

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

HAYVANSAL ATIKLARDAN ELDE EDİLEN PROTEİNLERİN VERİMLERİNİN
VE JELLEŞME ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL GÜNDEM

UŞAK 2021

T.C.
UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

HAYVANSAL ATIKLARDAN ELDE EDİLEN PROTEİNLERİN VERİMLERİNİN
VE JELLEŞME ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYŞEGÜL GÜNDEM

UŞAK 2021

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Ayşegül GÜNDEM



HAYVANSAL ATIKLARDAN ELDE EDİLEN PROTEİNLERİN VERİMLERİNİN VE JELLEŞME ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Ayşegül GÜNDEM

**UŞAK ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Eylül 2021

ÖZET

Jelatin, balık, domuz, sığır ve tavuk gibi hayvansal kaynaklardan üretilen pek çok kullanım alanı bulunan doğal bir proteindir. Jelatin, kolajenin bu kaynaklardan kontrollü olarak hidrolize edilmesiyle elde edilir. Jelatin jelleştirme, kıvam artırma, film oluşturma ve emülsifiye etme gibi birçok fonksiyonel ve teknolojik özelliğe sahip saf bir proteindir. Kesimhanelerde kesim sonrası ortaya çıkan deri ve kemikler ile renderinge gönderilen mekanik olarak eti sıyrılmış kemik (MKS) artıkları zengin bir kolajen kaynağıdır. Bu çalışmanın amacı, sığır derisi ve kemiği, koyun derisi ve kemiği, tavuk derisi, tavuk takozu ve MKS artıklarından ön işlem (asit ile muamele), demineralizasyon ve ısıl ekstraksiyon işlemleriyle kolajen ve jelatin elde ederek bir takım fizikokimyasal, fonksiyonel ve tekstürel özelliklerini karşılaştırmalı olarak incelemektir. Çalışmada, farklı hayvansal kaynaklardan ekstrakte edilen kolajen/jelatin fraksiyonlarının protein içeriği ve konformasyonu, su ve yağ bağlama kapasitesi, emülsiyon özellikleri, renk ve şeffaflığı, jel kuvveti ve TPA parametreleri değerlendirilmiştir. Bulgulara göre, deri ve kemik örneklerindeki jelatin miktarı farklılıklar göstermiştir.

Kemik örneklerinde tavuk takozu en yüksek (~31 mg/ml) protein içeriğine sahip olurken, en düşük (~25 mg/ml) protein içeriği sığır kemiğinde tespit edilmiştir. Deri örneklerinde ise tavuk deri en yüksek (~60 mg/ml) protein içeriğine sahip olukun, en düşük (~30 mg/ml) protein içeriği sığır derisinde tespit edilmiştir. Bunun yanında en yüksek kolajen ve jelatin verimi sırasıyla %3,54 ve %3,97 ile tavuk takoz örneğinde elde edilmiştir. Deri örnekleri arasında ise en yüksek kolajen ve jelatin verimi sırasıyla %5,92 ve %8,60 ile tavuk deri örneğinde elde edilmiştir. Kemik ve deri örneklerinin protein

profilleri γ , β , α ve alt- α zincir protein birimlerini içermekle birlikte protein konformasyonunda farklılıklar izlenmiştir. Şeffaflık en yüksek sığır derisinde (~%100) görülürken, su ve yağ bağlama kapasiteleri en yüksek jelatin fraksiyonları sırasıyla takoz örneğinde (~%185), koyun deri örneğinde (~%384) elde edilmiştir. Elde edilen jelatinler jel gücü bakımından değerlendirildiğinde, tavuk derisinin (~109 g) düşük, koyun kemiği (~204 g) ve tavuk takozunun (~182 g) orta, tavuk MKS karışımı (~336 g), koyun derisi (~230 g) ve sığır derisinin (~476 g) ise yüksek jel gücüne sahip olduğu bulunmuştur. Sunulan çalışma, hayvansal atıklardan farklı özelliklerde ve endüstride kullanılabilecek protein elde edilebileceğini ortaya koymuştur.

Bilim Kodu :

Anahtar Kelimeler: kolajen, jelatin, ekstraksiyon, elektroforez, FT-IR, jel kuvveti

Sayfa Adedi : 92

Tez Yöneticisi : Dr. Öğr. Üyesi Özgür TARHAN

**INVESTIGATION OF GELATION PROPERTIES AND EFFICIENCIES OF
PROTEINS OBTAINED FROM ANIMAL-BASED WASTES**

(Master Thesis)

Ayşegül GÜNDEM

**UŞAK UNIVERSITY
GRADUATE EDUCATION INSTITUTE**

September 2021

ABSTRACT

Gelatin is a natural protein with many uses, produced from animal sources such as fish, pork, bovine and chicken. It is obtained by the controlled hydrolysis of collagen from these sources. Gelatin is a pure protein with various functional and technological properties such as gelling, thickening, film forming and emulsifying. Skin and bones after slaughter in slaughterhouses and mechanically deboned meat (MDM) residues sent to rendering are rich sources of collagen. The aim of this thesis study was to obtain collagen and gelatin from bovine skin and bone, sheep skin and bone, chicken skin, chicken shanks and MDM residues by pretreatment (acid treatment), demineralization and thermal extraction processes and to compare their physicochemical, functional and textural properties. In the study, protein content and conformation, water and oil binding capacity, emulsion properties, color and transparency, gel strength and TPA parameters of collagen/gelatin fractions extracted from different animal sources were evaluated. According to the findings, the amount of gelatin in the skin and bone samples indicated remarkable differences.

According to the findings, chicken shanks had the highest (~31 mg/ml) protein content, while bovine bone had the lowest (~25 mg/ml) protein content among bone/MDM samples. In skin samples, chicken skin had the highest (~60 mg/ml) protein content, while the lowest (~30 mg/ml) protein content was found in bovine skin. In addition, the highest collagen and gelatin yields were obtained in chicken shanks sample with 3,54% and 3,97%, respectively. Among the skin samples, the highest collagen and gelatin yields were obtained in chicken skin samples with 5,92% and 8,60%, respectively. Although the

protein profiles of bone and skin samples included γ , β , α ve sub- α chain protein units, differences in protein conformation were observed. The highest transparency was observed in bovine skin (~100%), while gelatin fractions with the highest water and fat binding capacities were obtained in the shanks sample (~185%), sheep skin sample (~384%), respectively. When the gelatins obtained were evaluated in terms of gel strenght, chicken skin (~109 g) was low, sheep bone (~204 g) and chicken shanks (~182 g) medium, chicken MKS mixture (~336 g), sheep skin (~230 g) and bovine skin (~476 g) were found to have high gel strength. The presented study revealed that it is possible to obtain protein with different properties and which can be used in industry from animal waste.

Science Code :

Keywords : collagen, gelatin, extraction, electrophoresis, FT-IR, gel strength

Number of Pages: 92

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Özgür TARHAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla bana yol gösteren, karşılaştığım tüm zorluklarda desteğini esirgemeyen değerli Hocam sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgür TARHAN'a, çalışmanın hammadde temini konusunda destek aldığım Gedik Piliç A.Ş.'ye ve çalışma arkadaşlarıma, Gıda Mühendisliği Bölümünden Arş. Gör. Dr. Berker NACAK'a, FT-IR analizlerinde cihaz kullanımına olanak sağlayan Kimya Mühendisliği Bölümü ve Arş. Gör. Dr. Mustafa Yasin ASLAN'a ve hayatım boyunca her zaman yanımda olan aileme teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	ix
İÇİNDEKİLER.....	x
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xiii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1. Kolajen ve Jelatin.....	3
2.2. Jelatinin Özellikleri.....	4
2.3. Türkiye’de ve Dünya’da Jelatin.....	7
2.4. Jelatin Üretimi.....	9
2.4.1.Hammadde	9
2.4.1.1. Kemik	10
2.4.1.2. Deri	10
2.4.1.3. Mekanik Olarak Sıyrılmış Kemik Posası	10
2.4.2.Ön işlem	11
2.4.3. Ekstraksiyon	12
2.5. Proteinlerin İçerik, Miktar ve Yapısal Özellikleri Bakımından Analiz Yöntemleri .	14
2.5.1. Protein Miktar Tayini	14
2.5.2. SDS-PAGE Yöntemi.....	15
2.5.3. FTIR Yöntemi	16
2.6.Çalışmanın Amacı ve Özgünlüğü	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18

3.1. Materyal	18
3.2. Yöntem.....	22
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması	23
3.2.2. Ön Çalışma.....	23
3.2.2.1. Tavuk örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri.....	23
3.2.2.2. Ön İşlem ve Ekstraksiyon.....	24
3.2.2.3 SDS-PAGE Analizi	26
3.2.2.4. Vizkozite ve Jel Kuvveti Tayini	27
3.2.3. Ana Çalışma	27
3.2.3.1. Kolajen İzolasyonu	27
3.2.3.1.1. Kemik Örneklerinde Kolajen İzolasyonu	29
3.2.3.1.2. Deri Örneklerinde Kolajen İzolasyonu	30
3.2.3.2. Jelatin Eldesi.....	30
3.2.3.3. Yağ Ayırma	31
3.2.3.4. Kurutma	32
3.2.3.5. Film Üretimi	32
3.2.3.6. Protein Miktarının Tespiti (Bradford Yöntemi)	32
3.2.3.6.1. Standart Eğri Hazırlanması	32
3.2.3.7. Ekstraksiyon Verimi	33
3.2.3.8. SDS-PAGE Analizi	33
3.2.3.9. Jelatinin Kalite Özellikleri.....	35
3.2.3.9.1. Jel Gücü (Bloom Değeri)	35
3.2.3.9.2. Şeffaflık.....	35
3.2.3.9.3. Renk Ölçümü	35
3.2.3.10. Jelatinin Fonksiyonel Özellikleri.....	36
3.2.3.10.1. Su Tutma Kapasitesi	36
3.2.3.10.2. Yağ Bağlama Kapasitesi	36
3.2.3.10.3. Emülsiyon Oluşturabilme	37

3.2.3.10.4. Tekstür Profil Analizi	37
3.2.3.11. FT-IR	38
3.2.3.12. İstatistiksel Analiz	38
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1. Ön Çalışma Bulguları	39
4.1.1. Tavuk Derisi ve MDM posalarının kimyasal kompozisyonu	39
4.1.2. Kolajen ve Jelatin Miktarları ve Ekstraksiyon Verimi.....	40
4.1.3. Vizkozite ve Jel Sertliği Ölçümleri	43
4.2. Ana Çalışma Bulguları.....	46
4.2.1. Kolajen ve Jelatin Solüsyonlarının Değerlendirilmesi.....	46
4.2.2. Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Jelatinlerin Değerlendirilmesi	49
4.2.3. Kolajen ve Jelatin Solüsyonlarının Protein İçeriği Bulguları	51
4.2.4. SDS-PAGE Profilleri	53
4.2.5. Jelatin Jellerinin Su Tutma, Yağ Bağlama ve Emülsiyon Özellikleri.....	54
4.2.6. Jelatin Jellerinin Renk ve Şeffaflıklarının Değerlendirilmesi	56
4.2.7. Jelatin Jellerinin Tekstür Profil Analizi ve Jel Gücü (Bloom Testi).....	58
4.2.8. FT-IR Analizi	61
4.2.8.1. Kemik Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları.....	61
4.2.8.2. Deri Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları.....	63
5. SONUÇ.....	64
6. KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	75

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1 Ön çalışmada kolajen/jelatin ekstraksiyonunda kullanılan deri, kemik ve posa örnekleri.....	18
Çizelge 3.2 Ana çalışmada kolajen/jelatin ekstraksiyonunda kullanılan deri, kemik ve posa örnekleri.....	19
Çizelge 3.3 SDS-PAGE jelleri formülasyonu	34
Çizelge 4.1 Kanatlı deri ve MDM posalarının kimyasal kompozisyonu	39
Çizelge 4.2 Deri ve MDM kalıntı örneklerinden elde edilen kolajen ve jelatin verimi	42
Çizelge 4.3 Deri ve MDM kalıntı örneklerinden ekstrakte edilen kolajen/jelatin sertliği ..	46
Çizelge 4.4 Temizleme, demineralizasyon, asitle muamele ve ekstraksiyon çözeltilerinin görselleri	48
Çizelge 4.5 Kemik ve deri örneklerine ait jelatin tozu, jelatin jeli ve jelatin filminin görselleri	50
Çizelge 4.6 Deri ve kemik kalıntılarından elde edilen kolajen ve jelatin verimi	53
Çizelge 4.7 Jelatin örneklerinin fonksiyonel özellikleri	55
Çizelge 4.8 Jelatin solüsyonlarının renk ve şeffaflıkları	56
Çizelge 4.9 Jelatin solüsyonlarının renk değişimleri, beyazlık ve sarılık değerleri	57
Çizelge 4.10. Tavuk, koyun, sığır kemik ve derilerinin TPA parametreleri ve jel gücü değerleri.....	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1 Kolajen proteininin moleküler organizasyonu	3
Şekil 2.2 Kolajen ve jelatinin şematik görünümü	4
Şekil 2.3 Farklı sıcaklıklardaki jelatin jellerinin şematik gösterimi	5
Şekil 2.4 2006 yılı Dünya ve Avrupa jelatin üretiminde hammadde dağılımı	8
Şekil 2.5 Mekanik ayrıştırılmış et üretim makinası.....	10
Şekil 2.6 Hayvansal atıklardan jelatin üretim akış şeması	13
Şekil 3.1 MDM kemik karışımı örneği.....	20
Şekil 3.2 Koyun kemiği örneği.....	20
Şekil 3.3 Sığır kemiği örneği	21
Şekil 3.4 Tavuk ayak takozu örneği	21
Şekil 3.5 Tavuk derisi örneği.....	21
Şekil 3.6 Koyun derisi örneği	22
Şekil 3.7 Sığır derisi örneği	22
Şekil 3.8 Kanatlı kemiği ve MDM karışımı kolajen/jelatin ekstraksiyonu akış şeması.....	25
Şekil 3.9 Kanatlı deri kolajen/jelatin ekstraksiyonu akış şeması.....	26
Şekil 3.10 Kemik örneklerinden jelatin ekstraksiyonu için akış şeması	28
Şekil 3.11 Deri örneklerinden jelatin ekstraksiyonu için akış şeması	29
Şekil 3.12 Örneklerin süzme işlemi.....	31
Şekil 3.13 Ekstraksiyon işleminde santrifüj sonrası yağ fazının ayrılması	31
Şekil 3.14 Bradford analizinde jelatin standart eğrisi	33
Şekil 4.1 Bradford yöntemi kullanılarak belirlenen kolajen/jelatin solüsyonlarındaki protein içerikleri	41
Şekil 4.2 Kanatlı deri ve MDM artıklarının kolajen ve jelatin SDS-PAGE profilleri.....	43
Şekil 4.3 Deri örneği (A) ve MDM kemik karışımı örneği (B) için ekstrakte edilmiş kolajen/jelatinin mil hızı ile değişen görünür vizkozitesi.....	44
Şekil 4.4 Bradford yöntemi kullanılarak belirlenen kolajen/jelatin solüsyonlarındaki protein içerikleri	52
Şekil 4.5 Deri ve kemik kalıntılarının kolajen ve jelatin protein profilleri	53
Şekil 4.6 Kemik kolajen/jelatin proteinlerine ait IR spektrumları.....	62

Şekil 4.7 Deri kolajen/jelatin proteinlerine ait IR spektrumları.....	63
---	----



SİMGE VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
A°	Angström
°C	Santigrat Derece
cm	Santi Metre
cm ²	Santi Metre Kare
cP	Santi Poise
g	Gram
H	Hidrojen
h	Saat
kDa	Kilo Dalton
kg	Kilo Gram
mg	Miligram
ml	Mililitre
pH	Aktif Asitlik
rpm	Round Per Minute
w	Weight
v	Volume

Kısaltmalar	Açıklama
AM	Asitle Muamele
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
EKS	Ekstraksiyon
FT-IR	Fourier Transform Infrared
GRAS	Generally Recognized As Safe
GYL	Glisin
DM	Demineralizasyon
HYP	Hidroksiprolin
MDM	Mechanical Deboned Meat
MAHE	Mekanik Ayrılmış Hindi Eti
MAKE	Mekanik Ayrılmış Kanatlı Eti
MATE	Mekanik Ayrılmış Tavuk Eti
PRO	Prolin
SDS-PAGE	Sodyum Dodesil Sülfat Jel Elektroforezi
STK	Su Tutma Kapasitesi
TM	Temizleme
TPA	Tekstür Profil Analizi
YBK	Yağ Bağlama Kapasitesi
CIE	Uluslararası Aydınlatma Komisyonu

1. GİRİŞ

Jelatin; hayvansal dokularda fazlaca bulunan kolajenin kontrollü şartlarda hidrolizi ile üretilen biyopolimer yapıdaki bir proteindir. Jelatin kendine özgü birçok teknolojik ve fonksiyonel özelliklerinden dolayı fotoğraf, kozmetik, gıda, tıp, eczacılık, beslenme ve sağlık endüstrisinde uygulama alanı bulabilmektedir.

Dünyada jelatin ihtiyacı giderek artmakta olup, üretilen jelatinin %23,1'i kemik, %29,4'ü büyükbaş hayvan derisi, %46'sı domuz derisi ve %1,5'inin diğer kaynaklardan üretildiği belirtilmektedir [1].

Jelatin, günümüzde endüstride genellikle çözücü ekstraksiyonu ile farklı parametre ve parametre düzeyleri uygulanarak üretilmektedir. Kolajen bakımından zengin dokulardan jelatin üretimi hayvansal işleme yan ürünlerinin değerlendirilmesi ve ekonomiye kazandırılması açısından önem arz etmektedir. Hayvansal ürünlerin tüketim biçimlerinin değişmesi ve dünya nüfusunun gittikçe artması hayvansal artıkların miktarının da artmasına sebep olmuştur. Son zamanlarda jelatin üretiminde alternatif hammaddeler önem kazanmıştır. Kanatlı işleme yan ürünleri, yüksek kolajen içeriğine sahip olması sebebiyle jelatin üretiminde alternatif hammadde olarak kullanılabilir. Kanatlı işleme yan ürünü olan kemikte %16, deride ise %12 civarında protein bulunmaktadır ve bu proteinin yaklaşık olarak %90'ı kolajenden meydana gelmektedir [2,3].

Jelatin, kolajen proteininin seyreltik alkali ve/veya seyreltik asit ile muamele edilerek yıpratılması, safsızlıkların uzaklaştırılıp 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda ekstraksiyon işlemine tabi tutulması ve ardından ekstraksiyon çözeltisinin süzülüp buharlaştırılmasıyla elde edilir [4].

Jelatin, insan vücut sıcaklığının altında, sıcaklığa bağlı olarak eriyip jelleşebilen tek biyopolimer maddedir. Jelatinin jelleşme ve erime sıcaklığı arasındaki fark diğer jelleştirici ajanlara kıyasla daha küçüktür. Jelatinin bu özelliği diğer jelleştirici ajanlara göre bazı avantajlar sunmaktadır [5]. Jelatin jelinin, berrak ve parlak görüntüsü, pürüzsüz bir şekilde ağızda eriyerek oluşturduğu tekstürel özellikleri jelatini diğer posakkaritler karşısında daha avantajlı hale getirmektedir [6]. Jelatin bu özelliğinden dolayı jöle tatlılarda özellikle tercih

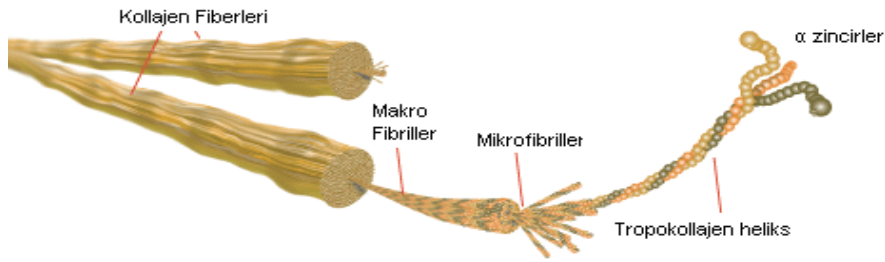
edilmektedir [7]. Jelatin gıda sanayinde çok fonksiyonluluk açısından önemli hidrokolloidler arasında gösterilmektedir. Jelleştirici, su bağlayıcı, kıvam artırıcı, köpük oluşturunu, emülsifiye edici ve film oluşturunu olarak kullanılmaktadır. Bu özelliklerin tümünü başka hiçbir hidrokolloid üzerinde barındırmamaktadır [1]. Ayrıca jelatin tıp ve eczacılık endüstrisinde serumlarda (plazma ikamesi olarak), kapsüllerde, vitamin kaplama materyallerinde, tabletlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Jelatinin kolesterol, yağ ve şeker içermemesi, sindiriminin kolay olması, bağ ve destek dokuları güçlendirerek deriyi sıkılaştırması ve saçlara parlak bir görünüm vermesi gibi özellikleri nedeniyle sağlık ve beslenme endüstrisinde jelatin tercih edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır [8].

Bu araştırmada kanatlı sanayisinde rendering işlemine gönderilen mekanik olarak eti sıyrılmış kemik (MKS) örnekleri, tavuk ayak takozu ve deri parçaları gibi yan ürünler ile koyun ve sığır kemik ve deri örneklerinin işlenerek ekonomik değeri daha yüksek olan jelatin eldesi amaçlanmıştır. Ayrıca, üretilen tavuk, koyun ve sığır kemik ve deri jelatinlerin kalite ve fonksiyonel özellikleri ve verimlerinin birbirleriyle kıyaslanarak verilmesi literatüre daha kapsamlı bilgi sunulmasını sağlayacaktır. Ayrıca özellikle MKS kemik karışımı ve tavuk ayak takozu jelatin üretimine alternatif bir kaynak oluşturacaktır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1. Kolajen ve Jelatin

Jelatin; hayvansal kaynaklı yapısal bir protein olan kolajenin kısmi hidrolizi ile elde edilen fonksiyonel bir üründür [4]. Jelatinin hammaddesi olan kolajen tavuk, balık, sığır ve domuz gibi hayvanların kemik, deri ve bağ dokularında fazla miktarda bulunmakta ve memelilerde en fazla bulunan yapısal bir protein olarak bilinmektedir [9,10]. Kolajen üç adet çoklu prolin zincirinden oluşan üçlü sarmal bir yapıya sahiptir. Burada zincirlerde her üç aminoasitten biri glisindir (Gly). Bu da kolajen molekülünün en karakteristik özelliğidir [11]. Bu zincirlerin aminoasit dizilimi genel olarak GLY-X-Y şeklindedir. Aminoasit diziliminde genellikle X prolin (PRO), Y prolinin hidroksillenmiş hali olan hidroksiprolini (HYP) gösterir [10, 12]. Kollajenin PRO ve HYP içeriği oransal olarak diğer proteinlerden farklıdır. Oransal olarak diğer hiçbir proteinde kolajende olduğu kadar HYP ve PRO bulunmaz [13, 14, 9, 10]. Kaynağa bağlı olarak değişmekle birlikte kolajenin toplam HYP ve PRO oranı %20 civarındadır. Kolajenin HYP içeriği kaynağına bağlı olarak değişir ve %10 civarındadır [13, 10]. Kolajen miktarının belirlenmesinde kollajene özgü bir aminoasit olan HYP miktarından faydalanılmaktadır [13].

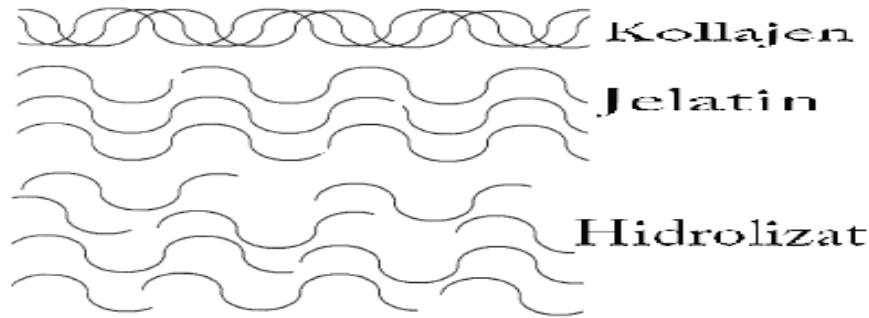


Şekil 2.1 Kolajen proteininin moleküler organizasyonu [8]

Kolajen proteinin yapı taşı olan ve polipeptit alt birimlerinden oluşan alfa zincirler ortak bir eksen etrafında dönerek $15\text{\AA}$ çapında ve $3000\text{\AA}$ uzunluğunda katı çubuk benzeri moleküller oluştururlar. Alfa zincirler mikrofibrilleri, mikrofibriller makrofibrilleri,

makrofibriller bir araya gelerek kolajen fiberlerini oluştururlar (şekil 2.1). Kollajen tek çeşit bir protein olmayıp, günümüze kadar, 27 farklı tipte kolajen tespit edilmiştir. En yaygın olan Tip I kolajendir ve daha çok kemik, deri ve tendon gibi bağ dokularda bulunur. Tip II kolajen kıkırdak dokuda, Tip III kolajen ise yaşa bağlı olarak büyük farklılık gösteren bir proteindir [1, 15].

Jelatinin hammaddesi olan kolajenin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 330 kDa’dır [11, 16]. Kolajenin kısmi hidrolizi sırasında moleküller arasındaki H bağları ve kovalent bağlar kopar. Peptit bağlarının da kopması ile alfa zincirler daha küçük parçalara ayrılır. 30 kDa’un üzerinde moleküler ağırlığa sahip kolajen parçaları oluşur. Bunlar jelatin olarak adlandırılır [5, 17]. 30 kDa’un altında moleküler ağırlığa sahip olan kolajen parçaları ise kolajen hidrolizatı olarak adlandırılır ve bu parçalar tek başlarına jel oluşturma kabiliyetine sahip değildir [5, 18]. Yapılan alışmalar moleküler ağırlığı 10 kDa’dan az olan jelatin hidrolizatının güçlü antioksidan özelliğe sahip olduğunu göstermektedir [19]. şekil 2.2’de görüldüğü gibi, ısıtılma bağlı olarak kolajenin yapısını oluşturan alfa zincirler açılır ve daha küçük parçalara ayrılır. Bu işlemi yüksek sıcaklık ve/veya uzun sürede yapmak kollajenin ařırđ hidroliz olması ve daha kısa peptit zincirlerinin oluşması anlamına gelir [4]. Suda çözünmeyen kolajenin daha fonksiyonel bir yapıya sahip olan ve suda çözünür haline jelatin denilmektedir [20].

