T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

SUSAM PROTEİN İZOLATININ ASİTLE JELLEŞMESİ ÜZERİNE YÜKSEK BASINÇLI HOMOJENİZASYONUN ETKİSİ

IANNIE P. MARIBAO

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. OSMAN GÜL

KASIM - 2023
KASTAMONU

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Iannie P. MARIBAO

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SUSAM PROTEİN İZOLATININ ASİTLE JELLEŞMESİ ÜZERİNE YÜKSEK BASINÇLI HOMOJENİZASYONUN ETKİSİ

IANNIE P. MARIBAO

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN: PROF. DR. OSMAN GÜL

Protein jelasyonu, canlı organizmalardan gıda hazırlamaya kadar hayati bir rol oynamakta ve birçok endüstriyel uygulamada kullanılmaktadır. Bu çalışmada, susam kekinden ekstrakte edilen susam protein izolatının glukono-δ-lakton (GDL) ile asitlendirilerek jelleşme özelliği üzerine yüksek basınçlı homojenizasyonun (YBH) etkileri araştırılmıştır. Bu amaçla %8 konsantrasyonunda hazırlanan susam protein solüsyonuna 0 (kontrol), 25; 50; 100 ve 150 MPa basınçlarda homojenizasyon uygulanmış ve ardından örneklere %2 oranında GDL ilave edilerek jelleşme özellikleri belirlenmiştir. Çalışmada asitlenme ve jelleşme kinetiği ile jellerin fizikokimyasal, yapısal, reolojik özellikleri ve moleküller arası kuvvet incelenmiştir. V_{max}, T_5 ve $T_{4.5}$ gibi asitlenme kinetik parametreleri, uygulanan homojenizasyon işleminden etkilenmiştir. Maksimum V_{max} (0,062 pH birimi/dk) değeri 100 MPa basınç uygulanmış örnekte tespit edilmiştir. Bununla birlikte uygulanan yüksek basınç proteinin jelleşme süresinin ($T_{4.5}$) azalmasına neden olmuştur. Uygulanan homojenizasyon basıncı arttıkça, özellikle jelleşmeden önce partikül boyutu azaldığı ve bunun da jelleşme sonrasında daha düşük partikül boyutlu agregatların oluşumunda rol oynadığı gözlenmiştir. Jellerin su bağlama kapasitesi uygulanan YBH ile önemli düzeyde iyileşmiş ve en yüksek değer (%69,02) 100 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir. Homojenizasyon basıncının 100 MPa'ya kadar arttırılmasıyla jellerin beyazlık indeksinde önemli düzeyde artma eğilimi gözlenmiş olması ile birlikte en yüksek toplam renk farkı (ΔE) 50 MPa basınç uygulanan örnekte saptanmıştır. Örneklerin G' değeri zamana bağlı olarak ve uygulanan yüksek basınç ile birlikte artma eğilimi göstermiş ve bunun da susam protein jelinin elastikiyetinde önemli düzeyde iyileşme sağlayarak jel mukavemetini artırdığı saptanmıştır. Bütün jel örnekleri artan kayma hızıyla birlikte azalan viskoziteye bağlı olarak kayma incelmesi davranışı sergilemiştir. Jel örneklerinde hidrofobik etkileşimlerin hakim olduğu belirlenmiş ve en yüksek değer (8,28 mg/mL) 100 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir. Bu çalışma ile GDL kullanılarak elde edilen susam protein jelinin özelliklerinin YBH uygulaması ile birlikte geliştirilebileceği ve özellikle 100 MPa basınç uygulamasının ideal olduğu ortaya konmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Susam proteini, yüksek basınçlı homojenizasyon, glukono-δ-lakton, asitleşme kinetiği, reolojik özellikler, moleküller arası kuvvetler

Kasım 2023, 77 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

EFFECT OF HIGH PRESSURE HOMOGENIZATION ON ACID-INDUCED GELATION OF SESAME PROTEIN ISOLATE

IANNIE P. MARIBAO

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING
SUPERVISOR: PROF. DR. OSMAN GÜL

Protein gelation plays a vital role from living organisms to food preparation and is used in many industrial applications. In this study, the effects of high-pressure homogenization (HPH) on the gelation property of sesame protein isolate extracted from sesame cake by acidification with glucono-δ-lactone (GDL) were investigated. For this purpose, homogenization was applied to the sesame protein solution prepared at 8% concentration at 0 (control), 25, 50, 100, and 150 MPa pressures, and then 2% GDL was added to the samples, and gelation properties were determined. This study examined acidification and gelation kinetics, physicochemical, structural, rheological properties, and intermolecular forces of the gels. The applied homogenization process affected acidification kinetic parameters such as Vmax, Tmax, T5, and T4.5. The maximum *Vmax* (0.062 pH units/min) value was determined in the sample with 100 Mpa pressure applied. However, the high pressure applied caused the protein's gelation time (T4.5) to decrease. It was observed that as the applied homogenization pressure increased, the particle size decreased, especially before gelation, and this played a role in the formation of lower particle size aggregates after gelation. The water binding capacity of the gels improved significantly with the applied HPH, and the highest value (69.02%) was detected in the sample where 100 MPa pressure was applied. While a significant tendency to increase the whiteness index of gels was observed by increasing the homogenization pressure up to 100 MPa, the highest total color difference (*ΔE*) was detected at 50 Mpa pressure. The *G′* value of the samples tended to increase with time and with the high pressure applied, which indicated a significant improvement in the elasticity of the sesame protein gel and was found to increase the gel strength. All gel samples exhibit shear thinning behavior due to decreasing viscosity with increasing shear rate. Hydrophobic interactions were dominant in the gel samples, and the highest value (8.28 mg/mL) was determined in the sample where 100 MPa pressure was applied. This study revealed that the properties of sesame protein gel obtained using GDL can be improved with HPH and that 100 MPa pressure application is ideal.

KEYWORDS: Sesame protein, high pressure homogenization, glucono-δ-lactone, acidification kinetics, Rheological properties, intermolecular forces

November 2023, 77 Page

TEŞEKKÜR

Yüksek lisansımın başlangıcından bu yana bana tecrübe, bilgi ve uzmanlık kazandıran ve tizimin gerçekleştirilmesinde sürekli rehberlik eden danışmanım Prof. Dr. Osman GÜL'e teşekkür ederim. Seçtiğim alanda bilgi ve tecrübemi artırmak için çeşitli çalışmalar yapmamı ve araştırmaya daha fazla ilgi duymamı sağladığı içim ona sonsuza kadar minnettar kalacağım. Onun öğrencisi olduğum için kendimi çok şanslı hissediyorum.

Bu yüksek lisans tezi, Kastamonu Üniversitesi Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (KÜBAP) tarafından KÜ-HIZDES/2023-13 nolu proje ile desteklenmiş olup maddi destek sağladığı için Kastamonu Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

Şansölye Mary Joyce Z. Guinto Sali liderliğindeki Mindanao Eyalet Üniversitesi Tawi-Tawi Teknoloji ve Oşinografi Koleji'ne (MSU-TCTO) ve Avukat Prof. Dr. Renato S. Pacaldo liderliğindeki Mindanao Eyalet Üniversitesi Uluslararası Bağlantılar Ofisi'ne (MSU-OIL) rehberlik ve destekleri için teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana burs sağlayan Yüksek Öğrenim Kurumu'a (YÖK) teşekkür ederim.

Akademi yolculuğum ne kadar zor olursa olsun ilerlemem için bana ilham veren ve gücümün kaynağı olan sevgili ebeveynlerim Dima P. Maribao ve Illuminado F. Maribao'ya, laboratuvar deneylerimde bana yardımcı olan arkadaşım Melike Şeyda ŞAHİN'e teşekkür ederim.

IANNIE P. MARIBAO

Kastamonu, 2023

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **x**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL BİLGİLER **4**
2.1 Protein Jelasyonu 4
2.1.1 Genel Tanım 4
2.1.2 Jelleşme Teorisi 4
2.1.2.1 Temel konseptler 4
2.1.2.2 Reolojik özellikler 5
2.1.3 Protein Ağının Oluşumu 7
2.2 Jellerin Sınıflandırılması 10
2.3 Jelleşme İndüksiyonu 10
2.3.1 Isı ile Jelasyon 11
2.3.2 Enzim ile Jelasyon 14
2.3.3 Asit ile Jelasyon 15
2.3.3.1 Glukono-delta-lakton (GDL) 16
2.4 Susam ve Susam Proteininin Özellikleri 16
2.5 Yüksek Basınçlı Homojenizasyon 17
2.6 YBH Teknolojisinin Protein Jelleşme Üzerine Etkisi 19
3. MATERYAL VE YÖNTEM **23**
3.1 Materyal 23
3.2 Yöntem 23
3.2.1 Protein Ekstraksiyonu 23
3.2.2 Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Uygulaması 24
3.2.3 GDL ile Jelleşme 25
3.2.4 Jelleşme Kinetiği 26
3.2.5 Partikül Boyut Analizi 26
3.2.6 Renk Özellikleri 26
3.2.7 Reolojik Özellikler 27
3.2.7.1 Jel oluşumu 27
3.2.7.2 Akış eğrisi analizi 27
3.2.7.3 Frekans tarama testi 28
3.2.8 Jel Kuvveti 28
3.2.9 Su Bağlama Kapasitesi 28
3.2.10 Moleküller Arası Kuvvet 29
3.2.11 Mikroyapı 30
3.2.12 Depolama Stabilitesi 30

3.2.13 İstatistiksel Analiz 30
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 32
4.1 Asitlenme Kinetiği 32
4.2 Partikül Boyutu 35
4.3 Renk Özellikleri 38
4.4 Reolojik Özellikler 39
4.4.1 Jelleşme Kinetiği 39
4.4.2 Akış Özellikleri 42
4.4.3 Frekans Tarama 45
4.5 Jel Kuvveti 49
4.6 Su Bağlama Kapasitesi 51
4.7 Jellerde Moleküller Arası Kuvvetler 53
4.8 Mikroyapı 55
4.9 Depolama Stabilitesi 59
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 61
KAYNAKLAR 63
ÖZGEÇMİŞ 76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Jel ağının şematik gösterimi 5
Şekil 2.2 Termoplastik ve termoset polimerler arasındaki fark 12
Şekil 2.3 Küresel proteinin ısı kaynaklı jelasyonunun şematik gösterimi 13
Şekil 2.4 Darbe, kesme ve kavitasyon sürecini gösteren yüksek basınçlı homojenleştirme şeması 18
Şekil 3.1 Susam tohumundan presle yağın ayrılması 23
Şekil 3.2 Ekstrakte edilmiş Susam proteini izolatı (SPI). a) Alkali ekstraksiyondan sonra saflaştırılmış susam proteini ekstraktı. b) Dondurularak kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş susam proteini izolatı 24
Şekil 3.3 SPI süspansiyonuna YBH işleminin uygulanması 25
Şekil 4.1 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile jelleşmesi sırasında pH değişimi 32
Şekil 4.2 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile asitlenme kinetiği 34
Şekil 4.3 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin jelleşme öncesi (a) ve jelleşme sonrası (b) partikül boyut dağılımı 36
Şekil 4.4 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin jelleşme öncesi ve jelleşme sonrası partikül boyutu 38
Şekil 4.5 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin zaman bağlı jelleşme kinetiği 41
Şekil 4.6 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin kayma hızına bağlı viskozite değişimi 44
Şekil 4.7 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin açısal frekansa bağlı depolama (G′) modülündeki değişim 47
Şekil 4.8 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin açısal frekansa bağlı kayıp (G") modülündeki değişim 48
Şekil 4.9 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin jel kuvveti 50
Şekil 4.10 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin jelinin su bağlama kapasitesi 52
Şekil 4.11 Susam protein jel (0 MPa, kontrol) SEM görüntüsü (10000X) 56
Şekil 4.12 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin SEM görüntüleri (10000X) 58
Şekil 4.13 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jellerinde depolama boyunca faz ayrımı 59
Şekil 4.14 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jellerinin depolama görselleri 60

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Protein jel oluşumundaki etkileşimlerin sınıflandırılması 7
Tablo 2.2 Protein jelleşmesini indüklemek için fiziksel ve kimyasal araçlar 11
Tablo 4.1 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile asitlenme kinetik değerleri 33
Tablo 4.2 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin renk özellikleri 39
Tablo 4.3 YBH'nin susam proteini izolatının jelleşme noktası üzerindeki etkileri 42
Tablo 4.4 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin viskozite-kayma hızı grafiğine uygulanan Oswalt-de-Waele model parametreleri 45
Tablo 4.5 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin G′ ve G″ değerlerini tanımlayan Power law model parametreleri 49
Tablo 4.6 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin moleküllerarası kuvvetleri 55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

%	**:** Yüzde
°	**:** Derece
µL	**:** Mikrolitre
µm	**:** Mikrometre
µmol	**:** Mikromol
G′	: Depolama modülü
g	**:** Gram
g	**:** Gravity
G″	**:** Kayıp modulü
K	**:** Kıvam indeksi
kDa	**:** Kilodalton
kV	**:** Kilovolt
L	**:** Litre
M	**:** Molar
Mbar	**:** Megabar
mg	**:** Miligram
mL	**:** Mililitre
MPa	**:** Megapaskal
mV	**:** Milivolt
n	**:** Akış davranış indeksi
nm	**:** Nanometre
ºC	**:** Santigrat Derece
p	**:** Probability, olasılık
Pa	**:** Pascal
pH	**:** Potansiyel hidrojen
R	**:** Radikal
R^2	**:** Belirleme katsayısı
rad/s	**:** Radyan/saniye
rpm	**:** Dakikadaki devir sayısı
T_{jel}	**:** Jelleşme sıcaklığı
vd.	**:** Ve diğerleri
w/v	**:** Kütle/hacim
α	**:** Alfa
β	**:** Beta
µg	**:** Mikrogram
ϕ	**:** Phi açısı
ψ	**:** Psi açısı

Kısaltmalar

BLP	**:** Bacillus licheniformis proteaz
EPS	**:** Ekzopolisakkarit
FAO	**:** Gıda ve Tarım Örgütü
FC	**:** Köpürme kapasitesi
FS	**:** Köpük stabilitesi
FT-IR	**:** Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopi
GDL	**:** Glucono-δ-lactone
H_2SO_4	**:** Sülfirik asit
HCl	**:** Hidroklorik asit
KM	**:** Kuru madde
LAB	**:** Laktik asit bakterileri
NaOH	**:** Sodyum hidroksit
pI	**:** İzoelektrik çökeltme
SDS-PAGE	**:** Sodyum dodesil sülfat poli akrilamid jel elektroforezi
SEM	**:** Taramalı elektron mikroskobu
SPİ	**:** Susam protein izolatı
YBH	**:** Yüksek basınçlı homojenizasyon

1. GİRİŞ

Küresel nüfus artışı, sürdürülebilir protein kaynaklarına olan talebin artmasına neden olmaktadır (Nadathur vd., 2017). Proteinlerin bulunabilirliği, sağlık yararları, düşük maliyet ve tüketici tercih ve beklentileri gibi nedenlerden dolayı bitkisel kaynaklı proteininin alternatif olarak değerlendirilmesi ve gıdalarda fonksiyonel bir bileşen olarak kullanılması ile ilgili talep de artmıştır (Gül vd., 2023). Bitkisel kaynaklı proteinlerin gıdalarda katkı olarak kullanılması bakımından susam proteini umut verici adaylardan biri gibi görünmektedir (Parisi vd., 2020). Susam (*Sesamum indicum* L.), yüksek kaliteli yağ içeren yenilebilir tohumu bulunan ve dünyada kültüre alınan en eski yağ endüstri bitkisidir (Pathak vd., 2014). Yağ içeriği %48-55 arasında olan susam tohumları, yaygın olarak yağ eldesi için hammadde olarak kullanılmaktadır. Ayrıca çeşide bağlı olarak %20 ile %25 arasında protein içerdiğinden dolayı iyi bir protein kaynağıdır (Cano-Medina vd., 2011). Susam tohumları aynı zamanda sindirimi kolaylaştırıcı ve yaşlanma karşıtı özellik göstermekte olup E, A ve B vitaminleri ile kalsiyum, fosfor, demir, bakır, magnezyum, çinko ve potasyum gibi mineraller açısından zengindir (Bukya ve Vijayakumar, 2013).

Yağ ekstraksiyonu sonrası meydana gelen susam keki, yüksek kaliteli protein içeriğinden dolayı çoğunlukla hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Yaklaşık %50 protein içeren iyi bir besin kaynağıdır. Susam proteinin temel özelliklerinden biri, yüksek oranda metiyonin ve triptofan içermesi ve esansiyel amino asitlerinin miktarı, toplam amino asitlerin %30'unu oluşturmasıdır (Di vd., 2022). Aslında susamı diğer yağlı tohumlardan ayıran da metiyonin içeriğinin yüksek olmasıdır (Cano-Medina vd., 2011). Dolayısıyla susam keki protein kaynağı veya gıda endüstrisinde bir bileşen olarak kullanım için yüksek bir potansiyele sahiptir (Onsaard vd., 2010).

Bitki kaynaklı proteinlerinin gıda uygulamalarında yararlı ve başarılı olabilmesi için, ideal olarak, fonksiyonel özellikler olarak adlandırılan ve esansiyel amino asitleri sağlamanın yanı sıra arzu edilen birçok özelliğe sahip olmaları gerekmektedir. Protein izolatlarının kullanımı, sahip oldukları yüksek protein seviyeleri, fonksiyonel özellik ve düşük beslenme karşıtı faktörlerden dolayı gıda endüstrisinde artmıştır (Abugoch

vd., 2008). Bitkisel kaynaklı proteinlerin fonksiyonel özellikleri (çözünürlük, viskozite, su ve yağ bağlama kapasitesi, emülsifikasyon, köpürme ve jelleşme vb.) nedeniyle son zamanlarda gıdaların yapısını iyileştirmeye yönelik kullanımları ile ilgili çalışmalar artmıştır. Mevcut özellikler arasında protein jelleşmesi, gıda dokusunu değiştiren temel bir yapısal özelliktir (Moreno vd., 2020; Rodsamran ve Sothornvit, 2018).

Protein jelleşmesi, canlı organizmalardan gıda hazırlamaya kadar birçok durumda önemli rol oynayan ve birçok endüstriyel uygulamada kullanılan fonksiyonel bir özelliktir. Sosis, krema, peynir, yoğurt, tofu ve yumurta ürünleri gibi gıda ürünlerinde istenen duyusal ve tekstürel özellikleri sağlamak için gıda yapısını stabilize etmeyi amaçlayan önemli bir özelliktir (Totosaus vd., 2002). Protein jelleşmesi, doğal protein yapısını ortaya çıkarmak için bir itici gücü ve ardından protein zincirleri arasındaki etkileşimlerin oluşturduğu matriste bir dereceye kadar düzeni koruyan bir topaklanma olgusunu gerektirmektedir (Totosaus vd., 2002). Protein jelleşmesi iki aşamalı bir olgudur ve bu aşamalar denatürasyon ve agregasyondur. Jelleşme, ısı ve basıncı içeren fiziksel işlemlerin yanı sıra enzimatik çapraz bağlama, tuz ve üre kullanımı ve asitleştirme gibi kimyasal yöntemlerle de elde edilebilir.

Asit jelleşmesi, bazı gıda üretimi ve stabilite sağlamak için yaygın kullanılmaktadır. Asit jelleştirmede, pH'ı düşürmek için laktik asit bakterileri, organik asitler, diyaliz ve glukono-delta-lakton (GDL) kullanılmaktadır. Suda GDL, glukonik asidi yavaşça hidrolize ederek pH'da bir azalmaya neden olmaktadır. Bu süreç önemli düzeyde çevre sıcaklığına ve protein konsantrasyonuna bağlıdır. GDL'yi protein asitleştirme çalışmalarında kullanmanın rahatlığı, asitleştirme hızının ve denge pH'sının kolay kontrolüne atfedilir, çünkü her ikisi de sisteme eklenen GDL miktarının bir fonksiyonudur (De Kruif, 1997). Sisteme büyük miktarlarda GDL eklenmesi, hızlı asitleşmeye ve sonuç olarak pH'ta hızlı bir düşüşe neden olmakta ve bundan dolayı daha zayıf ve kırılgan jeller meydana gelmektedir (Alting vd., 2000; Ju ve Kilara, 1998). Asit kaynaklı jelleşmenin bitki proteinlerinin jel oluşturma yeteneğini artırdığı kanıtlanmış olmasına rağmen, gıda endüstrisindeki bitkisel kaynaklı proteinlerin uygulamalarda jelleşme potansiyelini geliştirilmesine yönelik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (Abugoch vd., 2008). Son zamanlarda ultrases, yüksek basınçlı

homojenizasyon, ekstrüzyonla pişirme, soğuk plazma, pH değiştirme ve ısıl işlem gibi birçok modifikasyon yaklaşımı geliştirilmiş ancak bu yöntemlerin çoğunun zaman alıcı, yüksek maliyetli ve enerji yoğun olması gıda endüstrisindeki geniş ve hızlı uygulamalarını sınırlamıştır (Akharume vd., 2021; Luo vd., 2022).

Son yıllarda, yüksek basınçlı homojenizasyon (YBH) gibi termal olmayan işleme teknolojileri, hem endüstriden hem de akademik çevreden büyük ilgi görmüş ve gıda biyopolimerlerinin moleküler yapılarını, fizikokimyasal özelliklerini ve tekno-işlevselliklerini değiştirmek için yaygın olarak uygulanmaktadır (Levy vd., 2021; Lullien-Pellerin ve Balny, 2002; Luo vd., 2022). YBH işlemi sırasında, sürekli akan bir sıvı dar bir boşluktan geçmeye zorlanmakta, bu da yüksek türbülansa ve kayma gerilimine yol açmaktadır (dos Santos Aguilar vd., 2018). YBH uygulamasında tipik olarak 200 MPa basınç seviyelerine kadar ulaşılabilir (Codina-Torrella vd., 2018). Bu etkiler, bitkisel kaynaklı proteinlerin ve protein izolatların yapısının, fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikleri ile jelleşmenin iyileştirilmesi gibi modifikasyonlarına yol açabilmektedir (Luo vd., 2022; Roesch ve Corredig, 2003). Ortaya çıkan bu teknolojinin gıda endüstrisinde ürünlerin besinsel ve duyusal özelliklerini değiştirmeden (Gül vd., 2021) emülsiyonun iyileştirilmesi (Levy vd., 2021), içecek ve gıda maddelerinin stabilitesinin iyileştirilmesi (Kubo vd, 2013) ve meyve sularının reolojik özelliklerinin geliştirilmesi (Augusto vd., 2013) gibi birçok önemli uygulaması bulunmaktadır (Zhou vd., 2017). Literatürde YBH işleminin çeşitli bitkisel kaynaklı protein izolatlarının fizikokimyasal ve tekno-fonksiyonel özelliklerinde önemli bir iyileşmeye neden olduğuna dair oldukça fazla çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, susam posasından izole edilen susam protein izolatının asitle jelleşme özelliği üzerine YBH'nin etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla asitle indüklenen susam protein jelinin asitlenme kinetiği, moleküller arası kuvvet, yapısal, fizikokimyasal, fonksiyonel ve reolojik özellikleri belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Protein Jelasyonu

2.1.1 Genel Tanım

Bilimsel "jel" terimi, kolloid kimyasının kurucusu olarak bilinen Thomas Graham tarafından tanıtılmıştır (Oakenfull vd., 1997). O zamandan beri literatürde jelin birçok tanımı yapılmış olmasına rağmen Ziegler ve Foegeding (1990) tarafından son kez "sıvı bir ortama daldırılmış ve hiçbir sabit durum akışı sergilemeyen makroskopik boyutlarda sürekli bir ağ" şeklinde tanımlanmıştır. Bununla birlikte Wong (1989), jelleşmeyi "denatüre moleküllerin belirli bir düzen derecesinde toplanarak sürekli bir ağ oluşumuyla sonuçlanması" olarak tanımlamıştır. Tanaka (1981) ayrıca jeli, sıvı bir ortama daldırılmış sürekli bir ağ oluşturmak için çapraz bağlı "ipliklerden" veya "zincirlerden" oluşan bir katı ile sıvı arasında bir ara madde formu olarak tanımlamıştır. Jel terimi, hepsi katı benzeri bir kıvam sergileyen, sentetik veya doğal polimerlerin çözeltileri, yüzey aktif madde + polimer sistemleri, kolloidal süspansiyonlar gibi çok çeşitli sistemler için kullanılmaktadır (Djabourov, 1991).

2.1.2 Jelleşme Teorisi

2.1.2.1 Temel konseptler

Jeller, katı ve sıvı arasındaki ara madde formudur. Dorothy Jordan Lloyd yaklaşık 70 yıl önce, "Kolloidal durum, jel, tanımlaması tanımlamaktan daha kolay olan bir durum" demişti (Flory, 1974). Bununla birlikte, Bungenberg de Jong, 20 yıl sonra bir jeli "kolloidal parçacıkların bir şekilde tutarlı bir yapı oluşturduğu katı karakter sistemi" olarak karakterize etmiştir. Jelleşmenin kolloidal parçacıkların toplanmasını içerdiği ışık saçılımı çalışmaları ve ultra-mikroskoptan bilinmesine rağmen (Heymann, 1936), ancak bunun ötesinde, jelleşme doğanın gizemlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Flory vd. (1940)'larda çapraz bağlı polimerler üzerindeki çalışmaları, jellerin, sıvı bir ortama daldırılmış, birbirine bağlı bir moleküler ağ oluşturmak üzere çapraz bağlanmış polimerik moleküllerden oluştuğu fikrine yol

açmıştı (Hermans, 1949). Williams ve Alberty (1951)'nin "Jellerin, sıvı bileşeni tutan ve bir bütün olarak sisteme esneklik ve sertlik kazandıran, dallara ayrılan, az çok birbirine bağlı bir çerçeve içerdiği" kavramı neredeyse oybirliğiyle kabul edilmiştir.

Gıda jellerinde sıvı faz her zaman sudur ve moleküler ağ proteinlerden veya polisakkaritlerden veya her ikisinin birleşiminden meydana gelmektedir. Jelin özellikleri Şekil 2.1'de gösterildiği gibi çözücü ve moleküler ağ arasındaki karmaşık etkileşimlerin net sonuçlarıdır. Taralı alanlar, polimer moleküllerinin çapraz bağlı olduğu bağlantı bölgelerini temsil etmektedir (Oakenfull vd., 1997).



Şekil 2.1 Jel ağının şematik gösterimi (Oakenfull vd., 1997)

2.1.2.2 Reolojik özellikler

Reoloji, maddelerin akışı ve deformasyonu ve özellikle katılar ve sıvılar arasındaki geçici alandaki davranışlarıyla ilgili bilimdir. Ayrıca reoloji, belirli bir malzemeye etki eden stres ile sonuçta meydana gelen deformasyon ve/veya akış arasındaki ilişkiyi tanımlamaya çalışmaktadır (Tabilo-Munizaga vd., 2005). Reolojik özellikler, zamanın bir fonksiyonu olarak kuvvet ve deformasyonun ölçülmesiyle belirlenmektedir. Temel ve ampirik reolojik yöntemler arasındaki fark, ikincisinden farklı olarak ilkinin, kuvvetlerin ve deformasyonların büyüklüğünü ve yönünü hesaba katarak numune şekillerinin ve kompozisyonlarının kabulüne kısıtlamalar getirmesidir. Temel testler, bilinen fizik kavramlarına ve denklemlerine dayanma avantajına sahiptir. Deneysel

yöntemler genellikle numune bileşimi veya geometrisi kuvvetleri ve deformasyonları hesaba katamayacak kadar karmaşık olduğunda kullanılmaktadır. Bu yöntemler, ilgilenilen bir özellikle ilişkiliyse değerlidir; temel testler ise gerçek fiziksel özellikleri belirler (Tabilo-Munizaga vd., 2005).

Reoloji, tüm malzemelerin uygulanan kuvvetlere ve deformasyonlara nasıl tepki verdiğiyle ilgilidir. Gerilim (alan başına kuvvet) ve gerinim (uzunluk başına deformasyon) gibi temel kavramlar, tüm reolojik değerlendirmelerin anahtarıdır. Stres (σ) her zaman birim yüzey alanı başına kuvvet ölçümüdür ve Pascal (Pa) birimiyle ifade edilmektedir. Etkilenen yüzey alanına göre kuvvetin yönü, gerilimin türünü belirlemektedir. Normal stres, kuvvetin bir yüzeye doğrudan dik olması ve çekme veya sıkıştırma sırasında elde edilebilmesi durumunda ortaya çıkmaktadır. Kayma gerilimi, kuvvetler bir yüzeye paralel etki ettiğinde ortaya çıkmakta, öte yandan gerinim, bir malzemenin boyutsuz bağıl deformasyon miktarını temsil etmektedir. Uygulanan gerilimin malzeme yüzeyine göre yönü, gerilimin tipini belirleyecektir. Normal gerinim (ε), stres numune yüzeyine normal olduğunda meydana gelir. Gıdalar sıkıştırıldığında (basınç gerilimi) veya ayrıldığında (çekme gerilimi) normal gerilme göstermektedir (Nielsen, 1998).

