**T.C.**
**MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA TEZİ**
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**
**GIDA TEKNOLOJİSİ BİLİM DALI**

# KANATLI KEMİKLERİNDEKİ KALINTI ETLERDEN ELDE EDİLMİŞ PROTEİN HİDROLİZATLARINDAN DONDURARAK KURUTMA YÖNTEMİ İLE ET TOZU ÜRETİM OPTİMİZASYONU

**Ceyda SÖBELİ**

**Danışman**
**Prof. Dr. Semra KAYAARDI**

**MANİSA–2019**

| | | |
|---|---|---|
| **Ceyda SÖBELİ** | **KANATLI KEMİKLERİNDEKİ KALINTI ETLERDEN ELDE EDİLMİŞ PROTEİN HİDROLİZATLARINDAN DONDURARAK KURUTMA YÖNTEMİ İLE ET TOZU ÜRETİM OPTİMİZASYONU** | **2019** |

**TEZ ONAYI**

**Ceyda SÖBELİ** tarafından hazırlanan **"Kanatlı Kemiklerindeki Kalıntı Etlerden Elde Edilmiş Protein Hidrolizatlarından Dondurarak Kurutma Yöntemi İle Et Tozu Üretim Optimizasyonu"** adlı tez çalışması 08/03/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri önünde Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**'nda **DOKTORA TEZİ** olarak başarı ile savunulmuştur.

| | | |
|---|---|---|
| **Danışman** | **Prof. Dr. Semra KAYAARDI**<br>Manisa Celal Bayar Üniversitesi | ..... |
| **Jüri Üyesi** | **Prof. Dr. Meltem SERDAROĞLU**<br>Ege Üniversitesi | ..... |
| **Jüri Üyesi** | **Dr. Öğr. Üyesi Seval DAĞBAĞLI**<br>Manisa Celal Bayar Üniversitesi | ..... |
| **Jüri Üyesi** | **Prof. Dr. Figen ERTEKİN**<br>Ege Üniversitesi | ..... |
| **Jüri Üyesi** | **Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU**<br>Manisa Celal Bayar Üniversitesi | ..... |

**TAAHHÜTNAME**

Bu tezin Manisa Celal Bayar Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde, akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek tezde yer aldığını beyan ederim.

**Ceyda SÖBELİ**

**İÇİNDEKİLER**

**Sayfa**

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... iv
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... vi
TABLO DİZİNİ ..... viii
TEŞEKKÜR ..... ix
ÖZET ..... xi
ABSTRACT ..... xii
**1. GİRİŞ** ..... 1
**2. GENEL BİLGİLER** ..... 4
2.1. Kanatlı Eti Üretimi ve Kanatlı Etinin Beslenmedeki Önemi ..... 4
2.2. Kanatlı Endüstrisinde Atık ve Yan Ürünlerin Değerlendirilmesi ..... 6
2.3. Kanatlı Endüstrisi Kemik Atıklarından Protein Hidrolizatı Üretimi ..... 10
2.3.1. Protein hidroliz yöntemleri ..... 12
2.3.1.1. Asit hidrolizi ..... 12
2.3.1.2. Alkali hidroliz ..... 12
2.3.1.3. Enzim hidrolizi ..... 12
2.4. Protein Hidrolizatı Kurutma Yöntemleri ve Yapılan Çalışmalar ..... 14
2.5. Dondurarak Kurutma ..... 18
2.5.1. Dondurarak Kurutma Tanımı ve Tarihçesi ..... 18
2.5.2. Dondurarak Kurutmanın Prensibi ..... 20
2.5.3. Dondurarak Kurutma Prosesinin Aşamaları ..... 22
2.5.3.1. Dondurma ..... 23
2.5.3.2. Birincil Kurutma ..... 26
2.5.3.2.1. Birincil Kurutma Sırasında Isı ve Kütle Transferi ..... 26
2.5.4. Dondurarak Kurutma Sistem Elemanları ..... 29
2.5.4.1. Kurutma Haznesi ..... 30
2.5.4.2. Raf sistemi ..... 31
2.5.4.3. Kondenser ..... 31
2.5.4.4. Soğutma sistemi ..... 31
2.5.4.5. Vakum sistemi ..... 31
2.5.4.6. Kontrol sistemi ..... 32
2.5.5. Dondurarak Kurutma Proses Tasarımı ve Prosesin Optimizasyonu ..... 32
2.6. Yanıt-Yüzey Yöntemi ..... 35
2.6.1. Deney Tasarımı ..... 36
2.6.2. Optimizasyon ..... 38
**3. MATERYAL VE YÖNTEMLER** ..... 45
3.1. Materyal ..... 45
3.1.1. Tavuk hidrolizatı üretimi ..... 45
3.1.2. Liyofilizasyon koşulları ..... 46
3.1.3. Deneme Deseni ve Yanıt- Yüzey Yöntemi ile Optimizasyon ..... 50
3.1.4. Donma hızı belirleme denemeleri ..... 52
3.1.4.1. Yavaş donma ..... 52
3.1.4.2. Hızlı Donma ..... 53
3.1.4. 3. Orta hızda donma ..... 54
3.2. Yöntemler ..... 55
3.2.1. Genel bileşim analizleri ..... 56

3.2.2. pH Tayini ..... 56
3.2.3. Renk Tayini ..... 57
3.2.4. Su aktivitesi ..... 57
3.2.5. Protein sindirilebilirliği ..... 57
3.2.6. Kalsiyum miktarı tayini ..... 58
3.2.7. Çözünürlük ..... 58
3.2.8. Protein fraksiyonu tayini ..... 58
3.2.8.1. Myofibriler Proteinlerin Ekstraksiyonu ..... 58
3.2.8.2. Çözünür Protein Miktarı Tayini ..... 59
3.2.8.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ..... 60
3.2.9. Bağdoku Miktarı Tayini ..... 61
3.2.9.1. Örnek çözeltilerinin hazırlanması ..... 61
3.2.9.2. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması ..... 62
3.2.10. Su tutma kapasitesi ..... 62
3.2.11. Yağ bağlama kapasitesi ..... 62
3.2.12. Emülsiyon kapasitesi ..... 63
3.2.13. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Analizi ..... 63
3.2.14. Differantial Scanning Calorimetry (DSC) Analizi ..... 63
3.2.15. Mikrobiyolojik analizler ..... 64
3.2.15.1. Örneklerin analize hazırlanması ..... 64
3.2.15.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) Sayımı ..... 64
3.2.15.3. *Staphylococcus aureus* sayımı ..... 64
3.2.13.4. Maya-küf sayımı ..... 65
3.2.14. İstatistiksel analizler ..... 65
**4. BULGULAR VE TARTIŞMA** ..... 66
4.1. Süblimasyon sürelerinin belirlenmesi ..... 66
4.2. Modelin Oluşturulması ..... 77
4.2.1. Süblimasyon süresi ..... 79
4.2.2. Çözünürlük ..... 82
4.2.3. *In vitro* protein sindirilebilirliği ..... 84
4.3. Liyofilizasyon İşleminin Optimizasyonu ..... 85
4.4. Optimizasyon Sonuçlarının Validasyonu ..... 88
4.5. Tavuk eti tozu üretiminde kullanılan protein hidrolizatı veoptimum koşullarda üretilen tavuk eti tozuna ait fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalite özellikleri ..... 90
4.5.1. Protein hidrolizatı hammaddesinin ve tavuk eti tozunun genel bileşimi ..... 90
4.5.2. pH ..... 93
4.5.3. Renk ..... 94
4.5.4. Su aktivitesi ..... 96
4.5.5. Bağdoku miktarı tayini ..... 97
4.5.6. Kalsiyum miktarı tayini ..... 98
4.5.7. Protein Degradasyonu ..... 99
4.5.7.1. Çözünür Protein Miktarı ..... 99
4.5.7.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE) ..... 100
4.5.8. Su Bağlama Kapasitesi ..... 101
4.5.9. Yağ Bağlama Kapasitesi ..... 102
4.5.10. Emülsiyon Kapasitesi ..... 103
4.5.11. Differential Scanning Colorimetry (DSC) Analizi Sonuçları ..... 103
4.5.12. Fourier-Transform Infrared (FTIR) Analizi Sonuçları ..... 107

4.5.13. Tavuk Eti Tozu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları ..... 112
4.5.13.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı ..... 113
4.5.13.2. Maya-Küf Sayımı ..... 114
4.5.13.3. Staphylococcus aureus Sayımı ..... 115
**5. SONUÇ VE ÖNERİLER** ..... 116
**KAYNAKLAR** ..... 120
**EKLER** ..... 140
**ÖZGEÇMİŞ** ..... 155

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| **Adj-$R^2$** | düzeltilmiş regresyon katsayısı |
| **ANOVA** | Varyans analizi |
| **AOAC** | Association of Official Analytical Chemist |
| **$A_w$** | su aktivitesi |
| **BBD** | Box-Benkhen Design |
| **BPA** | Baird Parker Agar |
| **CCD** | Central Composite Design |
| ***d*** | İstenilebilirlik fonksiyonu |
| **D** | Toplu istenilebilirlik fonksiyonu |
| **DEFAM** | Deneysel Fen Bilimleri Araştırma Merkezi |
| **DRBC** | Dichloran rose bengal chloramphenicol Agar |
| **DSC** | Differantial Scanning Calorimetry |
| **EDTA** | Etilendiamin tetraasetik asit |
| **FCCD** | Face-centered Central Composite Design |
| **FT-IR** | Fourier Transform Infrared |
| **ICP-MS** | Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometer |
| **MAE** | Mekanik ayrılmış et |
| **MAKE** | Mekanik ayrılmış kanatlı eti |
| **OD** | Optik yoğunluk |
| **PCA** | Plate Count Agar |
| **Pre-$R^2$** | Tahminlenmiş regresyon katsayısı |
| **PRESS** | Tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı |
| **$R^2$** | Regresyon katsayısı |
| **RSM** | Response Surface Methodology-Yanıt Yüzey Yöntemi |
| **SDS** | Sodyum dodesil sülfat |
| **SDS-PAGE** | Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi |
| **t** | Süre |
| **TAMB** | Toplam aerobik mezofilik bakteri |
| **Tc** | Çökme (collapse) sıcaklığı |
| **TCA** | Trikloroasetik asit |
| **Te** | Erime sıcaklığı |
| **Tg** | Camsı geçiş sıcaklığı |

| | |
|---|---|
| **Tg'** | Donuk konsantrat camsı geçiş sıcaklığı |
| **Tp** | Ürün sıcaklığı |
| **Ts** | Raf sıcaklığı |
| **TS** | Türk Standardı |
| **TÜİK** | Türkiye İstatistik Kurumu |

| | |
|---|---|
| **%** | yüzde |
| **°C** | santigrat derece |
| **µL** | mikrolitre |
| **cm** | santimetre |
| **dk** | dakika |
| **g** | gram |
| **kg** | kilogram |
| **kJ** | kilo joule |
| **M** | Molar |
| **$m^2$** | metrekare |
| **mg** | miligram |
| **mL** | mililitre |
| **mm** | milimetre |
| **mM** | milimolar |
| **mTorr** | mili Torr |
| **nm** | nanometre |
| **Pa** | Pascal |
| **rpm** | devir sayısı/dakika |
| **w/v** | ağırlık/hacim |
| **ΔT** | sıcaklık farkı |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Sayfa**

Şekil 2.1. Türkiye tavuk eti üretim miktarları ..... 5
Şekil 2.2. Kanatlı işleme akım şeması ve işleme sırasında ortaya çıkan atık ve yan ürünler ..... 8
Şekil 2.3. Hayvansal yan ürünlerin kullanımı ile ilgili akış diyagramı ..... 9
Şekil 2.4. Hayvansal ve bitkisel proteinlerden peptit üretimi genel akım şeması ..... 11
Şekil 2.5. Dondurarak kurutma sıcaklık-basınç grafiği ..... 21
Şekil 2.6. Dondurarak kurutma proses döngüsü ..... 22
Şekil 2.7. Dondurarak kurutma prosesinin aşamaları ..... 23
Şekil 2.8. Dondurarak kurutma sırasında ısı ve kütle transferi ..... 27
Şekil 2.9. Bir gıdanın dondurarak kurutma sırasında başlangıç anında, süblimasyon sırasında ve desorpsiyon olduğu anda şematik gösterimi ..... 28
Şekil 2.10. Laboratuvar ölçekli bir dondurarak kurutma sisteminin şematik gösterimi 30
Şekil 2.11. k=2 ve k=3 için merkezi tümleşik desen ..... 37
Şekil 2.12. k=2 ve k=3 için yüzey merkezli tümleşik desen ..... 38
Şekil 2.13. Belli bir aralıktaki hedef için istenilebilirlik fonksiyonu ..... 41
Şekil 3.1. Kabin tasarımı için kullanılan paslanmaz çelik kazan ..... 47
Şekil 3.2. Tepsi sıcaklığı kontrolü için tasarlanan raf sistemi ..... 47
Şekil 3.3. Sıcaklık kontrolü için yerleştirilen termokapıllar ..... 48
Şekil 3.4. Sıcaklık kontrollü dondurarak kurutma sistemi ..... 48
Şekil 3.5. Ürünlerin sisteme yerleştirilmesinde kullanılan tepsiler ve örnek kapları ..... 49
Şekil 3.6. Kalıp içindeki hidrolizatların akışkan yatak dondurucudaki görüntüsü ..... 49
Şekil 3.7. Dondurarak kurutma sisteminin son hali ..... 50
Şekil 3.8. Hammaddenin yavaş donma hızına ait donma grafiği ..... 53
Şekil 3.9. Hammaddenin hızlı donma hızına ait donma grafiği ..... 54
Şekil 3.10. Hammaddenin orta hızda donma hızına ait donma grafiği ..... 55
Şekil 3.11. Elektroforez sistemi ..... 60
Şekil 4.1. Termokapılların örnek kalıbı içerisinde yerleşimi ..... 66
Şekil 4.2. ST (15) - LT (-15) -FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 67
Şekil 4.3. ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-1ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 68
Şekil 4.4. ST (5) - LT (-15) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 68
Şekil 4.5. ST (5) - LT (-15) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 69
Şekil 4.6. ST (15) - LT (-10) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 69
Şekil 4.7. ST (5) - LT (-10) - FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 70
Şekil 4.8. ST (15) - LT (-10) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 70
Şekil 4.9. ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-2 ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 71
Şekil 4.10. ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-3 ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 71
Şekil 4.11. ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-4 ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 72
Şekil 4.12. ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-5 ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 72
Şekil 4.13. ST (15) - LT (-20) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 73
Şekil 4.14. ST (15) - LT (-20) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 73
Şekil 4.15. ST (5) - LT (-20) - FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 74
Şekil 4.16. ST (-5) - LT (-20) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 74
Şekil 4.17. ST (-5) - LT (-10) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 75
Şekil 4.18. ST (-5) - LT (-20) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 75
Şekil 4.19. ST (-5) - LT (-10) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 76
Şekil 4.20. ST (-5) - LT (-15) - FR (2.00) ait sıcaklık-zaman grafiği ..... 76

Şekil 4.21. Süblimasyon süresi yanıtı için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri ... 81
Şekil 4.22. Çözünürlük yanıtı için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri ..... 84
Şekil 4.23. En yüksek istenilebilirlikte bağımsız ve bağımlı değişkenler ..... 87
Şekil 4.24. Tavuk eti tozu ve tavuk proteini hidrolizatı görüntüleri ..... 95
Şekil 4.25. Hidroksiprolin standartları kalibrasyon grafiği ..... 97
Şekil 4.26. Tavuk eti tozlarına ait SDS-PAGE jel görüntüsü ..... 100
Şekil 4.27. T1 örneğine ait DSC termogramı ..... 104
Şekil 4.28. T2 örneğine ait DSC termogramı ..... 105
Şekil 4.29. T3 örneğine ait DSC termogramı ..... 105
Şekil 4.30. T4 örneğine ait DSC termogramı ..... 106
Şekil 4.31. T1 örneğine ait FTIR spektrumu ..... 108
Şekil 4.32. T2 örneğine ait FTIR spektrumu ..... 109
Şekil 4.33. T3 örneğine ait FTIR spektrumu ..... 110
Şekil 4.34. T4 örneğine ait FTIR spektrumu ..... 111

## TABLO DİZİNİ

**Sayfa**

Tablo 1.1. 2010-2018 yılları arasında Türkiye'de tavuk eti üretimi ..... 1
Tablo 2.1. Türkiye'de tavuk etine ait veriler..... 4
Tablo 2.2. Çeşitli kanatlı etlerinin besinsel özellikleri..... 5
Tablo 2.3.Hayvansal kaynaklar ve yan ürünleri kullanılarak farklı enzimlerle protein hidrolizatı elde edilmiş çalışmalar ..... 14
Tablo 2.4. Konvansiyonel kurutma ve dondurarak kurutma arasındaki farklar ..... 19
Tablo 3.1. Central Composite Design için bağımsız değişkenler ve seviye değerleri .. 51
Tablo 3.2. Central Composite Design Deneme Deseni ..... 52
Tablo 3.3. Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (yavaş donma) ..... 53
Tablo 3.4. Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (hızlı donma) ..... 54
Tablo 3.5. Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (orta hızda donma) ..... 55
Tablo 3.6. Tavuk hidrolizatı ve tavuk eti tozunda yapılan analizler ..... 56
Tablo 3.7. Bradford kiti standart hazırlama yöntemi ..... 59
Tablo 4.1. CCD deneme desenine göre yapılmış üretimlerden yanıtlara ait deneysel veriler ..... 77
Tablo 4.2. Her bir yanıt üzerinde lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu ..... 78
Tablo 4.3. Tavuk eti tozu üretimi için optimizasyon sınırları ..... 85
Tablo 4.4.Doğrulama üretimlerine ait yanıtların ortalama ve standart sapma değerleri ve modelden tahminlenen değerler ..... 88
Tablo 4.5. Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması ..... 89
Tablo 4.6. Protein hidrolizatı hammaddesinin genel bileşimi ..... 90
Tablo 4.7. Tavuk eti tozu örneklerinin genel bileşimi ..... 91
Tablo 4.8. Protein hidrolizatı hammaddesinin pH değerleri ..... 93
Tablo 4.9. Protein hidrolizatı hammaddesinin renk değerleri ..... 94
Tablo 4.10. Tavuk eti tozu örneklerinin renk değerleri ..... 94
Tablo 4.11. Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değerleri ..... 96
Tablo 4.12. Tavuk eti tozu örneklerinin bağdoku miktarı değerleri ..... 98
Tablo 4.13. Tavuk eti tozu örneklerinin kalsiyum miktarı değerleri ..... 98
Tablo 4.14. Tavuk eti tozu örneklerinin çözünür myofibriler protein miktarları ..... 99
Tablo 4.15. Tavuk eti tozu örneklerinin su bağlama kapasitesi değerleri ..... 101
Tablo 4.16. Tavuk eti tozu örneklerinin yağ bağlama kapasitesi (YBK) değerleri ..... 102
Tablo 4.17. Tavuk eti tozu örneklerinin emülsiyon kapasitesi (EK) değerleri ..... 103
Tablo 4.18. Tavuk eti tozu örneklerinin TAMB değerleri ..... 113
Tablo 4.19. Tavuk eti tozu örneklerinin maya-küf değerleri ..... 114

**TEŞEKKÜR**

Lisans tezimden beri danışmanlığımı yürüten, geride kalan 10 yılda bilgisinden, tecrübesinden ve hayata bakış açısından çok şey öğrendiğim ve öğrenmeye devam edeceğim, akademik hayattaki adımlarımın her birinde desteğini hissettiğim, bu tez çalışması boyunca da bana bıkmadan usanmadan yol gösteren, çok kıymetli bilgileriyle yolumu aydınlatan saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Semra KAYAARDI'ya; tez çalışmasının alt yapısının oluşmasında çok büyük desteğini gördüğüm, hem teknik hem de akademik anlamda tüm zorluklarda yardımını esirgemeyen değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi İsmail EREN'e; tez izleme toplantılarında fikirleri ve deneyimleriyle çalışmamın ilerlemesine büyük katkı sağlayan, desteklerini ve ilgilerini esirgemeyen tez izleme komitesi üyesi hocalarım Sayın Prof. Dr. Meltem SERDAROĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Seval DAĞBAĞLI'ya; tez çalışması süresince bölümün her türlü imkanını kullanmamı sağlayan, bilgi birikiminden de her zaman faydalandığım Gıda Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU'na; tez savunma jürimde bulunarak tezime yaptığı katkılardan ötürü Sayın Prof. Dr. Figen ERTEKİN'e; temiz kalbi, ince düşünceleri ve pratik çözümleriyle tez çalışmasına destek olan ve beni her zaman olumlu yönde etkileyen sevgili hocam Dr. Öğr. Üyesi Aslı AKPINAR'a; birlikte yılları devirdiğimiz, bir o kadar da yolun başında olduğumuzu hissettiğim, çalışmalarım sırasında tüm gayretiyle beni destekleyen, akademik yoldaşım, canım arkadaşım Arş. Gör. Dr. Müge UYARCAN'a; tez çalışması boyunca laboratuvarda hep yanımda olan, benimle birlikte yorulup benimle tüm duygularımı paylaşan, hem teknik hem de manevi olarak desteğini hep hissettiğim canım arkadaşım Tekniker Gülşen GÖDE'ye; çalışmamın mikrobiyolojik analizlerini kendi çalışması gibi benimseyip bana her anlamda yardımcı olan çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dr. S. Betül BOZATLI'ya; aramıza yeni katılmalarına rağmen, kısa zamanda çok büyük desteklerini gördüğüm çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Emine ERDAĞ ve Arş. Gör. Sermet Can BEYLİKÇİ'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmasına hammadde desteği sağlayan Keskinoğlu Tavukçuluk ve Damızlık İşl. San Tic. A.Ş.'ye ve İleri İşlem Tesis Müdürü Sayın Fatih ÇELİK'e teşekkür ederim.

Bu tez çalışması konusu ile 2211-C Öncelikli Alanlar Doktora Bursu kapsamında aldığım burs desteği için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu (TÜBİTAK)'na teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca desteğini hissettiğim, sabır ve fedakarlık gösteren, sıkıntılarımı paylaşan eşim Serkan SÖBELİ'ye; akademisyen olma yoluna adım attığım ilk günden beri, ne zaman sıkıntıya düşsem hep yanımda olan, benimle birlikte sevinip, benimle birlikte üzülen, beni yetiştirmek için verdikleri emekleri, gösterdikleri fedakarlıkları asla ödeyemeyeceğim, dualarını ve bana olan inançlarını hep üzerimde hissettiğim canım annem Selma ZENGİN ve canım babam Mustafa ZENGİN'e; uzakta da olsa desteğini ve ilgisini her zaman hissettiğim kardeşim Serdar ZENGİN'e sonsuz teşekkür ederim.

Ceyda SÖBELİ

Manisa, 2019

*Tezimle birlikte büyüyen,*
*şans meleğim, can parçam, oğlum Dora'ya ithafen…*

# ÖZET

**Doktora Tezi**

**Kanatlı Kemiklerindeki Kalıntı Etlerden Elde Edilmiş Protein Hidrolizatlarından Dondurarak Kurutma Yöntemi İle Et Tozu Üretim Optimizasyonu**

**Ceyda SÖBELİ**

**Manisa Celal Bayar Üniversitesi**
**Fen Bilimleri Enstitüsü**
**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Danışman: Prof. Dr. Semra KAYAARDI**

Yapılan bu tez çalışmasıyla, kanatlı endüstrisi atığı olan kemikler üzerindeki et kalıntılarının hidroliz edilerek geri kazandırılması, elde edilen bu hidrolizattan protein oranı ve kalitesi yüksek olan tavuk eti tozunun dondurarak kurutma yöntemiyle en kısa sürede üretilmesi ve piyasada bulunan protein tozlarına ve katkı maddelerine alternatif bir ürün geliştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, kanatlı kemikleri üzerinde kalan etler enzimatik hidroliz yöntemiyle işlenmiş ve protein hidrolizatı elde edilmiştir. Hidrolizattan en kısa süblimasyon süresinde, en yüksek çözünürlük ve in vitro protein sindirilebilirliğine sahip tavuk eti tozu elde etmek amacıyla optimizasyon çalışması yapılmıştır. Dondurarak kurutma prosesine etki ettiği bilinen raf sıcaklığı (-5-(+)15 °C), liyofilizasyon sıcaklığı (-20-(-)10 °C) ve donma hızı (0.40-3.60 °C/dk) bağımsız değişkenler olarak kabul edilmiş ve yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimum üretim koşulu 15 °C raf sıcaklığı, (-)10°C liyofilizasyon sıcaklığı ve 2.00 °C/dk donma hızı olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda elde edilen tavuk eti tozu için süblimasyon süresi, çözünürlük ve *in vitro* protein sindirilebilirliği sırasıyla 590,344 (dk), 25,625 (%) ve 23,808 (%)'dir.

Optimum koşullarda dört tekerrürlü üretim yapılmış, üretilen tavuk eti tozu örnekleri ve hammadde olarak kullanılan protein hidrolizatlarının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri gerçekleştirilmiştir.

Tavuk eti tozlarının gerek nem ve su aktivitesi değerleri, gerek protein oranı ve kalitesi gerekse fonksiyonel özellikleri bakımından piyasadaki protein tozlarına alternatif olabileceği sonucuna varılmıştır. Tavuk eti tozlarının mikrobiyolojik kalitesinin iyileştirilmesi için endüstriyel boyutta üretim yapıldığında, kontrollü proses koşullarının oluşturulması önerilmektedir.



**Anahtar kelimeler:** mekanik sıyrılmış kanatlı eti, enzimatik hidroliz, dondurarak kurutma, optimizasyon, et tozu
**2019, 158 sayfa**

## ABSTRACT

**PhD Thesis**

**Optimization of Meat Powder Production by Freeze-Drying Method from Protein Hydrolysates Obtained from Residue Meat on Poultry Bones**

**Ceyda SÖBELİ**

**Manisa Celal Bayar University**
**Graduate School of Applied and Natural Sciences**
**Department of Food Engineering**

**Supervisor: Prof. Dr. Semra KAYAARDI**

With this study, recovery of chicken meat stuck on the bones of poultry industry wastes by enzymatic hydrolysis, production of chicken meat powder with high quality protein content by freeze-drying method in a short time and development of an alternative product to protein powders and food additives were aimed.

In the study, mechanically deboned chicken meat residues were hydrolyzed by enzymatic hydrolysis and protein hydrolysate was obtained. Optimization studies were carried out in order to obtain chicken meat powder from protein hydrolysate that has maximum solubility and *in vitro* protein digestibility in minimum sublimation time. Response Surface Methodology (RSM) was used for optimization with the independent variables shelf temperature (-5-(+)15 °C), lyophilization temperature (-20-(-)10 °C) and freezing rate (0.40-3.60 °C/min). The optimum conditions were shelf temperature, 15 °C; lyophilization temperature, (-) 10°C; and freezing rate, 2.0°C/min. Sublimation time, solubility and *in vitro* protein digestibility for this optimum conditions were found to be 590,344 (min), 25,625 (%) and 23,808 (%), respectively.

Chicken meat powders were produced four times (as replicates) under optimum conditions and physical, chemical and microbiological analysis of chicken meat powders and protein hydrolysates used in powder production were performed.

It was concluded that chicken meat powders could be the alternatives for protein powders in the market in terms of moisture and water activity content, high protein quality and content and also functional properties. As a proposal for improvement of microbiological quality, controlled process conditions shoulde be provided in industrial production,



**Key words:** mechanically deboned poultry meat, enzymatic hydrolysis, freeze-drying, optimization, meat powder

**2019, 158 pages**

# 1. GİRİŞ

Türkiye'de ve dünyada nüfusun artmasıyla birlikte gıda ve protein ihtiyacında da artış meydana gelmektedir. Kırmızı etteki üretim maliyetleri ve dolayısıyla yüksek satış fiyatları hayvansal gıda kaynağı olarak tavukçuluk sektörü ve tavuk eti üretimi ile tüketimini ön plana çıkarmaktadır.

Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) verilerine göre 2010-2018 yılları arasında tavuk eti üretiminde ciddi bir artış bulunmaktadır [1]. Tablo 1.1'de Türkiye'de tavuk eti üretimiyle ilgili istatistiksel veriler görülmektedir.

**Tablo 1.1**. 2010-2018 yılları arasında Türkiye'de tavuk eti üretimi [1]

| Yıl | Kesilen tavuk sayısı (adet) | Üretilen tavuk eti (ton) |
|---|---|---|
| **2010** | 843 897 793 | 1 444 059 |
| **2011** | 963 245 455 | 1 613 309 |
| **2012** | 1 047 782 683 | 1 723 919 |
| **2013** | 1 060 673 395 | 1 758 363 |
| **2014** | 1 109 742 317 | 1 894 669 |
| **2015** | 1 118 719 413 | 1 909 276 |
| **2016** | 1 101 571 912 | 1 879 018 |
| **2017** | 1 228 444 095 | 2 136 734 |
| **2018 (Kasım ayı itibariyle)** | 1 129 714 000 | 1 985 044 |

Tavuk etinin artan üretimiyle birlikte tonlarca da atık ve yan ürünler ortaya çıkmaktadır. Bu yan ürünler arasında, iç organlar, ayaklar, baş, kan, kemikler ve tüyler sayılabilmektedir [2–4]. Tavuk karkasının göğüs, but ve kanat gibi temel parçalarının ayrılmasından sonra geriye göğüs kafesi, sırt ve boyunu içeren ve tüm karkasın yaklaşık %40'ını oluşturan kısım kalmaktadır. Karkas üzerinde kalan, tüm etin azımsanmayacak bir kısmını oluşturan bu etler, mekanik yollarla ayrılarak teknolojiye kazandırılabilmektedir [5]. Literatürde "mechanically deboned meat (MDM)", "mechanically recovered meat (MRM)" ya da " mechanically separated meat (MSM)" olarak geçen mekanik olarak ayrılmış et (MAE), elle büyük parçalar ayrıldıktan sonra kemikte kalan küçük parçaların mekanik yollarla (düşük/yüksek basınç sistemleri ve/veya "makaslama" yöntemiyle) ayrılmasıyla elde edilen ettir [5–

8]. MAE, birçok ülkede üstün fonksiyonel ve besleyici özellikleri ve ucuz protein kaynağı olmasından dolayı salam, sosis, köfte gibi ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır [6,9,10]. Ülkemizde de yakın zamana kadar pek çok üründe kullanılıp, üzerinde çok çeşitli araştırmalar yapılmış olmasına rağmen 5 Aralık 2012 tarihinde değişen "Et ve Et Ürünleri Tebliği" ile et ürünlerine MAE katılması yasaklanmıştır [11]. Bununla birlikte, 29 Ocak 2019 tarihinde değişen tebliğ ile mekanik ayrılmış kanatlı etinin (MAKE) "sadece ısıl işlem görmüş kanatlı emülsifiye et ürünlerinin üretiminde kullanımı" ile ilgili yeni düzenleme getirilmiştir [12]. Bu düzenleme yapılmadan önceki süreçte, kemikler üzerinde kalan bu etler renderinge gönderilerek hayvan yemi olarak değerlendirilebilmekteydi. Ancak, bu yöntem ekonomi için büyük kayıp anlamına gelmektedir. Tavuk karkasında kalan bu etleri MAE olarak değerlendiremeyen et sektörü ise bu etlerin değerlendirilmesi için hem ekonomik olarak daha avantajlı hem de insan tüketimine uygun yeni yöntemler aramaya başlamıştır [13]. Bu yöntemlerin başında hem MAE'den hem de mekanik ayırma işleminden sonra kalan kemiklerden (MDR) çeşitli yöntemlerle proteinleri ekstrakte ederek "protein hidrolizatı" elde etmek ve bu ekstraktları çeşitli ürünlerin fonksiyonel özelliklerini iyileştirmek başta olmak üzere pek çok alanda kullanmak gelmektedir [14–22].

Protein hidrolizatları yüksek nem ve protein içeriklerinden dolayı oldukça dayanıksızdır. Bu nedenle raf ömürlerini arttırmak için uygun bir koruma yöntemi uygulamak gerekmektedir. Koruma yöntemlerinin arasında enzimatik ve mikrobiyal reaksiyonları azaltmak amacıyla su aktivitesinin düşürüldüğü kurutma, protein hidrolizatları için en uygun yöntemdir [23].

Gıdaların kurutulması çok eski zamanlardan beri kullanılan bir muhafaza ve işleme yöntemidir. En yaygın olarak kullanılan, bilinen en eski ve en basit kurutma yöntemi ise sıcak hava ile (konvansiyonel) kurutmadır [24]. Ancak sıcak hava ile kurutma sırasında gıdanın yüksek sıcaklıklara maruz kalması başta renk olmak üzere birçok kalite özelliğinin olumsuz etkilenmesine ve gıdada istenmeyen değişikliklere neden olmaktadır [24]. Bu istenmeyen değişikliklerin ortadan kaldırılması ve gıdanın taze haline en yakın şekilde kurutulması için vakumda kurutma, kızılötesi ışınımla kurutma, morötesi radyasyonla kurutma, dielektrik kurutma, mikrodalga kurutma ve dondurarak kurutma (liyofilizasyon) gibi yeni teknikler geliştirilmiştir [24–26].

Liyofilizasyon olarak da adlandırılan dondurarak kurutma, ürünlerin stabilize edilmesi ve muhafazası için biyoteknoloji, gıda ve eczacılık alanlarında sıklıkla kullanılan bir kurutma yöntemidir [26–30]. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında en kaliteli kurutulmuş ürünün dondurarak kurutma ile elde edildiği belirtilmektedir [29,31].

Dondurarak kurutma işlemi çok düşük basınç altında donmuş materyalden ya da donmuş çözeltilerden çözücünün (serbest su) süblimasyonla, bağlı suyun desorpsiyonla uzaklaştırılması işlemidir [27,32]. Dondurarak kurutma işlemi temelde üç aşamadan oluşmaktadır: a) dondurma, b) birincil kurutma (süblimasyon) ve c) ikincil kurutma (desorpsiyon) [24,25,29,31].

Dondurarak kurutma yönteminin ürüne olan avantajları yanında kurulum maliyetleri ve proses süresinin uzun olması dezavantajlarından sayılmaktadır. Bu nedenle proses süresini kısaltmak amacıyla yapılan optimizasyon çalışmaları son yıllarda araştırmacılar tarafından oldukça ilgi çeken bir konu haline gelmiştir [33–38]
.

Tüketicilerin değişen yaşam tarzlarına ayak uydurmak için yeni teknolojiler geliştiren gıda sektörü, bu anlamda farklı kaynaklara da yönelmektedir. Bu anlamda tavuk yan ürünlerinden elde edilen protein hidrolizatları, katma değer katacak yeni bir alternatif olarak düşünülebilmektedir. Ayrıca sadece ürüne katarak değil, aynı zamanda proteinleri bütün olarak sindiremeyen bireylerin beslenmelerinin düzenlenmesinde, sindirimin kolaylaşmasından dolayı sporcu beslenmesinde ve pek çok diyette protein desteği olarak kullanılabilmektedir. Yapılan bu tez çalışması ile ülkemizde ciddi bir potansiyele sahip olan kanatlı endüstrisi kemik atıklarından enzimatik yolla protein kaynağı elde edilmesi ve dondurarak kurutma yönteminin optimizasyonuyla en kısa sürede, en kaliteli tavuk eti tozu üretilmesi amaçlanmıştır. Elde edilen bu tavuk eti tozunun ise et endüstrisinde farklı ürünlerde katkı maddesi olarak ya da farklı amaçlarla doğrudan kullanılması ve başta et endüstrisi olmak üzere ülke ekonomisine büyük katkı sağlaması hedeflenmektedir.

# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. Kanatlı Eti Üretimi ve Kanatlı Etinin Beslenmedeki Önemi

Bir gıda bileşeni olarak proteinler, insan beslenmesinin önemli bir parçası olarak yaygın şekilde tüketilmektedir. Hayvansal kaynaklardan elde edilen proteinler, insanın besinsel gerekliliklerini karşıladığı için daha çok tercih edilmektedir [23]. Yüksek kaliteli protein kaynağı olarak et, insanların beslenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Et çeşitleri arasında kanatlı eti, hem kültürel ya da dini kısıtlamalara maruz kalmaması, hem de düşük yağ ve yüksek protein içeriğiyle besleyici ve sağlıklı olmasından dolayı evrensel olarak tüketilmektedir [39,40]. En önemlisi de bu yüksek kaliteli etin ucuz olması ve pek çok kişi tarafından ulaşılabilir olmasıdır. Bu özelliğinden dolayı kanatlı etleri arasında özellikle tavuk eti, düşük gelirli olan ülkelerde en iyi protein kaynağıdır [41]. Kanatlı eti, domuz ve dana etiyle karşılaştırıldığında dünya çapındaki et tüketiminin yaklaşık %35'ini oluşturduğundan dünyada en çok tüketilen ikinci et çeşididir [42].

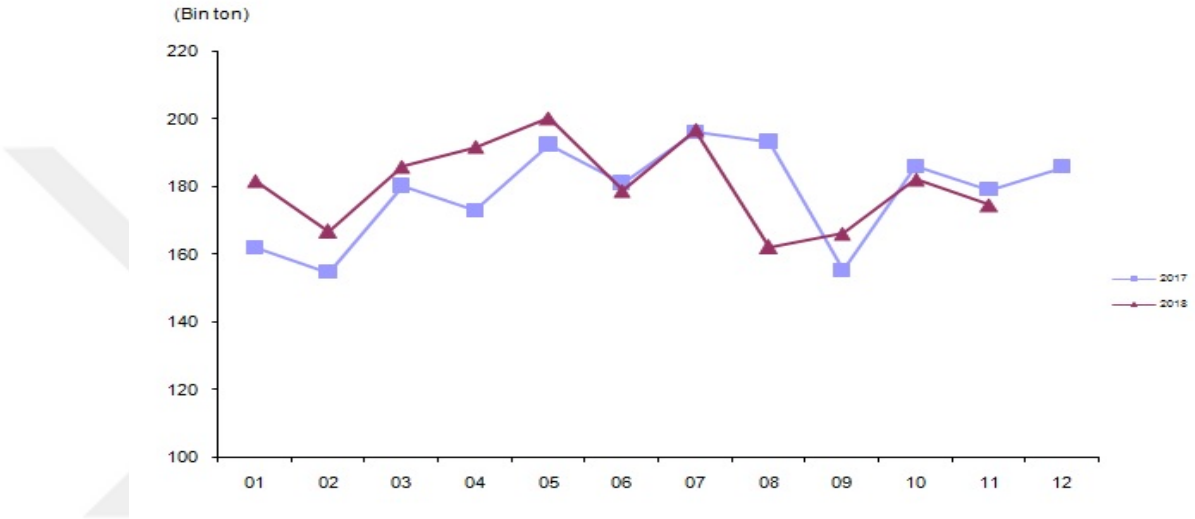
Kanatlı eti terimi, tavuk, hindi, ördek ve kaz gibi özellikle eti ve yumurtası değerli olan evcil kümes hayvanlarını ifade etmektedir [43,44]. Kanatlı etleri piyasada taze ya da donuk, bütün ya da parça halde, kemikli ya da kemiksiz, çeşitli şekillerde baharatlanmış, çiğ ya da pişmeye hazır halde bulunabilmektedir [43,45].

Türkiye'de 2017 yılında üretilen kanatlı hayvanların %64'ünü et tavuğu, %35'ini yumurta tavuğu, %1'lik kısmını ise hindi, ördek, kaz gibi diğer kanatlı hayvanlar oluşturmaktadır [46]. Türkiye'deki tavuk etine ait üretim, tüketim, ihracat ve kişi başına düşen tüketim (kg) miktarları Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Türkiye'de tavuk etine ait veriler [1]

| | **2013** | **2014** | **2015** | **2016** | **2017** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Üretim (ton)** | 1.758.363 | 1.894.669 | 1.909.276 | 1.879.018 | 2.136.734 |
| **Tüketim (ton)** | 1.401.146 | 1.498.221 | 1.576.157 | 1.564.701 | 1.735.755 |
| **İhracat (ton)** | 357.567 | 396.765 | 334.006 | 314.402 | 403.731 |
| **Kişi başına tüketim (kg)** | 18,3 | 19,3 | 20 | 19,6 | 21,4 |

2018 yılı Kasım ayına kadar olan veriler incelendiğinde kesilen tavuk sayısı bir önceki yılın aynı ayına göre %1,5 azalma göstermiştir. Kasım ayında kesilen hindi sayısı ise bir önceki yılın aynı ayına göre %10,5 artmıştır [47]. Tavuk eti üretimi Kasım 2018 itibariyle 174.483 ton; hindi üretimi ise 4.954 ton olarak açıklanmıştır. Kasım 2018 itibariyle 2017-2018 yılları aylara göre Türkiye'deki tavuk eti üretim miktarları Şekil 2.1'de gösterilmektedir.




**Şekil 2.1.** Türkiye tavuk eti üretim miktarları, Kasım 2018. [47]

Kanatlı etleri tür olarak çeşitlilik gösterse de benzer kimyasal kompozisyona sahiptir. Tablo 2.1'de çeşitli kanatlı etlerinin besinsel özellikleri yer almaktadır.

**Tablo 2.2.** Çeşitli kanatlı etlerinin besinsel özellikleri (g/ 100 g) [48]

| **Bileşen** | **Broyler** | **Hindi** | **Ördek** | **Bıldırcın** |
|---|---|---|---|---|
| **Su** | 74.6 | 72.5 | 70.8 | 74.3 |
| **Kül** | 1.0 | 0.8 | 1.2 | 1.1 |
| **Protein** | 12.1 | 13.7 | 12.8 | 13.1 |
| **Yağ** | 11.1 | 11.9 | 13.8 | 11.1 |
| **Lif** | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| **Karbonhidrat** | 1.2 | 1.1 | 1.4 | 1.4 |

Kanatlı etleri arasında en çok tüketilenler tavuk ve hindi etidir. Tavuk eti, dana etinden daha az doymuş yağ içeren bir protein kaynağıdır. Proteini, tüm

esansiyel aminoasitlerin zengin bir kaynağıdır. Bununla birlikte, derisi çok yüksek oranda yağ içerdiğinden, pişirmeden önce derisinin alınması önerilmektedir. Tavuk eti ayrıca $B_6$ ve $B_{12}$ vitamini, demir, çinko ve fosfor kaynağıdır [48,49] Hindi eti, iyi bir protein kaynağı olmasının yanında iyi bir selenyum, çinko, niasin ve $B_6$ ve $B_{12}$ vitamini kaynağıdır. Hindi de tavuk etine benzer olarak yağının büyük çoğunluğunu deride içermektedir. Koyu renk etleri açık renk etlerine göre daha yağlıdır. Bu anlamda derisiz beyaz et, yüksek proteinli ve düşük yağlı mükemmel bir gıdadır [48].

Bahsedilen sağlık ve ekonomik özelliklerinden dolayı kanatlı eti üretimi ve tüketimi tüm dünyada gün geçtikçe artış göstermektedir [2]. Kanatlı endüstrisinde açığa çıkan atık miktarı da üretim ve tüketim miktarına paralel olarak artmaktadır. Üreticiler ve araştırmacılar ise önceleri yem ve organik gübre olarak değerlendirilen bu atıkları değerlendirmek için yeni yöntemler arayışına girmiştir.

### 2.2. Kanatlı Endüstrisinde Atık ve Yan Ürünlerin Değerlendirilmesi

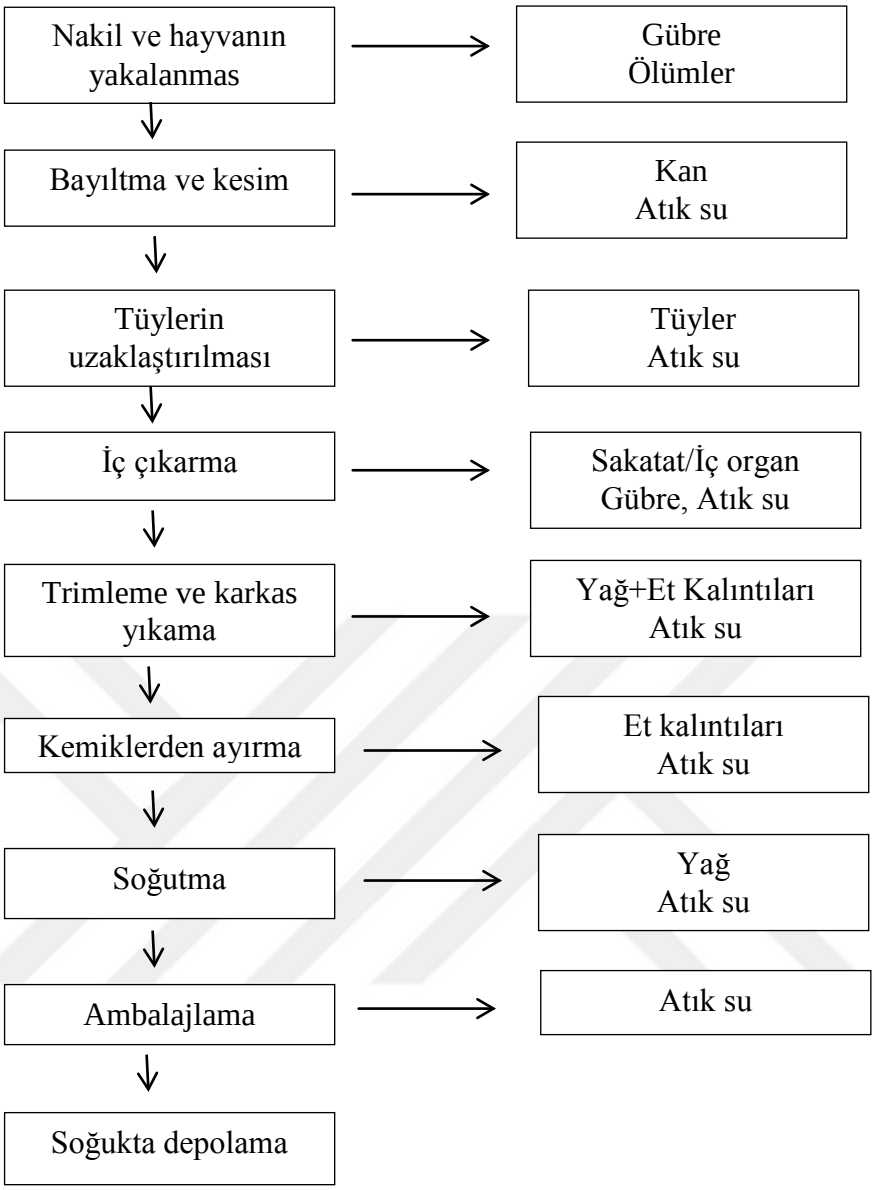
Gıda endüstrisi son zamanlarda atıkların azaltılması ve yan ürünlerin geri kazanımında daha etkili olunması konularında büyük baskı altında tutulmaktadır. Tarımsal atık ifadesi, tarla bitkilerinin ekimi ve hasadı, süt üretimi ve hayvan kesimi sırasında ortaya çıkan kalıntıları tanımlamak için kullanılmaktadır. Et endüstrisi açısından bakıldığında ise, hayvansal atık ve yan ürünler, doğrudan insan tüketimine ayrılamayan karkas ya da hayvan parçaları olarak tanımlanabilmektedir. [4,50–53]. Yan ürünlerin tanımı gelenekler, millet ve din gibi birçok faktöre göre değişiklik göstermekle birlikte, deri, kemik, et parçaları, kan, yağlı dokular, boynuz, ayaklar, toynaklar ya da iç organlar olarak kabul edilebilmektedir [51,54–58]. Bu yan ürünleri ise “yenilebilen” ve “yenilemeyen” olmak üzere iki başlık altında sınıflandırmak mümkündür [4,59]. Yenilebilen kısımlar arasında ciğer, yürek ve işkembe; yenilemeyen kısımlar arasında ise bağırsaklar, baş ve kemikler bulunmaktadır [50]. Hayvansal yan ürünler çok farklı alanlarda ve çok çeşitli amaçlarla kullanılabilmektedir.

Hayvansal yan ürünlerin bir kısmını ve kullanıldığı alanları şu şekilde sıralayabiliriz:

1. İnsan tüketimi için et çeşidi olarak (yenilebilen yan ürünler)
2. Margarin, şeker ve sakız üretimi için **yenilebilen yağlar**
3. Yumuşak doku eldesi için mekanik ayırma işleminde değerlendirilen, düğme, bıçak sapı, kemik unu, çömlek kili ya da rafine şeker üretiminde kullanılan **kemikler**
4. İnsan tüketimi, kan unu, yapıştırıcı ve gübre olarak kullanılan **kan**
5. Nitrogliserin, çözgen, gıda koruyucusu, plastik ajan gibi çok fazla endüstriyel kullanım alanı olan **gliserin**
6. Sosis gibi et ürünleri için kılıf, müzik enstrümanları için tel ve tıbbi ligatür olarak kullanılan **bağırsaklar**
7. Şekerleme ürünleri için **jelatin**
8. Peynir yapımında kullanılan **rennin**
9. **Adrenokortikotropik hormon (ACTH), albümin, bilirubin, epinefrin, insülin, pepsin, testosteron** gibi ilaç sanayinde kullanılan ürünler
10. Protein, yağ ve mineral yönünden zengin yan ürünlerden hayvan yemi
11. Kürk, deri ya da deri ürünleri gibi kullanımlar için **post ve deriler**
12. Giyim ya da mobilya üretiminde ve lanolin ekstraksiyonunda kullanılan **yün**
13. Yan ürünlerden üretilen toprak gübresi
14. Gübre ya da metan üretimi için kullanılan **dışkı** [59].

Bu tanımlardan ve örneklerden yola çıkılarak kanatlı endüstrisi yan ürünleri sakatat, kemik, kan, iç organlar, ayaklar ve tüyler olarak tanımlanabilmektedir [4,50]. Bununla birlikte, kanatlılarda genel olarak ciğer, kalp ve taşlık yenilebilen; bağırsak, baş ve kemikler yenilemeyen ve başka amaçlarla ileri işlemeye gönderilen kısımlardandır [4].

Şekil 2.2'de kanatlı işleme ve işleme sırasında açığa çıkan atık ve yan ürünler gösterilmektedir.

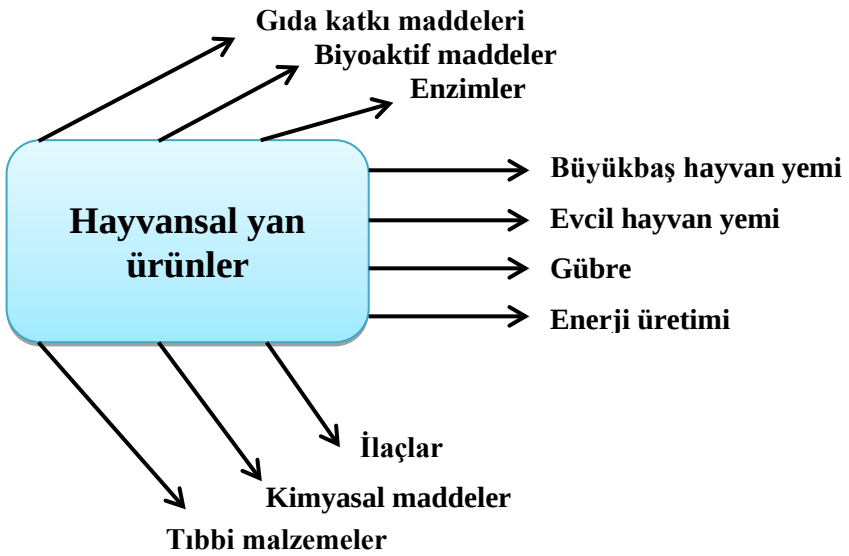



**Şekil 2.2**. Kanatlı işleme akım şeması ve işleme sırasında ortaya çıkan atık ve yan ürünler [50]

Bu atık ve yan ürünler farklı yöntemlerle işlenerek et ve kemik unu, tüy unu, kan unu ve rendering işleminden sonra yağ olarak değerlendirilmektedir [60]. Elde edilen kemik, et ve kan unları hayvan beslemede yem olarak kullanılabilmektedir. Ayrıca bazı ülkelerde kandan yapılan sosis, bisküvi, ekmek ve puding gibi doğrudan insan tüketimine yönelik olan ürünler de bulunmaktadır [61]. %90'dan fazla ham protein içeriğine sahip olan tüyler ise canlı hayvanın %5-7'sini oluşturmaktadır. Düşük değerli protein içermesinden dolayı tüyler hidrolize edilerek, hayvan yemlerinde kullanılabilmektedir. Ayaklar ise bazı işlemlerden geçirildikten sonra

insan tüketimine ya da hayvan yemi olmaya uygun hale getirilmektedir [61]. Bununla birlikte, Bovine Spongiform Encephalopathy (BSE; daha bilindik adıyla "Deli Dana Hastalığı") salgınından sonra özellikle Avrupa Birliği ülkelerinde, sadece düşük riskli materyallerin hayvancılıkta yem olarak kullanılmasıyla ilgili katı kurallar getirilmiştir [55]. BSE dışında, ayak ve ağız hastalığı salgınları ve hayvan yemlerindeki dioksin kontaminasyonları hayvansal yan ürünlerle ilgili kapsamlı ve katı kontrolünü zorunlu hale getirmiştir. Burada amaç, hayvansal yan ürünlerin hayvan ya da insan sağlığına ve çevreye karşı bir risk oluşturmamasıdır [62]. Ayrıca, hayvansal yan ürünlerin değerlendirilmemesi ya da yeteri kadar iyi şekilde değerlendirilememesi sadece potansiyel gelirin kaybına değil aynı zamanda bu ürünlerin imha edilmesi için artı bir maliyetin oluşmasına da neden olacaktır [53].

İşte bu nedenlerle günümüzde et işletmecileri, bu yan ürünleri değerlendirerek katma değeri olan fonksiyonel katkı maddeleri ve değerli yeni ürünler üretmeyi hedef haline getirmiştir [56,63]. Bu anlamda izlenen stratejiler gıda, yem, fonksiyonel katkı maddeleri, ilaç, gübre, işleme yardımcıları ve yenilebilir yan ürünlerden katma değerli ürünlerin elde edilmesidir [64]. Hayvansal yan ürünler protein hidrolizatları gibi biyomoleküllerin, fonksiyonel özellikli ekstraktların ya da biyoaktif peptitlerin üretiminde hammadde olarak kullanılmaktadır [52]. Hayvansal yan ürünlerin kullanımıyla ilgili akış diyagramı Şekil 2.3'te gösterilmektedir.




