temel mekanizması: A) dipolar dönme mekanizması, B) iyonik iletim mekanizması (Zhang vd., 2017)

Mikrodalga ısıtması yardımı ile hazırlanan konjugatlarda ısıtma süresi çok önemlidir. Konjugatlar, ısıtma süresi arttığında serbest radikalleri daha fazla engeller ve daha yüksek antioksidan aktivite gösterebilmektedir. Maillard konjugatlarının üretiminde mikrodalga ısıtmanın ıslak ve kuru ısıtmaya kıyasla daha verimli sonuçlar sunduğu tespit edilmiştir (Doost vd., 2019). Sun vd. (2020) maltodekstin konjugatları ile yumurta beyazı proteinlerini geleneksel ıslak ısıtmaya ek olarak mikrodalga ısıtma ile gerçekleştirmişlerdir. Mikrodalga ısıtması altında yapılan reaksiyonda işlem hem daha kısa sürmekte hem de çözünürlük ve köpüklenme özelliklerini de artmaktadır. Mikrodalga ısıtması ile gerçekleştirilmesi sonucu konjugasyonun

emülsifikasyon aktiviteleri de artmıştır. Çalışmaların genel sonucu mikrodalga ısıtmasının geleneksel yöntemlere göre daha yüksek verimlilikte gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır.

2.4. Dondurarak Kurutma (Liyolifizasyon) Tekniği

Liyolifilizasyon, maddenin önce dondurulduğu, sonrasında ise sublimasyon ve desorpsiyon ile solvent miktarının kimyasal ve biyolojik reaksiyonları desteklemeyecek kadar azaltıldığı bir stabilizasyon prosesidir (Jennigs TA, 2008; Gaidhani KA vd., 2015; Deepak B vd., 2015). Dondurarak kurutma işlemi; aktif, kuru, uzun bir raf ömrüne sahip ve kolay çözünebilir yapıda bir ürün elde etmek için dondurma ve kurutma işlemlerinin yararlarını birleştiren bir proses olarak tanımlanabilir.

Liyolifilizasyon, ‘liyofil’ denilen Yunanca bir terimden türetilmiş, ‘çözücü seven-sıvı çeken’ anlamlarına gelmektedir (Jennigs TA, 2008; Gaidhani KA vd., 2015; Rey L., 2010). Liyolifizasyon kuru bir ürünün yüksek seviyede yeniden rehidre olabilme yeteneğini ifade etmektedir. Liyolifizasyon, çok aşamalı bir operasyon olarak ifade edilir ve her bir basamağı kritiktir. Bu proseste ana bileşenler iyi anlaşılacak sıkıca kontrol altına alınmalıdır (Rey L., 2010).

Liyofilizasyon prosesi sonrasında kurumuş ve poröz (toz yapıda) yapıdaki ürün, liyofil özelliğinden dolayı çözücüyü hızlıca absorbe ederek proses öncesi orijinal yapısına tekrar dönüşebilir (Jennigs TA, 2008). Oluşan poröz yapıdaki ürün belirlenmiş saklama koşullarında nem içeriği düşük olduğundan dolayı çok uzun süre depolanabilir (Tsinontides SC vd., 2008). Yapılan bir çok çalışmada liyolifilizasyon tekniğinin kullanılması oluşturulan konjugatların kolay çözünebilir yapıda, kuru, raf ömrü uzun bir ürün olmasını sağlayarak ürün için yapılan analizlerin en kolay ve doğru sonuç vermesini sağlamıştır. Dondurma yapmaktaki amaç, Maillard reaksiyonuna maruz bırakılmış konjugatların sıcaklığını düşürerek solut ve solventin ayrıldığı bir matriks elde etmektir. Bu sayede, matriksin intersitisyel bölgesindeki su mobilitesini sınırlandırmak ve sifıra yaklaştırmak amaçlanır. Böylelikle kurutma prosesi boyunca formülasyonların su buhar akışına minimal direnç gösterecek bir matriks yapısının eldesi amaçlanmaktadır (Jennigs TA, 2008). Ayrıca solventin çözünen kısımdan ayrılması, üründe termal degradasyon minimize edilerek ve vakum işlemi gerçekleştirilerek ürünün köpük oluşturma yetisi engellenebilmektedir (Deepak B. vd.,2015; Tang XC vd., 2004).

2.4.1. Kullanım alanları

Liyofilizasyon, geniş kullanım alanına sahip ısıya duyarlı önemli bir prostestir (Przic DS vd., 2004). Mikrobiyal kültür gibi canlı materyallerin stabilizasyonu, müzede sergilenen hayvan örneklerinin preservasyonu (taksidermi), çiçeklerin kurutulması (tahnitçilik), reaksiyon ürünlerinin geri kazanımı yada konsantre edilmesi gibi çeşitli aşamaları vardır. Liyofilizasyon; sağlık, endüstri, biyoendüstri, veterinerlik gibi çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Sağlık hizmetleri endüstrisinde, parenteral formülasyonlar, aşılar, kimyasal bileşikler ve teşhis ürünlerindeki farmasötiklerin liyofilizasyonunu içermektedir. Biyo-endüstri sektöründe ise standart bir işleme tekniği halinde davranarak üretilen yüksek kaliteli ve maliyetli ürünleri stabilize etmektedir (Lenart A, 2011). Ayrıca spermilerin uzun süre depolanması, eritrosit, plazma ve serumun yanı sıra organ nakli gibi işlemlerde kullanılmak üzere bazı dokuların liyofilize edilerek saklandığı saptanmıştır (Halkman A vd.,2000). Gıda endüstrisinde liyofilizasyonun bilinen en yaygın örneği kahvedir (Jennigs TA, 2008). Ayrıca astronot gıdası olarak popülerleşen bir proses olmuştur (Gaidhani KA vd., 2015). Çay, et ürünleri, meyve sebze ürünleri hazır yiyecekler ve bazı aromatik otlar liyofilizasyonun uygulandığı gıda çeşitleri olarak karşımıza çıkmaktadır (Cook I, 2018; Ratti C, 2012).

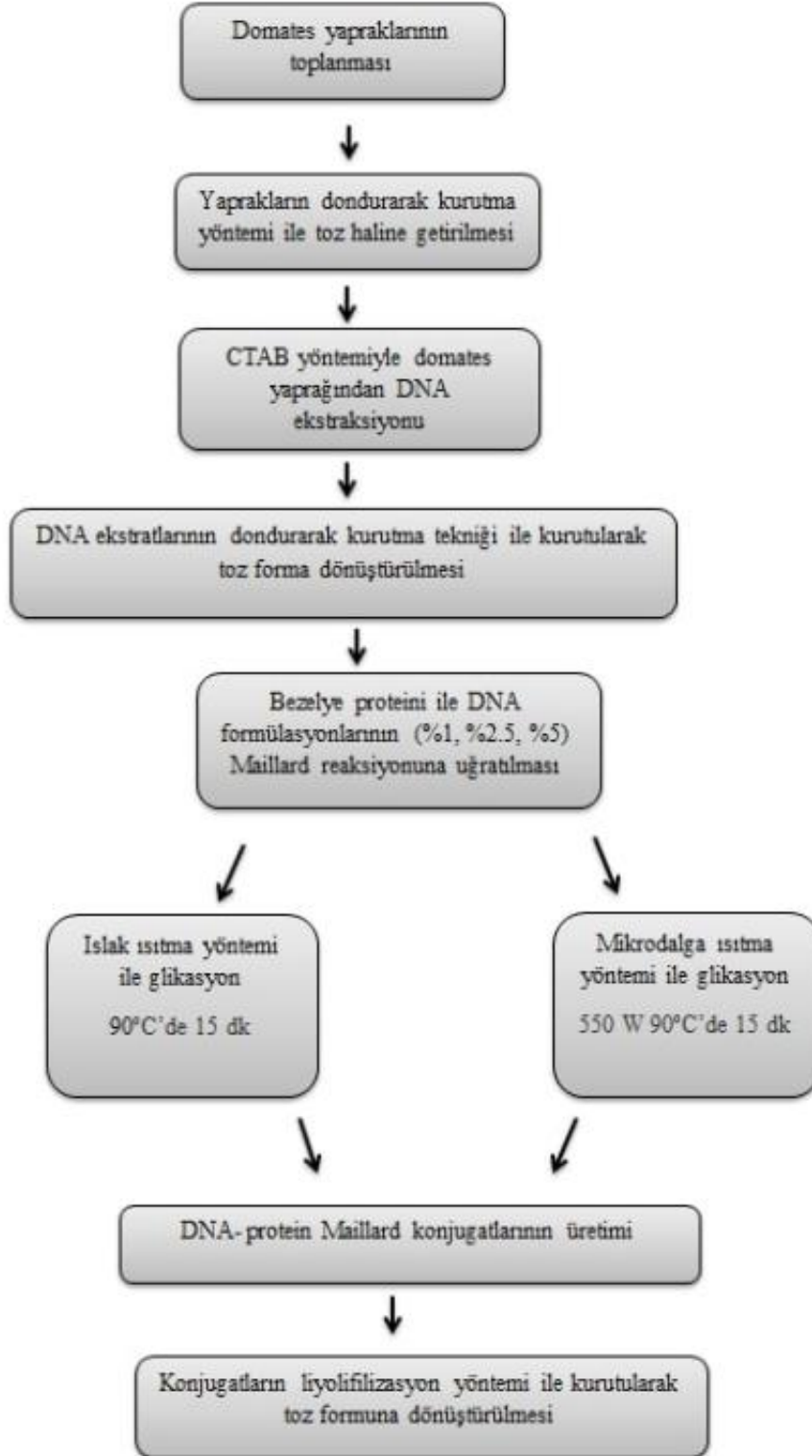
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Bu çalışmada bitkisel ürün olarak domates yaprakları Şanlıurfa ilinde faaliyet gösteren yerel seralardan toplanarak genç ve ergin yaprakları ayıklanmış ve DNA kaynağı olarak kullanılmıştır. Protein kaynağı olarak bezelye proteini ve diğer kimyasallar Sigma-Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. Bu bilgiler ışığında Şanlıurfa yöresine ait yerel seralardan toplanan domates yaprakları genç ve taze yapraklarından ayıklanarak CTAP yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Daha sonra ekstrakte edilen DNA sıvısı dondurarak kurutma (Coolermed, Türkiye) tekniği ile kurutulmuştur. Bezelye protein tozu ve DNA tozu farklı formülasyonlarda hazırlanarak ıslak ısıtma glikasyon (Termal, Türkiye) ve mikrodalga destekli glikasyon (Sineo, Mas-II Plus, Çin) ile Maillard konjugatları elde edilmiştir.

3.2. Yöntem

Tez çalışması kapsamında yürütülen işlemlere ait akış şeması Şekil 3.1’de sunulmuştur. Çalışma, 2 aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada Şanlıurfa yöresine ait seralardan toplanan domates yapraklarının genç ve taze olanları ayıklanarak CTAP yöntemiyle ekstrakte edilerek dondurarak kurutma tekniği (liyolifilizasyon) ile kurutulmuştur. İkinci aşamada ise bezelye proteini ile DNA 2:1 oranında farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) hazırlanarak 2 farklı glikasyon yöntemi (ıslak ısıtma, mikrodalga destekli) ile Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Oluşan konjugatlar her bir glikasyon yönteminde optimum işlem koşullarında üretilen Maillard konjugatları liyolifilizatör ile kurutularak on iki farklı nihai Maillard konjugatı elde edilmiştir. Ardından bezelye proteini ve farklı formülasyonlarda hazırlanan Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel analizleri gerçekleştirilmiştir. En iyi formülasyona sahip DNA konjugasyonunun bezelye proteini üzerine etkisi araştırılarak sunulmuştur.

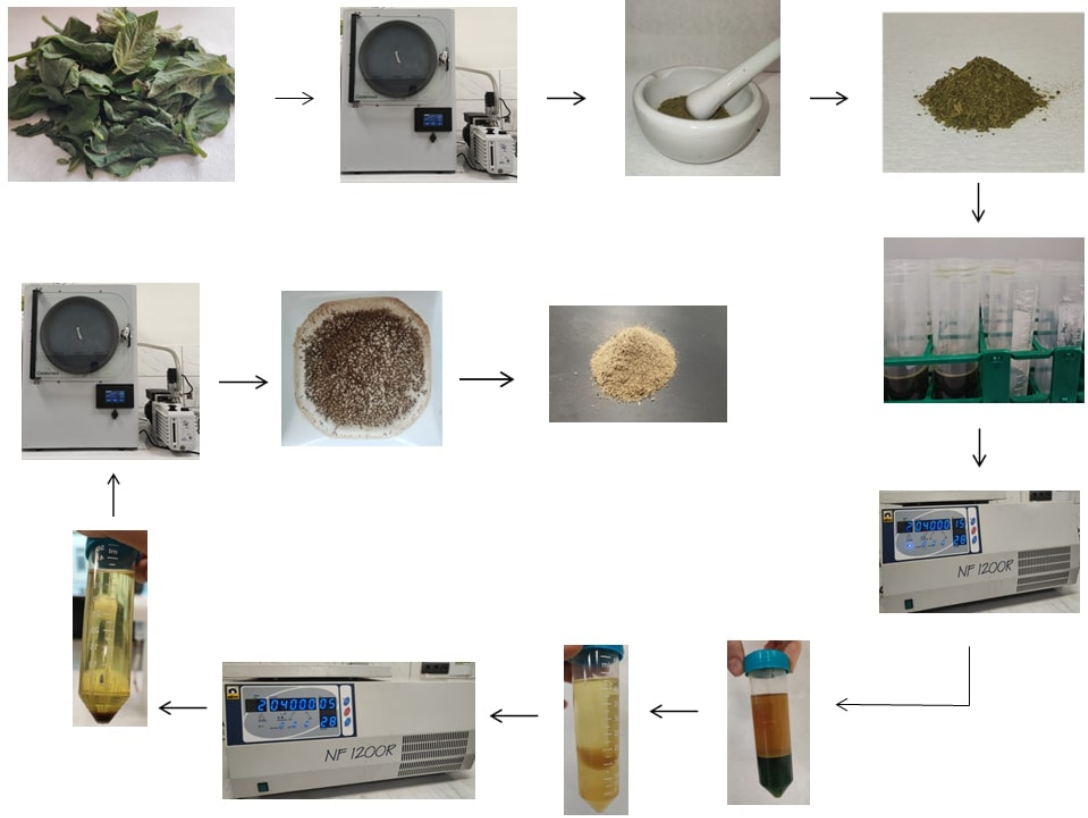


Şekil 3.1. Çalışma kapsamında gerçekleştirilen işlemlere ait akış şeması

3.2.1. Domates yaprağından DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu üretim aşamaları Şekil 3.2’de sunulmuştur. Genç ve taze

domates yaprakları saplarından ve olgun yapraklarından ayıklanarak hazırlanmıştır. Genç ve taze yapraklar dondurarak kurutma tekniği ile kurutulmuş ve havanda öğütülmüştür. Öğütülen yapraklara (0,5 g) 5 mL ekstraksiyon tamponu ilave edilerek yapraklarla karıştırılmıştır. Oluşan karışım 15 mL santrifüj tüplerine aktarılmıştır. 50 mg polivinilpolipirrolidon (PVP) ilave edildikten sonra iyice karışması için tüpler birkaç kere ters çevrilmiş, 25 dakika 60 °C’de inkübe edilerek oda sıcaklığında bekletilmiştir. Karışımlar soğuduktan sonra 6 ml kloroform-oktanol eklenip tüpler 20-25 kez ters çevrilip karıştırılması sağlanarak emülsiyon oluşturmaları sağlanmıştır. Tüpler 4000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilerek faz ayrımı gerçekleştirilmiştir. Üst fazı (süpernatant) yeni bir tüpe aktarılacak şekilde elde edilen sulu çözeltiye 0.5 hacim 5M NaCl ilave edilmiş ve karıştırılması sağlanmıştır. Oluşan hacmin iki katı kadar soğuk (-20 °C) %95’lik etanol eklenmiş, DNA iplikçikleri görünmeye başlayana kadar (4 ila 6 °C) soğutulmuştur. Ardından 3000 rpm’de üç dakika, 4000 rpm’de ise beş dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen pelet soğuk (%76 etanol) ile yıkanmıştır. Tüpler 20-30 dakika süresince 37 °C’de kapağı açık bir şekilde bırakılarak DNA peletini kurutmadan etanolü tamamen uzaklaştırılmıştır. Kalan pelet 200 veya 300 µL TE buffer içerisinde çözündürülmüştür. Son olarak 260 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüm yapılmıştır. Domates yaprağından elde edilen bu DNA’yı uzun süreli saklama için -70 °C’de, kısa süreli saklama için -20 °C’de muhafazası sağlanmaktadır (Lodhi vd., 1994).

