

T.C.
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

FESLEĞEN TOHUMU PROTEİN İZOLATLARININ
FİZİKO-KİMYASAL VE FONKSİYONEL
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI VE GLUTENSİZ
EKMEK ÜRETİMİNDE KULLANIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mohammad RASHID

İstanbul
Şubat-2022

T.C.
İSTANBUL SABAHATTİN ZAİM ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ BİLİM DALI

**FESLEĞEN TOHUMU PROTEİN İZOLATLARININ FİZİKO-
KİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE GLUTENSİZ EKMEK ÜRETİMİNDE
KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mohammad RASHID

Tez Danışmanı
Doç. Dr. İbrahim GÜLSEREN

İstanbul
Şubat-2022

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürlüğüne,

Bu çalışma, jürimiz tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. İbrahim GÜLSEREN

Üye Dr. Öğr. Üyesi Halime PEHLİVANOĞLU

Üye Dr. Öğr. Üyesi Chi-Ching LEE

Onay

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Metin TOPRAK

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım “**Fesleğen Tohumu Protein İzolatlarının Fiziko-Kimyasal ve Fonksiyonel Özelliklerinin Araştırılması ve Glutensiz Ekmek Üretiminde Kullanımı**” adlı çalışmanın öneri aşamasından sonuçlandığı aşamaya kadar geçen süreçte bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle uyduğumu, tez içindeki tüm bilgileri bilimsel ahlak ve gelenek çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığımı, bu çalışmamda doğrudan veya dolaylı olarak yaptığım her alıntıya kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu beyan ederim.

Mohammad RASHID

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamdaki her aşamada bana yol göstererek destek olan ve çalışmalarımın planlanması, yürütülmesi ve değerlendirilmesi aşamalarında katkılarını esirgemeyen değerli danışman hocam İbrahim GÜLSEREN'e.

Çalışmalarım boyunca yardımlarını hiç esirgemeyen değerli arkadaşım Sebahat ŞİŞMAN'a.

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi'nde gerçekleştirilen SDS-PAGE analizlerinde (hizmet alımı) teknik destekleri için Öğr. Görevlisi Dr. Bahram SARKARATI'a

Eğitim hayatım boyunca, maddi manevi desteklerini esirgemeyen babam Seyfettin RASHID'a, dualarını üzerimden hiç eksik etmeyen annem Necah RAHID'a. Her türlü desteğiyle yanımda olan, eşim Yeter RASHID'e en içten teşekkürlerimi sunarım

Mohammad RASHID

İstanbul-2021

ÖZET
**FESLEĞEN TOHUMU PROTEİN İZOLATLARININ FİZİKO-
KİMYASAL VE FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI VE GLUTENSİZ EKMEK ÜRETİMİNDE
KULLANIMI**

Mohammad RASHID

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği

Tez Danışmanı: Doç.Dr. İbrahim GÜLSEREN

Şubat, 2022-108 Sayfa

Fesleğen (*Ocimum basilicum*), Lamiaceae familyasına ait bitkidir. Esansiyel yağı ve fenolik içeriğiyle birlikte fesleğen tohumu iyi bir protein kaynağıdır. Bu çalışmanın amacı, fesleğen tohumlarından protein izole edilmesi, izolatta bulunan protein miktarının belirlenmesi, izolatin ana fraksiyonlarına ayrılması ve teknik özelliklerinin araştırılmasıdır. Son olarak glutensiz ekmeğin fesleğen tohumu protein izolatu kullanılarak proteince zenginleştirilmesi ve tekstürel özelliklerinin değerlendirilmesidir.

Fesleğen tohumu protein içeriği Dumas yöntemi ile $27\pm 0,2$ olarak ölçülmüştür. Müsilaj, önce sulu ekstraksiyonu ve sonra termal hidrasyon yöntemleriyle uzaklaştırılmıştır. Fesleğen yağı soğuk pres yöntemiyle tohumlardan ayrıştırılmıştır. Ardından, alkali ekstraksiyonu-izoelektrik çöktürme yöntemiyle fesleğen tohumu protein izolatları (FTPİ) elde edilmiştir. FTPİ numunelerinin protein içeriği Lowry yöntemiyle $95\pm 0,5$ olarak ölçülmüştür. FTPİ, Osborne yöntemiyle fraksiyonlanmış olup albumin, globulin, glutelin ve prolamin içerikleri Lowry yöntemi ile sırasıyla $13,5\pm 0,2$, $16,7\pm 0,2$, $39,5\pm 0,6$ ve $30,2\pm 0,6$ olarak tayin edilmiştir. Bu işlemi takiben FTPİ'nin fonksiyonel özellikleri incelendikten sonra fraksiyonları ile birlikte temel yapısal analiz tamamlanmıştır.

FT-IR analizleri kapsamında Amid bölgesi ve glikoprotein bantları incelenmiştir. FTPİ'nin ve fraksiyonlarının, α - Helix, β -Turn ve β -Sheet yapısal elementleri içerdiği saptanmıştır. DSC spektrumunda, FTPİ ve fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı sırasıyla 110, 142, 112, 93 ve 107 °C ve entalpi değişimi sırasıyla 22.3, 79, 76, 223.9

ve 190 J/g olarak bulunmuştur. Son olarak FTPİ'nin ve fraksiyonlarının moleküler ağırlıklarının SDS-PAGE elektroforez ile 25-55 kDa arasında değiştiği gözlemlenmiştir.

FTPİ su ve yağ tutma kapasitesi sırasıyla $2.45 \pm 0,2$ g/g, $2.64 \pm 0,2$ g/g olarak bulunmuştur. Köpük kapasitesi, pH 2,4,6,8 ve 10 değerlerinde %34-%180 ve köpük kararlılığı %26-%105 arasında ölçülmüştür. Ayrıca FTPİ numunelerinin emülsiyon kararlılığı 10 gün boyunca izlenmiştir. Onuncu günün bitiminde FTPİ pH 4 değerinde yüksek emülsiyon kararlılığı ($92 \pm 0,2$), pH 8 değerinde ise daha düşük $78 \pm 0,2$ emülsiyon kararlılığı olarak belirlenmiştir.

Glutensiz ekmek %2, %5 ve %10 FTPİ ile zenginleştirilerek; nihai ürünün tekstürel parametreleri analiz edilmiştir. Yaklaşık tüm tekstür parametrelerinin %5 FTPİ içeren ekmekte olumsuz %2 ve %10 FTPİ içeren ekmeklerde olumlu etkilendiği tespit edilmiştir. Bu sonuca dayanarak FTPİ glutensiz ekmeğin zenginleştirilmesinde %2 ve %10 konsantrasyonlarda eklenebileceğini görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Fesleğen tohumu, DSC, FT-IR, Emülsiyon, köpük bağlama Osborne tekniği, glutensiz ekmek, tekstürel analiz

ABSTRACT
INVESTIGATION OF PHYSICO-CHEMICAL AND
FUNCTIONAL PROPERTIES OF BASIL SEED PROTEIN
ISOLATES AND THEIR USE IN ENRICHMENT OF GLUTEN-
FREE BREAD

Mohammad RASHID

Master of Science, Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Gülseren

February, 2022-108 Pages

Basil (*Ocimum basilicum L.*) is an annual plant that belongs to the Lamiaceae family. Along with its essential oil, and phenolic content, basil seed is a good source of proteins. The aim of the study is to extract and quantify proteins from basil seeds and evaluate their technical properties as well as their fractions. Finally, evaluating the nutritional texture profile analysis of gluten-free bread enrichment with different concentrates of basil seed protein isolates (BSPI).

After the basil seeds were procured, the protein content of the seeds was measured to be approximately $27\% \pm 0,2$ by the Dumas method. The mucilage was removed first by aqueous extraction and then by the thermal hydration methods. The essential oil content was separated from the seeds by the cold press method. Then, BSPI was obtained by the alkali extraction-isoelectric precipitation method and was measured approximately as $95\% \pm 0,5$ As determined by the Lowry method. BSPI was fractionated by applying the Osborne method. Albumin ($13,5 \pm 0,2$), globulin ($16,7 \pm 0,2$), glutelin ($39,5 \pm 0,6$), and prolamin ($30,2 \pm 0,6$) content were determined by the Lowry protein determination method. Based on this result, the basic structure of BSPI and their fractions and functional properties of BSPI were analyzed.

The positions of the amide region and glycoproteins in the FT-IR curve were determined. BSPI and their fractions were found to contain α -Helix, β -turn, and β -sheet structural elements. In the DSC spectrum, the denaturation temperature of BSPI and their fractions were 110, 142, 112, 93, and 107 °C, respectively, and the enthalpy change was 22.3, 79, 76, 223.9, and 190 J/g, respectively. Finally, it was observed that

the molecular weights of BSPI and their fractions varied between 25-55 kDa by SDS-PAGE electrophoresis.

BSPI water and oil holding capacity were found to be $2.45\pm 0,2$ g/g and $2.64\pm 0,2$ g/g respectively. At pH values of 2,4,6,8 and 10, foam capacity was measured between 34-180% and stability between 26-105%. In addition, the emulsion stability of FTPI samples was monitored for 10 days. At the end of the tenth day, FTPI was determined as high emulsion stability ($92\%\pm 0,2$) at pH 4, and lower $78\%\pm 0,2$ emulsion stability at pH 8.

The texture parameters of gluten-free bread were analyzed by enriching the gluten-free bread with 2%, 5%, and 10% basil seed protein. Almost in all texture parameters, it was determined that bread was negatively affected by the addition of %5 BSPI, and positively affected by the addition of 2% and 10% BSPI. Based on this result, it has been observed that FTPI can be added at 2% and 10% concentrations to enrich gluten-free bread.

Keywords: Basil seeds, DSC, FT-IR, Emulsion, foaming, Osborne, gluten-free bread, texture Analysis.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	i
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	xi
GRAFİK LİSTESİ	xii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xiii
KISALTMALAR	xvi
GİRİŞ	1

BİRİNCİ BÖLÜM

LİTERATÜR TARAMASI	3
1.1.Proteinler	3
1.1.1.Proteinlerin fonksiyonel özellikleri ve endüstriyel kullanımları.....	5
1.1.2.Bitkisel proteinlerin endüstriyel kullanımları	8
1.2.Soğuk pres yöntemi ile yağ eldesi.....	9
1.3.Glutensiz ekmeklerde alternatif olarak bitkisel proteinlerin kullanımı	10
1.4.Gıdalarda tekstürel analizi.....	11
1.5.Fesleğen bitkisinin taksonomik sınıflandırılması.....	12
1.6.Fesleğen tohumunun kompozisyonu ve temel özellikleri	12
1.7.Fesleğen tohumunun biyoaktif özellikleri.....	14
1.7.1.Antimikrobiyal aktivite	14
1.7.2.Antioksidan aktivite	15
1.7.3.Antienflamatuvar aktivite	16

1.7.4.Anti-hipoglisemik aktivite	17
1.8.Günümüzde fesleğen ve tohumu gıda ve yem uygulamalarında kullanılması.....	18
1.8.1.Gıda uygulamalarında kullanılması	18
1.8.2.Yem katkı maddesi olarak kullanımı	22

İKİNCİ BÖLÜM

MATERYAL ve METOT	23
2.1.Materyal	23
3.2.Metot	23
2.2.1.Örnek hazırlama	23
2.2.2.Dumas yöntemi ile protein miktar tayini	23
2.2.3.Fesleğen tohumu müsilağının uzaklaştırılması	23
2.2.4.Soğuk pres yöntemi ile yağ ekstraksiyonu.....	24
2.2.5.Soğuk preslenmiş fesleğen tohumu posalarından protein ekstraksiyonu...	25
2.2.6.Osborne yöntemine göre proteinlerin fraksiyonlanması.....	26
2.2.7.Lowry yöntemi ile fesleğen tohumu protein izolatlarının ve bunlara ait fraksiyonların protein miktar tayini	27
2.3.Fesleğen tohumu protein izolatları ve fraksiyonlarının fiziko-kimyasal özelliklerinin incelenmesi	28
2.3.1.Diferansiyel taramalı kalorimetre ("differential scanning calorimetry" DSC) analizi	28
2.3.2.Fourier transform infrared (FT-IR) spektrofotokopisi analizi.....	28
2.3.3.Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile protein izolatlarının moleküler boyut dağılımlarının analizi	28
2.4. Fesleğen tohumu izolatlarının fonksiyonel özelliklerinin incelenmesi.....	29
2.4.1.Su ve yağ tutma kapasitesi	29
2.4.2.Köpüklenme kapasitesi ve köpük kararlılığı.....	30
2.4.3.Emülsiyon kararlılığı.....	30
2.5.Fesleğen tohumu protein izolatlarının tekstür özelliklerine etkisi	33
2.5.1.Amaç	33
2.7.2.Ekmek numunelerinin hazırlanması	33
2.7.3.Glutensiz ekmek yapımı.....	34
2.7.4.Tekstür profil analizi	34

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA	36
3.1. Protein miktar tayini.....	36
3.2. Fesleğen tohumu protein izolatlarının yapısal özelliklerinin analizi	37
3.2.1. Fourier transform infrared (FT-IR) spektroskopisi verilerinin analiz.....	36
3.2.2. Elektroforezlik veri analizi.	40
3.2.3. Diferansiyel taramalı kalorimetre veri analizi (DSC).	41
3.3. Fesleğen tohumu protein izolatlarının fonksiyonel özelliklerinin analizi.....	43
3.4. Fesleğen tohumu protein fraksiyonlarının miktar tayini.....	47
3.5. Fraksiyonların yapısal özelliklerinin analizi	49
3.5.1. Fourier transform infrared (FT-IR) spektroskopi verilerinin analizi	49
3.5.2. Diferansiyel taramalı kalorimetre verilerinin analizi.	53
3.5.3. Elektroforezlik verilerin analizi.	57
3.5. Tekstürel analiz bulguları.....	58

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİ	63
KAYNAKÇA	67
ÖZGEÇMİŞ	91

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1: Fesleğen tohumlarının amino asit bileşimi	13
Tablo 2.1: Glutensiz ekmek yapımında kullanılan ana malzemeler	33
Tablo 3.1: Farklı yörelerin fesleğen tohumun protein içeriği	36
Tablo 3.2: Diferansiyel taramalı kalorimetre sistemi (DSC) ile analiz edilen bazı tohumların protein denatürasyon sıcaklığı ve entalpi değişiminin ΔH değerlerinin karşılaştırılması	42
Tablo 3.3: Osborne yöntemine göre elde edilen FTPİ ana fraksiyonlarının 575 nm dalga boyunda spektrofotometre abosrbans değerleri.....	48
Tablo 3.4: Osborne yöntemine göre elde edilen fraksiyonlarının yüzdelik olarak FTPİ'nin içindeki dağılımı.....	48
Tablo 3.5: FTPİ fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı (T_d) ve entalpi değişimi (ΔH) değerleri, farklı tohumların protein fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı (T_d) ve entalpi değişiminin ΔH değerleri ile karşılaştırılması.....	55
Tablo 3.6: Glutensiz buğday ununa farklı oranlarda FTPİ ilave edilerek hazırlanan un karışımlarından elde edilen ekmeklerin tekstür parametrelerinin deneysel ortalama değerleri. Tüm örnekler için standart sapma $< \% 1$	62

GRAFİKLER LİSTESİ

- Grafik 3.1:** Oda sıcaklığında ve farklı pH değerlerinde %1 FTPİ dispersiyonun köpüklenme kapasitesi ve 30 dakika arayla köpük kararlılığının incelenmesi. Tüm örnekler için standart sapma $< \%1$ olarak bulunmuştur.....44
- Grafik 3.2:** Fesleğen tohumu proteininin farklı pH değerlerinde ve farklı zaman dilimlerinde emülsiyon kararlığı. Tüm örnekler için standart sapma $< \%1$ olarak bulunmuştur.....46
- Grafik 3.3:** Beş farklı konsantrasyonda BSA standart çözeltileri kullanılarak oluşturulmuş standart eğri. BSA konsantrasyonu ve absorbands değeri doğrusal bir ilişki gözlenmiştir..... 48

ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1.1:** Major gıda proteini kaynaklarının adapte edilmesi.....4
- Şekil 1.2:** Yağ ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan metotlar.....10
- Şekil 1.3:** Fesleğen tohumunun genel görünümü.....13
- Şekil 2.1:** Sulu ekstraksiyon ve termal hidrasyon yöntemleri ile fesleğen tohumundan müsilağın ayrılması işlemlerinin akış şeması24
- Şekil 2.2:** **A)** Fesleğen tohumların su ile temas edildikten sonra hidrasyonu. **B)** Etüvde (40°C'de ve 48 saat) müsilağı uzaklaştırmak için fesleğen tohumlarının kurmulması.....24
- Şekil 2.3:** Soğuk pres yöntemi ile fesleğen tohumundan soğuk pres cihazı kullanarak yağ ekstraksiyonu. Cihaz sıcaklığı 100°C filtre sıcaklığı 35±5°C ve ekstrüder hızı 18 Hz olarak uygulandı.....25
- Şekil 2.4:** Liyofilize edilen fesleğen tohumu proteini izolatları (FTPİ)26
- Şekil 2.5:** Shear mikser probu sıvının arayüzüne konumlandırılarak oda sıcaklığında ve 8000×g hızında, %1 FTPİ dispersiyonunun homojenize edilmesi.....30
- Şekil 2.6:** Shear mikser probu FTPİ-yağ dispersiyonunun arayüzüne konumlandırılarak oda sıcaklığında ve 8000×g hızında homojenize edilmesi.....31
- Şekil 2.7:** Fesleğen tohumu proteinin ekstraksiyonu, tayini, fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin akış şeması.....32
- Şekil 2.8:** Farklı FTPİ yüzdesi miktarları (0-10%) ile zenginleştirilmiş glutensiz ekmek yapımı akım şeması.....35
- Şekil 3.1:** FTPİ numunelerinin FT-IR spektrumu. **A)** Amid I, II ve III gösteren FT-IR spektrumu, **B)** Bu piklerin ikinci türevini gösteren spektrum, **C)** Glikoprotein pikelerini gösteren FT-IR spektrumu ve **D)** Amid A ve Amid B pikelerini gösteren FT-IR spektrumu39
- Şekil 3.2:** Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ile moleküler kütlelerine göre ayrılmış olan FTPİ dispersiyonları. A) Şerit profili.

B) band profili, 1) Precision plus protein standartları numunesi, ve 2) FTPİ dispersiyonları	40
Şekil 3.3: Diferansiyel taramalı kalorimetre ("differential scanning calorimetry" DSC) sistemi ile analiz edilen fesleğen tohumu proteini dispersiyonlarının termal denatürasyon özellikleri. Isıtma hızı 10°C dk ⁻¹ ve incelenen sıcaklık aralığı 20-180°C arasındadır.....	42
Şekil 3.4: Farklı pH değerlerinde ve 30 dk süren depolamada %1 FTPİ dispersiyonun köpük kapasitesi ve kararlılığının A) pH 2, B) pH 4, C) pH 6, D) pH 8 ve E) pH 10 değerlerinde incelenmesi. Koyu renk sıvı fazı ve açık renk köpük fazıdır....	45
Şekil 3.5: FTPİ dispersiyonunun (%1) farklı pH değerlerinde ve farklı zaman dilimlerinde oda sıcaklığında emülsiyon kararlılığı ve stabilitesine etkisi. A) 1., B) 3. ve C) 10. günler.....	47
Şekil 3.6: FTPİ fraksiyonlarının amid A ve amid B bölgelerini gösteren FT-IR spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin fraksiyonlarını gösterilmiştir.....	50
Şekil 3.7: FTPİ fraksiyonlarının amid I ve amid II bölgelerini türev spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin fraksiyonlarını gösterilmiştir.....	51
Şekil 3.8: FTPİ fraksiyonlarının Amid I ve Amid II bölgelerini türevi. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin gösterilmiştir	52
Şekil 3.9: FTPİ fraksiyonlarının glikoproteinlerinin bölgelerini gösteren FT-IR spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin gösterilmiştir.....	53
Şekil 3.10: Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) sistemi ile analiz edilen fesleğen tohumu proteini dağılımlarının termal denatürasyon özellikleri. Isıtma hızı 10°C dk ⁻¹ ve sıcaklık aralığı 20-180°C arasındadır. A) Albumin, B) globulin C) glutelin ve D) prolamin.....	57
Şekil 3.11: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış olan FTPİ fraksiyonların dispersiyonları.1) Albumin, 2) globulin, 3) glutelin, 4) prolamin, 5) Precision Plus protein standartları numunesi.....	58

Şekil 3.12: Farklı FTPİ miktarları ile zenginleştirilmiş ve fırınlanmış glutensiz ekmeğ.

A) kontrol ekmeği, B) %2, C) %5, D) %10 FTPİ ile zenginleştirilmiş ekmeğ.
FTPİ izolatlarının artması ekmeğ renginin açıktan koyuya doğru değişimi ile karakterizedir..... 61



KISALTMALAR LİSTESİ

mM	: Milimolar
mL	: miliLitre
μ M	: mikrometre
μ L	: mikroLitre
%	: yüzde
nm	: nanometre
vb.	: ve benzeri
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
FTPİ	: Fesleğen tohumu protein izolatu
BSPİ	: Basil seed protein isolates
STK	: Su tutma kapasitesi
YTK	: Yağ tutma kapasitesi
FC	: Köpürme kapasitesi ("foam capacity")
FS	: Köpürme kararlılığı ("foam stability")
ES	: Emülsiyon kararlılığı ("emulsion stability")

GİRİŞ

Proteinler, birincil olarak amino asitlerden oluşan makro besin unsurlarıdır. Metabolizmanın ayrılmaz bir parçası olarak beslenmede, yaşamsal aktivitede ve sağlıkta rolleri vardır. Son yıllarda, proteinlerin gıdaların raf ömrünün uzatılması, stabilizasyonu ve patojenik bozulmaya neden olan mikroorganizmaların yok edilmesinden daha karmaşık fonksiyonel görevler için kullanılabileceği düşünülmüştür (Venn, 2020). Proteinler; güvenli, besleyici, çeşitli, yenilebilir ve ekonomik gıda temini taleplerini karşılamak ve aynı zamanda çözünürlük, emülsifikasyon, köpürme, su tutma ve yağ tutma gibi belirli fonksiyonel özelliklerinin gıda uygulamalarında belirli hedeflere ulaşmak için (örneğin, tekstür, tat ve doku kontrolü) yoğun olarak kullanılmaktadır. Ek olarak, kaplamalar, jeller, biyomalzemeler, katkı maddeleri ve ilaç endüstrisinin ürünleri gibi farklı endüstriyel uygulamalarda protein kullanımı yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır. (Venn, 2020; Boye ve Barbana, 2012; Aryee vd., 2018).

Artan global nüfusa orantılı olarak, hayvansal ürünlerde talep ve fiyat artışı yaşanmaktadır. Bu durum, hayvansal proteinlerin maliyetlerinin artmasına neden olacağı tahmin edilmektedir (FAO, 2013). Daha fazla gıda proteini kaynağına duyulan ihtiyaç nedeniyle, araştırmacılar ihtiyacı karşılayabilecek yeni alternatiflere yönelmektedir. Bu nedenle farklı bitkisel protein kaynakları (tohum, tahıl ve yaprak) mevcut araştırmalarda yoğun olarak değerlendirilmektedir (Pojić vd., 2018; Adenekan vd., 2018; Eltayeb vd., 2011; Sun vd., 2012).

Fesleğen (*Ocimum basilicum L.*), *Lamiaceae* familyasına ait, tek yıllık 20-60 cm boyunda, yeşil bir bitkidir. Eski Yunanca 'da kralın bitkisi olarak adlandırılmaktadır. *Basilicum*, Günümüzde fesleğen olarak bilinmektedir. Tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde bulunmaktadır. *Ocimum* ailesinin yaklaşık 150 türü vardır. Ailenin en önemli üyeleri; *Ocimum sanctum L.*, *Ocimum ratissimum L.* *Ocimum basilicum L.*, *Ocimum hispidulum Schum*, *Ocimum tenuiflorum L.* ve *Ocimum americanum L.* olarak sıralanabilir (Shahrajabian vd., 2020; Ekmekci, 2013).

Fesleğen tohumları siyah, nispeten küçük (2,52 mM uzunluk, 1,43 mM genişlik ve 1,10 mM kalınlık) ve elips şeklindedir (Nazir ve Wani, 2021). Tohumların antiinflamatuvar, antidiyare, idrar söktürücü, ateş düşürücü ve spazm giderici tıbbi değerinin yanı sıra,

fesleğen tohumu ekstraktları, gıda endüstrisinde antibakteriyel, antimikrobiyal, antifungal ve antioksidatif etkiler dahil olmak üzere birçok yararlı özelliğe sahiptir (Shahrajabian vd., 2020; Decker vd., 2010). Asya'nın bazı bölgelerinde fesleğen tohumları bir araya getirilerek tatlılar ve içecekler gibi gıda ürünleri elde edilmektedir. Fesleğen tohumu yaklaşık olarak 50% karbonhidrat, 7,1% lif, 33% uçucu yağ ve 29% protein içermektedir (Khaliq vd., 2017; Munir vd., 2017). Bu bileşim, fesleğenin gıda endüstrisinde koyulaştırıcı, yağ ikame edici, stabilizatör, emülgatör, köpükendirici ve jelleştirici ajan olarak kullanılmasına izin vermektedir (Choi vd., 2020; Nazir vd., 2017; Gajendiran vd., 2016.).

Bu çalışmada soğuk preslenmiş fesleğen tohumu posasından protein izolatlarının elde edilmesi, elde edilen izolatta bulunan protein içeriğinin belirlenmesi ve bu proteinlerin fiziko-kimyasal, fonksiyonel ve teknik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Buna ek olarak, fesleğen tohumu proteinleri ana fraksiyonlarına ayrılarak fraksiyonların temel özellikleri değerlendirilmektedir. Son olarak fesleğen tohumu protein izolatlarının glutensiz ekmek üretiminde kullanılması ile hazırlanan ekmek numunelerinin dokusal (tekstürel) özellikleri incelenmektedir. Bu kapsamda fesleğen tohumu protein izolatlarının gıda sanayisinde kullanıma uygunluğu analiz edilecektir.

BİRİNCİ BÖLÜM

LİTERATÜR TARAMASI

1.1. Proteinler

Proteinler, birincil olarak peptit bağlarıyla birleştirilmiş amino asitlerden oluşan karmaşık azotlu bileşiklerdir. Proteinlerin besin değeri yüksektir ve proteinler, birçok hayati biyokimyasal süreçte doğrudan yer almaktadırlar. Proteinler, genellikle 20 yaygın amino asitten oluşmaktadır. Amino asitlerin karboksil grubuna bitişik olan karbon atomu ($C\alpha$), dört farklı kimyasal gruba bağlıdır. Bunlar, bir hidrojen atomu (H), bir karboksil grubu (COOH), bir amino grubu (NH_2) ve bir yan zincir R grubudur. Değişken grup, yan zincir veya R grubu olarak adlandırılır. Protein molekülleri yapılandırılmış ve yapılandırılmamış bölgeler, pozitif, negatif ve yüksüz bölgeler, hidrofobik ve hidrofilik bölgeler olarak gruplandırılmaktadır (Zent, 2019; Loveday, 2019).

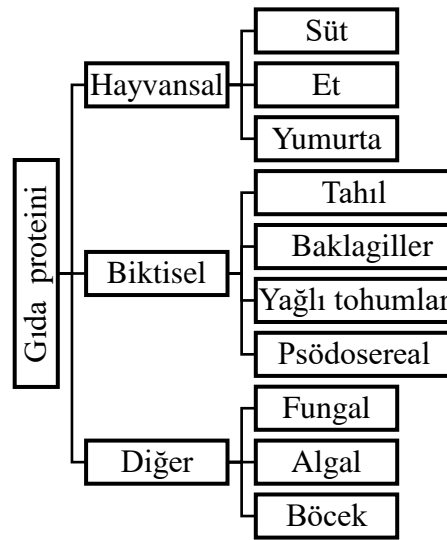
Proteinler konfigürasyonlarına göre globüler veya fibröz (lifsi) olarak sınıflandırılır. Fibröz proteinler; genellikle uzun, dar zincirlerden oluşur ve yapısal işlevlere sahiptir. Fibröz proteinlerin her biri birbirine kuvvetlice bağlı, suda çözünmeyen, alkali ve asitlere karşı duyarsız, ancak ısıya karşı duyarlıdırlar. Tendon, kas, deri ve hücre organelleri gibi vücut yapılarının oluşumunda rol oynamaktadırlar. Globüler proteinler daha kompakt ve işlevsel bir rol oynayabilmektedirler. Globüler proteinler suda veya tuzlu suda çözünür ve ısıya, asitlere ve alkalilere karşı hassastırlar (Lodish vd.,2000;).

Proteinler genellikle amfoterik davranan moleküllerdir. Bu durum, molekül üzerinde amino asitlerin hem pozitif hem de negatif yüklere sahip olmalarından kaynaklanmaktadır. Moleküller üzerindeki toplam yükün sıfır olduğu duruma izoelektrik pH değeri denmektedir. Yükleri eşit olan iyonlar nötrdür ve elektrikli alanda hareket edememektedirler. Proteinler izoelektrik noktada minimum çözünürlükle çöktülebilmektedirler. Her proteinin kendine özgü üç boyutlu şekli vardır. Proteinin biyolojik aktivitesi, üç boyutlu şeklini değiştirmektir (Lodish vd., 2000).

Proteinlerin yapısı dört farklı aşamada gerçekleştirilebilmektedir. Birincil yapıda; amino asitler, peptit bağlarıyla polipeptit zincirlerine bağlanır. İkincil yapıda;

polipeptit zincirleri, alfa-heliks, beta-sheet, beta-turn ve random coil gibi düzenli yapıdadırlar. Üçüncül yapı; suda çözünür proteinler, özellikle R grupları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca üç boyutlu oluşuma katılan başlıca etkileşimler; hidrofobik ve Van der Waals etkileşimleridir. Dördüncül yapı ise polipeptit zincirlerinin birincil, ikincil ve üçüncül yapı ile daha büyük kümeler halinde bir araya gelmesiyle oluşmaktadır (Alberts vd., 2002).

Protein denatürasyonunda ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılar bozulur, ancak amino asitlerin birincil yapısı ve dizisi aynı kalmaktadır. Denatürasyonda, peptit bağları kırılmadan fizikokimyasal veya biyolojik değişiklikler meydana gelmektedir ve denatürasyon işlemi genellikle disülfid köprüleri yok edilmezse geri dönüştürülebilir. Başlıca besinsel protein kaynakları hayvansal (süt, et ve yumurta), bitkisel (tahıl, baklagiller ve psödotaahıllar ve yağlı tohumlar), ve diğer kaynaklar (fungal, algal ve böcek) olarak katagorize edilebilirler (Şekil 1.1). Hayvansal protein binlerce yıldır tüketilirken, bitki proteini, mahsul ıslahındaki ilerlemeler ve tarım devrimi nedeniyle insan beslenmesinde giderek daha yaygın kullanılmaya başlamıştır (Loveday, 2019).



Şekil 1.1: Major gıda proteini kaynaklarının adapte edilmesi.

Kaynak: Loveday, 2019

Artan global nüfusla doğru orantılı olarak, hayvansal ürünlerde talep ve fiyat artışı yaşanmaktadır (FAO, 2013; Cohen, 2003). Gıda proteini kaynaklarına artan ihtiyaç nedeniyle, araştırmalar ihtiyacı karşılayabilecek yeni alternatiflere odaklanmaktadır.

Bu nedenle farklı bitkisel protein kaynakları mevcut arařtırmalarda yoğun olarak deęerlendirilmektedir (Pojić vd., 2018; Adenekan vd., 2018; Eltayeb vd., 2011; Sun vd., 2012).

