T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİRA MAYŞE ATIKLARINDAN PROTEİN KONSANTRESİ ÜRETİMİ VE SÜREÇ OPTİMİZASYONU

EZGİ PAJO

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Esra TUNÇER

EDİRNE-2026

Ezgi Pajo'nun hazırladığı **"Bira Mayşe Atıklarından Protein Konsantresi Üretimi ve Süreç Optimizasyonu"** başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından **Gıda Mühendisliği** Anabilim Dalında bir **Yüksek lisans tezi** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	İmza
Dr. Öğr. Üyesi Esra TUNÇER	……
Doç. Dr. Aslı ZUNGUR BASTIOĞLU	……
Dr. Öğr. Üyesi Emel YILMAZ	……

Tez Savunma Tarihi: 01/07/2026

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Esra TUNÇER

Tez Danışmanı ……

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü onayı

……

Doç. Dr. Filiz UMAROĞULLARI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

01 / 07 / 2026

Ezgi PAJO

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Bira Mayşe Atıklarından Protein Konsantresi Üretimi ve Süreç Optimizasyonu

Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

ÖZET

Bira mayşe atıkları (BMA), bira üretimi sırasında yüksek miktarda açığa çıkan ve çoğunlukla hayvan yemi olarak değerlendirilen, protein bakımından zengin bir yan üründür. Literatürde BMA'dan protein geri kazanımına yönelik farklı yöntemler araştırılmış olmakla birlikte, bu çalışmalarda ekstraksiyon ortamı olarak çoğunlukla alkali çözeltiler kullanılmıştır. Ancak BMA'nın başlıca protein fraksiyonlarından biri olan hordeinler alkol çözeltilerinde çözünmekte ve alkali ekstraksiyonda yeterli düzeyde geri kazanılamamaktadır. Bu nedenle bu çalışmada, BMA'dan protein konsantresi üretimindeki verimi artırmak amacıyla etanol çözeltisiyle ekstraksiyon basamağının sürece bir ön işlem olarak entegre edilmesi ve ardışık ekstraksiyon sürecinin optimize edilmesi amaçlanmıştır. Protein geri kazanımını desteklemek amacıyla her iki ekstraksiyon basamağı ultrason uygulaması ile birlikte yürütülmüştür. Ayrıca elde edilen protein konsantresinin farklı gıda sistemlerinde kullanım potansiyelini değerlendirmek üzere tekno-fonksiyonel özellikleri ve *in vitro* protein sindirilebilirliği belirlenmiştir.

Ekstraksiyon sürecinin optimizasyonunda Yanıt Yüzey Yöntemi kapsamında Merkezi Kompozit Tasarım kullanılmıştır. Optimizasyon, etanol çözeltisiyle gerçekleştirilen ekstraksiyon basamağındaki protein verimi ile bu basamağı izleyen alkali ekstraksiyondaki protein verimi için ayrı ayrı yürütülmüştür. Alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında maksimum protein verimini sağlayan koşullar %64,46 etanol derişimi, 36,92 dk sonikasyon süresi ve 428 W ultrason gücü olarak belirlenmiştir. Alkali ekstraksiyon basamağındaki protein verimini için ise %64,46 alkol derişimi, 31,760 dk

sonikasyon süresi ve 424 W ultrason gücü olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda maksimum verim alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için 3,656 ± 0,700 mg/g; alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için ise 59,354 ± 1,760 mg/g olarak bulunmuştur.

Alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının sürece eklenmesiyle toplam protein geri kazanımında %20,5 oranında artış sağlanmıştır. Bu artışın hem etanolde çözünebilen protein fraksiyonlarının doğrudan geri kazanılmasından hem de etanollü ön işlem sırasında meydana gelen polarite değişimi ve ultrason etkisinin izleyen alkali ekstraksiyonda proteinlerin geri kazanımını kolaylaştırmasından kaynaklandığı değerlendirilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen protein konsantresinin protein oranı %34,7 olarak belirlenmiştir.

Protein konsantresinin tekno-fonksiyonel özellikleri incelendiğinde orta düzeyde çözünürlüğe, sınırlı köpük oluşturma kapasitesine ve yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğu belirlenmiş; incelenen koşullarda jel oluşumu gözlenmemiştir. Bununla birlikte konsantrenin emülsiyon oluşturma yeteneğinin yüksek olduğu saptanmıştır. Köpük ve emülsiyon özellikleri pH artışıyla iyileşmiş, en yüksek performans alkali koşullarda (pH 10) elde edilmiştir. Ayrıca protein konsantresi %81,38 ± 1,59 oranında yüksek in vitro sindirilebilirlik göstermiştir. Genel olarak, etanollü ön ekstraksiyon basamağı kullanılarak üretilen protein konsantresinin fonksiyonel özelliklerinin klasik alkali ekstraksiyonla elde edilen ürünlere benzerlik gösterdiği; ancak literatürde ultrason destekli alkali ekstraksiyonla üretilen bazı protein fraksiyonlarına kıyasla kısmen daha sınırlı olduğu değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasıyla, BMA'dan protein geri kazanımında alkol çözeltisiyle ekstraksiyon basamağının bir ön işlem olarak sürece eklenmesinin toplam protein verimini artıran etkili bir yaklaşım olduğu ortaya konmuştur. Elde edilen protein konsantresi, farklı gıda sistemlerinde değerlendirilmesini destekleyen tekno-fonksiyonel özelliklere ve yüksek *in vitro* sindirilebilirliğe sahiptir. Geliştirilen ardışık ekstraksiyon yaklaşımı, BMA'nın katma değerli bir protein kaynağı olarak değerlendirilmesinin yanı sıra diğer tahıl kökenli yan ürünlerden protein geri kazanımı için de umut verici bir yöntem sunmaktadır.

Yıl : 2026

Sayfa Sayısı : 77

Anahtar Kelimeler : Bitkisel Proteinler, Etanollü Ekstraksiyon, Alkali Ekstraksiyon, Ultrason, Yanıt Yüzey Yöntemi, Tekno-fonksiyonel Özellikler, Sürdürülebilirlik

Master’s Thesis

Production of Protein Concentrate from Brewers' Spent Grain and Process Optimization

Trakya University, Institute of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

ABSTRACT

Brewers’ spent grain (BSG) is a protein-rich by-product generated in large quantities during beer production and widely used as animal feed. Although various methods have been investigated for protein recovery from BSG, alkaline solutions are most used as extraction media. However, hordeins, a major protein fraction of BSG, are soluble in aqueous alcohol solutions and cannot be recovered efficiently through alkaline extraction. Therefore, this study aimed to improve protein concentrate production from BSG by integrating ethanol extraction as a pretreatment step and optimizing the sequential process. To enhance protein recovery, both extraction steps were combined with ultrasound treatment. In addition, the techno-functional properties and *in vitro* protein digestibility of the resulting concentrate were determined to evaluate its potential application in different food systems.

A Central Composite Design within Response Surface Methodology was used to optimize the extraction process. Optimization was conducted separately for the protein yields during ethanol extraction and subsequent alkaline extraction. The conditions providing maximum protein yield during ethanol extraction were determined as an ethanol concentration of 64.46%, a sonication time of 36.92 min, and an ultrasound power of 428 W. For protein yield during the alkaline extraction step, the optimum conditions were determined as an ethanol concentration of 64.46%, a sonication time of 31.760 min, and an ultrasound power of 424 W. Under optimum conditions, the maximum protein

yields were 3.656 ± 0.700 mg/g for the ethanol extraction step and 59.354 ± 1.760 mg/g for the alkaline extraction step.

The incorporation of the ethanol extraction step increased total protein recovery by 20.5%. This improvement was attributed both to the direct recovery of ethanol-soluble protein fractions and the enhanced recovery of proteins during the subsequent alkaline extraction, resulting from changes in medium polarity and the effects of ultrasound during ethanol pretreatment. The protein content of the protein concentrate obtained under optimum conditions was determined to be 34.7%.

Evaluation of the techno-functional properties of the protein concentrate showed that it had moderate solubility, limited foaming capacity, and high water-holding capacity, while no gel formation was observed under the conditions investigated. Nevertheless, the concentrate exhibited a high emulsifying capacity. Its foaming and emulsifying properties improved with increasing pH, with the highest performance observed under alkaline conditions at pH 10. In addition, the protein concentrate showed high *in vitro* protein digestibility, reaching 81.38 ± 1.59%. Overall, the functional properties of the protein concentrate produced using ethanol pre-extraction were comparable to those of products obtained through conventional alkaline extraction, although they were somewhat more limited than those reported for certain protein fractions produced by ultrasound-assisted alkaline extraction.

This study that incorporating ethanol solution extraction as a pretreatment step is an effective approach for increasing total protein recovery from BSG. The resulting protein concentrate possessed techno-functional properties that support its potential use in various food systems, together with high *in vitro* protein digestibility. The developed sequential extraction approach offers a promising method not only for the valorization of BSG as a value-added protein source but also for protein recovery from other cereal-derived by-products.

Year 2026

Number of Pages : 77

Keywords : Plant Proteins, Ethanol Extraction, Alkaline Extraction, Ultrasound, Response Surface Methodology, Techno-functional Properties, Sustainability

TEŞEKKÜR

Tez çalışması boyunca, tüm aşamalarda bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, yardım ve desteğini benden hiç esirgemeyen, akademik duruşu ile bana iyi bir örnek olan öğrencisi olmaktan mutluluk duyduğum danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Esra TUNÇER'e, çalışmam süresince laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı olan arkadaşım Duygu GÜLER'e, 2023-37 numaralı proje kapsamında maddi desteklerinden dolayı Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (TÜBAP)'a, öğrenim hayatım boyunca beni destekleyen ve hep yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ezgi PAJO

01/07/2026

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT vii
TEŞEKKÜR x
İÇİNDEKİLER xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ xvi
ÇİZELGELER DİZİNİ xviii
BÖLÜM 1 1
GİRİŞ 1
BÖLÜM 2 3
LİTERATÜR ÖZETİ 3
2.1. Bitkisel Proteinler 3
2.2. Bira Mayşe Atıkları 4
2.3. Bira Mayşe Atıklarından Protein Fraksiyonlarının Üretimi 6
2.3.1. Alkali Ekstraksiyon 8
2.3.2. Enzimatik Ekstraksiyon 10
2.3.3. Ultrason Destekli Yöntemler 11
BÖLÜM 3 14
MATERYAL VE YÖNTEM 14
3.1. Materyal 14

3.2. Protein Konsantresi Üretimi 15
3.3. Analiz Yöntemleri 17
3.3.1. Protein Veriminin Belirlenmesi 17
3.3.2. Kimyasal Bileşimin Belirlenmesi 17
3.3.3. *İn Vitro* Protein Sindirilebilirliği 17
3.3.4. Tekno-Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi 18
3.3.5. İstatistiksel Analiz 21
BÖLÜM 4 23
BULGULAR VE TARTIŞMA 23
4.1. Protein Ekstraksiyon Sürecinin Optimizasyonu 23
4.1.1. Ultrason Destekli Alkol Çözeltisi İle Ekstraksiyon Basamağının Optimizasyonu 24
4.1.2. Ultrason Destekli Alkali Çözeltisi İle Ekstraksiyon Basamağının Optimizasyonu 29
4.2. Alkol Çözeltisi ile Ekstraksiyon Basamağının Toplam Protein Verimi Üzerine Etkisi 33
4.3. Kimyasal Bileşim 35
4.4. *İn Vitro* Protein Sindirilebilirliği 36
4.5. Tekno-fonksiyonel Özellikler 37
4.5.1. Çözünürlük 37
4.5.2. Su ve Yağ Tutma Kapasitesi 38
4.5.3. Emülsifikasyon Özellikleri 39
4.5.4. Köpük Oluşturma Özellikleri 42
4.5.5. Jelleşme Özellikleri 43
BÖLÜM 5 44
SONUÇ 44

KAYNAKLAR 46
TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT BİLİMSEL ÇIKTILAR 58
ÖZGEÇMİŞ 59

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

AACC	Amerikan Klinik Kimya Derneği
ABS	Absorbans
ANOVA	Varyans Analizi
BMA	Bira Mayşe Atığı
BMU	Bira Mayşe Unu
Dk	Dakika
EAI	Emülsiyon Aktivite İndeksi
ESI	Emülsiyon Stabilite İndeksi
KK	Köpük Kapasitesi
KS	Köpük Stabilitesi
PK	Protein Konsantresi
NSI	Azot Çözünürlük İndeksi
SD	Serbestlik Derecesi
STK	Su Tutma Kapasitesi
UV	Ultraviyole
YTK	Yağ Tutma Kapasitesi

Simgeler

a	Ağırlık
A_0	Başlangıç Absorbansı
A_{10}	10.Dakikadaki Absorbans
°C	Santigrat Derece
Δt	Zaman Değişimi
g	Gram
h	Hacim
HCl	Hidroklorik Asit
kHz	Kilohertz
KOH	Potasyum Hidroksit
M	Molar
m^2	Metrekare
mBr	Milibar
mL	Mililitre
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum Klorür
$NaHCO_3$	Sodyum Bikarbonat
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
pH	Hidrojen Potansiyeli
rpm	Dakikadaki Devir Sayısı
W	Watt
µL	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Arpanın dış ve iç yapısı 5

Şekil 2.2. Ultrasonik ses dalgalarının yayılması sırasında meydana gelen sıkışma ve seyrelme döngüleri sonucu kavitasyon kabarcıklarının oluşumu, büyümesi ve çökmesi 13

Şekil 3.1. a) Bira mayşe atığı (BMA) ve b) bira mayşe unu (BMU) örnekleri 14

Şekil 3.2. Protein konsantresi üretim basamakları 16

Şekil 3.3. Bovine serum albumin çözeltisi ile hazırlanan standart eğri 19

Şekil 4.1. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü-alkol derişimi kontür çizgileri 27

Şekil 4.2. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-alkol derişimi kontür çizgileri 28

Şekil 4.3. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-ultrason gücü 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-ultrason gücü kontür çizgileri 28

Şekil 4.4. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-sonikasyon süresi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü- sonikasyon süresi kontür çizgileri 32

Şekil 4.5. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü-alkol derişimi kontür çizgileri 33

Şekil 4.6. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-etanol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-etanol derişimi kontür çizgileri 33

Şekil 4.7. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin su tutma kapasitesi (STK) ve yağ tutma kapasitesi (YTK) değerleri 38

Şekil 4.8. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi 41

Şekil 4.9. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi 42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Bira atıklarının kuru madde cinsinden bileşimi 5

Çizelge 3.1. Deney tasarımında kullanılan faktörler ve seviye değerleri 22

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon verimliliği ve BMU için deneysel sonuçlar 24

Çizelge 4.2. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için ANOVA tablosu 25

Çizelge 4.3. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için indirgenmiş ANOVA tablosu 26

Çizelge 4.4. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için ANOVA tablosu 30

Çizelge 4.5. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için indirgenmiş ANOVA tablosu 31

Çizelge 4.6. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin bileşimleri 35

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Dünya genelinde artan nüfus ve şiddetlenen iklim krizi, hem alternatif gıda kaynaklarının bulunması hem de çevresel atıkların azaltılması ihtiyacını her geçen gün artırmaktadır. Bu durum tarımsal atıklardan ve gıda işleme yan ürünlerinden değerli bileşenlerin geri kazanımını çok daha önemli bir hale getirmektedir. Bununla birlikte son yıllarda artan nüfusun sürdürülebilir bir biçimde yeterli beslenebilmesi için alternatif protein kaynaklarına olan ilgi giderek artmaktadır. Bitkisel kaynaklar, daha uygun fiyatlı ve kolay erişilebilir olmaları ile iyi bir alternatif sunmaktadır (Ngo & Shahidi, 2021). Bitkisel atıklar ise hem çevresel yükü azaltarak hem de döngüsel ekonomiye katkı sunarak sürdürülebilirlik üzerine çok daha fazla olumlu etki göstermektedir.

Gıda sanayiinde biracılık sektörü, yüksek miktarda yan ürün ve atık üretmesi nedeniyle önemli bir potansiyel taşımaktadır (Mussatto vd., 2006). Bu sektörde en fazla üretilen yan ürün olan bira mayşe atıkları (BMA), küresel olarak yıllık ortalama 39 milyon ton miktarında üretilmektedir (Qin vd., 2018). Bununla birlikte yüksek lif, protein ve fenolik madde içeriği nedeniyle BMA kıymetli bir yan ürün olarak adlandırılmaktadır (Ahuja vd., 2024; Barrios vd., 2022; Celus vd., 2007). Atıkların azaltılması ve yan ürünlerin değerlendirilmesine olan ilginin giderek artması ve zengin bileşimi nedeniyle BMA gittikçe genişleyen bir çalışma alanı kazanmıştır (Jaeger vd., 2021). Bira mayşe atıklarının protein içeriği (%15–30) birçok tarımsal kalıntı ve yan ürünle karşılaştırıldığında çok daha yüksektir. Bu nedenle son yıllarda protein elde etmek için bira mayşe atığı kullanım olanaklarının araştırıldığı çalışma sayısı artmıştır (Qin vd., 2018).

BMA'nın protein bileşenleri albümin, globulin, hordein ve gluteninden oluşmakla birlikte prolamin sınıfında yer alan hordeinler ana protein kısmıdır ve toplam proteinlerin yaklaşık olarak %50'sini oluşturmaktadır (Connolly vd., 2019; Zhang vd., 2022). Alkolde çözünebilen ancak suda çözünmeyen proteinler olarak, buğday gluteninin (gliadinler ve gluteninler), çavdar secalinlerinin ve yulaf aveninlerinin arpa analoglarıdırlar (Boukid, 2026). BMA'dan protein konsantresi veya izolatı üretilirken genellikle proteinler alkali ortamda (pH 10–12) çözündürülmekte ve ardından izoelektik noktada çökeltilmektedir (Lqari vd., 2002). Bu işlemde alkolde çözünen hordein fraksiyonları ekstrakte edilememektedir. Literatürde yer alan çalışmalarda baskın protein türü hordein olan arpadan protein geri kazanımı için alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının kullanıldığı görülmektedir (Houde vd., 2018; Jaeger vd., 2021; Wang vd., 2010). Ancak BMA ile yapılan çalışmalar incelendiğinde genel olarak alkol çözeltisi basamağının bulunmadığı görülmektedir. Yalnızca kısıtlı sayıda ve yeni yapılan birkaç çalışmada alkol çözeltisinin ekstraksiyon sürecine eklendiği belirlenmiştir (Chin vd., 2022; Chin vd., 2024).

Bu çalışmanın amacı, bira mayşe atıklarından protein geri kazanımında yaygın olarak kullanılan alkali ekstraksiyon yöntemine ön işlem olarak etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağını ekleyerek, BMA'nın içerisinde bulunan alkolde çözünen hordein fraksiyonlarının geri kazanılmasını sağlamak ve böylece toplam protein verimini artırmaktır. Bu kapsamda ultrason destekli ekstraksiyon işlemi ile ekstraksiyon veriminin yükseltilmesi hedeflenmiştir. En yüksek protein geri kazanımının elde edilmesi amacıyla alkol ve alkali ekstraksiyon basamakları ayrı ayrı optimize ederek, optimum koşullarda elde edilen protein fraksiyonlarının tekno-fonksiyonel özellikleri belirlenmiştir. Böylece, BMA'dan geri kazanılan proteinlerin gıda sistemlerinde kullanım potansiyelinin değerlendirilmesine yönelik gerekli bilimsel verilerin ortaya konulması amaçlanmıştır.

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Bitkisel Proteinler

Proteinler vücudun büyüme ve gelişmesini sürdürmek için gerekli olan temel bir makro besin öğesidir. Dünya genelindeki nüfus artışı, gıdaya ve özellikle yeni protein kaynaklarına duyulan gereksinimin artmasına neden olmuştur. Bu kaynakların sürdürülebilir olması adına bitkisel ve gıda yan ürünlerinden elde edilen proteinler önemli bir potansiyel taşımaktadır (Gorguc vd., 2019).

Hayvansal protein üretimi genellikle daha yüksek sera gazı emisyonları, daha yoğun su ve arazi kullanımı ve etik kaygılar içermektedir (Ajomiwe vd., 2024; Balballi & Karabulut, 2025). Buna ek olarak hayvansal proteinler pahalıdır, arzı sınırlıdır ve doğrudan tatlı su kaynaklarının tükenmesi, iklim değişikliği, biyolojik çeşitlilik kaybına neden olmaktadır (Atkare vd., 2026; Kumar vd., 2021). Beslenme düzeninde ağırlıklı olarak hayvansal protein kaynaklarının tüketimi sıklıkla kardiyovasküler hastalıklar, obezite, diyabet, metabolik hastalıklar ve bazı kanser çeşitleri gibi insan hastalıklarıyla ilişkilendirilmektedir (Beal vd., 2023; Ferrari vd., 2022; Kumar vd., 2021). Bu nedenle son zamanlarda, bitkisel kaynaklı proteinler, insan beslenmesinde hayvansal proteinlerin çok yönlü ve ekonomik bir alternatifi olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Bitkisel proteinlerin çeşitliliğini genişletmek; beslenme ve duyusal ihtiyaçları karşılamak, küresel gıda sistemlerinin dayanıklılığını artırmak ve sürdürülebilir üretimi desteklemek için elzemdir (Boukid, 2026; Naibaho vd., 2025).