Jel, katı fazın sıvıyı hareketsiz hale getiren ve katı benzeri özellikler göstermesini sağlayan bir ağ yapısı oluşturduğu, sıvı içinde katı bir kolloidtir. Bir jel aynı zamanda kararlı durum akışı sergilemeyen büyük ölçüde seyreltilmiş bir sistem olarak da tanımlanabilmektedir. Başlangıç durumu bir çözelti, dağılım veya süspansiyon olabilir. Bazı gıda jelleri pişirmeyle geri dönüşümsüz şekilde oluşurken, jelatin gibi diğerleri geri dönüşümlü jeller oluşturmaktadır. Jelleşme ya kovalent reaksiyonlar yoluyla kimyasal çapraz bağlanmadan ya da polimer-polimer etkileşimleri yoluyla fiziksel çapraz bağlanmadan kaynaklanmaktadır. Gıda sistemlerinde ağ oluşumundan sorumlu olan makromoleküler maddeler öncelikle polisakkaritler ve proteinlerdir. Bu gıdalar arasındaki birleştirici özellik çoğunlukla sıvı olmaları ancak yüksek derecede elastikliğe sahip viskoelastik katılar olarak tepki vermeleridir (Hamann, 1992; Hvidt ve Heller, 1990).

2.1.3 Protein Ağının Oluşumu

Bir protein jeli, uzaysal bir protein parçacıkları ağından oluşmaktadır. İşlevsellik, hem protein partiküllerinin uzaysal dağılımı hem de kovalent ve kovalent olmayan bağların ağa katkısı ile belirlenmektedir. Her bağ tipinin bir jel ağına nispi katkısı, proteinin özelliklerine ve çevresel koşullara göre değişmektedir (Smith, 1994). Protein molekülleri arasındaki dengeleyici çekim ve itme kuvvetleri jelin fiziksel bütünlüğünü korumakta ve jelleşme mekanizması bu denge ve protein-çözücü etkileşimleri tarafından belirlenmektedir (Cheftel vd., 1985; Hermansson, 1979; Kinsella vd., 1994; Matsumura ve Mori, 1996; Zayas, 1997; Ziegler ve Foegeding, 1990). Jellerin türü ve özelliklerinin yanı sıra protein jelleşmesini etkileyen faktörler, aynı zamanda protein-protein ve protein-çözücü etkileşimlerini de etkilemektedir (Hermansson, 1979; Kinsella vd., 1994). Bu faktörler Tablo 2.1'de gösterildiği gibi içsel veya dışsal olarak sınıflandırılabilmektedir (Phillips vd., 1994).

Tablo 2.1 Protein jel oluşumundaki etkileşimlerin sınıflandırılması (Phillips vd., 1994)

İçsel faktörler	**Dış faktörler**
Elektrostatik Etkileşimler	Protein konsantrasyonu
Disülfit bağları	pH
Moleküler ağırlık	Sıcaklık
Amino asit bileşimi	İyonik güç ve İyon türü
Hidrofobiklik	Basınç

İçsel faktörler proteinin kendisiyle ilgilidir ve şunlardır:

- Elektrostatik etkileşimler: Protein molekülünün net yükü, protein-protein ve protein-çözücü etkileşimlerini etkileyen çekici ve itici kuvvetler tarafından değiştirilmektedir (Phillips vd., 1994). Bu elektrostatik etkileşimler iyonik kuvvet veya pH'daki değişikliklerle desteklenmektedir.

- Disülfit bağları ve tiyol-disülfit değişimi: Protein jelleşmesinde yer alan polipeptid zincirleri arasındaki kovalent disülfit bağları, bir başlangıç ağ stabilizatörü olarak görev yapmak yerine polipeptidin görünür zincir uzunluğunu artırmaktadır. Disülfit bağları, proteinlerin jelleşmesi için gerekli değildir ancak jelleşmedeki rolleri, ağırlık

ortalamalı molekül ağırlığını ve dolayısıyla zincir uzunluğunu artırma yetenekleriyle ilgilidir (Wang ve Damodaran, 1990).

- Moleküler ağırlık: Kendi kendini destekleyen bir jel ağının oluşumundaki değişiklikler, yani jel gücündeki değişiklikler, jeldeki polipeptit türlerinin ağırlık ortalamalı moleküler ağırlığı ve hidrodinamik boyutundaki farklılıklarla ilişkili olabilmektedir. Jel oluşumu için polipeptidin kritik molekül ağırlığı yaklaşık 23000 Da'dır (Wang ve Damodaran, 1990).

- Amino asit bileşimi: Valin, prolin, lösin, izolösin fenilalanin ve triptofan gibi %31,5 mol'den az hidrofobik kalıntı içeren proteinler pıhtı tipi bir jel oluştururken, %31,5'in üzerinde hidrofobik kalıntı içeren proteinler yarı saydam bir jel oluşturmaktadır (Shimada ve Matsushita, 1980).

- Hidrofobiklik: Polar olmayan amino asitler, protein organizasyonunda önemli bir rol oynayan ve herhangi bir protein katlama işleminde dikkate alınması gereken solvent ve su ile temas halinde olan polar bir kalıntı tabakasıyla çevrelenmiş hidrofobik bir çekirdek oluşturacak şekilde gruplanır (Mierovich ve Scheraga, 1980). Polar olmayan amino asit kalıntılarının kendilerini çözelti içindeki protein moleküllerinin iç kısmında konumlandırma ve dolayısıyla sulu çevre ile temastan kaçınma eğilimi nedeniyle, bunların yalnızca bir kısmının hidrofobiklikte etkili olduğu düşünülmektedir. Etkili hidrofobiklik, proteinler arasındaki çevre ortamla etkileşimlerde etkili bir şekilde yer alan proteinin hidrofobikliğini temsil eden değeri ifade eder (Keshavarz ve Nakai, 1979).

Dış faktörler proteinleri çevreleyen çevresel koşullardır. Bunlar, iyi bir jel oluşumunun elde edilmesi için çeşitli yollarla nispeten kontrol edilebilir faktörlerdir.

- Protein konsantrasyonu: Jelleşme için makromoleküllerin rastgele bir başlangıç boyut dağılımına sahip çapraz bağlanması gereklidir ve bu durum protein konsantrasyonuyla orantılıdır. Ayrıca proteinin kendi konsantrasyonunun da minimum düzeyde olması gerekmekte olup bunun altında sürekli üç boyutlu bir yapı oluşamaz

(Ferry, 1948). Jelin mukavemeti ve deforme olabilirliği büyük ölçüde protein konsantrasyonuna bağlıdır (Hongsprabhas ve Barbut, 1997).

- pH: Proteinin izoelektrik noktasındaki net yükü sıfıra eşittir. Bununla birlikte proteinin etrafındaki ortam izoelektrik noktadan ne kadar uzaksa protein o kadar yüklü hale gelmektedir. Bu nedenle, protein molekülü üzerindeki net yük ne kadar büyük olursa, moleküller arasındaki elektrostatik itme de o kadar büyük olur ve bir jel matrisi oluşturmak için gerekli etkileşimler önlenir (Kinsella vd., 1994; Zayas, 1997).

- Sıcaklık: Sıcaklık en önemli faktörlerden biridir çünkü protein alanlarının açılmasını sağlayan itici güçtür. Jelleşme sıcaklık katsayısı yüksek olduğunda, ilk jelleşme aşaması (denatürasyon), ikinci aşamaya (agregasyon) göre daha hızlı tamamlanmaktadır. Belirli bir denatürasyon hızı için, denatüre protein zincirleri arasındaki çekici kuvvetler küçükse toplanma hızı yavaş olmakta, bu da ince bir ağ ve yarı saydam bir jel ile sonuçlanmaktadır (Ferry, 1948).

- İyonik yük: İyonik yük, rekabetçi bağlar oluşturmada görev aldığı için proteinlerin su emilimi, şişmesi ve çözünürlüğü üzerinde önemli bir etkiye sahiptir (Borderı'as ve Montero, 1988). İyonik yük, jel matrisinin mikro yapısı üzerinde etkiye sahip olup; burada tek değerlikli katyonların düşük iyonik yüklerinde (<0,1 m) ince iplikli bir matris oluşurken, > 0,1 m iyonik yüklerde matris karmaşık hale gelmektedir (Foegeding vd., 1995).

- Basınç: Basınç, protein çözeltilerinin sol-jel geçişini etkilemektedir. Yüksek basınç, üç boyutlu yapıdan (kurucu atomların hacmi (bileşimsel hacim), iç boşlukların hacmi ve çözünmeden kaynaklanan katkı) oluşan proteinlerin doğal hacmini değiştirmektedir. Proteinlerin biyolojik aktivitesini yöneten doğal yapı, polipeptit zinciri içindeki ve çözücü ile dengeleyici ve dengesizleştirici etkileşimler arasında hassas bir dengedir (Balny ve Masson, 1993). Basıncın neden olduğu hacim değişiklikleri bu dengeleri etkilemektedir (Smith vd., 2000).

2.2 Jellerin Sınıflandırılması

Biyopolimer jeller, ağ oluşumundan önce ve ağ oluşumu sırasında makromolekülün düzen seviyesine göre sınıflandırılmaktadır: (1) karagenanlar, pektinler, nişasta, jelatin gibi düzensiz biyopolimerlerden oluşan jeller ve (2) termal olarak denatüre küresel proteinler ve enzimatik veya kimyasal etkiden dolayı toplanmış proteinler gibi daha yoğun ve daha az esnek partiküller arasındaki spesifik etkileşimleri içeren jel ağları. Ayrıca, jelleşmiş sistemin makroskobik davranışına dayanarak, gerçek jeller üç boyutlu ağların gelişiminin bir sonucudur ve zayıf jeller, yeterince yüksek bir strese maruz kaldığında kolayca kırılabilen ince jel benzeri bir ağ ile karakterize edilmektedir (Lopes da Silva ve Rao, 1999).

Gerilme-gerinim testleri, gıda jellerinin davranışının incelenmesinde faydalıdır ve genellikle küçük gerinim testi ve büyük gerinim testi olmak üzere iki türe ayrılabilmektedir. Küçük gerinim testi, numuneyi kırmak için deformasyonun yalnızca küçük bir yüzdesinin gerekli olduğu durumlarda numunenin deforme edilmesini ifade etmekte ve bu genellikle temel testlerle gerçekleştirilmektedir. Büyük gerinim testi ise bir numunenin kalıcı yapısal değişim noktasına kadar deforme edilmesi anlamına gelmektedir. Dahası, büyük gerilim testleri sıklıkla duyusal değerlendirmeyle ilişkili bilgiler vermektedir (Hamann ve MacDonald, 1992).

2.3 Jelleşme İndüksiyonu

Jelleşme bir fenomendir, bu nedenle tanımı ve oluşan jel, gözlemcinin bakış açısına ve onu değerlendirmek için kullanılan tekniğe bağlıdır (Ziegler ve Foegeding, 1990). Basit bir tanım, protein jelasyonunun, denatüre moleküllerin belirli bir düzen derecesi ile bir araya gelmesi ve sürekli bir ağ oluşumu ile sonuçlanması şeklinde olabilir (Wong, 1989). Protein jelleşmesini indüklemek için Tablo 2.2'de gösterildiği gibi fiziksel ve kimyasal araçlar olmak üzere iki sınıflandırma söz konusudur.

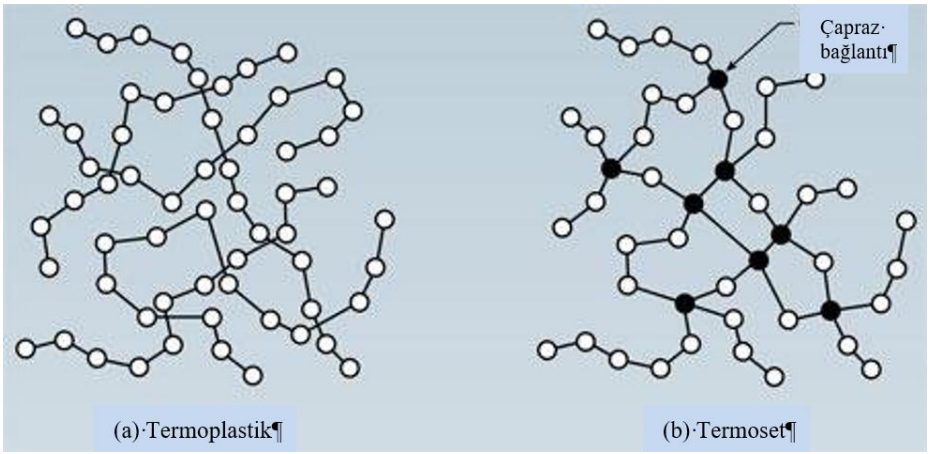
Tablo 2.2 Protein jelleşmesini indüklemek için fiziksel ve kimyasal araçlar (Totosaus vd., 2002)

Fiziksel	
Isıtma	Doğal protein, bir ağ oluşturmak için kısmen ısıyla açılır. Moleküllerin toplanmasıyla sıralı matris.
Yüksek basınç	Basınç (200-500 MPa), protein molekülleri arasında hidrofobik etkileşimleri ve disülfid bağlarını indükleyerek jel yapısının yeniden düzenlenmesine neden olur.
Kimyasal	
İyon	İlk ısıtma ve tuz ilavesinden sonra, bir jel oluşturan elektrostatik itme veya yükler korunur. İkincil yapının bozulması hidrofobik bir etki yaratır.
Üre	Üre, tiyol gruplarının moleküller arası tiyol-disülfit oksidasyonunu teşvik ederek bir ağ oluşumuna neden olur.
Asit	Yavaş pH düşüşü, denatürasyonun kümeler veya agregalar oluşturmasına izin verir. Bu fraktal kümeler, jelin yapı taşları olarak düşünülebilir.
Enzimatik	Enzim, bir jel yapısı oluşturmak için protein glutamin kalıntıları arasında çapraz bağlanmayı katalize eder.

2.3.1 Isı ile Jelasyon

Isı kaynaklı jelleşme, gıda biliminde en çok araştırılan olgudur, çünkü temel olarak günlük ısıyla sertleşen gıdaların çoğunda bulunan yapıdan sorumludur. İlgili koşullara bağlı olarak iki temel tip ısı kaynaklı jel yapısı vardır: 1) Termo-set veya tersinir ve 2) Termoplastik veya tersinmez jeller (Ferry, 1948).

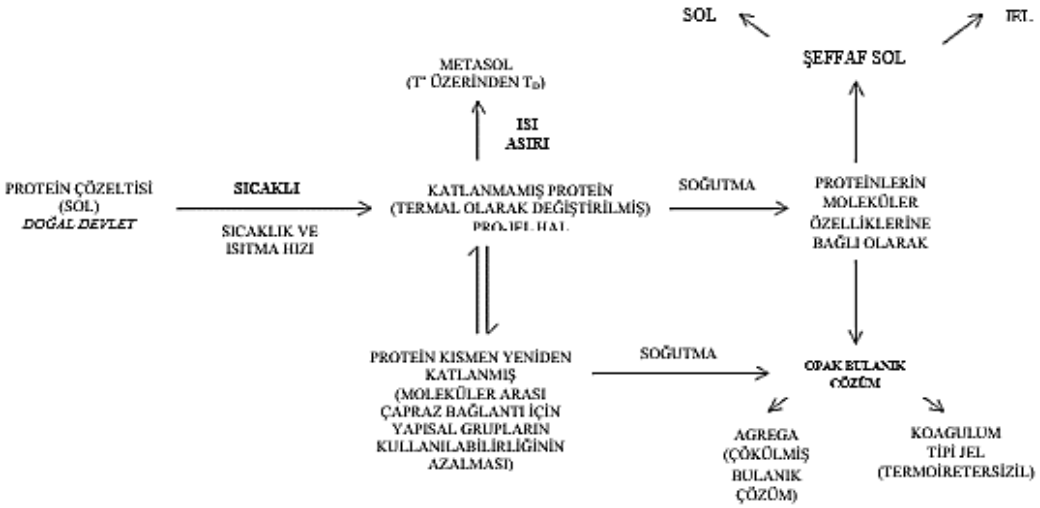
Termo-set jelleşmede, sol veya projel, genellikle artan viskozitenin eşlik ettiği ısıtma üzerine oluşturulmaktadır. Termo-set jeller daha sonra ısıtılarak eritilebilir ve soğutulduktan sonra yeniden jel oluşturabilir. Termoplastik jellerde, normal koşullar altında erime veya projele dönüş olmaz.



Şekil 2.2 Termoplastik ve termoset polimerler arasındaki fark

Isı ile indüklenen jel oluşumunun iki aşamalı bir süreç olduğu öne sürülmüştür. İlk adım, ısı tarafından tetiklenen protein moleküllerinin açılması veya ayrışmasıdır, ardından birleşme ve agregasyon reaksiyonlarının bir jel sistemi ile sonuçlandığı ikinci adım, bu sadece yeterli çevresel koşulların varlığında oluşmaktadır (Ferry, 1948; Shimada ve Matsushita, 1980). Bu şekilde, proteinler aşamalı olarak doğal bir durumdan denatüre veya katlanmamış bir geçişe ve daha sonra bir sol durumu oluşturan kümelenmiş bir ağa geçerek, sonunda nihai katı jel durumuna ulaşmaktadır. İkinci adımın hızının birinciden daha düşük kalması önemlidir, çünkü protein agregasyonu jel oluşumuna izin verecek kadar sıralanacaktır (Aguilera, 1995; Damodaran, 1989; Kinsella vd., 1994; Schmidt, 1981).

Isıtma üzerine etkili hidrofobiklikteki belirgin bir artış, protein açılmasının bir göstergesidir ve çok fazla hidrofobik bölge açığa çıkarıldığında, açıkta kalan hidrofobik bölgeler arasında protein moleküllerinin toplanmasına neden olan etkileşimler kaçınılmazdır (Nakai, 1983). Şekil 2.3 globüler proteinlerin ısıyla indüklenen jelleşmesine yönelik bazı önerilerin şematik bir temsilini göstermektedir.



Şekil 2.3 Küresel proteinin ısı kaynaklı jelasyonunun şematik gösterimi (Totosaus vd., 2002)

Isıtma hızı ve/veya ısıtma süresi, açılmayı etkilemekte ve oluşan proteinin türünü etkiliyor gibi görünmektedir (Foegeding vd., 1986). Sol proteinin, denatürasyon için gerekenden çok daha yüksek bir dereceye kadar aşırı ısıtılması, soğuma üzerine jel haline gelmeyen bir metasol durumuna yol açmaktadır (Oakenfull vd., 1997). Soğutma sırasında, katlanmamış proteinler yeniden katlanmış bir konformasyona evrilebilirler. Proteinin kısmen yeniden katlanması, moleküller arası çapraz bağlanma için fonksiyonel grupların sayısının mevcudiyetini azaltacak ve böylece kendi kendini destekleyen bir jel ağının oluşumunu önleyecektir (Damodaran, 1989). Katlanmamış durumdaki proteinin moleküler özelliklerine bağlı olarak, iki tür etkileşimden birine maruz kalmaktadır. Yüksek düzeyde apolar amino asit kalıntıları içeren proteinler, pıhtı tipi bir jelle sonuçlanan hidrofobik agregasyona uğramaktadır. Öte yandan, apolar amino asit kalıntılarının kritik seviyesinin altındaki proteinler, yarı saydam tipte bir jel içerisine yerleşen çözünür agregatlar oluşturmaktadır (Damodaran, 1989). Düşük moleküler ağırlık ve düşük protein konsantrasyonu koşulları bir agrega oluşturduğunda protein çözeltisi opak hale gelirken, yüksek moleküler ağırlık ve yüksek protein konsantrasyonu koşullarında (protein zinciri dolaşması nedeniyle) bir pıhtı (termo-geri dönüşümsüz jel) meydana gelmektedir. Öte yandan, şeffaf bir protein çözeltisi, düşük molekül ağırlığı ve düşük protein konsantrasyonu koşulları altında sol halinde kalmakta, ancak molekül ağırlığı ve protein konsantrasyonu yüksekse soğutulduğunda bir jel oluşturmaktadır (Shimada ve Matsushita, 1980).

2.3.2 Enzim ile Jelasyon

Enzim kaynaklı jelleşme, jel yapısının oluşumuyla sonuçlanan protein zincirleri arasındaki çapraz bağlanmayı ifade etmektedir (Nio vd., 1986). Enzimin proteolitik etkisi, protein molekülünü aktive ederek, bu tip jelleşmede diğer aktive protein molekülleri ile etkileşime girebilecek bölgeleri açığa çıkarmaktadır. Proteoliz, proteinlerin fonksiyonel ve besleyici niteliklerini geliştirmek için kullanılabilmektedir. Hidrolizin kapsamına, çevresel koşullara ve kullanılan enzimin çeşidine ve seçiciliğine bağlı olarak sıklıkla çok çeşitli peptitler oluşturulabilmektedir. Çoğu durumda hidroliz moleküler ağırlığı azaltmakta ve yüklü grupları dahil ederek proteinlerin hidrofilikliğini artırmaktadır, bu da azalan jelleşme kabiliyeti veya jel kuvveti ile sonuçlanmaktadır. Bununla birlikte, sınırlı hidroliz, gömülü apolar kalıntıları açığa çıkararak, agregasyon oluşumuyla sonuçlanan belirli globüler proteinlerin etkili hidrofobikliğini iyileştirebilmektedir (Creusot ve Gruppen, 2007).

Hidrolizin protein jelasyonu üzerindeki arttırıcı etkisi, hidrolizatın spesifik bir özelliği olup sadece substratların, enzimlerin ve hidroliz derecelerinin belirli kombinasyonlarında gözlemlenebilmektedir. Ayrıca, hidrolizin sınırlı veya kapsamlı olmasına ve substratın doğal olup olmamasına bağlı olarak farklı güçlendirme işlemlerinin dahil olduğu da düşünülmektedir (Creusot ve Gruppen, 2007).

Peptid kaynaklı jelleşmenin açıklanmasında bazı spesifik ve spesifik olmayan mekanizmalar tanımlanmıştır. 1990'ların başında, plastein reaksiyonu geçici olarak küçük peptitlerin yüksek konsantrasyonda agregatlar halinde tersine çevrilebilir birleşmesi olarak tanımlanmış olup, sonuçta geniş bir pH aralığı ve en az 0°C ila 70°C sıcaklık aralığında stabil olan bir tiksotropik çözelti oluşturmaktadır (Andrews ve Alichanidis, 1990). Ancak bu mekanizma takip edilememiştir. Daha sonra 1990'lı yıllarda peynir altı suyu proteinlerinin β-lactoglobulin ile indüklenen jelleşmesi üzerine çalışmalar yapılmış ve hidroliz üzerine hidrofobik amino asit kümelerini içeren peptitlerin oluştuğu varsayımı ortaya atılmıştır. Bu varsayıma göre iki hidrofobik bölge içeren bir peptid oluştuğunda, diğer peptidleri hidrofobik etkileşimle birbirine bağlayabilir ve agregatlar oluşturabilir (Ju vd., 1995). Bir diğer mekanizma önerisinde, hidroliz üzerine hidrofobik alanları açığa çıkaran katlanmamış proteinlerin

diğer moleküllerin hidrofobik alanlarına bağlanabileceği ve daha sonra agregasyona ve jelleşmeye yol açabileceği öne sürülmüştür (Otte vd., 1996). BLP kaynaklı jelleşme için önerilen üçüncü bir mekanizma ise hidroliz sırasında β-lg'den salınan hidrofobik peptitlerin, bozulmamış proteinden daha fazla hidrofobik etkileşim olasılığına sahip olması ve bunların sonunda bir jel ağı oluşturan partiküller halinde agregasyona neden olmasıdır (Ipsen vd., 2000).

2.3.3 Asit ile Jelasyon

Asit kaynaklı jelleşme bazı gıda ürünlerinde yaygın olarak kullanılan yöntemdir. pH'nın düşürülmesi, etkileşimlere ve bir ağ yapısının oluşumuna neden olacak kadar yeterli protein denatürasyonuna yol açmaktadır. Örneğin pH 4,0'da oluşan süt jelleri, pH 4,6'da oluşanlardan daha güçlüdür, bu durum jel yapısındaki elektrostatik etkileşimlerin önemini yansıtmaktadır (Xiong vd., 1991). pH 4,0'da itici denge, miyozin filamentlerinin kendiliğinden etkileşime girebilme yeteneğinden kaynaklı olup ısıl işlem uygulanmadan jel oluşturabilmektedir (Hermansson vd., 1986).

Organik asitler, asitleştiriciler veya diyaliz yoluyla pH'nın düşürülmesi sağlanabilmektedir. Örneğin balık proteini jelasyonunda asetik, tartarik veya sitrik gibi organik asitlerin kullanılması yüksek viskoziteli bir yapı oluşumuna neden olmaktadır (Chawla vd., 1996). Protein çözeltisinin düşük pH'ya kadar diyalizi, ısıyla indüklenen jellerle karşılaştırıldığında farklı bir yapı oluşturmakta, ancak tuz konsantrasyonuna bağlı olarak ya iplikçik ya da agregat benzeri jeller meydana gelmektedir (Hermansson vd., 1986). Çoğu durumda asitleştirici bir madde olan GDL'nin kullanımı asit kaynaklı gıda jellerinde oldukça yaygındır. GDL glukonik aside hidrolizi sıcaklığa bağlı olduğundan, daha yüksek sıcaklık daha güçlü jeller üretimine neden olmaktadır (Totosaus vd., 2000).

Asit jel oluşumunun mekanizması, fraktal ölçeklendirme rejiminin yalnızca toplanan kümeler düzeyindeki küçük uzunluk ölçeklerinde meydana gelebildiği fraktal toplanma teorisi ile açıklanabilir. Daha uzun ölçeklerde mikro yapılar homojen görünmektedir. Fraktal agregasyon, belirli bir yarıçapa sahip küresel partiküllerin Brownian hareketi ile hareket edebildiğini ve birbirleriyle karşılaştıklarında bir araya

gelebildiklerini varsaymaktadır. Oluşturulan agregatlar daha sonra birbirleriyle de birleşmekte ve bu fraktal agregatlar jelin yapı taşları olarak görev almaktadır (Lucey ve Singh, 1998).

2.3.3.1 Glukono-delta-lakton (GDL)

Glukonolakton olarak da bilinen glukono-delta-lakton (GDL), asitleştirici olarak kullanılmakta olup yapı iyileştirici veya kabartma özelliğine sahiptir (Martin vd., 2009). GDL ile jel oluşumunda ilk adım, gömülü hidrofobik grupların açılması ve ortaya çıkarılması için proteinlerin denatürasyon sıcaklığının üzerinde önceden ısıtılması, ardından protein moleküllerinin çözünür agregatlar halinde birleştirilmesidir. GDL yavaş yavaş glukonik aside hidrolize olmakta ve bu da pH'nın düşmesine yol açmaktadır. İkinci adımda GDL, hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler yoluyla sürekli bir üç boyutlu ağ oluşturmakla ilişkilendirilen protein agregatlarının negatif yüklerini nötralize etmek için protonları serbest bırakarak çalışmaktadır (Tay vd., 2005; Tseng vd., 2008). Genellikle, GDL'nin indüklediği jel, pH'nın kademeli olarak azalması nedeniyle homojen jel ağ yapıları oluşturmakta ve jelin dokusu, protein ve GDL konsantrasyonu ile çevre sıcaklığı tarafından düzenlenebilir (Cavallieri ve da Cunha, 2008).

GDL kullanmanın avantajı, süspansiyonların aşamalı olarak yerinde asitlenmesine izin vermesidir. Artan GDL konsantrasyonu ile asitleşme hızı artmakta ve daha düşük bir nihai pH değerine ulaşılmaktadır. GDL, pH'nın karıştırılmadan düşürülmesine izin vermekte ve HCl'den daha düşük pH değerlerinde homojen jeller oluşturabilme yeteneğine sahiptir. GDL'nin bir diğer avantajı da yoğurt yapım sürecinde sütün kademeli asitliğini simüle etmesidir. GDL kullanmanın dezavantajı, nihai pH'ya yavaş yavaş ulaşılması ve bu nedenle asitleşme kinetiğinin jelleşme kinetiği ile karıştırılmasıdır (De Kruif, 1997).