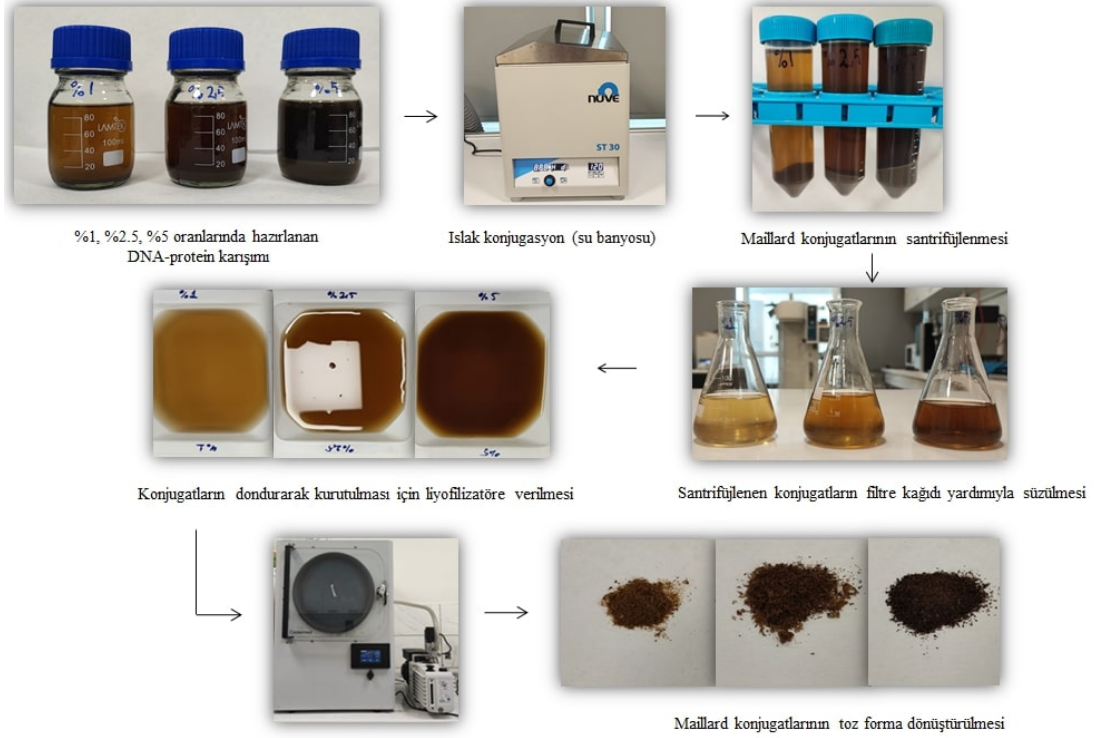


Şekil 3.2. Domates yaprağından DNA özütlemeye işlemi aşamaları

3.2.2. Maillard Konjugatlarının Üretimi

3.2.2.1. Islak ısıtma glikasyon yöntemi ile Maillard konjugatlarının üretimi

Islak ısıtma yöntemi ile glikasyon yapabilmek için optimum koşullar, daha önce laboratuvarımızda ön denemeleri yapılan çalışmalar ile belirlenmiştir (Başyigit vd., 2022). 100 ml (0.2 M PH 7) fosfat tampon çözeltisi içerisine, %1, %2.5 ve %5 oranında protein-DNA karışımı hazırlanarak eklenmiş, 2 saat boyunca oda sıcaklığında shakerda karıştırılmıştır. +4 °C dolapta bir gece bekletilen bu karışım, 90 °C'de 15 dakika su banyosuna konularak Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Su banyosundan çıkarılan karışım 1 dakika buzlu suda bekletilerek reaksiyonun sonlanması sağlanmıştır. Karışım 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş, daha sonra süpernatant liyofilizasyon ile 24 saat kurutularak toz haline getirilmiş ve gerekli analizler için kullanılmak üzere +4 °C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Islak ısıtma glikasyon yöntemiyle Maillard konjugatlarının üretimi

3.2.2.2. Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi ile Maillard konjugatlarının üretimi

Mikrodalga ısıtma yöntemi ile Maillard konjugatlarının üretimini yapmak için laboratuvarımızda denemeleri yapılan parametreler (güç, süre ve sıcaklık) kullanılmıştır. Farklı oranlarda hazırlanan protein ve DNA ekstraktı (%1, %2.5, %5), 100 ml fosfat tampon çözeltisi (0,2 M Ph:7) içerisinde karıştırılmıştır. Karışım bir gece +4 °C’de bekletilmiştir. İşlem sonunda karışım mikrodalga özel balonuna alınarak 90 °C’de 550 W gücünde 15 dk boyunca mikrodalga da kontrollü Maillard reaksiyonuna tabi tutulmuştur. Süre sonunda karışım hemen buzlu suya alınarak reaksiyon sonlandırılmıştır. Karışım 4000 rpm’de 15 dk santrifüj edilerek süpernatant kısmı toplanmış ve dondurarak kurutma (liyofilizasyon) cihazında (Coolermed, Türkiye) nihai toz konjugat elde edilmiştir.



Şekil 3.4. Mikrodalga destekli glikasyon yöntemiyle Maillard konjugatlarının üretim aşaması

3.3. Analizler

3.3.1. DNA Analizleri

Esfandani-Bozchalayi ve diğerlerinin (2019) metodu DNA analizleri için minör değişiklikler ile uygulanmıştır. Bu kapsamda 2:100 (2 μ L DNA stok solüsyonu + 100 μ L ultra saf su) oranında elde edilen DNA'nın miktarı (konsantrasyon ve ekstraksiyon etkinliği) ve kalitesi (safılık ve bozulmamışlık) 260 ve 280 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Model UV-1280, Shimadzu Corp., Kyoto, Japan spektrofotometre kullanılarak safsızlıklarla kontaminyasyonu değerlendirmek amaçlı A260/A280 oranı kullanılmıştır. Bu spektrofotometrik analiz, ekstrakte edilen DNA numuneleri üzerinde 2 paralel halinde gerçekleştirilmiştir. DNA'nın miktar ve kalite değerlendirmesi için, domates yaprağından alınan 1 μ L DNA, etidyum bromür ile boyanmış %0,5 (w/v) agaroz jel üzerinde, 60 dakika boyunca 75 V sabit voltajda 1x Tris-Asetat EDTA (TAE) tamponu kullanılarak jel elektroforezine tabi tutulmuştur. Elde edilen DNA bantları görselleştirilmiştir (Esfandani-Bozchaloyi vd., 2019).

3.3.2. Protein tozu ve Maillard konjugatlarının analizleri

3.3.2.1. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

3.3.2.1.1. Su aktivitesi

Protein ve konjugatların su aktivitesi değerlerini Pre Aqua LAB ölçüm cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Cihazın örnek kabına yaklaşık 3 g kadar örnekler alındıktan sonra oda sıcaklığında nem değerine ulaşmaya kadar bekletilmiştir. dijital göstergeden okunan değerler, numunelerin su aktivitesi olarak kaydedilmiştir.

3.3.2.1.2. Renk

Toz numunelerin renk değerleri L* (aydınlık koordinatı), a* (kırmızılık koordinatı) ve b* (sarılık koordinatı) değerleri (Duangmal vd., 2008) Hunter Lab cihazı (Color Quest® XE, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (AOAC, 1984).

3.3.2.1.3. Nem

Protein ve Maillard konjugat tozlarının nem miktarı gravimetrik yöntemle eşitlik 3.1'e göre hesaplanmıştır (AOAC, 1998). İlk olarak petri kapları sabit tartıma getirilerek daraları kaydedilmiştir. Daha sonra numuneler petrilere 1'er g tartılarak 105 °C'de 24 s boyunca etüve yerleştirilmiştir. Süre bittikten sonra petrilere desikatöre alınarak soğutulmaya bırakılmış ve toplam nem miktarı aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

$$\text{Nem(\%)} = \frac{N2-N3}{N1} \times 100 \quad (3.1)$$

Eşitlikte;

N1: Tartılan numunenin kütlece ağırlığı (g) + petri kabı ağırlığı (g)

N2: Suyu uzaklaştırılmış örneğin kütlece ağırlığı (g) + petri kabı ağırlığı (g)

N3: Tartılan numunenin kütlece ağırlığı (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.2.2. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

3.3.2.2.1. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopisi (FTIR)

Protein ve konjugatların yapısal değişiklikleri, amino grupları ve bağ yapıları FTIR spektrofotometresi ile 500-4000 dalga boyu arasında 400 cm⁻¹ bölgede ve 1 cm⁻¹ veri aralığı kullanılarak oda sıcaklığında belirlenmiştir (Xu vd., 2018). Konjugatların, protein-DNA etkileşimlerini tespit etmek için IRTracer100 (EN230V) spektrometresi (Shimadzu Corporation., Kyoto, Japonya) cihazı kullanılmıştır.

3.3.2.2.2. Çözünürlük

Maillard konjugatlarının ve proteinin çözünürlüğü Bradford yöntemine göre hesaplanmıştır (Bradford, 1976). Bu metotta, numuneler 10 Mm fosfat tampon (Ph:7) içerisinde 1 mg/ml olarak hazırlanmıştır. Ardından 30 dk boyunca karıştırılmış ve süre sonunda numuneler 4000 rpm'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Elde edilen üst fazdaki protein ve konjugat miktarı Bradford kiti kullanılarak belirlenmiştir. Protein ve konjugatların çözünürlükleri eşitlik 3.4'de verilen formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{Çözünürlük} = \frac{\text{Süpernatanttaki protein miktarı}}{\text{Numunedeki protein miktarı}} \times 100 \quad (3.4)$$

3.3.2.2.3. Su tutma kapasitesi (STK)

Farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) hazırlanan konjugatlar ve proteinin su tutma kapasitesini (STK) belirlemek için santrifüj tüplerine 1 g numune tartılarak üzerine 10 mL saf su eklenmiştir. Karışım her 15 dk'da bir oda sıcaklığında 10 sn vorteks yardımıyla karıştırılmış ve bu işlem 1 saat sürmüştür. İşlem süresi bittikten sonra 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantın ayrılabilmesi için santrifüj tüpü 45 °C'lik açı ile 30 dk boyunca filtre kağıdı üzerinde süzdürülmüş ardından tartıma alınmıştır. Bezelye proteininin ve Maillard konjugatlarının su tutma kapasitesi (%) eşitlik (3.2)'deki gibi hesaplanmıştır (Cho vd., 2004).

$$\text{STK(\%)} = \frac{(N3 - N2) - N1}{N1} \times 100 \quad (3.2)$$

Eşitlikte;

N1: Protein/konjugat örneğinin ağırlığı (g)

N2: Santrifüj tüpünün darası (g)

N3: Son tartım (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.2.2.4. Yağ Bağlama Kapasitesi (YBK)

Protein ve Maillard konjugatlarının yağ bağlama kapasitelerini hesaplayabilmek için STK analizi gibi darası alınan 50 ml'lik santrifüj tüplerine 1g numune tartılarak üzerine 10 ml Ayçiçek yağı ilave edilmiştir. Karışım her 15 dk'da bir oda sıcaklığında 10 sn vorteks yardımıyla karıştırılmış ve bu işlem yaklaşık 1 saat sürmüştür. İşlem süresi bittikten sonra 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantın ayrılabilmesi için santrifüj tüpü 45 °C'lik açı ile 30 dk boyunca filtre kağıdı üzerinde süzdürülmüş ardından tartıma alınmıştır. Protein ve konjugatların yağ bağlama kapasitesi (%) eşitlik (3.3)'deki gibi hesaplanmıştır.

$$STK(\%) = \frac{(N3 - N2) - N1}{N1} \times 100 \quad (3.3)$$

Eşitlikte;

N1: Protein tozu/konjugat örneğinin ağırlığı (g)

N2: Santrifüj tüpünün darası (g)

N3: Son tartım (g) olarak tanımlanmıştır.

3.3.2.2.5. Protein ve Maillard Konjugatlarının Emülsiyon özellikleri

Emülsiyon stabilitesi (ES) ve Emülsifiye edici aktivite (EA) Yuliana vd., (2014) yöntemi ile belirlenmiştir. Öncelikle 100 ml potasyum fosfat tampon (10 mM, pH 7.0) içerisinde 0.5 g protein/konjugat karışımı çözündürülmüştür. Daha sonra bir beher içerisine protein/konjugat solüsyonu (7.5 ml) ve mısır yağı (2.5 ml) eklenmiştir. Homojenizatör (Ultra Turrax) yardımı ile 12.000 rpm'de 1 dk boyunca karıştırılmıştır. Örneklerin su içinde yağ emülsiyonu (%25, v/v) oluşturması sağlanmıştır (Lee vd., 2021).