**Şekil 2.3.** Hayvansal yan ürünlerin kullanımı ile ilgili akış diyagramı [52]

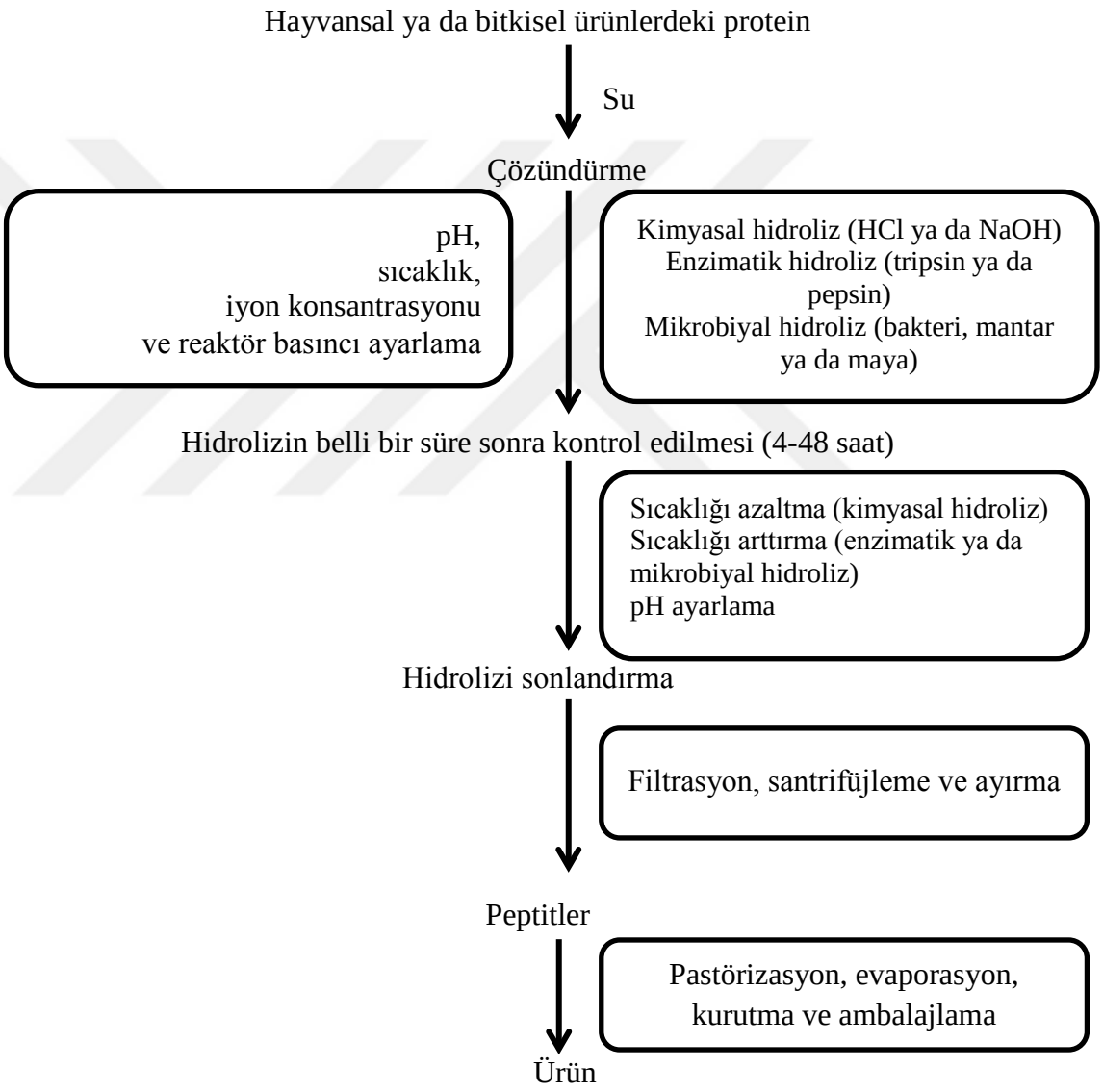
## 2.3. Kanatlı Endüstrisi Kemik Atıklarından Protein Hidrolizatı Üretimi

Kanatlı karkasları iç organları çıkarıldıktan sonra yaklaşık olarak %60 et ve %40 kemikten oluşmaktadır [65]. Kanatlı işlemede kesim, parçalara ayırma ve elle ya da otomatik olarak yapılan kemikten ayırma işlemlerinden sonra kemikler üzerinde azımsanmayacak miktarda et kalmaktadır [66]. Kemik oranının yaklaşık %40 olduğu düşünüldüğünde ise bu miktar oldukça yüksektir [55]. Et endüstrisi son zamanlarda bu kemiklerden daha fazla et eldesi arayışına girmiş ve bu amaçla yeni yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında mekanik ayırma işlemi başta olmak üzere kemikten eti sıyırmak için su ya da küçük buz parçalarının püskürtülmesi, su, seyreltik asit ya da alkali ile ekstraksiyon ya da proteolitik enzimlerle hidrolizasyon yöntemleri bulunmaktadır [67].

Atık kemikler üzerinde kalan etler yüksek miktarda protein, enzim ve lipit içermektedir. Bu yan ürünler bazı teknolojik işlemlerden geçtikten sonra yemlerde ya da gübrede kullanılsa da, son zamanlarda protein hidrolizatı olarak da değerlendirilmektedir. Düşük molekül ağırlıklı peptitler (minimum seviyede serbest aminoasit içeren di ve tri peptitler) bakımından zengin protein hidrolizatları yüksek besleyici değeri ve teropatik özellikleriyle lezzet arttırıcı, fonksiyonel katkı maddesi ya da düşük protein kalitesine sahip gıdalara besinsel takviye olarak kullanılabilecek iyi bir kaynaktır [2,21,23,68,69].

Protein hidrolizi, et yan ürünlerinden proteinleri ekstrakte etmek için yaygın olarak kullanılan yöntemlerdendir. Bu değerlendirme yöntemi geleneksel yöntemlerden farklıdır çünkü, yan ürünler doğrudan kullanılmamakta, öncelikle yan ürünlerin kimyasal bileşenlerinin (protein) geri dönüşümü yapılmakta daha sonra değerlendirilmektedir [2]. Proteinlerin daha küçük ve suda daha çok çözünür peptit ve serbest aminoasitlere parçalanmasını kapsamaktadır. “Hidroliz” kelimesi literatürde “su ile reaksiyona girme” anlamındadır ve protein hidrolizi de su moleküllerine ihtiyaç duymaktadır. Hidroliz prosesinin amacı, protein geri dönüşümünü ve değerli bileşenlerin verimini arttırmaktır. Protein hidrolizatının fonksiyonel ve fizyolojik aktivitesi hidrolizatın içerdiği aminoasidin serbest formda ya da peptitlere bağlı olmasından etkilenmektedir ve bu da kısmen hidroliz prosesinin yöntemi ve koşullarıyla belirlenmektedir [70]. Protein hidrolizi kimyasal,

termal, mikrobiyal ya da enzimatik yöntemlerle ya da bunların kombinasyonları kullanılarak yapılmaktadır [2]. Proteinlerin hidrolizi için seçilen yöntem protein kaynağına bağlıdır. Örneğin, tüyler, kıllar, boynuz, gaga ya da yün gibi keratin yapılı protein kaynakları asidik ya da alkali uygulamayla ya da bakteriyel kerateinaz yardımıyla hidrolize edilmektedir. Tam tersi olarak, hayvansal ürünler (kazein, peyniraltı suyu, bağırsak ve et) ve bitkisel ingredientler (soya, buğday, pirinç, bezelye ve çiğit) enzimatik ya da mikrobiyal hidrolizle muamele edilmektedir [71]. Yöntemlerin uygulanışıyla ilgili genel akım şeması Şekil 2.4'te gösterilmektedir.




**Şekil 2.4.** Hayvansal ve bitkisel proteinlerden peptit üretimi genel akım şeması [71]

### 2.3.1. Protein hidroliz yöntemleri

#### 2.3.1.1. Asit hidrolizi

Bir proteinin (jelatin) asit hidrolizi 6 M HCl içinde 110 °C'de 24 saatte olmaktadır [71,72]. Peptit elde etmek için ise daha kısa süreler (örneğin, 2-6 saat) kullanılmaktadır. Hidrolizden sonra, ürün buharlaştırılmakta, pastörize edilmekte ve kurutulmaktadır. Bu yöntem çoğunlukla lezzet arttırıcıların üretimi için kullanılmaktadır [71,72]. Düşük maliyetli olması yönünden avantajlı olsa da, triptofanın tamamen parçalanması, metiyoninin kısmen kaybı ve glutaminin glutamata, asparaginin aspartata dönüşmesi gibi bazı problemler bulunmaktadır [71,73].

#### 2.3.1.2. Alkali hidroliz

Kalsiyum, sodyum ya da potasyum hidroksit gibi alkali ajanların yüksek sıcaklıkta (105 °C) 20 saat kullanılmasıyla proteinler hidroliz edilmektedir. Daha düşük sıcaklıklar (27-55 °C) ve daha kısa sürede ise gıda sanayinde peptitlerin oluşumu gerçekleştirilmektedir. Hidrolizden sonra, ürün buharlaştırılmakta, pastörize edilmekte ve kurutulmaktadır. Asit hidrolizi gibi, alkali hidroliz de düşük maliyetlidir ve %100 triptofan geri dönüşümü sağlamaktadır. Ancak sistin, arginin, treonin, serin, izolösin ve/veya lisin gibi pekçok aminoasidin tamamen parçalanmasına ve lisinoalanin ya da lantionin gibi istenmeyen amino asit kalıntılarının oluşmasına neden olmaktadır [71,73].

#### 2.3.1.3. Enzim hidrolizi

Gıda endüstrisinde ve gıda araştırmalarında en çok kullanılan enzimler hidrolazlardan karbohidrazlar ve sonrasında proteazlar ve lipazlardır. Proteazlar en iyi nitelendirilmiş enzimler arasındadır. Proteazlar, hidroliz ettikleri peptit bağı (serin, tiol, karboksil ve metallo) ve izledikleri mekanizmaya (endoproteinaz ve ekzopeptidaz) göre sınıflandırılmaktadır. Endoproteinazlar, protein molekülleri arasındaki peptit bağlarını hidroliz ederek, büyük peptitlerin oluşmasını sağlarken,

ekzopeptidazlar hem N terminustan (aminopeptidaz) hem de C terminustan (karboksipeptidaz) aminoasitleri uzaklaştırarak terminal peptit bağlarını da yok etmektedir. Gıda sanayiinde, çoğunlukla endopeptidazlar kullanılmakla birlikte, daha ileri bir degradasyon istendiğinde ekzopeptidazlarla endopeptidazlar birlikte kullanılabilmektedir [70,73].

Proteinlerin peptit bağları, farklı çeşitlerde proteazlarla kırılabilmektedir. Bu enzimler hayvansal, bitkisel ya da mikrobiyal kaynaklı olabilmektedir. Hayvansal kaynaklı enzimler pankreatin, tripsin, pepsin, karboksilpeptidaz ve aminopeptidaz; bitkisel kaynaklı enzimler papain ve bromelindir. Enzim seçimi protein kaynağı ve hidroliz derecesine bağlı olarak değişmektedir [71]. Enzimatik hidrolizin diğer yöntemlere göre avantajları bulunmaktadır [16,74–76]. Hidroliz reaksiyonunun kolayca kontrol edilmesi, metodun tekrarlanabilirliği, reaksiyona giren enzimlerin özgünlüğü, hidrolizatın besinsel kalitesi ve daha az acı tatta ve az tuzlu olması bu avantajlardandır [2,75]. Bununla birlikte enzimlerin dikkatli bir şekilde seçilmesi ve uygun koşullar altında (sıcaklık, pH, enzim/substrat (E/S) oranı) kullanılması gerekmektedir [71,77]. Literatürde araştırmacılar tarafından kullanılan bazı enzimler Alcalase® 0.6, Neutrase ®, papain, Flavourzyme®, Corolase®, pepsin, Kojizyme® ‘dir [70,78–81]. Tablo 2.3’te hayvansal kaynaklar ve yan ürünleri kullanılarak farklı enzimlerle protein hidrolizatı elde edilmiş çalışmalara örnekler verilmektedir.

**Tablo 2.3.** Hayvansal kaynaklar ve yan ürünleri kullanılarak farklı enzimlerle protein hidrolizatı elde edilmiş çalışmalar

| **Enzim Adı** | **Kullanılan Hammadde** | **Referans** |
|---|---|---|
| Protease | Koyun iç organları | [69] |
| Umamizyme | Tuna balığı atığı | [80] |
| Papain | Mekanik ayrılmış hindi kalıntısı | [74] |
| Alcalase | Tatlı su çipurası | [82] |
| Alcalase 2.4 L | Mekanik ayrılmış tavuk eti | [22] |
| Alcalase 2.4 L Brauzyn | Keçi iç organları | [75] |
| Flavourzyme | Tavuk kemiği | [83] |
| Alcalase 2.4 L | Tavuk göğüs eti | [84] |
| Flavourzyme 500 L Neutrase 0.8 L | Sazan balığı atığı | [85] |
| Alcalase Esperaz Flavourzyme | Mekanik ayrılmış kanatlı eti | [86] |
| Alcalase 2.4 L Flavourzyme | Mekanik ayrılmış kanatlı eti | [16] |
| Alcalase 2.4 L, Flavourzyme Corolase PN-L, Corolase 7089 | Somon balığı | [87] |

## 2.4. Protein Hidrolizatı Kurutma Yöntemleri ve Yapılan Çalışmalar

Protein hidrolizatları, yüksek protein içeriklerinden dolayı bozulmaya oldukça açıktır. Bu nedenle raf ömürlerinin uzatılması için işlenmeleri gerekmektedir. Protein hidrolizatları için en uygun yöntem ise kurutmadır. Kurutmada buharlaştırma ya da süblimasyon işlemleri yardımıyla, gıda içerisindeki su uzaklaştırılmakta ve su aktivitesi azaltılarak enzimatik ve mikrobiyal faaliyetler yavaşlatılmaktadır [88,89].

Protein hidrolizatlarının kurutulmasında en uygun iki yöntem püskürterek kurutma ve dondurarak kurutmadır. Püskürterek kurutma, bir çözeltiyi, süspansiyonu ya da emülsiyonu gaz halde bulunan yüksek sıcaklıkta bir ortamdan atomize edilmiş bir püskürtü halinde geçirerek tek bir adımda toz hale getirme işlemidir [90,91]. Endüstriyel anlamda zorlukları bulunsa da ilaç, gıda ve süt endüstrisinin vazgeçilmez

bir parçası olmuştur. Düşük işletme maliyeti ve kısa temas süresi bu yöntemi avantajlı hale getirmektedir [84,88].

Protein hidrolizatlarının püskürterek kurutma yöntemiyle toz hale getirildiği pek çok çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalarda genellikle farklı hayvansal kaynaklardan elde edilen protein hidrolizatları koruma ve depolama amacıyla püskürterek kurutulmaktadır [23,69,98,78,88,92–97]. Bazı çalışmalarda ise püskürterek kurutma işleminin etkinliğini arttırmak için yardımcı ajanlarla optimizasyon çalışmalarına yer verilmiştir [84,99].

Her ne kadar yaygın bir şekilde kullanılsa da, püskürterek kurutmanın bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar arasında proteinlerde denaturasyona sebep olması [82,100], kovalent ve kovalent olmayan interaksiyonların oranını ve türünü değiştirmesi ve bu nedenle protein hidrolizatlarının antioksidan aktivitesini etkilemesi [91], protein hidrolizatlarının düşük molekül ağırlıkları nedeniyle kurutma haznesinin çeperine yapışması ve yanıklara sebep olması [89] sayılabilmektedir.

Dondurarak kurutma yöntemi ise kurutma işleminin düşük sıcaklıklarda yapılmasından dolayı her zaman bir alternatif olarak kullanılmaktadır. Dondurarak kurutma temel olarak düşük basınç altında suyun süblimasyon yoluyla uzaklaştırılmasıdır ve püskürterek kurutmadan daha az denaturasyon meydana getirmektedir [91]. Bununla birlikte işlem süresinin uzun olması, yüksek kurulum ve işletme maliyeti bulunmaktadır [91,98].

Dondurarak kurutma görünüş, besinsel kalite, lezzet ve yüksek rehidrasyon kapasitesi gibi yüksek kalite özelliklerine sahip gıdalar ve biyoürünler üretilmesini sağlamaktadır [101]. Literatürde püskürterek kurutma yöntemiyle olduğu kadar dondurarak kurutma yöntemiyle de elde edilmiş protein hidrolizatı tozları bulunmaktadır.

Ovissipour ve ark. [102], farklı endojen enzimler kullanarak elde ettikleri hamsi balığı protein hidrolizatını dondurarak kurutmuş ve antioksidan özelliklerini belirlemiştir.

Onuh ve ark. [103], tavuk but ve göğüs eti derilerinden elde ettikleri proteinleri alkalaz veya pepsin-pankreatin karışımıyla hidroliz etmiş ve dondurarak kuruttuktan sonra tavuk but derisi hidrolizatı ve tavuk göğüs derisi hidrolizatında antioksidan özellikleri incelemiştir.

Fik ve Surowka [104], tavuk kafalarının papain ile enzimatik hidrolizinin optimum koşullarını belirlemek için yaptıkları çalışmada hidrolizatları dondurarak kurutmuş ve fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini incelemiştir.

Sazan balığının Protamex enzimi kullanılarak elde edilen hidrolizatları, fonksiyonel, biyoaktif ve antioksidatif özellikleri yönünden incelenmek üzere dondurarak kurutulmuş ve toz hale getirilerek depolanmıştır [105].

Jridi ve ark. [106]'nın yaptıkları çalışmada mürekkep balığı derisinden farklı mikrobiyal proteazlar ve alkalaz kullanılarak elde edilen protein hidrolizatları dondurarak kurutulmuş ve antioksidan aktiviteleri yönünden incelenmiştir.

Liu ve ark. [107], domuz kemikleri kullanarak elde ettikleri protein hidrolizatlarını dondurarak kurutmuş ve emülsifikasyon ve oksidatif stabilite özelliklerini incelemiştir.

Šližyte ve ark. [85] sazan balığı atıklarından Flavourzyme ve Neutrase kullanarak elde ettikleri protein hidrolizatlarını dondurarak kurutmuş ve besinsel, fizikokimyasal ve fonksiyonel özelliklerini incelemişlerdir.

Jemil ve ark. [108], farklı balık türlerinin etlerinden bakteriyel enzimin fermantasyonu yoluyla elde ettikleri balık eti protein hidrolizatlarını dondurarak kurutmuş ve genel bileşim, fonksiyonel özellikler ve in vitro antioksidan ve antimikrobiyal özellikler yönünden incelemiştir.

Hur ve ark. [20], yumurtlamayı bitirmiş tavuk etlerinin mekanik olarak ayrılması ile elde edilen eti Protamex enzimi ile hidroliz ettikten sonra dondurarak kurutmuş ve tavuk eti protein hidrolizatı elde etmiştir. Daha sonra bu hidrolizatı

balıktan elde edilen “surimi”de farklı oranlarda kullanarak suriminin genel bileşim ve antioksidatif özelliklerini incelemiştir.

Mezgit balığının Alcalase® enzimi kullanarak farklı oranlarda hidroliz edildiği çalışmada, elde edilen hidrolizatlar dondurarak kurutulmuş ve gruplar arasındaki çözünürlük, emülsifikasyon ve köpüklenme özellikleri incelenmiştir [109].

He ve ark. [110] yaptıkları çalışmada, Atlantik somonu ve sarı ağız balığının yan ürünlerinden balık protein hidrolizatı üretim koşullarını optimize etmek amacıyla farklı enzimler kullanmış ve bu sonuçta elde edilen protein hidrolizatlarını dondurarak kurutmuştur. Dondurarak kurutulmuş örneklerde fizikokimyasal ve fonksiyonel özellikler belirlenmiştir.

Tüm bu çalışmalardan ayrı olarak, yapılan bir çalışmada pirinç posası protein hidrolizatında püskürterek ve dondurarak kurutma yöntemleri karşılaştırılmış ve püskürterek kurutulmuş örneklerin protein çözünürlüğü, köpüklenme kapasitesi ve emülsifikasyon aktivitesi değerlerinin dondurarak kurutulmuş örneklerden yüksek olduğu belirlenmiştir. Bununla birlikte, dondurarak kurutulmuş örneklerin daha yüksek su/yağ bağlama kapasitesi ve termal stabilitesi olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, dondurarak kurutulmuş örneklerin protein ikincil yapılarının püskürterek kurutulmuş örneklerden daha sıkı ve düzenli olduğu belirtilmiştir [111].

Yine et proteini hidrolizatlarından farklı olarak yumurta beyazı proteini hidrolizatı üretiminde dondurarak ve püskürterek kurutma yöntemleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, iki yöntem ile elde edilen örnekler fonksiyonel ve antioksidan aktiviteler yönünden karşılaştırılmıştır. Her iki grup hidrolizatın da benzer genel bileşim ve moleküler ağırlık dağılımına sahip olduğu fakat renk ve fiziksel yapı yönünden farklılık gösterdiği bulunmuştur. Hidrolizatların köpüklenme özelliklerinin dondurarak kurutmayla arttığı, püskürterek kurutmayla azaldığı tespit edilmiştir. Ayrıca, dondurarak kurutmanın emülsifikasyon özelliklerini etkilemediği ancak püskürterek kurutmanın olumsuz etkisinin olduğu belirlenmiştir [91].

Linarès ve ark. [100] aynı hidroliz oranıyla elde ettikleri dondurarak ve püskürterek kurutulmuş gluten hidrolizatlarını biyokimyasal ve emilsifikasyon özellikleri yönünden incelemişlerdir. Her iki kurutma yönteminde örneklerin moleküler boyut dağılımı, hidrofobiklik ve çözünürlük özelliklerinde farklılık görülmemiştir. Ancak, dondurarak kurutulmuş gluten hidrolizatının emülsifikasyon özelliklerinin püskürterek kurutulmuş hidrolizatlardan daha fazla olduğu belirlenmiştir. Örneklerin yağ/su bağlama özelliklerinin benzer olduğu belirtilmiştir.

Çalışmalardan da anlaşılacağı üzere, farklı etlerden elde edilen protein hidrolizatı üretiminde dondurarak kurutma işlemi sıklıkla kullanılmakta ancak kurutmayı etkileyen parametrelerin optimizasyonu üzerine çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmaların yapılabilmesi için dondurarak kurutma prosesinin prensibi, aşamaları, bu aşamaları etkileyen faktörler iyi anlaşılmalıdır.

## 2.5. Dondurarak Kurutma

### 2.5.1. Dondurarak Kurutma Tanımı ve Tarihçesi

Liyofilizasyon olarak da bilinen dondurarak kurutma, suyun donmuş halden (buzdan) süblimasyon yoluyla uzaklaşmasıdır. Bu proseste, gıda öncelikle dondurulmakta, daha sonra yüksek vakum altında buz erimeden süblime olmaktadır [112,113]. Çıkan su buharı genellikle çok düşük sıcaklıktaki kondenser yüzeyinde toplanmaktadır. Dondurarak kurutma, biyoteknoloji, toz kimyasallar, gıda ve ilaç endüstrisinde kullanılan kurutma teknolojilerindendir. Konvansiyonel bir kurutma yöntemi kullanıldığında kalitesini ya da aktivitesini kaybedebilecek olan ısıya duyarlı malzemeler, toz kimyasallar, mikroorganizmalar, biyoteknolojik ürünler ve bazı ilaçlara dondurarak kurutma işlemi uygulanabilmektedir [114–116]. Dondurarak kurutmayla yüksek kaliteli kuru ürün elde edilebilmesine rağmen, prosesin çok aşamalı, oldukça yavaş ve pahalı olması uygulama alanlarını kısıtlamaktadır. Tablo 2.4'te konvansiyonel kurutma ile dondurarak kurutma arasındaki farklar gösterilmektedir [117].

**Tablo 2.4.** Konvansiyonel kurutma ve dondurarak kurutma arasındaki farklar [117]

| **Konvansiyonel Kurutma** | **Dondurarak Kurutma** |
|---|---|
| Sebze ve tane gibi kolay kuruyan ürünlerde başarılıdır. | Birçok üründe başarılı olarak uygulanabilmesine rağmen, diğer yöntemler ile kurutulamayan gıdalar ile uygulaması sınırlıdır. |
| Et ürünlerinde başarılı değildir. | Pişmiş ve çiğ etin kurutulmasında başarıyla kullanılabilir. |
| Sıcaklık 37° ile 93°C arasında değişebilir. | Sıcaklık donma noktasının altında olabilir. |
| Atmosferik basınçta gerçekleşir. | Basınç oldukça düşüktür (27-133 Pa) |
| Suyun gıda yüzeyinden evaporasyonu ile gerçekleşir. | Buzun süblimasyonu (katı fazdan direk buhar fazına geçiş) ile gerçekleşir. |
| Katı madde hareketinden kaynaklanan yüzey sertleşmesi gerçekleşebilir. | Katı madde hareketi minimum seviyededir. |
| Ürün üzerindeki stresten dolayı yapısal bozulmalar ve büzülme meydana gelir. | Büzülme ve yapısal değişimler minimum seviyededir. |
| Kurutulan ürünün rehidrasyonu minimum seviyededir. | Hızlı rehidrasyon meydana gelir. |
| Koku ve aroma çoğunlukla değişmektedir. | Koku ve aroma muhafaza edilebilmektedir. |
| Ürünün rengi genellikle kurutma sonunda daha esmerdir. | Ürünün rengi muhafaza edilebilmektedir. |
| Kurutma maliyeti düşüktür. | Kurutma maliyeti sıcak havaya göre genellikle 4 kata kadar daha fazladır. |

Dondurarak kurutma yöntemi antik Çin ve Peru İnkaları zamanında çok az da olsa bilinmekteydi. Çinliler, daha uzun süre depolamak ve daha iyi lezzet elde etmek için soğuk kış günlerinde eti dışarı koyarlardı. Et önce donar, daha sonra kururdu. Benzer şekilde, İnkalar da patatesi ve bazı mahsullerini yüksek dağ tepelerinde soğukta bırakarak, gıda içindeki suyun önce donmasını, daha sonra ise düşük basınçta yavaş yavaş süblime olarak kurumasını sağlardı. Bunlar dondurarak kurutmanın ilk örnekleri olarak sayılmakla birlikte, dondurarak kurutma teknolojisinin gelişmesindeki üç önemli dönüm noktası şunlardır [118,119]:

1. 1933 yılında Earl W. Flosdorf ve Stuart Mudd insan serumunu dondurarak kurutmayla başarılı bir şekilde korumuşlardır.

2. II. Dünya Savaşı sırasında, kan plazması ve penisilinin korunması için dondurarak kurutma prosesi ticarileştirilmiştir. Howard Walter Florey ve Ernst Boris Chain 1938 yılında penisilini dondurarak kurutma yöntemiyle korumuşlar ve II. Dünya Savaşı sırasında klinik uygulamalara büyük katkı sağlamışlardır. Bundan birkaç yıl sonra ise, Charles Merieux, ilaçların korunması için dondurarak kurutmayı düzenli bir teknoloji haline getirmiştir.

3. 1938 yılında ise, Nestle'nin araştırmacılarından bilim adamı Max Mortgenthaler, ilk dondurarak kurutulmuş kahveyi ve toz kahveyi üretmiş ve toz gıda ürünlerinin gelişmesine öncülük etmiştir.

Her ne kadar bu üç olay mikroorganizma ve gıdaların dondurularak kurutulmasına katkı sağlamış olsa da kullanılan sistem ve aparatlar sağlam ve etkili değildi. Aparatların çoğu camdan yapılmaktaydı. Vakum, mekanik bir vakum pompasıyla değil, etil eterden kimyasal pompa yardımıyla üretilmekteydi. Ayrıca, materyallerin dondurulması için gerekli olan düşük sıcaklıklar kuru buz ile sağlanmaktaydı [118].

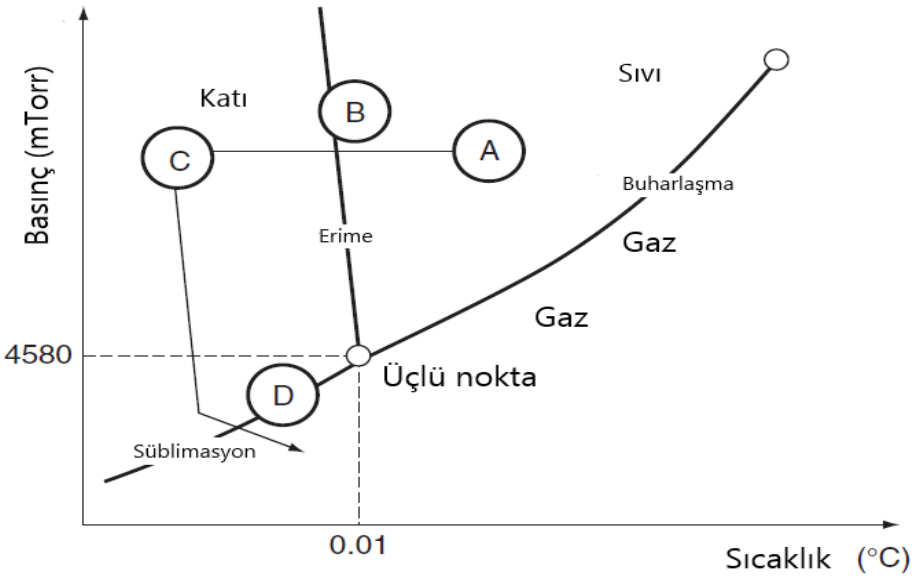
1930'larda önce dondurucu ajanın ticari olarak üretilmesi, daha sonra ise mekanik buhar sıkıştırmalı buzdolabının üretilmesiyle dondurarak kurutma teknolojisi gelişmiş ve uygulamaları artmıştır [118]. Teknoloji 1940-1960'lar arasında mikroorganizmalar, kahve ve daha pek çok üründe kullanımıyla en çok geliştiği dönemi yaşamıştır.

Günümüzde ise dondurarak kurutma, malzeme biliminde özellikle de nanoteknolojide kullanılmasıyla, nanopartiküllerin üretiminde oldukça önemli bir yöntem haline gelmiştir [118].

### 2.5.2. Dondurarak Kurutmanın Prensibi

Dondurarak kurutmanın temel prensibi suyun sıvılaşmadan doğrudan gaz faza geçtiği süblimasyon olgusudur. Suyun süblimasyonu "üçlü nokta"nın (0,01 °C sıcaklık ve 612 Pa basınç) altındaki sıcaklık ve basınçlarda meydana gelmektedir [113,120–122]. Bu nedenle, dondurarak kurutma için gerekli olan süblimasyon sınırını aşabilmek için öncelikle ortam sıcaklığındaki ürünün (Şekil 2.5'teki A

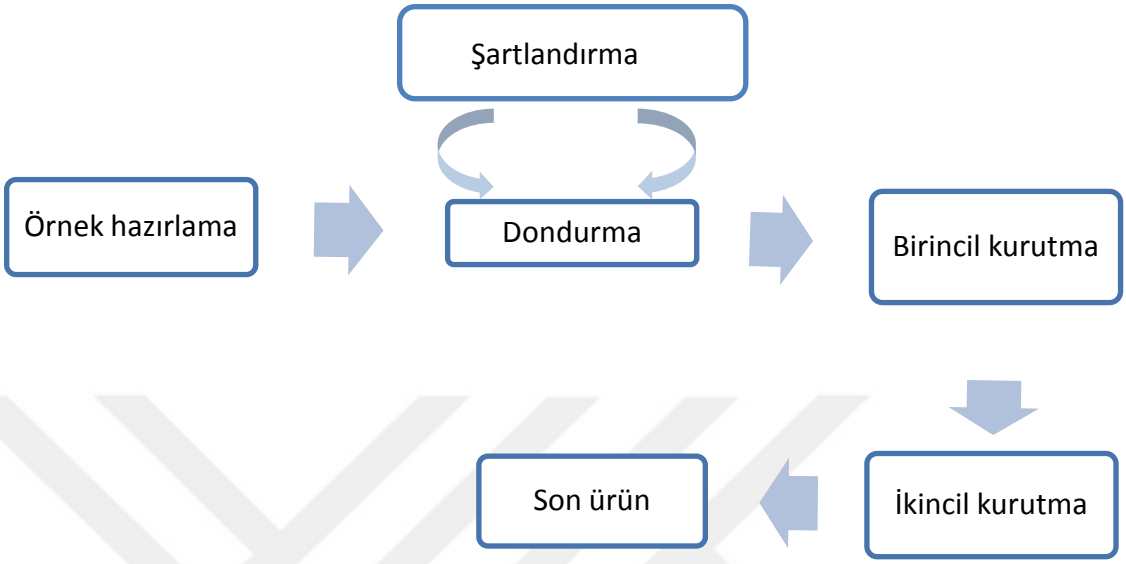
noktası) sıcaklığı düşürülerek (Şekil 2.5'teki B noktası) dondurulması gerekmektedir. Daha sonra basınç üçlü noktanın altındaki değerlere indirilmelidir (C noktası). Son olarak, buzu süblimasyonla buhara dönüştürmek için biraz ısı uygulaması yapılmalıdır (Şekil 2.5'te D noktası). Dondurarak kurutma prosesinde süblimasyon "birincil kurutma" olarak da adlandırılmaktadır. Serbest suyun büyük kısmının süblime olduğu noktadan itibaren, bağlı suyun desorpsiyon yoluyla ürünü terk etmeye başladığı aşama ise " ikincil kurutma"dır [122,123].




**Şekil 2.5.** Dondurarak kurutma sıcaklık-basınç grafiği (A: Başlangıç noktası; B:Donma; C:Vakum+ısıtma D:Birincil kurutma (süblimasyon))

Böylelikle, dondurarak kurutma prosesinde üç aşamadan bahsedilebilmektedir: Dondurma, birincil kurutma (süblimasyon) ve ikincil kurutma (desorpsiyon) [31,33,114,124–126]. İlk aşama olan dondurmada, örnek sıcaklığı buz kristallerinin büyüklüğünü kontrol altına almak ve ürüne olabilecek herhangi bir zararı önlemek için hızlı bir şekilde düşürülmektedir. İkinci aşama, yani birincil kurutma, buzun süblimasyonunu sağlayacak şekilde örneğin vakum altında ısıtılması işleminden oluşmaktadır. Bu aşama, prosesin en uzun aşamasıdır ve donmuş olan tüm su süblime olmaktadır [36,127]. Ayrıca ürünün kalite özelliklerinin çoğunun oluştuğu aşamadır. Son aşama olan ikincil kurutmada ise, poroz yapıya tutunmuş

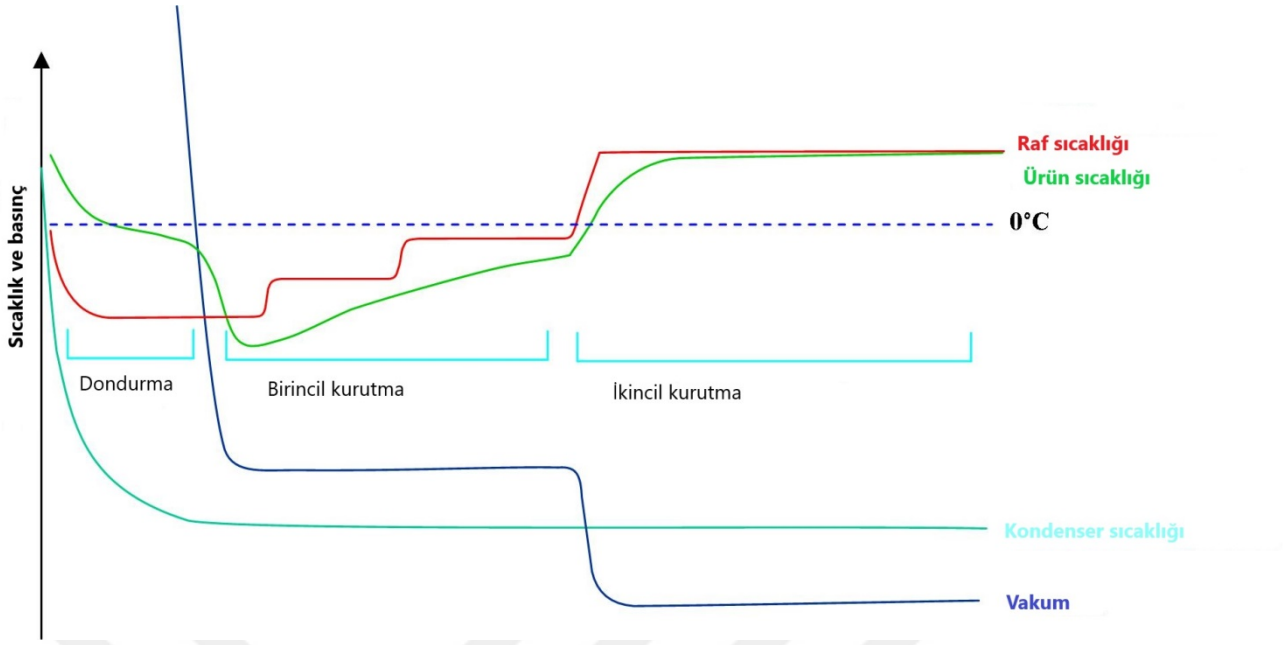
olan su sıcaklığın arttırılmasıyla desorbe edilmektedir [121]. Dondurarak kurutma ile ilgili akış şeması Şekil 2.6'da gösterilmektedir.




**Şekil 2.6.** Dondurarak kurutma proses döngüsü [113]

### 2.5.3. Dondurarak Kurutma Prosesinin Aşamaları

Şekil 2.7'de dondurarak kurutma prosesi ve aşamalarına ait örnek bir grafik yer almaktadır. Grafik ile ilgili detaylı bilgiler aşamaların açıklandığı bölümlerde bulunmaktadır.




**Şekil 2.7.** Dondurarak kurutma prosesinin aşamaları

### 2.5.3.1. Dondurma

Dondurma işlemi, dondurarak kurutma prosesinin ilk ve en önemli aşamasıdır. Çünkü, dondurularak kurutulacak ürünün yapısı dondurma işlemi sırasında oluşmaktadır. Bu aşamada suyun çoğu camsı ve/veya kristal çözünenlerin oluşturduğu matriksin arasından ayrılmaktadır. Bu nedenle, bir formulasyonun kuruma aşamasının büyük çoğunluğu donma aşamasında meydana gelmektedir [125]. Bu aşamada sıvı çözelti soğutulmakta ve saf su buz kristalleri oluşmaktadır. Donma işlemi devam ettikçe, sıvı içerisinde bulunan daha fazla su donmaktadır. Bu, kalan sıvı fazın konsantrasyonunun artması demektir. Bu oldukça konsantre ve viskoz sıvı amorf, kristal ya da amorf-kristal ikisi birarada bir faz meydana getirerek katılaşmaktadır. Sıvı fazda kalan ve donmayan çok az miktardaki su bağlı su olarak adlandırılmaktadır [124,128]. Dondurmayla birlikte;

1. Çözelti içindeki bileşenler immobilize olmakta ve vakum uygulandığında köpürme engellenmektedir.
2. Dağılmış ürünün termal inaktivasyonu azalmaktadır.
3. Donma sırasında oluşan buz yapısı dondurarak kurutma prosesinin davranışını ve kuruyan tortunun temel morfolojisini belirlemektedir [129].

Dondurma yöntemi ve donmuş ürünün son sıcaklığı materyalin başarılı bir şekilde dondurularak kurutulmasını etkilemektedir. Hızlı dondurmayla küçük buz kristalleri oluşmaktadır. Bu durum mikroskobik olarak incelenecek olan yapının korunması demektir ancak bu şekilde dondurulan ürünlerin kurutulması zorlaşmaktadır. Yavaş dondurmayla daha büyük buz kristalleri oluşmaktadır. Böylece, kurutma prosesi sırasında matrikste daha az sınırlayıcı kanal bulunmaktadır.

Dondurmanın temel fonksiyonu solventi (temel olarak sudan oluşmaktadır) çözünenlerden (suda çözünmüş ya da asılı halde duran maddeler) ayırmaktır [113,130]. Dondurma aşamasında, çözünenler kristalize olabilmektedir. Pratikte, çözünenler genellikle denge donma noktasının 10-15 °C altında süper soğutmadan sonra çekirdeklenmekte ve kristallenmektedir. Kristalize olmayan bu çözünenler sıcaklık en fazla konsantre çözünenin (ya da donuk konsantrat) camsı geçiş sıcaklığının (Tg') altına düştüğünde amorf katılara dönüşmektedir. Bu nedenle bu proses aynı zamanda solidifikasyon olarak adlandırılmaktadır [125].

Dondurarak kurutmada Tg' gösterimi dondurma sırasında oluşan "en fazla konsantre çözünen" ya da "donuk konsantrat" ın camsı geçiş sıcaklığı için kullanılmaktadır. Genelde, amorf katılar için sistemdeki nem içeriğine bağlı olarak değişen camsı geçiş sıcaklığı Tg olarak belirtilmektedir [125].

Camsı geçiş sıcaklığı, Tg, termal işleme sırasında bozulmaya bağlı olan bir ürün özelliğidir. Amorf bir sistemin camsı halden kauçuk hale döndüğü sıcaklık olarak tanımlanabilmektedir [122]. Camsı geçiş sıcaklığı genellikle maddenin hızlı dondurulmasıyla oluşmaktadır [114].

Birincil kurutma sırasında suyun buhar basıncı sıcaklıktaki artışla birlikte artmaktadır. Bu nedenle, birincil kurutma sıcaklığı mümkün olduğunca yüksek, fakat kek yapısında kaybı önlemek için kritik proses sıcaklığının altında tutulmalıdır. Bu kritik proses sıcaklığı amorf maddeler için çökme sıcaklığı (collapse temperature), ya da kristal maddeler için ötektik erime sıcaklığıdır [113].

Birincil kurutma sırasında, ürünün sıcaklığı ötektik erime sıcaklığını (Te) ya da camsı geçiş sıcaklığını (Tg') aşarsa, ötektik kristal katılar erimekte ya da amorf

çözünen fazın viskozitesi azalmaktadır. Her iki faz değişikliği de kuru matrikste gözenekli yapının değişmesine neden olacaktır. Yapının kaybı dondurarak kurutulmuş üründe gözle görünür bir şekilde "kek çökmesi"ne neden olmaktadır. Donma ve birincil kurutma sırasında çökmeyi engellemek için ürün sıcaklığı çökme sıcaklığının (Tc) altında olmalıdır [122]. Amorf bir sistem için çökme sıcaklığı, buz bölgeye yakın olan yapısı bozulmuş kuru bölgenin üzerindeki sıcaklıklara karşılık gelmektedir [125].

Bir ürünün kritik çökme sıcaklığının belirlenmesi dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonu için önemli bir basamaktır. Kritik sıcaklık ürünün birincil kurutma sırasında erimeden ya da çökmeden durabildiği en yüksek sıcaklık olarak tanımlanmaktadır. Termal analizler (DSC & Freeze Dry Microscopy) ve Dielektrik Rezistans analizleri ürünün kritik sıcaklığının belirlenmesinde kullanılan yaygın yöntemlerdir [125,131].

Donmuş ürünler yapısal olarak kristal ya da amorf camsı olarak sınıflandırılmaktadır. Kristal ürünler çökme sıcaklıkları olan sınırları belirlenmiş ötektik donma/erime noktasına sahiptir. Amorf ürünler ise uygun "camsı geçiş" sıcaklığına sahiptir ve bunların dondurulması çok daha fazla zordur. Amorf ürünlerin çökme sıcaklıkları camsı geçiş sıcaklıklarından birkaç derece daha fazladır. Her ne kadar dondurarak kurutulan maddelerin çoğu gerçekte amorf olsa da, ötektik terimi herhangi bir ürünün donma/erime noktasının tanımlanmasında kullanılmaktadır [131].

İkinci tip donmuş ürün ise dondurma prosesi sırasında cam oluşumuna uğrayan bir süspansiyondur. Ötektik oluşturmak yerine, sıcaklık düştükçe tüm süspansiyon viskoz hal almaktadır. Sonunda ürünler cam halde bir katı oluşturarak camsı geçiş sıcaklığında donmaktadır. Bu tip ürünlerin dondurarak kurutulması oldukça zordur [113].

Dondurma aşaması, dondurarak kurutma prosesinin ilk aşaması olduğundan tüm prosesin başarısı için kritiktir. Çünkü;

i. Gıda donduğunda içindeki kristallerin boyutu, şekli ve dağılımı, doğrudan son ürünün gözeneklerinin boyutu, şekli ve dağılımı haline gelmektedir. Bu

sadece dondurularak kurutulmuş ürünün rehidrasyon davranışını ve görünüşünü değil aynı zamanda yoğunluğunu da etkilemektedir.

ii. Bağlı bir kristal ağı elde etmek dondurarak kurutma prosesine yardım etmektedir. Böylelikle su molekülleri gıdanın içinden bu gözenek ağını takip ederek kolayca çıkabilmektedir. Bunun gibi bir kristal ağın elde edilebilmesi için su içeriğinin yüksek olması (%80) gerekmektedir. Bu nedenle, nem içeriği yüksek olan (ve gözenek ağı oluşturabilen) bir ürünün dondurularak kurutulması düşük nem içeriğine sahip (ağ oluşmamış) ve suyun gıda matriksinden diffüze olmaya zorlandığı bir üründen daha hızlı olacaktır. Ayrıca, büyük kristaller oluşturan yavaş soğutmanın daha hızlı dondurarak kurumaya elverişli olduğu bilinmektedir [132].

#### 2.5.3.2. Birincil Kurutma

Ürünün dondurulmasından sonraki aşama birincil kurutma aşamasıdır. Bu aşamada, donmuş su molekülleri camsı geçiş sıcaklığı (Tg) ya da çökme sıcaklığının (Tc) altında süblimasyon yoluyla uzaklaştırılmaktadır [133]**.** Burada, iki parametrenin dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi gerekmektedir: 1. Sıcaklık 2. Dondurarak kurutma sistemindeki basınç.

Donmuş üründen buzun süblimasyon hızı kondanserin buhar basıncıyla ürünün buhar basıncı arasındaki farka bağlıdır [113,134]. Moleküller yüksek basınçlı örnekten düşük basınçlı kondensere doğru hareket etmektedir. Basınç da sıcaklıkla doğru orantılı olduğundan, örneğin sıcaklığı kondenserin sıcaklığından her zaman daha fazla olmalıdır [113]**.**

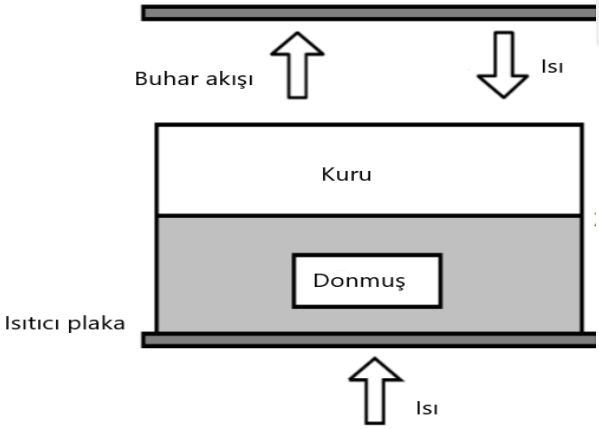
Birincil kurutma prosesi temelde ısı transferi ve kütle transferi olmak üzere iki önemli olaya dayanmaktadır.

##### 2.5.3.2.1. Birincil Kurutma Sırasında Isı ve Kütle Transferi

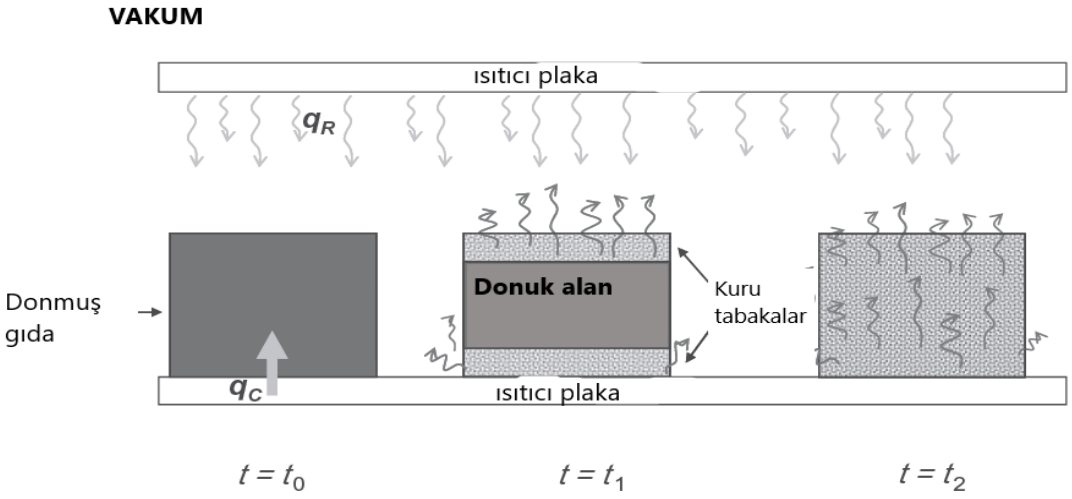
Diğer dehidrasyon proseslerinde olduğu gibi, dondurarak kurutma da ısı ve kütle transferinden oluşmaktadır. Isı, süblimasyon yüzeyine iki yolla aktarılmaktadır.

Bunlar; sıcak yüzeylerden radyasyon ve/veya iletimdir [112,113,117]. Taşınım çok ender gerçekleşmektedir çünkü vakum ortamında sıvı molekülleri çok az miktarda bulunmaktadır. Bu nedenle çok zayıf olan bu taşınım katsayısı yüksek vakumlu ortamlarda ihmal edilebilmektedir [123]. Ayrıca iletimle ısı transferinden bahsederken de ürün ve ısıtıcı plakanın iyi temas etmesine dikkat etmek gerekmektedir. Diğer yandan, ürün içinde iletimle ısı transferi hakimdir [123].

Sıcak yüzeylerden radyasyonla ısı transferinde, ısı termal radyasyonla kuru alanın yüzeyine ulaşmakta, daha sonra iletimle kuru alanın içinden süblimasyon yüzeyine hareket etmektedir. Ayrıca salınan su buharı da ısı ile ters yönde kuru alanın içinden hareket ederek süblimasyon yüzeyine gelmekte ve buradan kondensere geçmektedir (Şekil 2.8). Sıcak yüzeyle temas halinde ise içinde donmuş ürün bulunan tepsiler ısıtılmış raflar üzerine yerleştirilmektedir. Isı donmuş tabaka içinden iletim yoluyla süblimasyon alanına geçmektedir. Su buharı ise radyasyonda olduğu gibi kuru tabakanın içinden geçmektedir [112,118].




**Şekil 2.8.** Dondurarak kurutma sırasında ısı ve kütle transferi [134]




**Şekil 2.9**. Bir gıdanın dondurarak kurutma sırasında başlangıç anında ($t=t_0$), süblimasyon sırasında ($t=t_1$) ve desorpsiyon olduğu anda ($t=t_2$) şematik gösterimi. $q_c$, iletimle ısıtma; $q_R$, radyasyon.

Ürün ısıyı alır almaz süblimasyon başlamaktadır (Şekil 2.9) ($t_1$). Donmuş halde bağlı olmayan çok fazla miktarda su olduğundan dolayı birincil kurutma sırasında kurutma oldukça hızlıdır. Buzun süblimasyonuyla birlikte kurutma ilerledikçe gözenekli bir kuru tabaka oluşmaktadır. Dondurarak kurutma sırasında çok ince bir "faz geçiş ara yüzü" ile ayrılan iki belirgin alan oluşmaktadır: donmuş alan ve "kuru" alan (Şekil 2.9). Donmuş alan orijinal nem içeriğindedir. Kuru alanda ise buz kristalleri bulunmamaktadır ve içindeki tek nem kuru matriks tarafından adsorblanan sudur. Bu iki alan arasındaki arayüz "süblimasyon yüzeyi" olarak bilinmektedir [112,123].

Süblimasyon yüzeyine aktarılacak olan ısı oldukça fazladır. Süblimasyonun gizli ısısı buharlaşma ısısıyla erimenin gizli ısısının toplamına eşittir. 0 °C'deki su için bu değer yaklaşık olarak 3000 kJ/kg'dır [112].

#### 2.5.3.3. İkincil Kurutma

Birincil kurutma bitip buzun tamamı süblime olduktan sonra, üründe bağlı su kalmaktadır. Ürün kuru görünmektedir ancak kalan su ürün oda sıcaklıklarında depolandığında hızlı bir şekilde yapısal bozulmalara sebep olabilmektedir. Bu nedenle daha yüksek sıcaklıklarda ve daha düşük basınçta kurutma işlemine devam edilerek bağlı suyun uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu işleme "ikincil kurutma" ya da "desorpsiyon" adı verilmektedir [113,123,124,130,135].

Birçok dondurarak kurutma prosesinde, birincil kurutma aşamasında kurutulan materyalin kurumuş tabakasından desorpsiyonla az miktarda bağlı su uzaklaştırılabilmektedir. Bu da ikincil kurutmanın kısmen birincil kurutma aşamasında meydana geldiğini göstermektedir [114].

İkincil kurutma sırasında, su amorf haldeki donuk konsantrattan uzaklaşmaktadır. Bağlı suyun kuru tabakadan desorpsiyon hızı büyük ölçüde kuru tabakanın sıcaklığına bağlıdır [114]. Kurutmanın ilk kısmında kuruma hızı fazladır ancak sonra azalmaktadır. Bunun sebebi donuk konsantratın kurumasından dolayı suyun katıdaki hareketinin ve katı yüzeyde buharlaşmasının yavaşlamasıdır. Kalan suyun çok düşük olmasını sağlamak için yüksek sıcaklıklar gerekebilmektedir. Bununla birlikte, ürünün kalitesinden kayıpları önlemek için ikincil kurutma sırasında ürün sıcaklığının camsı geçiş sıcaklığını geçmemesi gerekmektedir [136]. İkincil kurutmada en önemli faktör nem ve gözenekli ortam arasındaki adsorpsiyon-desorpsiyon dengesidir. Bu nedenle kabul edilebilir bir ürün kalitesinin elde edilebilmesi için hem sıcaklık hem de nem içeriğinin kontrol edilmesi gerekmektedir [137].

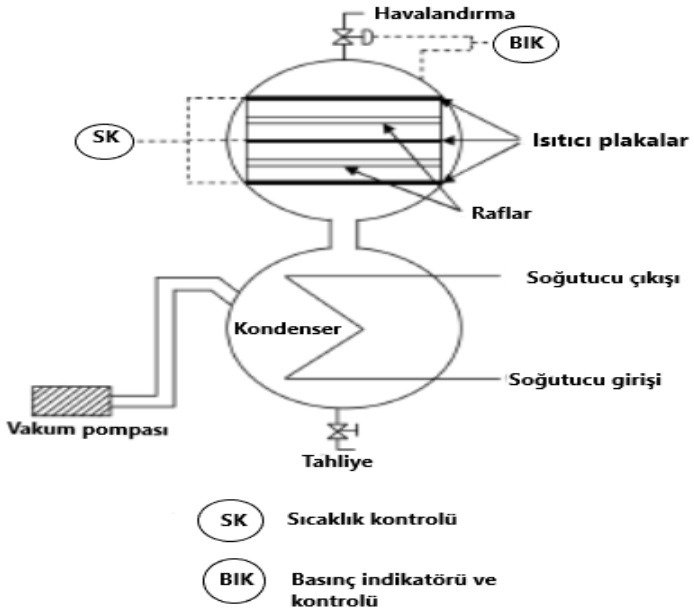
### 2.5.4. Dondurarak Kurutma Sistem Elemanları

Dondurarak kurutma sistemleri farklı yaklaşımlarla sınıflandırılabilmektedir. Bunlar;

- ✓ *Kurutulan ürüne göre*: ilaç ve gıda dondurarak kurutma sistemi,
- ✓ *Ekipmana göre:* kesikli ya da sürekli

- ✓ *Proses kapasitesine göre:* büyük ölçekli, orta ölçekli ya da küçük ölçekli
- ✓ *Uygulama alanına göre:* deneysel kurutucular, deneme kurutucuları ve üretim kurutucuları [118].

Uygulama ve kullanım alanları farklı olsa da bir dondurarak kurutma sistemi temelde şu bileşenlerden oluşmaktadır: kurutma haznesi, kondenser, soğutma sistemi, vakum sistemi, ısıtma sistemi ve kontrol sistemi.




**Şekil 2.10.** Laboratuvar ölçekli bir dondurarak kurutma sisteminin şematik gösterimi [138]

### 2.5.4.1. Kurutma Haznesi

Kurutma haznesi vakum altında kurutma prosesinin gerçekleştiği yerdir. İçinde kurutulacak materyal olan örnek kapları ısıtıcı raf üstünde, bu kabinin içine konmaktadır. İlaç sanayinde, tüm kurutma haznesinin ve vakum sisteminin aseptik olması istendiğinden, sanitizer olarak yüksek sıcaklıkta buhar kullanılmaktadır. Bu nedenle kabin genellikle paslanmaz çelikten yapılmaktadır [118,129].

### 2.5.4.2. Raf sistemi

Raf sistemi amaca göre tekli ya da çoklu olabilmektedir. Raflar, dondurma işlemi sırasında üründen enerjiyi çekerek ve birincil ve ikincil kurutma sırasında ürüne enerji sağlayarak bir ısı değiştirici görevi de üstlenmektedir [113]. Rafların dondurma ve ısıtma sıcaklıkları kontrol edilebilmektedir [123]. Bunun için genellikle uygulanan yöntem rafların etrafından istenilen sıcaklıkta sıvı geçirilmesidir. Bu amaçla kullanılan sıvı, silikon yağıdır [113,118]. Deneysel boyuttaki sistemlerde raf alanı 0.1 $m^2$ iken, deneme uygulaması yapılan sistemler için raf alanı 1 $m^2$'dir. Gıdalar için kullanılan sistemlerin ise raf alanı birkaç yüz metrekareye kadar çıkabilmektedir [118].

### 2.5.4.3. Kondenser

Kondenserler, birincil kurutma sırasında açığa çıkan ve vakum sistemi tarafından uzaklaştırılamayan çok fazla miktardaki buharın (suyun) tutulmasını sağlamaktadır [113,123,129,139]. Kondenserler bobinlerden ya da plakalardan oluşmaktadır. Kurutma haznesinin içinde ya da vakum pompasından hemen önce haznenin dışında olabilmektedir. Ancak kondenserlerin haznenin içinde ya da dışında olması performansında herhangi bir değişiklik yaratmamaktadır [113,123]. Kondenserin sıcaklığı, gıda ürünleri için genellikle -30 °C- (-) 40°C, ilaçlar için ise -40 °C- (-) 80°C arasında değişmektedir.