2.4 Susam ve Susam Proteininin Özellikleri

Susam tohumu potansiyel bir protein kaynağı olup bileşimi %40-50 yağ, %20-25 protein, %20-25 karbonhidrat ve %5-6 külden oluşmaktadır. Susam küspesi, yağın çıkarılmasından sonra yan ürün olarak değerlendirilmektedir. Susam, tam tohum

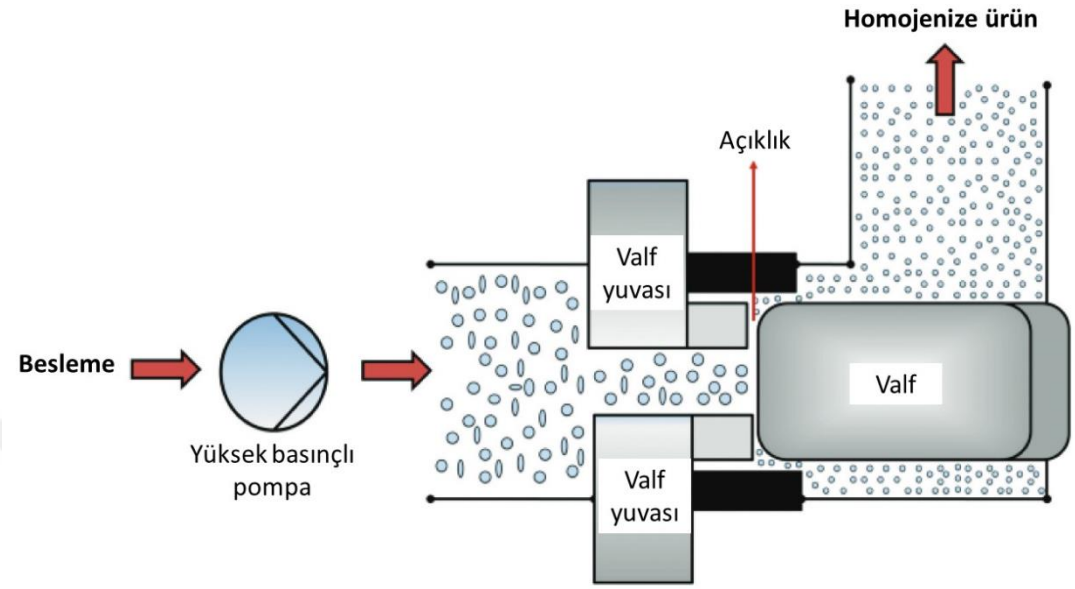
küspesi, kabuğu alınmış tohum küspesi, yağı alınmış tam tohum küspesi ve kabuğu alınmış-yağsız küspe olarak 4 farklı yan ürün şeklinde değerlendirilebilmekte (Onsaard, 2012), gıda endüstrisinde protein kaynağı bileşeni olarak kullanılabilmektedir. Susam keki ise %7,92 nem, %27,83 yağ, %30,56 protein, %6,22 lif, %5,27 kül ve %28,14 karbonhidrat bileşimine sahiptir. Susam proteinleri alkali veya tuz ekstraksiyonu ve izoelektrik çökeltme (pI) gibi çeşitli yöntemlerle ekstrakte edilebilmektedir (Cano-Medina vd., 2011; Onsaard vd., 2010). Susam proteinleri, Osborne sıralı ekstraksiyonuna ve farklı çözünürlüklerine dayalı olarak dört protein sınıfında sınıflandırılmıştır; suda çözünür albüminler, tuzda çözünür globulinler, alkol/su karışımlarında çözünür prolaminler ve seyreltik asit veya alkalide çözünür glutelinler. Rivas vd. (1981), susam unundaki proteinlerin çoğunun albümin (%8,6), globülin (%67,3), prolamin (%1,4) ve glutelin (%6,9) olduğunu bildirmişlerdir. Susam proteinlerinin iki ana depolama proteini olan 11S globulin (α-globulin) ve 2S albümin (β-globulin) içerdiği rapor edilmiştir (Onsaard, 2012).

Susamdaki protein esansiyel amino asit içeriğinin oranı hayvansal proteine çok benzeyen tam bir proteindir. Pepsin pankreatin enzim sistemleri kullanılarak susam protein izolatının in vitro protein sindirilebilirliği üzerine yapılan çalışmada susam protein izolatının %89,57 gibi yüksek oranda sindirilebilirliğe sahip olduğu ortaya konmuştur (Dossa vd., 2017). *İn vitro* protein sindirilebilirliğinin yüksek olması, susam protein izolatının bazı gıda sistemlerinde, özellikle de protein eksikliğinin çocuklar için büyük bir sağlık sorunu olduğu gelişmekte olan ülkelerde zenginleştirme ve takviye olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Wei vd., 2022).

2.5 Yüksek Basınçlı Homojenizasyon

Yüksek basınçlı homojenizasyon (YBH) işlemi, gıda endüstrisinde uygulanan, esas olarak patojenleri ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaları parçalamak, enzimleri etkisiz hale getirmek ve gıda ürünlerinin besinsel ve teknolojik kalitesini iyileştirmek için kullanılan, termal olmayan bir teknolojidir (Betoret vd., 2015). YBH, ürünü 200 MPa'la kadar basınca sahip bir vanaya doğru pompalayan yüksek basınçlı bir pompayı içeren, geleneksel homojenleştirme ile aynı prensiplere dayanan yeni bir teknolojidir (Gül vd., 2021). YBH işleminde protein süspansiyonları dar bir aralıktan

geçmeye zorlanarak partikül boyutlarında önemli azalmalar meydana getirilmekte ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri modifiye edilebilmektedir.



Şekil 2.4 Darbe, kesme ve kavitasyon sürecini gösteren yüksek basınçlı homojenleştirme şeması (Malik vd., 2023)

YBH, aşırı basınç yoğunlaştırıcılara sahip dar boşluklu bir valf boyunca akışkanın hızının hızla artırılması, bunun sonucunda basıncın düşürülmesi ve yüksek kayma gerilimi ile sonuçlanması işlemidir. Buna bağlı olarak akışkan hücreler, partiküller ve makromoleküller oldukça yüksek mekanik basınca maruz kalmakta, bükülmekte ve nano boyutlu parçacıklara dönüşmektedir. Bu aynı zamanda hava basıncının düşmesine yol açtığından daha fazla türbülansa, kayma gerilimine, sıcaklık artışına ve kavitasyona neden olmaktadır. YBH, gıda proteinlerini yeniden yapılandırmak, protein konformasyonunu etkilemek, protein denatürasyonuna, jelleşmesine veya agregasyonuna yol açmak ve sonuç olarak yeni/geliştirilmiş dokuya sahip yeni ürünler oluşturmak için önemli olanaklar sunmaktadır.

Soğuk pres fındık posasından protein ekstraksiyonu ve ekstrakte edilen proteinlerin yüksek basınçlı homojenizasyon ile modifikasyonunu konu alan bir çalışmada, fındık proteinlerinin molekül ağırlıklarında önemli bir değişim olmadığı, partikül boyutunun önemli düzeyde azaldığı, suda çözünürlüğün, emülsiyon ve köpük oluşturma özelliğinin arttığı belirlenmiştir (Saricaoglu vd., 2018). Saricaoglu vd. (2017) mekanik ayrılmış tavuk etlerinden ekstrakte edilen proteinlere 0; 25; 50; 75; 100 ve 150 MPa

basınçlarda yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi uygulamış ve proteinlerin fonksiyonel özellikleri ile reolojik davranışlarını belirlemişlerdir. Basınç uygulaması ile partikül boyut dağılımının azaldığı, zeta potansiyelinin arttığı, 100 MPa basınca kadar suda çözünürlüğün arttığı ancak sonrasında azaldığı tespit edilmiştir. Protein süspansiyonlarının artan kayma hızlarında azalan viskozite özelliğine sahip olduğu ve zayıf jel özelliği sergilediği bildirilmiştir. Araştırıcılar, YBH işlemi ile mekanik ayrılmış tavuk eti proteinlerinin fonksiyonel özelliklerinin modifiye edilebileceğini ortaya koymuşlardır. Liu ve Kuo (2016), 100 ve 150 MPa yüksek basınç homojenizasyon işleminin soya unundaki proteinlerin fonksiyonel özellikleri üzerine etkisini araştırmış ve yüksek basınçlı homojenizasyon işlemlerinden sonra proteinlerin –SH gruplarının ve yüzey hidrofobisitelerinin değiştiğini, protein çözünürlüğünün azaldığını tespit etmişlerdir. Ceviz proteinleri üzerine yüksek basınçlı homojenizasyon işleminin etkisini araştıran Dong vd. (2011), 40 ve 80 MPa basınçlarda proteinleri muamele etmişler ve basınç uygulanmış örneklerde su bağlama kapasitesinin önemli düzeyde artış gösterdiğini bildirmişlerdir.

2.6 YBH Teknolojisinin Protein Jelleşme Üzerine Etkisi

YBH bitkisel kaynaklı protein izolatlarının jelasyonu üzerindeki etkisi farklı çalışmalarda incelenmiştir. Luo vd. (2022) tarafından YBH kinoa protein izolatı süspansiyonlarının fiziko-kimyasal, mikroyapısal ve reolojik özellikleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. 50 MPa basınçtan sonra büyük protein agregatlarının bozulduğu ve partikül boyutunun ~0,5 μm seviyelerine kadar azaldığı, artan yüzey hidrofobikliği ile protein moleküllerinin daha esnek hale geldiği ve hava-su ve yağ-su arayüzlerinde daha hızlı emildiği, bunun da yüzey geriliminde ve arayüzey geriliminde daha hızlı bir azalmaya neden olduğu saptanmıştır. Tüm protein izolat süspansiyonlarının termal işlemden sonra (85^{o}C, 30 dakika) zayıf jeller oluşturduğu ve YBH ile işlenmiş protein izolat süspansiyonlarının ise daha kompakt ve homojen bir protein ağı mikro yapısına sahip daha güçlü bir jel eldesine neden olmuştur.

Sun vd. (2022b), farklı basınç ve döngüler altında YBH ön işlemine tabi tutulan soya fasulyesi protein izolatının asit kaynaklı jellerinin konformasyonel değişikliklerini ve reolojik özelliklerini değerlendirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, YBH ön işleminin

çözünmeyen soya protein izolatının uzaysal yapısını değiştirdiğini, protein dispersiyonunun partikül boyutunu önemli ölçüde azalttığını ve -SH içeriğini artırdığını ortaya koymuştur. YBH'daki artışla birlikte, meydana gelen yoğun mekanik kuvvetler ve yüksek sıcaklık, protein moleküllerinin karmaşık yapılarını bozabildiğini ve hidrofobik grupların serbest kaldığını, bunun da jellerin oluşumu için avantaj sağladığını bildirmişlerdir. Uygulanan YBH ile jellerin doğrusal viskoelastik bölgedeki viskoelastik özellikleri önemli ölçüde arttmış ve 80 MPa basınç seviyesi protein jel viskoelastikliği için kritik basınç olarak ifade edilmiştir.

Lozober vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada Spirulina protein konsantresi jel özelliklerini geliştirilmesi amacıyla termal jelasyondan önce YBH uygulanmıştır. Çalışmada, jelleşmenin pH 6,5'te mümkün olduğu, ancak yetersiz protein çözünürlüğü nedeniyle daha asidik pH'da mümkün olmadığı ortaya konulmuştur. Bununla birlikte ön işlem olarak 50 MPa basınçta homojenizasyon uygulanması, protein çözünürlüğünü %91 oranında artırmıştır. Partikül boyutu azalırken yüzey hidrofobikliği minimum %212 artmıştır. Protein konsantresi dispersiyonu üzerindeki bu YBH etkileri, jel sertliğindeki artış ve jelleşme noktasındaki azalma ile ilişkilendirilmiştir.

Gül vd. (2021) fındık içeceğine glukono-δ-lakton (GDL) ile asitlendirilmeden önce YBH işlemi uygulamışlardır. Jelleşme öncesi YBH uygulaması fındık içeceğinin partikül boyutunu önemli ölçüde azalttığı ve dolayısıyla 50 ve 100 MPa uygulanan örnekler için daha yüksek G' değerleri elde edilerek jelleşmenin geliştirği bildirilmiştir. Jel örneklerinin tamamının artan kayma süresiyle birlikte görünür viskozitenin azalmasına bağlı olarak kayma incelmesi davranışı gösterdiği ve jellerin akış davranışı, Ostwald de-Waele modeliyle iyi bir şekilde tanımlanmıştır. 100 MPa basıınca kadar YBH uygulaması, kontrol ile karşılaştırıldığında G' ve G" değerlerini önemli düzeyde artırmış ve en yüksek jel sertliği, 50 MPa basınç uygulanan örnekte gözlenmiştir. Örneklerin mikroyapısal görüntüleri dikkate alındığında, 50 ve 100 MPa basınç uygulanan örneklerde jel yapısının gözlemlendiği ve basıncın 150 MPa'ya yükseltilmesinin jel yapısını deforme ettiği belirtilmiştir.

Shi vd. (2021), farklı basınç seviyelerinde (0; 25; 50; 75 ve 100 MPa) dinamik yüksek basınçlı homojenizasyon uygulanan peyniraltı suyu proteinlerinin sitrik asit ile jelleşmesini ve oluşan jelin fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini araştırdıkları çalışmada dinamik yüksek basınçlı homojenizasyon uygulanmış jel örneklerinin partikül boyut dağılımının daraldığı, serbest –SH grubunun ve yüzey hidrofobikliğinin arttığı, ancak zeta potansiyel değerlerinin değişmediğini bildirmişlerdir. YBH ön işleminin peynir altısuyu protein çapraz bağlanma derecesini artırdığı ve böylece sitrik asit ile işleme tabi tutulan peynir altı suyu proteinlerinin emülsifiye edici özelliklerinin iyileştiği ve bu durumun jel oluşumunu desteklediği ve jel özelliklerini geliştirdiği sonucuna varmışlardır.

Levy vd. (2021), stabilizatör eklenmeden yoğurt benzeri fermente bir ürün geliştirmek için kullandıkları patates protein izolatına YBH ön işlemi uygulamışlardır. YBH ile patates protein izolatının partikül boyutunun azaldığı ve çözünürlüğünün arttığı ve inek sütünde olduğu gibi faz ayrımına karşı daha yüksek fiziksel stabilite sağlayan yapı oluştuğu ve buna bağlı olarak LAB fermantasyonu sırasında homojen jel benzeri bir sistem oluştuğu vurgulanmıştır. Homojenize protein izolatlarının emülsiyonunun yoğurt alternatifleri sütlü yoğurtla benzer zaman diliminde oluştuğu ortaya konmuştur. Faz ayrımına karşı fiziksel stabilite, YBH basıncının artmasıyla artma eğilimi göstermiş ve en yüksek sertlik, 200 MPa'da oluşturulan emülsiyondan fermente edilen yoğurt alternatifinde tespit edilmiştir.

Xie vd. (2021) YBH koşullarının morina protein jelinin fizikokimyasal özellikleri üzerindeki etkilerini araştırdıkları çalışmada 80 MPa'da 15 geçişle homojenizasyon işlemininden sonra protein parçacık boyutunun 4 μm'ye düştüğü, 0,63 N jel kuvveti elde edildiği ve morina protein jelinin su bağlama kapasitesi, homojenizasyon uygulanmamış kontrol örneğiyle karşılaştırıldığında %41 oranında arttığı bildirilmiştir. Homojenizasyonla birlikte azaltılmış partikül boyutu, partikül-partikül etkileşimlerinin artmasını sağlamış ve hem hidrofobik etkileşim hem de hidrojen bağı oluşumu yoluyla protein çapraz bağlanmasını desteklemiştir. Uygulanan YBH ile geliştirilmiş jel kalitesi ve fiziksel özelliklerle nispeten düzgün ve petekli bir ağ yapısı oluştuğu belirtilmiştir.

Bi vd. (2020) YBH'nin soya proteini izolatı emülsiyon jelinin yapısal ve fonksiyonel özellikleri üzerindeki etkisini inceledikleri çalışmada uygulanan homojenizasyon basıncının artmasıyla birlikte soya protein izolatı emülsiyon jelinin *G*' değerinin 291 Pa (5 MPa) seviyesinden 528 Pa (80 MPa) seviyesine yükseldiğini bildirmişlerdir. Daha yüksek basınçlarda aynı zamanda protein izolat emülsiyon jelinin frekans bağımlılığını da azalttığı, ancak iyileşme oranı ile YBH basıncı arasında doğrusal bir ilişki olmadığı saptanmıştır. Emülsiyon jelinin su bağlama kapasitesinin %87,7'den %91,4'e yükseldiği (basınç 5 MPa'dan 20 MPa'ya yükseldiğinde) ve daha yüksek basınçlarda stabil kaldığı gözlenmiştir. Genel olarak değerlendirildiğinde, daha yüksek bir homojenizasyon basıncında emülsiyon, daha kararlı bir izotropik ağ jel yapısı oluşturduğu rapor edilmiştir.

GDL'nin bitki kaynaklı protein izolatlarının jelasyonu üzerindeki etkisi farklı çalışmalarda incelenmiştir. Cavallieri ve da Cunha (2008), %7 peynir altı suyu protein izolatı çözeltilerinin soğukta sertleşme koşulları altında jelleşme davranışını incelediği çalışmada termal olarak denatüre edilmiş (80˚C/30 dakika) peynir altı suyu protein izolatı çözeltilerine farklı miktarlarda GDL eklendikten sonra 10ºC'de jeller oluşturmuşlar ve sonuçta farklı asitleştirme oranlarına ve nihai pH değerlerine ulaşıldığını bildirmişlerdir. Asitleşme hızının jelleşmenin başlangıcındaki reolojik özellikleri etkilemediğini, yine de asitleştirme koşullarının jelleşme noktasından sonra protein ağının güçlendirilmesi üzerinde önemli bir etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Jelleşme sırasında ve denge koşulları altında belirli pH değerlerinde mekanik özelliklerin değerlendirilmesi, asitleşme hızının, pH'nın ve yapısal organizasyonun jel özellikleri üzerindeki etkileri arasında niteliksel bir ayrıma izin vermiştir. GDL hidrolizi ile indüklenen peynir altı suyu protein izolatının soğukta jelleşmede, düşük asitleştirme oranları kullanıldığında asitleştirme sırasında pH üzerinde güçlü bir etki göstermiştir. Nihai pH'ya ulaşıldığında ise özellikler stabil kalmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Çalışmada protein kaynağı olarak beyaz susam tohumları (*Sesamum indicum* L.) kullanılmış olup Aslan Susam ve Tahin Gıda Mad. San ve Tic. Ltd. Şti (Eskişehir)'den temin edilmiştir. Susam keki elde etmek için susam tohumlarının içermiş olduğu yağ soğuk ekstraksiyon yöntemi ile Koçmaksan KMS10 (Koçmaksan, Karabağlar, İzmir) tek kafa soğuk pres ekipmanı kullanılarak uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.1). Presleme sıcaklığı çalışma boyunca 50 °C olacak şekilde sabit tutulmaya çalışılmıştır.



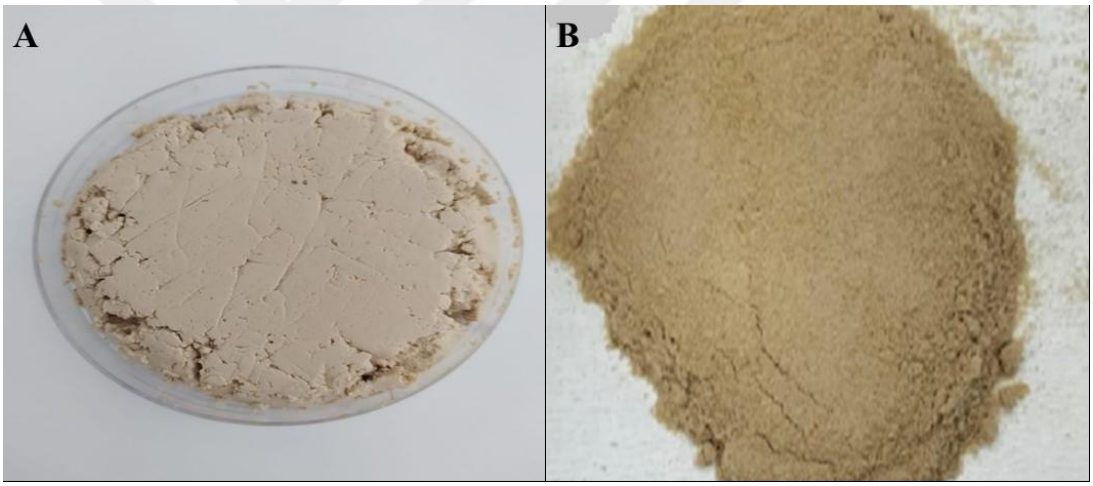
Şekil 3.1 Susam tohumundan presle yağın ayrılması

3.2 Yöntem

3.2.1 Protein Ekstraksiyonu

Soğuk pres atığı susam kekinden susam proteini izolatının eldesi için alkali ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır (Gandhi ve Srivastava, 2007). Bu amaçla susam keki öncelikle laboratuvar tipi karıştırıcı (Waring 80011S model, ABD) kullanılarak öğütülmüş ve elde edilen granüllü materyal homojen dağılım göstermesi amacıyla elenmiştir. Granül susam keki 1:9 (w/v) oranında distile su ile karıştırılmış ve karışım homojen hale getirilmek için Ultra-Turrax (Daihan, HG-15D, Gang-Won-Do, Güney Kore) ile 9000 rpm'de 3 dakika işleme tabi tutulmuştur. Ardından elde edilen

süspansiyonun pH'sı 1 M NaOH ile 10,0'a ayarlanmış ve proteinlerin suya geçmesi için süspansiyon manyetik karıştırıcıda 1 saat karıştırılmaya bırakılmıştır. Bu süre dahilinde süspansiyonun pH'sı sürekli izlenmiş ve farklılık gözlendiğinde tekrar 10'a ayarlanmıştır. Çözünen proteinleri çözünmeyen kısımlardan ayırmak için süspansiyon 9000 rpm'de 4°C'de 10 dakika santrifüj (Nüve NF-800R modeli, Türkiye) işlemine tabi tutulmuş, işlem sonunda süpernatant bir beherde toplanmış ve proteinlerin izoelektrik pH'ta çökelmesini sağlamak için pH'sı 1 M HCl ile pH 4,5'e ayarlanmıştır. Ardından tekrar aynı koşullarda santrifüj edilerek çökelti toplanmıştır. Toplanan çökelti önce liyofilizatör (Teknosem, Toros TRS-4/4, Türkiye) yardımıyla dondurularak kurutulmuş, öğütücü kullanılarak toz hale getirilmiş ve susam protein izolat tozları elde edilmiştir. Susam kekinden alkali ekstraksiyon ile elde edilen susam protein izolatı (SPI), Şekil 3.2'de görülmektedir.



Şekil 3.2 Ekstrakte edilmiş Susam proteini izolatı (SPI). a) Alkali ekstraksiyondan sonra saflaştırılmış susam proteini ekstraktı. b) Dondurularak kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş susam proteini izolatı

3.2.2 Yüksek Basınçlı Homojenizasyon Uygulaması

Susam protein izolatının YBH ile modifikasyonu için susam protein izolatı ağırlıkça %8 protein içerecek şekilde distile su ile karıştırılmış, süspansiyonun pH'sı 1 M NaOH ile 7,0'a ayarlanmış ve oda koşullarında manyetik karıştırıcıda 120 dakika karıştırılmıştır. Ardından süspansiyon gece boyunca 4°C'de bekletildikten sonra homojenizasyona tabi tutulmuştur. Yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi 0; 25; 50; 100 ve 150 MPa basınçlarda Panda PLUS 2000 (GEA Niro Soavi, Parma, İtalya) homojenizatörü kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.3). Homojenizasyon öncesi

protein süspansiyonunun sıcaklığı 12ºC civarında olup uygulanan basınca bağlı olarak homojenizasyon sonrası 15ºC ila 33ºC arasında ölçülmüştür. Analizlerde mikrobiyolojik bozulmaları önlemek amacıyla homojenizasyon öncesi hazırlanan protein süspansiyonuna %0,01 oranında sodyum azid eklenmiştir. Çalışmada 0 MPa basınç uygulanan susam protein süspansiyonu kontrol örneği olarak kullanılmıştır.



Şekil 3.3 SPI süspansiyonuna YBH işleminin uygulanması

3.2.3 GDL ile Jelleşme

Farklı basınçlarda homojenizasyona tabi tutulmuş susam protein süspansiyon örneklerinin asitle jelleşmelerinde %2 oranında glukono-δ-lakton (GDL) kullanılmıştır. Süspansiyonlara GDL ilave edildikten sonra oda koşullarında 400 rpm hızında 5 dakika süre boyunca karıştırma işlemi uygulanmış ve ardından jelleşmeye bırakılmıştır. Asitleştirme sırasında örneklerin pH'sı, kalibre edilmiş bir pH metre (Hanna HI 2002-02, Hanna, Vöhringen, Almanya) kullanılarak oda koşullarında 3 saat boyunca kaydedilmiştir.

3.2.4 Jelleşme Kinetiği

Jelleşme süresince örneklerin pH değerlerinde meydana gelen değişim 5 dk aralıklarda izlenmiştir. Jellerin pH değerlerinde 180. dakikadan sonra önemli düzeyde değişim meydana gelmediğinden dolayı jelleşme süresi olarak 180 dakikalık süreç dikkate alınmış ve tartışılmıştır. Maksimum asidifikasyon hızı (V_{max}, pH değerinin (dpH/dt) zamana bağlı değişimi olarak hesaplanmış ve mutlak değer olarak verilmiş), maksimum asidifikasyon hızına ulaşma süresi (T_{max}), pH 5,0'a ulaşma süresi ($t_{5,0}$) ve izoelektrik noktaya ulaşma süresi ($t_{4,5}$) jelleşme kinetiğini karakterize eden yanıtlar olarak belirlenmiştir.

3.2.5 Partikül Boyut Analizi

Jelleşme öncesi ve sonrası örneklerin partikül boyut dağılımları lazer difraksiyon partikül boyutu ölçüm ekipmanı (Malvern Instruments, Mastersizer 3000 model, İngiltere) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçüm için süspansiyon veya jeller %3 ile %10 arasında kararma oranı elde edilene kadar ultra saf su ile seyreltilmiştir. Ölçüm için dispersiyon ortamının kırılma indisi 1,33 olarak ayarlanmıştır. Ölçüm 25 °C'de gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Renk Özellikleri

Susam protein jellerinin renk değerleri kolorimetre (ColorFlex EZ kolorimetre; Hunter Associates Laboratory, Inc., VA, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler rastgele seçilen en az 3 farklı noktadan olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Kolorimetrede jel örnekleri sensörün altına yerleştirildikten sonra L^* (0-100 arasında aydınlık ve karanlığın bir ölçüsü olup 0 siyaha, 100 beyaza karşılık gelmekte), a^* (pozitif (+) değerleri kırmızılığı, negatif (–) değerleri ise yeşilliği ifade etmektedir) ve b^* (pozitif (+) değerleri sarılığı, negatif (–) değerleri ise maviliği ifade etmekte) değerleri okunmuştur. Beyazlık indeksi (WI) ve toplam renk farkı (ΔE) aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplandı.

$$\Delta E = [(\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2]^{0,5} \quad (3.1)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2} \quad (3.2)$$

3.2.7 Reolojik Özellikler

Susam protein jellerinin reolojik karakterizasyonu, Haake Mars III reometresi (Thermo Scientific, Almanya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla 0,1 mm aralıklı 35 mm çaplı paralel plaka geometrisi kullanılmıştır. Ölçüm aralığı olarak 1 mm seçilmiştir. Tüm analizler 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerden önce, sıcaklığı sabitlemek için tüm örnekler 25°C'de 2 dakika bekletilmiştir (Gül vd., 2021).

3.2.7.1 Jel oluşumu

Jelleşme süresinin belirlenmesi için, susam protein süspansiyonuna GDL ilave edilmiş ve reolojik testlerden hemen önce manyetik karıştırıcıda 1 dakika karıştırılmıştır. Ardından çözelti reometre plakasına aktarılmış ve su kaybının önlenmesi amacıyla ölçüm plakasının kenarları ince silikon yağ tabakası ile kaplanmıştır. Depolama modülü (G') ve kayıp modülü (G") gibi dinamik kesme parametrelerinin ölçümünden önce 0,1 Hz'lik sabit bir frekansta gerinim tarama testi ile her örnek için lineer viskoelastik bölge (LVR) belirlenmiştir. YBH işlemi uygulanmış susam protein jellerinin oluşumu, LVR'de 0,1 Hz ve 0,1 Pa frekansta zaman tarama testi kullanılarak her 30 saniyede bir kaydedilmiş ve 150 dakikalık asitleştirme sırasında jelleşme takip edilmiştir. Her örnek için üç tekrar yapılmıştır (Gül vd., 2021).