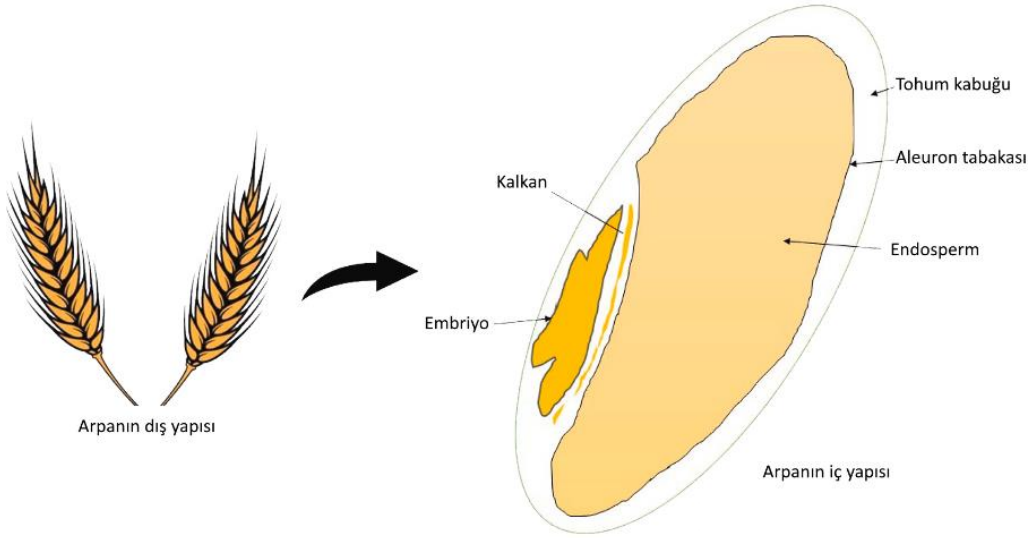
Beslenmede yüksek kaliteli proteinlerin önemine dair artan farkındalık, araştırmacıları ve beslenme uzmanlarını çevre dostu ve sürdürülebilir protein kaynakları aramaya yönlendirmiştir. Bitki kaynaklı proteinler, hayvansal proteinlere göre daha sürdürülebilir, çok yönlü, kolay bulunabilir ve ekonomik olduğu için daha çok ilgi görmektedir (Ngo & Shahidi, 2021; Su vd., 2026). Bitkisel protein kaynağı olarak baklagiller (soya fasulyesi, bezelye, fasulye, nohut, acı bakla, bakla, börülce), tahıllar (pirinç, buğday, darı, sorgum, mısır ve arpa), yağlı tohumlar (chia, keten tohumu, susam, kabak ve ayçiçeği), kuruyemişler (badem ve fındık), yapraklar, yalancı tahıllar (amaranth, kinoa ve karabuğday) ve yumrular kullanılabilmektedir (Sá vd., 2020; Su vd., 2026). Bu çeşitli kaynaklardan elde edilen bitkisel proteinler, genellikle düşük miktarda doymuş yağ asitleri içermeleri ve sürdürülebilirlik ile çevresel koruma hedefleriyle uyumlu olmaları nedeniyle giderek daha çok ilgi çekmektedir (Ke & Pang, 2026). Baklagiller, tahıllar ve kuruyemiş gibi hammaddeler kullanılarak geliştirilen çeşitli bitki temelli gıda ürünleri, hayvansal ürünlerin görünümünü, lezzetini ve tekstürünü taklit edecek şekilde formüle edilmektedir (Alehosseini vd., 2026; Boehm vd., 2023). Hayvansal proteinlerin alternatif bitkisel kaynaklarla değiştirilmesi, bu proteinlerin uygun maliyetli ekstraksiyonu ve gıdalara besin takviyesi olarak dahil edilmesi için uygun teknolojilerin geliştirilmesi ile sağlanabilir.

Bitkisel proteinlerin gıdalarda kullanılmasındaki en önemli aşama, bitki matrislerine dayalı uygun ekstraksiyon teknolojisinin kullanılmasıdır (Kumar vd., 2021). Endüstriyel gıda yan ürünlerinden geri kazanılan proteinler farklı şekillerde yeniden kullanılabilmektedir. Bunlar arasında gıda zenginleştirme ve diyet takviyeleri için besin maddesi olarak, tekno-fonksiyonel gıda bileşenleri olarak (emülsifiye edici, jelleştirici, köpürtücü ve su bağlayıcı özellikleri), çeşitli gıda, gıda dışı ve sağlık ürünleri için biyopolimer geliştirme malzemesi olarak kullanımları yer almaktadır (Pojić vd., 2018). Tüm bu farklı kullanım alanları ile küresel protein pazarının 2020 ile 2027 yılları arasında %9,1 oranında büyümesi öngörülmektedir (Bailey vd., 2023).

2.2. Bira Mayşe Atıkları

Biracılık endüstrisinin önemli bir yan ürünü olan bira mayşe artıkları, Şekil 2.1.'de (Raj vd., 2023) görüldüğü gibi esas olarak arpa tanesi kabuklarından, yani orijinal tahılın

perikarpından, tohum kabuğundan, dış kabuktan ve aleuron tabakasından oluşmaktadır (Connolly vd., 2014; Mussatto vd., 2006).



Şekil 2.1. Arpanın dış ve iç yapısı

BMA, bira mayalama işlemi sırasında şıra üretiminden sonra kalan yan atıktır (Devnani vd., 2023). BMA'nın bileşimi kül, yağ, lignin, protein, hemiselüloz, selüloz ve selülozik olmayan polisakkaritler açısından zengindir (Çizelge 2.1.) (Barrios vd., 2022; Steiner vd., 2015; Stojceska & Ainsworth, 2008; Xiros & Christakopoulos, 2012). BMA, biracılık endüstrisi tarafından üretilen toplam atıkların yaklaşık %85'ini oluşturmaktadır (Mussatto vd., 2006). BMA'nın, yaklaşık %15-30 oranında protein içermesi nedeniyle alternatif bir protein kaynağı olarak ve yüksek proteinli bitki bazlı ürün formülasyonları için uygun bir ham madde olarak kullanılma potansiyeli bulunmaktadır (Devnani vd., 2023).

Çizelge 2.1. Bira atıklarının kuru madde cinsinden bileşimi

Besin Öğesi	Miktar (%)
Kül	2-5
Yağ	10
Lignin	12-28
Protein	15-30
Hemiselüloz	20-25
Selüloz	17

Gıda sektörünün önemli bir atığı olan BMA, protein ve lif açısından zengin olmasına rağmen sıklıkla hayvan yemi olarak kullanılmaktadır (Celus vd., 2007). BMA gibi yan ürünlerin etkin yönetimi, hem atık bertarafından kaynaklanan çevre kirliliği tehlikesinin kontrol edilmesine hem de bu kıymetli atığın gıda endüstrisi için yararlı hale getirilmesine katkıda bulunacaktır. BMA, gıda dışı sektörlerde kompost, biyogaz ve yüksek değerli mikroorganizmaların yetiştirilmesi için substrat kaynağı olarak değerlendirilerek sürdürülebilirlik hedeflerine katkı sağlamaktadır (Combest vd., 2022).

Literatürde yer alan çalışmalar son birkaç yılda, bira mayşe atıklarının değerlendirilmesi amacıyla, bir sorpsiyon malzemesi olarak kullanımını (De Araujo vd., 2021; Wierzba & Kłos, 2019), uygun ön işlemlerden sonra yakıt olarak değerlendirilmesini (Sperandio vd., 2017), hayvan (Mancini vd., 2019; Sperandio vd., 2017) ve insan beslenmesinde (Cuomo vd., 2022; Nocente vd., 2021; Nocente vd., 2019) yeniden kullanılmasını araştırmaktadır. Gıda ile ilgili yapılan çalışmalarda düşük maliyeti ve yüksek besin değeri nedeniyle BMA'nın unlu mamuller, et ve süt ürünleri gibi çeşitli formülasyonlarda kullanım olanakları araştırılmıştır (Atalay vd., 2020). Bu çalışmalarda BMA kurutulup öğütüldükten sonra un haline getirilerek (BMU) kullanılmıştır.

BMU, sosis (Frankfurter) (Özvural vd., 2009), ekstrüde atıştırmalıklar (Stojceska & Ainsworth, 2008), ekmek (Steinmacher vd., 2012), kurabiye (Petrovic vd., 2017), kek (Combest vd., 2022), yoğurt (Naibaho vd., 2022), buğday ekmeği (Ktenioudaki vd., 2012), pizza hamuru (Amoriello vd., 2020), geleneksel ve ekşi mayalı ekmek (Ktenioudaki vd., 2015; Steinmacher vd., 2012) formülasyonlarına ilave edilmiştir. BMA'nın biyoaktif bileşenlerini gıda maddelerine dahil etmek için bazı girişimlerde bulunulsa da, bu alanda daha fazla araştırma yapılması gerektiği literatürde vurgulanmıştır (Rachwal vd., 2020). Bunlara ek olarak BMA'nın sürdürülebilir geri kazanımı ve yeniden kullanımı için, bitkisel bazlı protein fraksiyonları eldesinin protein çeşitliliğinin artmasına ve endüstriyel protein üretim sürecinin hızlanmasına katkıda bulunacağı ifade edilmiştir (Wen vd., 2019).

2.3. Bira Mayşe Atıklarından Protein Fraksiyonlarının Üretimi

Bitki kaynaklı proteinler çeşitli bitkiler kullanılarak un, konsantre veya izolat formunda üretilmektedir. Bitkilerin kurutulup öğütülmesi ile elde edilen form un olarak

adlandırılmaktadır. Sonrasında uygulanan özütleme basamaklarında farklı saflıklarda olan konsantre veya izolat üretilmektedir (Ismail vd., 2020). Özütleme, bitkilerden biyoaktif bileşiklerin ayrılması ve geri kazanılması için kullanılan temel bir işlemdir (Belwal vd., 2018). Proteinlerin özütlenmesi için uygulanan işlemler temel olarak proteinlerin çözünebilirliklerine göre farklılık göstermektedir.

Proteinler çözünme özelliklerine göre Osborne sınıflandırmasına uygun olarak (albüminler, globulinler, prolaminler ve glutelinler) ayrılmaktadırlar (Osborne, 1924). Genellikle protein özütleme prosedürlerinde proteinler uygun çözücüler ile çözünür forma getirilmekte ve sonrasında çökertilerek toplanmaktadırlar. Özütleme işleminde çözücü olarak albüminler için su, globulinler için tuzlu su, prolaminler için etanol çözeltileri ve glutelinler için ise seyreltik asit veya baz çözeltilerinde kullanılmaktadır (Mohamed vd., 2007).

Alkali bir pH'ta, lignoselülozik BMA matrisi kısmen parçalanmakta ve sistemdeki proteinler net negatif yüke ulaşmaktadır. Polipeptit zincirleri içinde ve arasında artan itme kuvvetleri, protein çözünürlüğünün artmasına yol açmaktadır. Sonrasında sistem pH'ının proteinlerin izoelektrik noktasına ayarlanması ile proteinler çözünmez hale gelmekte ve çökelmektedir (Chin vd., 2024; Vieira vd., 2014).

BMA protein ekstraksiyonu araştırmaları 1980'lerin başında başlamış olup (Rodriguez vd., 2023) bu araştırmaların sayısı son yıllarda artış göstermiştir (Chin vd., 2024; Lynch vd., 2016; Zhang vd., 2022). BMA, yüksek oranda nem (%75-80) içerdiğinden; raf ömrünü uzatmak, hacmini azaltmak ve nakliyesini kolaylaştırmak için ilk olarak kurutulması gerekmektedir (Karlović vd., 2020). Kurutma işleminden sonra, BMA'dan protein izolatı elde etmek için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Devnani vd., 2023).

Çoğu ekstraksiyon yöntemi genel olarak iki adımı içermektedir: proteinin çözündürülmesi ve ardından protein geri kazanımı (Devnani vd., 2023). Bu amaçla çeşitli yenilikçi teknolojiler ile de ekstraksiyon işlemi desteklenebilmektedir. BMA'ya uygulanan yenilikçi teknolojiler arasında hidrotermal, enzimatik, ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga uygulaması gibi ön işlemler ile asit, asit-alkali, süperkritik akışkan, darbeli elektrik kimyasal işlemler bulunmaktadır (Alonso-Riaño vd., 2023; Li vd., 2021; Rodriguez vd., 2023; Wang vd., 2021; Wen vd., 2019).

2.3.1. Alkali Ekstraksiyon

Alkali ekstraksiyon, BMA dahil olmak üzere farklı türdeki tarımsal kaynaklardan protein izolatları ve konsantrelerinin ekstraksiyonu için en yaygın kullanılan yöntemlerden biridir (Rodriguez vd., 2023). NaOH ve KOH gibi alkaliler, bazik pH'ı korumak ve organik ekstraksiyona göre daha yüksek ekstraksiyon verimi elde etmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bazik pH, proteindeki disülfit bağlarının kırılmasına neden olmakta ve bu da protein geri kazanımını ve verimini artırmaktadır (Contreras vd., 2019). Proteinlerin çözünürlüğü, yüksek pH değerlerinde asidik ve nötr amino asitlerin iyonlaşmasına bağlı olarak artmaktadır. Bu nedenle, alkali koşullarda gerçekleştirilen protein ekstraksiyonunun daha yüksek protein verimi sağlamasına neden olmaktadır (Kumar vd., 2021).

Literatürde yer alan çalışmalar bu yöntemin BMA'dan protein kazanımı amacıyla sıklıkla kullanıldığını göstermektedir. Örneğin Connolly vd. (2013) yaptıkları araştırmada BMA'nın alkali çözelti ile ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme ile protein açısından zengin izolatlar elde etmişlerdir. Çalışmada farklı alkali çözeltisi derişimleri, BMA-su oranları ve izoelektrik çöktürme için farklı pH değerleri test edilmiştir. Çalışma sonunda ekstraksiyon verimi %59 olarak bulunmuş ve 110 mM NaOH derişiminde çözdürme ekstraksiyon ve ardından pH 3,8'de izoelektrik çökeltme yapılmasının en yüksek verim eldesini sağladığı belirtilmiştir. Elde edilen protein izolatlarının fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanıma uygun olduğu belirtilmiştir (Connolly vd., 2013).

Karlsen vd. (2022), yaptıkları çalışmada BMA'dan protein izolasyonu için alkali ekstraksiyon ve izoelektrik çöktürme yöntemini incelemiştir. Bu çalışmada, sıcaklık, süre, çalkalama işlemi, çökeltme çözeltisi tuzluluğu, izolasyon modu ve ön işlem olarak yağ veya ligninlerin uzaklaştırılmasının protein verim ve içeriği üzerine etkileri araştırılmıştır. En yüksek protein içeriği (%54,8) 30 °C'de, en yüksek verim (%10,5) ise 60 °C'de elde edilmiştir. NaCl ile çöktürme, protein içeriğini ve verimi düşürmüştür. Dondurarak kurutma ve üçlü ekstraksiyon, %20-25 protein içeriği ve %45-50 verim sağlamıştır. Lignin uzaklaştırma işlemi protein içeriğini artırırken, yağ giderme basamağı verimi azaltmıştır. Optimum protein içeriği ve verimi için daha fazla çalışma gerektiği belirtilmiştir (Karlsen vd., 2022).

Hadinoto vd. (2024), yaptıkları çalışmada BMA'dan protein ekstraksiyonunda kullanılan alkali çözeltisinin pH değerinin ekstraksiyon verimi, fizikokimyasal özellikleri (moleküler ağırlık, protein ikincil yapıları, amino asit bileşimleri, termal stabilite) ve fonksiyonel özellikleri (su/yağ tutma kapasiteleri, emülsiyon oluşturma, köpürme özellikleri) üzerine etkilerini incelemiştir. Alkali ekstraksiyon işleminde faktör olarak pH (8-12), sıcaklık (50-70 °C) ve katı/çözücü oranı (1:10-1:20 a/h) incelenmiştir. İşlem 1,5 saat ekstraksiyon süresi ve çözücü olarak sulu NaOH çözeltisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Alkali ekstraksiyon işlemi için ideal ekstraksiyon sıcaklığının 60°C ve BMA-çözücü oranının ise 1:20 (a/h) olduğu belirtilmiştir. Verimi maksimize etmek (%37-46) ve fonksiyonel özellikleri iyileştirmek için çözelti pH değerinin 11-12 olarak kullanılması önerilmiştir (Hadinoto vd., 2024).

Bir başka çalışmada Silva vd. (2023), pH değeri (8-12) ve sıcaklığın (40-80°C) BMA'dan elde edilen konsantrelerde işlem verimi, fonksiyonel ve reolojik özellikler üzerine etkilerini araştırmıştır. Çalışmada 1:17 katı-sıvı oranında tek aşamalı alkali ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Araştırma sonucunda en yüksek protein verimi pH 11 ve 60 °C koşullarında %87 olarak belirlenmiştir. Seçilen pH değerinin verimle birlikte konsantrelerin çözünürlük başta olmak üzere fonksiyonel ve reolojik özelliklerini etkilediği ifade edilmiştir (Silva vd., 2023).

Alkali ile çözdürme ve çözünür asit ile çöktürme yöntemi, bitki proteinlerinin alkali bir ortamda kolayca çözünmesi ve asidik izoelektrik koşullar altında çökelmesi nedeniyle bitki kaynaklı proteinlerin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır (Zhang vd., 2022). Literatürde bu yöntemde kısıtlı olan ekstraksiyon verimini artırmak için çeşitli ön işlemlerin uygulandığı görülmektedir. Örneğin Da Fonseca vd. (2023) yaptığı çalışmada, BMA'dan protein eldesi için azaltılmış basınçlı alkali ön işlem uygulamışlardır. Maksimum verimin (%80) 70 °C sıcaklık, 455 mBr basınçta, 1 saat, 180 mM NaOH konsantrasyonunda elde edildiği gösterilmiştir. Düşük basınçlı alkali ön işlemin, BMA gibi protein açısından zengin lignoselülozik malzemelerden protein elde etmek için verimli olduğu belirtilmiştir. Bir başka çalışmada Farjami vd. (2024), BMA'dan alkali ekstraksiyon işleminde sıcaklığın (oda sıcaklığı ve 50 °C koşullarında) kompozisyon ve fonksiyonel özellikler üzerindeki etkisini incelemiştir. Ekstraksiyon işlemi pH 11, %15 a/h ve 2 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda 50 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminin protein oranını yaklaşık %6 azaltmasına rağmen,

toplam konsantre kuru ağırlığını yaklaşık %30 artırdığı belirtilmiştir. Bununla birlikte emülsiyon stabilitesi ve köpürme kapasitesinin önemli ölçüde iyileştiği raporlanmıştır (Farjami vd., 2024).

2.3.2. Enzimatik Ekstraksiyon

Alkali ekstraksiyonda protein geri kazanımının kısıtlı olması nedeniyle literatürde ön işlem olarak enzim uygulaması yapılan veya enzimatik ekstraksiyon metodu ile BMA'dan protein izolatı üretilen çalışmalar da yer almaktadır. Enzimatik ön işlem, bağlı bileşikleri serbest bırakmak, genel verimi artırmak için etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir (Azmir vd., 2013). Özellikle lignoselülozik biyokütleden protein ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır (Naibaho vd., 2025). Enzimatik hidroliz, enzimlerin biyolojik olarak parçalanabilirliği ve kimyasal atık oluşumunun azalması nedeniyle çevre dostu ve sürdürülebilir biyoproses stratejileriyle uyumlu bir yöntemdir. Avantajlarına rağmen, enzimatik hidrolizin, esas olarak enzim maliyetleri ve kimyasal alternatiflere kıyasla daha uzun işlem süresi nedeniyle kullanımı kısıtlıdır (Belardi vd., 2025; Li vd., 2021; Qazanfarzadeh vd., 2023).

Literatürde BMA'dan enzim destekli protein ekstraksiyonunu araştıran pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin He vd. (2019) yaptıkları araştırmada, BMA'dan protein ve lif bileşenlerini aynı anda ayırmak amacıyla enzimatik ekstraksiyon yöntemini kullanarak yüksek proteinli ürün eldesini hedeflemiştir. Yapılan çalışmada kimyasal madde (sodyum hidroksit ve sodyum bisülfit) ve enzim (Alkalaz) konsantrasyonlarının verim ve ürün bileşimi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. En etkili ekstraksiyonun sodyum hidroksit ve Alkalaz ile gerçekleştiği ve optimum koşullarda protein ayırma veriminin %84'e (20 µL/g BMA) ulaştığı belirtilmiştir (He vd., 2019).

