

Ketencik Proteinlerinin Bazı Tekno-Fonksiyonel Özellikleri Üzerine Ultrasonikasyon Uygulamasının Etkisi

Fatma Korkmaz , Ceren Mutlu  

Balıkesir Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 10145 Balıkesir

Geliş Tarihi (Received): 14.02.2023, Kabul Tarihi (Accepted): 23.03.2024

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): ceren.mutlu@balikesir.edu.tr (C. Mutlu)

☎ 0 266 612 6319 📠 0 266 612 1257

ÖZ

Bu araştırmada, farklı güçlerdeki ultrasonikasyon uygulamasının ketencik (*Camelina sativa* (L.) Crantz) proteinlerinin tekno-fonksiyonel özelliklerine etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Alkali ekstraksiyon (pH 12) ve izoelektrik noktada çöktürme (pH 4.5) yöntemi kullanılarak elde edilen ketencik proteinlerine beş farklı ultrasonikasyon (20 kHz) gücünde (0, 50, 100, 150 ve 200 W) işlem uygulanmış ve proteinlerin su bağlama, yağ bağlama, köpürme ve emülsiyon özelliklerindeki değişimler incelenmiştir. Uygulanan ultrasonikasyon işlemlerinin ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitelerinde %251.07-500.03 aralığında gerçekleşen bir azalışa, yağ bağlama kapasitelerinde ise %14.10-21.21 aralığında gerçekleşen bir artışa neden olduğu belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek köpürme kapasitesi (%53.59) ve köpürme stabilitesi değerleri (15. ve 30. dakikalar için sırasıyla %42.20 ve %40.71) 200 W gücünde ultrasonikasyon işlemi ile üretilen protein örneğinde tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ketencik proteinlerinin bazı tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesinde ultrasonikasyon işleminin kullanım potansiyeli ortaya koyulmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Camelina sativa*, Ultrasonikasyon, Köpürme, Emülsiyon

Effect of Ultrasonication on Some Techno-functional Properties of *Camelina sativa* Proteins

ABSTRACT

In this study, it was aimed to determine the effect of ultrasonication at different powers on the techno-functional properties of *Camelina sativa* proteins. Five different ultrasonication (20 kHz) powers (0, 50, 100, 150, and 200 W) were applied to the proteins of *Camelina sativa* (*Camelina sativa* (L.) Crantz), that were obtained by alkaline extraction (pH 12.0) and isoelectric point precipitation (pH 4.5) methods, and the changes in water holding, oil holding, foaming and emulsification properties of proteins were determined. It was determined that the ultrasonication process caused a decrease in the water binding capacity of *Camelina sativa* proteins between 251.07-500.03%, and an increase in the oil binding capacity between 14.10-21.21%. Moreover, the highest foaming capacity (53.59%) and foaming stability values (42.20% for the 15 min and 40.71% for the 30 min) were determined in the protein sample produced with 200 W ultrasonication. According to the results, it was determined that ultrasonication could be potentially used to improve some techno-functional properties of *Camelina sativa* proteins.

Keyword: *Camelina sativa*, Ultrasonication, Foaming, Emulsification

GİRİŞ

Brassicaceae familyasına ait bir protein ve yağlı tohum bitkisi olan ketencik (*Camelina sativa* (L.) Crantz) [1]

türlerine, yetiştirildiği ortamdaki toprak bileşimi ve çevresel faktörlere bağlı olarak yaklaşık %30-38 yağ ve %23-30 protein içermektedir [2].

Beslenmede çok önemli bir rol oynayan proteinlerin farklı kaynaklardan izole edilmeleri ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmakta olup, günümüzde bitkisel proteinlerin daha kolay elde edilebilmeleri, ekonomik ve sürdürülebilir olmaları gibi nedenlerle hayvansal kaynaklı proteinlere göre daha fazla ilgi gördüğü belirtilmektedir [3]. Yapısında albuminler, globulinler ve glutelinler dahil olmak üzere çeşitli çözünürlüklere sahip protein fraksiyonlarını bulunduran [4] ve yağı ayrıldıktan sonra protein içeriği yaklaşık %45 değerine kadar artış gösteren ketencik tohumlarının ise bitkisel bir protein kaynağı olarak gıda endüstrisinde değerlendirilme potansiyeli bulunmaktadır [3]. Ayrıca protein kaynakları gıda ürünlerinin besleyici değerinde artış sağlarken, ilave edildiği ürünün bazı fonksiyonel özellikleri üzerinde de etkili olmaktadır. Proteinlerin sahip olduğu su ve yağ bağlama kapasiteleri, çözünürlükleri, jelleşme, emülsiyon ve köpük oluşturma gibi fonksiyonel özellikleri ilave edildiği ürünler açısından önemli olabilmektedir. Bu özellikler proteinlerin konformasyonel yapılarından etkilenmekte olup, genel olarak doğal bitki proteinleri yapısal özellikleri nedeniyle gıda ürünlerinde uygun jelleşme veya emülsiyon oluşumu sağlayamamaktadır. Bu nedenle bitkisel kaynaklı proteinlerin belirtilen özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla farklı fiziksel, kimyasal ve enzimatik işlemler uygulanmaktadır [5].

Ultrasonikasyon tekniği proteinlerde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olan ve bu sayede proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerinin iyileştirilmesinde kullanılan bir uygulamadır [5]. Ultrason teknolojisi, insan duyma eşiğinin üzerinde frekanslar üreten akustik dalgalara dayalı bir teknoloji olup, 1 W/cm² değerinin altında güce sahip düşük yoğunluklu (100 kHz-1 MHz) ve 10-1000 W/cm² aralığında güce sahip yüksek yoğunluklu (20-100 kHz) ultrason olmak üzere iki farklı uygulama şekli bulunmaktadır [6]. Yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon uygulamasının moleküller arası hidrofilik ve hidrofobik etkileşimleri değiştirdiği, proteinlerin uzamsal konformasyonunu açabildiği, protein agregatlarını parçalayabildiği, parçacık boyutunu azaltabildiği ve akustik kavitasyon tarafından üretilen fiziksel, kimyasal ve termal etkilere bağlı olarak proteinlerin ikincil ve üçüncül yapılarını tahrip edebildiği bildirilmiştir. Bu değişimlere bağlı olarak ise proteinlerin fonksiyonel özelliklerinde farklılaşma meydana geldiği ve proteinlerin su ve yağ arayüzüne kolayca adsorbe olabildiği ve yağ damlacıklarını birleşmeye karşı stabilize edebildiği belirtilmiştir [5].