3.2.7.2 Akış eğrisi analizi

Susam proteini jellerinin akış davranışı, 1 ile 100 s^{-1} arasındaki kayma hızlarına karşı kayma gerilimi kaydedilerek belirlenmiştir. Jellerin görünür viskozite değerleri, görünür viskozite ve kayma hızı arasındaki ilişkiyi açıklamak için Ostwald de-Waele modeline (Eşitlik 3.3) uyarlanmıştır.

$$\eta_{app} = K \times \gamma^{\cdot n-1} \quad (3.3)$$

burada $\eta_{app,}$ görünen viskozite (Pa.s); K, konsistens katsayısı ($Pa.s^n$); γ, kayma hızı (s^{-1}); n, akış davranış indeksi (boyutsuz).

3.2.7.3 Frekans tarama testi

Susam protein jellerinin viskoelastik özeliklerinin belirlenmesi amacıyla, LVR'de 0,1 Pa gerilimde 0,628-628 rad s^{-1} açısal frekans aralığı için frekans tarama testleri gerçekleştirilmiş ve depolama (G') ve kayıp (G") modülleri belirlenmiştir. Frekans tarama testinde sıcaklık 25°C'de sabitlenmiştir. Elde edilen viskoelastik modüller Power-law eşitliği kullanılarak modellenmiştir.

$$G' = K' \times \omega^{n'} \tag{3.4}$$

$$G'' = K'' \times \omega^{n''} \tag{3.5}$$

burada, G´, depo modülü (Pa); G´´, kayıp modülü (Pa); K' ve K", Power-law modül sabitleri ($Pa.s^n$); n' ve n" frekans üsleri; ω açısal frekans (rad s^{-1}).

3.2.8 Jel Kuvveti

Susam protein jellerinin jel kuvvetinin belirlenmesinde tekstür analiz ekipmanı (TA-XT Plus Texture Analyzer, Stable Microsystems, Godalming, İngiltere) kullanılmıştır. Bu amaçla, 100 mL'lik behere GDL ilave edilmiş susam protein süspansiyonu aktarılmış ve jel oluşumu ve stabilite sağlanması amacıyla 60 dakika bekletilmiş ve daha sonra ölçüm gerçekleştirilmiştir. Jel kuvvetinin ölçümü için 35 mm çapında silindirik plakalı prob kullanılmıştır. Ölçüm sırasında prob 2 mm s^{-1} sabit hızla jel içerisine 10 mm derinlikte inmiştir. Jel kuvveti, ilk sıkıştırmadaki kuvvetin maksimum tepe değeri olarak tanımlanmıştır.

3.2.9 Su Bağlama Kapasitesi

Susam protein jellerinin su bağlama kapasitesi, Ingrassia vd. (2019)'nın rapor ettiği prosedür takip edilerek belirlenmiştir. Yaklaşık 10 g jel numunesi tartılarak bir test tüpüne aktarılmış ve 4°C'de 2370 *x g*'de 5 dakika süreyle santrifüj edilmiştir. Santrifüjlemeden sonra süpernatant tartılmış ve su bağlama kapasitesi yüzdesi Eşitlik 3.6 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$SBK(\%) = \left(1 - \frac{W_1}{W_2}\right) x100 \quad (3.6)$$

burada W_1, santrifüjlemeden sonra süpernatantın ağırlığı (g); W_2, başlangıç numune ağırlığı (g).

3.2.10 Moleküller Arası Kuvvet

Jel oluşumunun yönlendirilmesi ve sürdürülmesinde rol oynayan kuvvetlerin (iyonik bağlar, hidrofobik etkileşimler, hidrojen bağları ve disülfit bağlarında rol oynayan protein molekülleri arasındaki moleküller arası kuvvetler) belirlenmesi amacıyla Ju vd. (2022) tarafından örnerilen moleküler arası kuvvet analizi gerçekleştirilmiştir. Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan jel örneklerinde moleküller arası etkileşimi değerlendirmek için örnekler dört çözelti ile muamele edilmiştir. Jellerde iyonik bağların belirlenmesi için 0,6 mol/L NaCl (S1), hidrojen bağların belirlenmesi için 0,6 mol/L NaCl + 1,5 mol/L üre (S2), hidrofobik etkileşimlerin belirlenmesi için 0,6 mol/L NaCl + 8 mol/L üre (S3) ve disülfit bağının belirlenmesi için 0,6 mol/L NaCl + 8 mol/L üre +0,5 mol/L β-merkaptoetanol (S4) çözeltileri kullanılmıştır. Öncelikle jel örnekleri (1 g) 10 mL S1 ile karıştırılmış ve Ultra-Turraks kullanılarak 5000 rpm dönüş hızında 3 dakika boyunca homojenize edilmiş ve yaklaşık 60 dakika 4ºC'de bekletilmiştir. Ardından çözelti 10000 *x g*'de 4°C'de 20 dakika boyunca, santrifüj edilmiştir. Süpernatant ayrı bir tüpe aktarılmış, geri kalan çökelti üzerine 10 mL S2 ilave edilmiş, aynı koşullarda tekrar depolama, homojenizasyon ve santrifüj işlemleri uygulanmıştır. Santrifüj sonrası süpernatant ayrı bir tüpe aktarılmış ve geri kalan pelet S3 ile muamele edilmiştir. Benzer süreç uygulanmış ve santrifüj sonrası elde edilen süpernatant ayrı bir tüpe aktarılmış, pelet ise S4 ile muamele edilmiştir. Benzer prosedür uygulandıktan sonra süpernatant elde edilmiştir. Her adımdan elde edilen süpernatantın protein içeriği, sığır serum albümini (BSA) standart eğrisinden yararlanılarak Bradform yöntemi (Bradford, 1976) ile belirlenmiştir. Moleküler arası kuvvetler aşağıdaki eşitlikler kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{İ}yonik\ ba\check{g}\ (\%) = \frac{S1'deki\ protein\ içeriği}{jeldeki\ toplam\ protein\ içeriği} \times \%100 \quad (3.7)$$

$$Hidrojen\ bağ\ (\%) = \frac{S2'deki\ protein\ içeriği}{jeldeki\ toplam\ protein\ içeriği} \times \%100 \qquad (3.8)$$

$$Hidrofobik\ etkileşim\ (\%) = \frac{S3'teki\ protein\ içeriği}{jeldeki\ toplam\ protein\ içeriği} \times \%100 \qquad (3.9)$$

$$Disülfit\ bağ\ (\%) = \frac{S4'deki\ protein\ içeriği}{jeldeki\ toplam\ protein\ içeriği} \times \%100 \ (3.10)$$

3.2.11 Mikroyapı

Bölüm 3.2.3'te anlatıldığı gibi hazırlanan jel örnekleri dondurarak kurutma yöntemi ile kurutulmuş ve keskin bir bıçakla dikkatlice ince bir tabaka kesilerek yüzeyi 10 nm kalınlıkta paladyum-altın tabakası ile kaplanmıştır. Örneklerin mikroyapıları taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI, Quanta FEG 250, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Jellerin mikroyapılarının görüntülenmesinde 5kv hızlanma voltajında 10000X büyütme oranı kullanılmıştır.

3.2.12 Depolama Stabilitesi

YBH önişlemi uygulanmış susam protein çözeltisine GDL ilave edildikten ve 5 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra 10 gr örnek alınarak falkon tüplerine aktarılmıştır. Jelleşme ve jelin olgunlaşması için oda koşullarında 4 saat bekletildikten sonra örnekler buzdolabına konularak buzdolabı koşullarında 15 gün boyunca depolanmıştır. Depolamanın 1., 3., 5., 7., 9., 11., 13 ve 15. günlerinde jellerden ayrılan ve tüplerin üst kısmında biriken sıvı faz şırınga ile çekilerek tartılmıştır. Jellerin başlangıç ağırlıkları dikkate alınarak faz ayrımı % olarak hesaplanmıştır.

3.2.13 İstatistiksel Analiz

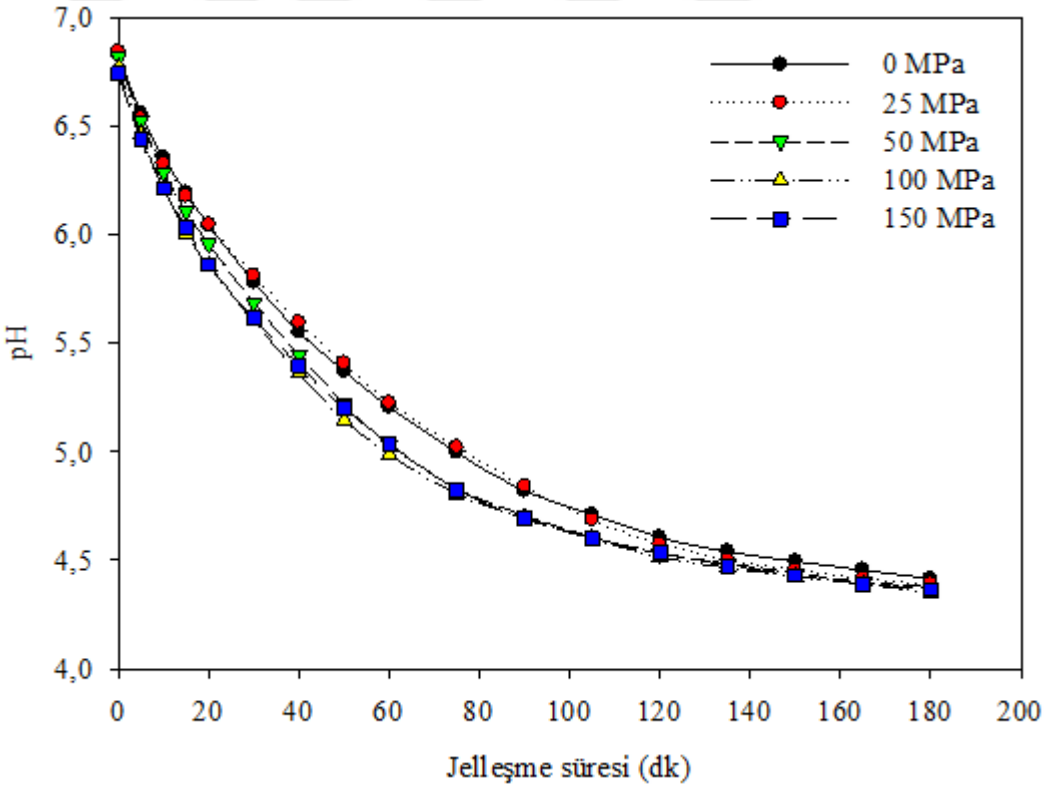
Araştırmada, çalışma 3 tekerrürlü ve analizler paralelli olarak gerçekleştirilmiş olup sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Elde edilen analiz verilerinin istatistiksel değerlendirmesi SPSS Statistics 21.0 programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reolojik ölçüm sonuçları ise, reometrenin yazılım paket programı (Anton-Paar, Rheo Compass v1.21, Avusturya)

kullanılarak değerlendirilmiştir. Örneklerin ölçülen özelikleri bakımından arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile belirlenmiş ve farklı bulunanlar Duncan Çoklu Karşılaştırma Testine tabi tutulmuştur (α=0,05).

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Asitlenme Kinetiği

Susam protein izolatı süspansiyonuna %2 oranında GDL ilave edildikten sonra meydana gelen pH değişimi 180 dakika süresince izlenmiş ve jellerdeki meydana gelen pH değişimi Şekil 4.1'de verilmiştir. Homojenizasyon sonrası susam protein süspansiyonların pH değeri ölçülmüş olup 6,86-6,91 arasında tespit edilmiştir. Homojenizasyon işlemi ile birlikte protein süspansiyonlarının pH değerlerinde kısmi bir azalma gözlenmiş olup bu durum uygulanan basınç ile birlikte asit ve bazların ayrışma sabitlerinin değişiminden kaynaklanmaktadır (Dhakal vd., 2014).



Şekil 4.1 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile jelleşmesi sırasında pH değişimi

GDL ilavesinden sonra GDL'nin glukonik asite hidrolizi ile birlikte jelleşmenin ilk 5 dakikasında kontrol örneğinde pH değeri 6,55'e inerken susam protein süspansiyonuna uygulanan basıncın artmasına bağlı olarak daha düşük seviyelere (6,53-6,43) inmiş olup 25 MPa basınç uygulanan örnek ile önemli bir fark oluşmazken

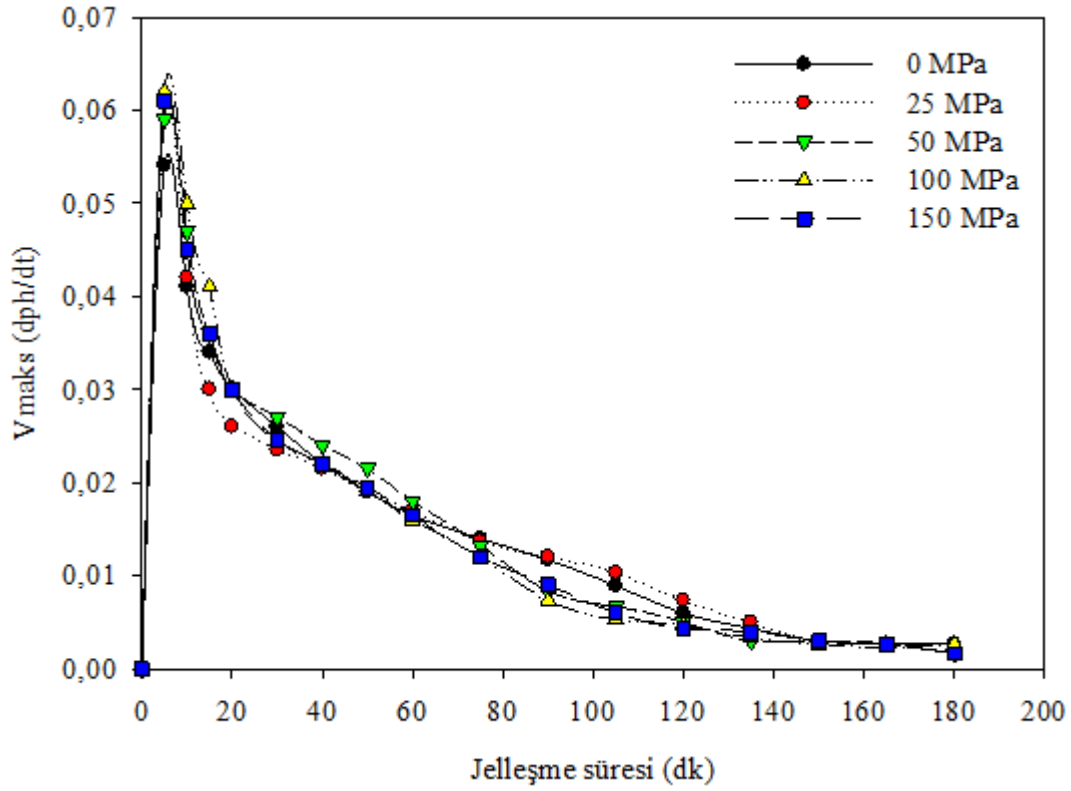
(p>0,05) diğer örneklerde meydana gelen pH değişimi önemli bulunmuştur (p<0,05). Ayrıca jelleşmenin başlangıcında süspansiyonların pH değerinde meydana gelen değişim oldukça hızlı olup jelleşme süresinin ilerlemesiyle birlikte yavaşlama meydana gelmiştir. Benzer sonuç Gül vd. (2021), Pang vd. (2019) ve Cavallieri ve da Cunha (2008) tarafından da elde edilmiş olup GDL'nin glukonik asite hidrolizi ile ilk saatlerde pH değerinde hızlı bir azalma meydana geldiği ve ardından pH'nın istikrarlı bir şekilde düştüğü rapor edilmiştir. İlk 60 dakika boyunca pH değeri kontrol örneğinde 5,2 seviyesine inerken 50 MPa ve daha yüksek basınç uygulanmış örneklerde pH değeri 4,98-5,03 aralığında tespit edilmiştir. İlk 60 dakikalık süre boyunca en fazla pH değişimi 100 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir. Jelleşmenin 180. dakikasında pH değişimi kontrol ve 25 MPa basınç uygulanan örnekler hariç diğer örneklerde kararlı duruma ulaşmış ve bu durum GDL hidrolizinin dengeye ulaştığını göstermektedir.

Örneklerin jelleşme kinetik sonuçları Tablo 4.1'de verilmiştir. Homojenizasyon işleminin uygulanması pH değerinde meydana gelen azalmayı etkilemiş olup maksimum asitlenme değeri (V_{max}) uygulanan homojenizasyon basıncına bağlı olarak 100 MPa basınca kadar artma eğilimi sergilemiş (Şekil 4.2), daha yüksek basınçta kısmi olarak azalmıştır. 100 MPa basınç uygulanan örnekte V_{max} değeri 0,062 pH birim/dk iken bu değer kontrol örneğine kıyasla (V_{max} =0,054 pH birim/dk) anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Tablo 4.1 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile asitlenme kinetik değerleri

Örnekler	V_{max}	T_{max}	T_5	$T_{4.5}$
0 MPa	0,054±0,002^{b}	5,0±0,0^{a}	75,0±0,0^{a}	150,0±0,0^{a}
25 MPa	0,061±0,003^{ab}	5,0±0,0^{a}	75,0±0,0^{a}	135,0±0,0^{b}
50 MPa	0,059±0,001^{ab}	5,0±0,0^{a}	60,0±0,0^{b}	120,0±0,0^{c}
100 MPa	0,062±0,002^{a}	5,0±0,0^{a}	60,0±0,0^{b}	120,0±0,0^{c}
150 MPa	0,061±0,001^{ab}	5,0±0,0^{a}	60,0±0,0^{b}	127,50±7,5^{bc}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p<0,05). V_{max}, Maksimum asidifikasyon hızı; T_{max}, maksimum asidifikasyon hızına ulaşma süresi; $t_{5,0}$, pH 5,0'a ulaşma süresi; $t_{4,5}$, izoelektrik noktaya ulaşma süresi



Şekil 4.2 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin GDL ile asitlenme kinetiği

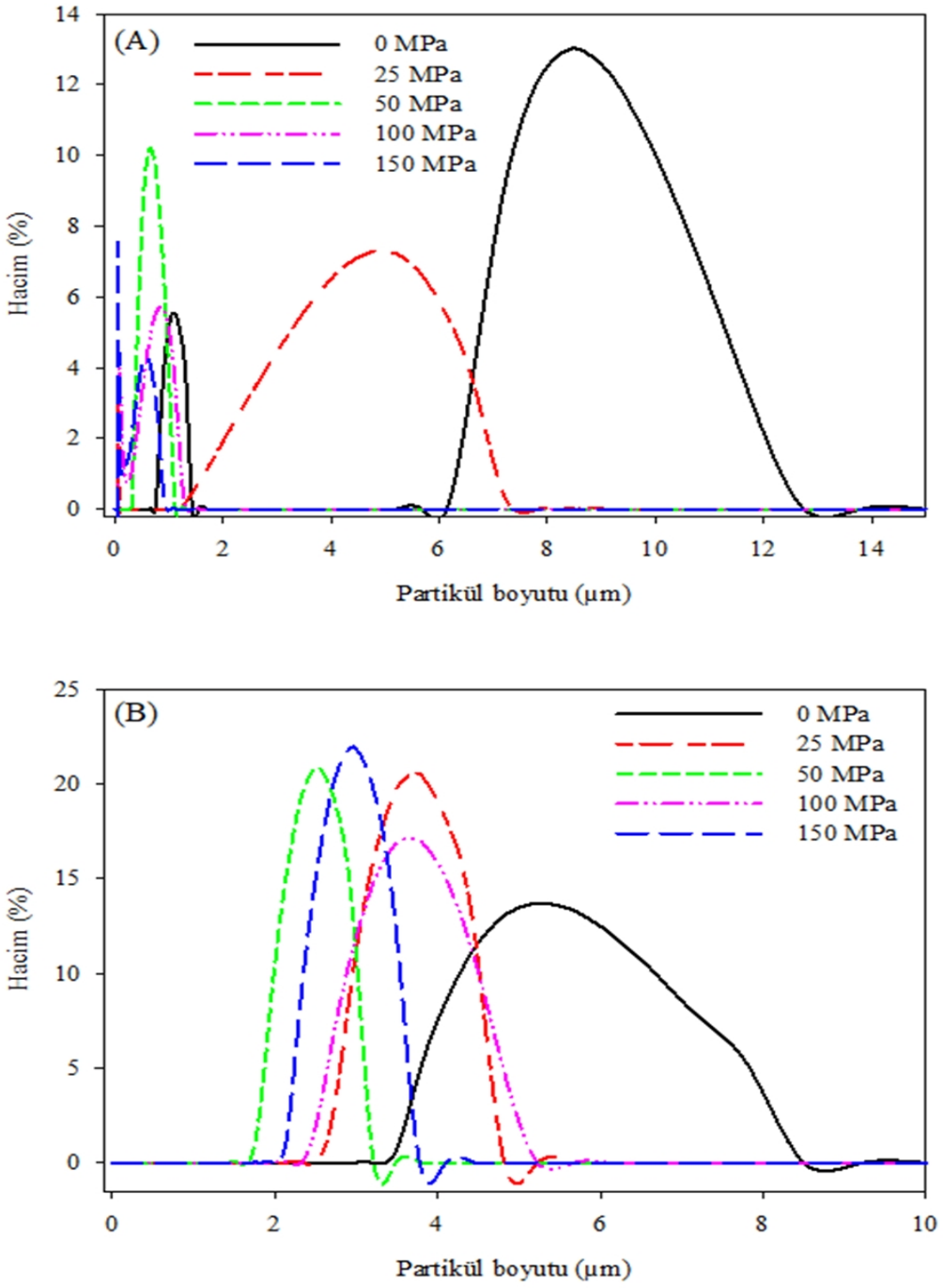
Homojenizasyon basıncıyla artmasına bağlı olarak V_{max} değerinde meydana gelen artış muhtemelen YBH sırasında asit ve bazların ayrışma sabitlerinin değişimine bağlı olarak GDL'nin daha hızlı disosiye olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte bütün örneklerde *Tmax* değeri benzer bulunmuştur. Ancak homojenizasyon basıncının artmasıyla pH 5,0'a ve 4,5'e ulaşma sürelerinin önemli düzeyde değiştiği ve buna bağlı olarak jelleşme süresinin kısaldığı tespit edilmiştir. Kontrol örneğinin pH değeri 150 dakikada yaklaşık pH 4,5 izoelektrik noktaya ulaştığı ($T_{4,5}$), bununla birlikte 100 MPa basınç uygulaması sonucu izoelektrik noktaya 120. dakikada ulaşıldığı saptanmıştır. Gül vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada fındık içeceğinin GDL ile jelleşmesi üzerine yüksek basıcın etkisinin araştırıldığı çalışmada kontrol örneğinin pH değerinin izoelektrik noktaya ulaşması için gereken sürenin 180 dk olduğu ve 100 MPa basınç uygulaması ile bu sürenin yarı yarıya azaldığı tespit edilmiştir. Buna karşılık Liu vd. (2013) soya unu süspansiyonlarına uygulanan termal ve YBH uygulamalarının GDL ile jelleşme sırasında pH değişimini önemli düzeyde etkilemediğini bildirmişlerdir.

4.2 Partikül Boyutu

YBH uygulanmış susam protein süspansiyonunun ve GDL ilavesi sonrası elde edilen jellerin partikül boyut dağılımı Şekil 4.3'te ve ortalama partikül boyutu sonuçları Şekil 4.4'te verilmiştir. Şekil 4.3'te görüldüğü üzere jelleşme öncesi protein süspansiyonunun partikül boyut dağılımı farklılık göstermiş, artan basınç ile birlikte partikül boyutunun azaldığı tespit edilmiş olup bu durum basıcın artması ile birlikte partiküllerin daha dar nozuldan geçmesi ve buna bağlı olarak meydana gelen kavitasyon, sürtünme, kesme ve türbülans etkileri gibi mekanik kuvvetin etkisinden kaynaklanmaktadır (Dumay vd., 2013; Maresca vd., 2017). Kontrol örneği çift modlu partikül boyut dağılımı sergilediği ancak YBH işlemi uygulanan örneklerin ise tek modlu dağılım oluşturduğu görülmektedir. Benzer sonuç Shkolnikov Lozober vd. (2021) tarafından da elde edilmiş olup homojenizasyon öncesi Spirulina protein konsantratının üç modlu boyut dağılımına sahip olduğu, 100 MPa ile muamele edilen örneğin ise yalnızca bir tepe noktasıyla monomodal dağılım gösterdiği ve dolayısıyla genel olarak basınç arttıkça partikül boyut dağılımının azaldığı bildirilmiştir.

Ancak basıncın 150 MPa seviyesine çıkarılması ile birlikte tekrar çift modlu dağılım oluştuğu saptanmıştır. Bu durum daha önce literatürde YBH uygulanmış sığır serum albümini (Maresca vd., 2017) ve mekanik olarak kemikleri ayrılmış tavuk eti proteinleri (Sarıcaoğlu vd., 2018a) için belirtildiği gibi uygulanan yüksek basınca bağlı olarak protein agregasyonu ve denaturasyonu ile açıklanabilir. Bununla birlikte kontrol örneği ile 25 MPa basınç uygulanan örneğin geniş partikül boyut dağılımına sahip olduğu ancak uygulanan daha yüksek basınç ile birlikte dağılım aralığının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. Benzer sonuç Shi vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da elde edilmiş olup 0'dan 100 MPa basınca kadar kademeli olarak basıncın arttırılması ile birlikte peynir altı suyu protein izolatının partikül boyut dağılımının sola kaydığı ve aralığın daraldığı rapor edilmiştir. Jelleşme sonrası partikül boyut dağılımı da uygulanan basınca bağlı olarak farklılık göstermiştir (Şekil 4.3b). Jelleşme sonrası bütün örneklerde partikül boyut dağılımının tek modlu olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte dağılım aralığı en yüksek (3,5-8,5 µm arasında) kontrol jel örneğinde tespit edilmiştir. Basınç uygulanan jel örnekleri daha dar ve daha homojen partikül boyut dağılımı sergilemişlerdir. Uygulanan YBH ile birlikte partikül

boyutunun azalması protein çözünürlüğünü artmasına neden olmakta ve sonuç olarak daha yüksek çözünürlüğe sahip proteinler daha homojen yapıda makroskobik jel oluşumuna yol açmaktadır (Nicolai ve Chassenieux, 2019).



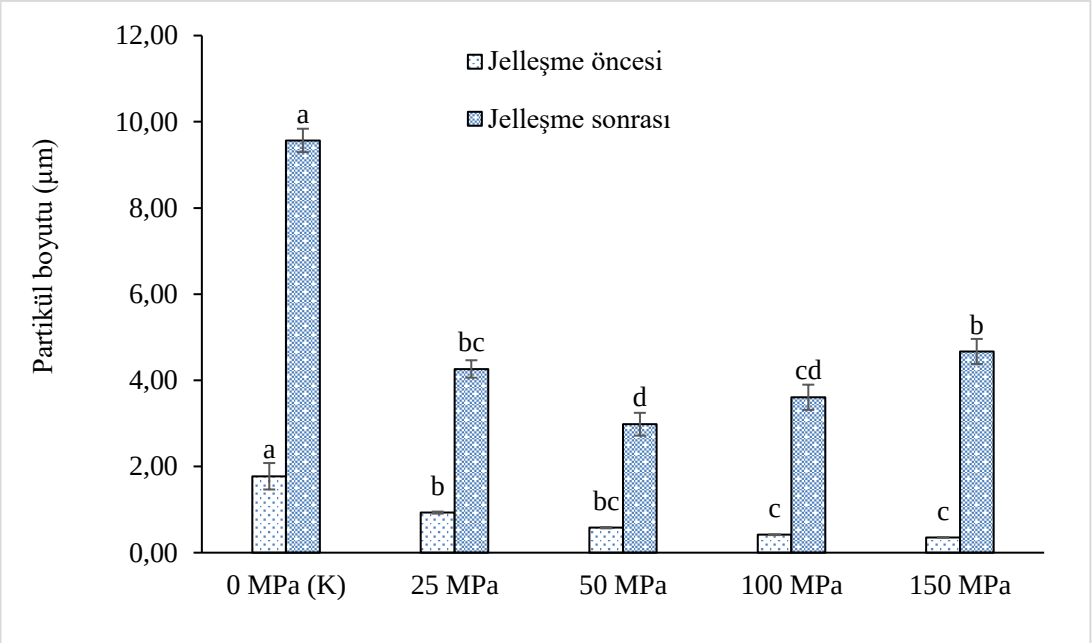
Şekil 4.3 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin jelleşme öncesi (a) ve jelleşme sonrası (b) partikül boyut dağılımı

Şekil 4.4'te görüldüğü üzere susam protein çözeltilerinin partikül boyutu 0,35-1,77 µm arasında tespit edilmiş olup uygulanan homojenizasyon basıncının artmasına bağlı

olarak susam protein partiküllerinin boyutu önemli düzeyde azalmıştır ($p<0,05$). Bununla birlikte 100 MPa seviyesinden daha yüksek basınç uygulaması partikül boyutunda artmaya neden olurken bu artış istatistiksel olarak farklılık oluşturmamıştır ($p>0,05$). Kontrol örneği (0 MPa) için ölçülen partikül boyutu 1,77 µm iken 150 MPa basınçta homojenizasyon uygulaması sonucu partikül boyutu 0,35 µm seviyesine kadar azalmıştır ($p<0,05$). Bu, örneğe homojenizasyon sırasında uygulanan enerjideki artışın partikül boyutunu etkilediğini göstermektedir (Sun vd., 2022b). Shi vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada, peyniraltı suyu proteini izolatı için benzer sonuçlar elde edilmiş olup 120 MPa seviyesine kadar basınç uygulaması partiküllerin boyutunda önemli ölçüde azalmaya neden olduğu ve bunun nedeninin protein izolat molekülünün YBH işlemi sırasında yüksek hızlı kesme kuvvetlerine ve kavitasyona maruz kalması ile ilişkili olduğu ve sonuç olarak uygulanan YBH işlemi ile birlikte daha düşük partikül boyutuna sahip yapıların oluştuğu ve buna bağlı olarak partikül boyut dağılım homojenliğinin iyileştirildiği ifade edilmiştir (Chen vd., 2016). Elde ettiğimiz bu sonuçlar, YBH ile muamele edilmiş soya proteini izolatları (Song vd., 2013) ve tavuk göğsü miyofibriler proteinleri (Chen vd., 2016) sonuçları ile uyumlu olup çalışmalarda homojenizasyon basıncı ne kadar yüksek olursa ortalama partikül boyutunun o kadar küçük olacağı sonucuna varılmıştır.