Bir başka çalışmada Connolly vd. (2019) BMA içindeki biyoaktif peptitlerin eldesi için alkali (ön işlem olarak enzim uygulaması ile) ve enzimatik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı yöntemi incelemişlerdir. Sonuç olarak yazarlar, enzimatik ekstraksiyon yönteminin daha yüksek verime (%63,09) sahip olduğunu belirtmişlerdir. Zhang vd. (2022) yaptıkları çalışmada, selülaz enzimi ile ön işlem uygulanan veya uygulanmayan BMA'dan alkali ekstraksiyon ile protein izolatı üretmiştir. Ön işlem uyguladığında protein verimi %50,18 bulunurken enzim uygulaması yapılmadığında bu değer %66,41

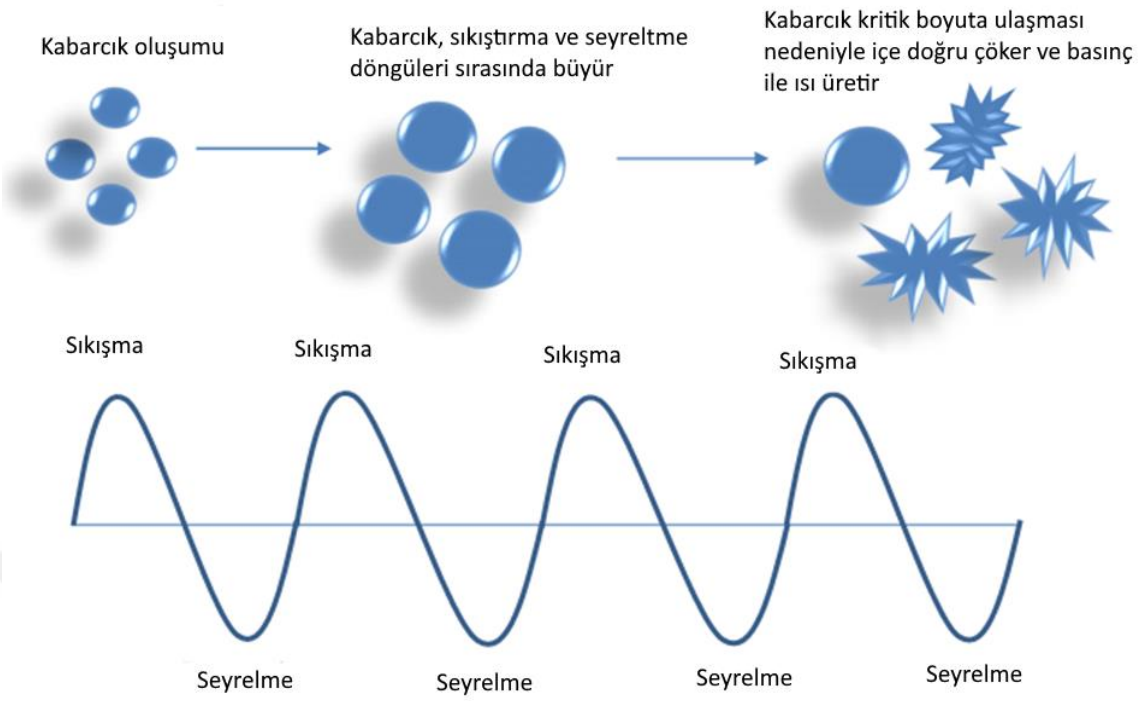
olarak bulunmuş, iki yöntemin istatistiksel olarak farklı olmadığı ifade edilmiştir. Çalışmada sonuç olarak, BMA'nın kaliteli protein kaynağı olarak gıda endüstrisine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (Zhang vd., 2022). Belardi vd. (2025) BMA'dan protein, fenolik bileşikler ve oligosakkaritlerin ardışık ekstraksiyonu için enzimlerden yararlanmıştır. Temel faktörler olarak enzimatik hidroliz pH değeri (6,5 ve 8,5), enzim yükü (50–100 μL/g) ile hidrotermal işlem sıcaklığı (120–150 °C) ve süresi (30–60 dk) değerlendirilmiştir. Protein ekstraksiyonunda en yüksek verim (%65), pH 8,5 ve 100 μL/g enzim yükünde elde edilmiştir (Belardi vd., 2025). Enzim uygulaması ile verim artışı mümkün olsa da bu yöntemin maliyetli olması alternatif yaklaşımların araştırılmasını gerekli kılmıştır. Bu amaçla çeşitli yenilikçi teknolojiler ile de ekstraksiyon işlemi desteklenebilmektedir.

2.3.3. Ultrason Destekli Yöntemler

Ultrason destekli ekstraksiyon, BMA'dan protein ekstraksiyonuna yardımcı olmak için uygun maliyetli, basit ve etkili bir yöntemlerden biri olarak nitelendirilmiştir (Li vd., 2021). Ultrason, enerji tasarrufu sağlaması ve kimyasallardan arındırılmış olması nedeniyle öne çıkan, termal olmayan ve çevre dostu bir teknolojidir (Phongthai vd., 2017; Yu vd., 2019). Ultrason, ultrasonik banyo veya ultrasonik prob kullanarak ekstraksiyon için insan kulağının duyabileceği frekans aralığının ötesinde, 20 kHz'den yüksek frekanslara sahip mekanik dalgalar kategorisine ait akustik dalgalardır (Belwal vd., 2018; Fu vd., 2020).

Ultrason destekli ekstraksiyon geleneksel yöntemlere kıyasla ekstraksiyon verimini yaklaşık %20 artırmakta ve tekno-fonksiyonel özellikleri geliştirmektedir (Chandran vd., 2023). Ultrason işlemi sırasında, sıvı bir ortamda oluşan hava kabarcıkları genişleyip patlayarak kavitasyona neden olmaktadır (Gençdağ vd., 2020). Kavitasyon sırasında kabarcıklar çökerek daha yüksek kesme kuvveti üretmektedir (Belwal vd., 2018). Akustik basınç yeterli değilse, kavitasyon kabarcıkları seyreltme ve sıkıştırma döngüleri sırasında sırasıyla büyümekte ve büzülmektedir. Bununla birlikte, kabarcıklar çökme veya içe doğru patlama için kritik boyuta ulaşamazsa, bu olay genellikle kavitasyon etkisini zayıflatan kararlı kavitasyon olarak tanımlanmaktadır (Fu vd., 2020).

Ultrason uygulaması sırasında sisteme iletilen ses dalgaları basınç, kayma gerilimi ve sıcaklık gradyanı oluşturarak malzemenin yapısını fiziksel olarak etkilemektedir. Bu etkiler biyolojik hücrelerin bozulmasına, ortama ısı ve enerji yayılmasına neden olmaktadır (Şekil 2.2.) (Ashfaq & Younis, 2021). Birçok çalışma, ultrason ön işleminin pirinç kepeği (Phongthai vd., 2017), yağsız soya gevreği (Karki vd., 2010) ve zeytin çekirdekleri (Roselló-Soto vd., 2014) gibi tarımsal ürünlerden protein ayrılmasını iyileştirdiğini bildirmiştir (Yu vd., 2019). Ultrason destekli alkali ekstraksiyonun, BMA'dan istenen fonksiyonel özelliklere sahip olan protein verimini önemli ölçüde artırabileceği açıkça gösterilmiştir (Gonzalez-Garcia vd., 2021; Junttila, 2022; Li vd., 2021). Örneğin Li vd. (2021) yaptıkları çalışmada, ultrason destekli ekstraksiyonun BMA'dan protein eldesi için verim artırmada etkili olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada farklı ultrason güçleri, çalışma döngüleri ve ultrason süreleri test edilmiştir. En yüksek verimin 250 W güçte, %60 çalışma döngüsü ile 20 dakika boyunca ultrason uygulaması sonucunda elde edildiği bildirilmiştir. Ayrıca ultrason destekli ekstraksiyon, geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında verimin %45,71'den %86,16'ya çıktığı belirtilmiştir (Li vd., 2021). Bir diğer çalışmada Santos vd. (2024) BMA'dan protein eldesi için yüksek güçlü ultrason destekli ekstraksiyon sürecini optimize etmiştir. Faktöriyel tasarım ile ultrason gücü, süre ve sıcaklık faktörleri incelenmiş olup en uygun koşullar 550 W, 10 dk ve 65 °C olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen protein konsantrelerinin protein içeriği, geleneksel yönteme göre %8 daha yüksek bulunmuş ve ekstraksiyon süresi %92 oranında kısalmıştır (Santos vd., 2024).



Şekil 2.2. Ultrasonik ses dalgalarının yayılması sırasında meydana gelen sıkışma ve seyrelme döngüleri sonucu kavitasyon kabarcıklarının oluşumu, büyümesi ve çökmesi

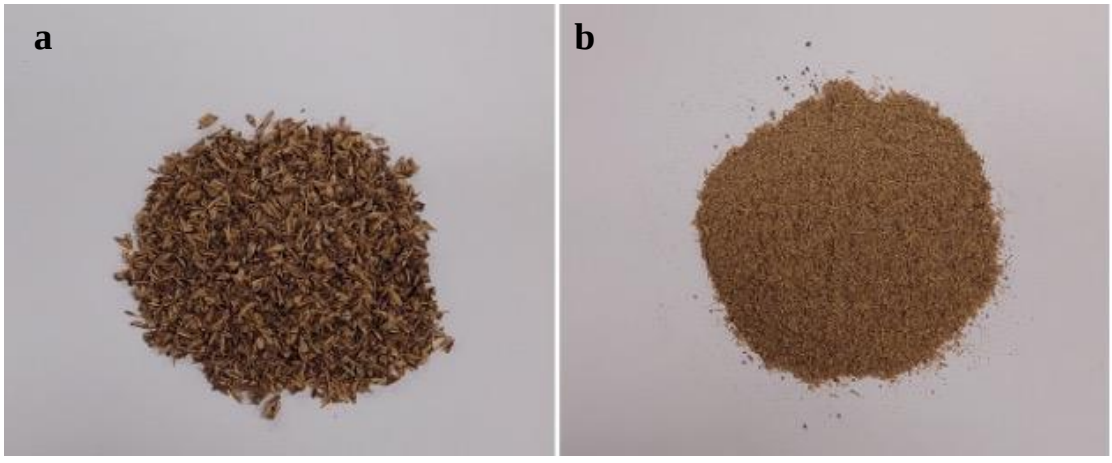
Ribeiro-Sanches vd. (2026) ise yaptıkları çalışmada, BMA'dan protein ekstraksiyonunu artırmak amacıyla yüksek yoğunluklu ultrason (1200 W) ve alkali hidrojen peroksitin (%3) tek başlarına ve bir arada kullanımını değerlendirilmiştir. En yüksek verim değerine her iki yöntemin birlikte kullanılması sonucunda ulaşıldığı belirtilmiştir. Ultrason uygulaması, kavitasyon etkisiyle BMA yapısını parçalayarak protein ekstraksiyon verimini geleneksel yönteme kıyasla %69,6-139,6 oranında artırmıştır. Ultrason uygulamasının protein verimini yükseltirken, proteinlerin renk özelliklerini koruduğu ve su tutma kapasitesini yaklaşık %24 oranında iyileştirdiği gösterilmiştir (Ribeiro-Sanches vd., 2026).

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışmada kullanılan bira mayşe atıkları (BMA) Humulus Lupulus Alkollü Alkolsüz İçecekler Gıda Turizm Sanayi ve Ticaret Ltd. Şti. (Kubau Brewery) tarafından hibe edilmiştir. Deneyler yalnızca malt kullanılarak üretilen biraların mayşe atıkları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu işlem kapsamında, BMA örnekleri ilk olarak literatürde belirtildiği gibi etüvde 60 °C'de 18 saat boyunca bekletilerek kurutulmuştur (Bartolomé vd., 2002; Celus vd., 2006; Connolly vd., 2013). Kurutma işleminin ardından, elde edilen materyal ev tipi bıçaklı öğütücü ile öğütülerek bira mayşe unu (BMU) haline getirilmiştir (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. a) Bira mayşe atığı (BMA) ve b) bira mayşe unu (BMU) örnekleri

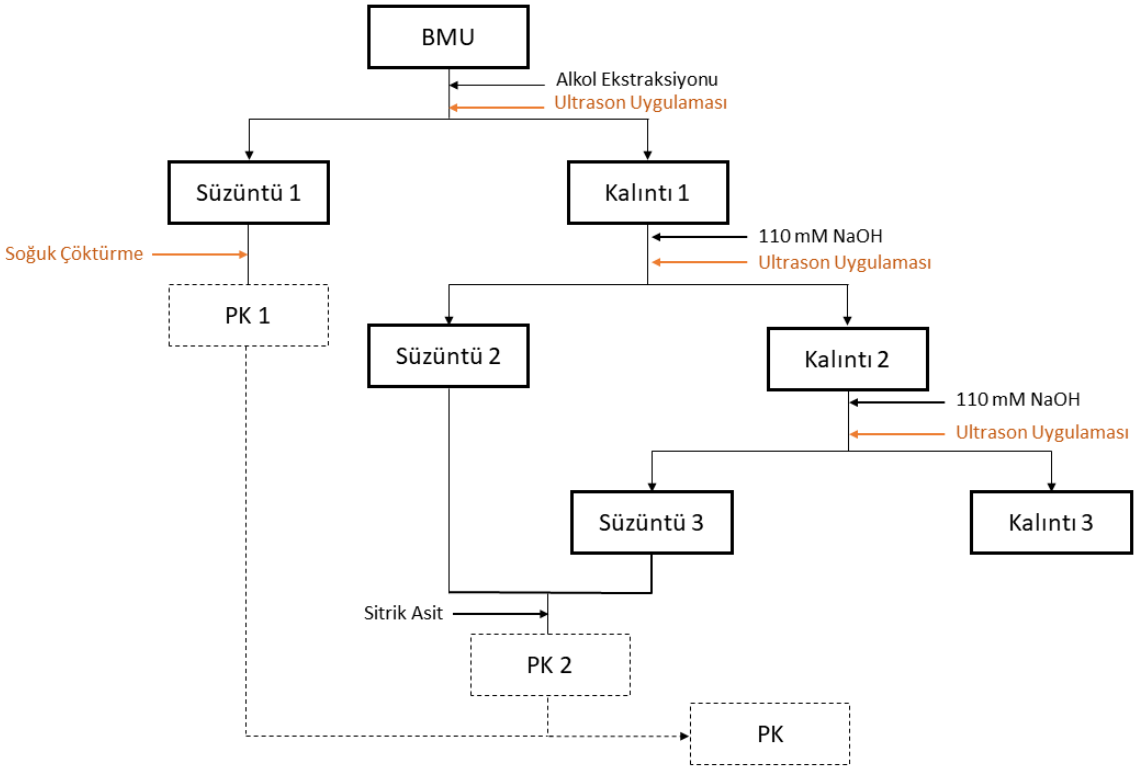
3.2. Protein Konsantresi Üretimi

Protein konsantresi (PK) üretimi için alkol ve alkali çözeltileri kullanılarak ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Verimi artırmak amacıyla, her iki ekstraksiyon basamağında yüksek yoğunluklu ultrason (Scientz JY92-IIN, NingBo Scientz Biotechnology Co. Ltd., Ningbo, China) uygulanmıştır. Ekstraksiyon sürecini değerlendirmek amacıyla alkol çözeltisi derişimi, ultrason gücü ve uygulama süresi faktörlerinin protein verimi üzerine etkisi araştırılmıştır.

Konsantre üretim basamakları aşağıdaki sıra ile gerçekleştirilmiştir ve Şekil 3.2'de özetlenmiştir:

1. 50 mL alkol çözeltisi içine 2,5 g BMU ilave edilerek belirlenen ultrason gücünde ve süresinde ultrason uygulaması gerçekleştirilmiştir. Ultrason uygulaması sırasında ısınmayı önlemek için örneğin bulunduğu beher buz dolu bir kap içerisine yerleştirilmiştir. Elde edilen karışımlar daha etkin bir ayırma işlemi için santrifüjlenmiştir (8500 g, 15 dk). Santrifüj işlemi sonrasında sıvı fazın filtrasyonu sonucunda elde edilen kısım Süzüntü 1, santrifüj tüpünde kalan katı kısım ise Kalıntı 1 olarak adlandırılmıştır. Süzüntü 1 kısmında yer alan protein geri kazanılmış, Kalıntı 1 kısmı ise alkali özütleme basamağında kullanılmıştır.
2. Çözünen protein fraksiyonunu Süzüntü 1 kısmından ayırmak için soğuk çöktürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bunun için özütleme işlemi sonrasında elde edilen Süzüntü 1 kısmı, bir gece boyunca buzdolabı sıcaklığında (4 °C) bekletilmiştir. Çöken protein fraksiyonu daha etkin bir ayırma işlemi için santrifüjlenmiştir (10000 g, 15 dk, 4 °C). Burada elde edilen çökelti protein konsantrelerinin ilk kısmını oluşturmuştur (PK 1).
3. Alkali çözeltisi ile özütleme basamağı için Kalıntı 1 kısmına 45 mL 110 mM NaOH çözeltisi ilave edilmiş ve karışıma belirlenen ultrason gücünde ve süresinde ultrason uygulaması gerçekleştirilmiştir. Elde edilen karışımlar daha etkin bir ayırma işlemi için santrifüjlenmiştir (8500 g, 15 dk). Santrifüjleme işleminden sonra sıvı faz süzülerek Süzüntü 2 kısmı elde edilmiştir. Katı faz ise Kalıntı 2 olarak adlandırılmıştır. Kalıntı 2 kısmına tekrar 45 mL 110 mM NaOH eklenerek işlem tekrarlanmıştır. İkinci santrifüj işleminden sonra süzme işlemi uygulanarak Süzüntü 3 ve Kalıntı 3 kısımları elde edilmiştir.

4. Süzüntü 2 ve Süzüntü 3 kısımları birleştirilerek asidik çöktürme basamağı uygulanmıştır. Çöktürme işlemi için doygun sitrik asit çözeltisi kullanılmıştır. Karışıma BMA proteinlerinin izoelektrik noktası olan pH 3,8 değerine ulaşılana kadar sitrik asit çözeltisi ilave edilmiştir. İzoelektrik pH değeri altında çözünürlük özelliğini kaybeden proteinler karışım içinde çökelmiştir. Oluşan çökelti santrifüj kuvvetleri yardımıyla ayrılarak (10000 g, 15 dk, 4 °C) elde edilen konsantre PK 2 olarak adlandırılmıştır.
5. PK 1 ve 2 kısımları dondurularak kurutulup toz haline getirildikten sonra birleştirilerek analizlerde kullanılmıştır.



Şekil 3.2. Protein konsantresi üretim basamakları

3.3. Analiz Yöntemleri

3.3.1. Protein Veriminin Belirlenmesi

Protein verimi belirlenirken denklem 3.1 yardımı ile konsantredeki protein miktarları BMA'da bulunan toplam protein miktarına oranlanarak hesaplanmıştır.

$$\text{Protein verimi}(\text{mg/g}) = \frac{\text{Konsantredeki protein miktarı (mg)}}{\text{BMA miktarı (g)}} \quad (3.1)$$

3.3.2. Kimyasal Bileşimin Belirlenmesi

Numunelerin kimyasal bileşim analizleri, ilgili standart yöntemler kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Nem içeriği, AACC metodu 44-15A'ya göre belirlenmiş (AACC, 1995), kül miktarı AACC metodu 08-12'ye göre tayin edilmiştir (AACC, 1995). Protein analizi, Bradford yöntemi (Bradford, 1976) ve Kjeldahl metodu (AOAC, 1990) kullanılarak yapılmıştır. Yağ içeriği ise Soxhlet yöntemi ile belirlenmiştir. Celus vd. (2007) çalışması örnek alınarak örneklerde bulunan nem, kül, protein ve yağ miktarı belirlendikten sonra kalan kısım karbonhidrat miktarı olarak değerlendirilmiştir (Celus vd., 2007).