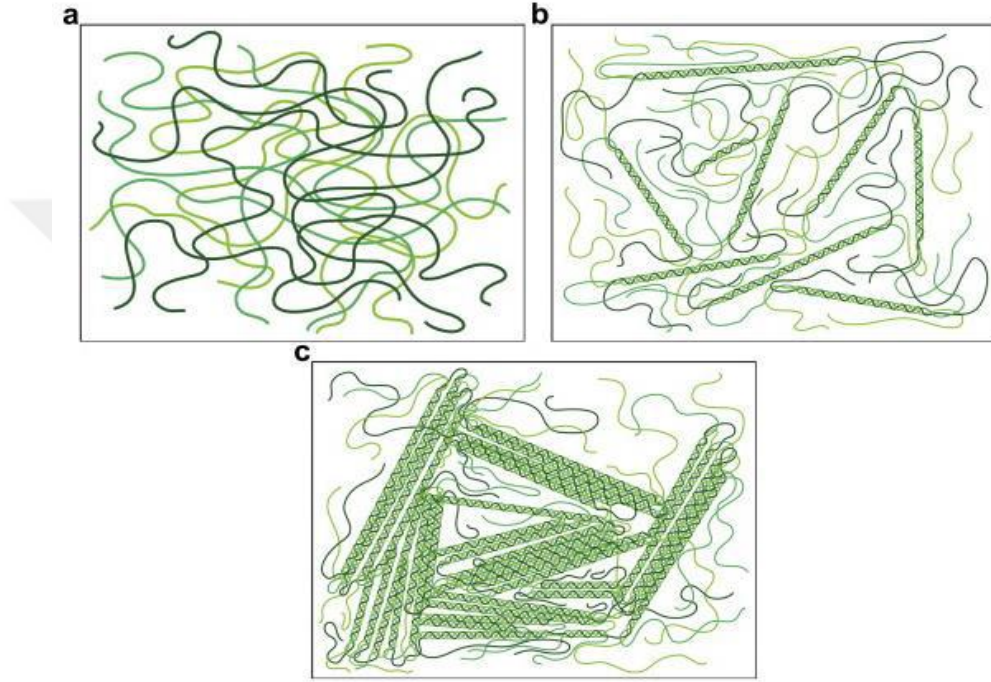


şekil 2.2 Kolajen ve jelatinin şematik görünümü [4]

2.2. Jelatinin zellikleri

Jelatin; %51 karbon, %7 hidrojen, %25 oksijen ve %17 azot moleküllerinden oluşmaktadır. Jelatinin %85-92’sini kolajen proteini oluşturmaktadır. Geriye kalan kısmı mineraller ve kurutma sonrasında kalan nemden oluşmaktadır [21].

Jelatin diğerk jelleştirici karbohidratlarla kıyaslandığında en önemli avantajı, insan vücut sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda geri dönüşümlü olarak erimesi ve jelleşmesidir [4]. Jelatin solüsyonu soğutulduğunda (35-40 °C'nin altında) jelatin molekülleri sonsuz sayıda geçici konfigürasyonlar meydana getirmektedir. Dağınık halde bulunan jelatin molekülleri kümelenerek heliks bir yapı oluşturarak ve daha düzenli hal alırlar [22]. Şekil 2.3'te jelatinin soğuması ile oluşan jel yapısı gösterilmektedir.



Şekil 2.3 Farklı sıcaklıklardaki jelatin jellerinin şematik gösterimi. a.Amorf bukleler b.Üçlü heliks bukleler c.Üçlü heliks ve bukle yığınları [23]

Jelatin jelleştirici, emülsifiye edici, kıvam artırıcı gibi birçok fonksiyonel özelliğı yerine getirebilmektedir. Gıda endüstrisi başta olmak üzere ilaç, kozmetik ve boya endüstrisinde de önemli bir yere sahiptir. Gıda endüstrisinde su bağlama, berraklaştırma, köpük oluşturma, jel oluşturma, emülsifikasyon gibi fonksiyonel özellikleri yerine getirmektedir. Jelatin kozmetik alanında deri ve saç bakım ürünlerinde kullanılmaktadır. İlaç endüstrisinde kapsül türü ilaçlarda, serum formülasyonlarında ve ilaçların ve vitaminlerin kaplanmasıda kullanılmaktadır [24]. Jelatin hidrolizatları ise gıdalara ilave edilmesinin yanı sıra meyve suyu, bira ve şarapların berraklaştırılmasında kullanılır. Jelatin

şekerleme endüstrisinde köpük oluşturma ve stabilizasyonu, ısıl tersinir jel oluşturma, kontrollü şeker kristalizasyonu ve emülsifikasyon gibi birçok fonksiyonel özelliği gerçekleştirdiği için bu alanda geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [1, 24]. Jelatin genel anlamda GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsündedir. Jelatin Türkiye’de ve diğer birçok ülkede katkı maddesi olarak değerlendirilmemektedir ve kullanımı sınırlandırılmamaktadır.

Alkali ile ön işlem yapılmış jelatinin aminoasit kompozisyonu, kolajenin aminoasit kompozisyonundan farklı olmaktadır. Alkali kullanarak yapılan ön işleminde iyonize olmamış asparajin ve glutamin aminoasit kalıntıları karboksil gruplarına dönüşerek amonyak açığa çıkmakta ve jelatin asidik bir karakter kazanmaktadır. Alkali ile ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 4,8-5,5 arasında iken asit ile ön işlem görmüş jelatinin izoelektrik noktası 7,0-9,4 arasında olmaktadır [25].

Bloom değeri, jelatin jel direncinin veya sertliğinin bir ifadesidir. Jelatinin endüstriyel olarak sınıflandırılmasına yarayan en önemli kalite kriteri olarak gösterilmektedir. Bloom değeri arttıkça jelatinin pazar değeri de artmaktadır [3]. Jel kuvveti 150’den düşük olanlar düşük, 150-200 arasında olanlar orta ve 220’den yüksek olanlar yüksek jel kuvvetine sahip jelatin olarak değer görmektedir. Genelde sanayide 250-260 bloom değerine sahip jelatinler kullanılmaktadır [26].

Jelatinin mekanik özelliklerinin, moleküler ağırlık dağılımına ve ortalama molekül ağırlığına bağlı olduğu; uygulanan ön işlem ve ekstraksiyon proseslerinin bu parametreleri belirlediği ifade edilmektedir. Uygulanan alkali veya asidik işlemler de farklı kolajen fragmentleri oluşmasına neden olmaktadır. Uygulanan kimyasal işlemler ılımlı şartlarda ise yüksek bloom değerine sahip jelatin, uzun süre ve yüksek sıcaklıkta uygulanan bir işlem ise, polipeptid zincirlerinin hidrolizi sebebiyle, daha düşük bloom değerine sahip jelatin elde edilmektedir [27].

Viskozite, jelatinin en önemli ikinci kalite kriteri olarak gösterilmektedir. Gıda endüstrisinde stabilizör olarak kullanılan jelatinin yüksek viskoziteye sahip olması arzu edilmektedir. Fakat şekerleme gibi ürünlerde ise düşük viskoziteli jelatinler kullanılmaktadır [1]. Jelatin solüsyonunun viskozitesi, moleküller arasındaki hidrodinamik etkileşimlere bağlıdır. Piyasadaki jelatinlerin viskoziteleri 2-7 cP arasında değişmektedir. Bazı özel olarak üretilen jelatinlerin viskozitelerinin 13 cP olabildiği

söylenmektedir. Yüksek viskoziteye sahip jelatinlerin sert ve daha esnek olduğu, düşük viskoziteli jelatinlerin yumuşak ve zayıf olduğu bildirilmektedir [28].

Jelatin üretiminde ön işlem basamağında kullanılan alkali veya asit konsantrasyonu viskoziteyi etkilemektedir. Bu basamakta asit ile ön işlem görmüş jelatin, aynı moleküler ağırlığa sahip alkali ön işlem görmüş jelatinden daha düşük viskoziteye sahip olduğu bildirilmektedir. Bu farklılığın sebebi, asit uygulamasıyla üretilen jelatinlerin, alkali uygulamasıyla üretilen jelatine kıyasla daha az dallı yapı göstermesine bağlanmaktadır [25].

Jelleşme noktası, jelatin solüsyonunun jelleştiği sıcaklık olarak; erime noktası ise jelatin jelinin solüsyon haline geldiği sıcaklık olarak belirtilmektedir. Jelleşme ve erime sıcaklıkları, ilaç kapsülü üretimi olmak üzere bunun gibi birçok uygulamada kalite kriteri olarak bildirilmektedir, bu sebeple jelatin üretim optimizasyonlarında dikkate alınmaktadır. Jelleşme ve erime sıcaklıkları, jelatin konsantrasyonu ve bloom değerinin artışıyla arttığı bildirilmektedir [1]. Jelatinin jelleşme ve erime dereceleri üzerinde, ön işlem ve termal ekstraksiyon aşamalarının bir sonucu olan moleküler ağırlık dağılımının önemli etkisi olduğu bildirilmektedir [27].

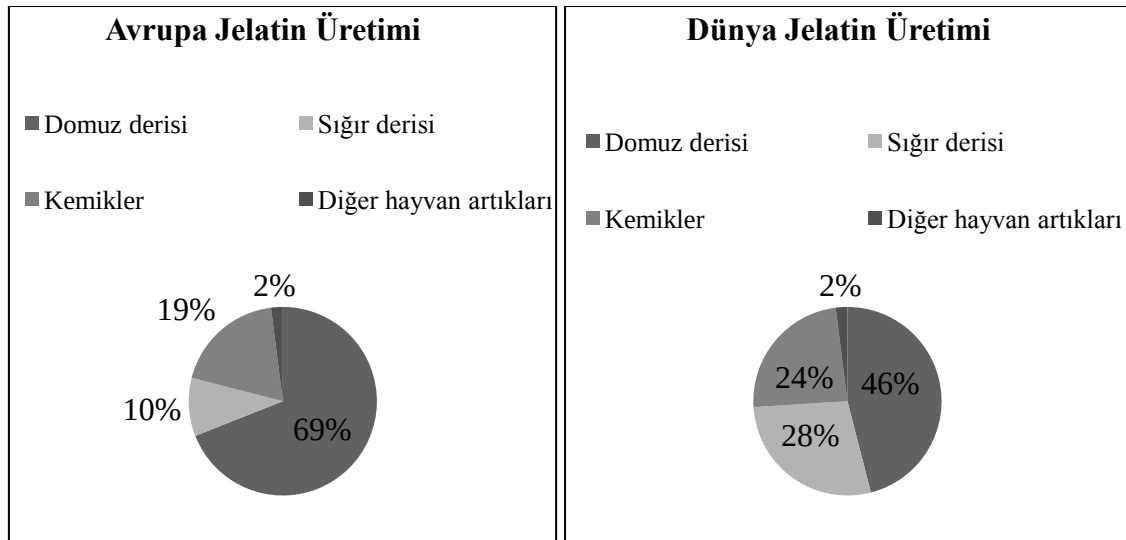
Jelatinin rengi ve saydamlığı, tüketiciyi doğrudan etkileyebilecek bir unsur olduğundan teknik ve ticari olarak önemli bir kalite kriteri olarak gösterilmektedir [29]. Jelatin üretiminde, termal ekstraksiyon prosesi sırasında ortamda az miktarda bulunan karbonhidratlar ve materyali oluşturan proteinler arasında Maillard reaksiyonu gerçekleşmektedir. Buna bağlı olarak ilk ekstrakte edilen partinin jelatin rengi berrak, son ekstrakte edilen partinin jelatin rengi ise koyu renkli olmakta ve koku oranının yüksek olduğu bildirilmektedir [30]. Diğer yandan, renk parametresi jelatinin dış görünüş kalitesini düşürdüğü, fakat fonksiyonel özellikler üzerinde bir etkisinin olmadığı da belirtilmektedir [29]. Bir oksidasyon etmeni olan hidrojen peroksit jelatin rengini açabilmektedir [30].

2.3. Türkiye’de ve Dünya’da Jelatin

Türkiye’de ve diğer ülkelerde kanatlı ve işlenmiş kanatlı ürünlerinin üretiminin artmasıyla kanatlı işleme yan ürünlerinin değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Kanatlı

işleme yan ürünleri zengin besin içeriğine sahip olması sebebiyle hayvan yemlerine katılmaktadır. Türkiye’de toplam et üretiminin yaklaşık %65’i kanatlı et üretimi ile ilk sırada yer almaktadır [31]. Yıllık tavuk eti üretimi yaklaşık 1 milyon 600 bin tondur. Bu üretimden açığa çıkan tavuk işleme yan ürünleri miktarı ise yıllık yaklaşık 600 bin ton olduğu tahmin edilmektedir [32]. Bu atıkların toplanarak jelatin üretiminde kullanılması biyolojik kaynaklardan fazlaca yararlanılmasına, çevre kirliliğinin önlenmesine ve ekonomiye katkı sağlayacaktır. Literatür araştırmalarında tavuk derisinden jelatinin ekstrakte edildiği ve üretilen jelatinin kalite özelliklerinin belirlendiği bildirilmiştir [3].

Ülkemizde yılda yaklaşık 5000 ton jelatin kullanılmaktadır. Jelatinin tamamı neredeyse ithal edilmektedir. İthal edilen ülkeler arasında ABD, Almanya, İtalya, Brezilya, Kore, Pakistan, Fransa, Hindistan, Kolombiya, Çin, Kanada, Japonya’nın da bulunduğu birçok ülke yer almaktadır. Jelatin üretimi Dünya’da 2006 yılından bu yana 315 bin ton olup, üretimde kullanılan ham materyallerin %46’sı, Avrupa’da jelatin üretiminde kullanılan ham materyallerin ise %69’u domuz derisinden sağlanmaktadır (Şekil 2.4). Ülkemizde 2008 yılında Uşak ilimizde Türkjel isminde bir jelatin fabrikası kurulmuş, fakat henüz üretime başlayamamıştır. Ülkemizde başarılı bir girişim olarak Balıkesir ilimizde Gönen de kurulmuş olan Seljel işletmesinin 2010 yılında sığır derisinden jelatin üretmeye başladığı ve yıllık yaklaşık 2000 ton kapasite ile çalıştığı bildirilmektedir [8].



Şekil 2.4 2006 yılı Dünya ve Avrupa jelatin üretiminde hammadde dağılımı (<http://www.gelatine.org/en/gelatine/overview/127.htm>).

Jelatinin birçok teknolojik ve fonksiyonel özelliklere sahip doğal bir protein olması, son yıllarda jelatin üretimine alternatif kaynak arayışının hız kazanması ve bu alternatif kaynaklardan jelatin üretmek için uygun metotların geliştirilmesi için çalışmaların sürmesi jelatin üretim ve tüketiminin önümüzdeki yıllarda daha da artacağını göstermektedir.

2.4. Jelatin Üretimi

Jelatin üretiminde kolajenin hidrolize edilerek suda çözünür daha küçük parçalara bölünmesi ve üstün jelleşme özelliklerine sahip olması amaçlanmaktadır. Ekstraksiyon işleminde kolajen aşırı parçalanmadan, yeterli düzeyde parçalanarak en iyi jelleşme özelliği gösteren jelatinin üretilmesi sağlanmalıdır [17, 33]. Üretim koşulları elde edilecek jelatinin kalitesini büyük ölçüde etkilemektedir. Ön işlem aşamasında kullanılacak asit ve/veya alkali konsantrasyonu ile ekstraksiyon işleminin süresi ve sıcaklığı jelatin kalitesine etki eden en önemli faktörlerden biridir [34, 35].

Jelatin kolajence zengin dokuların temizleme, küçük parçalara bölme, safsızlıkların uzaklaştırılması, asit ve/veya alkali ile muamele gibi ön işlemlerden geçirilip, 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminden sonra elde edilen çözeltinin yoğunlaştırılması ve kurutulup toz haline getirilmesi ile elde edilmektedir. Jelatin temelde kolajence zengin hayvansal dokulardan üç aşamada elde edilir. (A) Ön işlem (temizleme, boyut küçültme, safsızlıkların uzaklaştırılması, seyreltik asit ve/veya alkali ile muamele), (B) jelatin ekstraksiyonu ve (C) ekstraksiyon çözeltisinin süzülüp, yoğunlaştırılıp, kurutulmasıdır [33, 36].

2.4.1.Hammadde

Jelatin üretiminde tavuk, sığır, koyun ve domuz gibi hayvanların deri ve kemiklerinden faydalanılmaktadır. Bu ham materyallerin jelatin üretiminden önce boyutlarının küçültülmesi ve safsızlıkların uzaklaştırılması sağlanmalıdır.

2.4.1.1. Kemik

Et işleme tesisleri ve kesimhanelerden elde edilen kolajen için önemli bir kaynak oluşturan kemiklerin çoğunluğu jelatin üretiminde kullanılmaktadır. Kemik materyali hijyenik şartlarda 0,5 cm'lik küpler haline getirilip, 30 dakika boyunca 85-90 °C'de sıcak su içerisinde karıştırılarak deriler ve kalıntı etler uzaklaşana kadar yıkanmaktadır [37].

2.4.1.2. Deri

Deri materyali ise kan, yağ, et artıkları gibi safsızlıklardan arındırıldıktan sonra yıkanıp, 1 cm'lik küpler haline getirildikten sonra 3 saat boyunca ~65°C'de sıcak su içerisinde karıştırılarak temizleme işlemi gerçekleştirilmektedir. Ardından seyreltik asit ve/veya alkali ile muamele edilmektedir.

2.4.1.3. Mekanik Olarak Sıyrılmış Kemik Posası

Karkas üzerindeki etler ayrıldıktan sonra kemiklerin üzerinde kalan etin parçalama ve basınç gibi mekanik işlemlere maruz bırakılarak uygun makinalarda ayrıştırılmasıyla mekanik ayrılmış et (MAE) üretilmektedir. Elde edildiği hayvanın türüne göre mekanik ayrılmış tavuk eti (MATE), mekanik ayrılmış kanatlı eti (MAKE), mekanik ayrılmış hindi eti (MAHE), mekanik ayrılmış dana/sığır eti, mekanik ayrılmış balık eti olarak isimlendirilmektedir [38, 39, 40]. Mekanik olarak ayrıştırılmış et üretiminde kullanılan makina Şekil 2.5'de verilmiştir.



Şekil 2.5 Mekanik ayrıştırılmış et üretim makinası

Kanatlı etlerinin mekanik olarak ayrılmasında kullanılan en yaygın iki sistem; tek aşamalı pres sistemi ve iki aşamalı burgu tipi sürekli sistemdir. Bu sistemlerde kullanılan makinalar, üretici firmaya göre bazı farklılıklar gösterse de çalışma prensipleri genel olarak aynıdır [41, 42].

Burgu tipi kemik ayırma makinaları birçok ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır. Üzerinde et parçaları bulunan kemiği küçük parçalara ayıran öğütücü, öğütülen et ve kemik karışımının bir sonraki bölüme geçişi sağlanarak ayrılmasını sağlayan basınçlı bir bölme ve delikli plakalar, elek veya silindirden ibarettir. Parçalanmış kemik ve et karışımı basınç çemberi aracılığıyla ince delikli eleğe doğru beslenir. Et ince bir akıntı şeklinde elek altına geçer. Artık ürün olan, istenmeyen bağ doku ve kemik kalıntıları elek üstünde kalır [41, 20].

Diğer bir sistem ise Hollanda'da geliştirilen ve Avrupa'da kullanılan tek aşamalı hidrolik pres tipi makinalardır. Bu sistemin en bilinen örneği Stork Protecon makinalarıdır. Mekanik ayrılmış et üretiminde üzerindeki et ile birlikte kemikler ön parçalama olmadan, direkt olarak makineye beslenir. Et kemiklerden yüksek basınç uygulamasıyla (315-473 kg/m²) ayrılarak bir seri filtreden geçirilir [41, 42].

Tavuk işleme tesislerinde karkas üzerindeki et ayrıldıktan sonra üzerinde azımsanamayacak miktarda et bulunan boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, göğüs kafesi, butsırt gibi kemikler makinalara beslenerek MAE üretimi yapılmaktadır. Üretim esnasında MAE'nin yanı sıra içerisinde kemik, kıkırdak ve bağ doku bulunan artıklar ayrılmaktadır. Bu artıklar genel olarak renderinge gönderilerek yem üretiminde kullanılmaktadır. Ancak bu artıkların protein içeriği bakımından zengin olması gıda, tıp, eczacılık gibi birçok endüstride kullanılmak üzere fonksiyonel ve katma değeri yüksek ürün üretmek amacıyla artıklardan geri kazanımını önemli kılmaktadır. Bu sebeple de jelatin üretiminde alternatif kaynak oluşturmaktadır.

2.4.2.Ön işlem

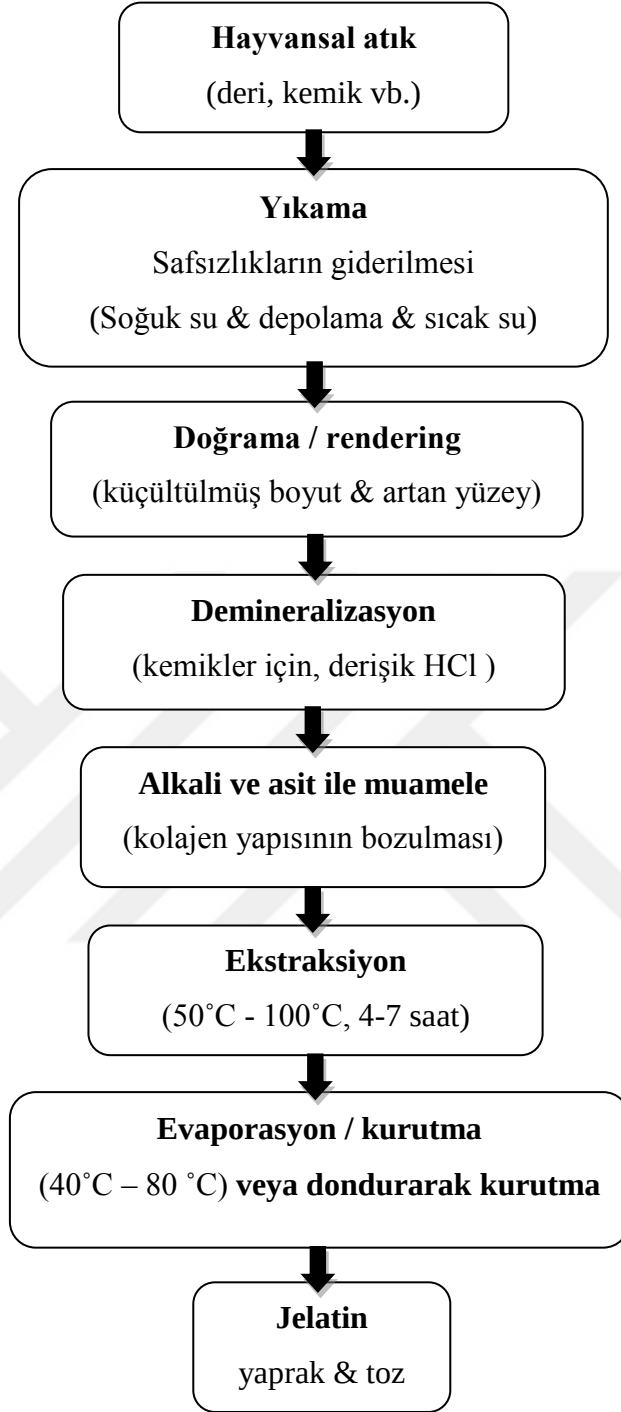
Kolajenin yapısında bulunan çapraz bağlar genel itibariyle kimyasal uygulaması yapılarak parçalanmaktadır. Jelatin kalitesi üzerinde olumsuz etkisinden dolayı çapraz bağların parçalanmasında yüksek sıcaklık uygulaması tercih edilmemektedir. Kısmi

kimyasal hidroliz uygulamasında seyreltik asit ve/veya alkali çözeltisi ile çapraz bağlar parçalanmaktadır. Fakat kolajen protein zincirleri zarar görmemektedir [43].

Ön işleminde kullanılacak yöntem hayvanın yaşına, materyale, materyaldeki çapraz bağ miktarına ve jelatin kalitesine göre belirlenmektedir. Bu basamakta hayvan yaşı jelatin kalitesi ve verimini etkileyen önemli bir faktördür. Çapraz bağ oranı düşük olan genç hayvanların kolajenine seyreltik asit ile kısa süreli ılımlı bir muamele uygulanmakta ve bunun sonucunda A tipi jelatin üretilmektedir. Çapraz bağ oranı yüksek olan yaşlı hayvanlarda derişik bazik çözelti içerisinde daha kuvvetli bir uygulama ile B tipi jelatin üretilmektedir [1, 30]. Uygulanan alkali ve/veya asidik ön işlem, materyaldeki kolajen olmayan proteinlerin uzaklaştırılmasını, kolajen matriksinin istenen düzeyde şişmesini ve kolajendeki moleküller arası ve molekül içi kovalent olmayan bağların kopmasını sağlamaktadır [44]. Jelatin üretiminde hammadde olarak kullanılan deri, kıkırdak, balık pulu ve kemikte bulunan kolajen miktarı farklılık göstermektedir. Hammadde kıkırdak, balık pulu ve kemik ise elde edilen verim %5 civarında, deri ise %10 civarındadır. Kemik ve kıkırdak gibi dokularda verimin düşük olmasının sebebi özellikle kalsiyum gibi yüksek mineral madde içermesidir ve ekstraksiyon işleminden önce uzaklaştırılması zorunludur. Bu nedenle elde edilen jelatin verimi ve kalitesinde düşüş gözlenmektedir [45].

2.4.3. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon aşaması jelatin üretiminde en önemli proses aşamasıdır. Jelatin hayvansal dokulardan genellikle çözücü ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Çözücü ekstraksiyonu; uygun bir çözücü yardımı ile katı bir maddenin içerdiği bileşenlerin birini veya bir bölümünü ekstrakte etmeye yarayan tekniktir. Burada ekstrakte edilmek istenen bileşeni en iyi çözen organik ve/veya inorganik çözücüler kullanılmaktadır. Çözücüye geçen hedef bileşenler, çözeltinin filtre edilmesi ve/veya kurutularak çözücünün uzaklaştırılması ile elde edilmektedir [46]. Kolajence zengin hayvansal dokular ön işlem basamaklarından geçirildikten sonra çözücü ekstraksiyonu metodu ile jelatinin çözücüye geçmesi sağlanır. Uygun bir çözücü içerisinde ısıtma işlemine maruz bırakılan ham materyalden elde edilen jelatince zengin çözelti genel olarak ısıtma işlemine kurutulmakta veya liyofilizasyon işlemiyle toz haline getirilmektedir [4]. Jelatin üretim akış şeması şekil 2.6'da verilmiştir.



Şekil 2.6 Hayvansal atıklardan jelatin üretim akış şeması [47]

2.5. Proteinlerin İçerik, Miktar ve Yapısal Özellikleri Bakımından Analiz Yöntemleri

Gıdalarda protein miktarının tayini için Kjeldahl, Bradford, Lowry, Biüret metotları, protein profilini belirlemek için elektroforez ve yapısal/konformasyonel özelliklerini belirlemek için ise FTIR yöntemleri kullanılmaktadır.

2.5.1. Protein Miktar Tayini

Gıdalarda bulunan proteinlerin miktarlarının tayini için Bradford, Lowry, Biüret, Kjeldahl yöntemleri kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında MKS karışımı, koyun ve sığır deri ve kemiği, tavuk takozu ve tavuk deri örneklerinin protein miktarının belirlenmesi amacıyla Bradford yöntemi kullanılmıştır. Bradford yöntemi spektrofotometrik bir yöntemdir. Bu yöntemde negatif yüke sahip organik boyar madde olan Commassie brilliant blue G-250 proteindeki pozitif yüklü gruplara bağlanabilme özelliğine sahiptir. Kuvvetli bir asit içerisinde çözündüğünde elde edilen kahverengi kırmızı renkte bulunan bu boya proteine bağlandığında mavi renk oluşturmaktadır. Mavi renkli boya-protein kompleksi maksimum 595 nm dalgaboyunda absorpsiyon piki verir ve böylelikle örnek içerisindeki protein miktarı tespit edilir. Yüksek duyarlılıkta bir reaksiyon olup (0,01-0,05 mg protein/ml) tekrarlanabilir ve hızlı sonuç vermektedir [48].

Lowry yönteminde alkali bir ortamda +2 yüklü bakır iyonu proteinlerdeki peptid bağları ile bir kompleks oluşturur ve +1'e indirgenir. İndirgenmiş bakır ve proteinlerin yan zincirinde yer alan Trp, Tyr ve Cys aminoasitleri Folin-Fenol reaktifini indirgeyerek renk oluşumuna sebep olur. Oluşan rengin şiddeti protein konsantrasyonu ile doğru orantılı olmakla birlikte 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülür.

Biüret yönteminde alkali ortamda Cu^{+2} iyonlarının protein ve peptitlerdeki peptit bağı azotuyla verdiği reaksiyon sonucu oluşan mavi-mor rengin 540-560 nm'deki absorbandsından faydalanılır.

