



Proteinlerin Karbonhidrat ve Polifenollerle Konjugasyonu

Bengisu ARSLAN¹ , Ahmet GÖRGÜÇ² , Fatih Mehmet YILMAZ^{2,*} 

¹ Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Aydın, Türkiye

² Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Aydın, Türkiye

M A K A L E B İ L G İ S İ

Makale Gönderim 16/10/2024
Revizyon 02/11/2024
Kabul 05/11/2024

Anahtar Sözcükler:

Protein modifikasyonu
Emülsifikasyon
Stabilite
Fonksiyonel özellikler

Ö Z E T

Proteinler, sahip oldukları birçok fonksiyonel özellik sayesinde gıda endüstrisinde geniş bir yelpazede yer almaktadır. Proteinler ve izolatları birçok farklı kaynaktan elde edilebilmektedir; ancak artan nüfusla birlikte kaynaklar azalmakta ve bu nedenle yeni protein kaynakları araştırılmaktadır. Bitkisel proteinler, zengin besleyici içerikleri, düşük maliyetleri ve kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Bazı durumlarda proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin zayıf olması, onların kullanımlarını kısıtlamaktadır. Bu nedenle araştırmalar karbonhidratlar ve polifenoller gibi çeşitli molekül ve bileşiklerin proteinlerle etkileşimlerini incelemeye odaklanmıştır. Çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilen bu modifikasyonlar sayesinde proteinlerin fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilebileceği tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda Maillard konjugasyon yöntemleri olarak kuru ve ıslak ısıtma, ultrases, vurgulu elektrik alan, mikrodalga, yüksek basınç; protein-polifenol konjugasyon yöntemleri olarak ise alkali muamelesi yöntemi, enzim katalizli aşılama, serbest radikal aşılama, kimyasal bağlama yöntemleri açıklanmıştır. Bu çalışmanın amacı, proteinlerin karbonhidrat ve polifenollerle konjugasyon yöntemlerini derlemek; ayrıca bu işlemler sonucunda fonksiyonel özelliklerin nasıl etkilendiğini literatür verileri ışığında değerlendirmektir.

1. GİRİŞ

Proteinler, birçok aminoasitin peptid bağı ile birbirine bağlanması sonucu oluşan, insan vücudunda yapım ve onarım görevini üstlenen, gıda endüstrisinde geniş uygulama yelpazesine sahip olan makromoleküllerdir. Proteinler; çözünürlük, emülsifiye etme, köpürme, jelleşme gibi belli başlı fonksiyonel özellikleri ile çalışmalara konu olmuştur (Rashid, 2022).

Proteinlerin iyi birer fonksiyonel özellik gösterebilmeleri için her şeyden önce çözünürlük kabiliyetlerinin yüksek olması beklenmektedir (Guan vd., 2021). Proteinlerin amfifilik (hem hidrofilik hem hidrofobik özellikler taşıyan) özellik göstermeleri onların iyi bir emülgatör olmalarını sağlamaktadır

(Djuardi vd., 2020). Köpükler, proteinlerin ara yüzey gerilimini azaltarak havayı hapsedmesi sonucu oluşan yapılardır. Endüstride proteinlerin bu özelliğinden de sıklıkla yararlanılmaktadır (Vinayashree ve Vasu, 2021).

Yapılan çalışmalar, proteinlerin sahip olduğu bu fonksiyonel özelliklerinin karbonhidratlar ve polifenollerle konjugasyonu sonucu iyileştirilebildiğini göstermiştir. Karbonhidratlar ile gerçekleştirilen konjugasyon Maillard konjugasyonu olarak da isimlendirilmektedir (Liu vd., 2023).

Maillard reaksiyonu proteinlerin serbest amino grupları ile indirgen şekerler arasında gerçekleşen enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları olarak tanımlanmaktadır (Yıldız vd., 2010). Maillard

reaksiyonu kimyasal bileşikler eklenmeden gıdanın tat, görünüm, stabilite gibi özelliklerine olumlu veya olumsuz etkiler yapabilen bir reaksiyondur. (Liu vd., 2023). Maillard reaksiyonu istenmeyen bir durum gibi algılansa da bazı durumlarda özellikle uygulanmaktadır (Han vd., 2022). Protein-karbonhidrat konjugasyonu bir diğer ifadeyle Maillard konjugasyonu (glikasyonu) proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmekle beraber gıda endüstrisinde antioksidanlar, antimikrobiyaller ve jelleştirici maddeler olarak da kullanılmalarını sağlamaktadır (Nooshkam vd., 2020).

Maillard konjugasyonu geleneksel metotlara göre (kuru ısıtma, ıslak ısıtma) ve bunlara alternatif yeni metotlara (mikrodalga, vurgulu elektrik alan, ultrases, yüksek basınç) göre uygulanabilmektedir. Kuru ısıtma yöntemi, protein ve karbonhidratın pH değeri ayarlanmış sulu çözeltide karıştırılması ve dondurularak kurutulması sonrasında toz haline gelmesi prensibine dayanmaktadır (Kan vd., 2021). Islak ısıtma, kuru ısıtmaya alternatiftir. Kuru ısıtmadaki dondurarak kurutma aşaması burada yoktur ve bu sayede süreden tasarruf edilebilmektedir. Protein ve karbonhidratların pH değeri ayarlanmış sulu çözeltide karıştırılması ve kontrollü sıcaklıklarda konjugatın oluşturulması prensibine dayanmaktadır (Doost vd., 2019).

Fenolik bileşikler aromatik halkaya bir ya da daha fazla hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşan aromatik bileşikler olarak tanımlanmaktadır. Kendi içlerinde altı gruba ayrılırlar: Fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, stilbenler, lignanlar ve kumarinler. Fenolik-protein konjugasyonu sonucunda fonksiyonel özelliklerin iyileştirilebileceği tespit edilmiştir (Guan vd., 2021).

Protein-polifenol konjugasyonunda kullanılan yöntemler; alkali muamele yöntemi, serbest radikal aşılama yöntemi, enzim katalizli aşılama ve kimyasal bağlama yöntemi olacak şekilde literatürde belirtilmiştir (Chen vd., 2022).

Alkali muamele yöntemi, fenoliklerin oksidasyonu prensibine dayanmaktadır. Fenolikler ve proteinler alkali çözeltilerde konjuge edilmektedirler. Serbest radikal aşılama yönteminde konjugasyon, serbest radikallerin kullanılmasıyla gerçekleşmektedir. Aşılama kaynağı olarak askorbik asit ve hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Yöntem basit ve ekonomiktir. Enzim katalizli aşılama ve kimyasal bağlama yöntemleri ise serbest radikal aşılama ve alkali muamelesi yöntemine kıyasla çalışmalarda daha az yer almaktadır (Liu vd., 2019).

Proteinlerin karbonhidratlar ve polifenollerle ayrı ayrı konjuge edilebileceği gibi protein-

karbonhidrat-polifenol üçlü konjugatlar da oluşturulabilmektedir. Bu tarz üçlü etkileşimlerle polifenoller Maillard konjugasyonuna kovalent olarak bağlanabileceği gibi karbonhidratlar da protein-polifenol konjugasyonuna kovalent olarak bağlanabilmektedir (Liu vd., 2023). Bu derleme makale kapsamında bitkisel proteinlerin karbonhidratlarla, polifenollerle ve hem karbonhidrat hem polifenollerle konjugasyonunu ele alan çalışmalar özetlenmiştir.

2. KONJUGASYON

2.1. Maillard Konjugasyonu

Maillard reaksiyonu proteinlerin amino grupları ile karbonhidratların indirgeyici şeker grupları arasında gerçekleşmektedir. Protein ve karbonhidratların konjugasyonuna Maillard konjugasyonu da denilebilmektedir (Liu vd., 2023). Maillard konjugasyonu proteinler için kullanılan modifikasyon yöntemlerinden biridir (Kan vd., 2021).