GDL ilavesinden sonra beklendiği üzere proteinlerde meydana gelen agregasyonla birlikte partikül boyutunda kayda değer bir artış gözlenmiştir ($p<0,05$). GDL ilavesi ile protein çözeltisinin pH'sı proteinlerin izoelektrik noktasına doğru düşmekte ve buna bağlı olarak protein molekülleri arasındaki itme kuvveti minimum seviyeye inmekte ve protein agregasyonu oluşmaktadır. Jelin yapısı belirli bir yarıçapa sahip küresel partiküllerin Brownian hareketiyle hareket etmesi ve birbirleriyle karşılaştıklarında bir araya toplanmasıyla oluşmaktadır (Tostosaus vd., 2002).

Jelleşme öncesi uygulanan YBH işlemi elde edilen jellerin partikül boyutu üzerine önemli düzeyde etki göstermiştir ($p<0,05$). Kontrol jel örneğinin partikül boyutu 9,57 µm olarak ölçülmüştür. Uygulanan yüksek basınçla birlikte jel örneklerinin partikül boyutu değişkenlik göstermiş 50 MPa basınca kadar partikül boyutunda azalma daha yüksek basınç değerlerinde ise artma eğilimi gözlenmiştir.



Şekil 4.4 YBH işlemi uygulanmış susam proteininin jelleşme öncesi ve jelleşme sonrası partikül boyutu

4.3 Renk Özellikleri

Susam proteini izolat jelinin renk değerleri (*L**, *a**, *b**, *WI* ve *ΔE*) Tablo 4.2'de verilmiştir. Kontrol örneğinin *L**, *a** ve *b** değerleri sırasıyla 63,05; 4,00 ve 13,69 olarak belirlenmiştir. Jelleşme öncesi YBH uygulaması jellerin renk değerlerinde değişime neden olmuştur. Artan homojenizasyon basıncına bağlı olarak *L** değerinde artma, *a** ve *b** değerinde ise azalma eğilimi gözlenmiştir ($p<0,05$). Bununla birlikte en yüksek *L** değeri 100 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiş olup basıcın 150 MPa seviyesine çıkarılması ile birlikte istatistiksel açıdan önemli olmayan azalma gözlenmiştir. Örneklerin *a** ve *b** değerlerinde meydana gelen azalma 100 MPa basınca kadar anlamlı bulunurken ($p<0,05$) daha yüksek basınç uygulaması istatistiksel olarak farklılık oluşturmamıştır ($p>0,05$). Uygulanan basınca bağlı olarak L* değerindeki benzer değişim WI değerinde de saptanmış olup basıncın artması ile birlikte daha yüksek WI değeri elde edilmiştir. Basınca bağlı olarak WI değerinin artmasına yönelik benzer sonuç Bernat vd. (2015) tarafından da elde edilmiş olup bu artış ışık yansımasına katkıda bulunan partiküllerin sayısı ve boyutunun YBH işlemi ile birlikte değişmesinden kaynaklanmaktadır (Bernat vd., 2015). Homojenizasyon işleminden sonra çözeltide bulunan partiküller küçülür ve bunun sonucunda ışığı daha etkili şekilde dağıtabilen partiküllerin sayısı artar (Amador-Espejo vd., 2014). YBH

işleminde yüksek hızlı kesme kuvvetlerinin etkisiyle daha küçük partikül boyutunun oluşması ve örneğin homojenliğini artırması sonucu SPI jelinin beyazlığını artmıştır. Örneklerin renk özellikleri hem kullanılan ham maddenin rengine hem de ışığı saçan partiküller gibi davranan çözünmeyen parçacıkların varlığına bağlıdır (Alves vd., 2021).

Tablo 4.2 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin renk özellikleri

Örnekler	***L****	***a****	***b****	***WI***	***ΔE***
0 MPa (K)	63,05±0,55^{c}	+4,00±0,06^{a}	+13,69±0,36^{a}	60,38±0,52^{c}	-
25 MPa	68,38±0,69^{b}	+3,09±0,03^{b}	+11,92±0,03^{b}	66,06±0,64^{b}	5,72±0,56^{a}
50 MPa	70,77±0,96^{a}	+2,73±0,03^{c}	+11,26±0,27^{bc}	68,53±0,79^{a}	8,45±0,93^{a}
100 MPa	70,52±0,74^{ab}	+2,55±0,04^{d}	+10,64±0,10^{cd}	68,54±0,66^{a}	8,21±0,64^{a}
150 MPa	69,97±0,71^{ab}	+2,53±0,04^{d}	+10,51±0,22^{d}	68,07±0,59^{a}	8,00±0,93^{a}

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). *WI*, Beyazlık indeksi; *ΔE*, Toplam renk farklılığı

Örneklerin toplam renk farklılığı (*ΔE*) değeri kontrol örneği baz alınarak hesaplanmıştır. Buna göre örneklerde hesaplanan *ΔE* değeri 5,72 ile 8,45 arasında değişmektedir. En düşük ΔE değeri 25 MPa basınç uygulana örnekte tespit edilirken en yüksek değer ise 50 MPa basınç uygulanan jel örneğinde saptanmıştır. Ancak örneklerin ΔE değerinde sayısal olarak fark bulunmasına karşılık istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir. Francis (1983)' e göre toplam renk farklılığının insan gözüyle algılanabileceği en düşük *ΔE* değeri 3'tür. Buna göre uygulanan homojenizasyon işlemi ile birlikte meydana gelen renk farklılığı kolayca insan gözüyle algılanabilecek ve tespit edilebilecek düzeydedir.

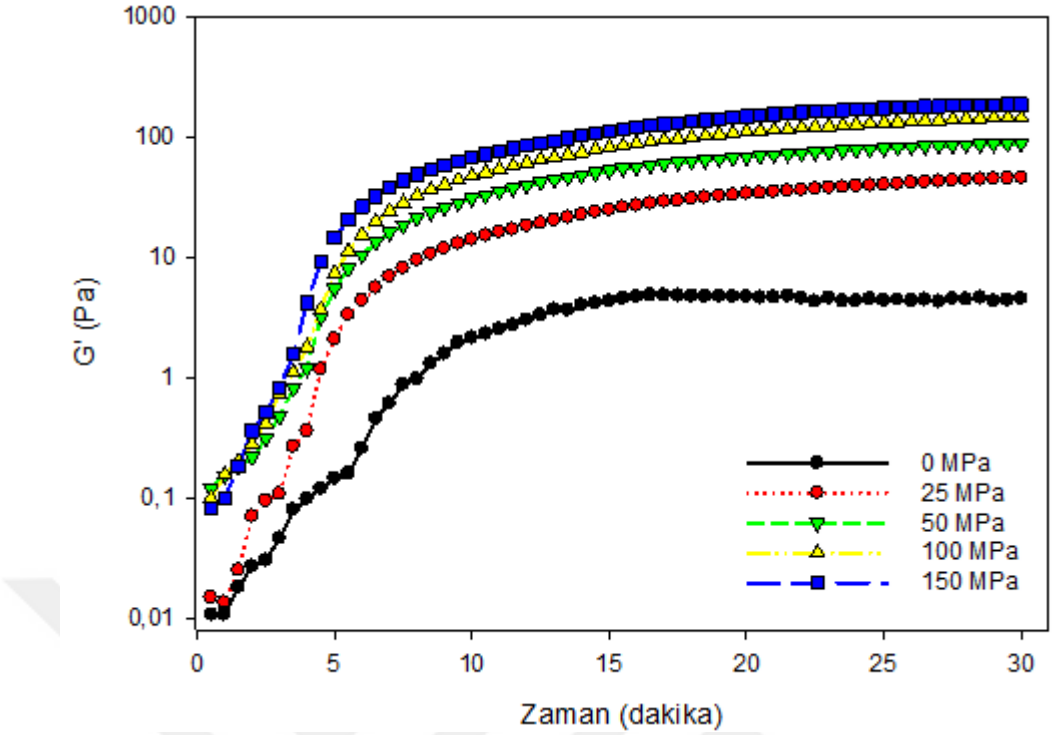
4.4 Reolojik Özellikler

4.4.1 Jelleşme Kinetiği

Susam proteinine uygulanan homojenizasyonun asitle jelleşme kinetiği üzerine etkilerini belirlemek amacıyla dinamik salınım testi uygulanmış ve jelleşme sırasında G' değerindeki değişim Şekil 4.5'te sunulmuştur. GDL ilavesinden sonra jelleşme süresine bağlı olarak G' değeri artma eğilimi göstermiş olup jelleşmenin ilk

zamanlarında (kontrol örneği için ilk 10 dk, diğer örnekler için ilk 5dk) artış hızı oldukça yüksektir. Daha sonra pH artış hızında yavaşlama meydana gelmiş olup yaklaşık pH ~4.6'da platoya ulaşmıştır. Benzer sonuç bitkisel protein çalışmalarında da (Bi vd., 2014; Bi vd., 2020; Gül vd., 2021; Huang vd., 2022; Kharlamova vd., 2018; Zhu vd., 2018) elde edilmiş olup başlangıçta GDL'nin ayrışma hızının yüksek olmasından G' değerinin başlangıçta hızlı bir şekilde yükseldiği ve daha sonra 15 dakika civarında stabil bir duruma ulaştığı bildirilmiştir. Gözlemlenen jelleşme kinetiği, biyopolimer jelleşmesinden kaynaklanan tipik özelliklerdendir ve G' değeri ne kadar yüksek olursa, moleküller arası ağ o kadar güçlü ve proteinler arasındaki etkileşim de o kadar yüksek olur (Ben-Harb vd., 2018).

Susam proteinine farklı basınçlarda homojenizasyon uygulaması asitle jelleşme kinetiğinin değişmesine neden olmuştur. Kontrol örneği ile karşılaştırıldığında yüksek basınç uygulanmış proteinlerin stabil duruma gelmesi için gereken süre daha düşük bulunmuştur. Diğer taraftan kontrol ve 25 MPa basınç uygulanan örneğin başlangıçta G' değerleri yüksek basınç uygulananlara kıyasla daha düşüktür. Benzer şekilde jelleşme sonunda da 50 MPa ve daha yüksek basınç uygulanan susam protein jellerinin G' değerleri daha yüksektir. Bununla birlikte jelleşme sonunda en yüksek G' değeri 150 MPa basınç uygulanan örnekte belirlenmiştir. Benzer sonuç Gül vd. (2021) tarafından elde edilmiş olup YBH uygulanmış fındık jellerinin son G' değerlerinin kontrol örneğine kıyasla arttığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada en yüksek G' değerinin 50 MPa uygulanan örnekte tespit edildiği, ancak daha yüksek basınç uygulamasına bağlı olarak G' değerlerinde azalma meydana geldiği rapor edilmiştir. Bi vd. (2020) soya fasulyesi proteininin jelleşme prosesinde emülsiyona etki eden homojen basıncın artmasıyla G' değerinin arttığı rapor edilmiş olup homojenizasyon basıncının artırılmasının, soya proteini izolat emülsiyon jelinin nihai jel mukavemetini büyük ölçüde artırabildiğini belirtmişlerdir. Homojenizasyon basıncının artması, protein denatürasyonunun artmasına ve protein yapısının uzamasına neden olmakta, bu da protein jel oluşumunun aktif bölgesini artıran hidrofobik aktif grupların açığa çıkmasına yol açmaktadır (Relkin, 1998).



Şekil 4.5 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin zaman bağlı jelleşme kinetiği

Elde edilen bu sonuçlar dahilinde uygulanan homojenizasyon basıncı ne kadar yüksekse, susam proteini jelinin elastik özelliklerinin de o kadar güçlü olduğu ve YBH uygulaması ile birlikte meydana gelen jelin daha katı bir sistem haline geldiği söylenebilir (Bi vd., 2018). Bunun nedeni muhtemelen YBH işleminin stereoskopik ağ yapılarındaki disülfit bağlarının kovalent çapraz bağlanmasını yok edebilmesi ve protein gruplarının genişlemesini hızlandırabilmesidir. Bu, daha iyi protein ağı etkileşimine yol açabilir, ağın hacmini azaltabilir ve temas yüzeylerini iyileştirebilir (Ben-Harb vd., 2018; Bi vd., 2020). YBH uygulaması susam proteinin partikül boyutunun azalmasına ve çözünürlüğün artmasına neden olmakta (Baskıncı ve Gül, 2023) ve dolayısıyla çözünebilir agregatların yüzey yüklerinin nötralize olmasına yol açmaktadır. Sonuç olarak, bu nötrleştirilmiş agregatların van der Waals çekimi ve hidrofobik etkileşimleri baskın hale gelmekte ve koagulasyonu tetiklemektedir (Huang ve Kuo, 2015; Maltais vd., 2008). Bu da daha homojen ve daha güçlü jel ağlarının oluşumuna katkı sağlamaktadır.

Tablo 4.3 farklı homojenizasyon basıncı ile muamele edilen susam proteini ile hazırlanan jellerin jel oluşturma eğrisinin regresyon parametreleri verilmiştir. Tablo 4.3'te görüldüğü üzere artan basınçla birlikte susam protein izolatının jel oluşum süresi

önemli düzeyde değişmiştir. Kontrol örneği için jel oluşum süresi 359,72 s olup uygulanan basıncın artmasıyla birlikte jelleşme süresinde azalma meydana gelmiştir. En kısa jelleşme süresi 150 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiş olup kontrol örneğinin jelleşme süresinin yaklaşık yarısı kadardır. Dolayısıyla YBH uygulaması susam protein jelinin asitle jelleşme süresinin önemli düzeyde azalmasını sağlamıştır. YBH ile muamele edilmiş örnekte GDL'nin hidrolizi daha hızlı olmakta ve pH'nın daha hızlı düşmesine yol açmaktadır. Bu durum jelleşme sırasında pH'daki değişimle uyumludur. Benzer şekilde uygulanan basıncın artmasıyla birlikte jelleşme noktası da azalma göstermiş olup en düşük değer 0,064 Pa ile 150 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir.

Tablo 4.3 YBH'nin susam proteini izolatının jelleşme noktası üzerindeki etkileri

Örnekler	**G'=k*ln(t)+C**			**Jelleşme noktası**	
	k	**C**	**R^2**	**t_g (s)**	**G_g (Pa; G'=G'')**
0 MPa	4,68±0,808^{e}	-8,4749±1,06^{a}	0,9827	359,72±3,75^{a}	0,145±0,012^{a}
25 MPa	24,97±0,61^{d}	-41,255±2,03^{b}	0,9803	223,26±5,49^{b}	0,306±0,041^{b}
50 MPa	48,13±1,53^{c}	-76,483±1,54^{c}	0,989	231,35±4,66^{b}	0,353±0,026^{b}
100 MPa	79,68±1,12^{b}	-129,83±0,99^{d}	0,9843	209,51±4,21^{c}	0,083±0,036^{c}
150 MPa	101,25±1,36^{a}	-158,17±3,41^{e}	0,9871	188,09±6,49^{d}	0,064±0,061^{c}

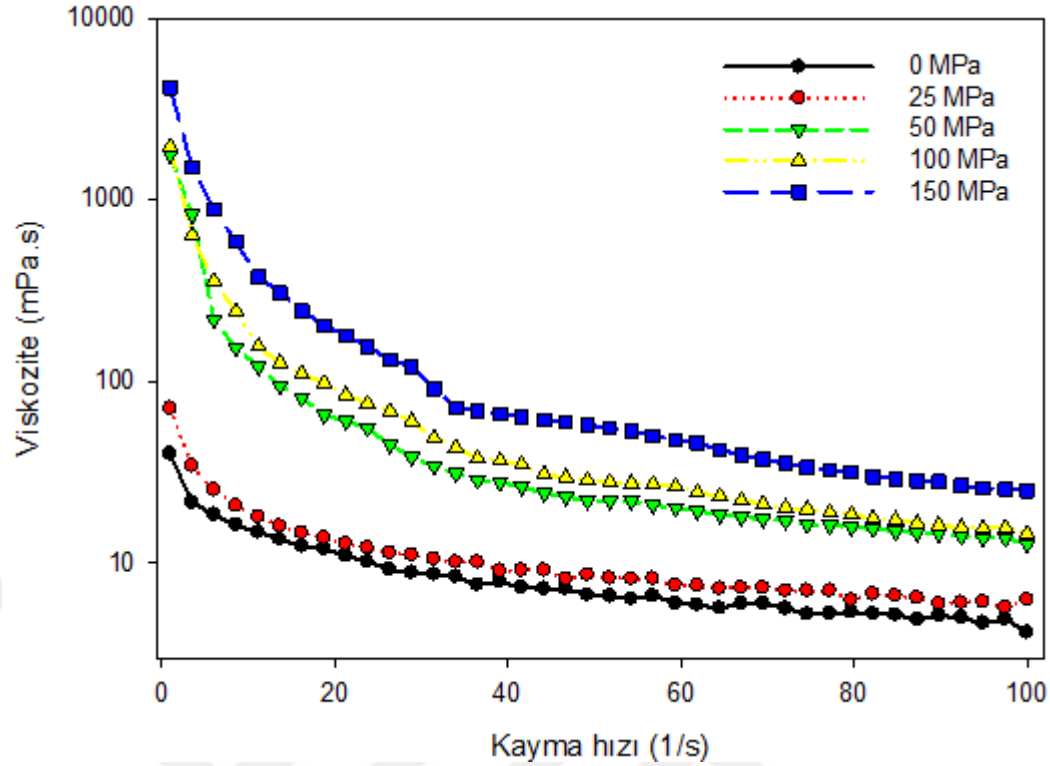
Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

4.4.2 Akış Özellikleri

Susam protein jellerin akış özellikleri Şekil 4.6'da verilmiştir. Bütün jel örneklerinin viskoziteleri kayma hızının artmasına bağlı olarak azalma göstermiş olup yarı katı gıdalar için tipik olan kayma incelmesi (pseudoplastik) davranışı sergilemişlerdir. Bu sonuçlar aynı zamanda Liang vd. (2019) tarafından peyniraltı suyu proteini emülsiyon jelleri ve Zhu vd. (2018) tarafından asit kaynaklı yer fıstığı proteini izolat jelleri için elde edilen verilerle de uyumlu bulunmuştur. Kayma incelmesi davranışı, kayma hızının artırılmasıyla toplanmış partiküllerin veya jel ağının bozulmasına atfedilebilmekte, bu da görünür viskozitenin azalmasına neden olmaktadır (McClements, 2005).

Kontrol jel örneği ile karşılaştırıldığında, homojenizasyon işlemi uygulanmış örneklerin görünür viskozitesi, özellikle 1-100 s^{-1} kayma hızlarında önemli ölçüde daha yüksek bulunmuştur. En düşük başlangıç viskozitesi (39,929 mPa.s) kontrol örneğinde tespit edilirken en yüksek değer (4144,8 mPa.s) ise 150 MPa basınç uygulanan örnekte saptanmıştır. Gül vd., (2021) ve Xie vd., (2021) tarafından da benzer sonuç elde edilmiş olup uygulanan basınçla birlikte jel viskozitelerinde artma meydana gelmiştir. Homojenizasyon basıncının artmasıyla birlikte protein partiküllerinin boyutunda azalma ve buna bağlı olarak da spesifik yüzey alanında artma meydana gelmektedir (Xie vd., 2021). Spesifik yüzey alanının (partiküller arasındaki temas alanının) artması, protein molekülleri arasındaki çapraz bağlanmayı teşvik etmiş, bu da proteinler arasında çapraz bağlantıların olduğu protein jelinin görünür viskozitenin artmasına neden olmuştur (Chang, 2015). Benzer şekilde Alvarez-Sabatel vd. (2015), yüksek basınç uygulamasına bağlı olarak partikül spesifik alanının artabileceğini ve inülinin su bağlama yeteneğini daha fazla geliştirebileceğini, böylece jel ağı gelişimini iyileştirebileceğini belirtmiştir.

Kontrol ve 25 MPa basınç uygulanan örnekler 10 s^{-1} kayma hızına kadar görünen viskozite değerlerinde hızlı bir şekilde azalma eğilimi göstermiş ve daha yüksek kayma hızlarında stabil hale gelmiştir. 50 MPa ve daha yüksek basınç değerlerinde ise viskozitedeki hızlı azalma 40 s^{-1}'lik bir kayma hızına kadar gerçekleşmiş ve daha sonra hafifçe azalarak sabitlenmiştir. Bu durum da jelde konformasyonel değişikliklere neden olduğunu göstermektedir (Gül vd., 2021; Porto vd., 2015). Şekil 4.6'da gözlemleyebileceğimiz gibi, düşük kayma hızlarında görünen viskozitede, yüksek kayma hızlarındaki görünen viskoziteye göre daha büyük bir değişiklik meydana gelmiştir. Bunun nedeni, jel yapısının daha yüksek kayma hızlarında kolayca parçalanması olup (Alvarez-Sabatel vd., 2015; Gül vd., 2017; Gül vd., 2021), azalan partikül boyutuyla ilişkilendirilebilmektedir (Bernat vd., 2015; Gül vd., 2018).



Şekil 4.6 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin kayma hızına bağlı viskozite değişimi

Görünür viskozite ve kayma hızı arasındaki ilişkiyi açıklamak için Ostwald de-Waele modeli uygulanmış ve sonuçlar Tablo 4.4'te verilmiştir. Ostwald de-Waele modeli, Tablo 4.4'te görüldüğü üzere görünür viskoziteye karşı kesme hızına (R^2>0,97) iyi bir şekilde uyum sağlamıştır. Bütün jel örneklerin akış davranış indeks değerleri (n) 1'in altında olup örneklerin pseudoplastik akış özellik (kayma incelmesi) sergilediğini göstermektedir. Benzer şekilde Gül vd. (2021) tarafından asitle jelleştirilen proteince zengin fındık içecek jelinin akış davranış indeks değerlerinin 0,11 ile 0,38 arasında olduğu ve örneklerin Newton tipi olmayan kayma incelmesi davranışını gösterdiği bildirilmiştir. En yüksek n değeri kontrol jel örneğinde tespit edilmiş (0 MPa) ve YBH uygulaması ve uygulanan basıncının artmasıyla susam protein jel örneklerinin n değeri azalmıştır. Örneklerin kıvam indeksi (K) değerleri ise 0,05 ile 2,24 Pa.s^n arasında saptanmış ve uygulanan basınca bağlı olarak artma eğilimi göstermiş, en yüksek değer 150 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir.

Tablo 4.4 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin viskozite-kayma hızı grafiğine uygulanan Oswalt-de-Waele model parametreleri

Örnekler	*Ƞ (mPas)*	*K*	*n*	R^2
0 MPa	6,664±0,421^{e}	0,052±0,007^{e}	0,476±0,081^{a}	0,9983
25 MPa	8,605±0,336^{d}	0,065±0,01^{d}	0,475±0,049^{a}	0,9919
50 MPa	21,994±1,221^{c}	0,467±0,011^{c}	0,225±0,016^{b}	0,9961
100 MPa	28,531±1,746^{b}	1,162±0,037^{b}	0,052±0,037^{c}	0,9795
150 MPa	57,293±2,834^{a}	2,243±0,044^{a}	0,023±0,061^{c}	0,9778

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). *K*: Kıvam indeksi; *n*: akış davranış indeksi; R^2: Oswalt-de-Waele model denkleminin belirleme katsayısı

4.4.3 Frekans Tarama

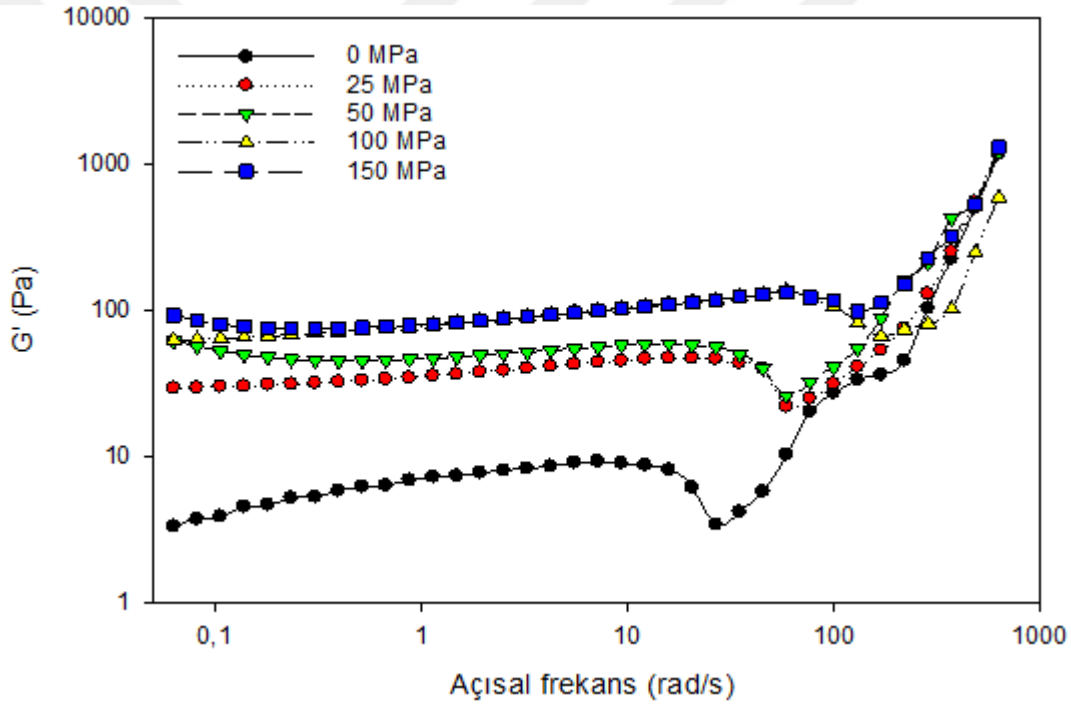
Farklı basınçlarda YBH işlemi muamele edilen susam protein örneklerinin GDL ilavesi ile elde edilen jellerinin 0,0628 rad s^{-1} ila 628 rad s^{-1} arasında değişen açısal frekansla dinamik reolojik özelliklerindeki değişim Şekil 4.7 ve 4.8'de verilmiştir. Asit kaynaklı jellerin depolama ve kayıp modül değerleri tüm örneklerde açısal frekansın artmasıyla birlikte hafif bir artış göstermiş olup bu da jellerin frekansa bağımlı olduklarını göstermektedir. Frekansın bir fonksiyonu olarak her iki modüldeki artış, terminal ile geçiş bölgeleri arasındaki mekanik spektrumun bir ara bölgesi olarak bilinen bir plato bölgesi olarak adlandırılmaktadır (Doğan vd., 2013; Gül vd., 2021). Düşük açısal frekaslarda ölçülen G′ modülü G″ mudülüden daha yüksek olup bu da daha "katı benzeri" davranışa sahip jel benzeri yapılara işaret etmektedir (Cho vd., 2012). Literatürde asit bazlı fıstık proteini izolat jelleri (Zhu vd., 2018), peyniraltı suyu proteini emülsiyon jelleri (Liang vd., 2019) ve inülin-peyniraltı suyu proteini (Glibowski, 2009) için benzer ağ benzeri yapıları (G′> G″) daha önce rapor edilmiştir. Bununla birlikte artan frekansa bağlı olarak G″ mudülünin artış hızı daha yüksek olup belli bir açısal frekans sonrasında baskın hale gelmiştir. Frekansa bağlı olarak G″ değerlerinin daha fazla değişim göstermesi, gerçek jeller (kovalent bağlarıyla çapraz bağlanmış malzemeler) ile yoğunlaştırılmış süspansiyonlar (karmaşık ağlar içeren malzemeler) arasında ürünleri sınıflandıran yüksek yapılı materyaller için tipik bir özelliktir (Augusto vd., 2013).