3.3.3. *İn Vitro* Protein Sindirilebilirliği

Protein sindirilebilirliğinin belirlenebilmesi amacıyla literatürde yer alan çalışmalardan yararlanılarak *in vitro* sindirilebilirlik hesaplanmıştır (Alexandrino vd., 2017; Argyri vd., 2007). *İn vitro* sindirim için ilk olarak un (0,05 g/ml) ve konsantre (0,01 g/mL) örneklerinin sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Çözeltilerin asitliği 6 M HCl çözeltisi ile pH 2,8'e ayarlanmıştır. Hazırlanan karışımın 10 ml'si alınarak üzerine 0,5 mL pepsin süspansiyonu (4 g/100 mL 0,1 M HCl çözeltisi) aktarılmıştır. Karışım, enzim ilavesi sonrasında 37 °C'deki çalkalamalı su banyosuna yerleştirilmiş ve 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu inkübasyonun sonunda, 5 M NaOH çözeltisi kullanılarak pH değeri 5,7'ye ayarlanmış ve karışıma safra asitlerini içeren pankreatin çözeltisinden 2,5 mL ilave edilmiştir (Pankreatin çözeltisi 25 mL 0,1 M $NaHCO_3$ çözeltisine 0,2 g pankreatin enzim karışımı ve 1,2 g safra tuzları ilave edilerek hazırlanmıştır). Karışım tekrar 2 saat boyunca

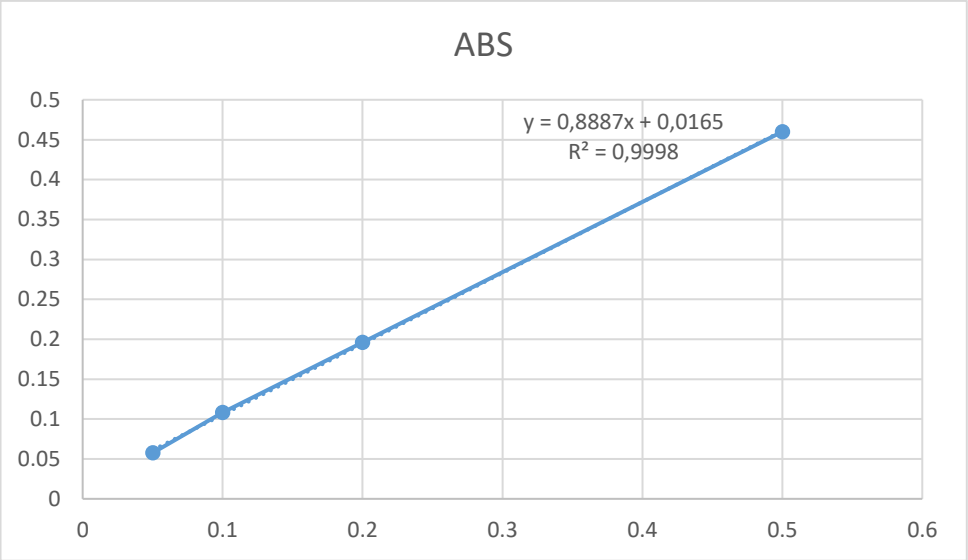
37 °C'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edilmiştir. Bu inkübasyon periyodunun sonunda toplanan örnekler, yüksek molekül ağırlıklı çözünmeyen bileşiklerin ve enzimlerin çökelmesi için 15 dakika boyunca 10000 g'de, 4 °C'de santrifüjlenmiştir. Daha sonra sindirilen azot miktarı, Bradford metodu ile belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bu şekilde un ve konsantre örneklerinde sindirilen azot (protein) miktarları yüzde cinsinden hesaplanmıştır.

3.3.4. Tekno-Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi

3.3.4.1. Çözünürlük

BMU ve PK örneklerinde protein çözünürlüğü, Chen vd. (2011) uyguladığı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre %1 (a/h) derişiminde örnek dispersiyonları hazırlanmıştır. Dispersiyonların pH değerleri HCl veya NaOH çözeltileri ile pH 7 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan süspansiyonlar oda sıcaklığında bir gece boyunca çalkalanmıştır (~18 saat). Sonrasında 20 dakika boyunca santrifüjlenerek (12000 g, 20 °C) süpernatant kısmı toplanmış ve Whatman No1 filtre kağıdından süzüldükten sonra Bradford yöntemi ile çözünen protein miktarı tespit edilmiştir (Bradford, 1976). Yöntemde standart olarak Bovine Serum Albumin kullanılmış ve elde edilen standart eğri Şekil 3.3'de gösterilmiştir. Protein çözünürlüğü denklem 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Protein çözünürlüğü (\%)} = \frac{\text{Sıvı fazdaki protein miktarı}}{\text{Başlangıçtaki protein miktarı}} \times \%100 \qquad (3.2)$$



Şekil 3.3. Bovine serum albumin çözeltisi ile hazırlanan standart eğri

3.3.4.2. Su ve Yağ Tutma Kapasitesi

BMU ve PK örneklerinde su ve yağ tutma kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla Resendiz-Vazquez vd. (2017) tarafından uygulanan yöntem kullanılmıştır. Santrifüj tüplerine 1 g örnek tartılarak üzerine 10 mL saf su ilave edilmiş ve 30 saniye boyunca bir vorteks yardımı ile karıştırılmıştır. Karışım oda sıcaklığında 15 dakika bekletildikten sonra 1240 g kuvveti ile 10 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüj işlemi ile ayrılan sıvı faz boşaltıldıktan sonra tüpte kalan kalıntının ağırlığı belirlenmiştir. Aynı yöntem marketten temin edilen ayçiçeği yağı ile tekrarlanarak yağ tutma kapasitesi belirlenmiştir. Sonuçlar 1 g konsantrenin tuttuğu su ve yağ miktarı olarak ifade edilmiştir.

3.3.4.3. Emülsifikasyon Özellikleri

BMU ve PK örneklerinin emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) Hadinoto vd. (2024) tarafından tanımlanan spektrofotometrik yönteme küçük değişiklikler yapılarak belirlenmiştir. Numunelerin %1'lik dispersiyonları (15 mL) hazırlanmış ve pH değerleri 0.1 M NaOH veya HCl ile 4, 7 ve 10 olacak şekilde ayarlanmıştır. Bu dispersiyonlar, 5 mL ayçiçek yağı ile birlikte bir homojenizatör (Ultra-Turrax T-25, IKA Werke, Almanya) yardımıyla 12000 rpm'de 1 dakika boyunca karıştırılmıştır. Her tüpün alt kısmından 50 µL'lik örnek alınmış ve 2,5 mL %0,1 (a/h) SDS çözeltisi ile seyreltilmiştir. Seyreltilmiş emülsiyonların absorbansları, 0. dakikada

(A_0) ve 10 dakika sonra (A_{10}), UV-görünür bölge spektrofotometresi (Shimadzu UV-1800, Japonya) ile 500 nm'de ölçülmüştür. EAI (m^2*g^{-1}) ve ESI (dakika) değerleri sırasıyla denklem 3.3 ve 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır; burada Δt = 10 dakikadır.

$$\text{EAI}\left(\frac{\text{m}^2}{\text{g}}\right) = \frac{2 \times 2{,}303 \times \text{A}_0}{0{,}25 \times \text{örnek miktarı}} \tag{3.3}$$

$$\text{ESI (dk)} = \frac{\text{A}_0 \times \Delta\text{t}}{\text{A}_0 - \text{A}_{10}} \tag{3.4}$$

3.3.4.4. Köpük Oluşturma Özellikleri

BMU ve PK örneklerinin köpük oluşturma özelliklerinin incelenmesi amacıyla köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi belirlenmiştir. Köpük oluşturma kapasitesinin belirlenmesi için 100 mL %2'lik örnek dispersiyonları hazırlanarak HCl veya NaOH çözeltileri ile pH değerleri 4, 7 ve 10'a ayarlanmıştır. Sonrasında çözeltiler 1 dakika boyunca homojenizatör (Ultra-Turrax T-25, IKA Werke, Almanya) ile 10000 rpm'de karıştırılmıştır. İşlem sonrasında oluşan köpük 25 mL'lik bir ölçülü silindire alınarak hacmi belirlenmiştir (Flores-Jimenez vd., 2019). Hacimdeki artışın yüzde cinsinden hesabı köpük oluşturma kapasitesini ifade etmektedir ve denklem 3.5 kullanarak hesaplanmıştır. 30 dakika beklendikten sonra köpük hacmi tekrar ölçülerek denklem 3.6 yardımıyla köpük stabilitesi hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{KK} = \frac{\text{Karıştırma sonrası hacim} - \text{Karıştırma öncesi hacim}}{\text{Karıştırma öncesi hacim}} \times 100 \tag{3.5}$$

$$\%\ \text{KS} = \frac{\text{30 dakika sonundaki hacim}}{\text{Karıştırma sonrası son hacim}} \times 100 \tag{3.6}$$

3.3.4.5. Jelleşme Özellikleri

BMU ve PK örneklerinin jelleşme özelliklerinin belirlenebilmesi için Resendiz-Vazquez vd. (2017) tarafından gerçekleştirilen çalışma örnek alınmıştır. Bu amaçla beş farklı derişimde (%2, 5, 10, 15 ve 20) dispersiyonlar hazırlanmıştır. Farklı derişimlerdeki dispersiyonların 10 ml'si deney tüpü içerisine alınmıştır. Bu tüpler 1 saat boyunca kaynar su banyosunda bekletilmiş sonrasında ise soğuk su banyosunda hızla soğutulmuştur. Sıcaklığın daha fazla düşmesi için örnekler 2 saat boyunca buzdolabında (4 °C) bekletilmiştir. Bu süre sonunda deney tüpleri ters çevrilmiş ve tüpten akmayan veya düşmeyen en seyreltik PK derişimi minimum jelleşme konsantrasyonu olarak kabul edilmiştir (Resendiz-Vazquez vd., 2017).

3.3.5. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, ekstraksiyon verimini optimize etmek için üç farklı faktör, beş farklı seviyede test edilmiştir. Bu faktörler etanol derişimi (X_1), sonikasyon süresi (X_2), ultrason şiddeti (X_3) olarak belirlenmiştir. Faktörlerin etkilerini değerlendirmek ve en uygun koşulları belirlemek amacıyla, Merkezi Birleşik Tasarım (Central Composite Design) kullanılarak Yanıt Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology) uygulanmış ve istatistiksel analizler α=0,05 anlamlılık düzeyinde gerçekleştirilmiştir. Deney planlamasında beş merkez noktası kullanılmış olup, bu tasarım sayesinde faktörler arasındaki etkileşimler ve optimum çalışma koşulları detaylı bir şekilde analiz edilmiştir. Deneyler sistematik hataları minimum seviyeye getirebilmek amacıyla rastgele düzende gerçekleştirilmiştir.

En düşük, en yüksek ve ortalama faktör seviyeleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Sonuçlar %95 güven aralığında hazırlanan ANOVA tablosu kullanılarak analiz edilmiş ve Merkezi Birleşik Tasarımı- Yanıt Yüzey Yöntemi ile protein verimi için optimum koşullar belirlenmiştir. Analizler için Design Expert (v.12) programı kullanılmıştır.

Çizelge 3.1. Deney tasarımında kullanılan faktörler ve seviye değerleri

Bağımsız	**Faktör Sembolleri**		**Faktör Seviyeleri**				
Değişkenler	Kodlu	Gerçek	-1,68	-1	0	1	1,68
Etanol Derişimi (%)	X1	x_1	6,40	40,00	60,00	80,00	93,60
Sonikasyon Süresi (dk)	X2	x_2	3,18	10,00	20,00	30,00	36,80
Ultrason Gücü (W)	X3	x_3	32	200	300	400	468

Alkol ile ekstraksiyon basamağının toplam protein geri kazanımı üzerindeki etkisini değerlendirmek için karşılaştırmalı istatistiksel analiz yapılmıştır. Sadece alkali ekstraksiyon ve iki aşamalı ekstraksiyon işleminden elde edilen protein verimleri, eşit olmayan varyanslar dikkate alınarak Welch'in *t*-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Farklılıklar $p < 0,05$ değerinde istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Protein Ekstraksiyon Sürecinin Optimizasyonu

Bu çalışmada uygulanan alkol ve alkali çözeltisinde ekstraksiyon basamakları için ayrı optimizasyon süreçleri uygulanmıştır. Ekstraksiyon işleminde etanol derişimi, sonikasyon süresi ve ultrason gücü olmak üzere üç farklı faktör beş farklı seviyede test edilmiştir. Elde edilen bulgular doğrultusunda özütleme işlemi protein verimi için optimize edilmiştir. Bu amaçla Merkezi Birleşik Tasarım kullanılarak Yanıt Yüzey Yöntemi uygulanmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimini tespit etmek için Design Expert (v.12) yazılım programı kullanılmıştır. Deneysel veriler ANOVA analizi ile değerlendirilmiştir. Deneysel tasarım ve sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir. Modelin uygulanabilirliği *F*- testi ve *p*- değerlerine göre %95 güven aralığında test edilmiştir.

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon verimliliği ve BMU için deneysel sonuçlar

Sıra	X_1 Etanol derişimi (%)	X_2 Sonikasyon süresi (dk)	X_3 Ultrason gücü (W)	Y_1 Etanol ekstraksiyon basamağı protein verimi (mg/g)	Y_2 Alkali ekstraksiyon basamağı protein verimi (mg/g)
1	40	10	200	1,3150	38,1740
2	80	10	200	0,8317	40,5814
3	40	30	200	2,0224	51,3092
4	80	30	200	1,9217	54,3335
5	40	10	400	1,8545	51,9123
6	80	10	400	2,4386	49,3371
7	40	30	400	2,1598	58,0505
8	80	30	400	2,8803	60,2898
9	26,36	20	300	0,8772	50,5851
10	93,64	20	300	2,1468	53,0271
11	60	3,18	300	1,8535	36,7201
12	60	36,82	300	2,7648	56,9879
13	60	20	131,82	1,9120	38,9101
14	60	20	468,18	3,1685	57,1136
15	60	20	300	2,2905	51,9009
16	60	20	300	2,9897	54,2186
17	60	20	300	2,8899	52,9459
18	60	20	300	2,3816	54,5768
19	60	20	300	2,4411	52,0794
20	60	20	300	2,4296	52,0991

4.1.1. Ultrason Destekli Alkol Çözeltisi İle Ekstraksiyon Basamağının Optimizasyonu

Etanol çözeltisinde ekstraksiyon basamağı için elde edilen verilere ait ANOVA tablosu Çizelge 4.2'de verilmiştir. Burada her bir değişkenin önemi *F* ve *p* değeri kullanılarak belirlenmiştir. *p* değeri küçüldükçe ilgili değişkenler daha anlamlı hale

gelmektedir (Wang vd., 2007). ANOVA tablosuna göre tüm ana faktörler etanol çözeltisi ile ekstraksiyon sürecinde verim üzerine etki etmektedir (p<0,05). Bu tasarımda en yüksek etkiyi ultrason gücü göstermekte, onu sonikasyon süresi ve etanol derişimi takip etmektedir. Yalnızca etanol derişimi ve ultrason gücü arasındaki etkileşimin süreci anlamlı derecede etkilediği görülmektedir. Ek olarak etanol derişiminin kuadratik etkisinin de verim üzerine etkili olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.2. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için ANOVA tablosu

Kaynak	**Kareler Toplamı**	**SD**	**Karelerin Ortalaması**	***F*-değeri**	***p*-değeri**
Model	7,05	9	0,78	9,70	0,0007*
A-Etanol Derişimi	0,60	1	0,60	7,40	0,0216*
B-Sonikasyon Süresi	1,22	1	1,22	15,07	0,0030*
C-Ultrason Gücü	2,10	1	2,10	26,01	0,0005*
AB	0,03	1	0,03	0,42	0,5330
AC	0,45	1	0,45	5,52	0,0407*
BC	0,14	1	0,14	1,71	0,2205
A^2	2,41	1	2,41	29,86	0,0003*
B^2	0,23	1	0,23	2,89	0,1201
C^2	0,03	1	0,03	0,37	0,5567
Artık	0,81	10	0,08		
Uyum Eksikliği	0,38	5	0,08	0,88	0,5518
Saf Hata	0,43	5	0,09		
Toplam	7,86	19			

SD: serbestlik derecesi, * ile işaretlenen terimler anlamlı bulunmuştur

Anlamsız bulunan terimlerin modelden çıkarılması ile elde edilen indirgenmiş modele ait ANOVA tablosu Çizelge 4.3'de verilmiştir. İndirgenmiş model güvenilir bir tahmin kapasitesi göstermektedir (R^2 = 0,8438).

Çizelge 4.3. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için indirgenmiş ANOVA tablosu

Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Karelerin Ortalaması	*F*-değeri	*p*-değeri
Model	6,63	5	1,33	15,12	< 0,0001
A-Etanol Derişimi	0,53	1	0,59	6,81	0,0206
B-Sonikasyon Süresi	1,22	1	1,22	13,88	0,0023
C-Ultrason Gücü	2,10	1	2,10	23,94	0,0002
AC	0,45	1	0,44	5,08	0,0407
A^2	2,27	1	2,27	25,90	0,0002
Artık	1,23	14	0,09		
Uyum Eksikliği	0,80	9	0,09	1,04	0,5129
Saf Hata	0,42	5	0,09		
Toplam	7,86	19			

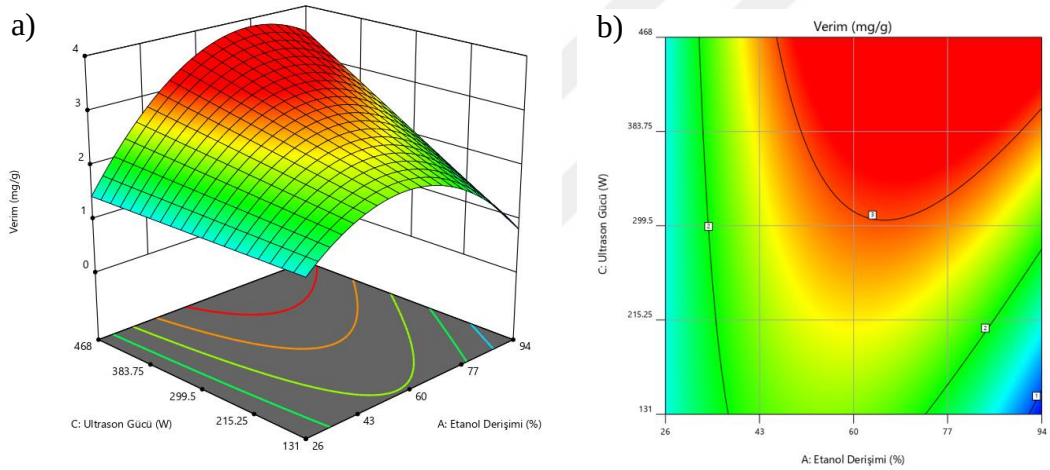
SD: serbestlik derecesi

Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein verimi için optimum koşulları belirlemek amacıyla, deneysel verilere matematiksel modeller uygulanarak yanıt yüzey regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kuadratik regresyon modeli kodlanmış değişkenler cinsinden denklem 4.1 ile ifade edilmiştir.

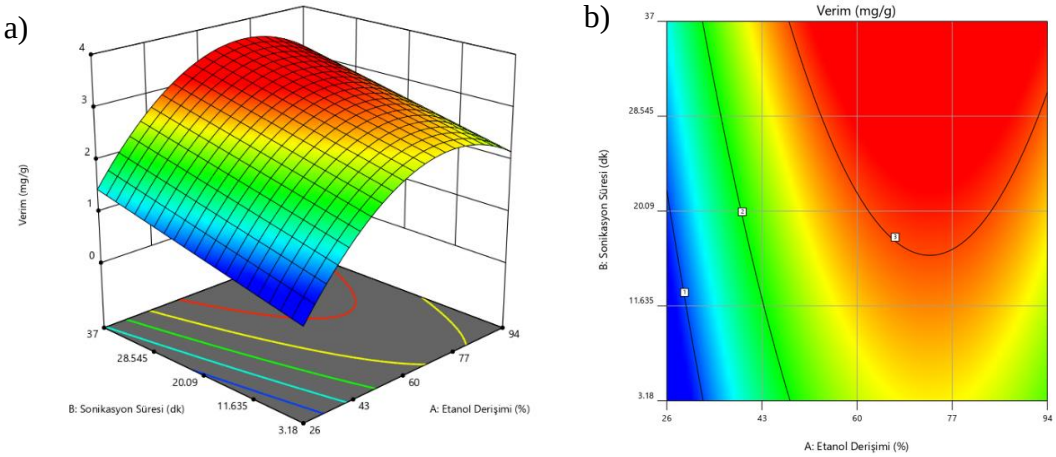
$$y_1 = +2{,}45 + 0{,}2091 \times \mathrm{A} + 0{,}2985 \times \mathrm{B} + 0{,}3922 \times \mathrm{C} + 0{,}2361 \times \mathrm{AC} - 0{,}3935 \times \mathrm{A}^2 \quad (4.1)$$

Yanıt yüzey grafiklerine göre (Şekil 4.1.) protein verimi %60-70 etanol derişimine kadar artmakta, sonrasında ise azalmaktadır. Bu durum benzer benzeri çözer ilkesi ile açıklanabilir. Ekstraksiyon çözeltisinde artan etanol oranı polaritenin değişmesine neden olmaktadır. Bu durum belirli bir polariteye kadar hidrofobik etkileşimler ile hordeince zengin fraksiyonların çözünürlüğünün artmasını sağlamaktadır (Silva vd., 2008). Ancak belirli bir noktadan sonra yüksek etanol derişimi protein denatürasyonunun, çözünürlük kaybının ve hidrojen bağları ile hidrofobik etkileşimler sonucu oluşan çözünmeyen protein agregat miktarının artmasına neden olmaktadır (Tan vd., 2023). Çözünürlük etkisine ilaveten etanol-su karışımları, BMA'daki protein ve lignoselülozik matris arasındaki etkileşimleri zayıflatarak hücre içine hapsedilmiş proteinlerin salınmasına da

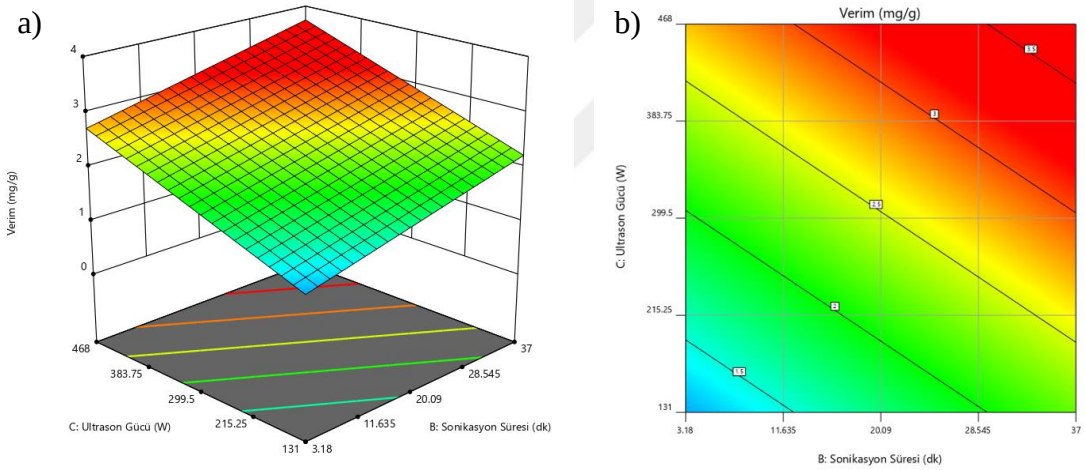
katkıda bulunmaktadır (Bibi vd., 2021). Sonuç olarak orta düzeyde alkol derişimleri protein dışındaki bileşenlerin uzaklaştırılmasını ve protein çözünürlüğünün artmasını sağlayarak verimi artırırken, yüksek alkol derişimleri protein agregasyonu, çözünürlüğün azalması ve yapısal bozulmalar nedeniyle verim düşüşüne sebep olmaktadır. Literatürde BMU'dan protein geri kazanımı için etanol derişiminin etkisini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak arpa için yapılan çalışmalar incelendiğinde elde edilen bulguların uyumlu olduğu görülmektedir. Örneğin Wang vd. (2010) tarafından yapılan çalışmada arpa proteinlerinin kazanımını için %55-75 alkol derişimleri test edilmiş, en yüksek verimin %55 alkol derişimde verimin ~%63-81 bulunduğu belirtilmiştir (Wang vd., 2010).