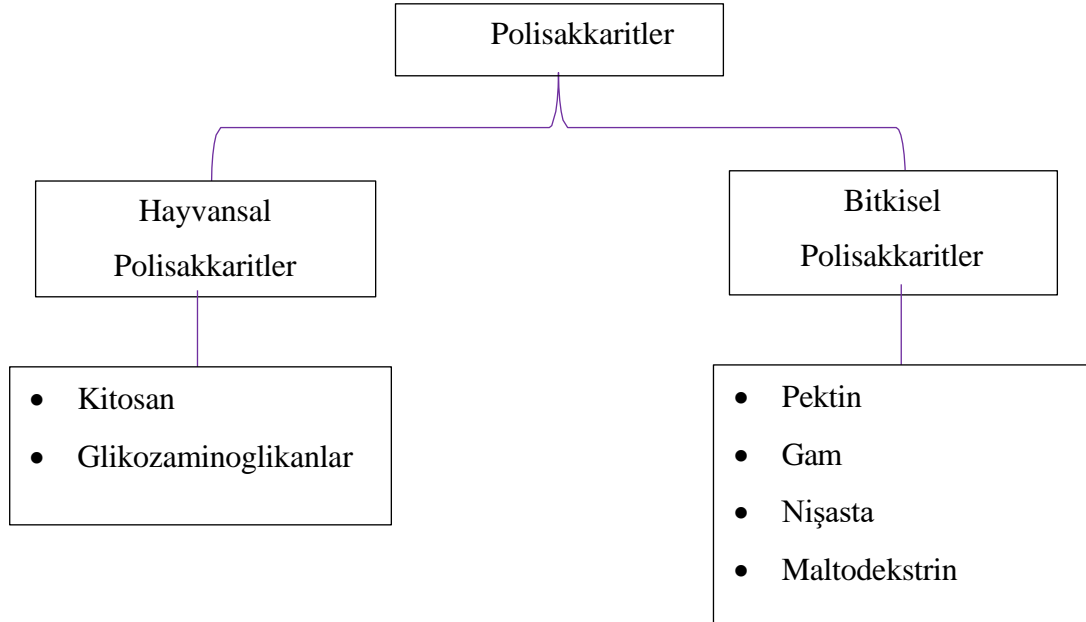
Maillard reaksiyonu gıdalarda lezzet ve renk bileşenlerine olumlu katkı yaptığı için çoğunlukla istenmektedir; ancak reaksiyon sırasında istenmeyen, sağlığa zararlı bazı kansorejen ürünler (ör: akrilamid) de oluşabilmektedir (Han vd., 2022).

Maillard reaksiyonları erken, orta ve ileri aşamalar olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır (Doost vd., 2019).

Polisakkaritler birbirine glikozidik bağlarla bağlanmış doğal polimerlerdir. Tıpkı proteinler gibi hayvansal ve bitkiseldirler. Konjugasyon işleminde kullanılan bazı hayvansal ve bitkisel polisakkaritler Şekil 1'de sunulmuştur. Molekül özellikleri, monosakkaritlerin sayısına, dizilimine, tipine bağlılık göstermektedir (Liu vd., 2023). Bitkisel polisakkaritler, en çok bulunan polisakkarit kaynaklarıdır. Dekstran, pektin, Arap zamkı Maillard konjugasyonlarında sıklıkla kullanılan homopolisakkaritlerdendir. (Kan vd., 2021).

Polisakkarit türleri ve polisakkarit zincir uzunluğu Maillard konjugatlarının fonksiyonel özelliklerini etkiler. Örneğin, daha büyük molekül ağırlığına sahip polisakkaritler konjugat verimliliği açısından daha iyidir ve konjugatların emülsifiye edici özelliklerinin geliştirilmesini sağlar. Diğer taraftan daha uzun zincirli polisakkaritler, Maillard reaksiyonunun ileri aşamasını önler ve ayrıca emülsifiye edici özelliklerini artırır (Kan vd., 2021).

Maillard konjugasyonunda kuru ısıtma ve ıslak ısıtma olmak üzere sıklıkla kullanılan iki yöntem mevcuttur. Maillard konjugasyonu ek bir kimyasal gerektirmez; ancak yapısı oldukça karmaşıktır (Liu vd., 2023).



Şekil 1. Konjugasyon işleminde kullanılan bazı hayvansal ve bitkisel polisakkaritler (Kan vd., 2021)

Proteinlerin sahip olduğu fonksiyonel özelliklerin, karbonhidratlarla etkileşimi sonrası iyileştirilebileceği söylenebilmektedir.

2.2. Maillard Konjugasyon Yöntemleri

Maillard konjugatları geleneksel ve yenilikçi yöntemlerle üretilmektedir. Geleneksel yöntemler kuru ısıtma ve ıslak ısıtma olacak şekilde sınıflandırılabilir. Bunlara alternatif yenilikçi yöntemler olarak ise ultrases, vurgulu elektrik alan, mikrodalga ve yüksek basınç örnek gösterilebilir. Maillard konjugasyonunun fonksiyonel özellikler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların özeti Çizelge 1’de sunulmuştur.

Geleneksel yöntemlerin neden olduğu bazı dezavantajlar (süre, protein denatürasyonları, yüksek maliyet vs.) Maillard konjugasyonlarının yenilikçi yöntemler ile uygulanmasına yol açmıştır.

Kuru ısıtma

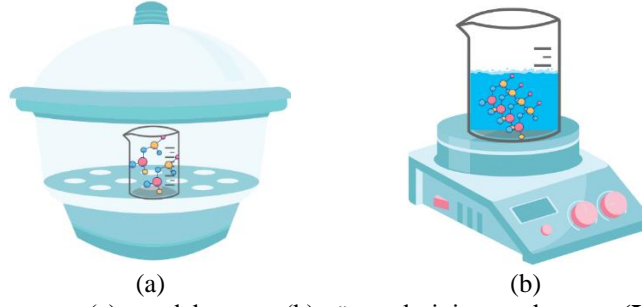
Kuru ısıtma yöntemi geleneksel bir yöntemdir ve konjugat hazırlamada sıklıkla kullanılmaktadır (Doost vd., 2019). Protein ve karbonhidrat, pH değeri ayarlanmış sulu çözelti içerisinde karıştırılır ve dondurularak kurutulduktan sonra (liyofilizasyon), protein-polisakkarit tozu üretilir. Maillard reaksiyonunu gerçekleştirmek için karışık tozun kontrollü sıcaklıkta ve belirli bir bağıl nemde birkaç gün inkübe edilmesi sonucu konjugatlar elde edilir. Konjugasyon, kapalı bir desikatörde gerçekleştirildiği için bağıl nem, reaksiyon sıcaklığı ve süresi kontrol edilebilir (Kan vd., 2021; Zhang vd., 2023). Birkaç gün boyunca belli bir nem ve sıcaklık altında bekletilir.

Sıcaklık, bağıl nem ve inkübasyon süresi

konjugasyonu etkileyen faktörlerdendir. Sıcaklığın artmasıyla konjugat oluşumunda artış görülebilmektedir. Bağıl nemdeki artış ise bazı durumlarda konjugat oluşumunu pozitif yönde etkileyebilir. Maksimum konjugasyona ulaşmak için 40 - 80 °C sıcaklık ve %60 - 85 bağıl nem aralığı uygun görülmektedir (Doost vd., 2019).

Kuru ısıtmanın dezavantajı olarak liyofilizasyon aşaması, uzun süre ve yüksek maliyet gösterilmektedir. Chen vd. (2019) peynir altı suyu protein izolatu ve akasya sakızının kuru ısıtma yöntemi ile konjugasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Bu çalışmada peynir altı suyu protein izolatu-Arap zamkı konjugatlarının fonksiyonel özellikleri ve sürenin (1, 3, 5 ve 7 gün) fonksiyonel özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Peynir altı suyu protein izolatının Arap zamkı ile konjuge edilmesi sonucunda çözünürlükte ve emülsifiye edici özellikler üzerinde olumlu etkiler gözlemlenmiştir. Ayrıca Arap zamkının peynir altı suyu protein izolatına kovalent bağlanması fonksiyonel özelliklerin daha iyi geliştirilebileceğini göstermiştir. Uzun reaksiyon süresi (1 günden fazla olan) yüksek derecede esmerleşmeye neden olmakla beraber konjugatın işlevselliğini azaltmıştır. Buradan uygun reaksiyon süresinin her zaman en uzun reaksiyon süresine karşılık gelmeyeceği anlaşılmaktadır.