Emülsiyon aktivite indeksi için, 50 µL hazırlanan emülsiyon ile 5 ml sodyum dodesil sülfat (SDS) (%0.1, w/v) karıştırılmıştır. Daha sonra 500 nm dalga boyunda UV-Vis spektrofotometre (Model UV-1280, Shimadzu, Japonya) ile karışımların

absorbansları okunmuştur. Emülsiyon stabilite indeksi (ESI) için de emülsiyon aktivitesi için hazırlanan karışımlara aynı metot 10. ve 30. dakikalarda (ESI10 ve ESI30) uygulanmış ve absorbans değerleri okunmuştur. Protein ve Maillard konjugatlarının ESI ve EAI değerleri aşağıda verilen eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$EAI (m^2/g) = (2 \times 2.303 \times A_0 \times SF) / (C \times \phi \times \theta \times 10000) \quad (3.5)$$

$$ESI (dk) = (A_0) \times t / (A_0 - A_t) \quad (3.6)$$

Burada,

A_0 = homojenleştirmeden sonra seyreltilmiş emülsiyonun absorbansı,

SF = seyreltme faktörü,

C = protein/konjugat konsantrasyonu,

ϕ = optik yol,

θ = yağ hacim fraksiyonu,

A_t = ilgili zamanda seyreltilmiş emülsiyonun absorbansı ve

t = 10-30 dk

3.3.2.2.6. Köpük Oluşturma Kapasitesi ve Stabilitesi

Dondurarak kurutulmuş protein/konjugat örnekleri ve saf su ile %1'lik çözeltiler hazırlanmıştır. Çözeltiler su banyosunda (60 °C) 6 farklı pH (2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 ve 12.0) değerine ayarlanarak çözündürülmüştür. Protein çözeltileri bir mezüre aktarılmış ve aktarıldığı andan itibaren başlangıç 0 dk, 30 dk ve 60 dk sonra hacimleri kaydedilmiştir. Köpük oluşturma kapasitesi (KOK) ve köpük stabilitesi (KS) aşağıdaki eşitliklere göre hesaplanmıştır.

$$KOK (\%) = \frac{\phi_{HO} - \phi_H}{\phi_{HO}} \times 100 \quad (3.7)$$

$$KS30 (\%) = \frac{\phi_{H30} - \phi_H}{\phi_H} \times 100 \quad (3.8)$$

$$KS60 (\%) = \frac{\text{Ç60}-\text{ÇH}}{\text{ÇH}} \times 100 \quad (3.9)$$

Bu eşitlikte;

ÇH: Başlangıçta hazırlanan çözeltinin hacmi (mL)

ÇH0: Homojenizasyondan hemen sonra ölçülü silindire aktarılan çözeltinin hacmi (mL)

ÇH30: Homojenizasyondan 30 dk sonra çözeltinin hacmi (mL)

ÇH60: Homojenizasyondan 60 dk sonra çözeltinin hacmi (mL)

KS30: 30. dakikada oluşan köpük stabilitesi

KS60: 60.dakikada oluşan köpük stabilitesi olarak tanımlanmıştır.

3.3.2.2.7. Jelleşme özellikleri

Bezelye protein tozlarının jelleşme özellikleri Yuliana vd., (2014) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Farklı fraksiyon aralıklarıyla %2'lik protein fraksiyonuna sahip süspansiyonlar damıtılmış su içerisinde hazırlanmıştır. Yaklaşık 1 saat kaynar suda ısıtılan numuneler, buz banyosunda hızlı bir şekilde soğutulmuştur. Test tüpü ters çevrildiğinde kaymayan konsantrasyon en düşük jelleşme konsantrasyonuna sahip olduğu g/100 g olarak belirlenerek kaydedilmiştir.

3.3.2.2.8. Serbest amino gruplarının miktarı

Opa metodu serbest amino gruplarının ölçümü için kullanılan bir yöntemdir (Guan vd., 2006). Glikolize numuneler orbital çalkalayıcıda karıştırılmış, daha sonra 4000 rpm'de 5 dk boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüjleme işleminden sonra üst faz (süpernatant) numune olarak kullanılmış ve OPA yöntemine göre solüsyon hazırlanmıştır. 0.5 ml numuneye 1.5 ml OPA reaktifi ilave edilerek 2 dk karanlıkta bekletilmiştir. Karanlıkta bekletildikten sonra UV/VIS Spektrofotometre ile 340 nm'de absorbans değerleri okunmuş ve kaydedilmiştir.

3.3.2.2.9. Esmerleşme Yoğunluğu

Esmerleşme yoğunluğunun ölçümü için spektrofotometrik analiz yapılmıştır. OPA yöntemine benzer biçimde hazırlanan protein/konjugat numuneleri UV/VIS Spektrofotometrede 420 nm dalga boyunda okutulmuştur.

3.3.2.2.10. SDS-Page (Jel Elektroforezi)

Proteinler sodyum dodesil sülfat - poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ile izlenmiş, elektroforez sonrası jeller Coomassie Brilliant Blue G250 ile boyanarak molekül ağırlıkları tespit edilmiştir.

4. BULGULAR

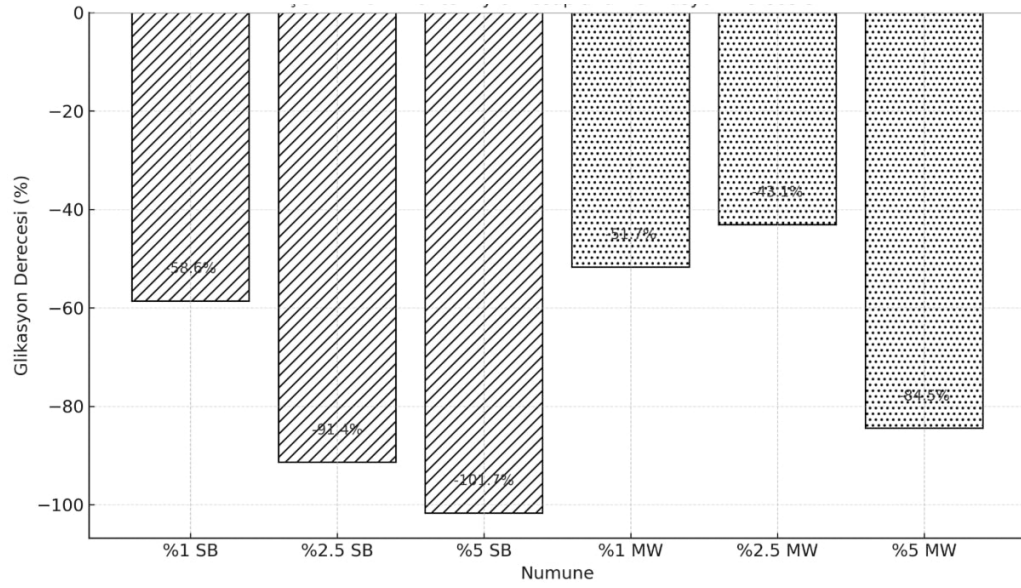
4.1. Maillard Konjugatlarının Glikasyon Derecesi

Çalışma kapsamında OPA yöntemi uygulanarak Maillard konjugatlarının GD değeri eşitlik 4.1'e göre hesaplanmıştır. Başlangıçta modifiye edilmiş bir amino grubu bulunmadığından sonuçlar BP ile kıyaslanarak hesaplanmıştır. Maillard konjugatlarının GD değerleri Çizelge 4.1'de verilmiş, istatistik verileri Şekil 4.2'de sunulmuştur.

$$DG\% = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (4.1)$$

Çizelge 4.1. Maillard konjugatlarının glikasyon dereceleri

Numune	OPA Absorbansı	Glikasyon derecesi (%)	Açıklama
%1 SB	0.092	-58.6%	Düşük glikasyon
%2.5 SB	0.111	-91.4%	Serbest amin grubu artmış
%5 SB	0.117	-101.7%	Protein yapısı bozulmuş, serbest amin grubu artmış
%1 mW	0.088	-51.7%	Hafif glikasyon
%2.5 mW	0.083	-43.1%	En verimli glikasyon
%5 mW	0.107	-84.5%	Düşük glikasyon



Şekil 4.1. Maillard konjugatlarının glikasyon dereceleri

(SB: Islak ısıtma destekli glikasyon konjugatları, MW: mikrodalga destekli glikasyon konjugatları)

Sonuçlar mikrodalga ile hazırlanan konjugatların ıslak ısıtma glikasyon yöntemine göre daha düşük absorbands değeri verdiğini göstermektedir.

4.2. Protein ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Bezelye proteinin su aktivitesi değeri 0.27, Maillard konjugatlarının su aktivitesi değeri ise 0.18-0,20 aralığında bulunmuştur.

En düşük nem miktarı mikrodalga yöntemiyle Maillard reaksiyonuna uğratılmış %2.5 formülasyona sahip konjugat olarak belirlenmiş ve en iyi sonuç olarak kaydedilmiştir. Burada ıslak ısıtma (su banyosu) yöntemiyle üretilen konjugatların mikrodalga yöntemine göre %Nem değerleri daha yüksek çıkmıştır.

Yapılan renk analizinde Maillard konjugatlarının L* değeri proteine göre daha düşük çıkmıştır. Bu durum reaksiyonun başarıyla gerçekleştiğini, konjugatların renk değiştirdiğini ve koyulaştığını, aroma-tat veya fonksiyonel özelliklerde değişiklikler olabileceğini göstermektedir.

Çizelge 4.2. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

Analizler		Islak ısıtma yöntemiyle glikasyon			Mikrodalga destekli glikasyon		
	BP	%1 SB	%2.5 SB	%5 SB	%1 mW	%2.5 mW	%5 mW
Su aktivitesi	0.27±0.00	0.20±0.00	0.17±0.00	0.11±0.00	0.20±0.00	0.19±0.00	0.18±0.00
%Nem	4.94±0.11	4.75±0.10	4.65±0.00	3.88±0.14	3.62±0.29	2.66±0.24	3.46±0.10
Renk L*	75.81±2.26	50.07±0.84	54.83±0.89	39.27±4.22	50.86±2.35	53.78±0.86	47.88±4.30
a*	3.75±0.00	2.77±0.00	2.79±0.36	1.83±0.16	2.56±0.50	2.67±0.61	2.88±0.19
b*	19.58±0.00	11.94±0.5	13.22±1.52	6.95±0.42	12.08±1.18	11.02±3.98	12.26±1.08

4.3. Protein ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

Protein ve maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri Çizelge 4.3'te sunulmuş ve sonuçlar alt başlıklar halinde detaylı olarak incelenmiştir.

Çizelge 4.3. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

Analizler		Islak ısıtma yöntemiyle glikasyon			Mikrodalga destekli glikasyon		
	BP	%1 SB	%2.5 SB	%5 SB	%1 mW	%2.5 mW	%5 mW
Çözünürlük (%)	72.64±0.00	73.46±0.00	77.47±0.00	80.95±0.00	81.60±0.00	82.53±0.00	81.99±0.00
Su tutma kapasitesi (%)	436.46±1.52	443.76±1.62	448.56±1.38	452.84±1.07	458.74±2.02	472.35±0.18	462.36±0.96
Yağ bağlama kapasitesi (%)	351.26±6.69	407.92±1.16	413.02±1.15	415.47±0.91	418.89±0.87	433.20±0.36	420.47±0.68
Köpük oluşturma kapasitesi (%)	56.00 ±4.04	70.00±3.51	74.00±3.05	76.00±2.51	78.00±2.51	84.00±2.00	80.00±2.51
Köpük stabilitesi (%)	71.42±3.02	80.00±0.98	83.78±0.87	86.84±1.21	87.17±1.21	90.47±0.51	87.50±1.21
Emülsiyon aktivitesi EAI (m ² /g)	21.62±0.05	25.71±0.02	27.36±0.01	29.79±0.13	32.47±0.19	35.88±0.02	34.44±0.01
Emülsiyon stabilitesi (ESI10)	69.27±1.27	73.47±0.07	77.17±0.81	80.04±0.35	82.16±0.76	87.35±0.49	84.97±0.03
Emülsiyon stabilitesi (ESI30)	51.72±0.84	67.60±0.29	74.64±0.03	77.92±0.07	78.68±0.02	86.01±1.28	82.00±0.98

4.3.1. Çözünürlük

Bezelye proteini ve farklı formülasyonlarda hazırlanan Maillard konjugatlarının çözünürlük değerleri Çizelge 4.3'te sunulmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtma yöntemine göre daha yüksek bir çözünürlüğe sahip olduğu saptanmıştır.

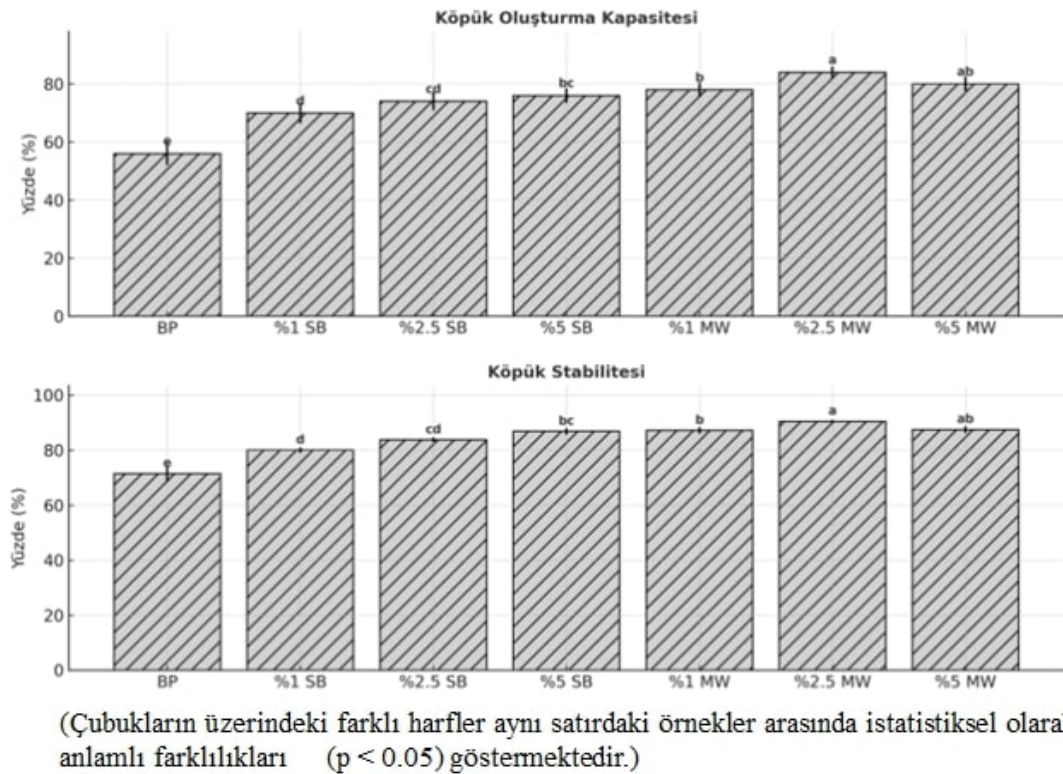
4.3.2. Su tutma kapasitesi (STK)

Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının su tutma kapasiteleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Sonuçlar karşılaştırıldığında mikrodalga yöntemiyle elde edilen konjugatların ıslak ısıtma yöntemiyle elde edilen konjugatlara göre proteinin STK değerini daha çok geliştirdiğini göstermiştir.