Literatürde kolza tohumu [7], ayçiçeği [6], siyah mercimek [8], soya [9] ve demirhindi [10] gibi farklı bitkisel tohumlardan izole edilen proteinlerin ultrasonikasyon tekniği ile tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesini konu alan çeşitli çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ancak bu uygulamanın ketencik tohumu proteinleri açısından etkilerinin araştırıldığı bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle ilgili çalışmada; ketencik tohumu proteinlerinin izole edilmesi ve izole edilen proteinlerin farklı güçlerde uygulanan ultrasonikasyon işlemi ile su ve yağ bağlama, köpük ve emülsiyon oluşturma gibi tekno-fonksiyonel özelliklerindeki değişimin belirlenmesi amaçlanmıştır. Böylece çeşitli gıda ürünlerinde kullanılmak üzere gıda

endüstrisi için önemli olan yağ bağlama kapasitesi, köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi gibi tekno-fonksiyonel özellikleri geliştirilmiş alternatif bir bitkisel protein kaynağı elde edilmiş olacaktır.

MATERYAL ve METOT

Materyal

Araştırmada kullanılan ketencik tohumları ve ayçiçek yağı piyasadan temin edilmiştir. Kimyasallar malzemeler ise analitik saflıkta Honeywell (Hessen, Almanya) ve Sigma-Aldrich (Taufkirchen, Almanya) firmalarından temin edilerek kullanılmıştır.

Metot

Ketencik Tohumundan Protein Eldesi

Ketencik tohumlarından protein eldesi Ngo ve Shahidi [3] tarafından bildirilen alkali ekstraksiyon ve izoelektrik noktada çöktürme metodunda bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Ketencik tohumları protein ekstraksiyonu işleminden önce öğütülerek (SCM-2910, Sinbo, Çin) 1 mm gözenek çapına sahip elekten geçirilmiştir. Elenen materyalin yağının uzaklaştırılması amacıyla materyal üzerine 1:5 oranında hekzan ilave edilmiş ve oda sıcaklığında 1 saat süresince 150 rpm hızla bir çalkalayıcıda (Open air shaker OS-4000, Jeio Tech, Güney Kore) dairesel olarak karıştırılmıştır. Süre sonunda filtre kağıdından süzülen materyalin katı kısmı ayrılmış ve katı kısımda kalan hekzan buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır. Katı kısımda yağ içeriğinin varlığının anlaşılması amacıyla Soxhlet yöntemi ile yağ ekstraksiyonu yapılarak (AACC Metot 30-25) örneklerin yağının tamamen uzaklaştırılmış olduğu doğrulanmıştır [11]. Elde edilen yağsız kısım protein ekstraksiyonunda kullanılmıştır. Ketencik tohumunun protein içeriği %29.78 ve yağının uzaklaştırılması sonucu elde edilen ketencik küspesinin protein içeriği ise %36.97 olarak belirlenmiştir.

Öğütülen ve yağı ayrıştırılan ketencik tohumlarından 25 g tartılarak üzerine 750 mL saf su ilave edilmiş ve pH 12.0 değerine 2 M NaOH çözeltisi ile pH metre (Orion 3-Star, Thermo Scientific, ABD) kullanılarak ayarlanmıştır. Bu karışım 1 saat süresinde manyetik karıştırıcı üzerinde 800 rpm hızla oda sıcaklığında karıştırılmış ve süre sonunda 5800 rpm hızla 10 dakika santrifüj (Benchtop centrifuges C2006, Centurion, İngiltere) edilerek sıvı kısım toplanmıştır. Ayrılan sıvı kısmın pH değeri 4.5 olarak 2 M HCl çözeltisi ile yeniden ayarlanmıştır. pH değerindeki değişime bağlı olarak çöken protein fraksiyonunun ayrılması amacıyla karışım 5800 rpm hızla 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstteki sıvı kısım uzaklaştırılarak çöken katı kısımlar birleştirilmiştir. Katı kısım üzerine 100 mL saf su ilave edilmiş ve pH değeri 2 M NaOH çözeltisi kullanılarak 7.0 değerine ayarlanmıştır.

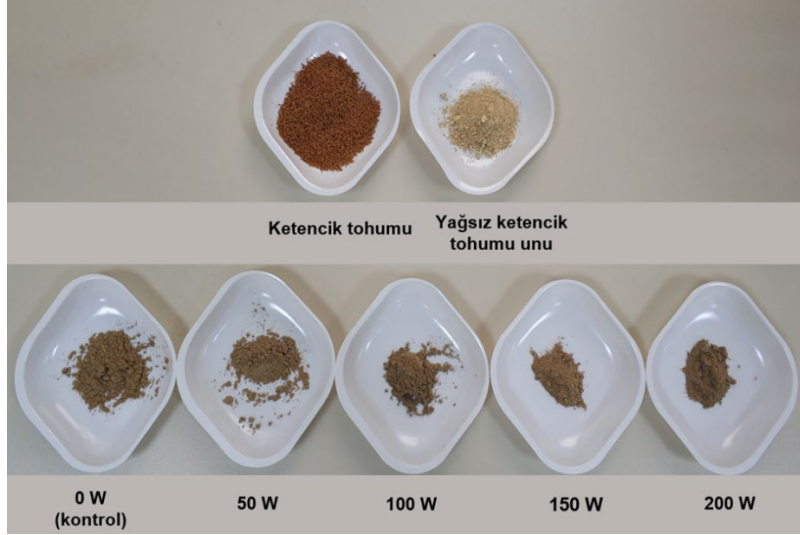
Elde edilen protein ekstraktlarından kontrol örneği olarak kullanılan örneklerle ultrasonikasyon uygulaması yapılmamış ve bu örneklerle doğrudan kurutma işlemi uygulanmıştır. Bu amaçla protein ekstraktları tepsi

üzerine yayılarak vakum kurutucuda (Oven ON-11E, Jeio Tech, Güney Kore) 45°C sıcaklıkta ve 200 mbar basınçta kurutulmuştur. Kurutma işleminin ardından elde edilen örnekler öğütülmüş ve analiz edilinceye kadar -18°C sıcaklıkta hava geçirmeyen amber renkli bir kap içerisinde tutulmuştur. Belirtilen şartlarda elde edilen ketencik protein tozlarının protein içeriği %64.01 olarak tespit edilmiştir.