Zha vd. (2019) bezelye protein izolatu ve Arap zamkı konjugatlarını kuru ısıtma metodu (60 °C’de %79 bağıl nem) ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada inkübasyon süresinin (0, 1, 3, 5 gün) reaksiyona olan etkisi incelenmiştir. Çözünürlükteki azalışın sebebi ısı işleminden kaynaklanan protein denatürasyonu olmuştur. Arap zamkı ile konjugasyondan sonra bezelye protein izolatının çözünürlüğü 1 gün süreyle konjuge edildikten sonra artış göstermiştir. Bezelye protein izolatu-Arap zamkı karışımının çözünürlüğü saf bezelye protein izolatu ile



Şekil 2. Kuru ısıtma (a) ve ıslak ısıtma (b) yöntemlerinin uygulanması (Kan vd., 2021)

ile eş değer bulunmuştur. İnkübasyon süresinin artması çözünürlüğün azalmasına neden olmuştur. Ayrıca 1 günlük inkübasyon süresinin ardından son aşamadaki Maillard reaksiyon ürünlerinin üretimi de sınırlandırılmıştır. Bezelye protein izolatu-Arap zankı konjugatları ile stabilize edilen yağ emülsiyonlarının daha fazla stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bezelye protein izolatu - Arap zankı konjugatlarının emülsiyon oksidasyonlarını önleyebileceği de düşünülmüştür. Bu durum ürünlerin besin değerini muhafaza etme konusunda potansiyel bir strateji sunmaktadır.

Ma vd. (2020), soya protein izolatu ile narenciye pektini ve elma pektini konjugasyonunda kontrollü ısıtma kullanmışlar; Maillard reaksiyonu sonrası protein ve pektin etkileşiminin güçlenmesiyle yüzey hidrofobikliğinde azalma, çözünürlük ve emülsifiye edici özelliklerde önemli artışlar gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, daha işlevsel bileşenler elde etmek için soya protein izolatu ve elma pektini modifikasyonunun önemini vurgular niteliktedir.

Kan vd. (2023), peynir altı suyu protein izolatu ile Arap zankının kuru ısıtma yöntemi kullanılarak konjugasyonu sonucunda yeni bir emülgatör geliştirmişlerdir. Ayrıca, bu emülgatörün insan bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda Maillard reaksiyonu ile elde edilen emülgatörün emülsifiye edici özelliklerinde belirgin bir artış gözlemlenmiş ve emülgatörün sindirim sağlığını olumlu etkilediği tespit edilmiştir. Bu çalışma, Maillard konjugasyonlarının yalnızca gıda ürünlerinin kalitesini iyileştirmekle kalmayıp aynı zamanda insan sağlığı üzerinde de önemli etkiler yaratabileceğini kanıtlamaktadır.

Islak ısıtma

Islak ısıtma, esasında kuru ısıtmaya alternatif olarak geliştirilmiş bir yöntemdir. Kuru ısıtmadan sonra gelen dondurarak kurutma adımını atlamayı ve süreyi biraz daha azaltmayı hedef almaktadır. Ancak protein denatürasyonuna yol açma ve daha maliyetli olması gibi bazı dezavantajları vardır (Doost vd., 2019).

Islak ısıtma sulu ortamda yapılan proteinler ile polisakkaritler arasındaki etkileşimi maksimum seviyeye çıkaran bir yöntemdir. Proteinler ile polisakkaritler, pH değeri ayarlanmış sulu çözelti içerisinde belirli oranda karıştırılır ve kontrollü sıcaklık altında konjugatların oluşumu sağlanır. Protein ve polisakkaritler liyofilizasyon olmadan doğrudan reaksiyona girmektedirler. Bu yöntem, proteinin yüksek sıcaklıktaki sulu çözeltide denatürasyonunun, konjugasyonun oluşmasını sınırlayabileceği gibi sıvı ürünlerin depolanması ve taşınması da zor olabilmektedir. Islak ısıtma yöntemi de tıpkı kuru ısıtma yöntemi gibi sıcaklık, inkübasyon süresi, polisakkarit ve proteinlerin özellikleri ve sulu çözeltinin pH değerinden etkilenebilmektedir. Kuru ısıtma ve ıslak ısıtma yöntemlerinin laboratuvar koşullarında ne şekilde uygulandığı Şekil 2’de sunulmuştur. (Kan vd., 2021).

Zhang vd. (2023) sarmal yosun protein konsantresi ve maltodekstrin konjugasyonunda ıslak ısıtma yöntemi kullanmıştır. Sarmal yosun protein konsantresi - maltodekstrin karışımı 60 °C’de sulu çözeltide 6 saat kadar ısıtılmıştır. Maltodekstrinin sarmal yosun protein konsantresi molekülüne kovalent bağlanması, proteinin çözünürlüğünü önemli ölçüde artırmıştır. Çalışma, sarmal yosun protein konsantresi ve maltodekstrin modifikasyonunun besin değeri ve fonksiyonellik bağlamında önemli bir potansiyel sunabileceğini göstermektedir.

Zhang vd. (2022) bezelye protein izolatu ve maltodekstrin konjugatlarını 90 °C’de ıslak ısıtma metodu ile hazırlamışlardır. Reaksiyon süreleri ile reaksiyon verimliliğini incelemişlerdir. En yüksek çözünürlüğe reaksiyonun beşinci saatinde rastlanılmıştır. Bu çalışmada bezelye protein izolatu ile maltodekstrin konjugasyonunda süre optimize edilmiştir. Konjugatın emülsifiye edici özellikleri de iyileştirdiği tespit edilmiştir.

2.3. Maillard Konjugasyonunda Kullanılan Yenilikçi Yöntemler

Yeni yöntemlerin ortaya çıkarılmasının nedenleri arasında geleneksel yöntemlerin daha uzun ve maliyetli

Çizelge 1. Maillard konjugasyonu sonucu fonksiyonel özelliklerin nasıl etkilendiği hakkında yapılan çalışmalar

Protein Kaynağı	Konjugasyon Ajanı	Konjugasyon Yöntemi	Kritik Sonuç	Referans
Peynir altı suyu protein izolatu (Hazır temin edilmiştir.)	Akasya sakızı	Kuru ısıtma	Çözünürlük artmıştır. Isı kaynaklı çözünmezliğe karşı stabilite artmıştır. Emülsifiye edici özellikler artmıştır.	Chen vd. (2019)
Bezelye protein izolatu (Hazır temin edilmiştir.)	Maltodekstrin	Islak ısıtma	Çözünürlük artmıştır. Emülsifiye edici özellikler artmıştır.	Zhang vd. (2022)
Sarmal yosun protein konsantresi (Alkali özütleme + Asit çöktürme)	Maltodekstrin	Islak ısıtma	Çözünürlük artmıştır. Yüzey hidrofobiklik azalmıştır. Emülsiyon stabilitesi artmıştır.	Zhang vd. (2023)
Yumurta beyazı proteini (Hazır temin edilmiştir.)	Maltodekstrin	Mikroalga destekli	Çözünürlük artmıştır. Köpüklenme özelliği artmıştır.	Sun vd. (2020)
Bezelye protein izolatu (Hazır satın alınmıştır.)	Arap zıncığı	Kuru ısıtma	Çözünürlük artmıştır	Zha vd. (2019)
Sığır serum albumin (Hazır satın alınmıştır.)	Çözünür patates nişastası	Vurgulu elektrik alan	Çözünürlük artmıştır. Emülsifiye edici özellikler artmıştır.	Taha vd. (2022)
Peynir altı suyu protein izolatu (Hazır temin edilmiştir.)	Sakız akasyası	Ultrases işlemi	Çözünürlük artmıştır. Termal stabilite artmıştır. Emülsifiye edici aktivite ve emülsifiye edici stabilite artmıştır.	Chen vd. (2019)
Maş fasulyesi protein izolatu	Elma pektini	Kuru ısıtma	Çözünürlük artmıştır.	Aksoy ve Ersus (2023)
	Turunçgil pektini	Ultrases işlemi	Emülsifiye edici özellikler geliştirilmiştir.	
Soya protein izolatu	Akasya zıncığı	Kuru ısıtma	Çözünürlük artmıştır. Emülsifiye edici özellikler artmıştır.	Ma vd. (2020)
	Narenciye pektini		Yüzey hidrofobiklik azalmıştır.	
Peynir altı suyu protein izolatu	Elma pektini	Kuru ısıtma	Emülsifiye edici özellikler artmıştır.	Kan vd. (2023)
Maş fasulyesi protein izolatu	Arap zıncığı	Kuru ısıtma	Emülsifikasyon ve çözünürlük özellikleri iyileşmiştir.	Aziznia vd. (2024)
		Kuru ısıtma		