1.1.1. Proteinlerin Fonksiyonel Özellikleri ve Endüstriyel Kullanımları

Bitkisel proteinlerin fonksiyonel gıda bileşenleri ve gıda takviyeleri olarak kullanılmasına yönelik olarak yeni protein kaynaklarına artan bir ilgi vardır. Bitkisel proteinler, insanların tüketimine uygun, sürdürülebilir birer protein kaynağıdır. Hayvancılıkta bitkisel proteinlerin hayvansal proteine dönüşüm oranının %15 civarında olduğu bilinmektedir (Yimer vd., 2019). Küresel protein talebinin sürekli arttığı bu dönemde, bitkisel proteinlerin gıda sistemlerinde ve diğer tüketim ürünlerinde kullanılması önem kazanmaktadır. Bitkisel proteinler hayvansal proteinlerden daha yaygın ve daha ucuz olmalarına rağmen gıda sistemlerinde kullanımları ve tüketimleri hala oldukça sınırlıdır (Hertzler vd., 2020)

Gıda proteinlerinin fonksiyonel özellikleri, gıdanın üretimi, depolanması ve tüketimi sırasında proteinleri etkileyen fiziksel ve kimyasal özelliklerdir. Gıda teknolojisinde proteinler, gıdanın kalitesini ve duyuşsal özelliklerini korumak için gıdanın işlenmesi, hazırlanması, depolanması ve tüketilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Owusu, 2004).

Proteinlerin başlıca fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özellikleri arasında, boyut, şekil, yük dağılımı, amino asit bileşimi ve dizisi, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılar, diğer moleküllerle etkileşim yeteneği, hidrofobisite ve hidrofilitate oranı, esneklik ve sertlik gibi özellikler sıralanabilir (Damodaran, 2007; Li-Chan, 2018). Proteinlerin, çözünürlük, su tutma, emülsifikasyon, yağ tutma, köpürme, jelleşme, viskozite düzenleme, yapışma, elastikiyet, plastisite, renk ve tat birleşimi ile kataliz gibi birçok fonksiyonel özelliği, gıda sistemlerin olumlu etkilemelerini sağlamaktadır. Çeşitli proteinlerin karakteristik fonksiyonel özellikleri, belirli gıdaların üretiminde önemli rol oynamaktadır (Awuchi vd., 2019). Örneğin buğday gluteni hamura esneklik ve plastisite kazandırdığı için hamurda önemli bir protein grubudur (Zent, 2019). Proteinlerin fonksiyonel özellikleri, proteinin tipine ve ilgili gıda sistemine bağlıdır. Örneğin; yumurta proteinlerinin köpürme özelliği arzu edilirken, soya veya bezelye proteinlerinden yapılan işlenmemiş bitki protein preparatları istenmeyen bitterimsi acı

tat sergilemektedirler. Bu durum alkoller, aldehitler ve ketonlar gibi yağ oksidasyon ürünlerinin neden olduğu, yapışan saponinler ve uçucu kötü tatlar ile ilişkilidir (Kutzli vd., 2021).

Fonksiyonel özellikler, gıdalarda kullanılmak üzere hazırlanan yeni protein kaynakları için ana kriterdir. Bitkisel kaynaklı proteinlerin kullanımı, genellikle gıda sistemlerinde beklenen fonksiyonel etkileri göstermedikleri veya fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için enzimatik, kimyasal ve fiziksel modifikasyonlar gerektirdiği için sınırlıdır (Chavan vd., 2001). Bu modifikasyonların maliyeti yüksek olabilmektedir. Yetersiz çözünürlük performansı diğer fonksiyonel özellikleri sınırlayabilir, bu nedenle çözünürlük proteinin fonksiyonel performansındaki en önemli faktördür (Kinsella ve Melachouris, 1976). Köpükler, sıvı ya da sulu faz ile dağılmış gaz faza sahip olan proteinlerin oluşturduğu çift fazlı kolloidal sistemlerdir. Proteinler, yüzey aktif özellikler sahiptir. Hem hidrofilik hem de hidrofobik amino asit kalıntıları içermektedir. Daha fazla yüzey aktivitesine sahip proteinler kabarcık oluşumu sırasında oluşturulan gaz-sıvı ara yüzeyine adsorbe edilebilmektedir (Boye ve Berbana, 2012; Timilsena vd., 2016; Alsalman vd., 2020).

Su tutma özelliği; gıda matrisindeki proteinin hidrojen bağları ile ortamdaki suyun tutulmasıyla elde edilir (Kneifel vd., 1991). Emülsifiye edici aktivite indeksi, birim protein başına emülsifiye edilebilen yağ miktarının bir ölçüsüdür. Emülsiyon stabilitesi indeksi (ESI), emülsiyonun belirli bir süre boyunca stabilitesini ölçmektedir. Hidrofobiklik-hidrofiliklik oranı ve protein katlanma-açılma kolaylığı gibi protein özellikleri, bunların emülsifiye edici özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Arayüzde protein adsorpsiyonu; hidrofobik amino asit kalıntılarının yağ fazına ve hidrofilik amino asitlerin sulu faza yönelerek yeniden düzenlenmesine sebep olmaktadır. Bu durum arayüzey geriliminin azalmasına neden olur. Arayüzdeki protein-protein etkileşimleri, birleşmeye dirençli güçlü viskoelastik filmler oluşturur. Proteinlerin adsorpsiyonunda, sterik ve elektrostatik etkileşimler, katı partikül süspansiyonunun stabilize edilmesinde önemlidir (Boye vd., 2010; Zayas, 1997. Méx 2008).

Emülsiyon oluşturmak için proteinler kullanıldığında, protein molekülleri oluşan yeni yüzey alanlarının stabilizasyonundan sorumludurlar. Yüksek serbest yüzey enerjisi, yağ globüllerinin hızlı birleşmesi ile azalmaktadır. Birleşmenin önlenmesi için, protein

moleküllerinin yağ/su arayüzünü kaplaması gerekmektedir. Yeni yüzey yeterince kaplandığında, parçacıkların birleşmesi geçici olarak durmaktadır. Proteinlerle arayüzey difüzyon hızı, emülsiyon oluşumu sırasında arayüzey adsorbe olan protein miktarında önemli bir değişkendir (Méx, 2008).

Segura-Campos (2019), pH değerlerindeki değişikliklerinde gıdaların işlenmesi sırasında meydana geldiğini bulgulamıştır. Bu nedenle, bu faktörün gıda proteininin fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkilerini incelemek önemlidir. Örneğin emülsifiye edici ve köpük oluşturuç özellikler, içecekler, mayonez, dondurma, soslar, köpükler ve margarin gibi gıdalarda önem kazanmaktadır (Boye vd., 2010; Zayas, 1997A). Amfifilik yapıları nedeniyle proteinler arayüzde adsorbe olarak, yağ veya hava damlacıklarını kaplayarak, stabil filmler geliştirerek ve dispersiyonları stabilize ederek emülgatör ya da köpükendirici görevi görürler. Emülsiyonlar veya köpükler sıvı ortamda dağılan yağ damlacıkları veya hava hücrelerini çevrelediğinde oluşmaktadır (Boye vd., 2010). Her iki durumda da filmin görevi; emülsiyonlarda birleşme, topaklaşma ve çökelme ile köpükteki hava kabarcıklarının ayrılmasını önlemektir (Boye vd., 2010; Alsalman vd., 2020).

Su tutma kapasitesi (STK), proteinlerin suyun gıda matrislerinden salınmasını veya dışarı atılmasını önleme yeteneğidir. STK, özellikle et ürünleri ve fırınlanmış hamurlarda gıda dokusunun geliştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Zayas, 1997B). Çok yüksek STK değerli protein bileşenleri, bir gıda sistemindeki diğer bileşenleri kurutabilmektedir. Düşük STK değerli proteinler ise, depolama nemine daha duyarlı olabilmektedir (Haque vd., 2016). Bu nedenle, uygun bir STK değerine sahip proteinin seçimi, gıda formülasyonunda önemli bir yere sahiptir. Bununla birlikte, pH, iyonik kuvvet ve sıcaklık gibi çeşitli içsel, dışsal ve çevresel faktörler proteinlerin STK değerlerini etkiler. Bir protein için, en düşük STK değerleri genellikle bir çözücüdeki proteinin net yükünün sıfır olduğu ve protein-protein etkileşimlerinin baskın olduğu izoelektrik noktada kaydedilmektedir (Haque vd., 2016). Bir proteinin çözeltisinin pH değerlerindeki değişiklik, iyonize olabilen gruplar üzerindeki yükleri değiştirir ve su bağlama bölgelerini açığa çıkararak veya gizleyerek proteinlerin davranışını değiştirir (Zayas, 1997 B).

Yağ tutma kapasitesi (YTK), protein ağırlığı başına tutulan yağ miktarının bir ölçüsüdür (g/g). Bu özellik, yağ ve aroma tutma ile doku oluşturma bağlamında

faydalıdır. Proteinlerin yağı tutmaları ve yağlarla etkileşime girme yetenekleri, gıda formülasyonlarında önemli bir rol oynamaktadır (Haque vd., 2016).

1.1.2. Bitkisel Proteinlerin Endüstriyel Kullanımları

Protein konsantrelerinin ve izolatlarının yüksek protein içeriği, fonksiyonel etkinliği ve düşük anti-beslenme faktörü içerikleri nedeniyle gıda endüstrisinde kullanımları artmaktadır. Protein konsantreleri ve izolatları şekerlemeler, atıştırmalıklar, et ürünleri ve içecekler gibi birçok üründe lezzet arttırıcı ve gıda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır (Nylander vd., 2019; Söderberg, 2013).

Gıdalarda kullanılmak üzere yetiştirilen hammaddeler, dünyanın artan nüfusunu beslemeyi amaçlayan hatalı tarım uygulamaları nedeniyle gittikçe azalan miktarlarda mineral ve vitamin içermektedirler (FAO, 2017). Vücudun dokularını korumak ve yenilemek, fizyolojik işlevleri görmek ve büyümek için proteine ihtiyacı vardır. Vücuttaki ana yapı taşı olan protein, çoğu hücrenin birincil bileşenidir. Örneğin, kas, bağ dokuları ve deri büyük oranda proteinden oluşmaktadır. Çocuklarda protein eksikliği büyüme bozukluklarına ve hastalıklarda artışa yol açmaktadır. Ancak dünya genelinde 500 milyondan fazla insanın protein konusunda yetersiz beslendiği tahmin edilmektedir (Müller, 2005).

Sekiz esansiyel amino asidin nispeten yüksek içeriği ve biyoyararlanımı; hayvansal proteinleri bitkisel proteinlere kıyasla daha üstün kılmaktadır (Hoffman ve Flavo, 2004). Bitkisel proteinler, referans protein kaynağına (yumurta) kıyasla yüksek protein ve dengeli esansiyel amino asit içermelidir. Esansiyel amino asitler açısından zengin olan bitkisel proteinler, ekonomik açıdan önem taşıma potansiyelindedir. Bitkisel protein hidrolizatlarından elde edilen kısa zincirli peptitlerin vücut tarafından etkin bir şekilde değerlendirildiği ve besinsel özelliklerinin üstün olduğu belirtilmektedir. (Chakrabarti vd., 2018).

Tahıllar, baklagiller ve yağlı tohumlar bitkisel protein kaynaklarıdır. Çeşitli bitkisel kaynaklardan protein elde etme çabalarının artmasıyla Soya fasulyesi proteini dünya genelinde birinci olarak değerlendirilmektedir. (Loveday, 2019.). Konsantre soya proteini izolatları ve hidrolizatları; et ve süt ürünleri, bebek mamaları, fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler gibi gıda endüstrisinin çeşitli alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Soya proteini dünyada en yaygın kullanılan bitkisel protein iken;

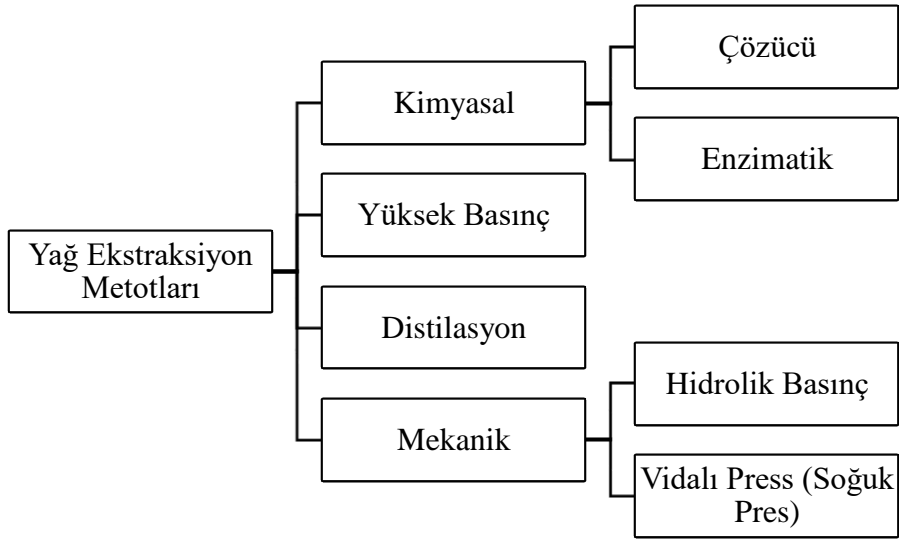
ikinci numara buğday, kanola, pamuk, mısır, yer fıstığı ve ayçiçeğinden elde edilen proteinleri de yaygın olarak kullanılan diğer bitkisel protein kaynaklarıdır (Asgar vd., 2010; Guo vd., 2018).

Bitkisel proteinler; besin değerleri, biyolojik aktiviteleri, emülsifiye edici aktiviteleri, köpük ve jel oluşumu, yağ, su ve aroma bağlayıcılıkları nedeniyle gıda sistemlerinde kullanılmaktadır. Ek olarak, iyi film oluşturma özelliklerine sahip bitkisel proteinler, plastik ambalaj malzemelerine alternatif olarak biyolojik olarak parçalanabilen ambalaj malzemelerinin geliştirilmesi için potansiyel ham maddelerdir (Yada, 2017; Asgar vd., 2010).

1.2. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Eldesi

Yağlı tohumlardan yağ elde etmek için solvent ekstraksiyonu, mekanik prosesler, enzim ekstraksiyonu, yüksek basınçlı ekstraksiyon, distilasyon ve hidrolik presler gibi (Şekil 1.2) birçok ekstraksiyon sistemi ve prosesi kullanılmıştır (Cakaloglu, 2018). Soğuk pres, geleneksel solvent ekstraksiyonuna (Soxhlet) veya yeni ekstraksiyon yöntemlerine göre daha düşük enerji tüketimi, daha çevre dostu olan (toksik çözücü içermeyen), daha düşük yatırım maliyeti ile kurulma ve yüksek kaliteli ürünler oluşturma gibi avantajlar sergilemektedir. Ayrıca protein açısından zengin posa eldesi, herhangi bir toksik kalıntı olmadan elde etmek mümkündür (Ferhat vd., 2007).

Soğuk pres sisteminde, vidalı pres mekanik basınç altında çalışmaktadır. Sıcaklık, soğuk pres cihazlarında iki ana besleme akışı üretmek için kullanılabilir. Bunlar yağ akışı ve hamurdur. Ana işleme parametreleri (sıcaklık, vida hızı ve yaklaşık başlangıç besleme bileşimi gibi) ekstraktın kalitesini ve özelliklerini belirlemektedir (Ferhat vd., 2007; Mohammed vd., 2016; Danlami vd., 2014).



Şekil 1.2: Yağ ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan metotlar.

Kaynak: Danlami vd., 2014.

Ancak ekstraksiyon verimliliği, geleneksel solvent ekstraksiyonundan nispeten daha düşüktür, daha yavaş olması ve kullanılan tohumlarının (ayçiçeği ve susam tohumu) çoğu soğuk pres yöntemine uygun olmaması gibi birçok dezavantajı vardır. (Danlami vd., 2014).

1.3. Glutensiz Ekmeklerde Alternatif Olarak Bitkisel Proteinlerin Kullanımı

Buğday ununun ekmeklik kalitesinin, gluten proteinlerinin hem miktarına hem de kalitesine bağlı olduğu bilinmektedir. Gluten proteinleri, toplam buğday proteininin %80-85'ine katkıda bulunur ve buğdayın başlıca depolama proteinleridir (Arendt vd., 2008).

Diyetten gluten in ömür boyu kalıcı olarak kesilmesi, Çölyak hastalığının tek etkili tedavisidir. Bununla birlikte, gluten in ekmek formülasyonlarından çıkarılması, ön pişirme aşamasında bir hamur sisteminden ziyade genellikle sıvı bir hamurla sonuçlanır ve ufalanan doku, kötü renk ve diğer kalite kusurlarına sahip pişmiş ekmekle sonuçlanabilir. Gluten, buğday ununda yapıyı oluşturan proteindir ve hamura viskoelastisite, iyi gaz tutma özellikleri ve birçok fırınlanmış ürüne iyi iç yapı sağlayarak buğday unlarının ekmek yapma işlevselliğinde önemli bir rol oynamaktadır (Gallagher vd., 2003; Arendt vd., 2008).

Şu anda piyasada bulunan glutensiz ürünlerin çoğu düşük kaliteli, lezzetsiz ve protein miktarını önemli ölçüde sınırlandıran ürünlerdir (Arendt vd., 2002). Bu sorunlar önemli teknolojik zorluklar doğurmakta ve glutensiz unlu mamullerin üretiminde gluten e alternatif arayışlara yol açmaktadır. Glutensiz ekmek, ekmek hamurundaki gluten in viskoelastik özelliklerini taklit eden polimerik maddeler gerektirmektedir (Toufeili vd., 1994).

Glutensiz ekmek üretimi temel olarak tahıllar, pseudotahıllar, baklagiller veya süt proteinleri gibi protein bazlı bileşenlerin, hidrokolloidler ve diğer gluten olmayan proteinlerinin viskoelastik özelliklerini taklit edebilecek ve ürünlerin dokusunu, ağızda bıraktığı hissi, raf ömrü iyileşmesini ve kabul edilebilirliği iyileştirebilecek glutensiz bazlı una ihtiyaç duyulmaktadır (Arendt vd., 2008). Bu nedenle, birçok araştırmacı, gluten in fonksiyonel özelliklerini taklit edebilen bileşenlerle ikamesini araştırmıştır. Buğday unu takviyesi için tahılsız tahıl (pseudocereal), bezelye, nohut ve soya gibi çeşitli bitkisel ürünlerin proteini kullanılmıştır. Soya proteininin %30'a kadar eklenmesi hamur reolojisini, lezzet ve doku özelliklerini ve nihai ürünlerin kalitesi olumlu olarak etkilemiştir (Belc vd., 2021).

Glutensiz ekmek elde etmek için pirinç unu ve mısır nişastaları kullanılmıştır. Nişasta türü granül boyutu, amiloz/amilopektin içeriği, kimyasal ve fiziksel modifikasyon hamur kıvamını ve jelatinleşme-gerileme oranını etkileyebilmektedir. Pektin, guar zankı ve ksantan zankı gibi hidrokolloidler, gluten in viskoelastik özelliklerini taklit etmek ve bu ürünlerin yapısını, duyu niteliklerini ve raf ömrünü iyileştirmek için doğal olarak glutensiz unlara eklenebilmektedir (López vd., 2004).

1.4.Gıdalarda Tekstürel Analizi

Gıda ürünlerinin kabul edilmesindeki en önemli faktör, gıdaların duyu karakteridir. Duyusal karakter gıdanın dokusu, tadı, rengi, aroması ve rahatsız edici bileşenleri aracılığıyla kimyasal ve fiziksel uyarılara verilen yanıttır (Forde and Delahunty, 2004).

Tekstür, gıdalarda önemli, kritik ve önemsiz olarak 3 gruba ayrılır: dokusal analiz, et ve cips gibi gıdalar için baskın kalite kriteridir. Ekmek, şekerlemeler, sosis, pastırma, peynir, sebze ve meyve gibi ürünlerin tekstür analizi baskın kriter olmasa da hayati önem taşımaktadır. Son olarak içeceklerin genel kalite üzerine tekstürün etkisi yoktur (Ertaş ve Doğruer, 2010).

Dokusal özellikler, bir ürünün nem ve yağ içeriği ile ilgili özelliklerinin yanı sıra mekanik ve geometrik nitelikler olarak sınıflandırılmaktadır. Mekanik özellikler, sertlik, yapışkanlık, viskozite, elastikiyet ve yapışkanlık gibi birincil parametrelere ve kırılabilirlik, konsistens, çiğnenebilirlik ve yumuşaklık gibi ikincil parametrelere bölünmektedir. Tekstürü tanımlamak için kullanılan popüler terimlerin genellikle bu özelliklerin yoğunluk derecelerini ifade ettiğine dikkat çekilmektedir. Önerilen sınıflandırma hem nesnel hem de öznel doku karakterizasyon yöntemleriyle kullanıma uygundur. Geometrik özellikler, besinin yapısının düzeni ile ilgilidir. Bununla birlikte, iki genel gruba ayrılır, parçacıkların boyutu ve şekli ile ilgili olanlar ve şekil ve yön ile ilgili olanlardır. Diğer tekstürel karakterler; gıdanın nem ve yağ içeriğinin algılanmasıyla ve ağızda bıraktığı his ile ilgilidir. Örneğin nem içeriği veya yağ içeriğidir (Szczeniak, 1963).

1.5.Fesleğen Bitkisinin Taksonomik Sınıflandırılması

Ocimum basilicum, *Lamiaceae* familyasına ait, yıllık 20-60 cm boyunda, yeşil bir bitkidir. *Basilicum* Latince bir isimdir. Eski Yunanca'da kralın bitkisi olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde fesleğen olarak bilinmektedir. Tropikal, subtropikal ve ılıman bölgelerde bulunabilir (Shahrajabian vd., 2020). *Ocimum*'un yaklaşık 150 türü vardır. Ailenin en önemli üyeleri; *Ocimum sanctum L.*, *Ocimum ratissimum L.* *Ocimum basilicum L.*, *Ocimum hispidulum Schum*, *Ocimum tenuiflorum L.* ve *Ocimum americanum L.* olarak sıralanabilir (Shahrajabian vd., 2020; Ekmekci, 2013).

1.6.Fesleğen Tohumunun Kompozisyonu ve Temel Özellikleri

Fesleğen tohumunun kimyasal bileşimi; zengin uçucu yağ, fenolik bileşikler, protein ve karbonhidrat içeriği nedeniyle onu *Lamiaceae* familyasının en önemli üyelerinden biri yapmaktadır. Tohum, ortalama boyutları 2.52 mM uzunluk, 1.43 mM genişlik ve 1.10 mM kalınlıkta elips şeklindedir (Şekil 1.3). Fesleğen tohum yaklaşık olarak %7-10 nem, %15-33 yağ, %5-7 kül, %40-50 karbonhidrat, %7 lif ve yüksek konsantrasyonda protein (%17-29) içermektedir (Khaliq vd., 2017; Munir vd., 2017; Nazir ve Wani, 2021).



Şekil 1.3: Fesleğen tohumunun genel görünümü.

Bu bulgular, fesleğen tohumun beslenme açısından insan sağlığı için iyi bir protein kaynağı olduğu göstermektedir. Ek olarak, tablo 1.1’de fesleğen tohumunun amino asit bileşimi, proteinin yüksek besinsel kalitesini kanıttır. Glutamik asit ve aspartik asidin *O. basilicum* tohumlarındaki başlıca esansiyel olmayan amino asitlerdir. Ayrıca, S içeren türler ve triptofan dışındaki tüm esansiyel amino asitler, bu türde yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Buna dayanarak, fesleğen tohumu proteini diyet alımı ve beslenme açısından dikkate değer protein kaynağıdır (Calderón Bravo vd., 2020).

Tablo 1.1: Fesleğen tohumlarının amino asit bileşimi.

Kaynak: Calderón Bravo vd., 2020.

Amino asit adı	Mg/100 mg	Amino asit adı	Mg/100 mg
Glutamik asit	10.55	Valin	2.63
Arginin	8.48	Prolin	2.25
Aspartik asit	4.61	Treonin	2.16
Lösin	4.02	Tirosin	2.08
Serin	3.58	İzolösin	1.91
Fenilalanin	3.49	Histidin	1.7
Glisin	3.12	Lisin	1.56
Alanin	2.65		

1.7. Fesleğen Tohumunun Biyoaktif Özellikleri

Fesleğen tohumunun kimyasal bileşimi, antimikrobiyal, antikanser (Gajendiran vd., 2016), antioksidan, antihelmintik, anti-enflamatuar (Decker vd., 2010), anti-hiperglisemik (Chaudhary vd., 2016) ve antiseptik özellik kazanmasını sağlamaktadır. Ayrıca fesleğen tohumun geleneksel tıpta öksürük, baş ağrısı, ishal, mide ağrıları, öksürükler, baş ağrıları, kabızlık ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmıştır (Shahrajabian vd., 2020). Bu özellikler kimyagerlerin, beslenme uzmanlarının ve gıda bilimcilerin farklı branşlarda yeni ürünler geliştirmek için ilgisini çekmektedir.

1.7.1. Antimikrobiyal Aktivite

Mikroorganizmalar havada, suda ve toprakta bulunur. İdeal ortam sağlandığında, besinlere girebilir ve hızlıca çoğalabilirler. Bu durum doku, koku, tekstür, tat veya görünümdeki değişiklikler nedeniyle gıdaların tüketimi açısından istenmeyen veya kabul edilemez bir durum sergilemektedir (Nychas ve Panagou, 2011).

Sentetik koruyucuların sağlığa olumsuz etkileri, tüketicilerin gıda ürünlerine güvenini sarsmaktadır. Alternatif olarak, doğal antimikrobiyaller; güvenilirliği ve toksik olmamaları nedeniyle dikkat çekmektedir (Saeed vd., 2019). Fesleğenin linalool (%69,87), geraniol (%9,75), ve P-alilanzol (%6.02) gibi uçucu yağları, birçok mikroorganizmaya karşı doğal ve güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Park vd., 2012; Al Abbasy vd., 2015).

Fesleğenin Gaz kromatografi spektrometrisi analizi, yağın ana bileşenlerinin linalool (%64,35), 1,8 esineol (%12,28), öjenol (%3,21), germacrene D (%2,07), a-terpineol (%1,64), ve p-simen (%1,03) olduğunu tespit edilmiştir. Fesleğen yağının *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Pseudomonas* ve bazı *Salmonella* türlerinin (*S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*) inhibe edebildiği saptanmıştır (Rattanachaikunsopon ve Phumkhachorn, 2010; Pushpangadan ve George, 2012; Opalchenova ve Obreshkova, 2003).

Lachowicz (1998), fesleğen uçucu yağlarının aside dayanıklı gıda mikroflorasına karşı sinerjistik inhibe edici etkilerini araştırmışlardır. Fesleğen esansiyel yağının %0,1 ve %1 oranında domates suyu ortamında *Lactobacillus curvatus* ve *Saccharomyces. Cerevisiae* 'nin büyümesini tamamen engellediğini bulmuşlardır.

Fesleğen, *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Pseudomonas* cinslerinden çoklu ilaca dirençli klinik izolatlarla karşı güçlü bir inhibitör etki göstermiştir. Adıgüzel, (2005) tarafından *O. Basilicum* kullanılarak elde edilen etanol, metanol ve hegzan ekstraktlarının *in vitro* antimikrobiyal özellikleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, test edilen üç özütün hiçbirinin antifungal aktiviteye sahip olmadığı, ancak bu özütlerin antikandidal ve antibakteriyel etkileri olduğu göstermiştir. Hem hegzan hem de metanol özütleri, çalışılan 23 *Candida albicans* suşundan 3 izolatu inhibe etmiştir.

Gram-negatif bakteri hücre duvarlarının farklı yapıları, gram-pozitif bakterilere nazaran daha karmaşık ve geçirimsizdir (Sakkas vd., 2016). Gram negatif bakterilerin çok bileşenli bariyer sistemi, fenotipik direnç gelişimi için fırsatlar sağlamaktadır. Gram-negatif segmentasyonu anti bakteriyel ajanın hedef bölgeye tesirini en aza indirmektedir (Denyer ve Maillard, 2002). Bu nedenle fesleğen yağı bileşenleri, gram-negatif bakterilere göre gram-pozitif bakterilere karşı daha fazla etkinlik göstermektedir (Patil vd., 2011).

1.7.2. Antioksidan Aktivite

Oksidatif süreçler, elektronların veya hidrojen atomlarının kaybının veya oksijen kazancının meydana getirdiği kimyasal reaksiyonlardır (Sakkas., vd. 2016). Oksidatif süreçler gıda ürünlerinde sulu fazda ve yağ fazında oksidatif bozulmalara yol açabilmektedir (Decker, 2010.).

Gıdaların oksidatif bozulması, katı ve sıvı yağlarda ve lipit içeren gıdalarda acılaşıma; pigmentlerde ağarma (bleaching), toksik oksidasyon ürünlerinin oluşumu, doku değişiklikleri, tat ve koku kaybı ve vitaminleri (özellikle A ve D vitaminlerini) yok ederek besin değerinin düşmesinde sebep olmaktadır (Çakmakçı ve Gökalp, 1992).

Gıda maddelerinin korunması için serbest radikallerin uzaklaştırılması son derece gereklidir. Bütil hidroksianisol ("Butylhydroxyanisol" BHA) ve bütilhidroksitoluen ("Butylhydroxytoluene" BHT) gibi sentetik antioksidanlar, oksidasyon sürecini geciktirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak bu bileşiklere yüksek dozda ve uzun süreli maruziyet potansiyel insan sağlığı risklerine neden olabilir ve ürünün toksisitesini artırabilir (Candan ve Bağdatlı, 2017; Kahl ve Kappus, 1993). Günümüzde sentetik antioksidanlar hakkında tüketici bilincinin artması, üreticileri

alternatif antioksidanlar aramaya zorlamaktadır. Bitkisel bileşenler biyoaktif bileşikler açısından zengindir ve bu tür problemlere alternatif çözümler sunabilmektedir (Horbańczuk vd., 2019).

Fesleğenin içerisindeki doğal bileşikler, güçlü antioksidan özelliği barındırmaktadır. Fesleğen tohumlarının yaklaşık %64 toplam fenolik bileşenler ile inhibitör kapasitesini %73,85'e kadar yükselttiği bilinmektedir. Fenolik bileşiklerin redoks özelliklerinden dolayı indirgeyici ajanlar, hidrojen donörler ve tekli oksijen söndürücüler olarak görev görmektedirler (Gajendiran vd., 2016; Munir vd., 2017).

Fesleğen tohumunun antioksidan aktivitesi fenolik bileşenler ile sınırlanmamaktadır (Gajendiran vd., 2016). Fesleğen tohumların esansiyel yağı da anti-oksidatif özellik göstermektedir. Estragol ve linalool, başlıca fesleğen esansiyel yağ bileşenlerini temsil etmektedir. Bu bileşenler, fesleğen tohumu esansiyel yağının antioksidatif yeteneğini geliştirerek yüksek radikal süpürücü aktivite göstermektedir. (Stanojevic vd., 2017).

Afifah (2015), fesleğen tohumlarından elde edilen antioksidatif ve amilaz inhibitör peptitleri üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, Alkalaz enzimi ile biyoaktif peptitlerin ekstraksiyonu ve protein profilinin SDS-PAGE ile analiz edilmesinden sonra, antioksidasyon aktivitesi, DPPH serbest radikal süpürücü ve ferrik indirgeyici antioksidatif güç (FRAP) deneyleri ile belirlenmiştir. Nispeten hidroliz edilmemiş numune, uçucu yağ ve/veya fenolik bileşiklerin varlığından dolayı aktiviteye katkıda bulunmuştur. Ancak tohumların Alkalaz enzimi ile hidroliz edilmesinden sonra antioksidan aktivitenin önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Fesleğen tohumu peptitleri, serbest radikalleri söndürmek ve radikal zincir reaksiyonunu sonlandırmak için elektron verebilmektedir.

1.7.3. Antienflamatuvar Aktivite

Gıdalarda veya insan vücudunda düşük konsantrasyonlarda dahi antioksidanların varlığı, Parkinson ve Alzheimer hastalıkları gibi dejeneratif hastalıkların ve kardiyovasküler ve enflamatuvar hastalıkların başlamasına ve ilerlemesine veya gıda kalitesinin bozulmasına neden olan oksidatif süreçleri geciktirmekte, kontrol etmekte veya önlemektedir (Li vd., 2017). Böylece antioksidanlar radikalleri süpürür, peroksitleri inaktive eder ve ikincil oksidasyon ürünlerini temizler (Shahidi ve Zhong, 2007).