### 2.5.4.4. Soğutma sistemi

Dondurarak kurutma sistemlerinde soğutma sisteminin iki görevi bulunmaktadır. Birincisi, raflar üzerinde dondurulacak olan materyallere dondurma enerjisi sağlamak; ikincisi ise kondensere soğutma enerjisi sağlamaktır [113,118]. Kompresörler ya da sıvı azot yardımıyla bu enerji sağlanabilmektedir.

### 2.5.4.5. Vakum sistemi

Bir dondurarak kurutma sisteminde vakum pompasının asıl görevi bazı yoğuşturulamayan gazlar, sisteme sızan hava ve materyallerden çıkan hava gibi

gazların dışarı atılmasıdır. Bazen de vakum pompası kondenser tarafından tutulamayan su buharının atılmasını sağlamaktadır. Dondurarak kurutma sistemi için gerekli olan vakum miktarını kondenser sıcaklığı belirlemektedir. Günümüzde kullanılan kondenserlerin sıcaklığı -40 °C ya da -60 °C civarındadır. Buna karşılık gelen doymuş buhar basıncı da 12.85 Pa ve 1.08 Pa'dır. Genellikle 1-10 Pa arasında vakum aralığı kullanılmaktadır. Bu nedenle, istenilen vakumu sağlamak için mekanik pompalar kullanılabilmektedir [118].

#### 2.5.4.6. Kontrol sistemi

Modern sistemlerde istenilen kurutma çevriminin ayarlanabildiği bir bilgisayar tabanlı kontrol ve görüntüleme sistemi de bulunmaktadır. Bu programlama sisteminde raf sıcaklığı, basınç ve süre kontrol edilebilmektedir. Ürün sıcaklığı ve proses kondenser sıcaklığı gibi diğer parametreler de kaydedilip saklanabilmektedir [113,139].

### 2.5.5. Dondurarak Kurutma Proses Tasarımı ve Prosesin Optimizasyonu

Dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonu, arzu edilen kalitede son ürünün elde edildiği en kısa proses anlamına gelmektedir [139]. Dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonunda amaç, üretim hacmini arttırmak için proses süresini kısaltmak ve üretim maliyetlerini azaltmaktır [140,141]. Bunun için sadece kurutma prosesine değil, aynı zamanda ön işlemler ve dondurma prosesine de dikkat çekmek gerekmektedir [142]. Ayrıca, söz konusu eğer bir ilaç üretimiyse, dondurularak kurutulacak olan formulasyon da oldukça önemlidir. Çünkü, formulasyon ve proses birbirine oldukça bağlıdır; öyle ki formulasyon proses tasarımını etkilemekte ve proses değişiklikleri de formulasyonun fiziksel durumunu tamamen değiştirebilmektedir. Kötü bir formulasyonun dondurularak kurutulması pratikte imkansızdır veya tam tersi olarak, çok kötü tasarlanmış bir proseste iyi tasarlanmış bir formulasyondan uygun kaliteye en yakın bir maddenin üretilmesi günler sürebilmektedir [34].

Ürüne uygulanacak olan ön işlemlerde, kurutmanın daha etkin bir şekilde gerçekleşmesini sağlayarak proses süresini kısaltmak hedeflenmektedir. Bu nedenle, kurutulacak üründeki su miktarını azaltmak için konsantrasyon işlemi, formulasyon düzenlemesi (stabiliteyi arttırmak ve/veya işlemeye geliştirmek için bileşenler eklemek), yüzey alanını arttırmak ya da ürünün partikül büyüklüğünü azaltmak için öğütme işlemi yapılmaktadır. Yağ ya da şeker içeriği yüksek olan ve kurutulması zor olan gıdalar için ise köpürtme işleminin uygulanmasının uygun olacağı ifade edilmektedir [123,143].

Donma hızı, proses sıcaklığı ve basınç çalışmalara en çok konu olan dondurarak kurutma prosesi parametrelerindendir [36,144,153,145–152]. Donma hızı buz kristallerinin boyutunu ve dolayısıyla kuru tabakanın gözenekliliğini kontrol etmekte, böylece de kuruma süresi ve son ürün özellikleri etkilenmektedir [35,123,132,154]. Yüksek donma hızında çok sayıda, küçük ve rastgele dağılmış buz kristalleri; yavaş donma hızında ise birkaç tane büyük buz kristali oluşmaktadır [122,123,155,156]. Eğer bir matrikste hızlı donmayla küçük buz kristalleri oluşmuşsa, kurutma prosesi sırasında su buharının hareketine karşı büyük bir difüzyon direnci meydana gelmektedir. Tam tersi olarak, yavaş donmayla daha az ve büyük buz kristalleri oluşmuşsa, daha az difüsyon direnci ve dolayısıyla kuru ürünün gözeneklerinden daha fazla su buharı kütle transfer hızı meydana gelmektedir [114].

Dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonunda birincil kurutma (süblimasyon) süresinin kısaltılması için buz kristal boyutunun mümkün olduğunca büyük olması, ancak ikincil kurutma (desorpsiyon) periyodunda, amorf yapıdaki matriksten suyun kolayca desorpsiyonunu sağlamak amacıyla büyük ve spesifik bir gözenek alanı oluşturacak şekilde küçük olması gerekmektedir [148]. Bu nedenle, süblimasyon ve desorpsiyon basamaklarının bir ısı ve kütle transfer modeliyle validasyonu ve dondurarak kurutma prosesinin tamamının optimize ve kontrol edilmesi için öncelikle kabul edilebilir bir buz kristali boyutu bulunmalıdır. Böylelikle, tüm bu aşamaların süreleriyle ilişkili işletme maliyetleri de minimize edilmiş olacaktır [148,157,158].

Dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonunda diğer basamak ürün sıcaklığının optimize edilmesidir. Ürün sıcaklığı, raf sıcaklığı ve basınçtan

kaynaklanmakta ve bu nedenle birincil kurutma sırasında doğrudan kontrol edilememektedir [159,160]. Genel olarak, optimize edilmiş bir liyofilizasyon prosesinin birincil kurutma aşaması sırasında hedef ürün sıcaklığı, dondurularak konsantre edilmiş fazın camsı geçiş sıcaklığına (Tg') ya da çökme sıcaklığına (Tc) karşılık gelen bir sınır değerin birkaç derece altındadır [159–161]. Tp ve Tc arasındaki sıcaklık farkı sıcaklık emniyet payıdır. Bununla birlikte, ürün sıcaklığı ne kadar yüksekse, süblimasyon hızı o kadar yüksek, dolayısıyla proses süresi de o kadar kısadır [140,159,160]. Bu nedenle, hedef ürün sıcaklığı olarak Tc'ye en yakın olan sıcaklık seçilmelidir [159]. Eğer sistemin vakum seviyesi yeterince düşükse, bu yaklaşım sağlanabilmektedir [123].

Kurutma haznesi basıncı, Pc, birincil kurutma sırasında ısı ve kütle transferini etkileyen önemli parametrelerden biridir [37,114,159]. Birincil kurutma buzun süblimasyon hızını arttırmak amacıyla düşük basınçta yapılmaktadır. Yüksek bir süblimasyon hızı sağlayabilmek için, Pc, hedef ürün sıcaklığında buzun buhar basıncının altında olmalıdır [159]. Yüksek Pc değerleri ısı transfer hızını arttırmakta ancak gözenekli kuru tabakanın içindeki kütle transfer hızını azaltmaktadır. Birincil kurutma prosesinde hızın kontrol mekanizması kütle transferi olduğundan dolayı, kuru tabakadan su buharı akısını arttırmak için Pc en düşük değerinde tutulmalıdır [114,159]. Ancak, bunun da ısı transferinde heterojenliği arttırma gibi bir dezavantajı bulunmaktadır. Bu nedenle, yüksek süblimasyon hızı ve homojen ısı transferi için ortak bir nokta bulmak gerekmektedir. Hedef ürün sıcaklığı bilinen bir sistem için "en uygun" Pc değeri şu eşitlikle hesaplanabilmektedir [159]:

$$Pc=0{,}29\times10^{(0.019\times Tp)} \qquad Pc—basınç\ (Torr),\ Tp—ürün\ sıcaklığı\ (°C)$$

Raf sıcaklığı da ürün sıcaklığını düzenleme ve dondurarak kurutma prosesini kontrol etmede oldukça önemli bir parametredir [162]. Isı ve kütle transferine bağlı olarak, süblimasyonun başlamasıyla örneğin sıcaklığında bir düşüş meydana gelmektedir. Örneğin sıcaklığındaki bu düşüş süblimasyon arayüzeyindeki su buharı basıncının ($P_{buz}$) da düşmesine dolayısıyla da süblimasyon hızının azalmasına neden olmaktadır. Bu durumu çözmek için örneğe ek bir ısı verilmesi gerekmekte, bu da genellikle ısıtıcı raflar yoluyla sağlanmaktadır [163]. Ürüne aktarılan ısı miktarı raf ve ürün sıcaklıklarının farkına bağlıdır. Isı ve kütle transferine göre, süblimasyon prosesi sırasında ürün sıcaklığı (Tp) sürekli değiştiğinden dolayı doğrudan kontrol

edilememektedir. Basınç ve sürekli değişen ürün direnci bir ürün sıcaklığı belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle dondurarak kurutma proseslerinde ürün sıcaklığını ve süblimasyon hızını belirlemek için raf sıcaklığı (Ts) kontrol edilmektedir [163].

### 2.6. Yanıt-Yüzey Yöntemi

Optimizasyon, olası seçenekler arasından en iyi durumun belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır. Tasarımda, herhangi bir mühendislik sisteminin tasarlanması ve sağlanması için hem gerekli enerjiyi en aza indirmek hem de istenen yararı maksimize etmek için farklı proses basamaklarında farklı teknolojik ve yönetimsel kararların verilmesinde gereklidir. Bir sistem ya da proses, sistemin girdileri ve çıktıları arasındaki ilişki ile tanımlanmaktadır. Girdi değişkenleri aynı zamanda faktörler, bağımsız değişkenler ya da proses değişkenleri; çıktılar ise yanıt ya da bağımlı değişkenler olarak adlandırılmaktadır [164].

Bağımsız değişkenler işlem değişkenleri (sıcaklık, basınç, debi, vs.), cihaz değişkenleri (ekipman çapı, hacmi, elektrik gücü, vs.) ve parametreler (bir akışkanın termofiziksel değeri gibi); bağımlı değişkenler ise sonuç değişkenleri ve ara değer değişkenleri olmak üzere sınıflandırılabilmektedir [165].

"Yanıt yüzey yöntemi (Response Surface Methodology; RSM)", sistemin girdi/ çıktıları arasındaki ilişkiyi tahminlemek için polinomiyalleri kullanan empirik bir model yaklaşımıdır. RSM, çoklu girdi değişkenleri ile bir çıktı yanıtının arasındaki kantitatif ilişkiyi anlamak için kullanılan, çoklu yanıtlara uyarlanabilen ve genellikle yanıtın optimizasyonuyla vurgulanan bir yöntemdir [164].

RSM, proses ve ürün geliştirmede önemli bir araçtır [16,166]. Bu yöntem, araştırmacının yanıtlar ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemesini sağlayan deneysel desen ve optimizasyon tekniklerinin bir toplamıdır [16]. RSM, deney tasarımı, model seçimi ve fit edilmesi ve fit edilen model üzerinde optimizasyon gibi matematiksel ve istatistiksel prosedürleri kapsamaktadır [164]. Bu yöntemde, deney sonuç seti üzerinde regresyon teknikleri kullanılarak empirik (matematiksel) modeller oluşturulmaktadır.

RSM'nin birçok uygulaması doğası gereği sıralıdır. Öncelikle, yüzey yanıt çalışmasında hangi değişkenler ya da faktörlerin ilgili olabileceği ile ilgili fikirler oluşturulmaktadır. Bu aşamada önemli olmayan faktörler deney tasarımından elenmektedir. Bu tip bir yaklaşım genellikle "eleme (screening)" yaklaşımı olarak adlandırılmaktadır [167]. Eleme yaklaşımında amaç, uzun değişken listelerini nispeten daha aza indirip sonraki yaklaşımları daha etkili kılmak ve daha az deneme ya da test yapmaktır. Eleme yaklaşımı yanıt yüzey yönteminin "0. Aşaması" olarak adlandırılmaktadır.

Önemli bağımsız değişkenler belirlendiği için, Aşama 1 yanıt yüzey çalışmasının başladığı aşamadır. Bu aşamada, bağımsız değişkenlerin belirlenen seviyelerinin optimum noktaya yakın olup olmadığı ya da prosesin optimumdan uzak olan bir bölgede işleyip işlemediğini belirlemektir. Eğer bağımsız değişkenlerin mevcut seviyeleri optimuma yakın değilse, prosesi optimum noktaya taşımak için ayarlamalar yapılmalıdır. Bu aşamada birinci dereceden modeller kullanılır [167].

Aşama 2, proses optimuma yakın olduğunda başlamaktadır. Bu aşamada model, optimumun etrafında küçük bir alanda gerçek yanıt fonksiyonuna yakın olmalıdır. Gerçek yanıt yüzeyi genellikle optimum yakınında eğrilik oluşturduğundan, tahminlemede ikinci dereceden modeller kullanılmaktadır [167]. Uygun bir model elde edildiğinde, bu model proses için optimum koşulların belirlenmesi için analiz edilmektedir.

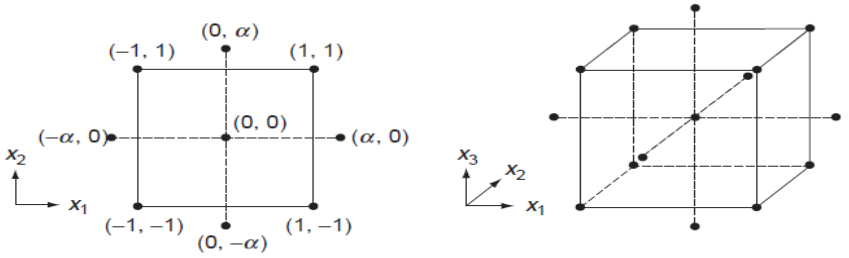
RSM araştırmacıya çalışma devam ederken prosesle ilgili bilgiler vermektedir. Araştırmacı prosesle ilgili, optimum noktanın konumu, gerekli olan yaklaşım fonksiyonunun türü, deneysel desenlerin doğru seçimi, kaç replikasyonun gerekli olduğu ve yanıtta ya da herhangi bir proses değişkeninde transformasyon gerekip gerekmediği sorularına yanıt bulmaktadır [167].

### 2.6.1. Deney Tasarımı

Teorik olarak, son ürünün fiziksel özelliklerini etkileyen tüm faktörlerin deneysel tasarımda yer alması gerekmektedir. Ancak tüm değişkenler deney tasarımına alınırsa, araştırma prosesi çok zor gelişmektedir. Bu nedenle, bir eleme

prosesiyle baskın olan parametreler makul bir sayıya indirilmelidir. Bunun için kullanılan yöntemler iki seviyeli faktöriyel desen, merkezi tümleşik desen (Central Composite Design; CCD), yüzey-merkezli merkezi tümleşik desen (Face-centered Central Composite Design; FCCD) ve Box-Behnken Desen (Box-Behnken Design; BBD) 'dir [164]. Bu yöntemler arasında en yaygın kullanılanı ise merkezi tümleşik desen (CCD)'dir [168–170].

CCD, Box ve Wilson (1951) tarafından geliştirilmiştir [164,167,168,171]. Bu desen, k girdi faktörleri olmak üzere, $2^k + 2k + n_c$ toplam noktaları için, iki seviyeli faktöriyel nokta, $2^k$ ve eksenel noktalar, $2k$, ve çoklu merkez noktaları, $n_c$ 'den oluşmaktadır. Şekil 2.11a ve b'de iki ve üç faktörlü CCD'ler görülmektedir.



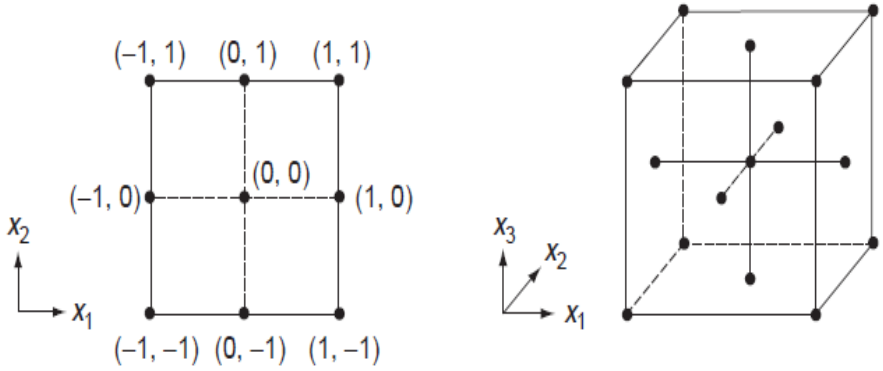

(a) (b)

**Şekil 2.11.** (a) - (b). k=2 ve k=3 için merkezi tümleşik desen [164,168]

Tüm eksenel noktalar merkez noktasından α kadar uzaklıktadır. Döndürülebilirlik, tahminlenmiş yanıtın varyansının desenin merkez noktasından eşit uzaklıktaki tüm noktalarda sabit olduğu istenilen bir desen özelliğidir [164,167]. CCD eksenel noktalar $\alpha=\sqrt{k}$ değerlerine set edilerek döndürülebilir yapılabilmekte ve bu desen küresel desen olarak adlandırılmaktadır.

Girdi faktörlerinin belirli sınırlar ya da bölgeler içerisinde sıkı bir şekilde maruz kaldığı bazı durumlar olabilmekte ve bu sınırlar aşılamamaktadır. Bu ifade edilen desen alanı bir küptür. Üst ve alt sınırlar arasında bağımsız değişkenleriyle kısıtlanmış olan yüzey-merkezli tümleşik desen (FCCD), kübik bir desendir ve α=1 'e set edildiğinde CCD ailesine ait olmaktadır. Bir FCCD aynı zamanda $2^k + 2k + n_c$

desen noktalarından oluşmaktadır. Şekil 2.12 a ve b'de iki ve üç değişkenli FCCD gösterilmektedir.




(a) (b)

**Şekil 2.12.** (a) ve (b) k=2 ve k=3 için yüzey merkezli tümleşik desen [164,167].

### 2.6.2. Optimizasyon

Tek bir yanıt için optimal koşulların bulunması oldukça kolaydır. Ancak araştırmacılar çoğunlukla birden çok yanıt üzerine çalışmaya odaklıdır [168]. Çok yanıtlı olan çalışmalarda kullanılan yaklaşımlar lineer olmayan programlama yaklaşımı, yanıtların izohips eğrilerinin üst üste yerleştirilmesi (superimposing) ve istenilebilirlik (desirability) fonksiyonu yaklaşımıdır [172].

Lineer olmayan programlama yaklaşımıyla, tüm yanıtlar arasında en iyi denge sağlanamadığından bu yöntem çok yanıtlı sistemlerin optimizasyon amacını karşılayamamaktadır [172].

Çoklu yanıtların optimizasyonunda en basit yöntem gözle incelemedir. Eğer önemli faktörlerin sayısı, düzeltilmiş modellerin grafiksel görüntülenmesine olanak sağlıyorsa ve yanıtların sayısı fazla değilse, çalışılan tüm yanıtları karşılayacak deneysel bölgenin bulunması için yüzeyler üst üste getirilebilmektedir [168]. Ancak dört ya da daha fazla değişkenin olması durumunda bu yöntem kullanışlı

olmamaktadır [167].

Çoklu yanıtların optimizasyonunda kullanılan bir diğer yaklaşım Derringer ve Suich (1980) tarafından yaygınlaştırılmış olan "desirability (istenilebilirlik) fonksiyonu yaklaşımıdır [167]. Bu fonksiyonun prensibi, tüm yanıtların "desirability fonksiyonu" adı altında tek bir fonksiyon haline getirilmesi ve bu fonksiyonun istenilen sonuçları verecek şekilde maksimize edilmesidir [166,172].

İstenilebilirlik yaklaşımı şu aşamalardan oluşmaktadır:

1. Deneylerin uygulanması ve tüm *m* sayıda yanıt için yanıt modellerinin uygun hale getirilmesi
2. Her bir yanıt için bireysel istenilebilirlik fonksiyonlarının tanımlanması
3. Toplam istenilebilirlik fonksiyonu *D*'nin kontrol edilebilir faktörlere göre maksimize edilmesi [173].

Bu yaklaşımda, her bir yanıta ait ölçülebilen özellikler bireysel boyutsuz bir istenilebilirlik ($d_i$) skalasına aktarılır. Bireysel fonksiyonlar arasında, araştırmacı her bir yanıtın ölçüm prosedüründe karşılaması gereken özellikleri tanımlamaktadır. Bireysel istenilebilirlik fonksiyonları skalası tamamen istenmeyen bir yanıt için, $d$=0 ile tamamen istenen bir yanıt için $d$=1 arasında değişmektedir. Bu bireysel istenilebilirlikler kullanılarak toplu istenilebilirlik fonksiyonu ($D$) oluşturulmaktadır [168,172]. Toplu istenilebilirlik fonksiyonu $D$ bireysel istenilebilirlik fonksiyonlarının ağırlıklı geometrik ortalaması olarak tanımlanmaktadır [168]. Toplu istenilebilirlik fonksiyonunun denklemi

$$D= (d_1 d_2 \ldots d_m)^{1/m} \quad (1)$$

'dir. $m$ optimizasyon prosesinde çalışılan yanıtların sayısını temsil etmektedir.

Eğer y yanıtı için hedef T maksimum değerse, istenilebilirlik fonksiyonu;

$$d = \begin{cases} 0 \text{ if } y < 1 \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right)^s \text{ if } L \le y \le T \\ 1 \text{ if } y > T \end{cases} \quad (2)$$

*L* yanıtın en düşük kabul edilebilir değeri, *s* ağırlık sabitidir. Dolayısıyla s=1 olduğunda istenilebilirlik fonksiyonu lineerdir. s >1 seçmek hedef değere yakın olmanın önemli olduğu; 0<s<1 seçmek ise daha az önemli olduğunu ifade etmektedir [167,168,173].

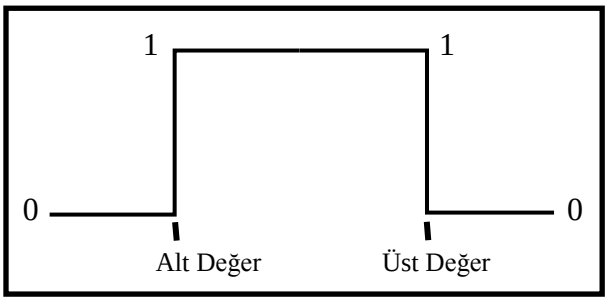
Eğer y yanıtı için hedef T minimumsa, istenilebilirlik fonksiyonu;

$$d = \begin{cases} 1 \text{ if } T < y \\ \left(\frac{U-y}{U-y}\right)^t \text{ if } T \le y \le U \\ 0 \text{ if } y > U \end{cases} \quad (3)$$

*U* yanıtın kabul edilebilir en üst değer, *t* ise ağırlık sabitidir.

Eğer hedef değer en alt seviye (*L*) ile en üst seviye (*U*) arasındaysa, o zaman çift taraflı bir istenilebilirlik fonksiyonu kullanılmalıdır. Fonksiyon bu değerler arasında 1, diğer bölgelerde ise 0 olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.13). Bu fonksiyon şu şekilde ifade edilmektedir:

$$d = \begin{cases} 0 \text{ if } y < L \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right) \text{ if } L \le y \le T \\ \left(\frac{U-y}{U-T}\right)^t \text{ if } T \le y \le U \\ 0 \text{ if } y > U \end{cases} \quad (4)$$




**Şekil 2.13.** Belli bir aralıktaki hedef için istenilebilirlik fonksiyonu

Her bir yanıt için istenilebilirlik fonksiyonlarının tanımlanmasının ardından geometrik ortalamaları alınarak toplu istenilebilirlik fonksiyonu (D) elde edilmektedir. Ağırlık katsayılarına ek olarak, her bir yanıtın optimizasyondaki önemini belirten 1-5 arası önemlilik derecesi ($v_i$) de verilebilmektedir. Toplu istenilebilirlik fonksiyonunun son hali şu şekildedir:

$$D=(d_1^{vi} \times d_2^{vi} \times d_3^{vi} \times \ldots \times d_n^{vi})^{1/\Sigma vi} = \left(\prod_{i=1}^{n} d_i^{vi}\right)^{1/\Sigma vi} \quad (5)$$

Daha sonra toplu istenilebilirlik fonksiyonunu maksimize eden değişken seviyesi (x) kombinasyonu elde edilir.

## 2.7. Yanıt Yüzey Yönteminin Dondurarak Kurutma İşlemi ve Protein Hidrolizinin Optimizasyonunda Kullanımı Üzerine Yapılan Çalışmalar

Dondurarak kurutma tekniği ile kurutulan örneklerde ürün ve proses birbiri ile oldukça bağlantılıdır. Formulasyonun içeriği prosesi; proseste olanlar ise son ürünün kalitesini tamamiyle değiştirebilmektedir [34]. Bu nedenle dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonunu "ürünle ilgili (formulasyon) optimizasyon" ve "işlem parametreleri (dondurma, birincil kurutma, ikincil kurutma) optimizasyonu" olmak üzere iki bölüme ayırmak mümkündür. Literatürdeki mevcut çalışmalar incelendiğinde, meyve ve sebzeler başta olmak üzere çeşitli gıdaların, mikroorganizma ve ilaç üretiminin hem işlem hem de formulasyon optimizasyonunda yanıt yüzey yönteminin kullanıldığı görülmektedir. Protein hidrolizatı eldesinin optimizasyon çalışmaları incelendiğinde ise hidrolizatların

liyofilizasyon ile toz hale getirilmesine rağmen, daha çok hidroliz aşamasının optimize edilmesi üzerine çalışmaların olduğu görülmektedir. Bu başlık altında literatürdeki dondurarak kurutma formulasyon ve işlem parametreleri ile protein hidrolizatı üretimi optimizasyon çalışmalarına örnekler verilmeye çalışılmıştır.

Hammami ve ark.'nın [35] elma dilimlerinin dondurarak kurutma prosesinin optimizasyonu ile ilgili yaptıkları çalışmada, yanıt yüzey yöntemi ve iki faktörlü beş seviyeli merkezi tümleşik döndürülebilir desen (CCRD) tasarımı kullanılmıştır. Optimum nokta superimposing yöntemiyle belirlenmiştir. İşlem basıncı ve raf sıcaklığı bağımsız değişkenler, görünüş/şekil, renk, tekstür ve rehidrasyon oranı yanıt olarak kabul edilmiştir. Çalışma sonuçları incelendiğinde, dondurarak kurutma süresi ile raf sıcaklığı arasında negatif lineer ilişki tespit edilmiştir.

Salazar ve ark. [174], mango dilimlerinin dondurularak kurutulmasında proses parametrelerinden dondurmanın etkisi üzerine çalışma yapmışlardır. Yanıt yüzey yöntemi ve Box-Behnken tasarımı ile donma hızı, vakum-indükleme ile yüzey dondurma basıncı ve bu basıncın uygulandığı sıcaklığın, mango dilimlerinin toplam dondurarak kurutma süresi, son nem içeriği, ürün rehidrasyon kapasitesi, toplam renk farkı ve toplam polifenol içeriği üzerine etkileri optimize edilmiştir. Optimizasyon superimposing tekniği ile gerçekleştirilmiştir.

*Streptococcus thermophilus'* un dondurarak kurutulmasında kriyoprotektan kullanımının araştırıldığı bir çalışmada, sukroz, çözünebilir nişasta ve askorbik asit içeriğinin mikroorganizmanın hayatta kalma ve canlı sayısı üzerine etkileri yanıt yüzey yöntemi ve Box-Behnken tasarımı ile optimize edilmiştir [175].

Shu ve ark. [176] tarafından dondurarak kurutma sırasında *Lactobacillus acidophilus*'un canlılığı üzerinde farklı kriyoprotektan kullanımının etkisinin araştırıldığı çalışmada yanıt yüzey yöntemi ve dört faktörlü üç seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler trehaloz, $Na_2HPO_4$, laktoz ve yağsız süt tozu iken yanıt dondurarak kurutma işleminden sonra canlı kalma oranıdır.

Dikenli köbekbalığından elde edilen hidrolizatın optimizasyonu üzerine yapılan çalışmada, Diniz ve ark. [177] tarafından pH, sıcaklık ve enzim-substrat

oranının hidroliz derecesi üzerine olan etkileri araştırılmıştır. Optimizasyon çalışmasında üç seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır.

Gbogouri ve ark. [77], somon balığı yan ürünlerinden balık hidrolizatı üretiminde yanıt yüzey yöntemi ve Doehlert deseni kullanarak sıcaklık, enzim:substrat oranı ve pH değişkenlerinin hidroliz derecesi ve verim üzerine etkilerini araştırmışlardır.

Nilsang ve ark. [95] balık konsantratının enzimatik hidrolizinde yanıtı optimize eden değerleri belirlemek için rastgele tam blok tasarım (RCBD) içinde 4 x 5 x 6 faktöriyel desen tasarımı kullanmışlardır. Bağımsız değişkenler olarak sıcaklık, enzim konsantrasyonu ve hidroliz süresinin hidroliz derecesi yanıtı üzerine etkileri optimize edilmiştir.

Kurozawa ve ark. [68], tavuk etinin enzimatik hidrolizi üzerine yaptıkları çalışmada yanıt yüzey yöntemini ve CCRD tasarımını kullanmışlardır. Sıcaklık, enzim:substrat oranı ve pH bağımsız değişkenler; hidroliz derecesi ve protein geri dönüşüm oranı yanıtlar olarak ele alınmıştır. Optimum noktanın tespitinde superimposing yöntemi kullanılmıştır.

Sazan balığının iç organlarından balık hidrolizatı üretiminin optimizasyonu üzerine çalışma yapan Bhaskar ve ark. [178], yanıt yüzey yöntemi ve merkezi tümleşik faktöriyel desen (CRFD) kullanmıştır. Bu çalışmada süre, sıcaklık, enzim-substrat seviyesi ve pH bağımsız değişkenlerinin hidroliz derecesi yanıtı üzerine etkileri optimize edilmiştir.

Kanatlı endüstrisi atıklarından enzimatik yöntemle protein hidrolizatı elde edildiği çalışmada, Rossi ve ark. [16], $2^3$ faktöriyelli CCD tasarımı kullanmışlardır. Sıcaklık, pH ve enzim konsantrasyonu değişkenleri ile hidroliz indeksi yanıtı optimize edilmiştir.

He ve ark. [110] yaptıkları çalışmada, Atlantik somonu ve sarı ağız balığının yan ürünlerinden liyofilize balık protein hidrolizatı üretim koşullarının optimize edilmesi amaçlanmıştır. İşlem süresi ve enzim-substrat oranı bağımsız değişkenler,

protein geri dönüşüm oranı, yağ bağlama kapasitesi ve emülsifikasyon kapasitesi yanıtlar olarak seçilmiştir. Optimum koşullar "superimposing" yöntemiyle belirlenmiştir.

de-Queiroz ve ark. [75], keçi iç organlarından enzimatik protein hidrolizatı üretiminde $2^2$ faktöriyelli CCRD tasarımı kullanmışlar ve hidroliz süresi ve enzim:substrat oranının hidroliz derecesi üzerine etkilerini incelemişlerdir.

Erge ve Zorba [17], mekanik ayrılmış tavuk eti kalıntısından jelatin eldesinin optimizasyonunu çalışmışlardır. Çalışmada, CCD tasarımı kullanılmıştır. NaOH konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi bağımsız değişkenler olarak ele alınmış ve elde edilen jelatinin fizikokimyasal (nem, protein, kül, hidroksiprolin içeriği, jelatin verimi, L*, a*, b* değerleri) ve reolojik özellikleri optimize edilmiştir.

**Tezin Amacı**

Tez çalışmasında, kanatlı endüstrisi atıklarından olan mekanik sıyrılmış kanatlı kemiklerinden enzimatik yöntemle proteinlerin hidrolizi ile kemikler üzerinde kalan protein bakımından zengin etlerin değerlendirilmesi, elde edilen hidrolizatın minimum sürede maksimum kalitede kurutulması için dondurarak kurutma prosesinin optimize edilmesi ve gerek gıda katkı maddesi gerekse sporcu besini olarak kullanılabilecek tavuk eti tozu üretilmesi amaçlanmıştır.

# 3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

## 3.1. Materyal

Tavuk hidrolizatı üretimi, enzim hidrolizi yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Bunun için COROLASE® 8000 (AB Enzymes, Almanya) ticari enzimi kullanılmıştır. Bu enzim, hafif alkali koşullarda proteinleri hidrolize etmek için kullanılan sıcaklığa dayanıklı, gıda saflığında, fungal, alkali özellikte bir proteaz enzimidir. Bir serin endoproteazıdır ve aynı zamanda bir endopeptidaz olarak da tanımlanmaktadır. Sıvı formdadır; karakteristik kokuda ve açık kahverengi renktedir; enzim aktivitesi minimum 100.000 BPU/g'dır. Genel kullanım alanları buğday glüteni, soya proteini, jelatin, süt proteinleri hidrolizi, et yan ürünlerinin geri dönüşümü ve yan ürünlerden balık proteinlerinin geri kazanımıdır. pH 6.0-10.0 ve 70 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda aktivite gösterebilmektedir. Protein içeriğine bağlı olarak %0.1 ila 2.0 oranında kullanılmaktadır. Hidrofobik aminoasitlere kadar (alanin, fenilalanin ve tyrosin) hidroliz etmektedir.

Tavuk atıkları Keskinoğlu Tavukçuluk ve Damızlık İşl. San Tic. A.Ş.'den temin edilmiştir. Hidroliz işlemi için mekanik sıyırma işlemi tamamlanmış, üzerinde bir miktar tavuk eti bulunan tavuk kemikleri kullanılmıştır.

### 3.1.1. Tavuk hidrolizatı üretimi

Tez çalışmasında kullanılan tavuk hidrolizatı üretimi Keskinoğlu Tavukçuluk ve Damızlık İşl. San Tic. A.Ş.de yapılmıştır. Bunun için et sıyırma işlemi tamamlanmış tavuk göğüs kemikleri haşlama kazanına konulmuş ve 53 °C'ye gelinceye kadar %1,5 konsantrasyonunda tuzlu su içerisinde ısıtma işlemi uygulanmıştır. Daha sonra %0,1 oranında proteaz enzimi eklenmiş ve enzimin aktivasyonu için 3,5 saat ısıtma işlemine tabi tutulmuştur. Süre sonunda, enzim inaktivasyonu için sıcaklık 90 °C'ye çıkarılmış ve bu sıcaklıkta 45 dakika haşlama işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra haşlanmış kemiklerin kazandan ayrımı manuel olarak yapılmış ve tavuk-enzim çözeltisi kemik partiküllerinin uzaklaştırılması için filtre edilmiştir. Filtre edilen çözelti, seperatörden geçirilerek fazla yağ uzaklaştırılmış ve 0-4 °C'de depolamaya alınmıştır. Tavuk hidrolizatı çözeltisinin üretim akış şeması Ek A'da gösterilmektedir.

### 3.1.2. Liyofilizasyon koşulları

Liyofilizasyon işlemi, yapılan modifikasyon işlemleri sonrasında Manisa Celal Bayar Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde bulunan liyofilizatör (Christ Alpha 2-4 LD Plus, Germany) ile gerçekleştirilmiştir. Deneme deseninde yer alan raf sıcaklığı parametresinin sağlanabilmesi için, cihazın mevcut kabini yerine, raf sıcaklık kontrolü yapmaya imkan sağlayan yeni bir kabin tasarlanmıştır.

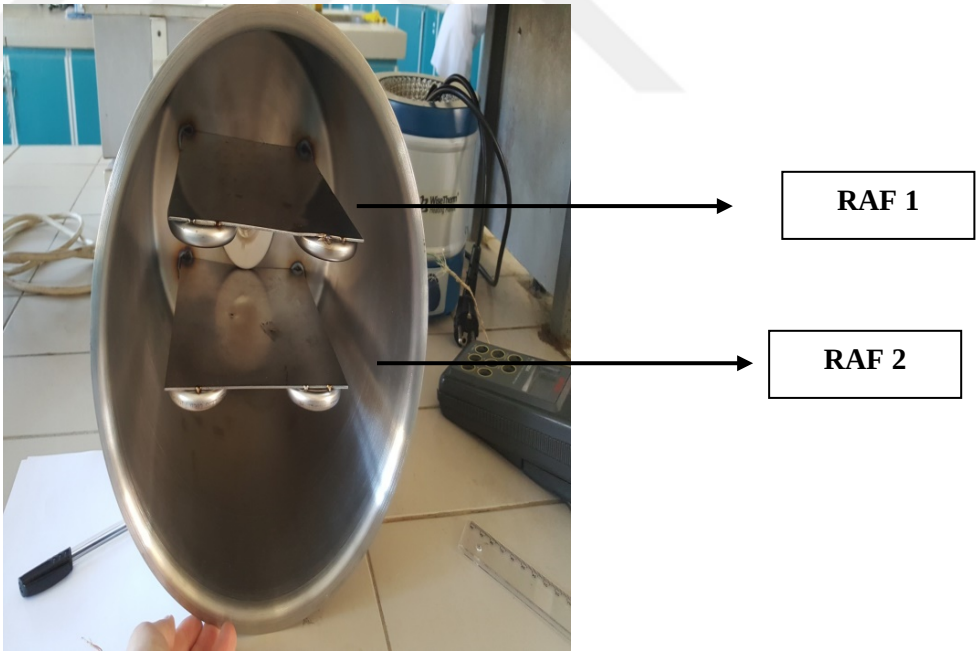
Kabin tasarımı için öncelikle yüksek vakum ortamına dayanabilecek 24×24 cm (11 L) boyutlarında paslanmaz çelik bir kazan temin edilmiştir (Şekil 3.1). Daha sonra bu kazanın tabanı altta ve üstte olmak üzere 2 noktadan delinmiş, içerisinden su akışı sağlanabilecek paslanmaz çelik, kıvrımlı borular kazan içerisine yine paslanmaz çelik kaynakla tutturulmuştur. Paslanmaz çelik borular üzerine ürünün konulmasına imkan sağlayacak ve ısı geçişini engellemeyecek özellikte raf sistemi yapılmıştır (Şekil 3.2). Kabinin merkez noktası, mevcut sistemin kondenseriyle bağlantı yapılması amacıyla delinmiş ve conta kullanılarak sızdırmazlık özelliği kazandırılmıştır. Kondenser üzerine ise 30 cm çaplı 2 mm kalınlığında krom-çelik malzemeden bir aparat yaptırılarak kondenser bağlantısı tamamlanmıştır. Son olarak, merkez noktasının hemen altında bir conta sistemiyle kabin içerisine ortam ve ürün sıcaklıklarının kaydedilmesi amacıyla 5 adet termokapıl yerleştirilmiş ve data loggera bağlanmıştır. Bunlardan 3 tanesi ürün dondurulmadan önce ürüne yerleştirilmesi amacıyla sistemden ayrılabilir durumda olmakla birlikte, 1 ortam sıcaklığını 1 de raf sıcaklığını ölçen 2 adet termokapıl bahsedilen noktalarda sabitlenmiştir (Şekil 3.3).

Tepsi sıcaklığı kontrolü için sisteme soğutmalı sirkülatörlü su banyosu bağlanmıştır. 0°C'nin altında çalışmalar yapabilmek adına su banyosuna -40°C'ye kadar kullanılabilecek özellikte anti-freeze konulmuştur. Sistem basıncı kontrolü, mevcut kondenser üzerinden yapılmakla birlikte, bu haliyle sıcaklık kontrolü yapılabilen yeni bir dondurarak kurutma sistemi kurulumu gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Örneklerin sisteme yerleştirilmesi amacıyla da 15×15×1 cm boyutunda 2 adet tepsi yaptırılmıştır. Bu tepsilerin üzerine 4x5x1,5 cm boyutlarında dikdörtgen kalıplar silikon yardımıyla yapıştırılmıştır (Şekil 3.5). Sıvı haldeki protein hidrolizatı,

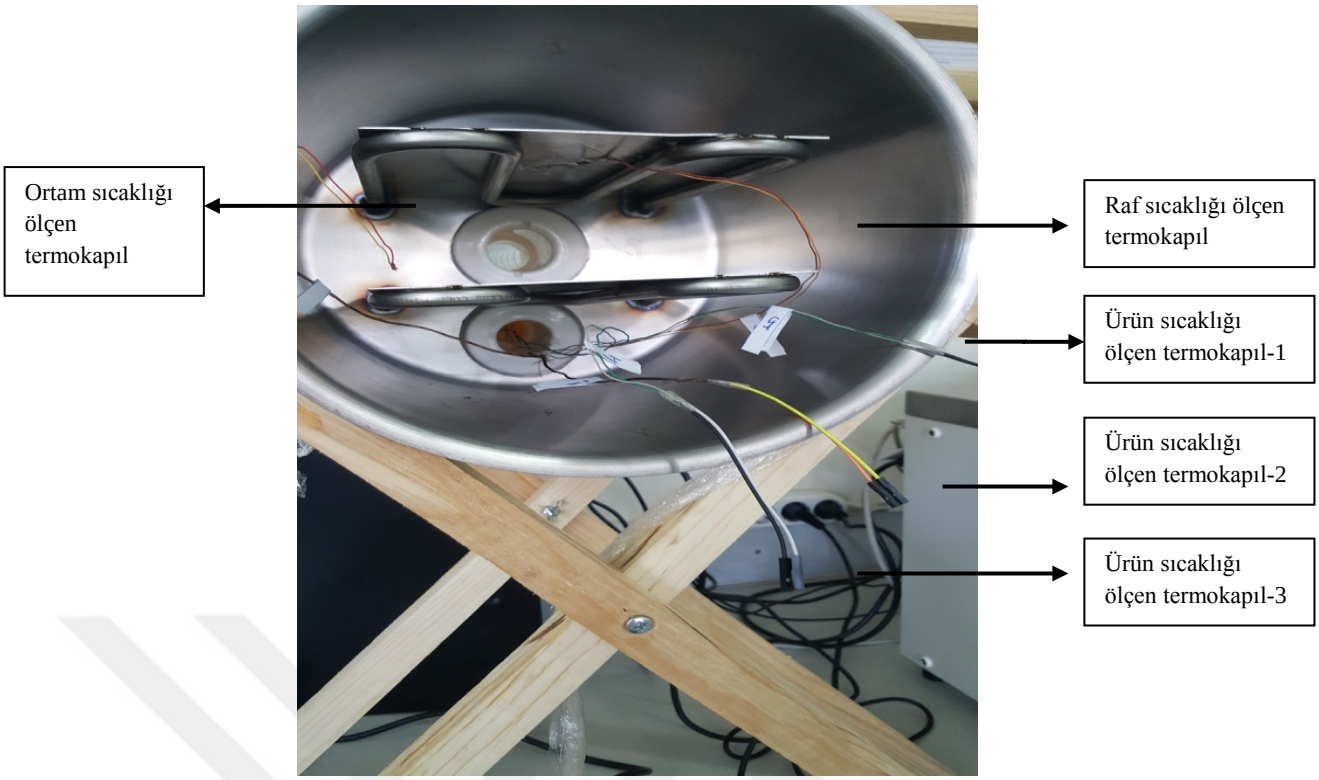
bu kalıpların içerisine 1 cm yükseklikte olacak şekilde (yaklaşık 20 mL) doldurulmuştur (Şekil 3.6).



**Şekil 3.1.** Kabin tasarımı için kullanılan paslanmaz çelik kazan



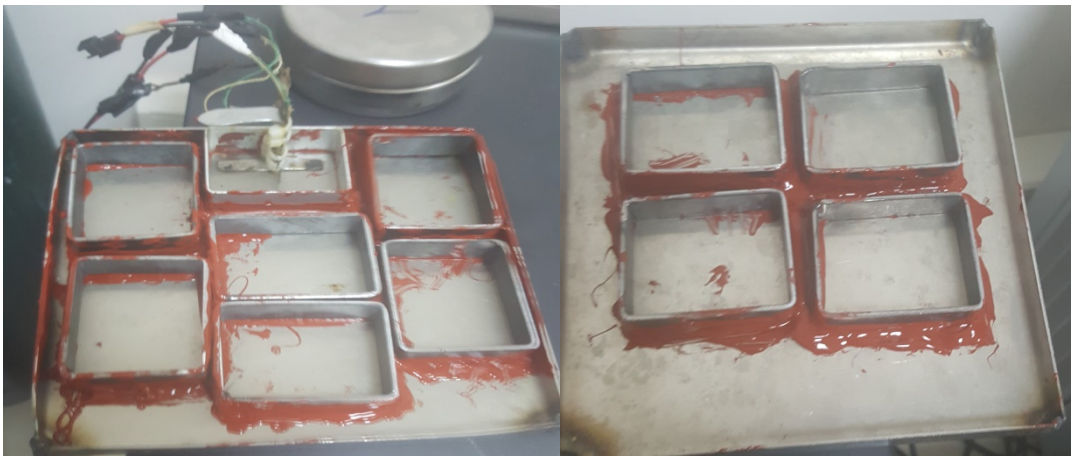

**Şekil 3.2.** Tepsi sıcaklığı kontrolü için tasarlanan raf sistemi



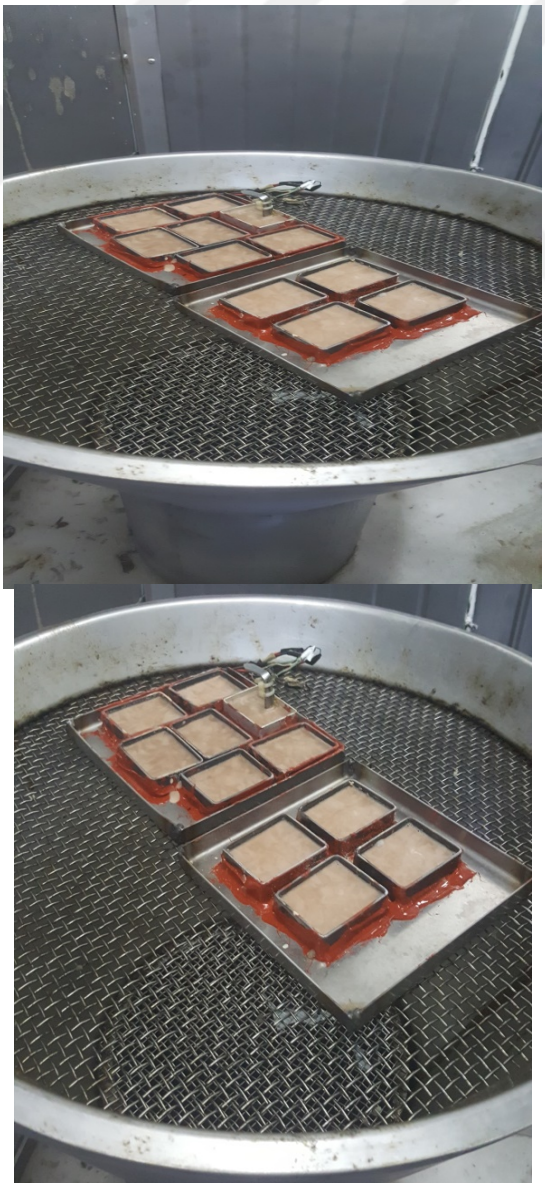

**Şekil 3.3**. Sıcaklık kontrolü için yerleştirilen termokapıllar



**Şekil 3.4.** Sıcaklık kontrollü dondurarak kurutma sistemi



**Şekil 3.5.** Ürünlerin sisteme yerleştirilmesinde kullanılan tepsiler ve örnek kapları



**Şekil 3.6.** Kalıp içindeki hidrolizatların akışkan yatak dondurucudaki görüntüsü

Sistem Şekil 3.4'teki haliyle kurulduktan sonra, ön deneme çalışmalarına başlanmıştır. Ön deneme çalışmalarında öncelikli olarak sistemin sızdırmazlığının sağlanması ve sıcaklık aralıklarının tespit edilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, sistemin ortam sıcaklığından etkilendiği belirlenmiş ve sistemin kabin bölümü ve kondenser üzerindeki yardımcı aparat yalıtım malzemesiyle kaplanmıştır. Böylelikle ortam ve sistem sıcaklığının etkileşimi engellenmiştir (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** Dondurarak kurutma sisteminin son hali

### 3.1.3. Deneme Deseni ve Yanıt- Yüzey Yöntemi ile Optimizasyon

Tavuk hidrolizatının dondurularak kurutulmasında en kısa liyofilizasyon süresinde kaliteli ve yüksek protein içeriğine sahip tavuk eti tozu üretimi için optimum işlem koşulları yüzey-yanıt yöntemi ile belirlenmiştir. Yüzey Yanıt Yöntemi Design Expert (Stat-Ease, Design Expert software, v.7) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Et tozu üretiminde dondurarak kurutma parametrelerinden donma hızı (X1: 0.40-3.60 °C/dk), raf sıcaklığı (X2: (-)5-(+)15°C) ve liyofilizasyon

sıcaklığı X3: -10-(-)20°C )'nın etkilerini belirlemek üzere, $2^3$ faktöriyel dizayna sahip ve merkezde 5 tekerrürlü toplamda 19 deneme deseni veren "Yüzey Merkezli (face-centered) Merkezi Tümleşik Desen (CCD)" kullanılmıştır. Sistemin yanıtları ise, süblimasyon süresi (dakika), çözünürlük (%) ve *in vitro* protein sindirilebilirliği (%) olarak seçilmiştir. Her bir bağımsız değişken için kodlanmış seviyeler Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Central Composite Design için bağımsız değişkenler ve seviye değerleri

| Bağımsız değişkenler | Kodlanmış Seviyeler | | |
|---|---|---|---|
| | -1 | 0 | 1 |
| Raf sıcaklığı (°C), X1 | -5 | 5 | 15 |
| Liyofilizasyon sıcaklığı (°C ), X2 | -20 | -15 | -10 |
| Donma hızı (°C/dakika), X3 | 0.40 | 2.00 | 3.60 |

Central Composite Design deneme deseni Tablo 3.2'de görülmektedir. Modelin uygunluğu Fischer testi (F-testi) uygulanarak bulunmuş, regresyon katsayısı ($R^2$) varyans analizi (ANOVA) ile %95'lik güven aralığında elde edilmiştir. Her bir etki için hesaplanan (Fcal) ile tablo (Ftab) değerleri karşılaştırılmış ve istatistiksel olarak önemli olmayan etkiler modelden çıkarılmıştır. Bir modelin sistemin gerçek yanıtına uygun bir yaklaşım olup olmadığına, uyum eksikliğinden (lack of fit) kaynaklanan hatanın önemsiz ve regresyondan kaynaklanan varyasyonun % 95 güvenlik seviyesinde önemli olması koşuluyla karar verilmiştir. Ayrıca, modelin uygunluğu regresyon katsayısı ($R^2$), düzeltilmiş regresyon katsayısı (Adj-$R^2$), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (PRESS) ve tahminlenmiş regresyon katsayısı (Pre-$R^2$) kullanılarak test edilmiştir. Bu analizler sonunda elde edilen modeller kullanılarak süblimasyon süresinin minimum, protein sindirilebilirliği ve çözünürlüğün maksimum olduğu optimum liyofilizasyon koşulları "istenilebilirlik (desirability) fonksiyonu " yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

**Tablo 3.2.** Central Composite Design Deneme Deseni

| Deney No | Raf sıcaklığı (°C) (X1) | Liyofilizasyon sıcaklığı (°C ) (X2) | Donma hızı (°C/dakika) (X3) |
|---|---|---|---|
| 19 | 5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 2 | 15.00 | -20.00 | 0.40 |
| 5 | -5.00 | -20.00 | 3.60 |
| 11 | 5.00 | -20.00 | 2.00 |
| 14 | 5.00 | -15.00 | 3.60 |
| 13 | 5.00 | -15.00 | 0.40 |
| 10 | 15.00 | -15.00 | 2.00 |
| 7 | -5.00 | -10.00 | 3.60 |
| 17 | 5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 3 | -5.00 | -10.00 | 0.40 |
| 18 | 5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 8 | 15.00 | -10.00 | 3.60 |
| 1 | -5.00 | -20.00 | 0.40 |
| 9 | -5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 15 | 5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 6 | 15.00 | -20.00 | 3.60 |
| 12 | 5.00 | -10.00 | 2.00 |
| 16 | 5.00 | -15.00 | 2.00 |
| 4 | 15.00 | -10.00 | 0.40 |

### 3.1.4. Donma hızı belirleme denemeleri

Optimizasyon çalışmalarında kullanılacak bağımsız değişkenlerden biri olan donma hızı için donma sıcaklığı ve süresi değiştirilerek yapılan denemelerle ilgili veriler şu şekildedir:

#### 3.1.4.1. Yavaş donma

Yavaş dondurma uygulaması için hammadde -18°C'de durgun havada merkez noktasından sıcaklık takibi yapılabilecek şekilde donmaya bırakılmıştır. Merkez sıcaklığı -18 °C oluncaya dek sıcaklık ölçümleri yapılmış ve 1 dakika aralıklarla kaydedilmiştir. Donma hızı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış olup, Tablo 3.3'de hammaddeye ait bilgiler yer almaktadır.

$$Donma\ Hızı(\frac{℃}{dk}) = \frac{\Delta T}{t}$$

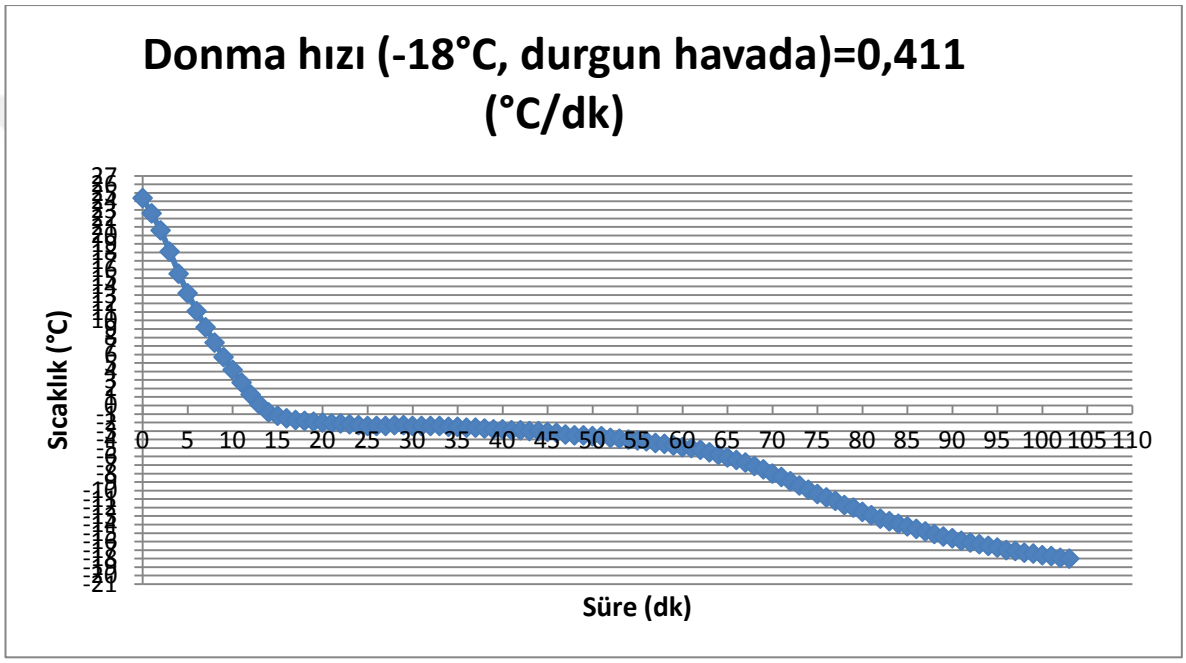
$\Delta T$ (°C) $=T_{son}-T_{ilk}$

t (dk)=Merkez sıcaklığı -18 C'ye gelinceye kadar geçen süre

**Tablo 3.3.** Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (yavaş donma)

| Başlangıç sıcaklığı(°C) | Son sıcaklık(°C) | Süre (dk) | Donma hızı (°C/dk) |
|---|---|---|---|
| 24,4 | -18 | 103 | 0,411 |

Hammaddeye ait donma grafiği Şekil 3.8'de gösterilmektedir.