Ultrasonikasyon Uygulaması

Protein ekstraktlarına yapılan ultrasonikasyon işleminin koşulları literatürde belirtilen farklı bitkisel kaynaklı proteinlere uygulanan koşullar dikkate alınarak ve yapılan ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Buna göre pH değeri 7.0 olarak ayarlanan örnekler 4°C sıcaklığındaki ortam içerisinde 45 dakika süresince 50, 100, 150 ve 200 W olmak üzere 4 farklı düzeyde 13 mm çapında prob aracılığıyla ve probun örnek içerisine 3 cm

derinliğinde olacak şekilde daldırılmasıyla ultrasonikasyon (Sonopuls HD 2200.2, Bandelin, Almanya) işlemi uygulanmıştır [5, 6, 12]. Sıcaklık ultrasonikasyon işlemi süresince takip edilmiş ve sıcaklığın sabit tutulması amacıyla soğutucu sistem (RW3-0525, Lab Companion, Jeio Tech, Güney Kore) kullanılmıştır. Ultrasonikasyon işleminden sonra elde edilen örneklerde bulunan suyun uzaklaştırılması amacıyla kontrol örneğine uygulanan koşullarda vakum altında kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutma işleminin ardından elde edilen örnekler öğütülmüş ve analiz edilinceye kadar -18°C sıcaklıkta hava geçirmeyen amber bir kap içerisinde tutulmuştur. Araştırma kapsamında kullanılan ketencik tohumu, yağsız ketencik tohumu unu ile ultrasonikasyon işlemi uygulanmamış (kontrol) ve farklı ultrasonikasyon güçlerinde işlem uygulanmış ketencik proteinlerine ait görsel Şekil 1'de verilmiştir.



Şekil 1. Ketencik tohumu, yağsız ketencik tohumu unu ve ketencik proteinleri

Figure 1. Camelina sativa seed, Camelina sativa meal and Camelina sativa proteins

Ham Protein Analizi

Örneklerin ham protein içerikleri, AACC Metot 46-12'de belirtilene göre Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir [11].

Su ve Yağ Bağlama Kapasitesi Analizleri

Örneklerin su bağlama kapasitesini belirlemek amacıyla 1 g örnek tartılmış ve üzerine 10 mL su ilave edilerek 5 dakika süresince girdap karıştırıcı (Vortex mixer M10110002, Four E'S Scientific, Çin) ile karıştırılmıştır. Bu karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4500 rpm hızla 30 dakika santrifüj edilmiş ve sıvı kısım uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katı kısım tartılarak aşağıda verilen eşitlik yardımıyla örneklerin su bağlama kapasiteleri % olarak hesaplanmıştır [6].

Örneklerin yağ bağlama kapasitesini belirlemek amacıyla 1 g örnek tartılmış ve üzerine 10 mL ayçiçek yağı ilave edilerek 5 dakika süresince girdap karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Bu karışım oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4500 rpm hızla 30 dakika santrifüj

edilmiş ve ayrılan yağ kısmı uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katı kısım tartılarak aşağıda verilen eşitlik yardımıyla örneklerin yağ bağlama kapasiteleri % olarak hesaplanmıştır [6].

Su veya yağ bağlama kapasitesi (%) =

$$\frac{\text{Son tartım} - \text{Dara}}{\text{Örnek miktarı}} \times 100$$

Eşitlik 1

Köpürme Kapasitesi ve Stabilitesi Analizleri

Köpürme kapasitesi ve stabilitesi analizleri için %3 konsantrasyonundaki protein çözeltisi saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti bir mezüre aktararak başlangıç hacmi (V₁) belirlendikten sonra bir karıştırıcı (8011ES, Blender, ABD) içerisinde 5 dakika süresince karıştırılmış ve hemen bir mezüre aktararak toplam hacmi (V₂) kaydedilmiştir. Ardından örneklerin 15. ve 30. dakikalardaki köpük hacimleri (V₃) belirlenmiştir. Elde edilen veriler kullanılarak aşağıdaki eşitlikler yardımıyla örneklerin köpürme kapasite ve stabilite değerleri % olarak hesaplanmıştır [6].

$$Köpürme kapasitesi (\%) = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100 \quad \text{Eşitlik 2}$$

$$Köpürme stabilitesi (\%) = \frac{V_3}{V_1} \times 100 \quad \text{Eşitlik 3}$$

Emülsiyon Kapasitesi ve Stabilitesi Analizleri

Emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi analizleri için %3 konsantrasyonundaki protein çözeltisi saf su kullanılarak hazırlanmış ve üzerine ayçiçek yağı (1:1) ilave edilerek toplam hacim (V_1) belirlenmiştir. Hazırlanan bu karışım 90 saniye süresince karıştırıcı içerisinde karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonunda karışıma 3500 rpm hızla 5 dakika santrifüj uygulanmış ve emülsiyon kısmının hacmi (V_2) ölçülmüştür. Bu işlemten sonra karışımlar 80°C sıcaklıktaki etüv içerisinde 30 dakika bekletilmiş ve 3500 rpm hızla 5 dakika santrifüj işlemi uygulanarak emülsiyon kısmının hacmi yeniden (V_3) ölçülmüştür. Elde edilen veriler kullanılarak aşağıdaki eşitlikler yardımıyla örneklerin emülsiyon kapasite ve stabilite değerleri % olarak hesaplanmıştır [6].

$$Emülsiyon kapasitesi (\%) = \frac{V_2}{V_1} \times 100 \quad \text{Eşitlik 4}$$

$$Emülsiyon stabilitesi (\%) = \frac{V_3}{V_2} \times 100 \quad \text{Eşitlik 5}$$