Şekil 4.1. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü-alkol derişimi kontür çizgileri



Şekil 4.2. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-alkol derişimi kontür çizgileri



Şekil 4.3. Etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-ultrason gücü 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-ultrason gücü kontür çizgileri

Yanıt yüzey grafiklerine (Şekil 4.1. ve 4.3.) bakıldığında ultrason gücü arttıkça protein geri kazanım veriminin de arttığı görülmektedir. Bu durum literatürde prop tarafından üretilen akustik ses dalgaları ve kavitasyonun yüksek ultrasonik güçle güçlenmesi ile ilişkilendirilmiştir. Artan ultrason gücü etkisine bağlı olarak hücre parçalanması hücre duvarlarının geçirgenliğinin artmasının protein kazanımının iyileştirdiği bilinmektedir (Chandrapala vd., 2013; Li vd., 2021). Ultrason uygulama süresi (Şekil 4.2. ve 4.3.) de benzer şekilde kavitasyon etkinliğini uzatarak protein veriminin artmasına neden olmuştur. Ultrason gücü ve etanol derişimi arasındaki

etkileşimin verim üzerine negatif etki ettiği ve ultrason gücü etkisinin yüksek etanol derişimlerinde daha belirgin hale geldiği görülmektedir. Bununla birlikte ultrason süresinin verimi pozitif etkilediği görülmektedir. Arzu edilebilirlik fonksiyonundan elde edilen optimum koşullarda faktör seviyeleri %64,46 alkol derişimi, 36,92 dk sonikasyon süresi ve 428 W ultrason gücü olarak belirlenmiştir. Regresyon modeline göre bu koşullarda elde edilebilecek en yüksek verim değeri 3,549 mg/g olarak hesaplanmıştır. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen deneysel doğrulama çalışmaları sonucunda verim değeri 3,656 ± 0,700 mg/g olarak elde edilmiştir. Deneysel veriler öngörülen değerle yüksek bir uyum göstererek %3,01'lik bir tahmin hatasına karşılık gelmiştir. Elde edilen bulgular ve sulu etanol çözeltilerinin hordein ve diğer prolamin benzeri depo proteinlerine karşı bilinen seçiciliği göz önünde bulundurulduğunda (Boukid, 2026; Celus vd., 2006; Chin vd., 2024), alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının etkili bir ön-fraksiyonlama aşaması olarak işlev gördüğü anlaşılmaktadır.

Literatürde BMU'dan protein geri kazanımı sürecinde farklı faktörlerin etkisini araştıran optimizayon çalışmaları yer almaktadır. Örneğin Li vd. (2021) yaptığı çalışmada BMU'dan ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi sürecinde optimizasyon uygulamıştır. Çalışmada ultrason gücü ve süresinin protein verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. En yüksek verim eldesi için ultrason gücü 250 W ve ultrason süresi 20 dakika olarak bulunmuştur. 250 W'ı aşan ultrasonik gücün protein geri kazanım verimine ve emülsifikasyon, köpük oluşturma gibi fonksiyonel özelliklere olumsuz etki ettiği gözlemlenmiştir (Li vd., 2021). Santos vd. (2024) yaptığı çalışmada BMU'dan yüksek güçlü ultrason ile ekstraksiyon yöntemini kullanarak protein geri kazanmıştır. Optimizasyon işlemi sonucunda 550 W, 10 dk ve 65 °C ekstraksiyon koşullarında en yüksek verime ulaşıldığı ifade edilmiştir.

4.1.2. Ultrason Destekli Alkali Çözeltisi İle Ekstraksiyon Basamağının Optimizasyonu

Alkali çözeltisiyle ekstraksiyon basamağı için elde edilen verilere ait ANOVA tablosu Çizelge 4.4'te verilmiştir. Her bir değişkenin önemi *F* ve *p* değeri kullanılarak belirlenmiştir. ANOVA tablosuna göre sonikasyon süresi ve ultrason gücü verim üzerinde etkili iken ($p<0,05$) etanol derişiminin bu basamakta istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlenmiştir. ANOVA tablosuna göre faktörler arası

etkileşimlerin istatistiksel olarak verimi etkilemediği görülmektedir (p>0,05). Ancak ultrason gücü ve sonikasyon süresi arasındaki etkileşim terimine ait p-değeri sınır değer olan 0,05'e çok yakın olduğu için regresyon modelinde tutulmasına karar verilmiştir. Kuadratik terimlere bakıldığında ise yalnızca verim üzerine etkili bulunan ana faktörler olan sonikasyon süresi ve ultrason gücü için anlamlı bir etki gözlenmektedir.

Çizelge 4.4. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için ANOVA tablosu

Kaynak	**Kareler Toplamı**	**SD**	**Karelerin Ortalaması**	***F*-değeri**	***p*-değeri**
Model	856,03	9	95,11	39,01	< 0,0001*
A-Etanol Derişimi	6,20	1	6,20	2,54	0,1419
B-Sonikasyon Süresi	446,23	1	446,23	183,01	< 0,0001*
C-Ultrason Gücü	317,09	1	317,09	130,04	< 0,0001*
AB	3,69	1	3,69	1,51	0,2469
AC	4,16	1	4,16	1,71	0,2208
BC	12,00	1	12,00	4,92	0,0509
A^2	0,0058	1	0,0058	0,0024	0,9621
B^2	45,19	1	45,19	18,53	0,0015*
C^2	26,71	1	26,71	10,96	0,0079*
Artık	24,38	10	2,44		
Uyum Eksikliği	17,55	5	3,51	2,57	0,1620
Saf Hata	6,84	5	1,37		
Toplam	880,41	19			

SD: serbestlik derecesi, * ile işaretlenen terimler anlamlı bulunmuştur

Anlamsız bulunan terimlerin modelden çıkarılması ile elde edilen indirgenmiş modele ait ANOVA tablosu Çizelge 4.5'te verilmiştir. İndirgenmiş model güvenilir bir tahmin kapasitesi göstermektedir (R^2 = 0,9563).

Çizelge 4.5. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı için indirgenmiş ANOVA tablosu

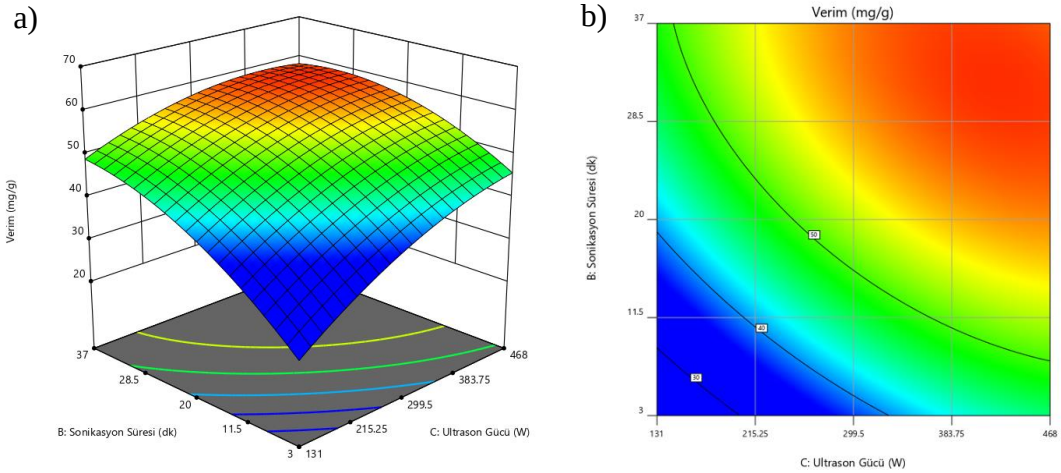
Kaynak	Kareler Toplamı	SD	Karelerin Ortalaması	*F*-değeri	*p*-değeri
Model	841,98	5	168,40	61,34	< 0,0001
B-Sonikasyon Süresi	446,23	1	446,23	162,54	< 0,0001
C-Ultrason Gücü	317,09	1	317,09	115,50	< 0,0001
BC	12,00	1	12,00	4,37	0,0553
B^2	45,54	1	45,54	16,59	0,0011
C^2	26,90	1	26,90	9,80	0,0074
Artık	38,44	14	2,75		
Uyum Eksikliği	31,60	9	3,51	2,57	0,1557
Saf Hata	6,84	5	1,37		
Toplam	880,41	19			

SD: serbestlik derecesi

Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein verimi için optimum koşulları belirlemek amacıyla, deneysel verilere matematiksel modeller uygulanarak yanıt yüzey regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kuadratik regresyon modeli kodlanmış değişkenler cinsinden denklemi 4.2 ile ifade edilmiştir.

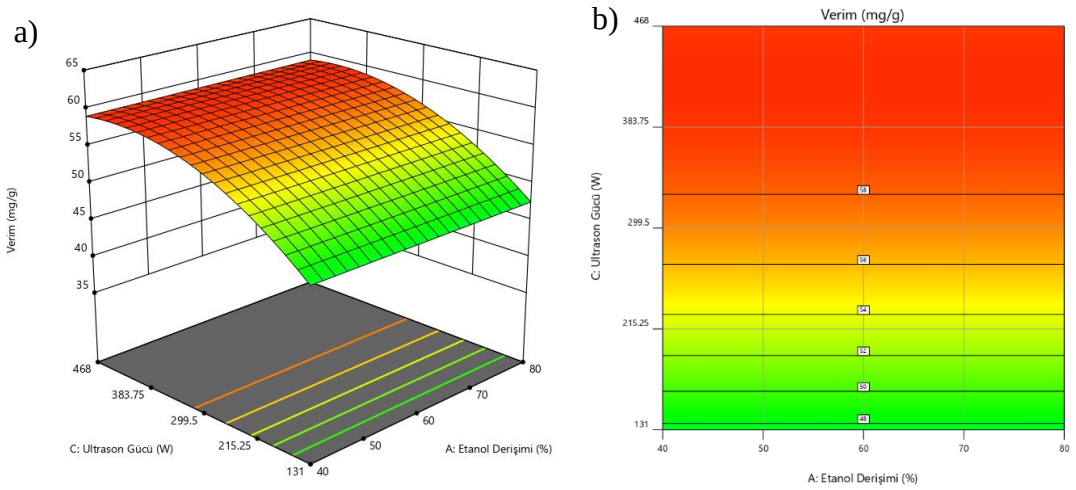
$$Y_2 = +52{,}89 + 5{,}72 \times B + 4{,}82 \times C - 1{,}22 \times BC - 1{,}77 \times B^2 - 1{,}36 \times C^2 \qquad (4.2)$$

Alkali ekstraksiyon basamağı için optimum koşulların belirlenmesi sürecinde verim üzerine etkisi olmayan alkol derişimi seviyesi alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağına bulunan optimum değer olan %64,46'ya eşit olarak alınmıştır. Arzu edilebilirlik fonksiyonu maksimum verimin 31,76 dk sonikasyon süresi ve 424 W ultrason gücünde elde edilebileceğini göstermektedir. Bu koşullarda regresyon denklemi kullanılarak verim değeri 59,269 mg/g olarak hesaplanmıştır. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen deneysel doğrulama çalışmaları sonucunda verim değeri 59,354 ± 1,760 mg/g olarak elde edilmiştir. Deneysel veriler öngörülen değerle mükemmel bir uyum göstererek %0,14'lük bir tahmin hatasına karşılık gelmiştir.

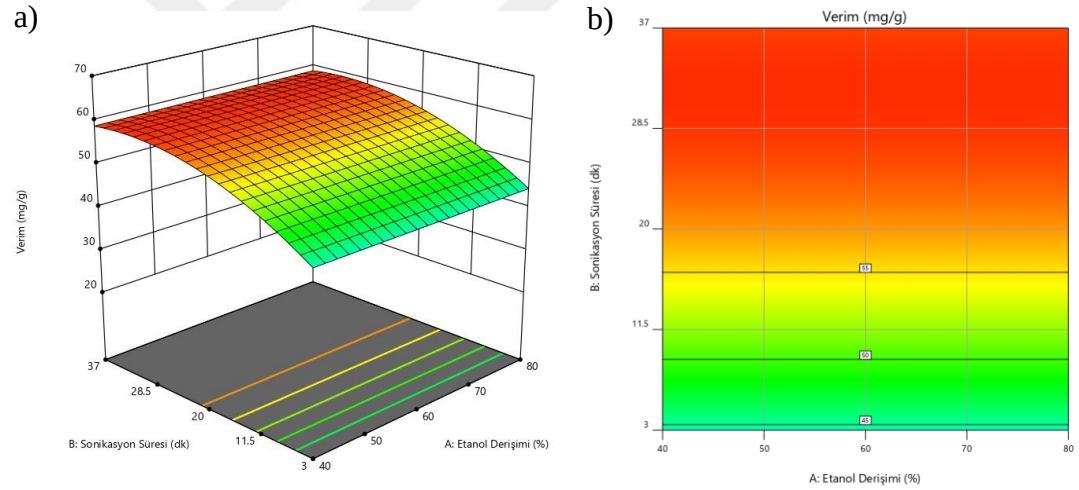


Şekil 4.4. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-sonikasyon süresi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü- sonikasyon süresi kontür çizgileri

Üç boyutlu yanıt yüzey ve kontür grafiklerine göre (Şekil 4.5. ve 4.6.), etanol derişiminin bu basamakta elde edilen protein verimi üzerine bir etkisi bulunmamaktadır. Ultrason gücü ve süresi arttıkça protein verimi artmakta, çalışmada test edilen üst limit değeri olan 468 W'a yaklaştıkça platoya ulaşmaktadır (Şekil 4.4. - 4.6.). Literatüre göre protein ekstraksiyonunda ultrason işlemi genellikle hücre duvarını kırdığı ve geri kazanımı iyileştirdiği için geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile birlikte kullanılmaktadır. Protein ekstraksiyonunun veriminin, ultrasonun güç yoğunluğu, sonikasyon süresi, katı-çözücü oranı, sıcaklık, çözücü, pH vb. gibi çalışma koşullarına bağlı olduğu belirtilmektedir (Ashfaq & Younis, 2021). Chandrapala vd. (2013), Silva vd. (2023), Martin-Garcia vd. (2019) ile Tang vd. (2010) yaptıkları çalışmalarda ultrason gücünün protein verimini olumlu yönde etkilediğini raporlamıştır. Ultrason etkisinin artmasıyla oluşan kavitasyon hücre duvarını parçalayarak proteinlerin ekstraksiyon ortamına geçişini kolaylaştırmıştır (Chandrapala vd., 2013; Gorguc vd., 2019; Li vd., 2007; Santos vd., 2024). Sonikasyon süresinin uzaması kütle transferini artırarak protein verimini yükseltmiş olabileceği öngörülmektedir (Li vd., 2021). Ancak aşırı ultrason uygulaması ultrason enerjisinin ısı enerjisine dönüşmesine bağlı olarak ekstraksiyon verimi üzerine olumsuz etki edebilmektedir. Bu nedenle ultrasonik işlem süresi uzadıkça termal etki protein denatürasyonuna ve çözünmezliğine yol açmaktadır (Zhang vd., 2019).



Şekil 4.5. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) ultrason gücü-alkol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) ultrason gücü-alkol derişimi kontür çizgileri



Şekil 4.6. Alkali çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein geri kazanım optimizasyonu a) sonikasyon süresi-etanol derişimi 3D yanıt yüzey grafiği ve b) sonikasyon süresi-etanol derişimi kontür çizgileri

4.2. Alkol Çözeltisi ile Ekstraksiyon Basamağının Toplam Protein Verimi Üzerine Etkisi

Alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının toplam verim üzerine etkisinin anlaşılabilmesi amacıyla ilave bir ekstraksiyon deneyi gerçekleştirilmiştir. Bu deneyde etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağı olmadan, yalnızca alkali ekstraksiyon prosedürü (aynı ultrasonik koşullar altında iki NaOH döngüsü şeklinde)

gerçekleştirilmiştir. Deney üç tekrarlı olarak tamamlanmış ve verim değeri 52,284 ± 1,467 mg/g olarak hesaplanmıştır. Alkali ekstraksiyon basamaklarının verim değerlerinin istatistiksel olarak karşılaştırması, alkol çözeltisi ile ön işlem sonrasında elde edilen verimin (59,354 ± 1,760 mg/g), yalnızca alkali içeren kontrolden önemli ölçüde daha yüksek olduğunu göstermiştir (Welch *t*-testi, t=5,34; $df \approx 4$; p<0,01).

İki aşamalı (alkol+alkali çözeltisi ile) ekstraksiyon sürecinde toplam protein verimi 63,010 mg/g olarak hesaplanmıştır. Bu durumda alkol çözeltisinin ön işlem olarak kullanımı ile verimin yalnızca alkali çözeltisi kullanılarak yapılan ekstraksiyon sürecine kıyasla toplamda %20,5 oranında arttığı anlaşılmaktadır. Bu artışa iki farklı mekanizma katkıda bulunmaktadır: (i) etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında doğrudan alkolde çözünen protein fraksiyonların geri kazanımı ile 3,656 mg/g'lık verim artışı ve (ii) alkali ekstraksiyon basamağında etanol kaynaklı polarite değişimi ve ultrasonik kavitasyonun katkısıyla ilave 7,07 mg/g'lık protein geri kazanımı. Bu bulgular bir bütün olarak, alkol çözeltisi ile ön-ekstraksiyon basamağının BMA proteinlerinin ekstrakte edilebilirlik profilini anlamlı ölçüde değiştirdiğini ve genel protein geri kazanımına hem doğrudan hem de dolaylı katkılar sağladığını ortaya koymaktadır.

Literatürde yer alan çalışmalarda baskın protein türü hordein olan arpadan protein geri kazanımı için alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının kullanıldığı görülmektedir (Chin vd., 2022; Wang vd., 2010). Ancak BMA ile yapılan çalışmalar incelendiğinde genel olarak alkol çözeltisi basamağının bulunmadığı, ancak yeni yapılan birkaç çalışmada alkol çözeltisinin saflaştırıcı bir ön işlem olarak ekstraksiyon sürecine eklendiği görülmektedir. BMA'da alkol çözeltileri genellikle fenolik maddeler veya lipidler gibi istenmeyen kısımların uzaklaştırılması amacıyla kullanılmıştır (Chin vd., 2024; Negi & Naik, 2017). Kısıtlı sayıda çalışmada diğer çözücüler ile birlikte kullanılarak protein veriminin artırılması üzerine araştırma yapılmıştır (Celus vd., 2006; Chin vd., 2022).

Bu zamana kadar sistematik olarak alkol derişiminin BMA'dan protein geri kazanım verimi üzerine etkisini araştıran bir çalışma gerçekleştirilmemiştir. Bu çalışma ile alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının klasik ekstraksiyon yöntemlerinde ön işlem olarak uygulanması ile verimin artırılabileceği gösterilmiştir.