Bağırsakları patojenlerden ve iç organ mikrobiyotasından koruyan çeşitli mekanizmalar vardır. Bunların en dışında, bakterileri yakalayan ve dokularda yayılmalarını önleyen epitel dokusundan salgılanan mukus bulunmaktadır. Verimli besin alımı sağlamak için ince bağırsaktaki mukus nispeten gözeneklidir, ancak bu aynı zamanda bakterilerin mukusa nüfuz edebileceği anlamına gelmektedir. Antibakteriyel ajanlar bakterilerin epitel hücrelerin nüfuz etmelerini engelleyip onları uzak tutmaktadırlar. Kolondaki mukus, bakterilerin nüfuz edemediği yoğun bir iç tabaka oluşturur ve epitel yüzeyinde bakteri içermeyen bir bölge oluşturur. Üst solunum yollarında doğuştan gelen bağışıklık ile ilişkili çeşitli proteinler, epitel ve kirpikli epitel mukozal jellerinde ve müsin açısından zengin yüzeysel katmanlarda lokalize olarak bulunabilirler. Bu proteinler, patojenleri temizler, dondurur ve/veya öldürürken aynı zamanda mukusu inme etmektedir (Johansson ve Hasson, 2016; sheehan vd., 2007). Fesleğin tohumlarından elde edilen sabit yağın anti-astmatik ve anti-enflamatuvar aktivitelere sahip olduğunu görülmüştür. Sıçanlarda karagen kaynaklı ödeme karşı anti-enflamatuvar aktivite doğrulanmıştır (Calderón Bravo vd., 2020).

Athari, (2018), alerjik astım modelinde fesleğin tohumlarının mukus üretimi ve sitokin gen ekspresyonu üzerindeki etkisine ilişkin bir *in-vivo* çalışma yapmıştır. Çalışmada sağlıklı, tedavi edilmemiş astımlı ve fesleğin tohumu alan astımlı fare grupları kullanılmıştır. Akciğer histopatolojik kesitinin teşhisi, fesleğin tohumu ile tedavi edilen grupta, tedavi edilmeyen astımlı gruba kıyasla, mukus hipersekresyonu ve goblet hücre hiperplazisinin azaldığını ve düzenlendiğini göstermiştir. Böylelikle fesleğin tohumu alerjik astımda anti-enflamatuvar etkiler göstermiştir.

1.7.4. Anti-Hipoglisemik Aktivite

İnsülin, glikozu enerji kaynağı olarak kullanmak üzere hücrelere absorbe eden bir hormondur. Vücut yeterince insülin üretmediğinde veya kullanmadığında, kandaki glikoz seviyesi artarak hiperglisemiye neden olacak ve insülin salgısı azaldığında, artan glikoz üretim hızına göre glikoz kullanımını azalacaktır (Defronzo vd., 1979)

Hiperglisemik dislipidemi, serebral damar hastalığı, koroner arter hastalığı (Ergul vd., 2012), diyabetik retinopati, glokom (Thapa vd., 2015) kronik böbrek hastalığı (Arici vd., 2016) gibi birçok ölümcül soruna neden olabilmektedir. Diyabetle mücadele

amacıyla birçok ilaç geliştirilmiştir. Ancak ilaç uyumu ve kan şekerinin doğru düzenlenmesi ve yan etkilerin bertaraf edilmesi zorlu bir kontrol sürecidir (Malapermal vd., 2015).

Dünya çapında 1200'den fazla bitki türü antidiyabetik olarak rapor edilmiştir (Kadan vd., 2016). Gıda proteinlerinden elde edilen peptitler, metabolik sendromun önlenmesinde önmlü biyoaktiviteler sergilemektedir. Aynı zamanda kan basıncına ve glisemik indekse pozitif etki gösterebilmektedirler. Fesleğen tohumlarında, Alkalaz proteolizi uygulayarak ACGNLPRMC, ACNLPRMC ve AGCGCEAMFAGA peptitleri oluşturulmuştur. Uygulanan *in silico* modele göre, bu üç peptit, α -amilazı inhibe edici aktivite gösterebilmektedir (Iwaniak vd., 2018).

Fesleğen tohumu sulu ekstraktının anti-hiperglisemik potansiyeli ve bunun serum elektrolitleri hematolojik indeksler ve diğer biyokimyasal parametreler üzerindeki etkisi için bir *in vivo* çalışma yapılmıştır. Streptozotosin (STZ) içindeki *Ocimum basilicum* tohumlarının (AEOBS) sulu özütü, diyabetik farelerin kan şekeri seviyesini önemli ölçüde azalttığı gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, özütün Streptozotosinde antidiyabetik potansiyele sahip olduğunu ve Tip 2 diyabet ve komplikasyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılabilirliği belirtilmiştir (Chaudhary vd., 2016)

1.8. Günümüzde Fesleğen ve Tohumu Gıda ve Yem Uygulamalarında Kullanılması

1.8.1. Gıda Uygulamalarında Kullanılması

Gıda katkı maddeleri, gıda üretim, işleme, paketlenme, taşıma veya depolama işlemlerinin özelliklerini geliştirmek veya etkilemek için gıdaya, doğrudan veya dolaylı olarak eklenen bileşenlerdir (McAnelly, 1994).

Tüketiciler, gıda katkı maddelerinin sentetik analoglarından ziyade doğal kaynaklı olanlarını kullanmaya eğilimlidirler. Araştırmacılar, sıklıkla tüketicilerin ilgisini çekebilecek doğal antimikrobiyaller ve antioksidanlar gibi yeni doğal katkı ürünleri geliştirmeye çalışmaktadırlar (Carocho vd., 2015).

Fesleğenin ana kullanımı, taze bir bileşen olarak mutfakta gerçekleşmektedir. Yüksek sıcaklıklar aromayı bozabileceğinden fesleğen gıdalara en son eklenir. Yaprakları; çorbalarda, etli böreklerde, balık yemeklerinde, bazı peynirlerde, domates salatalarında, pişmiş bezelye, kabak ve çalı fasulyelerinin yanı sıra sirke ve yağlarda yaygın olarak aroma amacıyla kullanılmaktadır. Pişirmeden önce kuzu pirezolaların üzerine kıyılmış fesleğen serpilebilmektedir. Fesleğen, İtalyan mutfağında yeşil renkte, yağ ve bitki sosu olan pestodaki ana bileşendir ve genellikle pizza soslarında, spagetti soslarında, köftelerde veya makarna ve peynirli fırın ürünlerinde, kekik ile birlikte veya onun yerine kullanılmaktadır. Fesleğen yağı, belirli diş ve ağız hijyeni ürünleri için bir tatlandırıcı olarak da kullanılabilir (Pushpangadan ve George, 2012). Fesleğenin fenolik bileşikleri lipidlerin oksidasyonunu engellemektedir. Tıbbi bitkilerden elde edilen uçucu yağların güçlü antioksidan aktivitesi nedeniyle, son zamanlarda sadece çeşitli hastalıkların önlenmesi ve tedavisi için değil, aynı zamanda doğal gıda koruyucuları olarak da kullanılması gündemdedir (Sharafati-Chaleshtori vd., 2015).

Fesleğen, et ürünlerinde linoleik asidin oksidasyonunu inhibe edebildiğini göstermiştir (Sharafati-Chaleshtori vd., 2015). Ayçiçek yağı, fesleğen metanolik ekstraktları ile birlikte etkili bir şekilde stabilize edilebilir. Fesleğen metanolik ekstraktları yağın hidrolitik stabilitesini geliştirerek, çift bağ konjugasyonunu ve termal bozulmayı önleme kapasitesine sahiptir. Fesleğen ekstraktının 200-500 ppm konsantrasyonda stabilizasyon etkinliği, geleneksel sentetik antioksidanlarla karşılaştırılabilir (Ben-Ali vd., 2014).

Fesleğen esansiyel yağının potansiyel antioksidatif gücü, kızartma koşulları altında araştırılmıştır (Riveros vd., 2016). Parmak patateslerin 180°C'de tekrar tekrar kızartılması sırasında yağ oksidasyonu/bozunması üzerindeki etkilerini değerlendirmek için palmiye yağına iki farklı konsantrasyonda (200 veya 500 ppm) fesleğen esansiyel yağı eklenmiştir. Fesleğen esansiyel yağı 200 ppm konsantrasyonunda palmiye yağına katıldığında daha yüksek oksidatif stabilite saptanmıştır. Her iki konsantrasyon da 5 depolama gününden sonra fesleğen esansiyel yağı içermeyen palmiye yağından daha düşük p-anisidin değerleri göstermiştir. Patates kızartmasında toplam polar bileşikler ve serbest yağ asidi içeriği, 500 ppm fesleğen esansiyel yağı eklenerek azaltılmıştır. Böylece, kızartma yağının tekrar tekrar

kullanılması sırasında palmiye yağının performansı, fesleğen esansiyel yağının eklenmesiyle iyileştirilmiştir (Riveros vd., 2016).

Aynı zamanda antioksidatif aktivitelerine göre farklı konsantrasyonlarda fesleğen esansiyel yağı değerlendirilmiştir. Farklı konsantrasyonlar (0.19, 0.38 ve 0,75 mg), İtalyan tipi salamın iç kısmında, işleme sırasında ve 30 günlük depolamadan sonra lipit ve protein oksidasyonu açısından antioksidan aktivite açısından test edilmiştir. Fesleğen esansiyel yağı, IC₅₀ değeri 12mg/ml olarak bulunmuştur. İtalyan tipi salamın iç kısmında, işleme ve depolama sırasında ticari antioksidan (kontrol) ve 0,75 mg fesleğen esansiyel yağı içeren formülasyon, lipitlere antioksidatif aktivite göstermektedir (Riveros vd., 2016).

Yenilebilir kaplama, bitki dokusuna oksijen penetrasyonunu veya mikrobiyal büyümeyi engellemek ve nem kaybını önlemek için kullanılmaktadır. Bu yaklaşım yeni bir gıda ambalajlama yöntemidir ve gıda güvenliğine uygundur (Hemalatha vd., 2017). Yenilebilir kaplamalarda doğal antimikrobiyal maddeler kullanılarak gıdaların raf ömrü uzatılabilir, aynı zamanda pişmemiş işlenmiş ürünlerle ilgili gıda güvenliği sorunları en aza indirilebilir (Mitić-Ćulafić vd., 2014).

Hemalatha (2017), antimikrobiyal ve antioksidatif özelliklere sahip önemli bir uçucu yağ olan fesleğen yağı, kitozana çeşitli oranlarda eklenmiş ve karışımın özellikleri incelenmiştir. Kitozan, gıda işleme endüstrisinin önemli bir atığı olan kalamardan elde edilmiştir. Antifungal aktivite, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium sp.* ve *Penicillium sp.* kullanılarak değerlendirilmiştir. Kitozan ve fesleğen yağı, mikroorganizmaların büyümesini inhibe edebilmektedir. Kompozit filmlerin termal stabilitesi ve pürüzsüz morfolojisi hem termogravimetrik analiz hem de taramalı elektron mikroskopu çalışmaları ile ortaya çıkarılmıştır. Kompozit filmlerin antioksidan aktivitesi ve su bariyeri özellikleri, uçucu yağ ilavesi nedeniyle geliştirilmiştir. Çekme mukavemetinde ve kopma uzamasında bir azalma olmuştur. Böylelikle, kitozana fesleğen yağı ilavesi, film özelliklerini umut verici bir şekilde iyileştirmiş ve bu karışımın gıda ambalajlama uygulamaları için uygun hale getirilebileceği düşünülmüştür.

Fesleğen tohumu müsilağı, tohumlardan ekstrakte edilen yeni bir hidrokolloiddir. Gıda endüstrisi için potansiyel stabilize edici ve emülsifiye edici özellikler göstermiştir (İsrar vd., 2017). Fesleğen tohumu müsilağı iki kısımdan oluşur. Bir fraksiyon, 10:2

oranında glikoz/mannoz ile aside dayanıklı glukomannandır (%43); diğer fraksiyon, asitte çözünür kısımlardaki ksilosil (xylosyl) kalıntılarının C-2 ve C-3'ünde asidik yan zincirler içeren bağlı bir ksilandır (Lee ve Chin, 2017).

Hosseini-Parvar (2015), fesleğen tohumu müsilajının işlenmiş peynirin dokusal, reolojik ve mikroyapısal özellikleri üzerine etkisini araştırmıştır. Bu çalışmada fesleğen tohumu müsilajı eklenerek daha düşük protein ve daha yüksek nem içeriği sayesinde daha yüksek sertlikte ve daha düşük maliyette işlenmiş peynirler yapmanın mümkün olduğu bulgulanmıştır. Başka bir çalışmada ise fesleğen tohumu müsilajının ekmeğin fiziko-kimyasal ve reolojik özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Ekmeğin, hacim ve özgül hacimi sırasıyla ~%20 ve ~%7 olarak arttığı, aynı zamanda merkezi dilimin %27 yükseldiği gözlemlenmiştir. Ayrıca ekmeğin yumuşaklığı ve ekmeğin su tutma kapasitesi açısından müsilajın etkili olduğu kanıtlanmıştır (Israr vd., 2017). Sosislere fesleğen tohumu müsilajı eklenmesiyle nem ve pişirme kaybı yüzdeleri azalmış ve fesleğen tohumu müsilajı ile jelatin kombinasyonu, tek başına fesleğen tohumu müsilajına kıyasla yapışkanlığı daha da iyileştirmiştir (Lee ve Chin, 2017).

Son yıllarda İran ve Hindistan gibi birçok Asya ülkesinde yaygın olarak fesleğen tohumu ve bileşenleri mutfak, beslenme, farmakolojik ve estetik amaçlarla farklı ürünlerde kullanılmaktadır (Nazir ve Wani, 2021). Bu ülkelerde tohumlar estetik amaçlı ve diyet lifi kaynağı olarak içeceklerde ve dondurulmuş tatlılarda sıklıkla tüketilmektedir (Calderón Bravo vd., 2021). Fırıncılık ürünlerinde fesleğen tohumu tozu ve müsilajı (Rezapour vd., 2016; Song vd., 2017), yoğurt ve yenilebilir filmlerde fesleğen tohumu müsilajı (Kim vd., 2020; Moradi vd., 2019) ve sosislere fesleğen tohumu esansiyel yağı (Gaio vd., 2015) gibi yeni ürünleri geliştirmek için araştırmacıları cezbetmiştir. Fesleğen tohumu, baget ekmeğinde besin değerlerini ve raf ömrünü arttırmıştır (Rezapour vd., 2016). Aynı zamanda pandispanyada yağ kaynağı yerine müsilaj kullanıldığında müsilajın nişasta retrogradasyonunu engelleyip yağ içeriğinin %75'ini azalttığı gözlemlenmiştir (Song vd., 2017). Farklı bir çalışmada, yine müsilaj, yağı azaltılmış yoğurttaki viskoziteyi ve su tutma kapasitesini artırmayı başarmıştır (Kim vd., 2020). Ayrıca müsilaj kaplı çileklerin antimikrobiyal özellikleri artmış, ürünlerin raf ömrü kaplanmamışlara göre 20 güne kadar uzamıştır (Moradi., vd. 2019.).

1.8.2. Yem Katkı Maddesi Olarak Kullanımı

Yem katkı maddeleri; hayvan gelişimini desteklemek, yem kullanımının verimliliğini artırmak, hayvan sağlığına ve metabolizmasına fayda sağlamak için temel yem karışımına belirli bir miktarda eklenen besleyici olan veya besleyici olmayan bileşenlerdir (Robert, 2015). Araştırmalar, hayvan diyetlerinde biyoaktif bileşenleri kullanımının hayvanların vücut ağırlığını, canlı ağırlık artışını, yem dönüşüm verimliliğini iyileştirdiğini ve toplam yem maliyetini azalttığını bulgulamıştır (Durmich ve Blache, 2012; Abbas, 2010).

Fesleğen tohumları tavukların diyet takviyelerinde; karaciğer, dalak ve diğer organlar üzerinde herhangi bir yan etki olmaksızın yem tüketiminde, yem verimliliğinde ve kilo alımında artış gözlemlenmiştir (Jahejo vd., 2019). Dört aylık civcivler, 3 gr/kg vücut ağırlığı oranında çemen otu, maydanoz veya fesleğen tohumu ile 42 gün beslenmiştir. Fesleğen tohumu ile beslenen civcivlerin, çemen otu ve maydanoz ile beslenen civcivlere kıyasla daha yüksek canlı vücut ağırlığı değerlerine sahip olduğu gösterilmiştir. Fesleğen tohumunun yüksek miktarda esansiyel yağı içermesi civcivlerin vücut ağırlığının artmasına neden olmuştur. Linalol, estragol ve öjenol gibi fesleğen bileşenleri, gastrointestinal sistemin sterilizasyonuna neden olan antimikrobiyallerdir. Bu bileşenler yem kullanımı iyileştirip etlik piliçlerin sağlığını olumlu etkilemektedir. Sonuç olarak fesleğen tohumu yem verimliliği, piliçlerin kilo alımı, besin tutma kapasitesi ve hastalıklara karşı dirençlerini iyileştirmiştir (Abbas, 2010; Jahejo vd., 2019).

İKİNCİ BÖLÜM

MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

Fesleğen tohumları yerel bir firma olan İntfa (İntfa Tarımsal Ürünler, Konya) tarafından sağlanmıştır. Tohumlardan yağ ekstraksiyonu için Karaerler nf100 (Karaerler Ltd., Ankara) soğuk pres cihazı kullanılmıştır. Soğuk pres ile elde edilmiş posaların tüm işlemlerinde uygulanmış maksimum sıcaklık <50 °C'dir Analizin bazı aşamalarında saf su cihazından temin edilen saf su kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan tüm kimyasallar "reagent-grade" olarak Sigma-Aldrich firmasından sağlanmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Örnek Hazırlama

Protein ekstraksiyonu için kullanılan fesleğen (*Ocimum basilicum L.*) tohumları temizlendikten sonra hava geçirmez kaplarda ve kuru ortamda -20°C'de muhafaza edilmiştir.

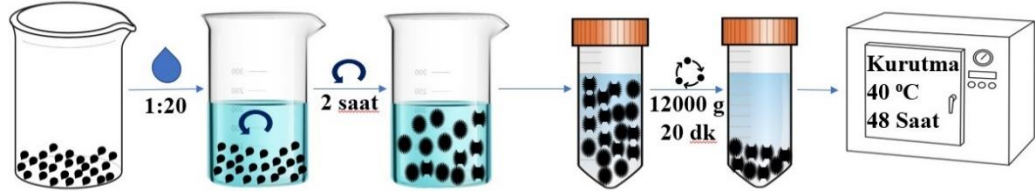
2.2.2. Dumas Yöntemi ile Protein Miktarı Tayini

Numunelerdeki protein içeriği Lotus Analiz Gıda Lab. Hiz. A.Ş. tarafından, AOAC yöntemi 992.15'e göre VELP NDA 701 Dumas nitrojen analizörü (Velp China Co, LTD, Şangay, Çin) kullanılarak tayin edilmiştir (Raw, 2012).

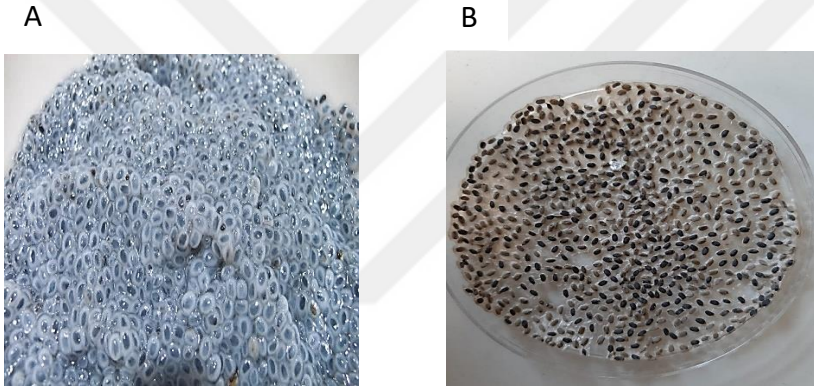
2.2.3. Fesleğen Tohumu Müsilajının Uzaklaştırılması

Fesleğen tohumu müsilajı, Hussain (2019) ve Avlani (2019) tarafından tarif edildiği gibi sulu ekstraksiyon ve termal hidrasyon yöntemleri ile tohumlardan ekstrakte edilerek uzaklaştırıldı. Bunun için tohumlar 1:20 (g tohum: mL su) oranında ve 60 dakika boyunca oda sıcaklığında saf suda hidrasyona bırakıldı. Hemen ardından fesleğen tohumlarının müsilajı, 30°C'de 2 saat 1500×rpm'de mekanik bir karıştırıcı ile sürekli karıştırılarak özütlendi. Şişmiş tohumlar (Şekil 2.1) toplandı. Tohumları, fazla sudan ayırmak için karışım 25°C'de 12000×g hızında CR22 N yüksek hızlı santrifüj

(Hitachi Koki Co., Ltd., Tokyo, Japonya) cihazı kullanılarak 20 dakika santrifüj edildi. Son olarak şişmiş tohumlar 48 saat boyunca 40°C'de kurutuldu. (Şekil 2.2). Tohumlar müsilajdan ayrılarak bir sonraki aşama için -20°C'de saklandı.



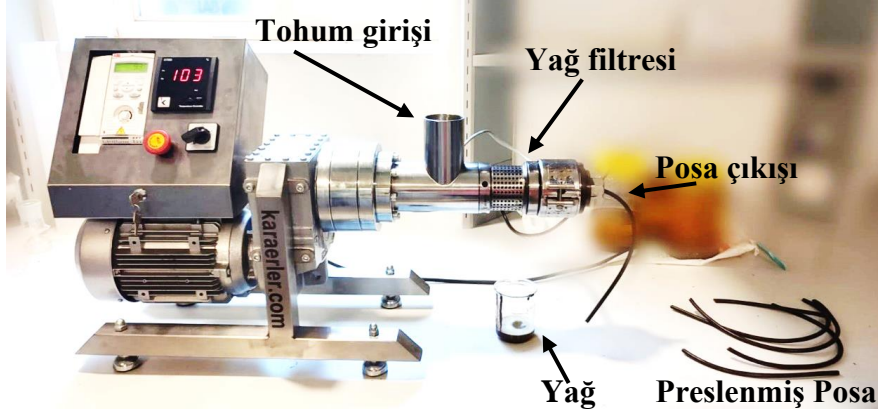
Şekil 2.1: Sulu ekstraksiyon ve termal hidrasyon yöntemleri ile fesleğen tohumundan müsilaj ayrılması işlemlerinin akış şeması.



Şekil 2.2: A) Fesleğen tohumların su ile temas edildikten sonra hidrasyonu. B) Etüvde (40°C'de ve 48 saat) müsilajı uzaklaştırmak için fesleğen tohumlarının kurutulması.

2.2.4. Soğuk Pres Yöntemi ile Yağ Ekstraksiyonu

Fesleğen tohumları soğuk pres cihazı kullanılarak 35±5°C ve 18 Hertz (Hz) Ekstrüder hızında preslendi (Şekil 2.3). Elde edilen posa bir sonraki aşama için -20 °C'de muhafaza edildi.



Şekil 2.3: Soğuk pres yöntemi ile fesleğen tohumundan soğuk pres cihazı kullanılarak yağ ekstraksiyonu. Cihaz sıcaklığı 100°C filtre sıcaklığı 35±5°C ve ekstrüder hızı 18 Hz olarak uygulandı.

2.2.5. Soğuk Preslenmiş Fesleğen Tohumu Posalarından Protein Ekstraksiyonu

Soğuk pres yöntemiyle yağı alınmış fesleğen tohumu posalarından alkali ekstraksiyonu-izoelektrik çöktürme (AE-İÇ) tekniği kullanılarak protein izolatları elde edildi. Bu amaçla soğuk preslenmiş ve öğütülmüş fesleğen tohumu posasına 1:15 (posa: çözücü) oranında saf su ilave edildi ve ortamın pH değeri 1 N NaOH ile pH 9,5 değerine sabitlenerek karışım 500 rpm hızında bir saat boyunca karıştırıldı. Ardından CR22 N santrifüj cihazı kullanılarak karışım 4°C'de 20 dakika boyunca santrifüj (12000xg) edildi. Santrifüj işleminden sonra süpernatant toplandı ve ortamın pH değeri izoelektrik çökelmeyi teşvik etmek için pH 4,5 değerine ayarlandı. Hemen bu işlemin ardından süpernatant 4°C'de 20 dakika boyunca santrifüj (12000xg) edildi. Elde edilen protein izolatları -20 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilip TRS 2/2V liyofilizatör (Teknosem A.Ş., İstanbul) kullanılarak liyofilize edildi (Şekil 2.4). Liyofilize edilen protein izolatları bir sonraki işleme kadar -20 °C'de muhafaza edildi (Coşkun vd., 2019).



Şekil 2.4: Liyofilize edilen fesleğen tohumu protein izolatları (FTPI).

2.2.6. Osborne Yöntemine Göre Protein Fraksiyonlaması

FTPI fraksiyonları, uygun modifikasyonlar yapılarak Osborne ve Mendel (1914) yöntemine göre hazırlandı. FTPI, 1:20 (g/mL) oranında saf su ile 2 saat boyunca karıştırılarak ekstrakte edildi. Daha sonra süspansiyon 12000xg hızında 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatant toplandı ve albümin fraksiyonunu içeren çözelti olarak değerlendirildi. Geriye kalan çökelti (X1) liyofilize edildi, tartıldı ve globulin ekstraksiyonu için muhafaza edildi.

Çökelti (X1) %5 NaCl çözeltisine 1:20 (g/mL) oranında eklenerek bir saat karıştırıldı ve böylelikle yeniden süspansiyon edildi. Bu prosesi takiben süspansiyon 12000xg hızında 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplandı ve Globulin fraksiyonunu içeren çözelti olarak değerlendirildi. Geriye kalan çökelti (X2) liyofilize edilmeden önce tuzdan arındırmak amacıyla birkaç defa filtre kâğıdı kullanılarak saf su ile yıkandı. En son çökelti liyofilize edildi, tartıldı ve glutelin ekstraksiyonu için muhafaza edildi.

Çökelti (X2) 0,1M NaOH çözeltisine 1:20 (g/mL) oranında eklenerek bir saat karıştırıldı ve yeniden bu şekilde süspanse edildi. Hemen ardından süspanسیون 12000xg hızında 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplandı ve glutelin fraksiyonunu içeren çözelti olarak değerlendirildi. Santrifüj tüpünün dibinde kalan çökeltilerin (X3) NaOH kalıntılarından arındırmak için saf su ile birkaç defa yıkandı, liyofilize edildi, tartıldı ve prolamin ekstraksiyonu için muhafaza edildi.

En son prolamin elde etmek için FTPİ çökeltisi (X3) dört saat boyunca 1:50 (g/mL) oranında %70 etanol ile muamele edildi. Daha sonra süspanسیون 12000xg değerinde 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatant toplandı ve prolamin fraksiyonunu içeren çözelti olarak değerlendirildi.

2.2.7. Lowry Yöntemi ile Fesleğen Tohumu Protein İzolatlarının ve Bunlara Ait Fraksiyonların Protein Miktar Tayini

FTPİ protein içeriği, Lowry yöntemi bazlı (TP0300, Sigma Aldrich Corp.) toplam protein kiti kullanılarak tayin edildi. Protein miktar tayini için uygulanan Lowry yöntemi, fosfomolibdik/fosfotungstik asit çözeltisinin (Folin-Ciocalteu reaktifi) alkali koşullarda proteinlerdeki fenolik amino asitlerle verdiği tepkimeye dayanmaktadır (Lowry vd., 1951).

Öncelikle referans olarak 0.1 mL tampon çözeltisi içinde 50-400 $\mu\text{g. mL}^{-1}$ sığır serum albumini ("Bovine serum albumin" BSA) içeren bir dizi standart çözelti hazırlandı (Deepachandi vd., 2020). BSA çözeltilerinin absorbanısı 575 nm'de Shimadzu UV-1280 spektrofotometre (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japonya) kullanılarak okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi (Grafik 1). Daha sonra ayrı ayrı test tüplerine 30 μL %1 FTPİ, 100 μL albumin, 30 μL globülin, 10 μL glutelin ve 100 μL prolamin alındı ve numuneler, saf su ile 1mL'ye tamamlanarak seyreltildi. Test tüplerine 1 mL Lowry Reaktifi eklendi, iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 20 dakika beklemeye bırakıldı. Daha sonra 0,5 mL fenol reaktifi eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika boyunca inkübe edildi. Son olarak karışım spektrofotometre küvetine alınarak 575 nm'de absorban değerleri kaydedildi ve numunelerin protein içerikleri (%) hesaplandı.

2.3. Fesleğen Tohumu Protein İzolatları ve Fraksiyonlarının Fiziko-Kimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

FTPI ve fraksiyonlarının ısı davranışları, yapısal analizi ve moleküler dağılımları sırasıyla diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC), Fourier Transform İnfrared spektroskopisi (FT-IR), ve sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) teknikleri ile incelendi.

2.3.1. Diferansiyel taramalı kalorimetre (Differential Scanning Calorimetry DSC) analizi

Protein dispersiyonlarının ısı davranışı, diferansiyel taramalı kalorimetre sistemi (DSC 60 Plus, Shimadzu Instruments, Japonya) kullanılarak incelendi. Yaklaşık 10 mg protein izolatu alüminyum kaplara yerleştirildi ve 20 ile 160 °C (ısıtma hızı 10°C.dk⁻¹) arasında ısıtıldı (Coşkun vd., 2019).

2.3.2. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektrofotokopisi Analizi

Fesleğen tohumu protein izolatlarının yapısal analizi, bir DLATGS detektör sistemi ile donatılmış bir IRTracer-100 FT-IR spektrofotometresi (Shimadzu, Japonya) ve 2 cm⁻¹ çözünürlüğe sahip bir MIRacle ATR modülü (PikeTechnologies, ABD) kullanılarak yapıldı. FT-IR absorpsiyon spektrumları 4000 ila 650 cm⁻¹ arasında toplanmıştır.

2.3.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ile Protein İzolatlarının Moleküler Boyut Dağılımlarının Analizi

Elektroforetik analizi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Endüstriyel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi (BETUM) tarafından gerçekleştirildi. Aanaliz Mini Protean Tetra Hücre Sistemi (Bio-Rad Laboratories Inc., ABD) kullanılarak indirgen koşullar altında gerçekleştirildi.

İlk olarak, protein izolatlarına ve fraksiyonlarına (%1) deiyonize su eklendi ve %0,004 Bromofenol mavisi, %10 2-merkaptotanol, %20 gliserol, %4 SDS ve 0.125 M Tris-HCl (ortam pH değeri 6,8) ve 2 × Laemmlı tampon çözeltisi hazırlandı. Hemen ardından, protein örnekleri 2 × Laemmlı tampon çözeltisi ile Eppendorf tüplerinde 1:1

oranında karıştırıldı. Örnekler 5 dakika 100 °C'de ısıtıldı, buz banyosunda soğutuldu ve bir TGX Stain-Free Precast Gel (%12) üzerine yüklendi. Referans olarak aynı üreticinin Precision Plus protein standartları kullanıldı. Jel elektroforezi, Tris/Glycine/SDS tamponu kullanılarak 45 dakika süreyle 200 V (sabit) değerinde gerçekleştirildi. Jel lekesez bir tepsiye aktarılarak ve GelDoc Go sistemini kullanılarak görüntüleme yapıldı. Görüntüler, ImageLab yazılımı kullanılarak analiz edildi (Coşkun vd., 2019).

2.4. Fesleğen Tohumu Protein İzolatları Fonksiyonel Özelliklerinin İncelenmesi

Elde edilen fesleğen tohumu protein izolatlarının bazı fonksiyonel özelliklerinin incelemek üzere köpük kapasitesi ve kararlılığı, su ve yağ tutma kapasitesi ve emülsiyon kararlılığı analizleri yapılmıştır.

2.4.1. Su ve Yağ Tutma Kapasitesi

Su tutma kapasitesi (STK) ve yağ tutma kapasitesi (YTK) AACC yöntemi 88-04'e göre belirlendi.