İstatistiksel Analiz

Araştırmadaki üretimler ve uygulamalar tekerrürlü ve analizler ise paralelli olarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen veriler örnek kuru maddesi üzerinden hesaplanmış ve Minitab (ver. 17.0) kullanılarak verilere varyans analizi ve Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Sonuçlar ise "ortalama \pm standart hata" şeklinde düzenlenmiştir

BULGULAR ve TARTIŞMA

Ultrasonikasyon Uygulamasının Ketencik Proteinlerinin Su ve Yağ Bağlama Kapasitelerine Etkisi

Ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin su ve yağ bağlama kapasitesi değerleri üzerine etkisi Tablo 1'de gösterilmiştir. Su bağlama kapasitesi proteinlerin yerçekimine karşı suyu bağlama yeteneğinin bir göstergesi olup, bu değer proteinlerin gıda sistemleri içerisinde sağladıkları viskozite ve tekstür özellikleriyle yakından ilişkili olması nedeniyle önem taşımaktadır [13, 14]. Proteinler için önemli bir tekno-fonksiyonel özellik olan su bağlama kapasitesi değeri ketencik proteinleri için %691.07 olarak belirlenmiştir. Ngo ve Shahidi [3] tarafından benzer bir ekstraksiyon yöntemi kullanılarak

elde edilen ketencik proteinlerinin su bağlama kapasiteleri %562 olarak tespit edilmiştir. Protein ekstraksiyonundan önce tohumundaki musilaj yapısının ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği farklı bir araştırmada ise ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitesinin %158 olduğu bildirilmiştir [2]. Ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitelerindeki bu farkın kullanılan hammaddeler arasındaki farklılıklardan ve protein ekstraksiyonundan önce tanedeki musilaj yapısının ekstraksiyonu sayesinde protein örneklerinde bulunan yüksek su bağlama kapasitesine sahip musilaj kalıntısının daha az olmasından kaynaklanabileceği değerlendirilmiştir.

Uygulanan ultrasonikasyon işlemleri ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur ($p < 0.05$). Benzer şekilde, Malik ve ark. [6] da ayçiçeği küspesi proteinlerine 20 kHz frekansa sahip (500 W ve %25 genlik) ultrasonik prob ve 40 kHz (500 W) frekandaki ultrasonik banyo kullanarak farklı sürelerde (5, 10, 20 ve 30 dakika) uyguladıkları işlemlerin örneklerin su bağlama kapasitesinde önemli bir azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitesindeki söz konusu azalmanın ultrasonikasyon işleminin gücünün artmasıyla beraber (50, 100, 150 ve 200 W) sırasıyla %251.07, %354.59, %443.09 ve %500.03 düzeyinde olduğu tespit edilmiştir. Resendiz-Vazquez ve ark. [15] tarafından jak meyve çekirdeği proteinlerine 0, 200, 400 ve 600 W güçlerinde 15 dakika (5 saniye açık, 25 saniye kapalı) süresince uygulanan ultrasonikasyon işlemi neticesinde proteinlerin %335 olan su tutma kapasitesinin ultrasonikasyon gücünün artmasıyla beraber azalan bir eğilim (200 W için %320, 400 W için %199, 600 W için %188) gösterdiği bildirilmiştir [15]. Araştırmacılar, uyguladıkları ultrasonikasyon işlemlerinin proteinlerin molekül yapısında değişime neden olarak yüzeydeki hidrofobik yapıların artması sonucu örneklerin su tutma kapasitesini azaltabileceğini belirtmişlerdir [6–16].

Proteinlerin yağ bağlama özelliği, formüle gıdalarda (mayonez ve salata sosları, et analogları, çorbalar vd.) lezzetin artmasını ve muhafaza edilmesini sağlaması sebebiyle büyük bir öneme sahiptir [17–19]. Buna göre işlem görmemiş ketencik proteinlerinin yağ bağlama kapasitesi %110.48 olarak belirlenmiştir (Tablo 1). Yapılan bir araştırmada alkali ekstraksiyon ile izoelektrik noktada çöktürme yöntemi kullanılarak elde edilen ketencik proteinlerinin yağ bağlama kapasitesinin %107 olduğu bildirilmiştir [2].

Tablo 1. Ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitesi ve yağ bağlama kapasitesi değerleri

Table 1. Water holding capacity and oil holding capacity values of Camelina sativa proteins

Ultrasonikasyon gücü (W)	Su bağlama kapasitesi	Yağ bağlama kapasitesi
0 (kontrol)	691.07 \pm 9.72 ^A	110.48 \pm 2.97 ^B
50	440.00 \pm 17.50 ^B	124.58 \pm 5.74 ^{AB}
100	336.48 \pm 5.26 ^C	131.69 \pm 1.85 ^A
150	257.98 \pm 1.33 ^D	129.78 \pm 3.98 ^A
200	191.84 \pm 3.42 ^E	128.90 \pm 1.16 ^A

*Aynı sütun içindeki farklı harfler, ortalamalar arasındaki farkın istatistiksel açıdan önemli olduğunu göstermektedir ($p < 0.05$).

* Capital letters show statistically significant difference between values with different ultrasonication power ($p < 0.05$).

Ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin yağ bağlama kapasitelerinde %14.10-21.21 aralığında gerçekleşen istatistiksel olarak önemli bir artışa neden olduğu değerlendirilmiştir ($p<0.05$), ancak bu artışın uygulanan ultrasonikasyon gücüyle ilişkilendirilebilir bir düzeyde olmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$). Resendiz-Vazquez ve ark. [15] farklı güçlerde uyguladıkları ultrasonikasyon işleminin jak meyve çekirdeği proteinlerinin yağ bağlama kapasitesini %192 değerinden %322 (600 W) ile %401 (400 W) aralığına artırdığını bildirmişlerdir. Bir diğer araştırmada ise ayçiçeği küspesi proteinlerine uygulanan ultrasonikasyon işleminin örneklerin yağ bağlama kapasitelerinde önemli bir artışa neden olduğu rapor edilmiştir [6]. Araştırmacılar, ultrasonikasyon uygulamasının proteinlerin kümeleşmesine neden olarak yüzeyde açığa çıkan hidrofobik grupların fiziksel olarak daha fazla yağın tutulmasını sağlayabileceğini belirtmişlerdir [6, 15]. Ayrıca protein yapısında oluşabilecek bu değişimlerin; proteinin doğal özellikleri ile ultrasonikasyon kaynağına, yoğunluğuna, frekansına, süresine, ve uygulama esnasındaki pH, sıcaklık ve iyonik kuvvetlere bağlı olarak gerçekleşebileceğini bildirmişlerdir [15, 20]. Benzer şekilde Ngo ve Shahidi [3] tarafından ketencik küspesinden protein eldesinde ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon uygulaması (180 W, 40 kHz ve 20 dakika) ile elde edilen proteinlerin yağ bağlama kapasitesinde %29.52 düzeyinde bir artış meydana geldiği rapor edilmiştir. Araştırmacılar bu artışın ultrasonikasyon uygulaması sonucu protein yüzeyinde hidrofobik grupların açığa çıkmasından kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir [3].