**Şekil 3.8.** Hammaddenin yavaş donma hızına ait donma grafiği

### 3.1.4.2. Hızlı Donma

Hızlı dondurma uygulaması için hammadde -30°C sıcaklıkta akışkan yatak dondurucuda hava sirkülasyon hızı maksimum olacak şekilde donmaya bırakılmıştır. Merkez sıcaklığı -21 °C oluncaya dek sıcaklık ölçümleri yapılmış ve 1 dakika aralıklarla kaydedilmiştir. Donma hızı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış olup, Tablo 3.4'de hammaddeye ait bilgiler yer almaktadır.

$$Donma\ Hızı(\frac{°C}{dk}) = \frac{\Delta T}{t}$$

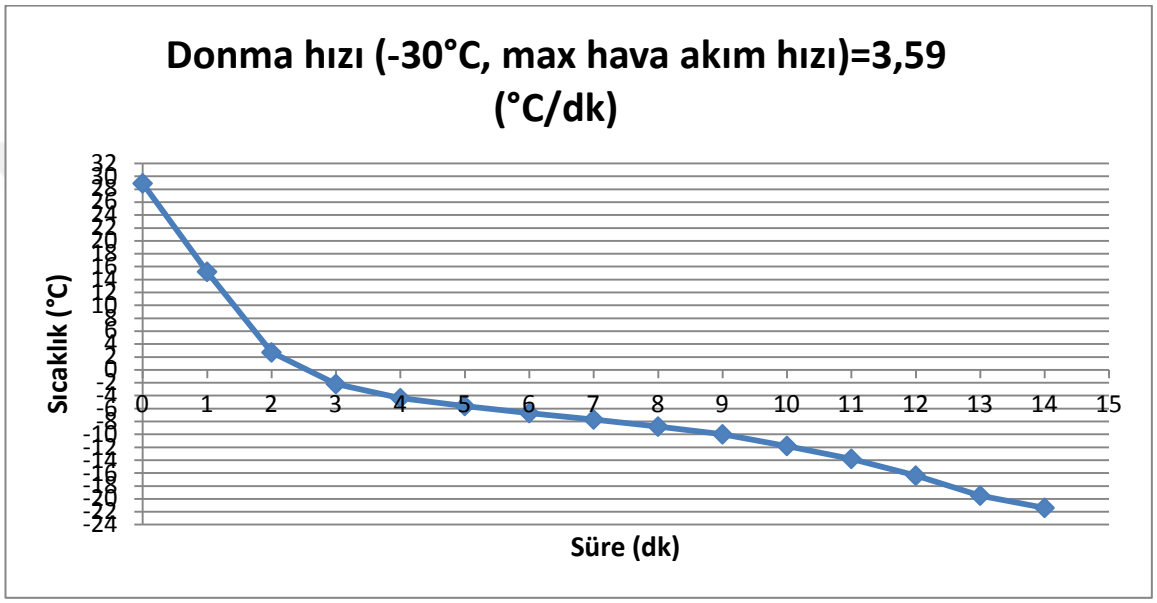
$\Delta T$ (°C) $= T_{son} - T_{ilk}$

t (dk)=Merkez sıcaklığı -20 °C'ye gelinceye kadar geçen süre

**Tablo 3.4**. Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (hızlı donma)

| Başlangıç sıcaklığı(°C) | Son sıcaklık (°C) | Süre (dk) | Donma hızı (°C/dk) |
|---|---|---|---|
| 28,9 | -21,4 | 14 dk | 3,59 |

Hammaddeye ait donma grafiği Şekil 3.9'da gösterilmektedir.




**Şekil 3.9.** Hammaddenin hızlı donma hızına ait donma grafiği

### 3.1.4. 3. Orta hızda donma

Hammaddenin hızlı ve yavaş dondurma hızlarının orta noktasını karşılayacak bir değere ulaşılması için yapılan uygulamada, örnek -30 °C'de orta hızda hava akımında merkez noktasından sıcaklık takibi yapılabilecek şekilde donmaya bırakılmıştır. Merkez sıcaklığı -20 °C oluncaya dek sıcaklık ölçümleri yapılmış ve 1 dakika aralıklarla kaydedilmiştir. Donma hızı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmış olup, Tablo 3.5'te hammaddeye ait bilgiler yer almaktadır.

$$Donma\ Hızı(\frac{°C}{dk}) = \frac{\Delta T}{t}$$

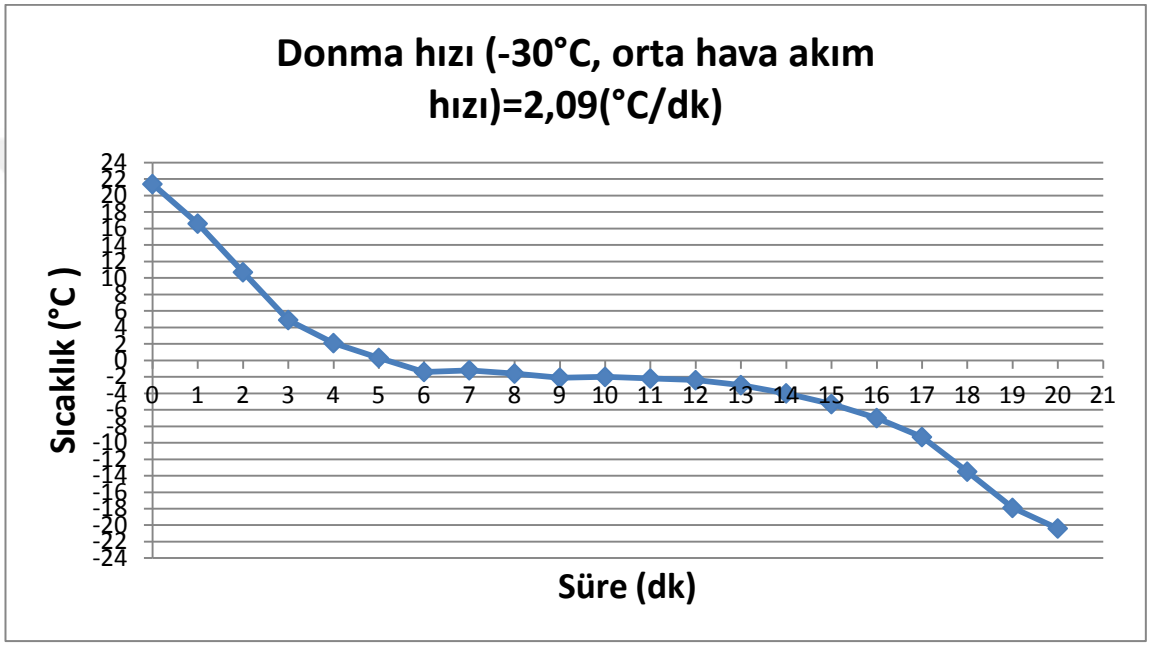
$\Delta T$ (°C) $= T_{son} - T_{ilk}$

t (dk)=Merkez sıcaklığı -20 °C'ye gelinceye kadar geçen süre

**Tablo 3.5.** Hammaddenin donma süresi ve hızına ait bilgiler (orta hızda donma)

| Başlangıç sıcaklığı(°C) | Son sıcaklık(°C) | Süre (dk) | Donma hızı (°C/dk) |
|---|---|---|---|
| 21,4 | -20,4 | 20 | 2,09 |

Hammaddeye ait donma grafiği Şekil 3.10'da gösterilmektedir.




**Şekil 3.10.** Hammaddenin orta hızda donma hızına ait donma grafiği

### 3.2. Yöntemler

Denemelerde tavuk hidrolizatı ve tavuk eti tozunda yapılan analizler Tablo 3.6'da görülmektedir.

**Tablo 3.6.** Tavuk hidrolizatı ve tavuk eti tozunda yapılan analizler

| **Tavuk hidrolizatı** | **Tavuk eti tozu** |
|---|---|
| **Fiziksel ve kimyasal analizler:**<br>Nem<br>Kül<br>Yağ<br>Protein<br>pH<br>Renk<br>Su aktivitesi | **Fiziksel ve kimyasal analizler:**<br>Nem<br>Kül<br>Yağ<br>Protein<br>Renk<br>Su aktivitesi<br>Protein sindirilebilirliği<br>Kalsiyum miktarı<br>Çözünürlük<br>Protein fraksiyonu<br>Bağdoku miktarı<br>Su bağlama kapasitesi<br>Yağ bağlama kapasitesi<br>Emülsiyon kapasitesi<br>Diferansiyel Tarama Kalorimetre (DSC) Analizi<br>Fourier Transform Near Infrared (FTIR) Analizi |
| | **Mikrobiyolojik analizler:**<br>Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı<br>Staphylococcus aureus sayımı<br>Maya-küf sayımı |

Tavuk hidrolizatında hammadde üretiminin yapıldığı gün nem ve pH analizleri yapılmış, daha sonra çözelti 250 mL'lik porsiyonlar halinde ayrılmış ve liyofilizasyon işleminin yapılacağı güne kadar -18 °C'de depolanmıştır. Üretimi yapılan tavuk tozlarından ise mikrobiyolojik analizler için bir miktar örnek aseptik olarak ayrıldıktan sonra nem ve su aktivitesi analizleri yapılmıştır. Kalan tavuk tozları diğer analizler için örnek kaplarına konarak +4°C'de depolanmıştır.

### 3.2.1. Genel bileşim analizleri

Örneklerin genel bileşim analizleri (nem, kül, yağ, protein) AOAC (2007)'ye göre yapılmıştır [179].

### 3.2.2. pH Tayini

Tavuk-enzim çözeltilerinin pH değerleri batırmalı tip elektroda sahip pH metre (WTW Inolab pH 720, Weilheim, Almanya) ile yapılmıştır. Behere uygun

seviyede doldurulan sıvı tavuk-enzim çözeltisi içerisine kalibrasyonu yapılmış pH metre probu daldırılmış ve çözeltinin beş farklı yerinden ölçüm alınmıştır. Beş ölçümün ortalaması pH değeri olarak verilmiştir.

### 3.2.3. Renk Tayini

Tavuk eti tozu ve tavuk-enzim çözeltilerinin renk değerleri Konica Minolta Chromometer CR-5 (Osaka, Japonya) renk ölçüm cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yapılacak olan örnekten 30 mm çaplı kuvartz küvete tabanı kaplayacak kadar doldurulmuş ve küvet cihazın ışık kaynağı ($D_{65}$ lambası, 10° gözlem açısı) üzerine yerleştirilmiştir. Cihazdan otomatik olarak 3 farklı ölçümün ortalaması alınmış ve örneğin 5 farklı bölgesinden ölçüm yapılmıştır. Her bir örneğin, CIELAB ölçüm parametreleri L*(aydınlık-karanlık), a* (kırmızılık-yeşillik) ve b* (sarılık-mavilik) olarak değerlendirilmiştir [20].

### 3.2.4. Su aktivitesi

Örneklerin su aktivitesi ($a_w$) değerleri, su aktivitesi ölçüm cihazı (HygroPalm 23, Rotronic, İsviçre) kullanılarak yapılmıştır. Cihazın örnek kabına, 1 cm kalınlığında ve kabın tabanını kaplayacak şekilde örnek doldurulmuş ve örnek haznesine yerleştirilmiştir. Cihazın kapağı kapatıldıktan sonra analiz başlatılmış, cihaz okuma yaptığı uyarısını verene kadar beklenmiştir. Uyarı geldikten sonra ekrandaki değer okunarak, $a_w$ olarak kaydedilmiştir. Analiz 2 paralelli ölçüm alınarak yapılmıştır [180].

### 3.2.5. Protein sindirilebilirliği

Örneklerin protein sindirilebilirliği miktarı Deng ve ark. (2015) tarafından belirtilen yönteme göre belirlenmiştir [181]. 250 mg toz örnek 17 mL 0.1 M HCl içinde 37 °C'de 30 dk inkübe edilmiş, ardından mide sindirimini başlatmak üzere 2.5 mL pepsin çözeltisi (2.5 mg pepsin / mL HCl (0.1 M)) ilave edilmiştir. 37 °C'de 1 saat inkübasyon sonrasında, pepsini inaktive etmek için 0.5 M NaOH ile pH 8.0'a ayarlanmıştır. İnce bağırsak sindirimini temsilen 2.5 mL pankreatin çözeltisi (sodyum fosfat tamponu (pH 8.0, 0.1 M) içinde çözünmüş 2.5 mg/mL) eklenmiş ve 2 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra, reaksiyonu sonlandırmak için örneklere 5 mL

%10'luk TCA (trikloroasetik asit) çözeltisi ilave edilmiştir. Elde edilen çözelti 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Hettich Universal 32R, Almanya) edilmiştir. Üst fazdan 10 mL alınarak Kjeldahl yöntemiyle protein tayini yapılmıştır.

### 3.2.6. Kalsiyum miktarı tayini

Tavuk tozu örneklerinde kalsiyum miktarı tayini TS 3606 no'lu standart yöntem ile belirlenmiştir [182]. Örnekler kül fırınında yakılarak kül haline getirildikten sonra, üzerlerine 5 mL nitrik asit (HNO3) eklenmiş ve ısı ile küllerin çözünmesi sağlanmıştır. Çözünen örnekler filtre edilmiş ve 50 mL'ye 1 N nitrik asit çözeltisiyle tamamlanmıştır. Örneklerin kalsiyum miktarı ICP-MS cihazı ile tespit edilmiştir.

### 3.2.7. Çözünürlük

Örneklerin suda çözünürlük değerleri Ceballos ve ark. (2012)'ye göre belirlenmiştir [145]. Buna göre, 1 g örnek 100 mL saf suyun içerisinde çözündürülmüş ve 5 dakika karıştırılmıştır. Daha sonra santrifüj türüne aktarılmış ve 3000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Üst fazdan 25 mL alınarak önceden darası alınmış nem kaplarına aktarılmış ve etüvde 105 °C'de 5 saat kurutulmuştur. Örneklerin suda çözünürlüğü aşağıdaki eşitlik yardımıyla hesaplanmıştır:

Suda çözünürlük (%)= 100 × (üst fazdaki çözünmüş katı miktarı/örnek miktarı)

### 3.2.8. Protein fraksiyonu tayini

Örneklerdeki protein fraksiyonu sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) yöntemiyle belirlenmiştir. Analize ilişkin aşamalar aşağıda ayrıntılı şekilde açıklanmıştır:

#### 3.2.8.1. Myofibriler Proteinlerin Ekstraksiyonu

Tavuk tozu örneklerinin myofibriler protein ekstraksiyonunda bazı modifikasyonlar yapılarak Claeys ve ark. (1995)'nın belirlediği yöntem kullanılmıştır [183]. 1 g toz örnek bir santrifüj tüpüne tartılmış, üzerine 25 mL Tampon-I çözeltisi (0,05 M Tris, 0,25 M Sukroz, 1 mM EDTA; pH 7.6) eklenmiş ve 1000 x g 'de 10

dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında üst faz atılmış, alttaki çökelti 25 mL Tampon- II çözeltisi (0,05 M Tris, 0,05 M EDTA; pH 7,6) ile karıştırılıp tekrar aynı koşullarda santrifüj edilmiştir. Son olarak, üst faz tekrar uzaklaştırılmış ve alttaki çökelti 25 mL 0,15 M KCl çözeltisi ile karıştırılmıştır. 1000 x g'de 10 dakika santrifüj işleminden sonra üst faz atılmış ve santrifüj tüpünde kalan çökelti alınarak liyofilize edilmiştir.

#### 3.2.8.2. Çözünür Protein Miktarı Tayini

Bir önceki aşamada ekstrakte edilmiş olan myofibriler proteinlerin miktarını belirlemek üzere proteinlerin Coomassie Brilliant Blue G-250 boya maddesine bağlanmasını esas alan Bradford yöntemi kullanılmıştır [184].

5 mg liyofilize örnek ağzı kapaklı cam tüplere konarak 1 mL örnek çözeltisi (950 µL 2xLaemmli örnek tamponu (65,8 mM Tris-HCl, pH 6.8, %2,1 SDS, %26,3 (w/v) gliserol, %0,01 bromfenol mavisi) + 50 µL 2 β-merkaptoetanol) içinde çözündürülmüştür. Tüpler 50 °C'deki su banyosunda 1 gece bekletildikten sonra oda sıcaklığına soğutulmuş ve örneklerin protein miktarları Biorad Quick Start Bradford Assay Kiti (Bradford, California, USA) kullanılarak belirlenmiştir.

Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması için, 2 mg/mL konsantrasyonundaki stok bovine serum albümin (BSA) çözeltisinden, kit protokolündeki Mikroplaka Standart Yöntemine göre farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlanmıştır. Tablo 3.7'de standart konsantrasyonları ve hazırlama yöntemi verilmiştir.

**Tablo 3.7**. Bradford kiti standart hazırlama yöntemi

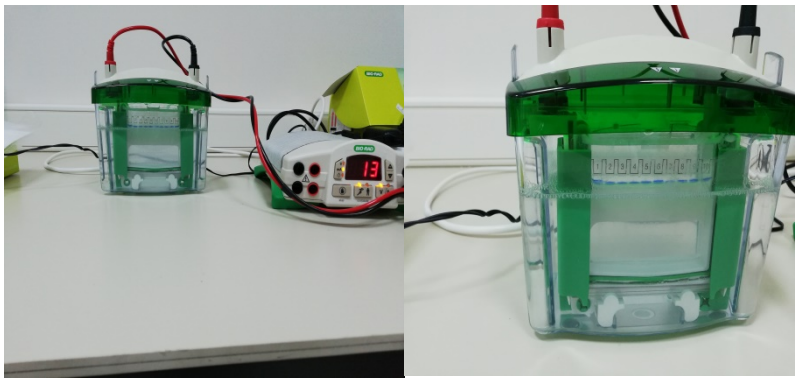
| Konsantrasyon (µg/mL) | Hazırlama yöntemi |
|---|---|
| 2000 | 2 mg/mL BSA (20µL) |
| 1500 | 2 mg/mL BSA (30µL) + 10 µL saf su |
| 1000 | 2 mg/mL BSA (20µL) + 20 µL saf su |
| 750 | 1,5 mg/mL standart (20µL) + 20 µL saf su |
| 500 | 1 mg/mL standart (20µL) + 20 µL saf su |
| 250 | 500 µg/mL standart (20µL) + 20 µL saf su |
| 125 | 250 µg/mL standart (20µL) + 20 µL saf su |

Hazırlanan standartlardan ve örneklerden 5 µL alınarak mikroplakaya aktarılmış ve üzerlerine 250 µL "Quick Start™ Bradford 1x Dye Reagent (BioRad Lab., USA)" çözeltisi eklenmiştir. Mikroplaka okuyucuda (Thermo Scientific Multiskan GO, Thermo Fischer Scientific, Finland) 595 nm'de optik yoğunluk (OD) değerleri belirlenmiş ve standartlara karşılık gelen optik yoğunluklardan kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Örneklerin protein miktarları aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır:

Protein miktarı (mg/mL)= $(Absorbans/Standart\ grafiğin\ eğimi) \times dilüsyon\ oranı$

### 3.2.8.3. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Örneklerin jel elektroforezi analizi BioRad Mini-Protean Tetracell (BioRad LAb., USA) elektroforez cihazında yapılmıştır. Örnekler Laemmli örnek tamponu ile 10 µg protein içeriğine seyreltildikten sonra enjeksiyon yapılmıştır. %4,5'luk yükleme jeli, %12'lik ayırıcı jel kullanılarak 100 V 40 mA akımda ayrışma gerçekleştirilmiş, boya maddesi jelin bitimine 0,5 cm kadar yaklaşınca işlem sonlandırılmıştır. Jeller cam plakalar arasından çıkarıldıktan sonra, zedelenmeden %12'lik TCA (trikloroasetik asit) çözeltisi içerisine konmuş ve 10 dakika süreyle fikse edilmiştir. Daha sonra boya çözeltisi (%0,02 Coomasie Brilliant Blue R-250, %50 metanol, %10 asetik asit) ile boyanmış (yaklaşık 1,5 saat) ve boya giderme çözeltisi (%10 metanol, %7 asetik asit) ile fazla boya uzaklaştırılmıştır [185].



**Şekil 3.11.** Elektroforez sistemi

Jelde elde edilen protein bantlarının tanımlanması amacıyla 6,5-200 kDa arasında 9 protein bandı gösteren "Bio-Rad Unstained SDS-PAGE Standards, broad range, 161-0317" marker olarak kullanılmıştır. Elde edilen jeller Bio-Rad Gel Doc EZ görüntüleme sistemiyle görüntülenmiştir.

### 3.2.9. Bağdoku Miktarı Tayini

#### 3.2.9.1. Örnek çözeltilerinin hazırlanması

Örneklerin hidroksiprolin tayini Kim ve ark. [186]'na göre yapılmıştır. Örnekler 2 gr tartılarak erlene aktarılmış, 6N HCl ile 108°C etüvde 18 saat yakmaya bırakılmıştır. 18 saat sonrasında oda sıcaklığına soğutulan yanmış örnekler filtre edilmiş ve filtrat hacmi saf suyla 50 mL'ye tamamlanmıştır. 50 mL örnek içerisinden 25 mL behere alınarak %40'lık NaOH ile pH 7.0'ye ayarlamıştır.Daha sonra hacim tekrar saf suyla 50 mL'ye tamamlanmıştır. Her bir örnekten 2,5 mL, ayrıca kör çözelti için de 2,5 mL saf su alınarak 25 mL balonjojeye aktarılmıştır. Bundan sonra örnek ve kör çözeltilere sırasıyla aşağıdaki işlemler uygulanmıştır:

(a) Örnek ve saf su içeren balon jojelere 2,5 mL 0,05 M $CuSO_4$ çözeltisi ve ardından 2,5 mL 3,5 N NaOH çözeltisi eklenerek karıştırılmış, daha sonra yine her bir balon jojeye 2,5 mL %6'lık $H_2O_2$ yavaş yavaş ilave edilmiştir.

(b) Köpürme bitince tüm balonjojelerin kapakları kapatılarak 75 °C'de 10 dakika bekletilmiştir. 10 dk sonunda su banyosundan çıkarılan örnekler, oda sıcaklığına soğutulmuş ve üzerlerine 10 mL 3N H2SO4 eklenerek renk berraklaşıncaya kadar karıştırılmıştır.

(c) Daha sonra üzerlerine 5 mL %5'lik para-dimetilaminobenzaldehit çözeltisi ilave edilmiş ve balon jojeler yine 75 °C'deki su banyosunda 20 dk bekletilmiştir. Süre sonunda oda sıcaklığına soğutulmuş ve eksilmeler varsa n-propil alkolle 25 mL'ye tamamlanmıştır.

(d) Çözeltilerin absorbansları 560 nm dalga boyunda kör çözeltiye karşı okunmuştur.

Örneklerdeki hidroksiprolin miktarı standart hidroksiprolin çözeltileriyle hazırlanan kalibrasyon grafiğinden hesaplanmıştır.

#### 3.2.9.2. Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

100 °C'de 2 saat kurutulan saf hidroksiprolinden 25 mg tartılarak 100 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve çizgisine saf suyla tamamlanmıştır. Bu çözeltinin konsantrasyonu 0,25 mg/mL'dir. Bu çözeltiden, sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 ve 10 mL 100 mL'lik balonjojeye aktarılarak çizgisine saf suyla tamamlanmıştır. Her bir standarttan 2,5 mL alınarak 25 mL'lik balonjojeye aktarılmış ve bu aşamadan sonra örnek ve kör çözeltilere uygulanan a, b, c ,d işlemleri sırasıyla tüm balonjojelere uygulanmıştır. Konsantrasyonlara karşılık gelen absorbans değerleriyle kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

### 3.2.10. Su tutma kapasitesi

Örneklerin su tutma kapasitesi Gong ve ark. [187] yöntemine göre modifiye edilerek yapılmıştır. 1 gr 0,0001 hassasiyette örnek tartılarak üzerine 10 mL saf su eklenmiş ve 5 dakika boyunca homojenizatörde karıştırılmıştır. Karışım 30 dk bekletildikten sonra 4000 rpm'de 5 °C'de 30 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüjden sonra üst faz atılmış, dipteki çökelti tartılmıştır (W2). Çökelti 105 °C'de 30 dk kurutulduktan sonra tekrar tartılmış (W1) ve su tutma kapasitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\text{Su tutma kapasitesi (mL su/g)} = \frac{W2-W1}{W0}$$

### 3.2.11. Yağ bağlama kapasitesi

Toz örneklerin yağ bağlama kapasitesi Mune Mune ve ark. [188] tarafından belirlenen yönteme göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre, 1 gr örnek (Wo) 10 mL (V1) ayçiçek yağıyla karıştırılmış ve 30 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Karışım 4000 rpm'de 30 dk santrifüjlenmiş, daha sonra

üst faz alınarak hacmi ölçülmüştür (V2). Örneklerin yağ bağlama kapasitesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\text{YBK(mL yağ/g)} = \frac{V1-V2}{W0}$$

### 3.2.12. Emülsiyon kapasitesi

Toz örneklerden 1 gr tartılarak 200 mL saf su ile 2 dk karıştırılmıştır. Daha sonra, sabit karıştırma hızında ayçiçek yağı karışıma damla damla ilave edilmiştir. Karıştırma işlemi 2 dk aralıklarla durdurularak emülsiyon oluşumu olup olmadığına bakılmış, emülsiyon oluşumu gözlendiği anda işlem sonlandırılmıştır. Emülsiyon kapasitesi, 1 gr örnek tarafından emülsifiye edilen mL yağ hacmi olarak kaydedilmiştir [109].

### 3.2.13. Fourier Transform Infrared (FT-IR) Analizi

Tavuk tozu örneklerinin sekonder protein yapıları FT-IR (Carry 600 Series, Agilent Technologies, USA) Spektrometresi ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Araştırma Merkezi'nde (DEFAM) yapılmıştır. Örnekler 400-4000 $cm^{-1}$ aralıkta 4 $cm^{-1}$ çözünürlükte taranmış ve sonuçlar absorbans olarak elde edilmiştir. Spektrumda belirlenen pikler literatürde taranarak tanımlanmıştır [189].

### 3.2.14. Differantial Scanning Calorimetry (DSC) Analizi

Tavuk eti tozu örneklerinin camsı geçiş sıcaklıkları, DSC (Agilent 7700 Series, USA) ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deneysel Fen Bilimleri Araştırma Merkezi'nde (DEFAM) yapılmıştır. Örnekler (-)70-(+)80 °C arasındaki sıcaklıklarda 10 °C /dk hız ile taranmış, camsı geçiş sıcaklıkları ısıl kapasite basamağının orta noktası olarak belirlenmiştir [138].

### 3.2.15. Mikrobiyolojik analizler

#### 3.2.15.1. Örneklerin analize hazırlanması

Üretimden sonra aseptik koşullarda stomacher poşetlerine alınan toz örneklerden 10 gr tartılarak %0,1'lik 90 mL peptonlu su içerisinde homojenize edilmiştir. Bu şekilde $10^{-1}$ dilüsyonu elde edilmiş ve bu dilüsyondan $10^{-6}$ 'ya kadar seri dilüsyonlar hazırlanarak mikrobiyolojik analizlerde kullanılmıştır. Dilüsyonlar petri kaplarına aktarılmadan önce homojenliğin sağlanması amacıyla vorteks karıştırıcı yardımıyla iyi bir şekilde karıştırılmıştır.

#### 3.2.15.2. Toplam aerobik mezofilik bakteri (TAMB) Sayımı

Hazırlanan dilüsyonlardan daha önceden kodlanmış ve iki paralelli olarak hazırlanmış petri kaplarına 1'er mL aktarılmıştır. 45±1 °C'ye soğutulmuş Plate Count Agar (PCA) besiyerinden 12-15 mL dökülerek, petri kabı, besiyeri ve dilüsyonun homojen şekilde karışması için ileri-geri hareketler ve döndürme hareketleriyle düz zeminde çalkalanmıştır. Besiyeri katılaştıktan sonra, petri kapları ters çevrilerek 30°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda 30-300 arasında oluşan tüm koloniler TAMB olarak sayılmıştır [190].

#### 3.2.15.3. *Staphylococcus aureus* sayımı

Analiz için Egg yolk-Tellurite çözeltisi eklenmiş Baird Parker Agar (BPA) besiyerinden, petri kaplarına 15 mL dökülmüş ve besiyerinin petri kaplarında kuruması sağlanmıştır. Daha sonra hazırlanan dilüsyonlardan 1 mL alınarak 3 ayrı petri kabına 0,3mL, 0,3 mL ve 0,4 mL olmak üzere dağıtılmış ve drigalski spatülü ile dilüsyon besiyeri tarafından emilene dek yüzeye yayılmıştır. Petri kapları ters çevrilerek 35-37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda oluşan etrafı berrak zonlu siyah koloniler *Staphylococcus aureus* olarak sayılmıştır [191].

#### 3.2.13.4. Maya-küf sayımı

Maya küf sayımı için Dichloran rose bengal chloramphenicol (DRBC) agar ile yayma plak yöntemi uygulanmıştır. DRBC Agar dökülüp kurutulmuş petri kaplarına, hazırlanan dilüsyonlardan 0,1 mL aktarılmış ve drigalski spatülü ile dilüsyon besiyeri tarafından emilene kadar yüzeye yayılmıştır. Petriler 25 °C'de 5 gün inkübe edilmiş, inkübasyon süresi sonunda 10-150 arası koloni içeren petriler sayılmıştır [192].

### 3.2.14. İstatistiksel analizler

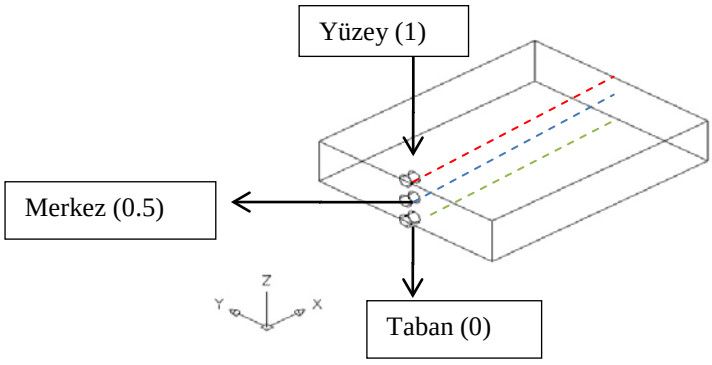
Optimum koşullarda dört tekerrürlü üretimi yapılan tavuk eti tozlarının istatistiksel değerlendirmesi tek yönlü varyans analizi (One-way ANOVA) kullanılarak SPSS 24.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır [193]. Örnekler arasındaki farklılıklar $P<0.05$ seviyesinde Duncan çoklu karşılaştırma testi yapılarak belirlenmiştir.

# 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Raf sıcaklığı ((-)5-(+)15°C), liyofilizasyon sıcaklığı (-20-(-)10°C) ve donma hızı (0.40-3.60°C/dk) değişkenleri kullanılarak en yüksek çözünürlükte, en yüksek protein sindirilebilirliğine sahip tavuk eti tozunu en kısa sürede üretmek için gerekli olan parametreleri belirlemede 5 tanesi merkez nokta olmak üzere toplamda 19 adet deneme veren "Central Composite Design (CCD)" tasarımı kullanılmıştır. Bu bağımsız değişkenlerin tavuk eti tozlarının süblimasyon süresi, çözünebilirlik ve *in vitro* protein sindirilebilirliği özellikleri üzerine etkileri ve birbirleri üzerine etkileri incelenmiştir. CCD tasarımının verdiği denemelere (Tablo3.2) ait üretimler yapılarak süblimasyon süreleri belirlenmiş ve elde edilen toz ürünlerde protein sindirilebilirliği ve çözünürlük analizleri yapılmıştır. Ayrıca, teorik olarak belirlenen optimum koşullarda 4 tekerrürlü üretim yapılarak sonuçların validasyonu gerçekleştirilmiş, elde edilen tavuk eti tozlarının kalite karakteristiklerinin belirlenmesi amacıyla "Materyal ve Yöntemler" bölümünde ayrıntılı şekilde açıklanan analizler yapılmıştır.

## 4.1. Süblimasyon sürelerinin belirlenmesi

Deneme desenine göre yürütülen tavuk eti tozu üretimleri için örnekte üç farklı noktadan (merkez, yüzey ve taban) termokapıllar yardımıyla ölçüm alınmıştır. Ayrıca raf tabanına da termokapıl yerleştirilerek buradan raf sıcaklığı kontrolü ve takibi yapılmıştır (Şekil 4.1). Örnek taban sıcaklığı, raf sıcaklığına eşit hale geldiğinde süblimasyon sonlandırılmış ve süblimasyon grafiği çizilerek süblimasyon süresi dakika (dk) olarak kaydedilmiştir.




**Şekil 4.1.** Termokapılların örnek kalıbı içerisinde yerleşimi

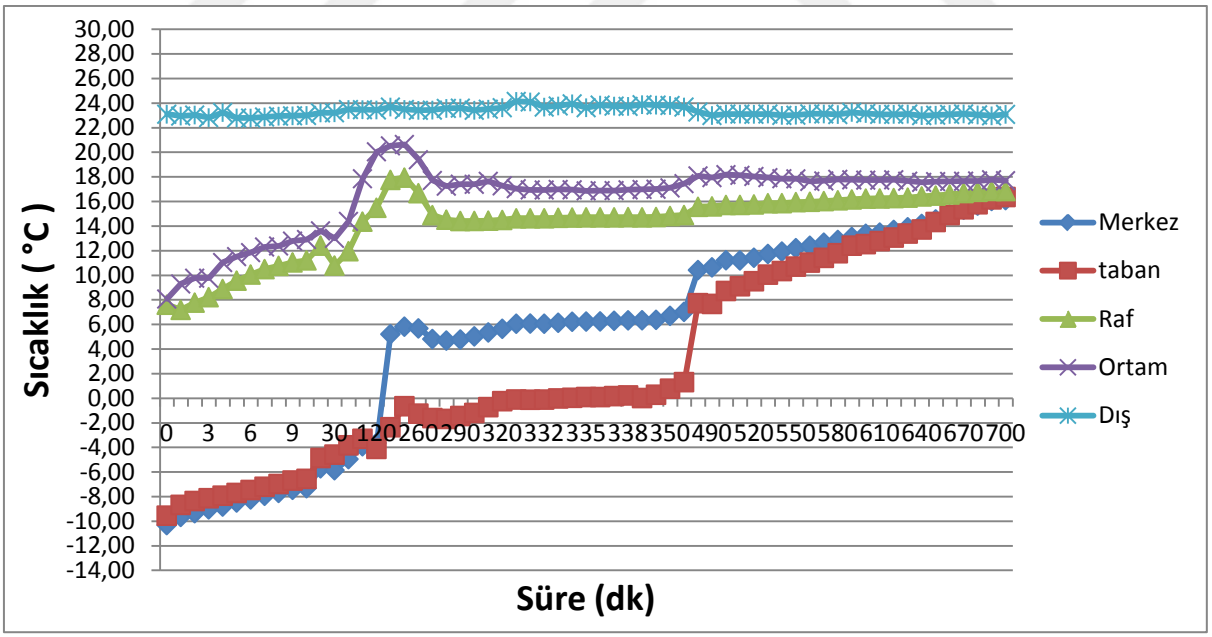
Deneme deseninde bulunan liyofilizasyon sıcaklığı, raf sıcaklığı ve donma hızı değişkenlerine ait kodlamalar ve bu üretimlere ait süblimasyon grafikleri alt başlıklar halinde aşağıda yer almaktadır:

Raf sıcaklığı: ST; ST (-5), ST (5), ST (15)

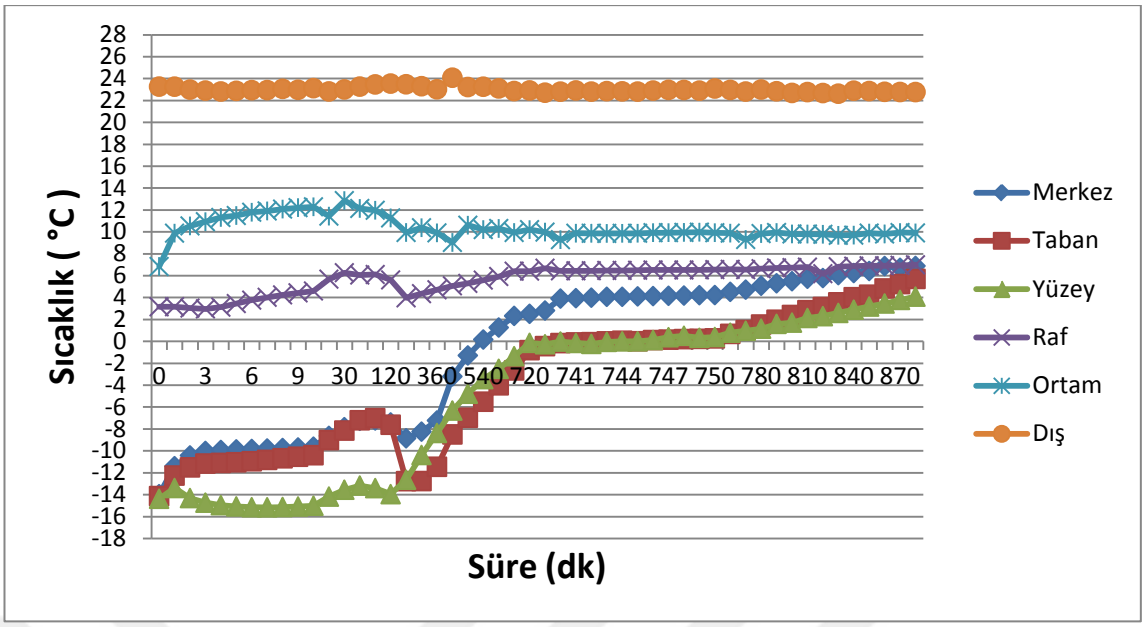
Liyofilizasyon sıcaklığı: LT ; LT(-20), LT (-15), LT (-10)

Donma hızı: FR; FR (0.40), FR (2.00), FR (3.60)

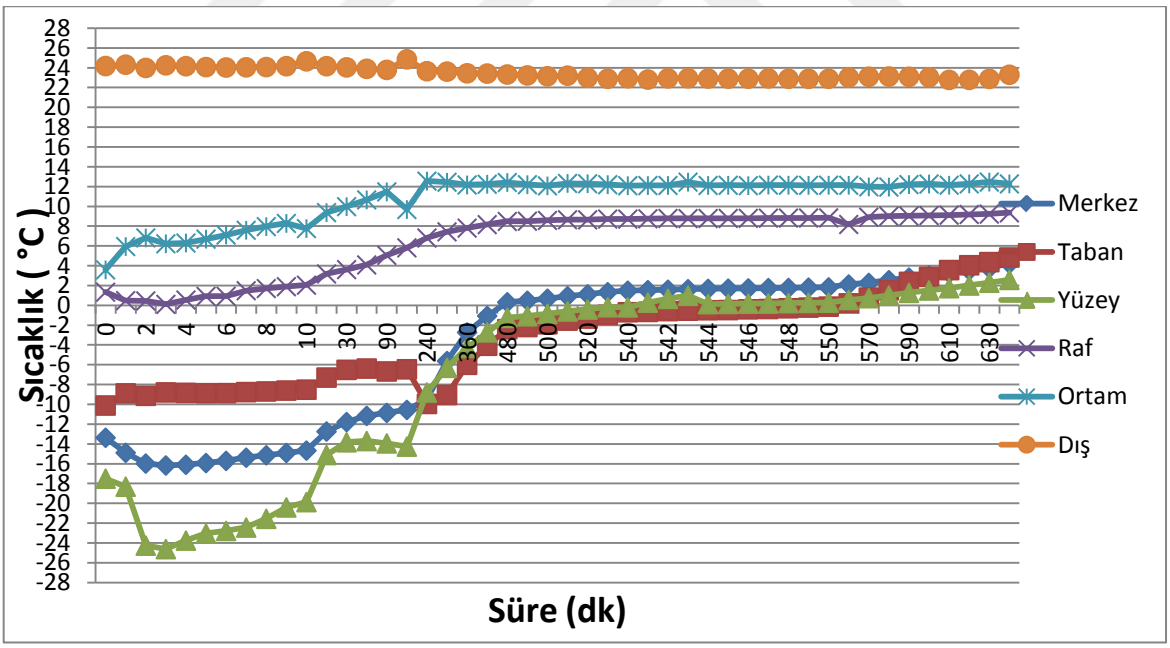
Elde edilen deneme deseninde yer alan raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızı parametrelerinde üretim yapmak için istenilen donma hızına göre (0.4, 2.0 ya da 3.60 °C/dk) daha önce denemeleri yapılan donma hızı koşullarında örnek dondurulmuş, cihaz ve raf sıcaklığı istenilen değerlere ayarlanmış ve süblimasyon işlemi başlatılmıştır. Tüm denemeler için, örnek taban sıcaklığı raf sıcaklığına geldiğinde süblimasyon sonlandırılmıştır. Denemelere ait grafikler Şekil 4.2-4.20'de sırasıyla gösterilmektedir.