4.3.3. Yağ bağlama kapasitesi (YBK)

BP ve Maillard konjugatlarının YBK değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Sonuçlara göre DNA-protein konjugasyonunun mikrodalga yöntemiyle gerçekleştirilmesi BP yağ bağlama kapasitesi değerini arttırdığı geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtmaya göre daha iyi geliştirdiği gözlenmiştir.

4.3.4. Köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi (KOK ve KS)

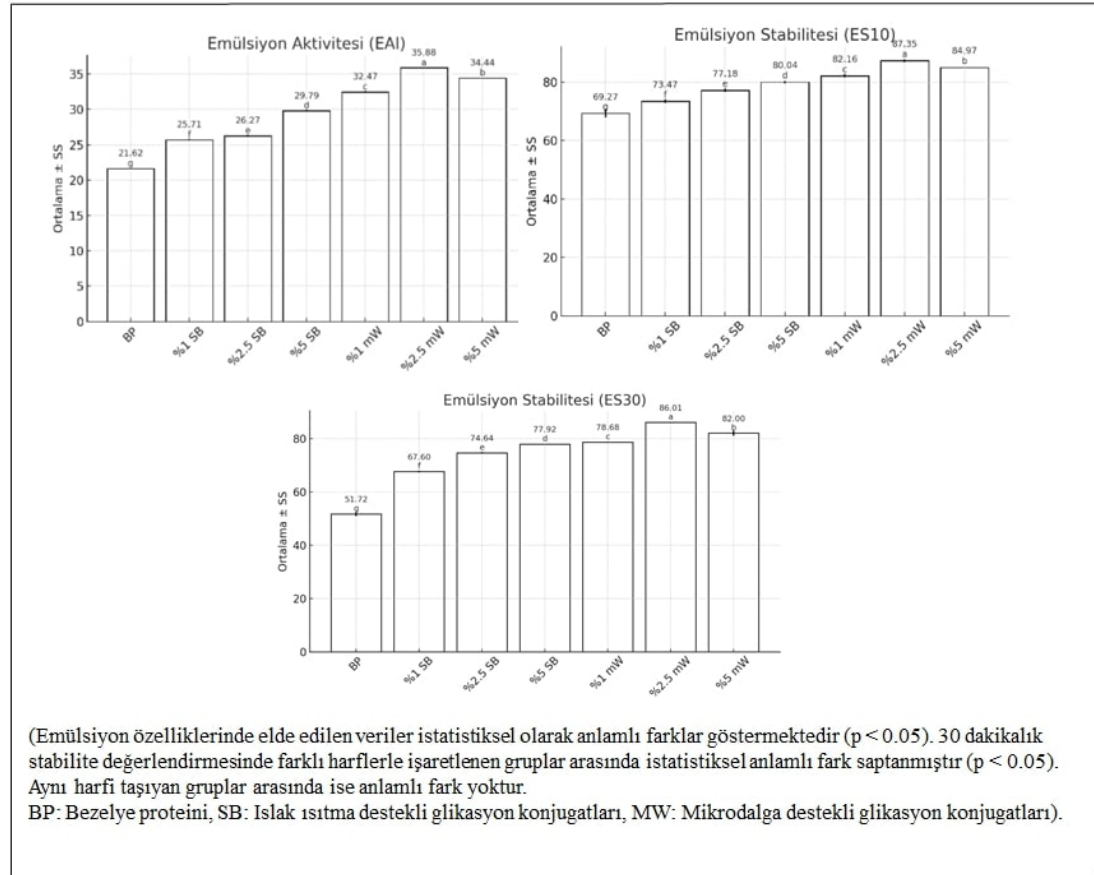


Şekil 4.2. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi değerleri

Protein ve farklı formülasyonlarda hazırlanan Maillard konjugatlarının köpük oluşturma kapasite ve stabilite değerleri Çizelge 4.3'te verilmiş, Şekil 4.2'de

sunulmuştur. Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi değerlerinde en yüksek değer %2.5 mW konjugatında gözlenmiştir. Bu durum mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların ıslak ısıtma glikasyona göre daha yüksek köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi sergilediği görülmüştür.

4.3.5. Emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi (EAI ve ESI)

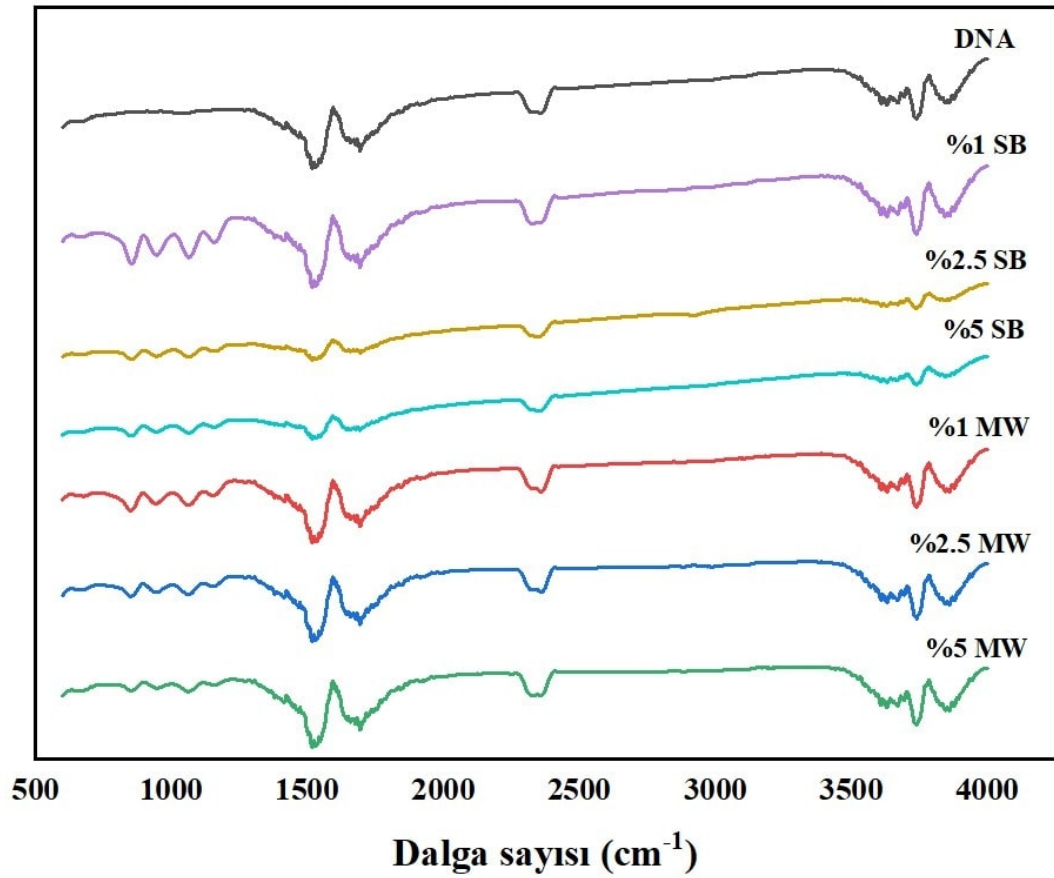


Şekil 4.3. BP ve Maillard konjugatlarının EAI, ESI10 VE ESI30 değerleri

BP ve Maillard konjugatları için EAI ve ESI değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Değerlerin karşılaştırılması ise Şekil 4.3'te verilmiştir. Maillard konjugatları arasında en iyi EAI değerinin %2.5 mW konjugatında olduğu saptanmıştır. Protein ve Maillard konjugatlarının ESI değerleri dikkate alındığında her iki yöntemle elde edilen konjugatların tek başına proteine göre stabilitelerini daha fazla koruduğu tespit edilmiştir.

4.3.6. Fourier dönüşümlü kızılötesi ışık spektroskopu (FTIR) analizi

Uygulanan iki farklı glikasyon yönteminin DNA-protein arasında oluşturduğu bağların incelenmesi için FTIR sonuçları kaydedilmiştir (Şekil 4.4).



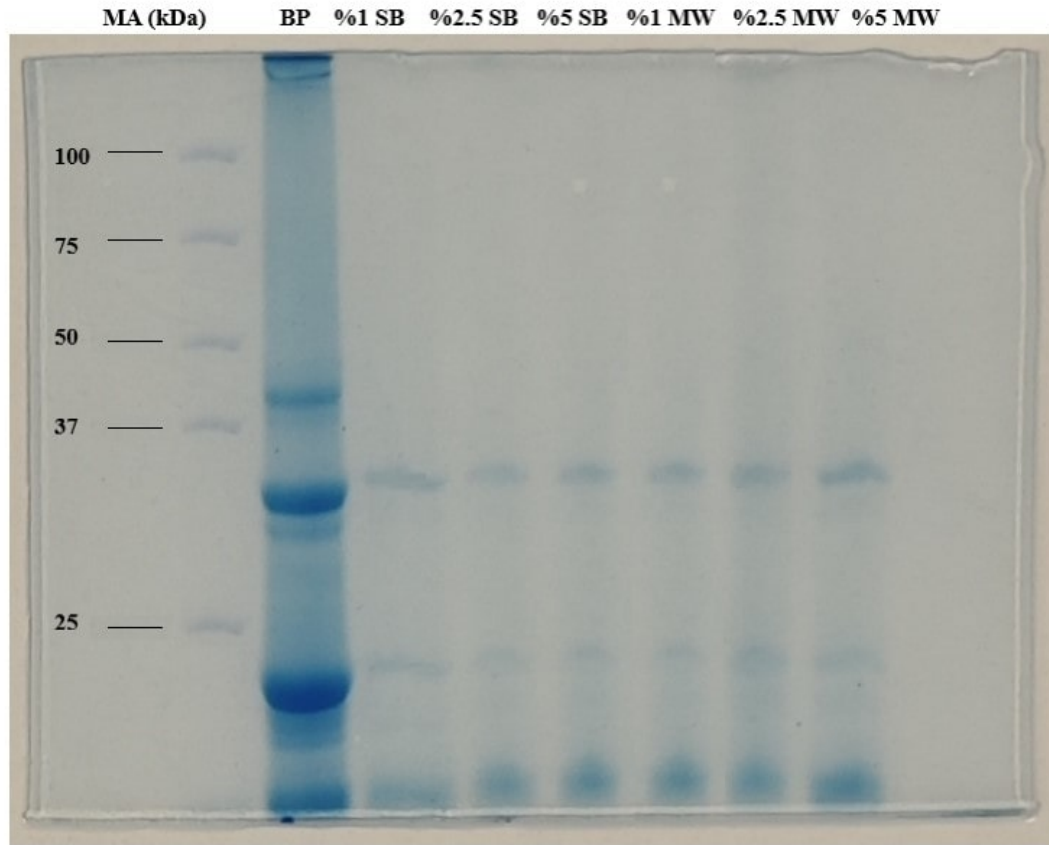
Şekil 4.4. DNA ve Maillard konjugatlarının FTIR spektrumları

4.3.7. SDS Page (jel elektroforezi)

Sds-page jel görüntüsü Şekil 4.5'te verilmiştir. Görüntü kısaltmaları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Mikrodalga ısıtmanın ıslak ısıtma yöntemine göre konjugatları daha çözünür kıldığını, daha ayrıştırıcı özellik gösterdiği görülmektedir.

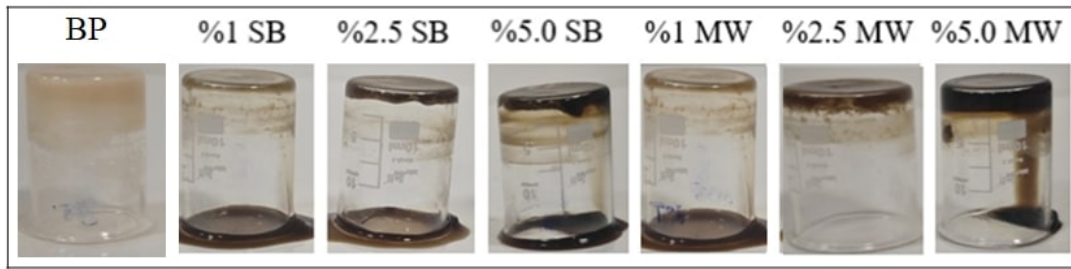
Çizelge 4.4. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının SDS görüntü açıklamaları

Numune	Açıklama
BP	Ham bezelye proteini (kontrol)
%1, %2.5, %5 SB	Su banyosunda ısıtılmış konjugatlar
%1, %2.5, %5 mW	Mikrodalga ile ısıtılmış konjugatlar
MA	Moleküler ağırlık belirteci



Şekil 4.5. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının SDS Page görüntüleri

4.3.8. Jelleşme Özellikleri



Şekil 4.6. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının jel görüntüleri

Bezelye proteini ile gerçekleştirilen Maillard konjugatlarının jelleşme özellikleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Numuneler su banyosu (SB) ve mikrodalga (MW) olmak üzere iki farklı ısıl işlemle gerçekleştirilmiştir.

4.3.9. Esmerleşme yoğunluğu

Protein ve Maillard konjugatlarının esmerleşme yoğunluğu değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Bu değerler ortalama (ORT) ve standart sapma (STD) değeri

cinsinden sunulmuştur. Kaydedilen sonuçlar esmerleşme tepkimesinin miktarını ve tutarlılığını göstermektedir.

Çizelge 4.5. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının esmerleşme yoğunluğu değerleri

Örnek	ABS/STD değerleri
BP	0.069±0.00
%1 SB	0.078±0.00
%2.5 SB	0.209±0.00
%5 SB	0.256±0.00
%1 mW	0.086±0.00
%2.5 mW	0.239±0.00
%5 mW	0.267±0.00

5. TARTIŞMA

Glikasyon derecesi (GD) Maillard konjugasyon sürecini değerlendirmek, bir protein molekülündeki serbest amin gruplarının ne kadarının şekerle tepkimeye girip kovalent bağ oluşturduğunu gösteren bir orandır. Glikasyon derecesi analizi; protein-karbonhidrat konjugatlarının oluşum etkinliğini belirlemek, fonksiyonel özelliklerdeki (çözünürlük, stabilite, emülsifiye kapasitesi vs.) değişimi anlamak, Maillard reaksiyonunun ilk basamağındaki reaksiyon verimliliğini değerlendirmek ve gıda endüstrisinde ürün kalitesini iyileştirmek açısından önemlidir (Fikry vd., 2022). OPA, gerekli modifikasyon işlemlerini takiben protein karışımında kalan serbest amino grubunu ölçmek ve GD değerini belirlemek için uygulanan bir yöntemdir (Sajib vd., 2020). Çalışma kapsamında OPA yöntemi uygulanarak Maillard konjugatlarının GD değeri eşitlik 4.1'e göre hesaplanmıştır. Başlangıçta modifiye edilmiş bir amino grubu bulunmadığından sonuçlar BP ile kıyaslanarak hesaplanmıştır.