4.3. Kimyasal Bileşim

Bu çalışmada hammadde olarak kullanılan BMU ve optimum koşullarda elde edilen PK örneklerinin kimyasal bileşimi kuru madde cinsinden hesaplanmış ve Çizelge 4.6'de verilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalar BMU bileşiminin %15-30 protein, %5-12 yağ, %2-8 kül, %42-75 karbonhidrattan oluştuğunu göstermektedir (Hellebois vd., 2021; Kemppainen vd., 2016; Silva vd., 2023; Yu vd., 2019). Tez çalışmasında elde edilen bulgular literatür ile uyumlu olmakla birlikte protein miktarının limit değerlerin alt sınırına yakın olduğu görülmektedir. Bu durumun temel nedeni BMA bileşiminde yer alan farklılıklardan kaynaklanmaktadır. BMA'nın kimyasal bileşimi arpa çeşidine, hasat zamanına, maltlama ve mayşeleme koşullarına, bira yapım sürecine ve bira üretim ölçeğine bağlı olarak değişmektedir (Jin vd., 2022; Mussatto vd., 2006; Universa vd., 2025). Literatürdeki çalışmalarda genellikle bira üretiminde kullanılan hammaddeler belirtilmemektedir. Bu çalışmada yalnızca çeşitli maltların kullanımı ile üretilen BMA kullanılmıştır.

Çizelge 4.6. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin bileşimleri

	BMU (%)	**PK (%)**
Protein	15,11 ± 0,21	34,70 ± 0,48
Yağ	6,93 ± 0,27	9,55 ± 0,76
Kül	3,12 ± 0,07	3,69 ± 0,02
Karbonhidrat[a]	74,84 ± 0,25	52,06 ± 0,34

[*]Sonuçlar kuru madde cinsinden verilmiştir.
[a] Fark yöntemiyle hesaplanmıştır.

Tez çalışmasında optimum koşullarda elde edilen ekstrakt yaklaşık olarak %34,7 oranında protein içermektedir. Literatüre göre protein açısından zengin örnekler, minimum %28 ve %90 protein içeriğine sahip olduklarında konsantre, minimum %90 ve üzeri protein içeriğine sahip olduklarında ise izolat olarak sınıflandırılmaktadır (Santos vd., 2024; Silva vd., 2023). Bu nedenle çalışmada elde edilen protein fraksiyonları konsantre olarak tanımlanmıştır. Elde edilen bulgular ekstraksiyon süreci ile protein içeriğinin yaklaşık 2,3 kat arttığını göstermektedir. Bununla birlikte yağ ve kül oranında

da bir miktar artış olduğu, buna karşın karbonhidrat oranının azaldığı görülmektedir. Sonuçlar ekstraksiyon işleminin protein derişiminde belirgin bir artış sağlandığını ve diğer makro besin bileşenlerinin de kompozisyonlarının buna bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Ekstraksiyon sürecinde protein fraksiyonlarının bileşimleri üretim yöntemine göre farklılık göstermektedir. Örneğin Silva vd. (2023) farklı pH ve sıcaklık koşullarında gerçekleştirilen alkali ekstraksiyon sonucu elde edilen PK'lerin %32,62 ± 0,18 yağ, %1,58 ± 0,39 kül, %13,84 ± 2,60 karbonhidrat ve %39,30 ± 1,40 protein içerdiği belirlenmiştir. Çalışmasında alkali seviyesine göre PK'lerin protein miktarları da değişiklik göstermiştir (Silva vd., 2023). Bunun sebebi NaOH sadece proteinleri değil, aynı zamanda lifleri (hemiselüloz ve lignini) kısmen çözerek bağlarını kırmasıdır (Jin vd., 2018; Niemi vd., 2012; Qing vd., 2017). Santos vd. (2024) tarafından yapılan bir başka çalışmada ise ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen PK örnekleri için kimyasal bileşimi %14,48 ± 0,31 yağ, %3,16 ± 0,04 kül, %57,50 ± 1,02 protein ve %24,85 karbonhidrat olarak bulunmuştur (Santos vd., 2024).

4.4. *İn Vitro* Protein Sindirilebilirliği

Proteinlerin besin kalitesi, temel amino asit içeriği, protein sindirilebilirliği, net protein kullanımı, biyolojik değeri ve protein sindirilebilirliği düzeltilmiş amino asit skoru (PDCAAS) gibi kriterler ile değerlendirilmektedir. Bu çalışmada BMU ve PK örneklerinin *in vitro* protein sindirilebilirlik değerleri BMU için %2,67 ± 0,07, PK için %81,38 ± 1,59 olarak bulunmuştur. Literatürde yer alan çalışmalar BMU örneklerinin düşük sindirilebilirlik değerlerini desteklemekte ve bu durumu yüksek fenolik madde içeriği ve düşük çözünürlük ile ilişkilendirmektedir (Devnani vd., 2023). PK için elde edilen sindirilebilirlik verileri literatür ile uyum göstermektedir. Örneğin Santos vd. (2024), ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle BMU'dan elde edilen protein konsantrelerinin sindirilebilirliğini 75,86 ± 1,37 olarak raporlamıştır. Elde edilen bulgular alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağının sindirilebilirliğini olumsuz olarak etkilemediğini göstermektedir.

4.5. Tekno-fonksiyonel Özellikler

Optimum koşullarda ekstrakte edilen PK ve BMU örneklerinin temel tekno-fonksiyonel özelliklerini belirlemek amacıyla çözünürlük, su ve yağ tutma kapasitesi, emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi, köpük oluşturma kapasitesi ve stabilitesi ile jelleşme özellikleri incelenmiştir.

4.5.1. Çözünürlük

Çözünürlük, proteinlerin tekno-fonksiyonel özelliklerini etkileyen önemli bir unsurdur. Bu çalışmada çözünürlük özelliklerinin incelenmesi amacıyla pH 7'de nitrojen çözünürlük indeksi (NSI, %) belirlenmiştir. NSI değerleri protein konsantresi örnekleri için %27,25 ± 2,39, BMU örnekleri için ise %1,13 ± 0,16 mg/mL olarak bulunmuştur. BMU için elde edilen düşük çözünürlük değeri literatür ile uyumludur. Celus vd. (2007) tarafından yapılan çalışmada, BMU protein çözünürlüğünün yaklaşık %1 olduğu belirtilmiştir.

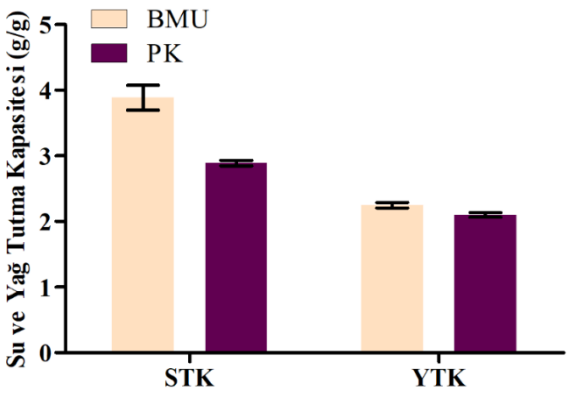
PK örneklerinin çözünürlük değerinin orta seviyede olduğu görülmektedir ve bulgular literatür ile uyumludur. Örneğin Chin vd. (2024) yaptıkları çalışmada yalnızca alkali ve yalnızca etanol çözeltisi ile gerçekleştirdikleri ekstraksiyon sonucunda elde ettikleri protein fraksiyonlarının NSI değerlerini sırası ile %27 ve %18 olarak raporlamıştır. Bu çalışmada alkali ekstraksiyon yönteminin daha yüksek yüzey hidrofobikliğine rağmen etanol ekstraksiyon yönteminden daha yüksek NSI değeri gösterdiği görülmektedir. Bu durum, etanol ile ekstraksiyon yönteminde görülen yüksek agregasyonun çözünürlüğü azaltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda, ultrason uygulamaları ile NSI değerlerinin iyileştiği belirtilmiştir (Hu vd., 2013; Wang vd., 2020; Yu vd., 2019; Zhang vd., 2023).

Bu çalışmada PK örneklerinin NSI değerleri, ultrason uygulaması gerçekleştirilen örneklerin NSI değerlerinden düşük, ancak yalnızca alkali kullanılarak elde edilen örneklere benzer bulunmuştur (Chin vd., 2022; Chin vd., 2024; Connolly vd., 2014; Karlsen vd., 2022; Zhang vd., 2023). Bu durumun alkol çözeltisinin neden olduğu agregasyondan kaynaklandığı düşünülmektedir. Alkol çözeltisi ile verim artışı sağlanırken çözünürlüğün bir miktar azaldığı, ancak hala alkali çözeltisi ile üretilen örneklere benzer ve kabul edilebilir seviyede olduğu görülmektedir.

4.5.2. Su ve Yağ Tutma Kapasitesi

Su ve yağ tutma kapasitesi, proteinlerin polar ve apolar yan zincir yapıları, protein veya agregatların konformasyonu ile yüzey hidrofobikliğinden etkilenmektedir. Su tutma kapasitesi, proteinlerin suyu tutma fonksiyonu, şişme, çözünürlük ve jel oluşturma özellikleriyle ilişkili önemli bir parametredir. Yağ tutma kapasitesi ise proteinlerin yağı absorbe etme ve tutabilme yeteneğini göstermektedir. Bu iki özellik de ürünlerin tekstürel yapısı ve genel kalite özelliklerinin değerlendirilmesinde önemli rol oynamaktadır (Zhang vd., 2023).

Çalışmada örneklerin su tutma kapasitesi (STK) BMU ve optimum koşullarda elde edilen PK için sırasıyla 3,89 ± 0,19 g/g ve 2,89 ± 0,04 g/g bulunmuştur. Yağ tutma kapasitesi (YTK) değerleri ise BMU için 2,25 ± 0,04 g/g, PK için 2,10 ± 0,04 g/g olarak hesaplanmıştır (Şekil 4.7.). Çalışmada BMU örneklerinin STK ve YTK değerleri elde edilen bulgular literatürdeki çalışmalar ile uyumludur. Bu çalışmalarda BMU'nun zengin lif içeriğinin, hidrofilik grupların suyu bağlama kapasitesini artırdığı ifade edilmiştir (Chin vd., 2024; Kumar vd., 2023; Naibaho & Korzeniowska, 2021).



Şekil 4.7. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin su tutma kapasitesi (STK) ve yağ tutma kapasitesi (YTK) değerleri

PK örnekleri için elde edilen STK değerleri literatürdeki değerler ile uyumluyken YTK değerlerinin yalnızca alkali ekstraksiyon uygulanan çalışmalara benzer, ultrason uygulanan çalışmalardan ise kısmen düşük olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda STK değerleri genellikle 2-5 g/g arasında; YTK değerleri genellikle 3-5 g/g arasında bulunmuştur (Chin vd., 2024; Hadinoto vd., 2024; Silva vd., 2023).

Ultrason uygulamasının STK ve YTK değerleri üzerinde değişikliğe neden olduğu görülmektedir. Yapılan çalışmalarda ultrason uygulamasının süresi, şiddeti ve sıcaklığına bağlı olarak STK ve YTK değerlerinin olumlu ya da olumsuz etkilenebildiği raporlanmıştır. Buna göre ultrason uygulaması bu değerlerin belirli bir ultrason şiddet ve süresine göre artırmaktadır Resendiz-Vazquez vd. (2017), Li vd. (2021) ve Santos vd. (2024) STK değerlerinin artması ultrasonun oluşturduğu kavitasyon etkisinin protein yapısını gevşeterek daha fazla polar grubu açığa çıkarması ve böylece protein-su etkileşimini artırmasıyla açıklamıştır. YTK'nın artması ise ultrason işlemi sırasında proteinlerin hidrofobik bölgelerinin açığa çıkmasıyla yağ-protein etkileşimlerinin güçlenmesine bağlanmıştır (Zhang vd., 2023). Ancak artan süre ve şiddet değerleri belirli bir seviyeden sonra STK ve YTK özelliklerinin azalmasına neden olmaktadır. Ultrason süresi uzadıkça güçlü kavitasyonun etkisiyle ultrason işlemiyle oluşan kabarcık çökmesi hem hidrofilik hem de hidrofobik grupların yapısındaki değişikliklere neden olarak daha düşük STK ve YTK değerlerine yol açabilmektedir (Zhang vd., 2023).

Bu tez çalışmasında PK örneklerine ait YTK değerlerinin ultrason uygulamasına göre daha düşük bulunmalarının nedeni uzun süreli ultrason uygulaması ile protein agregasyonlarının oluşması ile açıklanabileceği gibi ilave olarak uygulanan alkol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Etanol, proteinlerin yapısındaki hidrofobik bölgelerin düzenini değiştirebilmekte ve bazı hidrofobik amino asit gruplarının yeniden protein iç kısmına gömülmesine neden olabilmektedir. Bu durum proteinlerin yağı bağlayabileceği aktif bölgelerin azalmasına yol açarak YTK değerini düşürebilmektedir. Özellikle yüksek etanol konsantrasyonlarında protein çökelmesi veya daha kompakt yapı oluşturması, yağ bağlama kapasitesinin azalmasına neden olmaktadır (Li vd., 2021; Tan vd., 2023).

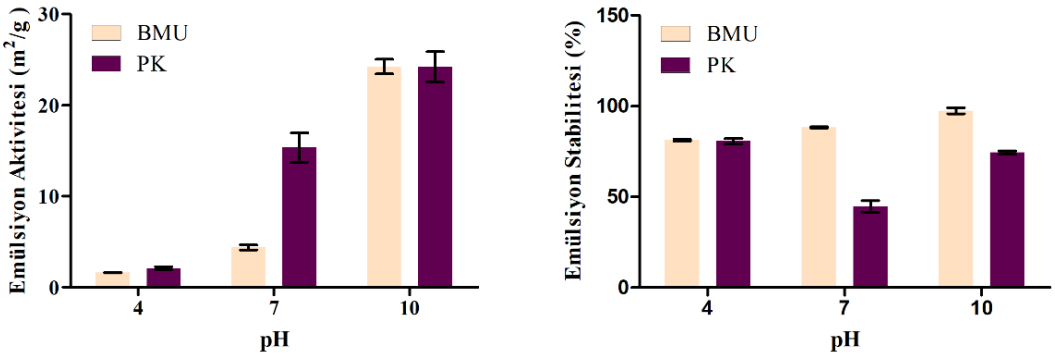
4.5.3. Emülsifikasyon Özellikleri

Emülsifikasyon özellikleri proteinin amfifilik yapısı, çözünürlüğü ile su ve yağ tutma kapasiteleri arasındaki etkileşime dayanmaktadır (Wang vd., 2010). Emülsiyon aktivitesi, su ve yağ gibi karışmayan fazların proteinler aracılığıyla homojen bir karışım (emülsiyon) oluşturma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Emülsiyon stabilitesi ise, oluşan emülsiyonun zamanla bozulmadan kararlı kalabilme süresini ifade etmektedir (Li

vd., 2021; Santos vd., 2024). Emülsiyon özellikleri, ekstraksiyon yöntemi, konsantrasyon ve pH gibi faktörlerle değişiklik göstermektedir.

Tez çalışmasında BMU ve PK örneklerinin emülsiyon özellikleri 4,7 ve 10 olmak üzere farklı pH değerlerinde test edilmiş ve sonuçlar Şekil 4.8'de verilmiştir. Her iki örnek için en yüksek emülsiyon aktivitesi pH 10'da gözlenmiş ve BMU için 24,24 ± 0,79 m^2/g PK için 24,20 ± 1,67 m^2/g olarak bulunmuştur. En yüksek emülsiyon stabilitesi değerleri BMU için pH 10'da %97,44 ± 1,64, PK için pH 4'te %80,69 ± 1,52 olarak bulunmuştur. Sonuçlar literatür tarafından desteklenmektedir; Santos vd. (2024) ile Connolly vd. (2014) BMA'dan elde ettikleri protein fraksiyonları için benzer emülsiyon aktivitesi ve stabilitesi değerleri raporlamıştır.

Emülsiyon aktivitesi değerlerinin genellikle pH 4'te en düşük olduğu görülmektedir. BMA'nın alkali ekstraksiyon ile izoelektrik noktası Connolly vd. (2013) tarafından pH 3,8, Celus vd. (2007) tarafından ise pH 4 olarak belirlenmiştir. Bu durum düşük emülsiyon aktivitesi değerlerinin izoelektrik noktaya yakın olan pH değerleri için elde edildiğini göstermektedir. İzoelektrik noktada protein çözünürlüğü minimum olmakta ve bunun üzerindeki pH koşullarında artmaktadır (Yao vd., 2023). Bu durum emülsiyon aktivitesinin de artmasına yol açmaktadır. Çünkü pH 10'da proteinler daha açık yapıda ve daha negatif yüklü durumda bulunmaktadır. Bu durum alkali koşullarda protein esnekliğini artırmakta, sonuç olarak emülsiyon oluşumunu desteklemektedir. Buna ek olarak ekstraksiyon sürecinde oluşan lif-protein yapısına emülsiyon stabilitesinin korunmasına katkı sağlayabilmektedir (Gundogan & Can Karaca, 2020; Hadinoto vd., 2024).



Şekil 4.8. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin emülsiyon aktivitesi ve emülsiyon stabilitesi

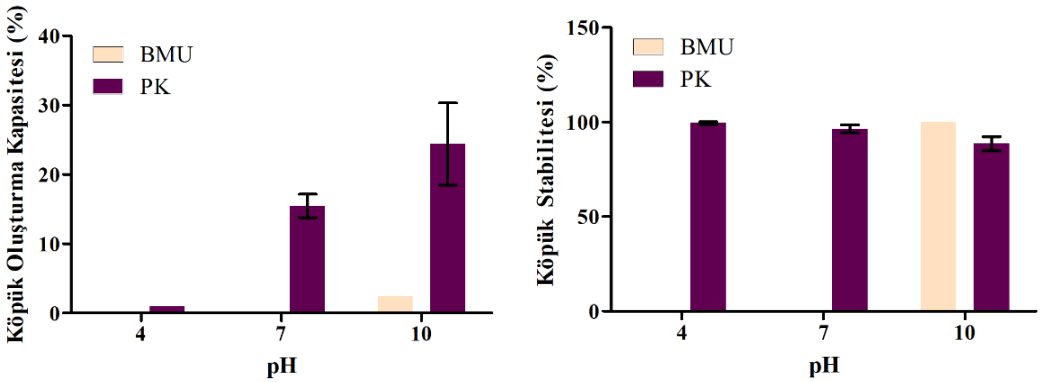
BMU örnekleri için elde edilen veriler literatür ile uyumlu bulunmuş, özellikle düşük pH değerlerinde gözlenen düşük emülsiyon aktivitesinin bira üretiminde uygulanan mayşeleme sürecinde çözünürlük ve fonksiyonel özelliklerin azalması ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Celus vd., 2007). PK örneklerinin emülsifikasyon özelliklerinin ise uygulanan ekstraksiyon prosesi sonucunda iyileştiği görülmektedir ve sonuçlar yalnızca alkali çözeltisi ile kazanılan protein fraksiyonları ile uyumlu bulunmuştur. Örneğin Chin vd. (2022) yaptığı çalışmada, pH 8'de emülsiyon aktivitesi değerlerini 15-34 m^2/g olarak bulmuştur. Hadinoto vd. (2024) yaptığı çalışmada emülsiyon aktivtesi değerlerini pH 3-8'de 12-32 mg^2/g arasında hesaplamıştır.

Tez çalışmasında elde edilen bulgular alkali koşullarda gerçekleştirilen literatür verilerine benzer olsa da ultrason uygulaması yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara göre kısmen daha düşük bulunmuştur. Li vd. (2021) ultrason destekli alkali ekstraksiyon yöntemiyle gerçekleştirdikleri çalışmada, en yüksek emülsiyon stabilitesini %81,62, en yüksek emülsiyon aktivitesini ise 40,44 m^2/g olarak rapor etmiştir (Li vd., 2021). Resendiz-Vazquez vd. (2017), farklı ultrason güçlerinin emülsiyon özelliklerini etkilediğini belirtmiş, en yüksek emülsiyon aktivitesini pH 10'da %72,97 olarak rapor etmiştir (Resendiz-Vazquez vd., 2017). Çalışmada elde edilen emülsifikasyon özelliklerinin, ultrason uygulaması yapılan çalışmalara kıyasla daha düşük bulunmasının alkol çözeltisi ile uygulanan ilave ekstraksiyon basamağı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Etanol çözeltisi proteinlerin daha düşük çözünürlüğe sahip olmasına neden olmaktadır. Çözünürlük proteinlerin yağ-su ara yüzeyine difüzyonu ile adsorpsiyonunu doğrudan etkilemektedir. Proteinlerin fenolik bileşiklerle etkileşimi de

ara yüzeyde yeniden düzenlenmelerini sınırlandırarak emülsifikasyon özellikleri olumsuz etkileyebilmektedir (Chin vd., 2024). Genel olarak, PK örneklerinde gözlenen eğilimler literatürde bildirilen sonuçlarla uyumludur. Bulgular, etanol ön işleminin protein geri kazanımını artırmasına karşın, ultrason destekli yöntemlere kıyasla emülsifiye edici fonksiyonelliği tam olarak koruyamadığını göstermektedir. Yine de protein konsantrelerinin, yüksek emülsiyon özelliklerine sahip olduğu görülmektedir.