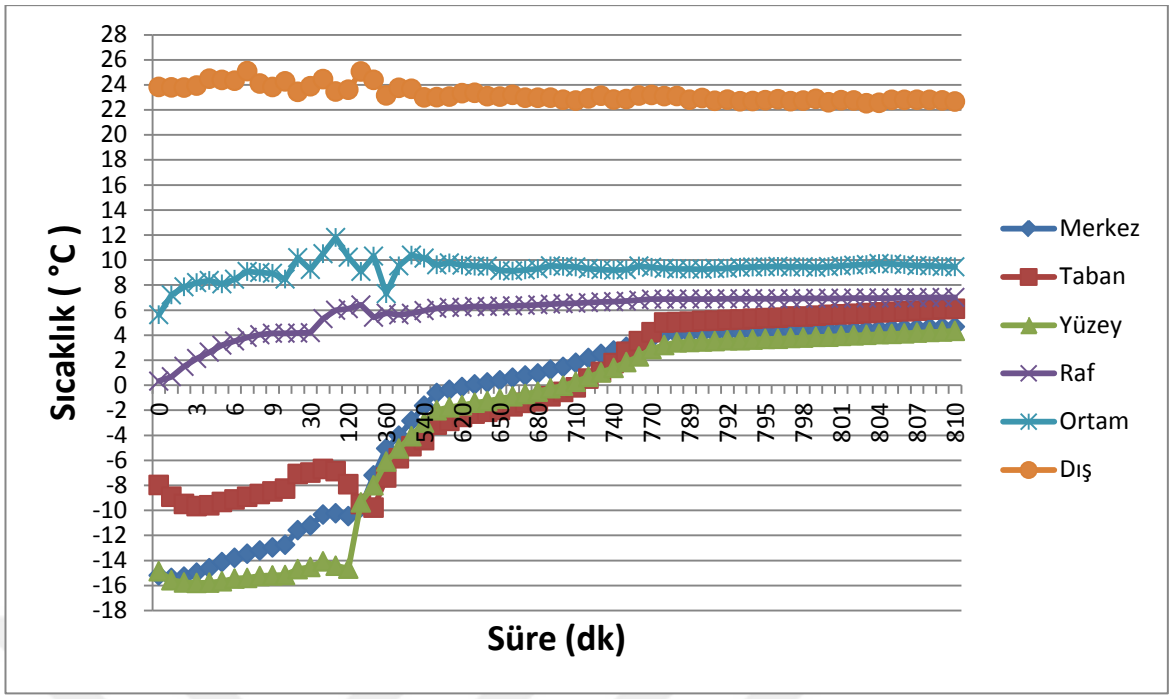

**Şekil 4.2.** ST (15) - LT (-15) -FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği



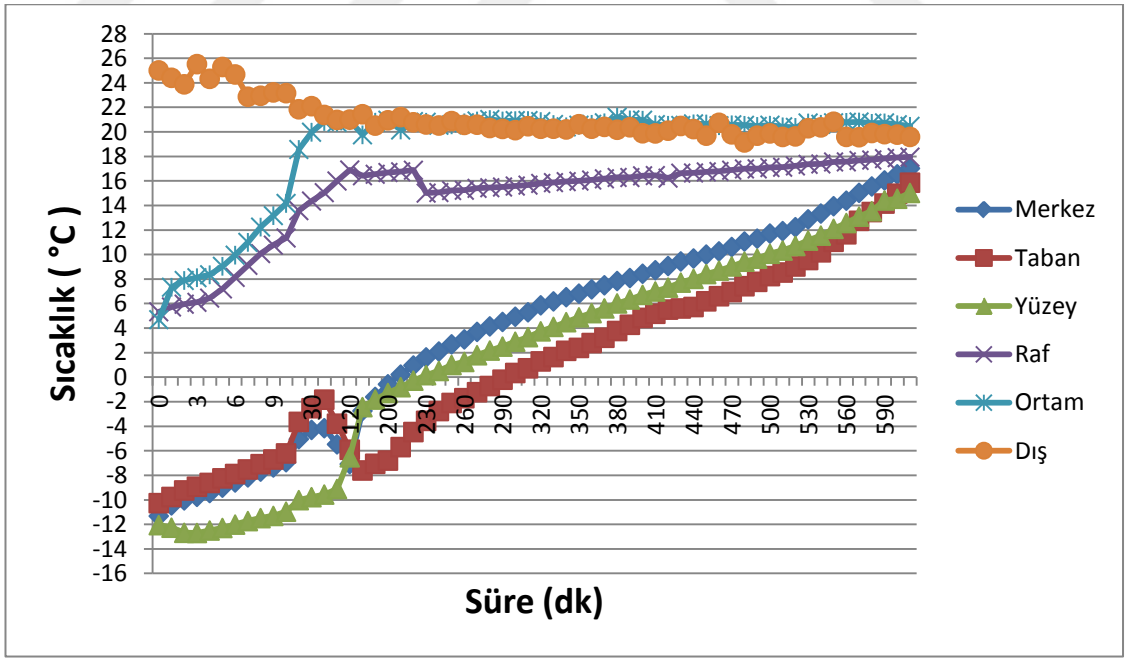

**Şekil 4.3.** ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-1ait sıcaklık-zaman grafiği



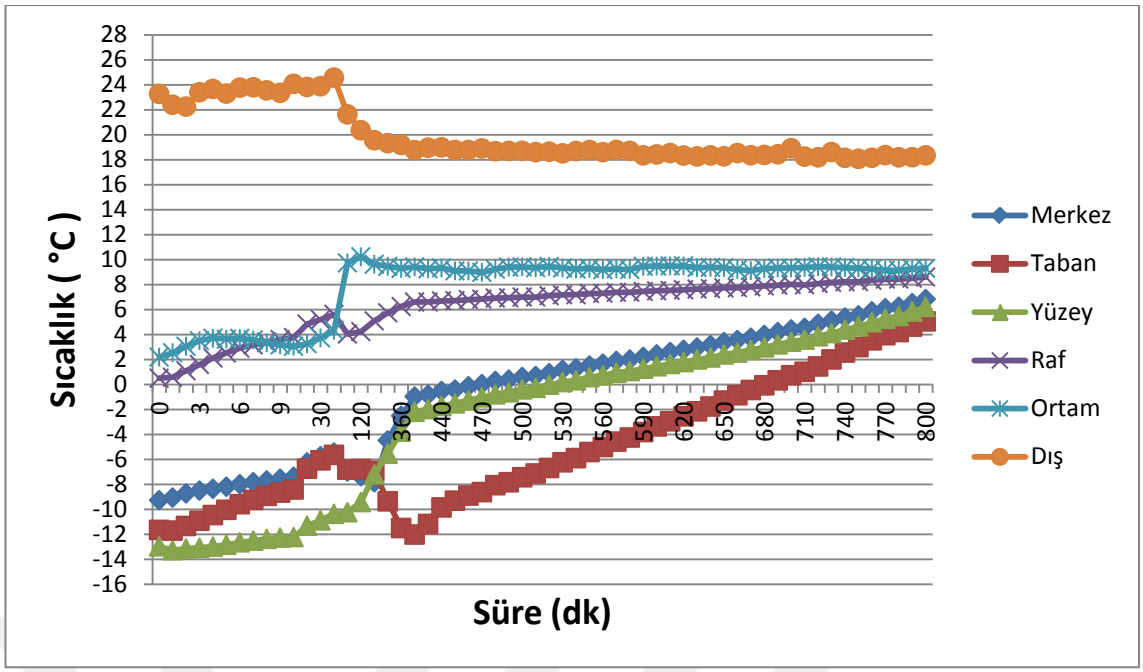

**Şekil 4.4.** ST (5) - LT (-15) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği



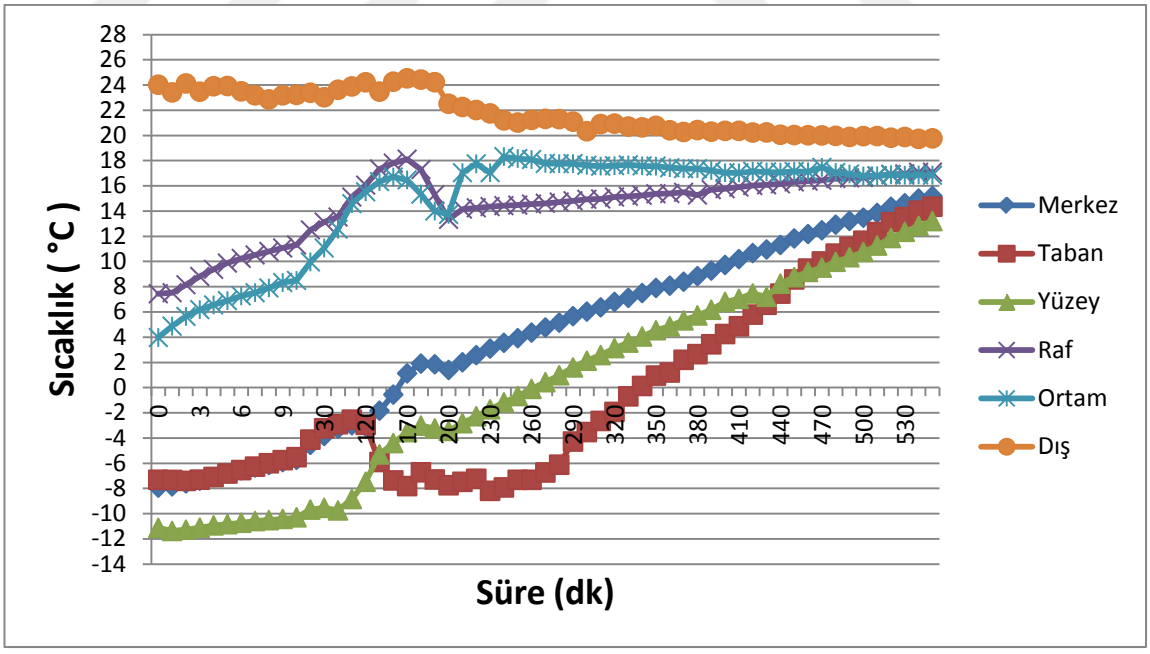

**Şekil 4.5.** ST (5) - LT (-15) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği



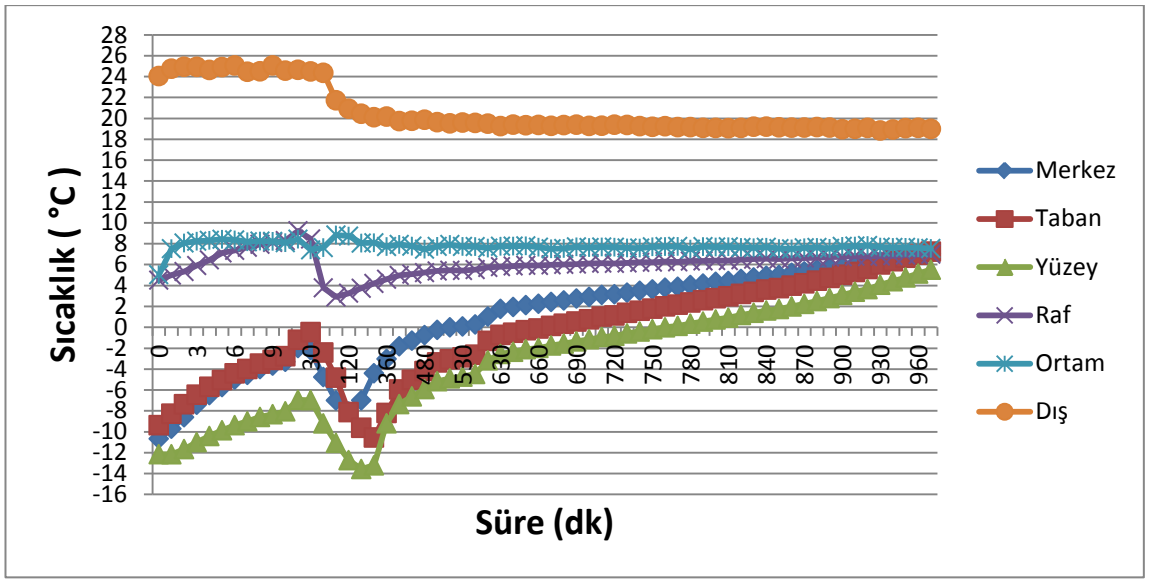

**Şekil 4.6.** ST (15) - LT (-10) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği



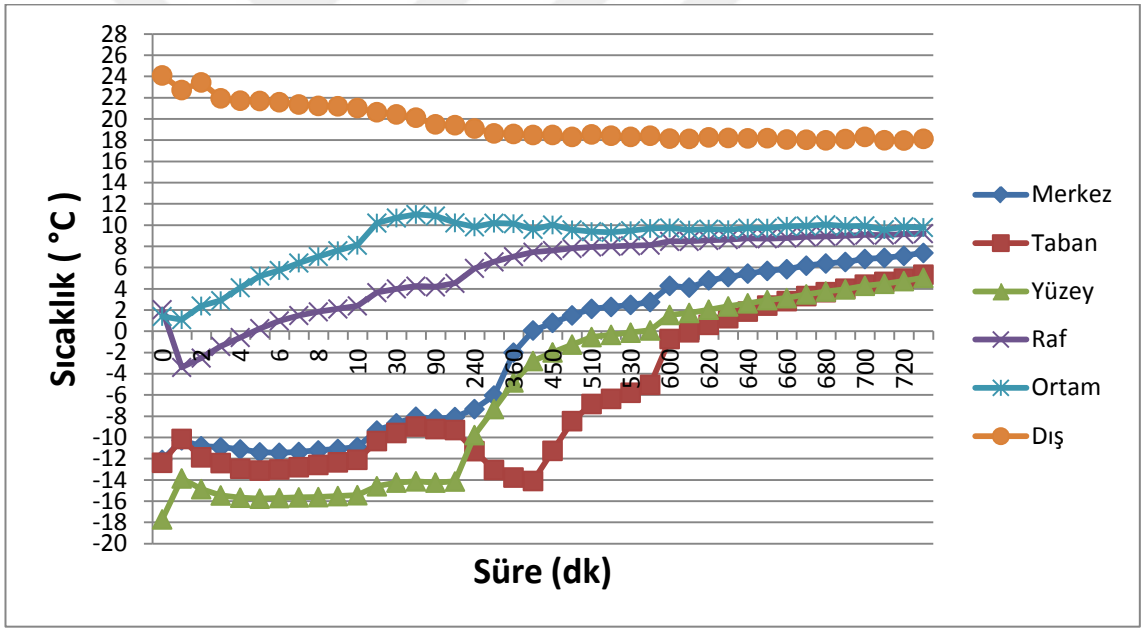

**Şekil 4.7.** ST (5) - LT (-10) - FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği



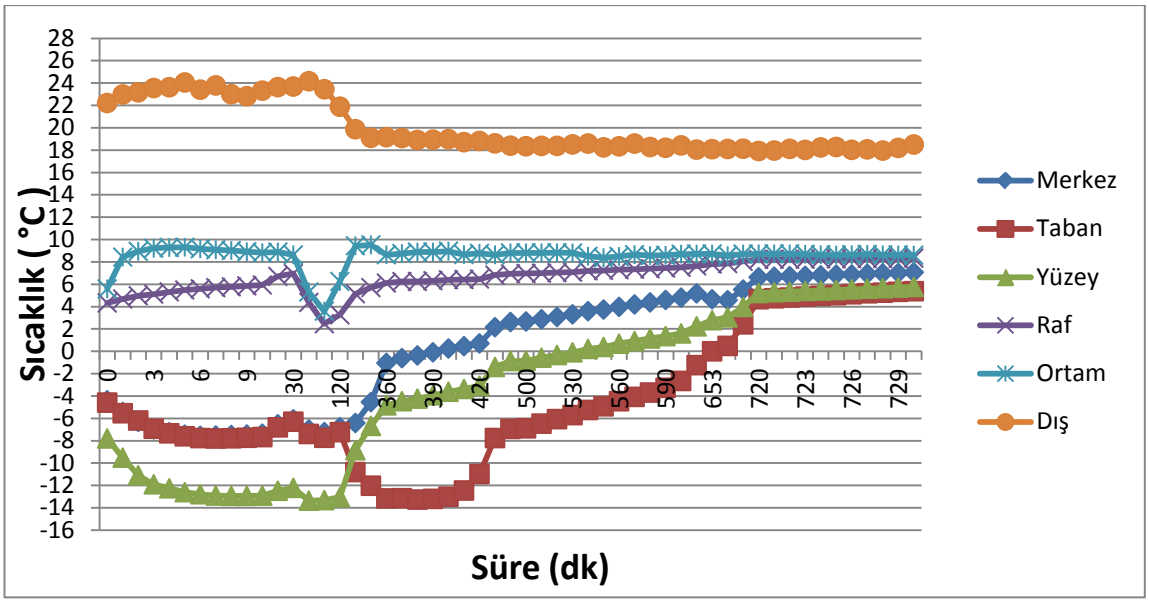

**Şekil 4.8.** ST (15) - LT (-10) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği



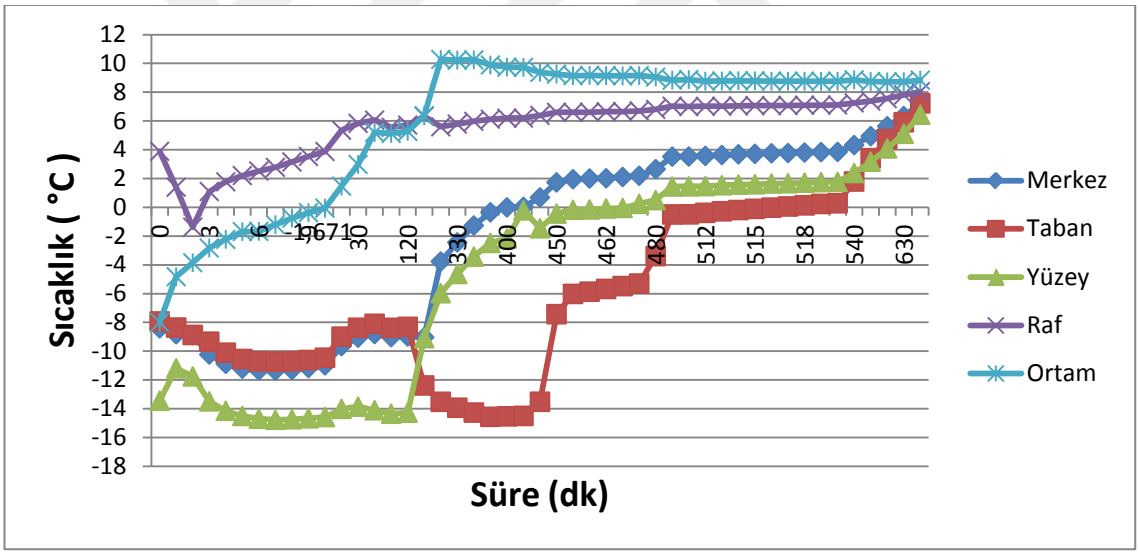

**Şekil 4.9.** ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-2 ait sıcaklık-zaman grafiği



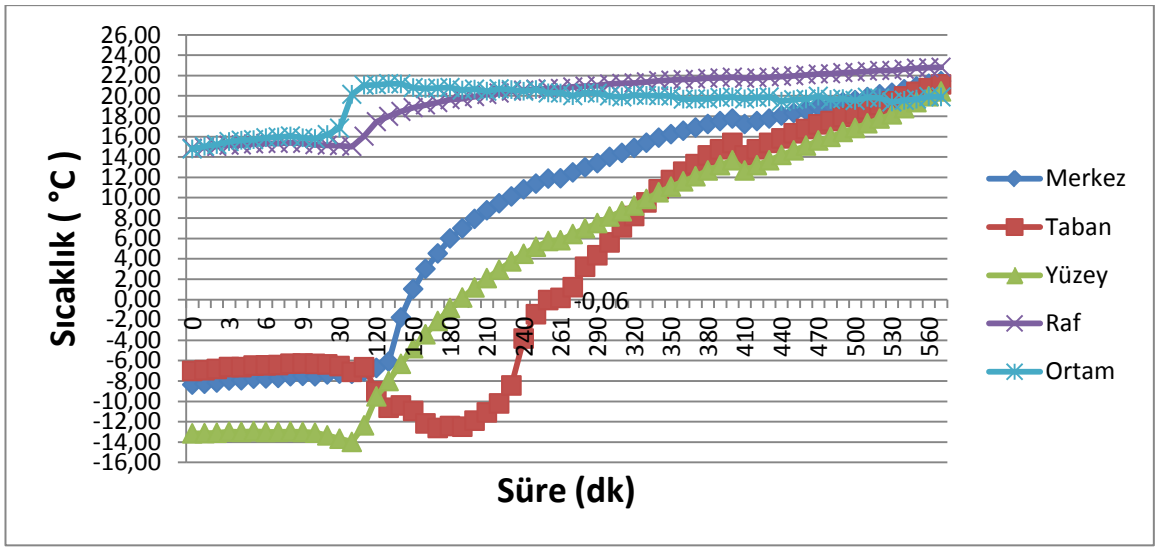

**Şekil 4.10.** ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-3 ait sıcaklık-zaman grafiği



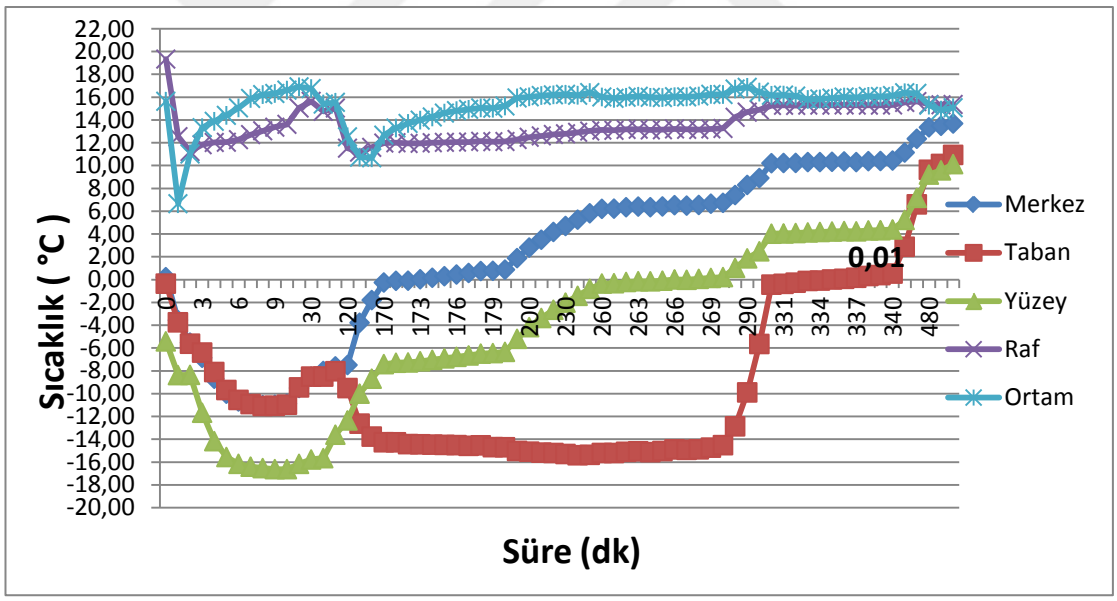

**Şekil 4.11.** ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-4 ait sıcaklık-zaman grafiği



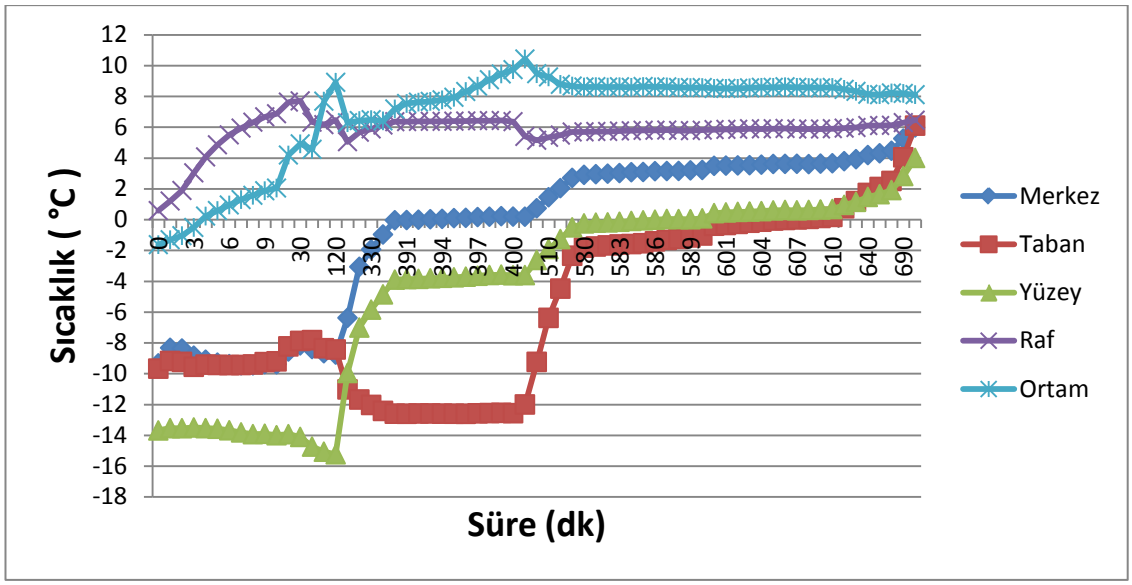

**Şekil 4.12.** ST (5) - LT (-15) - FR (2.0)-5 ait sıcaklık-zaman grafiği



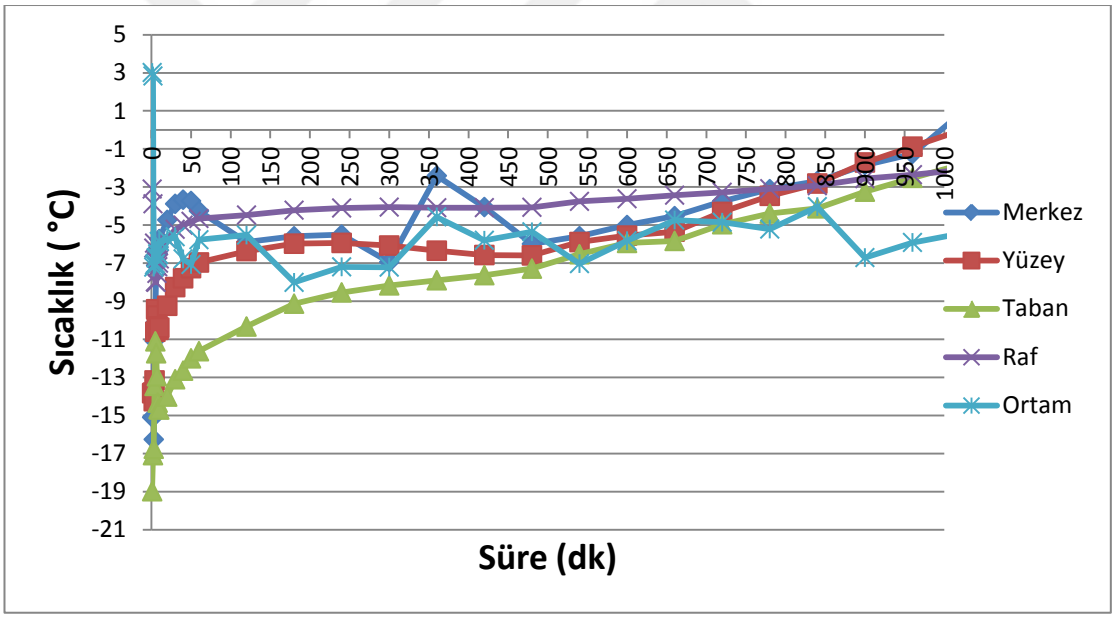

**Şekil 4.13.** ST (15) - LT (-20) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği



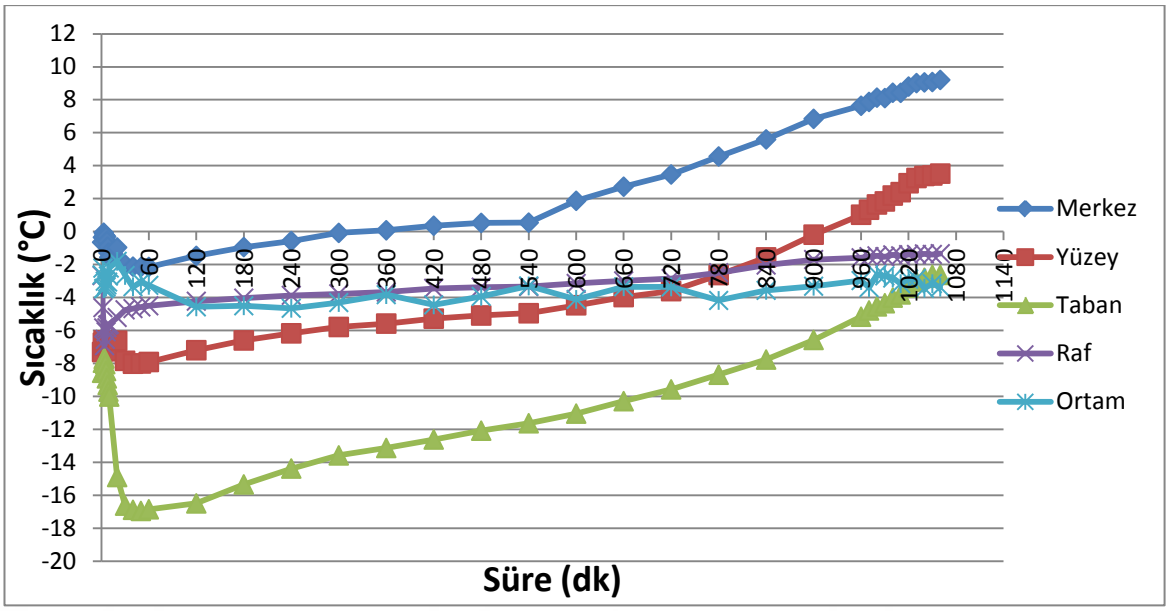

**Şekil 4.14.** ST (15) - LT (-20) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği



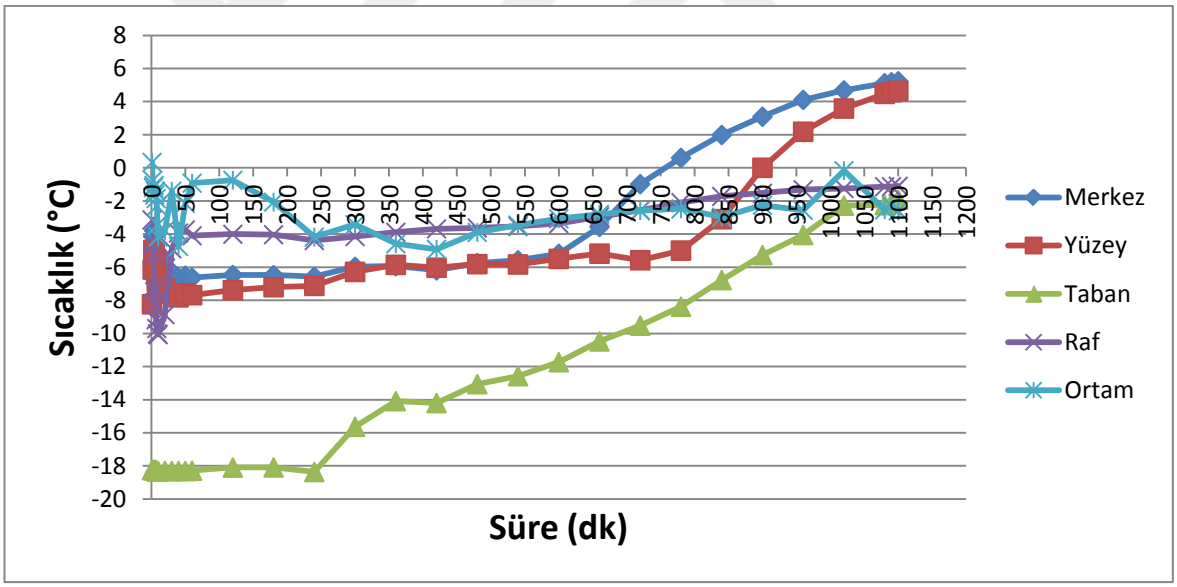

**Şekil 4.15.** ST (5) - LT (-20) - FR (2.0) ait sıcaklık-zaman grafiği



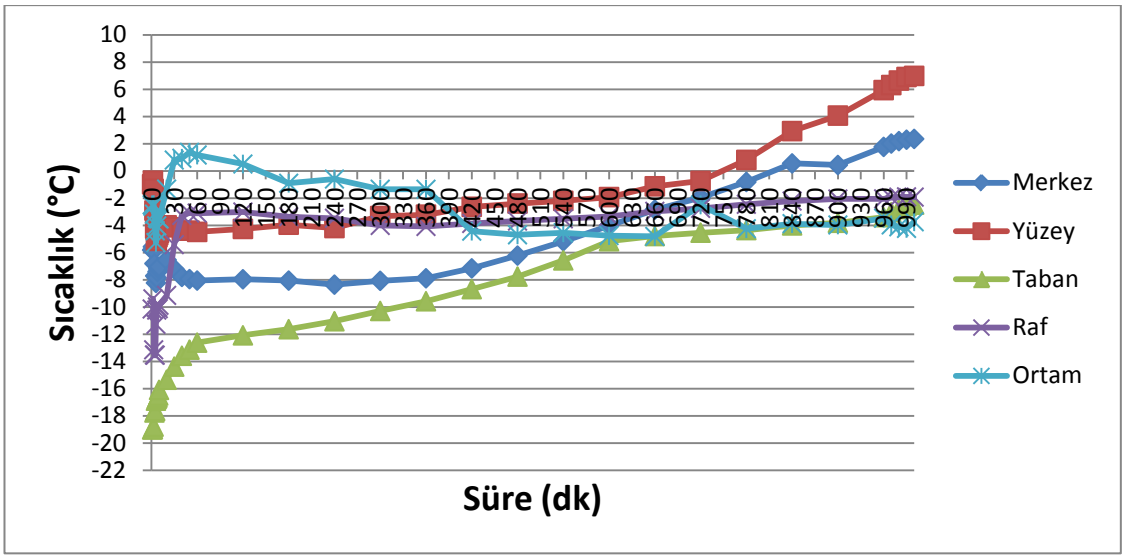

**Şekil 4.16.** ST (-5) - LT (-20) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği



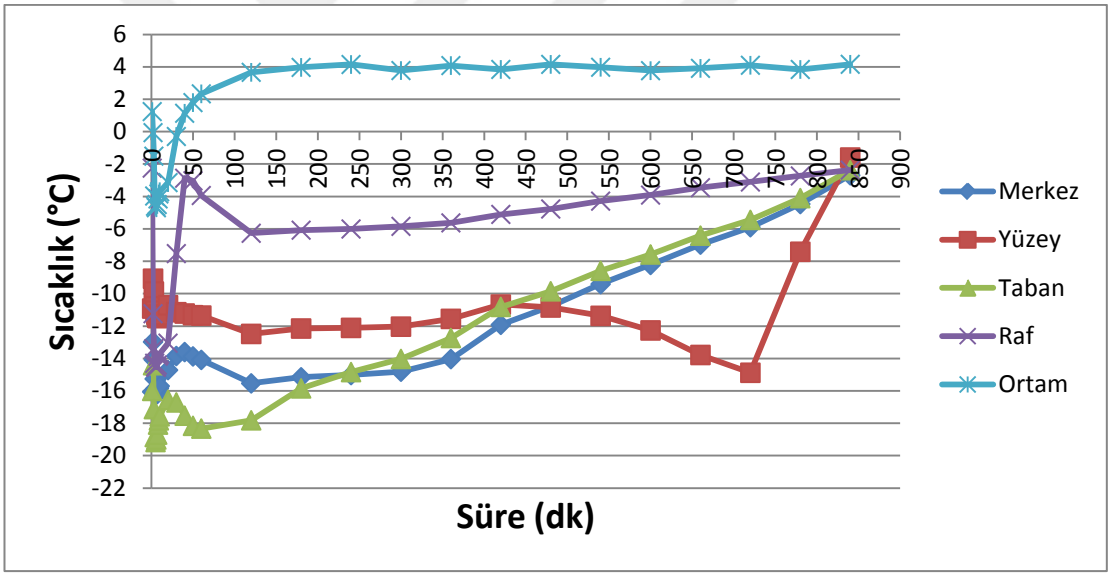

**Şekil 4.17.** ST (-5) - LT (-10) - FR (0.40) ait sıcaklık-zaman grafiği




**Şekil 4.18.** ST (-5) - LT (-20) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği




**Şekil 4.19.** ST (-5) - LT (-10) - FR (3.60) ait sıcaklık-zaman grafiği




**Şekil 4.20.** ST (-5) - LT (-15) - FR (2.00) ait sıcaklık-zaman grafiği

### 4.2. Modelin Oluşturulması

Raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızı bağımsız değişkenlerinin değerlendirilmesi için kullanılan süblimasyon süresi, çözünürlük ve *in vitro* sindirilebilirlik yanıtları ve denemeler sonucunda elde edilen veriler Tablo 4.1'de görülmektedir. Bu verilere dayalı olarak, işlem değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel modeller çoklu lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için işlem değişkenlerinin yanıtlara doğrusal, ikinci dereceden ve interaksiyon etkileri dikkate alınmıştır.

**Tablo 4.1.** CCD deneme desenine göre yapılmış üretimlerden yanıtlara ait deneysel veriler

| Üretim No | ST (°C) | LT (°C) | FR (°C/dk) | Süblimasyon süresi (dk) | Çözünürlük (%) | *In vitro* sindirilebilirlik (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5.00 | -15.00 | 2.00 | 880 | 20.21 | 29.40 |
| 2 | 15.00 | -20.00 | 0.40 | 550 | 24.53 | 22.94 |
| 3 | -5.00 | -20.00 | 3.60 | 1101 | 16.52 | 18.35 |
| 4 | 5.00 | -20.00 | 2.00 | 720 | 22.86 | 15.98 |
| 5 | 5.00 | -15.00 | 3.60 | 749 | 18.56 | 31.03 |
| 6 | 5.00 | -15.00 | 0.40 | 830 | 23.46 | 12.93 |
| 7 | 15.00 | -15.00 | 2.00 | 680 | 22.91 | 18.23 |
| 8 | -5.00 | -10.00 | 3.60 | 966 | 16.30 | 19.50 |
| 9 | 5.00 | -15.00 | 2.00 | 931 | 25.84 | 36.10 |
| 10 | -5.00 | -10.00 | 0.40 | 1062 | 15.13 | 19.06 |
| 11 | 5.00 | -15.00 | 2.00 | 852 | 25.40 | 27.68 |
| 12 | 15.00 | -10.00 | 3.60 | 615 | 22.43 | 21.57 |
| 13 | -5.00 | -20.00 | 0.40 | 1189 | 24.03 | 24.33 |
| 14 | -5.00 | -15.00 | 2.00 | 992 | 23.38 | 31.60 |
| 15 | 5.00 | -15.00 | 2.00 | 785 | 20.82 | 26.77 |
| 16 | 15.00 | -20.00 | 3.60 | 570 | 16.85 | 19.40 |
| 17 | 5.00 | -10.00 | 2.00 | 858 | 22.19 | 26.39 |
| 18 | 5.00 | -15.00 | 2.00 | 660 | 24.51 | 29.35 |
| 19 | 15.00 | -10.00 | 0.40 | 610 | 25.23 | 21.75 |

En uygun model, kareler toplamındaki değişim, "lack of fit" testleri ve model istatistikleri dikkate alınarak seçilmiştir. Her bir işlem değişkeninin yanıtlara olan lineer, interaksiyon ve quadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de ANOVA tablosu oluşturularak Tablo 4.2'de gösterilmiştir. *p*-değeri 0.05' ten büyük olan etkiler istatistiksel olarak önemsiz kabul edilmiş ve bu terimler model hiyerarşisine zarar vermeden modelden çıkartılmıştır.

**Tablo 4.2.** Her bir yanıt üzerinde lineer, quadratik ve interaksiyon terimlerinin bireysel olarak etkisini gösteren ANOVA tablosu

| Varyasyon kaynağı | DF | Süre | | DF | Çözünürlük | | DF | *In vitro* sindirilebilirlik | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Kareler toplamı | p-değeri | | Kareler toplamı | p-değeri | | Kareler toplamı | p-değeri |
| Model | 3 | 5.279E+05 | < 0.0001* | 9 | 170.61 | 0.0193* | 0 | 0.0000 | |
| $X_1$(raf sıcaklığı) | 1 | 5.221E+05 | < 0.0001 | 1 | 27.52 | 0.0327 | | | |
| $X_2$(liyofilizasyon sıc.) | 1 | 36.10 | 0.9418 | 1 | 1.23 | 0.6067 | | | |
| $X_3$(donma hızı) | 1 | 5760.00 | 0.3629 | 1 | 47.18 | 0.0092 | | | |
| $X_1$ $X_2$ | | | | 1 | 29.65 | 0.0280 | | | |
| $X_1$ $X_3$ | | | | 1 | 2.14 | 0.4997 | | | |
| $X_2$ $X_3$ | | | | 1 | 22.98 | 0.0467 | | | |
| $X_1^2$ | | | | 1 | 0.0630 | 0.9067 | | | |
| $X_2^2$ | | | | 1 | 1.63 | 0.5551 | | | |
| $X_3^2$ | | | | 1 | 14.29 | 0.1027 | | | |
| Kalıntı | 15 | 98126.35 | 0.8658 | 9 | 38.99 | | 18 | 667.70 | |
| Model Uygunsuzluğu | 11 | 54369.15$^z$ | | 5 | 10.98$^z$ | 0.8824 | 14 | 613.99$^z$ | |
| Saf hata | 4 | 43757.20 | | 4 | 28.01 | | 4 | 53.71 | |
| Toplam | 18 | 6.260E+05 | | 18 | 209.59 | | 18 | 667.70 | |

*%95 güven aralığında önemlidir.

$^z$ : %95 güven aralığında önemli değildir.

Ayrıca her bir yanıt için modelden beklenen değerler ile deneysel değerlerin uyumunu gösteren grafikler çizilmiştir (Ek B). İşlem değişkenlerinin ve modellerin yanıtlar üzerindeki etkileşimlerini görsel olarak belirleyebilmek için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri çizilmiştir. Bu grafiklerde, işlem koşullarından biri merkez noktada (0) sabit tutulup, diğer iki değişkenin belirlenen yanıta etkisi ortaya konmaktadır. İşlem değişkenlerinin yanıtlar üzerine etkisi ayrı ayrı incelenmiş ve aşağıda başlıklar halinde tartışılmıştır.

### 4.2.1. Süblimasyon süresi

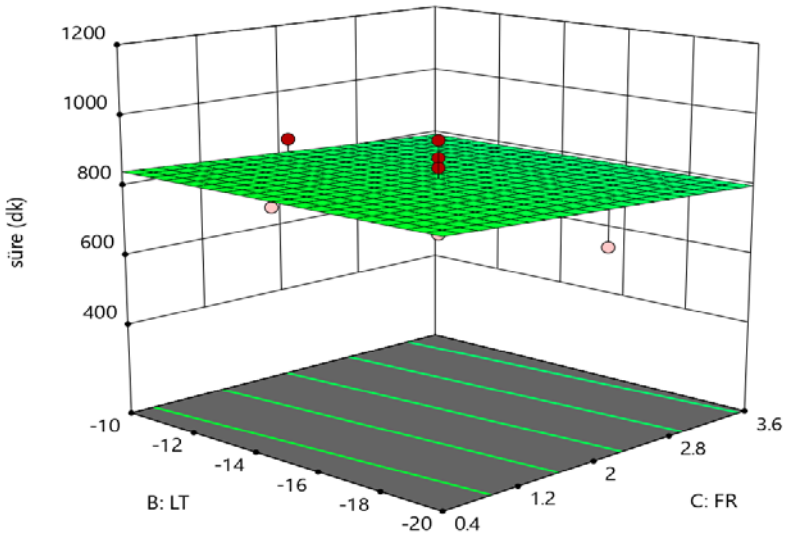
Dondurarak kurutma prosesinde en uzun zaman alan proses süblimasyon (birincil kurutma) aşamasıdır. Dolayısıyla, süblimasyon süresinin kısaltılması büyük oranda liyofilizasyon işlemini de kısaltacak ve hem tüketilen enerjiden hem de üretim maliyetlerinden kazanç sağlanmış olacaktır. Yapılan çalışmalarda, süblimasyon süresinin azaltılmasının yüksek işleme maliyetlerini azaltacağına dair ifadeler yer almaktadır [194,195].

Yapılan optimizasyon çalışmaları sonucunda ANOVA tablosu incelendiğinde (Tablo 4.2) süblimasyon süresi için sadece raf sıcaklığı değişkeninin etkili olduğu, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızı değişkenlerinin ise yanıta istatistiksel olarak etki etmediği belirlenmiştir ($P < 0.05$). Süblimasyon süresi yanıtı için önerilen model lineer modeldir ve varyans analizi tabloları Ek C'de (Ek C1, C2 ve C3) gösterilmektedir. Buna göre elde edilen regresyon modeli kodlanmış değişkenler cinsinden şu şekildedir:

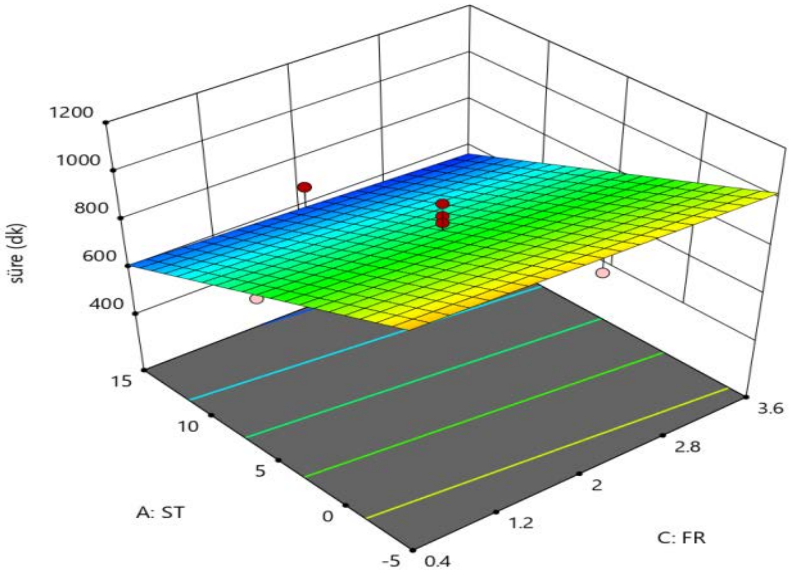
Süblimasyon süresi$=821.05 - 228.5X_1$

Raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızının süblimasyon süresi üzerindeki interaksiyon etkilerini gösteren yanıt yüzey eğrileri Şekil 4.21'de gösterilmektedir. Şekil 4.21b ve 4.21c süblimasyon süresi üzerinde raf sıcaklığının etkisini ortaya koymaktadır. Bu grafiklere göre raf sıcaklığının arttırılmasının liyofilizasyon sıcaklığı ya da donma hızı ne olursa olsun, süblimasyon süresini kısalttığı görülmektedir. Çünkü, raf sıcaklığının arttırılması ürün sıcaklığında da

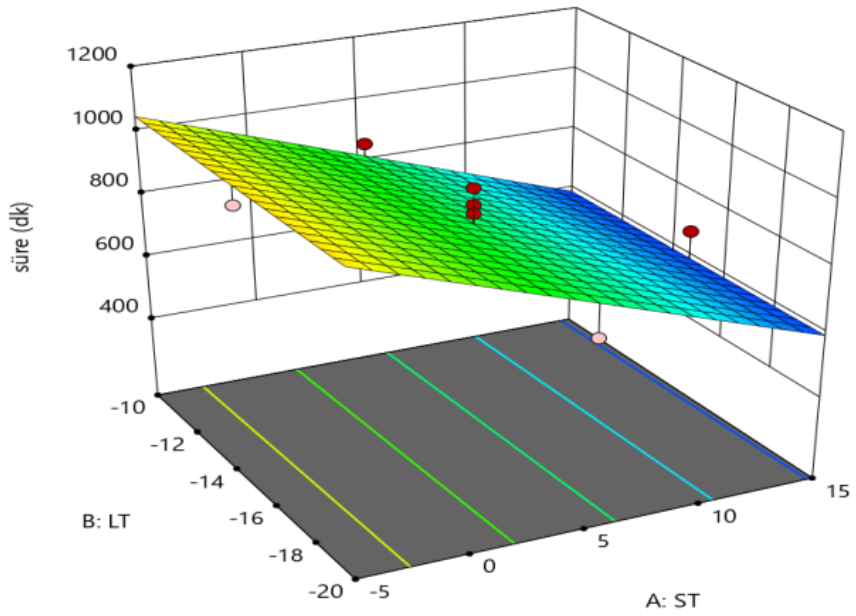
artışın meydana gelmesi demektir. Yapılan çalışmalarda, ürün sıcaklığının arttırılmasının proses süresini kısalttığı bildirilmektedir [151,155,196,197].




**Şekil 4.21a**. Süblimasyon süresi yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (raf sıcaklığı sabit, ST=5 °C)




**Şekil 4.21b**. Süblimasyon süresi yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (liyofilizasyon sıcaklığı sabit, LT=-15 °C)




**Şekil 4.21c**.Süblimasyon süresi yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (donma hızı sabit, FR= 2.00°C/dk)

**Şekil 4.21.** Süblimasyon süresi yanıtı için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

### 4.2.2. Çözünürlük

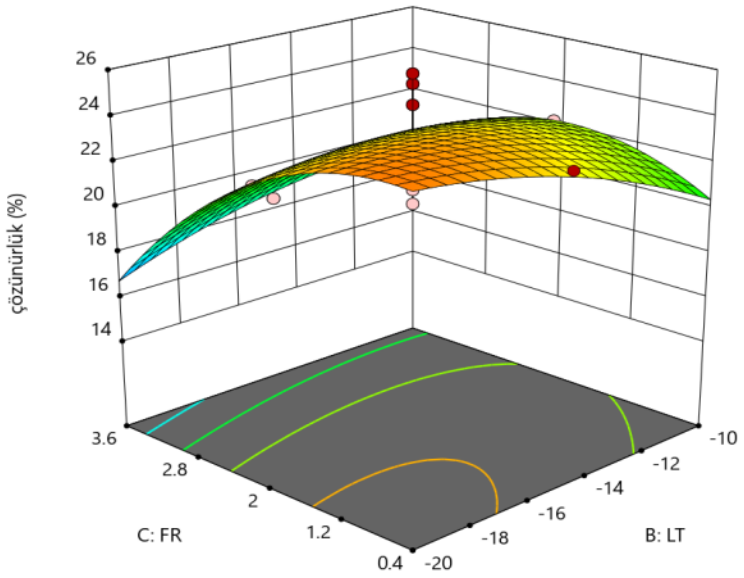
Bir bileşenin başka bir bileşen içerisinde çözünme yeteneğine "çözünürlük" denmektedir [118]. Toz ürünler için çözünürlük suda çözünür olma olarak tanımlanmaktadır ve toz ürünün sulandırılma kalitesini belirlemede kullanılan önemli bir özelliktir [198–200]. Ayrıca, protein hidrolizatları için de çözünürlük, gıdadaki proteinlerin genel kalite özelliklerini etkileyen önemli bir fonksiyonel özelliktir [75].

Tablo 4.2'de raf sıcaklığı, donma hızı, raf sıcaklığı x liyofilizasyon sıcaklığı ve liyofilizasyon sıcaklığı x donma hızı değişkenleri ile interaksiyonlarının çözünürlüğü önemli olarak etkilediği görülmektedir ($P<0.05$).

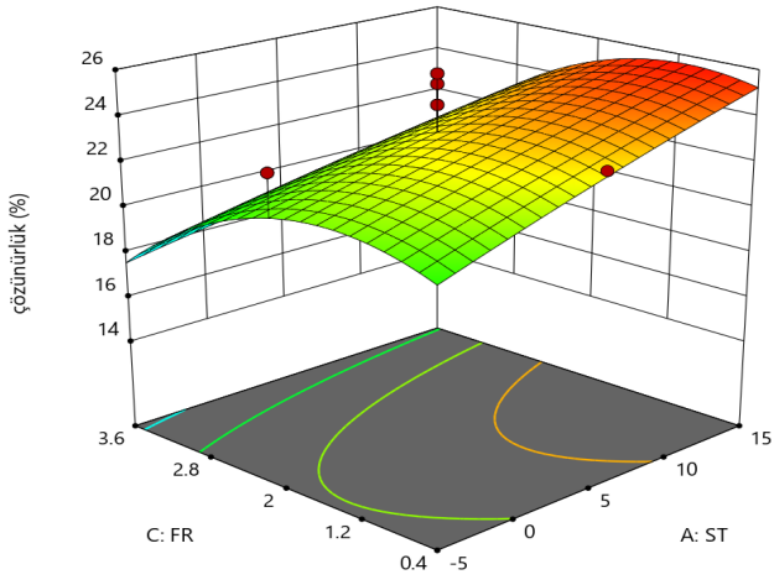
Çözünürlük için kuadratik model öne çıkmaktadır ve varyans analizi tabloları Ek D'de (Ek D1, D2 ve D3) gösterilmektedir. Buna göre elde edilen regresyon modeli kodlanmış değişkenler cinsinden şu şekildedir:

$$\text{Çözünürlük (\%)} = 23.33 + 1.66X_1 - 2.17X_3 + 1.93X_1X_2 + 1.70X_2X_3$$

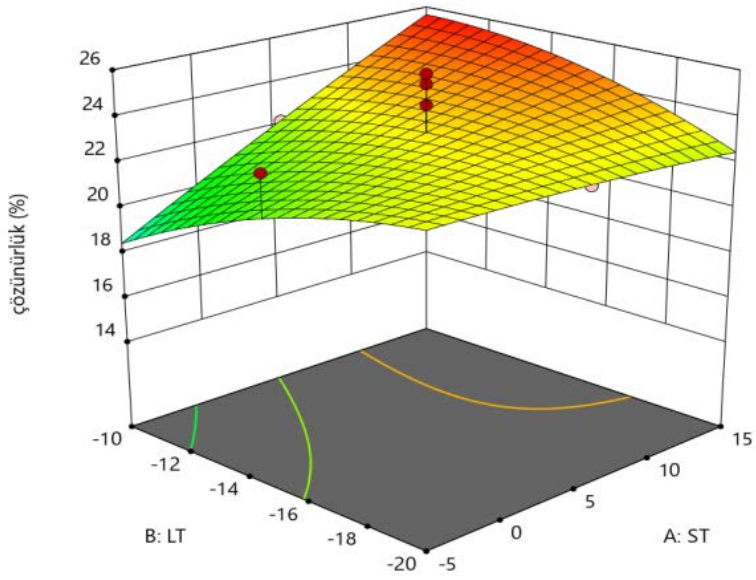
Raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızının çözünürlük üzerindeki interaksiyon etkilerini gösteren yanıt yüzey eğrileri Şekil 4.22'de gösterilmektedir.




**Şekil 4.22a**.Çözünürlük yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (raf sıcaklığı sabit, ST=5 °C)




**Şekil 4.22b.** Çözünürlük yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (liyofilizasyon sıcaklığı sabit, LT=-15 °C)




**Şekil 4.22c.** Çözünürlük yanıtı için yanıt yüzey grafiği ve izohips eğrisi (donma hızı sabit, FR= 2.00°C/dk)

**Şekil 4.22.** Çözünürlük yanıtı için yanıt yüzey grafikleri ve izohips eğrileri

Bu grafiklere göre, donma hızındaki artışla birlikte çözünürlüğün düştüğü görülmektedir. Bunun sebebi, yüksek hızda dondurmalarda daha düşük özgül yüzey alanının meydana gelmesi ve toz ürünlerin termodinamik ve suda çözünebilme özelliklerinin yüzey alanından etkilenmesi olarak açıklanabilmektedir [201]. Ceballos et al. (2012)'de yaptığı çalışmada, farklı donma hızlarının dondurularak kurutulmuş tarçın elmasının çözünürlüğünü etkilediğini bulmuştur [145]. Ayrıca, raf sıcaklığındaki artış da çözünürlüğü belirgin şekilde arttırmıştır.

### 4.2.3. *In vitro* protein sindirilebilirliği

Proteinler, enzimlerin spesifikliği, hidroliz derecesi ve ortam koşullarına bağlı olarak hidrolizasyon prosesi sırasında küçük peptitler ve aminoasitlere parçalanmaktadır [76]. Beslenmeyle alınan proteinlerin absorpsiyonunun peptit ve aminoasit formunda olduğu düşünüldüğünde, protein hidrolizatlarının protein

sindirilebilirliği bütün haldeki (parçalanmamış) proteinlerden üç kat daha fazla olmaktadır [202].

Bu çalışmada, *in vitro* sindirilebilirlik yanıtı için bağımsız değişkenler arasındaki lineer, quadratic ya da interaksiyon etkileri %95 güven aralığında anlamlı bulunmadığı için model oluşturulamamıştır. Böylece, peptitlerin ya da aminoasitlerin dondurarak kurutma proses koşullarından etkilenmediği sonucuna varılmıştır. Yanıta ait varyans tablosu Ek E'de (Ek E1, E2, E3) verilmektedir.

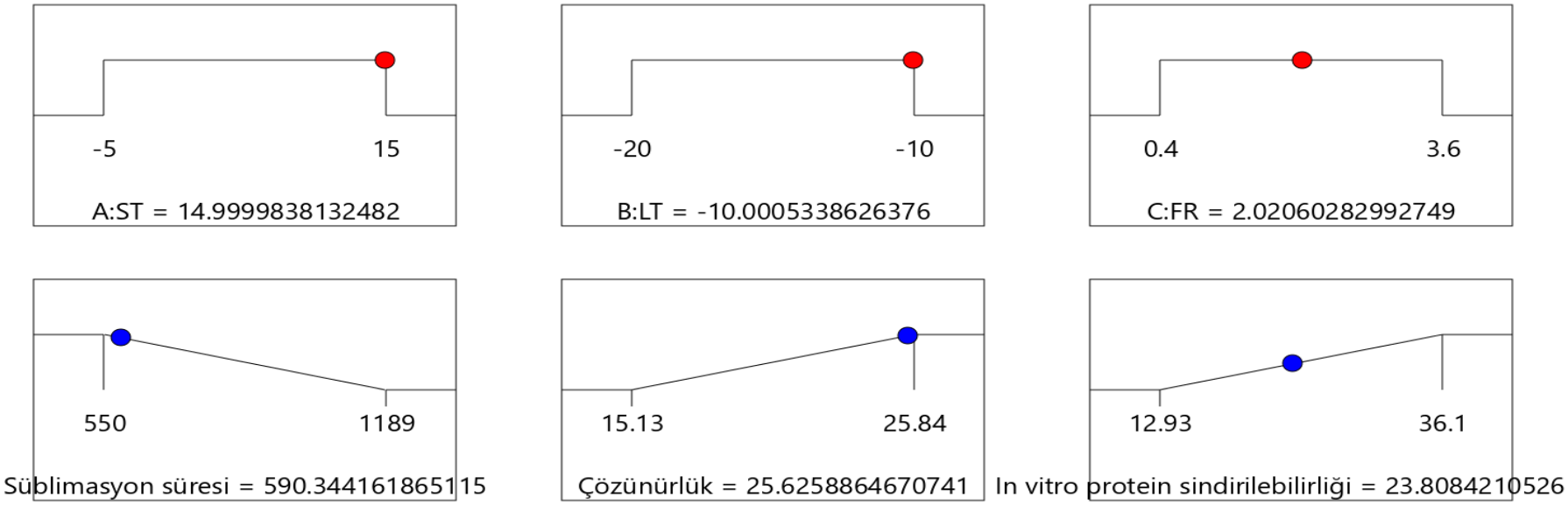
### 4.3. Liyofilizasyon İşleminin Optimizasyonu

Bu tez çalışması kapsamında yapılan optimizasyon çalışmasının amacı literatürde liyofilizasyon işlemini etkilediği bilinen raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızı parametrelerini, en kısa sürede en yüksek kalitede tavuk eti tozu üretmek için optimize etmek olarak belirlenmiştir. Optimizasyon için raf sıcaklığı (-)5-15 °C , liyofilizasyon sıcaklığı (-) 20-(-)10 °C ve donma hızı 0.40-3.60 °C/dk aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesi için desirability fonksiyonu kullanılmış olup, değişkenlere ve yanıtlara ait optimizasyon sınırları Tablo 4.4'te gösterilmektedir.

**Tablo 4.3.** Tavuk eti tozu üretimi için optimizasyon sınırları

| | Hedef | Alt sınır | Üst sınır | Önem derecesi |
|---|---|---|---|---|
| X1:Raf sıcaklığı | Aralıkta | -5 | 15 | 3 |
| X2:Liyofilizasyon sıcaklığı | Aralıkta | -20 | -10 | 3 |
| X3:Donma hızı | Aralıkta | 0.40 | 3.60 | 3 |
| Süre | En düşük | 550 | 1189 | 5 |
| Çözünürlük | En yüksek | 15.13 | 25.84 | 2 |
| *In vitro* protein sindirilebilirliği | En yüksek | 12.93 | 36.1 | 2 |

Optimizasyon çalışması sonucunda toplamda 63 adet çözüm bulunmuş olup, Ek F'de verilmektedir. En yüksek istenebilirlik seviyesine sahip olan çözüm 0.812 istenebilirlik değeri ile Şekil 4.23'te grafik olarak gösterilmektedir. Buna göre **optimum nokta; raf sıcaklığı(X1)=15°C , liyofilizasyon sıcaklığı (X2)= -10°C** ve **donma hızı (X3)=2.0 °C/dk** olarak belirlenmiştir.




**Şekil 4.23.** En yüksek istenilebilirlikte bağımsız ve bağımlı değişkenler

### 4.4. Optimizasyon Sonuçlarının Validasyonu

Belirlenen optimum noktada 4 tekerrürlü üretim gerçekleştirilmiş olup, doğrulama üretimlerine ait yanıtların ortalama ve standart sapma değerleri ve modelden tahminlenen değerler Tablo 4.4'te gösterilmektedir. Optimum süblimasyon sürelerine ait sıcaklık-zaman grafikleri Ek G'de verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Doğrulama üretimlerine ait yanıtların ortalama ve standart sapma değerleri ve modelden tahminlenen değerler

| **Üretim No** | **Süblimasyon Süresi (dk)** | **Çözünürlük (%)** | ***In vitro* sindirilebilirlik (%)** |
|---|---|---|---|
| T1 | 671 | 28,52±1,03 | 26,64±0,34 |
| T2 | 651 | 27,27±0,09 | 27,40±0,18 |
| T3 | 645 | 26,43±2,67 | 27,87±0,07 |
| T4 | 631 | 26,96±0,51 | 27,03±1,35 |
| Tahminlenmiş değer | 590,344 | 25,626 | 23,808 |

Optimum üretimlere ait yanıtlar ve tahminlenen değerler arasında anlamlı fark olup olmadığı One Sample *t*-Test (Tek Örneklem *t*-Testi) (SPSS V.24.00)[193] ile belirlenmiştir. Ayrıca deneysel değerler ve tahminlenen değerler arasındaki %Hata aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır:

$$\%\ \text{Hata} = |Ydeneysel - Ytahminlenen|/Ydeneysel \times 100$$

Her yanıt için Tek örneklem *t*-Testi sonuçları ise Tablo 4.5'te verilmiştir.

**Tablo 4.5.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

| **Yanıt** | **Tahminlenen değer** | **Deneysel sonuçlar*** | **Standart hata** | **Fark** | **% Hata** | **p-değeri** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Süblimasyon Süresi (dk) | 590,381 | 649,5±16,6 | 8,30 | -59,12 | 9,1 | 0,006 |
| Çözünürlük(%) | 25,626 | 27,295±0,88 | 0,44 | -1,669 | 6,11 | 0,033 |
| *In vitro* sindirilebilirlik (%) | 23,808 | 27,24±0,52 | 0,916 | -3,432 | 12,59 | 0,01 |

*Ortalama değer±Standart sapma

Doğrulama üretimleri sonucunda tavuk eti tozu üretimi için gerekli olan süblimasyon süresi ve üretim sonucunda tavuk eti tozlarının sahip olduğu çözünürlük ve *in vitro* sindirilebilirlik sonuçlarına göre tüm yanıtlar için veriler arasındaki farkın tahminlenen değerlerden istatistiksel olarak farklı olduğu görülmektedir ($P<0.05$). Ancak, bu durumun değerlerin birbirine çok yakın çıkmasından kaynaklandığı düşünülmüş olup, değerlendirme % hataya göre yapılmıştır. Süre ve çözünürlük yanıtları için hata oranının %10'un altında olduğu görülmektedir. Bu da, her iki yanıt için de herhangi bir raf sıcaklığı, liyofilizasyon süresi ve donma hızı kombinasyonu için doğru bir şekilde tahmin edilebileceğini kanıtlamaktadır.

### 4.5. Tavuk eti tozu üretiminde kullanılan protein hidrolizatı ve optimum koşullarda üretilen tavuk eti tozuna ait fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalite özellikleri

Optimum noktada 4 tekerrürlü üretimi gerçekleştirilen tavuk eti tozu örneklerinin ve bu üretimlerde kullanılan protein hidrolizatının fizikokimyasal ve mikrobiyolojik kalite özellikleri şu şekildedir:

#### 4.5.1. Protein hidrolizatı hammaddesinin ve tavuk eti tozunun genel bileşimi

Çalışmada, protein hidrolizatı ve tavuk eti tozu örneklerinin genel bileşimlerini belirlemek amacıyla nem (%), kül (%), yağ (%) ve protein (%) analizleri yapılmıştır. Tavuk eti tozu üretiminde kullanılan protein hidrolizatına ait genel bileşim özellikleri Tablo 4.6'da; tavuk tozu örneklerinin genel bileşim özellikleri ise Tablo 4.7'de verilmiştir.

**Tablo 4.6.** Protein hidrolizatı hammaddesinin genel bileşimi

| Örnek | Nem (%) | Kül (%)*** | Yağ (%) | Protein (%) |
|---|---|---|---|---|
| **H1** | 82,15±0,11 | 8,21±0,21 | 1,09±0,02 | 18,2±0,62 |
| **H2** | 82,57±0,13 | 8,14±0,11 | 1,00±0,02 | 16,84±0,06 |
| **H3** | 81,38±0,95 | 8,61±0,67 | 1,05±0,18 | 15,71±1,67 |
| **H4** | 78,36±4,11 | 8,12±0,14 | 1,15±0,23 | 15,79±0,92 |
| **Ortalama(YB)** | 81,11±2,37 | 8,27±0,34 | 1,07±0,12 | 16,64±1,32 |
| **Ortalama (KB)** | -- | 8,27±0,34 | 5,71±0,41 | 85,47±12,96 |

*H1: 1.üretimde kullanılan hammadde; H2:2. üretimde kullanılan hammadde; H3: 3. üretimde kullanılan hammadde; H4: 4. üretimde kullanılan hammadde

**Değerler 2 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** Kuru madde üzerinden hesaplanmıştır.

****YB:yaş bazda; KB:kuru madde bazında.

**Tablo 4.7.** Tavuk eti tozu örneklerinin genel bileşimi

| Örnek | Nem (%) | Kül (%) | Yağ (%) | Protein (%) |
|---|---|---|---|---|
| **T1** | 7,50±0,20$^{b}$ | 7,22±0,04$^{b}$ | 6,19±0,15 | 83,42±0,46 |
| **T2** | 9,2±0,17$^{a}$ | 6,67±0,84$^{b}$ | 5,98±0,11 | 82,37±1,18 |
| **T3** | 7,38±0,08$^{b}$ | 7,53±0,06$^{ab}$ | 5,75±0,64 | 81,45±0,70 |
| **T4** | 5,71±0,13$^{c}$ | 8,54±0,06$^{a}$ | 5,33±0,07 | 83,51±0,67 |
| **Ortalama** | 7,45±1,32 | 7,49±0,79 | 5,81±0,42 | 82,69±1,09 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 2 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** $^{a-d}$Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Buna göre protein hidrolizatının nem değerlerinin %78,36-82,57 arasında değiştiği görülmektedir. H1, H2 ve H3 hammaddelerinin nem değerleri birbirine oldukça yakınken, H4 hammaddesi en düşük nem içeriğine sahiptir. Ancak bu fark, istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (P>0,05). Hidrolizatların nem değeri Kurozawa (2009)'un tavuk göğüs etinden elde ettiği protein hidrolizatının nem değerinden düşük bulunmuştur [99]. Tavuk tozu örneklerinin ise nem değerleri %5,71-9,2 arasında değişmektedir. Hammaddeler arasında en düşük nem içeriğine sahip olan H4 ile üretimi gerçekleştirilen toz örneğin (T4) en düşük nem değerine sahip olduğu görülmektedir.

Çalışma kapsamında, dondurarak kurutulmuş tavuk eti tozu üretiminde temel hedef nem değerinin %10'un altına indirilmesi olarak belirlenmiştir. Elde edilen nem değerleri bunu desteklemektedir. Ayrıca, Taheri ve ark. (2013) tavuk yan ürünlerinden enzimatik yöntemle elde ettikleri protein hidrolizatını dondurarak kurutmuş ve nem değerini %66,9'dan %3,78'e indirmiştir [76]. Nem değerlerinde ortalama olarak %90 oranında bir azalma görülmektedir.

Protein hidrolizatının kül değerleri %8,12-8,61 arasında bulunmuştur. Elde edilen protein hidrolizatlarının kül değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (P>0,05). Tavuk eti tozu örneklerinin kül değerleri ise %6,67-8,54 arasında değişim göstermektedir. Buna göre en yüksek kül değeri 4. hammaddeden elde edilen tavuk eti tozunda bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda

farklı hayvansal kaynaklardan elde edilen protein hidrolizatlarında da yüksek kül değerleri tespit edilmiştir [82]. Taheri ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, tavuk yan ürünlerinden elde edilen protein hidrolizatının balık protein hidrolizatından daha fazla kül içeriğine (%4.70) sahip olduğunu ve bunun hidrolizat içersinde bulunan minerallerin ana kaynağı olan kemikten ileri geldiğini ifade etmiştir. Hidrolizasyon işlemi sırasında %1,5 konsantrasyonunda NaCl çözeltisinin kullanılmasının da mineral madde miktarını, dolayısıyla da kül oranını arttırdığı söylenebilmektedir.

Protein hidrolizatlarının yağ içerikleri %1,00-1,15 arasında değişim göstermekte olup ortalama yağ içeriği %1,07 bulunmuştur. Hidrolizatlar arasında yağ içeriği bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P>0,05$). Hidrolizatlara hidrolizasyon işlemi sonrasında uygulanan yağ seperasyonu işleminin, etkili olduğu görülmektedir. Nilsang ve ark. (2005), balık protein hidrolizatı ile ilgili yaptıkları çalışmada, yağ oranını %2.37 olarak bulmuşlar ve bu düşük yağ oranının hidrolizatlardaki lipid oksidasyonunu engelleyerek ürün stabilitesini arttıracağını belirtmişlerdir [95]. Hidrolizatlar kurutulduğunda ise, kuru madde oranının artmasına bağlı olarak yağ içeriklerinde artış olmuş ve %5,3-6,19 arasında değişim göstermiştir, fakat örnekler arasında yine istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır ($P<0,05$). Ktari ve ark. (2012) ve Balti ve ark. (2010), farklı türlere ait balıklardan elde ettikleri hidrolizatlarda yağ oranını sırasıyla %2,91-3,25 ve %2,89-3.1 bulmuştur [203,204].

Hidrolizatların protein oranlarının %15,71-18,2 arasında değişim göstermekte olduğu görülmektedir. Hidrolizat üretimi için kullanılan hammaddenin kemik üzerinde kalan etler olduğu düşünüldüğünde, geri kazanımın oldukça fazla olduğu görülmektedir. Hidrolizatlar dondurularak kurutulduktan sonra ise tavuk eti tozlarında protein oranı, ortalama %82, 69 ‘a yükselmektedir. Bu anlamda, çalışmanın temel amaçları arasında yer alan “yüksek protein içeriğine sahip” tavuk eti tozu üretimi hedefine ulaşılmış olmakta ve tavuk eti tozlarının iyi bir protein kaynağı olarak kullanılabileceği sonucuna varılmaktadır. Bu sonuçlar, Fik ve Surowka (1986) [104], Muzaifa ve ark. (2012) [205], Ktari ve ark. (2012) [203], Taheri ve ark. (2013) [76]’nın yaptıkları çalışmanın sonuçlarıyla benzerlik gösterirken, Nilsang ve ark. (2005) [95], Dong ve ark. (2014) [83] ve Sathivel ve ark.

(2005) [206] ‘nın farklı et kaynaklarından elde ettikleri protein hidrolizatlarının protein oranlarından yüksektir.

### 4.5.2. pH

Tavuk eti tozu üretiminde kullanılan protein hidrolizatına ait pH değerleri Tablo 4.8’de gösterilmektedir.