olması yer almaktadır. Liyofilizasyon kuru ısıtma yönteminde düşük reaksiyon verimine neden olmaktadır. Bununla birlikte ısıtma işlemlerinin kullanılmasıyla akrilamid ve 4-metilimidazol gibi toksik bileşiklerin oluşma ihtimali yeni yöntemlere yönelimi artırmıştır. Isıtma işlemi olmadan kullanılan yeni yaklaşımlar arasında vurgulu elektrik alan, ultrases işlemi, ışınlama ve yüksek basınç yöntemleri bulunmaktadır (Doost vd., 2019).

Ultrases İşlemi

Ultrases işleminde çok yüksek frekanslardaki ses dalgaları ile yüksek enerjili akustik kaviteasyon oluşur ve bu da Maillard reaksiyonundaki kimyasal reaksiyonların başlamasını tetikler (Doost vd., 2019). Yüksek enerjili ultrasesin oluşturduğu kaviteasyon, gıdaların özelliklerini değiştirebilir. Bu yöntemde ultrases dalgaları sıvı ortamdan geçerken sıkıştırma ve genişleme döngüleri oluşturur. Bu döngüler

arasında basınç değişimi ve kaviteasyon enerjiye neden olur. Oluşan enerji Maillard reaksiyonunun oluşmasını tetikler (Kan vd., 2021). Bu yöntemle elde edilen konjugatlarda daha iyi çözünürlük, termal stabilite ve emülsifiye etme özelliği görülmüştür (Doost vd., 2019). Ultrases işlemi Maillard konjugasyonunda fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesini sağlarken yüksek ultrases gücü akrilamid ve hidroksimetil furfuralın oluşmasına da yol açabilir (Kan vd., 2021).

Chen vd. (2019) peynir altı suyu protein izolatu ve sakız akasyası konjugasyonunda ultrases işlemini kullanmışlardır. Bu işlem ile reaksiyon süresinin kısaldığını gözlemlemişlerdir. Ultrases işleminin sağladığı etkili karıştırma ve enerji/kütle transferi, sürenin kısaltılmasında rol oynamaktadır. İşlem sıcaklığının 60-90 °C aralığını geçmesi durumunda ciddi boyutta esmerleşmelerin olabileceği tespit

edilmiştir. Konjugatların emülsifiye edici aktivite ve stabiliteyi ultrases işlemleriyle birlikte daha da iyileştirilmiştir ve hazırlanan konjugatların daha fazla polisakkaritle glikolize edilmesi ile açıklanmıştır. Çözünürlüğün gelişmesi emülsifiye etme özelliklerinin de gelişmesine yol açmıştır.

Aksoy ve Ersus (2023), maş fasulyesi protein izolatu ile elma pektini, turunçgil pektini, dekstran ve akasya zımkı konjugasyonunda geleneksel kontrollü ısıtma ve ultrases işlemini kullanmışlardır. Çalışma, her iki yöntemde çözünürlük ve emülsifiye edici özellikleri önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, kuru ısıtmanın etkisinin ultrases işleme göre belirgin şekilde daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Bu durumda, çalışmanın klasik yöntemlerin yerini alternatif yöntemlere bırakmasını destekleyen bulgular sunduğu söylenebilir. Çalışma, ultrases işleminin gıda bileşenlerine etkisinin klasik yöntemlere göre daha pratik olduğunu ve uygulamada daha geniş bir alan bulabileceğini göstermektedir.

Aziznia vd. (2024) maş fasulyesi protein izolatu ile maltodekstrin konjugatlarını, ultrases işlemi, klasik ıslak ısıtma ve kuru ısıtma gibi farklı Maillard reaksiyonu yöntemleri aracılığıyla hazırlamışlardır. Elde edilen sonuçlar, protein izolatının emülsifikasyon ve çözünürlük indekslerinde belirgin bir artış meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca ultrases işleminin Maillard reaksiyonunun işlevsel özellikler üzerindeki etkisinin daha belirgin olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde bu çalışma da ultrases işleminin geleneksel yöntemle kıyasla ürün kalitesini daha iyi etkilediğini destekler niteliktedir. Tüm bunlar göstermektedir ki daha stabil ve homojen emülsiyonların oluşturulması alternatif metotlarda daha mümkün olacaktır.

Vurgulu elektrik alan

Vurgulu elektrik alan, ısı ve kimyasal herhangi bir işlem gerektirmeyen süreden kazandıran yenilikçi yöntemlerden biridir. Mikrobiyal gelişmeyi azaltma gibi başlıca hedefleri vardır. Temel olarak vurgulu elektrik alan sisteminde puls üretici, numune odası, elektrotlar ve veri toplama kısmı yer almaktadır (Doost vd., 2019). Vurgulu elektrik alan, yüksek elektrik alanlarının kısa darbelerinin kısa süreliğine kullanılması prensibine dayanmaktadır. Bu enerji, proteinin yüzey hidrofobikliğinde değişikliğe yol açmaktadır (Dumitraşcu vd., 2023).

Taha vd. (2022) sığır serum albumin ile patates nişastasının konjugasyonunu vurgulu elektrik alan (3.5-5.7 kV/cm, darbe süresi = 50 µs, darbe sayısı = 10) ile gerçekleştirmişlerdir. Vurgulu elektrik alan yöntemi ile konjugasyonun daha çok kolaylaştığı, protein çözünürlüğünün ve emülsiyon stabilitelerinin

arttığı tespit edilmiştir.

Mikrodalga

Mikrodalga, gıdaların işlenmesinde iyonlaştırıcı enerjinin kullanıldığı bir yöntemdir. Mikrodalga ısıtması, protein-karbonhidrat konjugatlarının hazırlanmasında alternatif olarak kullanılabilir (Doost vd., 2019).

Mikrodalga ısıtmayla protein moleküllerinin bazı kovalent olmayan bağları (disülfür bağları ve hidrojen bağları vs.) parçalanabilir ve bu protein yapısının açılmasını kolaylaştırabilir. Diğer taraftan mikrodalga ısıtması polisakkaritlerin yeniden düzenlenmesini ve etkileşimlerinin artmasını sağlayabilir. Dolayısıyla mikrodalga destekli ısıtma ile Maillard reaksiyonu verimli bir şekilde gerçekleştirilebilir. Aynı zamanda mikrodalga kullanımı Maillard reaksiyonunu hızlandırabilmekte ve fonksiyonel özellikleri iyileştirebilmektedir (Kan vd., 2021).

Mikrodalga ile hazırlanan konjugatlarda ısıtma süresi önemlidir. Isıtma süresi arttığında konjugatlar, serbest radikalleri daha fazla engelleyerek daha yüksek antioksidan aktivite gösterebilmektedir. Maillard konjugatlarının üretiminde mikrodalga ısıtmanın ıslak ve kuru ısıtmaya kıyasla daha verimli sonuçlar sunduğu tespit edilmiştir (Doost vd., 2019).