Kjeldahl yöntemi materyalin bileşiminde bulunan azotun katalizör ve sülfirik asit varlığında yaş yakma yöntemi ile amonyağa dönüştürülüp, amonyağın amonyumsülfat olarak tutulmasına dayanır.

2.5.2. SDS-PAGE Yöntemi

Proteinler yapılarındaki fonksiyonel grup ve aminoasitlere bağlı olarak negatif veya pozitif yük taşımaktadırlar. Protein moleküllerini içeren bir çözeltiye uygun bir destek ortamı üzerinde elektriksel alan uygulandığında protein büyüklüğüne ve net yüküne bağlı olarak belirli bir hızda hareket eder. Proteinlerin hareket etmesini sağlayacak destek ortamı poliakrilamid jeldir. Poliakrilamid jel sentetik bir yapıya sahip olan akrilamid ve akrilamid türeviden N-N'-metilen bisakrilamidin polimerleşmesiyle oluşur. Örnekler oluşan bu jel üzerinde koşturulur. Polimerleşme reaksiyonunda bulunan akrilamid molekülleri düz zincirler oluştururlar. İki akrilamid zinciri ile bisakrilamid molekülleri çapraz bağlanmalar oluşturur. Böylece ağimsı bir yapı meydana gelir. Polimerleşmenin etkinliği amonyum persülfat (APS), sıcaklık, pH ve N,N,N',N'-tetrametil-etilendiamin (TEMED) miktarına göre değişiklik gösterir. Polimerleşmenin serbest radikal oluşturabilmesi için TEMED katalizör, APS reaksiyon başlatıcı olarak görev alır.

Proteinler, güçlü negatif bir yük taşıyan deterjan olan sodyum dodesilsülfat (SDS) içeren bir çözelti ile muamele edilir. SDS proteinlerin hidrofobik kısımlarına bağlanarak protein yapısının açılmasına, bağlı proteinlerin birbirinden ayrılarak çözelti içinde serbest olarak hareket etmesine neden olur. Proteinlerdeki S-S bağlarını kırmak için betamerkaptoetanol gibi bir indirgeyici ajan kullanıldığında fazla alt birimli molekülleri oluşturan polipeptitlerin analizi gerçekleştirilebilmektedir. Her protein molekülü uygun voltaj kullanarak oluşturulan elektriksel alanda belirli süre ilerleyip çok sayıda eksi yüklü deterjan molekülü bağlar. Bunlar deterjanın gerçek yükünü örterek voltaj uygulandığında artı elektroda doğru ilerlemesine neden olur. Büyük proteinler daha büyük elektriksel kuvvet etkisinde kaldıklarından dolayı daha hızlı ilerlemeleri gerekir. Sonuç olarak moleküler ağırlıklarına göre karmaşık bir protein karışımı bir dizi belirli protein bantlarına ayrılır. Bu karışım içerisindeki önemli proteinler Coomassie mavisi gibi bir boya ile belirlenebilir. Daha az (10 ng kadar) protein içeren bantlar altın ya da gümüş içeren boyalar kullanılarak belirlenebilir [49].

2.5.3. FTIR Yöntemi

FTIR yöntemi, Fourier dönüşümü ile ışığın kızılötesi yoğunluğunda dalga sayısının ölçülmesine yarayan spektroskopik bir yöntemdir. Bu yöntemin prensibi, kızıl ötesi olarak adlandırılan radyasyonun absorpsiyonu ile kimyasal bağların titreşimlerinin ölçülmesine dayanmaktadır. Kızıl ötesi ışınlar kimyasal bağların bükülme, gerilme ve büzülme gibi değişik titreşim hareketleri ile absorbe edilir. Kızılötesi bölgelerdeki kimyasal bağların titreşimlerindeki farklılık ve absorpsiyon özellikleri spektral piklerin oluşmasını sağlar. Fonksiyonel her grup kendine has titreşim frekansına sahiptir [50].

Elektromanyetik ışık dizilerinin kızıl ötesi bölgesi 14000 cm^{-1} ile 10 cm^{-1} arasında değişiklik göstermektedir. Ayrıca yakın dalga boylu kızıl ötesi (NIR; $4000\sim14000\text{ cm}^{-1}$), orta dalga boylu kızıl ötesi (MIR; $400\sim4000\text{ cm}^{-1}$) ve uzak dalga boylu kızıl ötesi (FIR; $4\sim400\text{ cm}^{-1}$) olmak üzere üç ana bölgeden meydana gelmektedir. MIR bölgesindeki bantlar ile proteinler, nükleik asitler ve hücre duvarı bileşenleri gibi bakteri hücrelerinin toplam bileşenleri belirlenebilir [51].

MIR spektroskopisi ile organik bileşenlerin tanımlanması yapılır. Organik bir maddenin ışık dizisinde $3600\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ aralığı fonksiyonel gruplar bölgesidir. İkinci bölge $1200\text{-}700\text{ cm}^{-1}$ aralığı parmak izi bölgesi olarak adlandırılır. Parmak izi bölgesi özellikle moleküldeki küçük yapısal değişiklikleri incelemek amacıyla kullanılır. Molekülün yapısında meydana gelen küçük değişiklikler, bu bölgedeki absorpsiyon piklerinin büyük ölçüde yer değiştirmesine sebep olur. Bu bölgede iki ışık dizisinin çakışması, bu iki ışık dizisinin aynı madde olduğunu gösterir. Bu bölge aralıklarında tek bağların çok büyük bir kısmı absorpsiyon bantları oluşturur. Bu bölgenin oldukça dar olmasından dolayı bölgedeki titreşimlerin frekansları, enerjilerinin birbirine yakın olmasından kaynaklı olarak birbirlerini fazlasıyla etkiler [51, 52, 53].

2.6. Çalışmanın Amacı ve Özgünlüğü

Güncel literatür incelendiğinde, hayvansal atıklardan kolajen ve jelatin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu üzerine çeşitli çalışmalar bulunduğu görülmüştür. Ancak sınırlı sayıda materyal ile yapılan çalışmalar çoğu zaman kıyaslama yapmaya imkan vermemektedir.

Sunulan bu tez çalışmasının mevcut araştırmalardan farkı; MDM posa, koyun ve sığır deri ve kemiği, tavuk derisi ve tavuk takozu olmak üzere 7 farklı örnekten elde edilen jelatinlerin fizikokimyasal, fonksiyonel, tekstürel özellikleri ile protein içeriği ve konformasyonu bakımından karşılaştırmalı olarak incelenmesine imkan sağlamasıdır. Bu tez çalışmasının hem literatüre hem de alternatif kaynakların değerlendirilmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Ön çalışma aşamasında hammadde olarak tavuk kesimhanelerinde ayrılan kanatlı deri, boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, tavuk takozu, göğüs sırt, but sırt ve bu kemiklerin tümünün karışımı kullanılmıştır. Boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, tavuk takozu, göğüs sırt ve but sırt kemik örnekleri ayrı ayrı MDM makinasında öğütülmüştür. Kemik karışım örneği ise tüm kemik örneklerinin karıştırılıp MDM makinasında öğütülmesiyle hazırlanmıştır. Tüm kanatlı deri ve kemik örnekleri Gedik Piliç A.Ş. kesimhanesinden temin edilmiştir. Ham materyallerin listesi Çizelge 3.1’de verilmiştir. Materyaller analizler gerçekleştirilinceye kadar -18°C’de muhafaza edilmiştir.

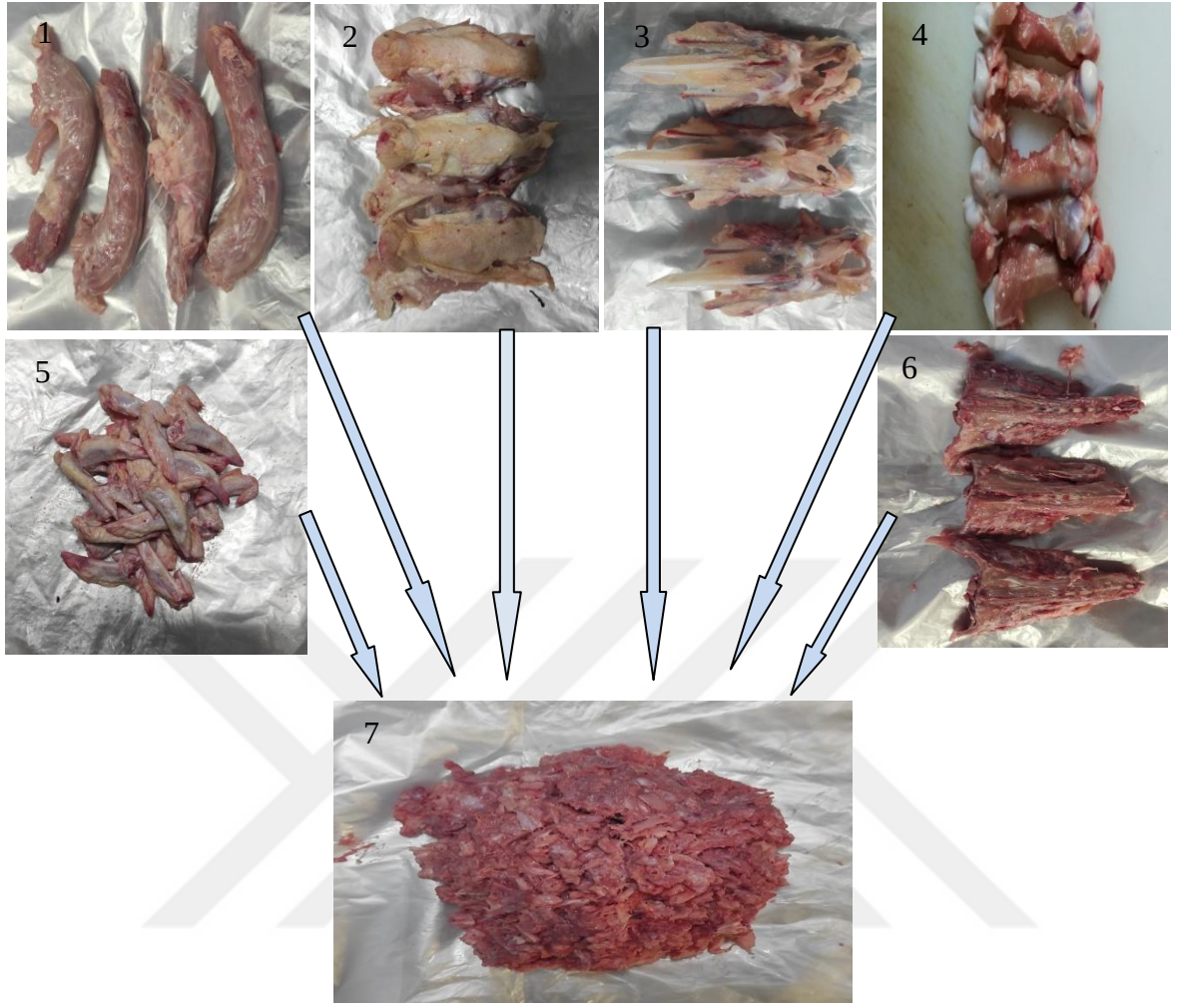
Çizelge 3.1 Ön çalışmada kolajen/jelatin ekstraksiyonunda kullanılan deri, kemik ve posa örnekleri

No	Örnekler
1	Tavuk deri (Chicken skin)
2	Tavuk boyun (Chicken neck)
3	Tavuk incik kemiği (Chicken shinbone)
4	Tavuk göğüs kemiği (Chicken breastbone)
5	Tavuk kanat ucu (Chicken wing tip)
6	Tavuk takozu (Chicken shanks)
7	Tavuk göğüs sırt (Chicken upper backbone)
8	Tavuk but sırt (Chicken lower backbone)
9	MKS (Mechanically deboned meat)

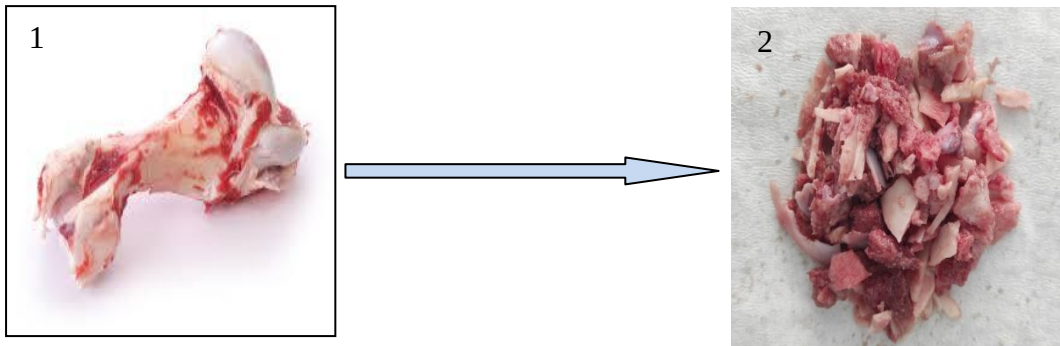
Ana çalışmada ise hammadde olarak tavuk kesimhanelerinde mekanik kıyma üretimi sırasında yan ürün olarak ortaya çıkan, kemik, kıkırdak ve bağ dokudan oluşan ve genel olarak renderinge gönderilen boyun, göğüs kemiği, incik kemiği, kanat ucu, göğüs sırt ve but sırt içeren kemik karışımı olan MDM posası, tavuk derisi, tavuk ayak takozu, koyun derisi ve kemiği, sığır derisi ve kemiği kullanılmıştır. Tavuk MDM posası, tavuk deri ve takoz materyalleri Gedik Piliç A.Ş. kesimhanesinden temin edilmiştir. Koyun ve sığır kemik örnekleri yerel bir kasaptan, koyun ve sığır deri örnekleri ise yerel bir mezbahaneden temin edilmiştir. Materyaller denemeler gerçekleştirilinceye kadar kilitli poşetler içinde -18°C’de muhafaza edilmiştir. Listesi Çizelge 3.2’de verilen hammaddelerin öğütülmüş ve trimlenmiş görselleri Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6, Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 Ana çalışmada kolajen/jelatin ekstraksiyonunda kullanılan deri, kemik ve posa örnekleri

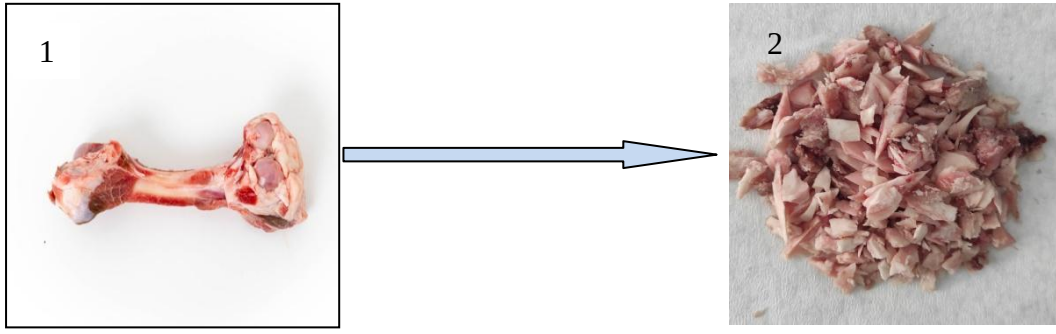
No	Örnekler
1	MKS (Mechanically deboned meat)
2	Koyun kemiği (sheep bone)
3	Sığır kemiği (bovine bone)
4	Tavuk takozu (chicken shanks)
5	Tavuk derisi (chicken skin)
6	Koyun derisi (sheep skin)
7	Sığır kemiği (bovine skin)



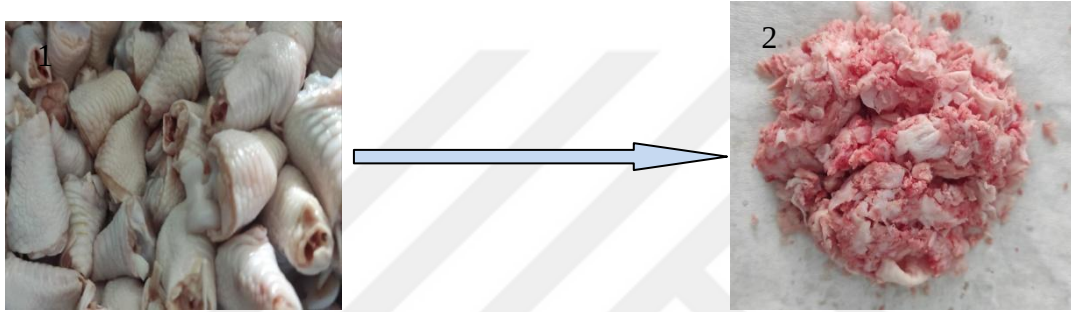
Şekil 3.1 MDM kemik karışımı örneği. 1. Boyun 2. But sırt 3.Göğüs kemiği 4. İncik kemiği 5. Kanat ucu 6.Göğüs sırt 7. MDM posası



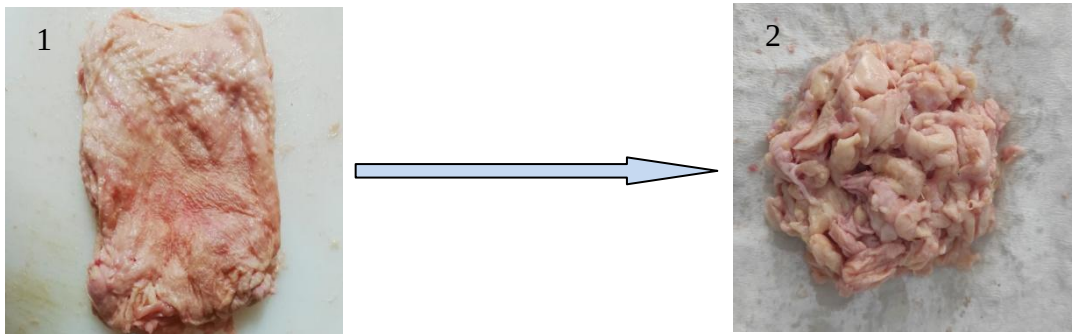
Şekil 3.2 Koyun kemiği örneği. 1. Bütün koyun kemiği 2. Öğütülmüş koyun kemiği



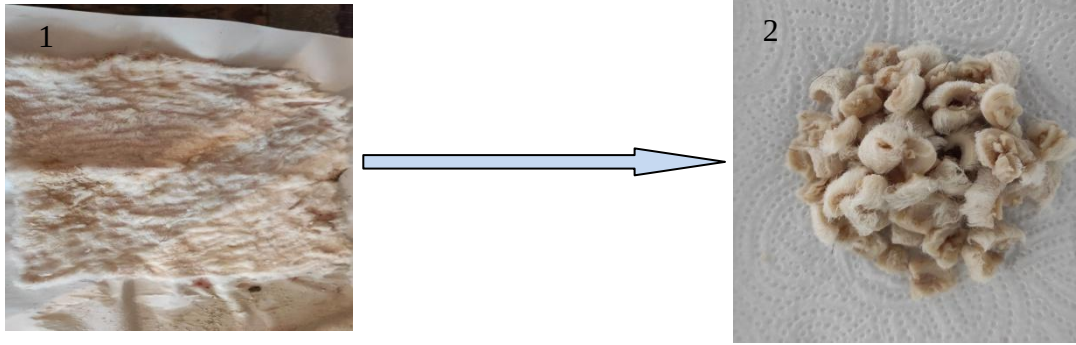
Şekil 3.3 Sığır kemiği örneği. 1. Bütün sığır kemiği 2. Öğütülmüş sığır kemiği



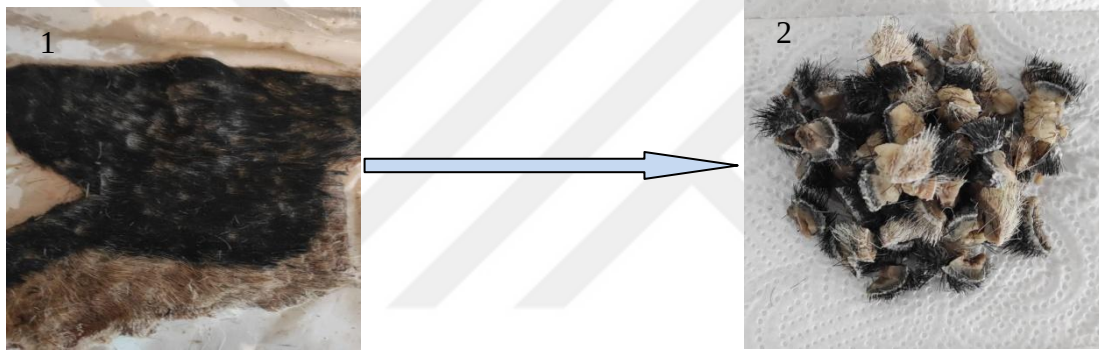
Şekil 3.4 Tavuk ayak takozu örneği. 1. Bütün takoz 2. Öğütülmüş takoz



Şekil 3.5 Tavuk derisi örneği. 1. Bütün tavuk derisi 2. Trimlenmiş tavuk derisi



Şekil 3.6 Koyun derisi örneği. 1. Bütün koyun derisi 2. Trimlenmiş koyun derisi



Şekil 3.7 Sığır derisi örneği. 1. Bütün sığır derisi 2. Trimlenmiş sığır derisi

3.2. Yöntem

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında, tavuk deri ve boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, ayak takozu, göğüs sırt, but sırt ve bu kemiklerin karışımının MKS artıklarında, ön işlem (seyretilik alkali ve asit ile muamele), mineral ve yağdan arındırma ve ısıl ekstraksiyon işlemleriyle kolajen ve jelatin ekstraksiyonu işlemi ve karşılaştırmalı olarak bazı fizikokimyasal özellikleri incelenmiştir. Bu amaçla, belirtilen deri ve kemik posası örneklerinin kuru madde, nem, kül, yağ ve protein tayinleri ile SDS-PAGE analizleri yapılmıştır. Ayrıca, deri ve karışım MDM örneklerinde viskozite ve tekstür analizleri de yapılmıştır.

Ön denemelerden edinilen bilgiler doğrultusunda, çalışmanın ana aşamasında tavuk deri ve MDM karışım, koyun deri ve kemiği, sığır deri ve kemiği örnekleri kullanılarak jelatin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen fraksiyonların protein miktarı, içeriği, yapısal, fonksiyonel ve tekstürel özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiştir.

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

Ön denemelerde kullanılmak üzere hazırlanan örnekler; tavuk deri, boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, takoz, göğüs sırt, but sırt ve bu kemiklerin karışımı olan MKS artıklarıdır. Kemik örneklerinin tümü MDM makinasında öğütülerek hazırlanmıştır. Tavuk deri (~1x1 cm) ise, yağ ve et parçaları temizlendikten sonra küçük parçalara ayrılmıştır. Örnekler analizler gerçekleştirilinceye kadar -18°C’de muhafaza edilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşaması için, MDM makinasında eşit miktarda (1,5 kg) boyun, but sırt, göğüs kemiği, incik kemiği, göğüs kafesi, kanat ucu ham materyallerinin parçalanması sonucu artık olarak ayrılan MDM posası, MDM makinasında öğütülmüş tavuk ayak takozu posası, elde satır yardımıyla öğütülmüş koyun ve sığır kemikleri -18 °C’de bekletilmiştir. Yağ ve et parçası gibi safsızlıklardan uzaklaştırılmış, trimlenmiş tavuk deri (~ 1x1 cm), koyun deri (~3x3 cm) ve sığır deri (~ 3x3 cm) -18 °C’de bekletilmiş, analizlerden önce tüm örnekler +4 °C’de gece boyunca çözündürülmüştür.

3.2.2. Ön Çalışma

3.2.2.1. Tavuk örneklerinin Fizikokimyasal Analizleri

Deri (~ 1x1 cm) ve MDM kalıntı örneklerinin kuru madde ve nem, kül, yağ ve protein içerikleri AOAC (1990, 2000) yöntemlerine göre belirlenmiştir:

Kurumadde ve nem içeriği, örneklerin bir hava sirkülasyonlu etüvde (Memmert UNB400, Schwabach, Almanya) 105°C’de (AOAC yöntemi 927.05) kurutulduktan sonra sabit ağırlığı elde edilerek belirlenmiştir [54].

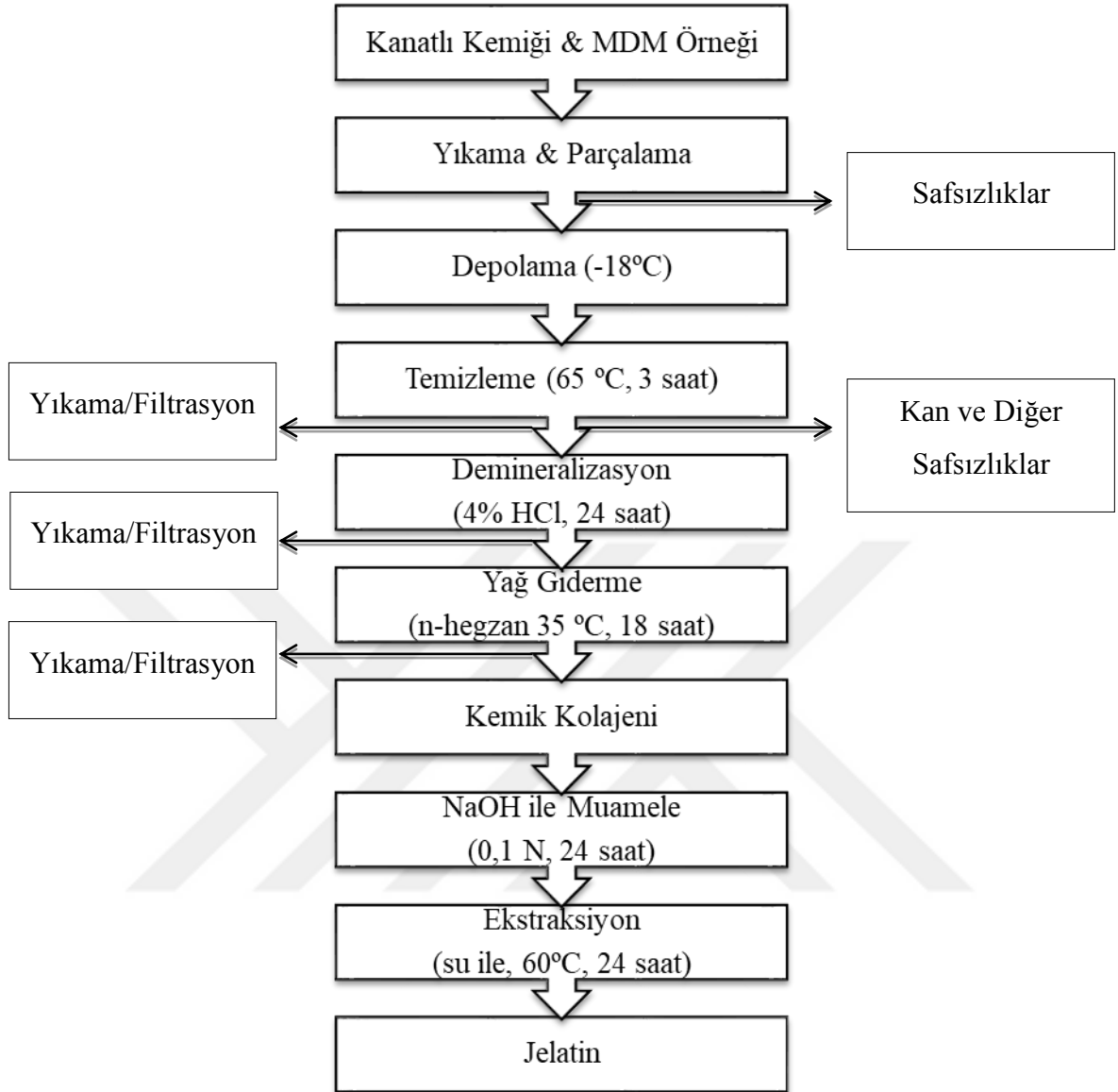
Kül içeriği, örneklerin bir kül fırınında (Carbolite, Hope Valey, UK) 550°C’de 7 saat yakılmasıyla belirlenmiştir (AOAC yöntemi 942.05) [54].