**Tablo 4.8.** Protein hidrolizatı hammaddesinin pH değerleri

| Örnek | pH |
|---|---|
| **H1** | 7,37±0,007[a] |
| **H2** | 7,29±0,005[b] |
| **H3** | 6,53±0,004[c] |
| **H4** | 6,54±0,029[c] |
| **Ortalama** | 6,94±0,41 |

*H1: 1.üretimde kullanılan hammadde; H2:2. üretimde kullanılan hammadde;

H3: 3. üretimde kullanılan hammadde; H4: 4. üretimde kullanılan hammadde.

**Değerler 5 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** [a-d]Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

pH değeri protein hidrolizatlarının stabilitesini ve fiziksel özelliklerini tanımlamak için oldukça önemlidir.

Protein hidrolizatlarının pH değerleri 6,53-7,37 arasında değişmektedir. Örnekler arasında standart sapmaların düşük olmasından dolayı fark istatistiksel olarak önemli görünse de (P>0,05), pH değerleri birbirine oldukça yakındır. Hidrolizat üretiminde kullanılan enzimin çalışma pH’sının 6.0-10.00 olduğu bilinmektedir. Ayrıca, hidroliz prosesi sırasında peptit bağlarının kırılmasıyla protonlar ($H^+$) salınmaktadır (95). Bu da ortamın asitliğinin bir miktar artmasına sebep olmaktadır. Hidrolizatların üretim sonrası pH’larının 7.0’ye yakın olmasını bu şekilde açıklamak mümkündür.

### 4.5.3. Renk

Tavuk eti tozu üretiminde kullanılan protein hidrolizatına ait renk değerleri Tablo 4.9'da; tavuk tozu örneklerinin renk değerleri ise Tablo 4.10'da verilmiştir.

**Tablo 4.9.** Protein hidrolizatı hammaddesinin renk değerleri

| Örnek | L* | a* | b* |
|---|---|---|---|
| **H1** | 54,30±0,05$^{bc}$ | 7,29±0,01$^{b}$ | 18,21±0,03$^{a}$ |
| **H2** | 53,55±0,07$^{c}$ | 8,70±0,07$^{a}$ | 18,66±0,06$^{a}$ |
| **H3** | 54,67±0,77$^{ab}$ | 4,15±0,2$^{d}$ | 17,52±0,54$^{b}$ |
| **H4** | 55,42±0,41$^{a}$ | 4,98±0,34$^{c}$ | 16,87±0,22$^{c}$ |
| **Ortalama** | 54,63±0,82 | 5,85±1,81 | 17,66±0,75 |

*H1: 1.üretimde kullanılan hammadde; H2:2. üretimde kullanılan hammadde; H3: 3. üretimde kullanılan hammadde; H4: 4. üretimde kullanılan hammadde; H5:5. üretimde kullanılan hammadde.

**Değerler 5 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** $^{a-d}$Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

**Tablo 4.10.** Tavuk eti tozu örneklerinin renk değerleri

| Örnek | L* | a* | b* |
|---|---|---|---|
| **T1** | 63,44±0,01$^{b}$ | 4,89±0,01$^{b}$ | 23,66±0,01$^{a}$ |
| **T2** | 63,73±0,07$^{a}$ | 4,53±0,03$^{c}$ | 23,04±0,02$^{d}$ |
| **T3** | 60,99±0,15$^{c}$ | 5,43±0,04$^{a}$ | 23,59±0,03$^{b}$ |
| **T4** | 60,92±0,12$^{c}$ | 5,43±0,04$^{a}$ | 23,47±0,03$^{c}$ |
| **Ortalama** | 61,94±1,32 | 5,16±0,38 | 23,46±0,22 |

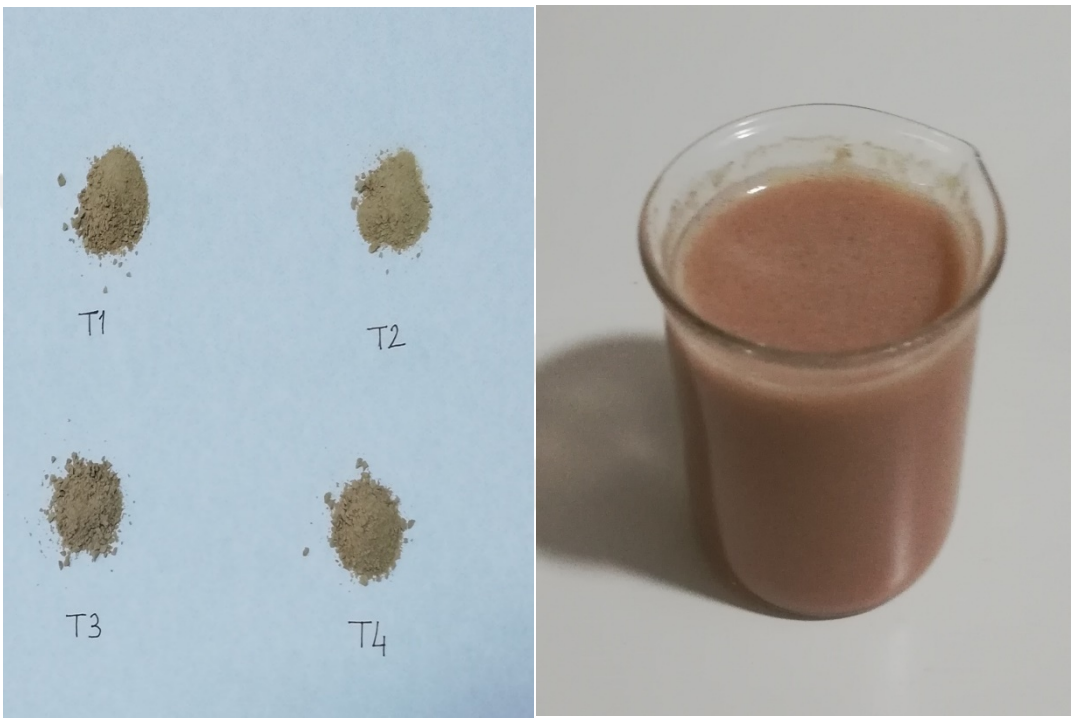
*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 5 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** $^{a-d}$Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Renk, tüketicilerin bir gıda ürününü satın alma ya da almama kararını etkileyen oldukça önemli bir kalite özelliğidir [56]. Protein hidrolizatı görsel olarak değerlendirildiğinde koyu kahverengi renge sahiptir. (Şekil 4.24). Bu rengin oluşmasının sebebi, hidroliz sırasında kullanılan Corolase enziminin kahverengi olmasıdır. Protein hidrolizatlarının L* değerleri 53,55-55,42 ; a* değerleri 4,15-8,70;

b* değerleri ise 16,87-18,66 arasında değişmektedir. Tavuk eti tozu örneklerinin ise, L* değerleri 60,92-63,73 ; a* değerleri 4,53-5,43; b* değerleri ise 23,04-23,66 arasında bulunmuştur. Dondurarak kurutma işleminden sonra L* ve b* değerlerinde artış gözlenmekte, bu da toz üründe rengin bir miktar daha açık olduğuna işaret etmektedir. Literatürde, kullanılan enzimin rengine, hidroliz sırasında oluşan Maillard reaksiyonlarına ve kullanılan hammadde çeşidine bağlı olarak hidrolizat renginde değişiklikler oluşabileceği bildirilmektedir [56,93,207].




**Şekil 4.24.** Tavuk eti tozu (solda) ve tavuk proteini hidrolizatı (sağda)

### 4.5.4. Su aktivitesi

Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değerleri Tablo 4.11'de gösterilmektedir.

**Tablo 4.11.** Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değerleri

| **Örnek** | **Su aktivitesi** |
|---|---|
| **T1** | 0,24±0,002[c] |
| **T2** | 0,35±0,003[a] |
| **T3** | 0,26±0,000[b] |
| **T4** | 0,11±0,009[d] |
| **Ortalama** | 0,24±0,096 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 5 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** [a-d]Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Su aktivitesi ($a_w$), bir gıdanın buhar basıncının aynı sıcaklıkta saf suyun buhar basıncına oranı olarak tanımlanmaktadır. $A_w$, gıdalarda bulunan "aktif" suyun fiziksel bir ölçüsüdür. Bu aktif su, bozulma yapan mikroorganizmaların gelişimi, kimyasal reaksiyonlar ve enzimatik aktivitelerden sorumludur [208]. Ayrıca, kurutma sırasında, gıdadan dışarıya iletilen nemin ölçüsünü ve kurutulan gıdada kalan nemin miktarını belirlemektedir [208]. Bu nedenlerle su aktivitesi, toz ürünlerin raf ömrünü belirleyen önemli parametrelerden biridir [209]. Genellikle, su aktivitesinin azaltılmasıyla raf ömrü artmaktadır. Gıdalar için optimum su aktivitesi değeri, gıdaların kalitesini en yüksek seviyede tutan değer olarak belirlenmektedir [118].

Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değeri 0,11-0,35 arasında değişim göstermektedir. Kurutma öncesi ve kurutma sonrası nem değerleriyle birlikte değerlendirildiğinde, en yüksek nem içeriğine sahip olan hidrolizattan (H2) en yüksek nem içeriğine sahip olan tavuk tozu örneğinin (T2), en düşük nem içeriğine sahip olan hidrolizattan (H4) ise en düşük nem içeriğine sahip olan tavuk tozu örneğinin (T4) üretildiği görülmektedir. Benzer şekilde, su aktiviteleri de paralel sonuçlar vermektedir. En yüksek su aktivitesi değeri T2, en düşük su aktivitesi değeri

de T4 örneğine aittir. Genellikle, örnek ne kadar kuruysa, su aktivitesi değeri de o kadar düşük olmaktadır [209].

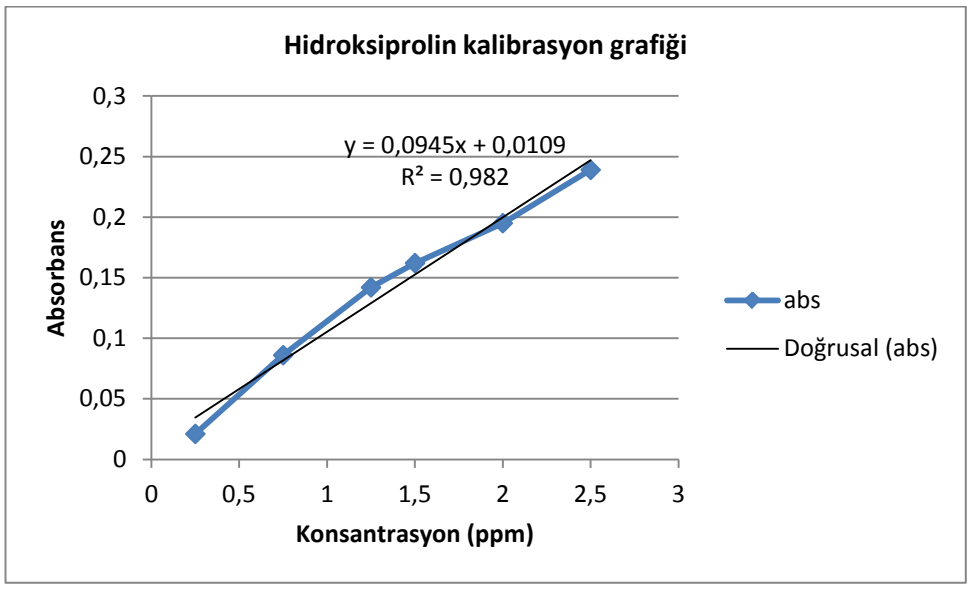
Su aktivitesi değeri 0,3'ün altında olan toz ürünler mikrobiyolojik ve kimyasal açıdan güvenli kabul edilmektedir [198,210]. Tavuk tozu örneklerinden T1, T3 ve T4 'ün su aktivitesi değerleri <0,3 olduğundan dolayı bu kriteri sağlamaktadır.

### 4.5.5. Bağdoku miktarı tayini

Bağ doku proteinlerinden kollajen, kemik, tendon ve deride bulunan ana yapısal proteindir [211]. Kollajen, ete kıyasla az miktarda esansiyel aminoasit içerdiğinden dolayı tüketiciler tarafından istenmeyen bir bileşendir [212].

Örneklerde bağdokunun belirlenebilmesi için kullanılan en iyi yaklaşım hidroksiprolin analizidir [213]. Çünkü hidroksiprolin bağdokuya özgü bir aminoasittir ve bağdokudaki oranı %12,5 ile sabittir [214]. Böylece et ve et ürünlerinde hidroksiprolin miktarı belirlenerek bağdoku miktarı tespit edilebilmekte ve et protein kalitesi değerlendirilebilmektedir.

Bağdoku tayininde kullanılan standart hidroksiprolin çözeltilerine ait kalibrasyon grafiği Şekil 4.25'te gösterilmektedir.




**Şekil 4.25.** Hidroksiprolin standartları kalibrasyon grafiği

**Tablo 4.12.** Tavuk eti tozu örneklerinin bağdoku miktarı değerleri

| Örnek | Bağdoku miktarı (%) |
|---|---|
| **T1** | 0,0312±0,001[c] |
| **T2** | 0,0313±0,0005[c] |
| **T3** | 0,0427±0,00001[a] |
| **T4** | 0,0369±0,0022[b] |
| **Ortalama** | 0,0355±0,0052 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 2 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** [a-d]Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Örneklerin bağdoku miktarları %0,0312-0,0427 arasında bulunmuştur. Toplam protein oranına bakıldığında bu miktar oldukça düşüktür. Bağ doku proteini oranının düşük olması da tavuk eti tozlarının protein kalitesinin yüksek olduğu şeklinde yorumlanabilmektedir..

### 4.5.6. Kalsiyum miktarı tayini

Tavuk eti tozu örneklerinin üretimi iki farklı hammaddeden yapıldığı için kalsiyum analizi T1 ve T4 no'lu örneklerde yapılmıştır. Örneklerin kalsiyum miktarları Tablo 4.13'te gösterilmektedir.

**Tablo 4.13.** Tavuk eti tozu örneklerinin kalsiyum miktarı değerleri

| Örnek | Kalsiyum (ppm) |
|---|---|
| **T1** | 5220 |
| **T4** | 4800 |
| **Ortalama** | 5000 |

T1: 1. Üretim tavuk eti tozu T4:4. Üretim tavuk eti tozu

Kanatlı işleme endüstrisinde standart parçalama işleminden sonra kemikler üzerinde kalan parçaların ayrılması için mekanik ayırma işlemi kullanılmaktadır. Mekanik ayırma işleminde kemik kalıntıları da elde edilen mekanik ayrılmış ette bulunmakta ve bu durum istenmeyen bir özelik olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle, kalsiyum miktarı mekanik ayrılmış etlerde ve kemiklerden elde edilen diğer

yan ürünlerde bir belirteç olarak kullanılmaktadır [215,216]. Çünkü kalsiyum seviyesinin yüksek olması, üründe kemik kalıntılarının varlığına işaret etmektedir [212].

Örneklerin kalsiyum miktarları ortalama 5000 ppm (%0.5) bulunmuştur. Mekanik ayrılmış kanatlı kemiklerinde kalsiyum miktarının genellikle %0,19-0,23 arasında bulunduğu ifade edilmektedir [211]. Fonkwe ve Singh (1996)'nın mekanik ayrılmış kanatlı etlerinin enzimatik hidrolizasyonu konusunda yaptıkları çalışmada ise kalsiyum miktarı %0,2 olarak bulunmuştur [74]. Tavuk eti tozu örneklerinde, kalsiyum miktarının fazla çıkmasının nedeni hidrolizat üretimi sırasında her ne kadar filtrasyon işlemi uygulanmış olsa da, küçük kemik parçalarının hidrolizata karışması olarak gösterilebilmektedir. Aynı zamanda örneklerin kül miktarının yüksek olması da bu sonuçları desteklemektedir.

### 4.5.7. Protein Degradasyonu

#### 4.5.7.1. Çözünür Protein Miktarı

Tavuk eti tozu örneklerinin çözünür myofibriler protein miktarları Tablo 4.14'te verilmiştir.

**Tablo 4.14.** Tavuk eti tozu örneklerinin çözünür myofibriler protein miktarları

| **Örnek** | **Çözünür Protein miktarı (mg/mL)** |
|---|---|
| **T1** | 0,7479±0,064 |
| **T2** | 0,7548±0,031 |
| **T3** | 0,8328±0,102 |
| **T4** | 0,7659±0,135 |
| **Ortalama** | 0,7754±0,089 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

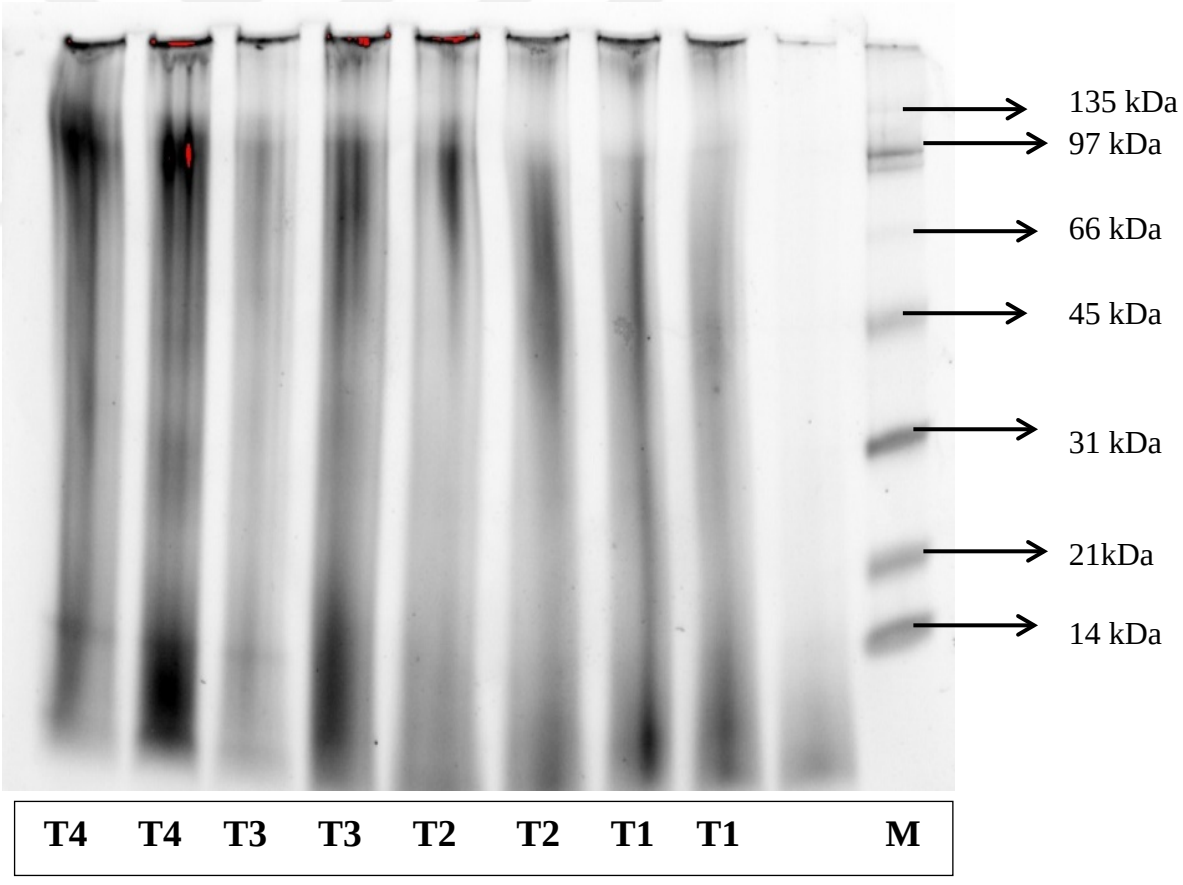
**Değerler 5 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** $^{a-d}$Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Proteinlerin en önemli fonksiyonel özelliklerinden birisi emülsifikasyon ve köpüklenme özelliklerini etkileyen çözünürlüktür [111]. Protein çözünürlüğü, protein hidrolizi ile protein degradasyonu sebebiyle azalmaktadır. Örneklerde protein çözünürlüğü 0,7479-0,8328 mg/mL olarak bulunmuştur. Üretimler arasında protein çözünürlüğü değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$).

#### 4.5.7.1. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Tavuk eti tozu örneklerine ait SDS-PAGE jel görüntüsü Şekil 4.26'da verilmiştir. Myofibriler proteinler örneklerden ekstrakte edilmiş ve uygun oranda seyreltilerek jele yüklemesi yapılmıştır.




**Şekil 4.26.** Tavuk eti tozlarına ait SDS-PAGE jel görüntüsü

*M: Marker; T1: T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

SDS-PAGE analizi hidroliz sırasında proteinlerin alt ünitelerinde olan değişikliklerin incelenmesi amacıyla yapılmaktadır. Şekil 4.24 incelendiğinde, tavuk eti tozu örneklerinde herhangi bir bant oluşumu görülmemektedir. Bu da hidrolizle birlikte tavuk etinde mevcut olan ve Hay ve ark. [217] ve Porzio ve Peterson [218] tarafından tanımlanan myofibriler proteinlerden MHC (myosin heavy chain) (200kDa), C-protein (135 kDa), α-aktinin (95 kDa), desmin (53kDa), tropomyozin (36 kDa), MLC1 (myosin light chain) (24 kDa), troponin I (23 kDa), troponin C (17 kDa) ve MLC2 (myosin light chain) (14 kDa) bantlarının parçalandığını göstermektedir.

Literatürde yapılan çalışmalarda farklı kaynaklardan elde edilen hidrolizatlarda da benzer SDS-PAGE görüntüleri elde edilmiştir [68,111].

### 4.5.8. Su Bağlama Kapasitesi

Tavuk eti tozu örneklerinin su bağlama kapasitesi değerleri Tablo 4.15'te gösterilmektedir.

**Tablo 4.15.** Tavuk eti tozu örneklerinin su bağlama kapasitesi değerleri

| Örnek | SBK (mL/g) |
|---|---|
| **T1** | 2,53 |
| **T2** | 2,60 |
| **T3** | 2,63 |
| **T4** | 2,22 |
| **Ortalama** | 2,49±0,18 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu.

Proteinlerin en önemli özelliklerinden biri su ile etkileşime girebilme yetenekleridir. Bu özellik jel oluşturma, çözünebilme, şişme ve emülsiyonlarda kıvam arttırıcı olarak kullanılabilme gibi çeşitli fonksiyonel özelliklerini etkilemektedir [219]. Su bağlama kapasitesi proteinlerin suyu yer çekimi kuvvetine karşı protein matriksi içinde alıkoyabilme yeteneğidir [220]. Enzimatik hidroliz sırasında karbonil (COOH) ve amino grupları ($NH_2$) gibi polar grupların

konsantrasyonlarının artması, absorbe edilen suyun miktarı üzerinde oldukça etkilidir [87].

Tavuk eti tozu örneklerinin su bağlama kapasiteleri 2,22-2,60 mL/g arasında değişmektedir. Putra ve ark. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada salyangoz hidrolizatının su bağlama kapasitesi 4.24 mL/g olarak bulunmuştur [220]. Taheri ve ark. (2013)'nın kanatlı yan ürünlerinden enzimatik yöntemlerle elde ettikleri protein hidrolizatında su bağlama kapasitesi 2.8±0.2 mL/g hidrolizat olarak bulunmuştur ve çalışmamızın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir [76].

### 4.5.9. Yağ Bağlama Kapasitesi

Tavuk eti tozu örneklerinin yağ bağlama kapasitesi (YBK) değerleri Tablo 4.16'da gösterilmektedir.

**Tablo 4.16.** Tavuk eti tozu örneklerinin yağ bağlama kapasitesi (YBK) değerleri

| Örnek | YBK (mL/g) |
|---|---|
| **T1** | 5,55 |
| **T2** | 4,57 |
| **T3** | 4,16 |
| **T4** | 4,98 |
| **Ortalama** | 4,82±0,60 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

Yağ bağlama kapasitesi, protein hidrolizatı tarafından bağlanan yağ miktarını göstermektedir ve et endüstrisi için önemli bir fonksiyonel özelliktir [75,76,220].

Tavuk eti tozu örneklerinin YBK değerleri 4,16-5,55 mL yağ/g arasında bulunmuştur.

Taheri ve ark. (2013) [76] tarafından yapılan bir çalışmada tavuk yan ürünlerinden elde edilen hidrolizatın yağ bağlama kapasitesi 2.8±0.10 mL yağ /g hidrolizat olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada balık hidrolizatının yağ bağlama

kapasitesi ise 3.1±0.12 mL yağ /g hidrolizat olarak tespit edilmiştir. de Queiroz ve ark. (2017) [75] ise keçi yan ürünlerinden elde ettikleri protein hidrolizatlarında yağ bağlama kapasitesini 5.94-6.92 mL yağ/g protein olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar çalışmamızda bulunan değerlere oldukça yakındır. Bu da tavuk tozu örneklerinin emülsiye ürünlerde kullanımının uygun olduğunu göstermektedir.

### 4.5.10. Emülsiyon Kapasitesi

Tavuk tozu örneklerine ait emülsiyon kapasitesi (EK) değerleri Tablo 4.17'de verilmiştir.

**Tablo 4.17.** Tavuk eti tozu örneklerinin emülsiyon kapasitesi (EK) değerleri

| Örnek | EK (mL yağ/g örnek ) |
|---|---|
| **T1** | 83,91 |
| **T2** | 91,85 |
| **T3** | 99,66 |
| **T4** | 89,91 |
| **Ortalama** | 91,33±6,49 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

Emülsiyon kapasitesi (EK), bir maddenin emülsiyon oluşturabilme yeteneği olarak tanımlanmaktadır [221]. 1 g hidrolizatın emülsifiye ettiği yağ miktarıdır.

Tavuk eti tozu örneklerinde EK değerleri 83,91-99,66 mL/g olarak bulunmuştur. Bu değerler de Queiroz ve ark. (2017) [75] tarafından keçi yan ürünleri hidrolizatının 63,25-64,83 mL/g olan EK değerlerinden oldukça yüksektir. Diğer fonksiyonel özellikleriyle birlikte değerlendirildiğinde tavuk eti tozlarının emülsiye et ürünlerinin üretiminde yardımcı madde olarak kullanılabileceği açıkça görülmektedir.

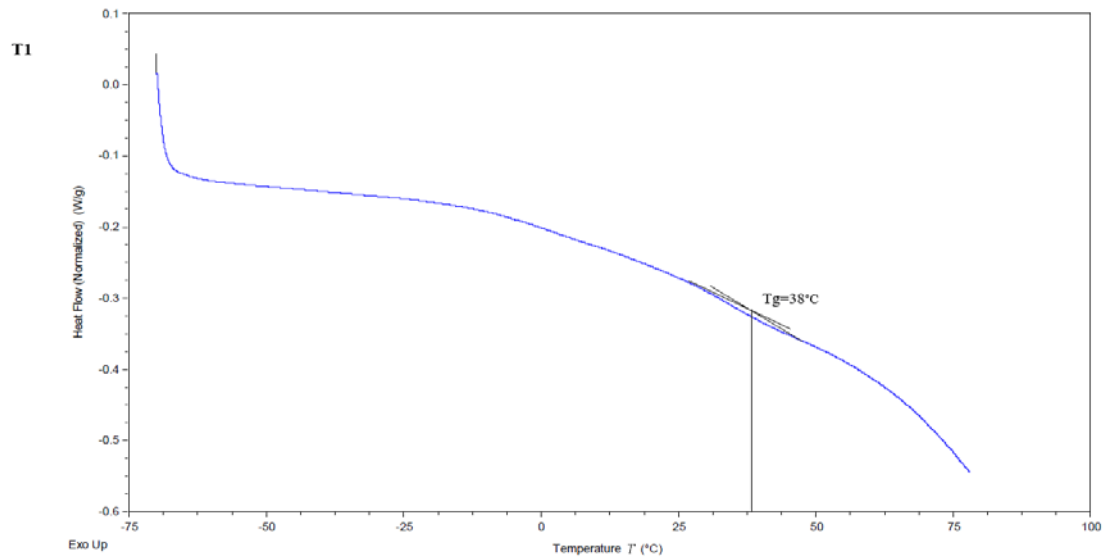
### 4.5.11. Differential Scanning Colorimetry (DSC) Analizi Sonuçları

Camsı geçiş sıcaklığı (Tg), amorf bir sistemin camsı halden kauçuksu hale geçtiği sıcaklık olarak tanımlanmaktadır [84,222]. Camsı halde matriksin yüksek viskoziteli olmasından dolayı, moleküler hareketlilik oldukça yavaştır. Bu nedenle

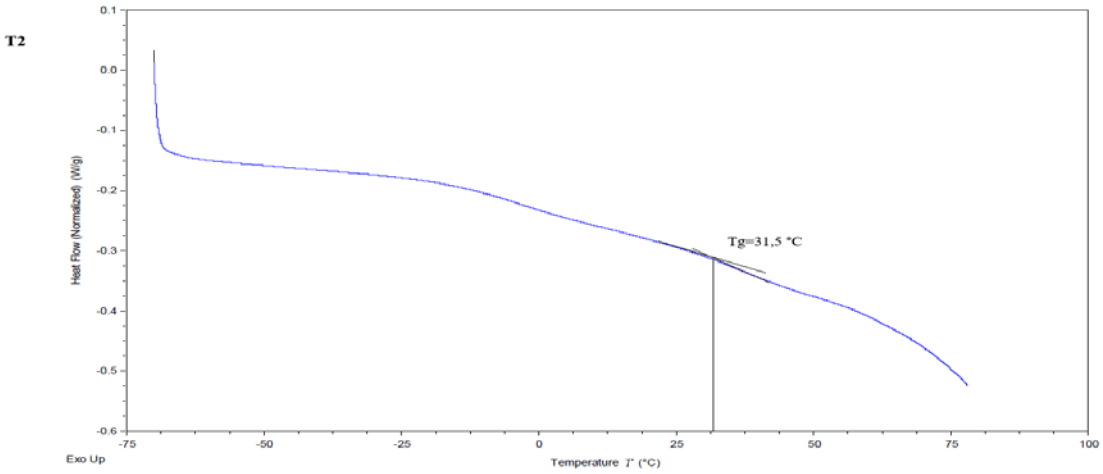
Tg gıda sistemlerinin kalite, stabilite ve güvenliği özelliklerini karakterize etmede referans bir parametre olarak kullanılabilmektedir.

Gıdalar temel olarak su, polisakkaritler, proteinler ve yağlardan oluştuklarından dolayı amorf matrisler olarak düşünülmektedir [222]. Tüm amorf ürünler, yarı kararlıdır ve depolama sırasında zamanla kek oluşturma, çökme ya da kristallenmeye karşı duyarlı hale gelmektedir. Bu ürünlerin kararlılığı su aktivitesi, bağıl nem ve sıcaklık gibi depolama koşullarına bağlı olan camsı geçiş sıcaklığı (Tg) ile kuvvetli ilişki içindedir [99]. Bu nedenle toz ürünlerde camsı geçiş sıcaklığı önemli bir parametredir. Düşük nem içerikli ve depolama sıcaklığının üzerinde Tg'ye sahip olan gıda maddeleri "kararlı" olarak ifade edilmektedir [84,99].

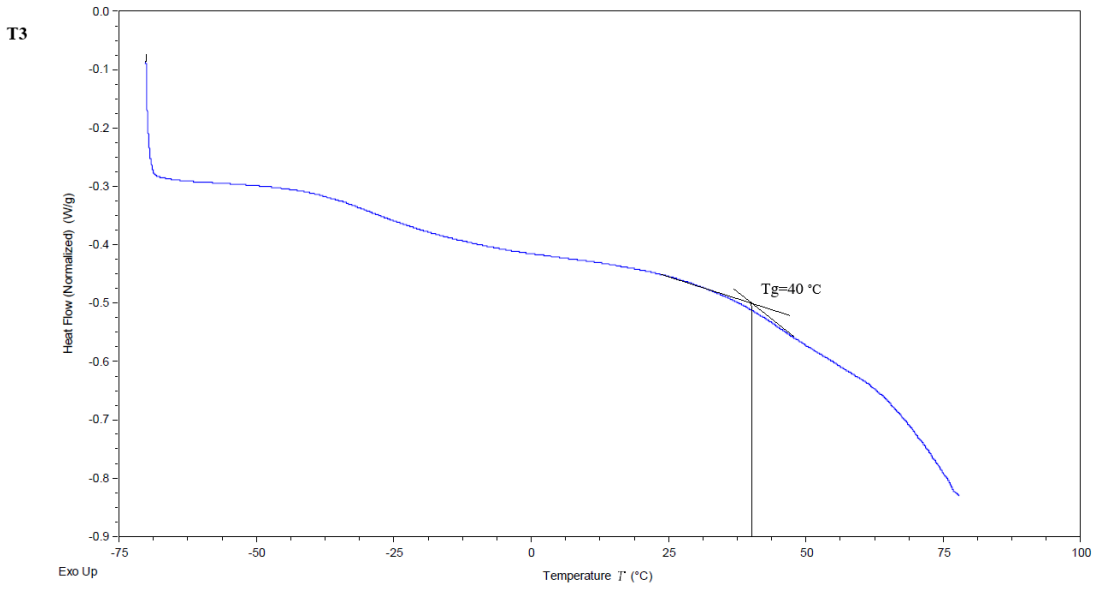
Şekil 4.27-4.30'da tavuk tozu örneklerine ait DSC termogramları görülmektedir. Camsı geçiş sıcaklıkları ısıl kapasitedeki değişimin başladığı sıcaklığın orta noktası olarak belirlenmiştir Buna göre örneklerin camsı geçiş sıcaklıkları T1, T2, T3 ve T4 için sırasıyla 38, 31.5, 40 ve 42 °C olarak bulunmuştur.



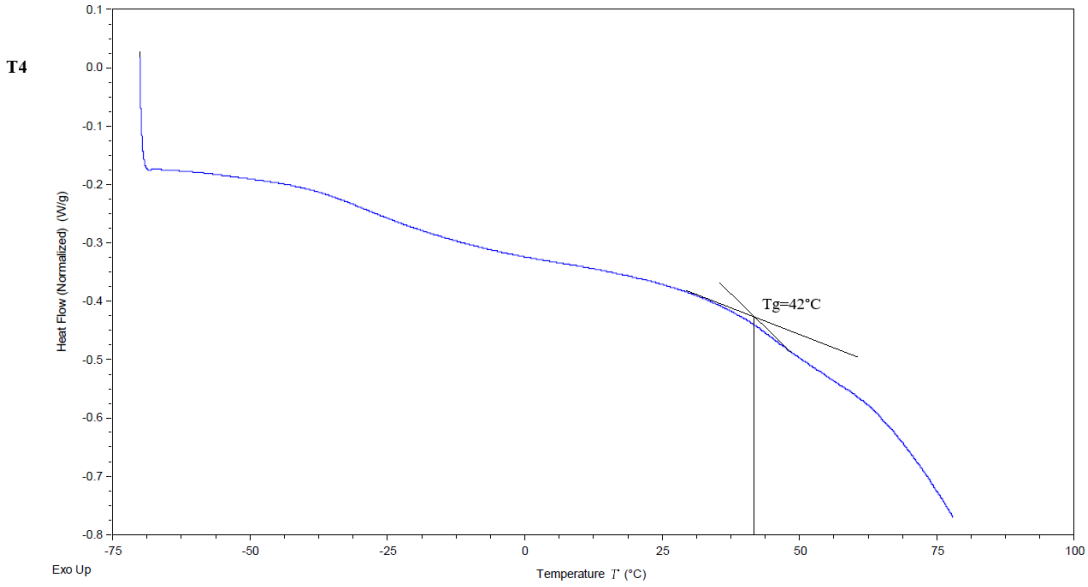

**Şekil 4.27.** T1 örneğine ait DSC termogramı




**Şekil 4.28.** T2 örneğine ait DSC termogramı




**Şekil 4.29.** T3 örneğine ait DSC termogramı




**Şekil 4.30.** T4 örneğine ait DSC termogramı

Örneklerin camsı geçiş sıcaklıkları incelendiğinde, Tg'nin su aktivitesi ve nem içerikleriyle ters orantılı olarak değiştiği görülmektedir. Su aktivitesi değerleri T2>T1>T3>T4 olarak sıralanmaktadır. Literatürde camsı geçiş sıcaklığının yüksek nem içeriklerinde düşük olduğu belirtilmektedir [222]. Balık protein hidrolizatı kullanılarak yapılmış bir çalışmada, Aguilera ve ark. (1993) [223], camsı geçiş sıcaklıklarının su aktivitesiyle ters orantılı olarak değiştiğini belirtmişlerdir. $a_w$ değeri 0,12 iken Tg sıcaklığını 23,9 °C'dir. Bu değer çalışmamızın sonuçlarından oldukça düşüktür.

Kurozawa ve ark. (2009) [84] ise püskürtmeli kurutucuda kurutulmuş saf tavuk eti hidrolizatında camsı geçiş sıcaklıklarının su aktivitesiyle ters orantılı olarak değiştiğini desteklemişlerdir. Yapılan bu çalışmadan elde edilen sonuçlar da çalışmamızın sonuçlarından düşük bulunmuştur. Bu farklılığın, kullanılan hammadde, protein denaturasyonu, hidroliz sonucu çıkan protein fraksiyonu özellikle de myofibriler proteinlerin yapısından kaynaklanabileceği düşünülmektedir [224,225].

### 4.5.12. Fourier-Transform Infrared (FTIR) Analizi Sonuçları

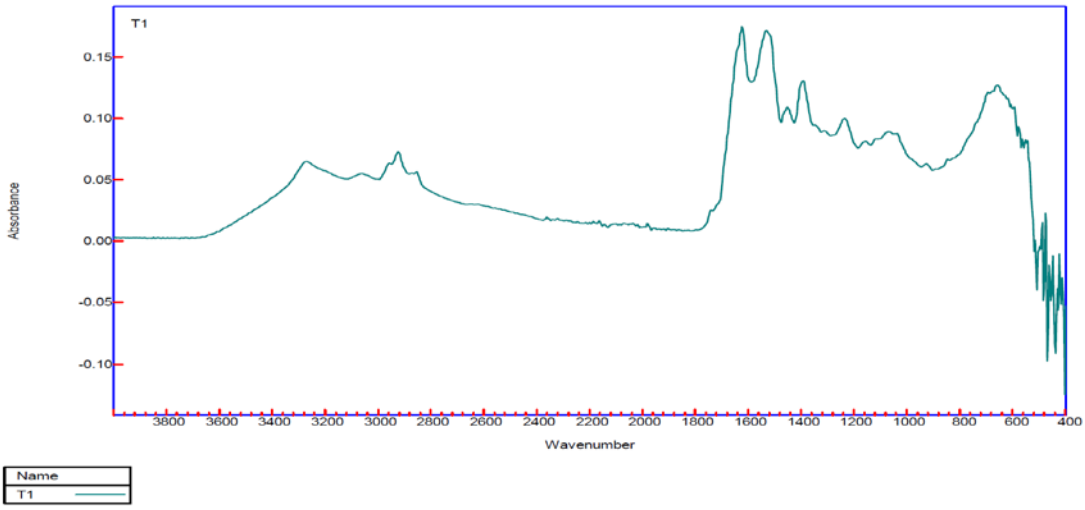
FTIR spektroskopisi protein hidrolizatlarının kimyasal bileşenlerini ve fonksiyonel gruplarını belirlemek için önemli ve güçlü bir yöntemdir [220,226,227]. Proteinlerin ikincil yapılarını belirlemede bu teknikten yararlanılmaktadır [228,229].

Tüm örneklerde belirlenen fonksiyonel gruplar, büyüklükleri değişmekle birlikte, Amide A, B, I, II ve III'tür. Amide A bandı T1 ve T2 örnekleri için 3270 $cm^{-1}$'de , T3 ve T4 örnekleri için ise 3272 $cm^{-1}$'de görülmektedir. Bu bant, hidrojen bağıyla birlikte gerilmiş N-H bağı içermektedir [189]. Genellikle serbest N-H gerilme titreşimi 3400-3440 $cm^{-1}$ 'de gerçekleşmektedir. Hidrojen bağında, bir peptidin NH grubu bulunuyorsa bu pozisyon 3300 $cm^{-1}$ dolayındaki frekanslara düşmektedir. Hidrojen bağı ne kadar kuvvetliyse, bu bandın pozisyonu o kadar aşağıda olmaktadır [230]. Bu bağlamda, tavuk eti tozu örneklerinde hidrojen bağlarının zayıf olduğu sonucuna varılmaktadır. Kanwate ve ark. (2019) [189], farklı kurutma teknikleri ile elde ettikleri jelatin örneklerinde dondurarak kurutulmuş, vakumla kurutulmuş ve püskürterek kurutulmuş örneklerde Amide A bantlarının frekanslarını sırasıyla 3294, 3273 ve 3274 $cm^{-1}$ olarak bulmuşlardır.

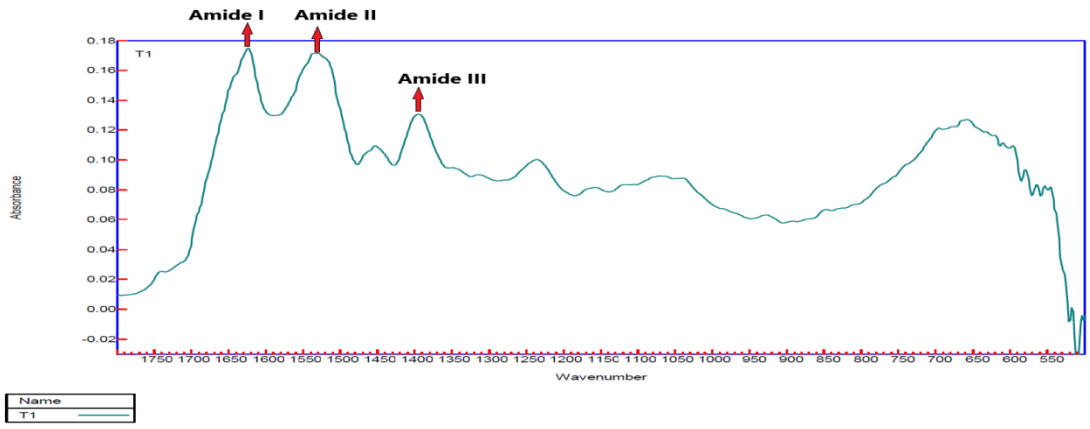
Örneklerin Amide B bantları 2925-2927 $cm^{-1}$ olarak bulunmuştur. Amide B bandı C-H ve $NH_3^+$ gerilme titreşimlerine işaret etmektedir [189,231].

Amide I bandı, FTIR spektrumunda görülen bantlar içinde en hassas olan ve proteinlerin ikincil yapılarını belirlemede en çok kullanılan banttır [228,232]. Amide I bandı, C=O gerilme titreşimlerine ve az miktarda peptit bağlarının C-N gerilme titreşimlerine bağlıdır ve 1600-1700 $cm^{-1}$ aralığında ortaya çıkmaktadır [189,232].

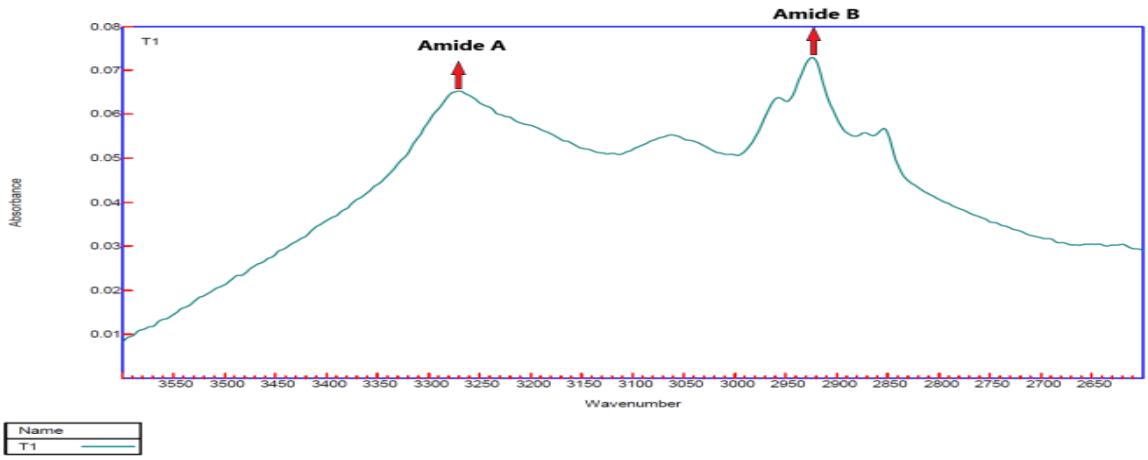
Tavuk eti tozlarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.31-4.34'de gösterilmektedir.




**Şekil 4.31 (A)**

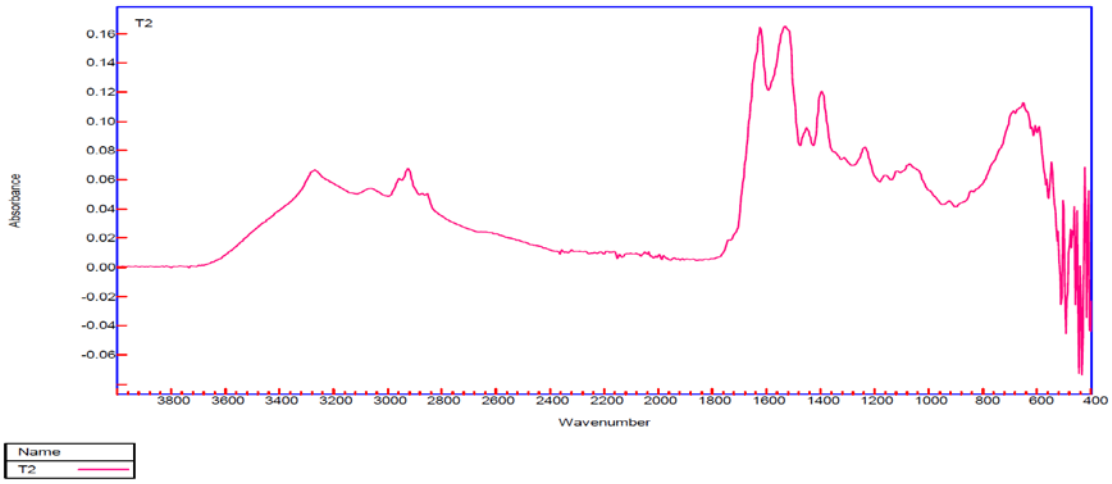



**Şekil 4.31(B)**

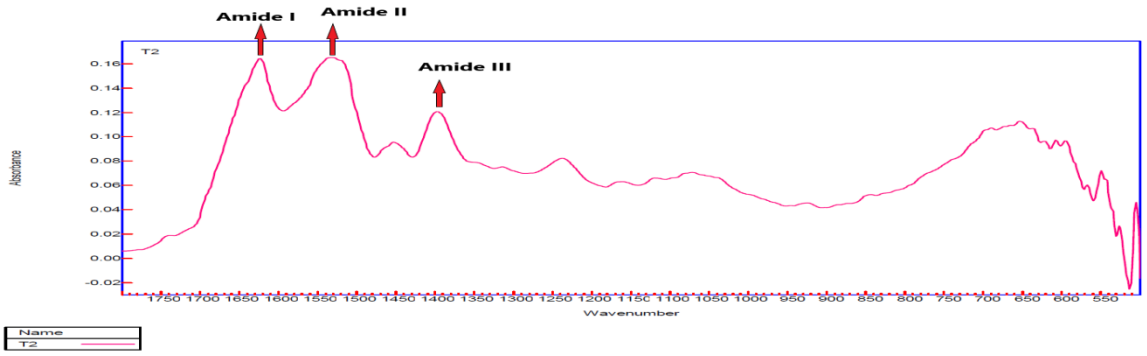



**Şekil 4.31 (C)**

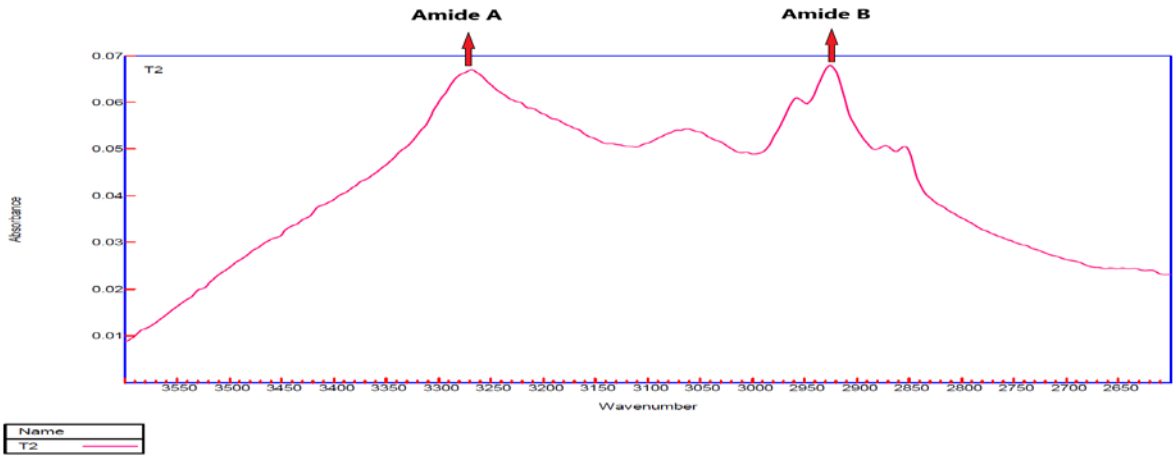
**Şekil 4.31 (A-B-C).** T1 örneğine ait FTIR spektrumu




**Şekil 4.32 (A)**

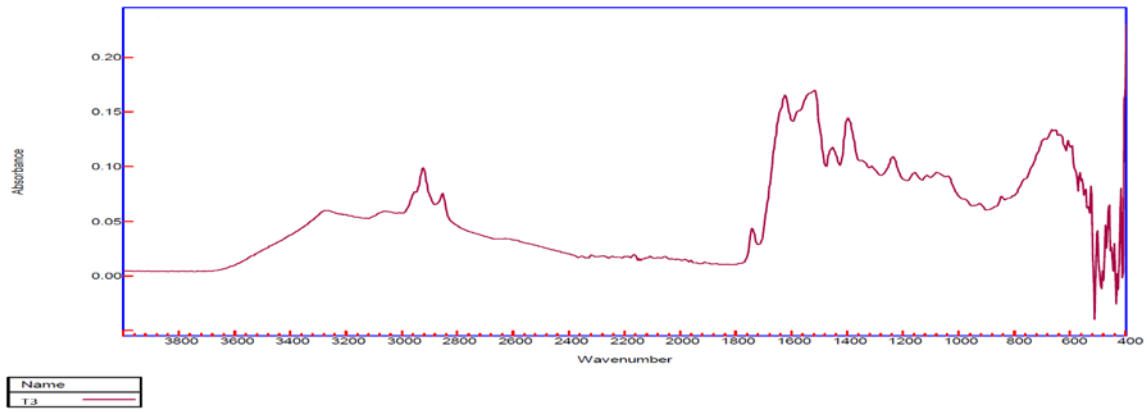



**Şekil 4.32 (B)**

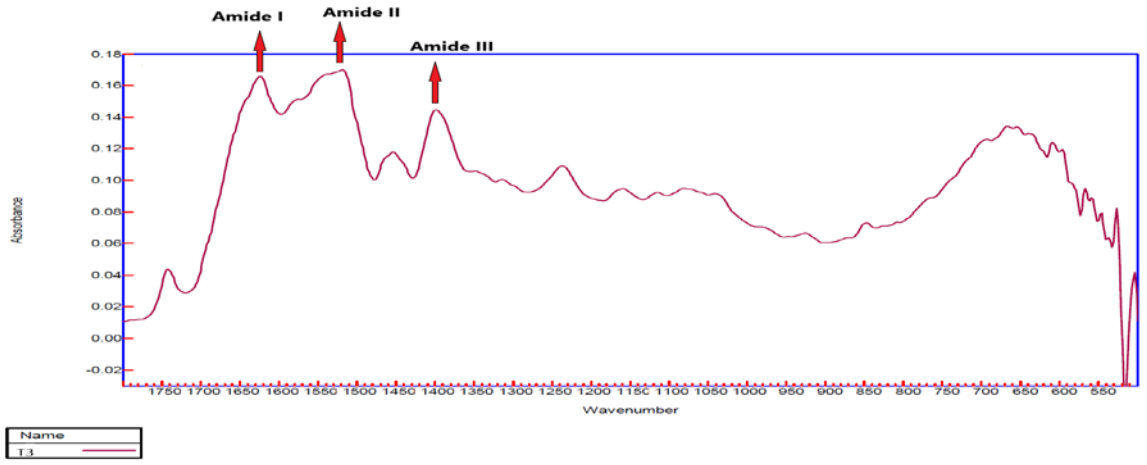



**Şekil 4.32 (C)**

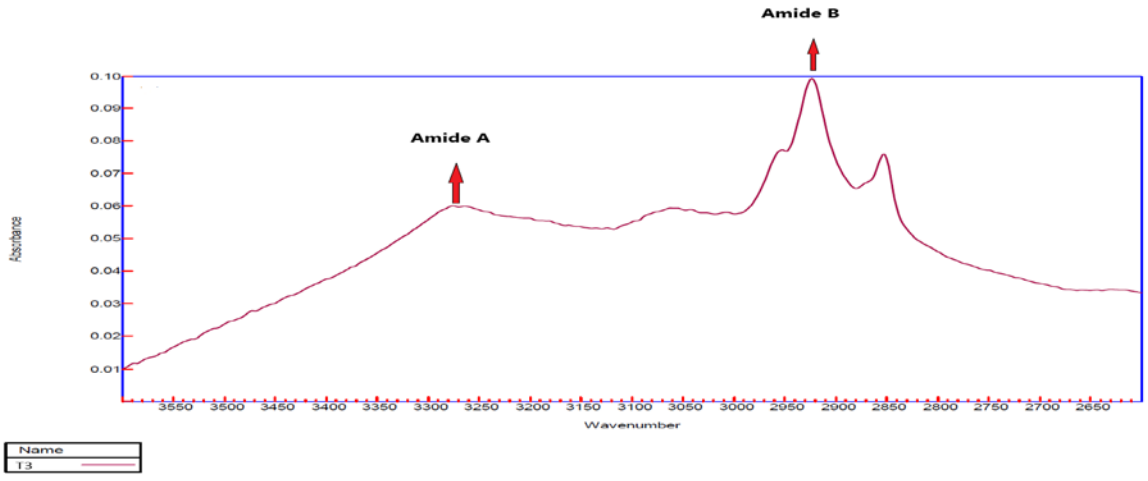
**Şekil 4.32 (A-B-C).** T2 örneğine ait FTIR spektrumu




**Şekil 4.33 (A)**

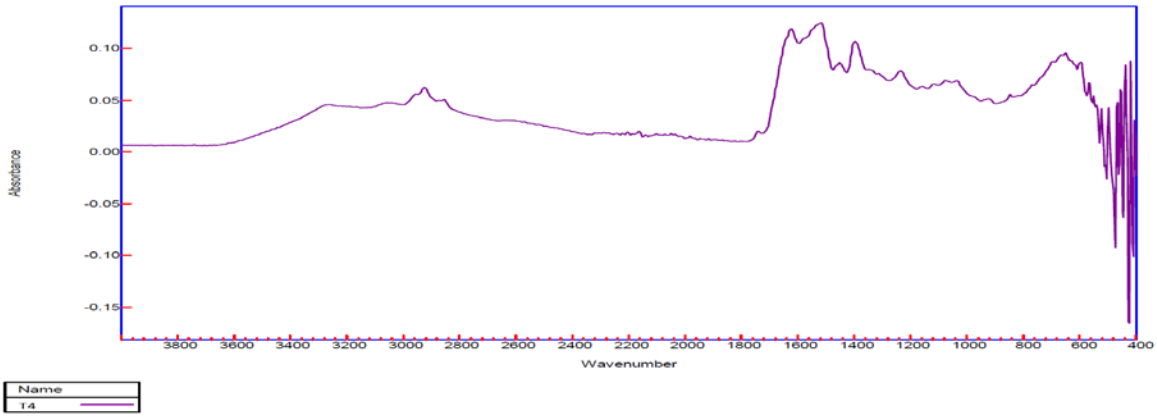



**Şekil 4.33 (B)**

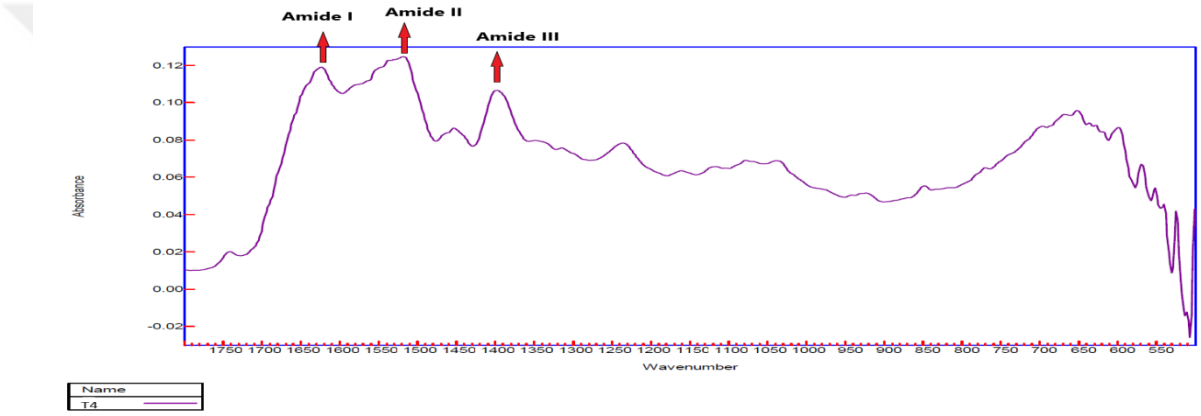



**Şekil 4.33 (C)**

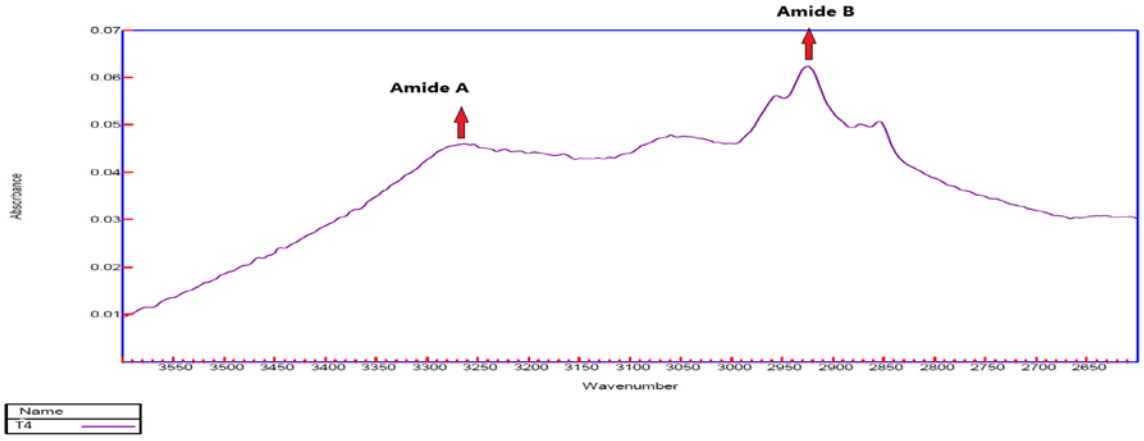
**Şekil 4.33 (A-B-C).** T3 örneğine ait FTIR spektrumu




**Şekil 4.34(A)**




**Şekil 4.34 (B)**




**Şekil 4.34 (C)**

**Şekil 4.34 (A-B-C).** T4 örneğine ait FTIR spektrumu

Tavuk eti tozu örneklerinin tümünde Amide I bandı 1622 $cm^{-1}$ 'de görülmektedir. Xu ve Liu (2016) [233] protein izolatıyla ilgili yaptıkları çalışmada Amide I bandını 1654 $cm^{-1}$'de; Muyonga ve ark. (2004) [234] balığın farklı bölgelerinden elde ettikleri kollajen ve jelatinde Amide I bandını ve farklı bölgelerini 1637-1699 $cm^{-1}$ aralığında; Gong ve ark. (2015) püskürterek ve dondurarak kurutulan yer fıstığı protein izolatında Amide I bandını 1640 $cm^{-1}$'de; Ai ve ark. (2019) [235] ise yumurta akı hidrolizatında Amide I bandını 1655.16 $cm^{-1}$'de bulmuştur. Farklı hammaddelerde bulunan bağ yapılarına göre Amide I bandının görüldüğü frekansın farklılık gösterdiği anlaşılmaktadır.