Ultrasonikasyon Uygulamasının Ketencik Proteinlerinin Köpürme Özelliklerine Etkisi

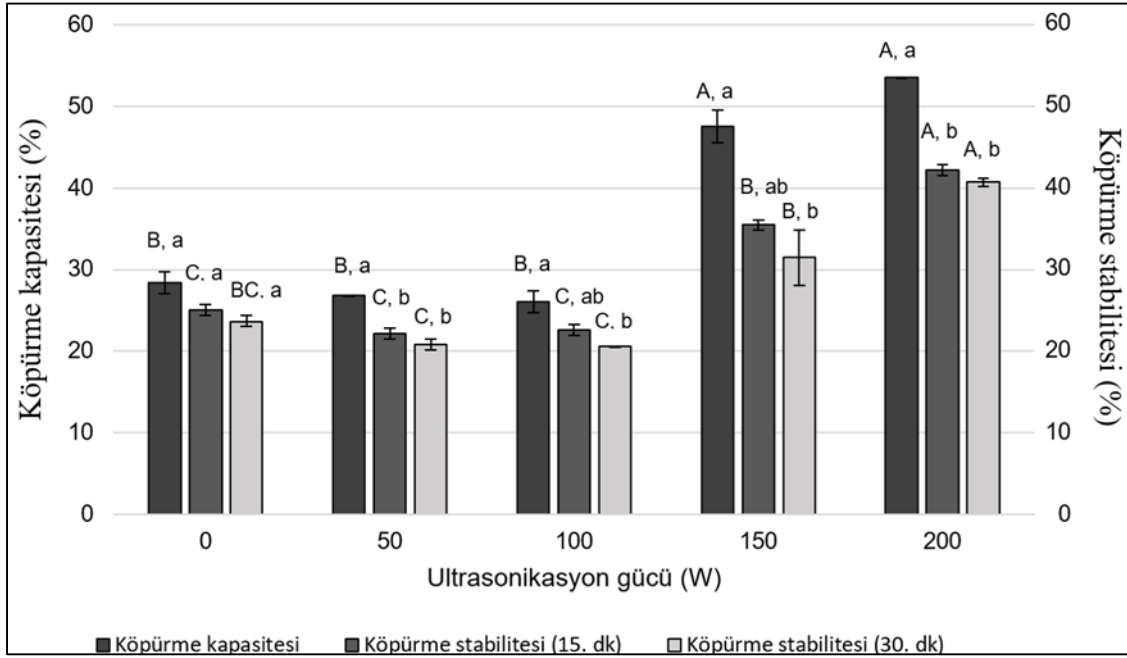
Proteinlerin su ve hava arayüzündeki yüzey gerilimini azaltma yeteneği ile ilişkili olan köpürme kapasitesi ve stabilitesi özellikleri proteinlerin yüzey hidrofobikliği, parçacık boyutu ve yapasal esnekliği gibi özellikleriyle güçlü bir şekilde bağlantılıdır [3, 6]. Çeşitli gıda ürünlerine (çırpılmış tatlılar ve soslar gibi) arzu edilen dokusal ve duyu özellikleri kazandırması nedeniyle proteinlerin köpürme özellikleri ve bu özelliklerin geliştirilmesi oldukça önemlidir [21]. Buna göre ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi ve stabilitesi değerleri üzerine etkisi Şekil 2'de gösterilmiştir. Ultrasonikasyon işlemi uygulanmamış ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi değeri %28.39 olarak belirlenirken, 15. ve 30. dakikadaki köpürme stabilitesi değerleri ise sırasıyla %25.00 ve %23.65 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi değerinde 30 dakikalık süre içerisinde meydana gelen değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Yapılan bir araştırmada da benzer ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi ve 10. dakikadaki köpürme stabilitesi değerlerinin %40 ile %50 aralığında değiştiği tespit edilmiştir [3]. Kullanılan hammaddeler arasındaki farklılıklar ile analiz yöntemi farklılıklarının ketencik proteinlerinin köpürme özelliklerindeki söz konusu farka neden olabileceği öngörülmektedir.

Düşük güçlerde (50 ve 100 W) uygulanan ultrasonikasyon işleminin ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi değerlerinde önemli bir değişime neden olmadığı ($p>0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca 150 ve 200 W güçlerinde ultrasonikasyon uygulaması ile birlikte ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesinin sırasıyla %47.51 ve %53.59 değerlerine yükseldiği görülmüştür ($p<0.05$) (Şekil 2). Benzer şekilde ketencik proteinlerinin 15. ve 30. dakikalardaki köpürme stabilitesi değerlerinin de yüksek güçlerdeki ultrasonikasyon uygulaması ile önemli düzeyde arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$). En yüksek köpürme stabilitesi değeri, 200 W gücünde ultrasonikasyon işlemi uygulanmış protein örneğinde tespit edilmiş olup, bu değerler 15. dakika için %42.20 ve 30. dakika için ise %40.71 olarak tespit edilmiştir. Ayrıca işlem görmemiş protein örneği ile karşılaştırıldığında, 200 W gücünde ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin köpürme stabilitesinde %17.20 ve %17.06 düzeylerinde bir artışa neden olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan ultrasonikasyon işlemi ile ketencik proteinlerinin 30 dakikalık süre içerisinde köpürme kapasitesi değerinin istatistiksel olarak önemli düzeyde azaldığı ve bu azalmanın %5.49-16.06 aralığında gerçekleştiği tespit edilmiş ($p<0.05$), ancak bu değişimin uygulanan ultrasonikasyon gücüyle ilişkilendirilebilir düzeyde olmadığı değerlendirilmiştir ($p>0.05$).