Yağ içeriği, Gerhardt Soxtherm sistemi (Königswinter, Almanya) kullanılarak Soxhlet yöntemiyle belirlenmiştir.

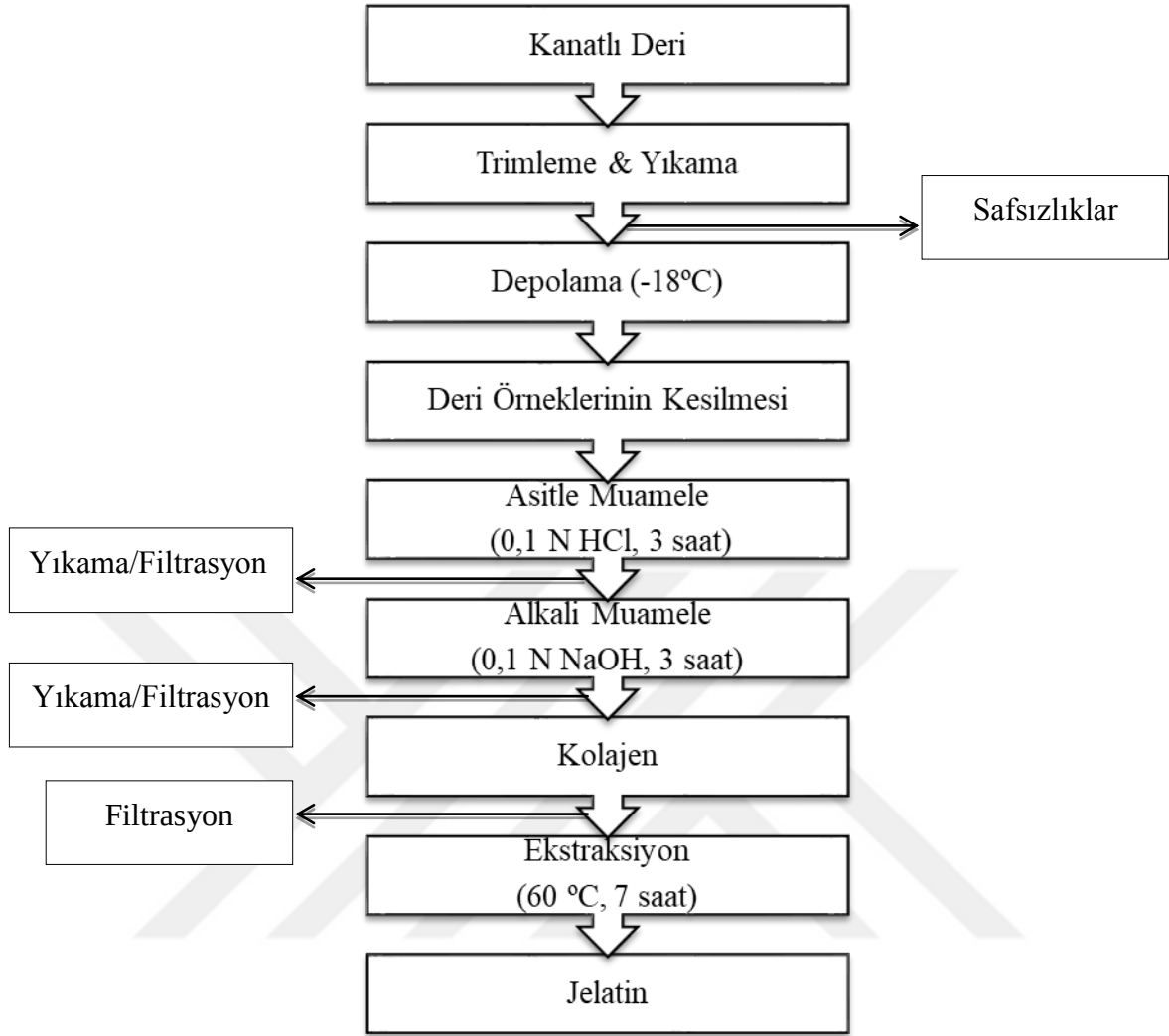
Protein içeriği, toplam nitrojene dayalı Kjeldahl yöntemi ile belirlenmiştir ve nitrojen-protein dönüşümü için 6,25 faktörü kullanılmıştır (AOAC yöntemi 984.13) [55].

3.2.2.2. Ön İşlem ve Ekstraksiyon

25 gram çözündürülmüş ve doğranmış (~ 1x1 cm) deri numuneleri, sırasıyla oda sıcaklığında 100 ml seyreltik asit (0,1 N HCl) ve alkali (0,1 N NaOH) çözeltileri ile işleme tabi tutulmuştur. Asit ve alkali muameleleri arasında ara yıkama ve süzme aşamaları uygulanmıştır. Daha sonra jelatin ekstraksiyonu, 55 °C'de distile suda 7 saat boyunca gerçekleştirilmiştir ve ardından filtrasyon yapılmıştır. Her işlem adımından sonra solüsyon 4 katmanlı bir tülbentten süzölmüştür ve deri örnekleri damıtılmış su ile yıkanmıştır. Ekstraksiyon işleminin sonunda, son süzöntü ileriki analizler için 4 °C'de tutulmuştur. Çözündürülen öğütölmüş MDM örnekleri (25 g) distile suda (100 ml) 65 °C'de 150 rpm'de çalkalamalı inkübatörde 3 saat boyunca temizleme işlemine tabi tutulmuştur. 4 katlı bir tülbentten süzöldükten sonra numuneler 24 saat boyunca %4 HCl ile demineralize edilmiştir. Bu işlem kemiğin mineral kısmını zayıflatmak ve kalsiyum fosfatları uzaklaştırmak için yapılmıştır. Yağ alma işleminde numunelerin yağ içeriği n-hekzan ile 35 °C'de 18 saat süreyle uzaklaştırılmıştır. Protein olmayan nitrojen bileşiklerini uzaklaştırmak için 24 saat 0,1 N NaOH ile muamele edilmiştir ve kanatlı kemik kollajeni elde edilmiştir. MDM kemik örneklerinin asitle muamelesi demineralizasyon aşamasında gerçekleştirilmiştir. MDM kemik örnekleri, ekstraksiyondan önce yapıdaki çapraz bağları kırmak için 0,1 N NaOH ile muamele edilmiştir. Bu işlemlerden sonra jelatin ekstraksiyonu, 24 saat boyunca 60 °C'de çalkalamalı bir inkübatör kullanılarak distile suda gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen jelatin solüsyonu süzölmüştür ve daha sonraki analizler için +4 °C'de saklanmıştır. Tavuk derisinden ve kemiklerinden (MDM örneği dahil) kolajen/jelatinin ekstraksiyonunda izlenen prosedürler, aşağıdaki Şekil 3.8 ve 3.9'da verilmiştir.



Şekil 3.8 Kanatlı kemiği ve MDM karışımı kolajen/jelatin ekstraksiyonu akış şeması



Şekil 3.9 Kanatlı deri kolajen/jelatin ekstraksiyonu akış şeması

3.2.2.3 SDS-PAGE Analizi

Örneklerdeki protein fraksiyonları, Laemmli protokolüne göre SDS-PAGE ile analiz edilmiştir [56]. Kolajen/jelatin örnekleri sample buffer (1:1 v/v) ile karıştırılmıştır ve proteinleri denatüre etmek için 5 dakika boyunca kaynatılmıştır. Her bir kuyuya her örnekten 20 µl yüklenmiştir. Elektroforez, Mini Protean Tetra System (Biorad Lab Inc, ABD) kullanılarak %4-12 poliakrilamid jel üzerinde gerçekleştirilmiştir. Tris glisin tamponu içerisinde ilk 15 dakika 75 V'ta, ardından bir saat boyunca 150 V'ta koşurulmuştur. Coomassie Brilliant Blue R250 kullanarak 30 dakika boyunca gerçekleştirilen protein boyamasının ardından, Coomassie Brilliant Blue R-250 Destaining

Solution (BİO-RAD) kullanılarak 1 saat boyunca protein olmayan bölgelerdeki boyanın uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra protein bantları incelenmiştir.

3.2.2.4. Viskozite ve Jel Kuvveti Tayini

Kolajen/jelatin çözeltilerinin viskozite değerleri, oda sıcaklığında DV2T Brookfield Viskozimetre (MA, ABD) kullanılarak belirlenmiştir. Ölçümler için 50 ml'lik geniş ağızlı bir tüp içerisinde 40 ml örnek ve paslanmaz çelik RV-5 mil (400 ila 800 000 cP arasında değişen) kullanılmıştır. Viskozite ölçümleri oda sıcaklığında 4 farklı mil hızında (25, 50, 100, 200 rpm) gerçekleştirilmiştir. Üç tekrarın ortalama değerleri alınmıştır.

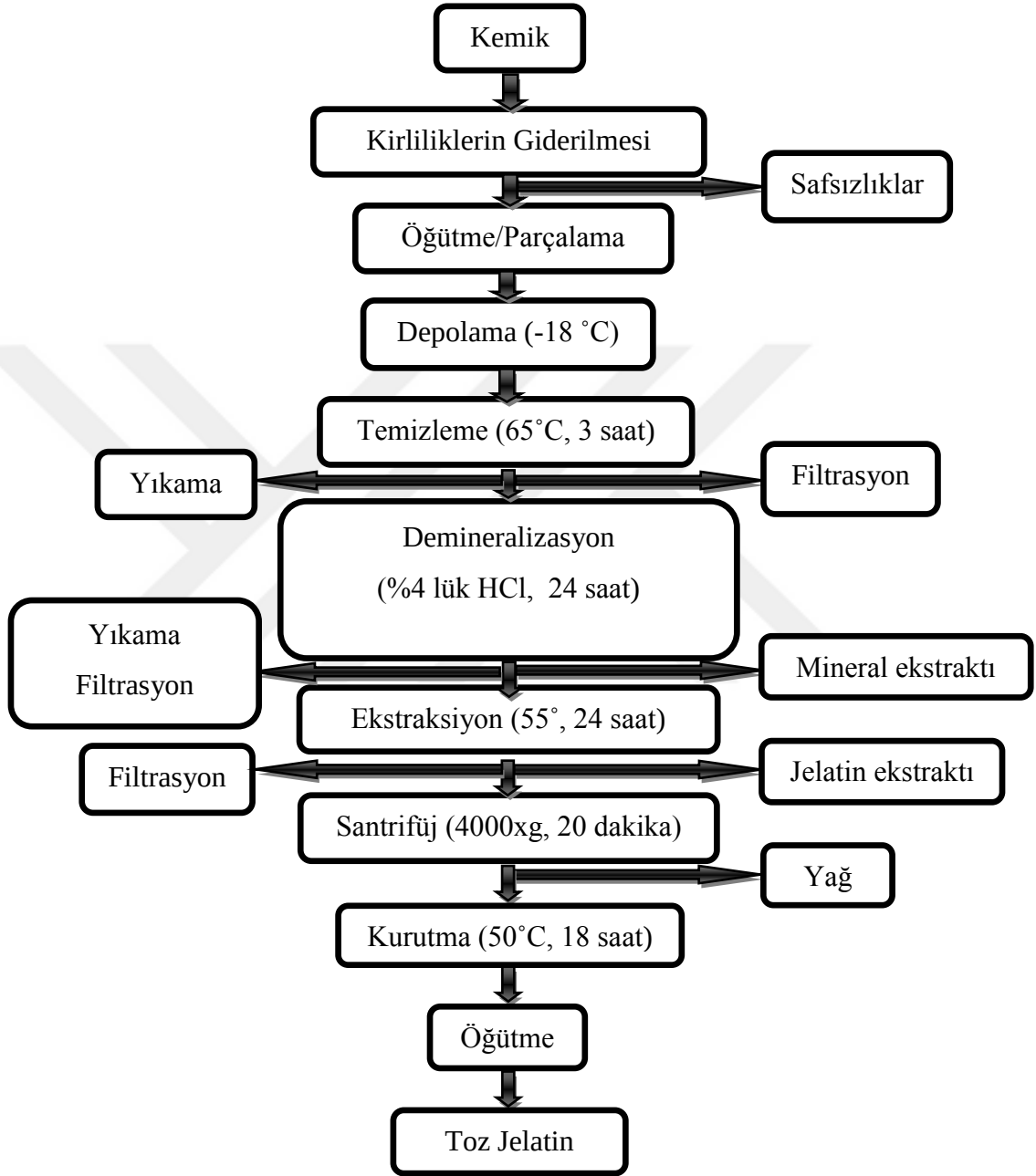
Kolajen/jelatin solüsyonlarının jel sertlik ölçümleri, 4,5 kg'lık bir yük hücreli Brookfield CT3 Texture Analyzer (MA, ABD) kullanarak gerçekleştirilmiştir. 25,4 mm çapında düz tabanlı bir silindir (şeffaf akrilik), prob (TA11-1000), g cinsinden maksimum kütleyi belirlemek için 0,5 mm/s'lik bir penetrasyon hızıyla örneğe 10 mm nüfuz etmeye zorlanmıştır. 1. ve 2. Çevrim penetrasyon testlerinde sertlik (g) ve yapılan iş (mJ) kaydedilmiştir.

3.2.3. Ana Çalışma

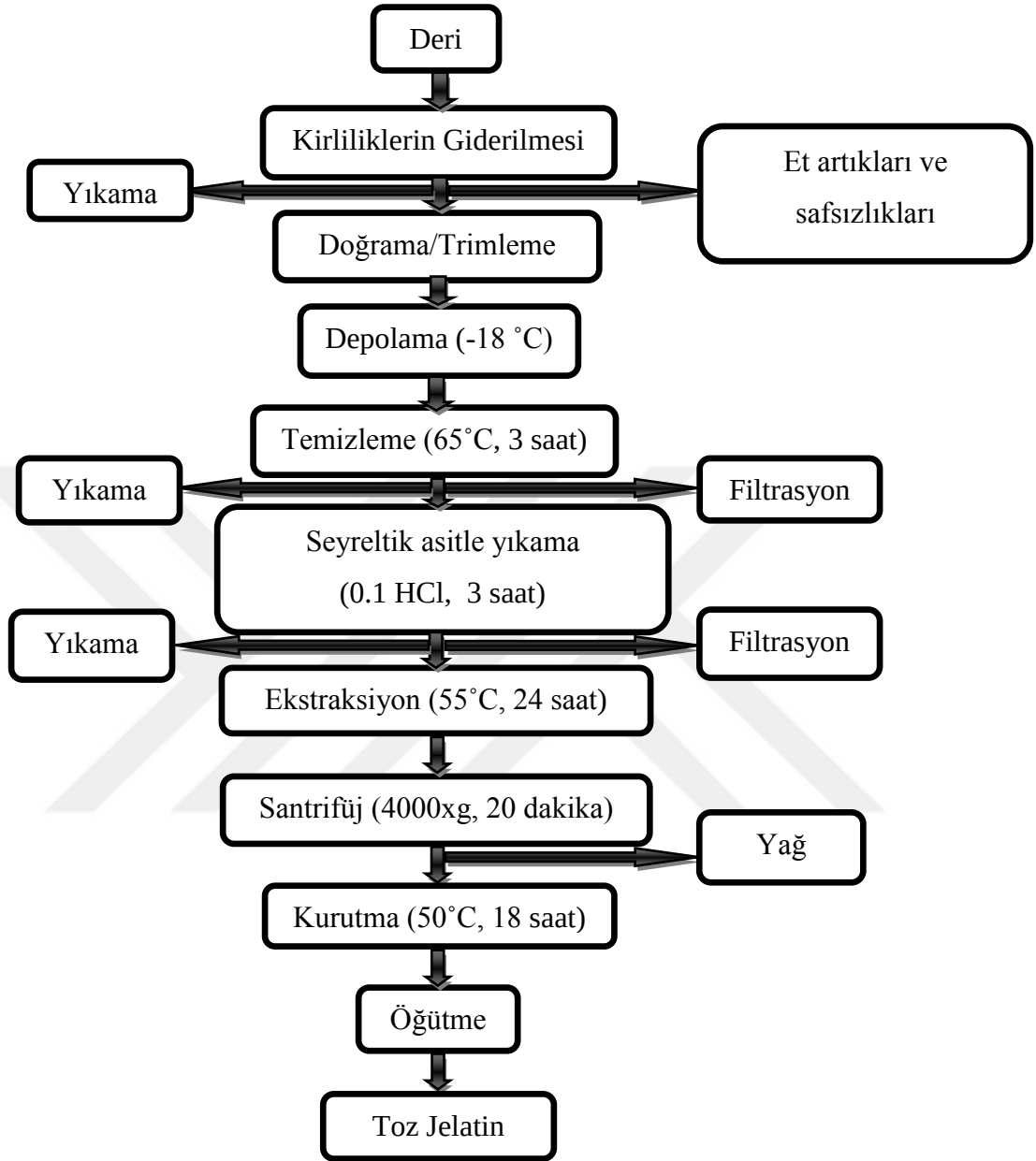
3.2.3.1. Kolajen İzolasyonu

Tavuk, koyun, sığır kemiği ve derisinden yüksek verim ve kalitede jelatin ekstraksiyonu gerçekleştirmek için protein dışındaki yağ ve mineral gibi bileşenlerin yeterli düzeyde uzaklaştırılması gerekmektedir. Kolajen izolasyonu ile jelatin ekstraksiyonundan önce, MDM kemik karışımı, koyun kemiği, sığır kemiği, tavuk ayak takozu, tavuk deri, koyun deri ve sığır deri örneklerindeki protein dışındaki kan, yağ, kalsiyum ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmaya çalışılmıştır. Kemik örneklerinde kolajen izolasyonu için başlangıçta temizleme (safsızlıkların ayrılması) ve demineralizasyon; deri örneklerinde ise temizleme ve seyreltik asit ile muamele olmak üzere 2'şer aşamalı bir ön işlem gerçekleştirilmiştir. Kemik ve deri örneklerinin tümü için ön işlemlerde alkali ile muamele ve yağ ayırma için çözücü ekstraksiyonu (n-hekzan) ön denemelerde yüksek

miktarda kolajen kaybına neden olduğu için prosedüre dahil edilmemiştir. Kemik ve deri örneklerinden kolajen izolasyonu ve jelatin ekstraksiyonu için proses akış şemaları Şekil 3.10 ve Şekil 3.11’de verilmiştir.



Şekil 3.10 Kemik örneklerinden jelatin ekstraksiyonu için akış şeması



Şekil 3.11 Deri örneklerinden jelatin ekstraksiyonu için akış şeması

3.2.3.1.1. Kemik Örneklerinde Kolajen İzolasyonu

Çözündürülen kemik kalıntıları 70-100 g arasında 250 ml'lik erlenlerde tartıldıktan sonra üzerlerine 1:1 (w/v) oranında saf su ilave edilip, erlenlerin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. MDM karışım ve takoz örneği tam 100'er gram tartılmıştır. Hazırlanan

örnekler, kan ve yağ gibi safsızlıklardan arındırılması amacıyla 65°C’de ve 110 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde 3 saat bekletilmiştir. Daha sonra örnekler 4 katlı peynir bezinden süzölmüştür. Süzölen örnekler demineralizasyon aşaması için tekrar erlenlere alınıp üzerlerine 1:1 (w/v) oranında %4’lük (v/v) HCl çözeltisi ilave edilmiş ve erlenlerin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Oda sıcaklığında, 110 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde 24 saat bekletilmişlerdir. Bu aşamada mineral maddelerin uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Bekletme sonrasında süzme işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra peynir bezinin üzerinde kalan posalar saf su ile iki kez yıkanmıştır. Süzme işlemlerinden sonra ayrılan solösyonların tümü 50 ml’lik tüplere konularak diğör analizler gerçekleştirilinceye kadar +4 °C’de saklanmıştır.

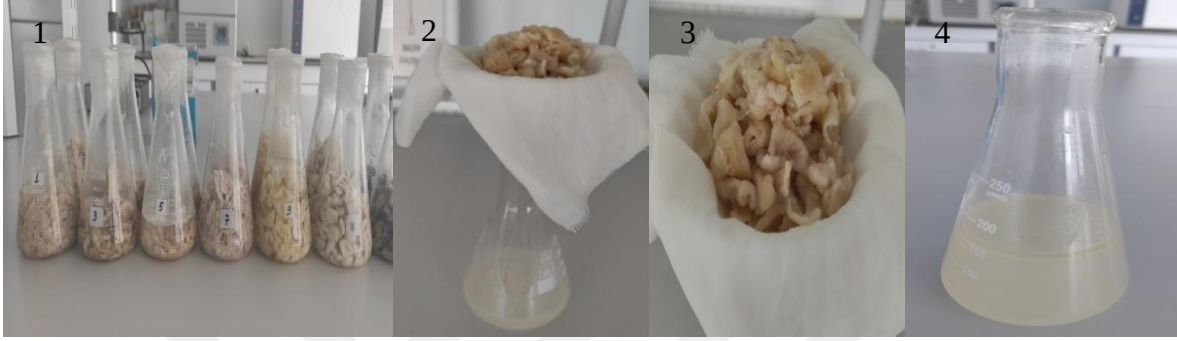
3.2.3.1.2. Deri Örneklerinde Kolajen İzolasyonu

Tavuk, koyun ve sığır deri örnekleri (70-100 g) temizleme işlemi için 250 ml’lik erlenlere tartıldıktan sonra üzerlerine 1:1 (w/v) oranında saf su ilave edilip erlenlerin ağzı parafilm ile kapatılmıştır. Tavuk deri örneğİ tam 100 gram olarak tartılmıştır. Kemik örneklerinde olduğı gibi kan, yağ ve diğör safsızlıkların uzaklaştırılması amacıyla deri örnekleri de, 65°C’de ve 110 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde 3 saat bekletilmiştir. İşlem sonunda deri örnekleri 4 katlı peynir bezinden süzölmüştür. Süzölen örnekler seyreltik asit ile muamele edilmek üzere erlenlere alınıp üzerlerine 1:1 (w/v) oranında 0,1 N HCl çözeltisi ilave edilmiştir. Erlenlerin ağzı parafilm ile kapatılıp oda sıcaklığında çalkalamalı inkübatörde 3 saat boyunca bekletilmiştir. Böylelikle kolajen içeren dokunun şişmesi ve dokunun kontrollü bir şekilde yıpratılması sağlanmıştır. İşlem sonunda deri örnekleri 4 katlı peynir bezinden süzölmüştür. Süzölen deri örnekleri saf su ile iki kez yıkanmıştır. Tüm süzme işlemlerinden sonra ayrılan solösyonların tümü 50 ml’lik tüplere konularak diğör analizler yapılıncaaya kadar +4 °C’de saklanmıştır.

3.2.3.2. Jelatin Eldesi

Bu aşamada kısmen hidrolize olmuş kolajenin jelatine dönüşmesi ve çözünerek suya geçmesini sağlamak amacıyla, yıkanıp süzölen kemik ve deri örneklerinin üzerine 1:1

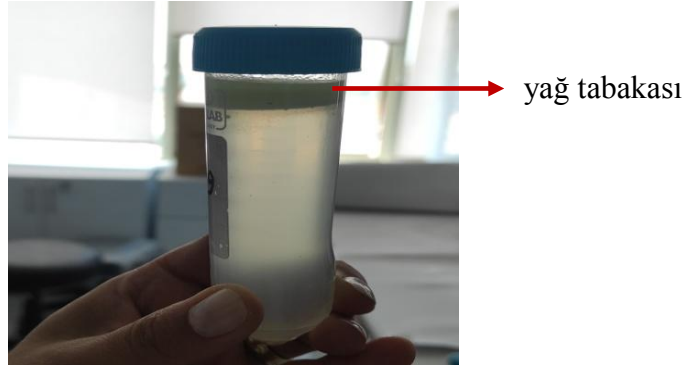
(w/v) oranında saf su eklenmiş ve erlenlerin ağzı parafilm ile kapatılarak 55°C’de 24 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde (110 rpm) ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon sonrasında örnekler 4 katlı peynir bezinden süzölmüş üstte kalan posa atılarak alta geçen solösyon 50 ml’lik tüplere alınmıştır. Diğer işlemler gerçekleştirilinceye kadar örnekler +4 °C’de saklanmıştır. Süzme işlemi Şekil 3.8’de gösterilmektedir.



Şekil 3.12 Örneklerin süzme işlemi. 1. Ekstraksiyon sonrası süzölecek örnekler 2. Dört katlı peynir bezi ile süzme işlemi 3. Süzme işleminden sonra ayrılan deri 4. Ekstraksiyon çözeltisi

3.2.3.3. Yağ Ayırma

Elde edilen jelatin solösyonları 4000xg’de, 20 dakika santriföj edilmiştir. Şekil 3.9’da gösterildiği gibi solösyonda bulunan yağ tüpün üst kısmında, süzmeden kaynaklanan tortular tüpün en alt kısmında birikerek ayrıştırma sağlanmıştır. Tüpün üst kısmında bulunan yağ fazı mikropipet yardımıyla yüzeyden alınmıştır.



Şekil 3.13 Ekstraksiyon işleminde santriföj sonrası yağ fazının ayrılması

3.2.3.4. Kurutma

Jelatin solüsyonlarının bir kısmı diğer analizler için +4 °C’de saklanmaya devam edilmiştir. Bir kısmı ise jel gücü ve tekstür profil analizi hesaplamaları için etüvde petri kapları içerisinde 50 °C’de 18 saat kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonunda petri kaplarında bulunan kuru jelatin, spatül yardımıyla kazınmış ve havanda dövülerek toz haline getirilmiştir. Toz jelatin tartılıp örnek kaplarına alınarak +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.3.5. Film Üretimi

Santrifüj sonrasında jelatin solüsyonları 9 cm çapındaki petri kaplarına dökülerek 30 °C’de % 40 bağıl nemde 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Kurutma sonrası oluşan jelatin filmler petri yüzeyinden soyularak çıkarılmış, fiziksel özellikleri ve elastikiyetleri görsel olarak değerlendirilmiştir.

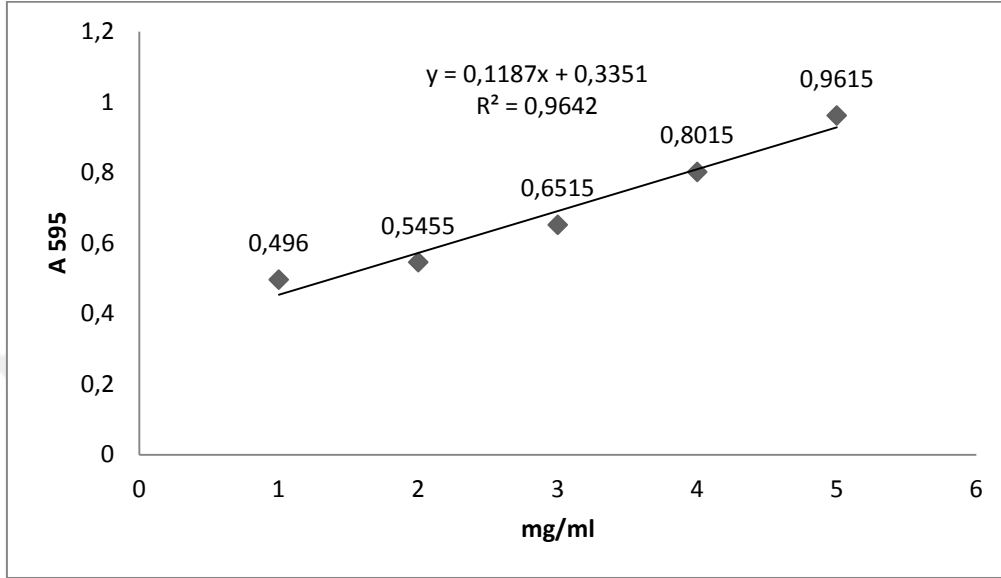
3.2.3.6. Protein Miktarının Tespiti (Bradford Yöntemi)

Bu çalışmada temizleme, kolajen ve jelatin solüsyonlarının protein içeriğinin belirlenmesi amacıyla Bradford yöntemi kullanılmıştır. İlk olarak, konsantre Bradford boya çözeltisi (Bradford Dye Reagent, Biorad) 1/5 oranında seyreltilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Temizleme, kolajen ve jelatin solüsyonlarından 100 µl alınarak 5 ml boya çözeltisi ile karıştırılmıştır. Elde edilen protein/boya solüsyonları 5 dakika karanlıkta tutulmuştur. Ardından UV-VIS Spektrofotometrede (Libra S70, Biochrom Ltd, Cambridge, UK) 595 nm’de absorbans ölçümleri yapılmış ve kaydedilmiştir. Her bir örnekten üçer defa okuma yapılmış ve deneyler ikişer defa tekrarlanmıştır. Ölçülen absorbans değerlerinden, öncesinde hazırlanan standart eğri yardımıyla protein miktarları hesaplanmıştır.