Daha önce liyofilize edilmiş 0,5 gr FTPİ alındı ve yeteri miktarda saf su ilave edildi. Çözelti 30 dakika boyunca her beş dakikada bir, on saniye karıştırıldı. Daha sonra çözelti 2000×g'de 15 dakika santrifüj edildi. Tamamlandıktan sonra süpernatant uzaklaştırıldı. En son kalan peletler tartılıp gereken hesaplamaları formül (1) kullanılarak yapıldı. Yağ tutma kapasitesi için de 0,5 gr fesleğen tohumu protein konsantresi alındı ve yeteri miktarda ayçiçek yağı ilave edildi. Çözelti 30 dakika boyunca her beş dakikada bir, on saniye karıştırıldı. Daha sonra çözelti 2000×g'de 15 dakika santrifüj edildi. Tamamlandıktan sonra süpernatant uzaklaştırıldı. En son kalan çökelti tartılıp gereken hesaplamalar formül (2) kullanılarak yapıldı (Segura-Campos, 2020).

$$STK(g/g) = \frac{\text{islak numune wt} - \text{kuru numune wt}}{\text{kuru numune wt}} \quad (1)$$

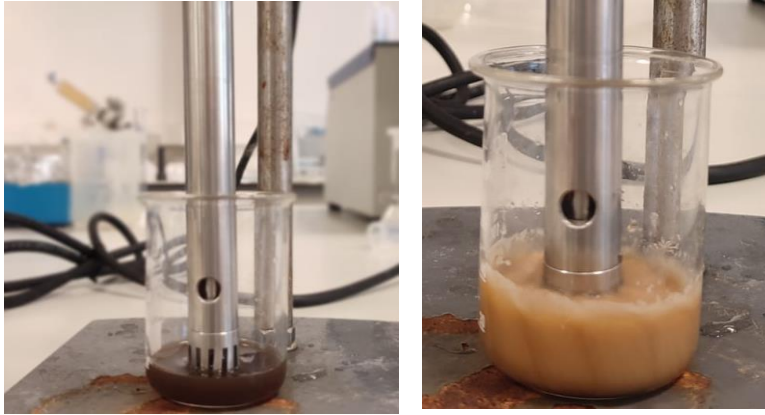
$$YTK(g/g) = \frac{\text{islak numune wt} - \text{kuru numune wt}}{\text{kuru numune wt}} \quad (2)$$

2.4.2. Köpüklenme Kapasitesi ve Köpük Kararlılığı

Köpüklenme kapasitesi ("foaming capacity", FC) ve köpük kararlılığı ("foaming stability", FS) Lam (2016) tarafından tarif edildiği gibi analiz edildi. Liyofilize edilen FTPİ'den 100 mL %1'lik protein dispersiyonu hazırlandı. Hazırlanan FTPİ dispersiyonundan 15 gr alınarak NaOH veya HCl kullanılarak pH değerleri 2,4,6,8, ve 10'a getirildi. Homojenize edilmek üzere IKA T 18 Dijital Ultra-Turrax Shear mikser kullanılarak (8000 rpm) köpürme işlemi bu hızda 5 dakika boyunca yürütüldü (Şekil 2.5). Bu işlemin hemen ardından her solüsyon farklı bir dereceli silindire aktarılarak ilk köpük hacmi kaydedildi ve 30 dakika boyunca köpük hacmi izlendi. Farklı zaman dilimlerinde kaydedilen köpük hacimleri aşağıdaki formüller köpük kapasitesi ve köpük kararlılığının hesaplanmasında kullanıldı.

$$\text{Köpüklenme kapasitesi}\% = \frac{\text{Köpük hacmi}}{\text{İlk numune hacmi}} \times 100 \quad (3)$$

$$\text{köpük kararlılığı}(\%) = \frac{30 \text{ dakika sonra gözlene köpük hacmi}}{\text{İlk numunenin köpük hacmi}} \times 100 \quad (4)$$



Şekil 2.5: Shear mikser probu sıvının arayüzüne konumlandırılarak oda sıcaklığında ve 8000×g hızında, %1 FTPİ dispersiyonunun homojenize edilmesi.

2.4.3. Emülsiyon Kararlılığı

Emülsiyon kararlılığı ("emulsion stability", ES) Cano-Medina (2011) ve Martínez-Flores (2006) tarafından tarif edildiği gibi ölçüldü. İlk önce 100 mL %1'lik FTPİ

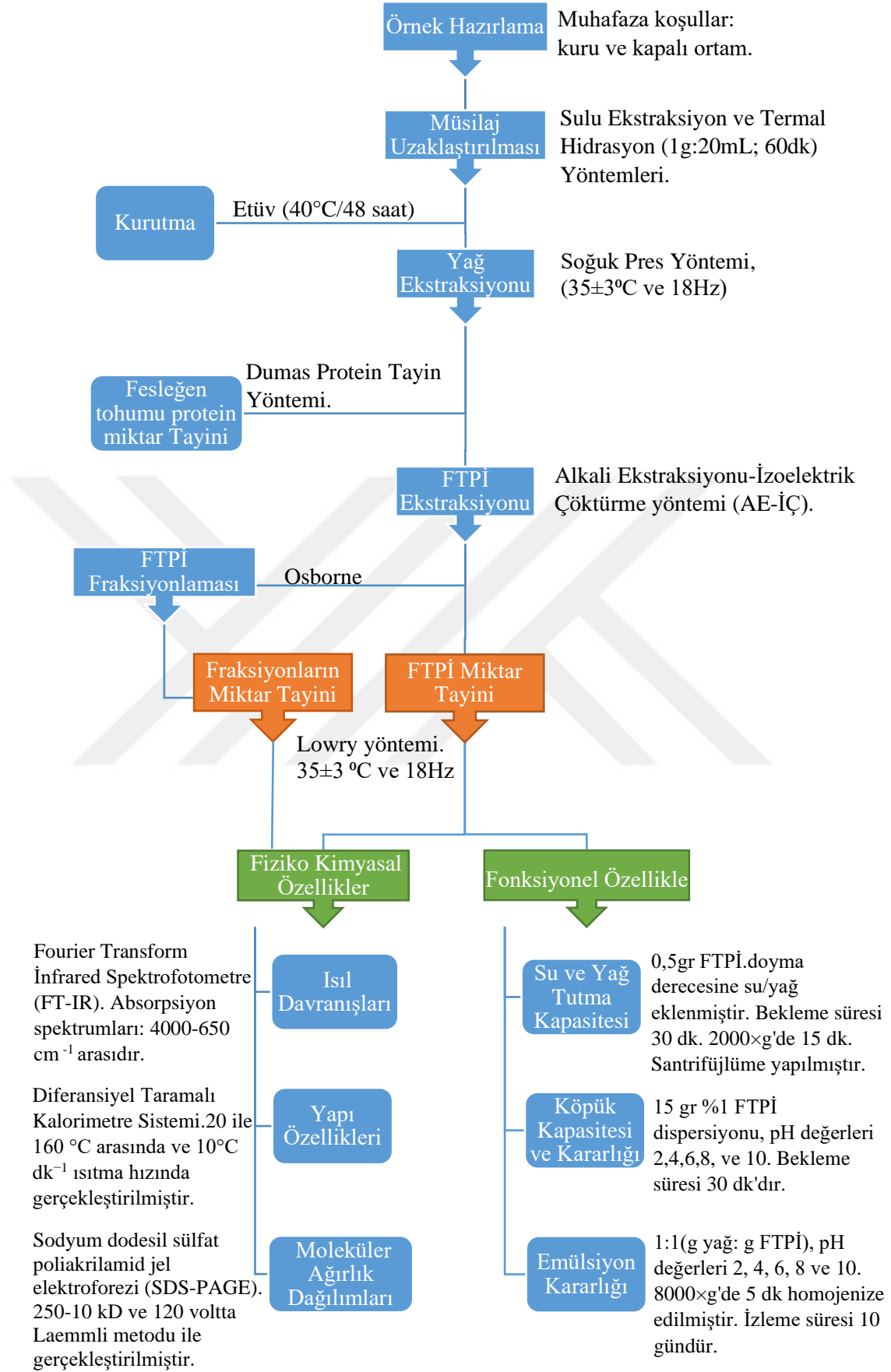
dispersiyonu hazırlandı (pH 7). Dispersiyon eşit bir şekilde santrifüj tüplerine dağıtıldı ve istenen pH değerlerine (pH 2, 4, 6, 8 ve 10) ulaşılan kadar NaOH veya HCl çözeltileri ile süspansiyon edildi. Daha sonra her süspansiyon 1:1 (g:g) oranında ayçiçek yağından ilave edildi. Homojenize edilmek üzere Shear mikser kullanarak probu yağ-sulu arayüzünde konumlandırılarak 8000×g hızında 5 dakika homojenize edildi. Emülsiyonlar hemen 10 ml dereceli silindirlere aktarıldı ve emülsiyon tabakasının hacmi (mL) kaydedildi. Son olarak, emülsiyonlar 10 gün boyunca izlendi ve tekrar emülsiyon tabakasının hacmi (mL) kaydedilerek ve formül 5 kullanılarak gereken hesaplamalar yapıldı.

$$\text{Emülsiyon kararlılığı} = \frac{V_1 - V_2}{V_1} \times 100 \quad (5)$$

V_1 , emülsifikasyondan önceki sulu fazın hacmidir (mL) ve V_2 , sulu tabakanın 30 dakika sonraki hacmidir (mL).



Şekil 2.6: Shear mikser probu FTPI-yağ dispersiyonunun arayüzüne konumlandırılarak oda sıcaklığında ve 8000×g hızında homojenize edilmesi.



Şekil 2.7: Fesleğen tohumu proteininin ekstraksiyonu, tayini, fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin akış şeması.

2.5. Fesleğen Tohumu Protein izolatlarının Tekstür Özelliklerine Etkisi

2.5.1. Amaç

Gluten proteinleri, toplam buğday proteininin %80-85'ine katkıda bulunur ve buğdayın başlıca depolama proteinleridir. Glutensiz ekmek üretimi temel olarak süt proteinleri gibi protein bazlı bileşenlerin, hidrokolloidler ve diğer gluten olmayan proteinlerinin viskoelastik özelliklerini taklit edebilecek ve ürünlerin dokusu, ağızda bıraktığı his, raf ömrü iyileşmesi ve kabul edilebilirlik ile sonuçlanabilecek glutensiz bazlı una ihtiyaç duyulmaktadır (Arendt vd., 2008). Çalışmanın amacı; fesleğen tohumu protein izolatlarının, glutensiz ekmek hamurunu farklı oranlarda zenginleştirmesini tekstürel özelliklerinin (sertlik, esneklik, çiğnenebilirlik, yapışkanlık ve elastikiye) ekmeğe olan kalite etkisinin incelenmesidir.

2.5.2. Ekmek numunelerin hazırlanması

Araştırmada kullanılan ham maddelerin özellikleri Tablo 2.1'de özetlenmiştir (Yılmazaslan, 2008).

Tablo 2.2: Glutensiz ekmek yapımında kullanılan ana malzemeler.

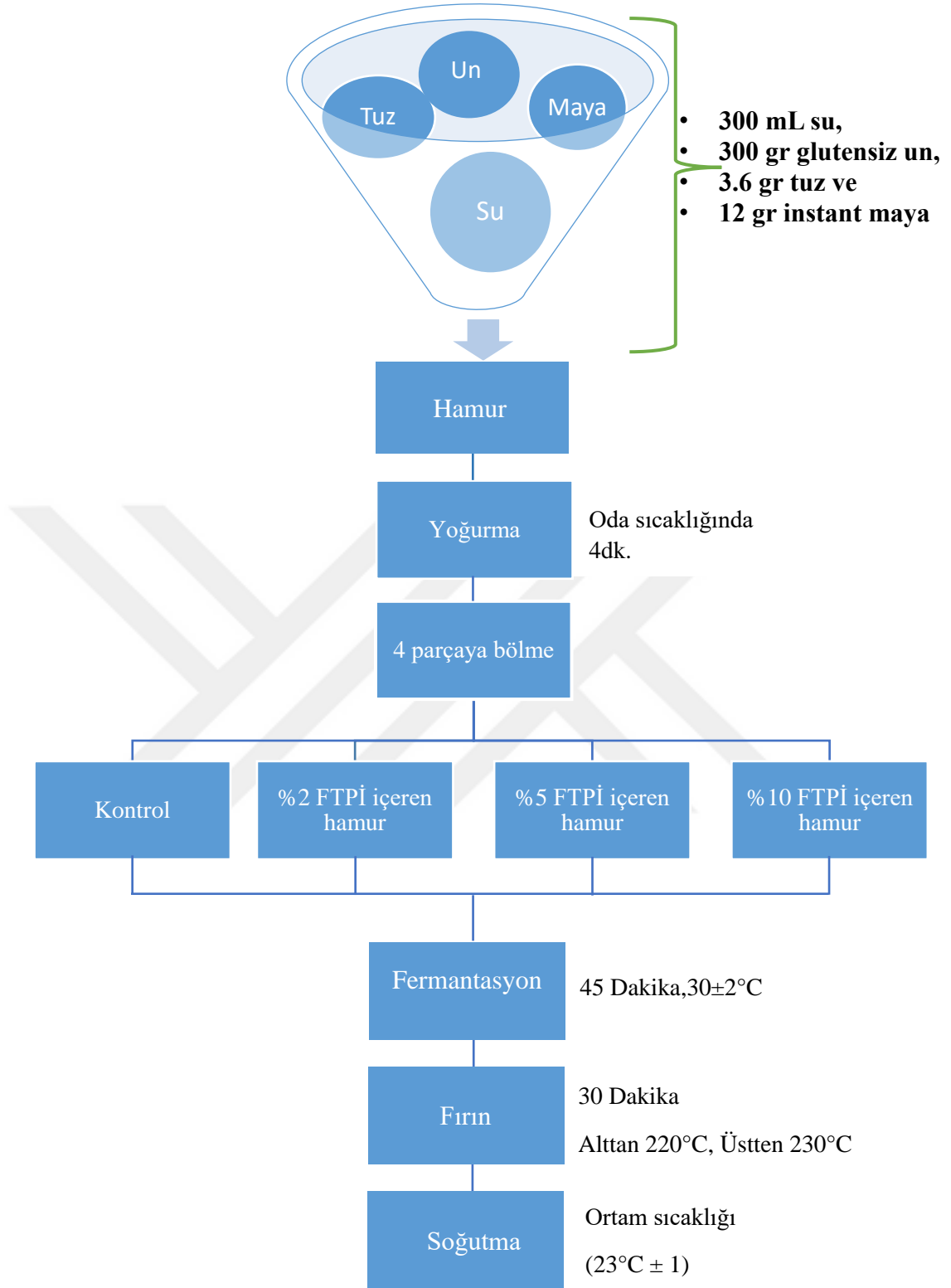
Madde	Açıklama
Un	Sinangil markalı glutensiz un. https://www.sinangil.com.tr/urunler/glutensiz-unlar/glutensiz-un
Maya	Pakmaya firmasınca üretilen instant maya kullanıldığı süre içinde ambalaj üzerinde yazılan muhafaza koşullarına ve talimata uyularak kullanılmıştır.
Tuz	Rafine tuz
Su	Saf su
Protein	Fesleğen tohumu protein izolatları (%2, %5 ve %10)

2.5.3. Glutensiz Ekmek Yapımı

Glutensiz ekmek yapımı Coşkun vd. (2020) tarafından tarif edildiği gibi yapıldı. Ekmek yapımında 300 mL su, 300 gr glutensiz un, 3,6 gr tuz ve 12 gr instant maya kullanıldı. Gultensiz ekmek, %2, %5 ve %10 fesleğen tohumu protein izolatları ile zenginleştirildi. Glutensiz ekmek yapımı için fesleğen tohumu protein izolatları hariç tüm malzemeler gıdaya uygun bir kap içine alındı ve karıştırılarak 4 dakika boyunca yoğuruldu. Ardından, hamur dörde bölünerek kontrol numunesi ve üç farklı konsantrasyonda (%2, %5 ve %10) fesleğen tohumu proteini izolatları dâhil olmak üzere her denemede 4 farklı hamur hazırlanması sağlandı. Hemen sonra fermentasyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında ($30\pm 2^{\circ}\text{C}$) 45 dakika bekletildi. Fermente olan hamurlar endüstriyel bir fırını (Beko, Arçelik A.Ş., Türkiye) kullanılarak alt ve üst kısım, sırasıyla 220 ve 230°C 'de 30 dakika pişirildi. Ekmekler pişirildikten sonra ortam sıcaklığında ($23^{\circ}\text{C} \pm 1$) soğutuldu. Ekmek yapma prosedürleri Şekil 2.8'de özetlendi.

2.5.4. Tekstür Profil Analizi

Glutensiz ekmek numunelerinin tekstür profil analizi (TPA), Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı (NABİLTEM) tarafından gerçekleştirildi. TPA, TA-XT2 tekstur analizörü (TA-XT2 plus, Stable Micro Systems, UK), kullanılarak 1 mM/s test hızında yapıldı. Ekmeğin ortasından 2 cm yükseklikte ekmek örnekleri alındı ve germe gücü %25'ine ulaşmak için 60 saniye boyunca P/236 R probu (36 mM yarıçaplı silindirik prob) kullanılarak preslendi (Coşkun vd., 2020). Hesaplamalar üretici firma tarafından sağlanan Texture Exponent 32 yazılımı kullanılarak yapıldı. Analiz, ekmek numunelerinin soğutulması tamamlandığında pişirmeden 2 saat sonra gerçekleştirilmiştir (Coşkun vd., 2020).



Şekil 2.8: Farklı FTPİ yüzdesi miktarları (0-10%) ile zenginleştirilmiş glutensiz ekmek yapımı akım şeması.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde soğuk pres yöntemi ile yağı uzaklaştırılmış fesleğen tohumu protein izolatlarına yapılan fiziko-kimyasal ve fonksiyonel incelemelere ilişkin sonuçlara yer verilmiştir. Aynı zamanda, bu ürünün glutensiz ekmek üretiminde kullanım potansiyeli değerlendirilmektedir.

3.1. Protein Miktar Tayini

Tablo 3.1'de sunulan veriler, fesleğen tohumlarının %9 ile %29 arasında değişen yüksek protein içeriğine sahip olduğunu göstermektedir. Bitkisel gıdalar %12'sinden fazlasını protein sağladığında, dikkate değer protein kaynakları olarak kabul edilmektedir. Buna dayanarak, fesleğen tohumlarının, beslenme açısından insan sağlığı için değerli bir protein kaynağı olduğu bulunmuştur. Ek olarak, fesleğen tohumlarının amino asit bileşimi, proteinin yüksek besinsel kalitesini göstermektedir (Calderón Bravo vd., 2021; Ziemichód vd., 2019; Nazir ve Wani, 2021; Khaliq vd., 2017).

Fesleğen tohumu protein içeriği Dumas metodu ile $27\pm 0,2$ olarak bulundu. Sulu ekstraksiyon ve termal hidrasyon yöntemleri ile müsilajı ve soğuk pres yöntemi ile yağı uzaklaştırılmış fesleğen posasından AE-İÇ tekniği kullanarak protein izolatları hazırlandı. Son olarak Lowry yöntemi ile FTPI içeriği yaklaşık $95\pm 0,5$ olarak bulundu.

Tablo 3.1: Farklı yörelerin fesleğen tohumun protein içeriği.

Köken	%Protein
Romanya	29 (Khaliq vd., 2017)
Pakistan	17.32 (Munir vd.,2017)
Hindistan	9.4 (Nazir ve Wani, 2021)

Fesleğen tohumunun $27\pm 0,5$ protein içeriği ile fonksiyonel gıdaların protein içeriğini ve tekno-fonksiyonel özelliklerini geliştirmeye uygun bir gıda bileşeni olarak

kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak üzere hem yapısal ve hem fonksiyonel özelliklerini bilmek gerekmektedir. Buna dayanarak gereken analizler yapılmıştır.

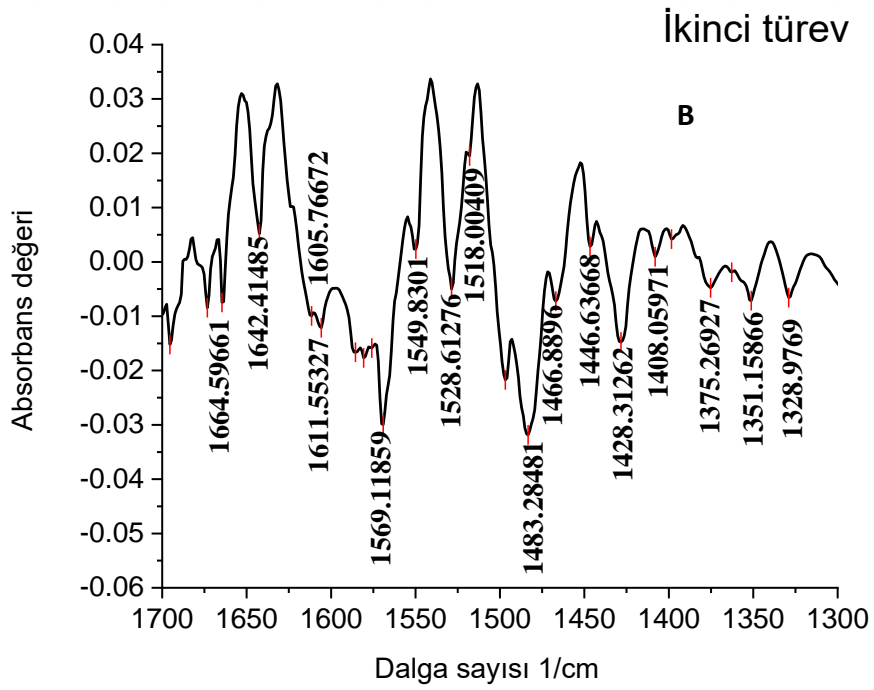
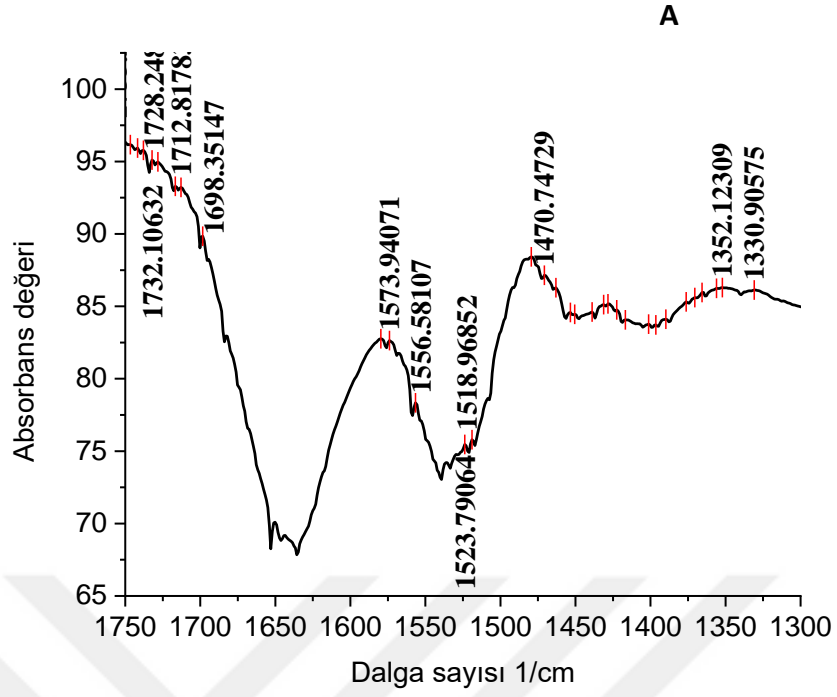
3.2. Fesleğen Tohumu Protein İzolatlarının Yapısal Özelliklerinin Analizi

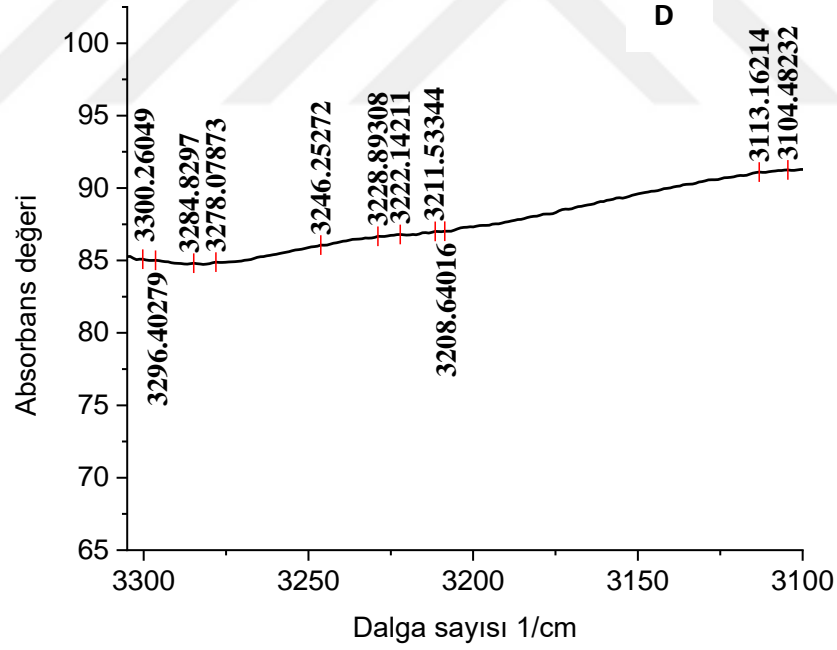
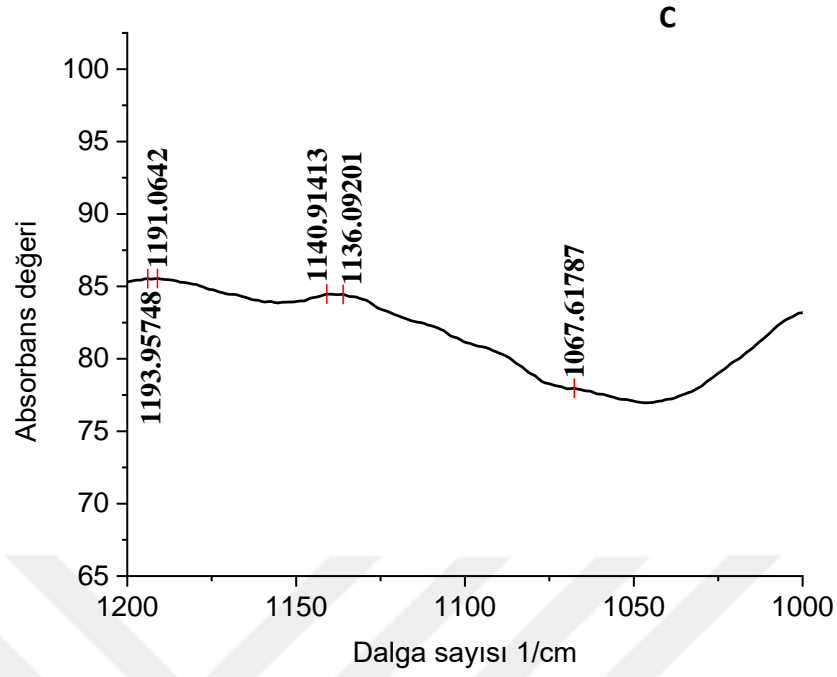
3.2.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektroskopisi Verilerinin Analizi

Proteinler, amino asit alt birimlerinin dizilerinden oluşan makro moleküllerdir. Bu amino asit zincirlerinin katlanması, proteinin üç boyutlu yapısını ve işlevselliğini belirlemektedir. Amino asitlerin hidrofilik ve hidrofobik özellikleri, protein şekline, katlanmasına ve çözünürlüğüne önemli katkılarda bulunmaktadır. Proteinlerin katlanması, amino asit dizilerine dayanmaktadır. Proteinleri stabilize etmedeki en büyük problemlerden biri, işlem sırasında kolayca denatüre olabilmeleri ve agregatlar oluşturabilmeleridir (Arunkumar vd., 2019; Ji ve Li, 2010).

Bu çalışmada fesleğen tohumundan elde edilen protein izolatlarının yapısal özelliklerinin belirlenmesine yönelik olarak FT-IR verileri değerlendirildi. Amid I ($1600-1700\text{ cm}^{-1}$), amid II ($1480-1575\text{ cm}^{-1}$) ve amid III ($1400-1200\text{ cm}^{-1}$) piklerinin FT-IR spektrumundaki konumları tespit edildi (şekil 3.1A) (Kong ve Yu, 2007; Barth, 2007). İkinci türev FT-IR spektrumundaki bazı ana pikler şekil 3.2'de etiketlendi ve Kong ve Yu'ya (2007) göre yapısal elemanlara nitelendirildi. Buna dayanarak, 1673 cm^{-1} pikleri protein izolatlarında β -Turn yapısının varlığını ve 1664 cm^{-1} pik, α -Helix varlığın göstermiştir. Son olarak, 1641 ve 1695 cm^{-1} 'deki pikler dolayısıyla β -sheet elemanlarını tespit edildi (şekil 3.1B).

Khajehpour (2006) çalışmasına göre 1000 ve 1200 cm^{-1} (şekil 3.1C) arasındaki normalize edilmiş absorbands verilerine dayanarak, proteinin kısmi glikozilasyonunu (glikoprotein) gösteren 1067 cm^{-1} , 1136 cm^{-1} , 1140 cm^{-1} , 1191 cm^{-1} , ve 1193 cm^{-1} civarlarında nispeten minör pikler tespit edildi. Son olarak 3104 cm^{-1} ve 3300 cm^{-1} pikleri (şekil 3.1D) gözlemlendi. Kong ve Yu (2007) bulgularına göre 3300 cm^{-1} ve 3100 cm^{-1} frekansları sırasıyla amid A ve amid B bölgelerini temsil etmektedir. NH germe titreşimi, 3310 ile 3270 cm^{-1} arasında amid A bandına yol açmaktadır. Sadece NH grubu üzerinde lokalizedir ve bu nedenle polipeptit omurgasının konformasyonuna duyarsız proteinlerde bulunmaktadır (Barth, 2007).

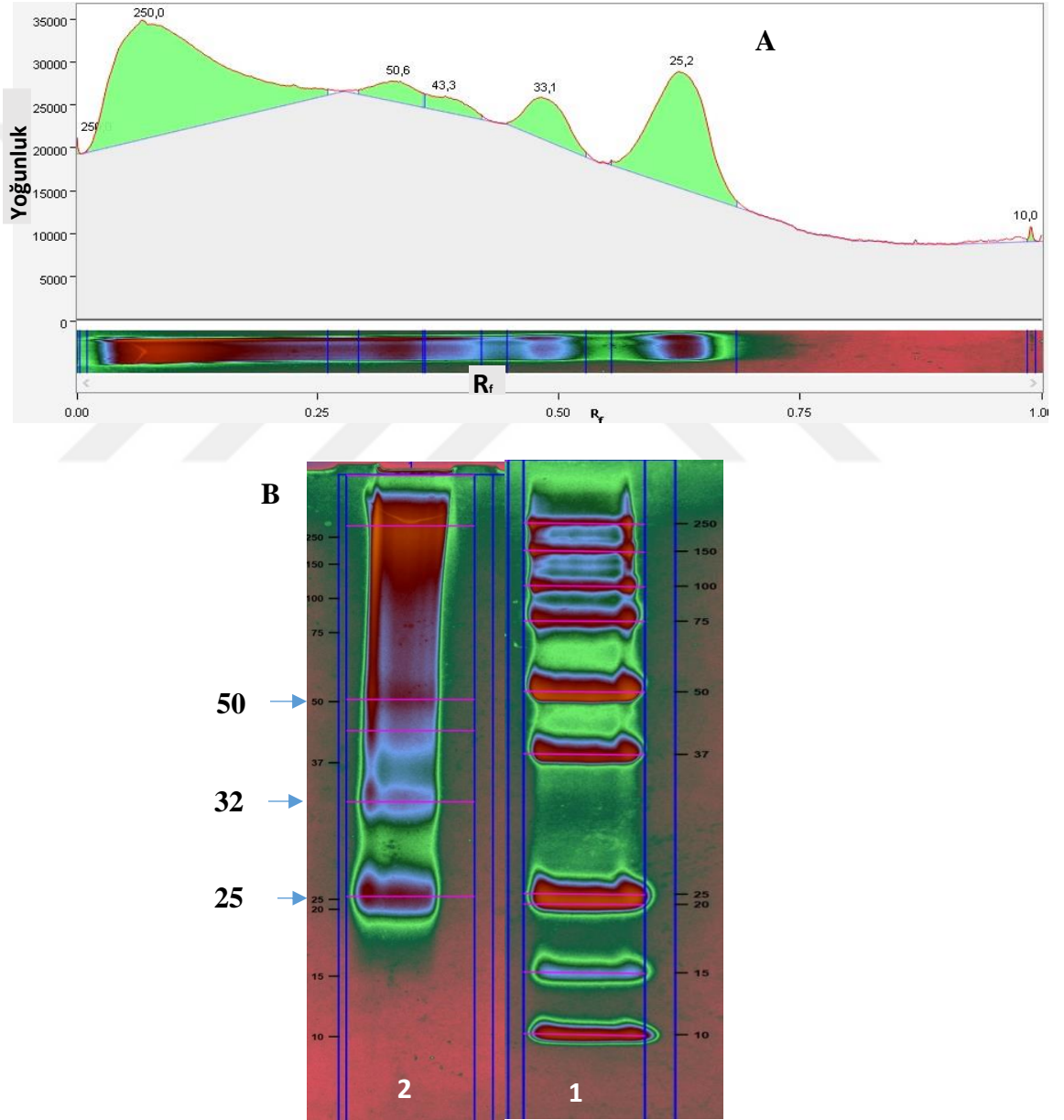




Şekil 3.1: FTPİ numunelerinin FT-IR spektrumu. A) Amid I, II ve III gösteren FT-IR spektrumu, B) Bu piklerin ikinci türevini gösteren spektrum, C) Glikoprotein pikelerini gösteren FT-IR spektrumu ve D) Amid A ve Amid B piklerini gösteren FT-IR spektrumu.