Amide II bandı 1480-1575 $cm^{-1}$ frekans aralığında (≈1550 $cm^{-1}$) görülmektedir [133,229]. Çalışmamızdaki tavuk eti tozu örneklerinde Amide II bandı tüm örnekler için 1533 $cm^{-1}$ frekansında pik vermiştir. Bu pik, N-H için bükülme titreşimi olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca Amide II bandında ≈1460 $cm^{-1}$ frekansında bir pik daha görülmektedir. Bu pikin de peptitlerden kaynaklı aminoasit kalıntılarının yan zincirlerinden kaynaklandığı belirtilmektedir [236]. Kher ve ark. (2007)'nın [237] yaptıkları çalışmada, 1454 $cm^{-1}$ 'de tespit edilen pikin, prolin aminoasidine ait olduğu belirtilmektedir. Samsalee ve Sothornvit (2017) [238] kurutulmuş domuz plazma proteini ile ilgili yaptıkları çalışmada Amide II bandını 1525-1541 $cm^{-1}$ 'de tespit etmişlerdir. Putra ve ark. (2018) [220] farklı protezlar kullanarak elde ettikleri salyangoz protein hidrolizatında Amide II bandını 1555 ve 1573 $cm^{-1}$ frekansında tespit etmişlerdir.

Amide III bandı, 1200-1400 $cm^{-1}$ frekans aralığında görülmektedir [98,227]. Bu bant suya karşı hassas olmadığından, genellikle su içeriği yüksek olan proteinlerin ikincil yapılarını belirlemede kullanılmaktadır [133]. Tavuk tozu örneklerinde 1395 $cm^{-1}$ ve 1235 $cm^{-1}$ 'de iki adet pik görülmektedir. Bunlar sırasıyla, C-N bükülme titreşimleri ve N-H bağlarını ifade etmektedir. Elavarasan ve ark. (2016) [98] balık hidrolizatlarının iki farklı yöntemle kurutulduğu çalışmalarında, fırında kurutulmuş hidrolizatlarda ve Rozi ve ark. (2018) [236] kemik iliğinde yaptıkları çalışmada bu iki piki tespit etmişlerdir. Yapılan başka çalışmalarda ise, Amide III bölgesinde 1235-1240 $cm^{-1}$ frekansında bir pik tespit edilmiştir [189,228,234,239–241].

FTIR analizi ile proteinlerin ve peptitlerin karakteristik pikleri tespit edilmeye çalışılmıştır ancak farklı protein ve peptitleri arasındaki farklılıkların daha iyi açıklanabilmesi ve yüzde miktar tespiti için daha ileri analizlerin yapılması gerektiği düşünülmektedir.

### 4.5.13. Tavuk Eti Tozu Örneklerinin Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

#### 4.5.13.1. Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri (TAMB) Sayımı

Tavuk eti tozu örneklerine ait TAMB değerleri Tablo 4.18'de görülmektedir.

**Tablo 4.18.** Tavuk eti tozu örneklerinin TAMB değerleri

| Örnek | TAMB (log CFU/g) |
|---|---|
| **T1** | $7,50\pm0,008^{b}$ |
| **T2** | $7,64\pm0,109^{b}$ |
| **T3** | $8,93\pm0,08^{a}$ |
| **T4** | $8,89\pm0,04^{a}$ |
| **Ortalama** | 8,24±0,77 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 4 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** $^{a-d}$Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir ($P<0,05$).

Sonuçlara göre, örneklerin TAMB değerleri $10^7$ - $10^8$ logaritmik birimle oldukça yüksek çıkmıştır. Sangtherapitikul ve ark. (2005) [242] dondurarak kurutulmuş tavuk protein hidrolizatında toplam aerobik bakteri sayısını 2,59-2,97 CFU/g olarak bulmuşlardır. Surówka ve Fik (1994) [243] tavuk kafalarının enzimatik hidrolizi ile elde ettikleri hidrolizatlarda başlangıç toplam aerobik mezofilik bakteri yükünü $10^3$ seviyesinde bulmuşlar, dondurarak kurutma işleminden sonra ise toplam aerobik mezofilik bakterinin tespit edilmediğini belirtmişlerdir. Bueno-Solano ve ark. (2009) [93] püskürtmeli kurutma yöntemiyle elde ettikleri karides hidrolizatı tozunda toplam mezofilik bakteri sayısını 1730 CFU/g olarak tespit etmişlerdir.

Literatürde tespit edilen tüm toplam aerobik mezofilik bakteri sonuçları, çalışmamızdan elde edilen sonuçlardan düşüktür. Sonuçların yüksek çıkmasının, üretimin laboratuvar ölçeğinde yapılmasından, aseptik koşulların tam olarak sağlanamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızın öncelikli amacı en kısa sürede, yüksek protein içerikli bir tavuk eti tozu üretmektir. Üretilen bu toz, daha sonrasında ısıl işlem görecek bir üründe kullanım bulacaktır. Bu nedenlerden dolayı, mikrobiyolojik kalitesinin geliştirilmesi için ileri çalışmaların yapılması düşünülmektedir.

#### 4.5.13.2. Maya-Küf Sayımı

Tavuk eti tozu örneklerine ait maya-küf değerleri Tablo 4.19'da görülmektedir.

**Tablo 4.19.** Tavuk eti tozu örneklerinin maya-küf değerleri

| Örnek | Maya-küf sayısı (log CFU/g) |
|---|---|
| **T1** | - |
| **T2** | - |
| **T3** | 2,51±0,15[a] |
| **T4** | 2,57±0,13[a] |
| **Ortalama** | 2,54±0,03 |

*T1: 1. Üretim tavuk eti tozu; T2: 2. Üretim tavuk eti tozu; T3:3. Üretim tavuk eti tozu; T4:4. Üretim tavuk eti tozu

**Değerler 4 paralelin ortalaması olup, ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

*** [a-d]Aynı sütunda farklı harflerle ifade edilen değerler, örneklerin karşılaştırması olup, istatistiksel olarak önemlidir (P<0,05).

Tavuk eti tozu örneklerinin maya-küf değerleri incelendiğinde, T1 ve T2 örneklerinde maya-küfe rastlanmadığı, T3 ve T4'te ise ortalama 2,54 log CFU/g maya-küf olduğu görülmektedir. Hidrolizat tozlarında yapılan çalışmalarda, örneklerin maya-küf sayıları değerlendirilmemiştir [16,22,93,242]. Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne (2009) göre üretilen tavuk eti tozları "doğrudan tüketime sunulan çözünen toz karışımlar" başlığı altında değerlendirildiğinde maya-küf limiti $10^3$'e kadar kabul görmektedir [244].

Dolayısıyla, tavuk eti tozları maya-küf sayısı yönünden tüketime uygundur denilebilir.

#### 4.5.13.3. Staphylococcus aureus Sayımı

Yapılan 4 tekerrürlü üretimde, tüm örneklerde zonlu koloniye rastlanmamıştır. Çalışmamızın sonucu, Bueno-Solano ve ark. (2009)'nın [93] elde ettiği sonuçla benzerlik göstermektedir.

# 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmada, öncelikle mekanik sıyrılmış kanatlı kemiklerinden elde edilen protein hidrolizatının dondurarak kurutma prosesinde raf sıcaklığı, liyofilizasyon sıcaklığı ve donma hızı parametrelerinin süblimasyon süresi, çözünürlük ve *in vitro* sindirilebilirlik özellikleri üzerine etkisini belirlemek amacıyla yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimum koşullar belirlendikten sonra, yapılan dört tekerrürlü üretimde elde edilen tavuk eti tozlarının ve üretimde kullanılan protein hidrolizatının fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizleri yapılmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçları şu şekilde özetlemek mümkündür:

CCD tasarımına göre yapılan optimizasyon çalışmasından süblimasyon süresi için lineer, çözünürlük için quadratik model elde edilmiştir. *In vitro* sindirilebilirlik için ise model oluşturulamamıştır.

Süblimasyon süresi yanıtı için en etkili bağımsız değişken raf sıcaklığı olarak tespit edilirken, çözünürlük yanıtı için raf sıcaklığı ve donma hızı ile raf sıcaklığı x liyofilizasyon sıcaklığı ve liyofilizasyon sıcaklığı x donma hızı interaksiyonları etkili bulunmuştur. *In vitro* sindirilebilirlik yanıtı için tüm değişkenler etkisiz bulunmuştur.

Optimum noktanın belirlenmesinde süblimasyon süresinin en düşük, çözünürlük ve in vitro sindirilebilirlik yanıtlarının en yüksek olması hedeflenmiştir. Tavuk eti tozunda optimum üretim koşulları raf sıcaklığının 15 °C, liyofilizasyon sıcaklığının -10°C ve donma hızının 2.0 °C/dk olduğu nokta olarak belirlenmiştir. İstenilebilirlik (desirability) değeri 0.812'dir.

Optimum koşullarda üretilen tavuk eti tozunun süblimasyon süresinin 590,344 dk; çözünürlük değerinin %25,625 ve *in vitro* sindirilebilirlik değerinin %23,808 olacağı öngörülmüştür.

Yapılan doğrulama denemelerinde *in vitro* sindirilebilirlik dışındaki iki yanıt için hata oranı %10'un altında bulunmuştur. Bu da elde edilen modellerle süblimasyon süresi ve çözünürlük değerlerinin tahminlenebileceğini göstermektedir.

Protein hidrolizatlarının ortalama %81 olan nem değeri dondurarak kurutma işleminden sonra ortalama %7'ye indirilmiştir. Çalışmada tavuk eti tozlarında %10'un altında hedeflenen nem içeriğine ulaşılmıştır.

Protein hidrolizatlarının çok düşük olan yağ değerleri, dondurarak kurutma işlemi sonrasında kuru maddedeki artışa bağlı olarak artmakla beraber istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Benzer şekilde protein içeriği tavuk eti tozlarında ortalama %82'ye ulaşmıştır. Bu da çalışmanın "yüksek protein içeriğine sahip tavuk eti tozu üretimi" amacına ulaşıldığını göstermektedir.

Protein hidrolizatlarının pH değerleri kullanılan enzimin çalışma aralığında bulunmuştur.

Tavuk eti tozu örneklerinin L* değerleri protein hidrolizatıyla karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Benzer şekilde dondurarak kurutma işleminden sonra örneklerin b* değerlerinde de artış gözlemlenmiştir. Kurutulan örneklerin görsel olarak da rengi protein hidrolizatlarından daha açıktır.

Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değerleri ortalama olarak 0,24 bulunmuştur. Nem değerleriyle birlikte değerlendirildiğinde, son ürün nemi yüksek olan örneklerin, su aktivitesinin de yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, kuru ürünlerde 0,3 olarak bilinen su aktivitesi değerinin altında değerler elde edildiğinden, kurutma işleminin başarılı olduğu sonucuna varılmıştır.

Tavuk eti tozu örneklerinde ortalama %0,03 oranında bağdoku saptanmıştır. Bu miktar, toplam protein oranına (%82) bakıldığında oldukça düşüktür. Bu da örneklerde bulunan proteinin kaliteli olduğuna işaret etmektedir.

Tavuk eti tozu örneklerinde %0,5 oranında kalsiyum bulunmuştur. Bu sonucun her ne kadar filtrasyon işlemi uygulansa da hidroliz sonrasında küçük kemik parçalarının hidrolizata karışmasından kaynaklanabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Örneklerin protein çözünürlüğü değerleri ortalama 0,77 mg/mL olarak tespit edilmiş ve örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır ($P > 0,05$).

Örneklerin SDS-PAGE analizi sonucunda, tüm myofibriler protein degrade olduğu belirlenmiştir. Bu da proteinlerin hidroliz ile ikincil ve üçüncül yapılarına parçalandığını göstermektedir.

Tavuk eti tozu örneklerinin fonksiyonel özelliklerinden su bağlama kapasitesi, yağ bağlama kapasitesi ve emülsifikasyon kapasitesi değerleri incelendiğinde, genel anlamda örneklerin iyi fonksiyonel özelliklere sahip olduğu görülmüştür.

Camsı geçiş sıcaklıkları, örneklerin nem içerikleri ve su aktivitesiyle ters orantılı olarak bulunmuştur.

Örneklerin ikincil protein yapıları incelendiğinde, tüm örneklerde Amide A, B, I, II ve III grupları tespit edilmiştir. Örneklerdeki pik büyüklükleri farklılık göstermektedir. Bu farklılığın farklı hammaddelerdeki hidroliz derecesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Tavuk eti tozu örneklerinde *Staphylococcus aureus*'a rastlanmamıştır. Bununla birlikte TAMB sayılarının oldukça yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca örneklerin maya-küf sayısının $10^2$ CFU/g ile Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği'ne uygun oldğu sonucuna varılmıştır.

**Sonuç olarak,** üretilen tavuk eti tozu örneklerinin protein oranının ve kalitesinin yüksek olduğu, görünüş olarak kabul edilebilir durumda olduğu ve iyi fonksiyonel özelliklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ancak örneklerin mikrobiyolojik kalitesinin daha kontrollü koşullarda üretim yapılarak geliştirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasıyla, öncelikli olarak kanatlı endüstrisi atıklarının katma değeri yüksek geri dönüşümlerinin sağlanması amaçlanmıştır. Bu anlamda, etlerin sıyrılmasından sonra bile üzerinde büyük oranda et kalan kanatlı kemikleri hammadde olarak kullanılmıştır. Literatürde farklı hammaddeler kullanılarak yapılan enzimatik hidroliz yöntemi uygulanmış ve mekanik sıyrılmış kanatlı kemiklerinden etlerin kazanımı sağlanmıştır. Böylelikle, hem üreticinin atıkları değerlendirmesi için bir alternatif oluşturulmuş, hem de tüketici için protein kalitesi ve oranı yüksek yeni bir ürün geliştirilmesi hedeflenmiştir. Ayrıca üreticilerin ithal olarak kullandıkları protein içerikli hammaddelere benzer nitelikte bir katkı maddesi üretimi yurtiçinde gerçekleştirilmiş olacak ve firmaların bu konudaki dışa bağımlılığı giderilecektir.

Kalitede en az değişimle, ürünlerden suyun süblimasyonla uzaklaştırıldığı dondurarak kurutma yönteminin kurulum ve işletme maliyetleri oldukça yüksektir. Bu nedenle, prosesin optimizasyonu büyük önem taşımaktadır. Proses koşulları değiştirilerek ürün kalitesinde kayıp olmadan sürenin kısaltılması, bu yöntemi kullanan işletmeler açısından fayda sağlayacaktır. Bu yöntemin toz ürün üretiminde kullanımının yaygınlaşmasıyla, farklı kurutma teknikleriyle elde edilen ürünlerde karşılaşılan problemler ortadan kalkacak ve tüketici açısından daha çok kabul gören ürünlerin üretimi sağlanmış olacaktır.

Çalışmada karşılaşılan ve çözüm getirilmesi gereken en önemli problem ürünlerin mikrobiyolojik yükünün fazla olmasıdır. Ürünlerin öncelikli amacı, protein sindiriminde problem yaşayan tüketicilerin de tüketebileceği bir et tozu üretmek, sporcular ve protein ağırlıklı beslenme yapan kişiler için alternatif bir ürün geliştirmektir. Bu bağlamda düşünüldüğünde, ürünün üretiminin laboratuvar koşullarından işletme ölçeğine getirilmesi aşamasında, tıpkı ilaç sanayinde olduğu gibi, dondurarak kurutma sistemi içerisine CIP sisteminin kurularak, belli periyotlarda temizlik ve dezenfeksiyon sağlanması önerilebilmektedir. Çalışmanın diğer amacı, üretilecek tavuk eti tozlarının fonksiyonel özelliklerinden yararlanılması ve piyasadaki katkı maddelerine alternatif olarak emülsifiye et ürünlerinde kullanılmasıdır. Bu bağlamda ise, yine gerekli tedbirler alınarak mikrobiyal yükün kontrol altına alınması ve sonrasında uygulanacak ısıl işlemle mikrobiyal yükün elimine edilmesi yapılabilecek uygulamalar arasında görülmektedir.

## KAYNAKLAR


[1] Anonim. Türkiye İstatistik Kurumu. 2019.www.tuik.gov.tr. (Erişim tarihi: 20.01.2019).

[2] Lasekan, A., Abu Bakar, F., Hashim, D. Potential of chicken by-products as sources of useful biological resources. Waste Management. 2013,33:552–565.

[3] Zhu, G.Y., Zhu, X., Wan, X.L., et al. Hydrolysis technology and kinetics of poultry waste to produce amino acids in subcritical water. J. Anal. Appl. Pyrolysis. 2010,88:187–191.

[4] Barbut, S. By-Products and Waste. Poultry Products Processing. An Industrial. Guide. CRC Press, 2002.

[5] Kolsarıcı, N., Candoğan, K. Mekanik ayrılmış etin kalite özellikleri ve kullanım alanları. GIDA. 2002,27:277–283.

[6] Mohamed, H.M.H., Mansour, H. A. Incorporating essential oils of marjoram and rosemary in the formulation of beef patties manufactured with mechanically deboned poultry meat to improve the lipid stability and sensory attributes. LWT - Food Science and Technology. 2012,45:79–87.

[7] Savadkoohi, S., Shamsi, K., Hoogenkamp, H., et al. Mechanical and gelling properties of comminuted sausages containing chicken MDM. Journal of Food Engineering. 2013, 117(3):255-262.

[8] Karagöz, A., Şirel, U.T. Mekanik olarak ayrılmış broiler etlerinin ( MABE ) bazı mikrobiyolojik ve kimyasal niteliklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2014,61:185–191.

[9] Pereira, A.G.T, Ramos, E.M., Teixeira, J.T, et al. Effects of the addition of mechanically deboned poultry meat and collagen fibers on quality characteristics of frankfurter-type sausages. Meat Science, 2011,89:519–525.

[10] Daros, F.G., Masson, M.L., Amico, S.C. The influence of the addition of mechanically deboned poultry meat on the rheological properties of sausage. Journal of Food Engineering. 2005,68:185–189.

[11] Anonim. Et ve Et Ürünleri Tebliği. Türk Gıda Kodeksi. 2018.

[12] Anonim. Et, Hazırlanmış Et Karışımları ve Et Ürünleri Tebliği. Türk Gıda Kodeksi. 2019.

[13] Saricaoglu, F.T., Turhan, S. Functional and Film-forming Properties of Mechanically Deboned Chicken Meat Proteins. International Jornal of Food Engineering. 2017,13:9–12.

[14] Sun, W., Zhao, M., Cui, C., et al. Effect of Maillard reaction products derived from the hydrolysate of mechanically deboned chicken residue on the antioxidant, textural and sensory properties of Cantonese sausages. Meat Science. 2010,86:276–282.

[15] Stangierski, J., Baranowska, H.M. The Influence of Heating and Cooling Process on the Water Binding in Transglutaminase-Modified Chicken Protein Preparation, Assessed Using Low-Field NMR. Food Bioprocess Technology. 2015,8:2359–2367.

[16] Rossi, D.M., Flôres, S.H., Heck, J.X., et al. Production of high-protein hydrolysate from poultry industry residue and their molecular profiles. Food Biotechnology. 2009,23:229–242.

[17] Erge, A., Zorba, Ö. Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pre-treatment. LWT-Food Science and Technology. 2018,97:205–212.

[18] Menezes, B da S., Cortez-Vega, W.R., Prentice, C. Nanocomposites films obtained from protein isolates of mechanically deboned chicken meat added with montmorillonite. Polímeros .2017,27:75–82.

[19] Jin, S.K., Choi, J.S., Choi, Y.J., et al. Development of Sausages Containing Mechanically Deboned Chicken Meat Hydrolysates. Journal of Food Science 2015,80:1563–1567.

[20] Hur, S.J., Choi, J.S., Jin, S.K. Effect of Freeze-Dried Mechanically Deboned Spent Laying Hen Hydrolysates on the Quality Characteristics of Boiled Fish Paste. Food Bioprocess Technol. [Internet]. 2016,9:1169–1176. Available from: http://dx.doi.org/10.1007/s11947-016-1707-0.

[21] Jin, S., Go, G., Jung, E., et al. Effect of Mechanically Deboned Chicken Meat Hydrolysates on the Physicochemical Properties of Imitation Fish Paste. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 2014,27:115–122.

[22] Cavalheiro, C.P., Lüdtke, F.L., Stefanello, F.S., et al. Replacement of mechanically deboned chicken meat with its protein hydrolysate in mortadella-type sausages. Food Science and Technology. 2014,34:478–484.

[23] Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D. Spray drying of chicken meat protein hydrolysate: Influence of process conditions on powder property and dryer performance. Drying Technology. 2011,29:163–173.

[24] Michailidis, P.A., Krokida, M.K. Conventional and Advanced Food Processing Technologies. First Edit. Bhattacharya, S., editor. UK: Wiley Blackwell, 2015.

[25] Fellows, P.J. Food processing technology:Principles and practiceThird Edition. Cambridge,UK: Woodhead Publishing Limited, 2009.

[26] Kırmacı V. Dondurarak Kurutma Sisteminin Tasarımı, İmalatı ve Performans Deneylerinin Yapılması. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2008 (Doktora Tezi).

[27] Daraoui, N., Dufour, P., Hammouri, H., et al. Model predictive control during the primary drying stage of lyophilisation. Control Engineering Practice. 2010,18(5):483-494

[28] Rindler, V., Schwindke, P., Heschel, I., et al. Technical description of a new low-temperature freeze-drying device. International Journal of Refrigeration. 1998,21:535–541.

[29] Sadıkoğlu, H., Özdemir, M. Dondurarak Kurutma Teknolojisi ve Evreleri. GIDA. 2003,28:643–649.

[30] Menlik, T., Kirmaci, V., Usta, H. Modeling of freeze drying behaviors of strawberries by using artificial neural network. Isi Bilimleri ve Teknolojisi Dergisi/ Journal of Thermal Science and Technology. 2009,29:11–21.

[31] Babić, J., Cantalejo, M.J., Arroqui, C. The effects of freeze-drying process parameters on Broiler chicken breast meat. LWT - Food Science and Technology. 2009,42:1325–1334.

[32] Erbay, B., Kivrak, E., Orhan, H., et al. Dondurarak Kurutulmuş Havuç Dilimlerinin Renk , Rehidrasyon Özellikleri ve Bazı Duyusal Özellikleri Üzerine Farklı Antioksidan Çözeltilerin Etkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi. 2009,13:229–236.

[33] Kodama, T., Sawada, H., Hosomi, H., et al. Optimization of Primary drying Condition for Pharmaceutical Lyophilization Using a Novel Simulation Program with a Predictive model for dry Layer Resistance. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2014,62(2):153–159.

[34] Jameel, F., Searles, J. Development and Optimization of The Freeze-Drying Processes. In: Jameel, F, Hershenson, S. (Eds). Formulation and Process Development Strategies for Manufacturing Biopharmaceuticals. John Wiley & Sons, Inc, 2010. p. 763–794.

[35] Hammami, C., René, F., Marin, M. Process – quality optimization of the vacuum freeze- drying of apple slices by the response surface method. International Journal of Food Science and Technology. 1999,34:145–160.

[36] Ma, Y., Wu, X., Zhang, Q., et al. Key composition optimization of meat processed protein source by vacuum freeze-drying technology. Saudi Journal of Biological Sciences. 2018,25:724–732.

[37] Bogdani, E., Vessot, S., Andrieu, J. Optimization of Freeze-Drying Cycles of Pharmaceutical Organic Co-Solvent-Based Formulations Using the Design Space Methodology. Drying Technology. 2012,30:1297–1306.

[38] Abdulkader, A.M., Ghawi, A.M., Alaama, M., Awang, M., Merzouk, A. Characterization and optimization of lyophilization and storage conditions of Leech saliva extract from the tropical leech Hirudinaria manillensis. Pakhistan Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013,26:525–535.

[39] Mead, G.C., Barker, D., Lankhaar, J., et al. Poultry meat processing and quality. Mead, G.C., editor. Poultry Meat Processing and Quality. CRC Woodhead Publishing Limited, 2004.

[40] Barbin, D.F., Kaminishikawahara, C.M., Soares, A.L., et al. Prediction of chicken quality attributes by near infrared spectroscopy. Food Chemistry. 2015,168:554–560.

[41] Tan, S.M., De Kock, H.L., Dykes, G.A., et al. Enhancement of poultry meat: Trends, nutritional profile, legislation and challenges. South African Journal of Animal Sciences. 2018,48:199.

[42] Anonim. Sources of Meat. Food and Agriculture Organization of the United Nations.2014.

[43] Bordoni, A., Danesi, F. Poultry Meat Nutritive Value and Human Health. In: Petracci, M., Berri, C. (Eds). Poultry Quality Evaluation. UK: Woodhead Publishing Limited, 2017. p. 279–290.

[44] Padilla, S. Quality Characteristics of Poultry Products. Handbook of Poultry Science and Technology. Vol. 1 Primary Processing. 2010. p. 453–466.

[45] Cui, C., Zhou, X., Zhao, M., et al. Effect of thermal treatment on the enzymatic hydrolysis of chicken proteins. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 2009,10:37–41.

[46] Anonim. Tavuk eti. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. 2018.

[47] Anonim. Kümes Hayvancılığı Üretimi, Kasım 2018. Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). 2019. www.tuik.gov.tr (Erişim tarihi: 20.01.2019)

[48] Soriano-Santos, J. Chemical Composition and Nutritional Content of Raw Poultry Meat. In: Guerrero-Legarreta, I., Hui, Y.H. (Eds). Handbook of Poultry Science and Technology. Vol. 1 Primary Processing. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2010. p. 467–489.

[49] Mora, L., Reig, M., Toldrá, F. Bioactive peptides generated from meat industry by-products. Food Research International. 2014,65:344–349.

[50] Barbut S. Waste Treatment and by-products. Science of Poultry Meat Processing. 2015. p. 31.

[51] Bharat Helkar, P., Sahoo, A. Review: Food Industry By-Products used as a Functional Food Ingredients. International Journal of Waste Resources. [Internet]. 2016,6.

[52] Toldrá, F., Mora, L., Reig, M. New insights into meat by-product utilization. Meat Science. 2016,120:54–59.

[53] Martínez-Alvarez, O., Chamorro, S., Brenes, A. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. Food Research International. 2015,73:204–212.

[54] Lafarga, T., Hayes, M. Bioactive peptides from meat muscle and by-products: Generation, functionality and application as functional ingredients. Meat Science. 2014,98:227–239.

[55] Jayathilakan, K., Sultana, K., Radhakrishna, K., et al. Utilization of byproducts and waste materials from meat, poultry and fish processing industries: A review. Journal of Food Science and Technology. 2012,49:278–293.

[56] Centenaro, G.S., Mellado, M.S., Prentice-Hernández, C. Antioxidant activity of protein hydrolysates of fish and chicken bones. Advance Journal of Food Science and Technology. 2011,3:280–288.

[57] Di Bernardini, R., Harnedy, P., Bolton, D., et al. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. Food Chemistry. 2011,124:1296–1307.

[58] Toldrá, F., Aristoy, M.C., Mora, L., et al. Innovations in value-addition of edible meat by-products. Meat Science. 2012,92(3):290-296.

[59] Ockerman, H.W., Hansen, C.L. Animal by-product processing. Ellis Horwood Ltd. England, 1988.

[60] Brandelli, A., Sala, L., Kalil, S.J. Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products. Food Research International. 2015,73:3–12.

[61] Ofori, J.A., Hsieh, Y.P. Blood-derived products for human consumption. Revelation and Science. 2011,1:14–21.

[62] Mora, L., Toldrá-Reig, F., Reig, M., et al. Possible Uses of Processed Slaughter Byproducts. Sustainable Meat Production and Processing Elsevier Inc., 2019. p. 145–160.

[63] Cheng, F.Y., Liu, Y.T., Wan, T.C., et al. The development of angiotensin I-converting enzyme inhibitor derived from chicken bone protein. Animal Science Journal. 2008,79:122–128.

[64] Toldrá, F., Aristoy, M.C., Mora, L., et al. Innovations in value-addition of edible meat by-products. Meat Science. 2012,92:290–296.

[65] Sams AR. Poultry meat processing. In: Sams AR, editor. CRC Press. CRC

Press, 2000.

[66] Kolsarıcı, N., Ensoy, Ü., Candoğan, K., et al. Soğuk ve Dondurulmuş Depolamanın Mekanik Ayrılmış Tavuk Etlerinin Kimyasal ve Mikrobiyolojik Kalitesine Etkisi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi. 2004,2:2–13.

[67] Ockerman, H.W., Hansen, C.L. Animal By-Products Processing and Utilization. USA: CRC Press LLC, 2000.

[68] Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D. Optimization of the enzymatic hydrolysis of chicken meat using response surface methodology. Journal of Food Science. 2008,73.

[69] Bhaskar, N., Modi, V.K., Govindaraju, K., et al. Utilization of meat industry by products: Protein hydrolysate from sheep visceral mass. Bioresources Technology. 2007,98:388–394.

[70] Kristinsson, H.G., Rasco, B.A. Fish protein hydrolysates: Production, biochemical, and functional properties. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2000, 40(1):43-81.

[71] Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., et al. Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. Journal of Animal Science and Biotechnology. 2017,8:1–13.

[72] Aspevik, T., Oterhals, Å., Rønning, S.B., et al. Valorization of Proteins from Co- and By-Products from the Fish and Meat Industry. Topics in Current Chemistry. 2017,375:53.

[73] Tavano, O.L. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2013, 90:1-11.

[74] Fonkwe, L.G., Singh, R.K. Protein recovery from mechanically deboned turkey residue by enzymic hydrolysis. Process Biochemistry. 1996,31:605–616.

[75] de Queiroz, A. L. M., Bezerra, T.K.A., de Freitas Pereira, S., et al. Functional protein hydrolysate from goat by-products: Optimization and characterization studies. Food Bioscience. 2017,20:19–27.

[76] Taheri, A., Anvar, S.A.A., Ahari, H., et al. Comparison the functional properties of protein Hydrolysates from poultry byproducts and rainbow trout (Onchorhynchus mykiss) viscera. Iranian Journal of Fisheries Sciences. 2013,12:154–169.

[77] Gbogouri, G.A., Linder, M., Fanni, J., et al. Influence of Hydrolysis Degree on the Functional Properties of Salmon Byproducts Hydrolysates. Journal of Food Science. 2004,69:C615–C622.

[78] Quaglia, G.B., Orban, E. Enzymic solubilisation of proteins of sardine (sardina pilchardus) by commercial proteases. ournal of the Science of Food

and Agriculture. 1987,38:263–269.

[79] Liaset, B., Lied, E., Espe, M. Enzymatic hydrolysis of by-products from the fish-filleting industry, chemical characterisation and nutritional evaluation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2000,80:581–589.

[80] Guerard, F., Guimas, L., Binet, A. Production of tuna waste hydrolysates by a commercial neutral protease preparation. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.2002,19–20:489–498.

[81] Guérard, F., Dufossé, L., De La Broise, D., et al. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (Thunnus albacares) wastes using Alcalase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. 2001,11:1051–1059.

[82] Abdul-Hamid, A., Bakar, J., Bee, G.H. Nutritional quality of spray dried protein hydrolysate from Black Tilapia (Oreochromis mossambicus). Food Chemistry. 2002,78:69–74.

[83] Dong, X.B., Li, X., Zhang, C.H., et al. Development of a novel method for hot-pressure extraction of protein from chicken bone and the effect of enzymatic hydrolysis on the extracts. Food Chemistry. 2014.

[84] Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D. Effect of maltodextrin and gum arabic on water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken meat hydrolysate protein. Journal of Food Engineering. 2009,91:287–296.

[85] Šližyte, R., Daukšas, E., Falch, E., et al. Characteristics of protein fractions generated from hydrolysed cod (Gadus morhua) by-products. Process Biochemistry. 2005,40:2021–2033.

[86] de Barros Soares, L.H., Marques, D.N., Albuquerque, P.M., et al. Influence of some commercial proteases and enzymatic associations on the hydrolytic solubilization of deboned poultry meat proteins. Food Science and Technology International. 2000,6:301–306.

[87] Kristinsson, H.G., Rasco, B.A. Biochemical and Functional Properties of Atlantic Salmon ( Salmo salar ) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000,48:657–666.

[88] Kurozawa, L.E., Morassi, A.G., Vanzo, A.A., et al. Influence of spray drying conditions on physicochemical properties of chicken meat powder. Drying Technology. 2009,27:1248–1257.

[89] Silva, V.M., Kurozawa, L.E., Park, K.J., et al. Water Sorption and Glass Transition Temperature of Spray-Dried Mussel Meat Protein Hydrolysate. Drying Technology. 2012,30:175–184.

[90] Ziaee, A., Albadarin, A.B., Padrela, L, et al. Spray drying of pharmaceuticals and biopharmaceuticals: Critical parameters and experimental process

optimization approaches. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 2019,127:300–318.

[91] Chen, C., Chi, Y.J., Xu, W. Comparisons on the Functional Properties and Antioxidant Activity of Spray-Dried and Freeze-Dried Egg White Protein Hydrolysate. Food Bioprocess Technology. 2012,5:2342–2352.

[92] Sathivel, S., Yin, H., Bechtel, P.J., et al. Physical and nutritional properties of catfish roe spray dried protein powder and its application in an emulsion system. Journal of Food Engineering. 2009,95:76–81.

[93] Bueno-Solano, C., López-Cervantes, J., Campas-Baypoli, O.N., et al. Chemical and biological characteristics of protein hydrolysates from fermented shrimp by-products. Food Chemistry. 2009,112:671–675.

[94] Ritchie, A.H., Mackie, I.M. Preparation of fish protein hydrolysates. Animal Feed Science and Technology. 1982,7:125–133.

[95] Nilsang, S., Lertsiri, S., Suphantharika, M., et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. Journal of Food Engineering. 2005,70:571–578.

[96] Hoyle, N.T., Merritt, J.H. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (Clupea harengus). Journal of Food Science. 1994,59:76–79.

[97] Liaset, B., Julshamn, K., Espe, M. Chemical composition and theoretical nutritional evaluation of the produced fractions from enzymic hydrolysis of salmon frames with Protamex$^{TM}$. Process Biochemistry.2003,38:1747–1759.

[98] Elavarasan, K., Shamasundar, B.A., Badii, F., et al. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity and structural properties of oven- and freeze-dried protein hydrolysate from fresh water fish (Cirrhinus mrigala). Food Chemistry. 2016,206:210–216.

[99] Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D. Effect of carrier agents on the physicochemical properties of a spray dried chicken meat protein hydrolysate. . Journal of Food Engineering. 2009,94:326–333.

[100] Linarès, E., Larré, C., Popineau, Y. Freeze- or spray-dried gluten hydrolysates. 1. Biochemical and emulsifying properties as a function of drying process. . Journal of Food Engineering. 2001,48:127–135.

[101] Harnkarnsujarit, N., Kawai, K., Watanabe, M., et al. Effects of freezing on microstructure and rehydration properties of freeze-dried soybean curd. Journal of Food Engineering. 2016,184:10–20.

[102] Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S.G., et al. Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat ( Clupeonella engrauliformis ) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. Journal of Science and Food Agriculture. 2013,93:1718–1726.

[103] Onuh, J.O., Girgih, A.T, Aluko, R.E, et al. In vitro antioxidant properties of chicken skin enzymatic protein hydrolysates and membrane fractions. Food Chemistry. 2014,150:366–373.

[104] Fik, M., Surowka, K. Preparation and Properties of Protein Concentrate from Broiler Chicken Heads. Journal of Science and Food Agriculture. 1986,37:445–454.

[105] Šližyte, R., Mozuraityte, R., Martínez-Alvarez, O., et al. Functional, bioactive and antioxidative properties of hydrolysates obtained from cod (Gadus morhua) backbones. Process Biochemistry. 2009,44:668–677.

[106] Jridi, M., Lassoued, I., Nasri, R., et al. Characterization and Potential Use of Cuttlefish Skin Gelatin Hydrolysates Prepared by Different Microbial Proteases. Biomedical Research International. 2014,2014:1–14.

[107] Liu, H., Li, Y., Diao, X, et al. Effect of porcine bone protein hydrolysates on the emulsifying and oxidative stability of oil-in-water emulsions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2018,538:757–764.

[108] Jemil, I., Jridi, M., Nasri, R., et al. Functional, antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from fish meat fermented by Bacillus subtilis A26. Process Biochemistry. 2014,49:963–972.

[109] Pacheco-Aguilar, R., Mazorra-Manzano, M.A., Ramírez-Suárez, J.C. Functional properties of fish protein hydrolysates from Pacific whiting(Merluccius productus) muscle produced by a commercial protease. Food Chemistry. 2008,109:782–789.

[110] He, S., Franco, C., Zhang, W. Process optimisation and physicochemical characterisation of enzymatic hydrolysates of proteins from co-products of Atlantic Salmon ( Salmo salar ) and Yellowtail Kingfish ( Seriola lalandi ). International Journal of Food Science and Technology. 2012,47:2397–2404.

[111] Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., et al. Effects of Spray Drying and Freeze Drying on the Properties of Protein Isolate from Rice Dreg Protein. Food Bioprocess Technology. 2013,6:1759–1769.

[112] Berk, Z. Freeze Drying (Lyophilization) and Freeze Concentration. Food Process Engineering and Technology. 2013,567–581.

[113] Nireesha, G.R., Divya, L., Sowmya, C., et al. Lyophilization / Freeze Drying - An Review. International Journal of Novel Trends in Pharmaceutical Sciences. 2013,3:87–98.

[114] Sadikoglu, H., Ozdemir, M., Seker, M. Freeze-Drying of Pharmaceutical Products: Research and Development Needs. Drying Technology. 2006,24:849–861.

[115] Rapolu, Bharath kumar. A Review on Freeze Drying Process and Technologies. International Journal of Pharmacy&Technology. 2012,4:2215–2243.

[116] Mujumdar, A.S., Law, C.L., Woo, M.W. Freeze Drying: Effects on Sensory and Nutritional Properties. Encyclopedia of Food Health. 1st ed. Elsevier, 2016. p. 99–103.

[117] Fellows, P.J. Freeze drying and freeze concentration. Food Processing Technology: Principles and Practice. Woodhead Publishing Limited, 2009. p. 687–699.

[118] Hua, T-C,, Liu, B-L,, Zhang, H. Freeze-drying of pharmaceutical and food products. Woodhead Publishing Limited, 2009.

[119] Lombraña, J.I. Fundamentals and Tendencies in Freeze- Drying of Foods. In: Ratti, C, editor. Advances in Food Dehydration. USA: Taylor & Francis Group, LLC, 2009. p. 209–235.

[120] Bando, K., Kansha, Y., Ishizuka, M., et al. Innovative freeze-drying process based on self-heat recuperation technology. Journal of Cleaner Production 2017,168:1244–1250.

[121] Lopez-Quiroga, E., Antelo, L.T., Alonso, A.A. Time-scale modelling and optimal control of freeze-drying. Journal of Food Engineering. 2012,111:655–666.

[122] Ratti, C. Freeze drying for food powder production. In: Bhandari, B.R., Bansal, L.N., Zhang, M., et al., editors. Handbook of Food Powders. Elsevier, 2013. p. 57–84.

[123] Ratti, C. Freeze-drying Process Design. In: Ahmed, J., Rahman, M.S. (Eds). Handbook of Food Process Design. UK: Wiley Blackwell, 2012. p. 621–647.

[124] Abdelwahed, W., Degobert, G., Stainmesse E.S., et al. Freeze-drying of nanoparticles: Formulation, process and storage considerations. Advanced Drug Delivery Reviews. 2006,58:1688–1713.

[125] Liu, J. Physical Characterization of Pharmaceutical Formulations in Frozen and Freeze-Dried Solid States: Techniques and Applications in Freeze-Drying Development. Pharmaceutical Development Technology. 2006,11:3–28.

[126] Pikal, M.J., Shah, S. The collapse temperature in freeze drying : Dependence on measurement methodology and rate of water removal from the glassy phase. International Journal of Pharmaceuticals. 1990,62:165–186.

[127] Sahni, E.K, Pikal, M.J. Modeling the Secondary Drying Stage of Freeze Drying : Development and Validation of an Excel-based Model. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016,1–13.

[128] Kochs, M., Körber, Ch.Heschel, I.Nunner, B. The influence of the freezing process on vapour transport during sublimation in vacuum- of macroscopic samples. International Journal of Heat and Mass Transfer. 1993,36.

[129] Adams, G. The Principles of Freeze-Drying. In: Day, J.G., Stacey, G.N, (Eds). Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols. Second Edi. Totowa,New Jersey: Humana Press Inc., 2007. p. 15–35.

[130] Jennings, T.A. Lyophilization-Introduction and Basic Principles. Informa Healthcare USA, Inc., 2008.

[131] Barley, J. Basic Principles of Freeze Drying. 2009.

[132] Stapley A. Freeze Drying. Frozen Food Science and Technology. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd., 2008. p. 248–275.

[133] Wahl, V., Khinast, J., Paudel, A. Lyophilized protein powders: A review of analytical tools for root cause analysis of lot-to-lot variability. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2016,82:468–491.

[134] Ibarz, A., Barbosa-Cánovas, G.V. Unit Operations in Food Engineering. USA: CRC Press LLC, 2003.

[135] Oetjen, G. Freeze-Drying. 3rd ed. Germany: Wiley-VCH, 1999.

[136] Pikal, M.J. Freeze-Drying of Proteins: Process, Formulation and Stability. In: Cleland, J., editor. Formulation and Delivery of Proteins and Peptides. Washington, DC, USA: American Chemical Society, 1994. p. 120–133.

[137] Morais, A.R.D.V., Alencar, É.D.N., Xavier, Júnior F.H., et al. Freeze-drying of emulsified systems: A review. International Journal of Pharmacy. 2016,503:102–114.

[138] Patil, V.V., Dandekar, P.P, Patravale, V.B., et al. Freeze drying: Potential for powdered nanoparticulate product. Drying Technology. 2010,28:624–635.

[139] Franks, F. Freeze-drying of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals. UK: The Royal Society of Chemistry, 2007.

[140] Depaz, R.A., Pansare, S., Patel, S.M. Freeze-Drying above the Glass Transition Temperature in Amorphous Protein Formulations while Maintaining Product Quality and Improving Process Efficiency. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016,105:40–49.

[141] Daoussi, R., Vessot, S., Andrieu, J., et al. Sublimation kinetics and sublimation end-point times during freeze-drying of pharmaceutical active principle with organic co-solvent formulations. Chemical Engineering Research and Design. 2009,87:899–907.

[142] Luo, N., Shu, H. Analysis of Energy Saving during Food Freeze Drying. Procedia Engineering. 2017,205:3763–3768.

[143] Gaidhani, K.A., Harwalkar, M., Bhambere, D., et al. Lyophilization/Freeze Drying-A Review. World Journal of Pharmaceutical Research. 2015,4:516–543.

[144] Searles, J.A., Carpenter, J.F., Randolph, T.W. Annealing to Optimize the Primary Drying Rate , Reduce Freezing-Induced Drying Rate Heterogeneity , and in Pharmaceutical Lyophilization Determine Tg. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2001,90:872–887.

[145] Ceballos, A.M., Giraldo GI, Orrego CE. Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. Journal of Food Engineering. 2012,111:360–365.

[146] Searles, J.A., Carpenter, J.F, Theodore, W.R. The ice nucleation temperature determines the primary drying rate of lyophilisation for samples frozen on a temperature controlled shelf. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2001,90:860–871.

[147] Grant, Y., Matejtschuk, P., Dalby, P.A. Rapid optimization of protein freeze-drying formulations using ultra scale-down and factorial design of experiment in microplates. Biotechnology and Bioengineering. 2009,104:957–964.

[148] Hottot, A., Vessot, S., Andrieu, J. A direct characterization method of the ice morphology. Relationship between mean crystals size and primary drying times of freeze-drying processes. Drying Technology. 2004,22:2009–2021.

[149] De Beer, T.R.M., Wiggenhorn, M., Hawe, A., et al. Optimization of a pharmaceutical freeze-dried product and its process using an experimental design approach and innovative process analyzers. Talanta. 2011,83:1623–1633.

[150] Chang, B.S., Patro, S.Y. Freeze-drying Process Development for Protein Pharmaceuticals. In: Constantino, H.R., Pikal, M.J.(Eds). Lyophilization of Biopharmaceuticals. American Association of Pharmaceutical Scientists, 2004. p. 113–138.

[151] Xiang, J., Hey, J.M., Liedtke, V., et al. Investigation of freeze – drying sublimation rates using a freeze – drying microbalance technique. International Journal of Pharmacy. 2004,279:95–105.

[152] Goshima, H., Do, G., Nakagawa, K. Impact of Ice Morphology on Design Space of Pharmaceutical Freeze-Drying. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016,105:1920–1933.

[153] Esfandiary, R., Gattu, S.K., Stewart, J.M., et al. Effect of Freezing on Lyophilization Process Performance and Drug Product Cake Appearance. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016,105:1427–1433.

[154] Oddone, I., Pisano, R., Bullich, R., et al. Vacuum-Induced Nucleation as a Method for Freeze-Drying Cycle Optimization. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2014,53:18236–18244.

[155] Barresi, A.A., Ghio, S., Fissore, D., et al. Freeze Drying of Pharmaceutical Excipients Close to Collapse Temperature: Influence of the Process Conditions on Process Time and Product Quality. Drying Technology. 2009,27:805–816.

[156] Searles, J.A. Freezing and Annealing Phenomena in Lyophilization. In: Rey, L., May, J.C., (Eds). Freeze-Drying / Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products. USA: Informa Healthcare USA, Inc., 2010. p. 52–81.

[157] Sadikoglu, H., Ozdemir, M., Seker, M. Optimal Control of the Primary Drying Stage of Freeze Drying of Solutions in Vials Using Variational Calculus. Drying Technology. 2003,21:1307–1331.

[158] Sadikoglu, H., Liapis, A.I., Grosser, O.K. Optimal control of the primary and secondary drying stages of bulk solution freeze drying in trays. Drying Technology. 1998,16:399–431.

[159] Tang, X.C., Pikal, M.J. Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals : Practical Advice. Pharmaceutical Research. 2004,21:191–200.

[160] Passot, S., Fonseca, F., Barbouche, N., et al. Effect of product temperature during primary drying on the long-term stability of lyophilized proteins. Pharmaceutical Development and Technology. 2007,12:543–553.

[161] Fissore D, Pisano R. Computer-Aided Framework for the Design of Freeze-Drying Cycles: Optimization of the Operating Conditions of the Primary Drying Stage. Processes. 2015,3:406–421.

[162] Pikal, M.J., Bogner, R., Mudhivarthi, V., et al. Freeze-Drying Process Development and Scale-Up: Scale-Up of Edge Vial Versus Center Vial Heat Transfer Coefficients, Kv. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2016,105:3333–3343.

[163] Aschenbrenner, M., Foerst, P., Kulozik, U. Freeze-drying of Probiotics. In: Advances of Probiotic Technology. CRC Press, 2015. p. 213–241.

[164] Chen, K-N, Chen, M-J. Statistical Optimization: Response Surface Methodology. In: Erdoğdu, F., editor. Optimizaiton in Food Engineering. New York: CRC Press, 2009. p. 115–140. Available from: http://dx.doi.org/10.1201/9781420061420.ch20.

[165] Devres, Y.O., Pala, M. Gıda Sanayinde Matematiksel Modellemenin Önemi ve Uygulama Alanları. GIDA. 1993,18:173–181.

[166] Eren, I., Kaymak-Ertekin, .F. Optimization of osmotic dehydration of potato using response surface methodology. Journal of Food Engineering. 2007,79:344–352.

[167] Myers, R.H., Montgomery, D.C., Anderson-Cook, C.M. Response Surface Methodology. 3rd ed. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2009.

[168] Bezerra, M.A., Santelli, R.E, Oliveira, E.P., et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. Talanta. 2008,76:965–977.

[169] Kataria, N., Garg, V.K. Optimization of Pb (II) and Cd (II) adsorption onto ZnO nanoflowers using central composite design: isotherms and kinetics modelling. Journal of Molecular Liquids. 2018.

[170] Yu, Y.L., Li, Y.N, Zhang, Y., et al. Optimization and characterization of deoxypodophyllotoxin loaded mPEG-PDLLA micelles by central composite design with response surface methodology. Chinese Journal of Naturel Medicines. 2018,16:471–480.

[171] Hinkelmann, K., Kempthorne, O. Design and Analysis of Experiments Volume 1. Introduction to Experimental Design. 2nd ed. New Jersey: John Wiley & Sons Inc., 2008.

[172] Koç, B., Kaymak-Ertekin F. Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları. GIDA. 2010,35:63–70.

[173] Castillo, E del. Process Optimization:A Statical Approach. USA: Springer Science + Business Media, LLC, 2007.

[174] Salazar, N.A., Alvarez, C., Orrego, C.E. Optimization of freezing parameters for freeze-drying mango (Mangifera indica L.) slices. Drying Technology.2018,36:192–204.

[175] Shu, G., Zhang, B., Hui, Y., et al. Optimization of cryoprotectants for Streptococcus thermophilus during freeze-drying using Box-Behnken experimental design of response surface methodology. Emirates Journal of Food Agriculture. 2017,29:256–263.

[176] Shu, G., Wang, Z., Chen, L., et al. Characterization of freeze-dried Lactobacillus acidophilus in goat milk powder and tablet: Optimization of the composite cryoprotectants and evaluation of storage stability at different temperature. LWT - Food Science and Technology. 2018,90:70–76.

[177] Diniz, F.M., Martin, A.M. Use of response surface methodology to describe the combined effects of pH, temperature and E/S ratio on the hydrolysis of dogfish (Squalus acanthias) muscle. International Journal of Food Science and Technology 1996,31:419–426.

[178] Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., et al. Optimization of enzymatic hydrolysis

of visceral waste proteins of Catla (Catla catla) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. Bioresource Technology. 2008,99:335–343.

[179] AOAC. Official Methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, 2007.

[180] Rathod, K.S., Ambadkar, R.K., Naveena, B.M., et al. Quality Analysis of Vacuum Packed Super Chilled Chicken Breast at 24 hour Storage. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017,6:675–683.

[181] Deng, Y., Luo, Y., Wang, Y., et al. Effect of different drying methods on the myosin structure, amino acid composition, protein digestibility and volatile profile of squid fillets. Food Chemistry. 2015,171:168–176.

[182] Anonim. TS 3606. Gıdalar - Metalik elementlerin tayini. Türk Standartları Enstitüsü. 2008,

[183] Claeys, E., Uytterhaegen, L., Buts, B.D.D. Quantification of Beef Myofibrillar Proteins by SDS PAGE. Meat Science. 1995,177–193.

[184] Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry. 1976,72:248–254.

[185] Laemmli, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970,227:680–685.

[186] Kim, Y.A., Ba, H, Van, Dashdorj, D., et al. Effect of High-pressure Processing on the Quality Characteristics and Shelf-life Stability of Hanwoo Beef Marinated with Various Sauces. Korean Journal of Food Science and Animal Resources. 2018,38:679–692.

[187] Gong KJ, Shi AM, Liu HZ, et al. Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate. Journal of Food Engineering. 2015,170:33–40.

[188] Mune Mune MA, Minka SR, Mbome IL. Optimising functional properties during preparation of cowpea protein concentrate. Food Chemistry. 2014,154:32–37.

[189] Kanwate, B.W., Ballari, R. V., Kudre, T.G. Influence of spray-drying, freeze-drying and vacuum-drying on physicochemical and functional properties of gelatin from Labeo rohita swim bladder. International Journal of Biology Macromolecules. 2019,121:135–141.

[190] BAM. Bacteriological Analytical Manual: Aerobic Plate Count. Ed. 8, Revis. A. 2001,Chapter 3.

[191] BAM. Bacteriological Analytical Manual:Staphylococcus aureus. 2001,Chapter 12.

[192] BAM. Bacteriological Analytical Manual:Yeasts, Molds and Mycotoxins. 2001,Chapter 18.

[193] SPSS 24.0. Statistical Package for the Social Sciences. Chicago, IL, USA: IBM, 2015.

[194] Cumhur, Ö., Şeker, M., Sadıkoğlu, H. Freeze drying of turkey breast meat : Mathematical modeling and estimation of transport parameters. Drying Technology. 2016,34:584–594.

[195] Antelo, L.T., Passot, S., Fonseca, F., et al. Toward Optimal Operation Conditions of Freeze-Drying Processes via a Multilevel Approach. Drying Technology. An International Journal. 2012,30:1432–1448.

[196] Khairnar, S., Kini, R., Harwalkar, M., et al. A Review on Freeze Drying Process of Pharmaceuticals. International Journal of Research in Pharmacy & Science. 2013,4:76–94.

[197] Ohori R, Akita T, Yamashita C. Effect of temperature ramp rate during the primary drying process on the properties of amorphous-based lyophilized cake , Part 2 : Successful lyophilization by adopting a fast ramp rate during prima. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018,130:83–95.

[198] Himmetagaoglu, A.B., Erbay, Z. Effects of spray drying process conditions on the quality properties of microencapsulated cream powder. International Dairy Journal. 2019,88:60–70.