Sun vd. (2020) yumurta beyazı proteini ve maltodekstrin konjugatlarını geleneksel ıslak ısıtmaya alternatif olarak mikrodalga ısıtma ile gerçekleştirmişlerdir. Mikrodalga ısıtma altında yapılan reaksiyonda işlem daha kısa sürmekle beraber çözünürlük ve köpüklenme özellikleri de artmıştır. Konjugasyonun mikrodalga ısıtma ile gerçekleştirilmesi sonucu emülsifikasyon aktiviteleri de artmıştır.

Yüksek Basınç

Gıdaların raf ömrünü uzatmak amacıyla yapılan yüksek basınç yöntemi, geleneksel yöntemlere göre daha kısa süre ve sıcaklık sağlar. Yüksek basınçlı işlem sonucunda Maillard reaksiyonları iyileştirilebilmektedir. Maillard konjugatlarının hazırlanırken yüksek basınç, yüksek sıcaklık, yüksek hidrostatik ve yüksek hidrodinamik basınç yöntemleri kullanılmaktadır (Doost vd., 2019).

2.4. Protein-Polifenol Konjugasyonu

Protein ve polifenoller özellikleri çok farklı iki ayrı bileşiklerdir. Bu bileşiklerin birbiri ile etkileşime girmesi sonucu fonksiyonel özelliklerin iyileştirilmesi son çalışmalarda yer alan konulardandır. Bu etkileşimler kovalent ve kovalent olmayan bağlar sayesinde gerçekleşmektedir. Kovalent konjugasyonlar kovalent

Çizelge 2. Protein-polifenol konjugasyonu sonucu fonksiyonel özelliklerin nasıl etkilendiği hakkında yapılan çalışmaların özeti

Protein Kaynağı	Konjugasyon Ajanı	Konjugasyon Yöntemi	Kritik Sonuç	Referans
Ceviz protein izolatu (Alkali özütleme + asit çöktürme yöntemi)	Epigallokateşin gallat Klorojenik asit Kuersetin Ellajik asit	Serbest radikal aşılama yöntemi	Antioksidan kapasite artmıştır. Yüzey hidrofobikliği azalmıştır. Bağlanma kapasiteleri: Epigallokateşin gallat > Klorojenik asit > Kuersetin > Ellajik asit	Wang vd. (2023)
Soya protein izolatu (Alkali özütleme + asit çöktürme)	Gallik asit Kafeik asit Tannik asit	Alkali muamelesi yöntemi	Emülsifiye edici özellikler artmıştır. Bağlanma kapasiteleri: Tannik asit > Kafeik asit > Gallik asit	Pi vd. (2023)
Mercimek protein izolatu (Alkali özütleme + asit çöktürme)	Kuersetin Rutin Ellajik asit	Serbest radikal aşılama yöntemi	Yüzey hidrofobiklikleri azalmıştır. Bağlanma kapasiteleri: Kuersetin > Rutin > Ellajik asit Çözünürlük azalmış ancak yağ-su yüzey gerilimi artmıştır.	Parolia vd. (2022)
Peynir altı suyu protein izolatu (Hazır temin edilmiştir.)	Epigallokateşin gallat Kuersetin Apigenin Naringenin	Serbest radikal aşılama yöntemi	Termal stabilite artmıştır. Yüzey hidrofobiklikleri azalmıştır. Bağlanma kapasiteleri: Epigallokateşin gallat > Kuersetin > Apigenin > Naringenin	Liu vd. (2021)
Soya protein izolatu	Yeşil çay fenoller Siyah çay fenoller	Alkali muamelesi yöntemi	Emülsifiye etme yeteneği ve stabilite artmıştır.	Djuardi vd. (2020)

olmayan konjugasyonlara kıyasla daha güçlü bağlanırlar ve daha kalıcıdır. Bu sebeple kovalent olmayan bağlara göre daha çok tercih edilmektedirler (Zhao vd., 2021). Ayrıca kovalent bağlar daha güçlü antioksidan aktivite, yüksek termal stabilite ve polifenol dayanımı sağlamaktadırlar (Guan vd., 2021).

Proteinler ve polifenollerin arasında gerçekleşen kovalent ya da kovalent olmayan etkileşimler, fonksiyonel özelliklerin değişiminde rol oynamaktadır. Proteinler ve polifenoller arasında gerçekleşen kovalent olmayan etkileşimler geri dönüşümlüdür; hidrojen bağı, Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler, iyon eşleşmesi yollarıyla meydana gelmektedirler. Kovalent olan etkileşimde ise geri dönüşüm yoktur ve sıklıkla kullanılan bir etkileşimdir (Yan vd., 2021).

Protein ve polifenollerin konjugasyonu sonucu antioksidan aktivite, çözünürlük, köpük oluşturma, jelleşme, yüzey hidrofobikliği gibi özelliklerde iyileşme görülmektedir (Guan vd., 2021). Protein-polifenol konjugasyonunun fonksiyonel özellikler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların özeti Çizelge 2’de sunulmuştur.

Alkali muamelesi yöntemi

Bu konjugasyon yönteminde polifenoller ve proteinler alkali çözeltilerde işlenerek konjuge edilirler. Yöntem, fenolik bileşiklerin oksidasyonuna dayanır ve hem etkili hem de basittir. Reaksiyon çözeltilisinin pH değeri sodyum hidroksit çözeltisi kullanılarak 9,0’a ayarlanır (J. Liu vd., 2019). Polifenoller oksijen ile kinona oksitlenir. Yani ortaya radikal ara ürünler çıkar ardından bu ara ürünler nükleofillerle (proteinlerin NH- ve SH- grupları)

reaksiyona girer (Benjakul vd., 2021). Bu durumda proteinler ve fenolik bileşikler arasında kovalent çapraz bağlantılar oluşmuş demektir (Zhang vd., 2021).

Pi vd. (2023) soya protein izolatının gallik asit, kafeik asit ve tannik asit ile konjugasyonunu alkali muamelesi yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. İşlem sonucunda konjugatların antioksidan özelliklerinin ve emülsifiye edici özelliklerinin arttığı tespit edilmiştir. Bununla beraber, soya fasulyesinin polifenollerle olan konjugasyonu sonucu (özellikle tannik asit ile yapılan konjugatlar) alerjenik aktivitesinin azaltılabileceği rapor edilmiştir.

Parolia vd. (2022) mercimek protein izolatu ve kuersetin, rutin, ellajik asit polifenollerini alkali muamelesi yöntemi ile konjugasyona tabi tutmuşlardır. Polifenollerin mercimek protein izolatu ile bağlanma kapasiteleri sırasıyla kuersetin > ellajik asit > rutin olacak şekilde belirtilmiştir. Konjugatların yüzey hidrofobikliklerinde azalma meydana gelmiştir.

Djuardi vd. (2020) yeşil çay ve siyah çay polifenollerinin konjugasyonunu soya protein izolatu ile alkali yöntemde gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonucunda proteinin moleküler boyutu artmış ve polifenol konsantrasyonunun artması sonucu protein hidrofobikliği azalmıştır. Siyah çayın hidrofobik azaltıcı etkisi ve antioksidan aktivitesi yeşil çayınkinden fazla bulunmuştur. Bununla beraber yeşil çay polifenolu ile yapılan konjugatlar daha küçük emülsiyon damlacık boyutu göstermeleri sebebi ile daha iyi emülsifiye etme özelliği göstermiştir.

Enzim katalizli aşılama

Tirozinaz gibi elektro polifenol oksidazlar fenolik bileşikler kinonlara katalize edebilir. Bu reaksiyon genelde 6,0 ila 7,5 pH değerleri arasında gerçekleşmektedir. Bu kinonlar proteinler ile reaksiyona girerek protein-polifenol konjugatlarını oluşturabilirler. Enzim katalizli aşılama yöntemi alkali yöntemle muameleye oldukça benzerdir; çünkü fenolik bileşikler ve proteinler arasında oluşan kovalent bağlar Schiff bazları (C=N) ve Michael tipi katkı maddeleridir (C-NH). Enzim katalizli aşılama yöntemi serbest radikal aşılama ve alkali yöntemi ile muamele yönteminden daha az tercih edilmektedir (Liu vd., 2019).