3.2.2. Elektroforezlik Veri Analizi

Fesleğen tohumundan elde edilen protein izolatlarının moleküler ağırlık dağılımı SDS-PAGE ile analiz edildi. Gözlenen profiller, 25 ila 55 kDa (25, ~32, ve ~50 kDa) arasında moleküler ağırlık dağılımında birkaç farklı polipeptit birimine işaret etti (Şekil 3.2). Protein profillerindeki fazla band görünmemesi, proteinlerinin denatürasyona uğraması, polipeptitler ve diğer bileşiklerle çapraz bağlanması, agregasyon ve bozunma gibi yapısal modifikasyonlarından kaynaklanmış olabilmektedir (Waszkowiak ve Mikołajczak, 2020).



Şekil 3.2: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforez (SDS-PAGE) ile moleküler kütlelerine göre ayrılmış olan FTPİ dispersiyonları. A) Şerit profili. B) band profili, 1) Precision Plus protein standartları numunesi ve 2) FTPİ dispersiyonları (%1).

3.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Veri Analizi

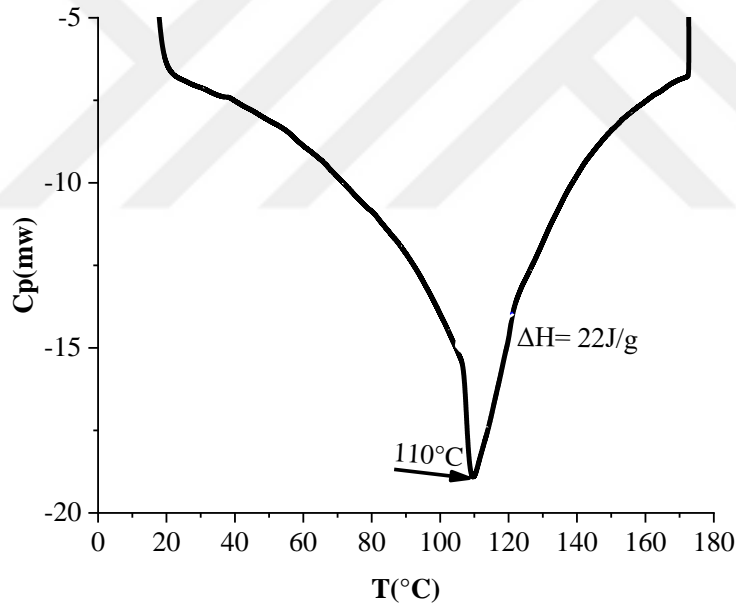
Fesleğen tohumu protein izolatlarının termal denatürasyon özellikleri analiz edildi. Denatürasyon sıcaklığı fesleğen tohumu protein izolatları için yaklaşık $110^{\circ}\text{C}\pm 0,1$ denatürasyon entalpisi (ΔH) $22,30\pm 0,6$ J/g olarak bulundu (Şekil 3.3). DSC spektrumunda, denatürasyon sıcaklığı, proteinin ısıl stabilitesini ve proteinlerde gerçekleşen entalpi değişimini temsil etmektedir. Endoterm, proteinin agregasyonuna yol açabilecek hidrofilik özelliklerini gösterir (Wang vd., 2014). Ekstrakte edilen fesleğen tohumu protein izolatları için yaklaşık $105\pm 0,1$ °C'de bir başlangıç denatürasyon sıcaklığı ile yaklaşık $120\pm 0,1$ °C'de tek bir endoterm piki gözlemlendi (Şekil 3.3). Tek bir pik genellikle protein izolatının ya bir protein türünden ya da benzer birkaç türden oluştuğunu gösterir (Ruiz vd., 2016; Betalleluz-Pallardel vd., 2017).

FTPİ 'nin Denatürasyon sıcaklığı amarant (90°C), kaniwa ($93,4^{\circ}\text{C}$), çiya ($97,4^{\circ}\text{C}$) ve çörek otu ($71,9^{\circ}\text{C}$) tohumlarının denatürasyon sıcaklığına göre yüksek bulundu (Tablo 3). Fesleğen tohumlarında bulunan proteinlerin termostabilitesi nedeniyle yüksek termal kararlılık gösterdiği bulgulardır.

Denatürasyon entalpisinin, bir proteinin yapısalının içeriği ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Betalleluz-Pallardel vd., 2017). Benzer çalışmalarda çiya 4 J/g, amarant 6,2 J/g, keten 8,25 J/g, kaniwa 1,2 J/g ve çörek otu 19,71 J/g tohumların entalpi değişimi (ΔH) olarak bulunmuştur (Tablo 3.2). Bu tohumların entalpi değişimi (ΔH) değerleri FTPİ entalpi değişimi (ΔH) değerlerine göre düşüktür. Buda Kompleks gıda sistemlerinde proteinler için gözlenen ΔH değerlerinin protein yapısından, çevrelerinden, proteinlerin işleme yoluyla birleşmesinden ve protein olmayan bileşenlerden etkilendiği öne sürülmüştür (Li-Chan vd., 2002).

Tablo 3.2: Diferansiyel taramalı kalorimetre sistemi (DSC) ile analiz edilen bazı tohumların protein denatürasyon sıcaklığı ve entalpi değişiminin ΔH değerlerinin karşılaştırılması.

Ürün adı	Denatürasyon sıcaklığı	Entalpi değeri J/g
Fesleğen tohumu	110	22,30±0,6
Amarant tohumu	90°C	6.2±1.2 (Avanza vd., 2009)
Kaniwa tohumu	93.4°C	1.22±0.05 (Betalleluz-Pallardel vd., 2017)
Keten tohumu	105.5°C	8.25 (Kaushik vd., 2016)
Çiya tohumu	97.4°C	4.0±1.9 (Timilsena vd., 2016; López vd., 2018)
Çörek otu tohumu	71.9°C	19.71 (Coşkun vd., 2020)



Şekil 3.3: Diferansiyel taramalı kalorimetre ("differential scanning calorimetry" DSC) sistemi ile analiz edilen fesleğen tohumu proteini dispersiyonlarının termal denatürasyon özellikleri. Isıtma hızı 10°C dk^{-1} ve incelenen sıcaklık aralığı $20\text{-}180^\circ\text{C}$ arasındadır.

3.3. Fesleğen Tohumu Protein İzolatlarının Fonksiyonel Özelliklerinin Analizi

Fesleğen tohumu proteininin su ve yağ tutma kapasitesi, ilgili bölümde belirtilen formüller kullanılarak hesaplandı. FTPİ numunesinin su tutma kapasitesi $2,45\pm 0,2$ g su/g protein ve yağ tutma kapasitesi $2,64\pm 0,2$ g yağ/g protein olarak bulundu.

Bu çalışmada bulunan FTPİ'nin STK değeri, sprey kurutma yöntemi ile kurutulmuş çiya tohumu proteini izolatlarının STK değerine (2,3 g/g) benzer olarak bulunmuştur (Timilsena vd., 2016). Öte yandan vakum yöntemi ile kurutulmuş çiya protein izolatlarının STK değerine (2,1 g/g) göre ise daha yüksek bulunmuştur (Timilsena vd., 2016). Bununla birlikte keten tohumu protein izolatları (2,7 g/g) ve soğuk kurutma yöntemi ile kurutulmuş çiya protein izolatlarının STK değerine (sırasıyla 2,7 ve 2,9 g/g) göre daha düşük bulunmuştur (Timilsena vd., 2016; Martínez-Flores vd., 2006).

Gıda ürünlerinin su tutma kapasitesi, esas olarak kaliteyi etkilediği için önemli bir parametredir. Daha önce gereken bölümde bahsedildiği gibi çok yüksek STK değerli protein bileşenleri, bir gıda sistemindeki diğer bileşenleri kurutabilmektedir. Düşük STK değerli proteinler ise, depolama nemine daha duyarlı olabilmektedir. Dolayısıyla FTPİ, ekmek ve keklerde su kaybını önleyerek ve kurutulmuş sosis, konserve balık ve dondurulmuş ürünlerin verimini artırarak gıda endüstrisi için faydalı olabilir (López VD., 2019).

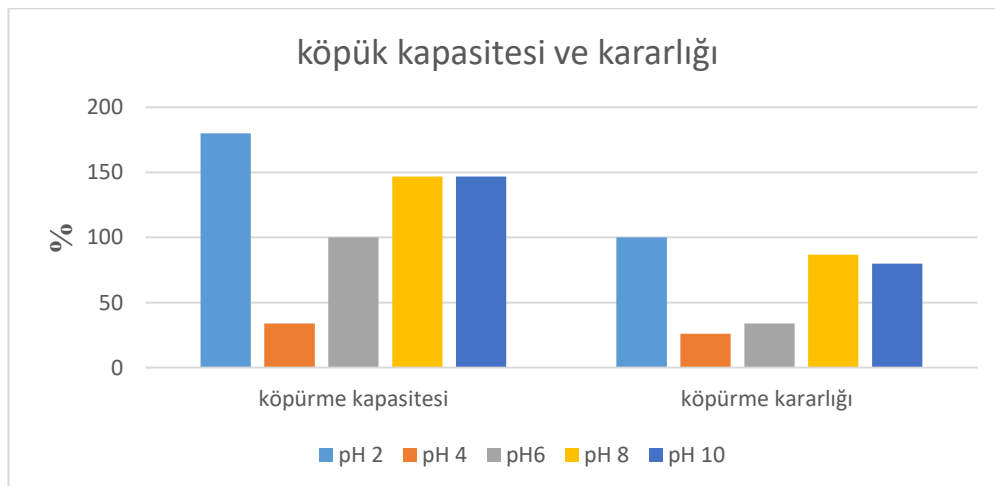
FTPİ'nin YTK değeri sprey kurutma yöntemi ile kurutulmuş çiya tohumu proteini izolatlarının YTK değerine (2,7 g/g) yakın bulunmuştur. Aynı zamanda FTPİ'nin YTK değeri keten tohumu proteini izolatlarının YTK değerine göre (1,18 g/g) daha yüksek olup soğuk kurutma yöntemi ile kurutulmuş çiya protein izolatlarının YTK değerine (3,6 g/g) göre daha düşük bulunmuştur (Timilsena vd., 2016).

Sonuç olarak, FTPİ'nin iyi yağ tutma kapasitelerine sahiptir. Yağ tutma kapasitesi, gıda ürünü bileşenleri için önemli bir fonksiyonel parametredir. Ağızda oluşan lezzeti ve lezzetin dağılımı iyileştirmeyi sağlamaktadır. Bu protein konsantresi, et ve unlu mamul formülasyonlarında kullanılabilir (Martínez-Flores vd., 2006). Bitki kaynaklı proteinlerdeki polaritesi yüksek olmayan veya hidrofobik amino asit içeriği, yüksek yağ tutma kapasitelerinden sorumludur ve hidrokarbon zincirlerini bağlamaları için önemlidir (Lam ve Nickerson 2013; Boye vd., 2010; Aryee vd., 2010).

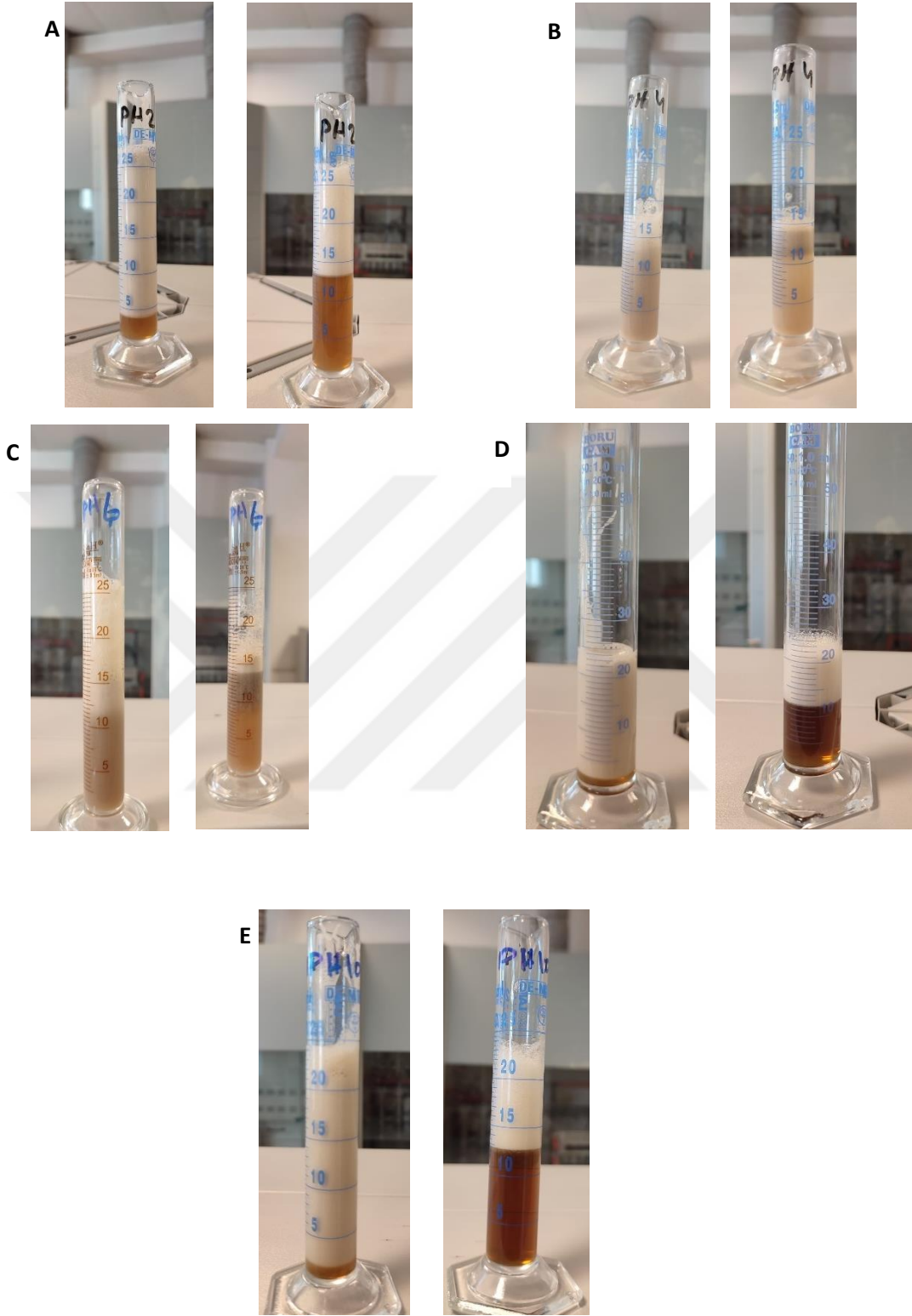
Fesleğen tohumu protein izolatlarına farklı pH değerlerinde köpük kapasitesi ve köpük kararlılığı ölçümleri yapıldı (Şekil 3.4). Fesleğen tohumu protein izolatlarının pH 2 değerinde maksimum köpük kapasitesi (%180±0,2) ve köpük kararlılığı (%105±0,2) olarak bulunmuştur. Benzer bir şekilde pH 8 ve pH 10 değerleri benzer köpük kapasitesi (%146,7±0,02) gösterirken, köpük kararlılıklarının (sırasıyla %86,7±0,2 ve %80±0,2) farklı olduğunu tespit edilmiştir (Grafik 3.1). Daha düşük köpük kapasitesi ve kararlılığı ise pH 4 (%34±0,2 ve %26,7±0,2) ve pH 6 (%100±0,2 ve %34±0,2) değerlerinde bulunmuştur.

FTPİ, pH 2 değerinde köpük kapasitesi ve kararlılığı keten ve amarant tohumları protein izolatların köpük kapasitesi (sırasıyla %40±0,2 ve %41±0,2) ve kararlılığı (%80±0,2 ve %100±0,2) ile kıyasladığımızda daha yüksek bulunmuştur (Cordero-De-Los-Santos vd., 2005; Martínez-Flores vd., 2006).

FTPİ, pH 4 ve 6 değerlerinde düşük köpük kapasitesi ve kararlılığı sergilemiştir. Proteinler izoelektrik pH değerlerine yakın olduklarında, yük nötralizasyonu nedeniyle elektrostatik itme sonucunda çözünürlük minimum seviyesine düşmektedir (Martínez-Flores vd., 2006). Bitkisel proteinler dahil olmak üzere çoğu gıda proteini izoelektrik pH değerlerinde düşük çözünürlüğe sahip olduklarından ve elektrostatik itici kuvvetlerden yoksun olduklarından, pH 4 ve 6 değerlerinde zayıf köpük kararlılığı göstermektedir (Segura-Campos, 2019).



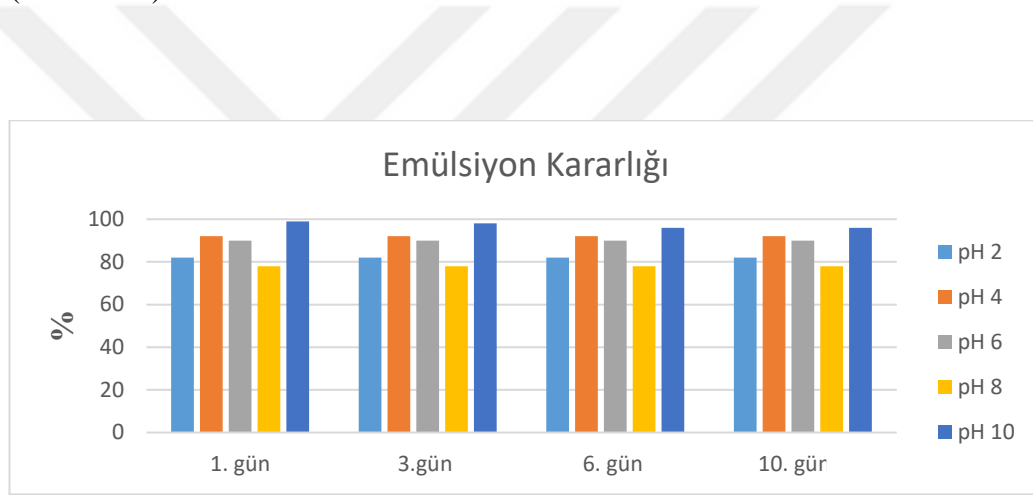
Grafik 3.1: Oda sıcaklığında ve farklı pH değerlerinde %1 FTPİ dispersiyonun köpüklenme kapasitesi ve 30 dakika arayla köpük kararlılığının incelenmesi. Tüm örnekler için standart sapma <%1 olarak bulunmuştur



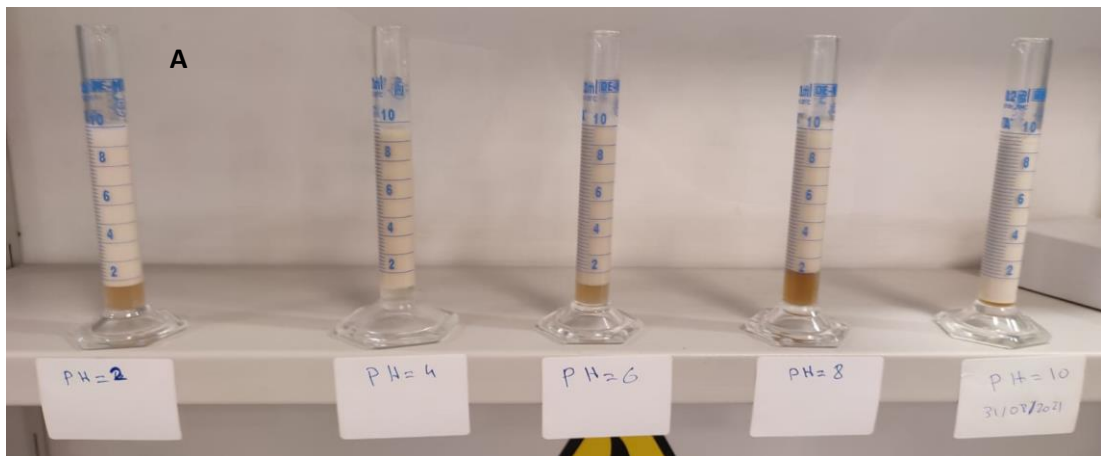
Şekil 3.4: Farklı pH değerlerinde ve 30 dk süren depolamada %1 FTPI dispersiyonun köpük kapasitesi ve kararlılığının A) pH 2, B) pH 4, C) pH 6, D) pH 8 ve E) pH 10 değerlerinde incelenmesi. Koyu renk sıvı fazı ve açık renk köpük fazı.

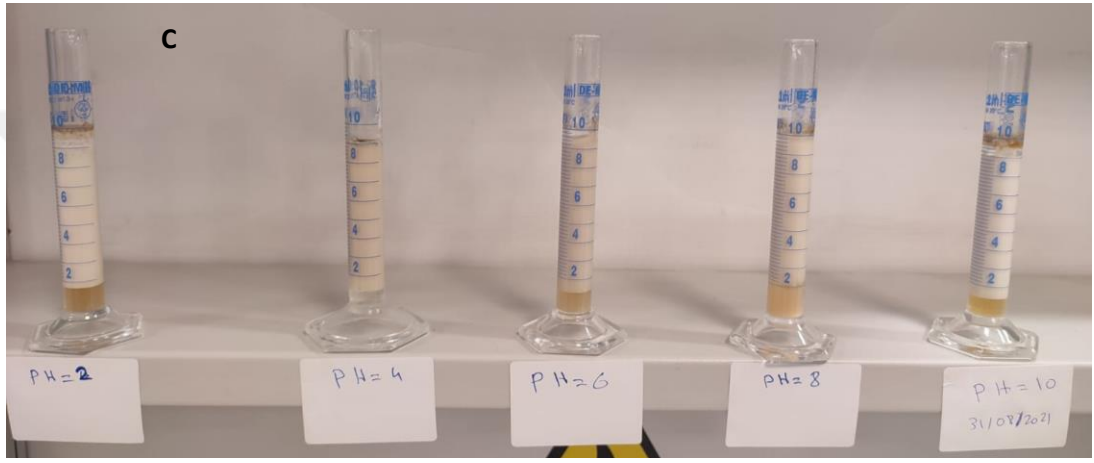
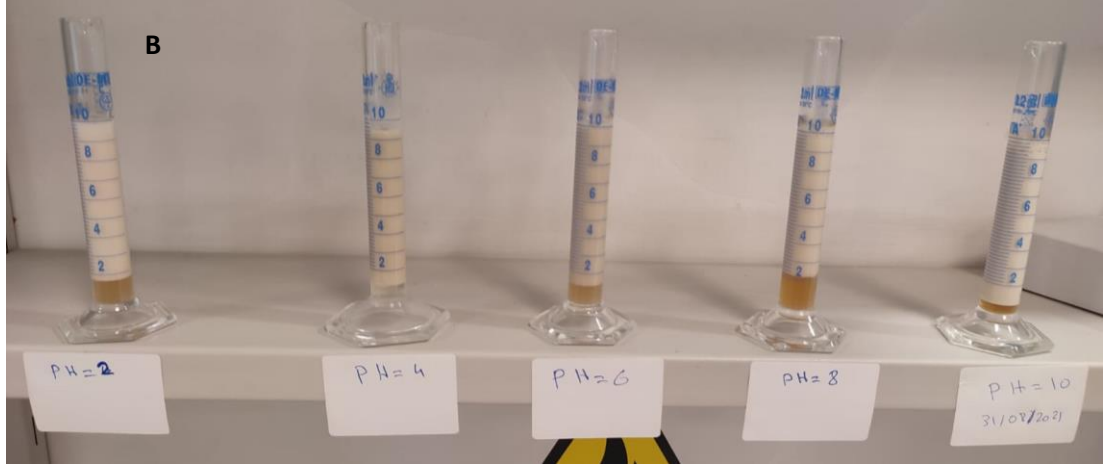
Fesleğen tohumu protein izolatlarına farklı pH değerlerinde emülsiyon kararlılığı ölçümü yapıldı. Fesleğen tohumu protein izolatları ilk 45 dakikada tüm pH değerlerinde yüksek performans göstermektedir. Emülsiyon kararlığı bu süreçte $98\pm 0,2$ olup ayrılan faz gözlenmemektedir (Şekil 3.5). FTPİ'nin emülsiyonu ilk 45 dakikada tüm pH değerlerinde keten, çiya ve amarant tohumlarının emülsiyonundan ($36\pm 0,2$ - $90\pm 0,2$) daha kararlı olduğunu görülmüştür (Cordero-De-Los-Santos vd., 2005; Timilsena vd., 2016; Martínez-Flores vd., 2006).

FTPİ emülsiyonlarını izleme sürecinin bitiminde, pH 4 değerinde maksimum emülsiyon kararlığı ($92\pm 0,2$), pH 6 ve 10 değerlerinde ise $90\pm 0,2$ ve pH 8 ve 2 değerleri ise ($78\pm 0,2$ ve $82\pm 0,2$) daha düşük emülsiyon kararlığı görülmüştür (Grafik 3.2).



Grafik 3.2: Fesleğen tohumu proteininin farklı pH değerlerinde ve farklı zaman dilimlerinde emülsiyon kararlığı. Tüm örnekler için std sapma $< 1\%$.





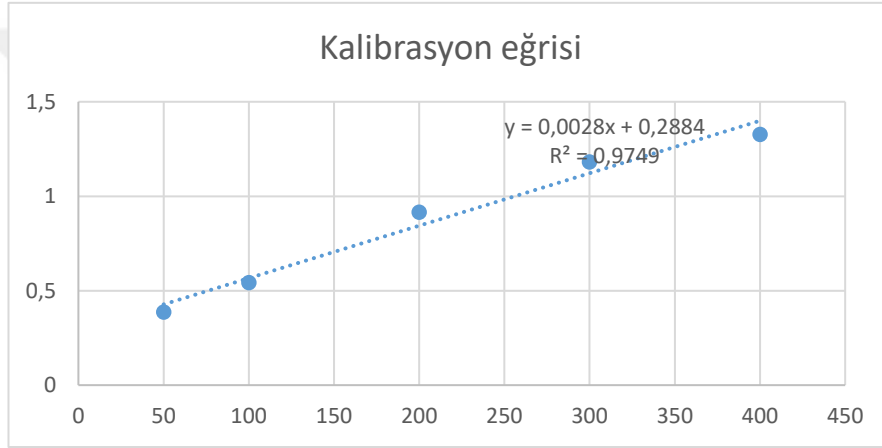
Şekil 3.5: FTPİ dispersiyonunun (%1) farklı pH değerlerinde ve farklı zaman dilimlerinde oda sıcaklığında emülsiyon kararlılığı ve stabilitesine etkisi. A) 1., B) 3. ve C) 10. günler.

3.4. Fesleğen Tohumu Protein Fraksiyonlarının Miktar Tayini

Osborne yöntemi ile elde edilen fesleğen tohumu protein izolatları fraksiyonlarının absorbans değerleri okundu (Tablo 3.3). Absorbans değerleri standart protein kalibrasyon eğrisi (Grafik 3.3) kullanılarak fraksiyonların protein içeriği hesaplandı. Böylelikle albumin, globulin, glutelin ve prolamin proteinlerinin FTPİ içindeki dağılımı sırasıyla yaklaşık $13,5 \pm 0,2$, $16,7 \pm 0,2$, $39,5 \pm 0,6$ ve $30 \pm 0,2$ olarak bulundu (Tablo 3.4).

Tablo 3.3: Osborne yöntemi ile elde edilen FTPI ana fraksiyonlarının 575 nm dalga boyutunda spektrofotometre absorbans değerleri.

Protein	Absorbance
Kör	0.069
Albumin	0.948
Globulin	0.577
Glutelin	0.530
Prolamin	0.501



Grafik 3.3: Beş farklı konsantrasyonda BSA standart çözeltileri kullanılarak oluşturulmuş standart eğri. BSA konsantrasyonu ve absorbans değeri doğrusal bir ilişki gözlenmiştir.

Tablo 3.4: Osborne yöntemi ile elde edilen fraksiyonlarının yüzdeleri olarak FTPI'nin içindeki dağılımı.

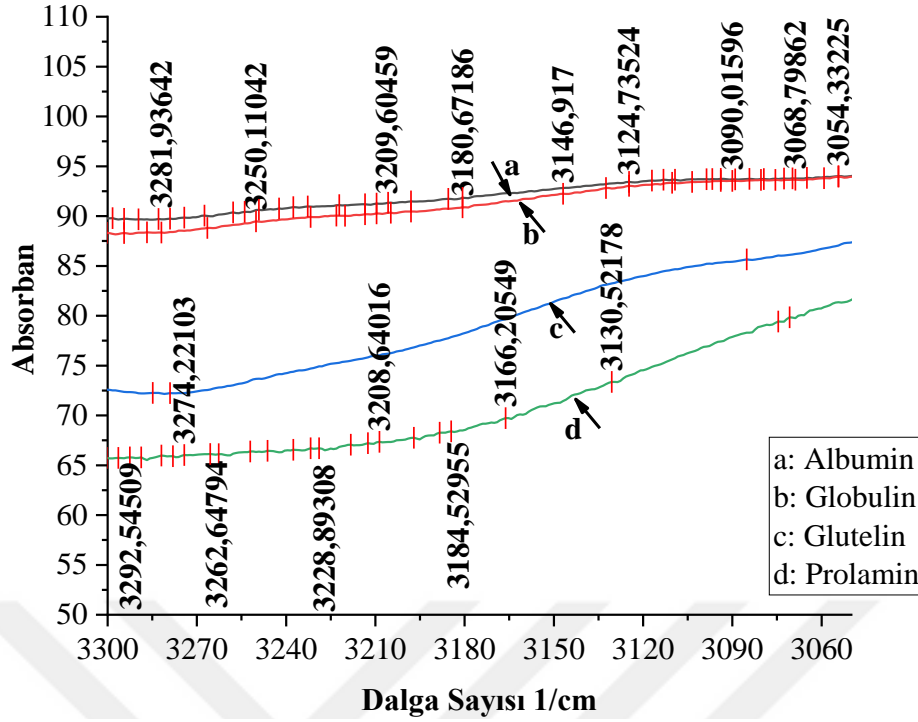
Fraksiyon	%
Albumin	13,52 ±0,2
Globulin	16,76±0,2
Glutelin	39,52±0,6
Prolamin	30,19±0,6

3.5. Fraksiyonların Yapısal Özelliklerinin Analizi

3.5.1. Fourier Transform İnfrared (FT-IR) Spektroskopi Verilerinin Analizi

FT-IR spektroskopisi, proteinin yapısındaki değişiklikleri incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır. FT-IR absorpsiyon spektrumları, konformasyonel atamalar için en önemli spektral bölgelerde gösterildi (3300–3070 cm^{-1} , amid A ve B; 1700–1600 cm^{-1} , amid I; amid II 1575–1480 cm^{-1} , amid III; 1400–1200 cm^{-1} , ve 1200-1000 cm^{-1} glikoprotein) (Kong ve Yu, 2007; Barth, 2007). Şekil 3.6 'da görüldüğü gibi 3300 cm^{-1} civarında merkezlenmiş bantlar, güçlü molekül içi C=O...N-H hidrojen bağları ile karakterize edilen sarmal (helical) konformasyonla uyumludur. Albumin, problemin ve globulin spektrumlarında güçlü bantlar glutelin spektrumlarında ise zayıf bantlar gözlemlendi (Şekil 3.6). Bu durum molekül içi H-bağlı NH gruplarının kırılmasından dolayı protein konformasyonunun gevşemesi anlamına gelmektedir (Zeng vd., 2011; Kong ve Yu, 2007; Barth, 2007).