3.2.3.6.1. Standart Eğri Hazırlanması

Jelatin standart eğrisinin çizimi için kullanılacak bir seri protein dilüsyonu (0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml) hazırlanmıştır. Dilüsyonların her birinden 100 µl alınarak 5 ml seyreltilmiş boya çözeltisi ile karıştırılmış, bir önceki bölümde anlatıldığı

gibi absorbans ölçümleri yapılmıştır. Elde edilen veriler kullanılarak absorbansa karşılık konsantrasyon grafiği oluşturulmasıyla jelatine ait standart eğri ve regresyon denklemi elde edilmiştir (Şekil 3.14).



Şekil 3.14 Bradford analizinde jelatin standart eğrisi

3.2.3.7. Ekstraksiyon Verimi

Ekstraksiyon sonrası elde edilen jelatin solüsyonu Bradford yöntemine dayalı protein içeriği dikkate alınarak ekstraksiyon verimi aşağıdaki formülle hesaplanmıştır [5, 57].

$$\text{Verim (\%)} = (\text{geri kazanılan kolajen/ jelatin miktarı} / \text{hammadenin yaş ağırlığı}) * 100$$

3.2.3.8. SDS-PAGE Analizi

Tavuk, koyun, sığır kemik ve deri kolajen/jelatin solüsyonlarının içerdiği protein fraksiyonları Laemmli (1970)'e göre SDS-PAGE ile analiz edilmiştir [56]. İstifleme ve ayırma jelleri sırasıyla % 4'lük ve % 12'lik olarak hazırlanmıştır (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3 SDS-PAGE jelleri formülasyonu

	Ayırma Jeli (resolver, %12)*	İstifleme Jeli (stacking, %4)*
Resolver A	3 ml	-
Resolver B	3 ml	-
Stacking A	-	1 ml
Stacking B	-	1 ml
APS	30 µl	10 µl
TEMED	3 µl	2 µl

*Miktarlar bir jel hazırlamaya yetecek kadar verilmiştir.

Elektroforez işlemi için örnekler hazırlanırken, her birinden 15 µl alınıp, üzerine 15 µl sample buffer ilave edilmiştir. Daha sonra 95 °C’de 5 dakika boyunca ısıtılma işlemi tabi tutularak proteinlerin denatüre edilmesi sağlanmıştır. Böylece örnekler elektroforez jeline yüklemeye hazır hale getirilmiştir. Elektroforez için Mini Protean II Sistemi (Biorad, CA, USA) kullanılmıştır. Jellere 20 µl yüklenen protein örnekleri ilk 15 dakika 75 V’ta, ardından 60 dakika 100 V’ta koşturulmuştur. Protein bantlarının moleküler ağırlıklarını belirlemek amacıyla jellerde bir kuyuya protein standardı da (Precision plus protein dual xtra standards, BİO-RAD) yüklenmiştir.

Elektroforez işlemi bittikten sonra, jeller üzerindeki protein bantlarını sabitlemek amacıyla yarım saat boyunca fiksasyon solüsyonuna (%40 metanol, %10 asetik asit) bırakılmıştır. Bu işlemin ardından jel saf su ile yıkanmış ve Coomassie Brilliant Blue R-250 Staining Solution (BİO-RAD) kullanılarak 30 dakika boyunca boyama işlemi gerçekleştirilmiştir. Boyama işleminin ardından Coomassie Brilliant Blue R-250 Destaining Solution (BİO-RAD) kullanılarak 1 saat boyunca protein olmayan bölgelerdeki boyanın uzaklaştırılması sağlanmıştır. Daha sonra jeller UV-Transilluminatör (BİO-RAD) üzerine alınarak protein bantları incelenmiştir.

3.2.3.9. Jelatinin Kalite Özellikleri

3.2.3.9.1. Jel Gücü (Bloom Değeri)

Ekstraksiyon sonrası elde edilen jelatin örnekleri saf su içinde ağırlıkça %6,67 konsantrasyonunda çözündürülerek jelatin solüsyonları hazırlanmıştır. Çözünmeyi kolaylaştırmak için ısıtıcı kullanılarak 60 °C de homojen hale gelene kadar bekletilmiştir. Daha sonra jelatin solüsyonları 50 ml'lik polipropilen kapaklı tüpler içinde +4 °C'de 16-18 saat boyunca jelleştirilmiştir. Brookfield CT3 Tektür analiz (MA, USA) cihazı kullanılarak jelatin jelleri üzerinde penetrasyon testi yapılmıştır. 12,7 mm çapında ve düz tabanlı bir silindirin jel üzerinde 4 mm derinliğe inmesi sağlanmıştır. Penetrasyon hızı 0,5 mm/s olarak ayarlanmıştır. Jel gücü g cinsinden verilmiştir [58].

3.2.3.9.2. Şeffaflık

Jelatin solüsyonları daha önce tarif edildiği gibi hazırlandı. Jelatin solüsyonlarının şeffaflık ölçümü için UV-VIS Spektrofotometrede (Libra S70, Biochrom Ltd, Cambridge, UK) 640 nm'de absorbans ölçümü alınmıştır ve % olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.9.3. Renk Ölçümü

Renk ölçümü yapmak için yaygın olarak kullanılan metotlardan birisi üç boyutta rengi ölçmemizi sağlayan CIE (Commission Internationale de'Eclairage,Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) L*a*b* renk aralık sistemidir [59]. Renk değişimleri gün ışığında CIELab renk skalası (L=açıklık-koyuluk,a=kırmızı-sarı renk veb =mavi-yeşilrenk) kullanılarak belirlenmiştir. Aydınlık ölçüsü L* değerinde 0 siyah rengi tanımlarken, 100 beyazı tanımlar. a* değerinde pozitif değer kırmızıyı tanımlarken negatif değer yeşili tanımlar. b* değerinde ise pozitif değer sarıyı tanımlarken negatif değer maviyi tanımlar [60, 61].

Ekstraksiyon sonrası +4°C'de bekleyen kemik ve deri jelatin solüsyonları çözündürüldükten sonra renk ölçümü için cihazının cam kabına alınmıştır. Gün ışığında ekstraksiyon solüsyonlarının renk ölçüm değerleri alınıp kaydedilmiştir. Ölçümlerden önce

cihaz beyaz plakaya karşı kalibre edilmiştir. Jelatin solüsyonlarının renk değişimleri (ΔE^*), beyazlık indeksi (WI) ve sarılık indeksine (YI) göre hesaplanmıştır.

$$\Delta E^* = [(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2]^{1/2}$$

$$WI = 100 - [(100 - L^*)^2 + (a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

$$YI = (142,86 \times b^*) / L^*$$

Eşitlikte yer alan L_0 , a_0 ve b_0 içerisinde jelatin solüsyonu bulunmayan boş şeffaf ölçüm kabının renk parametreleri, L , a ve b değerleri ise film örneklerinin renk parametreleridir.

3.2.3.10. Jelatinin Fonksiyonel Özellikleri

3.2.3.10.1. Su Tutma Kapasitesi

Su tutma kapasitesi (STK) hesaplamaları için Cho ve arkadaşları (2004) tarafından verilen prosedüre göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle tüp içerisinde 10 mg jelatin tartılmıştır ve 0,5 ml saf su ile karıştırılmıştır. Çözelti, vorteks karıştırıcı kullanılarak her 15 dakikada bir 5 s boyunca karıştırılmıştır. Bu işleme bir saat boyunca devam edilmiştir. Tüp içerisindeki içerik oda sıcaklığında 20 dakika boyunca 4000xg'de santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpün en alt kısmındaki pelet ve üstteki saydam kısmın ayrılması için tüp eğik tutularak 30 dakika boyunca süzülmesi sağlanmıştır ve ardından tartım alınmıştır. Su tutma kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır [62].

$$\%STK = \{[\text{Pelet ağırlığı (mg)} - \text{Jelatin ağırlığı (mg)}] / \text{Jelatin ağırlığı (mg)}\} \times 100$$

3.2.3.10.2. Yağ Bağlama Kapasitesi

Yağ bağlama kapasitesini (YBK) hesaplamaları için Cho ve arkadaşları (2004) tarafından verilen prosedüre göre bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Öncelikle santrifüj tüpünde 10 mg jelatin tartılmıştır ve 0,1 ml ayçiçek yağı ile

karıştırılmıştır. Çözelti, vorteks karıştırıcı kullanılarak her 15 dakikada bir 5 s boyunca karıştırılmıştır. Bu işleme bir saat boyunca devam edilmiştir. Tüp içerisindeki içerik oda sıcaklığında 20 dakika boyunca 4000xg’de santrifüj edilmiştir. Daha sonra tüpün en alt kısmındaki pelet ve üstteki saydam kısmın ayrılması için tüp eğik tutularak 30 dakika boyunca süzülmesi sağlanmıştır ve ardından tartım alınmıştır. Yağ bağlama kapasitesi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır [62].

$$\%YBK = \{[\text{Pelet Ağırlığı (mg)} - \text{Jelatin Ağırlığı (mg)}] / \text{Jelatin Ağırlığı (mg)}\} \times 100$$

3.2.3.10.3. Emülsiyon Oluşturabilme

3 mg jelatin tartılmıştır ve 1 ml ayçiçek yağı ile 1 dakika boyunca oda sıcaklığında homojen hale getirilmiştir. Bu solüsyondan 50 µl alınarak %1 sodyum dodesil sülfat solüsyonu ile 100 kez seyreltilmiştir. Çözeltiyi homojen hale getirmek için 10 saniye boyunca vortekslenmiştir. Homojenizasyondan kısa bir süre sonra ve homojenizasyondan 10 dakika sonra seyreltilmiş çözeltiden örnekler alınarak 500 nm’de absorbans ölçümü yapılmıştır. Sonuçlar emülsiyon aktivite indeksi (EAI) ve emülsiyon stabilite indeksi (ESI) için aşağıda verilen formüllere göre hesaplanmıştır [63].

$$\text{EAI (m}^2/\text{g)} = (2 \times 2,303 \times A_0 \times N) / (c \times \phi \times 10,000)$$

$$\text{ESI (dak)} = (A_0 \times 10) / (A_0 - A_{10})$$

A₀: Homojenizasyon hemen sonra okunan absorbans

A₁₀: Homojenizasyondan 10 dakika sonra okunan absorbans

N: Dilüsyon faktörü

C: Birim hacim başına jelatin miktarı (g/ml)

ø: Yağın hacim fraksiyonu (0,25)

3.2.3.10.4. Tekstür Profil Analizi

Tekstür profil analizi (TPA) için kuru jelatin örnekleri alınarak 15 ml saf su içinde 1 gram jelatin 60°C’de ısıtıcıda çözündürülerek jelatin çözeltisi hazırlanmıştır. Geniş ağızlı

50 ml'lik tüplerde +4°C'de 16-18 saat jelleştirilmiştir. Buzdolabından çıkarılan olgunlaşmış jel örneklerinin analizi 50ml'lik tüp içerisinde 12,7 mm çapında silindirik başlık takılan Brookfield CT3 Texture Analyzer (MA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 1 mm/s'lik bir penetrasyon hızıyla örneğe 10 mm sıkıştırma uygulanmıştır.

3.2.3.11. FT-IR

Jelatin üretiminin temizleme, kolajen izolasyonu ve ekstraksiyon aşamalarında ayrılan çözeltilerin IR bant titreşimleri sonucu oluşan spektrumları Perkinelmer/Spectrum 400 (ABD) ile elde edilmiştir. Her örnek için 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında, 4 cm^{-1} tarama hızıyla 64 tarama yapılmıştır. Elde edilen spektrumlar kaydedilmiştir.

3.2.3.12. İstatistiksel Analiz

Tavuk, koyun, sığır kemik ve deri örneklerinin analizleri sonucunda elde edilen bulguları karşılaştırmak için Tukey testi kullanılarak tek yönlü ANOVA analizi yapılmıştır. İstatistiksel testler için IBM© SPSS© V23 ve V28 yazılımları kullanılmıştır ve anlamlılık düzeyi 0,05'tir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Ön Çalışma Bulguları

4.1.1. Tavuk Derisi ve MDM posalarının kimyasal kompozisyonu

Kanatlı derisi ve MDM kalıntısı hammaddelerinin kimyasal özellikleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Kanatlı deri ve MDM posalarının kimyasal kompozisyonu

Örnek	Nem (%)	Yağ (%)	Kül (%)	N (%)	Protein (%) (Nx6,25)	Kuru Madde (%)
Kanatlı Deri	44,06±2,07 ^B	16,33±1,18 ^A	0,33±0,07 ^E	2,42±0,19 ^A	15,13±1,17 ^A	55,93±2,07 ^A
Boyun	62,14±2,14 ^A	5,90±0,86 ^C	12,52±1,72 ^{BC}	3,00±0,41 ^A	18,76±2,58 ^A	37,85±2,15 ^B
İncik						
Kemiği	55,03±1,58 ^{AB}	3,28±0,20 ^C	20,51±1,54 ^A	3,47±0,10 ^A	21,68±0,63 ^A	44,95±1,58 ^{AB}
Göğüs						
Kemiği	56,28±3,22 ^A	4,18±0,21 ^C	18,47±2,04 ^{AB}	2,98±0,43 ^A	18,69±2,66 ^A	43,71±3,22 ^B
Kanat Ucu	61,78±0,90 ^A	9,57±0,11 ^B	4,31±0,38 ^{DE}	2,51±0,17 ^A	15,73±1,10 ^A	38,21±0,90 ^B
Takoz	63,89±2,17 ^A	5,64±0,97 ^C	11,17±1,55 ^{BCD}	3,26±0,05 ^A	20,41±0,30 ^A	36,09±2,16 ^B
Göğüs Sırt	59,71±0,11 ^A	3,43±0,08 ^C	15,17±0,26 ^{ABC}	3,34±0,11 ^A	20,92±0,68 ^A	40,28±0,11 ^B
Burt Sırt	58,47±2,25 ^A	4,71±0,40 ^C	14,42±1,87 ^{ABC}	2,91±0,21 ^A	18,20±1,31 ^A	41,52±2,25 ^B
Kemik						
Karışımı	64,26±2,99 ^A	6,51±0,19 ^{BC}	10,04±0,79 ^{CD}	3,16±0,07 ^A	19,80±0,46 ^A	35,72±3,00 ^B

* 2'den 8'e kadar olan numuneler, verilen kemiklerin ayrı ayrı alınan MDM kalıntılarını temsil eder ve numune 9, kemik karışımının (boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, takoz, göğüs sırt, but sırt) MDM kalıntısını temsil eder. Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir ($p < 0,05$).

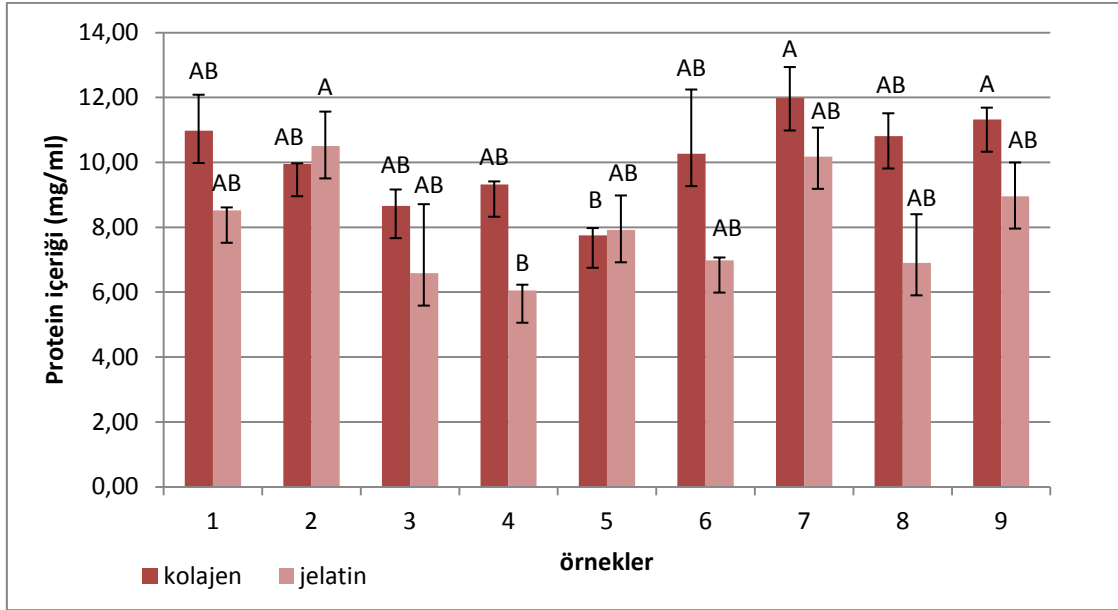
*Kanatlı deri örneğinde yağ ekstraksiyonunda kayıp meydana gelmiştir.

Örnekler arasında kanatlı derisi ~ %44 ile en düşük nem içeriğine sahiptir ($p < 0,05$). En yüksek yağ içeriğine sahip örnek, ~ %16 ile deri örneğidir ve bunu ~ %9,6 ile kanat ucu örneği izlemiştir ($p < 0,05$). Ancak her ikisi de diğer numunelere kıyasla en düşük kül içeriğine sahiptir ($p < 0,05$). İncik kemiği kalıntısı, ~ % 20,5 ile en yüksek kül içeriğine sahipken, % 3,3 ile en düşük yağ içeriğine sahiptir ($p < 0,05$). İncik kemiği kalıntısı en yüksek protein içeriğine (~ %21,7) sahip gibi görünse de, numuneler arasındaki protein

içeriği farkı önemli değildir ($p > 0,05$). Jelatin üretimi için boyun, göğüs ve omurganın MDM kalıntıları ile ilgili daha önceki bir çalışmada, protein, kül, yağ ve nem içerikleri sırasıyla %18,92, %12,67, %6,17 ve %60,26 olarak rapor edilmiştir [64]. Domuz derisinin yaklaşık kimyasal bileşimi %34,9 protein, %22,6 yağ ve %44,4 nemdir [65]. Ferraro et. al [66], 4 ve 7 yaşındaki süt inekleri için femur ve tibia kemiklerinin nem, kuru madde ve kjeldahl protein içeriğinin sırasıyla $10,8 \pm 0,1$, $89,2 \pm 0,3$ ve $29,5 \pm 0,2$ olduğunu belirtmiştir. Sunulan çalışmanın sonuçları ilgili literatür ile karşılaştırılabilir.

4.1.2. Kolajen ve Jelatin Miktarları ve Ekstraksiyon Verimi

Bradford yöntemiyle belirlenen kolajen/jelatin çözeltilerinin protein içerikleri (mg/ml) Şekil 4.1'de verilmiştir. Koyu renkli sütunlar kolajenli materyali ve açık renkli sütunlar ekstrakte edilmiş jelatini temsil etmektedir. Üst omurga ve karışık MDM kalıntısının, diğer tüm numuneler arasında en yüksek protein (kolajen) içeriğine sahip olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Genel olarak, kolajen solüsyonlarındaki protein içeriğinin jelatin solüsyonlarındakinden daha yüksek ($p < 0,05$) olduğu bulunmuştur, bu da ekstraksiyon işlemi yoluyla protein kaybını gösterir. İlginç bir şekilde, kolajen solüsyonunda ölçülen protein içeriği, boyun ve kanat ucu kalıntı numunelerinin jelatin solüsyonlarında ölçülenden biraz daha düşüktür ($p > 0,05$). Bunun nedeni, tetiklenen protein çözünmesi ve verilen işlem adımları yoluyla ekstraksiyon olabilir. Ekstrakte jelatin ile ilgili olarak, boyun kalıntıları en yüksek (10,50 mg/ml) jelatin içeriğini oluştururken, göğüs kemiği kalıntıları en düşük (6,06 mg/ml) jelatin içeriğini ortaya koymuştur ($p < 0,05$). Kümes hayvanlarından ve diğer kaynaklardan elde edilen kolajen ve jelatinin protein içerikleri çoğunlukla yüzde veya verim olarak ifade edildiğinden, burada verilen sonuçları literatür çalışmalarıyla doğru bir şekilde karşılaştırmak zordur. Örneğin, Almedia et. al [67], % 85 protein içeriği ile tavuk ayağının deri ve tendonlarından jelatin elde etmiştir. Çok aşamalı tavuk kemiği kolajen geri kazanımı ile ilgili başka bir çalışmada Cansu ve Boran [68] temizleme, demineralizasyon ve parçalama aşamalarında protein kayıplarının sırasıyla %6,4, %13,4 ve %18,6 olduğunu bildirmiştir.



Şekil 4.1 Bradford yöntemi kullanılarak belirlenen kolajen/jelatin solüsyonlarındaki protein içerikleri. Sayılar, deri ve MDM kalıntı örneklerini aşağıdaki gibi temsil eder. 1: deri; 2: boyun; 3: incik kemiği; 4: göğüs kemiği; 5: kanat ucu; 6: takoz; 7: göğüs sırt; 8: but sırt; 9: kemik karışımı (boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, takoz, göğüs sırt, but sırt). Örneklerin aynı grubundaki farklı harfler anlamlı farkı temsil etmektedir ($p < 0,05$)

Geri kazanılan kolajen ve jelatin çözeltilerindeki protein içeriği, Çizelge 4.2'de sunulan ekstraksiyon verimlerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Bunlar, nemli ham maddenin deri ve MDM örnekleridir. Güncel literatürde, özellikle ham madde ağırlığı başına geri kazanılan toz jelatin/kolajenin kuru ağırlığına dayalı olarak benzer hesaplamalar verilmektedir [67, 69]. Ancak bizim durumumuzda nihai çözeltiler kurutulup toz haline getirilmemiştir. Buna göre elde edilen ekstraksiyon veriminde bildirilen çalışmalara göre farklılıklar olabilir. Örneğin, Almedia ve diğerleri, [67] tavuk derisinden geri kazanılan kolajen veriminin yaklaşık %7,83 olduğunu bildirmiştir. Sunulan çalışmada deri örneklerinden ekstrakte edilen kolajen ve jelatin verimleri sırasıyla %1,32 ve %1,62 idi. Kemik kalıntıları ile ilgili olarak, en yüksek kolajen verimi ~ %2,15 ($p < 0,05$) ile üst omurga ve karışık MDM numunelerinde elde edilirken, en yüksek jelatin verimi ~% 1,85 ile üst omurga ve boyun kalıntılarındaki elde edilmiştir ($p < 0,05$).

Çizelge 4.2 Deri ve MDM kalıntı örneklerinden elde edilen kolajen ve jelatin verimi

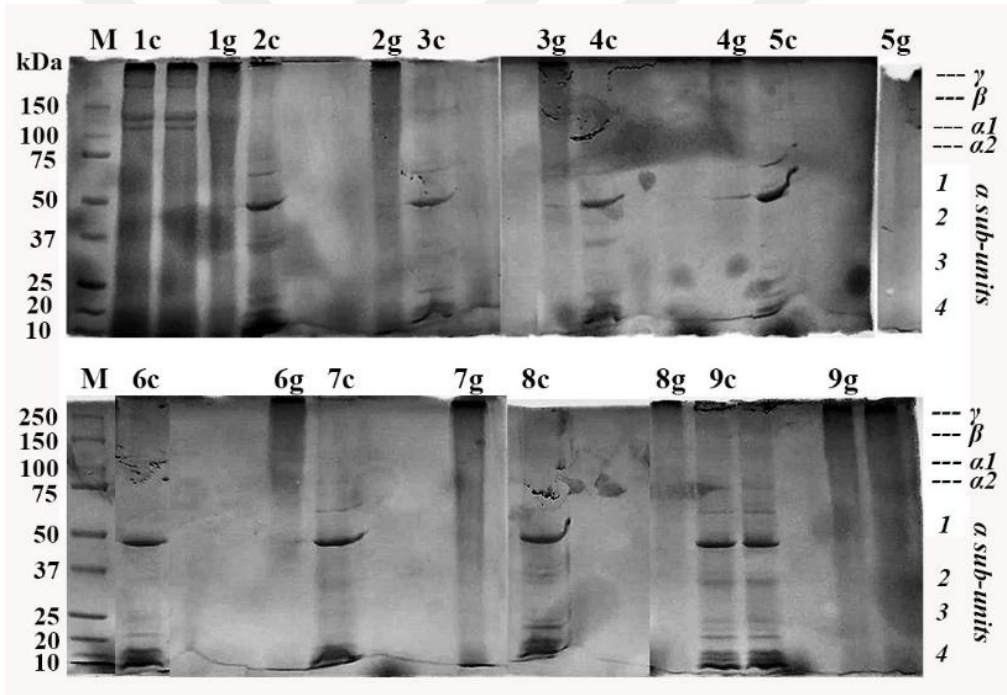
	Ham materyal*	Kolajen verim (%)	Jelatin verim (%)
1	Kanatlı deri	1,32±0,13 ^B	1,62±0,06 ^{ABC}
2	Boyun	1,89±0,14 ^{AB}	1,89±0,19 ^A
3	İncik kemiği	1,72±0,12 ^{AB}	1,15±0,20 ^C
4	Göğüs kemiği	1,86±0,02 ^B	1,03±0,06 ^C
5	Kanat ucu	1,39±0,04 ^{AB}	1,50±0,09 ^{ABC}
6	Takoz	2,02±0,45 ^{AB}	1,26±0,01 ^{BC}
7	Göğüs sırt	2,16±0,17 ^A	1,83±0,16 ^{AB}
8	But sırt	2,06±0,29 ^{AB}	1,24±0,27 ^{BC}
9	Kemik karışımı	2,15±0,09 ^A	1,61±0,19 ^{ABC}

* 2'den 8'e kadar olan numuneler, verilen kemiklerin ayrı ayrı alınan MDM kalıntılarını temsil eder ve numune 9, kemik karışımının (boyun, incik kemiği, göğüs kemiği, kanat ucu, takoz, göğüs sırt, but sırt) MDM kalıntısını temsil eder. Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir ($p < 0,05$).