G″ değerinin baskın hale geldiği açısal hız değeri uygulanan basınç değerine bağlı olarak artmıştır. Kontrol örneğinde G″ değerinin baskın hale geldiği açısal hız 58,8

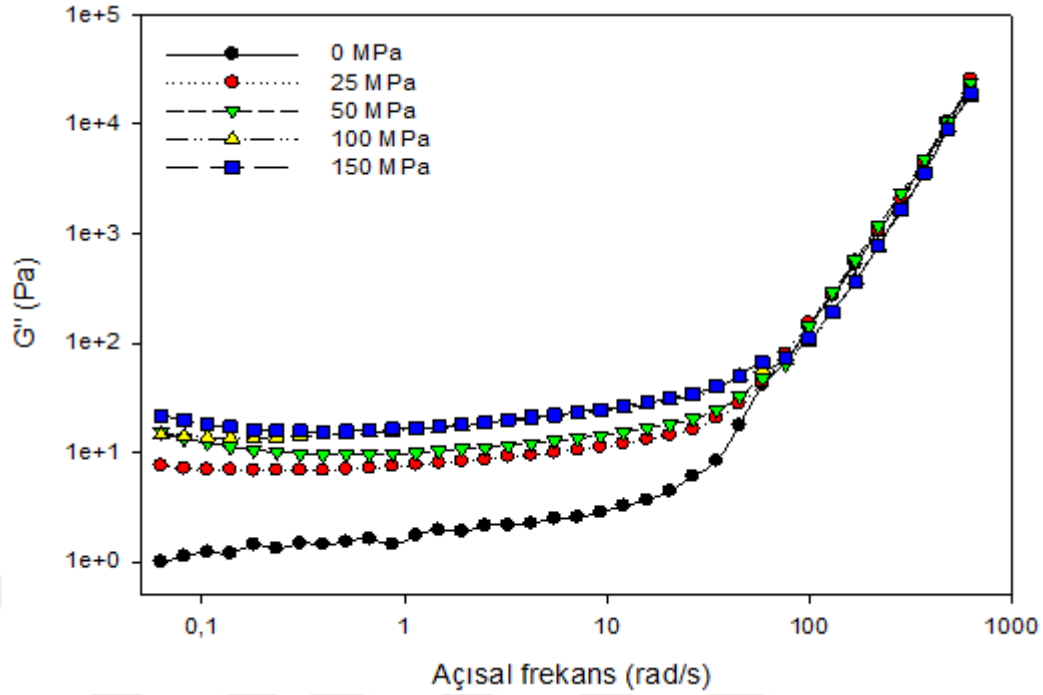
rad/s olup 25 ve 50 MPa basınç uygulanan örneklerde 58,8 rad/s, daha yüksek basınç uygulanan jel örneklerinde ise 130 rad/s'dir. Açısal frekans değeri 0 ile 100 rad/s arasında dikkate alındığında, bütün frekans değerlerinde 100 ve 150 MPa basınç uygulanmış örneklerin depolama modüllerinin kayıp modülden yüksek olduğu (G′>G″), böylece viskoelastik özelliğin hakim olduğunu ve jel sisteminin ağının esas olarak kovalent olmayan etkileşimlerden meydana geldiğini göstermektedir (Sun vd., 2022b).

Susam proteinine uygulanan basınçla birlikte susam protein jelinin G′ değeri, jel kuvvetinin artışıyla tutarlı olarak kademeli artış göstermiştir. Bu olgu, YBH işleminden sonra asitle indüklenen protein jellerinin kontrol örneğine göre daha stabil olduğunu ve daha güçlü bir jel yapısına sahip olduğunu göstermekte ve dolayısıyla Mercan vd. (2018) tarafından da belirtildiği üzere YBH işleminin susam proteininin jel özelliklerini iyileştirmede etkili teknik olduğu ortaya konmuştur. Bu sonuçlar, yüksek basınç uygulanmış fındık jelleri (Gül vd., 2021) ve yüksek kesme hızlarında ön homojenizasyon uygulanarak üretilen soya proteini izolat jel sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Bunun nedeni daha önce Baskıncı ve Gül (2023) tarafından belirtildiği üzere YBH'nin protein partikül boyutunu azaltması ve protein çözünürlüğünün artması olabilir. Sun vd. (2022a) tarafından gerçekleştirilen çalışmada soya protein jelinin G′ ve G″ değerlerinin artan homojenizasyon basıncına bağlı olarak arttığı ve en yüksek değere 120 MPa basınç uygulamasıyla ulaşıldığı ve böylece 120 MPa basınç ile muamele edilen soya proteinin oluşturduğu jel ağı, daha yüksek kimyasal çapraz bağlanma derecesine ve daha stabil bir jele sahip olduğu bildirilmiştir. Kang vd. (2022) aynı frekansta soya 11S protein jelinin G' ve G" değerlerinin artan basınçla önemli ölçüde arttığını ve G' değerinin G" değerinden daha büyük olduğunu tespit etmişlerdir. Benzer şekilde Bi vd. (2020) homojen basıncın artmasıyla soya protein emülsiyon jel sisteminin modül değerlerinin arttığını ve bunun da homojen basıncın artmasının karışık sistemdeki protein zincirinin ve yağ damlacıklarının boyutunun azalmasına bağlı olarak daha fazla hidrofobik grubun açığa çıkmasından kaynaklandığını bildirmişlerdir. Baskıncı ve Gül (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışmada susam proteinine 100 MPa kadar uygulanan basınçla birlikte partikül boyutunun önemli düzeyde azaldığı, buna karşılık yüzey hidrofobisitenin de arttığı rapor edilmiştir. Ayrıca YBH ile çözünürlüğün arttırılması, daha fazla protein molekülünün

asidifikasyona maruz kalması nedeniyle jelleşme özelliklerinin iyileştirilmesine de yardımcı olmaktadır (Sarıcaoğlu, 2020). Bi vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada soy protein izolatına uygulanan yüksek kesme kuvvetine bağlı olarak depolama modülünün işlem uygulanmamış örnekten daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Kinoa protein izolatlarıyla ilgili gerçekleştirilen çalışmada YBH uygulamasıyla elde edilen jelin daha sıkı ve homojen protein ağları sergilediği rapor edilmiştir (Luo vd., 2022). Geliştirilmiş jelleşme özellikleri, doğal proteinlerin yapısını yeniden düzenleyen, aktif grupları açığa çıkaran ve proteinler arasındaki çapraz bağlanmayı destekleyebilen YBH tarafından sağlanan yeterli enerjiye de atfedilebilir (Sun vd., 2022b).



Şekil 4.7 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin açısal frekansa bağlı depolama (G′) modülündeki değişim



Şekil 4.8 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin açısal frekansa bağlı kayıp (G") modülündeki değişim

YBH ile muamele edilmiş susam proteininin asitle jelleşmesinde jellerinin modül değişimini tanımlamak için Power law modeli kullanılmış ve model sonuçları Tablo 4.5'te verilmiştir. Tüm susam protein jellerinin açısal frekansa karşı G' ve G" eğrileri Power law modeline iyi bir şekilde uyum göstermiştir (R^2>0,97). Benzer şekilde literatürde protein jellerinin frekansa karşı modüllerdeki değişimi en iyi açıklayan modelin Power law modeli olduğu belirtilmiştir (Bi vd., 2018; Bi vd., 2020; Sun vd., 2022b). K' ve K" değerleri enerji depolama ve kayıp modülünün Power law model sabitleridir. Kontrol örneği için hesaplanan K' ve K" değerleri sırasıyla 6,677 ve 1,739 olarak hesaplanmış olup 100 MPa basınç seviyesine kadar uygulanan homojenizasyon işlemi ile birlikte bu değerlerde artma eğilimi meydana gelmiştir. YBH uygulamasına bağlı olarak K' ve K" değerlerinin artması meydana gelen jelin daha esnek ve daha yüksek viskoz özelliğe sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, basınç 100 MPa seviyesini aştığında K' ve K" değerlerinde bir azalma meydana gelmiş, bu da uygun homojenizasyon basıncının jel sisteminin viskoelastik özelliğinin artırılmasında yararlı olabileceğini göstermiş olup aşırı basınç uygulaması (>100MPa) jel yapısının stabilitesini azaltabileceğini ortaya koymuştur. Sun vd. (2022b) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, K' ve K" değerleri YBH basıncının artmasıyla önce arttığı ve sonra (>80 MPa) azaldığı rapor edilmiştir. Benzer sonuç fındık (Gül vd., 2021) ve

soya (Bi vd., 2018) jellerinde de elde edilmiş olup sırasıyla uygulanan yüksek basınçlı ve yüksek kesme kuvvetli homojenizasyonun jellerin K' ve K" değerlerinin artmasında önemli rol oynadığı belirtilmiştir. Homojenizasyon basıncının sırasıyla 50 ve 100 MPa'ya kadar artmasıyla bu değerler artmıştır. Power law modelin diğer sabitleri olan n' ve n" değerlerinde basıncın 50 MPa seviyesine kadar azalma meydana geldiği daha yüksek basınçlarda arttığı tespit edilmiş olup en yüksek değerler kontrol örneği için belirlenmiştir. Benzer sonuç daha önceki çalışmada elde edilmiş olup en yüksek n' ve n" değerleri kontrol fındık jeli örneğinde tespit edilmiş, YBH uygulamasıyla azalmışlardır. Bu bulgu, homojenleştirilmiş fındıklı içecekten üretilen asitle indüklenen jellere göre kontrol jeli için elastik modül değerlerinin frekansa bağımlılığının daha yüksek olduğunu göstermiştir. Artan basınçla birlikte n' ve n" değerlerinin azalma eğilimi göstermesi, esneklik özelliklerin frekansa bağımlılığının azaldığını göstermektedir (Bi vd., 2020; Gül vd., 2021).

Tablo 4.5 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin G′ ve G″ değerlerini tanımlayan Power law model parametreleri

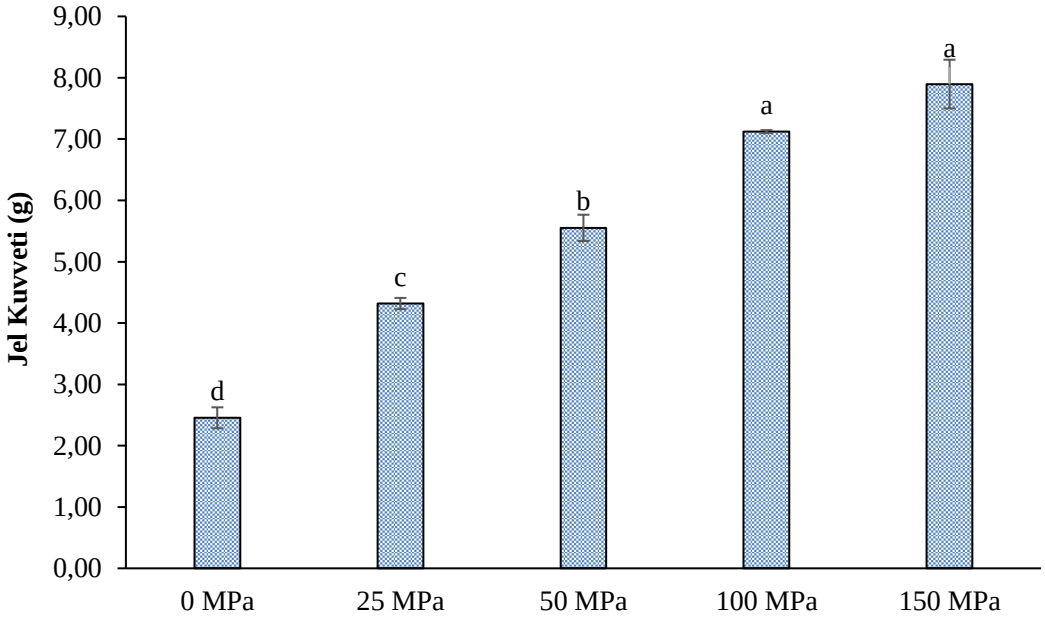
Örnekler	$G' = K' \times \omega^{n'}$			$G'' = K'' \times \omega^{n''}$		
	K'	n'	$R^{2\prime}$	K''	n''	$R^{2\prime\prime}$
0 MPa	6,678±0,791^{d}	0,208±0,09^{a}	0,991	1,739±0,17^{e}	0,182±0,013^{b}	0,975
25 MPa	36,09±1,334^{c}	0,091±0,011^{c}	0,9986	7,617±0,91^{d}	0,172±0,019^{b}	0,9822
50 MPa	46,277±2,746^{b}	0,087±0,013^{c}	0,9985	10,02±0,764^{c}	0,153±0,009^{c}	0,9989
100 MPa	80,705±2,164^{a}	0,114±0,04^{b}	0,9993	15,468±1,06^{b}	0,196±0,033^{a}	0,9942
150 MPa	75,881±3,649^{a}	0,136±0,014^{b}	0,9963	15,371±1,227^{a}	0,216±0,028^{a}	0,9926

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). *K´* ve *K´´*, Power law model sabitleri; *n´* ve *n´´*, frekans üsleri; R^2, Power law model denkleminin belirleme katsayısı

4.5 Jel Kuvveti

GDL ilavesi sonrası susam protein izolat jelinin jel kuvveti üzerine YBH'nun etkileri Şekil 4.8'de verilmiştir. Örneklerin jel kuvveti değerleri 2,46 g ile 7,9 g arasında belirlenmiş olup YBH uygulaması jel kuvvetinin önemli düzeyde artmasına neden olmuştur ($p<0,05$). En düşük jel kuvveti kontrol örneğinde saptanmış olup en yüksek değer ise 150 MPa basınç uygulanan çözeltiden elde edilen jelde tespit edilmiştir. Jel kuvvetinin uygulanan basınç ile birlikte artması muhtemelen azalan partikül boyutu ile ilişkilidir. Partikül boyutunda azalma partiküllerin spesifik yüzey alanının

artmasına neden olmakta bu da proteinler ile su molekülleri arasındaki çapraz bağlanmayı ve daha düzgün bir ağ yapısının oluşmasını sağlamaktadır. Su moleküllerinin protein içinde hapsolması/tutulması jel kuvvetinin artmasına neden olmuştur (Luo vd., 2012). Gül vd. (2021) tarafından gerçekleştirilen çalışmada protein içeriği yüksek fındık içeceğine YBH uygulamasının GDL ilavesi ile elde edilen jellerin jel kuvvetinin önemli düzeyde değiştiği ve en düşük jel kuvvetinin YBH uygulanmamış örnekte en yüksek değerin ise 50 MPa basınç uygulanan örnekte tespit edilmiştir. Bir diğer çalışmada sitrik asitle asitlendirilen peyniraltı suyu protein izolatının 100 MPa basınç uygulamayla birlikte kontrol örneğe kıyasla jel kuvvetinin %43,66 oranında arttığı rapor edilmiştir (Shi vd., 2021).



Şekil 4.9 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin jel kuvveti

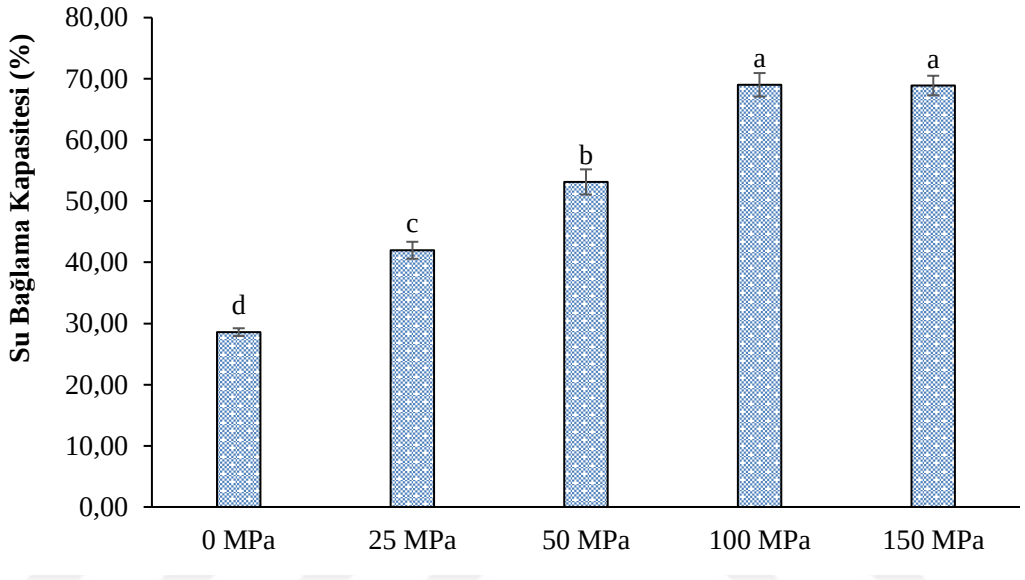
Shi vd. (2020) ısıl işlem le jelleşme öncesi YBH uyguladıkları peyniraltı suyu proteinlerinin jel kuvvetinin önemli düzeyde iyileştiğini ve en yüksek jel kuvvetinin 120 MPa basınç uygulanan örnekte ölçtüklerini bildirmişlerdir. Bu, YBH uygulaması ile üretilen, peynir altı suyu protein izolatının kovalent olmayan etkileşimini bozan ve böylece bazı reaktif grupların (bazı serbest SH grupları ve hidrofobik gruplar) açığa çıkmasına neden olan daha yüksek kesme kuvveti ile açıklanabilir (Yang vd., 2018). Açığa çıkan reaktif gruplar jel kuvveti ve sertliği etkileyen daha fazla moleküler arası interaksiyona neden olmaktadır. Enerji yoğunluğundaki artış da protein jelinin

sertliğini güçlendirebilir (Shi vd., 2020). Liu vd. (2013) tarafından tofu üretmek için yüksek basınçlı homojenizasyon (100 ve 150 MPa) ile modifiye edilen soya ununun kullanıldığı çalışmada, tofunun dokusunun işlem görmemiş olandan daha iyi olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde Kang vd. (2022) soya 11S globulin proteinin YBH işlemi sonucunda protein çözünürlüğünde, serbest sülfidril içeriğinde ve yüzey hidrofobikliğinde artma meydana geldiğini ve böylece artan protein çözünürlüğü ve kovalent olmayan bağlanmanın jel oluşumunu kolaylaştırdığı ve bunun da jel dokusunun iyileşmesine neden olduğu rapor edilmiştir. Aynı çalışmada 150 MPa basınç uygulanan örneğin en yüksek jel kuvvetini sağladığı bulunmuştur. Wang vd. (2019) YBH ön işleminin buğday glüteni jeli üzerindeki etkisini araştırdıkları çalışmada YBH'nin protein jel kuvvetini artırdığını bildirmişlerdir. Yazarlar, jel kuvvetinin iyileşmesini yüksek basınçlı homojenizasyon uygulamasının proteinin kısmen açılmasına ve hidrofobik amino asitlerin açığa çıkmasına ve hidrofobik etkileşimleri artmasına bağlamışlardır (Wang vd., 2019).

4.6 Su Bağlama Kapasitesi

Su bağlama kapasitesi, jelin suyu yüksek merkezkaç kuvvetinde tutma yeteneğini göstermektedir (Kuhn vd., 2010). Artan sayıda küçük gözeneklere sahip bir jel ağı, çoğunlukla suyu tutmak için kılcal kuvvetlerle bağlanan daha yüksek su bağlama kapasitesi sergilemektedir (Vardhanabhuti vd., 2001). Ayrıca su bağlama kapasitesi, jel matrislerinin su moleküllerini hareketsiz hale getirme yeteneğini göstermekte, jel sistemindeki uzaysal protein düzenlemesini yansıtmakta ve protein ürünlerinin verimi ve kalitesinin değerlendirilmesinde önemli parametredir (Zhu vd., 2016; Zhuang vd., 2016). Farklı basınçlarda YBH işlemi uygulanmış susam proteinine GDL ilavesi ile elde edilmiş jellerin su bağlama kapasiteleri Şekil 4.9'da verilmiştir. En düşük su bağlama kapasitesi (%28,58) kontrol örneğinde (0 MPa) bulunurken, diğer jel örneklerinde (25 ila 100 MPa) artan homojenizasyon basıncıyla önemli ölçüde daha yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Maksimum su bağlama kapasitesi 100 MPa basınç uygulanan jel örneğinde %69,02 olarak tespit edilmiş olup bu durum homojenizasyon basıncı arttıkça jel numunelerinin su bağlama kapasitesinin önemli ölçüde arttığını göstermektedir ($p<0,05$). Bunun nedeni YBH'nin proteinin partikül boyutunu küçültmesi ile partiküllerin serbest yüzey alanının artması ve kavitasyonun protein

yapısını gevşetmesi, dolayısıyla protein moleküllerinin iç bölgesindeki aktif grupların yüzeye doğru açığa çıkmasını kolaylaştırması olabilir. Bu etki, daha büyük miktarda suyu bağlayabilen ve susam protein jelinin su bağlama kapasitesini artırabilen, daha küçük gözeneklere sahip, daha yoğun ve daha düzgün bir jel ağının oluşumunu desteklemektedir (Fan vd., 2021).



Şekil 4.10 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin jelinin su bağlama kapasitesi

Liu vd. (2016) daha küçük partiküllerin suyun protein matrisleri içerisinde nüfuz etmesini ve emilmesini daha da kolaylaştırabildiğini ve buna bağlı olarak da su bağlama kapasitesinin iyileştiğini bildirmiştir. Bi vd. (2020) soya protein izolatına uyguladıkları farklı homojenizasyon basıncının emülsiyon jelinin su bağlama kapasitesini önemli ölçüde artırdığını ve basıncın 20 MPa seviyesine yükseltilmesiyle %90'ın üzerine çıktığını bildirmişlerdir. Daha yüksek basınçlarda da su bağlama kapasitesinde iyileşme olduğunu ancak istatistiksel olarak önemli bulunmadığı belirtilmiştir. Shi vd. (2020) 120 MPa basınç uyguladıkları peyniraltı suyu protein jelinin su bağlama kapasitesinin %6,44 oranında iyileştiğini tespit etmişlerdir. Bir diğer çalışmada homojenizasyon basıncının artmasına bağlı olarak morina balığı proteinlerinin su bağlama kapasitesinin önemli düzeyde iyileştiği ve bu durumun azalan partikül boyutu ve artan partikül yüzey alanı ile ilişkilendirmişlerdir (Xie vd., 2021). Basıncın 100 MPa'dan 150 MPa seviyesine çıkarılmasıyla susam protein jellerinin su bağlama kapasitesinde kısmen de olsa azalma meydana gelmiştir. Çok

yüksek basınçlarda homojenizasyon uygulanması proteinlerin aşırı denaturasyonuna neden olarak jel ağını suyu tutamayacak kadar zayıf olmasına neden olabilir (Wang vd., 2021; Zhang vd., 2009). Bi vd. (2020) her ne kadar YBH'nun protein jellerinin su bağlama kapasitesinin iyileştirilmesinde önemli bir uygulama olduğunu bildirse de çok yüksek basınçlarda uygulanan homojenizasyonun emülsiyonun su bağlama kapasitesini artırma yeteneğinin sınırlı olduğunu, basınç daha da arttıkça su bağlama kapasitesinin azalacağı da belirtmişlerdir. Bunun nedeni, uygulanan çok yüksek basıncın proteinin uzaysal yapısını tahrip etmesi, bunun sonucunda hidrofilikliğin azalması, gözeneklilik ve gözenek boyutunun artması olabilir (Bi vd., 2020; Valim vd., 2009). Shi vd. (2021) YBH ön işlemi uygulanmış peyniraltı suyu protein jellerinin su bağlama kapasitesinde önemli ölçüde değişiklik olmadığını ve bunun nedeninin de muhtemelen YBH tarafından üretilen kuvvet kaynaklı kavitasyon, daha yüksek kayma ve türbülans fenomeninin, peyniraltı suyu proteininin kovalent olmayan etkileşimini tahrip etmesi (Yang vd., 2018) ve bu da bazı reaktif grupların açığa çıkmasına neden olabileceğinden kaynaklanabileceğini ve böylece jel ağının daha fazla su emmesinin önleneceğini belirtmişlerdir.

4.7 Jellerde Moleküller Arası Kuvvetler

Protein jellerinin oluşumu sırasında, proteinin yapısı değişmekte ve 3 boyutlu bir ağ yapısına, yani düzenli bir agregasyona yol açan yeni moleküller arası kuvvetler ortaya çıkabilmektedir. Protein moleküllerinin bu etkileşim kuvvetleri, jelin denge durumuna ulaşmasına yol açmaktadır (Jiang ve Xiong, 2013; Niu vd., 2018). Jelin oluşumunda farklı kimyasal kuvvetlerin katkısı her durumda söz konusu olabilir veya olmayabilir (Totosaus vd., 2002), bu nedenle bu moleküller arası kuvvetlerin katkısını ölçmek önemlidir. Farklı türde kimyasal kuvvet bozucu maddeler kullanılarak bu farklı moleküller arası kuvvetler belirlenebilir ve jel oluşumunda her birinin katkısı tahmin edilebilir. Bu çalışmada jeller üzerindeki bozucu kuvvetlerini belirlemek için S1, S2, S3 ve S4 çözeltileri kullanılmış olup uygulanan çözeltiler ile sırasıyla iyonik bağların, hidrojen bağlarının, hidrofobik etkileşimlerin ve disülfit bağlarının kırılması ve çözünürlüklerinin ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Tablo 4.6'da görüldüğü üzere bütün jel örneklerinde hakim olan bağ hidrofobik etkileşimlerden kaynaklı bağlar olup bunu disülfit ve hidrojen bağları takip ederken iyonik bağların katkısı en düşük

olmuştur. Bu sonuçlar hidrofobik etkileşimin SPI-jel oluşumuna katkısının göz ardı edilemeyeceğini göstermektedir. Benzer şekilde Ju vd. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada soya proteini alt birimlerinin GDL ile jelleşmesinde bütün örnekler için dört moleküller arası kuvvet arasında hidrofobik etkileşimler ve disülfit bağlarının baskın yüzdeye katkı sağladığı, ancak iyonik ve hidrojen bağlarının katkısının ise oldukça düşük olduğunu bildirmişlerdir.

İyonik ve hidrojen bağları, esas olarak protein moleküllerindeki polar gruplar arasında bulunmaktadır (Zhao vd., 2016). Bu alt birim/polipeptit jeller için GDL'nin hidrolizinden H^+ iyonunu salınmasıyla protein moleküllerinin polar grupları arasındaki elektrostatik itme azalmaktadır (Guo ve Ono, 2005). Böylece tüm jel örneklerinde iyonik ve hidrojen bağlarının içeriğinin düşük olmasına neden olmuştur.

Jel oluşumu öncesi susam protein izolatına uygulanan homojenizasyon işlemi jelleşme sırasında meydana gelen iyonik bağ hariç diğer moleküller arası bağlar önemli düzeyde etkilenmiş, artan basınçla birlikte hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve disülfit bağ içerikleri önemli ölçüde artmıştır ($p<0,05$). Benzer olarak Xie vd. (2021) homojenizasyon basıncının artırılmasıyla birlikte, hem hidrojen bağı hem de hidrofobik bağ içeriklerinin önemli ölçüde arttığını ve dolayısıyla hidrofobik etkileşimin sitrik asitle indüklenmiş peyniraltı suyu proteininin jel oluşumu üzerindeki katkısının önemli olduğunu belirtmişlerdir. YBH uygulaması, proteinlerin ikincil ve üçüncül yapılarını değiştirerek protein denatürasyonuna ve açılmasına neden olabilmektedir. Böylece protein agregatlarının yeniden düzenlenmesine ve jel ağının oluşumunu etkilemesine ve hidrofobik etkileşimlerini desteklemesine yol açabilmektedir (Sun vd., 2022; Wang vd., 2020; Yang vd., 2018). Homojenizasyon uygulaması sırasında protein yapıları yüksek kesme kuvveti nedeniyle bozulabilmektedir. Yüksek homojenizasyon basıncı, daha küçük partikül oluşumuna yol açarak, yüksek partikül yoğunluklarını, daha yoğun Brownian hareketini ve partiküller arasındaki etkileşimi artırdığını göstermekte, bu da homojenizatörde yüksek hızlı akış sırasında örneklerdeki proteinler arasında daha fazla kovalent olmayan çapraz bağlanmaya neden olmaktadır. Kovalent olmayan çapraz bağlanma muhtemelen hidrojen bağlarının ve hidrofobik etkileşimlerin oluşması yoluyla gerçekleşmektedir. İkincil yapılardaki (α-sarmal) değişiklikler de proteinlerin yeniden

düzenlenmesine yol açabilmekte ve sonuçta protein-jel oluşumunda rol oynayan protein çapraz bağlanmasına katkıda bulunarak jelde homojen ve yoğun bir yapıya neden olmakta ve su bağlama kapasitesinin de iyileşmesinde rol oynamaktadır (Xie vd., 2021; Yi vd., 2020).