Amid A bandı genellikle zayıf absorbe edilen ikinci bileşen (3100-3030 cm^{-1}), ile Fermi rezonans dubletin parçasıdır (amid B) (Barth, 2007). Fermi rezonans; bir etkileşim biçimidir. Temel titreşimler ile overtone'lar arasında ya da kombinasyon tonu titreşimleri arasında da görülebilmektedir. Fermi rezonans Temel bandın beklendiği bölgede iki bandın oluşmasına neden olur (Fortenberry ve Lee ,2019). NH bağlarının germe titreşimi, tüm protein fraksiyonlarının spektrumlarında tespit edildi. Burada bant genellikle proteinin NH germe modundan kaynaklanan amid B bandı olarak belirlenmiştir (Zeng vd., 2011).



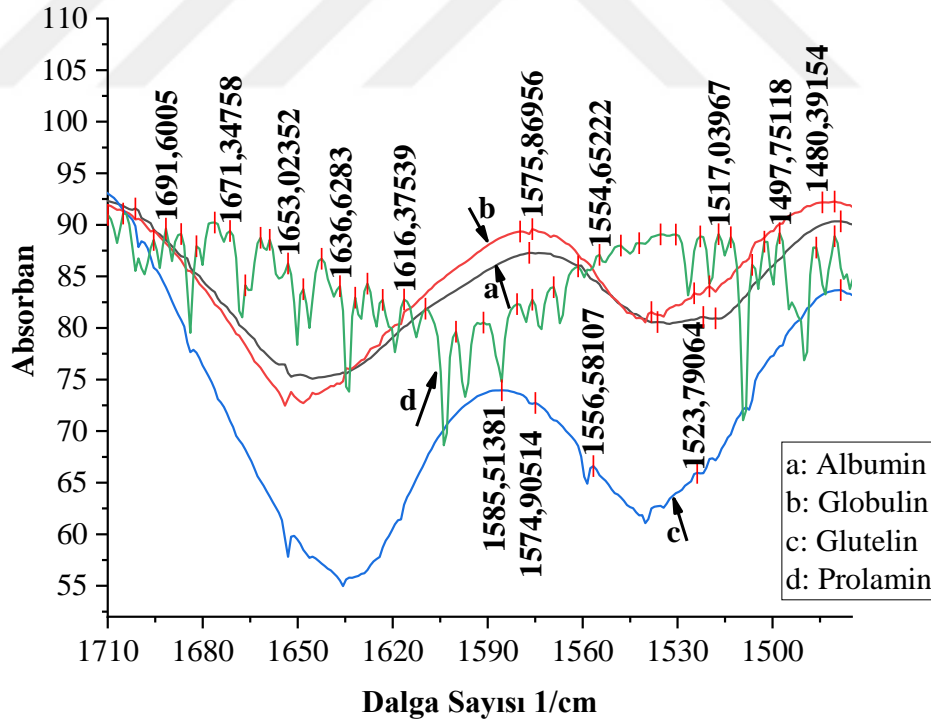
Şekil 3.6: FTPİ fraksiyonlarının amid A ve amid B bölgelerini gösteren FT-IR spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin fraksiyonlarını gösterilmiştir.

Amid I bandının spektral bileşenlerinin belirlenmesi ve atanması, proteinin yapısı hakkında bilgi sağlayabilmektedir. Bu nedenle, Amid I bant analizleri protein fraksiyonlarının yapılarındaki farklılıkları incelemek için kullanılabilir (Zeng vd., 2011).

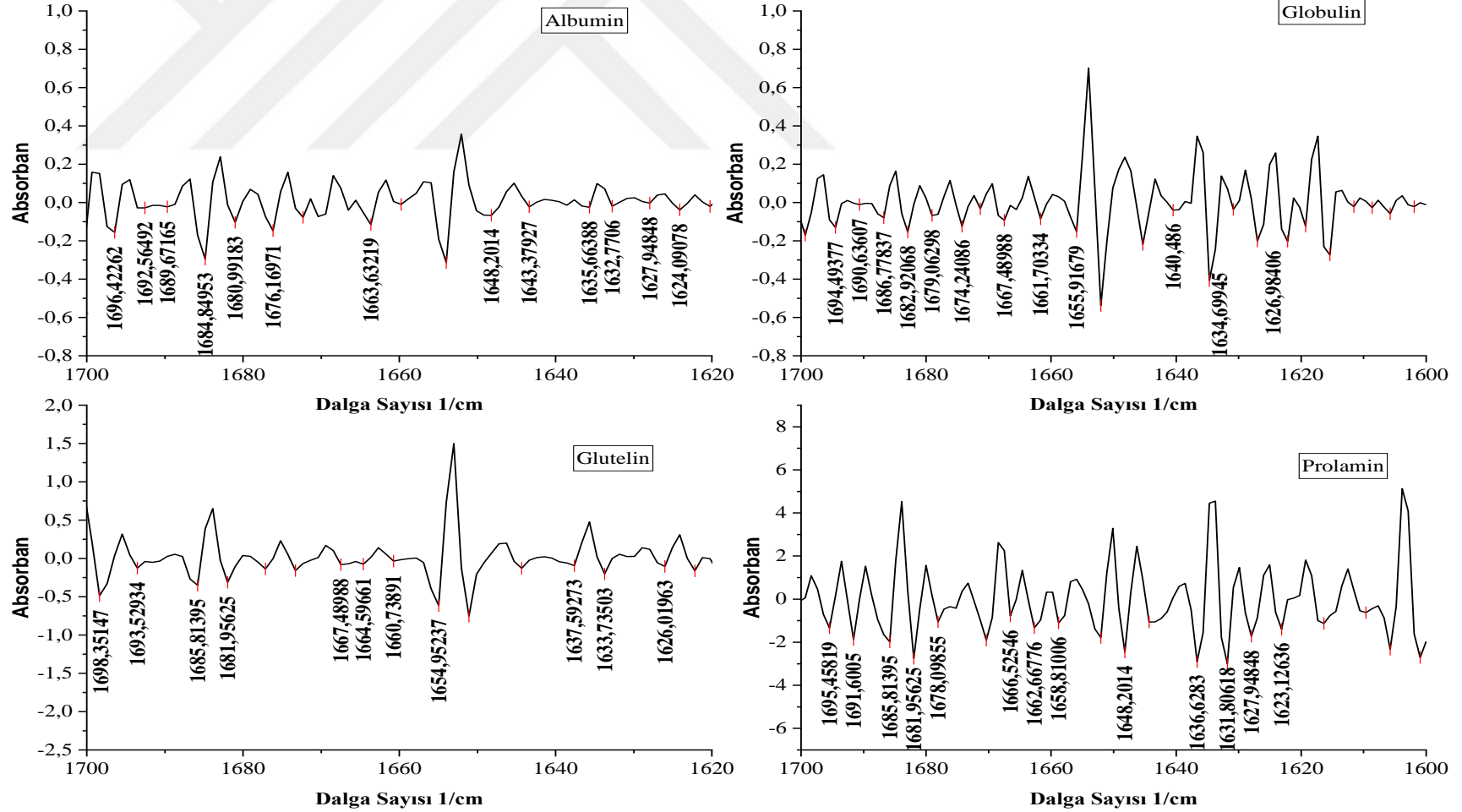
FTPİ fraksiyonlarının tümünü aynı $1700-1600\text{ cm}^{-1}$ ve $1575-1480\text{ cm}^{-1}$ frekans aralıklarında farklı amid I ve amid II pikleri rastlandı (Şekil 3.7). Kong ve Yu'ya (2007) yapısal elemanlar nitelendirmiştir. Buna dayanarak albumin (1624 cm^{-1} , 1627 cm^{-1} , 1633 cm^{-1} , 1635 cm^{-1} , 1689 cm^{-1} , 1692 cm^{-1} , ve 1696 cm^{-1}), globulin (1627 cm^{-1} , 1634 cm^{-1} , 1637 cm^{-1} , 1690 cm^{-1} , ve 1694 cm^{-1}) glutelin (1626 cm^{-1} , 1634 cm^{-1} , 1640 cm^{-1} , 1693 cm^{-1} , ve 1698 cm^{-1}) prolamin (1623 cm^{-1} , 1628 cm^{-1} , 1631 cm^{-1} , 1638 cm^{-1} , 1695 cm^{-1} ve 1691 cm^{-1}) FTPİ fraksiyon piklerinde β -Sheet yapısının varlığı, aynı zamanda albumin 1654 cm^{-1} , globulin 1656 cm^{-1} , glutelin 1655 cm^{-1} , ve prolamin 1658 cm^{-1} piklerinde α -Helix varlığı göstermiştir. Son olarak, albumin (1676 cm^{-1} , 1680 , ve 1684 cm^{-1}) globulin (1667 cm^{-1} , 1674 cm^{-1} , 1679 cm^{-1} , 1682 cm^{-1} , ve 1686 cm^{-1}) glutelin (1667 cm^{-1} , 1681 cm^{-1} , ve 1685 cm^{-1}) ve prolamin (1666

cm^{-1} , 1678 cm^{-1} , 1681 cm^{-1} , ve 1685 cm^{-1}) pikleri de β -Turn elemanlarını temsil ederek varlığını göstermektedir (Şekil 3.8).

Sonuç olarak, protein fraksiyonlarının β -tipi yapılarında, α -Helix yapılarına göre daha çok değişiklik olduğu gözlenmiştir. Prolamin β -Sheet ve β -Turn yapılarında daha fazla piklere rastlandı. Zeng (2011), β -sheet yapılarındaki pikler arttıkça stabilitenin arttığını vurgulamıştır. Buna dayanarak albumin ve prolaminin β -sheet yapılarındaki pikler nedeniyle daha yüksek stabiliteleri doğrulanmıştır. Yüksek β -Sheet yapısı içeriği, gastrointestinal sindirim enzimlerine erişimin azalmasına neden olabilmektedir. Bu da değerli proteinlerin kaybına sonuçlanabilmektedir. Örneğin, kuştüyleri yüksek protein içeriğine sahiptir (%84), ancak protein sindirilebilirliği diğer yüksek protein içeren kaynaklara (arpa, yulaf ve buğdaya) göre çok düşüktür (%5). Kuştüyü proteininin düşük sindirilebilirliği, β -sheet yapılarının çözünürlüğü, keratin içeriği ve bağı amino asitlerin disülfid bağı gibi yapısal özelliklerle yakından ilişkili olduğunu düşünülmektedir (Yu, 2005).

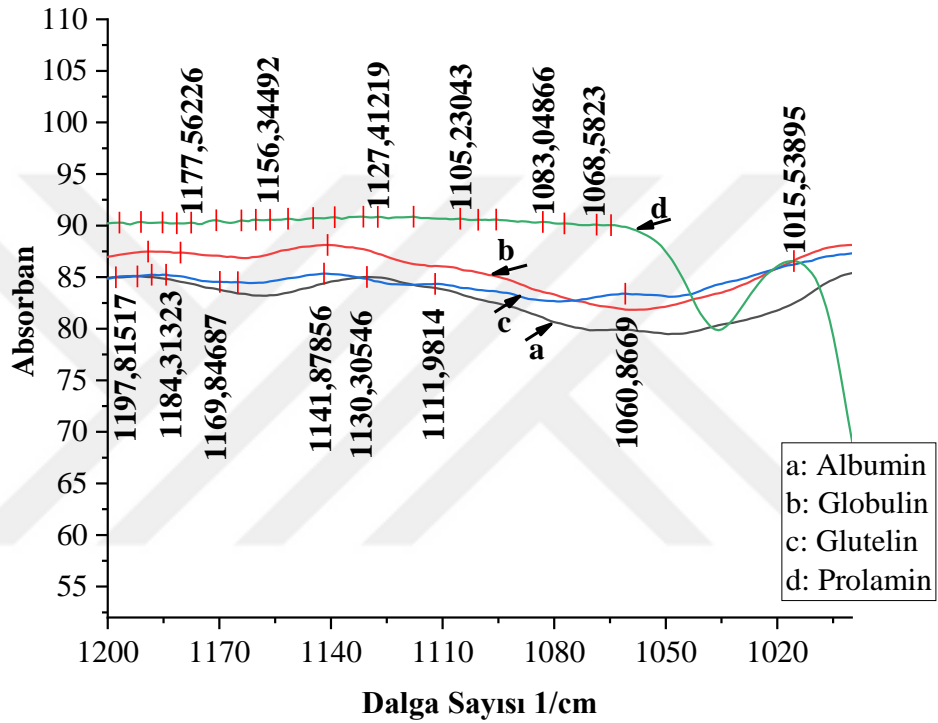


Şekil 3.7: FTPİ fraksiyonlarının amid I ve amid II bölgelerini gösteren FT-IR spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin fraksiyonlarını gösterilmiştir.



Şekil 3.8: FTPI fraksiyonlarının Amid I ve Amid II bölgelerini türevini gösteren spektrum. A) albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamin gösterilmiştir.

Şekil 3.9’ da FTPİ fraksiyonlarında kısmi glikozilasyonunu (glikoprotein varlığını) gösteren birçok pike rastlandı. Yalnız globulin için 1200-1000 cm^{-1} frekans aralığında absorpsiyonları zayıf görülmektedir. Tepe yoğunluğundaki azalış, genellikle, moleküler bağla ilgili fonksiyonel grubun miktarında (birim hacim başına) azalış anlamına gelmektedir (Jones vd., 1952).



Şekil 3.9: FTPİ fraksiyonlarının glikoproteinlerinin bölgelerini gösteren FT-IR spektrumu. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) prolamini gösterilmiştir.

3.5.2. Diferansiyel Taramalı Kalorimetre Verilerinin Analizi

Fesleğen tohumu protein fraksiyonlarının termal denatürasyon özellikleri analiz edildi. Denatürasyon sıcaklığı (T_d) albumin, globülin, glutelin ve prolamin için sırasıyla 142 $^{\circ}\text{C}$, 112 $^{\circ}\text{C}$, 93 $^{\circ}\text{C}$ ve 107 $^{\circ}\text{C}$ (std = 0,1) olarak bulundu (Şekil 3.10).

FTPİ fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklıkları (T_d), birçok bitkisel tohum protein fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklıklarına nispeten yüksek bulundu (Tablo 6). Çiya tohumun albumin, globülin, glutelin ve prolamin denatürasyon sıcaklıkları (T_d) sırasıyla 103 $^{\circ}\text{C}$, 104 $^{\circ}\text{C}$, 85 $^{\circ}\text{C}$ ve 91 $^{\circ}\text{C}$ olarak bulunmuştur (Sandoval-Oliveros ve

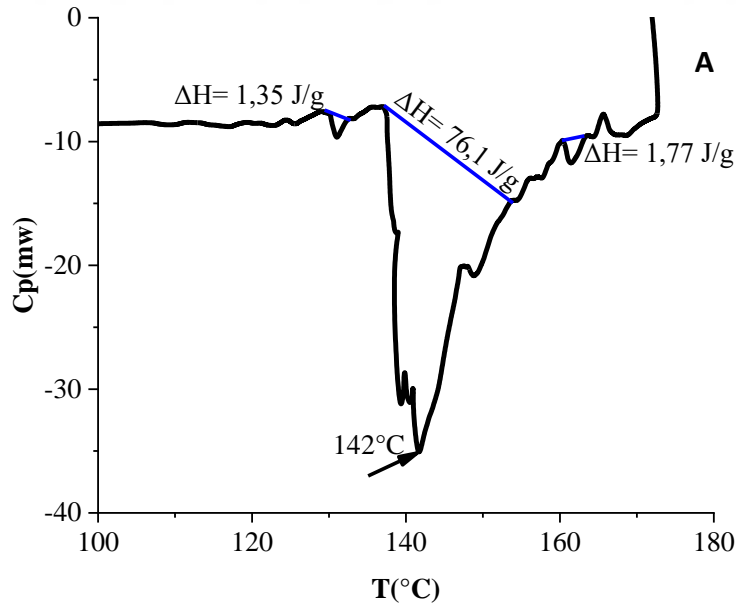
Paredes-López, 2013). Soya tohumun albumin hariç (91°C) tüm protein fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı (T_d) 90 °C'nin altında bulunmuştur. Benzer bir şekilde kanatlı fasulyenin tohumu (wing beans) protein fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklıkları 80-93 °C'nin arasında bulunmuştur (Makeri vd., 2017).

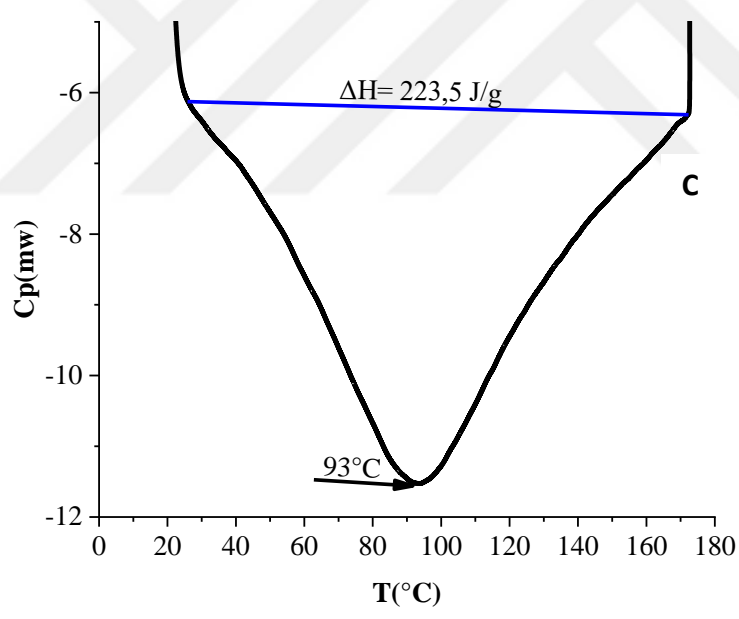
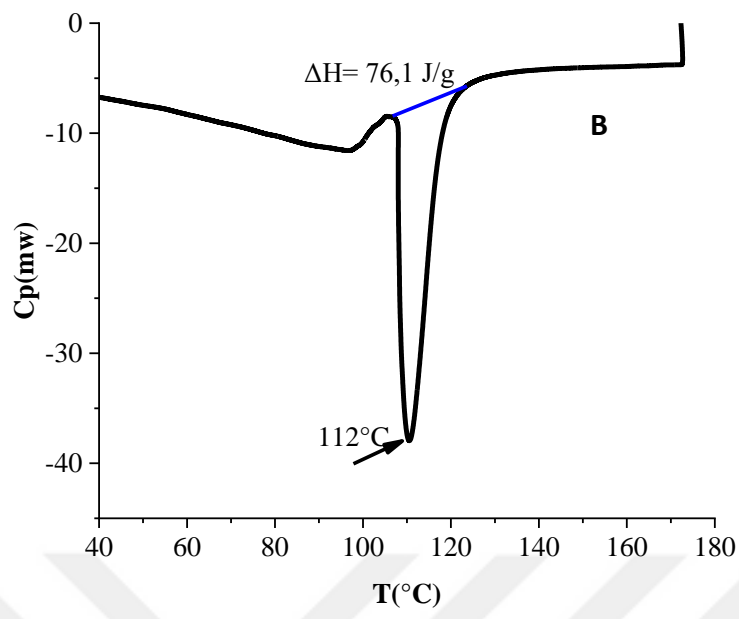
Globulin, glutelin ve prolamin DSC spektrumunda, tek bir endoterm piki gözlemlendi (Şekil 3.10). Albumin spektrumunda ise birçok pik gözlemlendi. Bu durum farklı termostabiliteye sahip proteinlerin var olmasından kaynaklandığı tahmin edilmektedir. Tek bir pik genellikle protein izolatının ya bir protein türünden ya da benzer ısıl stabiliteye sahip birkaç türden oluştuğunu göstermektedir (Ruiz vd., 2016; Betalleluz-Pallardel vd., 2017). Fesleğen tohumları protein fraksiyonlarının termostabilitesi nedeniyle, yüksek ısıl işlemlere maruz kalan gıda sistemlerinde kullanılabilir.

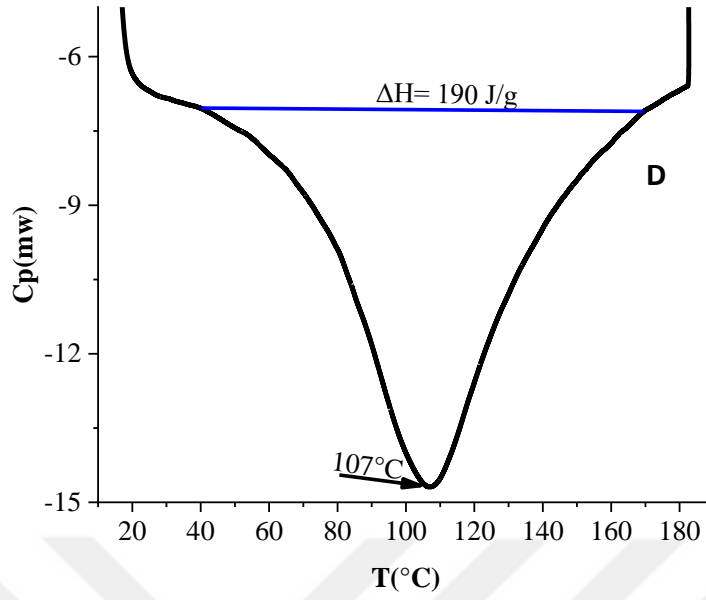
Entalpi değeri ΔH , protein yapısını denatüre olması için gereken enerji miktarı hakkında bilgi vermektedir. Fesleğen tohumu protein fraksiyonlarının denatürasyon entalpi değerleri, diğer bitkisel protein fraksiyonlarından termodinamik olarak daha karardır. Albumin, globülin, glutelin ve prolamin ısıl denatürasyonun entalpisi (ΔH) sırasıyla 79 J. g⁻¹, 76,11 J. g⁻¹, 223,85 J. g⁻¹ ve 190 J. g⁻¹ (std = 0,1) olarak bulundu. Bu entalpi değerleri istatistiksel olarak farklılık göstermektedir. Çiya, kanatlı fasulye ve soya proteinleri fraksiyonlarının entalpi değerleri birbirine oldukça yakındır. Soya tohumun albumin, globülin, glutelin ve prolamin ΔH değerleri sırasıyla 2.3, 3.7, 5.6 ve 4.2 J/g protein. Benzer bir şekilde kanatlı fasulye tohumun albumin, globülin, glutelin ve prolamin ΔH değerleri sırasıyla 1.3, 3.8, 4.19 ve 4.18 J/g ve çiya tohumun albumin, globülin, glutelin ve prolamin ΔH değerleri sırasıyla 12,6, 4,7, 2,3 ve 6,2 J/g protein olarak bulunmuştur (Tablo 3.5) (Makeri vd., 2017; Sandoval-Oliveros ve Paredes-López, 2013). Denatürasyon entalpisi (ΔH) kompleks gıda sistemlerinde proteinler için gözlenen ΔH değerlerinin doğal proteinin çevresel etkileşiminden, proteinlerin işleme yoluyla birleşmesinden ve sistemdeki proteinli olmayan bileşenlerden etkilendiği bilinmektedir (Li-Chan vd., 2002).

Tablo 3.5: FTPI fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı (T_d) ve entalpi değişimi (ΔH) değerleri, farklı tohumların protein fraksiyonlarının denatürasyon sıcaklığı (T_d) ve entalpi değişiminin ΔH değerleri ile karşılaştırılması.

Fraksiyon	Fesleğen tohumu		Çiya tohumu		Kanatlı fasulye tohumu		Soya tohumu	
	T_d °C	ΔH J/g	T_d °C	ΔH J/g	T_d °C	ΔH J/g	T_d °C	ΔH J/g
Albumin	142	79	103,6	12,6	82,7	1,29	90,62	2,36
Globülin	112	76	104,7	4,7	92,82	3,82	81,68	3,74
Glutelin	93	223	85,6	2,3	91,67	4,19	83,65	5,66
Prolamin	107	190	91,3	6,2	92,43	4,18	80,75	4,2



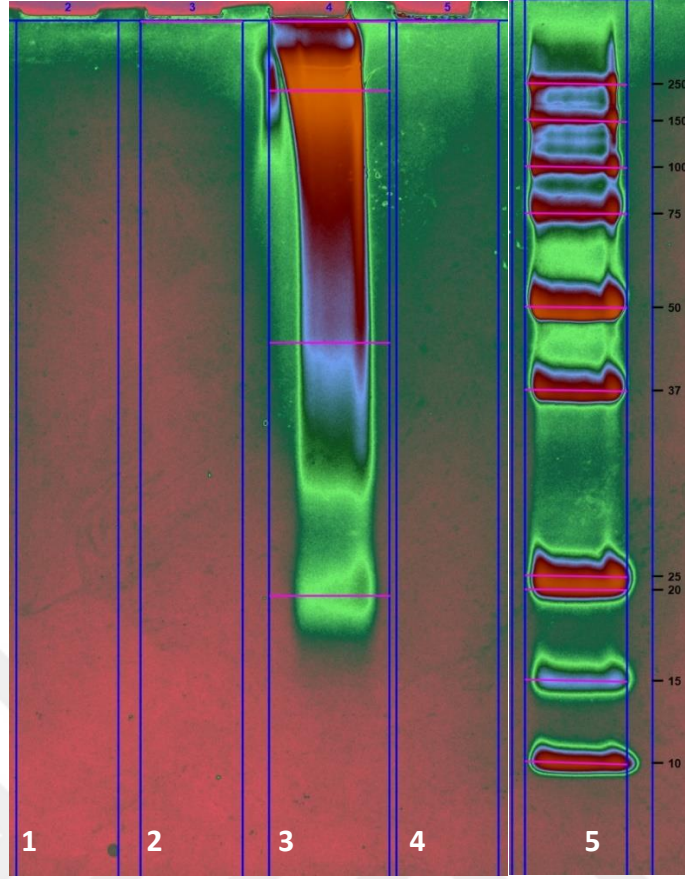




Şekil 3.10: Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) sistemi ile analiz edilen fesleğen tohumu proteini fraksiyonları dağılımlarının termal denatürasyon özellikleri. Isıtma hızı $10\text{ }^{\circ}\text{C dk}^{-1}$ ve sıcaklık aralığı $20\text{-}180\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasındadır. A) Albumin, B) globulin, C) glutelin ve D) Prolamin.

3.5.3. Elektroforezik Verilerin Analizi

Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile yapılan elektroforez analizinde, glutelin fraksiyonlarının iki (~ 25 ve ~ 40 kDa) bant gösterdiğini gözlemlendi (Şekil 3.10). Ancak mevcut koşullarda albumin, globulin ve prolamin fraksiyonlarında herhangi bir bant gözlemlenmedi. Elektroforetik görüntülerin bulanık olması veya hiç görünmemesi büyük olasılıkla elektroforezde proteinde agregatları oluşumunu indüklenmesi, poliakrilamid jel için polimerizasyon sıcaklığı ve süresi, tampon (running buffer), koşulların uygun olmaması veya ekstraksiyon sırasında proteinin bir dereceye kadar denatürasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Nham Tran vd., 2020).



Şekil 3.11: Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrez (SDS-PAGE) ile moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış olan FTPİ fraksiyonların dispersiyonları.1) Albumin, 2) globulin, 3) glutelin, 4) prolamin, 5) Precision Plus protein standartları numunesi.

3.6. Tekstürel Analizin Bulguları

Glutensiz ekmeğin sertliği, yapışkanlığı, esnekliği, bağlılığı, sakızimsı yapışkanlığı, dayanaklığı ve çiğnenebilirliği gibi doku profil özelliklerinin analiz sonuçları Tablo 3.6`da gösterilmektedir.

Tekstür, ekmeğin en önemli kalite özelliklerinden biridir. Bayatlama nedeniyle dokudaki değişiklik tadı da etkilemektedir. Bayatlama işlemi, depolama sırasında meydana gelen çeşitli fiziksel-kimyasal değişikliklerin zincirleme reaksiyonudur (Horstmann vd., 2017). Suyun içten dışa göçü ve nişastanın yeniden kristallenmesi ekmeğin yapısında değişikliklere neden olan iki ana faktördür (Fadda vd., 2014). Bununla birlikte, bu işlemler protein ilavesinden olumlu etkilenebilmektedir (Horstmann vd., 2017).

Nişasta bazlı ekmek, nişasta-protein etkileşimleri olmadığından su yalnızca karbonhidrat fraksiyonu ile bağlanmaktadır. Nişasta bazlı ekmek, gluten içeren normal buğday ekmeğinden çok daha hızlı sertleşmektedir. Bu nedenle protein türü ekmek sertliği üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Ziobro vd., 2016).

Bu çalışmada, glutensiz ekmek formülasyonunda farklı oranlarda FTPİ (%2, %5 ve %10) uygulanması karşılaştırılmıştır. Pişirme gününde, %2 FTPİ içeren ekmek numuneleri sertliği, kontrol numuneleri ile karşılaştırılabilmektedir. Aynı zamanda, ekmek numunelerin en yüksek sertlik değerleri %5 FTPİ içeren ve daha düşük sertlik değerleri ise %10 FTPİ içeren ekmeklerde gözlemlenmiştir. Sertlik azalması muhtemelen, FTPİ ile yapılan ekmeklerin yüksek protein içeriği, sertlik parametresini olumlu yönde etkileyerek yüksek su tutma kapasitesi oluşturmuştur (Zorzi vd., 2020). Ekmeğin bayatlama oranı, ekmeğin sertliğinin belirli bir süre boyunca artmasıdır (Horstmann vd., 2017). Bu yüzden %5 FTPİ içeren ekmek, test edilen diğer proteinleri içeren ekmekle karşılaştırıldığında yüksek bayatlama oranına sahip olacaktır.

Benzer olarak Zorzi (2020) tarafından yapılan çalışmada; farklı oranlarda (%5, %10 ve %20) ayçiçek tohumu proteini konsantreleri, bezelye unu kullanımına kıyasla glutensiz ekmek kalite parametreleri incelenmiştir. Çalışmaya göre ilave edilen protein oranı su tutma kapasitesini arttırmıştır. Bu durum sertlik parametrelerini olumlu yönde etkilediğini vurgulamıştır.

Ziobro (2016) tarafından yapılan çalışmada; glutensiz buğday unundan yapılan ekmeklerin %10 albumin, kollajen, bezelye, bakla ve soya proteini ile optimizasyonu yapılmıştır. Pişirme gününde, albümin ve bezelye proteini içeren ekmeğin kontrol numunesine göre daha sert olduğunu belirtmiştir. Kolajenli ve kontrol ekmek örneklerinde daha düşük sertlik gözlendiğini nitelendirmiştir.

Farklı olarak Witczak (2017), tarafından yapılan çalışmada; glutensiz ekmeğe patates proteini ilave edilme düzeyine paralel olarak ekmeğin sertliği artmıştır. Patates proteininin en kk ilavesi sertlikte sadece hafif bir değişikliğe neden olurken, %6 ve %10 seviyelerinde sertlik değerleri iki katına çıkmıştır.