Başarılı bir konjugasyon işlemi için serbest amin grubu miktarının azalması, yani düşük OPA absorbans değeriyle sonuçlanır (Yılmaz ve Şahin, 2021). Bu çalışmada bezelye proteini ile hazırlanan farklı formülasyonlardaki konjugatların OPA absorbans değerleri 340 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Kontrol örneği olan BP absorbans değeri 0.0585 olarak tespit edilmiştir. Farklı yöntemlerle ve farklı formülasyonlarla hazırlanan konjugatların absorbans ve glikasyon dereceleri değerleri Çizelge 4.1'de verilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde tüm konjugat gruplarında kontrol örneğine (BP) kıyasla serbest amin grubu miktarında artış gözlenmiş olsa da, mikrodalga ile hazırlanan konjugatların, ıslak ısıtma glikasyon yöntemine göre daha düşük absorbans değeri verdiği ve daha yüksek glikasyon derecesi gösterdiği görülmektedir. Özellikle %2.5 mW konjugatında ölçülen absorbans değeri (0.083), glikasyon derecesi ise -43.1% olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol değerine oldukça yakın olan bu değer, en verimli konjugasyonun bu grupta gerçekleştiğini göstermektedir. Değerlerin negatif çıkması konjugasyon koşulları altında proteinin parçalanmış yada modifikasyona uğramış olabileceğini, ortam (ph, sıcaklık, süre) koşullarının glikasyona etki edebileceğini göstermektedir (Oliver vd., 2006). Buna karşılık %5 SB konjugatında gözlenen yüksek absorbans (0.117), serbest amin grubu miktarının en fazla kaldığını ve dolayısıyla konjugasyon veriminin çok düşük olduğunu göstermektedir. Bu durum mikrodalga ısıtmanın Maillard reaksiyonunu daha etkin bir şekilde teşvik ederek DNA-protein etkileşimini arttırdığını ve daha verimli bir konjugasyon sağladığını ortaya koymaktadır. Literatürde de mikrodalga destekli konjugasyonların geleneksel

yöntemlere göre daha yüksek verimle ve daha kısa sürede gerçekleştiği belirtilmektedir (Wang vd., 2020).

5.1. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri

Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının fizikokimyasal özellikleri Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Su aktivitesi gıdalarda biyokimyasal reaksiyonlar için mevcut bulunan serbest suyu tanımlayan bir parametredir (Quek vd., 2007). Bezelye proteinin su aktivitesi değeri 0.27, Maillard konjugatlarının su aktivitesi değeri ise 0.18-0,20 aralığında bulunmuştur. Gıdalarda bakteriyel gelişim görülmemesi için su aktivitesi değerinin 0,9’un altında olması gerekmektedir (Syamaladevi vd., 2016). Gıdalarda bulunan nem miktarı bezelye proteini için %4.94, Maillard konjugatlarında ise %2.60-4.75 aralığında bulunmuştur. Maillard konjugatlarında en iyi nem değerinin %2.5 mW ait olduğu tespit edilmiştir. Burada ıslak ısıtma (su banyosu) yöntemiyle üretilen konjugatların mikrodalga yöntemine göre %Nem değerleri daha yüksek çıkmıştır. Konjugatların en düşük %Nem değerleri sırasıyla %2.5 mW > %5 mW > %1 mW > %5 SB > %2.5 SB > %1 SB > BP şeklinde kaydedilmiştir. Kurutma sonrası işlemlerde nem miktarının %5’in altında olması başarılı bir işlem olarak kabul edilmiştir.

Tüketici tercihinde kalite parametrelerinden biride renk faktörüdür. Gıda uygulamalarında Maillardın konjugatlar üzerinde renk veya tatta en az seviyede değişiklik ile gelişmiş işlevsellik sağlaması gerekmektedir. Maillard konjugatlarının renk değişikliğini önlemek amacıyla reaksiyonun kontrollü şartlarda gerçekleştirilmesi gerektiği bilinmektedir (Oliver vd., 2006). Bezelye proteininin L^* , a^* , b^* değerleri sırasıyla 75.81-3.75-19.58, domates yaprağından elde edilen DNA tozunun L^* , a^* , b^* değerleri 46.03-1.98-7.34 olarak bulunmuştur. Maillard konjugatlarının L^* (açıklık-koyuluk) değeri 39.27-54.83 aralığında bulunmuştur. Bu durumda Maillard konjugatlarının proteine göre L^* değerinin daha düşük çıkması reaksiyonun başarıyla gerçekleştiğini, konjugatların renk değiştirdiğini ve koyulaştığını, aroma-tat veya fonksiyonel özelliklerde değişiklikler olabileceğini göstermektedir.

5.2. Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri

Proteinler; yağ bağlama, su tutma, çözünürlük, emülsiyon oluşturma ve jelleşme gibi çok sayıda teknofonksiyonel özelliklerinden dolayı gıdaların görünüş, yapı ve tekstürel özelliklerine katkıda bulunmaları nedeniyle gıda bileşeni olarak kullanılmaktadırlar (Hadidi vd., 2024). Fizikokimyasal, teknofonksiyonel ve besinsel

özelliklerini değiştirmek için proteinlerin çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılarak modifikasyon işlemi gerçekleştirilmektedir (Ke ve Li, 2023). Bu yöntemler içinde en yaygın kullanılan Maillard reaksiyonu proteinlerin teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmesi nedeniyle konjugasyon çalışmalarında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Amiratashani vd., 2024). DNA ve protein konjugasyonu ile DNA'nın hidrofilik yapısı, proteinin genel hidrofilikliğini arttırabilir. Bu durum, proteinin suda çözünürlüğünü iyileştirir. Özellikle pH'ye duyarlı çözünürlük davranışı değişebilir (Zhang vd., 2015). Ayrıca DNA elektrik yüklü yapısıyla elektrostatik stabilizasyonu arttırır. Daha kararlı emülsiyonlar oluşturabilir. Bu özellik fonksiyonel gıda bileşenleri üretiminde avantaj sağlar (Liu vd., 2019). Yapılan çalışmalarda protein ile DNA'nın bağlanması sonucu yağ bağlama kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi artabilir. Çözünürlük daha dengeli hale gelebilir ve jel yapısı daha esnek olabilir. BP ve Maillard konjugatlarının teknofonksiyonel özellikleri Çizelge 4.3'te sunulmuştur.

Çözünürlük; gıda endüstrisinde proteinlerin değerlendirilmesi ve kullanımı açısından önemlidir. Fonksiyonel özelliklerde en belirleyici temel özelliklerden biridir. Emülsiyon işleminin istenilen şekilde gerçekleşebilmesi için çözünürlüğün yüksek olması gerekmektedir (Cheftel vd., 1985). Emülsiyonun yanı sıra yüksek çözünürlük değeri köpürme, jelleşme ve çırpılma gibi diğer fonksiyonel özelliklerde iyileşme sağlamaktadır (Mohanty vd., 1988; Barbut, 1996). Bezelye proteini ve farklı formülasyonlarda hazırlanan Maillard konjugatlarının çözünürlük değerleri Çizelge 4.3'te sunulmuştur. Tek başına bezelye proteini çözünürlüğü %72 olarak bulunmuştur. Bezelye proteini ile domates yaprağından elde edilen DNA'nın Maillard reaksiyonuna uğratılması sonucu meydana gelen konjugatlar çözünürlüğü arttırmıştır. Farklı yöntemlerle elde edilen konjugatlarda çözünürlük %73-83 aralığında değişmektedir. Islak ısıtma glikasyon yöntemiyle elde edilen %1, %2.5 ve %5 konjugatları sırasıyla %73.46, %77.47, %80.95 olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen %1, %2.5, %5 konjugatlarında ise sırasıyla %81.60, %82.53, %81.99 olarak bulunmuştur. Konjugatlar arasında %2.5 mW konjugatı en yüksek çözünürlüğe sahiptir. Maillard konjugatları arasında çözünürlük sıralaması %2.5 mW > %5 mW > %1 mW > %5 SB > %2.5 SB > %1 SB > BP şeklinde kaydedilmiştir. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatlar, geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtmaya göre daha yüksek bir çözünürlüğe sahip olduğu saptanmıştır. Ertuğrul vd. bezelye proteinin fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi üzerine yaptığı bir çalışmada da mikrodalga destekli glikasyon yönteminin ıslak ısıtma yöntemine göre glikasyon sonrası çözünürlüğünü arttırdığı rapor edilmiştir. Sonuçlara göre DNA-protein konjugasyonunun protein

çözünürlüğünü arttırdığı saptanmış ve en iyi sonuçların mikrodalga destekli glikasyon ile sağlandığı rapor edilerek sunulmuştur.

Proteinler ne kadar çok su tutarlarsa o oranda çok çözünmektedirler. Proteinlerin yüksek STK değerine sahip olması çeşitli gıda ürünlerinde nem kaybının azalmasına neden olur. Böylelikle işlemede verimin artmasına yardımcı olmaktadır. Proteinlerin su tutma kapasitesi boyut, şekil, hidrofobik-hidrofilik etkileşimlere bağlıdır. Protein yapılarının çözünme göstermeden suyu yapısında tutması ve viskoziteyi arttırarak son ürüne kıvamlı bir form sağlaması istenilen bir durumdur (Seena ve Sridhar, 2005).

Bezelye proteini ve Maillard konjugatlarının su tutma kapasiteleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. BP'nin STK değeri %436.46 olarak bulunmuştur. Bu değer proteinin yüksek su tutma kapasitesi olduğunu gıda formülasyonlarında oldukça fonksiyonel, özellikle suyu bağlama açısından oldukça güçlü olduğunu göstermektedir. Islak ısıtma yöntemiyle elde edilen Maillard konjugatlarının STK değerleri ise %443.76-452.84 arasında değişmektedir. Mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların STK değerleri %458.74-472.35 arasında değişmektedir. Sonuçlar karşılaştırıldığında mikrodalga yöntemiyle elde edilen konjugatların ıslak ısıtma yöntemiyle elde edilen konjugatlara göre proteinin STK değerini daha çok geliştirdiğini göstermiştir. Ancak her iki yöntemle gerçekleştirilen Maillard reaksiyonunda proteinin yapısını geliştirdiğini, DNA ile meydana getirdiği konjugasyonda proteinin su tutma kapasitesini arttırdığını ve teknofonksiyonel özelliğini geliştirdiğini göstermiştir. Konjugatlar arasında STK sıralaması %2.5 mW > %5 mW > %1 mW > %5 SB > %2.5 SB > %1 SB > BP olarak kaydedilmiştir. Konjugatlarda en yüksek STK değeri %2.5 mW formülasyonunda gösterdiği saptanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde DNA-protein konjugasyonun mikrodalga yöntemiyle gerçekleştirilmesi BP'nin STK değerlerini daha iyi geliştirdiğini göstermiştir.

Gıdaların duysal ve fiziksel özelliklerini belirleyen en önemli parametrelerden biri de yağ bağlama kapasitesidir. Proteinlerin üzerinde yapılan çalışmalarda çözünürlüğü düşük, hidrofobitesi yüksek olan proteinlerin yağ bağlama kapasitelerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Partikül boyutu küçük düşük yoğunluklu protein toz formlarının yüksek yoğunluklu formlara oranla yağ bağlama kapasitelerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Cheftel vd., 1985). BP ve Maillard konjugatlarının YBK değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Bu değerlere göre BP'nin YBK değeri %351.26 olarak bulunmuştur. Islak ısıtma yöntemine göre elde

edilen Maillard konjugatlarının YBK değerleri %407.92-415.47 arasında değişmektedir. Mikrodalga destekli Maillard konjugatlarının YBK değerleri %418.89-433.20 arasında değişmektedir. Her iki yönteme göre YBK değerleri önemli ölçüde artış göstermiştir. Ancak mikrodalga destekli konjugasyonda yağ bağlama kapasitesi ıslak ısıtma yöntemine göre daha yüksektir. Bu da mikrodalga yöntemiyle gerçekleştirilen Maillard reaksiyonunun protein yapısını ve teknofonksiyonel özelliklerini geliştirdiğini göstermiştir. Konjugatlar arasında YBK değeri sıralaması %2.5 mW > %5 mW > %1 mW > %5 SB > %2.5 SB > %1 SB > BP olarak kaydedilmiştir. STK gibi YBK de en yüksek değer %2.5 mW kaydedilmiştir. Sonuçlara göre DNA-protein konjugasyonunun mikrodalga yöntemiyle gerçekleştirilmesi BP yağ bağlama kapasitesi değerini arttırdığı geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtmaya göre daha iyi geliştirdiği gözlenmiştir.

Protein hidrofobikliği, ara yüzey özelliği ve köpük tutma kabiliyetine sahip proteinin en önemli fizikokimyasal özelliklerinden biri de köpük oluşturma özelliğidir (Dakhili vd., 2019). Çırpma yada hava enjekte etme işlemi yapılırken hava/su arasında oluşan ara yüzeydeki gerilimin hızlı bir şekilde düşürülmesi köpük oluşumu için en önemli faktördür (Makri vd., 2005). Köpük oluşumu ve stabilitesini; çözünürlük, ortam pH'ı, protein türü, hazırlanma şekli, ortamdaki tuz varlığı ve hidrofobik interaksiyonlar etkilemektedir. Ayrıca köpük stabilitesini ve oluşumunu; moleküler esneklik, net yük, yük dağılımı, yüzey hidrofobiditesi gibi özellikler de etkilemektedir (Massoura vd., 1998). Proteinler mükemmel hidrofilik ve hidrofobik aminoasit dengesi ortamında köpük oluşturma kapasitesinin artabilmesi yüksek çözünürlük ve yüzey yükü olduğunda mümkündür (Lafarga vd., 2018; Shevkani vd., 2015). Köpük oluşturma kapasitesi, köpük hacmindeki değişikliğin ölçülmesi ile belirlenirken, köpük stabilitesi ise köpüğün hacmindeki azalma ile belirlenir (Gharbi ve Labbafi, 2019). BP ve Maillard konjugatlarının köpük oluşturma ve köpük stabilitesi değerleri Çizelge 4.3'te verilmiş ve Şekil 4.2'de sunulmuştur. Tek başına BP köpük oluşturma kapasitesi %56.00 bulunurken 30 dakika sonra kaydedilen köpük stabilitesi değeri %71.42 bulunmuştur. Islak ısıtma yöntemiyle farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) elde edilen Maillard konjugatlarının köpük oluşturma kapasiteleri sırasıyla %70.00, %74.00, %76.00 olarak bulunmuştur. Köpük stabilite değerleri ise sırasıyla %80.00, %83.78, %86.84 olarak kaydedilmiştir. Mikrodalga destekli glikasyon ile farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) elde edilen maillard konjugatlarının köpük oluşturma değerleri sırasıyla %78.00, %84.00, %80.00 olarak bulunmuştur. Köpük stabilite değerleri ise sırasıyla %87.17, %90.47, %87.50 olarak kaydedilmiştir. Hem köpük oluşturma değerleri arasında hem de köpük stabilite değerleri arasındaki sıralama %2,5 mW > %5 mW > %1 mW > %5

SB > %2,5 SB > %1 SB > BP şeklinde olur ($p < 0.05$). Köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi değerlerinde en yüksek değer %2.5 mW konjugatında gözlenmiştir. Bu durum mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların ıslak ısıtma glikasyona göre daha yüksek köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi sergilediğini göstermiştir. Mikrodalga sisteminin daha üstün glikasyon derecesine sahip konjugatlar oluşturduğunu ve fonksiyonel özelliklerini geliştirmiş olduğunu doğrulamıştır. Mikrodalga ısıtma etkisi protein yapısındaki hidrofobik grupların yüzeye çıkarak hidrofobik etkileşimle hava-su arayüzey filmini destekler. Böylece konjugatların köpürme kapasitesi ve stabilitesini artırır. Ayrıca köpük stabilitesi arttıran bir diğer etmen partikül boyutunun küçülmesi ve daha küçük hava kabarcıklarının üretilmesidir (MartínezVelasco vd., 2018).