Jambrak ve ark. [12], 20 kHz frekansa sahip ultrasonik prob ile 30 dakika süresince uyguladıkları ultrasonikasyon işlemi sonucu soya proteinlerinin köpürme kapasitesi değerinin %95'ten %104'e arttığını tespit etmişlerdir. Morales ve ark. [22] ise soya proteinlerine farklı sürelerde (5, 10, 15 ve 20 dakika) uyguladıkları ultrasonikasyon işlemi (20 kHz, 750 W ve %20 genlik) ile örneklerin köpürme kapasitesi değerlerinin %62 (5. dakika) ile %75 (20. dakika) aralığında arttığını belirtmiştir. Benzer şekilde jak meyve çekirdeği proteinlerinin de köpürme kapasitesi değerlerinin ultrasonikasyon uygulaması sonucu önemli düzeyde arttığı bildirilmiştir [15]. Nazari ve ark. [23] darı proteinlerine farklı ultrasonikasyon güçleri (0, 20, 60 ve 100 W) ve sürelerinde (5, 12.5 ve 20 dakika) ultrasonikasyon işlemi uygulamış ve 100 W gücündeki işlemlerin örneklerin köpürme kapasitesi ve stabilitesi değerlerinde önemli bir artış sağladığını belirlemişlerdir. Malik ve ark. [6] ayçiçeği küspesi proteinlerine uyguladıkları ultrasonikasyon işleminin örneklerin hem köpürme kapasitesi hem de köpürme stabilitesi değerlerini önemli düzeyde artırdığını bildirmişler ve uygulanan ultrasonikasyon işleminin protein örneklerinin yüzey hidrofobikliğinin artmasına ve parçacık boyutunun azalmasına neden olarak proteinlerin köpürme özelliklerinin gelişmesine neden olabileceğini ifade etmişlerdir [6]. Farklı bir çalışmada ise 3 farklı ultrasonikasyon gücünde (540, 720 ve 900 W) 10 dakika süresince uygulanan işlemlerin buğday gluteninin köpürme kapasitesi ve stabilitesi değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, ultrasonikasyon gücünün artmasıyla birlikte örneklerin hem köpürme kapasitesi hem de köpürme stabilitesi değerlerinin önemli düzeyde arttığı rapor edilmiştir [24]. Buğday gluteninin köpürme özelliklerindeki bu gelişme ultrasonikasyon uygulamaları

ile birlikte oluşan protein denatürasyonu sonucu yapıda hidrofobik bölgelerin açığa çıkması ile ilişkilendirilmiş olup, bu hidrofobik bölgelerin köpük yapısındaki su ve

hava arayüzünde adsorpsiyonu geliştirerek köpürme özelliklerini iyileştirebileceği belirtilmiştir [24].



Şekil 2. Ketencik proteinlerinin köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesi değerleri. Büyük harfler, farklı ultrasonikasyon gücünde işlem görmüş örnekler arasındaki istatistiksel olarak önemli düzeydeki farkı göstermektedir ($p < 0.05$). Küçük harfler, aynı ultrasonikasyon gücünde işlem görmüş örneklerin farklı bekleme sürelerindeki stabilite değerleri arasındaki istatistiksel olarak önemli düzeydeki farkı göstermektedir ($p < 0.05$).

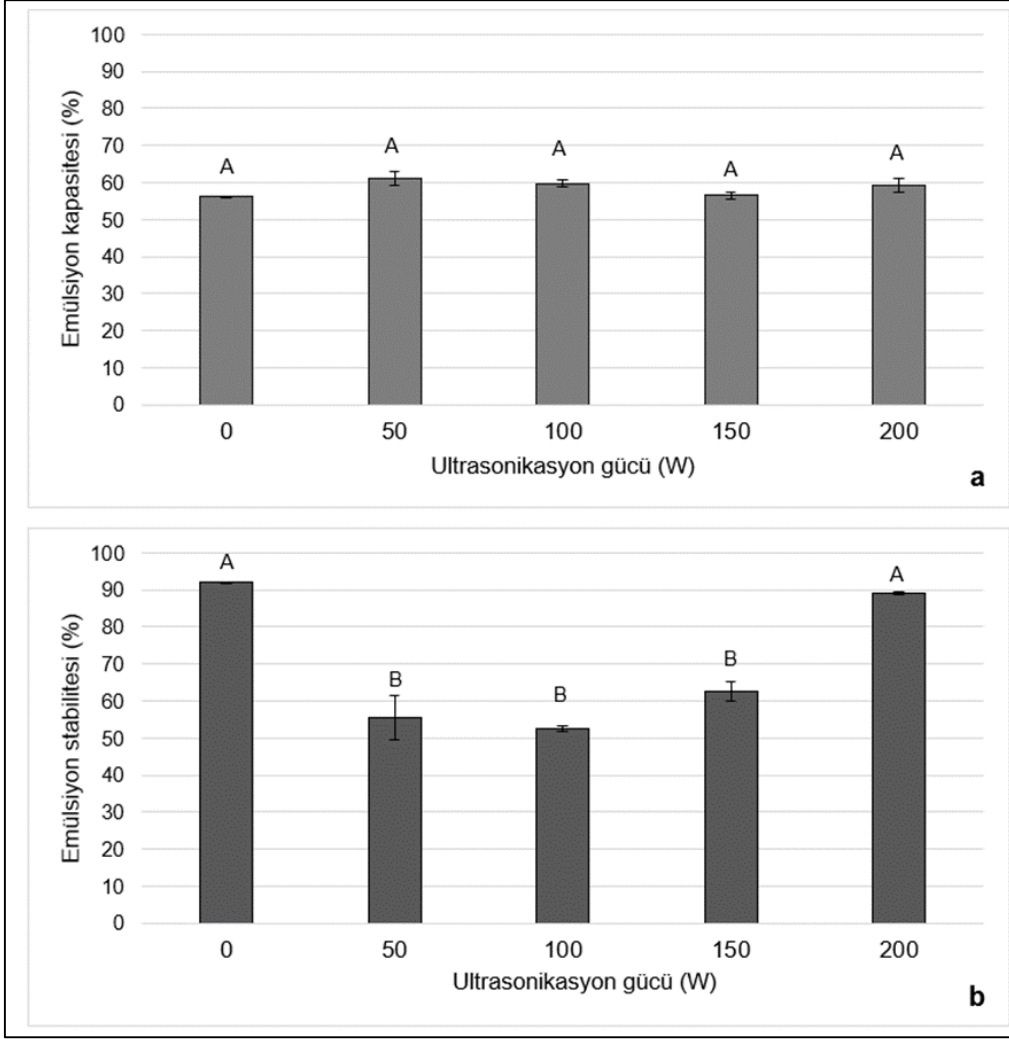
Figure 2. Foaming capacity and foaming stability values of Camelina sativa proteins. Capital letters show statistically significant difference between values with different ultrasonication power ($p < 0.05$). Small letters show statistically significant difference between stability values at different waiting times with same ultrasonication power ($p < 0.05$).