Sertlikle önemli lde ilişkili olan çiğneme durumunda, kontrol numunesi ve %5 FTPİ katkılı ekmek için yüksek değerler gözlemlendi. Sertliğe benzer şekilde, iğnemedede belirgin azalmalar, %10 ve %2 FTPİ içeren ekmeklerde tespit edilmiştir.

Witczak (2017) tarafından yapılan çalışmada; çiğneme değerinin ekmeğin sertliği ile bağlı olduğu vurgulanarak, patates proteini ilavesi arttıkça ekmeğin çiğnenebilirliğinin arttığı gözlemlenmiştir.

Ziobro (2016) tarafından yapılan çalışmada; çiğnenebilirlik parametrelerin en azı kolajen ve bakla proteini içeren ekmekler için bulunmuştur ve bezelye proteini içeren ekmekler için daha çok bulunmuştur.

Yapışkanlık (Adhesiveness) tekstürel analiz sırasında üretilen maksimum negatif kuvvet olarak bilinmektedir (Aly vd., 2015). Kontrol ekmeği ve %5 FTPİ içeren ekmek, yapışkanlık kaybı için yüksek oranı gösterirken, %10 ve %2 FTPİ içeren ekmekler ise daha düşük oranlar göstermiştir.

Marco ve Rosell (2008) tarafından yapılan çalışmada; yapışkanlık değeri soya proteini ve hidroksipropil metilselüloz (HPMC) birlikte eklendiğinde elde değer artış gözlemlenmiştir. Ancak bu değer hidroksipropil metilselüloz (HPMC) yokluğunda veya transglutaminaz (TG) varlığında önemli ölçüde azaldığını nitelendirilmiştir.

Sakızımsılık ("gumminess"), sertlik ve yapışkanlık değerlerinin çarpımı olarak ifade edilmektedir (Erdemir, 2015). Ekmek numunelerin arasında nispeten yüksek sakızımsılık değerine %5 FTPİ içeren ekmeklerde görülmüştür. Glutensiz ekmek numuneleri arasında %2 ve %10 FTPİ içeren ekmeklerin karşılaştırılabilir değerlere sahip olduğunu tespit edilmiştir. Sakızımsılık değerlerindeki artışın, ekmeklerdeki sertlik değerlerinin artmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Erdemir, 2015; Ziobro vd., 2013; Šimurina vd., 2016).

Doku profili analizi ile ölçülen diğer bir parametre de kohezyon oranıdır. Hamur işleri için, kohezyon kalitenin ve deformasyona dayanma yeteneğinin göstergesidir. Yüksek strese ve gerilmelere dayanıklı iç yapıya sahip Kohezyonlu hamur, daha yüksek özgül hacim ve daha yumuşak ekmek ile sonuçlanmaktadır. (Storck vd., 2013; Horstmann vd., 2017; Armero ve Collar, 1997). Depolama sırasında kohezif yapışkanlığın çok fazla azalması, yüksek ufalanma ile sonuçlanır ve tüketicinin ekmeği kabulünü olumsuz etkilemektedir (Crockett vd., 2011). FTPİ ile takviye edilen tüm ekmek numunelerinin yapışkanlık değerlerinde nisbeten benzerlik görülmüştür.

Farklı bir şekilde Zorzi (2020) tarafından yapılan çalışmada; ekmeğe katılan bezelye unun aksine ayçiçek tohumu proteini konsantrelerin oranı arttıkça yapışkanlık kaybı artmıştır.

Esneklik ("springiness"), ekmeğin yapısal bütünlüğünün bir ölçüsüdür. Esneklik oranı, günlük esneklik kaybını olarak tanımlanmaktadır (Horstmann vd., 2017). Pişirme gününde, artan protein seviyeleri ile hafif bir düşüş görülebilse de tüm numuneler benzer yaylanma göstermiştir. Glutensiz ekmek numunelerinin arasında esneklik için %2 ve %10 FTPİ içeren ekmeklerde diğer numunelere göre daha düşük esneklik görülmüştür. Kontrol ekmeği ve %5 FTPİ içeren ekmekte daha belirgin esneklik değeri tespit edilmiştir. Witzak (2017) tarafından yapılan çalışmada; glutensiz ekmeğe patates proteini ilavesinde artan protein konsantreleri ile esneklik değerini hafif bir düşüş gözlemlenmiştir.

Horstmann (2017) tarafından yapılan çalışmada; glutensiz ekmeklerin %2 patates, bakla, keçiyoynuzu, bezelye ve soya proteini ile optimizasyonu yapılmıştır. Bütünlük kaybı için en düşük oranı patates ve soya proteinleri gösterirken, en yüksek oran bezelye proteini ile pişirilen ekmeklerde bulunduğunu nitelendirilmiştir.

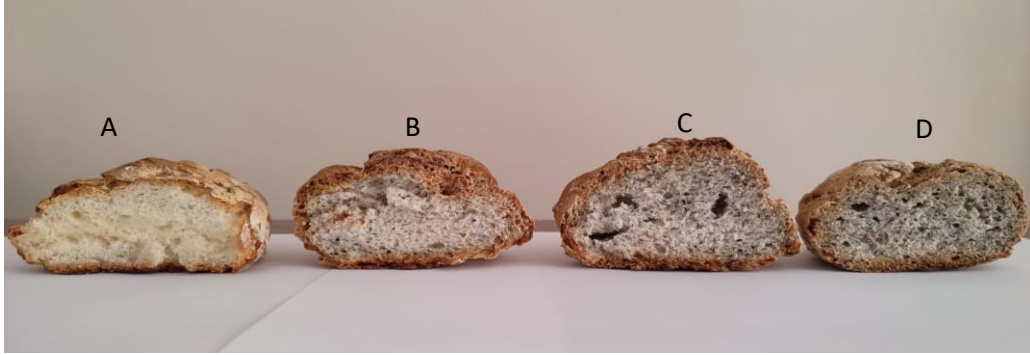
Esneklik gibi, elastikiyet ("resilience") de esnekliği ölçen bir parametredir (Horstmann vd., 2017). Orijinal yüksekliğin geri kazanılması ve bununla birlikte, iki sıkıştırmada mesafe olarak ölçülen esnekliğin aksine, elastikiyet ("resilience"), ilk sıkıştırma sırasında enerji yukarı ve aşağı vuruşlarına göre ölçülmektedir. Elastikiyet ("resilience") oranı bu nedenle bu özelliğin kaybını tanımlamaktadır (Horstmann vd., 2017). Kontrol ekmeği ve %5 FTPİ içeren ekmekte düşük elastikiyet oranına sahipken, daha yüksek elastikiyet %2 ve %10 FTPİ içeren ekmeklerde bulunmuştur.

Horstmann (2017) tarafından yapılan çalışmada; patates ve soya proteini içeren ekmek numunelerinin elastikiyet ("resilience") oranlarında belirgin azalma gözlemlenmişken, bezelye daha yüksek elastikiyet ("resilience") oranına sahip olduğunu gözlemlenmiştir.

Glutensiz ürünler, esas olarak karbonhidratlar açısından yüksek ve protein ve diyet lifi açısından düşük oldukları için besinsel özellikleri bakımından daha düşüktür (Sozer vd., 2019). Sonuç olarak, tüm teksürel parametrelerinde %2 ve %10 FTPİ'nin glutensiz ekmeğin protein zenginleştirilmesinde tatmin edici sonuçlar verdiğini göstermiştir.

Tablo 3.6: Glutensiz buğday ununa farklı oranlarda FTPI ilave edilerek hazırlanan un karışımlarından elde edilen ekmeklerin tekstür parametrelerinin deneysel ortalama değerleri. Tüm örnekler için std sapma <%1.

Test adı	Kontrol ekmeği	%2 FTPI	%5 FTPI	%10 FTPI
Sertlik (g)	30338	32723	48081	27593
Çiğnenebilirlik	11992	8298	11846	7260
Yapışkanlık (g.sn)	2025	219.51	1338	-
Esneklik	0.87	0.52	0.58	0.46
Kohezif	0.46	0.49	0.42	0.58
Sakızimsılık	13793	16139	20278	15885
Elastikiyet	0.160	0.188	0.144	0.260



Şekil 3.12: Farklı FTPI miktarları ile zenginleştirilmiş ve fırınlanmış glutensiz ekmek. A) kontrol ekmeği, B) %2, C) %5, D) %10 FTPI ile zenginleştirilmiş ekmek. FTPI izolatlarının artması ekmek renginin açıktan koyuya doğru değişimi ile karakterizedir.

SONUÇ ve ÖNERİ

Proteinler çok işlevli bileşenlerdir ve beslenme ve tekno-fonksiyonel (çözünürlük, su ve yağ tutma kapasiteleri, jelleşme, emülsifikasyon, köpürme vb.) özellikleri açısından gıda sistemlerine katkıda bulunmaktadır. Proteinlerin fonksiyonel özellikleri moleküler yapılarına bağlıdır. Fonksiyonel özellikler ayrıca protein moleküllerinin yapısını değiştiren pH, iyonik kuvvet, sıcaklık ve diğer çevresel faktörlerden de etkilenmektedir. Fonksiyonel özellikler uygun muamelelerle optimal düzeyde tutulursa, proteinler doğal ve işlenmiş gıdaların kalitesine ve kabul edilebilirliğine büyük ölçüde katkıda bulunurlar. Artan protein talebi nedeniyle, geleneksel olmayan çeşitli kaynaklardan proteinleri ekstrakte etmek ve kullanmak için artan ölçüde çaba sarf edilmektedir. Farklı ürünlerin gereksinimlerini karşılamak ve fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek için proteinlere çeşitli kimyasal, fiziksel ve enzimatik muameleler yapılmaktadır. Bu nedenle, gıda proteinlerinin süreç-yapı-fonksiyon ilişkisinin daha iyi anlaşılması, protein veya protein açısından zengin gıda ürünlerinin kalitesini ve işlevselliğini önemli ölçüde iyileştirebilir.

Fesleğen dünya çapında yaygın olarak dağılmış olmasına rağmen, fesleğen tohumlarının proteinleri ile ilgili veriler sınırlıdır. Bu çalışmada soğuk preslenmiş fesleğen tohumu posasından protein izolatlarının elde edilmesi, elde edilen izolatta bulunan protein içeriğinin belirlenmesi ve bu proteinlerin fiziko-kimyasal, fonksiyonel ve teknik özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Buna ek olarak, fesleğen tohumu proteinleri ana fraksiyonlarına ayrılarak fraksiyonların temel özellikleri değerlendirilmektedir. Son olarak fesleğen tohumu protein izolatlarının glutensiz ekmek üretiminde kullanılması ile hazırlanan ekmek numunelerinin dokusal (tekstürel) özellikleri incelenmektedir. Bu kapsamda fesleğen tohumu protein izolatlarının gıda sanayisinde kullanıma uygunluğu analiz edilecektir.

Fesleğen tohumu protein içeriği Dumas yöntemi ile tayin edilerek $27\pm 0,2$ olarak bulundu. Bitkisel gıdalar 12 'sinden fazlasını protein sağladığında, dikkate değer protein kaynakları olarak kabul edilmektedir (Calderón Bravo vd., 2021). Benzer bir şekilde alkali ekstraksiyonu-izoelektrik çöktürme (AE-İÇ) tekniği ile fesleğen tohumu proteini izole edildikten sonra, Lowry yöntemi ile tayin edilerek $95\pm 0,5$ olarak bulundu. FTPİ, Osborne yöntemiyle fraksiyonlanmış olup albumin, globulin, glutelin

ve prolamin içerikleri Lowry yöntemi ile sırasıyla %13,5±0,2, %16,7±0,2, %39,5±0,6 ve %30,2±0,6 olarak tayin edilmiştir.

FTPI ve fraksiyonlarının temel yapısal özellikleri DSC, FT-IR ve SDS-PAGE ile belirlendi. DSC ile elde edilen denatürasyon sıcaklığı ve entalpi değeri ile ilgili sonuçlar, elde edilen fesleğen tohum protein izolatları 110°C'ye kadar stabil olduğunu göstermektedir. Öte yandan albumin, globulin ve prolamin 100°C'nin üzerinde denatürasyon sıcaklıklarına sahip olduğunu gösterdi; FTPI ve fraksiyonları, yüksek ısı işleme tabi tutulan belirli gıda ürünleri için (meyve ve sebze suları) uygun olabilir (Petruzzi vd., 2017).

FTPI ve fraksiyonları, kısmen potansiyel olarak glikozile edilmiş, α - tipi ve β -tipi yapısal elementler içermektedir. FTPI ve fraksiyonları yapısal özelliklerini FTIR ile incelenmesinin sonucunda, daha fazla β -tipi yapılarına, ancak daha az α -helix yapılarına sahip olduğunu ortaya çıkmıştır. FTPI fraksiyonlarının α -helix, β -sheet ve β -turn yapılarının miktarlarında gözlemlenen benzerlik, iç konformasyonlarının benzer olmasından kaynaklanmaktadır.

FTPI ve Glutelin, 20 ila 55 kDa arasında moleküler ağırlıkta (Mw) birkaç polipeptit alt birimi sergilemektedir. Elektroforetik görüntülerin bulanık olması veya hiç görünmemesi büyük olasılıkla elektroforezde protein izolatlarının agregatları oluşumunun indüklenmesi, poliakrilamid jel için polimerizasyon sıcaklığı ve süresi, tampon (running buffer), koşulların uygun olmaması veya ekstraksiyon sırasında proteinin bir dereceye kadar denatürasyona uğradığında oluşmaktadır (Nham Tran vd., 2020).

FTPI'nin su tutma kapasitesi 2,45±0,2 g su/g proteindir. Yağ tutma kapasitesi 2,64±0,2 g yağ/g protein olarak tespit edilmiştir. Fesleğen tohumu protein izolatlarının pH 2 değerinde maksimum köpük kapasitesi (%180±0,2) ve köpük kararlılığı (%105±0,2) olarak bulunmuştur. En düşük köpük kapasitesi ve kararlılığı ise pH 4 (%34 ±0,2 ve %26,7±0,2) ve pH 6 (%100±0,02 ve %34±0,2) değerlerinde bulunmuştur. Proteinler izoelektrik pH değerlerine yakın olduklarında, yük nötralizasyonu nedeniyle elektrostatik itme sonucunda çözünürlük minimum seviyesine düşmektedir (Martínez-Flores vd., 2006)

FTPİ'nin emülsiyon kararlılığı ilk 45 dakikada tüm ölçülen pH değerlerinde yüksek performans ile emülsiyon kararlılığı $98\pm 0,2$ olup ayrılan sıvı fazı gözlenmemektedir. FTPİ'nin onuncu günün bitiminde pH 4 değerinde maksimum emülsiyon kararlılığı $92\pm 0,2$ olarak gözlemlenmiştir. Daha düşük kapasiteyi pH 2 ve 8 değerlerinde sırasıyla 82 ve $78\pm 0,2$ olarak saptanmıştır. Emülsiyon kararlılığı pH 6 ve 10 değerlerinde ise ($90\pm 0,2$) oldukça yüksek görülmüştür. Çoğu bitkisel kaynaklı proteinin, düşük çözünürlükleri ve izoelektrik pH değerlerinde elektrostatik itme kuvvetlerinin olmaması nedeniyle zayıf emülgatörler olduğu bilinmektedir (Méz, 2008; Nasrabadi vd.,2021). Fesleğen tohumu proteinlerinin emülsiyon kapasitesini ve kararlılığı, izoelektrik pH değerlerinde geniş bir aralık için yüksek kararlılığı sergilemiştir. Bu sonuca dayanarak FTPİ'nin bir ölçüde tüm pH ortamlarında işlenen gıdalar için iyi etkiye sahip olabileceğini düşünülmektedir.

FTPİ'nin su tutma, yağ tutma kapasitesi, emülsifikasyon kapasitesi ve kararlılığı dikkate değer fonksiyonel özelliklere sahiptir. STK, çorbalar, soslar, unlu mamuller için önemli olan proteinlerin fonksiyonel bir özelliğidir. YTK, yağ tutma kapasitesi ile yakın bir korelasyona sahip olan emülsifiye edici aktivite nedeniyle mayonez veya benzeri ürünler gibi çok önemli bir rol oynamaktadır. FTPİ et analogları, çorbalar, salata sosları, mayonez ve kekler, bitki bazlı içecekler gibi yüksek emülsiyonlaştırma ve emülsiyon stabilitesine ihtiyaç duyan numuneler için umut verici bir emülsifiye edici gıda ajanı olabilir. Deneysel çalışmalar, etkileyici köpürme özellikleri nedeniyle FTPİ'nin marshmallow, kahve beyazlatıcılar, kekler, çırpılmış soslar gibi gıda ürünlerinde potansiyeli olabileceğini desteklemektedir. Günümüzde gıdaların bu özellikleri insanların dikkatini bitkisel protein tüketimine çekebilmektedir (Calderón Bravo vd., 2021; Filip, 2017).

Türkiye'de buğday ve buğdaydan üretilen gıda ürünlerinin tüketimi artmaktadır. Beslenmede çok önemli bir yer işgal eden buğdaydan üretilen gıda ürünlerinden biri de ekmeçtir. Ekmekte bulunan protein miktarı günlük gereksinimin 50 'sini oluşturmaktadır (Yılmazaslan, 2008). Glutensiz ekmeğin de protein içeriğini artırmak için birçok çalışma yapılmış ve bu çalışmalarda glutensiz ekmeğe doğal katkı maddeleri eklenerek ekmeğin protein içeriğinin artırılabilceği, fiziksel ve kimyasal yapısının iyileştirilebileceği gösterilmiştir. Doğal katkı maddelerden biri olan bitki bazlı proteinler, yüksek su tutma kapasitesi gibi fonksiyonel özellikleri nedeniyle

ekmeğin dokusunu ve raf ömrünü de olumlu yönde etkileyebilmektedir (Wang vd., 2017; Roman vd., 2019).

Bu çalışma, glutensiz ekmek yapımına ilişkin yeni bilgilerin geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Fesleğen tohumu proteini ile takviye edilmiş glutensiz ekmek yapımının teknolojik uygulanabilirliği gösterildi. Bu çalışma, glutensiz ekmek formülasyonuna fesleğen tohumu proteinlerinin, glutelin fonksiyonel özelliklerini taklit edebilen bir bileşen olarak %2 ve %10 konsantrasyonlarda eklenebileceğini göstermiştir. Bu katkı seviyesinde, elde edilen sonuçlar, hamurun ve elde edilen ekmeğin teknolojik özelliklerinde bir gelişme olduğunu ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, fesleğen tohumu proteininin glutensiz formülasyonlara dâhil edilmesinin, son ürünün besleyici değeri üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Ticari küreselleşme ve sosyo-ekonomik gelişmeler, günlük hayatımızda besleyici gıda talebini artırmaktadır. Bu süreçte, sağlıklı bir yaşam sürdürmek için insan vücudunun ihtiyaç duyduğu birçok temel besin unsurlarını içeren ve çevreye olumsuz etkisi olmadığı düşünülen bitkisel protein ürünlerine ilgi artmaktadır (Popkin vd., 2017; FAO, 2017). Bu çalışmada yapılan analizler sonucunda fesleğen tohumu protein izolatlarına katma değer sağlayabilecek veriler elde edilmiştir. Fesleğen tohumu protein izolatları fizikokimyasal ve yapısal özellikleri açısından; hamur ve unlu mamuller, et analogları, çorba ve bebek maması gibi gıda sistemlerinde kullanımı için umut verici bir potansiyel gıda bileşeni olabileceğini düşünülmektedir. Ayrıca fesleğen tohumu protein izolatlarının glutensiz ekmeğe dâhil edilmesi, yalnızca beslenme kalitesini iyileştirmekle kalmayacak, aynı zamanda bir protein bileşeni olarak kullanıldığında, gıda ürünlerde beslenme açısından yüksek protein ve maliyet açısından uygun protein kaynağı sağlayabilmesi mümkün olabilecektir. Bu protein kaynağının yüksek konsantrasyonlarda ürün kalitesini olumsuz etkilemeden kullanılabilir olması umut vericidir.

KAYNAKÇA

- Abbas, R. J. (2010). Effect of using fenugreek, parsley and sweet basil seeds as feed additives on the performance of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 9(3): 278-282.
- Adenekan, M. K., Fadimu, G. J., Odunmbaku, L. A., and Oke, E. K. (2018). Effect of isolation techniques on the characteristics of pigeon pea (*Cajanus cajan*) protein isolates. *Food Sci Nutr*, 6: 146–152.
- Adigüzel, A., Güllüce, M., Şengül, M., Ögütçü, H., Şahin, F., and Karaman, İ. (2005). Antimicrobial effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae) extract. *Turkish Journal of Biology*, 29(3): 155-160.
- Afifah, B. S. S. N. H., and Gan, C. Y. (2016). Antioxidative and amylase inhibitor peptides from basil seeds. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 22(1): 3-10.
- Al Abbasy, D. W., Pathare, N., Al-Sabahi, J. N., and Khan, S. A. (2015). Chemical composition and antibacterial activity of essential oil isolated from Omani basil (*Ocimum basilicum* Linn.). *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 5(8): 645-649.
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2002). The shape and structure of proteins. In *Molecular Biology of the Cell. 4th edition*. Garland Science, New York.

- Alsaman, F. B., Tulbek, M., Nickerson, M., and Ramaswamy, H. S. (2020). Evaluation and optimization of functional and antinutritional properties of aquafaba. *Legume Science*, 2(2): e30.
- Aly, M. M., & Seleem, H. A. (2015). Gluten-free flat bread and biscuits production by cassava, extruded soy protein and pumpkin powder. *Food and Nutrition Sciences*, 6(7): 660.
- American Association of Cereal Chemists and American Association of Cereal Chemists. Approved Methods Committee. (1983). Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists. AACC.
- Amor, G., Sabbah, M., Caputo, L., Idbella, M., De Feo, V., Porta, R., ... and Mauriello, G. (2021). Basil essential oil: Composition, antimicrobial properties, and microencapsulation to produce active chitosan films for food packaging. *Foods*, 10(1): 121.
- Arendt, E. K., Morrissey, A., Moore, M. M., and Dal Bello, F. (2008). Gluten-free breads. In *Gluten-free cereal products and beverages* (pp. 289-VII). Academic Press, Department of Crops Technology Research, Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, Egypt.
- Arendt, E. K., O'Brien, C. M., and Gormley, T. R. (2002). Development of gluten-free cereal products (pp. 65-72). Journal Article, *Agriculture and Food Science Research Collection*, UCD Dublin, ABD.
- Arici, M. (2014). Clinical assessment of a patient with chronic kidney disease. In *Management of Chronic Kidney Disease* (pp. 15-28). Springer, Berlin, Heidelberg, Almanyia.
- Armero, E., & Collar, C. (1997). Texture properties of formulated wheat doughs Relationships with dough and bread technological quality. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-forschung A*, 204(2), 136-145.

- Arunkumar, R., Drummond, C. J., and Greaves, T. L. (2019). FTIR spectroscopic study of the secondary structure of globular proteins in aqueous protic ionic liquids. *Frontiers in Chemistry*, 7: 74.
- Aryee, A. N. A., Agyei, D., and Udenigwe, C. C. (2018). Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In *Proteins in food processing* (pp. 27-45). Woodhead Publishing, İngiltere.
- Asgar, M., Fazilah, A., Huda, N., Bhat, R., and Karim, A. A. (2010). Nonmeat protein alternatives as meat extenders and meat analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9(5): 513-529.
- Astawan, M., & Prayudani, A. P. (2020). The overview of food technology to process soy protein isolate and its application toward food industry. *World Nutrition Journal*, 4(1-1): 12-17.
- Athari, S. M., Nasab, E. M., and Athari, S. S. (2018). Study effect of *Ocimum basilicum* seeds on mucus production and cytokine gene expression in allergic asthma mice model. *Revue Française d'Allergologie*, 58(7): 489-493.
- Avanza, M. V., and Añón, M. C. (2007). Effect of thermal treatment on the proteins of amaranth isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87(4): 616-623.
- Avlani, D., Agarwal, V., Khattry, V., Biswas, G. R., and Majee, S. B. (2019). Exploring properties of sweet basil seed mucilage in development of pharmaceutical suspensions and surfactant free stable emulsions. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 11: 124-129.
- Awuchi, C. G., Igwe, V. S., and Echeta, C. K. (2019). The functional properties of foods and flours. *International Journal of Advanced Academic Research*, 5(11): 139-160.
- Baianua, I. C., Youa, T., Costescuac, D. M., Lozanoa, P. R., and Prisecarua, V. (2004). High-resolution nuclear magnetic resonance and near-infrared determination of soybean oil, protein. *Oil Extraction and Analysis: Critical Issues and Competitive Studies*, 193.

- Barth, A. (2007). Barth, A. (2007). Infrared spectroscopy of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1767(9): 1073-1101.
- Belc, N., Duta, D. E., Culetu, A., and Stamatie, G. D. (2021). Type and amount of legume protein concentrate influencing the technological, nutritional, and sensorial properties of wheat bread. *Applied Sciences*, 11(1): 436.
- Ben-Ali, M., Dhouib, K., Damak, M., and Allouche, N. (2014). Stabilization of sunflower oil during accelerated storage: use of basil extract as a potential alternative to synthetic antioxidants. *International Journal of Food Properties*, 17(7): 1547-1559.
- Berger, A. (2000). Th1 and Th2 responses: what are they? *Bmj*, 321(7258): 424.
- Betalalleluz-Pallardel, I., Inga, M., Mera, L., Pedreschi, R., Campos, D., and Chirinos, R. (2017). Optimisation of extraction conditions and thermal properties of protein from the Andean pseudocereal cañihua (*Chenopodium pallidicaule* Aellen). *International Journal of Food Science and Technology*, 52(4): 1026-1034.
- Bookwalter, G. N. (1978). Soy protein utilization in food systems. In *Nutritional Improvement of Food and Feed Proteins* (pp. 749-766). Springer, Boston, MA, ABD.
- Boye, J. I., and Barbana, C. (2012). Protein processing in food and bioproduct manufacturing and techniques for analysis. *Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing*, 10: 9781119946083.
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International*, 43(2): 414-431.
- Cakaloglu, B., Ozyurt, V. H., and Otles, S. (2018). Cold press in oil extraction. A review. *Ukrainian Food Journal*, 7(4): 640-654.

- Calderón Bravo, H., Vera Céspedes, N., Zura-Bravo, L., and Muñoz, L. A. (2021). Basil seeds as a novel food, source of nutrients and functional ingredients with beneficial properties: A Review. *Foods*, 10(7): 1467.
- Candan, T., & Bağdatlı, A. (2017). Use of natural antioxidants in poultry meat. *Celal Bayar University Journal of Science*, 13(2): 279-291.
- Cano-Medina, A., Jiménez-Islas, H., Dendooven, L., Herrera, R. P., González-Alatorre, G., and Escamilla-Silva, E. M. (2011). Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44(3): 684-692.
- Carocho, M., Morales, P., and Ferreira, I. C. (2015). Natural food additives: Quo vadis? *Trends in Food Science and Technology*, 45(2): 284-295.
- Cebra, C., Anderson, D. E., Tibary, A., Van Saun, R. J., and Johnson, L. W. (2014). *Llama and Alpaca Care-E-Book: Medicine, Surgery, Reproduction, Nutrition, and Herd Health*. Elsevier Health Sciences. Philadelphia, Pennsylvania, ABD.
- Chakrabarti, S., Guha, S., and Majumder, K. (2018). Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities. *Nutrients*, 10(11): 1738.
- Chang, Y. W., Alli, I., Molina, A. T., Konishi, Y., and Boye, J. I. (2012). Isolation and characterization of chickpea (*Cicer arietinum L.*) seed protein fractions. *Food and Bioprocess Technology*, 5(2): 618-625.
- Chaudhary, S., Semwal, A., Kumar, H., Verma, H. C., and Kumar, A. (2016). *In-vivo* study for anti-hyperglycemic potential of aqueous extract of Basil seeds (*Ocimum basilicum Linn*) and its influence on biochemical parameters, serum electrolytes and haematological indices. *Biomedicine Pharmacotherapy*, 84: 2008-2013.
- Chavan, U. D., McKenzie, D. B., and Shahidi, F. (2001). Functional properties of protein isolates from beach pea (*Lathyrus maritimus L.*). *Food Chemistry*, 74(2): 177-187.
- Chiang, L. C., Ng, L. T., Cheng, P. W., Chiang, W., and Lin, C. C. (2005). Antiviral activities of extracts and selected pure constituents of *Ocimum basilicum*. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32(10): 811-816.

- Choi, J. Y., Heo, S., Bae, S., Kim, J., and Moon, K. D. (2020). Discriminating the origin of basil seeds (*Ocimum basilicum* L.) using hyperspectral imaging analysis. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 118: 108715.
- Cohen, J. E. (2003). Human population: the next half century. *Science*, 302(5648): 1172-1175.
- Cordero-De-Los-Santos, M. Y., Osuna-Castro, J. A., Borodanenko, A., and Paredes-López, O. (2005). Physicochemical and functional characterisation of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) protein isolates obtained by isoelectric precipitation and micellisation. *Food science and Technology International*, 11(4): 269-280.
- Coşkun, Ö., Çakır, B., Vahapoğlu, B., and Gülseren, İ. (2019). Influence of extraction conditions on structural and functional characteristics of black cumin protein concentrates and ACE-inhibition in their hydrolyzates. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3): 2328-2338.
- Coşkun, Ö., Pehlivanoglu, H., and Gülseren, İ. (2020). Pilot scale assessment for seed protein enrichment of gluten-free breads at varying water content levels and after protein modification treatments. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(7): e14512.
- Crockett, R., Ie, P., and Vodovotz, Y. (2011). Effects of soy protein isolate and egg white solids on the physicochemical properties of gluten-free bread. *Food Chemistry*, 129(1): 84-91.
- Çakmakçı, S., and Gökalp, H. Y. Gıdalarda kısaca oksidasyon; antioksidantlar ve gıda sanayiinde kullanımları. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 23(2).
- Damodaran, S., and Parkin, K. L. (2017). Amino acids, peptides, and proteins. In *Fennema's food chemistry* (pp. 235-356). CRC Press, Boca Raton, Florida, ABD.

- Danlami, J. M., Arsad, A., Zaini, M. A. A., and Sulaiman, H. (2014). A comparative study of various oil extraction techniques from plants. *Reviews in Chemical Engineering*, 30(6): 605-626.
- Decker, E. A., Elias, R. J., and McClements, D. J. (Eds.). (2010). *Oxidation in foods and beverages and antioxidant applications: Understanding mechanisms of oxidation and antioxidant activity*. Woodhead Publishing, Sawston, İngiltere.
- Deepachandi, B., Weerasinghe, S., Andrahennadi, T. P., Karunaweera, N. D., Wickramarachchi, N., Soysa, P., and Siriwardana, Y. (2020). Quantification of soluble or insoluble fractions of *Leishmania* parasite proteins in microvolume applications: a simplification to standard lowry assay. *International Journal of Analytical Chemistry*.
- DeFronzo, R. A., Tobin, J. D., and Andres, R. (1979). Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *American Journal of Physiology-Endocrinology And Metabolism*, 237(3): E214.
- Denyer, S. P., and Maillard, J. Y. (2002). Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 92: 35S-45S.
- Durmic, Z., and Blache, D. (2012). Bioactive plants and plant products: Effects on animal function, health and welfare. *Animal feed science and technology*, 176(1-4): 150-162.
- Ekmekci, H. (2013). *Fesleğen (Ocimum basilicum L.) bitkisinde in vitro doku kültürü çalışmaları* (Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Eltayeb, A. R. S., Ali, A. O., Abou-Arab, A. A., and Abu-Salem, F. M. (2011). Chemical composition and functional properties of flour and protein isolate extracted from Bambara groundnut (*Vigna subterranean*). *African Journal of Food Science*, 5(2): 82-90.