Su, yağ gibi birbiri içerisinde karışmayan en az iki farklı sıvının emülsiyon oluştururken protein molekülünün ara yüzeye adsorblanabilme kabiliyetine emülsiyon aktivite indeksi (EAI) denir. Emülsiyon stabilitesi (ESI) ise emülsiyonda faz ayrımı oluşmadan stabil kalabilme süresidir. Emülsiyonun dayanıklılığının göstergesidir. Proteinlerin emülsiyon özelliklerini belirleyen ana bileşenler proteinin konsantrasyonu ve yüzey hidrofobitesidir (Subagio, 2006). BP ve Maillard konjugatları için EAI ve ESI değerleri Çizelge 4.3'te verilmiştir. Değerlerin karşılaştırılması istatistiki olarak Şekil 4.3'te verilmiştir.

Tek başına BP için EAI değeri $21.62 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak bulunmuştur. Bu değer BP için literatür taramalarında görülebilen bir değerdir. BP için EAI değeri yaklaşık $20\text{-}40 \text{ m}^2/\text{g}$ aralığındadır (Zhu, 2010). Maillard reaksiyonu için EAI değerini önemli ölçüde etkilemiştir. Islak ısıtma glikasyon yöntemiyle elde edilen farklı formülasyonlardaki konjugatların EAI değerleri sırasıyla %1 SB için $25.71 \text{ m}^2/\text{g}$, %2.5 SB için $27.36 \text{ m}^2/\text{g}$, %5 SB için ise $29.79 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak kaydedilmiştir. Mikrodalga destekli glikasyon yöntemi için elde edilen konjugatların EAI değerleri ise %1 mW için $32.47 \text{ m}^2/\text{g}$, %2.5 mW için $35.88 \text{ m}^2/\text{g}$, %5 mW için ise $34.44 \text{ m}^2/\text{g}$ olarak kaydedilmiştir. Konjugatların EAI değerleri arasındaki sıralama %2.5 mW > %5 mW > %1 mW > %5 SB > %2.5 SB > %1 SB > BP olarak kaydedilmiştir ($p < 0.05$). Maillard konjugatları arasında en iyi EAI değerinin %2.5 mW konjugatında olduğu saptanmıştır ($p < 0.05$). Bu en yüksek değere sahip %2.5 mW konjugatı, tek başına BP'nin EAI değerini %65.95 arttırmıştır ($p < 0.05$). Protein ve Maillard konjugatlarının ESI değerleri dikkate alındığında her iki yöntemle elde edilen konjugatların tek başına proteine göre stabilitelerini daha fazla koruduğu tespit edilmiştir. Bu değerlere göre mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların ESI değerleri ıslak ısıtma glikasyon yöntemiyle elde edilen

konjugatlara göre daha yüksektir ($p < 0.05$). Bu değerlere göre mikrodalga destekli glikasyon ile elde edilen konjugatların ESI değerleri ıslak ısıtma glikasyon yöntemiyle elde edilen konjugatlara göre daha yüksektir ($p < 0.05$). Bu da mikrodalga yönteminin ıslak ısıtma yöntemine göre stabilitesini daha iyi koruduğunu göstermektedir. Sonuçlara göre en yüksek ESI değerine sahip %2.5 mW konjugatı tek başına BP ile oluşturulan emülsiyonun ESI değerini 10 ve 30 dk sonra sırasıyla %26.10 ve %66.29 olarak arttırdığı bulgulanmıştır ($p < 0.05$). Proteinlerin emülsifiye edici davranışlarının suda yağ emülsiyonlarında Maillard konjugasyon işlemi ile geliştirildiği ve stabilize edebilmek için Maillard konjugatlarının emülgatör görevinde kullanımı önceki çalışmalarda da bildirilmiştir (Nooshkam ve Varidi, 2020). Mikrodalga destekli Maillard konjugatları ile oluşturulan emülsiyonlar, ıslak ısıtma Maillard konjugatlarına göre daha kararlı ve stabil bir yapı göstermişlerdir. Mikrodalga sistemleri, sıcaklık ve zaman kontrolüyle protein konjugatlarının elde edilmesi için yüksek tekrarlanabilirlik ve kontrollü koşullar sunar. Mikrodalga ısısı glikasyon reaksiyonunu hızlandırarak daha yüksek glikasyon derecelerine ulaşılmasını sağlar. Örneğin ovalbumin-dekstran (OVA-DX) konjugatları 15-60 dk arasında ısıtıldığında, geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtmaya göre daha yüksek glikasyon derecelerine ulaşmıştır (Xiao vd., 2019). Glikasyon, protein yüzeyindeki hidrofobik bölgelerin ortaya çıkmasına neden olurlar. Böylece emülsiyon stabilitelerini artırmış olurlar (Namlı vd., 2021). Mikrodalga ile glike edilmiş proteinler, daha yüksek yüzey hidrofobikliği gösterir ve yağ damlacıklarının stabilize edilmesinde daha etkili olurlar. Mikrodalga ile glike edilmiş proteinler, daha küçük ve homojen damlacık boyutlarına sahip emülsiyonlar oluşturur. Bu, emülsiyonların daha stabil olmasını ve estetik açıdan daha hoş görünmelerini sağlar (Ertugrul vd., 2021).

Domates yaprağı DNA'sı ve farklı formülasyonlarda iki farklı metotla üretilen Maillard konjugatlarının molekül türünü incelemek ve değişimi görmek için FTIR spektroskopisi analizleri yapılmıştır. 500-4000 cm^{-1} dalga boyunda çalışılmıştır. Analizlerden önce numunelerin su aktivite değerleri 0.1-0.2 aralığında bulunmuştur. Uygulanan ıslak ısıtma ve mikrodalga ısıtma işlemlerinin DNA-protein arasında oluşturduğu bağların incelenmesi için FTIR sonuçları kaydedilmiştir (Şekil 4.4). Reaksiyon sonrası konjugatların absorpsiyon bantlarında kayma ve azalmalar görülebilir. Ayrıca yeni absorpsiyon bantları molekül içi ve moleküller arasında etkileşime girebilir (Pirestani vd., 2018). FTIR spektrumlarına göre;

- DNA: En üstte yer alan siyah spektrum saf, Maillard işlemine uğramamış DNA yapısını temsil etmektedir.
- %1, %2.5, %5 SB konjugatları: Bu üç spektrumda (mor, turuncu, açık mavi) ıslak ısıtma glikasyon ile muamale edilen Konjugatların spektrumlarını temsil etmektedir.
- %1, %2.5, %5 mW konjugatları: Bu üç spektrumda (kırmızı, mavi, yeşil) mikrodalga ısıtma glikasyon ile muamele edilen konjugatların spektrumları yer almaktadır.

FTIR sonuçlarına göre ıslak ısıtma (SB) ve mikrodalga ısıtma (mW) işlemlerinin ardından artan oranlarda spektral değişimler görülmektedir. Özellikle 1650 cm⁻¹ ve 1540 cm⁻¹ civarındaki piklerde kaymalar yada şiddet değişimleri, DNA protein etkileşimlerini Maillard reaksiyonunun başarıyla gerçekleştiğini göstermektedir. ~1650 cm⁻¹ bölgesinde güçlü bir pik görülmektedir; bu pik C=O stretching (amide I bandı) ile ilişkilidir. ~1540 cm⁻¹ bölgesindeki pik N-H bending + C-N stretching (amide II) olarak yorumlanır. ~1050-1200 cm⁻¹ arasında yer alan sinyaller, fosfat grubu (PO₂⁻) vibrasyonlarını temsil etmektedir (Zhou vd., 2018). SB ve mW konjugatları arasında farklılıklar gözlenmektedir. Bu, ısıtma yönteminin (wet heating vs microwawe) konjugasyon üzerindeki etkisini göstermektedir. SB gruplarında (özellikle %5 SB) DNA'ya göre amide I ve II bandında şiddet azalışı ve yer değişimi gözlenmektedir. Bu durum, DNA-protein etkileşiminin gerçekleştiğini ve Maillard reaksiyonu sonucunda yeni kovalent bağların oluştuğunu gösterir. Ayrıca ~3200-3400 cm⁻¹ aralığında O-H ve N-H geniş piklerinde artış, hidrojen bağları veya Maillard kaynaklı hidrofilik grupların varlığına işaret etmektedir. Mikrodalga gruplarında (özellikle %5 mW) daha belirgin farklılıklar gözlemlenmiştir. Amide bölgelerinde pik değişimi Maillard ürünlerinin mW ile daha yoğun üretildiğini göstermektedir. %5 mW'de, DNA ya göre 1500-1700 cm⁻¹ aralığında kayma ve şekil değişiklikleri belirgindir. Bu durum daha ileri konjugasyon ve yapı değişimi göstergesidir (Chen vd., 2020). Sonuç olarak %5 SB ve %5 mW konjugatlarında spektrumlar belirgin farklılıklar göstermektedir. Ancak mikrodalga destekli glikasyon konjugatlarında ıslak ısıtma glikasyon konjugatlarına göre farklılıklar daha belirgin bir şekilde kaydedilmiştir. Bu da daha yoğun Maillard reaksiyonu gerçekleştiğini ve kimyasal yapının daha fazla değiştiğini göstermektedir.

Sds-Page (Sodyum Dodesil Sülfat-Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi), proteinlerin moleküler ağırlıklarına göre ayrılmasını sağlayan bir tekniktir. Bu

elektroforez tekniğinde kullanılan sodyum dodesil sülfat (SDS) proteinleri denatüre eder ve üzerlerine negatif yük bindirir. Böylece elektroforez sırasında proteinlerin hareketi yalnızca büyüklüklerine bağlı hale gelir (Laemmli, 1970). SDS proteinlerin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılarını bozarak lineer hale getirir ve negatif yüklerle kaplar (Scopes, 1994). Bu işlem sonucunda proteinlerin kendi doğal yük farklılıkları ortadan kalkar ve poliakrilamid jel içindeki göç hızları sadece molekül ağırlıklarına bağlı olur. Bu jel ortamında daha küçük proteinler daha hızlı hareket ederken, büyük proteinler daha yavaş ilerler (Walker, 2002). Bu analiz, konjugatlarda (örneğin protein-polimer, protein-antikor, protein-enzim vs) konjugasyon işleminin gerçekleşip gerçekleşmediğini anlamak, konjugatın moleküler ağırlığını tahmin etmek, serbest ve konjugat haldeki bileşenleri ayırmak, konjugatta saflık kontrolü ve konjugasyon verimini değerlendirmek gibi nedenlerle yapılmaktadır. Sds-page jel görüntüsü Şekil 4.5'da verilmiştir. Bu görüntüye göre:

Marker MA (kDa); Molekül ağırlık belirteci olarak tanımlanır. Jel solundaki kolon bantları temsil etmektedir. ~100, ~75, ~50, ~37, ~25 kDa civarlarında belirgin görülmektedir. BP kolonu; bandın çok belirgin ve yoğun olması protein bandı olduğunu göstermektedir. Özellikle ~37 kDa ve ~25 kDa civarında güçlü bantlar görülmektedir. Bu bölgeler bezelye proteinlerinin ana fraksiyonlarını temsil etmektedir. Görüntüdeki numuneler ve açıklamaları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Islak ısıtma grupları; %1, %2.5, %5 SB örnekleri için bant yoğunluğu BP'e göre belirgin bir şekilde azalmıştır. Bu da konjugatların konjugasyon sonucu çözünmez hale geldiğini, yüksek çapraz bağlanma yada jelde düzgün ayrışmadığını göstermektedir. %1, %2.5 %5 mW örnekleri için bant yoğunluğu SB grubuna göre biraz daha belirgin ama hala BP'e kıyasla azalmıştır. Mikrodalga ısıtmanın konjugatları daha çözünür kıldığını, daha ayrıştırıcı özellik gösterdiği görülmektedir. Mikrodalga ısıtma konjugatları SDS-Page'de protein yapısını daha iyi korumuş, daha kararlı bir yapı göstermiştir. Jel görüntüsü, konjugasyon işleminin proteinlerin elektroforetik hareketini ve görünürliğini etkilediğini açıkça göstermektedir.

Jelleşme (jel oluşturma kapasitesi) analizi özellikle gıda biliminde ve fonksiyonel bileşen geliştirme çalışmalarında proteinlerin veya polisakkaritlerin jel oluşturma yeteneğini ve bu jel yapısının dayanıklılığını, stabilitesini değerlendirmek için yapılır. Maillard reaksiyonu gibi süreçlerde ısı işleminin jelleşme kabiliyeti üzerindeki etkilerini karşılaştırmak için önemlidir. Bezelye proteini ile gerçekleştirilen Maillard konjugatlarının jelleşme özellikleri Şekil 4.6'de gösterilmiştir. BP jelleri sinerisis oluşturmada silindirik formunu korumuştur. Bu durum uygulanan ısı işlemler sonucu Maillard reaksiyonuna bağlı

kovalent çapraz bağların ve disülfid köprülerinin oluşturduğu sıkı ağ sayesinde su tutma kapasitesinin arttırıldığını ve jel matrisinin mekanik dayanıklılığının güçlendiğini göstermektedir. SB ile ısıtılan konjugatlarda, konsantrasyon arttıkça jelleşme kabiliyetinin arttığı görülmüştür. Özellikle %5 SB numunesinde güçlü ve koyu renkli jel yapısı görülmektedir. Bu durum Maillard reaksiyonunun protein ve DNA arasında oluşan kovalent bağların jel matrisi oluşturma kapasitesini arttırdığını göstermektedir (Zhang vd., 2015; Wang vd., 2011). mW ile hazırlanan örneklerde jelleşme düşük konsantrasyonlarda (%1, %2.5 mW) daha belirgin görülmüş, %5 mW numunesinde ise çökelme eğilimi ve homojen olmayan bir yapı dikkati çekmiştir. Mikrodalga yöntemiyle elde edilen hızlı ve kontrolsüz ısı dağılımı protein yapısında denatürasyona ve jel ağının zayıf oluşmasına neden olmuş olabilir (Chen vd., 2020). Sonuç olarak mW konjugatları yüksek konsantrasyonlarda yapısal bütünlüğü bozarak jelleşme kapasitesini azaltmış, SB yöntemi ise artan konsantrasyonlarda konjugatların jelleşme özelliklerini arttırmakta daha etkili olmuştur.