Serbest radikal aşılama yöntemi

Bu yöntem serbest radikallerin kullanılmasıyla gerçekleşir. Serbest radikaller ile proteinler ve polifenoller arasındaki reaksiyon, iki bileşenin konjugasyonu ile sonuçlanan kovalent bağların oluşumuna yol açar. Serbest radikal aşılama yönteminin mekanizması, aşılama kimyasallarının redoks reaksiyonuna dayanır (Benjakul vd., 2021). Genel olarak aşılama kaynağı olarak askorbik asit ve hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Askorbik radikalleri de askorbik asit ve hidrojen peroksit redoks çifti arasındaki reaksiyon sonucu 6,0 pH ortamında üretilir (Liu vd., 2019).

Serbest radikal aşılama yöntemi oldukça basit ve etkilidir. Oda sıcaklığında kolayca uygulanabilir, düşük toksisiteye sahiptir ve ekonomiktir (Benjakul vd., 2021).

Wang vd. (2023) ceviz protein izolatının, epigallokateşin gallat, klorojenik asit, kateşin ve ellajik asit polifenollerini ile konjugasyonunda serbest radikal aşılama yöntemini kullanmışlardır. Bu polifenoller ile ceviz protein izolatı arasında kovalent bir etkileşim gerçekleşmiştir. Çalışmada polifenollerin bağlanma kapasiteleri, antioksidan özellikleri ve yüzey hidrofobiklikleri belirlenmiştir. Daha iyi fonksiyonel özellik göstermeleri açısından karşılaştırma sırasıyla: epigallokateşin gallat > klorojenik asit > kateşin > ellajik asit şeklindedir. Bu durumun moleküler ağırlık, fenolik hidroksil miktarı ve serbest radikal bağlanma bölgelerindeki bireysel farklılıklarla açıklanabileceği düşünülmüştür. Aynı zamanda ceviz protein izolatı ve polifenoller arasında gerçekleşen kovalent etkileşim, antioksidan aktiviteyi yüksek ölçüde iyileştirmiştir. Konjugatların yüzey hidrofobiklikleri ise önemli ölçüde azalmıştır.

Liu vd. (2021) peynir altı suyu izolatı ile epigallokateşin gallat, kuersetin, apigenin ve naringenin polifenollerini arasında serbest radikal aşılama yöntemi ile konjugasyon işlemi

gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntemle birlikte polifenollerin termal stabilitelerinin önemli ölçüde arttığını ve yüzey hidrofobikliklerinin ise azaldığını tespit etmişlerdir. Polifenollerin bağlanma kapasiteleri sırayla epigallokateşin gallat > kuersetin > apigenin > naringenin olarak belirlenmiştir. Fenolik bileşenlerin içerdikleri hidroksil gruplarının miktarı onların antioksidan aktivitelerini de artırmaktadır. Epigallokateşin gallat ilgili polifenoller arasında en çok hidroksil gruba sahip olduğu için daha fazla antioksidan aktivite özelliği göstermiştir.

Kimyasal bağlama yöntemi

Fenolik bileşikler, çeşitli kimyasal reaktifler yoluyla proteinlerle konjuge edilebilmektedirler. Örneğin glutaraldehit proteinlerin nükleofilik yan zincirleriyle reaksiyona girip konjugat oluşumunu sağlayabilmektedir (Liu vd., 2019).

2.5. Protein-Polifenol-Polisakkarit Konjugasyonları

Protein, polifenol ve polisakkaritlerin üçlü etkileşimlerinde farklı metotlar söz konusu olabilmektedir. Örneğin, bu üçlü etkileşim öncelikle protein-karbonhidrat etkileşiminin bir diğer adıyla Maillard konjugasyonunun gerçekleştirilip daha sonra polifenollerin kovalent olarak bağlanmasıyla gerçekleşebileceği gibi önce protein-polifenol konjugasyonunun oluşup sonradan polisakkaritlerin kovalent olarak bağlanması da söz konusu olabilir (Liu vd., 2023). Protein-polifenol-polisakkarit konjugasyonunun fonksiyonel özellikler üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların özeti Çizelge 3'te sunulmuştur.

Xu vd. (2021)'nin yaptığı üçlü konjugasyonda sulu ortamda glikasyon gerçekleştirilmiş ve polifenoller ile kovalent modifikasyon oluşturulmuştur. İlâveten epigallokateşin gallat'ın miyofibriller protein-dekstran konjugatına kateşin ve gallik asitten daha kolay aşılandığı tespit edilmiştir. Bunun nedeni olarak fenolik bileşiklerin moleküler boyutu olabileceği düşünülmüştür. Nitekim büyük moleküler boyuta sahip fenolikler küçük olanlara kıyasla daha fazla sayıda bağlanma bölgesine sahiptirler ve bu yüzden daha yüksek bağlanma afinitesi göstermektedirler. Çalışmada konjugatların yüzey hidrofobikliğinin arttığı, termal stabilitenin geliştirildiği rapor edilmiştir. Bununla birlikte polifenollerin, serbest radikal aşılama yöntemi kullanılarak Maillard konjugatlarına eklenmesi beklendiği üzere konjugatların antioksidan aktivitesini artırmıştır.

Liu vd. (2020) yer fıstığı protein izolatı, soya protein izolatı, pirinç kepeği protein izolatı ve peynir altı

Çizelge 3. Protein-polifenol-polisakkarit konjugasyonu sonucu fonksiyonel özelliklerin nasıl etkilendiği hakkında yapılan çalışmaların özeti

Protein Kaynağı	Konjugasyon Ajanı	Konjugasyon Yöntemi	Kritik Sonuç	Referans
Miyofibriller protein	Epigallokateşin gallat Kateşin Gallik asit Dekstran	Serbest radikal aşılama Islak ısıtma	Konjugatların yüzey hidrofobikliği artmış, termal stabilitesi geliştirilmiştir.	Xu vd. (2021)
Sığır serum albumin	Klorojenik asit Dekstran	Kuru ısıtma (%79 bağıl nem, 60 °C, 24 saat) Alkali muamele yöntemi	Emülsiyonların fizikokimyasal stabiliteyi iyileştirilmiştir. Emülsiyonların fizikokimyasal stabiliteyi: Klorojenik asit-Sığır serum albümin-Dekstran > Klorojenik asit-Sığır serum albumin	Yan vd. (2020)
Yer fıstığı protein izolatu Pirinç kepeği protein izolatu Peynir altı suyu protein izolatu Soya protein izolatu (Alkali çözünme + asit çökeltilme yöntemi)	Klorojenik asit Dekstran	Alkali muamelesi yöntemi Kuru ısıtma (%79 bağıl nem, 60 °C, 24 saat)	Konjugatların; Ara yüzey gerilimi azalmıştır. Depolama ve oksidatif stabiliteyi iyileştirilmiştir.	Liu vd. (2020)
Yumurta beyazı proteini	Kateşin Dekstran	Serbest radikal aşılama Kuru ısıtma (%79 bağıl nem, 60 °C, 3 gün)	Çözünürlükte belirgin değişim görülmemiştir. Emülsifiye edici özellikler ve termal stabilite geliştirilmiştir.	Gu vd. (2023)

altı suyu protein izolatu ile klorojenik asit ve dekstran konjugatlarını alkali yöntem ve Maillard reaksiyonu olacak şekilde iki aşamalı olarak hazırlamışlardır. Öncelikle protein çözeltileri ve klorojenik asit konjugasyonu alkali muamele yöntemine göre kovalent etkileşim olacak şekilde hazırlanmıştır. Ardından protein - klorojenik asit konjugat çözeltisi kuru ısıtma yöntemi (%79 bağıl nem, 60 °C, 24 saat) ile dekstran tozuyla konjugat hazırlanmak üzere reaksiyona tabi tutulmuştur. Hazırlanan üçlü konjugat nanoemülsiyonların özelliklerini araştırmak üzere emülgatör olarak kullanılmıştır. Konjugatların depolama ve oksidatif stabiliteyi olumlu etkilenmişlerdir. Konjugatlar arasında yer fıstığı protein izolatu - klorojenik asit - dekstranın en küçük parçacık boyutuna ve optimal stabiliteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yan vd. (2020) sığır serum albümin - klorojenik asit-dekstran konjugatlarını kovalent olarak üretmişlerdir. Konjugatlar hazırlanırken sığır serum albümin-dekstran konjugasyonunu kuru ısıtma; klorojenik asit-sığır serum albümin konjugasyonunu ise alkali muamelesi yöntemleri ile hazırlamışlardır. Bu ürettikleri konjugatları gelişmiş fiziksel stabiliteye sahip ve ayrıca E vitamini de içeren bir emülsiyon hazırlamak için kullanmışlardır. Yapılan

çalışma sonucunda klorojenik asit - sığır serum albümin - dekstran konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonların, tek başına sığır serum albümin veya klorojenik asit - sığır serum albümin konjugatları ile stabilize edilen emülsiyonlara göre daha iyi fizikokimyasal stabiliteye sahip olduklarını tespit etmişlerdir.