Ultrasonikasyon Uygulamasının Ketencik Proteinlerinin Emülsiyon Özelliklerine Etkisi

Proteinlerin yağ damlacıklarının çevresini sararak bir film tabakası oluşturup faz ayrımını engelleyerek emülsiyon oluşturma özelliği bulunmaktadır. Proteinlerin emülsiyon özellikleri değerlendirilirken emülsiyon kapasitesi ve emülsiyon stabilitesi parametreleri incelenmektedir [25]. Emülsiyon kapasitesi proteinlerin su ve yağ arayüzünde adsorbe olma yeteneğini gösteren bir değer olup, emülsiyon stabilitesi ise oluşturulan emülsiyon yapılarının depolanması veya ısıtılmasından sonra proteinlerin su ve yağ arayüzünde kalma kararlılığını göstermektedir [6]. Bu emülsiyon özellikleri proteinlerin moleküler yapısının esnekliğine ve stabilitesine bağlı olarak değişmektedir [15, 26]. Proteinlerin emülsiyon oluşumuna ve oluşan emülsiyonların stabilizasyonunu katkı sağlaması, formülasyonunda yer aldığı birçok gıda ürünün (soslar, kremalar ve mayonez gibi) kalite özelliklerini etkilemesi nedeniyle oldukça önemlidir [27]. Bu bağlamda ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin emülsiyon kapasitesi ve stabilitesi değerleri üzerine etkisi Şekil 3'te gösterilmiştir. Ketencik proteinlerinin %56.23 olan emülsiyon kapasitesi değeri ultrasonikasyon işlemi sonrasında %56.54-61.09 aralığında değişmekte olup, bu değişim istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p > 0.05$). Diğer yandan

ketencik proteinlerinin emülsiyon stabilitesi değerinin 200 W gücünde uygulanan ultrasonikasyon işlemi ile önemli düzeyde değişmediği ($p > 0.05$), ancak diğer ultrasonikasyon güçlerinde (50, 100 ve 150 W) emülsiyon stabilitesinin önemli düzeyde azaldığı ($p < 0.05$) belirlenmiştir.

Yapılan araştırmalarda ultrasonikasyon gücüne ve işlem süresine bağlı olarak uygulanan işlemlerin jak meyve çekirdeği [15], ayçiçeği küspesi [6], darı [23] ve ceviz [28] proteinlerinin emülsiyon özelliklerinin gelişmesini sağlayabileceği belirtilmiştir. Malik ve ark. [6] ultrasonikasyon uygulaması sonucu meydana gelen yapısal değişimlerin, proteinlerin moleküler esnekliğini ve yüzey hidrofobikliğini etkileyebileceğini ve dolayısıyla proteinlerin emülsiyon özelliklerini değiştirebileceğini ifade etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar emülsiyon özelliklerinin protein çözünürlüğünden doğrudan etkilendiğini, protein çözünürlüğünün artmasının yağ ve su arayüzünde daha fazla protein bulunmasını sağlayarak emülsiyon yapısını etkileyebileceğini belirtmişlerdir [6]. Resendiz-Vazquez ve ark. [15] ve Jambak ve ark. [12] ise ultrasonikasyon uygulaması ile üçüncül ve dördüncül yapılarda oluşan değişimlerin proteinlerin su ve yağ arayüzünde adsorbe olma özelliklerini etkileyebileceğini ve dolayısıyla emülsiyon özelliklerinin de değişebileceğini ifade etmişlerdir.



Şekil 3. Ketencik proteinlerinin emülsiyon kapasitesi (a) ve emülsiyon stabilitesi (b) değerleri
 Figure 3. Emulsifying capacity (a) and emulsifying stability (b) values of *Camelina sativa* proteins

SONUÇ

Son yıllarda protein ihtiyacının artmasıyla beraber yeni ve alternatif protein kaynaklarına olan ilgi de artmaktadır. Bitkisel proteinler daha kolay elde edilebilmeleri, ekonomik ve sürdürülebilir olmaları sebepleriyle büyük önem kazanmakla birlikte doğal halleriyle kullanıldıklarında gıda endüstrisinin ihtiyaç duyduğu bazı fonksiyonel özellikleri karşılamayabilmektedir. Bu nedenle çeşitli uygulamalar ile bitkisel proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi önem kazanmakta ve bu amaçla en yaygın kullanılan yöntemlerden birisi ise ultrasonikasyon uygulaması olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu doğrultuda gerçekleştirilen çalışmada, ketencik proteinlerine 5 farklı ultrasonikasyon gücünde (0, 50, 100, 150 ve 200 W) işlem uygulanmış ve proteinlerin su bağlama, yağ bağlama, köpürme ve emülsiyon özelliklerindeki değişimler incelenmiştir. Buna göre ultrasonikasyon uygulamasıyla ketencik proteinlerinin su bağlama kapasitesinin azaldığı, ancak yağ bağlama kapasitesi, köpürme kapasitesi ve köpürme stabilitesinin ise arttığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak bu çalışma ile ketencik proteinlerinin tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla ultrasonikasyon uygulamasının