Esmerleşme yoğunluğu Maillard tepkimesinin melanoidin oluşumunu ve işleme etkinliğini belirleyen nicel bir göstergedir. Bu nedenle konjugatlarda ve ısıtılmış işlem gören gıdalarda önemli bir kalite parametresidir. Esmerleşme yoğunluğu, bir başka tabirle gıda veya biyolojik numunedeki kahverengi pigmentlerin (özellikle melanoidinlerin) miktarına karşılık gelen renklenme derecesidir. Bu yoğunluk özellikle Maillard reaksiyonu sonucunda renkli ürünlerin oluşması ve bu ürünlerin ölçülmesiyle belirlenmektedir (Ajandouz vd., 2001). Gıda teknolojisinde; kurutma, ısıtılmış işlem, pastörizasyon, sterilizasyon sonrası kalite kontrol olarak kullanılır. Fonksiyonel protein üretiminde Maillard takibi ve antioksidan ölçümlerinde kullanılır (Kitts ve Hu, 2005). Protein ve Maillard konjugatlarının esmerleşme yoğunluğu değerleri Çizelge 4.5'te verilmiştir. Absorbans (ABS) değeri arttıkça esmerleşme miktarı da artmaktadır (daha koyu renklenme anlamına gelmektedir). Islak ısıtma konjugatları için konjugat konsantrasyonu arttıkça absorbans değeri artmakta ve esmerleşmenin arttığı görülmektedir. Standart sapma değerlerinin düşük olması ölçümlerin tutarlı olduğunu göstermektedir. Islak ısıtma konjugatları arasında %5 SB > %2.5 SB > %1 SB şeklinde sıralama yapılmıştır. Aynı şekilde hazırlanan mikrodalga konjugatları arasında konjugat oranı arttıkça esmerleşmenin düzenli bir şekilde arttığı görülmektedir. Mikrodalga gruplarında %5 mW konjugatı en yüksek değer olarak kaydedilip esmerleşmenin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Mikrodalga konjugatları arasında %5 mW > %2.5 mW > %1 mW şeklinde sıralama yapılmıştır. Mikrodalga (mW) ve ıslak ısıtma (SB) konjugatları arasında karşılaştırma yapıldığında %1: mW > SB, %2.5: mW > SB, %5: mW > SB şeklinde olur. Sonuçlara göre mikrodalga (mW) yöntemiyle hazırlanan konjugatların ıslak

ısıtma glikasyon yöntemiyle üretilen konjugatlara göre daha hızlı veya etkin Maillard reaksiyonunu tetiklediğini göstermektedir. Mikrodalga yöntemi, esmerleşmeyi arttırmada daha etkilidir. %2.5 (0.239) mW ve %5 (0.267) mW oranları, belirgin bir renk değişimi sağlamak için en uygun oranlardır. Konjugatlarda esmerleşme yoğunluğunun 0.1 - 0.3 absorbans birimi arasında olması istenen düzeyde Maillard reaksiyonunu gösterir. Bu aralık hem fonksiyonel özelliklerin geliştiğı hemde aşırı renklenmenin önüne geçildiğı denge noktasıdır (Martins vd., 2000; Ajandouz vd., 2001). Yapılan bir çalışmada Soya proteini-glukoz konjugatı esmerleşme yoğunluğu absorbans değeri 0.35 olarak bulunmuştur. Kuru ısıtma işleminden 4 saat sonra 420 nm’de ölçülen absorbans değeri 0.35’ e kadar ulaşmış, bu da konjugasyonun ileri bir aşamaya ulaştığını göstermiştir (Oliver vd., 2006).

6. SONUÇLAR

Tez çalışması kapsamında bezelye gibi bitkisel bir proteinin, bitkisel bir ürün olan domates yaprağı DNA'sı ile farklı glikasyon yöntemleri (ıslak ısıtma ve mikrodalga destekli ısıtma) yardımıyla maillard reaksiyonuna uğratılarak teknofonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında Şanlıurfa iline ait seralardan toplanan domates yapraklarının genç ve taze olanları saplarından ayıklanarak CTAP yöntemiyle ekstrakte edilmiştir. Elde edilen DNA sıvısı dondurarak kurutma tekniği ile toz haline getirilmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise bezelye protein tozu ile DNA tozunun farklı formülasyonlarda (%1, %2.5, %5) hazırlanarak iki farklı yöntem (ıslak ısıtma glikasyon ve mikrodalga destekli glikasyon) yardımı ile Maillard reaksiyonuna uğratılmıştır. Elde edilen bu Maillard konjugatları karakterize edilmiş ve toz haline getirilerek DNA konjugasyonunun bezelye proteininin teknofonksiyonel özellikleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

Elde edilen bulgular ile birlikte mikrodalga gibi yenilikçi bir teknoloji desteği ile gerçekleştirilen Maillard reaksiyonu sonucu, geleneksel bir yöntem olan ıslak ısıtma yöntemine göre bezelye proteinin teknofonksiyonel özelliklerini daha iyi geliştirdiği gözlemlenmiştir. BP'nin domates yaprağı DNA'sı ile Maillard reaksiyonu yoluyla optimum koşullarda glikasyon gerçekleştirmesi köpük kapasitesi/stabilitesi, yağ bağlama/su tutma kapasitesi, çözünürlük ve emülsifikasyon gibi teknofonksiyonel özelliklerini geliştirmiştir. %2.5 mW formuna sahip konjugatın diğer örnekler göre en iyi teknofonksiyonel özellikleri sağlayan örnek olduğu bulgulanmıştır.

Sonuç olarak tez çalışmasından elde edilen çıktılar ile bu çalışmada, ülkemiz ekonomisi açısından sürdürülebilir bir yaklaşım olan belirli uygulamalara yönelik bitkisel kaynakların değerlendirilmesi, kaynaklarımızın korunması, verimlilik artışı, çevre ve insan sağlığına fayda getirmesi ve ekonomik kalkınmaya olumlu katkılar sağlayacağı öngörülmektedir.

7. ÖNERİLER

Yapısal özelliklerdeki değişim ve potansiyel çapraz bağlanma eğilimleri, bu proteinlerin yenilebilir biyofilm veya biyoplastik üretilmesinde olanak sağlayabilir. Maillard konjugatları ise çevre dostu, biyoçözünür ve fonksiyonel gıda ambalaj materyalleri üretiminde değerlendirilebilir.

Çözünürlük ve renk özelliklerinin optimize edilmesi sayesinde, Maillard konjugatları enerji barlarında, sporcu ürünlerinde, protein takviyeli içeceklerde katkı maddesi olarak kullanılabilir. Ayrıca DNA desteği ile fonksiyonel içerik (örneğin antioksidan destek) sunma potansiyeli taşır.

Konjugasyon sonrası serbest amin gruplarında azalma ve olası Maillard tepkimeleri, antioksidan ve antimikrobiyal potansiyel kazandırabilir. Bu tür özellikler DNAprotein konjugatlarının nutrasötik kapsül, takviye edici gıda veya diyet lif katkısı olarak geliştirilmesini mümkün kılar.

Bezelye dışındaki farklı bitkisel proteinlerin DNA ile konjugasyonu üzerine çalışmalar yapılabilir.

Bitkisel protein bazlı Maillard konjugatları doğal emülgatör görevinde ve stabilizatör görevinde gıda formülasyonlarında değerlendirilebilir.

Modifiye edilen BP'ler, geliştirilmiş teknofonksiyonel özellikleri ile bitkisel protein bazlı hidrojel üretiminde kullanılabilir.

Geliştirilen konjugatlar, artan fonksiyonel özellikleri sayesinde yüksek protein içeren ekmek, bar, kek, atıştırmalık, gibi ürünlerde kullanılabilir. Bu özellikle vegan, vejeteryan diyetlere yönelik ürün gamını geliştirme potansiyeli taşır.

KAYNAKLAR

- Abdel-Latif, A., & Osman, G. (2017). Comparison of three genomic DNA extraction methods to obtain high DNA quality from maize. *Plant Methods*, 13(1), 1. <https://doi.org/10.1186/s13007-017-0177-1>
- Aboul-Maaty, N. A.-F., & Oraby, H. A.-S. (2019). Extraction of high-quality genomic DNA from different plant orders applying a modified CTAB-based method. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(1), 25. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0074-3>
- Ajandouz, E. H., Tchiakpe, L. S., Ore, F. D., Benajiba, A., & Puigserver, A. (2001). Effects of pH on caramelization and Maillard reaction kinetics in fructose–lysine model systems. *Journal of Food Science*, 66(7), 926–931. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb08217.x>
- Amiratashani, F., Yarmand, M. S., Kiani, H., Askari, G., Naeini, K. K., & Parandi, E. (2024). Comprehensive structural and functional characterization of a new protein-polysaccharide conjugate between grass pea protein (*Lathyrus sativus*) and xanthan gum produced by wet heating. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127283. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.127283>
- Anet, E. F. L. J. (1964). 3-Deoxyglycosuloses (3-deoxyglucosones) and the degradation of carbohydrates. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 19, 181–218. [https://doi.org/10.1016/S0096-5332\(08\)60177-8](https://doi.org/10.1016/S0096-5332(08)60177-8)
- Ayrancı, Y. (2007). Muğla ili Dalaman, Ortaca ve Fethiye ilçelerinin sera varlığı ve sera bitkisel atık potansiyelinin belirlenmesi. *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 21(41), 36–41.
- Barbut, S. (1996). Starch functionality in processed meats. *Meat Science Journal*, 42(2), 165–175. [https://doi.org/10.1016/0309-1740\(95\)00037-2](https://doi.org/10.1016/0309-1740(95)00037-2)
- Ben-Harb, S., Panouille, M., Huc-Mathis, D., Moulin, G., Aziz Havva, A., Irlinger, F., Bonnarne, P., Michon, C., & Souchon, I. (2018). Termal, asit ve enzim işlemleri ile tasarlanan bezelye, süt, karışık bezelye/süt jelleri ve jelleşmiş emülsiyonların reolojik ve mikroyapısal özellikleri. *Gıda Hidrokolloidler*, 77, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.09.001>
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43, 414–431. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Breiteneder, H., & Radauer, C. (2004). A classification of plant food allergens. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 113(5), 821–830. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2004.01.779>
- Can Karaca, A., Low, N. H., & Nickerson, M. T. (2011). Emulsifying properties of chickpea, faba bean, lentil and pea proteins produced by isoelectric precipitation and salt extraction. *Food Research International*, 44, 2742–2750. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.012>

- Chandi, G. K., & Sogi, D. S. (2007). Functional properties of rice bran protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 79(2), 592–597.
- Cheftel, J. C., Cuq, J. L., & Lorient, D. (1985). Amino acids, peptides and proteins. In O. R. Fennema (Ed.), *Food Chemistry* (pp. 246–369). Marcel Dekker, Inc.
- Chen, L., Wu, J., Zhang, X., & Li, X. (2020). Effects of microwave-assisted Maillard reaction on physicochemical and functional properties of soy protein isolate-dextran conjugates. *Food Chemistry*, 311, 125996. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125996>
- Chen, Y., Ye, R., & He, Q. (2020). Effect of microwave treatment on Maillard reaction between whey protein isolate and polysaccharides. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(3), 1160–1168.
- Chizoba Ekezie, F. G., Sun, D. W., Han, Z., & Cheng, J. H. (2017). Microwave-assisted food processing technologies for enhancing product quality and process efficiency: A review of recent developments. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 58–69.
- Choi, W.-S., & Han, J. H. (2001). Physical and mechanical properties of pea-protein-based edible films. *Journal of Food Science*, 66(2), 319–322.
- Church, F. C., Swaisgood, H. E., Porter, D. H., & Catignani, G. L. (1983). A spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 66(6), 1219–1227.
- Ciurzyńska, A., & Lenart, A. (2011). Freeze-drying – Application in food processing and biotechnology – A review. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 61(3), 165–171.
- Coca, M., Garcia, M. T., Gonzalez, G., Pena, M., & Garcia, J. A. (2004). Study of colored compounds formed in sugar beet processing. *Food Chemistry*, 86(3), 421–433.
- Cook, I. (2018). Why, what and how? Understanding the freeze drying process. Biopharma Technology Ltd. http://www.biopharma.co.uk/wp-content/uploads/2010/07/Why_What_How.pdf
- Çelebi, I. (2006). Color formation in wheat starch based glucose syrups and use of activated carbons for sugar decolorization [Master's thesis, Middle East Technical University].
- Dakhili, S., Abdolalizadeh, L., Hosseini, S. M., Shojaee-Aliabadi, S., & Mirmoghtadae, L. (2019). Quinoa protein: Composition, structure and functional properties. *Food Chemistry*, 299, 125–161.
- Deepak, B., & Iqbal, Z. (2015). Lyophilization – Process and optimization for pharmaceuticals. *IJDRA*, 3(1), 30–40.
- Demirkıran, E., Başığit, B., Altun, G., Yüçetepe, M., Sağlam, H., & Karaaslan, M. (2022). Facile construction of fruit protein based natural hydrogel via intra/inter molecular cross-linking. *Food Hydrocolloids*, 133, 107899.