Gu vd. (2023) kateşin – dekstran - yumurta beyazı proteini konjugatlarını iki aşamalı olarak hazırlamışlardır. Öncelikle dekstran - kateşin konjugatları serbest radikal aşılama yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu konjugat kuru ısıtma yöntemi (60 °C, %79 bağıl nem, 3 gün) kullanılarak yumurta beyazı proteinine kovalent olarak bağlanmıştır. Kateşin – dekstran - yumurta beyazı proteini konjugatları sonucunda proteinin çözünürlük özelliklerinde belirgin bir değişim olmamakla birlikte emülsifiye edici özellikleri (proteinin yüksek hidrofobikliğine bağlı olarak) ve termal stabilitesi iyileştirilmiştir. Çalışmada emülsiyon bazlı gıdaların fizikokimyasal stabiliteyi kateşin -dekstran - yumurta beyazı proteini konjugatları ile iyileştirilebileceği ve konjugatların yağ damlacıklarının yüzeylerine iyi bir şekilde adsorbe edilebildiği rapor edilmiştir. Konjugatların oluşumunda yer alan polifenolün güçlü

antioksidan aktivitesi sebebi ile gıdalardaki lipit oksidasyon reaksiyonlarının azaltılabileceği düşünülen bir diğer kavramdır.

2.6. Konjugasyonları Etkileyen Faktörler

Polifenol, karbonhidrat ve proteinlerin kovalent ya da kovalent olmayan konjugasyonlarını etkileyen faktörlerin başında sıcaklık ve pH gelmektedir. Bunlar en önemli dışsal faktörlerdir. Ayrıca polifenol çeşidi, protein tipi, moleküler yapı, molekül ağırlığı, hidrofobiklik veya hidrofillik, aminoasit bileşimi konjugasyonu etkileyen içsel faktörlerdendir (Liu vd., 2023; Tazeddinova vd., 2022). Örneğin polisakkarit ve protein etkileşiminde konjugat çözünürlüğünün, izoelektrik nokta civarında (pH 4,5-7.0) diğer pH değerlerine göre saf proteinin çözünürlüğünden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Liu vd., 2023).

3. SONUÇ

Proteinlerin fonksiyonel özellikleri bazen yetersiz kalmakta ve dolayısıyla gıda uygulamalarında kullanımını kısıtlamaktadır. Bu durum, son yıllarda proteinlerin diğer moleküllerle modifikasyonu üzerine yoğunlaşan araştırmaların artmasına neden olmuştur. Modifikasyon işlemi sonucunda proteinler, karbonhidratlar ve polifenoller ile etkileşime girebilmektedir. Literatürde, bu konjugasyonların proteinlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirdiğine dair pek çok çalışma mevcuttur.

Proteinler, yalnızca karbonhidratlar ve polifenoller ile ikili konjugasyonlar oluşturmakla kalmayıp aynı zamanda üçlü konjugasyonlar da gerçekleştirmekte ve bu durum, araştırmaların kapsamını genişletmektedir. Konjugasyon işlemleri, çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Maillard konjugasyonu için geleneksel metotlar, giderek yerini alternatif yöntemlere (mikrodalga, vurgulu elektrik alan, ultrases vb.) bırakmaktadır.

Protein ile polifenollerin konjugasyonlarında, kovalent bağların oluşturduğu konjugatların, kovalent olmayan bağlarla oluşturulanlara göre daha yüksek antioksidan aktivite ve termal stabilite sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca araştırmalar en yaygın kullanılan yöntemlerin alkali muamelesi ve serbest radikal aşılama metodu olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak proteinlerin karbonhidratlar ve polifenollerle modifikasyonunun, gıda uygulamalarında karşılaşılan sınırlı kullanım sorunlarını çözme potansiyeline sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca konjugatlar kullanılarak stabilize

edilen emülsiyonların fizikokimyasal stabilitesinin belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir. Dolayısıyla bu durumun, gıda ürünlerinin kalitesini iyileştirme açısından önemli bir avantaj sağladığı düşünülmektedir.

Gelecek araştırmaların, hem geleneksel hem alternatif modifikasyon tekniklerinin etkilerini kapsamlı bir şekilde incelemeleri, farklı polifenol ve karbonhidratların proteinlerle etkileşimlerini değerlendirmeleri ve konjugatların gıda formülasyonlarındaki potansiyel uygulamalarını araştırmaları beklenmektedir; bu da gıda uygulamalarında daha etkili ve sağlıklı formülasyonların geliştirilmesine katkı sağlayabilir. Ayrıca uygulanacak yeni konjugasyon teknikleri, bitkisel proteinler ve doğal polisakkaritlerin etkileşimi sayesinde sürdürülebilirliğe katkı da sağlayacaktır. Bütün bunların gıda mühendisliği alanında farklı araştırma alanları sağlayacağı düşünülmektedir.

Teşekkür ve Bilgilendirme

Bu çalışma Bengisu Arslan'ın Yüksek Lisans seminerinden üretilmiştir.

KAYNAKÇA

- Aksoy, Z., Ersus, S. (2023). The comparative studies on the physicochemical properties of mung bean protein isolate-polysaccharide conjugates prepared by ultrasonic or controlled heating treatment. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 50, 102690. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2023.102690>
- Aziznia, S., Askari, G., Emamdjomeh, Z., ve Salami, M. (2024). Effect of ultrasonic assisted grafting on the structural and functional properties of mung bean protein isolate conjugated with maltodextrin through maillard reaction. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127616. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127616>
- Benjakul, S., Singh, A., Chotphruethipong, L. ve Mittal, A. (2021). Protein- polyphenol conjugates: Preparation, functional properties, bioactivities and applications in foods and nutraceuticals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 98, 281–320. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2021.02.011>
- Chen, J., Zhang, X., Chen, X., Pius Bassey, A., Zhou, G. ve Xu, X. (2022). Phenolic modification of myofibrillar protein enhanced by ultrasound: The structure of phenol matters. *Food Chemistry*, 386. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132662>
- Chen, W., Lv, R., Wang, W., Ma, X., Muhammad, A. I.,