4.5.4. Köpük Oluşturma Özellikleri

Köpük oluşturma kapasitesi protein çözünürlüğüne, hidrofobikliğine ve esnekliğine bağlıyken, köpük stabilitesi protein konsantrasyonuna, hidrasyonuna ve moleküler etkileşimlerine bağlıdır (Li vd., 2021). Bu çalışmada BMU ve optimum koşullarda üretilen PK örneklerinin köpük kapasitesi ve stabilitesi değerleri pH 4, 7 ve 10'da belirlenmiş, sonuçlar Şekil 4.9'te verilmiştir.



Şekil 4.9. Bira mayşe unu (BMU) ve protein konsantresi (PK) örneklerinin köpük oluşturma kapasitesi ve köpük stabilitesi

Elde edilen bulgular BMU örneklerinin köpük oluşturma kapasitelerinin oldukça düşük olduğunu, pH 4 ve 7'de stabil köpük oluşumunun gerçekleşmediğini göstermektedir. Alkali koşullarda (pH 10) ise bu örneklerin sınırlı bir köpük oluşturma kapasitesine sahip olduğu (%2,439 ± 0,001) bulunmuştur. Elde edilen bulgular literatür ile uyumludur (Celus vd., 2007; Connolly vd., 2014).

PK örneklerinin köpük oluşturma özelliklerinin BMU örneklerine kıyasla belirgin şekilde iyileştiği görülmektedir. PK köpük oluşturma kapasitesi artan pH ile yükselerek

en yüksek seviyeye pH 10'da (%24,381 ± 5,92) ulaşmıştır. PK'lerin köpük stabilitesinin %85 ila %99 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu durum köpük oluşturma kapasitesi ortalama seviyede olsa da oluşan köpüğün oldukça dayanıklı olduğunu göstermektedir. Artan pH değeri ile köpük oluşturma kapasitesinin iyileşmesi daha önce de raporlanmıştır (Yalçın vd., 2007). Literatürde yüksek pH değerlerinin protein üzerindeki net yükü artırdığı ve bunun sonucunda çekici hidrofobik kuvvetlerde azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Bu durum protein esnekliğini artırarak proteinin hava-su arayüzüne daha hızlı yayılmasını ve hava moleküllerini kapsüllemesini sağlayabilmektedir (Aluko & Yada, 1995).

Çalışmada elde edilen sonuçların literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir. Yalnızca alkali ekstraksiyon uygulaması ile elde edilen protein fraksiyonlarına ait köpük oluşturma kapasitesi değerlerinin %0,858 ila %14 arasında değiştiği rapor edilmiştir. Bu değerin ultrason uygulaması gerçekleştirilen çalışmalarda kısmen arttığı ve ~%20 ila %136 arasında değiştiği görülmektedir (Chin vd., 2022; Hadinoto vd., 2025; Hadinoto vd., 2024; Li vd., 2021; Paksin vd., 2025; Pang vd., 2024; Santos vd., 2024). Buna göre bu çalışmada elde edilen sonuçlar yalnızca alkali ekstraksiyon ile elde edile protein fraksiyonlarının sonuçlarından bazılarından daha yüksek ancak ultrason uygulaması gerçekleştirilen örneklerden kısmen düşük bulunmuştur. Bu durumun, uygulanan ilave etanol çözeltisi ile ekstraksiyon basamağında protein çözünürlüğünün azalmasına bağlı olarak proteinlerin köpük arayüzeyindeki yerleşimlerinin etkilenmesine bağlı olabileceği düşünülmektedir.

4.5.5. Jelleşme Özellikleri

Bu çalışmada BMU ve optimum koşullarda üretilen PK örnekleri için %2-20 (a/h) derişim aralığında jelleşme özelliği gözlemlenmemiştir. Bu durum literatürde daha önce de rapor edilmiştir ve protein fraksiyonlarında yer alan lif içeriği, safsızlıklar ve proteinler arası etkileşimlerin ağ oluşturacak kuvvette olmaması ile açıklanmıştır (Hellebois vd., 2021; Jaeger vd., 2023). Ancak Chin vd. (2024) tarafından yalnızca etanol kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen konsantrelerin %2 gibi düşük derişimlerde bile jel oluşturabildiği raporlanmıştır. Söz konusu çalışmada etanolde çözünen fraksiyonun diğer fraksiyonlarla karışmamış olması ve yüksek saflığa sahip olması jelleşme özelliklerini iyileştirmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ

Bu çalışmada, bira mayşe atıklarından protein geri kazanımını artırmak amacıyla ultrason destekli alkol çözeltisiyle ön ekstraksiyon ve alkali çözeltisiyle ekstraksiyonun ardışık olarak uygulandığı bir süreç geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. Alkol çözeltisi ile ön ekstraksiyon basamağının sürece eklenmesi, hem etanolde çözünebilen protein fraksiyonlarının doğrudan geri kazanılmasını hem de izleyen alkali ekstraksiyonun etkinliğinin artırılmasını sağlamıştır. Ardışık ekstraksiyon sonucunda toplam protein geri kazanımı, yalnızca alkali ekstraksiyon uygulanan sürece kıyasla yaklaşık %20,5 oranında artmıştır. Bu bulgu, etanollü ön işlemin bira mayşe atıklarından protein geri kazanımında etkili bir yaklaşım olduğunu göstermektedir. Optimum koşullarda elde edilen ürünün protein oranı yaklaşık %34,7 olarak belirlenmiş ve ürün protein konsantresi olarak değerlendirilmiştir. Protein konsantresi yüksek *in vitro* protein sindirilebilirliği göstermiştir. Tekno-fonksiyonel özellikler bakımından ise ürünün orta düzeyde çözünürlüğe, yüksek su tutma kapasitesine ve emülsiyon oluşturma yeteneğine sahip olduğu; buna karşılık köpük oluşturma ve jelleşme özelliklerinin sınırlı kaldığı belirlenmiştir. Emülsiyon ve köpük özelliklerinin alkali pH koşullarında iyileşmesi, ürünün kullanım performansının gıda sisteminin pH değerine bağlı olarak değişebileceğini ortaya koymuştur.

Etanollü ön ekstraksiyon protein geri kazanımını artırmakla birlikte, etanolün neden olabileceği protein agregasyonu ürünün çözünürlüğünü ve bazı fonksiyonel özelliklerini sınırlandırmış olabileceği değerlendirilmiştir. Elde edilen protein

konsantresinin özellikle su bağlama ve emülsiyon oluşturma özelliklerinin önemli olduğu soslar, emülsifiye ürünler ve fırıncılık ürünleri gibi gıda formülasyonlarında değerlendirilme potansiyeli bulunmaktadır.

Sonuç olarak, geliştirilen ardışık ekstraksiyon yaklaşımı bira mayşe atıklarının katma değerli bir protein kaynağına dönüştürülmesi açısından umut verici bir yöntem sunmaktadır. Bu yaklaşım, bira endüstrisi yan ürünlerinin sürdürülebilir biçimde değerlendirilmesine ve alternatif protein bileşenlerinin geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. Gelecekte yapılacak çalışmalarda sürecin pilot ölçekte uygulanabilirliğinin, etanolün geri kazanılarak yeniden kullanımının, proses maliyetlerinin ve çevresel etkilerinin incelenmesi önerilmektedir. Ayrıca protein konsantresinin gerçek gıda formülasyonlarındaki performansının, duyusal özelliklerinin, amino asit bileşiminin ve depolama stabilitesinin araştırılması ürünün endüstriyel kullanım potansiyelinin daha kapsamlı biçimde değerlendirilmesini sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

AACC. (1995). *Ash in Farina and Semolina*. AACC International Approved Methods. https://doi.org/10.1094/AACCIntMethod-45-15.01Mycotoxins

Ahuja, V., Chauhan, S., Yang, Y.-H., Bhatia, S. K., & Kumar, V. (2024). From Brew to Table: Unleashing the potential of spent grains protein. *Journal of Cereal Science*, *117*. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2024.103896

Ajomiwe, N., Boland, M., Phongthai, S., Bagiyal, M., Singh, J., & Kaur, L. (2024). Protein Nutrition: Understanding Structure, Digestibility, and Bioavailability for Optimal Health. *Foods*, *13*(11). https://doi.org/10.3390/foods13111771

Alehosseini, E., McSweeney, P. L. H., Cotter, P. D., & Miao, S. (2026). Physicochemical and Textural Optimization of Plant-Based Cheese Using Lentil–Gluten Protein Systems. *Lwt*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2026.119178

Alexandrino, T. D., Ferrari, R. A., de Oliveira, L. M., de Cássia S.C. Ormenese, R., & Pacheco, M. T. B. (2017). Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions. *LWT - Food Science and Technology*, *84*, 426-432. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.062

Alonso-Riaño, P., Ramos, C., Trigueros, E., Beltrán, S., & Sanz, M. T. (2023). Study of subcritical water scale-up from laboratory to pilot system for brewer's spent grain valorization. *Industrial Crops and Products*, *191*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115927

Aluko, R. E., & Yada, R. Y. (1995). Structure-function relationships of cowpea (Vigna unguiculata) globulin isolate: influence of pH and NaCl on physicochemical and functional properties. *Food Chemistry*, *53*, 259-265

Amoriello, T., Mellara, F., Galli, V., Amoriello, M., & Ciccoritti, R. (2020). Technological Properties and Consumer Acceptability of Bakery Products Enriched with Brewers' Spent Grains. *Foods*, *9*(10). https://doi.org/10.3390/foods9101492

AOAC. (1990). *OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS* (15 ed.). The Association of Official Analytical Chemists.

Argyri, K., Miller, D. D., Glahn, R. P., Zhu, L., & Kapsokefalou, M. (2007). Peptides Isolated from in Vitro Digests of Milk Enhance Iron Uptake by Caco-2 Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 10221-10225.

Ashfaq, A., & Younis, K. (2021). Ultrasound-assisted Extraction of Plant-Based Proteins: A Novel Technique. *Indian Journal of Pure & Applied Biosciences*, *9*(3), 145-150. https://doi.org/10.18782/2582-2845.8676

Atalay, P., Perendeci, N. A., & Goksungur, M. Y. (2020). Valorization of brewery waste. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, *26*(7), 1257-1266. https://doi.org/10.5505/pajes.2019.80850

Atkare, A. A., Allen, J. C., & Yang, M. (2026). Integrating nutritional and environmental impacts of animal-source foods via nutrition-based life-cycle assessment (nLCA). *Sustainable Production and Consumption*, *62*, 28-37. https://doi.org/10.1016/j.spc.2025.12.008

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, *117*(4), 426-436. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014

Bailey, H. M., Fanelli, N. S., & Stein, H. H. (2023). Effect of heat treatment on protein quality of rapeseed protein isolate compared with non-heated rapeseed isolate, soy and whey protein isolates, and rice and pea protein concentrates. *Journal Science Food And Agriculture*, *103*(14), 7251-7259. https://doi.org/10.1002/jsfa.12809

Balballi, E. K., & Karabulut, G. (2025). Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction versus alkaline extraction: Functional and structural properties of hazelnut proteins. *Food Chem X*, *31*, 103080. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.103080

Barrios, C., Fernández-Delgado, M., López-Linares, J. C., García-Cubero, M. T., Coca, M., & Lucas, S. (2022). A techno-economic perspective on a microwave extraction process for efficient protein recovery from agri-food wastes. *Industrial Crops and Products*, *186*. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115166

Bartolomé, B., Santos, M., Jiménez, J. J., del Nozal, M. J., & Gómez-Cordovés, C. (2002). Pentoses and Hydroxycinnamic Acids in Brewer's Spent Grain. *Journal of Cereal Science*, *36*(1), 51-58. https://doi.org/10.1006/jcrs.2002.0442

Beal, T., Gardner, C. D., Herrero, M., Iannotti, L. L., Merbold, L., Nordhagen, S., & Mottet, A. (2023). Friend or Foe? The Role of Animal-Source Foods in Healthy and Environmentally Sustainable Diets. *J Nutr*, *153*(2), 409-425. https://doi.org/10.1016/j.tjnut.2022.10.016

Belardi, I., Marconi, O., Marrocchi, A., & Mussatto, S. I. (2025). Sequential extraction of protein, phenolic compounds, and oligosaccharides from brewer's spent grains. *Separation and Purification Technology*, *371*. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2025.133385

Belwal, T., Ezzat, S. M., Rastrelli, L., Bhatt, I. D., Daglia, M., Baldi, A., Devkota, H. P., Orhan, I. E., Patra, J. K., Das, G., Anandharamakrishnan, C., Gomez-Gomez, L., Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., & Atanasov, A. G. (2018). A critical analysis of extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, industrial uses and optimization strategies. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *100*, 82-102. https://doi.org/10.1016/j.trac.2017.12.018

Bibi, R., Mokrane, H., Khaladi, K., & Amoura, H. (2021). Improvement Of Pearl Mıllet (*Pennisetum Glaucum* (L.) R. Br) Prolamın Extractabılıty: Chromatographıc Separatıon, Characterızatıon And Functıonal Properties. *Journal of microbiology, biotechnology and food sciences*, *11*(2). https://doi.org/10.15414/jmbfs.3674

Boehm, M. W., Nicholson, R. A., & Baier, S. K. (2023). Designing plant-based analogues of animal-derived foods: a review of research ranging from manufacturing to oral processing. *Current Opinion in Food Science*, *50*. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100982

Boukid, F. (2026). Barley protein: From agricultural staple to sustainable protein solution. *J Proteomics*, *326*, 105603. https://doi.org/10.1016/j.jprot.2026.105603

Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensetive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry*, *72*, 248-254.

Celus, I., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2006). The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *Journal of Cereal Science*, *44*(2), 203-211. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2006.06.003

Celus, I., Brıjs, K., & Delcour, J. A. (2007). Enzymatic Hydrolysis of Brewers' Spent GrainProteins and Technofunctional Properties of theResulting Hydrolysates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*, 8703-8710.

Chandran, A. S., Suri, S., & Choudhary, P. (2023). Sustainable plant protein: an up-to-date overview of sources, extraction techniques and utilization. *Sustainable Food Technology*, *1*(4), 466-483. https://doi.org/10.1039/d3fb00003f

Chandrapala, J., Oliver, C. M., Kentish, S., & Ashokkumar, M. (2013). Use of Power Ultrasound to Improve Extraction and Modify Phase Transitions in Food Processing. *Food Reviews International*, *29*(1), 67-91. https://doi.org/10.1080/87559129.2012.692140

Chen, L., Chen, J., Ren, J., & Zhao, M. (2011). Effects of ultrasound pretreatment on the enzymatic hydrolysis of soy protein isolates and on the emulsifying properties of hydrolysates. *J Agric Food Chem*, *59*(6), 2600-2609. https://doi.org/10.1021/jf103771x

Chin, Y. L., Chai, K. F., & Chen, W. N. (2022). Upcycling of brewers' spent grains via solid-state fermentation for the production of protein hydrolysates with antioxidant and techno-functional properties. *Food Chem X*, *13*, 100184. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100184

Chin, Y. L., Keppler, J. K., Dinani, S. T., Chen, W. N., & Boom, R. (2024). Brewers' spent grain proteins: The extraction method determines the functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *94*. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2024.103666

Combest, S., Warren, C., & Liu, Y. (2022). The Effect of Upcycled Brewers' Spent Grain on Consumer Acceptance and Predictors of Overall Liking in Muffins. *Journal of Food Quality*, *2022*, 1-9. https://doi.org/10.1155/2022/6641904

Connolly, A., Cermeno, M., Crowley, D., O'Callaghan, Y., O'Brien, N. M., & FitzGerald, R. J. (2019). Characterisation of the in vitro bioactive properties of alkaline and

enzyme extracted brewers' spent grain protein hydrolysates. *Food Research International 121*, 524-532. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.008

Connolly, A., Piggott, C. O., & FitzGerald, R. J. (2013). Characterisation of protein-rich isolates and antioxidative phenolic extracts from pale and black brewers' spent grain. *International Journal of Food Science & Technology*, *48*(8), 1670-1681. https://doi.org/10.1111/ijfs.12137

Connolly, A., Piggott, C. O., & FitzGerald, R. J. (2014). Technofunctional properties of a brewers' spent grain protein-enriched isolate and its associated enzymatic hydrolysates. *LWT - Food Science and Technology*, *59*(2), 1061-1067. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.06.054

Contreras, M. D. M., Lama-Munoz, A., Manuel Gutierrez-Perez, J., Espinola, F., Moya, M., & Castro, E. (2019). Protein extraction from agri-food residues for integration in biorefinery: Potential techniques and current status. *Bioresour Technol*, *280*, 459-477. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.02.040

Cuomo, F., Trivisonno, M. C., Iacovino, S., Messia, M. C., & Marconi, E. (2022). Sustainable Re-Use of Brewer's Spent Grain for the Production of High Protein and Fibre Pasta. *Foods*, *11*(5). https://doi.org/10.3390/foods11050642

Da Fonseca, Y. A., Gurgel, L. V. A., Baêta, B. E. L., Dragone, G., & Mussatto, S. I. (2023). Reduced-pressure alkaline pretreatment as an innovative and sustainable technology to extract protein from brewer's spent grain. *Journal of Cleaner Production*, *416*. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.137966

De Araujo, T. P., Tavares, F. O., Vareschini, D. T., & Barros, M. (2021). Biosorption mechanisms of cationic and anionic dyes in a low-cost residue from brewer's spent grain. *Environmental Technology*, *42*(19), 2925-2940. https://doi.org/10.1080/09593330.2020.1718217

Devnani, B., Moran, G. C., & Grossmann, L. (2023). Extraction, Composition, Functionality, and Utilization of Brewer's Spent Grain Protein in Food Formulations. *Foods*, *12*(7). https://doi.org/10.3390/foods12071543

Farjami, T., Slizyte, R., Jensen, I.-J., & Falch, E. (2024). Effect of moderate heating during alkaline extraction on composition and functional properties of brewer's spent grain protein concentrates. *Food Bioscience*, *61*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104604

Ferrari, L., Panaite, S. A., Bertazzo, A., & Visioli, F. (2022). Animal- and Plant-Based Protein Sources: A Scoping Review of Human Health Outcomes and Environmental Impact. *Nutrients*, *14*(23). https://doi.org/10.3390/nu14235115

Flores-Jimenez, N. T., Ulloa, J. A., Silvas, J. E. U., Ramirez, J. C. R., Ulloa, P. R., Rosales, P. U. B., Carrillo, Y. S., & Leyva, R. G. (2019). Effect of high-intensity ultrasound on the compositional, physicochemical, biochemical, functional and structural properties of canola (Brassica napus L.) protein isolate. *Food Research International*, *121*, 947-956. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.025

Fu, X., Belwal, T., Cravotto, G., & Luo, Z. (2020). Sono-physical and sono-chemical effects of ultrasound: Primary applications in extraction and freezing operations

and influence on food components. *Ultrason Sonochem*, *60*, 104726. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104726

Gençdağ, E., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2020). Recent Advances in the Recovery Techniques of Plant-Based Proteins from Agro-Industrial By-Products. *Food Reviews International*, *37*(4), 447-468. https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1709203

Gonzalez-Garcia, E., Marina, M. L., & Garcia, M. C. (2021). Impact of the use of pressurized liquids on the extraction and functionality of proteins and bioactives from brewer's spent grain. *Food Chemistry*, *359*, 129874. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129874

Gorguc, A., Bircan, C., & Yilmaz, F. M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chem*, *283*, 637-645. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.077

Gundogan, R., & Can Karaca, A. (2020). Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. *Lwt*, *130*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109609

Hadinoto, K., Ling, J. K.-U., Park, J.-W., Tran, T.-T., & Pu, S. (2025). Extraction of brewer's spent grain protein using natural deep eutectic solvent compared to alkaline extraction: Evaluating their yields, physicochemical characteristics, and functionalities. *Food and Bioproducts Processing*, *150*, 12-24. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2024.12.012

Hadinoto, K., Ling, J. K., Pu, S., & Tran, T. T. (2024). Effects of Alkaline Extraction pH on Amino Acid Compositions, Protein Secondary Structures, Thermal Stability, and Functionalities of Brewer's Spent Grain Proteins. *Int J Mol Sci*, *25*(12). https://doi.org/10.3390/ijms25126369

He, Y., Kuhn, D. D., Ogejo, J. A., O'Keefe, S. F., Fraguas, C. F., Wiersema, B. D., Jin, Q., Yu, D., & Huang, H. (2019). Wet fractionation process to produce high protein and high fiber products from brewer's spent grain. *Food and Bioproducts Processing*, *117*, 266-274. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.07.011

Hellebois, T., Gaiani, C., Planchon, S., Renaut, J., & Soukoulis, C. (2021). Impact of heat treatment on the acid induced gelation of brewers' spent grain protein isolate. *Food Hydrocolloids*, *113*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106531

Houde, M., Khodaei, N., Benkerroum, N., & Karboune, S. (2018). Barley protein concentrates: Extraction, structural and functional properties. *Food Chem*, *254*, 367-376. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.156

Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C. Y., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., & Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, *30*(2), 647-655. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.001

Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., & Brackenridge, A. (2020). Protein demand: review of plant and animal proteins used in alternative protein product

development and production. *Animal Frontiers*, *10*(4), 53-63. https://doi.org/10.1093/af/vfaa040