Kanatlı hayvan örneklerinden elde edilen kolajenin SDS-PAGE profilleri Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Farklı moleküler ağırlıklara karşılık gelen protein bantları, kolajen/jelatinin farklı fraksiyonlarını temsil eder. Literatürlere göre kolajen/jelatindeki yüksek moleküler ağırlıklı proteinler, 230-340 kDa aralığında “ γ ” zinciri, 123-230 kDa aralığında “ β ” zincirleri ve 80-125 kDa aralığında “ α ” zincirleridir. Ayrıca ortamda bulunan daha düşük moleküler ağırlıklı α zinciri alt birimleri de vardır ve bunlar alt birim-1 (50-80 kDa), alt birim-2 (35-49 kDa), alt birim-3 (25-35 kDa) ve . alt birim-4'dür (10-25 kDa) [25]. Kollajenin jelatine dönüşümü sırasında peptit bağları ve zincirler arasındaki çapraz bağlar kırılarak çeşitli ağırlıklarda protein parçaları oluşur. Sonuçlarımıza göre, kanatlı derisinde (bant 1) moleküler ağırlıkları ~200, 130, 115 kDa olan üç ana bant gözlenmiştir ve β , α_1 , α_2 kollajeni temsil etmiştir. ~130 ve 10 ile 80 kDa arasında, sırasıyla α -kollajen birimlerini ve alt birimlerini gösteren hafif ve güçlü bantlar, kemik örneklerinde (bant 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8) tespit edilmiştir. Kemiklerin mezbahada son işlenmesinden sonra elde edilen karışık MDM kalıntısı, ~130 ile 10 kDa arasında, α -kollajen birimlerine ve alt birimlerine de (bant 9) karşılık gelen birçok protein bandı sergilemiştir. Tüm MDM numunelerinde, ~50 kDa'da yüksek yoğunluklu bir bant baskın olarak gözlenmiştir. Ancak deri örneğinin kolajen profilinde tespit edilmemiştir. Jelatin ekstraksiyonu durumunda, bir süre (denatürasyon sıcaklığının üzerinde) uygulanan ısı işlem, üçlü sarmalların tahrip olmasına

ve peptit bağlarının parçalanmasına neden olabilir [70]. Termal denatürasyon, daha önce bildirildiği gibi sarmal-bobin geçişi ile bağlantılı olarak 43 °C'nin üzerinde jelatin içinde meydana gelir [71]. Bu durum, şekil 4.2'te gösterilen jelatin profillerinde (bant 1g - 9g) gözlemlenen leke benzeri görünümü ile tutarlıydı. Karışım MDM kalıntı örneği, diğer kalıntı örnekleri (bant 2c-8c) ile karşılaştırıldığında, protein fraksiyonlarının/birimlerinin ve alt birimlerinin (bant 9c) çoğunu daha iyi sergilemiştir.

Hayvan derisinden ve kemiklerinden ekstrakte edilen kolajen ve jelatin, jelleşme, kalınlaştırma, emülsifikasyon ve film oluşumu gibi çeşitli uygulamalar için kullanılabilir. Bu çalışmada bildirilen farklı kemiklerin MDM kalıntıları ile ilgili olarak, boyun, üst omurga ve kemik karışımı, diğerlerine kıyasla daha yüksek protein içeriğine sahip oldukları için bu amaçlar için daha iyi işlevsellik sağlayabilir.

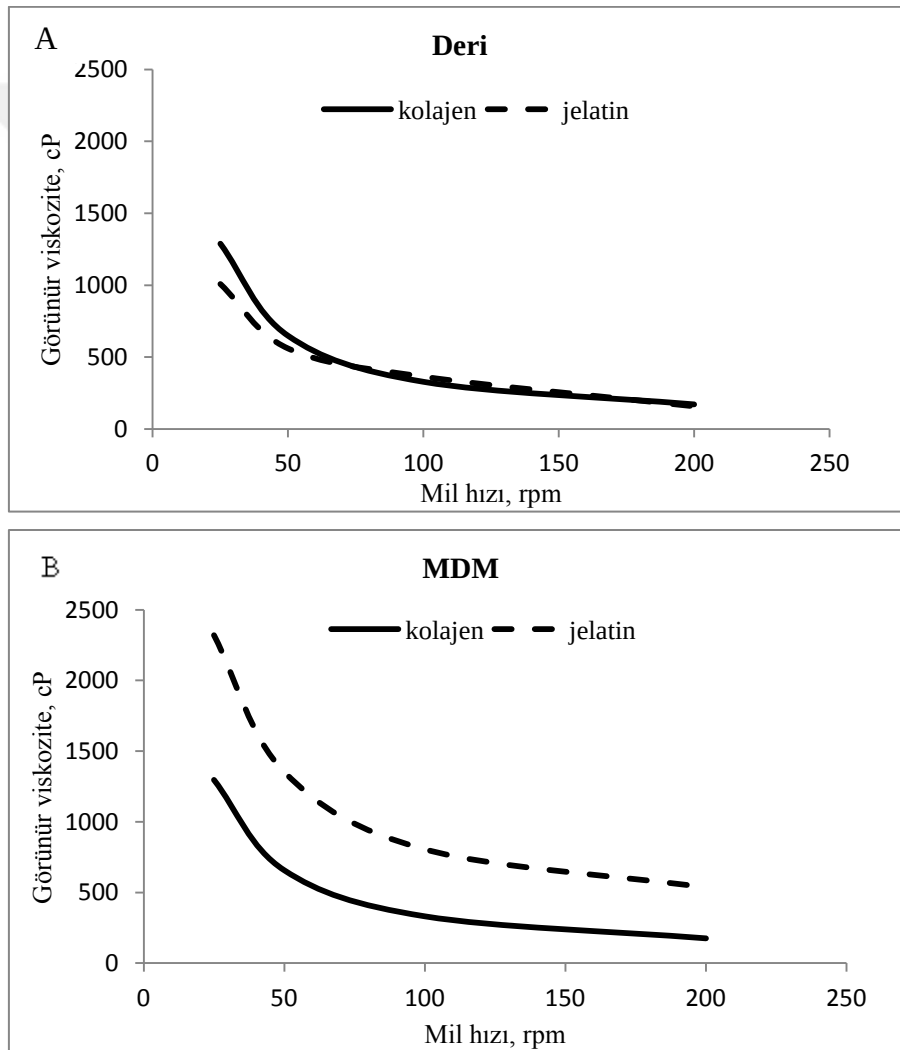


Şekil 4.2 Kanatlı deri ve MDM artıklarının kolajen ve jelatin SDS-PAGE profilleri (Bio-Rad, CA, ABD). M. Marker, 1.Deri, 2. Boyun, 3. İncik kemiği, 4. Göğüs kemiği, 5. Kanat ucu, 6. Takoz, 7. Göğüs sırt, 8. But sırt, 9. Kemik karışımı. c ve g sırasıyla kolajen ve jelatini temsil etmektedir.

4.1.3. Viskozite ve Jel Sertliği Ölçümleri

Şekil 4.3, kanatlı derisi ve MDM numunelerinin kolajen ve jelatin solüsyonlarında mil hızıyla değişen görünür viskozitesini göstermektedir. Viskozite, kayma kuvvetini

indükleyen artan hız ile azaldı, böylece oda sıcaklığında ölçülen kolajen/jelatin çözeltilerinin incelen akış davranışını gösterdi. Li ve ark. [72], kolajen çözeltilerinde artan akış hızı ile viskozitenin azaldığını, bu da akışın incelmesi olgusunu gösterdiğini bildirdi. Kollajen ve jelatin çözeltilerinin Newtonian olmayan akış incelmesi davranışı, kayma kuvveti nedeniyle protein agregatlarının dolaşıklığının azalması ve çözeltilerin akışını kolaylaştıran iç ve molekül içi sürtünme kuvvetlerinin azalmasıyla açıklanabilir [73]. Böylece artan kayma hızı, kolajen/jelatin çözeltilerinin viskozitesinin azalmasına yol açmıştır.



Şekil 4.3 Deri örneği (A) ve MDM kemik karışımı örneği (B) için ekstrakte edilmiş kolajen/jelatinin mil hızı ile değişen görünür viskozitesi. Mil hızları 25, 50, 100 ve 200 rpm'dir.

Ön işlem ve ekstraksiyon aşamalarında kullanılan solvent miktarı fazla olduğu için elde edilen viskozite değerleri de buna bağlı olarak düşük olmuştur. Deri örneği, kolajen ve jelatinin viskoziteleri hemen hemen aynıdır. Ancak, kemik karışımını içeren MDM kalıntı örneğinin jelatin solüsyonu, kolajenden daha yüksektir ($p < 0,05$). Bu, ikinci durumda jelatin alt birimlerinin molekül içi ve moleküller arası etkileşimlerinin arttığını öne sürerek, bunların ekstraksiyon prosedürlerindeki bir farklılıktan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Şekil 4.1’de verildiği gibi jelatin çözeltilerinde her iki numunenin kolajen çözeltilerine göre daha düşük bir protein içeriğinin (mg/ml) belirlendiğine dikkat edilmelidir. Derinin görünür viskoziteleri ve kemik karışımının MDM kalıntısı karşılaştırıldığında, kolajen solüsyonlarında önemli bir fark gözlenmiştir. Bununla birlikte, jelatin çözeltilerinde, kemik karışımı MDM kalıntısının görünür viskozitesi, deri numunelerinkinden daha yüksektir ($p < 0,05$).

Jel gücü, kolajen/jelatin çözeltilerinin önemli bir parametresidir. Bu çalışmada birkaç denemeye rağmen maalesef düzenli prosedürlerde (Bloom testi) jel gücü ölçülememiştir. Ekstraksiyon sırasında aşırı solvent kullanımı ve hiçbir konsantrasyon adımı uygulanmaması nedeniyle, son kolajen ve jelatin çözeltilerindeki protein konsantrasyonlarının düşük olduğu görülmüştür. Bunun yerine, kolajen ve jelatin solüsyonlarının jel gücünü karşılaştırmalı olarak belirlemek için tekstür analizi ile sıkıştırma testi yoluyla sertlik ölçülmüştür. Deriden ve MDM örneklerinden ekstrakte edilen kolajen ve jelatin ve örneklerinin sertlik değerleri Çizelge 4.3’te verilmiştir. Sonuçlara göre 1. ve 2. döngü sertlik değerleri düşük protein konsantrasyonu nedeniyle oldukça düşük çıkmıştır. Bununla birlikte, her ikisinde de her bir ilgili döngüde oldukça yakın değerlere sahip olduklarını, test edilen protein çözeltilerinin düşük yapısal deformasyona ve iyi viskoelastik özelliğe sahip olduklarını gösterdiler. Ayrıca deri jelatininde elde edilen sertlik diğerlerine göre daha yüksektir ($p < 0,05$). Viskozite bulguları ile karşılaştırıldığında, ilginç bir şekilde, deri jelatinin sertliği (~ 21,75 g), MDM jelatinden (~ 17,75 g) daha yüksek olduğu görülmüştür. Daha önceki bir çalışmada, sertlik ölçümlerine dayalı olarak balık kılıcı jelatin sertliğinin (~ 201,48 g) bu çalışmaya göre neredeyse on kat daha yüksek olduğu rapor edilmiştir [74]. Ancak, bu çalışmada jelatin çözeltilerinin protein konsantrasyonu da buna uygun olarak daha yüksektir.

Çizelge 4.3 Deri ve MDM kalıntı örneklerinden ekstrakte edilen kolajen/jelatin sertliği

Ölçülen parametreler	Deri		Kemik Karışımı	
	Kolajen	Jelatin	Kolajen	Jelatin
Sertlik döngü 1 (g)	17,25±0,75 ^A	21,75±1,75 ^A	17,00±0,50 ^A	17,75±0,75 ^A
Sertlik döngü 1 yapılan iş (mJ)	0,91±0,03 ^{AB}	1,13±0,05 ^A	0,87±0,02 ^B	0,94±0,06 ^{AB}
Sertlik döngü 2 (g)	17,00±0,00 ^B	21,50±0,50 ^A	16,50±0,00 ^B	17,25±0,75 ^B
Sertlik döngü 2 yapılan iş (mJ)	0,81±0,04 ^B	1,03±0,04 ^A	0,65±0,04 ^B	0,82±0,00 ^B

Protein örneklerinin ekstraksiyon işlemi sırasında NaOH ile muamele edilmesi, kolajen molekülünün bozunması ile α -zincir alt birimlerini ortaya çıkarması ve dolayısıyla uygun sarmal yapıların oluşumunu engellemesi nedeniyle jel mukavemetini etkileyebilir [75]. Sınırlı bir muamele periyodunda düşük miktarda NaOH kullanımı, elde edilen kolajen veya jelatin ürününün çeşitli uygulamaları için arzu edilebilen jel gücünü iyileştirebilir.

Ön çalışmadan elde edilen bulgular ışığında, çalışmanın ana safhası planlanmıştır. Buna göre, tez önerisine uygun olarak ekstraksiyon için kullanılacak yeni hammaddeler sağlanmış ve miktarları artırılmış, ekstraksiyon prosedüründe modifikasyon yapılmış ve son ürün olan jelatinin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini değerlendirmek için uygun analizler yapılmıştır.

4.2. Ana Çalışma Bulguları

4.2.1. Kolajen ve Jelatin Solüsyonlarının Değerlendirilmesi

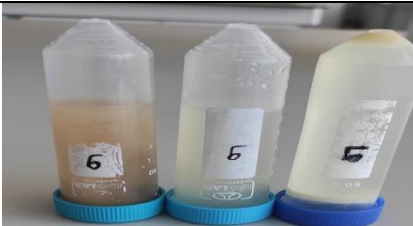
MDM kemik karışımı, koyun kemiği, sığır kemiği, takoz, tavuk derisi, koyun derisi ve sığır derisi örneklerinin iki paralelli olarak kolajen izolasyonu ve jelatin üretimi gerçekleştirilmiştir. Temizleme, demineralizasyon, asitle muamele ve ekstraksiyon basamaklarından sonra ayrılan solüsyonların görselleri Çizelge 4.4’de verilmiştir. Temizleme işlemi ile örneklerde bulunan yağın bir kısmı ve kan gibi safsızlıklar uzaklaştırılmaya çalışılmıştır. Bu sebeple Çizelge 4.4’de de görüldüğü gibi tüm solüsyonlar kırmızımsı bir renk almıştır ve daha yoğun kıvamlıdır. Takoz örneğinin 8. solüsyonu ve sığır deri örneğinin 13 ve 14. temizleme solüsyonları jelleşmiştir. Bu durum temizleme

işleminde proteinlerin bir kısmının temizleme solüsyonuna geçtiğini göstermektedir. Diğer örneklerin temizleme solüsyonlarında jelleşme söz konusu değildir.

Kemik örneklerine %4'lük HCl ile uygulanan demineralizasyon ve deri örneklerine 0,1 N HCl ile uygulanan asitle muamele işlemi sonucu süzülen solüsyonlar tüm örneklerde temizleme solüsyonuna kıyasla daha berraktır. Bu aşamada sadece takoz örneğinin demineralizasyondan sonra elde edilen 8. solüsyonu jelleşmiştir.

Ekstraksiyon solüsyonları, yukarıda belirtildiği gibi kemik ve deri örneklerine uygulanan farklı konsantrasyonlardaki HCl ile muamele işlemlerinden sonra elde edilen solüsyonlara kıyasla çok daha berraktır. Bu aşamada ise sığır kemik örneğinin haricinde tüm ekstraksiyon solüsyonlarında jelleşme görülmüştür. Bu da jelatinin ekstrakte edildiğini göstermektedir.

Çizelge 4.4 Temizleme, demineralizasyon, asitle muamele ve ekstraksiyon çözeltilerinin görselleri

	Hammadde	1. Paralel	2. Paralel
1	MDM Karışım		
2	Koyun Kemik		
3	Sığır Kemik		
4	Takoz		
5	Tavuk Deri		
6	Koyun Deri		
7	Sığır Deri		

4.2.2. Ekstraksiyon Sonrası Elde Edilen Jelatinlerin Değerlendirilmesi

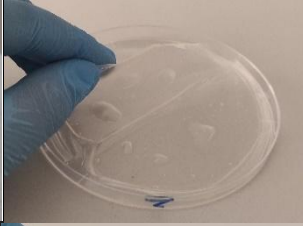
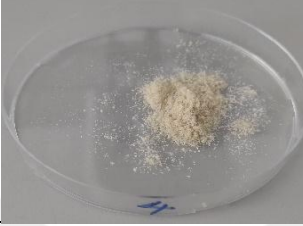
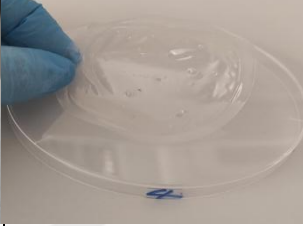
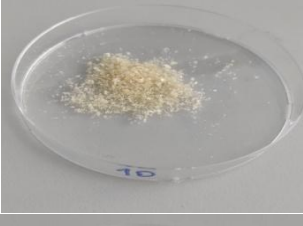
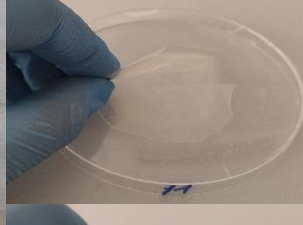
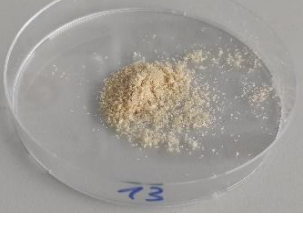
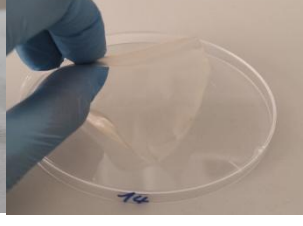
Optimum koşullarda gerçekleştirilen jelatin ekstraksiyonu sonrası elde edilen jelatin solüsyonlarında jelleşmeler meydana gelmiştir. Böylelikle kemik ve deri ham materyallerinin yapısında bulunan kolajenin jelatine dönüşüp, çözünerek ekstraksiyon solüsyonuna geçmesi sağlanmıştır. Jelatin solüsyonlarının kurutulmasıyla elde edilen jelatinin toz hali, jelatin jelleri ve jelatin filmleri Çizelge 4.5’de verilmiştir.

Jelatinin rengi ve saydamlığı, tüketiciyi doğrudan etkileyebilecek bir unsur olduğundan teknik ve ticari olarak önemli bir kalite kriteri olarak gösterilmektedir [29]. Deri ve kemiğin yapısında bulunan şeker nedeniyle Maillard reaksiyonu daha koyu renkli jelatin elde edilmektedir [76]. Ancak bu çalışmada, kemik ve deri örneklerinde ekstraksiyon işleminin ılımlı koşullarda gerçekleştirilmiş olması sebebiyle jelatinlerde herhangi bir renk değişimi gözlenmemiştir.

Jelatinin jel oluşturma özelliğinin, ortalama molekül ağırlığına, aminoasit dağılımına ve çözelti sıcaklığına bağlı olduğu belirtilmektedir [77]. Yüksek kalitedeki jelatinler genellikle, kolajenin kısmi olarak hidroliz edilmesiyle ve homojen yapıdaki hammaddeden 50 °C sıcaklıkta elde edilmektedir [78]. Kemik ve deri örnekleri 55°C’de gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemiyle görsel olarak güçlü jel gücüne sahip jelatin jelleri elde edilmiştir. Tavuk deri örneğinin diğer örneklerle kıyasla jel yapısının zayıf olduğu görülmüştür.

Jelatin solüsyonlarının optimum koşullarda kurutulmasıyla elde edilen jelatin filmleri arasında en şeffaf film tavuk deri örneğine aittir. Ancak tavuk deri jelatin filminin esnekliği düşük olduğu fark edilmiştir. Kemik örnekleri arasında en esnek film takoz örneğine aitken, deri örneklerinde en esnek filmin sığır deri örneğine ait olduğu görülmüştür.

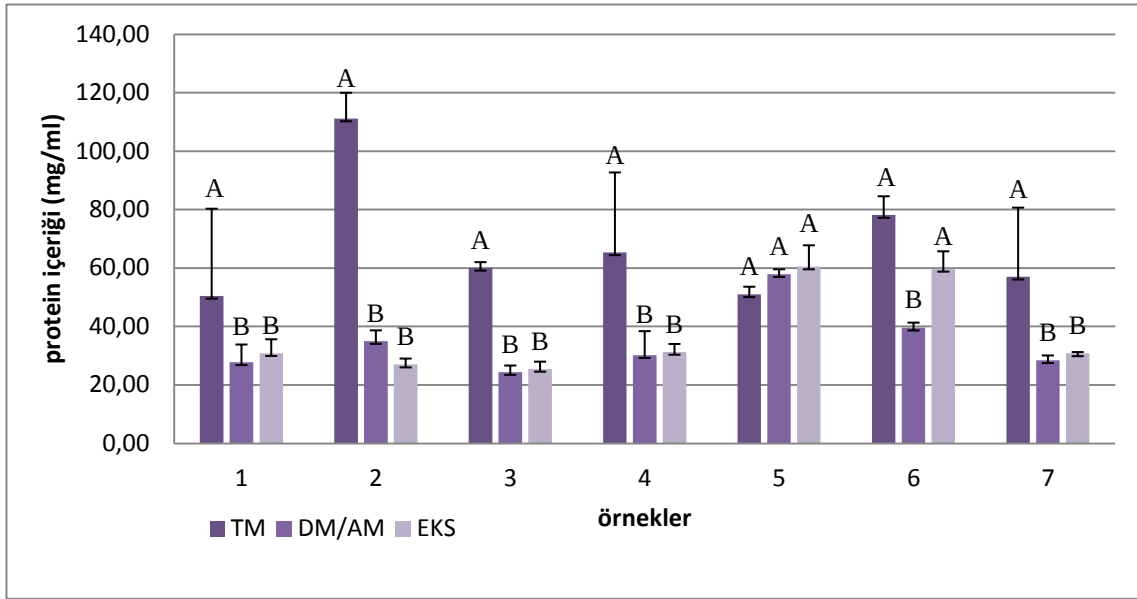
Çizelge 4.5 Kemik ve deri örneklerine ait jelatin tozu, jelatin jeli ve jelatin filminin görselleri

No	Örnek	Jelatin Tozu	Jelatin Jeli	Jelatin Filmi
1	MDM Karışım			
2	Koyun Kemik			
3	Sığır Kemik	-	-	-
4	Takoz			
5	Tavuk Deri			
6	Koyun Deri			
7	Sığır Deri			

4.2.3. Kolajen ve Jelatin Solüsyonlarının Protein İçeriği Bulguları

MDM karışım, koyun kemiği, sığır kemiği, takoz, tavuk deri, koyun deri ve sığır deri örneklerinin temizleme, demineralizasyon, asitle muamele ve ekstraksiyon çözeltilerinin protein miktarını belirlemek amacıyla Bradford yöntemi kullanılmıştır.

Jelatin standart eğrisi kullanılarak tavuk, koyun ve sığır ham materyallerinden jelatin üretim aşamalarının her birinden alınan kolajen ve jelatin solüsyonlarının protein miktarları (mg/ml) Şekil 4.4'de verilmiştir. Sütunlar koyudan açığa doğru sırasıyla temizleme solüsyonu, kolajen solüsyonu ve ekstrakte edilmiş jelatini temsil etmektedir. Temizleme solüsyonunda koyun kemiği, takoz ve koyun derisinin diğer örnekler arasında en yüksek protein içeriğine sahip olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Genel anlamda, temizleme solüsyonlarının protein içeriğinin kolajen ve jelatin solüsyonlarından daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu durum ön işlem ve ekstraksiyon adımlarında protein kaybı olduğunu gösterir. Kemik ve deri örneklerinde birbirine benzer olarak kolajen solüsyonlarında ölçülen protein içeriği, jelatin solüsyonlarında ölçülenden biraz daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bunun nedeni, demineralizasyon ve asit ile muamele adımlarında kolajenin kısmi hidrolizi ile proteinlerin çözünmesini tetiklenmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ekstrakte edilen jelatin ile ilgili olarak, kemik örneklerinde takoz en yüksek ($31,29\pm2,68$) protein içeriğini oluştururken sığır kemiği en düşük ($25,48\pm2,44$) protein içeriğini ortaya koymuştur ($p<0,05$). Deri örneklerinde ise tavuk deri en yüksek ($60,53\pm7,21$) protein içeriğini oluştururken sığır deri en düşük ($30,79\pm0,42$) protein içeriğini ortaya koymuştur ($p<0,05$). Du ve arkadaşları (2013), tavuk ve hindi kafalarından sırasıyla $88,69\pm0,54$ ve $90,30\pm0,04$ protein içeriğiyle jelatin üretmiştir [79].



Şekil 4.4 Bradford yöntemi kullanılarak belirlenen kolajen/jelatin solüsyonlarındaki protein içerikleri. Sayılar, MDM kalıntı, kemik ve deri örneklerini aşağıdaki gibi temsil eder. 1. MDM karışım (boyun, butsırt, göğüs kemiği, incik kemiği, kanat ucu, göğüs kafesi) 2. Koyun kemiği 3. Sığır kemiği 4. Takoz 5. Tavuk deri 6. Koyun deri 7. Sığır deri Örneklerin aynı grubundaki farklı harfler anlamlı farkı temsil etmektedir ($p < 0,05$)

Geri kazanılan kolajen ve jelatin solüsyonlarındaki protein içeriği, Çizelge 4.6'da verilen kemik ve deri örneklerinin ekstraksiyon verimlerinin hesaplanmasında kullanılmıştır. Bu çalışmada kemik örnekleri arasında en yüksek kolajen ve jelatin verimi sırasıyla %3,54 ve %3,97 ile takoz örneğinde elde edilmiştir ($p < 0,05$). Deri örnekleri arasında ise en yüksek kolajen ve jelatin verimi sırasıyla %5,92 ve %8,60 ile tavuk deri örneğinde elde edilmiştir ($p < 0,05$). Yapılan bir çalışmada boyun, göğüs ve sırt MDM posalarından 90°C 'de, %3 HCl ve 250 dakika ekstraksiyon koşullarında kuru madde bazında en yüksek verimin %13,45 olduğu tespit edilmiştir [80]. Tavuk deri örneği kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise yaş deri miktarına göre %6,6 protein verimi elde edilmiştir [81].

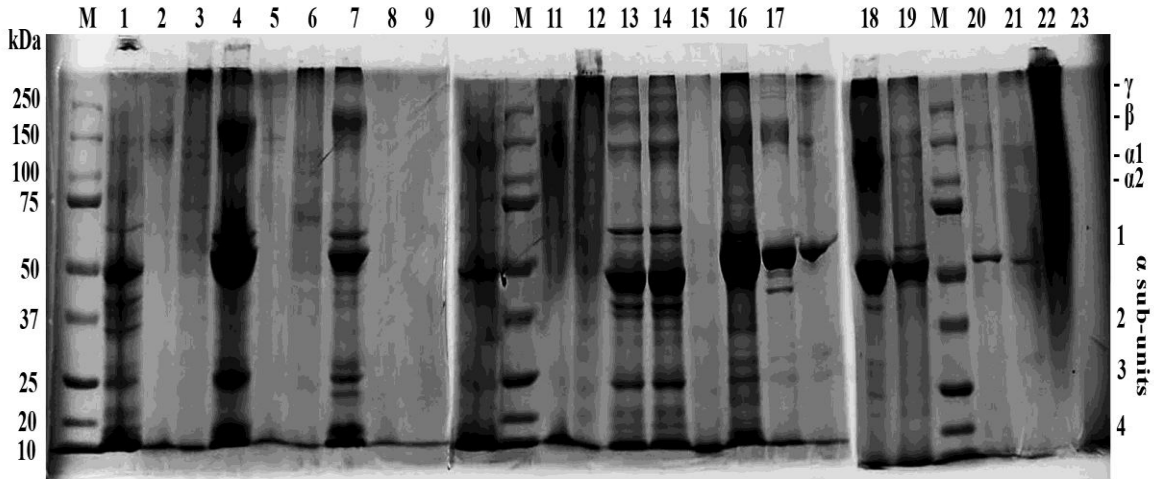
Çizelge 4.6 Deri ve kemik kalıntılarından elde edilen kolajen ve jelatin verimi

No	Örnek	Kolajen verimi (%)	Jelatin verimi (%)
1	MDM Karışım	3,47±0,61 ^{BC}	3,55±0,54 ^{BC}
2	Koyun Kemik	3,45±0,59 ^{BC}	2,84±0,15 ^C
3	Sığır Kemik	1,99±0,46 ^C	2,49±0,05 ^C
4	Takoz	3,54±1,00 ^{BC}	3,97±0,73 ^{BC}
5	Tavuk Deri	5,92±0,69 ^A	8,60±0,79 ^A
6	Koyun Deri	4,44±0,06 ^{AB}	6,02±1,32 ^{AB}
7	Sığır Deri	2,93±0,07 ^{BC}	2,99±0,44 ^C

*Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir (p<0,05).