Homojenizasyon basıncının 100 MPa seviyesinden 150 MPa seviyesine çıkarılmasıyla birlikte jelde meydana gelen hidrojen bağları ile hidrofobik etkileşimlerin içeriklerinde azalma gözlenmiş, ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu azalma muhtemelen yüksek basınçla birlikte proteinlerde meydana gelen denaturasyon ve agregat oluşumu ile açıklanabilir. Yüksek basınç uygulamasıyla su bağlama kapasitesinde meydana gelen kısmi azalma hidrojen bağlarında meydana gelen azalma ile ilişkili olabilir. Çünkü Ju vd. (2022), hidrojen bağlarının katkısı düşük olmasına rağmen, soya proteini alt fraksiyonlarının oluşturmuş olduğu jel örneklerindeki su dağılım özelliklerinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Bu durum Cheng vd. (2021) tarafından da doğrulanmıştır.

Tablo 4.6 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin moleküllerarası kuvvetleri

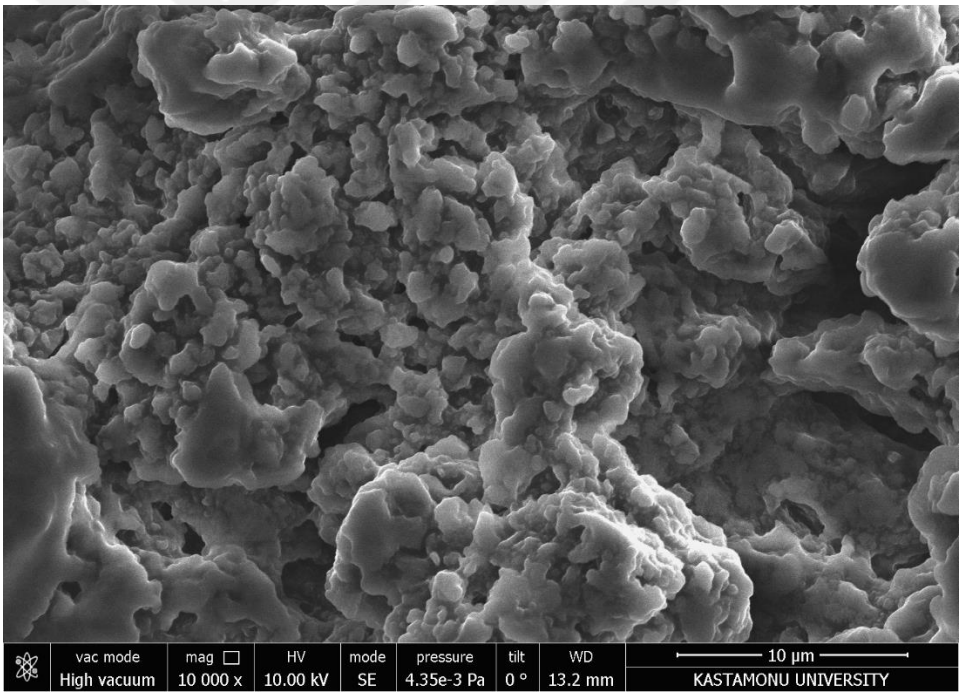
Örnekler	S_1	S_2	S_3	S_4
0 MPa	$0,19\pm0,05^{a}$	$0,48\pm0,11^{c}$	$5,91\pm0,25^{c}$	$1,82\pm0,14^{c}$
25 MPa	$0,14\pm0,04^{a}$	$0,67\pm0,06^{c}$	$6,86\pm0,14^{bc}$	$1,80\pm0,13^{c}$
50 MPa	$0,20\pm0,02^{a}$	$1,46\pm0,01^{b}$	$6,70\pm0,03^{bc}$	$2,54\pm0,06^{b}$
100 MPa	$0,17\pm0,05^{a}$	$2,11\pm0,02^{a}$	$8,28\pm0,44^{a}$	$3,06\pm0,15^{a}$
150 MPa	$0,20\pm0,03^{a}$	$2,03\pm0,02^{a}$	$7,67\pm0,26^{ab}$	$3,20\pm0,09^{a}$

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Aynı sütundaki farklı harfler örnekler arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p<0,05$). S_1, İyonik bağ; S_2, Hidrojen bağı; S_3, Hidrofobik etkileşim; S_4, Disülfit bağı

4.8 Mikroyapı

Kontrol jel örneği ve YBH uygulanmış susam proteininin GDL ile jelleşmesi sonucu elde edilen jellerin mikroyapı görüntüleri sırasıyla Şekil 4.11 ve 4.12'de verilmiştir. Kontrol jel örneği genel olarak düzensiz ve homojen olmayan pürüzlü bir yapı sergilemiştir. Bununla birlikte jel sistemini oluşturan agregatların boyutlarının oldukça farklı olduğu ve jel yapının gevşek ve düzensiz bağlantılara sahip olduğu gözlenmektedir. Agregatlar arasında farklı boyutlara sahip boşluklar bulunmaktadır

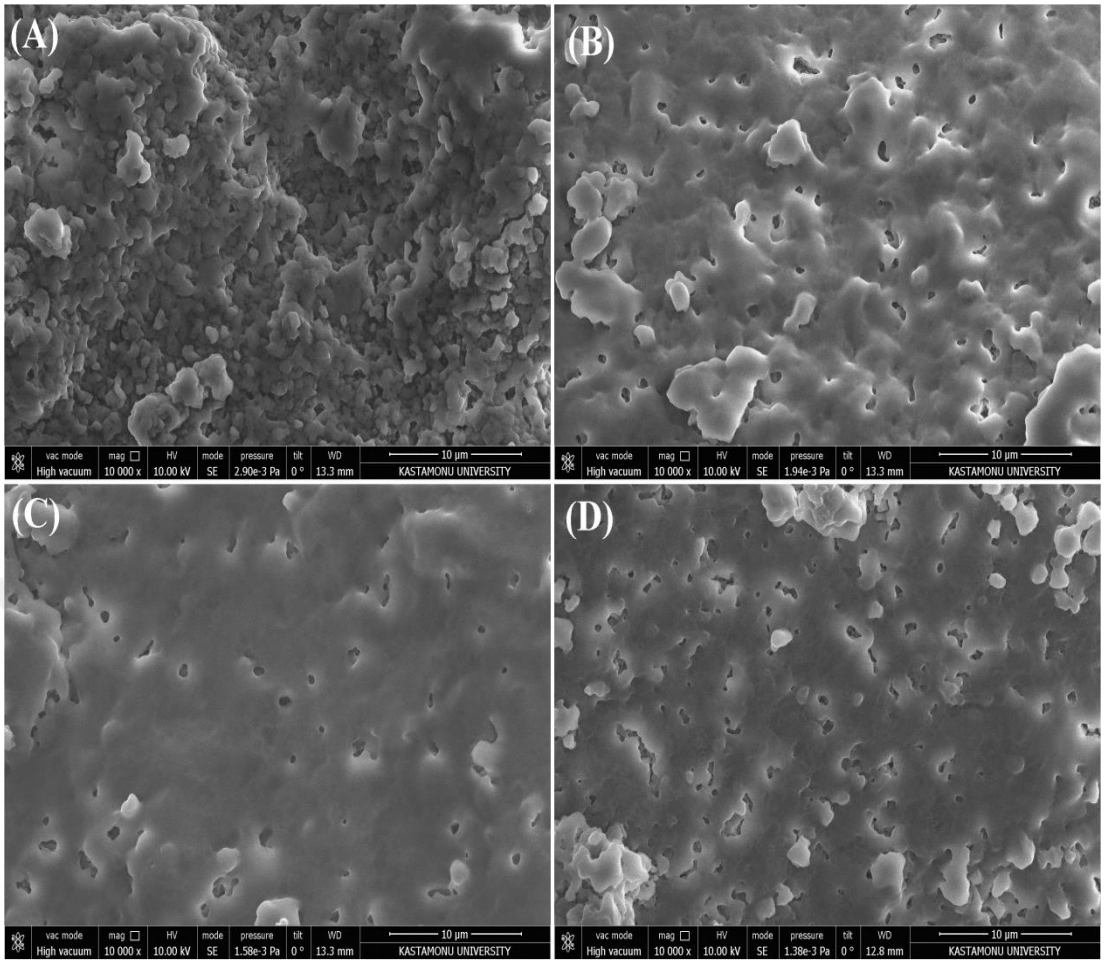
(Şekil 4.10). Benzer görüntü Xie vd. (2021) tarafından homojenizasyon uygulanmamış morina protein jelinde gözlenmiş olup jelin mikrofibrillerinin gevşek ve düzensiz bağlantılara sahip pürüzlü bir yapı gösterdiği bildirilmiştir. Bununla birlikte Pang vd. (2019) soya içeceğinin asitle jelleşmesi ile elde edilen soya jelinin pH ilerledikçe partiküllü veya partiküllü/iplikçik karışık yapıya sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Huang vd. (2015) ise ısıl işlem uygulanmış soya sütü ile hazırladıkları tofunun yüzeyinin genel olarak eşit büyüklükte topaklı agregatlar ve gözeneklerden oluştuğunu ve yüzeyin bal peteği benzeri bir yapı sergilediğini bildirilmişlerdir. Jel örneklerinin SEM gözleminden önce dondurulması ve ardından dondurularak kurutulduğu dikkate alındığında dondurarak kurutma prosedürünün protein yapısında neden olduğu buz hasarının gözenek boyutunda hafif bir artışa yol açabileceği de unutulmamalıdır (Huang vd., 2015).



Şekil 4.11 Susam protein jel (0 MPa, kontrol) SEM görüntüsü (10000X)

Jelleşme öncesi susam proteinine YBH uygulaması elde edilen susam protein jellerinin yüzey karakteristiğinin değişimine neden olmuştur. 25 MPa basınç uygulaması yüzeydeki agregat boyutunun küçülmesine ve sayısının artmasına, daha homojen bir görünüm elde edilmesine yol açmıştır. Kontrol örneğine kıyasla daha sıkı yapı oluşturduğu ancak görünümün homojen olmadığı tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol örneğine benzer şekilde yüzeyde boşluklar bulunmakla birlikte gözeneklerin daha dar

aralığa sahip oldukları gözlenmektedir (Şekil 4.12a). Uygulanan basıncın 50 MPa'ya çıkarılması jelin yüzeyinin tamamen değişmesine neden olmuş, daha pürüzsüz ve sıkı bir jel yapısı meydana gelmiştir. Yüzeydeki gözenek sayısında önemli düzeyde azalma meydana gelmiş ve yüzey pürüzlülüğü azalmıştır (Şekil 4.12b). Daha yüksek basınç uygulaması (100 MPa) ise yüzeyin tamamen pürüzsüz hale gelmesine, meydana gelen gözenek sayısının azalmasına ve oldukça sıkı bir yapının meydana gelmesine neden olmuştur. Diğer örneklerle karşılaştırıldığında yüzeyde gözlenen agregat sayısı yol denecek kadar azdır (Şekil 4.12c). Bununla birlikte basıncın 150 MPa seviyene çıkarılmasıyla protein jel yüzeyinin bozulduğu, gözenek sayısının arttığı ve sıkı yapının azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca yüzeyde belirli büyüklükte agregatların oluştuğu ve pürüzsüz yapının bozulduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.12d). Xie vd. (2021) orta derecede homojenizasyon (20 MPa) uygulaması sonrası jel örneklerinde ağ yapılarının görünür hale geldiği, daha yoğun homojenizasyon işlemi ile birlikte ağ yapıda daha düzgün iç duvarların oluştuğunu ve sonuç olarak homojenizasyon uygulamasının sadece morina protein partiküllerinin boyutunu azaltmakla kalmayıp protein jelinde tekdüze ağ yapısının oluşumuna da önemli katkıda bulunduğu rapor edilmiştir. Genel olarak homojenizasyon sırasında daha yüksek basınç daha pürüzsüz, sürekli ve daha tek düze jel ağ matrisine yol açtığı ve buna bağlı olarak daha yüksek viskozite ve modül değerlerine ve gelişmiş su bağlama kapasitesine katkıda bulunduğu vurgulanmıştır.

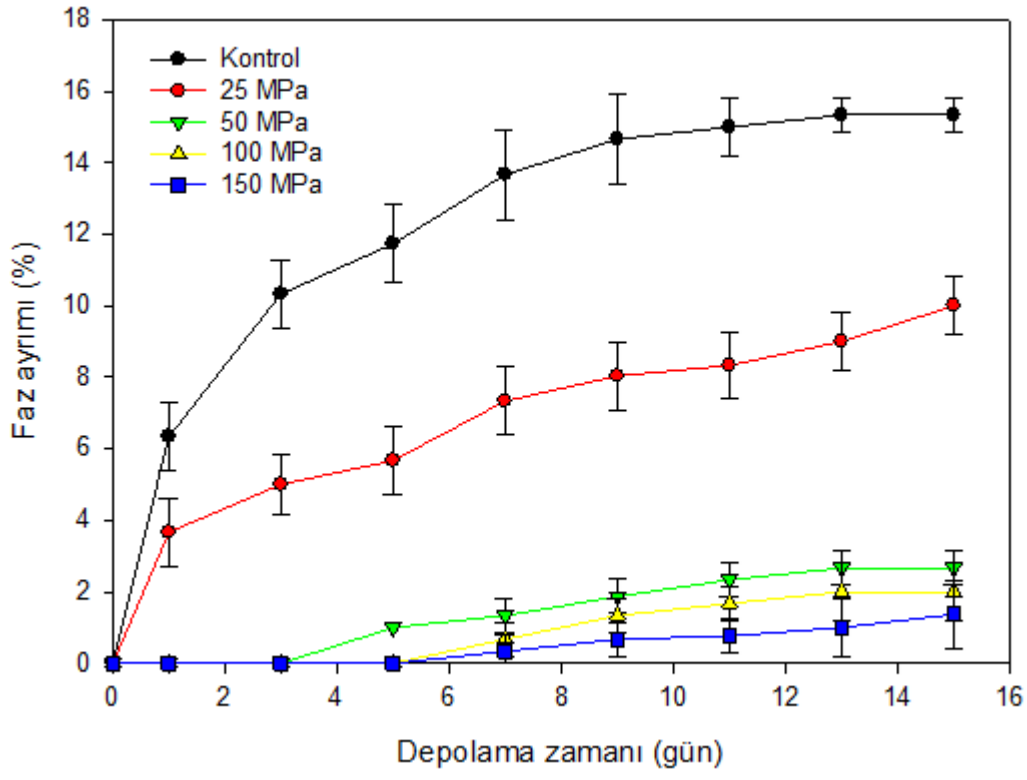


Şekil 4.12 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jelinin SEM görüntüleri (10000X)

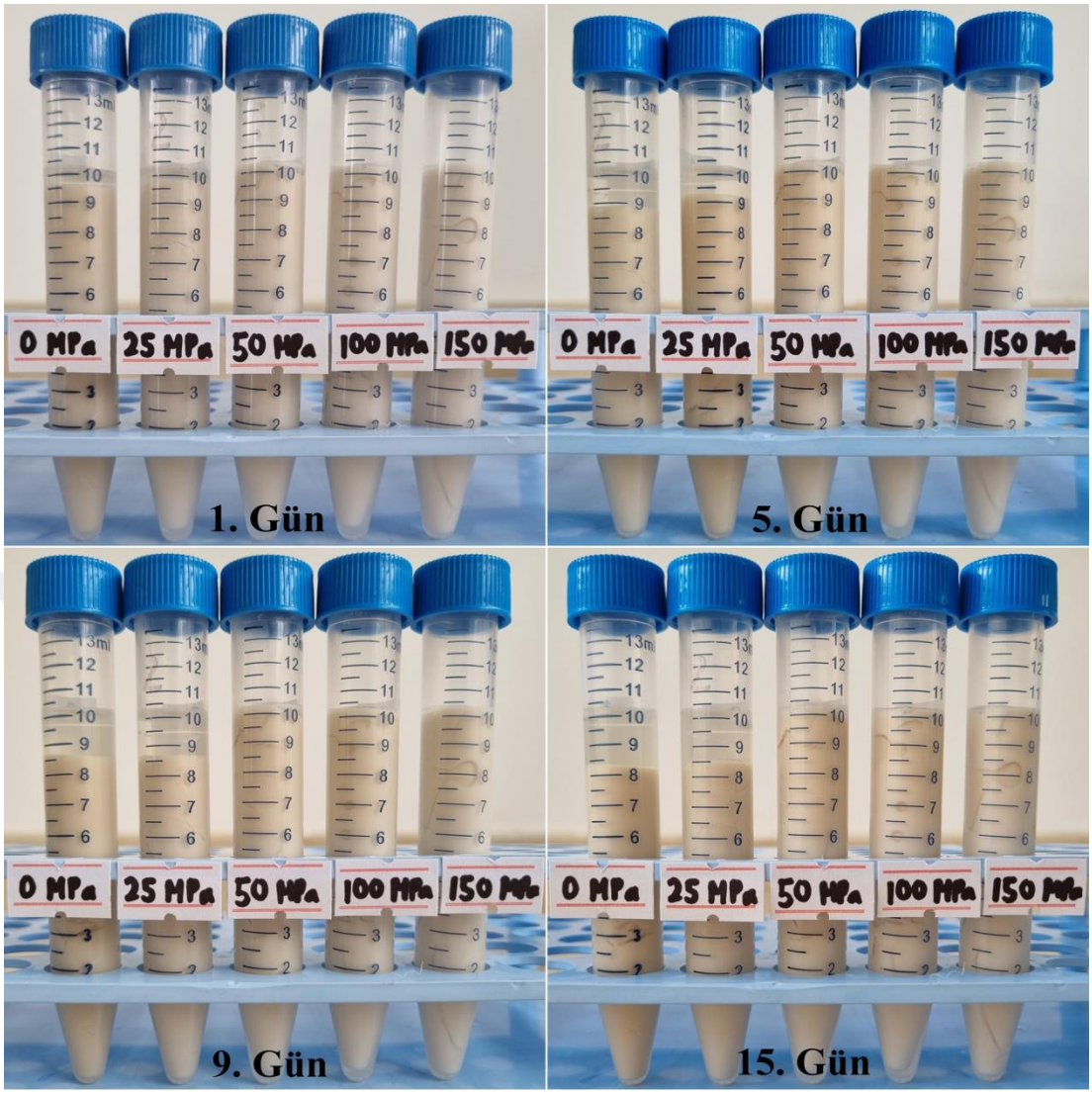
Artan homojenizasyon basıncı fraktal boyutunun küçükten büyüğe doğru yönelmesine yol açmaktadır. Fraktal boyut ne kadar yüksek olursa örneğin yapısı da o kadar birbirine yakın olmakta ve bu da düzensiz jelin ağ yapısının daha karmaşık ve sıkı olmasına yol açmaktadır (Bi vd., 2020). Uygulanan homojenizasyon basıncının soya proteini izolat emülsiyon jelinin ağ yapısını önemli ölçüde etkilediğini ve bunun da protein emülsiyonunda daha fazla hidrofobik grubun açığa çıkmasına katkıda bulunan ve sonunda sistemi daha stabil hale getirmek için yağ fazını saran yüksek homojenizasyon basıncından kaynaklandığı rapor edilmiştir (Bi vd., 2020). Ayrıca YBH işleminin jelleşmeyi desteklediğini ve sonuçta daha kararlı ağ yapısının oluştuğu sonucuna varılmıştır.

4.9 Depolama Stabilitesi

YBH ön işlemi uygulanmış susam protein jellerinin 15 gün boyunca depolamasına bağlı olarak meydana gelen faz ayrımı ölçülmüş olup sonuçlar Şekil 4.13'de ve ilgili görseller de Şekil 4.14'te verilmiştir. Kontrol jel örneği ile 250 MPa basınç uygulanan örnekte depolamanın ilk gününden itibaren faz ayrımı gerçekleşmiş, 50 MPa örnekte 5. gün ve daha yüksek basınç uygulanan örneklerde ise 7. gün faz ayrımı ölçülebilmiştir. Kontrol örneğinde faz ayrımı depolamanın ilk 7 günü hızlı bir şekilde gerçekleşmiş daha sonra ise ayrılma hızı yavaşlayarak denge noktasına (%15,33) ulaşmıştır. Benzer eğilim 25 MPa basınç uygulanan örnekte de gözlenmiş olup depolama sonunda %10,02 oranında faz ayrımı gerçekleşmiştir. Daha yüksek basınç uygulanan örneklerde ise faz ayrımı yavaş bir şekilde gerçekleşmiş ve depolama sonunda uygulanan basınca bağlı olarak %1,37 ile %2,67 arasında ölçülmüştür. Genel olarak örneklerin su bağlama sonuçları ile uyumlu bir şekilde basıncın artmasına bağlı faz ayrımında iyileşme gözlenmiştir. Bu durum meydana gelen jelin daha sıkı olmasıyla ilişkili olup jel kuvveti ve reolojik analizlerle de bağdaşmaktadır.



Şekil 4.13 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jellerinde depolama boyunca faz ayrımı



Şekil 4.14 YBH işlemi uygulanmış ve GDL kullanılarak üretilen susam protein jellerinin depolama görselleri

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Beslenme, görünüm ve tadın yanı sıra tekstür tüketicilerin gıda kalitesini belirlediği en önemli özelliklerden biri olarak kabul edilmektedir. Jelleşme, gıdalarda yarı katı ve yumuşak-katı dokular oluşturmak için kullanılan ana mekanizmalardan biridir. Son zamanlarda, yeni nesil mühendislik gıda kavramlarının yükselişiyle birlikte, gıda jeli sisteminin doku özelliklerinin anlaşılmasına büyük önem verilmiştir. Gıda ürünlerinde başarılı bir uygulama için, jelleşmenin istenilen işlem koşulları altında, diğer bileşiklerin varlığında meydana gelmesi ve istenen dokuya sahip bir yapı oluşturması gerekmektedir. Bununla birlikte hayvansal kaynaklı proteinlere alternatif olarak değerlendirilen bitkisel kaynaklı proteinlerin jelleşme özeliklerinin iyileştirilmesi üzerinde durulmaktadır. Bu amaçla bu çalışmada soğuk pres susam kekinden ekstrakte edilen susam protein izolatının asitle jelleşmesinin geliştirilmesi ve jel özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla susam protein izolatına jelleşme öncesi ön işlem olarak farklı basınçlarda YBH uygulaması gerçekleştirilmiştir.

Susam protein izolatına YBH uygulaması GDL ile asitlenme kinetiğini ve dolayısıyla jelleşme kinetiğini olumlu etkilemiştir. Homojenizasyon işleminden pH azalma hızı etkilenmiş ve homojenizasyon basıncının artmasıyla V_{maks} değeri artmış ve jelleşme süresi kısalmıştır. Jelleşme öncesi YBH uygulaması proteinlerin partikül boyutunun azalmasına ve buna bağlı olarak GDL ilavesinden sonra meydana gelen protein jelinde de partikül boyutunda dikkate değer bir artan varyasyon ile azalma meydana gelmiştir.

Artan homojenizasyon basıncı numunelerin L^* değerinde önemli bir artışa, a^* ve b^* değerlerinde ise azalmaya neden olmuştur. Buna bağlı olarak basıncın artmasıyla birlikte jel örneklerinin beyazlık indeks değerinde artma meydana gelmiştir. Ayrıca meydana gelen toplam renk farklılığı gözle algılabilir düzeyde bulunmuştur.

Homojenizasyon sırasında protein yapıları yüksek kayma nedeniyle bozulmuş olup basıncın artması susam proteini izolat jelinin viskoelastik özelliklerini büyük ölçüde etkilemiştir. Artan basınçla birlikte G' değerindeki artış, susam protein jelinin elastikiyetinde bir iyileşme olduğunu göstermekte ve bu aynı zamanda jel kuvvetiyle de örtüşmektedir. Ayrıca uygulanan YBH'da basıncın artırılması örneklerin

viskoelastik özeliklerinin frekansa bağımlılığını azaltmıştır. Diğer taraftan bütün örnekler pseudoplastik özellik sergilemiş olup basıncın artmasına bağlı olarak jellerin viskozite değerlerinde de artma meydan gelmiştir.

YBH, partikül boyutunun azalmasına neden olmasıyla yüzey alanı yüksek partiküller oluşmasına neden olduğundan jelleşme sırasında partiküller arasındaki meydana gelen etkileşimin artmasını sağlamıştır. Sonuçta, homojenizatörde yüksek hızlı akış sırasında numunelerde hidrojen bağlarının ve hidrofobik etkileşimlerin oluşması yoluyla mümkün olabilecek protein molekülleri arasındaki kovalent olmayan çapraz bağlanmaya katkıda bulunmuştur. Bu, jelde homojen ve yoğun bir yapıya yol açan ve su bağlama kapasitesini geliştiren susam protein-jel ağının oluşumunu desteklemiştir.

Bu çalışmanın bulgularından, YBH teknolojisinin, GDL ile asitlendirilmiş susam proteini izolat jelinin fizikokimyasal, fonksiyonel ve reolojik özelliklerinin iyileştirilmesinde büyük bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılabilir. YBH kullanımının, susam proteini izolatının gıda işleme endüstrisindeki uygulamasını genişleten ve bazı teknolojik kısıtlamaları azaltmaya yönelik önemli bir araç olduğu kanıtlanmıştır. Bitkisel kaynaklı proteinlerin gıda endüstrisinde kullanımını sınırlayan tekno-fonksiyonel özelliklerin geliştirilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir. Çalışmalar, bitki proteinlerinin potansiyelini en üst düzeye çıkarmak için yüksek kabul edilebilirlik ve gelişmiş işlevsellik sağlamayı amaçlamalıdır. Bununla birlikte çalışmaların özellikle gıda sistemlerinde gerçekleştirilmesi ayrı önem taşımaktadır.

KAYNAKLAR

Abugoch, L. E., Romero, N., Tapia, C. A., Silva, J., & Rivera, M. (2008). Study of some physicochemical and functional properties of quinoa (Chenopodium quinoa Willd) protein isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(12), 4745-4750.

Aguilera, J. M. (1995). Gelation of whey proteins: Chemical and rheological changes during phase transition in food. *Food Technology (Chicago)*, 49(10), 83-89.

Akharume, F. U., Aluko, R. E., & Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(1), 198-224.

Alting, A.C., Hamer, R.J., de Kruif, C.G., Visschers, R.W. (2003). Cold-set globular protein gels: interactions, structure and rheology as a function of protein concentration. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3150-3156.

Alvarez-Sabatel, S., Mara˜n´on, I. M.d., & Arboleya, J. C. (2015). Impact of high pressure homogenisation (HPH) on inulin gelling properties, stability and development during storage. *Food Hydrocolloids*, 44, 333-344.

Alves, V., Scapini, T., Camargo, A. F., Bonatto, C., Stefanski, F. S., de Jesus, E. P., ... & Treichel, H. (2021). Development of fermented beverage with water kefir in water-soluble coconut extract (Cocos nucifera L.) with inulin addition. *LWT-Food Science and Technology*, 145, 111364.

Amador-Espejo, G. G., Suàrez-Berencia, A., Juan, B., Bárcenas, M. E., & Trujillo, A. J. (2014). Effect of moderate inlet temperatures in ultra-high-pressure homogenization treatments on physicochemical and sensory characteristics of milk. *Journal of Dairy Science*, 97(2), 659-671.

Andrews, A. T., & Alichanidis, E. (1990). The plastein reaction revisited: evidence for a purely aggregation reaction mechanism. *Food Chemistry*, 35(4), 243-261.

Augusto, P. E., Ibarz, A., & Cristianini, M. (2013). Effect of high pressure homogenization (HPH) on the rheological properties of tomato juice: Viscoelastic properties and the Cox–Merz rule. *Journal of Food Engineering*, 114(1), 57-63.

Balny, C., & Masson, P. (1993). Effects of high pressure on proteins. *Food Reviews International*, 9(4), 611-628.

Baskıncı, T., & Gul, O. (2023). Modifications to structural, techno-functional and Rheological properties of sesame protein isolate by high pressure homogenization. *International Journal of Biological Macromolecules*, 126005.

Ben-Harb, S., Panouille, M., Huc-Mathis, D., Moulin, G., Saint-Eve, A., Irlinger, F., ... & Souchon, I. (2018). The rheological and microstructural properties of pea,

milk, mixed pea/milk gels and gelled emulsions designed by thermal, acid, and enzyme treatments. *Food Hydrocolloids*, 77, 75-84.

Bernat, N., Chafer, M., Rodríguez-García, J., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2015). Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 488-496.

Betoret, E., Betoret, N., Rocculi, P., & Dalla Rosa, M. (2015). Strategies to improve food functionality: Structure–property relationships on high pressures homogenization, vacuum impregnation and drying technologies. *Trends in Food Science & Technology*, 46(1), 1-12.