- Edwards, W. P. (2000). The Maillard reactions. In W. P. Edwards (Ed.), *The Science of Sugar Confectionery* (pp. 9–13). Royal Society of Chemistry.
- Ertuğrul, Ü., Namli, S., Taş, O., Sumnu, S. G., & Öztop, H. M. (2021). Pea protein properties are altered following glycation by microwave heating. *LWT - Food Science and Technology*, 150, 111939.
- Esfandani-Bozchaloyi, S., Sheidai, M., & Kalalegh, M. H. (2019). Comparison of DNA extraction methods from Geranium (Geraniaceae). *Acta Botanica Hungarica*, 61(3–4), 251–266.
- Fikry, M., Miao, M., & Jiang, B. (2022). Recent advances on glycation of plant proteins: Reaction mechanism, influencing factors, and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 120, 247–259. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.01.016>
- Filip, C., Emin, M. A., Buckow, R., Silcock, P., & Oey, I. (2018). Bezelye proteini takviyeli ekstrüde atıştırmalıklar: Eriyik viskozitesi ve cam geçiş sıcaklığının genleşme davranışı ile bağlanması. *Journal of Food Engineering*, 217, 93–100.
- Fredriksson, S., Gullberg, M., Jarvius, J., Olsson, C., Pietras, K., Gustafsdottir, S. M., Ostman, A., & Landegren, U. (2002). Protein detection using proximity-dependent DNA ligation assays. *Nature Biotechnology*, 20, 473–477.
- Gaidhani, K. A., Harwalkar, M., Bhambere, D., & Nirgude, P. S. (2015). Lyophilization / freeze drying – A review. *WJPR*, 4(8), 516–543.
- Ganiyu, S. A., Yusuf, S. M., Agbolade, J. O., & Imonmion, J. E. (2017). The levels of yield and purity of genomic DNA from five tomato cultivars subjected to two DNA extraction techniques. *Nigerian Journal of Biotechnology*, 33(1), 131.
- Gerrard, J. A. (2006). The Maillard reaction in food: Progress made, challenges ahead—Conference report from the eighth international symposium on the Maillard reaction. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 324–330.
- Gharbi, N., & Labbafi, M. (2019). Influence of treatment-induced modification of egg white proteins on foaming properties. *Food Hydrocolloids*, 90, 72–81.
- Görgüç, A., Bircan, C., & Yılmaz, F. M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283, 637–645.
- Hadidi, M., Aghababaei, F., & McClements, D. J. (2024). Sunflower meal/cake as a sustainable protein source for global food demand: Towards a zero-hunger world. *Food Hydrocolloids*, 147, 109329.
- Han, Z., Zhu, M., Wan, X., Zhai, X., Ho, C. T., & Zhang, L. (2022). Gıda polifenolleri ve Maillard reaksiyonu: düzenleme etkisi ve kimyasal mekanizma. *Gıda Bilimi ve Beslenmede Eleştirel İncelemeler*, 64(15), 4904–4920. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2146653>

- Jansen-Alves, C.; Krumreich, F.D.; Zandoná, G.P.; Gularte, M.A.; Borges, M.Ö.; Zambiasi, R.C. Gıdalarda uygulama için konsantre bezelye proteini içeren propolis özü mikropartiküllerinin üretimi. *Gıda Biyoproses Teknolojisi* 2019, 12, 729–740. [Google Akademik] [Çapraz Ref]
- Jennigs T.A. (2008). *Lyophilization, introduction and basic principles*. New York: Informa Healthcare.
- Kan, X., Chen, G., Zhou, W. ve Zeng, X. (2021). Application of protein-polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: Source, preparation and functional properties. *Food Research International*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110740>
- Karaca C., 2009. *Çukurova bölgesi tarıma dayalı sanayi atıklarının enerji dönüşüm olanaklarının incelenmesi* (Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana).
- Karaca C., & Başçetinçelik A., 2014. Defne yaprağının briketleme ve yanma özellikleri, *Enerji Tarımı ve Biyoyakıtlar 4. Ulusal Çalıştay Bildiriler Kitabı*, Samsun, s. 131-138.
- Ke, A., & Li, B. (2023). Advances in starch modification techniques. *International Journal of Food Science*, 40(2), 150-160
- Ke, C., Li, L. (2023). Influence mechanism of polysaccharides induced Maillard reaction on plant proteins structure and functional properties: A review. *Carbohydrate Polymers*, 302: 120430.
- Kitts, D. D., & Hu, C. (2005). Biological and chemical assessment of antioxidant activity of sugar–lysine model Maillard reaction products. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1043, 501–508. <https://doi.org/10.1196/annals.1333.059>
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Linko, V.; Nummelin, S.; Aarnos, L.; Tapio, K.; Toppari, J.; Kostianen, M. A. (2016). *DNA-Based Enzyme Reactors and Systems*. *Nanomaterials*, 6, 139–155.
- Liu, F., Tang, C. H., & Li, B. S. (2013). Physicochemical and functional properties of soy protein isolate-dextran conjugates prepared via Maillard reaction: Effect of reaction conditions. *Food Research International*, 51(1), 397–404. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.12.033>
- Lodhi, M. A., Ye, G.-N., Weeden, N. F. Ve Reisch, B. I. (1994). A simple and efficient method for DNA extraction from grapevine cultivars and Vitis species, *Plant Molecular Biology Reporter*, 12(1), 6-13.
- Makrı, E., Papalamprou, E. & Doxastakis, G., 2005. Study Of Functional Properties of Seed Storage Proteins From Indigenous European Legume Crops (Lupin, Pea, Broad Bean) in Admixture With Polysaccharides. *Food Hydrocolloids*,

- Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernándezrodríguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J. And Vernon-Carter, E. J., 2018. High intensity ultrasound treatment of faba bean (*Vicia faba* L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry*, 44: 97–105.
- Mertens, C.; Dehon, L.; Bourgeois, A.; Verhaeghe-Cartryse, C.; Blecker, C. (2012). Agronomical factors influencing the legumin/vicilin ratio in pea (*Pisum sativum* L.) seeds. *J. Sci. Food Agric.*, 92, 1591–1596.
- Meyer, R.; Giselsbrecht, S.; Rapp, B. E.; Hirtz, M.; Niemeyer, C. M. (2014) Advances in DNA-directed immobilization. *Current Opinion Chemical Biology*, 18, 8–15.
- Miskoska-Milevska, E., Popovski, Z. T., Dimitrovska, B. R. Ve Porcu, K. D. (2011). Izolation of DNA for fragment analyses from tomato leaves and seeds, In *Conference of biotechnology with international participation* Čačak, Serbia , 59-64.
- Mohanty, B., D.M. Mulvihill Ve P.F. Fox. (1988). Hydration-related properties of caseins at pH 2.0-3.0. *Food Chemistry*, Vol.27 (28): 225-236.
- Mohanty, P., Singh, R., & Patel, A. (1988). Physicochemical properties of food starches. *Journal of Food Science and Technology*, 25(4), 189-194.
- Namlı, S., Şümnü, S. G., & Öztıp, H. M. (2021). Microwave glycation of soy protein isolate with rare sugar (D-allulose), fructose and glucose. *Food Bioscience*, 40, 100897. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100897>
- Nasrollahzadeh, F., Varidi, M., Koocheki, A. & Hadizadeh, F., 2017. Effect of microwave and conventional heating on structural, functional and antioxidant properties of bovine serum albumin-maltodextrin conjugates through Maillard reaction. *Food Research International*, 100: 289–297.
- Nooshkam, M. and Varidi, M., 2020. Maillard conjugate-based delivery systems for the encapsulation, protection, and controlled release of nutraceuticals and food bioactive ingredients: A review. *Food Hydrocolloids*, 100: 105389.
- Nooshkam, M., Varidi, M. and Bashash, M., (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644–660
- Nursten, H. E. (2005). The Maillard Reaction: *Chemistry, Biochemistry and Implications*. Royal Society of Chemistry.
- Okay, O. (2011). DNA hydrogels: New functional soft materials, *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 49(8), 551-556.
- Oliver, C. M., Melton, L. D. & Stanley, R. A., 2006. Creating Proteins with Novel Functionality via the Maillard Reaction: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4): 337–350.

- Poté, J., Rossé, P., Rosselli, W., Van, V. T. & Wildi, W. (2005). Kinetics of mass and DNA decomposition in tomato leaves, *Chemosphere*, 61(5), 677-684.
- Przic Ds, Ruzic N.L.J., & Petrovic, SD, (2004). Lyophilizationthe process and industrial use. *Chem. Ind.* 58(12), 552-562.
- Quek, S. Y., Chok, N. K. & Swedlund, P., 2007. The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5): 386–392.
- Ratti, C. (2012). Freeze - drying Process Design. Jasim A, Mohammad Shafiur R. eds. *Handbook of Food Process Design*, First Edition. Blackwell Publishing Ltd. New Jersey. p. 621-647.
- Rey L, (2010). Glimpses into the realm of freeze-drying classical issues and new ventures. Rey & J.C. May (Eds.), *Freeze drying/Lyophilisation of Pharmaceutical and Biological Products*. (3rd ed., pp. 1-28) Informa Healthcare
- Rutherford, S. M. (2006). Accurate determination of amino acid contents of selected feedstuffs. *Journal of AOAC International*, 89(4), 1143–1160.
- Scopes, R. K. (1994). *Protein purification: Principles and practice* (3rd ed.). Springer.
- Sedaghat Doost, A., Nikbakht Nasrabadi, M., Wu, J., A'yun, Q. & Van Der Meeren, P. (2019). Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. In *Trends in Food Science and Technology*, 91, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.011>
- Seenaa, S. & Sridhar, K. R., (2005). Physiochemical, functional and cooking properties of Canavalia. *Journal of Food Chemistry*, 32: 406–412.
- Sharma, P.C., Tilakratne, B.M.K.S. and Anil Gupta, J., 2010.
- Shevkani, K.; Singh, N.; Kaur, A.; Rana, J.C. Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids* 2015, 43, 679–689.
- Starowicz, M. & Zieliński, H. (2019). Maillard Reaksiyonu Gıda Ürünlerinin Duyusal Özelliklerini (Renk, Lezzet ve Doku) Nasıl Etkiler? *Uluslararası Gıda İncelemeleri*, 35(8), 707–725. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1600538>.
- Sun, J., Mu, Y., Obadi, M., Dong, S. & Xu, B. (2020). Effects of single-mode microwave heating and dextran conjugation on the structure and functionality of ovalbumin–dextran conjugates. *Food Research International*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109468>
- Syamaladevi, R. M., Tang, J., Villa-Rojas, R., Sablani, S., Carter, B. & Campbell, G., (2016). Influence of Water Activity on Thermal Resistance of Microorganisms in Low-Moisture Foods: A Review. *Comprehensive Reviews*

- in Food Science and Food Safety*, 15(2): 353–370.
- Tang X.C., Pikal M.J., (2004). Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: Practical advice. *Pharm. Res.* 21(2), 191-200.
- Tsinontides Sc, Rajniak P, Pham D, Hunke Wa, Placek J., & Reynolds Sd, (2008). Freeze drying—principles and practice for successful scale-up to manufacturing. *Int J Pharm.* 280, 1–16.
- Walker, J. M. (2002). *The protein protocols handbook*. Springer Protocols.
- Wang, W., Wang, N., & Zhang, Q. (2011). Gelation properties of soy protein–dextran conjugates induced by transglutaminase. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1302-1309.
- Wedzicha, B.L. and McWeeny, D.J., 1974. Nonenzymic browning reactions of ascorbic acid and their inhibition. The production of 3-deoxy-4-sulphopentosulose in mixtures of ascorbic acid, glycine and bisulphite ion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25, 577-587.
- Weibel, F.P., Bickel, R., Leuthold, S., Alfoldi, T., (2000). Are organically grown apples tastier and healthier? A comparative field study using conventional and alternative methods to measure fruit quality. *Acta Horticulturae*, 517, 417-426.
- Wen, C., Zhang, J., Yao, H., Zhou, J., Duan, Y., Zhang, H. and Ma, H., (2019). Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication. *Ultrasonics Sonochemistry*, 53: 83–98.
- Yıldırım, R. G., (2003). “Dünyada ve Türkiye’de Biyokütle Enerji”, *Yeni ve Yenilenebilir Enerji Kaynakları Sempozyumu*, TMMOB, 3-4 Ekim 2003, Kayseri, s.357-360.
- Zhang, B., Zhang, H., Wang, J., & Zhao, M. (2015). Protein–polysaccharide conjugates by Maillard reaction: Effect on the emulsifying properties and structure of emulsions. *Food Hydrocolloids*, 45, 250-258.
- Zhang, X., Rajagopalan, K., Lei, H., Ruan, R. & Sharma, B. K., 2017. An overview of a novel concept in biomass pyrolysis: microwave irradiation. *Sustainable Energy & Fuels*, 1(8): 1664–1699.
- Zhou, J., Zhang, H., Yang, Y., Wang, S., & Liu, S. (2018). Interaction mechanism between DNA and protein studied by FTIR and fluorescence spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 190, 470–476. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.09.041>
- Zhu, Z., Zhao, C., Yi, J., Liu, N., Cao, Y., Decker, E. A., & McClements, D. J. (2010). Emulsifying properties of legume proteins compared to β -lactoglobulin and Tween 20 and the volatile release from oil-in-water emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(21), 11471–11478. <https://doi.org/10.1021/jf1022026>

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

İsim Soyisim : TUBA BOZKURT
Doğum Tarihi : 1997-05-15
Doğum Yeri : ŞANLIURFA
Telefon : 05437298866
E-Posta : bozkurttuba715@gmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

Okul	Bölüm	Baş. Yılı	Bit. Yılı
Harran Üniversitesi	Gıda Mühendisliği	2015	2020

2015 yılında Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde eğitimime başladım.

2015-2016 yılları arasında Harran Üniversitesi Yabancı Diller Yüksekokulu'nda bir yıl İngilizce hazırlık eğitimi aldım.

2019 yılında Şanlıurfa Gıda Kontrol Laboratuvarı'nda ve Harran Üniversitesi Bilim ve Araştırma Merkezi HÜBTAM'da stajımı tamamladım.

2020 yılında Harran Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümünden mezun oldum.

2022 yılında Harran Üniversitesi'nde tezli yüksek lisansa başladım.

2021-2023 yılları arasında TÜBİTAK 1512 projesinde Gıda Mühendisi olarak çalıştım.

2023-2024 yılları arasında TÜBİTAK Birlikte Çalışıp Başaracağız Projesi (BİÇABA) kapsamında proje bursiyeri olarak görev aldım.

2024 yılından beri OZEL SUOSB TEKNOLOJİ KOLEJİ'nde Gıda Teknolojisi Öğretmeni olarak çalışmaktayım.

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

[Ljava.lang.String;@616c580a

Referans No	10739687
Yazar Adı / Soyadı	TUBA BOZKURT
Orcid	0009-0001-6581-895X
T.C.Kimlik No	57010518568
Telefon	5437298866
E-Posta	bozkurttuba715@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	DNA Konjugasyonunun Bezelye Proteininin Teknofonksiyonel Özellikleri Üzerine Etkisi
Tezin Tercümesi	Effect of DNA Conjugation on Technofunctional Properties of Pea Protein
Konu	Gıda Mühendisliği = Food Engineering
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Fen Bilimleri Enstitüsü
Ana Bilim Dalı	Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Bilim Dalı	Biyoteknoloji Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2025
Sayfa	57
Tez Danışmanları	PROF. MEHMET KARAASLAN DOÇ. DR. BÜLENT BAŞYİĞİT DOÇ. DR. MERİÇ ŞİMŞEK ASLANOĞLU
Dizin Terimleri	Bezelye=Pea ; Maillard reaksiyonu=Maillard reaction ; DNA=DNA
Önerilen Dizin Terimleri	

29.07.2025

İmza:.....