4.2.4. SDS-PAGE Profilleri

Tavuk, koyun, sığır kemik ve derilerinden jelatin elde edilmesi esnasında ayrılan temizleme, kolajen ve jelatin solüsyonlarında gerçekleşen değişimler SDS-PAGE analizleri ile izlenmiştir. Ayrılan solüsyonlardaki proteinlere ait profiller Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5 Deri ve kemik kalıntılarından kolajen ve jelatin protein profilleri (Bio-Rad, CA, ABD). M. Marker, 1. MDM karışım (TM) 2. MDM karışım (DM) 3. MDM karışım (EKS) 4. Koyun kemiği (TM) 5. Koyun kemiği (DM) 6. Koyun kemiği (EKS) 7. Sığır kemiği (TM) 8. Sığır kemiği (DM) 9. Sığır kemiği (EKS) 10. Takoz (TM) 11. Takoz (DM) 12. Takoz (EKS) 13. Tavuk deri (TM) 14. Tavuk deri (AM) 15. Tavuk deri (EKS) 16. Koyun deri (TM) 17. Koyun deri (AM) 18. Koyun deri (EKS) 19. Sığır deri (TM) 20. Sığır deri (AM) 21. Sığır deri (EKS) 22. Ticari jelatin 23. Ticari kolajen

MDM karışım boyun, but sırt, göğüs kemiği, incik kemiği, kanat ucu ve göğüs kafesi içermektedir. TM: temizleme, AM: asitle muamale DM: demineralizasyon, EKS: ekstraksiyon.

Farklı moleküler ağırlıklara karşılık gelen protein bantları, kolajen/jelatinin farklı fraksiyonlarını temsil etmektedir. Sonuçlarımıza göre, 13 ve 14. örneklerde belirgin şekilde 280, 250, 200 ve ~140 kDa olan dört ana bant gözlenmiştir ve bunlar γ ve β protein fraksiyonlarını temsil etmiştir. 4, 7 ve 17. örneklerde ~220, 200 kDa arasında yoğun β zincirleri görülmektedir. 1, 2, 3, 5, 20 ve 21. örneklerde ise 150 kDa olan β protein fraksiyonları görülmektedir. Şekil 4.3'te α -zincirleri alt ünitelerine ait protein fraksiyonlarına ait bantlar açısından değerlendirildiğinde 1, 4, 7, 10, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20 ve 21. örneklerde farklı yoğunluklarda α -zincirleri alt ünitelerine ait protein bantlarının gözlenebilir olduğu tespit edilmiştir. Diğer taraftan 3, 6, 9, 12, 15, 18 ve 21. örnekler jelatin solüsyonlarını temsil etmektedir. Bu örneklerde ait bantlarda 9 ve 15. örneklerin haricinde α -zincir bantlarının genelde bozulmamış ve belirgin oldukları tespit edilmiştir. 9. ve 15. örneklerde bant oluşumu gözlenmemiştir. Bu durumda 3, 6, 12, 18 ve 21. örneklerin jel gücü değerleri incelendiğinde (Çizelge 4.10) 9. ve 15. örneklere kıyasla daha yüksek jel gücü değerine sahip olduğu görülmektedir. Literatür incelendiğinde α -zincir fraksiyonları ile jelatin jel gücü değeri arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir [25, 27, 44]. Dolayısıyla bu sonuçlar ilgili literatür bilgisi ile paralellik göstermektedir.

4.2.5. Jelatin Jellerinin Su Tutma, Yağ Bağlama ve Emülsiyon Özellikleri

Tavuk, koyun, sığır kemik ve derisinden optimum koşullarda elde edilen jelatinlerin su tutma (ST), yağ bağlama (YB) ve emülsiyon özellikleri Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Jelatin örneklerinin fonksiyonel özellikleri

No	Örnek	%STK	%YBK	ESI (dak)	EAI (m ² /g)
1	MDM Karışım	152,10±9,11 ^{AB}	228,59±7,54 ^B	37,22±0,27 ^{AB}	20,74±0,32 ^A
2	Koyun Kemik	112,04±14,02 ^{BCD}	177,26±17,08 ^B	30,23±8,44 ^{AB}	31,55±4,19 ^A
3	Sığır Kemik	-	-	-	-
4	Takoz	185,88±8,67 ^A	206,68±11,03 ^B	24,66±0,40 ^B	28,17±5,61 ^A
5	Tavuk Deri	91,58±3,46 ^{CD}	176,36±12,64 ^B	23,82±4,64 ^B	28,19±4,57 ^A
6	Koyun Deri	132,84±1,42 ^{ABC}	384,79±1,61 ^A	22,92±1,04 ^B	25,95±1,35 ^A
7	Sığır Deri	73,90±16,26 ^D	245,62±27,35 ^B	47,23±0,82 ^A	24,24±2,26 ^A

*Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir (p<0,05). STK: su tutma kapasitesi, YBK: yağ bağlama kapasitesi, ESI: emülsiyon stabilite indeksi, EAI: emülsiyon aktivite indeksi

Kemik örnekleri arasında en yüksek su tutma kapasitesine sahip örnek takozdur (185,88±8,67). Takozdan sonra en yüksek su tutma kapasitesine sahip örnek MDM kemik karışımıdır (152,10±9,11). Deri örnekleri arasında ise koyun deri en yüksek su tutma kapasitesine (132,84±1,42) sahiptir. Ardından en yüksek su tutma kapasitesine sahip örnek tavuk deridir (91,58±3,46).

Kemik örnekleri yağ bağlama kapasitesi açısından kıyaslandığında en yüksek yağ bağlama kapasitesine sahip örnek MDM kemik karışımıdır (228,59±7,54). Bunu takoz (206,68±11,03) ve koyun kemik (177,26±17,08) takip etmektedir. Deri örneklerinin yağ bağlama kapasite değerleri en yüksekten düşüğe doğru koyun deri (384,79±1,61), sığır deri (245,62±27,35) ve tavuk deri (176,36±12,64) şeklinde gitmektedir.

Kemik örneklerinden MDM karışım ve koyun kemiği örnekleri benzer emülsiyon özellikleri göstermiştir. Deri örneklerinde ise tavuk ve koyun derileri benzer emülsiyon özellikleri göstermiştir. Deri örneklerinden sığır deri en yüksek (47,23±0,82) emülsiyon stabilitesine sahip olduğu görülmüştür.

Tavuk deri kullanılarak yapılan bir çalışmada su tutma kapasitesi %683±49, yağ bağlama kapasitesi %116±6 ve emülsiyon stabilite indeksinin ise 12,7±0,2 olduğu bulunmuştur [82]. Bu çalışmada tavuk deri ile kıyaslandığında su tutma kapasitesinin yaklaşık 7 kat daha yüksek, yağ bağlama kapasite değerinin ise benzer değerler olduğu söylenebilir. Tavuk kemiği kullanılarak yapılan bir başka çalışmada ise su tutma

kapasitesinin 1227 ± 12 , yağ bağlama kapasitesinin 221 ± 3 , emülsiyon stabilite indeksinin $12,3 \pm 0,7$ olduğu bulunmuştur [83]. Bu çalışmada 6 farklı kemiği içeren MDM kemik karışımı ile kıyaslandığında su tutma kapasitesinin düşük, yağ bağlama kapasitesinin ise benzer olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, su tutma kapasitesi, yağ bağlama kapasitesi ve emülsiyon özellikleri açısından örnekler arasında farklılıklar olduğu görülmektedir. Bunun farklı hayvansal kaynaklardan ekstrakte edilen jelatinlerin içindeki safsızlıklardan kaynaklandığı düşünülmüştür.

4.2.6. Jelatin Jellerinin Renk ve Şeffaflıklarının Değerlendirilmesi

Jelatinin rengi ve saydamlığı, tüketiciyi doğrudan etkileyebilecek bir unsur olduğu için teknik ve ticari olarak önemli bir kalite özelliği olarak gösterilmektedir [29]. Ekstraksiyon sonrası elde edilen jelatin solüsyonlarının renk ve şeffaflık değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Şeffaflık değeri en yüksek örneğin sığır deri olduğu tespit edilmiştir. Diğer örneklerin düşük şeffaflığının safsızlıklar, yüksek yağ, ve mineral içeriğinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.8 Jelatin solüsyonlarının renk ve şeffaflıkları

No	Örnekler	L*	a*	b*	% Şeffaflık
1	MDM Karışım	$35,28 \pm 0,96^{AB}$	$0,11 \pm 0,06^A$	$2,41 \pm 0,26^{AB}$	$40,08 \pm 7,53^{BC}$
2	Koyun Kemik	$40,68 \pm 0,07^A$	$0,07 \pm 0,10^A$	$1,10 \pm 0,01^{BC}$	$27,68 \pm 2,43^{BC}$
3	Sığır Kemik	$36,64 \pm 0,83^{AB}$	$0,34 \pm 0,06^A$	$-0,79 \pm 0,13^D$	$58,38 \pm 5,23^B$
4	Takoz	$39,35 \pm 1,10^{AB}$	$0,06 \pm 0,09^A$	$1,22 \pm 0,14^{BC}$	$23,25 \pm 2,05^C$
5	Tavuk Deri	$32,98 \pm 0,97^{AB}$	$0,47 \pm 0,12^A$	$3,41 \pm 0,02^A$	$38,75 \pm 10,10^{BC}$
6	Koyun Deri	$36,89 \pm 3,41^{AB}$	$0,30 \pm 0,10^A$	$3,48 \pm 0,68^A$	$36,80 \pm 5,20^{BC}$
7	Sığır Deri	$31,71 \pm 0,22^B$	$0,27 \pm 0,05^A$	$-0,13 \pm 0,15^{CD}$	$100,00 \pm 0,80^A$

*Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir ($p < 0,05$).

Aydınlık (L^*) değerleri kemik jelatin solüsyonları için $35,28 \pm 0,96$ ve $40,68 \pm 0,07$ arasında, deri jelatin solüsyonları için $31,71 \pm 0,22$ ve $36,89 \pm 3,41$ arasında bulunmuştur.

Kırmızılık-yeşillik (a^*) değerlerinin kemik jelatin solüsyonları için $0,06\pm0,09$ ve $0,34\pm0,06$ arasında, deri jelatin solüsyonları için $0,27\pm0,05$ ve $0,47\pm0,12$ arasında olduğu tespit edilmiştir. Sarılık-mavilik (b^*) değerlerine bakıldığında kemik jelatin solüsyonları için $0,79\pm0,13$ ve $2,41\pm0,26$ arasında, deri jelatin solüsyonları için $0,13\pm0,15$ ve $3,48\pm0,68$ aralıklarında olduğu görülmektedir. Du ve arkadaşları, tavuk ve hindi kafalarından farklı ekstraksiyon sıcaklıkları kullanarak ürettikleri jelatin renklerinde önemli farklılıklar olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı örnekte $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 6 saat ekstraksiyon süresinde üretilen jelatinin; $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 18 saat ekstraksiyon süresinde üretilen jelatine kıyasla daha yüksek L^* değerine sahip olduğu gözlenmiştir. Burada ekstraksiyon süresinin artmasıyla L^* değerinin düştüğü görülmüştür. Ekstraksiyon periyodunun uzatılması jelatindeki degradasyonu artırdığı ve Maillard reaksiyonunu destekleyerek L^* değerini düşürdüğü belirtilmiştir [79].

Ekstraksiyon sonrası jelatin solüsyonlarının renk değişimleri (ΔE^*), beyazlık indeksi (WI) ve sarılık indeksi (YI) için ortalama değerler Çizelge 4.9'da verimiştir.

Çizelge 4.9 Jelatin solüsyonlarının renk değişimleri, beyazlık ve sarılık değerleri

No	Örnek	ΔE	WI	YI
1	MDM Karışım	$2,84\pm0,25^{AB}$	$35,23\pm1,34^{AB}$	$9,72\pm1,14^{AB}$
2	Koyun Kemik	$5,37\pm0,10^A$	$40,66\pm0,11^A$	$3,85\pm0,08^{BC}$
3	Sığır Kemik	$1,49\pm0,81^B$	$36,63\pm1,17^{AB}$	$-3,09\pm0,82^C$
4	Takozu	$4,15\pm1,51^{AB}$	$39,33\pm1,54^{AB}$	$4,42\pm0,54^{BC}$
5	Tavuk Deri	$4,54\pm0,75^A$	$32,89\pm1,37^{AB}$	$14,76\pm0,46^A$
6	Koyun Deri	$5,28\pm0,59^A$	$36,79\pm4,86^{AB}$	$13,82\pm5,56^A$
7	Sığır Deri	$3,82\pm0,33^{AB}$	$31,70\pm0,30^B$	$0,59\pm0,96^C$

*Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir ($p<0,05$).

Jelatin solüsyonlarının renk değişimlerine (ΔE^*) bakıldığında en fazla renk değişiminin koyun kemiği örneğinde olduğu ve bunu koyun deri örneğinin izlediği görülmüştür. En az renk değişimi ise sığır kemiğinde görülmüştür.

Elde edilen jelatin solüsyonlarının beyazlık indekslerine (WI) bakıldığında aralarında çok belirgin bir fark olmadığı görülmüştür.

Jelatin solüsyonlarının sarılık indeksleri (YI) değerlendirildiğinde sığır kemiği ve sığır derisi çok düşük ve neredeyse beyaza yakın olduğu tespit edilmiştir. Tavuk deri, koyun deri ve MDM karışım örnekleridiğer örneklere kıyasla daha fazla sarılık göstermiştir.

4.2.7. Jelatin Jellerinin Tekstür Profil Analizi ve Jel Gücü (Bloom Testi)

MDM karışım, koyun kemiği, sığır kemiği, takoz, tavuk derisi, koyun derisi ve sığır derisi kuru jelatin örneklerinden hazırlanan jelatin jelleri TPA parametreleri ve jel gücü bakımından karşılaştırılmıştır. Örneklerin aynı koşullarda hazırlanan jelleri üzerinde yapılan tekstür profil analizi ve bloom değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, kemik ve deri örneklerinin jelatin jellerinin sertliklerinin jel gücü ile doğru orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Kemik örneklerinden sertlik değeri en yüksek örnek MDM karışım iken deri örneklerinde sığır derisidir ($p < 0,05$). Koyun kemiği ve koyun derisi kendi içinde yapışkanlık değeri bakımından kıyaslandığında en yüksek değere sahip oldukları görülmektedir. Tüm örneklerin esneklik değerleri ise birbirine benzerdir. Çiğnenebilirlik indeksi en yüksek jelatin jeli sığır deridir. Bunu koyun kemiği ve MDM karışım jelleri takip etmektedir. Takoz ve koyun derisi jelatin jelleri benzer çiğnenebilirlik indeksi göstermiştir.

Kemik örnekleri arasında en yüksek jel gücü değerine sahip örnek MDM karışımıdır. Deri örnekleri jel gücü bakımından birbirleriyle kıyaslandığında ise sığır derisinin en yüksek jel gücüne sahip olduğu görülmüştür. Literatürde jel gücü 150'den küçük olanlar düşük, 150-220 arasında olanlar orta ve 220'den yüksek olanlar yüksek jel gücüne sahip jelatin olarak değerlendirilmektedir [26]. Bu anlamda tavuk derisi düşük, koyun kemiği ve takoz orta, MDM karışım, koyun derisi ve sığır derisi yüksek jel gücüne sahiptir. Tavuk derisinden elde edilen jelatinin düşük jel gücüne sahip olması laboratuvar koşullarında yeterince saflaştırılamamasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar moleküler ağırlık dağılımının jelatinin jel gücü değerini etkilediğini göstermektedir. Yüksek moleküler ağırlığındaki fraksiyonlar, yüksek jel gücünün belirleyicisi olarak gösterilmektedir. Jel gücü değerinin, toplam α , β ve daha yüksek moleküler ağırlıktaki fraksiyonların oranı arasında iyi bir korelasyon olduğu bildirilmektedir [25]. Bu çalışmada

da Şekil 4.3’de SDS-PAGE görüntüsünde görüldüğü gibi 3, 6, 12, 18, 21. örneklerin 125-150 kDa ağırlığındaki β zincirlerinin jel gücü değerini büyük ölçüde etkilediği tespit edilmiştir. Eysturskard ve ark. [27]’nin yaptığı çalışmada sığır kemik jelatini (tip B), domuz derisi jelatini (tip A) ve soğuk su balığı jelatinlerinin α -zincir, β -zincir ve yüksek molekül ağırlığı ve düşük molekül ağırlığındaki fraksiyonları içerdiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda memeli hayvanlardan elde edilen jelatinlerin jel gücü ile içerdiği α -zincir, β -zincir ve yüksek molekül ağırlığındaki moleküller arasında pozitif; 100 kDa’un altındaki fraksiyonlar ile negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar da literatürü desteklemektedir.



Çizelge 4.10. Tavuk, koyun, sığır kemik ve derilerinin TPA parametreleri ve jel gücü değerleri

		Sertlik döngü 1 (g)	Geri kazanılabilen deformasyon döngüsü 1(mm)	Sertlik döngü 2, (g)	Yapışkanlık	Geri kazanılabilen deformasyon döngü 2 (mm)	Esneklik indeksi	Çiğnenebilirlik indeksi (g)	Jel Gücü (g)
1	MDM karışım	660,75±32,25 ^{AB}	2,96±1,13 ^A	170,50±26,00 ^{BC}	0,25±0,01 ^C	2,83±0,02 ^A	1,00±0,00 ^A	161,75±13,15 ^{BC}	336,25±32,75 ^B
2	Koyun kemik	491,50±63,50 ^{BC}	5,32±1,06 ^A	228,75±10,25 ^{BC}	9,19±0,10 ^A	0,41±0,05 ^B	1,00±0,01 ^A	195,55±6,45 ^{ABC}	204±10,50 ^{CD}
3	Sığır kemik	-	-	-	-	-	-	-	-
4	Takoz	302,75±34,25 ^{CD}	3,03±0,54 ^A	169,50±19,00 ^{BC}	6,67±0,78 ^{AB}	0,40±0,08 ^B	0,92±0,08 ^A	107,80±0,50 ^{BC}	182,75±19,25 ^{CD}
5	Tavuk deri	176,75±7,25 ^D	1,86±0,10 ^A	101,75±4,25 ^C	2,33±1,94 ^{BC}	0,99±0,56 ^B	0,88±0,05 ^A	63,05±3,95 ^C	109,5±12,50 ^D
6	Koyun deri	320,00±14,00 ^{CD}	3,31±0,85 ^A	157,25±21,25 ^{BC}	6,03±0,90 ^{AB}	0,33±0,03 ^B	0,98±0,01 ^A	104,65±14,25 ^{BC}	230,5±29,50 ^{BC}
7	Sığır deri	818,50±81,50 ^A	2,55±0,35 ^A	237,75±46,25 ^B	0,26±0,03 ^C	2,90±0,12 ^A	1,00±0,00 ^A	216,90±48,50 ^{AB}	476±25,50 ^A
8	Ticari jelatin	504,25±0,25 ^{BC}	3,44±0,57 ^A	426,50±12,00 ^A	0,70±0,07 ^C	3,19±0,20 ^A	0,91±0,03 ^A	318,05±45,55 ^A	206,25±2,25 ^{CD}

*Aynı sütundaki farklı harfler önemli bir farkı temsil etmektedir (p<0,05).

4.2.8. FT-IR Analizi

MDM kemik karışımı, tavuk deri, tavuk takozu, koyun ve sığır deri ve kemiği örneklerinin temizleme, asitle muamele, demineralizasyon ve ekstraksiyon aşamalarından sonra elde edilen solüsyonlarında bulunan proteinlerin yapısındaki konformasyonel farklılıkların belirlenmesi amacıyla FTIR analizi yapılmıştır.

Polipeptitlerin ve proteinlerin kızılötesi spektrumlarında karakteristik bantlar arasında Amid I, Amid II ve Amid III bulunmaktadır. Bunlar aminoasitleri bağlayan peptit bağlarından (-CONH-) kaynaklanır [84]. Amid I $1700-1600\text{ cm}^{-1}$, Amid II $1575-1400\text{ cm}^{-1}$ ve Amid III $1300-1220\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralıklarında görülür [85]. Amid I bantları C=O gerilmesinden, Amid II bantları N-H bükülme ve C-H gerdirmeye titreşimlerinden ve Amid III bantları C-N gerdirmeye ve C=O bükülme titreşimlerinden kaynaklanır [86, 87].

Bantların pozisyonları proteinlerin ikincil yapıları hakkında bilgi verir [88]. Proteinlerin ikincil yapılarının analizinde genel anlamda Amid I bandı kullanılmaktadır. Bu durum Amid I bandı polipeptitlerin en yoğun absorpsiyon bölgesi olmasından kaynaklanmaktadır [89]. Amid I bantları genellikle $1640-1600\text{ cm}^{-1}$ arasında β -yaprak, $1650-1640\text{ cm}^{-1}$ arasında rastgele, $1660-1650\text{ cm}^{-1}$ arasında α -sarmal ve $1700-1660\text{ cm}^{-1}$ arasında β -dönüş ikincil yapılarını belirtmektedir [90].

4.2.8.1. Kemik Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Kemik örneklerinin proteinlerinin FT-IR sonuçları Şekil 4.6'da verilmiştir. MDM kemik karışımı örneğinde Amid I bölgesinde TM 1650 cm^{-1} , DM 1644 cm^{-1} ve EKS 1643 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesinde TM 1554 cm^{-1} , EKS 1556 cm^{-1} de pik verdiği, DM'nin ise 1554 cm^{-1} de çok zayıf pik verdiği görülmüştür.

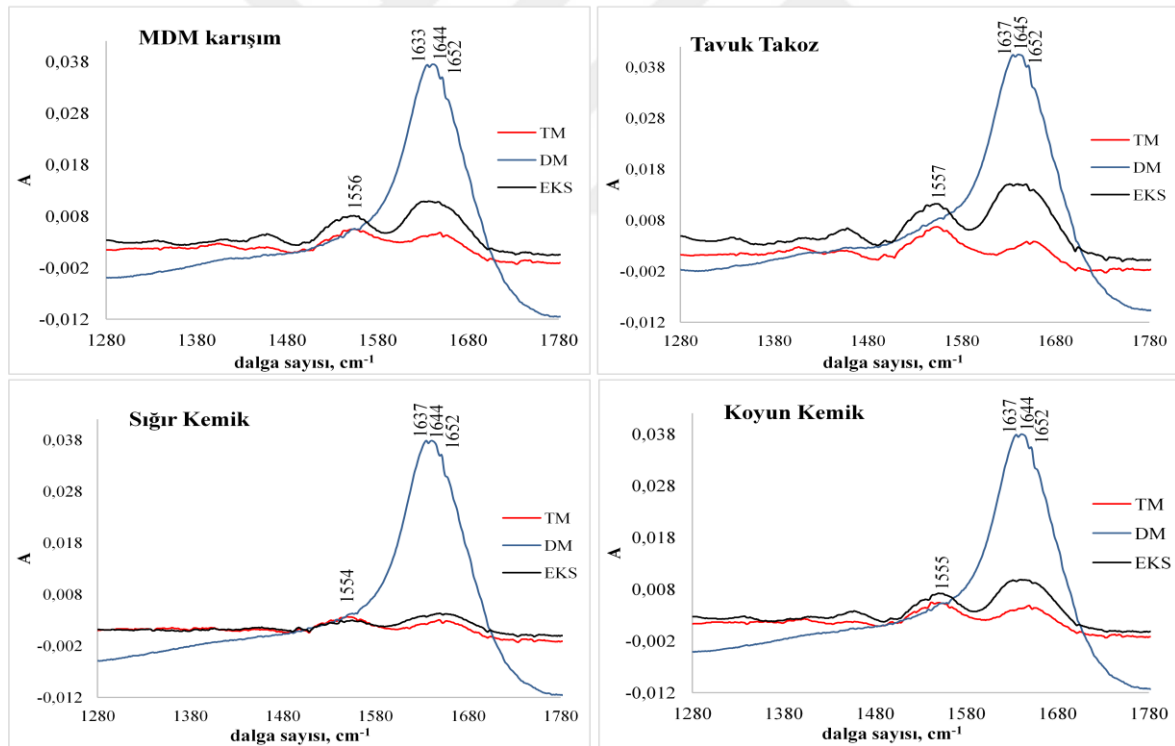
Koyun kemiği örneğinde Amid I bölgesinde TM 1650 cm^{-1} , DM 1644 cm^{-1} ve EKS 1639 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesinde ise TM 1552 cm^{-1} , EKS 1555 cm^{-1} de pik verdiği, DM'nin 1552 cm^{-1} de çok zayıf pik verdiği görülmüştür.

Sığır kemiği örneğinde Amid I bölgesinde TM 1650 cm^{-1} , DM 1644 cm^{-1} ve EKS 1650 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesine bakıldığında TM 1553 cm^{-1} , EKS 1554 cm^{-1} de pik verdiği, DM'nin 1552 cm^{-1} de çok zayıf pik verdiği görülmüştür.

Takoz örneğinde ise Amid I bölgesinde TM 1648 cm^{-1} , DM 1645 cm^{-1} ve EKS 1639 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesinde TM 1552 cm^{-1} , EKS 1557 cm^{-1} de pik verdiği, DM 1554 cm^{-1} de çok zayıf pik verdiği görülmüştür.

TM, DM ve EKS çözeltilerindeki proteinlerin Amid I bölgesinde verdikleri pikler proteinlerin yapılarında bulunan C=O gerilme titreşimlerinden, Amid II bölgesindeki pikler N-H bükülme ve C-N gerilme titreşimlerinden kaynaklanmaktadır [91].