Jaeger, A., Sahin, A. W., Nyhan, L., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2023). Functional Properties of Brewer's Spent Grain Protein Isolate: The Missing Piece in the Plant Protein Portfolio. *Foods*, *12*(4). https://doi.org/10.3390/foods12040798

Jaeger, A., Zannini, E., Sahin, A. W., & Arendt, E. K. (2021). Barley Protein Properties, Extraction and Applications, with a Focus on Brewers' Spent Grain Protein. *Foods*, *10*(6). https://doi.org/10.3390/foods10061389

Jin, Q., Neilson, A. P., Stewart, A. C., O'Keefe, S. F., Kim, Y.-T., McGuire, M., Wilder, G., & Huang, H. (2018). Integrated Approach for the Valorization of Red Grape Pomace: Production of Oil, Polyphenols, and Acetone–Butanol–Ethanol. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *6*(12), 16279-16286. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b03136

Jin, Z., Lan, Y., Ohm, J.-B., Gillespie, J., Schwarz, P., & Chen, B. (2022). Physicochemical composition, fermentable sugars, free amino acids, phenolics, and minerals in brewers' spent grains obtained from craft brewing operations. *Journal of Cereal Science*, *104*. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103413

Junttila, M. H. (2022). Extraction of brewers' spent grain in near subcritical conditions: A method to obtain high protein contents extracts. *Journal of Agriculture and Food Research*, *10*. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100378

Karki, B., Lamsal, B. P., Jung, S., van Leeuwen, J., Pometto, A. L., Grewell, D., & Khanal, S. K. (2010). Enhancing protein and sugar release from defatted soy flakes using ultrasound technology. *Journal of Food Engineering*, *96*(2), 270-278. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.07.023

Karlović, A., Jurić, A., Ćorić, N., Habschied, K., Krstanović, V., & Mastanjević, K. (2020). By-Products in the Malting and Brewing Industries—Re-Usage Possibilities. *Fermentation*, *6*(3). https://doi.org/10.3390/fermentation6030082

Karlsen, F., Lund, I., & Skov, P. V. (2022). Optimisation of alkaline extraction of protein from brewer's spent grain. *Journal of the Institute of Brewing*, *128*(4), 150-161. https://doi.org/10.1002/jib.703

Ke, C., & Pang, B. (2026). Plant protein-based hydrogels and oleogels: A review of sources, formation, and emerging applications. *Trends in Food Science & Technology*, *170*. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2026.105588

Kemppainen, K., Rommi, K., Holopainen, U., & Kruus, K. (2016). Steam explosion of Brewer's spent grain improves enzymatic digestibility of carbohydrates and affects solubility and stability of proteins. *Appl Biochem Biotechnol*, *180*(1), 94-108. https://doi.org/10.1007/s12010-016-2085-9

Ktenioudaki, A., Alvarez-Jubete, L., Smyth, T. J., Kilcawley, K., Rai, D. K., & Gallagher, E. (2015). Application of bioprocessing techniques (sourdough fermentation and technological aids) for brewer's spent grain breads. *Food Research International*, *73*, 107-116. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.03.008

Ktenioudaki, A., Chaurin, V., Reis, S. F., & Gallagher, E. (2012). Brewer's spent grain as a functional ingredient for breadsticks. *International Journal of Food Science*

& Technology, *47*(8), 1765-1771. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03032.x

Kumar, M., Anisha, A., Kaushik, D., Kaur, J., Shubham, S., Rusu, A. V., Rocha, J. M., & Trif, M. (2023). Combinations of Spent Grains as Sources of Valuable Compounds with Highly Valuable Functional and Microbial Properties. *Sustainability*, *15*(20). https://doi.org/10.3390/su152015184

Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Verma, R., Punia, S., Mahapatra, A., Belwal, T., Dahuja, A., Joshi, S., Berwal, M. K., Satankar, V., Bhoite, A. G., Amarowicz, R., Kaur, C., & Kennedy, J. F. (2021). Advances in the plant protein extraction: Mechanism and recommendations. *Food Hydrocolloids*, *115*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106595

Li, J.-w., Ding, S.-d., & Ding, X.-l. (2007). Optimization of the ultrasonically assisted extraction of polysaccharides from Zizyphus jujuba cv. jinsixiaozao. *Journal of Food Engineering*, *80*(1), 176-183. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.05.006

Li, W., Yang, H., Coldea, T. E., & Zhao, H. (2021). Modification of structural and functional characteristics of brewer's spent grain protein by ultrasound assisted extraction. *LWT - Food Science and Technology*, *139*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110582

Lqari, H., Vioque, J., Pedroche, J., & Milla´n, F. (2002). Lupinus angustifolius protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chemistry 76*, 349–356.

Lynch, K. M., Steffen, E. J., & Arendt, E. K. (2016). Brewers' spent grain: a review with an emphasis on food and health. *Journal of the Institute of Brewing*, *122*(4), 553-568. https://doi.org/10.1002/jib.363

Mancini, S., Fratini, F., Turchi, B., Mattioli, S., Dal Bosco, A., Tuccinardi, T., Nozic, S., & Paci, G. (2019). Former Foodstuff Products in Tenebrio Molitor Rearing: Effects on Growth, Chemical Composition, Microbiological Load, and Antioxidant Status. *Animals (Basel)*, *9*(8). https://doi.org/10.3390/ani9080484

Martin-Garcia, B., Pasini, F., Verardo, V., Diaz-de-Cerio, E., Tylewicz, U., Gomez-Caravaca, A. M., & Caboni, M. F. (2019). Optimization of Sonotrode Ultrasonic-Assisted Extraction of Proanthocyanidins from Brewers' Spent Grains. *Antioxidants (Basel)*, *8*(8). https://doi.org/10.3390/antiox8080282

Mohamed, A., Hojilla-Evangelista, M. P., Peterson, S. C., & Biresaw, G. (2007). Barley Protein Isolate: Thermal, Functional, Rheological, and Surface Properties. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, *84*(3), 281-288. https://doi.org/10.1007/s11746-006-1027-z

Mussatto, S. I., Dragone, G., & Roberto, I. C. (2006). Brewers' spent grain: generation, characteristics and potential applications. *Journal of Cereal Science*, *43*(1), 1-14. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2005.06.001

Naibaho, J., Butula, N., Jonuzi, E., Korzeniowska, M., Laaksonen, O., Föste, M., Kütt, M.-L., & Yang, B. (2022). Potential of brewers' spent grain in yogurt fermentation and evaluation of its impact in rheological behaviour, consistency, microstructural

properties and acidity profile during the refrigerated storage. *Food Hydrocolloids*, *125*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107412

Naibaho, J., & Korzeniowska, M. (2021). Brewers' spent grain in food systems: Processing and final products quality as a function of fiber modification treatment. *J Food Sci*, *86*(5), 1532-1551. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15714

Naibaho, J., Korzeniowska, M., Phimolsiripol, Y., & Gavahian, M. (2025). Value-added compounds from brewers' spent grain to develop bioactive-enriched food ingredients: Recent advances in sustainable extraction and considerations for industrial application. *Food Bioscience*, *71*. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2025.107351

Negi, R., & Naik, A. (2017). Non-prolamin fraction from brewer's spent grain: a novel plant-based emulsifier. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *11*(2), 887-893. https://doi.org/10.1007/s11694-016-9460-7

Ngo, N. T. T., & Shahidi, F. (2021). Functional properties of protein isolates from camelina (Camelina sativa (L.) Crantz) and flixweed (sophia, Descurainis sophia L.) seed meals. *Food Production, Processing and Nutrition*, *3*(1). https://doi.org/10.1186/s43014-021-00076-8

Niemi, P., Tamminen, T., Smeds, A., Viljanen, K., Ohra-aho, T., Holopainen-Mantila, U., Faulds, C. B., Poutanen, K., & Buchert, J. (2012). Characterization of lipids and lignans in brewer's spent grain and its enzymatically extracted fraction. *J Agric Food Chem*, *60*(39), 9910-9917. https://doi.org/10.1021/jf302684x

Nocente, F., Natale, C., Galassi, E., Taddei, F., & Gazza, L. (2021). Using Einkorn and Tritordeum Brewers' Spent Grain to Increase the Nutritional Potential of Durum Wheat Pasta. *Foods*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/foods10030502

Nocente, F., Taddei, F., Galassi, E., & Gazza, L. (2019). Upcycling of brewers' spent grain by production of dry pasta with higher nutritional potential. *LWT - Food Science and Technology 114*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108421

Osborne, T. B. (1924). The vegetable proteins. *Journal of the Society of Chemical Industry*, *43*(17), 440-440. https://doi.org/10.1002/jctb.5000431704

Özvural, E. B., Vural, H., Gökbulut, İ., & Özboy-Özbaş, Ö. (2009). Utilization of brewer's spent grain in the production of Frankfurters. *International Journal of Food Science & Technology*, *44*(6), 1093-1099. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2009.01921.x

Paksin, P., Tangjaidee, P., Klangpetch, W., Unban, K., Khumsap, T., Klunklin, W., Yawootti, A., Jantanasakulwong, K., Rachtanapun, P., & Phongthai, S. (2025). Quality Attributes, Structural Characteristics, and Functional Properties of Brewer's Spent Grain Protein Concentrates as Affected by Alkaline and Pulsed Electric Field-Assisted Extraction. *Foods*, *14*(9). https://doi.org/10.3390/foods14091515

Pang, L., Zhang, W., Chen, C., Li, R., Huang, Z., Liu, S., Zhao, K., Zhao, F., Yang, X., & Jiang, Y. (2024). Effect of enzymatic hydrolysis and ultrasound pretreatment on allergenicity, functional properties and bioactivity of whey protein isolates. *Lwt*, *210*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116891

Petrovic, J., Pajin, B., Tanackov-Kocic, S., Pejin, J., Fistes, A., Bojanic, N., & Loncarevic, I. (2017). Quality properties of cookies supplemented with fresh brewer's spent grain. *Food and Feed Research*, *44*(1), 57-63. https://doi.org/10.5937/ffr1701057p

Phongthai, S., Lim, S.-T., & Rawdkuen, S. (2017). Ultrasonic-Assisted Extraction of Rice Bran Protein Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Biochemistry, 41*(2). https://doi.org/10.1111/jfbc.12314

Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology*, *75*, 93-104. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.010

Qazanfarzadeh, Z., Ganesan, A. R., Mariniello, L., Conterno, L., & Kumaravel, V. (2023). Valorization of brewer's spent grain for sustainable food packaging. *Journal of Cleaner Production*, *385*. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.135726

Qin, F., Johansen, A. Z., & Mussatto, S. I. (2018). Evaluation of different pretreatment strategies for protein extraction from brewer's spent grains. *Industrial Crops and Products*, *125*, 443-453. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.09.017

Qing, Q., Guo, Q., Zhou, L., Gao, X., Lu, X., & Zhang, Y. (2017). Comparison of alkaline and acid pretreatments for enzymatic hydrolysis of soybean hull and soybean straw to produce fermentable sugars. *Industrial Crops and Products*, *109*, 391-397. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.051

Rachwal, K., Wasko, A., Gustaw, K., & Polak-Berecka, M. (2020). Utilization of brewery wastes in food industry. *PeerJ*, *8*, e9427. https://doi.org/10.7717/peerj.9427

Raj, R., Shams, R., Pandey, V. K., Dash, K. K., Singh, P., & Bashir, O. (2023). Barley phytochemicals and health promoting benefits: A comprehensive review. *Journal of Agriculture and Food Research*, *14*. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100677

Resendiz-Vazquez, J. A., Ulloa, J. A., Urias-Silvas, J. E., Bautista-Rosales, P. U., Ramirez-Ramirez, J. C., Rosas-Ulloa, P., & Gonzalez-Torres, L. (2017). Effect of high-intensity ultrasound on the technofunctional properties and structure of jackfruit (Artocarpus heterophyllus) seed protein isolate. *Ultrason Sonochem*, *37*, 436-444. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.042

Ribeiro-Sanches, M. A., Júnior, S. L. F., Santezi, C., Caruso, Í. P., Augusto, P. E. D., Telis-Romero, J., & Polachini, T. C. (2026). Extraction of proteins from brewer's spent grain using ultrasound and alkaline hydrogen peroxide: Impact on extraction yield, structural and techno-functional properties. *Food Hydrocolloids*, *172*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.112012

Rodriguez, L. M., Camina, J. L., Borroni, V., & Perez, E. E. (2023). Protein recovery from brewery solid wastes. *Food Chemistry*, *407*, 134810. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134810

Roselló-Soto, E., Barba, F. J., Parniakov, O., Galanakis, C. M., Lebovka, N., Grimi, N., & Vorobiev, E. (2014). High Voltage Electrical Discharges, Pulsed Electric Field, and Ultrasound Assisted Extraction of Protein and Phenolic Compounds from

Olive Kernel. *Food and Bioprocess Technology*, *8*(4), 885-894. https://doi.org/10.1007/s11947-014-1456-x

Sá, A. G. A., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2020). Plant proteins as high-quality nutritional source for human diet. *Trends in Food Science & Technology*, *97*, 170-184. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.011

Santos, L. G., de Paula, M., Gomes, B. M., Latorres, J. M., & Martins, V. G. (2024). High-power ultrasound as a trigger for extraction of proteins from brewery waste: optimization and techno-functional properties. *Biomass Conversion and Biorefinery*. https://doi.org/10.1007/s13399-024-06109-9

Silva, A. M. M. d., Almeida, F. S., Silva, M. F. d., Goldbeck, R., & Sato, A. C. K. (2023). How do pH and temperature influence extraction yield, physicochemical, functional, and rheological characteristics of brewer spent grain protein concentrates? *Food and Bioproducts Processing*, *139*, 34-45. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.03.001

Silva, F., Nogueira, L. C., Gonçalves, C., Ferreira, A. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Teixeira, N. (2008). Electrophoretic and HPLC methods for comparative study of the protein fractions of malts, worts and beers produced from Scarlett and Prestige barley (Hordeum vulgare L.) varieties. *Food Chemistry*, *106*(2), 820-829. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.06.047

Sperandio, G., Amoriello, T., Carbone, K., Fedrizzi, M., Monteleone, A., Tarangioli, S., & Pagano, M. (2017). Increasing the Value of Spent Grain from Craft Microbreweries for Energy Purposes *Chemical Engineering Transactions 58*. https://doi.org/10.3303/CET1758082

Steiner, J., Procopio, S., & Becker, T. (2015). Brewer's spent grain: source of value-added polysaccharides for the food industry in reference to the health claims. *European Food Research and Technology*, *241*(3), 303-315. https://doi.org/10.1007/s00217-015-2461-7

Steinmacher, N. C., Honna, F. A., Gasparetto, A. V., Anibal, D., & Grossmann, M. V. E. (2012). Bioconversion of brewer's spent grains by reactive extrusion and their application in bread-making. *LWT - Food Science and Technology*, *46*(2), 542-547. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.11.011

Stojceska, V., & Ainsworth, P. (2008). The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads. *Food Chemistry*, *110*(4), 865-872. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.074

Su, L., Huang, D., & Jing, L. (2026). Harnessing the diversity of plant proteins for cultivated meat production: functional insights and emerging applications. *Trends in Food Science & Technology*, *170*. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2026.105586

Tan, J. X., Tan, C.-C., Dharmawan, J., & Jan Leong, S. S. (2023). Effects of ethanol washing on off-flavours removal and protein functionalities of pea protein concentrate. *Food and Bioproducts Processing*, *141*, 73-80. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.07.004

Tang, D.-S., Tian, Y.-J., He, Y.-Z., Li, L., Hu, S.-Q., & Li, B. (2010). Optimisation of ultrasonic-assisted protein extraction from brewer's spent grain. *Czech Journal of Food Sciences*, *28*(1), 9-17. https://doi.org/10.17221/178/2009-cjfs

Universa, A. E., Banis, A., Kince, T., Kruma, Z., & Dabina-Bicka, I. (2025). Nutritional Characterization of Brewer's Spent Grains Depending on Brewery Scale and Beer Production Technology. *Foods*, *14*(23). https://doi.org/10.3390/foods14234052

Vieira, E., Rocha, M. A. M., Coelho, E., Pinho, O., Saraiva, J. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O., & Coimbra, M. A. (2014). Valuation of brewer's spent grain using a fully recyclable integrated process for extraction of proteins and arabinoxylans. *Industrial Crops and Products*, *52*, 136-143. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.10.012

Wang, C., Tian, Z., Chen, L., Temelli, F., Liu, H., & Wang, Y. (2010). Functionality of Barley Proteins Extracted and Fractionated by Alkaline and Alcohol Methods. *Cereal Chemistry*, *87*(6), 597-606. https://doi.org/10.1094/cchem-06-10-0097

Wang, F., Zhang, Y., Xu, L., & Ma, H. (2020). An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities. *Lwt*, *127*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109348

Wang, Q., Wang, Y., Huang, M., Hayat, K., Kurtz, N. C., Wu, X., Ahmad, M., & Zheng, F. (2021). Ultrasound-assisted alkaline proteinase extraction enhances the yield of pecan protein and modifies its functional properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, *80*, 105789. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105789

Wang, S., Chen, F., Wu, J., Wang, Z., Liao, X., & Hu, X. (2007). Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, *78*(2), 693-700. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.008

Wen, C., Zhang, J., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2019). A Mini-Review on Brewer's Spent Grain Protein: Isolation, Physicochemical Properties, Application of Protein, and Functional Properties of Hydrolysates. *Journal of Food Science*, *84*(12), 3330-3340. https://doi.org/10.1111/1750-3841.14906

Wierzba, S., & Kłos, A. (2019). Heavy metal sorption in biosorbents – Using spent grain from the brewing industry. *Journal of Cleaner Production*, *225*, 112-120. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.286

Xiros, C., & Christakopoulos, P. (2012). Biotechnological Potential of Brewers Spent Grain and its Recent Applications. *Waste and Biomass Valorization*, *3*(2), 213-232. https://doi.org/10.1007/s12649-012-9108-8

Yalçın, E., Çelik, S., & İbanoğlu, E. (2007). Foaming properties of barley protein isolates and hydrolysates. *European Food Research and Technology*, *226*(5), 967-974. https://doi.org/10.1007/s00217-007-0618-8

Yao, S., Li, W., Wu, Y., Martin, G. J. O., & Ashokkumar, M. (2023). The Impact of High-Intensity Ultrasound-Assisted Extraction on the Structural and Functional Properties of Hempseed Protein Isolate (HPI). *Foods*, *12*(2). https://doi.org/10.3390/foods12020348

Yu, D., Sun, Y., Wang, W., O'Keefe, S. F., Neilson, A. P., Feng, H., Wang, Z., & Huang, H. (2019). Recovery of protein hydrolysates from brewer's spent grain using enzyme and ultrasonication. *International Journal of Food Science & Technology*, *55*(1), 357-368. https://doi.org/10.1111/ijfs.14314

Zhang, F., Sun, Z., Li, X., Kong, B., Sun, F., Cao, C., Chen, Q., Zhang, H., & Liu, Q. (2023). Ultrasound-assisted alkaline extraction of protein from Tenebrio molitor larvae: Extraction kinetics, physiochemical, and functional traits. *Ultrason Sonochem*, *95*, 106379. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106379

Zhang, J., Perez-Gavilan, A., & Neves, A. C. (2022). Evaluation of the In Vitro Bioactivities' Profiles of Brewers' Spent Grain Protein and Hydrolysates with and without Cellulase Pretreatment. *Nutraceuticals*, *2*(3), 218-233. https://doi.org/10.3390/nutraceuticals2030016

Zhang, Y., Wang, B., Zhang, W., Xu, W., & Hu, Z. (2019). Effects and mechanism of dilute acid soaking with ultrasound pretreatment on rice bran protein extraction. *Journal of Cereal Science*, *87*, 318-324. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.04.018

TEZ ÖĞRENCİSİNE AİT BİLİMSEL ÇIKTILAR

Konferans Bildirileri

1. Pajo, E., Tunçer, E.. Techno-functional Properties of Brewers' Spent Grain Flour and Potential Food Applications. International Food Innovation and Sustainability Congress, İstanbul/Türkiye. (Özet Bildiri/Poster Sunumu) (Mayıs 2026)
2. Pajo Ezgi, Tunçer Esra. Bira Mayşe Atıklarından Protein Geri Kazanımında Alkol Çözeltisi ile Verim Artırma Yaklaşımı. Türkiye 15. Gıda Kongresi, Sakarya/Türkiye (Özet Bildiri/Sözlü Sunum) (Ekim 2025)

Projeler

Bira Mayşe Atıklarından Ultrason Destekli Alkol Çözeltisi ve Alkali Çözeltisi ile Protein Özütleme İşleminin Optimizasyonu, Yürütücü: Esra TUNÇER, Araştırmacı: Ezgi PAJO, Trakya Üniversitesi Kapsamlı Bilimsel Araştırma Projesi, Proje No: 2023/37, 30/03/2023 - 30/09/2025.

ÖZGEÇMİŞ

İlkokulu Kırkpınar Ağası Alper Yazoğlu İlköğretim Okulunda okumuştur. Ortaöğrenimini Edirne Beykent Koleji'nde tamamlamıştır. Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2021 yılında mezun olmuştur. 2023 yılında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başlamıştır.