Bi, C. H., Li, D., Wang, L. J., Gao, F., & Adhikari, B. (2014). Effect of high shear homogenization on rheology, microstructure and fractal dimension of acid-induced SPI gels. *Journal of Food Engineering*, 126, 48-55.

Bi, C. H., Wang, P. L., Sun, D. Y., Yan, Z. M., Liu, Y., Huang, Z. G., & Gao, F. (2020). Effect of high-pressure homogenization on gelling and rheological properties of soybean protein isolate emulsion gel. *Journal of Food Engineering*, 277, 109923.

Bi, C. H., Zhu, Y. D., Li, L. T., Zhang, Y. L., Hua, Z., Zhu, J. Y., ... & Huang, Z. G. (2018). Rheological properties and microstructure of soy protein isolate/κ-carrageenan gels under high-speed shear treatment. *Journal of Food Engineering*, 236, 44-50.

Bukya, A., & Vijayakumar, T. P. (2013). Properties of industrial fractions of sesame seed (Sesamum indicum L.). *International Journal of Agricultural and Food Science*, 3(3), 86-89.

Cano-Medina, A., Jiménez-Islas, H., Dendooven, L., Herrera, R.P., González-Alatorre, G., & Escamilla-Silva, E.M. (2011). Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44, 684-692.

Cavallieri, A. L, F., & da Cunha, R. L. (2008). The effects of acidification rate, pH, and ageing time on the acidic cold set gelation of whey proteins. *Food Hydrocolloids*, 22, 439-448.

Chang, H. (2015). Effect of ultrasound pre-treatment on the nutrition and structure properties of myofibrillar protein. Nanchang, China: Nanchang University.

Chawla, S. P., Venugopal, V., & Nair, P. M. (1996). Gelation of proteins from washed muscle of threadfin bream (Nemipterus japonicus) under mild acidic conditions. *Journal of Food Science*, 61(2), 362-367.

Cheftel, J.-C., Cuq, J.-L. & Lorient, D. (1985). Amino acids, peptides, and proteins. In Food Chemistry, ed. O.R. Fennema. Marcel Dekker Inc., Basel, pp. 245-369.

Chen, X., Xu, X., & Zhou, G. (2016). Potential of high pressure homogenization to solubilize chicken breast myofibrillar proteins in water. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 33, 170-179.

Cheng, Y., Wang, J., Chi, Y., Ma, Z., Geng, X., & Chi, Y. (2021). Effect of dry heating on egg white powder influencing water mobility and intermolecular interactions of its gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(2), 433-440.

Cho, H. M., Yoo, W., & Yoo, B. (2012). Steady and dynamic rheological properties of thickened beverages used for dysphagia diets. *Food Science and Biotechnology*, 21, 1775-1779.

Codina-Torrella, I., Guamis, B., Zamora, A., Quevedo, J. M., & Trujillo, A. J. (2018). Microbiological stabilization of tiger nuts' milk beverage using ultra-high pressure homogenization. A preliminary study on microbial shelf-life extension. *Food Microbiology*, 69, 143–150.

Creusot, N., & Gruppen, H. (2007). Hydrolysis of whey protein isolate with Bacillus licheniformis protease: Fractionation and identification of aggregating peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(22), 9241-9250.

Damodaran, S. (1989). Interrelationship of molecular and functional properties of food proteins. *Food Proteins*, 21-52.

De Kruif, C. G. (1997). Skim milk acidification. *Journal of Colloid and Interface Science*, 185(1), 19-25.

Dhakal, S., Liu, C., Zhang, Y., Roux, K. H., Sathe, S. K., & Balasubramaniam, V. M. (2014). Effect of high pressure processing on the immunoreactivity of almond milk. *Food Research International*, 62, 215-222.

Di, Y., Li, X., Chang, X., Gu, R., Duan, X., Liu, F., ... & Wang, Y. (2022). Impact of germination on structural, functional properties and in vitro protein digestibility of sesame (Sesamum indicum L.) protein. *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112651.

Djabourov, M. (1991). Gelation—A review. *Polymer International*, 25(3), 135-143.

Dogan, M., Kayacier, A., Toker, Ö. S., Yilmaz, M. T., & Karaman, S. (2013). Steady, dynamic, creep, and recovery analysis of ice cream mixes added with different concentrations of xanthan gum. *Food and Bioprocess Technology*, *6*, 1420-1433.

Dong, X., Zhao, M., Yang, B. A. O., Yang, X., Shi, J., & Jiang, Y. (2011). Effect of high-pressure homogenization on the functional property of peanut protein. *Journal of Food Process Engineering*, 34, 2191-2204.

dos Santos Aguilar, J. G., Cristianini, M., & Sato, H. H. (2018). Modification of enzymes by use of high-pressure homogenization. *Food Research International*, 109, 120-125.

Dossa, K., Diouf, D., Wang, L., Wei, X., Zhang, Y., Niang, M., ... & Cisse, N. (2017). The emerging oilseed crop Sesamum indicum enters the “Omics” era. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1154.

Dumay, E., Chevalier-Lucia, D., Picart-Palmade, L., Benzaria, A., Gràcia-Julià, A., & Blayo, C. (2013). Technological aspects and potential applications of (ultra) high-pressure homogenisation. *Trends in Food Science & Technology*, 31(1), 13-26.

Fan, X., Li, S., Zhang, A., Chang, H., Zhao, X., Lin, Y., & Feng, Z. (2021). Mechanism of change of the physicochemical characteristics, gelation process, water state, and microstructure of okara tofu analogues induced by high-intensity ultrasound treatment. *Food Hydrocolloids*, 111, 106241.

Ferry, J. D. (1948). Protein gels. *Advances in Protein Chemistry*, 4, 1-78.

Flory, P. J. (1974). Introductory lecture. *Faraday Discussions of the Chemical Society*, 57, 7-18.

Foegeding, E. A., Allen, C. E., & Dayton, W. R. (1986). Effect of heating rate on thermally formed myosin, fibrinogen and albumin gels. *Journal of Food Science*, 51(1), 104-108.

Foegeding, E. A., Bowland, E. L., & Hardin, C. C. (1995). Factors that determine the fracture properties and microstructure of globular protein gels. *Food Hydrocolloids*, 9(4), 237-249.

Francis, F. J. (1983). Colorimetry of foods. In M. Pelef, & E. B. Baglet (Eds.), Physical properties of foods (pp. 105e124). Westport, CT: AVI Publishing.

Gandhi, A. P., & Srivastava, J. J. A. F. J. (2007). Studies on the production of protein isolates from defatted sesame seed (Sesamum indicum) flour and their nutritional profile. *ASEAN Food Journal*, 14(3), 175.

Glibowski, P. (2009). Rheological properties and structure of inulin–whey protein gels. *International Dairy Journal*, 19(8), 443-449.

Guo, S. T., & Ono, T. (2005). The role of composition and content of protein particles in soymilk on tofu curding by glucono-δ-lactone or calcium sulfate. *Journal of Food Science*, 70(4), 258-262.

Gül, L. B., Bekbay, S., Akgün, A., & Gül, O. (2023). Effect of oleaster (Elaeagnus angustifolia L.) flour addition combined with high-pressure homogenization on the acidification kinetics, physicochemical, functional, and rheological properties of kefir. *Food Science & Nutrition*, 11(9), 5325-5337.

Gül, O., Atalar, I., Mortas, M., & Dervisoglu, M. (2018). Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A comparison with cows’ milk kefir. *International Journal of Dairy Technology*, 71, 73-80.

Gül, O., Saricaoglu, F. T., Atalar, I., Gul, L. B., Tornuk, F., & Simsek, S. (2023). Structural characterization, technofunctional and rheological properties of sesame proteins treated by high-intensity ultrasound. *Foods*, 12(9), 1791.

Gül, O., Saricaoglu, F. T., Mortas, M., Atalar, I., & Yazici, F. (2017). Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 411-420.

Gül, O., Saricaoglu, F.T., & Atalar, I. (2021). Effect of high pressure homogenization on microstructure and rheological properties of hazelnut beverage cold-set gels induced glucono-δ-lactone. *LWT - Food Science and Technology*, 143, 111154.

Hamann, D. D. (1992). Viscoelastic properties of surimi seafood products. In M. A. Rao, & F. Steffe, (Eds.), *Viscoelastic Properties of Food* (pp. 157–171).

Hermans, P. H. (1949). Degree of lateral order in various rayons as deduced from x-ray measurements. *Journal of Polymer Science*, 4(2), 145-151.

Hermansson, A.M. (1979). Aggregation and denaturation involved in gel formation. In: Functionality and Protein Structure (edited by A. Pour-El). ACS Symposium. Series 92. Pp. 81-103. Washington, DC, American Chemical Society.

Hermansson, A.M., Harbitz, O. & Langton, M. (1986). Formation of two types of bovine myosin gels. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 69-84.

Heymann, E. (1936). Studies on sol-gel transformations. II. Dilatometric investigations on iron hydroxide, gelatin, methyl cellulose, silicic acid and viscose. *Transactions of the Faraday Society*, 32, 462-473.

Hongsprabhas, P., & Barbut, S. (1997). Structure-forming processes in Ca2+-induced whey protein isolate cold gelation. *International Dairy Journal*, 7(12), 827-834.

Huang, Y. C., & Kuo, M. I. (2015). Rheological characteristics and gelation of tofu made from ultra-high-pressure homogenized soymilk. *Journal of Texture Studies*, 46(5), 335-344.

Huang, Z. G., Wang, X. Y., Zhang, J. Y., Liu, Y., Zhou, T., Chi, S. Y., ... & Bi, C. H. (2022). Effect of heat treatment on the nonlinear rheological properties of acid-induced soy protein isolate gels modified by high-pressure homogenization. *LWT - Food Science and Technology*, 157, 113094.

Hvidt, S., & Heller, K. (1990). Viscoelastic properties of biological networks and gels. *Physical Networks: Polymers and Gels. W. Burchard and S. Ross-Murphy, editors. Elsevier, London*, 195-208.

Ingrassia, R., L.L. Bea, M.E. Hidalgo, & P.H. Risso, (2019). Microstructural and textural characteristics of soy protein isolate and tara gum cold-set gels, *LWT - Food Science and Technology*, 113, 108286.

Ipsen, R., Otte, J., Lomholt, S. B., & Qvist, K. B. (2000). Standardized reaction times used to describe the mechanism of enzyme-induced gelation in whey protein systems. *Journal of Dairy Research*, 67(3), 403-413.

Jiang, J., & Xiong, Y. L. (2013). Extreme pH treatments enhance the structure-reinforcement role of soy protein isolate and its emulsions in pork myofibrillar protein gels in the presence of microbial transglutaminase. *Meat Science*, 93(3), 469-476.

Ju, Q., Wu, C., Yuan, Y., Hu, Y., Zhou, S., & Luan, G. (2022). Insights into the mechanism on Glucono-delta-lactone induced gelation of soybean protein at subunit level. *Food Hydrocolloids*, 125, 107402.

Ju, Z. Y., Otte, J., Madsen, J. S., & Qvist, K. B. (1995). Effects of limited proteolysis on gelation and gel properties of whey protein isolate. *Journal of Dairy Science*, 78(10), 2119-2128.

Ju, Z.Y., & Kilara, A., (1998). Textural properties of cold-set gels induced from heat-denatured whey protein isolates. *Journal of Food Science,* 63, 288-292.

Kang, Z. L., Bai, R., Lu, F., Zhang, T., Gao, Z. S., Zhao, S. M., ... & Ma, H. J. (2022). Effects of high pressure homogenization on the solubility, foaming, and gel properties of soy 11S globulin. *Food Hydrocolloids*, 124, 107261.

Keshavarz, E., & Nakai, S. (1979). The relationship between hydrophobicity and interfacial tension of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure,* 576(2), 269-279.

Kharlamova, A., Nicolai, T., & Chassenieux, C. (2018). Calcium-induced gelation of whey protein aggregates: Kinetics, structure and rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 79, 145-157.

Kinsella, J. E., Rector, D. J., & Phillips, L. G. (1994). Physicochemical properties of proteins: Texturization via gelation, glass and film formation. In *Protein Structure-Function Relationships in Foods* (pp. 1-21). Boston, MA: Springer US.

Kubo, M. T. K., Augusto, P. E., & Cristianini, M. (2013). Effect of high pressure homogenization(HPH) on the physical stability of tomato juice. *Food Research International*, 51(1), 170-179.

Kuhn, K. R., Cavallieri, Â. L. F., & Da Cunha, R. L. (2010). Cold-set whey protein gels induced by calcium or sodium salt addition. *International Journal of Food Science & Technology*, 45(2), 348-357.

Levy, R., Okun, Z., & Shpigelman, A. (2021). High-pressure homogenization: principles and applications beyond microbial inactivation. *Food Engineering Reviews*, 13, 490-508.

Liang, X., Ma, C., Yan, X., Zeng, H., McClements, D. J., Liu, X., & Liu, F. (2020). Structure, rheology and functionality of whey protein emulsion gels: Effects of

double cross-linking with transglutaminase and calcium ions. *Food Hydrocolloids*, 102, 105569.

Liu, H. H., & Kuo, M. I. (2016). Ultra high pressure homogenization effect on the proteins in soy flour. *Food Hydrocolloids*, 52, 741-748.

Liu, H. H., Chien, J. T., & Kuo, M. I. (2013). Ultra high pressure homogenized soy flour for tofu making. *Food Hydrocolloids*, 32(2), 278-285.

Lopes da Silva, J. A., & Rao, M. A. (1999). Rheological behavior of food gel systems. *Rheology of Fluid and Semisolid Foods Principles and Applications*, Aspen Publishers, 339-401.

Lozober, H. S., Okun, Z., & Shpigelman, A. (2021). The impact of high-pressure homogenization on thermal gelation of Arthrospira platensis (Spirulina) protein concentrate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74, 102857.

Lucey, J. A., Munro, P. A., & Singh, H. (1998). Whey separation in acid skim milk gels made with glucono-δ-lactone: Effects of heat treatment and gelation temperature. *Journal of Texture Studies*, 29(4), 413-426.

Lullien-Pellerin, V., & Balny, C. (2002). High-pressure as a tool to study some proteins' properties: conformational modification, activity and oligomeric dissociation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3(3), 209-221.

Luo, L., Cheng, L., Zhang, R., & Yang, Z. (2022). Impact of high-pressure homogenization on physico-chemical, structural, and rheological properties of quinoa protein isolates. *Food Structure*, 32, 100265.

Luo, L., Tashiro, Y., & Ogawa, H. (2012). Relationship between the water molecules in fish-meat gel and the gel structure. *Fisheries Science*, 78, 1137-1146.

Malik, T., Sharma, R., Ameer, K., Bashir, O., Amin, T., Manzoor, S., & Mohamed Ahmed, I. A. (2023). Potential of high-pressure homogenization (HPH) in the development of functional foods. *International Journal of Food Properties*, 26(1), 2509-2531.

Maltais, A., Remondetto, G. E., & Subirade, M. (2008). Mechanisms involved in the formation and structure of soya protein cold-set gels: A molecular and supramolecular investigation. *Food Hydrocolloids*, 22(4), 550-559.

Maresca, P., Ferrari, G., Júnior, B. R. D. C. L., Zanphorlin, L. M., Ribeiro, L. R., Murakami, M. T., & Cristianini, M. (2017). Effect of dynamic high pressure on functional and structural properties of bovine serum albumin. *Food Research International*, 99, 748-754.

Martin, F., Cayot, N., Marin, A., Journaux, L., Cayot, P., Gervais, P., & Cachon, R. (2009). Effect of oxidoreduction potential and of gas bubbling on rheological properties and microstructure of acid skim milk gels acidified with glucono-δ-lactone. *Journal of Dairy Science*, 92(12), 5898-5906.

Matsumura, Y., & Mori, T. (1996). Gelation. *Methods of Testing Protein Functionality*, 76.

McClements, D. J. (2004).Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC press.

Mercan, E., Sert, D., & Akın, N. (2018). Effect of high-pressure homogenisation on viscosity, particle size and microbiological characteristics of skim and whole milk concentrates. *International Dairy Journal*, 87, 93-99.

Mierovich H, Scheraga HA (1980) Empirical studies of hydrophobicity. 2. Distribution of the hydrophobic, hydrophilic, neutral, and ambivalent amino acids in the interior and exterior layers of native proteins. Macomolecules 13:1406–1414.

Moreno, H.M., Domínguez-Timón, F., Díaz, M.T., Pedrosa, M.M., Borderías, A.J., & Tovar, C.A. (2020). Evaluation of gels made with different commercial pea protein isolate: Rheological, structural and functional properties. *Food Hydrocolloids*, 99. 105375.

Nadathur, S. R., Wanasundara, J. P. D., & Scanlin, L. (2017). Proteins in the diet: Challenges in feeding the global population. In *Sustainable Protein Sources* (pp. 1-19). Academic Press.

Nakai, S. (1983). Structure-function relationships of food proteins: with an emphasis on the importance of protein hydrophobicity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(4), 676-683.

Nicolai, T., & Chassenieux, C. (2019). Heat-induced gelation of plant globulins. *Current Opinion in Food Science*, 27, 18-22.

Nielsen, S. S. (1998). Rheological principles for food analysis. In *Food Analysis*, (2nd ed., pp. 553–569). Aspen Publishers.

Nio, N., Motoki, M., & Takinami, K. (1986). Gelation of protein emulsion by transglutaminase. *Agricultural and Biological Chemistry*, 50(6), 1409-1412.

Niu, H., Chen, Y., Zhang, H., Kong, B., & Liu, Q. (2018). Protective effect of porcine plasma protein hydrolysates on the gelation of porcine myofibrillar protein exposed to a hydroxyl radical-generating system. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 654-661.

Oakenfull, D., Pearce, J. & Burley, R.W. (1997). Protein gelation. In: Food Proteins and Their Applications (edited by S. Damodaran & A. Paraf). Pp. 111–142. New York: Marcel Dekker.

Onsaard, E. (2012). Sesame Proteins. *International Food Research Journal*, 19(4), 1287-1295.

Onsaard, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. (2010). Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 3(4), 420-431.

Otte, J., Ju, Z. Y., Faergemand, M., Lomholt, S. B., & Qvist, K. B. (1996). Protease-induced aggregation and gelation of whey proteins. *Journal of Food Science*, 61(5), 911-916.

Pang, Z., Xu, R., Zhu, Y., Li, H., Bansal, N., & Liu, X. (2019). Comparison of rheological, tribological, and microstructural properties of soymilk gels acidified with glucono-δ lactone or culture. *Food Research International*, 121, 798-805.

Parisi, G., Tulli, F., Fortina, R., Marino, R., Bani, P., Dalle Zotte, A., ... & Danieli, P. P. (2020). Protein hunger of the feed sector: The alternatives offered by the plant world. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 1204-1225.

Pathak, N., Rai, A. K., Kumari, R., & Bhat, K. V. (2014). Value addition in sesame: A perspective on bioactive components for enhancing utility and profitability. *Pharmacognosy Reviews*, 8(16), 147.

Phillips, L.G., Whitehead, D.M. & Kinsella, J. (1994). Structure-Function Properties of Food Proteins. Pp. 179-204. San Diego: Academic Press.

Porto, B. C., Augusto, P. E., Terekhov, A., Hamaker, B. R., & Cristianini, M. (2015). Effect of dynamic high pressure on technological properties of cashew tree gum (Anacardium occidentale L.). *Carbohydrate Polymers*, 129, 187-193.

Relkin, P. (1998). Reversibility of heat-induced conformational changes and surface exposed hydrophobic clusters of β-lactoglobulin: their role in heat-induced sol–gel state transition. *International Journal of Biological Macromolecules*, 22(1), 59-66.

Rivas R, N., Dench, J. E. & Caygill, J. C. (1981). Nitrogen extractability of sesame (*Sesamum indicum* L.) seed and the preparation of two protein isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 32(6), 565-571.

Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2018). Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut Processing. *Food Chemistry*, 241, 364-371.

Roesch, R. R., & Corredig, M. (2003). Texture and microstructure of emulsions prepared with soy protein concentrate by high-pressure homogenization. *LWT-Food Science and Technology*, 36(1), 113-124.

Saricaoglu, F. T. (2020). Application of high-pressure homogenization (HPH) to modify functional, structural and rheological properties of lentil (Lens culinaris) proteins. *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 760-769.

Saricaoglu, F. T., Gul, O., Besir, A., & Atalar, I. (2018b). Effect of high pressure homogenization (HPH) on functional and rheological properties of hazelnut

meal proteins obtained from hazelnut oil industry by-products. *Journal of Food Engineering*, 233, 98-108.

Saricaoglu, F. T., Gul, O., Tural, S., & Turhan, S. (2017). Potential application of high pressure homogenization (HPH) for improving functional and rheological properties of mechanically deboned chicken meat (MDCM) proteins. *Journal of Food Engineering*, 215, 161-171.

Saricaoglu, F. T., Tural, S., Gul, O., & Turhan, S. (2018a). High pressure homogenization of mechanically deboned chicken meat protein suspensions to improve mechanical and barrier properties of edible films. *Food Hydrocolloids*, 84, 135-145.

Schmidt, R.H. (1981). Gelation and coagulation. In Protein Functionality in Foods, ed. A. Pour-El. Am. Chem Sot., Washington, DC, pp. 13 I-48.

Shi, R., Li, T., Li, M., Munkh-Amgalan, G., Qayum, A., Bilawal, A., & Jiang, Z. (2021). Consequences of dynamic high-pressure homogenization pretreatment on the physicochemical and functional characteristics of citric acid-treated whey protein isolate. *LWT-Food Science and Technology*, 136, 110303.

Shi, R., Liu, Y., Hu, J., Gao, H., Qayum, A., Bilawal, A., Munkh-Amgalan, G., Jiang, Z., & Hou, J. (2020). Combination of high-pressure homogenization and ultrasound improves physiochemical, interfacial and gelation properties of whey protein isolate. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 65, 102450.

Shimada, K., & Matsushita, S. (1980). Relationship between thermocoagulation of proteins and amino acid compositions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 28(2), 413-417.

Smith, D.M. (1994). Protein interactions in gels: protein–protein interactions. In: Protein Functionality in Food Systems (edited by N.S. Hetiarachchy & G.R. Ziegler). Pp. 209-224. New York: Marcel Dekker.

Smith, R. L., Trindade, M. C. D., Shida, J., Kajiyama, G., & Vu, T. (2000). Time-dependent effects of intermittent hydrostatic pressure on articular c on rocyte type II collagen and aggrecan mRNA expression. *Journal of Rehabilitation Research and Development*, 37, 153-161.

Song, X., Zhou, C., Fu, F., Chen, Z., & Wu, Q. (2013). Effect of high-pressure homogenization on particle size and film properties of soy protein isolate. *Industrial Crops and Products*, 43, 538-544.

Sun, B., Li, Z., Huang, Y., Liu, L., Gu, X., Gao, Y., ... & Xia, X. (2022a). High-pressure homogenisation—Lactobacillus induced changes in the properties and structure of soymilk protein gels. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(10), 6852-6866.

Sun, D., Wu, M., Bi, C., Gao, F., Wei, W., & Wang, Y. (2022b). Using high-pressure homogenization as a potential method to pretreat soybean protein isolate: Effect

on conformation changes and rheological properties of its acid-induced gel. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 82, 103195.

Tabilo-Munizaga, G., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67(1-2), 147-156.

Tanaka, T. (1981). Gels. *Scientific American*, 244, 124-138

Tay, S. L., Xu, G. Q., & Perera, C. O. (2005). Aggregation profile of 11S, 7S, and 2S coagulated with GDL. *Food Chemistry*, 91, 457-462.

Totosaus, A., Gault, N. F., & Guerrero, I. (2000). Dynamic rheological behavior of meat proteins during acid-induced gelation. *International Journal of Food Properties*, 3(3), 465-472.

Totosaus, A., Montejano, J.G., Salazar, J.A., & Guerrero, I. (2002). A review of physical and chemical protein-gel induction. *International Journal of Food Science & Technology*, 37, 589-601.

Tseng, Y. C., Xiong, Y., & Boatright, W. (2008). Effects of inulin/oligofructose on the thermal stability and acid-induced gelation of soy protein. *Journal of Food Science*, 73, 44-50.

Valim, M. D., Cavallieri, A. L., & Cunha, R. L. (2009). Whey protein/arabic gum gels formed by chemical or physical gelation process. *Food Biophysics*, 4, 23-31.

Vardhanabhuti, B., Foegeding, E. A., McGuffey, M. K., Daubert, C. R., & Swaisgood, H. E. (2001). Gelation properties of dispersions containing polymerized and native whey protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 15(2), 165-175.

Wang, B., Liu, F., Luo, S., Li, P., Mu, D., Zhao, Y., ... & Zheng, Z. (2019). Effects of high hydrostatic pressure on the properties of heat-induced wheat gluten gels. *Food and Bioprocess Technology*, 12, 220-227.

Wang, C. H., & Damodaran, S. (1990). Thermal gelation of globular proteins: weight-average molecular weight dependence of gel strength. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(5), 1157-1164.

Wang, K., Zhao, X., Li, J., Ma, C., Sun, D., Gantumur, M. A., ... & Hou, J. (2021). Comparison of high pressure homogenization, selective thermal denaturation and glycosylation on textural properties of green soybean (Glycine max) tofu by TOPSIS analysis. *Food Control*, 129, 108185.

Wang, R., Ma, Y., Ma, Z., Du, Q., Zhao, Y., & Chi, Y. (2020). Changes in gelation, aggregation and intermolecular forces in frozen-thawed egg yolks during freezing. *Food Hydrocolloids*, 108, 105947.

Wei, P., Zhao, F., Wang, Z., Wang, Q., Chai, X., Hou, G., & Meng, Q. (2022). Sesame (sesamum indicum l.): A comprehensive review of nutritional value, phytochemical composition, health benefits, development of food, and industrial applications. *Nutrients*, 14(19), 4079.

Williams, J. W. (1951). Colloid Chemistry. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2(1), 403-424.

Wong, D.W.S. (1989). Mechanism and Theory in Food Chemistry. Avi, Van Nostrand Reinhold, Eds, New York, pp48-62.

Xie, Y., Yu, X., Wei, S., Zheng, J., Prakash, S., & Dong, X. (2021). Impact of homogenization on the physicochemical properties of the cod protein gel. *LWT-Food Science and Technology*, 149, 111841.

Xiong, Y.L., Aguilera, J.M. & Kinsella, J.E. (1991). Emulsified milkfat effects on rheology of acid-induced gels. *Journal of Food Science*, 56, 920-925.

Yang, J., Liu, G., Zeng, H., & Chen, L. (2018). Effects of high pressure homogenization on faba bean protein aggregation in relation to solubility and interfacial properties. *Food Hydrocolloids*, 83, 275-286.

Yi, S., Li, Q., Qiao, C., Zhang, C., Wang, W., Xu, Y., ... & Li, J. (2020). Myofibrillar protein conformation enhance gel properties of mixed surimi gels with Nemipterus virgatus and Hypophthalmichthys molitrix. *Food Hydrocolloids*, 106, 105924.

Zayas, J. F. (1997). *Functionality of proteins in food*. Springer science & business media.

Zhang, H., Li, L., & Mittal, G. S. (2009). Preparation of tofu gel by high-pressure processing. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33(4), 560-569.

Zhao, Y., Chen, Z., Li, J., Xu, M., Shao, Y., & Tu, Y. (2016). Changes of microstructure characteristics and intermolecular interactions of preserved egg white gel during pickling. *Food Chemistry*, 203, 323-330.

Zhou, L., Guan, Y., Bi, J., Liu, X., Yi, J., Chen, Q., ... & Zhou, M. (2017). Change of the rheological properties of mango juice by high pressure homogenization. *LWT-Food Science and Technology*, 82, 121-130.

Zhu, C., Shi, Q., Fu, S., Song, J., Du, D., Su, D., ... & Lin, Y. (2018). Core–shell PdPb@ Pd aerogels with multiply-twinned intermetallic nanostructures: facile synthesis with accelerated gelation kinetics and their enhanced electrocatalytic properties. *Journal of Materials Chemistry A*, 6(17), 7517-7521.

Zhu, H., O'Farrell, M., Bouquet, G., Lunde, K., Egelandsdal, B., Alvseike, O., ... & Hansen, E. W. (2016). Evaluating nuclear magnetic resonance (NMR) as a robust reference method for online spectroscopic measurement of water holding capacity (WHC). *Journal of Food Engineering*, 175, 51-57.

Zhuang, X., Jiang, X., Han, M., Kang, Z. L., Zhao, L., Xu, X. L., & Zhou, G. H. (2016). Influence of sugarcane dietary fiber on water states and microstructure of myofibrillar protein gels. *Food Hydrocolloids*, 57, 253-261.

Ziegler, G.R. & Foegeding, E.A. (1990). The gelation of proteins. *Advances in Food and Nutrition Research,* 34, 203-298.