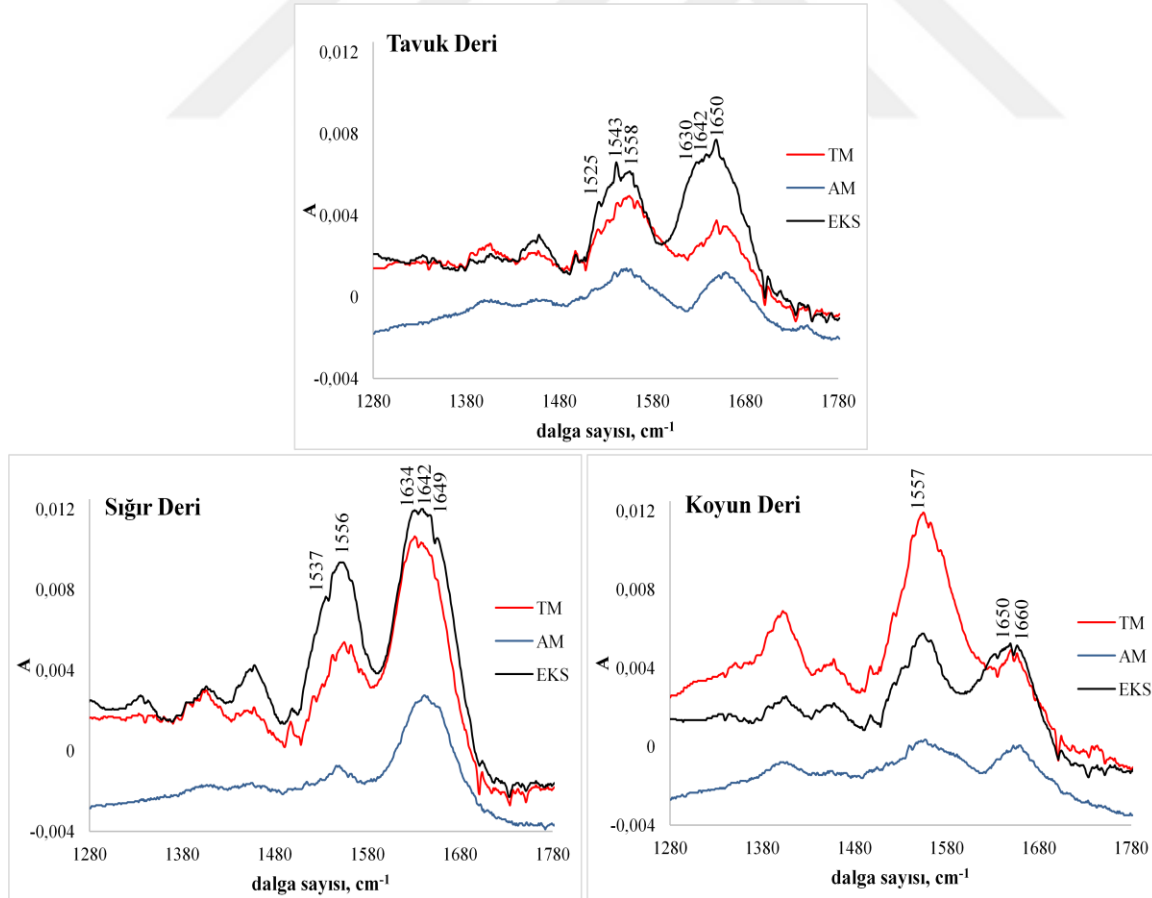
Kemik örneklerinin Amid I bölgesinde aynı alana yakın bölgelerde pik verdiği görülmüştür. Uygulanan ekstraksiyon işleminde DM esnasında proteinlerin ikincil β -yaprak yapıları daha fazla açılmış ve daha fazla ışığı absorbe etmiştir. Protein içeriğinin fazla olmasından dolayı serbest aminoasitlerden kaynaklanan en yoğun pikleri DM çözeltisi vermiştir. TM ve EKS çözeltileri birbirine benzer pik yoğunluğuna sahip olduğu görülmüştür. Tüm kemik örnekleri birbirine benzer profil sergilemiştir.



Şekil 4.6 Kemik kolajen/jelatin proteinlerine ait IR spektrumları

4.2.8.2. Deri Örneklerine Ait FT-IR Sonuçları

Deri örneklerinin proteinlerinin FT-IR sonuçları Şekil 4.6’da verilmiştir. Tavuk deri örneğinde Amid I bölgesinde TM 1652 cm^{-1} , AM 1654 cm^{-1} ve EKS 1650 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesine bakıldığında TM 1545 cm^{-1} , AM 1560 cm^{-1} ve EKS 1543 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Koyun deri örneğinde Amid I bölgesinde TM 1650 cm^{-1} , AM 1660 cm^{-1} ve EKS 1650 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesinde TM 1557 cm^{-1} , AM 1558 cm^{-1} ve EKS 1554 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Sığır deri örneğinde Amid I bölgesinde TM 1630 cm^{-1} , AM 1644 cm^{-1} ve EKS 1642 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Amid II bölgesinde ise TM 1556 cm^{-1} , AM 1550 cm^{-1} ve EKS 1556 cm^{-1} de pik verdiği görülmüştür. Deri örneklerinde ikincil yapı α -heliks, β -yaprak, rastgele dönüşlerde konformasyonel değişiklikler görülmüştür. Yapılan bir çalışmada tavuk derisi kolajeni Amid I ve Amid II bölgelerinde sırasıyla 1633,98 cm^{-1} , 1549,08 cm^{-1} de pik verdiği tespit edilmiştir [92].



Şekil 4.7 Deri kolajen/jelatin proteinlerine ait IR spektrumları

5. SONUÇ

Gıda ve gıda dışı uygulamalarda kullanılacak kolajen ve jelatin ihtiyacı dünya genelinde her geçen gün artmaktadır. Öte yandan, mevcut kaynakların yetersiz olması nedeniyle, sürdürülebilir alternatiflerin güvence altına alınması ve hammadde kaynaklarına dayalı üretim koşullarının optimizasyonu konusunda yoğun çabalar vardır. Dünyada her yıl oldukça yüksek miktarda kanatlı işleme yan ürünleri ve artıkları oluşmaktadır. Bu yan ürünlerin/atıkların işlenmesi, katma değeri yüksek, ekonomiye faydalı ve çevre kirliliğinin önlenmesi için gerekli alternatif ürünlerin üretimi için önemlidir.

Sunulan tez çalışmasında, hem kümes hayvanlarından hem de büyükbaş hayvanlardan kesim sonrasında açığa çıkan deri ve kemiklerden sınırlı sayıda işlem basamağı içeren prosedürlerle yüksek verimlilikte kollajen/jelatin elde edilmiştir. Sığır derisi ve tavuk kemiği artıklarından oluşan MDM karışımından elde edilen jelatin diğer örneklerle oranla daha yüksek jel gücü sergilemiştir. Tavuk deriden diğer deri ve kemik örneklerle kıyasla daha yüksek kolajen ve jelatin verimi elde edilmiştir. MDM kemik karışımı ve takoz örneklerinin tüm işlem basamaklarında optimum sonuçlar vererek endüstriyel çalışmalar için daha elverişli olacağı düşünülmektedir. Bu anlamda, üretimde çeşitli amaçlarla kullanılabilecek bir hammadde eldesi sağlanmıştır.

Son yıllarda yapılan çalışmalar jelatinin yenilebilir film ve kaplama materyali olarak farklı bileşiklerle kombine edilerek kullanıldığı ve başarılı sonuçlar alındığını ortaya koymuştur. Bu araştırmalar elde edilen film ve kaplama materyallerinin kaynağına bağlı olarak farklı sonuçlar göstermektedir. Bu anlamda bu tez çalışmasında elde edilen başta MDM kemik jelatini olmak üzere, tavuk deri, tavuk takozu, sığır derisi, koyun derisi ve kemiğinden üretilen jelatin filmlerinin formülasyonuna farklı hidrokolloid özellikteki bileşenler ilave edilerek gıda dokusuna kaplanabilir film ve kaplama materyalleri üretilebilir ve avantaj/dezavantajları araştırılabilir. Ayrıca sadece gıda endüstrisinde değil tıp ve eczacılık alanlarında da kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

- [1] Schrieber, R. and Gareis, H., 2007, *Gelatine Handbook: Theory and Industrial Practice*, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 335 p.
- [2] Cansu, Ü. and Boran, G., 2015, “Optimization of a multi-step procedure for isolation of chicken bone collagen”, *Korean J. Food Sci. An.*, 35(4): 431-440.
- [3] Sarbon N. M., Badii, F. and Howell, N. K., 2013, “Preparation and Characterisation of Chicken Skin Gelatin as an Alternative to Mammalian Gelatin”, *Food Hydrocolloids*, 30: 143-151.
- [4] Boran, G., 2011, “Bir gıda katkı maddesi olarak jelatin: yapısı, özellikleri, üretimi, kullanımı ve kalitesi”, *Gıda*, 36(2): 97-104.
- [5] Boran, G. and Regenstien, J. M., 2010, “Fish Gelatin”, In: *Advances in Food and Nutrition Research*, Taylor SL (ed), Volume 60, Academic Press, UK, 119-144.
- [6] Karim, A. A., and Bhat, R., 2008, “Gelatin alternatives for the food industry: recent developments, challenges and prospects” *Trends in Food Science & Technology*, 19:644-656. DOI:10.1016/j.tifs.2008.08.001.
- [7] Haug, I. J., Draget, K. I. and Smidsrød, O. 2004, “Physical and rheological properties of fish gelatin compared to mammalian gelatin”, *Food Hydrocolloids*, 18:203-213. DOI:10.1016/S0268-005X(03)00065-1
- [8] Yetim, H., 2011, “Jelatin üretimi, özellikleri ve kullanımı”, *1. Ulusal Helal ve Sağlıklı Gıda Kongresi*,
- [9] Hulmes, D. J. S., 2008, “Collagen Diversity, Synthesis, and Assembly”, In: *Collagen, Structure and Mechanics* (Editor: P. Fratzl), Springer, New York, 16-22.

- [10] Brinckmann, J., 2005, "Collagens at a glance", In: *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. (Editor: J. Brinckmann, H. Notbohm, P. K. Müller), Springer, USA, 1-6.
- [11] Engel, J. and Bachinger, HP., 2005, "Structure, Stability and Folding of the Collagen Triple Helix", In: *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. J. Brinckmann, H. Notbohm, P.K. Muller (eds), Springer, USA, pp. 8-24.
- [12] Fratzl, P., 2008, "Collagen: Structure and Mechanics, an Introduction", In: *Collagen: Structure and Mechanics*, (Editor: P. Fratzl), Springer, USA, 1-13.
- [13] Balian, G. and Bowes, J. H., 1977, "The Structure and Properties Of Collagen", In: *The Science and Technology of Gelatin*, (Editor: A. G. Ward, A. Courts). Academic Press, UK, 1-27.
- [14] Eastoe, J.E. and Leach, A. A., 1977, "Chemical Constitution of Gelatin", In: *The Science and Technology of Gelatin*. A.G. Ward, A. Courts (eds), Academic Press, USA, pp. 73-105.
- [15] Aberle, E. D., Forrest, J. C., Gerrard, D. E., Edward, V. M., Hedrick, H. B., Judge, M. D. and Merkel, R. A., 2001, *Principles of Meat Science*, Kendall/Hunt Pub. Co. Iowa, US.
- [16] Eyre, D. R. and Wu, J.J, 2005, "Collagens Crosslinks", In: *Collagen: Primer in Structure, Processing and Assembly*. J. Brinckmann, H. Notbohm, P.K. Muller (eds), Springer, USA, pp.208-225.
- [17] Johns, P. and Courts, A., 1977, "Relationship between Collagen and Gelatin", In: *The Science and Technology of Gelatin*, A.G. Ward, A. Courts (eds), Academic Press, USA, pp. 138-168.
- [18] Zhou, P. and Regenstein, J. M., 2005, "Effects of Alkaline and Acid Pretreatments on Alaska Pollock Skin Gelatin Extraction", *J. Food Sci*, 70(6), 392-396.

- [19] You, L., Regenstein, J. M. and Liu, R. H., 2010, "Optimization of Hydrolysis Conditions for the Production of Antioxidant Peptides from Fish Gelatin Using Response Surface Methodology", *J. Food Sci.* 75(6), C582-C587.
- [20] Ockerman, H.W. and Hansen, C.L., 1988, "Animal By-Product Processing", Ellis Horwood Ltd., *Chichester England*, 366 p.
- [21] Nur Hanani Z. A, Roos, Y. H, Kerry, J. P., 2014, "Use and application of gelatin as potential biodegradable packaging materials for food products", *Int J. Biol Macromol*, 71, 94-102.
- [22] Tosh, S. M., Marangoni, A. G., Hallett, F. R., Britt, I.J., 2003, "Aging Dynamics in Gelatin Gel Microstructure", *Food Hydrocolloid*, 17:503-513.
- [23] Coppola, M., Djabourov, M., Ferrand, M., 2012, "Unified phase diagram of gelatin films plasticized by hydrogen bonded liquids", *Polymer* 53: 1483-1493.
- [24] Haug, I. J., Draget, K. I., 2009, *Handbook of Hydrocolloids*. Second edition. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition No. 173, Glyndwr University, UK. 948.
- [25] Ledward, D. A., 2000, *Handbook of hydrocolloids*, Chapter-4, Edited by G. O. Philips and P. A. Williams. UK. Woodhead Publishing in Food Science and Technology, 450p.
- [26] Badii, F. and Howell, N. K., 2006, "Fish Gelatin: Structure, Gelling Properties and Interaction With Egg Albumen Proteins", *Food Hydrocolloids*, 20: 630–640.
- [27] Eysturskarð J, Haug I. J., Ulset, A., Joensen, H. and Draget, K. I., 2010b, "Mechanical Properties of Mammalian and Fish Gelatins as a Function of the Contents of α -Chain, β -Chain, and Low and High Molecular Weight Fractions", *Food Biophysics*, 5: 9–16.
- [28] Karayannakidis, P. D. and Zotos, A., 2014, "Fish Processing Byproducts as a Potential Source of Gelatin: A Review", *Journal of Aquatic Food Product Technology*, DOI: 10.1080/10498850.2013.827767.

- [29] Du, L., Khiari, Z., Pietrasik, Z. and Betti, M., 2013, “Physicochemical and Functional Properties of Gelatins Extracted From Turkey and Chicken Heads”, *Poultry Science*, 92: 2463–2474.
- [30] Eysturskarð, J., 2010a, “Mechanical Properties of Gelatin Gels; Effect of Molecular Weight and Molecular Weight Distribution”, Doctoral thesis for the degree of Philosophiae Department of Biotechnology. Faculty of Natural Science and Technology at Norwegian University, 43 p.
- [31] Anonim, 2007. Hayvancılık Özel ihtisas Komisyonu Raporu, T.C. Başbakanlık Devlet Planlama Teşkilatı, Yayın No: DPT: 2717 – ÖİK: 670, Ankara.
- [32] Anonim, 2009. Hayvansal Üretim istatistikleri, Tarımsal Yapı, Üretim, Fiyat, Değer, 2007, Türkiye istatistik Kurumu, Türkiye İstatistik Kurumu Matbaası, Ankara.
- [33] Hinterwaldner, R., 1977, “Technology of Gelatin Manufacture”, In: *The Science and Technology of Gelatin*, A.G. Ward, A. Courts (eds), Academic Press, USA, pp. 315-361.
- [34] Boran, G., Lawless, H. T., Regenstein, J. M., 2010, “The Effect of Extraction Conditions on the Sensory and Instrumental Characteristics of Fish Gelatin Gels”, *J Food Sci*, 75 (9), S469-S476.
- [35] Cho, S. H., Jahncke, M. L., Chin, K. B., Eun, J. B., 2006, “The Effect of Processing Conditions on the Properties of Gelatin from Skate (*Raja kenoei*) Skins”, *Food Hydrocolloid*, 20, 810-816.
- [36] Petersen, B. R. and Yates, J. R., 1977, *Gelatin Extraction*, United States Patent No:4 064 008.
- [37] Koli, J. M., Basu, S., Nayak, B. B., Patange, S. B., Pagarkar, A. U., Gudipati, V., 2012, “Functional characteristics of gelatin extracted from skin and bone of Tiger-toothed croaker (*Otolithes ruber*) and Pink perch (*Nemipterus japonicus*)”, *Food Bioprod Process*, 90, 555-562.

- [38] Navarro-Rodriguez de Vera C., Sanchez-Zapata E.J., Viuda-Martos M., Perez-Alvarez J.A., 2010, *Mechanical Deboning: Applications and Product Types*. 59-72. In: Guerrero-Legarreta I. and Hui YH. (Ed.), *Handbook of Poultry Science and Technology*, Vol 2: Secondary Processing, John Wiley & Sons Inc, USA.
- [39] Püssa T., Raudsepp P., Toomik P., Pallin R., Maeorg U., Kuusik S., Soidla R., Rei M., 2009, “A study of oxidation products of free polyunsaturated fatty acids in mechanically deboned meat”, *J. Food Compos Anal*, 22, 307-314.
- [40] Serdaroğlu, M., Yıldız Turp, G. ve Bağdatlıoğlu, N., 2005, “Effects of deboning methods on chemical composition and some properties of beef and turkey meat”, *Turkish J Vet Anim Sci*, 29, 797-802.
- [41] Mast, M. G., Uijttenboogaart, T. G., Gerrits, A. R., Decries, A. W., 1982, “Effect of auger and pres-type mechanical deboning machines on selected characteristics of mechanically deboned poultry”, *J. Food Sci.* 47:1757-1762.
- [42] Parry, R. T., 1995, “Technological developments in pre-slaughter handling and processing”, *In Processing of Poultry*. Ed. G.C. Mead. Chapman and Hall, London. pp. 65-101.
- [43] Hattrem, M. N., Molnes, S., Haug, I. J., Draget, K. I., 2015, “Interfacial and rheological properties of gelatin based solid emulsions prepared with acid or alkali pretreated gelatins”, *Food Hydrocoll*, 43, 700-707.
- [44] Karim, A. A. and Bhat, R., 2009, “Fish Gelatin: Properties, Challenges, and Prospects as an Alternative to Mammalian Gelatins”, *Food Hydrocolloids*, 23, 563–576.
- [45] Boran, G. and Regenstein, J. M., 2009, “Optimization of gelatin extraction from silver carp skin”, *Journal of Food Science*, 74 (8): 432-441.
- [46] Winitorn, A., Douglas, P. L., Douglas, S., Pongampai, S., Teppeitorn, W., 2008, “Modeling the extraction of valuable substances from natural plants using solid– liquid extraction”, *Chemical Engineering Communications*, 195: 1457–1464.

- [47] Gündem, A., Tarhan, Ö., 2020, “Extraction of collagen and gelatine from animal wastes”, *Bulletin of Biotechnology*, 1(1):30-33.
- [48] Robyt, J.F. and White, B.J. 1987. Biological Preparations. In *Biochemical Techniques: Theory and Practice*, pp, 253-290. Waveland Press. Prospect Heights, IL.
- [49] Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., *Molecular Biology of the Cell*, Fourth Edition, Garland Science, 2002.
- [50] Başığit, G., Karahan, A.G., Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi ve Laktik Asit Bakterilerinin Tanısında Kullanılması, *Gıda* (2010). 35 (6): 445-452.
- [51] De Voort FR. 1992. Fourier transform infrared spectroscopy applied to food analysis. *Food Res Int*, 25, 397– 403.
- [52] Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. 5th Edition. Kılıç E, Köseoğlu F, Yılmaz H (çeviri ed) Bilim Yayıncılık, Ankara,. s. 850.
- [53] Erkahveci A, Karaali A. 1996. Fourier Transform Inf- rared (FTIR) Spektroskopisinin gıda analizlerine uygulanması, *GIDA*, 21 (5):337-345.
- [54] Association of Official American Chemists International (AOAC), 2000, *Official Methods of Analysis*, 17th Ed., William, H. (ed) Washington, DC.
- [55] AOAC, 1990, *Official Methods of Analysis*. Fifteenth edition. Association of Official Analysis Chemists, Washington, DC.
- [56] Laemmli, U. K. 1970, “Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4”, *Nature*, 227(5259), 680-685.
- [57] Boran, G., Regenstein, J. M., 2009, “Optimization of Gelatin Extraction from Silver Carp Skin”, *Journal Food Science*, 74(8), E432-E441.
- [58] British Standards Institution (BSI), 1975. *Methods for Sampling and Testing Gelatin (Physical and Chemical Methods)*, BSI, London.

- [59] Skurtys, O., Acevedo, C., Pedreschi, F., Enrione, J., Osorio, E., & Aguilera, J. M., 2010, "Food hydrocolloid edible films and coatings", Food hydrocolloids: Characteristics, properties and structures, In C. S. Hollingworth (Ed.), *Nova Science Publishers, Inc.*, Hauppauge, NY, USA, pp. 1-41.
- [60] N. Estévez, P. Fuciños, V. Bargiela, L. Pastrana, C. A. Tovar, and M. Luisa Rúa, 2016, "Structural and thermo-rheological analysis of solutions and gels of a β -lactoglobulin fraction isolated from bovine whey", *Food Chemistry*, vol. 198, pp. 45–53.
- [61] C. Seydim and G. Sarikus, 2006, "Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils", *Food Research International*, vol. 39, pp. 639–644.
- [62] Cho, S. M., Kwak, K. S., Park, D. C., Gu, Y. S., Ji, C. I., Jang, D.H., 2004, "Processing optimization and functional properties of gelatin from shark (*Isurus oxyrinchus*) cartilage", *Food Hydrocolloids*, 18: 573-579
- [63] Pearce, K. N., Kinsella, J. E., 1978, "Emulsifying properties of proteins: Evaluation of a turbidimetric technique", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26: 716-723.
- [64] Erge, A., (2016). Tavuk Kesimhane Artıklarından Jelatin Üretim Koşullarının Araştırılması ve Optimizasyonu. Abant İzzet Baysal Üniversitesi. Doktora Tezi. 130s.
- [65] Henry, W.E., Bratzler, L.J., & Luecke, R.W., (1963). Physical and Chemical Relationships of Pork Carcasses. *Journal of Animal Science*. 22(3):613-616.
- [66] Ferraro, V., Gaillard-Martinie, B., Sayd, T., Chambon, C., Anton, M., & Santé-Lhoutellier, V. (2017). Collagen type I from bovine bone. Effect of animal age, bone anatomy and drying methodology on extraction yield, self-assembly, thermal behaviour and electrokinetic potential. *International journal of biological macromolecules*, 97, 55-66.

- [67] Almeida, P. F., & Lannes, S. C. D. S. (2013). Extraction and physicochemical characterization of gelatin from chicken by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 36(6), 824-833.
- [68] Cansu, Ü., & Boran, G. (2015). Optimization of a multi-step procedure for isolation of chicken bone collagen. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 35(4), 431.
- [69] Cho, S.H, Jahncke, M.L., Chin, K.B. & Eun, J.B. (2006). The Effect of Processing Conditions on the Properties of Gelatin from Skate (*Raja kenoei*) Skins. *Food Hydrocolloids*, 20, 810-816.
- [70] Zhang, Z., Guoying, L., Bi Shi, S., (2006). Physicochemical properties of collagen, gelatin and collagen hydrolysate derived from bovine limed split wastes. *Journal of the Society of Leather Technologists and Chemists*, 90: 23-27.
- [71] Bigi, A., Cojazzi, G., Panzavolta, S., Rubini, K., & Roveri, N. (2001). Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking. *Biomaterials*, 22(8), 763-768.
- [72] Li, Y., Qiao, C., Shi, L., Jiang, Q., & Li, T. (2014). Viscosity of collagen solutions: influence of concentration, temperature, adsorption, and role of intermolecular interactions. *Journal of Macromolecular Science, Part B*, 53(5), 893-901.
- [73] Yang, H., Duan, L., Li, Q., Tian, Z., & Li, G. (2018). Experimental and modeling investigation on the rheological behavior of collagen solution as a function of acetic acid concentration. *Journal of The Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 77, 125-134.
- [74] Sanaei, A. V., Mahmoodani, F., See, S. F., Yusop, S. M., & Babji, A. S. (2013). Optimization of gelatin extraction and physico-chemical properties of catfish (*Clarias gariepinus*) bone gelatin. *International Food Research Journal*, 20(1), 423.
- [75] Erge, A., & Zorba, Ö. (2018). Optimization of gelatin extraction from chicken mechanically deboned meat residue using alkaline pre-treatment. *LWT*, 97, 205-212.

- [76] Duconseilla, A., Astruc, T., Quintana, N., Meersman, F., Sante- Lhoutellier, V., 2015, “Gelatin structure and composition linked to hard capsule dissolution: A review. *Food Hydrocoll*, 43, 360-376.
- [77] Djabourov, M., Lechaire, J. and Gaill, F., 1993, “Structure and rheology of gelatin and collagen gels”, *Biorheology*, 30(3e4), 191-205. DOI: 003 -3861/92/122622 ~06.
- [78] Sinthusamran, S., Benjakul, S., Kishimura, H., 2014, “Characteristics and gels properties of gelatin from skin of seabass (*Lates calcarifer*) as influenced by extraction conditions”, *Food Chemical*, 152, 276-284.
- [79] Du, L., Khiari, Z., Pietrasik, Z. and Betti, M., 2013, “Physicochemical and functional properties of gelatins extracted from turkey and chicken heads”, *Poultry Science*, 92:2463-2474.
- [80] Erge, A., 2016, “Tavuk Kesimhane Artıklarından Jelatin Üretim Koşullarının Araştırılması ve Optimizasyonu”, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, 1-113.
- [81] Yıldız, K., 2017, “Tavuk Derisinden Jelatin Eldesinin Yanıt Yüzey Yöntemi İle Optimizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1-33.
- [82] Karım, B. F., 2018, “Determination of Some Quality and Functional Characteristics of Gelatin Extracted from Chicken Skin”, Yüksek Lisans Tezi, *Doğa ve Uygulamalı Bilimler Enstitüsü*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1-37.
- [83] Cansu, Ü., 2014, “Tavuk Kemiğinden Osein ve Jelatin Eldesinin Optimizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, 1-45.
- [84]Gallagher, W., 2009, “FTIR Analysis of Protein Structure”, *Encyclopedia of Life Sciences*, no. 1958, pp. 662–666.

- [85] J. Gu, X. Mao, Y. Xiao, and S. Yang, 2011, “Effect of gelation factors on the formation and characteristics of protease-induced whey protein gel,” *International of Dairy Technology*, vol. 64, no. 4, pp. 473–479.
- [86] M. J. Costa, L. C. Maciel, J. A. Teixeira, A. A. Vicente, and M. A. Cerqueira, 2018, “Use of edible films and coatings in cheese preservation: Opportunities and challenges”, *Food Research International*, vol. 107, pp. 84-92.
- [87] Geçim, G., “Newtonian ve Newtonian Olmayan Akışkanların Viskozitesinin Belirlenmesi”, KBM0308 Kimya Mühendisliği Laboratuvarı II, *Bursa Teknik Üniversitesi*, pp. 1–8.
- [88] Y. Han, Q. Xu, Z. Lu, and J. Wang, 2014, “Preparation of transparent zein films for cell culture applications”, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 120, pp. 55–62.
- [89] Wang, C., Jiang, L., Wei, D., Li, Y., Sui, X., Wang, Z. and Li, D., 2011, “Effect of secondary structure determined by FTIR spectra on surface hydrophobicity of soybean protein isolate”, *Procedia Engineering*, vol. 15, pp. 4819-4827.
- [90] A. Barth, “Infrared spectroscopy of proteins,” *Biochimica Biophysica Acta - Bioenergetics*, vol. 1767, no. 9, pp. 1073–1101.
- [91] Sukyai, P., Anongjanya, P., Bunyahwuthakul, N., Kongsin, K., Harnkarnsujarit, N., Sukatta, U., Chollakup, R., 2018, “ Effect of cellulose nanocrystals from sugarcane bagasse on whey protein isolate-based films”, *Food Research International Journal*, vol.107, no. December 2017, pp. 528-535.
- [92] Arunmozhivarman, K., Abraham, Robinson J. J., Appa rao, V., and Parthiban, M., 2017, “Extraction and Molecular Characterization of Collagen from Poultry Meat Processing by-Product (Chicken Skin)”, *Int. J. Pure App. Biosci.*, 5(5): 1085-1091.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı : Ayşegül
Soyadı : GÜNDEM
Uyruğu : T.C.
Doğum Yeri :
E-mail :

Eğitim Bilgileri

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Mezuniyet Tarihi</u>
Yüksek Lisans	Uşak Üniversitesi	2021
Lisans	Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi	2017
Lise	Vala Gedik Lisesi	2013

<u>İş Deneyimi</u>	<u>Yıl</u>	<u>Yer</u>	<u>Görev</u>
	2017-	Gedik Piliç A.Ş.	Üretim Vardiya Sorumlusu

Yayınlar

Tez çalışmasından üretilmiş makale ve bildiriler

Uluslararası İndeksli Makaleler

1. Gündem, A., & Tarhan, Ö. Collagen/Gelatin Extraction from Poultry Skin and Mechanically Deboned Meat (MDM) Residues. *Akademik Gıda*, 19(2), 116-125.
2. Gündem, A., & Tarhan, Ö. (2020). Extraction of collagen and gelatine from animal wastes. *Bulletin of Biotechnology*, 1(1), 30-33.

Uluslararası Konferans Bildirileri

1. Gündem A., Tarhan, Ö., Hayvansal Atıklardan Protein Eldesi. I. Uluslararası Sağlık Bilimleri ve Biyoteknoloji Kongresi, 2019, Uşak, TR (*tam metin, sözlü bildiri*).