kullanılabileceği ortaya konulmuştur. Bu değişimler göz önüne alındığında, 200 W gücünde ultrasonikasyon uygulamasının ketencik proteinlerinin yağ bağlama kapasitesi (%18.42), köpürme kapasitesi (%25.20) ve stabilitesi (%17.20-17.06) değerlerinde sağladığı artışın yanı sıra emülsiyon özelliklerinde önemli bir değişime neden olmaması sonucu ketencik proteinlerinin tekno-fonksiyonel özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla kullanılabileceği ortaya konulmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Juodka, R., Nainienė, R., Juškienė, V., Juška, R., Leikus, R., Kadžienė, G., Stankevičienė, D. (2022). *Camelina (Camelina sativa (L.) Crantz) as feedstuffs in meat type poultry diet: A source of protein and n-3 fatty acids. Animals*, 12, 295.
- [2] Sarv, V., Trass, O., Diosady, L.L. (2017). Preparation and characterization of *Camelina sativa* protein isolates and mucilage. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 94, 1279-1285.
- [3] Ngo, N.T.T., Shahidi, F. (2021). Functional properties of protein isolates from camelina (*Camelina sativa (L.) Crantz*) and flaxseed (*sophia*,

- Descurainis sophia* L.) seed meals. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(31), 1-10.
- [4] Mondor, M., Hernández-Álvarez, A.J. (2022). *Camelina sativa* composition, attributes, and applications: A review. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 124(3), 2100035.
- [5] Mozafarpour, R., Koocheki, A., Nicolai, T. (2022). Modification of grass pea protein isolate (*Lathyrus sativus* L.) using high intensity ultrasound treatment: Structure and functional properties. *Food Research International*, 158, 111520.
- [6] Malik, M.A., Sharma, H.K., Saini, C.S. (2017). High intensity ultrasound treatment of protein isolate extracted from dephenolized sunflower meal: Effect on physicochemical and functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 511-519.
- [7] Li, Y., Cheng, Y., Zhang, Z., Wang, Y., Mintah, B.K., Dabbour, M., Jiang, H., He, R., Ma, H. (2020). Modification of rapeseed protein by ultrasound-assisted pH shift treatment: Ultrasonic mode and frequency screening, changes in protein solubility and structural characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry*, 69, 105240.
- [8] Kamani, M.H., Semwal, J., Meera, M.S. (2021). Functional modification of protein extracted from black gram by-product: Effect of ultrasonication and micronization techniques. *LWT*, 144, 111193.
- [9] Gharibzahedi, S.M.T., Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 107-116.
- [10] Biswas, B., Sit, N. (2020). Effect of ultrasonication on functional properties of tamarind seed protein isolates. *Journal of Food Science and Technology*, 57, 2070-2078.
- [11] AACC (2000). Approved methods of American Association of Cereal Chemists 10th ed. American Association of Cereal Chemists Inc., Minnesota, USA.
- [12] Jambrak, A.R., Lelas, V., Mason, T.J., Krešić, G., Badanjak, M. (2009). Physical properties of ultrasound treated soy proteins. *Journal of Food Engineering*, 93(4), 386-393.
- [13] Ampofo, J., Ngadi, M. (2022). Ultrasound-assisted processing: Science, technology and challenges for the plant-based protein industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105955.
- [14] Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X., Li, S. (2019). Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. *Food Chemistry*, 283, 539-548.
- [15] Resendiz-Vazquez, J.A., Ulloa, J.A., Urías-Silvas, J.E., Bautista-Rosales, P.U., Ramírez-Ramírez, J.C., Rosas-Ulloa, P., González-Torres, L. (2017). Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed protein isolate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 37, 436-444.
- [16] Hu, H., Fan, X., Zhou, Z., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., Siyi, P., Zhu, L. (2013). Acid-induced gelation behavior of soybean protein isolate with high intensity ultrasonic pre-treatments. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 187-195.
- [17] Chandi, G.K., Sogi, D.S. (2007). Functional properties of rice bran protein concentrates. *Journal of Food Engineering*, 79(2), 592-597.
- [18] Rahman, M.M., Lamsal, B.P. (2021). Ultrasound-assisted extraction and modification of plant-based proteins: Impact on physicochemical, functional, and nutritional properties. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 1457-1480.
- [19] Dabbour, M., He, R., Ma, H., Musa, A. (2018). Optimization of ultrasound assisted extraction of protein from sunflower meal and its physicochemical and functional properties. *Journal of Food Process Engineering*, 41(5), 12799.
- [20] Higuera-Barraza, O.A., Del Toro-Sanchez, C.L., Ruiz-Cruz, S., Márquez-Ríos, E. (2016). Effects of high-energy ultrasound on the functional properties of proteins. *Ultrasonics Sonochemistry*, 31, 558-562.
- [21] Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., Chen, Y. (2018). Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International*, 109, 260-267.
- [22] Morales, R., Martínez, K.D., Pizones Ruiz-Henestrosa, V.M., Pilosof, A.M.R. (2015). Modification of foaming properties of soy protein isolate by high ultrasound intensity: Particle size effect. *Ultrasonics Sonochemistry*, 26, 48-55.
- [23] Nazari, B., Mohammadifar, M.A., Shojaee-Aliabadi, S., Feizollahi, E., Mirmoghtadaie, L. (2018). Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry*, 41, 382-388.
- [24] Zhang, H., Claver, I.P., Zhu, K.X., Zhou, H. (2011). The effect of ultrasound on the functional properties of wheat gluten. *Molecules*, 16(5), 4231-4240.
- [25] Yavuz, M., Özçelik, B. (2016). Bitkisel protein izolatlarının fonksiyonel özellikleri. *Akademik Gıda*, 14(4), 424-430.
- [26] Hu, H., Cheung, I. W. Y., Pan, S., Li-Chan, E.C.Y. (2015). Effect of high intensity ultrasound on physicochemical and functional properties of aggregated soybean β -conglycinin and glycinin. *Food Hydrocolloids*, 45, 102-110.
- [27] Téllez-Morales, J.A., Hernández-Santo, B., Rodríguez-Miranda, J. (2020). Effect of ultrasound on the techno-functional properties of food components/ingredients: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61, 104787.
- [28] Zhu, Z., Zhu, W., Yi, J., Liu, N., Cao, Y., Lu, J., Decker, E.A., McClements, D.J. (2018). Effects of sonication on the physicochemical and functional properties of walnut protein isolate. *Food Research International*, 106, 853-861.