[199] Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., et al. Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine “Carabao” var.) powder. Journal of Food Engineering. 2012,111:135–148.

[200] Jafari SM, Ghalenoei MG, Dehnad D. Influence of spray drying on water solubility index, apparent density, and anthocyanin content of pomegranate juice powder. Powder Technology. 2017,311:59–65.

[201] Hefter, G.T., Tomkins, R.P.T. (Eds). The Experimental Determination of Solubilities. England: John Wiley & Sons Inc., 2003.

[202] Lorenz, E.K., Barone, R.S.C., Yamamoto, F.Y., et al. Dietary protein hydrolysates from animal by-products: Digestibility and enzymatic activity for Dourado Salminus brasiliensis. Journal of Aquatic Food Product Technology. 2018,27:236–246.

[203] Ktari, N., Jridi, M., Bkhairia, I., et al. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from muscle of zebra blenny (Salaria basilisca) obtained with different crude protease extracts. Food Research International. 2012,49:747–756.

[204] Balti, R., Bougatef, A., Ali, N.E.H, et al. Influence of degree of hydrolysis on functional properties and angiotensin I-converting enzyme-inhibitory activity of protein hydrolysates from cuttlefish (Sepia officinalis) by-products. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2010, 90:2006–2014.

[205] Muzaifa, M., Safriani, N., Zakaria, F. Production of protein hydrolysates from fish by-product prepared by enzymatic hydrolysis. Aquacultur, Aquarium, Conservation& Legislation. 2012,5:36–39.

[206] Subramaniam, S., Bechtel, P.J., Babbitt, J.K., et al. Functional, Nutritional, and Rheological Properties of Protein Powders from Arrowtooth Flounder and their Application in Mayonnaise. Journal of Food Science. 2005,70.

[207] Thiansilakul, Y., Benjakul, S., Shahidi, F. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (Decapterus maruadsi). Food Chemistry. 2007,103:1385–1394.

[208] Chen, X.D., Mujumdar, A.S. (Eds). Drying technologies in food processing. International Journal of Food Microbiology. UK: Blackwell Publishing Ltd., 2008.

[209] Henao-Ardila, A., Quintanilla-Carvajal, M.X., Moreno, F.L. Combination of freeze concentration and spray drying for the production of feijoa (Acca sellowiana b.) pulp powder. Powder Technology. 2019,344:190–198.

[210] Tontul, I., Topuz, A. Spray-drying of fruit and vegetable juices: Effect of drying conditions on the product yield and physical properties. Trends Food Sci. Technol. 2017,63:91–102.

[211] Song, D.H., Choi, J.H., Choi, Y.S., et al. Effects of mechanically deboned chicken meat (MDCM) and collagen on the quality characteristics of semi-dried chicken jerky. Korean J. Food Sci. Anim. Resour. 2014,34:727–735.

[212] Henckel, P., Vyberg, M., Thode, S., et al. Assessing the quality of mechanically and manually recovered chicken meat. LWT - Food Sci. Technol. 2004,37:593–601.

[213] Khong, N.M.H., Yusoff, F.M., Jamilah, B., et al. Nutritional composition and total collagen content of three commercially important edible jellyfish. Food Chem. 2016,196:953–960.

[214] Ignat'eva, N.Y., Danilov, N.A., Averkiev, S.V., et al. Determination of hydroxyproline in tissues and the evaluation of the collagen content of the tissues. J. Anal. Chem. 2007,62:51–57.

[215] Wubshet, S.G., Wold, J.P., Böcker, U., et al. Raman spectroscopy for quantification of residual calcium and total ash in mechanically deboned chicken meat. Food Control. 2019,95:267–273.

[216] Field, R.A. Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. Meat Science. 2000,55:255–264.

[217] Hay, J.D., Currie, R.W., Wolfe, F.H. Polyacrylamide Disc Gel Electrophoresis of Fresh and Aged Chicken Muscle Proteins in Sodium Dodecylsulfate. Journal of Food Science. 1973,38:987–990.

[218] Porzio, M.A., Pearson, A.M. Improved Resolution of Myofibrillar Proteins With Sodium. Biochimica et Biophysica Acta - Protein Structure. 1977,490:27–34.

[219] Peters, J.P.C.M, Vergeldt, F.J., Boom, R.M., et al. Water-binding capacity of protein-rich particles and their pellets. Food Hydrocolloids. 2017,

[220] Putra, S.N.K.M., Ishak, N.H., Sarbon, N.M. Preparation and characterization of physicochemical properties of golden apple snail (Pomacea canaliculata) protein hydrolysate as affected by different proteases. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2018,13:123–128.

[221] Witono, Y., Taruna, I., Windrati, W.S., et al. 'Wader' (Rasbora jacobsoni) Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional Properties. Agriculture and Agricultural Science Procedia. 2016,9:482–492.

[222] Khalloufi, S., El-Maslouhi, Y., Ratti, C. Mathematical Model for Prediction of Glass Transition Temperature of Fruit Powders. Jornal of Food Science. 2000,65:842–848.

[223] Aguilera, J. M., Levi, G., Karel, M. Effect of Water Content on the Glass Transition and Caking of Fish Protein Hydrolyzates. Biotechnology Progress. 1993,9:651–654.

[224] Shrestha, A. K, Howes, T., Adhikari, B. P., et al. Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. LWT - Food Science and Technology. 2007,40:1593–1600.

[225] Medina-Vivanco, M., Sobral, P.J.A, Sereno, A. M, et al. Denaturation and the glass transition temperatures of myofibrillar proteins from osmotically dehydrated tilapia: Effect of sodium chloride and sucrose. International Journal of Food Properties. 2007,10:791–805.

[226] Chen, Y., Jiang, S., Chen, Q., et al. Antioxidant activities and emulsifying properties of porcine plasma protein hydrolysates modified by oxidized tannic acid and oxidized chlorogenic acid. Process Biochemistry. 2018,0–1.

[227] Barth, A. Infrared spectroscopy of proteins. Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics. 2007,1767:1073–1101.

[228] Nikoo, M., Xu, X., Benjakul, S., et al. Characterization of gelatin from the skin of farmed Amur sturgeon Acipenser schrenckii. International Aquatic Research. 2011,3:135–145.

[229] Kong, J., Yu, S. Fourier transform infrared spectroscopic analysis of protein secondary structures. Acta Biochimica et Biophysica Sinica. (Shanghai). 2007,39:549–559.

[230] Doyle, B. B., Bendit, E. G., Blout, E. R. Infrared spectroscopy of collagen and collagen-like polypeptides. Biopolymers. 1975,14:937–957.

[231] Saricaoglu, F. T., Tural, S., Gul, O., et al. High pressure homogenization of mechanically deboned chicken meat protein suspensions to improve mechanical and barrier properties of edible films. Food Hydrocolloids. 2018,84:135–145.

[232] Sun, W., Zhou, F., Zhao, M., et al. Physicochemical changes of myofibrillar proteins during processing of Cantonese sausage in relation to their aggregation behaviour and in vitro digestibility. Food Chemistry. 2011,129:472–478.

[233] Xu, Y. T, Liu, L. Structural and Functional Properties of Soy Protein Isolates Modified by Soy Soluble Polysaccharides. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2016,64:7275–7284.

[234] Muyonga, J. H., Cole, C. G. B., Duodu, K.G. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopic study of acid soluble collagen and gelatin from skins and bones of young and adult Nile perch (Lates niloticus). Food Chemistry. 2004,86:325–332.

[235] Ai, M., Tang, T., Zhou, L., et al. Effects of different proteases on the emulsifying capacity, rheological and structure characteristics of preserved egg white hydrolysates. Food Hydrocolloids. 2019,87:933–942.

[236] Rozi, P., Maimaiti, P., Abuduwaili, A., et al. Isolation and evaluation of bioactive protein and peptide from domestic animals' bone marrow. Molecules. 2018,23:1–14.

[237] Kher, A., Udabage, P., McKinnon, I., et al. FTIR investigation of spray-dried milk protein concentrate powders. Vibrational Spectroscopy. 2007,44:375–381.

[238] Samsalee, N., Sothornvit, R. Effect of natural cross-linkers and drying methods on physicochemical and thermal properties of dried porcine plasma protein. Food Bioscience. 2017,19:26–33.

[239] Wang, W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. International Journal of Pharmacy. 2000,203:1–60.

[240] Witono, Y., Windrati, W. S., Taruna, I., et al. Production and characterization of protein hydrolyzate from "bibisan fish" (Apogon albimaculosus) as an indigenous flavor by enzymatic hydrolysis. Advance Journal of Food Science and Technology. 2014,6:1348–1355.

[241] Benjakul, S., Oungbho, K., Visessanguan, W., et al. Characteristics of gelatin from the skins of bigeye snapper, Priacanthus tayenus and Priacanthus macracanthus. Food Chemistry. 2009,116:445–451.

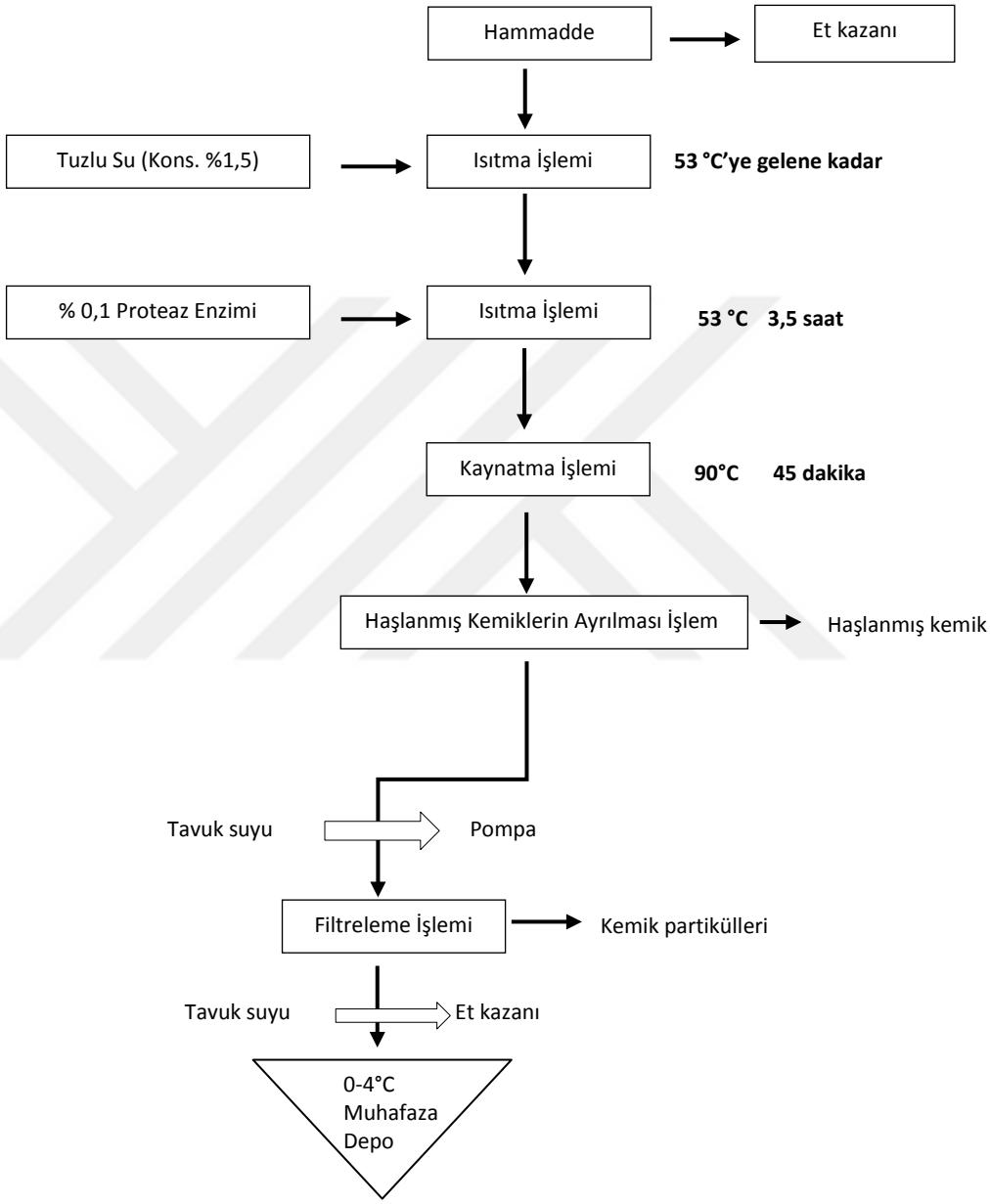
[242] Sangtherapitikul, O., Chen, Y. C., Chen, T.C. Utilization of Spent Hens as a Flavoring BAse: 2. Flavoring PRoducts from Spent Hen Meat Hydrolysate. Journal of Food Technology. 2005,3:41–45.

[243] Surówka, K., Fik, M. Studies on the recovery of proteinaceous substances from chicken heads: II—Application of pepsin to the production of protein hydrolysate. Journal of Science and Food Agriculture. 1994,65:289–296.

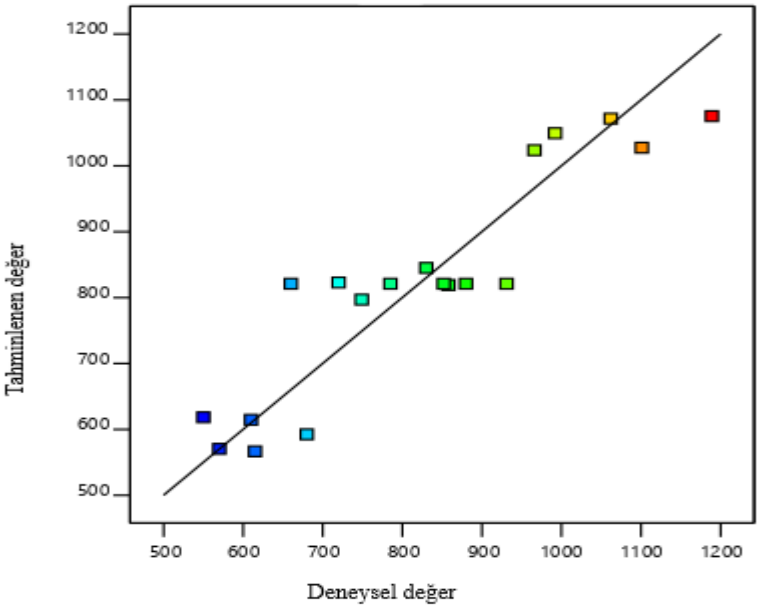
[244] Anonim. Türk Gıda Kodeksi. Mikrobiyolojik Kriterler Tebliği. 2009.

# EKLER

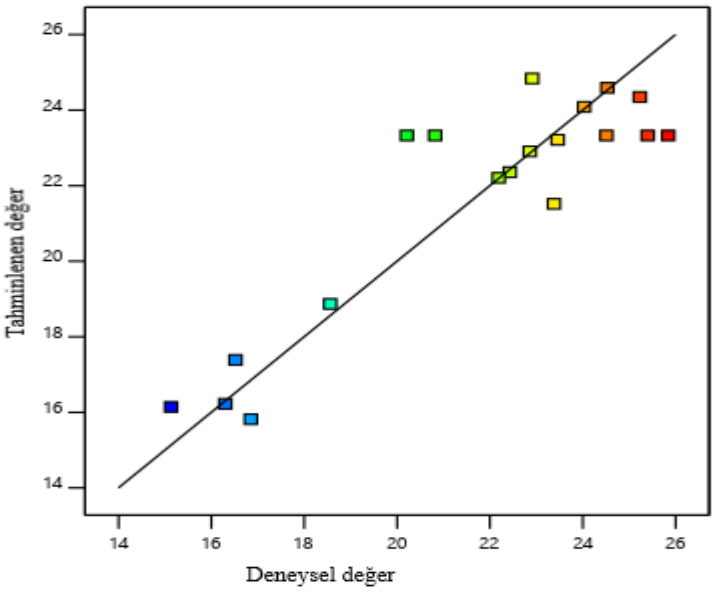
**EK A.** Tavuk Eti Protein Hidrolizatı Üretimi Akım Şeması



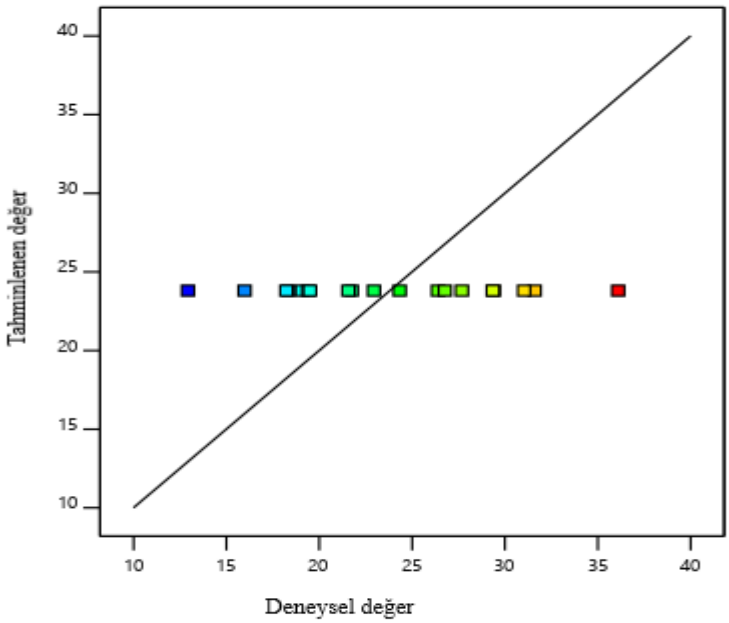
**EK B.** Yanıtlar için belirlenen modeller ile deneysel sonuçların uyumu




B1. Süre yanıtı için üretilen model ile elde edilen değerlerin, deneysel değerlerle uyumu




B2. Çözünürlük yanıtı için üretilen model ile elde edilen değerlerin, deneysel değerlerle uyumu




B3. *In vitro* sindirilebilirlik yanıtı için üretilen model ile elde edilen değerlerin, deneysel değerlerle uyumu

**Ek C.** Süre İçin Varyans Analizi Tablosu

C1. Süre İçin Ardışık Model Kareler Toplamı

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ortalama | 1.281E+07 | 1 | 1.281E+07 | | | |
| Lineer | **5.279E+05** | **3** | **1.760E+05** | **26.90** | **< 0.0001** | **Önerilen** |
| 2FI | 22362.38 | 3 | 7454.13 | 1.18 | 0.3581 | |
| Kuadratik | 4048.88 | 3 | 1349.63 | 0.1694 | 0.9144 | |
| Kübik | 26394.40 | 4 | 6598.60 | 0.7280 | 0.6096 | |
| Kalıntı | 45320.70 | 5 | 9064.14 | | | |
| Toplam | 1.343E+07 | 19 | 7.071E+05 | | | |

C2. Süre İçin Lack of Fit Testleri

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Lineer** | **54369.15** | **11** | **4942.65** | **0.4518** | **0.8658** | **Önerilen** |
| 2FI | 32006.77 | 8 | 4000.85 | 0.3657 | 0.8946 | |
| Kuadratik | 27957.90 | 5 | 5591.58 | 0.5111 | 0.7604 | |
| Kübik | 1563.50 | 1 | 1563.50 | 0.1429 | 0.7246 | |
| Pure Error | 43757.20 | 4 | 10939.30 | | | |

C3. Süre İçin Model İstatistikleri

| Varyasyon Kaynağı | Standart Hata | $R^2$ | Adj- $R^2$ | Pred- $R^2$ | PRESS | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Lineer** | **80.88** | **0.8433** | **0.8119** | **0.7555** | **1.530E+05** | **Önerilen** |
| 2FI | 79.46 | 0.8790 | 0.8185 | 0.7273 | 1.707E+05 | |
| Kuadratik | 89.27 | 0.8854 | 0.7709 | 0.5653 | 2.721E+05 | |
| Kübik | 95.21 | 0.9276 | 0.7394 | -2.3404 | 2.091E+06 | |

**Ek D.** Çözünürlük İçin Varyans Analizi Tablosu

D1. Çözünürlük İçin Ardışık Model Kareler Toplamı

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Ortalama | 8897.50 | 1 | 8897.50 | | | |
| Lineer | 75.93 | 3 | 25.31 | 2.84 | 0.0732 | |
| 2FI | 54.77 | 3 | 18.26 | 2.78 | 0.0869 | |
| **Kuadratik** | **39.90** | **3** | **13.30** | **3.07** | **0.0836** | **Önerilen** |
| Kübik | 10.97 | 4 | 2.74 | 0.4893 | 0.7458 | |
| Kalıntı | 28.02 | 5 | 5.60 | | | |
| Toplam | 9107.10 | 19 | 479.32 | | | |

D2. Çözünürlük İçin Lack of Fit Testleri

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lineer | 105.65 | 11 | 9.60 | 1.37 | 0.4094 | |
| 2FI | 50.88 | 8 | 6.36 | 0.9083 | 0.5812 | |
| **Kuadratik** | **10.98** | **5** | **2.20** | **0.3135** | **0.8824** | **Önerilen** |
| Kübik | 0.0105 | 1 | 0.0105 | 0.0015 | 0.9710 | |
| Pure Error | 28.01 | 4 | 7.00 | | | |

D3. Çözünürlük İçin Model İstatistikleri

| Varyasyon Kaynağı | Standart Hata | $R^2$ | Adj- $R^2$ | Pred- $R^2$ | PRESS | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Lineer | 2.99 | 0.3623 | 0.2347 | -0.1950 | 250.46 | |
| 2FI | 2.56 | 0.6236 | 0.4354 | -0.7326 | 363.15 | |
| **Kuadratik** | **2.08** | **0.8140** | **0.6280** | **0.2762** | **151.70** | **Önerilen** |
| Kübik | 2.37 | 0.8663 | 0.5187 | 0.7567 | 50.99 | |

**Ek E.** *In Vitro* Sindirilebilirlik İçin Varyans Analizi Tablosu

E1. *In Vitro* Sindirilebilirlik İçin Ardışık Model Kareler Toplamı

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri |
|---|---|---|---|---|---|
| Ortalama | 10769.98 | 1 | 10769.98 | | |
| Lineer | 21.11 | 3 | 7.04 | 0.1632 | 0.9194 |
| 2FI | 15.62 | 3 | 5.21 | 0.0990 | 0.9590 |
| Kuadratik | 210.98 | 3 | 70.33 | 1.51 | 0.2780 |
| Kübik | 301.82 | 4 | 75.46 | 3.19 | 0.1174 |
| Kalıntı | 118.17 | 5 | 23.63 | | |
| Toplam | 11437.67 | 19 | 601.98 | | |

E2. *In Vitro* Sindirilebilirlik İçin Lack of Fit Testleri

| Varyasyon Kaynağı | Kareler Toplamı | df | Kareler Ortalaması | F-değeri | p-değeri |
|---|---|---|---|---|---|
| Lineer | 592.88 | 11 | 53.90 | 4.01 | 0.0958 |
| 2FI | 577.26 | 8 | 72.16 | 5.37 | 0.0609 |
| Kuadratik | 366.28 | 5 | 73.26 | 5.46 | 0.0626 |
| Kübik | 64.46 | 1 | 64.46 | 4.80 | 0.0936 |
| Pure Error | 53.71 | 4 | 13.43 | | |

E3. *In Vitro* Sindirilebilirlik İçin Model İstatistikleri

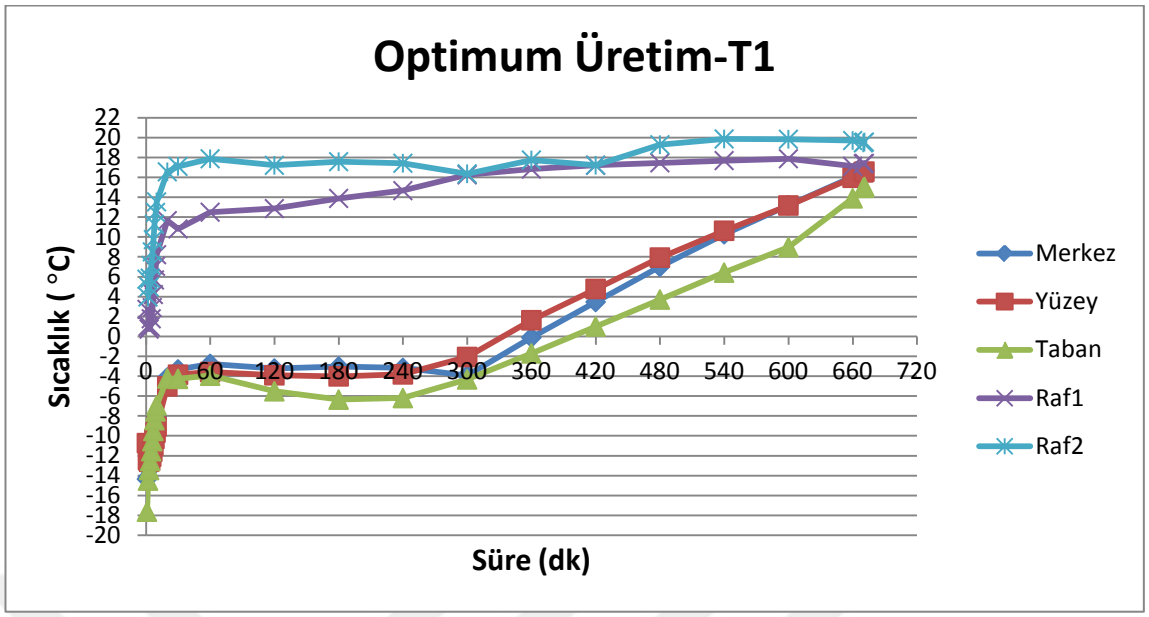
| Varyasyon Kaynağı | Standart Hata | $R^2$ | Adj- $R^2$ | Pred- $R^2$ | PRESS |
|---|---|---|---|---|---|
| Lineer | 6.57 | 0.0316 | -0.1621 | -0.4676 | 979.94 |
| 2FI | 7.25 | 0.0550 | -0.4175 | -2.5838 | 2392.93 |
| Kuadratik | 6.83 | 0.3710 | -0.2580 | -3.0798 | 2724.10 |
| Kübik | 4.86 | 0.8230 | 0.3629 | -124.6309 | 83883.48 |

**EK F.** Optimum Nokta Çözümleri

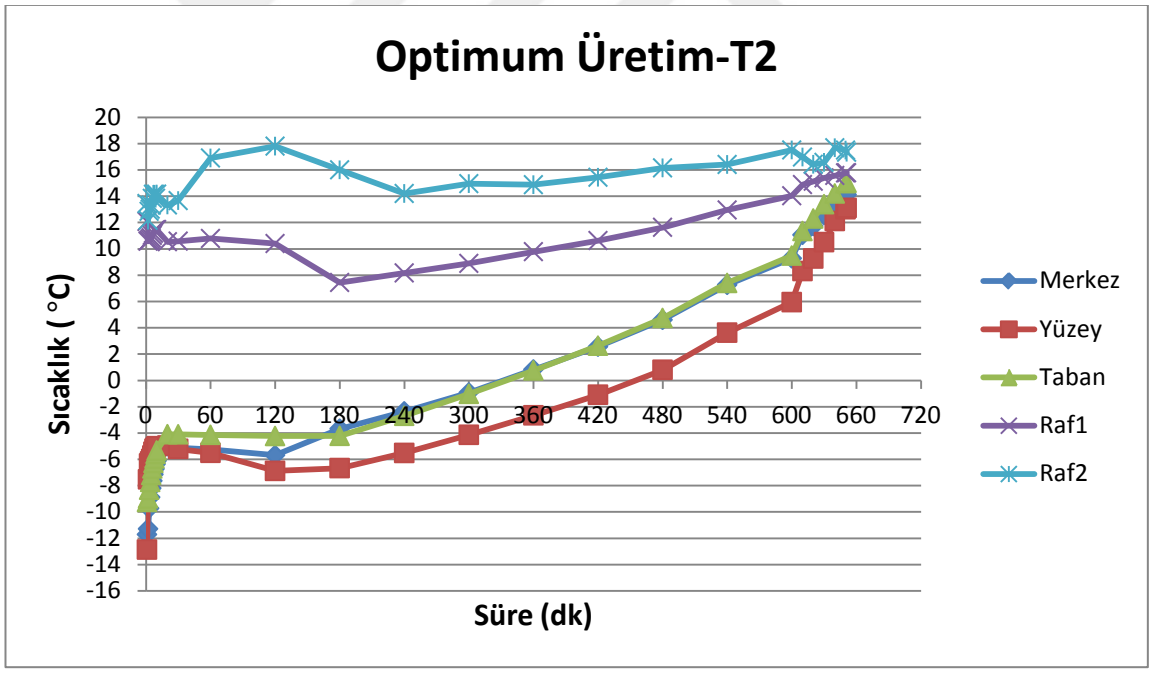
| Sayı | ST | LT | FR | Süblimasyon süresi | Çözünürlük | In vitro protein sindirilebilirliği | Desirability | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **1** | **15.000** | **-10.001** | **2.021** | **590.344** | **25.626** | **23.808** | **0.812** | **Selected** |
| 2 | 15.000 | -10.000 | 2.013 | 590.451 | 25.631 | 23.808 | 0.812 | |
| 3 | 15.000 | -10.001 | 2.033 | 590.152 | 25.617 | 23.808 | 0.812 | |
| 4 | 15.000 | -10.001 | 1.987 | 590.855 | 25.647 | 23.808 | 0.812 | |
| 5 | 15.000 | -10.040 | 2.019 | 590.385 | 25.627 | 23.808 | 0.812 | |
| 6 | 15.000 | -10.001 | 1.974 | 591.051 | 25.655 | 23.808 | 0.812 | |
| 7 | 15.000 | -10.076 | 2.002 | 590.645 | 25.637 | 23.808 | 0.812 | |
| 8 | 15.000 | -10.089 | 2.032 | 590.200 | 25.617 | 23.808 | 0.812 | |
| 9 | 15.000 | -10.123 | 2.000 | 590.700 | 25.638 | 23.808 | 0.812 | |
| 10 | 15.000 | -10.000 | 1.955 | 591.330 | 25.665 | 23.808 | 0.812 | |
| 11 | 15.000 | -10.139 | 2.019 | 590.422 | 25.625 | 23.808 | 0.812 | |
| 12 | 15.000 | -10.220 | 1.990 | 590.880 | 25.643 | 23.808 | 0.811 | |
| 13 | 15.000 | -10.300 | 1.987 | 590.955 | 25.643 | 23.808 | 0.811 | |
| 14 | 15.000 | -10.000 | 2.126 | 588.765 | 25.547 | 23.808 | 0.811 | |
| 15 | 15.000 | -10.000 | 2.142 | 588.531 | 25.533 | 23.808 | 0.811 | |
| 16 | 15.000 | -10.000 | 1.879 | 592.469 | 25.701 | 23.808 | 0.811 | |
| 17 | 15.000 | -10.483 | 1.910 | 592.186 | 25.687 | 23.808 | 0.811 | |
| 18 | 15.000 | -10.004 | 2.183 | 587.909 | 25.495 | 23.808 | 0.811 | |
| 19 | 15.000 | -10.651 | 1.998 | 590.924 | 25.623 | 23.808 | 0.811 | |
| 20 | 15.000 | -10.784 | 1.994 | 591.049 | 25.620 | 23.808 | 0.811 | |
| 21 | 15.000 | -10.854 | 1.932 | 591.996 | 25.662 | 23.808 | 0.811 | |
| 22 | 15.000 | -10.000 | 1.803 | 593.605 | 25.727 | 23.808 | 0.811 | |
| 23 | 15.000 | -10.534 | 1.792 | 593.978 | 25.741 | 23.808 | 0.811 | |
| 24 | 15.000 | -10.815 | 2.044 | 590.302 | 25.577 | 23.808 | 0.811 | |
| 25 | 14.960 | -10.110 | 1.961 | 592.207 | 25.649 | 23.808 | 0.811 | |
| 26 | 15.000 | -10.907 | 1.698 | 595.527 | 25.772 | 23.808 | 0.810 | |
| 27 | 14.950 | -10.069 | 1.839 | 594.246 | 25.701 | 23.808 | 0.810 | |
| 28 | 14.939 | -10.544 | 1.828 | 594.825 | 25.708 | 23.808 | 0.810 | |
| 29 | 15.000 | -12.026 | 1.721 | 595.601 | 25.723 | 23.808 | 0.809 | |
| 30 | 15.000 | -12.170 | 1.702 | 595.950 | 25.724 | 23.808 | 0.809 | |
| 31 | 15.000 | -10.001 | 1.605 | 596.585 | 25.745 | 23.808 | 0.809 | |
| 32 | 15.000 | -12.164 | 1.558 | 598.109 | 25.784 | 23.808 | 0.808 | |
| 33 | 14.883 | -10.001 | 1.838 | 595.757 | 25.678 | 23.808 | 0.808 | |
| 34 | 15.000 | -12.481 | 1.820 | 594.292 | 25.611 | 23.808 | 0.808 | |
| 35 | 15.000 | -10.000 | 2.466 | 583.666 | 25.156 | 23.808 | 0.808 | |
| 36 | 15.000 | -12.114 | 1.511 | 598.790 | 25.798 | 23.808 | 0.808 | |
| 37 | 15.000 | -12.788 | 1.773 | 595.117 | 25.611 | 23.808 | 0.808 | |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 38 | 15.000 | -12.912 | 1.817 | 594.497 | 25.556 | 23.808 | 0.807 |
| 39 | 15.000 | -10.000 | 1.489 | 598.317 | 25.723 | 23.808 | 0.807 |
| 40 | 15.000 | -12.960 | 1.818 | 594.512 | 25.549 | 23.808 | 0.807 |
| 41 | 15.000 | -10.000 | 1.460 | 598.749 | 25.714 | 23.808 | 0.807 |
| 42 | 15.000 | -10.000 | 1.403 | 599.605 | 25.692 | 23.808 | 0.806 |
| 43 | 15.000 | -13.941 | 1.211 | 603.979 | 25.729 | 23.808 | 0.803 |
| 44 | 15.000 | -14.539 | 1.647 | 597.681 | 25.424 | 23.808 | 0.803 |
| 45 | 15.000 | -14.711 | 1.346 | 602.254 | 25.602 | 23.808 | 0.802 |
| 46 | 15.000 | -15.211 | 1.305 | 603.054 | 25.537 | 23.808 | 0.800 |
| 47 | 15.000 | -15.642 | 1.450 | 601.051 | 25.351 | 23.808 | 0.799 |
| 48 | 15.000 | -15.862 | 1.444 | 601.224 | 25.303 | 23.808 | 0.798 |
| 49 | 15.000 | -15.852 | 1.076 | 606.733 | 25.504 | 23.808 | 0.797 |
| 50 | 15.000 | -13.617 | 2.396 | 586.086 | 24.523 | 23.808 | 0.795 |
| 51 | 15.000 | -14.182 | 0.745 | 611.066 | 25.559 | 23.808 | 0.795 |
| 52 | 15.000 | -12.804 | 2.617 | 582.462 | 24.288 | 23.808 | 0.793 |
| 53 | 15.000 | -15.521 | 0.619 | 613.470 | 25.435 | 23.808 | 0.791 |
| 54 | 15.000 | -17.097 | 0.830 | 610.898 | 25.305 | 23.808 | 0.791 |
| 55 | 15.000 | -10.000 | 0.776 | 609.023 | 25.061 | 23.808 | 0.788 |
| 56 | 15.000 | -10.762 | 0.695 | 610.514 | 25.117 | 23.808 | 0.788 |
| 57 | 15.000 | -18.023 | 0.910 | 610.050 | 25.072 | 23.808 | 0.787 |
| 58 | 15.000 | -18.299 | 1.030 | 608.354 | 24.930 | 23.808 | 0.786 |
| 59 | 15.000 | -17.711 | 1.664 | 598.617 | 24.413 | 23.808 | 0.784 |
| 60 | 15.000 | -18.890 | 0.781 | 612.311 | 24.871 | 23.808 | 0.782 |
| 61 | 15.000 | -10.000 | 0.557 | 612.294 | 24.677 | 23.808 | 0.778 |
| 62 | 15.000 | -19.541 | 0.699 | 613.790 | 24.697 | 23.808 | 0.778 |
| 63 | 15.000 | -19.252 | 1.454 | 602.354 | 24.083 | 23.808 | 0.775 |

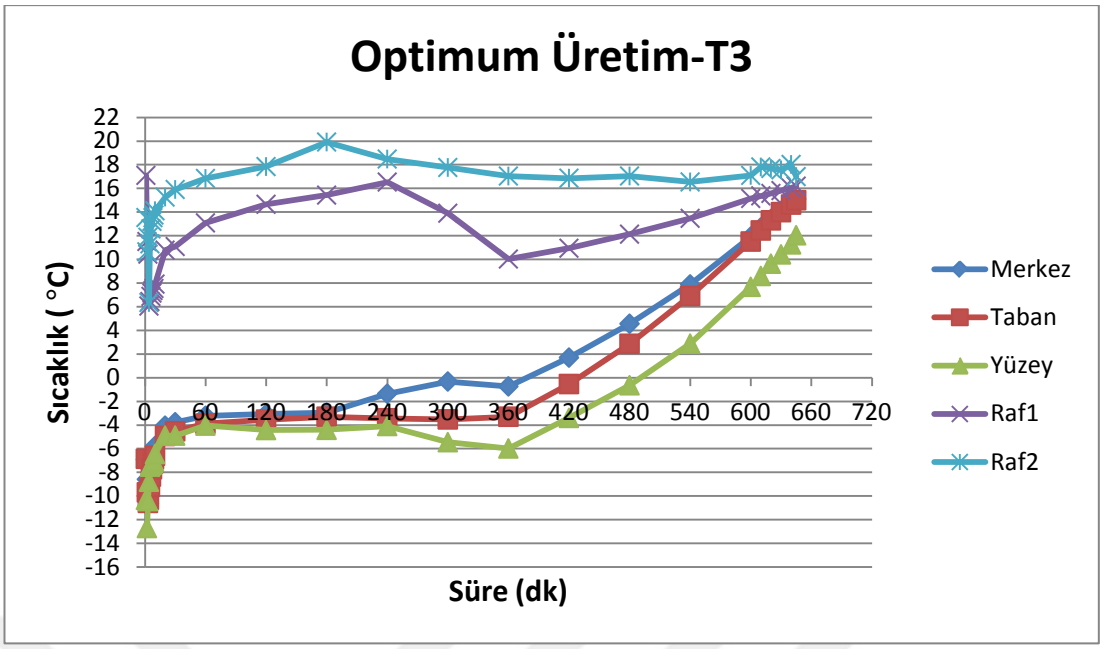
**EK G.** Optimum Üretim Sıcaklık-Süre Grafikleri



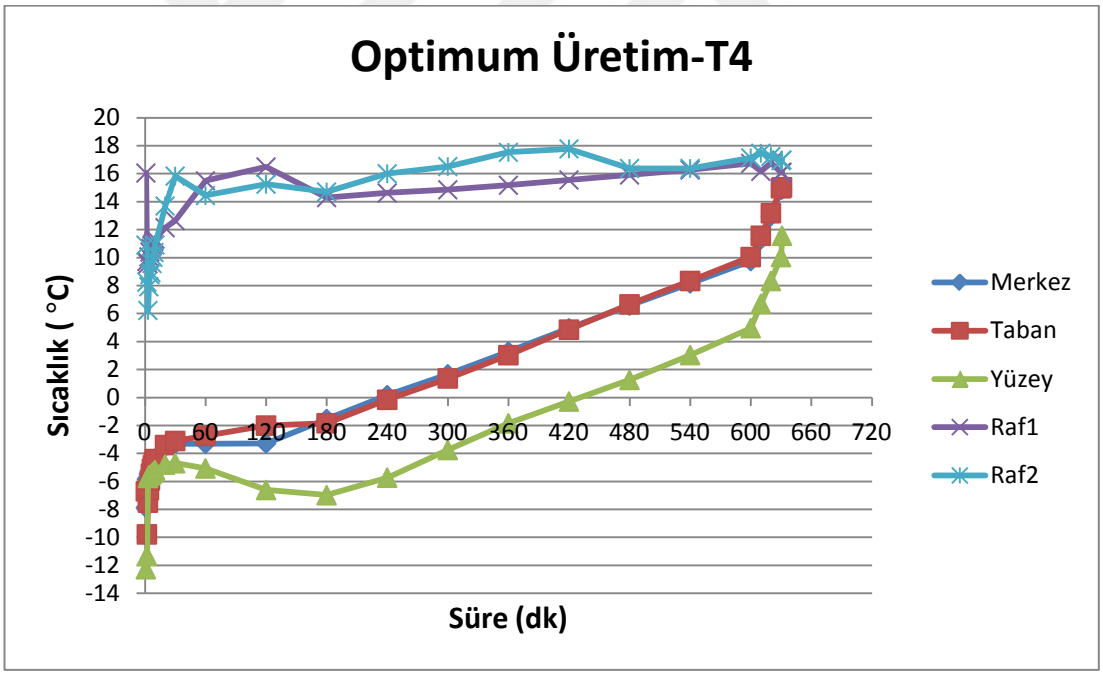

G1. T1 üretimi için elde edilen sıcaklık zaman grafiği




G2. T2 üretimi için elde edilen sıcaklık zaman grafiği




G3. T3 üretimi için elde edilen sıcaklık zaman grafiği




G4. T4 üretimi için elde edilen sıcaklık zaman grafiği

**EK H.** Tavuk eti tozu örneklerinin fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik analizlerine ait varyans analiz tabloları

**Tablo H1.** Protein hidrolizatının nem değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 21,691 | 3 | 7,230 | 1,618 | 0,319 |
| **Hata** | 17,875 | 4 | 4,469 | | |
| **Toplam** | 39,566 | 7 | | | |

**Tablo H2.** Tavuk eti tozu örneklerinin nem değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 12,215 | 3 | 4,072 | 168,715 | ,000 |
| **Hata** | 0,097 | 4 | 0,024 | | |
| **Toplam** | 12,312 | 7 | | | |

**Tablo H3.** Protein hidrolizatının kül değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,318 | 3 | 0,106 | 0,804 | 0,553 |
| **Hata** | 0,528 | 4 | 0,132 | | |
| **Toplam** | 0,846 | 7 | | | |

**Tablo H4.** Tavuk eti tozu örneklerinin kül değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 3,706 | 3 | 1,235 | 6,953 | 0,046 |
| **Hata** | 0,711 | 4 | 0,178 | | |
| **Toplam** | 4,417 | 7 | | | |

**Tablo H5.** Protein hidrolizatının yağ değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,022 | 3 | 0,007 | 0,323 | 0,810 |
| **Hata** | 0,090 | 4 | 0,023 | | |
| **Toplam** | 0,112 | 7 | | | |

**Tablo H6.** Tavuk eti tozu örneklerinin yağ değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,820 | 3 | 0,273 | 2,403 | 0,208 |
| **Hata** | 0,455 | 4 | 0,114 | | |
| **Toplam** | 1,275 | 7 | | | |

**Tablo H7.** Protein hidrolizatının protein değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 8,126 | 3 | 2,709 | 2,683 | 0,182 |
| **Hata** | 4,039 | 4 | 1,010 | | |
| **Toplam** | 12,165 | 7 | | | |

**Tablo H8.** Tavuk eti tozu örneklerinin protein değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 5,703 | 3 | 1,901 | 2,957 | 0,161 |
| **Hata** | 2,572 | 4 | 0,643 | | |
| **Toplam** | 8,276 | 7 | | | |

**Tablo H9.** Protein hidrolizatının pH değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 3,169 | 3 | 1,056 | 4281,394 | 0,000 |
| **Hata** | 0,004 | 16 | 0,000 | | |
| **Toplam** | 3,173 | 19 | | | |

**Tablo H10.** Protein hidrolizatının L* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 6,989 | 3 | 2,330 | 9,072 | 0,002 |
| **Hata** | 3,081 | 12 | 0,257 | | |
| **Toplam** | 10,070 | 15 | | | |

**Tablo H11.** Protein hidrolizatının a* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 48,835 | 3 | 16,278 | 305,493 | 0,000 |
| **Hata** | 0,639 | 12 | 0,053 | | |
| **Toplam** | 49,474 | 15 | | | |

**Tablo H12.** Protein hidrolizatının b* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 7,118 | 3 | 2,373 | 20,582 | 0,000 |
| **Hata** | 1,383 | 12 | 0,115 | | |
| **Toplam** | 8,501 | 15 | | | |

**Tablo H13.** Tavuk eti tozu örneklerinin L* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 26,124 | 3 | 8,708 | 632,48 | 0,000 |
| **Hata** | 0,165 | 12 | 0,014 | | |
| **Toplam** | 26,289 | 15 | | | |

**Tablo H14.** Tavuk eti tozu örneklerinin a* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 2,119 | 3 | 0,706 | 594,581 | 0,000 |
| **Hata** | 0,014 | 12 | 0,001 | | |
| **Toplam** | 2,133 | 15 | | | |

**Tablo H15.** Tavuk eti tozu örneklerinin b* değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,735 | 3 | 0,245 | 312,058 | 0,000 |
| **Hata** | 0,009 | 12 | 0,001 | | |
| **Toplam** | 0,745 | 15 | | | |

**Tablo H16.** Tavuk eti tozu örneklerinin su aktivitesi değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,064 | 3 | 0,021 | 741,430 | 0,000 |
| **Hata** | 0,000 | 4 | 0,000 | | |
| **Toplam** | 0,064 | 7 | | | |

**Tablo H17.** Tavuk eti tozu örneklerinin bağdoku miktarı değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,018 | 3 | 0,006 | 34,422 | 0,003 |
| **Hata** | 0,001 | 4 | 0,000 | | |
| **Toplam** | 0,019 | 7 | | | |

**Tablo H18.** Tavuk eti tozu örneklerinin çözünür protein miktarı değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 0,018 | 3 | 0,006 | 0,718 | 0,560 |
| **Hata** | 0,102 | 12 | 0,008 | | |
| **Toplam** | 0,120 | 15 | | | |

**Tablo H19.** Tavuk eti tozu örneklerinin TAMB değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 4,843 | 3 | 1,614 | 290,800 | 0,000 |
| **Hata** | 0,044 | 8 | 0,006 | | |
| **Toplam** | 4,888 | 11 | | | |

**Tablo H20**. Tavuk eti tozu örneklerinin maya-küf sayımı değerlerine ait varyans analiz tablosu

| | **Kareler Toplamı** | **Serbestlik derecesi** | **Kareler Ortalaması** | **F** | **P** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Örnek** | 25,938 | 3 | 8,646 | 783,335 | 0,000 |
| **Hata** | 0,132 | 12 | 0,011 | | |
| **Toplam** | 26,071 | 15 | | | |

## ÖZGEÇMİŞ



**Adı Soyadı:** Ceyda SÖBELİ

**Doğum Yeri ve Yılı:** Sarıkamış, 1986

**Medeni Hali:** Evli

**Yabancı Dil:** İngilizce

**E-posta:** ceyda.zengin@cbu.edu.tr

### Eğitim Durumu

**Lise:** Bodrum Anadolu Lisesi (2004)

**Lisans:** Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Bölümü (2008)

**Yüksek Lisans:** Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2012)

### Mesleki Deneyim

Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi Araştırma Görevlisi (2010-halen)

### Yayınları

#### Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

Söbeli, C., Uyarcan, M., Kayaardı, S. Gıdaların Ambalajlanmasında Aktif Paketleme Sistemlerinin Kullanımı. Plastik Ambalaj Dergisi. 2017.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Uyarcan, M., Uyanık, B. Yenilebilir Ambalajlar. Plastik Ambalaj Dergisi. 2016.

Kayaardı, S., Zengin, C. Kırmızı Etin Besleyici Kalitesi ve Kanser ile İlişkisi. Akademik Gıda. 2011, 9 (5) 54-59

Söbeli, C. , Kayaardı, S. Et Kalitesini Belirlemede Yeni Teknikler. GIDA.2014, 39 (4): 251-258.

**Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler**

Kayaardi,S., Bağdatli,A., Onur,R.H, Zengin,C. The Antimicrobial And Antioxidant Effect Of Garlic And Onion On Chicken Meatballs. 8th International Conference of Food Physics, 24-27 Eylül 2008, Plovdiv, Bulgaristan.

Kayaardı, S., Zengin, C. Manisa İli Geleneksel Gıdası: Manisa Kebabı ve Ürün Özellikleri. 1. Uluslararası "Adriyatik'ten Kafkaslar'a Geleneksel Gıdalar" Sempozyumu. 15 – 17 Nisan 2010, Tekirdağ.

Zengin,C., Başkurt, E. Hayvansal Kaynaklı Yenilebilir Film ve Kaplamalar. VI. Uluslararası Ambalaj Kongresi. 16-18 Eylül 2010, İstanbul.

Kayaardı, S., Zengin, C. Gıda Endüstrisinde Kitosanın Ambalaj Materyali Olarak Kullanımı. VI. Uluslararası Ambalaj Kongresi. 16-18 Eylül 2010, İstanbul.

Zengin, C., Kayaardı, S. Et Endüstrisinde Kullanılan Ambalajlama Yöntemleri. VI. Uluslararası Ambalaj Kongresi. 16-18 Eylül 2010, İstanbul.

Kayaardı, S., Zengin, C., Kasım, S., Çatal, A. Et Endüstrisinde Aktif ve Akıllı Paketleme Sistemleri. VI. Uluslararası Ambalaj Kongresi. 16-18 Eylül 2010, İstanbul.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Kaya, T. Kanatlı Etlerinin Depolanmasında Akıllı Etiket Kullanımı Üzerine Bir Araştırma. VII. Uluslararası Ambalaj Kongre ve Sergisi. 9-11 Mayıs 2013, İzmir. (Sözlü Sunum)

Söbeli, C., Kayaardı, S. The Effects of Green Tea and Thyme Extract Injection On The Quality of Chicken Meat. 59th International Congress of Meat Science and Technology. 18-23 Ağustos 2013, İzmir.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M. The Effect of Traditional Manisa Mesir Paste Spices on the Sensory and Textural Quality of Sucuk. The 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus. 24-26 Ekim 2013. Ohrid, Makedonya.

Yılmaz, T., Söbeli, C., Uyarcan, M., Kayaardı, S.. Ready to Eat Fish Ball Produced by Sous Vide Technology. 2nd Congress on Food Structure&Design,2016,Antalya (Özet Bildiri/Poster)

Uyarcan, M., Söbeli, C., Aksoylu, Z., Kayaardı, S. Effects of Pomegranate *Punica granatum L*. Byproducts Addition on Quality Characteristics of Chicken Meatball. 2nd Congress on Food Structure&Design,2016,Antalya (Özet Bildiri/Poster)

Söbeli, C., Kayaardı, S. Etlik Piliç Yemlerine Farklı Oranlarda İlave Edilen Konjuge Linoleik Asitin KLA Piliç Etinin Tekstürü Üzerine Etkisi. Uluslararası Hayvansal Gıdalar Kongresi.2016, Kıbrıs. (Özet Bildiri /Sözlü Sunum)

**Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Basılan Bildiriler**

Kayaardı,S., Zengin, C. Hayvancılıkta İzlenebilirlik. 3. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi. 14-16 Mayıs 2009,Bursa.

Kayaardı, S., Akkara, M., Zengin, C. Doğal Fermente Sucukların Mikroflorasının Moleküler Metodlarla Belirlenmesi. I. Et Ürünleri "Sucuk" Çalıştayı. 2-3- Aralık 2010, Kuşadası/Aydın.

Kayaardı, S., Zengin, C. Isıl İşlem Uygulamanın Türk Sucuğunun Kalite Niteliklerine Etkisi. I. Et Ürünleri "Sucuk" Çalıştayı. 2-3- Aralık 2010, Kuşadası/Aydın.

Kayaardı, S., Akkara, M., Zengin, C. Sucuk Formulasyonuna Karıştırılan Farklı Et Türlerinin Saptanmasında Kullanılan Yeni Teknikler. I. Et Ürünleri "Sucuk" Çalıştayı. 2-3- Aralık 2010, Kuşadası/Aydın.

Kayaardı, S., Zengin, C., Akkara, M.. Sucuk Üretiminde Kullanılan Ambalajlama Yöntemleri. I. Et Ürünleri "Sucuk" Çalıştayı. 2-3- Aralık 2010, Kuşadası/Aydın.

Kayaardı,S., Zengin,C., Talu,P. Etin Olgunlaşması Sırasında Meydana Gelen Biyokimyasal Değişimler. V. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 2011, Aydın.(Sözlü Sunum)

Kayaardı,S., Talu,P., Zengin, C. Rigor Mortis Oluşumu Sırasında Meydana Gelen Biyokimyasal Değişimler. V. Ulusal Veteriner Biyokimya ve Klinik Biyokimya Kongresi, 2011, Aydın.

Kayaardı, S., Bağdatlı, A., Zengin, C. Tavuk Köftesinde Sarımsağın Antimikrobiyal ve Antioksidan Etkisi. 7. Gıda Mühendisliği Kongresi, 24-26 Kasım 2011, Ankara.

Söbeli,C., Kayaardı, S. Kanatlı Eti Ürünlerinde Kullanılan Katkı Maddeleri Ve Baharatlar. II. Et Ürünleri Çalıştayı 'İşlenmiş Kanatlı Eti Ürünleri'6-7 Aralık 2012,Manisa.

Kayaardı,S., Güçlü, A., Söbeli, C. Tavuk Köftesinde Doğal Antioksidantların Lipid Oksidasyonu ve Bazı Kimyasal Nitelikler Üzerine Etkisi. II. Et Ürünleri Çalıştayı 'İşlenmiş Kanatlı Eti Ürünleri' 6-7 Aralık 2012,Manisa.

Kayaardı,S.,Akkara,M.,Söbeli,C.,Çetinkaya,B. Z.,Alpaslan,A. Etlerin Kurutulmasında Kullanılan Yeni Teknikler. II. Et Ürünleri Çalıştayı 'İşlenmiş Kanatlı Eti Ürünleri' 6-7 Aralık 2012,Manisa.

Kayaardı, S., Söbeli,C., Akkara,M.,Gören,B., Aldemir,Ö. Farklı Kaplama ve İç Materyal Formülasyonlarının Kanatlı Eti Ürünlerinin Duyusal ve Tekstürel Özellikleri Üzerine Etkisi. II. Et Ürünleri Çalıştayı 'İşlenmiş Kanatlı Eti Ürünleri' 6-7 Aralık 2012,Manisa.

Söbeli, C., Akkara, M., Kayaardı, S. Kanatlı Beslemede Kullanılan Farklı Diyetlerin Et Kalitesine Etkisi. 5. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi. 3-6 Nisan 2013, Antalya.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M., Ündan, T., Aldemir, T. Et Ürünlerinde Nitrit-Nitrat Kullanımına Alternatif Uygulamalar. 4. Gıda Güvenliği Kongresi. 14-15 Mayıs 2013, İstanbul.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M., Doruk, D., Işık, N., Kaymaz, F. P. Çay Kateşini ve Farklı Ambalajlama Metotlarının Yarı Pişmiş Hindi Etinin Raf Ömrü Üzerine Etkisi. 3. Et Ürünleri Çalıştayı "Et Ürünleri Üretiminde İnovasyon" . 16-17 Ekim 2014, Tokat.

Kayaardı, S., Yılmaz, T., Söbeli, C., Akkara, M. Farklı Ultrason Parametrelerinin Tavuk Eti Kurutma Sürecine Etkilerinin Araştırılması. Pamukkale Gıda Sempozyumu III " Kurutulmuş ve Yarı Kurutulmuş Gıdalar". 13-15 Mayıs 2015, Denizli.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M. Ultrason Uygulamasının Tavuk Etinin Kurutulması Üzerine Etkisi. Pamukkale Gıda Sempozyumu III " Kurutulmuş ve Yarı Kurutulmuş Gıdalar". 13-15 Mayıs 2015, Denizli.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Uyarcan, M. Vurgulu Işık Tekniğinin Tavuk Etinin Bazı Kalite Niteliklerine Etkisi. 7. Ulusal Veteriner Gıda Hijyeni Kongresi, 4-8 Ekim 2017, Aydın.

**Yazılan Kitaplar veya Kitaplarda Bölümler**

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M. Et ve Et Ürünleri Analizleri. 2. Baskı, Sidas Yayıncılık Ltd. Şti., 2017, İzmir. 125 s. ISBN:978-605-5267-28-5.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M. Et ve Et Ürünleri Analizleri. Sidas Yayıncılık Ltd. Şti., 2017, İzmir. 125 s. ISBN:978-605-5267-28-5.

Kayaardı, S., Söbeli, C., Akkara, M. Et Teknolojisi Laboratuvarı El Kitabı. Sidas Yayıncılık Ltd. Şti., 2014, İzmir. ISBN: 978-605-5267-21-6.