- Erdemir, Z. Ş. (2015). *ısıtıl işlem görmüş bakla ezme tozunun ekmek yapımında kullanımı ve kalite kriterleri üzerine etkisinin belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi) Pamukkale Üniversitesi, Denizli.
- Ergul, A., Kelly-Cobbs, A., Abdalla, M., and C Fagan, S. (2012). Cerebrovascular complications of diabetes: focus on stroke. *Endocrine, Metabolic and Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine ve Metabolic Disorders)*, 12(2): 148-158.
- Ertaş, N., and Doğruer, Y. (2010). Besinlerde tekstür. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 7(1): 35-42.
- Fadda, C., Sanguinetti, A. M., Del Caro, A., Collar, C., and Piga, A. (2014). Bread staling: Updating the view. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 13(4): 473-492.
- Ferhat, M. A., Meklati, B. Y., and Chemat, F. (2007). Comparison of different isolation methods of essential oil from Citrus fruits: cold pressing, hydrodistillation and microwave 'dry' distillation. *Flavour and Fragrance Journal*, 22(6): 494-504.
- Filip, S. (2017). Basil (*Ocimum basilicum L.*) a source of valuable phytonutrients. *Int. J. Clin. Nutr. Diet*, 3: 118.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations 2017. The future of food and agriculture: trends and challenges, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, İtalya.
- Food and Agriculture Organization of the United States. (2013). The state of food insecurity in the world, 2013: The multiple dimensions of food security. Food and Agricultural Organization of the United Nations.
- Forde, C. G., and Delahunty, C. M. (2004). Understanding the role cross-modal sensory interactions play in food acceptability in younger and older consumers. *Food Quality and Preference*, 15(7-8): 715-727.

- Fortenberry, R. C., and Lee, T. J. (2019). Computational vibrational spectroscopy for the detection of molecules in space. In *Annual Reports in Computational Chemistry* (Vol. 15, pp. 173-202). Elsevier, Amsterdam, Hollanda.
- Gaio, I., Saggiolato, A. G., Treichel, H., Cichoski, A. J., Astolfi, V., Cardoso, R. I., ... and Cansian, R. L. (2015). Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 10(4): 323-329.
- Gajendiran, A., Thangaraman, V., Thangamani, S., Ravi, D., and Abraham, J. (2016). Antimicrobial, antioxidant and anticancer screening of *Ocimum basilicum* seeds. *Bulletin of Pharmaceutical Research*, 6(3): 114-9.
- Gallagher, E., Gormley, T. R., and Arendt, E. K. (2003). Crust and crumb characteristics of gluten free breads. *Journal of Food Engineering*, 56(2-3): 153-161.
- Gallagher, S. R. (2012). One-dimensional SDS gel electrophoresis of proteins. *Current Protocols in Molecular Biology*, 97(1): 10-2.
- Grancieri, M., Martino, H. S. D., and de Mejia, E. G. (2019). Digested total protein and protein fractions from chia seed (*Salvia hispanica* L.) had high scavenging capacity and inhibited 5-LOX, COX-1-2, and iNOS enzymes. *Food Chemistry*, 289: 204-214.
- Guimarães, R. D. C. A., Favaro, S. P., Souza, A. D. V. D., Soares, C. M., Nunes, Â. A., Oliveira, L. C. S. D., and Honer, M. R. (2012). Thermal properties of defatted meal, concentrate, and protein isolate of baru nuts (*Dipteryx alata* Vog.). *Food Science and Technology*, 32(1): 52-55.
- Guo, X., Sun, X., Zhang, Y., Wang, R., and Yan, X. (2018). Interactions between soy protein hydrolyzates and wheat proteins in noodle making dough. *Food Chemistry*, 245: 500-507.
- Hames, B. D. (Ed.). (1998). *Gel electrophoresis of proteins: a practical approach* (Vol. 197). OUP Oxford.

- Haque, M. A., Timilsena, Y. P., and Adhikari, B. (2016). Food proteins, structure, and function. *Reference Module in Food Science; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands*, 1-8.
- Hastreiter, A. A., Dos Santos, G. G., Santos, E. W. C., Makiyama, E. N., Borelli, P., and Fock, R. A. (2020). Protein malnutrition impairs bone marrow endothelial cells affecting hematopoiesis. *Clinical Nutrition*, 39(5): 1551-1559.
- He, W., Xiao, N., Zhao, Y., Yao, Y., Xu, M., Du, H., ... and Tu, Y. (2021). Effect of polysaccharides on the functional properties of egg white protein: A review. *Journal of Food Science*, 86(3): 656-666.
- He, W., Xiao, N., Zhao, Y., Yao, Y., Xu, M., Du, H., ... and Tu, Y. (2021). Effect of polysaccharides on the functional properties of egg white protein: A review. *Journal of Food Science*, 86(3): 656-666.
- Hertzler, S. R., Lieblein-Boff, J. C., Weiler, M., and Allgeier, C. (2020). Plant proteins: Assessing their nutritional quality and effects on health and physical function. *Nutrients*, 12(12): 3704.
- Hoffman, J. R., and Falvo, M. J. (2004). Protein—which is best? *Journal of Sports Science and Medicine*, 3(3): 118.
- Horbańczuk, O. K., Kurek, M. A., Atanasov, A. G., Brnčić, M., and Brnčić, S. R. (2019). The effect of natural antioxidants on quality and shelf life of beef and beef products. *Food Technology and Biotechnology*, 57(4): 439.
- Horstmann, S. W., Foschia, M., and Arendt, E. K. (2017). Correlation analysis of protein quality characteristics with gluten-free bread properties. *Food and Function*, 8(7): 2465-2474.
- Hosseini-Parvar, S. H., Matia-Merino, L., and Golding, M. (2015). Effect of basil seed gum (BSG) on textural, rheological and microstructural properties of model processed cheese. *Food Hydrocolloids*, 43: 557-567.

- Hussain, N., Ishak, I., Abdullah, M. F., Abd Rauh, A., and Azhar, N. (2019). Water soluble hydrocolloid from basil seed (*Ocimum basilicum L.*) mucilage. *Malaysian Applied Biology*, 48(2): 97-101.
- Israr, T., Rakha, A., Rashid, S., Shehzad, A., Ahmed, W., and Sohail, M. (2017). Effect of basil seed gum on physico-chemical and rheological properties of bread. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5): e13128.
- Iwaniak, A., Darewicz, M., and Minkiewicz, P. (2018). Peptides derived from foods as supportive diet components in the prevention of metabolic syndrome. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(1): 63-81.
- Jahejo, A. R., Rajput, N., Wen-xia, T., Naeem, M., Kalhoro, D. H., Kaka, A., ... and Jia, F. J. (2019). Immunomodulatory and growth promoting effects of basil (*Ocimum basilicum*) and ascorbic acid in heat stressed broiler chickens. *Pakistan Journal of Zoology*, 51(3): 801.
- Ji, Y. Y., & Li, Y. Q. (2010). The role of secondary structure in protein structure selection. *The European Physical Journal E*, 32(1): 103-107.
- Ji, Y., Yang, X., Ji, Z., Zhu, L., Ma, N., Chen, D., ... and Cao, Y. (2020). DFT-calculated IR spectrum amide I, II, and III band contributions of N-methylacetamide fine components. *ACS omega*, 5(15): 8572-8578.
- Johansson, M. E., and Hansson, G. C. (2016). Immunological aspects of intestinal mucus and mucins. *Nature Reviews Immunology*, 16(10): 639-649.
- Jones, R. N., Ramsay, D. A., Keir, D. S., and Dobriner, K. (1952). The intensities of carbonyl bands in the infrared spectra of Steroids¹. *Journal of the American Chemical Society*, 74(1): 80-88.

- Joshi, M., Adhikari, B., Aldred, P., Panozzo, J. F., and Kasapis, S. (2011). Physicochemical and functional properties of lentil protein isolates prepared by different drying methods. *Food chemistry*, 129(4): 1513-1522.
- Kadan, S., Saad, B., Sasson, Y., and Zaid, H. (2016). *In vitro* evaluation of anti-diabetic activity and cytotoxicity of chemically analysed *Ocimum basilicum* extracts. *Food chemistry*, 196: 1066-1074.
- Kahl, R., and Kappus, H. (1993). Toxicology of the synthetic antioxidants BHA and BHT in comparison with the natural antioxidant vitamin E. *Zeitschrift fur Lebensmittel-untersuchung und-forschung*, 196(4): 329-338.
- Kaushik, P., Dowling, K., McKnight, S., Barrow, C. J., Wang, B., and Adhikari, B. (2016). Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate. *Food Chemistry*, 197: 212-220.
- Kemnitz, C. R., and Loewen, M. J. (2007). "Amide resonance" correlates with a breadth of C– N rotation barriers. *Journal of the American Chemical Society*, 129(9): 2521-2528.
- Khajehpour, M., Dashnau, J. L., and Vanderkooi, J. M. (2006). Infrared spectroscopy used to evaluate glycosylation of proteins. *Analytical Biochemistry*, 348(1): 40-48.
- Khaliq, R., Tita, O., and Sand, C. (2017). A comparative study between seeds of sweet basil and psyllium on the basis of proximate analysis. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering and Rural Development*, 17: 189-194.
- Kim, S. Y., Hyeonbin, O., Lee, P., and Kim, Y. S. (2020). The quality characteristics, antioxidant activity, and sensory evaluation of reduced-fat yogurt and nonfat yogurt supplemented with basil seed gum as a fat substitute. *Journal of Dairy Science*, 103(2): 1324-1336.
- Kinsella, J. E., & Melachouris, N. (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7(3): 219-280.

- Kneifel, W., Paquin, P., Abert, T., and Richard, J. P. (1991). Water-holding capacity of proteins with special regard to milk proteins and methodological aspects—A review. *Journal of Dairy Science*, 74(7): 2027-2041.
- Kong, J., and Yu, S. (2007). Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8): 549-559.
- Krimm, S., and Bandekar, J. (1986). Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides, and proteins. *Advances in Protein Chemistry*, 38: 181-364.
- Kutzli, I., Weiss, J., and Gibis, M. (2021). Glycation of plant proteins via maillard reaction: reaction chemistry, technofunctional properties, and potential food application. *Foods*, 10(2): 376.
- Lachowicz, K. J., Jones, G. P., Briggs, D. R., Bienvenu, F. E., Wan, J., Wilcock, A., and Coventry, M. J. (1998). The synergistic preservative effects of the essential oils of sweet basil (*Ocimum basilicum L.*) against acid-tolerant food microflora. *Letters in Applied Microbiology*, 26(3): 209-214.
- Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., and Romero, A. (2016). Pea, chickpea and lentil protein isolates: Physicochemical characterization and emulsifying properties. *Food Biophysics*, 11(1): 43-51.
- Lafarga, T. (2018). Potential applications of plant-derived proteins in the food industry. *Novel Proteins for Food. Pharmaceuticals and Agriculture*, 117-137, New York, ABD.
- Lam, A. C. Y., Warkentin, T. D., Tyler, R. T., and Nickerson, M. T. (2017). Physicochemical and functional properties of protein isolates obtained from several pea cultivars. *Cereal Chemistry*, 94(1): 89-97.
- Lam, R. S., and Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: a review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141(2): 975-984.
- Lee, C. H., and Chin, K. B. (2017). Development of low-fat sausages using basil seed gum (*Ocimum basilicum L.*) and gelatin as a fat replacer. *International Journal of Food Science and Technology*, 52(3): 733-740.

- Li, H., Ge, Y., Luo, Z., Zhou, Y., Zhang, X., Zhang, J., and Fu, Q. (2017). Evaluation of the chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of distillate and residue fractions of sweet basil essential oil. *Journal of Food Science and Technology*, 54(7): 1882-1890.
- Li-Chan, E. C. Y., and Lacroix, I. M. E. (2018). Properties of proteins in food systems: an introduction. In *Proteins in Food Processing* (pp. 1-25). Woodhead Publishing, İngiltere.
- Li-Chan, E. C. Y., and Ma, C. Y. (2002). Thermal analysis of flaxseed (*Linum usitatissimum*) proteins by differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77(4): 495-502.
- Lock, J. L., and Board, R. G. (1995). The influence of acidulants and oils on autosterilization of home-made mayonnaise. *Food Research International*, 28(6): 569-572.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., and Darnell, J. (2000). Hierarchical structure of proteins. In *Molecular Cell Biology*. 4th edition. WH Freeman, ABD.
- López, A. C. B., Pereira, A. J. G., and Junqueira, R. G. (2004). Flour mixture of rice flour, corn and cassava starch in the production of gluten-free white bread. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 47: 63-70.
- López, D. N., Galante, M., Raimundo, G., Spelzini, D., and Boeris, V. (2019). Functional properties of amaranth, quinoa and chia proteins and the biological activities of their hydrolyzates. *Food Research International*, 116: 419-429.
- López, D. N., Ingrassia, R., Busti, P., Bonino, J., Delgado, J. F., Wagner, J., ... and Spelzini, D. (2018). Structural characterization of protein isolates obtained from chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. *Food Science and Technology*, 90: 396-402.
- Loveday, S. M. (2019). Food proteins: technological, nutritional, and sustainability attributes of traditional and emerging proteins. *Annual Review of Food Science and Technology*, 10: 311-339.

- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., and Randall, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- Makeri, M. U., Mohamed, S. A., Karim, R., Ramakrishnan, Y., and Muhammad, K. (2017). Fractionation, physicochemical, and structural characterization of winged bean seed protein fractions with reference to soybean. *International Journal of Food Properties*, 20(sup2): 2220-2236.
- Malapermal, V., Mbatha, J. N., Gengan, R. M., and Anand, K. (2015). Biosynthesis of bimetallic Au-Ag nanoparticles using *Ocimum basilicum* (L.) with antidiabetic and antimicrobial properties. *Advanced materials letters*, 6 (12):1050-1057.
- Marco, C., and Rosell, C. M. (2008). Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. *European Food Research and Technology*, 227(4): 1205-1213.
- Mariotti, F., and Gardner, C. D. (2019). Dietary protein and amino acids in vegetarian diets—A review. *Nutrients*, 11(11): 2661.
- Martínez-Flores, H. E., Barrera, E. S., Garnica-Romo, M. G., Penagos, C. J. C., Saavedra, J. P., and Macazaga-Alvarez, R. (2006). Functional characteristics of protein flaxseed concentrate obtained applying a response surface methodology. *Journal of Food Science*, 71(8): C495-C498.
- McAnelly, J. K. (1994, January). HACCP: A total quality system for assuring food safety and quality. In *Proceedings of Annual Reliability and Maintainability Symposium (RAMS)* (pp. 31-36). Institute of electrical and electronics engineers, Piscataway, New Jersey, ABD.
- Meng, Y., and Cloutier, S. (2014). Gelatin and other proteins for microencapsulation. In *Microencapsulation in the food industry* (pp. 227-239). Academic Press, DSM Nutritional Products, Dartmouth, Nova Scotia, Kanada.
- Méx, B. S. Q. (2008). Emulsifying properties of proteins. *Boletín de la Sociedad*, 2(2): 80-89.

- Mitić-Ćulafić, D. S., Pavlović, M., Ostojić, S., and Knezević-Vukčević, J. (2014). Antimicrobial effect of natural food preservatives in fresh basil-based pesto spreads. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3): 1298-1306.
- Mohammed, N. K., Manap, A., Yazid, M., Tan, C. P., Muhialdin, B. J., Alhelli, A. M., and Meor Hussin, A. S. (2016). The effects of different extraction methods on antioxidant properties, chemical composition, and thermal behavior of black seed (*Nigella sativa L.*) oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Hindawi Publishing Corporation (Hindawi), Londra, İngeltire.
- Moradi, F., Emamifar, A., and Ghaderi, N. (2019). Effect of basil seed gum based edible coating enriched with echinacea extract on the postharvest shelf life of fresh strawberries. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(3): 1852-1863.
- Moreno-Macias, H., and Romieu, I. (2014). Effects of antioxidant supplements and nutrients on patients with asthma and allergies. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(5): 1237-1244.
- Munir, M., Qayyum, A., Raza, S., Siddiqui, N. R., Mumtaz, A., Safdar, N., ... and Bashir, S. (2017). Nutritional assessment of basil seed and its utilization in development of value added beverage. *Pakistan Journal of Agricultural Research*, 30(3): 266-271.
- Müller, O., and Krawinkel, M. (2005). Malnutrition and health in developing countries. *Canadian Medical Association Journal* 173(3): 279-286.
- Nasrabadi, M. N., Doost, A. S., and Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids* 118, 106789.
- Nazir, S., and Wani, I. A. (2021). Physicochemical characterization of basil (*Ocimum basilicum L.*) seeds. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 22: 100295.

- Nazir, S., Wani, I. A., and Masoodi, F. A. (2017). Extraction optimization of mucilage from Basil (*Ocimum basilicum L.*) seeds using response surface methodology. *Journal of Advanced Research*, 8(3): 235-244.
- Nham Tran, T. L., Miranda, A. F., Mouradov, A., and Adhikari, B. (2020). Physicochemical characteristics of protein isolated from thraustochytrid oilcake. *Multidiscipliner Digital Publishing Institute, Foods*, 9(6): 779.
- Nowakowski, A. B., Wobig, W. J., and Petering, D. H. (2014). Native SDS-PAGE: high resolution electrophoretic separation of proteins with retention of native properties including bound metal ions. *Metallomics*, 6(5): 1068-1078.
- Nychas, G. E., and Panagou, E. (2011). Microbiological spoilage of foods and beverages. In *Food and beverage stability and shelf life* (pp. 3-28). Woodhead Publishing, İngiltere.
- Nylander, T., Arnebrant, T., Cárdenas, M., Bos, M., and Wilde, P. (2019). Protein/emulsifier interactions. In *Food emulsifiers and their applications* (pp. 101-192). Springer, Cham, Berlin, Almanya.
- Olivos-Lugo, B. L., Valdivia-López, M. Á., and Tecante, A. (2010). Thermal and physicochemical properties and nutritional value of the protein fraction of Mexican chia seed (*Salvia hispanica L.*). *Food Science and Technology International*, 16(1): 89-96.
- Opalchenova, G., and Obreshkova, D. (2003). Comparative studies on the activity of basil—an essential oil from *Ocimum basilicum L.*—against multidrug resistant clinical isolates of the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. *Journal of Microbiological Methods*, 54(1): 105-110.
- Osborne, T. B. (1913). The nutritive value of the proteins of maize. *Science*, 37(944): 185-191.
- Osei Akoto, C., Acheampong, A., Boakye, Y. D., Naazo, A. A., and Adomah, D. H. (2020). Anti-inflammatory, antioxidant, and anthelmintic activities of *Ocimum*

basilicum (Sweet Basil) fruits. *Journal of Chemistry, Hindawi Publishing Corporation, Londra, İngeltire.*

Oude Vrielink, A. S., Aloï, A., Olijve, L. L., and Voets, I. K. (2016). Interaction of ice binding proteins with ice, water and ions. *Biointerphases*, 11(1): 018906.

Owusu-Apenten, R. K. (2004). Testing protein functionality. *Proteins in food processing*, 217-244.

Papuc, C., Goran, G. V., Predescu, C. N., and Nicorescu, V. (2017). Mechanisms of oxidative processes in meat and toxicity induced by postprandial degradation products: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1): 96-123.

Park, S. N., Lim, Y. K., Freire, M. O., Cho, E., Jin, D., and Kook, J. K. (2012). Antimicrobial effect of linalool and α -terpineol against periodontopathic and cariogenic bacteria. *Anaerobe*, 18(3): 369-372.

Patil, D. D., Mhaske, D. K., and Wadhawa, G. C. (2011). Antibacterial and Antioxidant study of *Ocimum basilicum Labiatae* (sweet basil). *Journal of Advanced Pharmacy Education and Research*, 2: 104-112.

Petruzzi, L., Campaniello, D., Speranza, B., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., and Bevilacqua, A. (2017). Thermal treatments for fruit and vegetable juices and beverages: A literature overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4): 668-691.

Pojić, M., Mišan, A., and Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science and Technology*, 75: 93-104.

Pushpangadan, P., and George, V. (2012). Basil. In *Handbook of Herbs and Spices* (pp. 55-72). Woodhead Publishing, İngiltire.

Popkin, B. M., Adair, L. S., & Ng, S. W. (2017). NOW AND THEN: The Global Nutrition Transition: The Pandemic of Obesity in Developing Countries. *Nutrition Reviews*, 58 (1), 1–10.

- Rattanachaikunsopon, P., and Phumkhachorn, P. (2010). Antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum*) oil against *Salmonella enteritidis* in vitro and in food. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 74(6): 1200-1204.
- Raw, P. (2012). Composition of Foods Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 25. *United States Department of Agriculture (USDA)*.
- Regenstein, J. (2012). *Food protein chemistry: an introduction for food scientists*. Elsevier, Cambridge, Massachusetts, ABD.
- Rezapour, R., Ghiassi Tarzi, B., and Movahed, S. (2016). The effect of adding sweet basil seed powder (*Ocimum basilicum* L.) on rheological properties and staling of baguette bread. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 6(2): 41-46.
- Richter, C. K., Skulas-Ray, A. C., Champagne, C. M., and Kris-Etherton, P. M. (2015). Plant protein and animal proteins: do they differentially affect cardiovascular disease risk? *Advances in Nutrition*, 6(6): 712-728.
- Riveros, C. G., Nepote, V., and Grosso, N. R. (2016). Thyme and basil essential oils included in edible coatings as a natural preserving method of oilseed kernels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1): 183-191.
- Roman, L., Belorio, M., and Gomez, M. (2019). Gluten-free breads: The gap between research and commercial reality. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18(3): 690-702.
- Ruiz, G. A., Arts, A., Minor, M., and Schutyser, M. (2016). A hybrid dry and aqueous fractionation method to obtain protein-rich fractions from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Food and Bioprocess Technology*, 9(9): 1502-1510.
- Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., and Carciofi, B. A. M. (2020). Food processing for the improvement of plant proteins digestibility. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(20): 3367-3386.

- Saeed, F., Afzaal, M., Tufail, T., and Ahmad, A. (2019). Use of natural antimicrobial agents: a safe preservation approach. *Active Antimicrobial Food Packaging*, 18(0).
- Saint-Denis, T., and Goupy, J. (2004). Optimization of a nitrogen analyser based on the Dumas method. *Analytica Chimica Acta*, 515(1): 191-198.
- Sakkas, H., Gousia, P., Economou, V., Sakkas, V., Petsios, S., and Papadopoulou, C. (2016). *In vitro* antimicrobial activity of five essential oils on multidrug resistant Gram-negative clinical isolates. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(3): 212.
- Sandoval-Oliveros, M. R., and Paredes-López, O. (2013). Isolation and characterization of proteins from chia seeds (*Salvia hispanica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(1): 193-201.
- Segura-Campos, M. R. (2019). Isolation and functional characterization of chia (*Salvia hispanica*) proteins. *Food Science and Technology*, 40: 334-339.
- Shahidi, F., and Zhong, Y. (2007). Measurement of antioxidant activity in food and biological systems. *Journal of Functional Foods* Volume 18, Part B, Pages 757-781.
- Shahrajabian, M. H., Sun, W., and Cheng, Q. (2020). Chemical components and pharmacological benefits of Basil (*Ocimum basilicum*): a review. *International Journal of Food Properties*, 23(1): 1961-1970.
- Sharafati Chaleshtori, R., Rokni, N., Rafieian-Kopaei, M., Deris, F., and Salehi, E. (2015). Antioxidant and antibacterial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil in beef burger. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17(4): 817-826.
- Sheehan, J. K., Kesimer, M., and Pickles, R. (2007, January). Innate immunity and mucus structure and function. In *Novartis Found Symp* (Vol. 279, pp. 155-166).
- Sigma, "Total protein kit, micro lowry, peterson's modification, product information," Patent no. WO2017063074, 2019,

<https://www.sigmaaldrich.com/content/dam/sigmaaldrich/docs/Sigma/Bulletin/tp0300bul.pdf>, 2021.

- Šimurina, O., Filipčev, B., Belić, Z., Jambrec, D., Krulj, J., Brkljača, J., and Pestorić, M. (2016). The influence of plant protein on the properties of dough and the quality of wholemeal spelt bread. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 8(2): 107-111.
- Singla, P., Sharma, S., and Singh, S. (2017). Amino acid composition, protein fractions and electrophoretic analysis of seed storage proteins in lupins. *Indian Journal of Agricultural Biochemistry*, 30(1): 33-40.
- Song, K. Y., Joung, K. Y., Shin, S. Y., and Kim, Y. S. (2017). Effects of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Seed mucilage substituted for fat source in sponge cake: physicochemical, structural, and retrogradation properties. *Italian Journal of Food Science*, 29(4).
- Sozer, N., Melama, L., Silbir, S., Rizzello, C. G., Flander, L., & Poutanen, K. (2019). Lactic acid fermentation as a pre-treatment process for faba bean flour and its effect on textural, structural and nutritional properties of protein-enriched gluten-free faba bean breads. *Multidiscipliner Digital Publishing Institute, Foods*, 8(10), 431.
- Söderberg, J. (2013). Functional properties of legume proteins compared to egg proteins and their potential as egg replacers in vegan food. (Gıda Bilimleri Projesi). *Faculty of Natural Resources and Agriculture Sciences, Swedish University Of Agricultural Sciences, İsveç*.
- Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., Cvetkovic, D. J., and Cakic, M. D. (2017). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6): 1557-1569.
- Storck, C. R., da Rosa Zavareze, E., Gularte, M. A., Elias, M. C., Rosell, C. M., and Dias, A. R. G. (2013). Protein enrichment and its effects on gluten-free bread characteristics. *Food Science and Technology*, 53(1): 346-354.

- Sun, M., Mu, T., Zhang, M., and Arogundade, L. A. (2012). Nutritional assessment and effects of heat processing on digestibility of Chinese sweet potato protein. *Journal of Food Composition and Analysis*, 26(1-2): 104-110.
- Szczesniak, A. S. (1963). Classification of textural characteristics a. *Journal of Food Science*, 28(4): 385-389.
- Thapa, R., Bajimaya, S., Paudyal, G., Khanal, S., Tan, S., Thapa, S. S., and van Rens, G. (2015). Population awareness of diabetic eye disease and age related macular degeneration in Nepal: the Bhaktapur Retina Study. *BMC Ophthalmology*, 15(1): 1-8.
- Timilsena, Y. P., Adhikari, R., Barrow, C. J., and Adhikari, B. (2016). Physicochemical and functional properties of protein isolate produced from Australian chia seeds. *Food Chemistry*, 212: 648-656.
- Toufeili, I. M. A. D., Dagher, S. H. A. W. K. Y., Shadarevian, S. O. S. S. Y., Nouredine, A. B. I. R., Sarakbi, M., and Farran, M. T. (1994). Formulation of gluten-free pocket-type flat breads: Optimization of methylcellulose, gum arabic, and egg albumen levels by response surface methodology. *Cereal Chemistry*, 71(6): 594-600.
- United States Department Of Agriculture Natural Resources Conservation Service. Classification for Kingdom Plantae Down to Species *Ocimum basilicum L.* <https://plants.usda.gov/home/classification/46101>, 2021.
- Venn, B. J. (2020). Macronutrients and human health for the 21st century. *Nutrients*, 12(8): 2363.
- Wang, C., Li, D., Xu, F., Hao, T., and Zhang, M. (2014). Comparison of two methods for the extraction of fractionated rice bran protein. *Journal of Chemistry, Hindawi Publishing Corporation (Hindawi)*, Londra, İngeltire.
- Wang, K., Lu, F., Li, Z., Zhao, L., and Han, C. (2017). Recent developments in gluten-free bread baking approaches: a review. *Food Science and Technology*, 37: 1-9.

- Waszkowiak, K., & Mikołajczak, B. (2020). The effect of roasting on the protein profile and antiradical capacity of flaxseed meal. *Multidisciplinary Digital Publishing Institute, Foods*, 9(10), 1383.
- Waterborg, J. H., and Matthews, H. R. (1994). The Lowry method for protein quantitation. *Basic Protein and Peptide Protocols*: 1-4.
- Witczak, T., Juszczak, L., Ziobro, R., and Korus, J. (2017). Rheology of gluten-free dough and physical characteristics of bread with potato protein. *Journal of Food Process Engineering*, 40(3): e12491.
- Yada, R. Y. (Ed.). (2017). *Proteins in food processing*. Woodhead Publishing, İngiltere.
- Ye, S., Li, H., Yang, W., and Luo, Y. (2014). Accurate determination of interfacial protein secondary structure by combining interfacial-sensitive amide I and amide III spectral signals. *Journal of the American Chemical Society*, 136(4): 1206-1209.
- Yılmazaslan, B. (2008). *Bazı Doğal Katkı Maddelerinin Ekmek Özellikleri Üzerine Etkisi* (Yüksek Lisans Tezi), Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyonkarahisar
- Yimer, E. M., Tuem, K. B., Karim, A., Ur-Rehman, N., and Anwar, F. (2019). *Nigella sativa L.* (black cumin): a promising natural remedy for wide range of illnesses. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Publishing Corporation (Hindawi)*, Londra, İngiltere.
- Yu, P. (2005). Protein secondary structures (α -helix and β -sheet) at a cellular level and protein fractions in relation to rumen degradation behaviours of protein: a new approach. *British Journal of Nutrition*, 94(5): 655-665.
- Zayas, J. F. (1997) A. Emulsifying properties of proteins. In *Functionality of proteins in food* (pp. 134-227). Springer, Berlin, Heidelberg, Almanya.
- Zayas, J. F. (1997) B. Water holding capacity of proteins. In *Functionality of proteins in food* (pp. 76-133). Springer, Berlin, Heidelberg, Almanya.
- Zayas, J. F. (1997) C. Oil and fat binding properties of proteins. In *Functionality of proteins in food* (pp. 228-259). Springer, Berlin, Heidelberg, Almanya.

- Zeng, H. Y., Cai, L. H., Cai, X. L., Wang, Y. J., and Li, Y. Q. (2011). Structure characterization of protein fractions from lotus (*Nelumbo nucifera*) seed. *Journal of Molecular Structure*, 1001(1-3): 139-144.
- Zent, İ. (2019). *Soğuk preslenmiş çörek otu posalarından protein hidrolizatlarının üretilmesi ve hidrolizatların biyoaktif özelliklerinin değerlendirilmesi*. (Yüksek lisans tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü). Sabahattin Zaim Üniversitesi. İstanbul
- Ziemichód, A., Wójcik, M., and Różyło, R. (2019). *Ocimum tenuiflorum* seeds and *Salvia hispanica* seeds: mineral and amino acid composition, physical properties, and use in gluten-free bread. *CyTA-Journal of Food*, 17(1): 804-813.
- Ziobro, R., Juszczak, L., Witczak, M., and Korus, J. (2016). Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1): 571-580.
- Zorzi, C. Z., Garske, R. P., Flôres, S. H., and Thys, R. C. S. (2020). Sunflower protein concentrate: A possible and beneficial ingredient for gluten-free bread. *Innovative Food Science ve Emerging Technologies*, 66: 102539.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER		
Ad, Soyad	:	Mohammad RASHID
EĞİTİM BİLGİLERİ		
2020 – devam ediyor		Yüksek lisans İZÜ/Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği
2016 – 2019		Lisans İZÜ/Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği
İŞ DENEYİMİ		
2019 – 2021		Gıda Mühendisi Boysal Gıda ve Sanayi Limited Şirketi
2017-2019		Stajyer Gıda Mühendisi Boysal Gıda ve Sanayi Limited Şirketi
2013 – 2015		Dış Ticaret Aile Şirketi
YABANCI DİLLER		
İngilizce		Akıcı
Arapça		Anadili
SERTEFİKALAR		
İzüsem- 2018		TS18001-2014 İŞ SAĞLIĞI VE GÜVENLİĞİ YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ
İzüsem- 2018		TS EN ISO 14001 ÇEVRE YÖNETİM SİSTEMLERİ TEMEL EĞİTİMİ

İzüsem- 2018	TS EN İSO 22000 GIDA GÜVENLİĞİ YÖNETİ SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ
İzüsem- 2018	TS EN İSO 9001-2015 KALİTE YÖNETİM SİSTEMİ TEMEL EĞİTİMİ
İzüsem- 2018	Kalite Yönetim Sistemleri İÇ TETKİK EĞİTİMİ
Kongre	
6 Haziran, 2021	İzü Fen ve Mühendislik Bilimleri Fakültesi-Lisansüstü Öğrenci Kongresi