- Guo, M., Ye, X. ve Liu, D. (2019). Time effect on structural and functional properties of whey protein isolate-gum acacia conjugates prepared via Maillard reaction. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(10), 4801–4807. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9735>
- Chen, W., Ma, X., Wang, W., Lv, R., Guo, M., Ding, T., Ye, X., Miao, S. ve Liu, D. (2019). Preparation of modified whey protein isolate with gum acacia by ultrasound maillard reaction. *Food Hydrocolloids*, 95, 298–307. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.10.030>
- Djuardi, A. U. P., Yuliana, N. D., Ogawa, M., Akazawa, T. ve Suhartono, M. T. (2020). Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 57(10), 3591–3600. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04391-9>
- Dumitraşcu, L., Borda, D. ve Aprodu, I. (2023). Alternative Processing Options for Improving the Proteins Functionality by Maillard Conjugation. *Foods*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/foods12193588>
- Gu, L., Yao, X., McClements, D. J., Liang, L., Xiong, W., Li, J., Chang, C., Su, Y. ve Yang, Y. (2023). Fabrication, characterization, and application of catechin- dextran-egg white protein conjugates: Novel antioxidant emulsifiers. *LWT*, 173. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114268>
- Guan, H., Zhang, W., Sun-Waterhouse, D., Jiang, Y., Li, F., Waterhouse, G. I. N. ve Li, D. (2021). Phenolic-protein interactions in foods and post ingestion: Switches empowering health outcomes. *Trends in Food Science and Technology*, 118, 71–86. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.033>
- Han, Z., Zhu, M., Wan, X., Zhai, X., Ho, C. T. ve Zhang, L. (2022). Food polyphenols and Maillard reaction: regulation effect and chemical mechanism. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-17. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2146653>
- Kan, X., Chen, G., Zhou, W. ve Zeng, X. (2021). Application of protein- polysaccharide Maillard conjugates as emulsifiers: Source, preparation and functional properties. *Food Research International*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110740>
- Kan, X., Hu, Y., Huang, Y., Fan, X., Chen, G., Ye, H. ve Zeng, X. (2023). Kan, X., Hu, Y., Huang, Y., Fan, X., Chen, G., Ye, H., & Zeng, X. (2023). Characterization of whey protein isolate-gum Arabic Maillard conjugate and evaluation of the effects of conjugate-stabilized emulsion on microbiota of human fecal cultures. *Food Hydrocolloids*, 134, 108060. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108060>
- Liu, C., Jin, H., Yu, Y., Sun, J., Zheng, H., Zhang, Y., Xu, J. ve Zhu, X. (2020). The improvement of nanoemulsion stability and antioxidation via protein- chlorogenic acid-dextran conjugates as emulsifiers. *Nanomaterials*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/nano10061094>
- Liu, F., McClements, D. J., Ma, C. ve Liu, X. (2023). Novel Colloidal Food Ingredients: Protein Complexes and Conjugates. *Annual Review of Food Science and Technology*, 14, 35-61. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-060721>
- Liu, J., Yong, H., Yao, X., Hu, H., Yun, D. ve Xiao, L. (2019). Recent advances in phenolic-protein conjugates: Synthesis, characterization, biological activities and potential applications. *RSC Advances*, 9(61), 35825-35840. <https://doi.org/10.1039/c9ra07808h>
- Liu, X., Song, Q., Li, X., Chen, Y., Liu, C., Zhu, X., Liu, J., Granato, D., Wang, Y. ve Huang, J. (2021). Effects of different dietary polyphenols on conformational changes and functional properties of protein-polyphenol covalent complexes. *Food Chemistry*, 361. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130071>
- Ma, X., Chen, W., Yan, T., Wang, D., Hou, F., Miao, S., Liu, D., 2020. Comparison of citrus pectin and apple pectin in conjugation with soy protein isolate (SPI) under controlled dry-heating conditions. *Food Chemistry*, 309, 125501. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125501>
- Nooshkam, M., Varidi, M. ve Verma, D. K. (2020). Functional and biological properties of Maillard conjugates and their potential application in medical and food: A review. *Food Research International*, 131. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109003>
- Parolia, S., Maley, J., Samyinaiken, R., Green, R., Nickerson, M. ve Ghosh, S. (2022). Structure – Functionality of lentil protein-polyphenol conjugates. *Food Chemistry*, 367. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130603>
- Pi, X., Liu, J., Sun, Y., Ban, Q., Cheng, J. ve Guo, M. (2023). Protein modification, IgE binding capacity, and functional properties of soybean protein upon conjugation with polyphenols. *Food Chemistry*, 405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134820>
- Rashid, M. (2022). *Fesleğen tohumu protein izolatlarının fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin araştırılması ve glutensiz ekmek üretiminde kullanımı*. [Yüksek lisans tezi, İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi]. YÖK Ulusal Tez Merkezi. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezSorguSonusuYeni.jsp>

- Sedaghat Doost, A., Nikbakht Nasrabadi, M., Wu, J., A'yun, Q. ve Van der Meeren, P. (2019). Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. *In Trends in Food Science and Technology*, 91, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.011>
- Sui, X., Sun, H., Qi, B., Zhang, M., Li, Y. ve Jiang, L. (2018). Functional and conformational changes to soy proteins accompanying anthocyanins: Focus on covalent and non-covalent interactions. *Food Chemistry*, 245, 871–878. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.090>
- Sun, J., Mu, Y., Obadi, M., Dong, S. ve Xu, B. (2020). Effects of single-mode microwave heating and dextran conjugation on the structure and functionality of ovalbumin–dextran conjugates. *Food Research International*, 137. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109468>
- Taha, A., Casanova, F., Šimonis, P., Jonikaitė-Švėgždienė, J., Jurkūnas, M., Gomaa, M. A. E. ve Stirkė, A. (2022). Pulsed electric field-assisted glycation of bovine serum albumin/starch conjugates improved their emulsifying properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103190>
- Tazeddinova, D., Toshev, A. D., Abylgazinova, A., Rahman, Md. R., Matin, Md. M., Bakri, M. K. Bin. ve Ayan, O. (2022). A review of polyphenol and Whey Protein-based conjugates. *Bio Resources*, 17(4), 6997. doi: 10.15376/biores.17.4.Tazeddinova1
- Vinayashree, S. ve Vasu, P. (2021). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry*, 340. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128177>
- Wang, Y., Chen, Y., Lv, J., Li, C. ve Wang, F. (2023). Characterization of walnut protein isolate-polyphenol nanoconjugates for the developing a food-grade delivery system. *Journal of Food Science and Technology*, 60(9), 2454–2467. <https://doi.org/10.1007/s13197-023-05768-2>
- Xu, Y., Han, M., Huang, M. ve Xu, X. (2021). Enhanced heat stability and antioxidant activity of myofibrillar protein-dextran conjugate by the covalent adduction of polyphenols. *Food Chemistry*, 352. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129376>
- Yan, S., Xie, F., Zhang, S., Jiang, L., Qi, B. ve Li, Y. (2021). Effects of soybean protein isolate – polyphenol conjugate formation on the protein structure and emulsifying properties: Protein – polyphenol emulsification performance in the presence of chitosan. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 609. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2020.125641>
- Yan, Y., Zhu, Q., Diao, C., Wang, J., Wu, Z. ve Wang, H. (2020). Enhanced physicochemical stability of lutein-enriched emulsions by polyphenol-protein-polysaccharide conjugates and fat-soluble antioxidant. *Food Hydrocolloids*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105447>
- Yıldız, O., Şahin, H., Kara, M., Aliyazıcıoğlu, R., Tarhan, Ö. ve Kolaylı, S. (2010). Maillard Reaksiyonları ve Reaksiyon Ürünlerinin Gıdalardaki Önemi. *Akademik Gıda*, 8(6), 44-51. <http://www.academicfoodjournal.com>
- Zha, F., Dong, S., Rao, J. ve Chen, B. (2019). Pea protein isolate-gum Arabic Maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 285, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.151>
- Zhang, Q., Cheng, Z., Wang, Y. ve Fu, L. (2021). Dietary protein-phenolic interactions: characterization, biochemical-physiological consequences, and potential food applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(21), 3589-3615. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1803199>
- Zhang, Z., Holden, G., Wang, B. ve Adhikari, B. (2023). Maillard reaction-based conjugation of Spirulina protein with maltodextrin using wet-heating route and characterisation of conjugates. *Food Chemistry*, 406. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134931>
- Zhang, Z., Wang, B. ve Adhikari, B. (2022). Maillard reaction between pea protein isolate and maltodextrin via wet-heating route for emulsion stabilisation. *Future Foods*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100193>
- Zhao, T., Huang, L., Luo, D., Xie, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., Jiao, W., Su, G. ve Zhao, M. (2021). Fabrication and characterization of anchovy protein hydrolysates- polyphenol conjugates with stabilizing effects on fish oil emulsion. *Food Chemistry*, 351. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129324>